

Prospective

Épigénétique

écologie & évolution



UNE PROSPECTIVE DE L'INSTITUT ECOLOGIE ET ENVIRONNEMENT

N°8 - NOV 2018



www.cnrs.fr



SOMMAIRE

Avant-propos	P 3
I - ÉPIGÉNÉTIQUE EN ÉCOLOGIE ET ÉVOLUTION	P 7
1. Contexte et enjeux	
2. Les actions du Réseau thématique pluridisciplinaire 3E	
II - QU'EST-CE QUE L'ÉPIGÉNÉTIQUE ?	P 19
1. Histoire et évolution des concepts	
2. Héritabilité inclusive et héritabilité des systèmes	
III - LES ACTEURS DE L'INFORMATION ÉPIGÉNÉTIQUE : MÉTHODES ET VERROUS	P 25
1. La méthylation de l'ADN	
2. Structure de la chromatine et modifications d'histones	
3. Les petits ARNs régulateurs	
4. La topologie du noyau	
IV - ÉPIGÉNÉTIQUE ET DÉVELOPPEMENT	P 45
V - HÉRÉDITÉ ÉPIGÉNÉTIQUE EN ÉVOLUTION	P 51
VI - INFLUENCE DE L'ENVIRONNEMENT SUR LES MARQUES ÉPIGÉNÉTIQUES ET LE FONCTIONNEMENT DES ORGANISMES	P 57
VII - ÉPIGÉNÉTIQUE QUANTITATIVE	P 61
VIII - ENJEUX SOCIÉTAUX DE L'ÉPIGÉNÉTIQUE	P 65
IX - BILANS ET RECOMMANDATIONS	P 73
X - CONCLUSIONS	P 77
Glossaire	P 80



www.cnrs.fr

Épidémiologie & évolution

Prospective

Coordination :

- Dominique Joly (CNRS)
Paris - Gif-sur-Yvette
- Christoph Grunau (Université
Perpignan via Domitia) - Perpignan

Avec la collaboration de :

- Frédéric Bantignies (CNRS)
Montpellier
- Moussa Benhamed (MdC,
Université Paris-Sud) - Orsay
- Natacha Bies Etheve (Université
Perpignan via Domitia) - Perpignan
- Raphaëlle Chaix (CNRS)
Paris
- Séverine Chambeyron (CNRS)
Montpellier
- Etienne Danchin (CNRS)
Toulouse
- Sarah Fneich (INRA)
Jouy-en-Josas
- Anne Gabory (INRA)
Jouy-en-Josas
- Delphine Gourcilleau (CNRS)
Toulouse
- Estelle Jaligot (CIRAD)
Montpellier
- Claudine Junien (INRA)
Jouy-en-Josas
- David Latrasse (INRA)
Orsay
- Francesca Merlin (CNRS)
Paris
- Antonine Nicoglou (Labex « Who
am I » - HPST) - Paris
- Benoit Pujol (CNRS)
Toulouse
- Arnaud Pocheville (Université
Sydney) Sydney - Australie
- Ana Rivero (CNRS)
Montpellier
- Irène Till-Bottraud (CNRS)
Clermont-Ferrand
- Fabrice Vavre (CNRS)
Villeurbanne
- Xavier Vekemans (Université de
Lille - Sciences et Technologies)
Villeneuve d'Ascq

AVANT-PROPOS

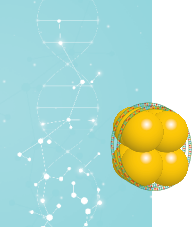
Pour l'écologie du 21^e siècle, comprendre la participation des composantes non-génétiques, autres que celles portées par la séquence de l'ADN proprement dite, à l'héritabilité des traits phénotypiques constitue un enjeu majeur. Largement acceptée par la plupart des scientifiques, cette héritabilité non-génétique reste controversée par certains, et parfois mal comprise, notamment quant à son importance pour l'évolution des organismes et des espèces. Elle est d'autant plus sujette à controverse qu'elle se décompose en plusieurs éléments, parmi lesquels l'héritabilité dite « épigénétique » occupe une place prépondérante. L'amélioration des connaissances concernant les mécanismes dans lesquels ces informations jouent un rôle et le développement de cadres théoriques fondamentaux permettent aujourd'hui de réfléchir sur l'épigénétique dans toute sa complexité, à savoir son rôle dans la variabilité des phénotypes, son interaction avec l'environnement abiotique, biotique - y compris dans les interactions sociales, et sa relation avec le génotype.

La prise en compte de l'épigénome et la caractérisation de sa dynamique deviennent ainsi des approches incontournables dans tous les domaines scientifiques ; ils précisent notre compréhension des mécanismes de l'hérédité et de l'adaptation. En particulier, l'un des enjeux majeurs actuels consiste à quantifier l'importance relative de cette information épigénétique dans le fonctionnement et les trajectoires évolutives des organismes.

Comme dans d'autres disciplines, l'épigénétique a bénéficié de la disponibilité d'organismes modèles. Les travaux qui en sont issus montrent que les mécanismes épigénétiques sont quasi-universels dans le vivant (humain et non-humain) et impliqués dans la quasi-totalité des processus développementaux et adaptatifs. De nombreux exemples d'effets environnementaux sur l'épigénome ont ainsi été mis en évidence. Aujourd'hui, il est possible, et il est temps, de replacer non seulement l'ensemble des connaissances obtenues sur ces systèmes, souvent choisis pour des raisons de simplicité relative et d'accessibilité expérimentale, dans un contexte écologiquement réaliste. Il s'agit aussi de transférer ces connaissances vers le monde plus complexe des communautés d'espèces et de leurs interactions. Il est ainsi nécessaire d'ouvrir le champ d'étude aux espèces d'intérêt écologique et d'intégrer non seulement les échelles biologiques, dans les relations horizontales entre espèces et entre les espèces et leur environnement, mais également les échelles temporelles, dans les relations verticales de transmission d'une génération à l'autre.

L'intégration de l'épigénétique aux concepts et questions fondamentales appréhendées dans les domaines spécifiques de l'écologie et de l'évolution est nécessaire pour permettre les avancées théoriques indispensables à la compréhension de la complexité des systèmes biologiques. Elle exige cependant la maîtrise conceptuelle des mécanismes impliqués dans la régulation épigénétique et des techniques expérimentales nécessaires à leur analyse. Elle nécessite également d'enrichir les notions théoriques de l'épigénétique et de les confronter aux données de terrain.

La prospective présentée ici résulte des activités du réseau thématique Epigénétique en écologie et évolution (RTP-3E) initié et soutenu par l'INEE. Elle présente les connaissances fondamentales et les méthodes dans ce champ disciplinaire en pleine émergence, sur le



vivant. Elle correspond à un point d'étape de l'état de l'art dans ce domaine et focalise le propos sur le rôle de l'environnement, pris dans son acceptation la plus large – y compris les aspects socio-culturels, sur les changements de l'expression des gènes. Au-delà de la compréhension moléculaire et mécanistique de l'information épigénétique, cette prospective plaide pour une plus grande prise en compte de la diversité des champs disciplinaires qui sous-tendent une meilleure compréhension des processus observés. A la croisée de la biologie, de l'écologie, du développement, du comportement, des interactions sociales, les avancées, enjeux et verrous du domaine sont également présentés au cours des chapitres et synthétisés dans une réflexion plus large à la fin du document.

En effet, aux questions terminologiques et conceptuelles soulevées par l'impact théorique de l'épigénétique dans différentes branches de la biologie s'ajoutent des enjeux médicaux, éthiques et sociétaux liés au fait que l'environnement (précoce et tardif, naturel mais aussi social, culturel et émotionnel) et le style de vie des personnes peuvent avoir un impact important sur les individus et sur leurs descendants via des mécanismes épigénétiques.

Ainsi, l'INEE dans sa mission de répondre aux défis planétaires posés par le changement global et de promouvoir une recherche aux interfaces entre les grands champs disciplinaires, Sciences de la Terre, de la Vie, de l'Homme et de la Société, a une position privilégiée pour accompagner cette démarche et offrir les conditions d'une recherche originale de pointe, avec notamment ses dispositifs expérimentaux d'envergure internationale et ses séries à long terme de populations ou d'organismes. Pour ces raisons, l'objectif de cette action épigénétique de l'INEE est de rassembler l'expertise existant en France afin de créer des interactions fortes entre les équipes issues de tous ces champs disciplinaires et de construire une démarche globale intégrant l'épigénétique.

L'ensemble de ces travaux sera dorénavant porté par le groupement de recherche épigénétique en écologie et évolution (GDR-3E) qui fait suite au RTP-3E avec la constitution de six groupes thématiques et deux groupes transversaux. Une attention particulière sera portée aux actions d'animations scientifiques, de formations et d'information vis-à-vis du secteur académique, mais aussi des scolaires, du grand public et des décideurs.

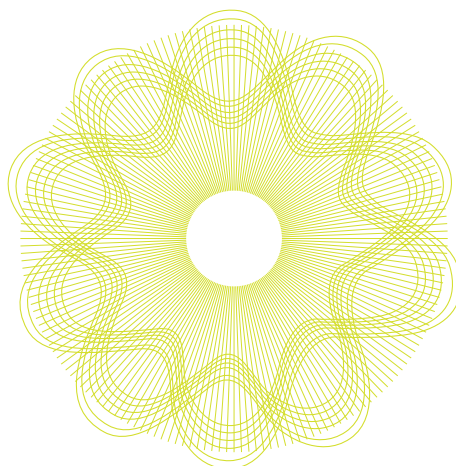
Au-delà de cette action nationale, la communauté a également pour ambition de positionner la recherche française au niveau international afin de soutenir et promouvoir de nouvelles dynamiques scientifiques et être force d'actions dans la caractérisation des déterminants de la variation épigénétique.

Stéphanie Thiébault

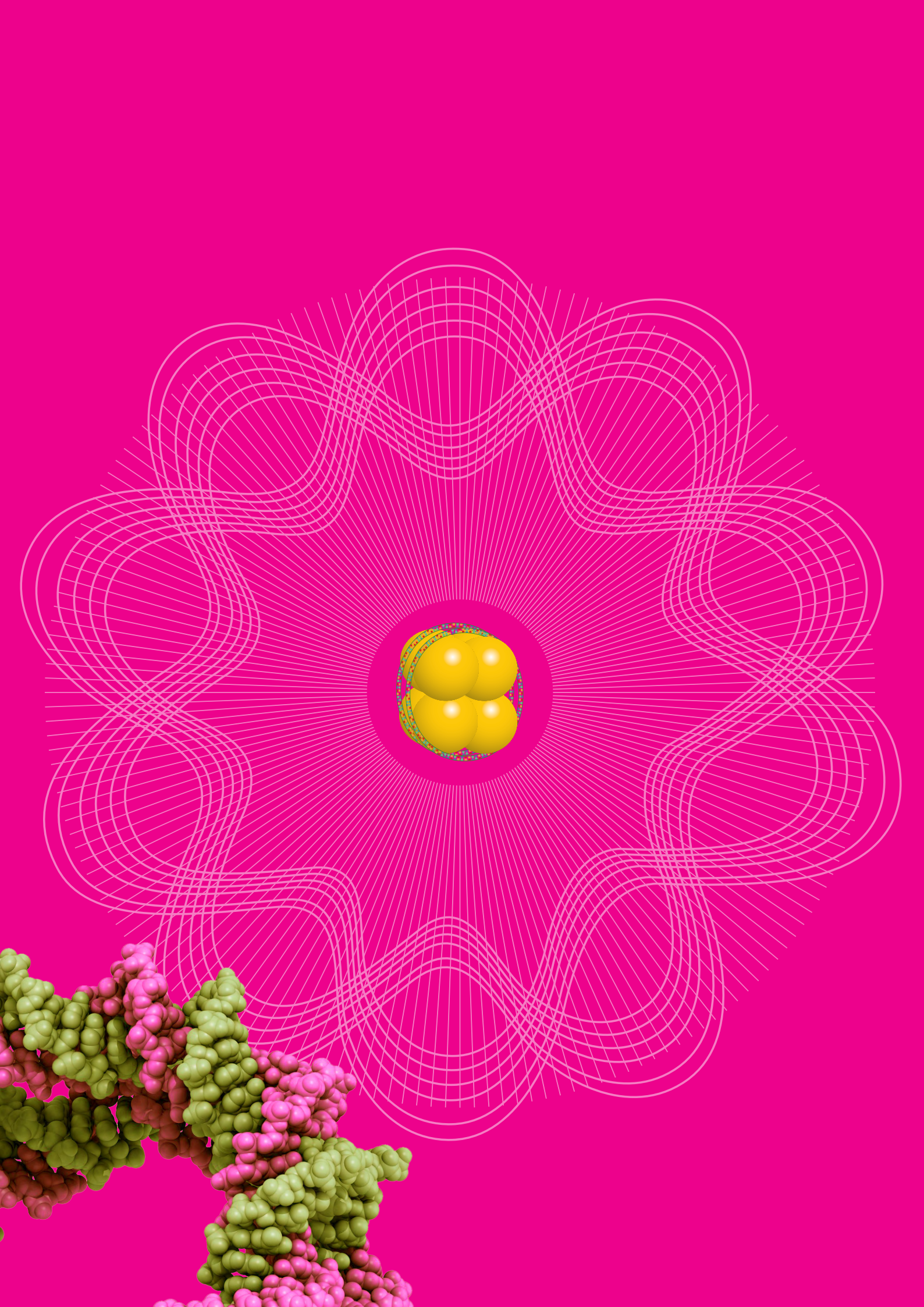
Directrice de l'Institut écologie
et environnement du CNRS

Dominique Joly

Directrice adjointe scientifique de l'Institut
écologie et environnement du CNRS







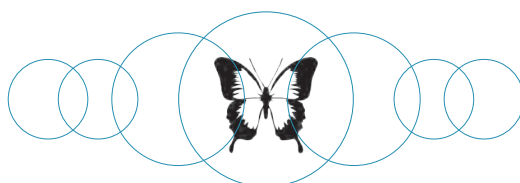


ÉPIGÉNÉTIQUE EN ÉCOLOGIE ET ÉVOLUTION

Christoph Grunau et Dominique Joly

L'épigénétique, à savoir l'ensemble des modifications héritables étroitement liées au génome mais sans être basées sur des modifications de séquences de l'ADN, a émergé ces dernières années comme une discipline incontournable pour la compréhension des processus biologiques. Les avancées considérables des techniques de séquençage permettent aujourd'hui l'analyse conjointe des génomes, épigénomes* et transcriptomes* dans toute leur complexité. Ces technologies sont devenues accessibles à des équipes qui n'utilisaient pas couramment la biologie moléculaire classique, donnant ainsi un nouvel élan aux recherches sur les relations entre gène-environnement-phénotype dans les processus d'adaptation et d'évolution. La découverte de l'épigénome, et la caractérisation de sa dynamique, oblige à prendre en compte un aspect supplémentaire dans notre compréhension des modifications phénotypiques d'un organisme et de ses capacités d'adaptation.

Ce cahier de prospective fait un point sur l'état de l'art dans ce domaine, en fournissant des exemples concrets et actuels et propose des pistes de recherches pour les années à venir.



*Les termes suivis d'une * sont définis dans le glossaire à la fin de ce document.*

I.1

Contexte et enjeux

Parmi les faits marquants de la recherche en biologie ces dernières années, les résultats expérimentaux soutiennent l'existence d'une part d'hérédité non liée à la séquence de l'ADN (Danchin *et al.*, 2011 ; Laland *et al.*, 2015 ; Charlesworth *et al.*, 2017). Cette information non-génétique, en particulier l'information épigénétique, est véhiculée par des mécanismes induisant des changements dans la fonction des gènes et n'impliquant pas de modification de la séquence d'ADN proprement dite (figure 1.1). Une fois acquis, ces changements peuvent être transmis au travers des divisions cellulaires et au travers des générations d'organismes pluricellulaires. L'un des facteurs majeurs pouvant influencer l'expression des gènes est l'environnement. Des données récentes suggèrent que des changements environnementaux comme la présence de toxines ou l'application de stress variés changent l'expression des gènes en provoquant des modifications des marques épigénétiques qui peuvent se transmettre à travers les générations (Klosin *et al.*, 2017). Ces résultats proviennent de domaines très divers des sciences biologiques et humaines et concernent tous les groupes taxinomiques. L'environnement devient donc un acteur qui influence la trajectoire développementale et micro-évolutive des espèces, entre autres via des modifications épigénétiques. Cependant, les mécanismes qui sous-tendent cette hérédité non-génétique restent encore peu connus. Un des défis actuels des sciences de l'écologie et de l'évolution est d'étudier si et comment l'hérédité épigénétique influence les dynamiques écologiques et évolutives des organismes et des espèces. Il est également essentiel d'étudier quels mécanismes moléculaires pourraient permettre à l'environnement de modifier l'épigénome pour conduire à des changements d'expression génique transmissibles et adaptatifs. Un autre défi consiste à relier les approches infra-individuelles (physiologie, neurologie, développement, génétique, etc.) et les approches supra-individuelles (démographie, écologie, écologie évolutive, écologie comportementale, etc.). Dans le contexte du changement global, la composante épigénétique pourrait augmenter la plasticité phéno-

typique* ainsi que la vitesse de l'adaptation ou de l'acclimatation sur un nombre réduit de générations. Pour cela, la quantification de l'importance de la composante épigénétique de l'hérédité et son maintien dans le temps doivent être déterminées.

Les modifications épigénétiques sont analysées en utilisant à la fois des techniques de biologie moléculaire focalisées sur des séquences génétiques candidates restreintes et des approches à l'échelle du génome entier. Des méthodes telles que le traitement au bisulfite* permettent d'étudier la méthylation de l'ADN et l'immunoprécipitation de la chromatine (ChIP)* donne accès aux modifications des histones* et aux interactions protéine-chromatine. Ces méthodes sont extrêmement puissantes pour caractériser les mécanismes de régulation épigénétique et l'importance de l'épigénétique sur l'expression génique et la biologie cellulaire. Cependant, ces techniques nécessitent aujourd'hui des compétences particulières en biologie moléculaire et en analyse de données. Elles nécessitent également de bien appréhender la nature des mécanismes moléculaires en jeu. L'émergence de technologies novatrices devrait permettre d'automatiser et de standardiser les analyses, ce qui facilitera les recherches sur l'importance des facteurs environnementaux, et plus généralement de l'écologie dans ces processus. En collaboration avec leurs collègues biologistes moléculaires chargés d'analyser le fonctionnement des modifications épigénétiques, les écologues et les évolutionnistes auront une place importante à jouer dans l'analyse des conséquences de ces modifications au travers des générations et aux échelles supra-individuelles que sont celles des espèces.

Deux éléments marquants ont encouragé la communauté française à se structurer pour répondre aux enjeux scientifiques dans ce domaine. Le premier concerne les perspectives d'Avignon, organisées en octobre 2012 par l'Institut écologie et environnement du CNRS (INEE), au cours desquelles de nombreux ateliers de réflexion ont souligné la nécessité de

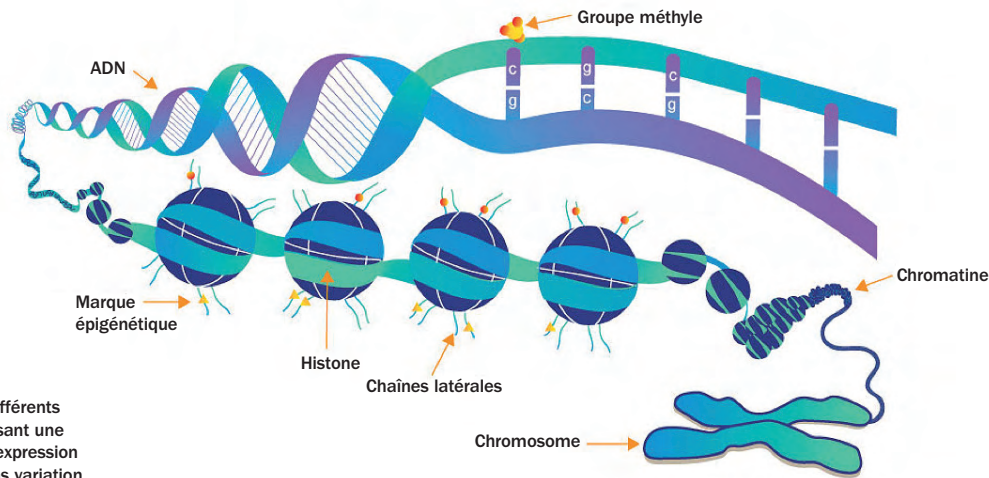


Figure 1.1 : Différents facteurs induisant une variation de l'expression des gènes sans variation de la séquence ADN.

prendre en compte les mécanismes épigénétiques dans les domaines de l'écologie et de l'évolution. Le second fait marquant fait suite à ces ateliers, dont les résultats ont incité l'INEE à déclarer ce thème de recherche comme action prioritaire, avec le souhait de favoriser la structuration d'un réseau de chercheurs travaillant dans ce domaine. Une première rencontre, organisée les 3 et 4 décembre 2013 à Gif-sur-Yvette, a rassemblé 80 personnes provenant de 48 laboratoires français. Les exposés se sont naturellement divisés en trois groupes thématiques relatifs au dialogue entre génome et épigénome, à la variation épigénétique sous-jacente à la variation phénotypique dans les populations (figures 1.2 et 1.3), et aux effets transgénérationnels. Suite à cette rencontre, la communauté s'est structurée sous la forme d'un réseau thématique pluridisciplinaire « Épigénétique en écologie et évolution » (RTP-3E) soutenu par l'INEE. Les actions du RTP sont détaillées dans le chapitre suivant. L'objectif était de capitaliser sur l'expertise française reconnue dans le domaine afin d'irriguer les intérêts croissants et les demandes de plus en plus importantes de collègues peu expérimentés.

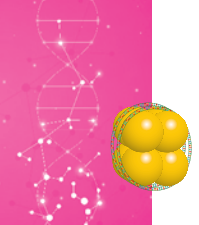
Des actions de formation et de transfert d'expertise ont identifié un besoin important de mise en relation d'« épigénéticiens » et de mathématiciens/statisticiens pour favoriser les échanges entre théoriciens et empiristes afin de formaliser les théories en épigénétique et évolution.

En effet, les plus grands défis dans le domaine de l'épigénétique en écologie et évolution sont sans nul doute d'ordre théorique. Il est fonda-

mental d'étudier et de documenter finement ce que la prise en compte de l'hérédité non-génétique, et en particulier sa composante épigénétique, change dans les modèles écologiques et évolutifs. Il est impossible d'analyser de telles questions par de simples raisonnements verbaux. Ces modèles devront notamment répondre à des questions comme « Quelles sont les conséquences de la prise en compte de l'hérédité épigénétique sur les dynamiques écologiques et évolutives ? » ; « Est-ce que les trajectoires de ces dynamiques et/ou la nature des équilibres prédits par les modèles d'évolution incluant l'hérédité épigénétique différeront fondamentalement de ceux qui sont prédits par des modèles ne prenant en compte que l'hérédité génétique ? ».

Ces considérations théoriques doivent aboutir à des hypothèses qui devront être testées expérimentalement. Plus généralement, d'importants défis de modélisation sont anticipés, au vu de la complexité et de la diversité des mécanismes induits par l'hérédité épigénétique. Cet objectif impliquera une démarche interdisciplinaire avec les mathématiques et l'informatique, dans un contexte de biologie des systèmes* où génome, épigénome, et autres supports de l'héritabilité constituent un système en interaction avec l'environnement pour produire des variantes phénotypiques (Cosseau *et al.*, 2016).

Il sera également nécessaire développer de nouveaux concepts en évolution pour intégrer l'héritabilité épigénétique dans l'étude des processus en écologie et évolution. Plusieurs nou-



veaux concepts de ce type ont déjà été proposés, comme par exemple la notion d'hérédité inclusive* intégrant toutes les composantes de l'hérédité afin de mieux estimer le véritable potentiel évolutif des populations (Danchin et Wagner, 2010 ; Danchin *et al.*, 2011).

La prise en compte de nouvelles formes d'hérédité non génétique a aussi fait émerger un vif débat au sein de la communauté des philosophes de la biologie. C'est dans ce cadre que plusieurs conceptions de l'hérédité inclusive* ont été proposées (Pigliucci et Muller, 2010 ; Helanterä et Uller, 2010), toutes visant à remettre en cause la vision d'une hérédité sur de seules bases génétiques et à inclure au sein du concept d'hérédité les mécanismes de transmission non génétiques pouvant avoir un impact important sur le processus évolutif.

Les enjeux technologiques concernent essentiellement l'acquisition de données génomiques, épigénomiques et phénotypiques pour un grand nombre d'individus. Ceci implique le décryptage de l'encodage des marques épigénomiques par des analyses moléculaires et traitements bioinformatiques spécifiques. Les technologies de séquençage à haut débit ont rendu possible l'analyse de très grands volumes d'échantillons simultanément et ceci aux niveaux génomique, épigénomique et transcriptomique globaux. Ces techniques sont devenues accessibles à des équipes ne tra-

vailant pas nécessairement sur des espèces modèles mais ayant un intérêt écologique plus avéré. C'est le cas de recherches dont les thématiques sont éloignées de la génétique moléculaire pure et dont le niveau d'appréhension du vivant se situe au-delà de l'individu dans son fonctionnement propre. Cette ouverture implique le développement de deux approches complémentaires : (1) le transfert de savoirs acquis sur les espèces modèles vers les espèces non modèles, tout en estimant les limites d'un tel parallèle, (2) le transfert des connaissances obtenues en matière d'omiques* sur les systèmes modèles vers le monde complexe de l'écologie, et ceci tant au niveau des techniques moléculaires (par exemple pour la préparation des échantillons, l'extraction de la chromatine, etc.) que du stockage et de l'analyse des données (pérennisation des données de séquences et outils bioinformatiques).

Dans ce contexte, il est crucial de continuer à documenter des études de cas montrant l'importance de l'hérédité non-génétique afin de pouvoir répondre à des questions telles que : « De quelle manière et avec quelle ampleur les parts de l'hérédité génétique et non-génétique varient-elles selon les traits, les populations ou les espèces ? » ; « Si le poids relatif de l'héritabilité génétique et non-génétique varie entre les populations au sein d'une même espèce ou entre espèces, quelles sont les pressions sélectives liées à cette variation et quelles sont les

Figure 1.2 : La couleur des yeux : un exemple de variation phénotypique liée à la relation gène-environnement-phénotype.

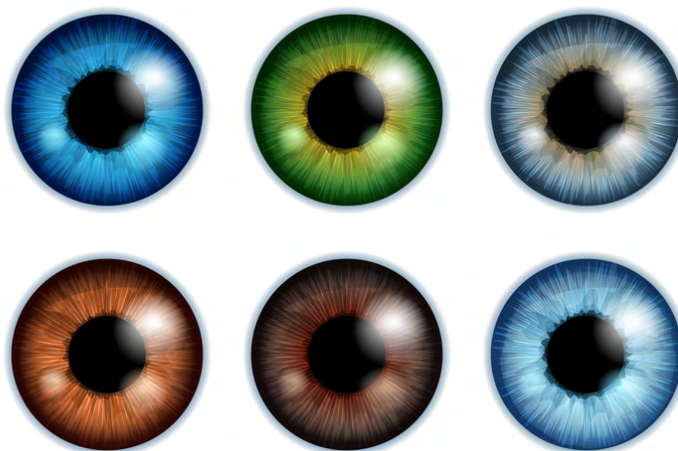




Figure 1.3 : Fruit du palmier à huile : la quantité d'huile est fonction des marques épigénétiques.

conséquences sur la vitesse d'adaptation face à des changements de l'environnement ? ». Bien que la communauté des chercheurs en épigénétique partage les concepts, les technologies et les questions fondamentales, elle est confrontée aux difficultés liées à la multiplicité des modèles biologiques dont les connaissances scientifiques sont souvent très sommaires. Ceci nécessite la mise au point d'approches expérimentales spécifiques et différentes les unes des autres. La maîtrise et la standardisation d'un éventail de techniques expérimentales sont par conséquent un des enjeux majeurs de ce domaine. Des

liens entre cette communauté et celles des chercheurs des domaines de la biologie moléculaire, du développement et de la reproduction, devront également être renforcés afin de faciliter les transferts de savoir et de savoir-faire.

RÉFÉRENCES

Charlesworth D, Barton NH, Charlesworth B. 2017. The sources of adaptive variation. *Proc Biol Sci* 284.

Cosseau C, Wolkenhauer O, Padalino G, Geyer KK, Hoffmann KF, Grunau C. 2017. (Epi)genetic Inheritance in *Schistosoma mansoni*: A Systems Approach. *Trends Parasitol* 33:285-294.

Danchin E, Wagner RH. 2010. Inclusive heritability: combining genetic and nongenetic information to study animal culture. *Oikos* 119:210-218.

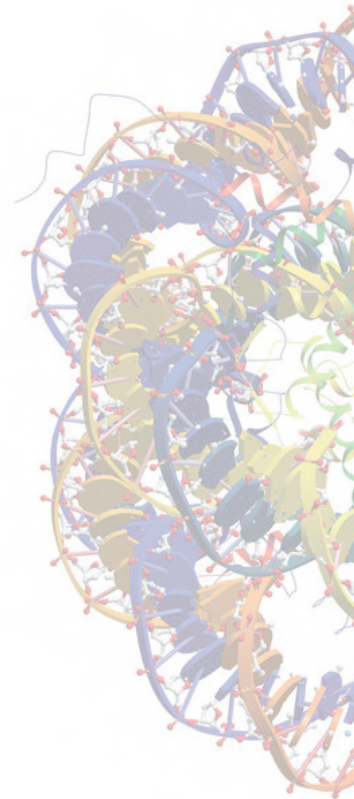
Danchin E, Charmantier A, Champagne FA, Mesoudi A, Pujol B. 2011. Beyond DNA: integrating inclusive inheritance into an extended theory of evolution. *Nature Reviews Genetics* 12:475-486.

Klosin, A., Casas, E., Hidalgo-Carcedo, C., Vavouri, T. and Lehner, B. 2017. Transgenerational transmission of environmental information in *C. elegans*. *Science*, 356, 320-323

Helanterä H, Uller T. 2010. The price equation and extended inheritance. *Philosophy and Theory in Biology* 2 (201306):1-17.

Laland KN, Uller T, Feldman MW, Sterelny K, Muller GB, Moczek A, Jablonka E, Odling-Smee J. 2015. The extended evolutionary synthesis: its structure, assumptions and predictions. *Proc Biol Sci* 282:2015-1019.

Pigliucci M, Müller GB. 2010. *Evolution - The Extended Synthesis*. The MIT Press, Cambridge, Massachusetts, London, England.



I.2

Les actions du Réseau thématique pluridisciplinaire 3E

Le CNRS-INEE a créé (2014-2018) le Réseau thématique pluridisciplinaire épigénétique en écologie et évolution (RTP-3E) afin d'identifier la communauté scientifique active dans ce domaine en privilégiant une vision fonctionnelle et évolutive de l'épigénétique dans le contexte de l'adaptation, des interactions complexes entre les organismes et leur environnement, et également en considérant les trajectoires évolutives aux différentes échelles temporelles. Une démarche résolument pluridisciplinaire a été privilégiée impliquant des chercheurs en biologie, écologie, développement, biologie moléculaire, mais aussi en sciences humaines (en particulier en histoire et philosophie de la biologie), donnant une profondeur historique et temporelle au RTP pour mieux accompagner le développement des concepts théoriques. La richesse de cette approche s'est traduite par une grande diversité d'actions et un renforcement conceptuel et méthodologique de l'expertise.

Le RTP-3E est animé par un comité de pilotage composé de Dominique Joly (CNRS, coordinatrice du RTP-3E auprès de l'INEE), Christoph Grunau (responsable scientifique, Univ. Perpignan, IHPE, Perpignan), Pierre Capy (Université Paris-Sud, EGCE, Gif-sur-Yvette), Etienne Danchin (CNRS, EDB, Toulouse), Antony Herrel (CNRS, MECADEV, Brunoy), Lluís Quintana-Murci (CNRS, Institut Pasteur, Paris), Fabrice Roux (CNRS, LIPM, Toulouse), Cristina Vieira (Université UCBL, LBBE, Lyon), Clémentine Vitte (CNRS, GQE, Gif-sur-Yvette), Maud Tenaillon (CNRS, GQE, Gif-sur-Yvette), Stéphane Maury (Université d'Orléans, LBLGC, Orléans), Francesca Merlin (CNRS, IHPST, Paris). Le comité de pilotage a permis d'associer des expertises couvrant un large spectre de champs thématiques, de modèles biologiques et de savoir-faire.

Avec le soutien du CNRS et de ses partenaires académiques et privés, les principales actions du RTP-3E ont permis (1) de structurer la communauté, (2) de créer des liens forts entre laboratoires, (3) d'identifier des noyaux de compétences pour assurer les besoins en formations, (4) de promouvoir des collaborations actives, et (5) d'être présent sur la scène nationale et internationale, y compris dans ses interactions avec la société civile. Ces interactions ont bénéficié de financements locaux pour accompagner les projets dans l'esprit du développement de l'interdisciplinarité, de déposer des projets de recherche aux niveaux national et européen et de créer des ouvertures pour des recrutements au niveau post-doc et thèse.

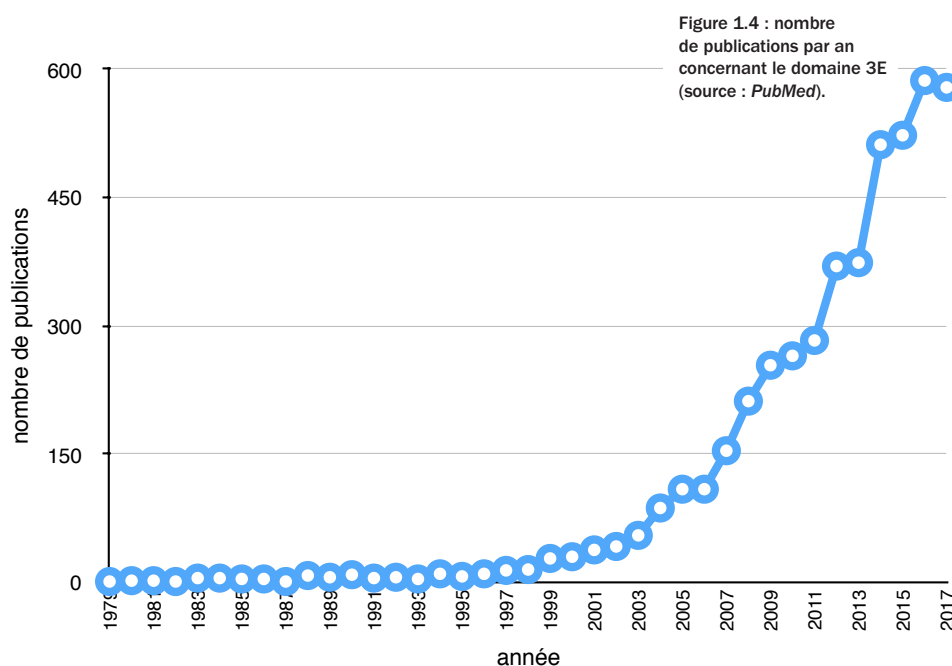
Au-delà de colloques scientifiques, le RTP-3E a organisé au printemps 2015, une école thématique intitulée « Quel rôle pour l'épigénétique en écologie

et en évolution ? ». Cette école s'est déroulée au centre du CAES de Saint-Pierre d'Oléron sur 5 jours (du 18 au 22 mai 2015) et a reçu un appui financier complémentaire de diverses structures (Labex TULIP, Labex BASC, Labex ECOFECT, INRA et sponsors). Plus de 40 personnes (du CNRS et de ses partenaires, universités, CIRAD, IRD et autres) ont participé à l'école. Les questionnaires d'évaluation en ligne et anonymes distribués en fin d'école nous ont permis de confirmer la large satisfaction des participants, et d'être confortés dans l'adéquation de la démarche par rapport aux attentes.

Après avoir sollicité l'ensemble des membres du RTP-3E, le comité de pilotage a identifié un besoin important pour soutenir la formation mutuelle des personnels ainsi que l'échange de savoirs et savoir-faire concernant les différentes techniques employées pour les analyses en épigénétique. Le comité a donc décidé de lancer un programme de mobilité RTP-3E. Dix bourses de mobilité ont été décernées en moins de deux semaines après publications de l'appel d'offre. Ces bourses permettent à toutes catégories de personnels membres du RTP-3E (chercheur/enseignants-chercheur, ingénieur et technicien, doctorant ou post-doctorant) d'être accueillies au sein d'un laboratoire partenaire du RTP-3E pour bénéficier d'une période de formation et d'échanges techniques et méthodologiques. Renouvelées annuellement, ces bourses ont permis de consolider l'apprentissage en interne dans ce domaine et de faciliter l'élaboration de programmes de recherches et de dépôts de projets scientifiques auprès des agences de financement avec des consortiums experts.

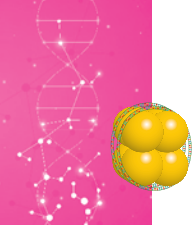
Très rapidement et pour augmenter la visibilité du RTP, une identité graphique a été créée (logo) ainsi qu'un site web (<http://rtp-3e.wix.com/rt3e>) et une liste de diffusion (3e@univ-perp.fr) rassemblant les participants aux différents événements organisés par le RTP. Toutes les actions du RTP y sont recensées ainsi que des informations spécifiques à destination des membres du RTP mais également des informations plus générales sur l'épigénétique à destination d'une plus large communauté. Une analyse rapide des données sur PubMed montre que l'activité de publication augmente de façon exponentielle depuis les années 2000 (figure 1.4). Actuellement, 8 %

des publications mondiales dans le domaine 3E (hors cancérologie) proviennent de la recherche en France et 18 % de ces publications françaises sont issues de membres du RTP-3E. Ce dernier a donc joué sans conteste un rôle d'incubateur dépassant largement le niveau national. À noter qu'actuellement environ trois quart des membres CNRS appartiennent à l'INEE et un quart à l'INSB (Institut des sciences biologiques du CNRS). En se basant sur cette analyse bibliographique simple, il semble réaliste d'estimer à environ 500 le nombre de membres potentiels actifs dans ce domaine en France.



Le RTP a été présent ou a contribué à organiser plusieurs manifestations scientifiques (figure 1.5). Il a été présent dans un grand nombre d'événements au plan national comme au plan international, souvent sous forme de *workshops* ou journées thématiques. Il a touché un public varié : académique, lors des congrès en écologie ou en bioinformatique ainsi que lors de *workshops*, le grand public avec la presse écrite ou audiovisuelle et lors du Forum du CNRS, et également le politique lors des journées parlementaires.

Il a également participé à un certain nombre d'ouvrages, notamment un article de diffusion grand public dans le livre multi-auteurs *L'adaptation au changement climatique* (CNRS Editions, versions française et anglaise) ainsi que 3 volumes spéciaux à venir, préparés conjointement pour *Functional Ecology* pour les articles théoriques et/ou conceptuels ainsi que *Methods in Ecology and Evolution* et *Genes* pour les articles méthodologiques. Ces actions de formations et de transfert d'ex-



expertise ont permis d'identifier un besoin important de mise en relation d'épigénéticiens et de mathématiciens/statisticiens pour favoriser les échanges entre théoriciens et empiristes afin de formaliser les théories en épigénétique et évolution. Trois workshops consacrés à ce sujet ont été organisés durant la période de décembre 2015 au printemps 2016. De plus, le RTP-3E partage avec le groupement de recherche plasticité phénotypique (GDR Plas-Phen) un certain nombre de thématiques communes concernant la plasticité phénotypique, ses mécanismes moléculaires et son rôle pour l'adaptation et l'évolution des espèces. Ainsi, la collaboration entre le RTP-3E et le GDR Plas-Phen a permis d'organiser un symposium intitulé « Evolutionary ecology of non genetic inheritance and epigenetics » à la conférence internationale d'écologie organisée par la Société Française d'Ecologie (SFE) à Marseille du 24 au 28 Octobre 2016. Cet événement a permis de rassembler des personnalités de renommée internationale (Kevin Laland, University St Andrew UK, Frank Johannes, Munich et d'autres) et de stimuler un débat et des échanges autour de l'hérédité non-génétique.

À l'issue de la période de fonctionnement du RTP-3E, réseau émergent volontairement limité dans le temps, le comité de pilotage a décidé de déposer une demande de création de GDR dans

la droite ligne de l'esprit et des activités du RTP-3E. Le projet de GDR-3E n'est pas simplement de poursuivre les actions du RTP-3E, mais a comme ambition de renforcer l'intégration des domaines scientifiques concernés (biologie moléculaire, physiologie, écologie, évolution, statistiques, bioinformatique, sciences humaines), sur divers organismes (animaux, humains, plantes...), et à différentes échelles biologiques (organisme, population, communauté). L'objectif est d'élargir et de consolider la communauté dans ce domaine en forte évolution, de rassembler des expertises complémentaires indispensables pour appréhender les nouveaux développements conceptuels et théoriques, ainsi que de renouveler l'offre de formation et d'animation scientifique, et finalement de donner à la communauté 3E française une meilleure visibilité sur la scène internationale.

Ainsi, les moyens d'information et de communication mis en œuvre jusqu'à présent sont appelés à être diversifiés, et seront renforcés prochainement par un groupe de travail dédié à la communication, dont la première action sera d'obtenir un nom de domaine dédié. Le groupe alimentera de façon régulière une chronique scientifique « grand public », sous la forme d'un blog ainsi que d'un compte Twitter, grâce aux travaux de la communauté 3E ; il assurera également une veille scientifique issue de la communauté inter-

Figure 1.5 : Calendriers des principales activités et manifestations scientifiques du RTP-3E.

2013	2014	2015
<p>CONGRES FONDATEUR DU RTP-3E</p> <ul style="list-style-type: none"> • 3 & 4 décembre 2013, Gif-sur-Yvette • 80 participants • Keynote : Dr. Eva Jablonka (Tel Aviv) 	<p>LA TÊTE AU CARRÉ - FRANCE INTER</p> <ul style="list-style-type: none"> • 1 octobre 2014, Paris • Disponible en podcast <p>WORKSHOP « HOW CAN WE REDEFINE INHERITANCE BEYOND THE GENE-CENTERED APPROACH? »</p> <ul style="list-style-type: none"> • 2 & 3 octobre 2014, Paris • 40 participants <p>FORUM CNRS « LES FONDAMENTALES »</p> <ul style="list-style-type: none"> • 11 octobre 2014, Grenoble • À écouter sur la Wikipradio du CNRS <p>CONGRES BES-SFE</p> <ul style="list-style-type: none"> • 9-12 décembre 2014, Lille • « Table ronde » avec GDR Génétique Quantitative et le groupe thématique « Hérédité non génétique » de la SFE² en collaboration avec le RTP-3E 	<p>ECOLE THÉMATIQUE « ECO-EVO-EPIGEN »</p> <ul style="list-style-type: none"> • 12-22 mai 2015, Saint-Pierre Oléron • 40 participants <p>AUDITION PUBLIQUE DE L'OFFICE PARLEMENTAIRE</p> <ul style="list-style-type: none"> • 16 juin 2015 : Vidéo disponible. <p>Audition publique d'évaluation des choix scientifiques et technologiques sur « Épigénétique : une nouvelle logique du vivant ? » suite à la saisine sur « Les enjeux et perspectives de l'épigénétique »</p> <p>WORKSHOP « MATHEMATICAL MODELS IN ECOLOGY AND EVOLUTION »</p> <ul style="list-style-type: none"> • 8-10 juillet 2015, Collège de France, Paris <p>JOBIM 2015 CLERMONT-FERRAND</p> <ul style="list-style-type: none"> • 6-9 juillet 2015 <p>WORKSHOP EPIGENETICS & MATHEMATICS</p> <ul style="list-style-type: none"> • 28-31 octobre 2015, Berlin

nationale, dans tous les champs scientifiques concernés par le domaine.

À l'avenir, la communauté 3E souhaite créer et renforcer les interfaces entre les communautés de chercheurs relevant des laboratoires de l'INEE et celles de l'INSB dans le domaine 3E. L'objectif est de conforter les approches, méthodes et expertises entre instituts du CNRS mais également entre les différentes structures et réseaux du monde académique et des acteurs sociaux au-delà des différentes initiatives déjà soutenues par le CNRS. Par exemple, un domaine de recherche que la communauté 3E compte développer est l'épigénétique des populations humaines naturelles ou exposées à des contraintes environnementales, sans aborder les thématiques d'intérêt médical, déjà traitées dans les labex « Epigen Med » et l'Institut thématique multi-organismes « épigénétique et cancer » pour donner quelques exemples. La communauté 3E créera également des liens entre les mondes des sciences humaines et sociales et des sciences de la vie. Cependant, cette communauté 3E se distingue notamment, et de manière nette, d'autres groupes de recherche à cette interface tels que le LabEx « Who Am I? ». En effet, comme le nom de ce LabEx l'indique, ce dernier s'est structuré autour d'une question centrale qui est celle des déterminants de l'identité de

l'échelle physique et chimique à l'échelle sociale en passant par le moléculaire et le cellulaire. L'épigénétique n'est donc qu'un des nombreux domaines dans lesquels la question de l'identité est étudiée, alors que l'épigénétique est au cœur même des actions de la communauté 3E. De plus, l'ouverture aux sciences humaines et sociales au sein du LabEx n'a pas la même ampleur que celle présente ici. Si le LabEx « Who Am I? » inclut une équipe de recherche comprenant quelques chercheurs en psychanalyse, en éthique et en philosophie des sciences qui sont surtout occupés par le projet de publication d'une Encyclopédie de l'identité, la communauté 3E inclut en son sein un éventail plus large de collègues de ce domaine comprenant l'histoire et la philosophie des sciences, la sociologie des sciences, le droit et l'éthique appliquée. En particulier, la communauté 3E souhaite renforcer les approches concernant « Epigénétique et Société », en analysant les conséquences sociétales des recherches récentes en épigénétique (plus particulièrement, dans les domaines de la santé humaine, et donc en termes de responsabilité collective et de politiques publiques). Il s'agit d'une question qui a aussi comme objectif de réfléchir à la nécessité d'une approche interdisciplinaire en épigénétique et aux conditions mêmes de cette interdisciplinarité.

2016

EPIPRINTEMPS : RENCONTRE ENTRE MODÉLISATEURS ET EMPIRICIENS EN ÉPIGÉNÉTIQUE

- 23-24 mars 2016, Institut Pasteur, Paris

STATISTIQUE ET EPIGÉNOMIQUE

- Groupe de travail « Outils et analyse de la méthylation de l'ADN »

CEMEB EPIGENETICS WORKSHOP

- 4 avril 2016, Montpellier

SYMPOSIUM SFE²

- octobre 24 2016, Marseille

PROGRAMME DE MOBILITÉ 2016

2017

ATELIER PROSPECTIVES INEE

- 22-24 février 2017, Bordeaux

ESEB SYMPOSIUM

- 20-25 août 2017, Groningen

RÉUNION CONJOINTE DE RTP-3E ET DU GDR PLAS-PHEN

- 16-17 octobre 2017, Montpellier

2018

FORMATION CNRS « EPIGENETICS FOR BREEDERS »

- 22-26 juin, Perpignan

ECOLE THÉMATIQUE FIELDEPIGEN

- 25-29 juin, Perpignan

ISSUES SPÉCIALES

- *Funct Ecol, Methods in Mol Biol, Genes*

II JOINT CONGRESS EVOLUTION SYMPOSIUM

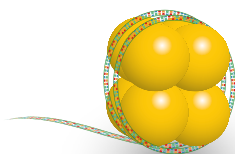
- 19 août 2018, Montpellier



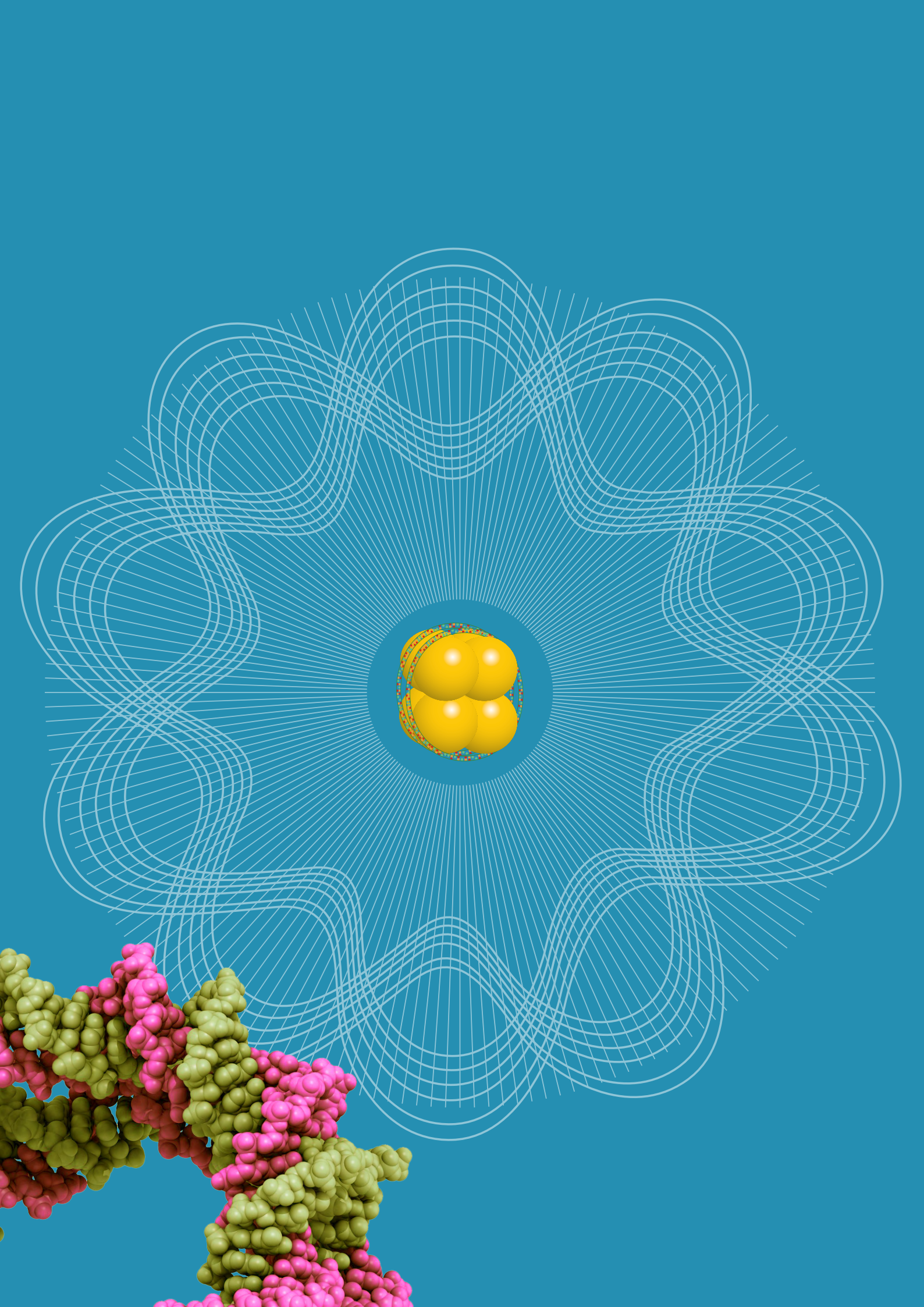
D'ores et déjà, la communauté 3E a tissé des liens forts avec le GDR Plas-Phen ; de nombreux membres sont associés aux deux structures, avec des questionnements parfois chevauchants mais sans jamais être identiques. Une fusion des deux réseaux a été brièvement envisagée mais refusée par la majorité des membres à cause des objectifs et sujets de recherche différents (par exemple la notion de plasticité trans-générationnelle dans le domaine 3E) pour favoriser plutôt la collaboration. De fortes synergies sont également attendues avec des équipes qui se sont regroupées autour d'un projet en Epigénétique des plantes (EpiPlants). Le défi majeur identifié par ces équipes est de caractériser les bases moléculaires des mécanismes épigénétiques chez les plantes pour extraire des significations biologiques. Les contours des projets EpiPlants et 3E sont différents : ils structurent les deux communautés autour d'approches et d'enjeux spécifiques. Une fusion a été discutée mais n'est pas souhaitée pour l'heure, ce qui n'empêche pas que de fortes interactions sont déjà envisagées par les porteurs de projets et les comités de pilotage.

Au niveau international, la communauté 3E a déjà été accueillie avec enthousiasme par nos collaborateurs européens proches et a participé à divers événements avec les collègues étrangers. Ces interactions seront poursuivies tout en privilégiant la consolidation du réseau national avant d'engager des démarches de structuration plus formelle au niveau européen type Groupement de recherche international (GRI) ou *European Society for Evolutionary Biology (ESEB) Special Topic Network*.

Pour conclure, la communauté 3E a une réelle singularité thématique permettant de rassembler les acteurs scientifiques de domaines différents tels que la biologie moléculaire, les sciences sociales et économiques et l'écologie et évolution, pour étudier de façon critique le rôle de l'épigénétique dans le contexte écosystémique et évolutif du changement global. D'ores et déjà de nombreuses interactions et actions sont prévues avec les partenaires de ces différentes initiatives qui étudient de près ou de loin l'épigénétique afin de favoriser l'interdisciplinarité et la position de leadership de la recherche française dans un domaine émergent au niveau international.



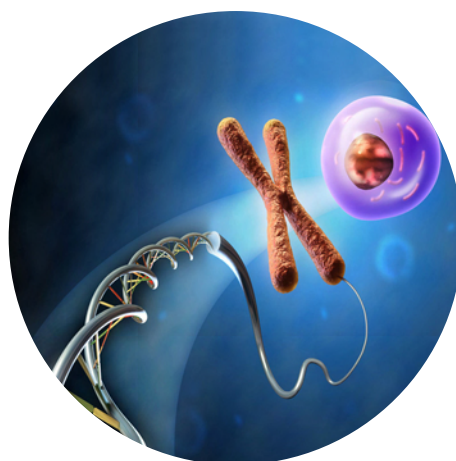




II

QU'EST-CE QUE L'ÉPIGÉNÉTIQUE ?

Francesca Merlin, Antonine Nicoglou, Christoph Grunau et Etienne Danchin



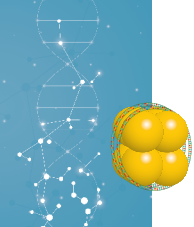
II.1

Histoire et évolution des concepts

L'épigénétique constitue un nouveau domaine de la biologie qui s'est développé progressivement depuis les années 1940-50 jusqu'à aujourd'hui. Elle recouvre différentes questions de recherche liées au développement, à l'origine de la variation héréditaire ou à son rôle dans le processus évolutif. Les termes utilisés étant souvent sources de confusion, un éclairage historique s'impose.

L'épigénétique fait l'objet de nombreuses discussions à la fois chez les biologistes mais aussi chez les théoriciens et historiens de la discipline (Morange 2002 et 2013, Haigh 2004, Felsenfeld 2014, Noble 2015, Deichmann 2016, Nicoglou et Merlin 2017). Une analyse historique souligne l'évolution des concepts et les implications en termes d'approche scientifique.

Le terme « épigénétique » (en anglais *epigenetics*), avec d'autres termes apparentés (dont *epigenotype* et *epigenetic landscape*), furent introduits pour la première fois en biologie à la fin des années 1930 par Conrad Waddington (1939). Il désignait alors l'ensemble des processus causaux qui, au cours du développement, participent à la construction progressive du phénotype à partir du génotype. Le terme



« épigénétique » a par la suite continué d'être utilisé en biologie en rapport avec l'étude de la différenciation cellulaire et du développement (Nanney 1958, Holliday et Pugh 1975, Riggs 1975). A partir des années 1980 de nouveaux programmes de recherche sont apparus, portant sur la contribution des facteurs épigénétiques, en plus des gènes, à la variation des traits et à leur évolution (Jablonka et Lamm 2011, Danchin *et al.*, 2011).

Pour Waddington, Nanney, Riggs et Holliday, l'épigénétique impliquait principalement l'étude des facteurs à l'origine des différences dans l'expression des gènes au cours du développement. Un des premiers mécanismes identifiés est celui de la méthylation de l'ADN, dont Riggs et Holliday avaient fait l'hypothèse, de manière indépendante, au milieu des années 1970. La méthylation de l'ADN reste aujourd'hui le mécanisme épigénétique le plus étudié par les biologistes, bien que d'autres mécanismes moléculaires, qualifiés d' « épigénétiques », ont depuis été identifiés (les modifications chimiques des histones, les changements de la structure

tridimensionnelle de la chromatine, les changements chromatiniens post-traductionnels, l'activité des petits ARNs, etc.).

Les biologistes s'intéressant à l'évolution ont, quant à eux, cherché à préciser les mécanismes évolutifs en s'appuyant sur ces études d'épigénétique moléculaire. Mais les problèmes qu'ils ont formulés ne concernent pas directement le processus développemental mais plutôt la possibilité d'une variation héréditaire épigénétique et son impact sur l'évolution, dépassant ainsi l'idée classique selon laquelle l'hérédité et l'évolution reposeraient sur des variations uniquement génétiques. À partir des années 1990, le courant de la biologie évolutive du développement (aussi appelée l'évo-dévo) a cherché à rendre compte de l'importance du processus développemental pour expliquer l'évolution. L'épigénétique est devenue une voie de recherche prometteuse dans ce cadre. Plus récemment, à partir des années 2000, certains biologistes ont voulu réformer la Synthèse moderne de l'évolution formulée dans les années 1940 et qui entendait rassembler les données de la génétique mendélienne et du

Tableau 2.1 : Les différentes conceptions de l'épigénétique, leurs définitions, leurs champs de recherche et le problème qu'elles visent à résoudre (d'après Nicoglou et Merlin, 2017).

Conception	Définition	Champs de recherche	Problème
W-épi (l'épigénétique selon Waddington) Années 1930-40	Les mécanismes causaux impliqués dans le développement par lesquels les gènes produisent des effets phénotypiques	<ul style="list-style-type: none"> Génétique classique et embryologie expérimentales Biologie du développement 	Développement (au niveau de l'organisme)
N-épi (l'épigénétique selon Nanney) Années 1950-60	Systèmes intégratifs auxiliaires régulant l'expression des potentialités génétiques	<ul style="list-style-type: none"> Génétique chimique (moléculaire) et biologie du développement 	Développement (au niveau de la cellule)
RH-épi (l'épigénétique selon Riggs et Holliday) Années 1970 à 1990-2000 &	Les changements héréditaires, par mitose et/ou méiose, de la fonction des gènes qui ne peuvent pas être expliqués par des changements de la séquence d'ADN	<ul style="list-style-type: none"> Génétique et épigénétique moléculaire 	Développement (au niveau moléculaire)
M-épi (l'épigénétique moléculaire) Années 2000-2010	Toute modification de la chromatine ayant un impact sur l'expression des gènes, que cette modification soit héréditaire ou pas		
ED-épi (l'épigénétique selon l'évo-dévo) Années 1990-2010	Les mécanismes développementaux (au dessus du niveau de la séquence d'ADN) qui sont à l'origine du phénotype et de ses modifications au cours de l'évolution	<ul style="list-style-type: none"> Génétique du développement Biologie évolutive du développement (évo-dévo) Biologie des systèmes 	L'origine de la variation phénotypique et l'interaction entre développement et évolution
ES-épi (l'épigénétique selon la Synthèse Étendue) Années 2000-2010	Mélange de N-épi & ED-épi Focalisation sur l'hérédité épigénétique transgénérationnelle	<ul style="list-style-type: none"> Biologie évolutive du développement (évo-dévo) Biologie de l'évolution Biologie des systèmes 	L'origine de la variation phénotypique et l'évolution vers une synthèse évolutive étendue

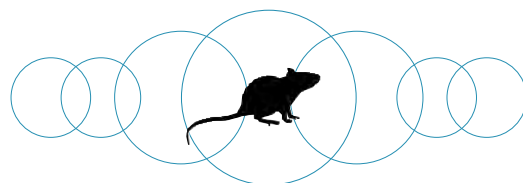
darwinisme, en proposant l'idée d'une Synthèse étendue qui prendrait en compte les mécanismes de variation et d'hérédité non génétiques. C'est dans ce cadre que se sont développées les recherches sur l'hérédité épigénétique transgénérationnelle (Tableau 2.1).

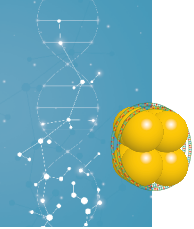
Tous ces programmes de recherches et les nombreuses conceptions de l'épigénétique qui leurs sont associées continuent de coexister aujourd'hui. Dès lors, la notion d'épigénétique est désormais à la source de confusions, d'autant plus que sont apparus tout un ensemble de termes dérivés comme « épigénome », « épiallèle », « épimutation », etc. qui peuvent, là encore, prendre différentes acceptations selon les domaines où ils sont employés ou le type de question posée. Il va sans dire que l'enjeu de ces différences n'est pas un simple débat sémantique. La façon de définir les termes d'un problème peut avoir un impact significatif, et même décisif, sur les modèles théoriques et les pratiques expérimentales mis en œuvre pour le résoudre, voire tout simplement sur la capacité d'échanger entre chercheurs de la communauté des biologistes (écologues, biologistes moléculaires et du développement, évolutionnistes, neurologues) voulant travailler ensemble sur des phénomènes épigénétiques.

Qui plus est, au sein d'un même champ de recherche peuvent coexister des façons différentes, non équivalentes, de concevoir l'épigénétique. Par exemple, en épigénétique moléculaire, on retrouve la définition de Riggs et de Holliday selon laquelle l'épigénétique est l'étude des changements héréditaires de la fonction des gènes qui ne peuvent pas être expli-

qués par des changements de la séquence d'ADN. Mais on y trouve aussi une autre définition, assez semblable, mais qui fait référence aux changements héréditaires de l'expression des gènes, et non pas à leur fonction. Bien que très proches, ces deux définitions de l'épigénétique diffèrent, et cela non seulement d'un point de vue verbal mais aussi et surtout quant aux pratiques théoriques et expérimentales qu'elles impliquent respectivement. Parler de la fonction des gènes amène plutôt les chercheurs à focaliser leur attention sur les changements au niveau des protéines produites, alors qu'un intérêt pour l'expression des gènes les conduit à prendre en compte et à observer ce qui se passe au niveau des transcrits d'ARN.

Une telle hétérogénéité de l'épigénétique et des termes qui lui sont associés peut poser problème. En effet, lorsque les biologistes ont l'impression d'avoir un vocabulaire commun car ils utilisent les mêmes mots, leurs définitions diffèrent souvent. Cela représente une difficulté majeure dans une perspective d'échange et d'intégration des connaissances entre biologistes, car certains peuvent vouloir tenter de faire des rapprochements en vue d'établir des programmes de recherche communs autour de l'épigénétique (par exemple impliquant écologie et biologie du développement ou encore biologie moléculaire et biologie de l'évolution). Néanmoins, faut-il pour autant souhaiter parvenir à une définition unique et unifiée de l'épigénétique ? L'apport d'une telle définition n'est pas évident si l'on considère, comme ce fut le cas avec le « gène », que sous le terme « épigénétique » se trouvent en fait des réalités biologiques bien différentes.





II.2

Héritabilité inclusive et héritabilité des systèmes

La participation des composantes non-génétiques (i.e., autres que la séquence de l'ADN ou de l'ARN) à l'héritabilité des traits phénotypiques est aujourd'hui largement acceptée. Cependant, cette héritabilité non-génétique reste controversée, et parfois mal comprise, notamment quant à son importance pour l'évolution des organismes et des espèces. La décomposition de cette héritabilité est brièvement passée en revue ici.

Le fait que l'environnement peut avoir un impact important sur le phénotype, c'est-à-dire l'ensemble des caractères observables d'un individu, est une constatation très ancienne, mais qui n'a que récemment été conceptualisé sous la forme de l'équation GxE, qui traduit les interactions entre les gènes (G) et l'environnement (E). Ce concept, formalisé en 1972 par Bowman, et largement utilisé pour décrire les processus d'adaptation, considère que le phénotype est le résultat des seules interactions entre le génotype, c'est-à-dire l'ensemble des caractéristiques génétiques d'un individu, et l'environnement. Or, de plus en plus d'études montrent que l'histoire de vie d'un individu influence son propre phénotype ainsi que celui de sa descendance. La capacité d'un individu à transmettre son expérience environnementale de façon transgénérationnelle peut être avantageuse car elle peut permettre aux parents de transmettre à leur progéniture une meilleure capacité d'adaptation. Toutefois, cet impact transgénérationnel de l'environnement sur le phénotype n'est pas forcément adaptatif. Divers facteurs environnementaux comme la malnutrition, le tabac, la pollution, divers composés organiques sont incriminés face à l'augmentation des maladies liées à des facteurs environnementaux (cancer, asthme, allergies, maladies cardiovasculaires, désordres métaboliques, infertilité). La transmission d'un caractère à la génération suivante passe par les cellules germinales à partir desquelles les gamètes puis l'embryon vont se former. L'information épigénétique constitue un des meilleurs candidats pour expliquer la transmission des effets de l'environnement aux générations suivantes. Toutefois, si l'information génétique est transmise assez fidèlement, l'héritabilité de l'information épigénétique est limitée car il existe un effacement de cette information dans les étapes précoces de la gamétogenèse et de l'embryogenèse.

La décomposition de la variance phénotypique dans une population peut permettre en théorie d'identifier les différentes sources de variance héritable et non-héritable et de quantifier la part de la variance du phénotype qui est transmise à la génération suivante. Cette décomposition est essentielle pour déterminer l'importance respective de sources de variation dans la sélection naturelle et l'évolution. Pour incorporer les sources de variances phénotypiques qui ne sont ni d'origine génétiques, ni environnementales, de nouveaux modèles incorporant les formes d'hérité non-génétique ont émergé. Différents termes sont utilisés par divers auteurs pour décrire cette conception élargie de l'hérité et de l'évolution, que ce soit une théorie « inclusive » de l'évolution ou bien une synthèse moderne « étendue ». Les domaines scientifiques ayant fait émerger ces questionnements concernent l'hérité culturelle, l'hérité écologique en relation avec les phénomènes d'empreinte comportementale de l'habitat ou de construction de niche, les effets parentaux comme la transmission d'anticorps, d'hormones ou de ressources. Dans le cadre de ces prospectives, nous nous focalisons sur la transmission des marques épigénétiques.

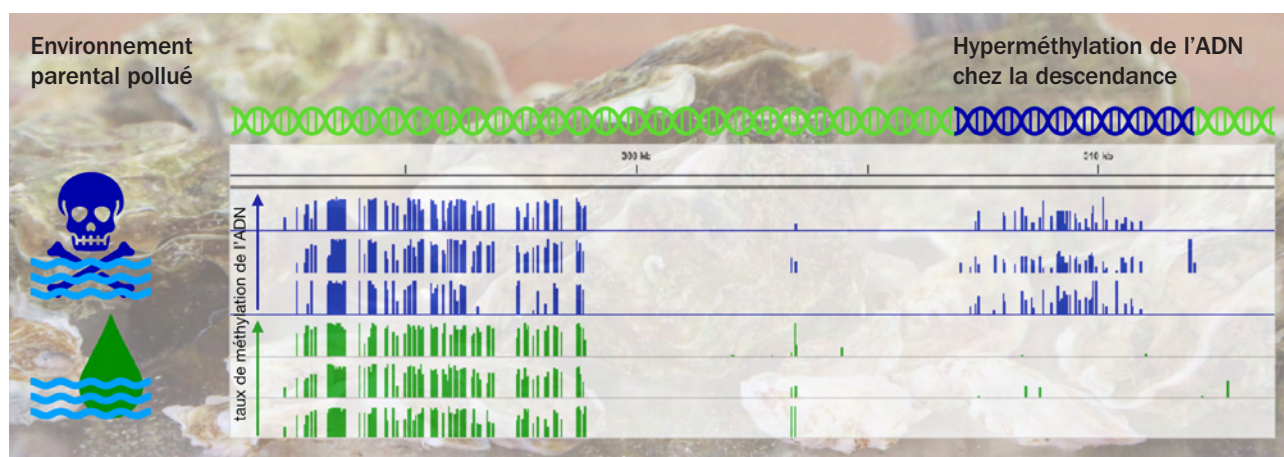
Jusqu'à récemment, les composantes génétiques et épigénétiques de l'hérité étaient souvent perçues comme opposées. Pour réconcilier la notion initiale du concept $GxE \rightarrow P$ (le phénotype) avec les données récentes liées aux processus épigénétiques, il est proposé de remplacer le G par « système d'héritabilité » (Cosseau *et al.*, 2017). Dans ce cadre, le « système » est composé de plusieurs éléments : le génotype, l'épigénotype, le compartiment cytoplasmique mais aussi les microorganismes. Tous ces éléments du système d'héritabilité interagissent avec l'environnement, et produisent des phénotypes différents. Les éléments de ce système peuvent être définis par leur composition

moléculaire ainsi que la séquence ADN, comme support d'informations génétiques et épigénétiques, telles les marques chromatiniennes qui modifient l'accès à l'ADN. Cependant, ce n'est pas le système lui-même qui génère le phénotype, mais le processus développemental qui produit un trait phénotypique particulier, en fonction du temps et en interaction avec l'environnement. Dans chacun de ces processus, les variations génétiques et épigénétiques peuvent changer et entraîner des variations éphémères, fluctuantes ou stables. Dans ce dernier cas, la variation phénotypique peut alors devenir

héritable et être importante pour les questions d'adaptation.

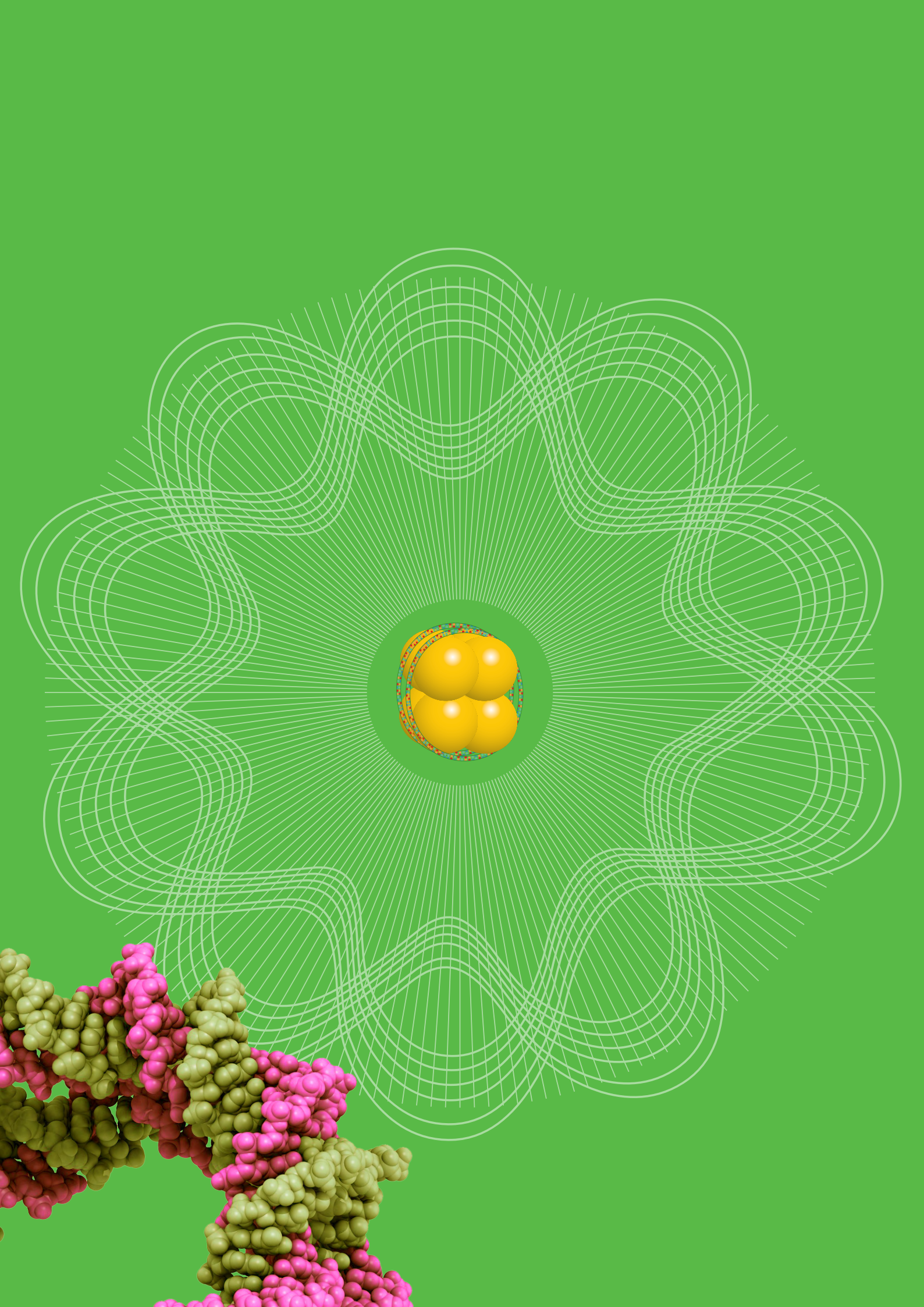
Pour comprendre comment les espèces peuvent parfois s'adapter rapidement à des environnements changeants, il suffit de définir (1) les unités ou les éléments qui sont en interaction, et (2) les types d'interactions qui les lient. Les conséquences majeures de cette approche systémique de l'héritabilité sont que si l'on veut comprendre l'héritabilité d'un caractère particulier, tous les éléments de ce système doivent être analysés de manière exhaustive, à la même échelle et idéalement sur la durée.

Figure 2.2 : Résultats d'une étude sur l'effet transgénérationnel d'un pesticide sur l'huître creuse *Crassostrea gigas* qui ont montré que ce polluant avait un impact sur l'information épigénétique (la méthylation de l'ADN) de la descendance des individus exposés.



RÉFÉRENCES

- Danchin E, Charmantier A, Champagne FA, Mesoudi A, Pujol B. 2011. Beyond DNA: integrating inclusive inheritance into an extended theory of evolution. *Nature Reviews Genetics* 12:475-486.
- Deichmann U. 2016. Epigenetics: The origins and evolution of a fashionable topic. *Dev Biol* 416:249-254.
- Felsenfeld G. 2014. A Brief History of Epigenetics. *Cold Spring Harbour Perspectives in biology* 6(1): a018200.
- Haig D. 2004. The (dual) origin of epigenetics. *Cold Spring Harbour Symposia on Quantitative Biology* 69:67-70.
- Holliday R, Pugh JE. 1975. DNA modification mechanisms and gene activity during development. *Science* 187:226-232.
- Jablonka E, Lamm E. 2012. Commentary: the epigenotype—a dynamic network view of development. *Int J Epidemiol* 41:16-20.
- Morange M. 2002. The relations between genetics and epigenetics: a historical point of view. *Ann N Y Acad Sci* 981:50-60.
- Morange M. 2013. What history tells us XXXII. The long and tortuous history of epigenetic marks. *J Biosci* 38:451-454.
- Nanney DL. 1958. Epigenetic control systems. *Proc Natl Acad Sci U S A* 44:712-717.
- Nicoglou A, Merlin F. 2017. Epigenetics: a way to bridge the gap between biological fields. *Stud Hist Philos Biol Biomed Sci* 66:73-82.
- Noble D. 2015. Conrad Waddington and the origin of epigenetics. *J Exp Biol* 218:816-818.
- Riggs AD. 1975. X inactivation, differentiation, and DNA methylation. *Cytogenet Cell Genet* 14:9-25.
- Waddington H. 1939. *An Introduction to Modern Genetics*. The Macmillan Company, New York.
- Bowman, J. 1972. Genotype x environment interactions. *Ann Genet Sel Anim*, 4, 117-123
- Cosseau C, Wolkenhauer O, Padalino G, Geyer KK, Hoffmann KF, Grunau C. 2017. (Epi)genetic inheritance in *Schistosoma mansoni*: a systems approach. *Trends Parasitol* 33:285-294.
- Rondon, R., Grunau, C., Fallet, M. et al. 2017. Effects of a parental exposure to diuron on Pacific oyster spat methylome. *Environmental Epigenetics*, 3, dxv004.

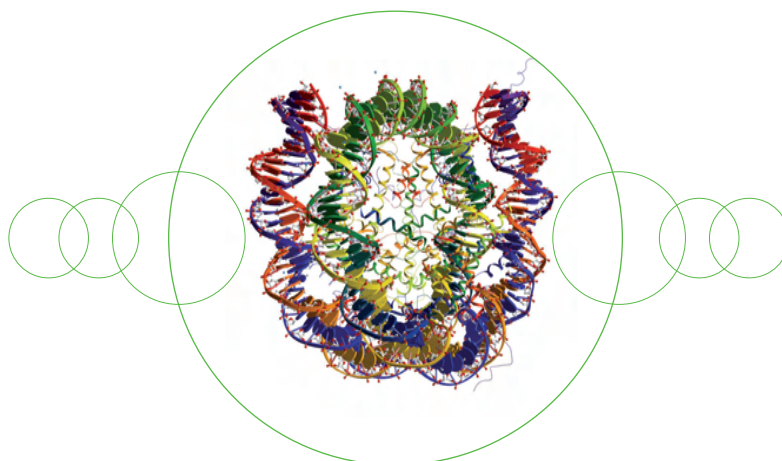




LES ACTEURS DE L'INFORMATION ÉPIGÉNÉTIQUE : MÉTHODES ET VERROUS

Christoph Grunau, Natacha Bies Ethève, Frédéric Bantignies, Severine Chambeyron, David Latrasse et Moussa Benhamed

L'information épigénétique est stockée dans au moins quatre porteurs d'information : la méthylation et l'hydroxy-méthylation de l'ADN, les protéines associées à la structure chromatinienne et les modifications post-traductionnelles des histones, les ARNs non codants, et la localisation de l'ADN dans le noyau interphasique. Pour chacune de ces composantes, sont passées en revue les données les plus récentes dans le domaine et les enjeux principaux qu'il reste à développer.



III.1

La méthylation de l'ADN

La méthylation de l'ADN est une caractéristique fondamentale et commune à la plupart des génomes. Parce qu'elle reste neutre vis-à-vis de la traduction du code génétique, les organismes « l'utilisent » pour apporter une information additionnelle, l'information épigénétique.

Chez les eucaryotes, la méthylation a lieu principalement en position 5 de l'anneau pyrimidique des cytosines. Découverte en 1948 par Rollin

Hotchkiss, le 5-méthyl-cytosine (5mC) est une des marques épigénétiques les plus étudiées. En règle générale, on trouve le 5mC dans le dinucléotide CpG ('p' pour la fonction phosphodiester qui lie la cytosine (C) et la guanine (G)). Chez l'Homme, environ 70 % des CpG sont méthylés et le taux global de la méthylation est de l'ordre de 1 % (% 5mC dans l'ADN total). Cependant ce taux de méthylation peut être supérieur ou inférieur, voire absent dans d'autres espèces (figure 3.1).

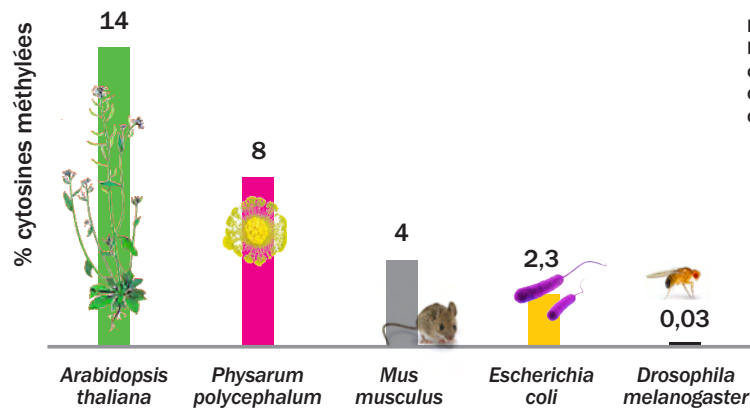
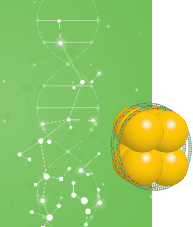


Figure 3.1 : Pourcentage global de cytosines méthylées dans les génomes de différents organismes.

Au niveau des cellules embryonnaires, la méthylation des cytosines peut aussi se faire dans d'autres contextes, tels que CHG ou CHH (avec H pour tout désoxyribonucléotide sauf le G). Ces derniers types de méthylations sont très présents chez les végétaux. En plus des cytosines, les adénines peuvent également être des supports de méthylation. Cette marque épigénétique initialement observée chez les bactéries, est aussi présente en faible proportion chez les eucaryotes (Iyer *et al.*, 2016). Chez les vertébrés, la méthylation de l'ADN est présente dans les corps des gènes et les éléments transposables*. Les régions promotrices des gènes, généralement riches en CpG (« îlots CpG ») sont dépourvues de méthylation et leur hyper-méthylation provoque un arrêt de la transcription. Cependant, la fonction de la 5mC n'a pas encore été très bien définie pour beaucoup d'espèces et joue certainement des rôles différents selon les clades phylogénétiques (figures 3.2 et 3.3). La méthylation de l'ADN des transposons a un rôle dans la défense du génome

en réprimant l'expression des éléments transposables. Elle pourrait aussi participer à la stabilisation de l'expression des gènes et favoriser la variabilité par un contrôle des processus d'épissage alternatif*. La méthylation pourrait aussi réduire le bruit transcriptionnel, à savoir une transcription aberrante en dehors des gènes. À noter que même chez les vertébrés, les effets de la méthylation sur l'expression des gènes ne sont pas forcément liés directement à la présence ou à l'absence de 5mC sur le promoteur du gène, mais peuvent avoir un effet à une distance de quelques 10 à 100 kilobases. Enfin, la méthylation de l'ADN joue aussi un rôle important dans le mécanisme d'empreinte parentale qui permet une expression différentielle de certains gènes, en fonction du parent transmetteur. Une centaine de gènes humains seraient soumise à cette régulation. Enfin, chez les mammifères placentaires (dont l'embryon se développe dans un placenta), la méthylation de l'ADN joue également un rôle déterminant dans le phénomène d'inactivation d'un chromosome X chez la femelle (figure 3.3).

Figure 3.2 : Comparaison des phénotypes de plantes sauvages d'*Arabidopsis thaliana* avec une lignée mutée dans le gène MET1 qui code une cytosine méthyltransférase.



Figure 3.3 : L'allèle AGOUTI VIABLE YELLOW (Avy) est connu pour son état épigénétique instable et partiellement héritable, produisant une grande variabilité dans les phénotypes de souris isogéniques. Dans l'allèle Avy, une particule A intracisternale insérée (IAP) agit comme un élément de contrôle qui dérégule l'expression d'agouti par la transcription du Long terminal repeat LTR de l'IAP ; l'état phénotypique est lié à la méthylation de CpG du LTR.

La méthylation des cytosines est catalysée par les ADN méthyltransférases (DNMT), des enzymes qui sont capables de transférer un groupement méthyle à partir du substrat la S-adenosyl-L-méthionine (SAM) à une cytosine pour donner du 5-méthyl-cytosine (figure 3.4). Cinq DNMTs sont présentes chez les mammifères : DNMT1, DNMT2 (ou TRDMT1 pour tRNA aspartic acid methyltransferase 1) et trois DNMT3 (DNMT3a, DNMT3b et DNMT3L). Les DNMTs 1 et 3 possèdent deux domaines : un domaine de régulation N-terminal et un domaine catalytique présent au niveau C-terminal de la protéine. Si le domaine C-terminal est identique entre ces DNMTs, la structure du domaine de régulation N-terminal est, quant à elle, très différente notamment au niveau de la taille. Le rôle de la DNMT1

est de maintenir la méthylation de l'ADN et la fonction de la DNMT3 est une méthylation *de novo*. Contrairement à ce que son nom suggère, la DNMT2 n'est probablement pas responsable d'une méthylation de l'ADN, mais est nécessaire pour la méthylation des ARNs et est impliquée dans l'héritabilité de l'information épigénétique à travers des générations méiotiques. La méthylation des adénines est, elle, assurée par des N6 A-MTases (Iyer *et al.*, 2016). Il est important de préciser qu'il existe des liens, des inter-connexions, entre la méthylation de l'ADN et les modifications des histones. Dnmt1 et Dnmt3a sont par exemple capables de lier la méthyltransférase SUV39H1 qui méthyle l'histone H3 au niveau de la lysine 9 (H3K9), ce qui a en général pour effet d'inhiber la transcription (Fuks *et al.*, 2003).

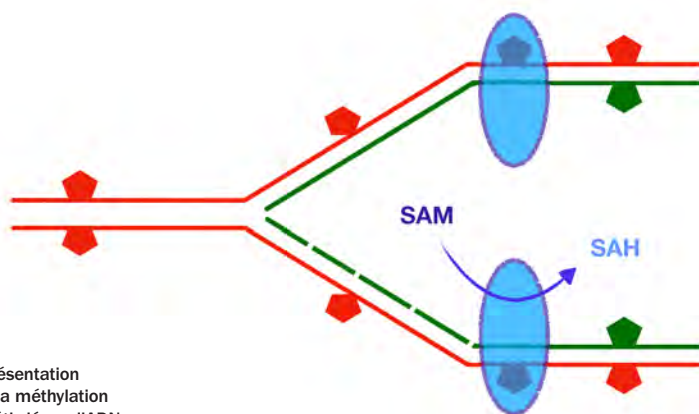


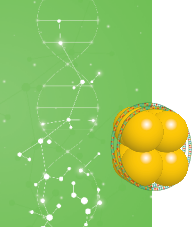
Figure 3.4 : Représentation schématique de la méthylation de l'ADN hémiméthylé par l'ADN méthyltransférase DNMT1 après la répllication de l'ADN. S-adenosyl-L-méthionine (SAM) le donneur de groupement CH3 est transformé en s-adenosylhomocystéine (SAH).

Les mécanismes de méthylation *de novo* sont assez peu connus chez les mammifères, mais de nombreux travaux réalisés chez les plantes ont permis de mettre en évidence un mécanisme spécifique impliquant des ARNs guides (hcsiARN). Deux complexes polymérase particuliers (POL IV et POL V), qui possèdent des sous unités uniques aux plantes, sont impliqués dans ce mécanisme baptisé RdDM (RNA directed DNA Méthylation) (Onodera *et al.*, 20015 ; Herr *et al.*, 2005 ; Pontier *et al.*, 2005). Le premier de ces complexes POL IV permet la production de longs ARNs non codants (lncARN), molécules clés qui permettent de guider par l'intermédiaire du complexe POL V la méthylation séquence spécifique de l'ADN (Pontier *et al.*, 2005 ; Li *et al.*, 2006). Ce mécanisme montre

un cas particulier de régulation des marques épigénétiques de l'ADN par des ARNs.

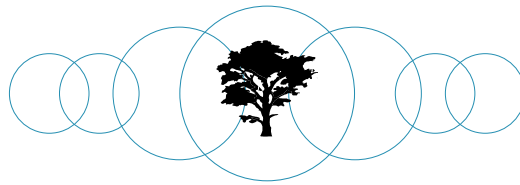
La méthylation de l'ADN est réversible et peut être éliminée par l'intervention d'enzymes de la famille TET, qui hydroxylent les méthylcytosines, ou par l'action d'enzymes de la famille TDG qui enlèvent la cytosine méthylée et la remplacent par une cytosine non méthylée.

De nombreux mécanismes liés à la méthylation restent à être identifiés et l'analyse des effets des méthylations représente aussi un enjeu scientifique d'importance. Au cours des dernières années, des méthodes basées sur le séquençage génomique permettent de connaître la méthylation de chaque cytosine dans une séquence donnée. La mise au point de la méthode au bisulfite a permis d'obtenir les profils de mé-



thylation d'une molécule d'ADN unique à la résolution d'un nucléotide. En l'associant aux techniques de séquençage massive (*Whole Genome Bisulfite Sequencing* - WGBS), on obtient des profils de méthylation sur l'ensemble du génome d'un individu, ou même dans des populations entières (*epiGBS*). Les coûts associés représentent, cependant, un verrou pour avancer dans la

compréhension de la variabilité épigénétique au sein des populations naturelles. Le défi pour la communauté est de développer des méthodes robustes, potentiellement automatisables et bon marché, permettant l'épiséquençage et l'épigénotypage afin de pouvoir analyser les patrons de méthylation dans un grand nombre d'échantillons.



Structure de la chromatine et modifications d'histones

Dans les cellules eucaryotes, le matériel génétique est organisé en une structure complexe constituée d'ADN et de protéines qui sont empaquetés et compactés dans un compartiment spécialisé dont le volume est restreint : le noyau. Cette structure a été baptisée chromatine par W. Flemming en 1882, en raison de son affinité pour les colorants. Dans chaque cellule environ deux mètres d'ADN se logent dans un noyau de quelques micromètres de diamètre. Malgré cet énorme degré de compaction, l'ADN doit être rapidement accessible afin de permettre son interaction avec les machineries protéiques régulant les fonctions de la chromatine et l'expression des gènes. Chez tous les eucaryotes, l'ADN n'est pas nu dans le noyau des cellules, mais enroulé autour de protéines basiques très conservées, appelées histones*, pour former la chromatine. Plus précisément, un

fragment d'ADN, de 146 paires de bases chez les eucaryotes, s'enroule environ deux fois autour d'un octamer d'histones (composés de 4 histones cores H2A, H2B, H3 et H4 s'associant en deux dimères H2A-H2B et H3-H4) pour former le nucléosome. Le nucléosome est considéré comme l'unité de base de la chromatine. Chez l'homme, la chromatine permet ainsi l'enroulement de deux mètres de molécules d'ADN dans un noyau d'environ 10 micromètres de diamètre. Les chromosomes se trouvent donc sous la forme d'une fibre de chromatine, et la densité en nucléosomes, leur positionnement, leurs modifications, ainsi que les repliements spécifiques de la fibre jouent un rôle important dans les différents processus moléculaires associés à l'ADN, comme la transcription, la réplication, la réparation, ou encore la condensation des chromosomes lors de la mitose.

Les modifications d'histones

Au sein des nucléosomes, les histones subissent des modifications post-traductionnelles, dites « modifications épigénétiques », qui contribuent à divers mécanismes de régulation au niveau de la chromatine. En effet, la

structure cristallographique du nucléosome décrite en 1997 (Luger *et al.*, 1997) a révélé des extrémités N-terminales sortantes du nucléosome, en particulier pour les deux histones H3 et H4 (figure 3.5).

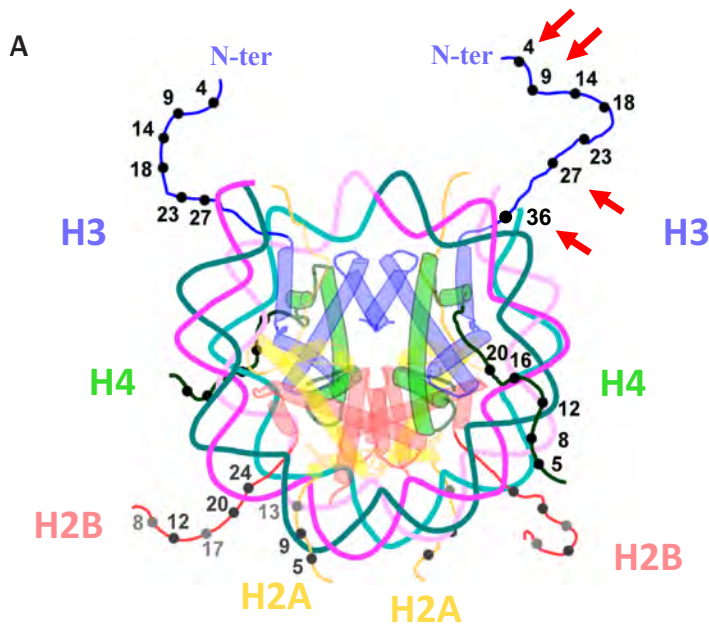
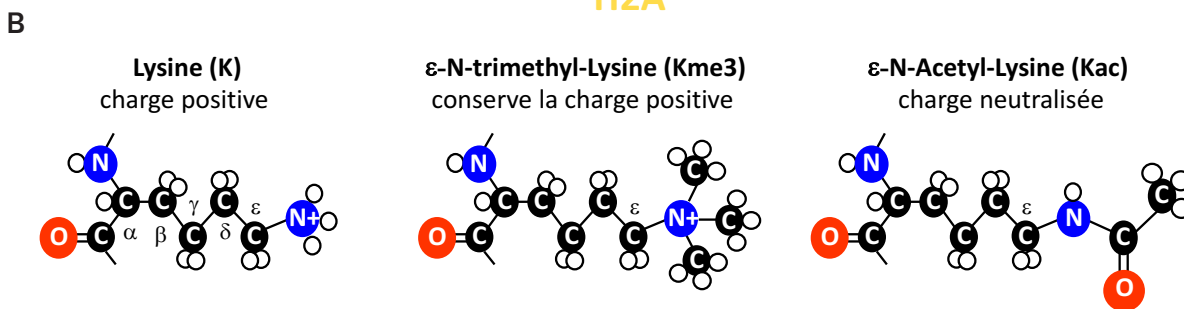


Figure 3.5 :
Le nucléosome est l'unité fondamentale de la chromatine.

A. Illustration adaptée de la structure cristallographique (Luger *et al.*, 1997). Les flèches indiquent les lysines cibles pour les marques principales de l'hétérochromatine (H3K9me3), de l'euchromatine active (H3K4me3, H3K36me3) et l'euchromatine réprimée par le système Polycomb (H3K27me3).

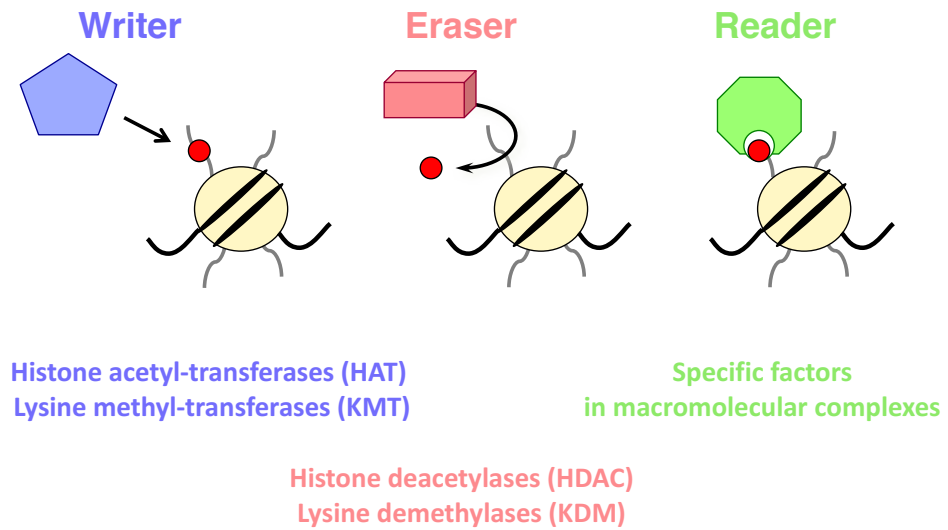
B. Lysine portant la tri-méthylation (Kme3) ou l'acétylation (Kac).



Ces queues d'histones sont très peu organisées, mais elles sont riches en acides aminés basiques, notamment des lysines. Exposées à l'extérieur des nucléosomes, ces résidus lysines sont la cible de nombreuses modifications épigénétiques, comme des acétylations et des méthylation (mono, di ou tri). Ces modifications sont déposées par des enzymes spécialisées (les *writers*) puis reconnues par d'autres facteurs chromatinien (les *readers*). En fonction du contexte cellulaire ou de l'induction d'une voie de signalisation particulière, les marques épigénétiques déposées peuvent être retirées par d'autres enzymes (les *erasers*) et remplacées ou non par d'autres *writers*. Les *writers* et les *erasers* d'acétylation sont appelés respectivement histone acétyl transférase (abrégé HAT) et histone désacétylase (HDAC), ceux des méthylation sont nommés respectivement lysine méthyltransférase (KMT) et lysine déméthylase (KDM). Quant aux *readers*, ils lisent une marque spécifique grâce à des domaines protéiques particuliers (par exemple, un chromodomaine pour la reconnaissance

de la triméthylation ; un bromodomaine pour les lysines acétylées). En outre, ces acteurs chromatinien agissent rarement seuls mais sous forme de complexes multiprotéiques, ce qui contribue à la très grande spécificité de ces réactions. Cette notion de *writers*, *readers*, *erasers* caractérise la plupart des mécanismes trouvés au niveau des nucléosomes pour permettre d'établir une fonction épigénétique particulière (figure 3.6 - Gardner *et al.*, 2011).

Figure 3.6 :
Notion de *writer*, *eraser*
and reader.
Ces facteurs agissent
sous forme de complexe
multiprotéique engendrant
une très grande spécificité des
mécanismes épigénétiques. Les
readers permettent d'interpréter
les marques et apportent des
fonctions particulières à la
chromatine, par exemple, le
remodelage de la chromatine
et la phosphorylation de l'ARN
polymérase II pour l'activation
de la transcription, ou bien la
compaction et l'inhibition de
l'ARN polymérase II pour la
répression.



Les signatures chromatinienne de l'hétérochromatine

Au sein des noyaux eucaryotes, on distingue deux grands types de chromatine : l'euchromatine et l'hétérochromatine. Au départ considérés selon un critère de densité en microscopie électronique (zones claires pour l'euchromatine et foncées pour l'hétérochromatine), ces deux types de chromatine possèdent des propriétés génomiques particulières, ainsi que des marques et des mécanismes épigénétiques qui les caractérisent (Ho *et al.*, 2014). L'hétérochromatine, qui représente plus de 50 % du génome humain, est la forme la plus compacte de la chromatine dans les noyaux. Pauvre en gènes et très peu active d'un point de vue transcriptionnel, elle renferme de larges portions de séquences répétées situées à proximité des centromères et télomères. Éparpillées le long des chromosomes, on trouve également des zones un peu plus petites d'hétérochromatine (de l'ordre de 1 Mb mais pouvant aller jusqu'à 5 Mb) renfermant des séquences répétées. Ces portions d'hétérochromatine sont souvent retrouvées à la périphérie du noyau, et elles correspondent à des *Lamina-Associated Domains* (LADs). Par rapport à l'euchromatine, les histones de l'hétérochromatine sont hypoacétylées. La marque épigénétique très caractéristique de l'hétérochromatine est la di- ou tri-méthylation de la lysine 9 sur l'histone H3, notée H3K9me2 ou H3K9me3. Chez les mammifères, l'enzyme responsable du dépôt de cette marque, au moins au niveau de l'hétérochromatine péri-centromérique, est la KMT SUV39H1/2. Sur les

autres domaines d'hétérochromatine, d'autres KMTs telles que G9a et SETDB1 peuvent réaliser cette fonction. La marque H3K9me3 est spécifiquement reconnue par le facteur HP1 (*Heterochromatin Protein 1*), une protéine très conservée chez les eucaryotes excepté chez la levure du boulanger. Du fait de ses propriétés d'oligomérisation et d'association avec différents facteurs cellulaires, HP-1 contribue à la structure compacte de l'hétérochromatine et coordonne les activités multiples au niveau de celle-ci, comme la répression transcriptionnelle, la réplication et la cohésion des centromères au moment de la mitose. Au niveau de l'hétérochromatine, on trouve également la marque H4K20me3 déposée par la KMT SUV4-20H1/2 (Saksouk *et al.*, 2015).

La chromatine active de l'euchromatine

L'euchromatine, qui renferme la plupart de nos gènes, est, elle, beaucoup moins compacte que l'hétérochromatine. On dit qu'elle est plus ouverte, induisant un état de la chromatine plus compatible aux mécanismes moléculaires de la transcription ou de la réplication. Au niveau de l'euchromatine, on trouve un large ensemble de marques chromatinienne. Certaines seront associées à l'état actif des gènes, d'autres à l'état réprimé ou silencieux, d'autres encore à un état

de pause, c'est-à-dire des gènes qui se préparent à une activation future. Ainsi, suivant les besoins en gènes actifs dans les différentes cellules ou tissus d'un organisme, les marques épigénétiques représentent de véritables étiquettes et

permettent la lecture fonctionnelle du génome. Le long du génome, on trouve donc de petits domaines de chromatine active, représentant souvent des clusters de gènes actifs, une organisation qui facilite leur co-régulation (figure 3.7).

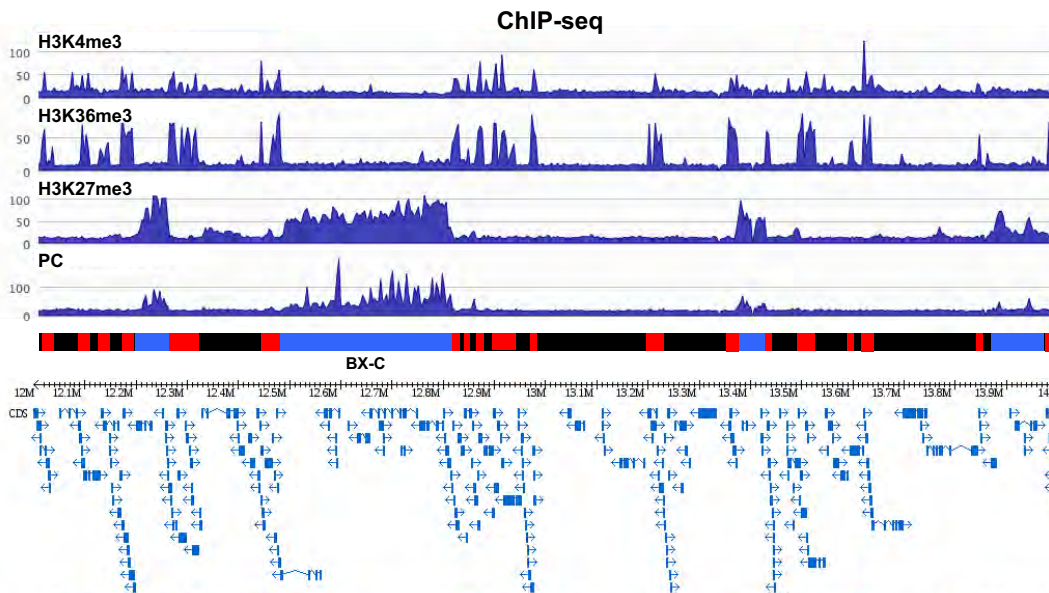
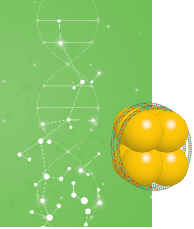


Figure 3.7 : Alternance de domaines épigénétiques actifs et réprimés dans l'euchromatine. L'exemple correspond à 2 Mb (12-14Mb) du bras chromosomique 3R de drosophile, incluant les gènes *hox* du complexe bithorax (BX-C). Profils d'immunoprécipitation de la chromatine (ChIP-seq) montrant la distribution des marques H3K4me3, H3K36me3, H3K27me3 et la protéine Polycomb (PC) chez des embryons tardifs (14-16h) de drosophile (données modENCODE). Les domaines actifs (rectangles rouges/H3K4me3/H3K36me3) sont en général de petite taille, ils contiennent notamment de nombreux gènes de ménage indispensables à la fonction de toute cellule. Les domaines réprimés (rectangles bleus/H3K27me3/PC ou noirs/Void/Null/sans marque spécifique) sont en général plus larges. Ils contiennent des gènes qui seront activés à des moments et/ou des endroits spécifiques au cours du développement de l'individu. Les coordonnées génomiques et les gènes de cette région sont indiqués à la suite des profils.

Cette chromatine est de loin la chromatine la plus accessible et la plus hétérogène, avec une multitude de facteurs de transcription et chromatiniens qui s'y fixent et une pléthore de marques histones qui la caractérisent, notamment les méthylations sur les lysines 4, 36, 79 de l'histone H3 et des acétylations sur plusieurs lysines des queues N-terminales des histones H3 et H4. De manière plus précise, on trouve systématiquement la marque H3K4me3 au niveau des promoteurs des gènes actifs (Heintzman *et al.*, 2007 ; Mikkelsen *et al.*, 2007). Dans le corps du gène, on trouvera plutôt la marque H3K36me3 jusqu'au signal de terminaison de la transcription, avec un enrichissement plus important au niveau des exons (c'est-à-dire des séquences ADN qui

se retrouvent dans l'ARN mature) par rapport aux introns (qui correspondent aux séquences ADN exclus de l'ARN mature). La localisation de cette marque épigénétique H3K36me3 est ainsi liée à une plus forte densité des nucléosomes dans les exons (Schwartz *et al.*, 2009). Les éléments régulateurs tels que les *enhancers* des gènes actifs possèdent également leur propre signature épigénétique, à savoir un enrichissement d'H3K4me1 et H3K27ac (Heintzman *et al.*, 2007). De manière intéressante, la localisation très spécifique de ces marques épigénétiques peut même faciliter l'annotation du génome et permettre la découverte de nouveaux ARNs non-codants, promoteurs et *enhancers* (Heintzman *et al.*, 2007 ; Mikkelsen *et al.*, 2007).



Les marques actives de méthylation sont déposées par les protéines à domaine SET du groupe Trithorax. Initialement découvertes chez la drosophile, les protéines MLL (*Mixed-Lineage Leukemia*) des complexes COMPASS sont leurs homologues chez les mammifères. On trouve les complexes MLL3/4-COMPASS pour la déposition d'H3K4me1 au niveau des *enhancers*, facilitant le recrutement d'autres activateurs comme les HATs CBP/p300 pour l'acétylation H3K27ac de ces éléments. MLL2-COMPASS assure le dépôt de la marque H3K4me3 au niveau des gènes bivalents, qui sont des cibles des facteurs Polycomb (voir ci-dessous), tandis que MLL1-COMPASS, l'homologue mammifère

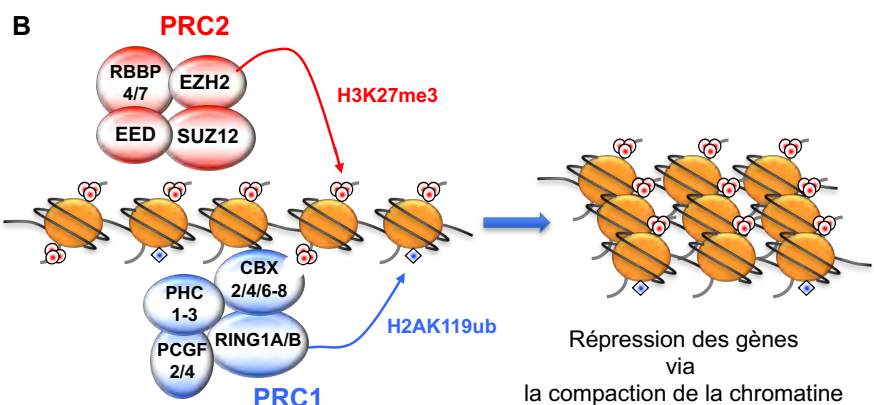
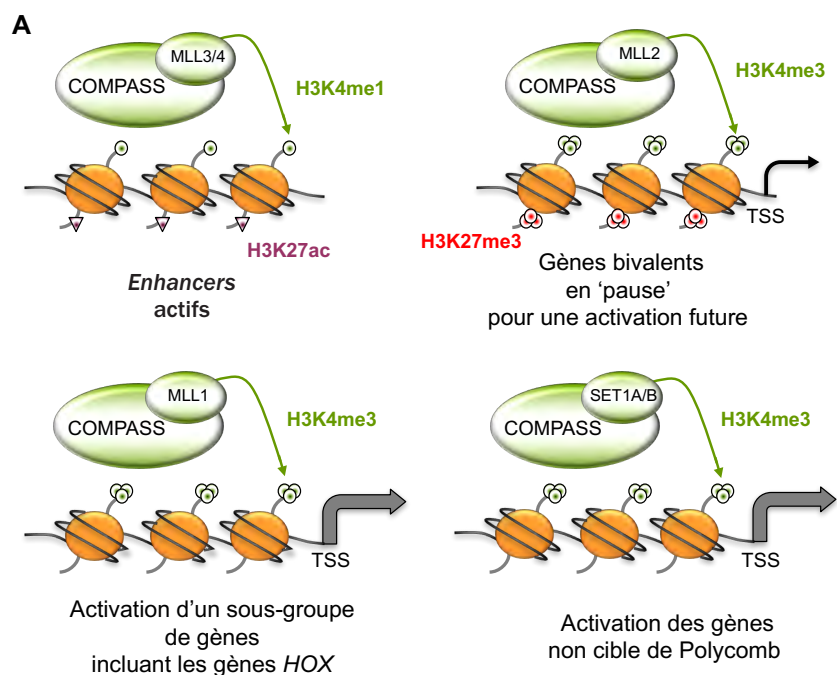
de Trithorax, dépose la marque H3K4me3 pour l'activation d'un sous-groupe de gènes, incluant les gènes HOX qui sont également cibles de Polycomb. Enfin, SET1-COMPASS assure cette fonction au niveau des autres gènes actifs, notamment les gènes de ménage (figure 3.8 - Schuettengruber *et al.*, 2017).

Ces marques épigénétiques peuvent entraîner le recrutement de protéines de remodelage de la chromatine pour permettre des déplacements de nucléosomes et rendre la chromatine encore plus accessible aux facteurs de transcription et favoriser la processivité de la machinerie de transcription (Hu et Tee, 2017).

Figure 3.8 : Fonction des complexes Polycomb et Trithorax/MLL/SET-COMPASS sur la chromatine.

A. Activation des gènes via les complexes COMPASS. Ces complexes contiennent différentes sous-unités leur conférant une très grande spécificité. Ils peuvent contenir ou s'associer à des KDMs comme UTX/JMJD3 pour effacer la marque de répression H3K27me3.

B. Les deux complexes Polycomb canoniques mammifères sont représentés. Plusieurs combinaisons de facteurs sont trouvées en fonction du type cellulaire. Un premier modèle implique le complexe core PRC2 qui dépose la marque H3K27me3 qui est reconnue par la protéine à chromodomain Polycomb/CBX du complexe PRC1, provoquant la compaction de la chromatine. Chez les mammifères, un modèle alternatif implique un variant de PRC1 contenant l'ubiquitin ligase RING1B. Ce variant, plus efficace pour déposer la marque H2AK119ub. PRC2, à l'aide de protéines accessoires, est capable de lire cette marque, représentant un système de double *writer-reader* qui peut conduire au renforcement des effets associés à ces complexes. Pour plus de détails, voir Schuettengruber *et al.*, 2017.



La chromatine réprimée de l'euchromatine

On distingue deux types de chromatine réprimée le long du génome, formant le plus souvent d'assez larges domaines, isolés des domaines actifs de l'euchromatine (Ho et al., 2014). Le premier fait intervenir la marque de répression H3K27me3, caractéristique du système des protéines du groupe Polycomb. Ce système est composé de deux complexes majeurs, *Polycomb Repressive Complex 1* et 2, respectivement PRC1 et PRC2. PRC2 est le complexe qui contient la KMT *Enhancer of Zeste* (E(Z) chez la drosophile et EZH2 chez l'homme). Ce *writer* à domaine SET est l'unique dépositaire de la marque H3K27me3 dans le génome. PRC1 contient la protéine éponyme Polycomb chez la drosophile (CBX chez les mammifères), qui possède un chromodomaine capable de reconnaître spécifiquement cette marque répressive (figure 3.8). La répression dépendante de Polycomb est un processus complexe, conduisant à l'inhibition de la machinerie transcriptionnelle et la compaction de la chromatine (Bantignies et Cavalli, 2011). Les protéines du groupe Polycomb régulent des gènes spécifiques de voies de différenciation et de développement. En général, ces gènes sont maintenus stablement réprimés par le système Polycomb dans les cellules où ils n'ont pas de fonction (par exemple, un gène homéotique postérieur dans des tissus/organes antérieurs ; un gène de différenciation neuronale dans des cellules musculaires ou fibroblastes...).

Les domaines bivalents liés à l'activité des groupes Polycomb et Trithorax représentent un cas particulier de la régulation épigénétique. En effet, ces domaines possèdent à la fois la marque active H3K4me3 et la marque répressive H3K27me3, indiquant une co-existence des deux systèmes à certains endroits du génome. On retrouve notamment ces deux marques au niveau des gènes de différenciation et de développement dans les cellules pluri-potentes et les cellules progénitrices. Dans ce cas, les gènes sont mis en pause pour être activés ou réprimés ultérieurement suivant les signaux de différenciation.

Le deuxième type de chromatine réprimée est moins bien caractérisé que la chromatine du système Polycomb, mais représente jusqu'à 50 % du génome (en considérant les séquences non-répétées) (Filion et al., 2010 ; Ho et al., 2014). Cette chromatine, également appelée *Black*,

Void ou *Null*, possède des gènes importants qui sont exprimés de manière très spécifique dans les tissus au cours du développement. Les mécanismes épigénétiques sous-jacents à cette chromatine réprimée sont cependant peu connus. Elle apparaît enrichie en histone *linker* H1, impliquée dans la compaction de la chromatine. Elle est également enrichie en LADs et possède la marque H3K27me2. Bien que PRC2 ne soit pas retrouvé dans ces régions, il est proposé qu'H3K27me2 soit produit par des associations labiles de PRC2/E(Z) et du complexe contenant UTX, l'*eraser* spécifique de la méthylation sur H3K27 (Lee et al., 2015).

En conclusion, les mécanismes épigénétiques sont au cœur de la fonction du génome au cours du développement de n'importe quel organisme vivant. Dans ce contexte, H3K4me3 et H3K27me3 apparaissent comme deux marques chromatiniennes majeures, qui expliquent un grand nombre d'états transcriptionnels des gènes, à savoir actifs, réprimés ou en pause dans l'attente d'une activation future. Associées à des données transcriptomiques, la connaissance de leur distribution génomique représente une piste importante pour la compréhension de variations épigénétiques au sein de larges populations d'individus d'une même espèce, ou encore contribuer à l'annotation des génomes de nouvelles espèces. Enfin, la marque H3K27me3 semble également importante pour le maintien des états géniques à travers la méiose et sur plusieurs générations, pouvant potentiellement jouer un rôle dans l'hérédité et du coup dans l'évolution des espèces (Ciabrelli et al., 2017 ; Zenk et al., 2017).





Les petits ARNs régulateurs

Il existe un ensemble d'éléments régulateurs des processus épigénétiques dont la découverte a profondément modifié notre vision sur le contrôle de l'expression des gènes. Ces éléments sont soit des séquences d'ADN régulatrices localisées parfois à grande distance des gènes, soit des petites molécules d'ARNs régulateurs. Ces petits ARNs sont impliqués dans des mécanismes réprimant l'expression des gènes et constituent des voies de régulation universelles chez les eucaryotes. Ces voies jouent un rôle majeur dans un grand nombre de processus biologiques tels que le développement, la réponse aux stress, le maintien de la stabilité des génomes, l'architecture des chromosomes et la répression des virus.

Les petits ARNs agissent notamment en contrôlant la méthylation de l'ADN et l'assemblage de la chromatine. Ces voies de régulation, bien que différentes, impliquent toutes des petits ARNs de 20 à 30 nucléotides chargés par des protéines effectrices de la famille Argonaute. Le complexe petit ARN/protéine Argonaute cible l'ARN messager ou l'ADN complémentaire à la séquence du petit ARN et la protéine effectrice induira soit le clivage de l'ARN, soit la répression de sa traduction ou celle de la transcription du gène correspondant.

En fonction des organismes, différents mécanismes d'action ont pour le moment été décrits. Deux cas particuliers observés chez la drosophile et chez les végétaux sont présentés ici.

La biogénèse des petits ARNs et leur implication dans la répression des éléments transposables

Chez la drosophile il existe trois classes de petits ARNs régulateurs :

- Les miARNs (microARNs),
- Les siARNs (*small interfering* ARNs),
- Les piARNs (*Piwi-interacting* ARNs).

Alors que les voies des miARNs et des siARNs sont maintenant bien documentées, le mode d'action des piARNs découverts plus récemment, en 2001, reste encore largement inconnu. Ce chapitre résume les connaissances acquises sur le rôle des piARNs dans la répression transcriptionnelle et le dépôt de marques épigénétiques répressives sur les séquences répétées que sont les éléments transposables (ETs). Pour rappel, les éléments transposables sont présents dans tous les génomes (ils représentent 45 % du génome humain) et peuvent être à l'origine de dérégulation des cellules, comme dans les cas de cancer, si leur activité n'est pas contrôlée. Chez les drosophiles, ils peuvent être aussi des vecteurs extra chromosomiques de l'hérédité épigénétique transgénérationnelle. L'étude des relations entre les piARNs et les ETs est donc très importante à documenter.

Les piARNs, longs de 23 à 30 nucléotides, dérivent de la dégradation de transcrits produits par des régions hétérochromatiques appelées « clusters de piARNs ». Ces régions hétérochromatiques

sont riches en séquences d'ETs. Dans ces régions, les séquences d'ETs ont accumulé de nombreuses mutations les rendant incapables de transposer et donc de se déplacer dans le génome. L'analyse des données de séquençage des piARNs présents dans les ovaires de drosophile a révélé que les piARNs pouvaient présenter des séquences complémentaires deux à deux sur leurs 10 premiers nucléotides. Cette caractéristique permet la production de piARNs appelés boucle « ping-pong ». Dans cette boucle, un piARN induit la coupure d'un transcrit précurseur de piARNs, contribuant ainsi à la production d'un autre piARN (figure 3.9).

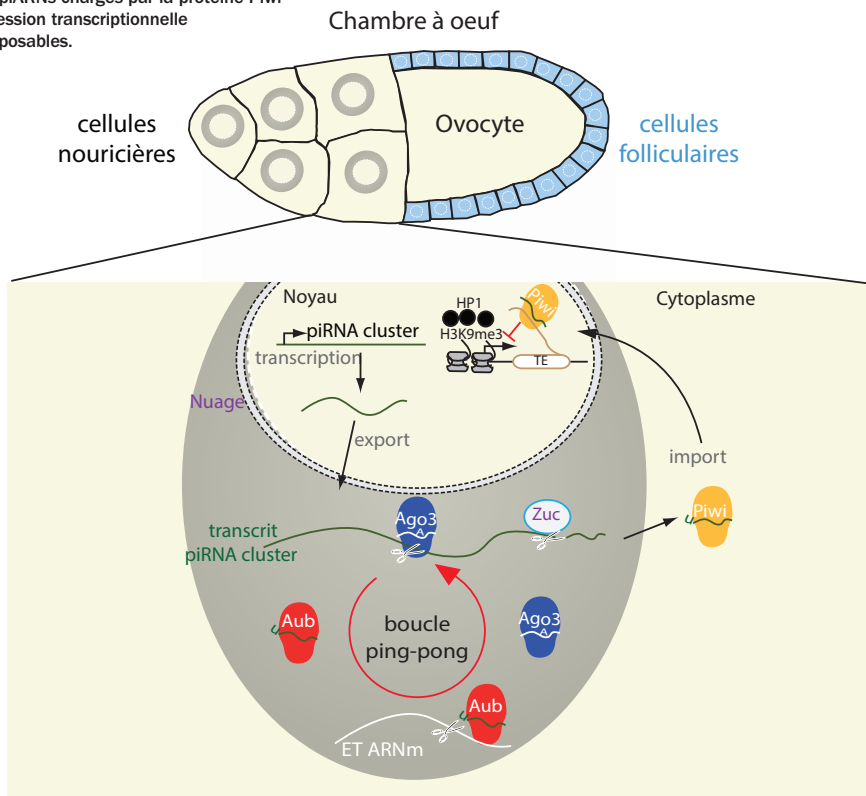
Les protéines effectrices de la sous-famille Argonaute appelées PIWI, présentes dans les tissus reproducteurs, chargent les piARNs. Chez la drosophile il existe trois protéines Argonaute de la sous-famille PIWI : Aubergine (Aub), Argonaute 3 (Ago3) et Piwi. Aub et Ago3 sont des protéines cytoplasmiques exprimées dans les cellules germinales et qui participent à la production des piARNs via la boucle d'amplification ping-pong. Plus précisément, les piARNs chargés par la protéine Ago3 ciblent le transcrit long des clusters de piARNs principalement

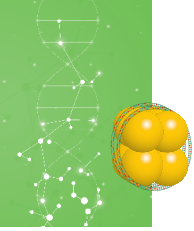
composé de séquences complémentaires des éléments transposables et induit la coupure et le chargement par Aub des piARNs antisens des ETs. Dans le cytoplasme des cellules germinales, la coupure du précurseur de piARN par une endonucléase appelée Zucchini (Zuc) induit la formation de nouveaux piARNs qui vont être chargés par la protéine Piwi. Cette protéine, une fois chargée, va se localiser dans le noyau. Le complexe Aub/piARN réprime les ETs au niveau post-transcriptionnel par clivage, alors que le complexe Piwi-piARN, localisé dans le noyau, réprime les ETs au niveau transcriptionnel via la méthylation sur la lysine 9 de l'histone H3 (H3K9me3).

Le modèle actuel pour le dépôt de marques épigénétiques sur les séquences des ETs est le suivant : le complexe Piwi/piARN identifie les transcrits naissants des ETs par homo-

logie de séquence avec le piARN, puis une histone méthyl-transférase (Egg/SetDB1) est recrutée afin de triméthylter la lysine 9 de l'histone H3 (H3K9me3) et former une chromatine répressive. Enfin, la protéine hétérochromatinienne 1A (HP1a), qui reconnaît les marques de méthylation de l'histone H3 va consolider et induire l'hétérochromatinisation des séquences d'ETs. Cependant, les mécanismes par lesquels ces complexes peuvent induire des modifications épigénétiques sont encore énigmatiques. Il est important de noter que le dépôt de ces marques épigénétiques, médié par des petits ARNs régulateurs, peut affecter l'expression des gènes qui flanquent les séquences des ETs. Ces données suggèrent que, via le dépôt de marques épigénétiques, les petits ARNs régulateurs jouent un rôle majeur dans l'expression des gènes.

Figure 3.9 : Biogenèse et rôle des piARNs dans la lignée germinale chez la drosophile. La biogenèse des piARNs par la boucle d'amplification ping-pong induit la répression post-transcriptionnelle des éléments transposables. Les piARNs chargés par la protéine Piwi vont induire la répression transcriptionnelle des éléments transposables.



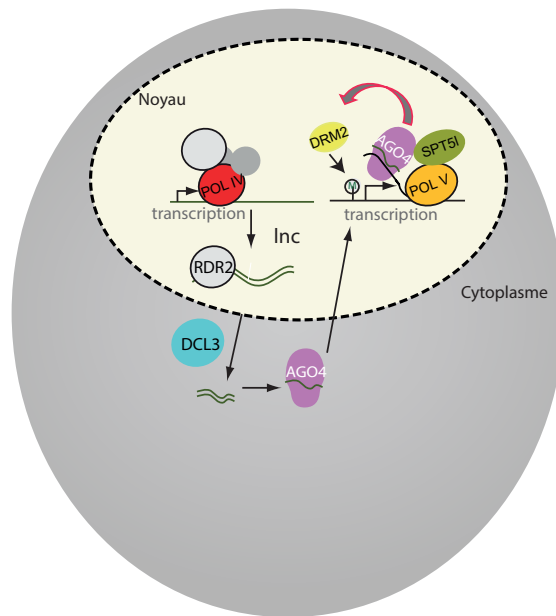


Biogénèse des hcsiARNs de plantes et leur implication dans la répression de la transcription

Chez les végétaux, une classe particulière de petits ARNs, les hcsiARNs, est impliquée dans le contrôle de la méthylation *de novo* de l'ADN par la voie dite du RdDM (*RNA-directed DNA methylation*). Ce mécanisme est principalement impliqué dans le *silencing* de transposons (ETs), mais aussi, dans certains cas, dans la régulation du développement et la réponse à certaines contraintes. Cette voie, initialement décrite en 2009 chez *Arabidopsis thaliana*, implique deux nouveaux complexes de polymérasés, le com-

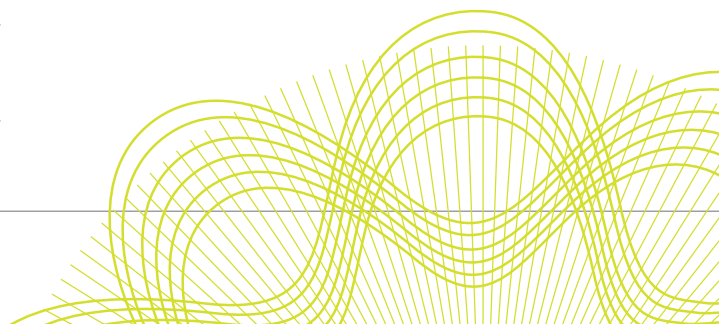
plexe POL IV et le complexe POL V qui sont uniquement présents chez les végétaux (Pontier *et al.*, 2005). Ces deux complexes se différencient principalement par leurs grandes sous unités NRPD1 pour POL IV et NRPE1 pour POL V. La voie du RdDM est initiée par de longs transcrits produits par le complexe Pol IV qui sont pris en charge par RDR2, une ARN polymérase dépendante de l'ARN, qui permet la production de brins d'ARNs complémentaires et la libération de longs duplex d'ARNs (figure 3.10).

Figure 3.10 : Biogénèse et rôle des hcsiARNs chez les plantes. La biogénèse des hcsiARNs est initiée par la production de l'inc (*long ARN non codant*) par la polymérase IV, RDR2 permet ensuite la synthèse des brins complémentaires, DCL3 fragmente les doubles brins d'ARN qui seront ensuite pris en charge par AGO4. L'un des deux brins est dégradé et l'association AGO4/hcsiARN est recrutée par les plateformes à AGO présentes au niveau du complexe polymérase V. Cette interaction permet le recrutement de DRM2 qui va méthyler l'ADN.



Les longs duplex d'ARNs sont alors pris en charge par DCL3, une enzyme de la famille des Dicer, qui coupe et libère des duplex de petits ARNs de 20 à 25 nucléotides. Ces petits fragments d'ARN double brin interagissent ensuite avec la protéine ARGONAUTE 4 (AGO 4), l'une des 10 protéines Argonautes présentes chez *Arabidopsis thaliana*. Cette association s'accompagne par la dégradation de l'un des brins du duplex. Les hcsiARN ainsi associés à AGO4 sont ensuite recrutés avec le complexe POL V, via la plateforme AGO *hook* des protéines NRPE1 et SPT5like, qui est un facteur d'élongation de la transcription, et permet le recrutement d'ADN méthylases qui méthylient de manière très spécifique les cytosines de l'ADN (Lahmy *et al.*, 2016). Les effets de ces méthylations ciblées, contrôlées par la production de petits ARNs par-

ticuliers, permettent entre autres de réprimer la transcription des ETs et donc, de limiter les transpositions de ces éléments. Cela assure ainsi une certaine stabilité et donc une certaine intégrité du génome. Une participation dans le contrôle de gènes impliqués dans le développement ou dans la réponse à des stress environnementaux a aussi été démontrée. Enfin ce mécanisme peut aussi être activé, après intégration dans le génome de fragments d'ADN exogènes ou après des infections virales afin, là encore, de protéger l'intégrité du génome.



Les petits ARNs et l'hérédité épigénétique transgénérationnelle

Certaines marques épigénétiques sont susceptibles d'être transmises à la descendance. La transmission transgénérationnelle de marques matérialisées par la méthylation de l'ADN est très documentée chez les plantes. Chez les mammifères, l'étude du phénomène est beaucoup plus complexe et fait encore l'objet de controverses, même si de nombreuses études rapportent que des modifications épigénétiques, influencées par l'environnement (stress, alimentation), affectent l'expression des gènes au travers des générations.

Par exemple, il a été montré que la malnutrition constituait un stress important pour notre organisme. Ce dernier répond en élevant le niveau circulant d'hormones de stress. Des études épidémiologiques réalisées dans une petite ville située au-delà du cercle polaire en Suède, montrent que les habitants sont plus susceptibles de développer un diabète ou des maladies cardiovasculaires si leurs ancêtres ont subi des déséquilibres nutritionnels. De nombreux exemples de ce type existent, mais les mécanismes moléculaires de cette transmission restent à élucider.

Deux exemples pris chez la drosophile illustrent la façon dont les petits ARNs régulateurs influencent la régulation épigénétique à travers les générations.

Le premier cas rapporté en 2012 correspond à un phénomène de paramutation (de Vansay *et al.*, 2012). La paramutation correspond à une interaction entre deux allèles conduisant à la modification héritable d'un des allèles par l'autre, sans modification de la séquence nucléique de l'allèle modifié. L'allèle paramuté conserve ensuite les propriétés épigénétiques ainsi acquises au travers des générations et devient à son tour paramutateur. Ainsi, il a été montré, chez la drosophile, qu'un *locus* A est capable d'induire la répression en trans d'un *locus* B inséré ailleurs dans le génome. Le *locus* A est capable de conférer, par simple transmission cytoplasmique, ses capacités répressives à un *locus* homologue A' qui était précédemment incapable d'établir la répression en trans du *locus* B. La paramutation du *locus* A' est corrélée avec la capacité de cet « allèle » à produire des piARNs. Cette capacité nouvelle à produire des piARNs est stable au travers des générations ($n > 30$) et l'« allèle » paramuté devient à son tour paramutateur. Cette paramutation ne nécessite pas un

appariement entre les *loci* paramutateur et paramuté, mais seulement le transfert des piARNs maternels via le cytoplasme de l'ovocyte.

Une autre étude a montré que la quantité de piARNs produits lors de l'ovogenèse augmente avec l'âge de la mouche (Grentzinger *et al.*, 2012). Plus une drosophile est âgée, plus la quantité de piARNs accumulée dans le cytoplasme de l'ovocyte augmente. Cette augmentation permet d'accroître le pool de piARNs déposé dans l'embryon. Cette augmentation se traduit par une meilleure capacité à réprimer un élément transposable, appelé élément I, dans la lignée germinale femelle de la descendance. Une fois acquise, cette capacité à réprimer se transmet au travers des générations. Elle ne dépend que de la quantité des piARNs présents dans l'embryon qui seront susceptibles d'amorcer la boucle ping-pong essentielle à la production de nouveaux piARNs dans la lignée germinale.

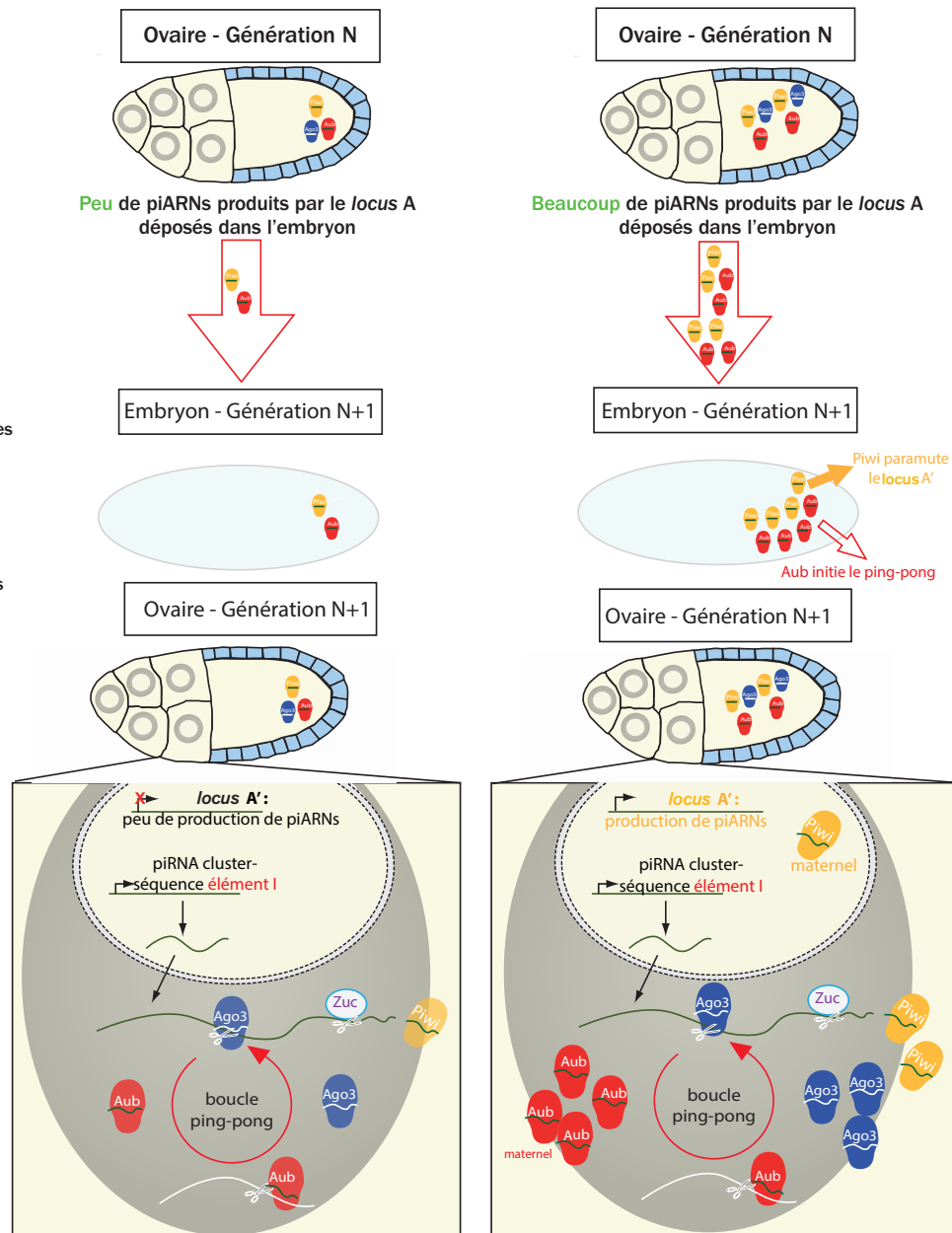
Chez les plantes, il a été montré que la méthylation de l'ADN est majoritairement maintenue au cours de la reproduction, en partie par les mécanismes dits de maintenance, mais aussi par la voie RdDM. Cette caractéristique permet, entre autres, la transmission éventuelle de marques épigénétiques mises en place au cours de la vie de la plante.

Il a, par exemple, été montré l'acquisition d'une tolérance aux pathogènes associée à une certaine dé-méthylation de l'ADN. La dé-méthylation et la résistance ainsi acquises, peuvent ensuite, dans de nombreux exemples, être transmises à la descendance (Baulcombe et Dean, 2014). De même, il a été observé que des plantes mutées dans des gènes codant des protéines impliquées dans la voie RdDM qui assure la méthylation *de novo* de l'ADN, sont souvent altérées dans leur capacité à transmettre à leur descendance une résistance acquise à différents stress environnementaux, tels que la sécheresse, la chaleur ou le froid (Rasmann *et al.*, 2012). Un exemple précis est celui de plantes d'*Arabidopsis* déficientes en protéines NRPE1 (la grande sous unité du complexe de la polymérase V) qui est impliquée dans la voie RdDM. Ces plantes ont un ADN hypo-méthylé et présentent une plus grande résistance à différents pathogènes. Cependant, contrairement à des plantes sauvages, ces plantes sont incapables de transmettre la résistance acquise à leur descendance (Lopez Sanchez *et al.*, 2016).

Figure 3.11 : Les piARNs et l'hérédité épigénétique transgénérationnelle dans le modèle drosophile.

À gauche : Faible initiation de la boucle ping-pong induisant peu de piARNs produits : pas d'accumulation des piARNs cytoplasmiques. Pas de marques épigénétiques induites sur la chromatine du locus A'.

À droite : Forte initiation de la boucle ping-pong induisant une forte production des piARNs. Marques épigénétiques induites sur la chromatine du locus A'.



Récemment enfin, il a aussi été mis en évidence que le degré de méthylation d'un transposon NMR19 (*Naturally occurring DNA Methylation variation Region 19*) varie en fonction de l'environnement et que cette variation est héritable et agit sur l'expression du gène PPH codant une *Pheophytin Pheophorbide Hydrolase* (Hell et al., 2018). Cette observation correspond à un exemple d'épi-allèle naturel lié à l'environnement.

Ces exemples montrent que les marques épigénétiques mises en place au cours de la vie des plantes, principalement par la voie RdDM (contextes CHH et CHG) peuvent être trans-

mises à la descendance. Un certain nombre d'observations indiquent que ces différentes marques peuvent être, au cours du temps, renforcées par la mise en place de méthylation de type CpG, qui seront ensuite conservées par les mécanismes de maintenance.

Une exception à la maintenance de la méthylation de l'ADN chez les végétaux est cependant observée dans les noyaux végétatifs des grains de pollen, pour lesquels la méthylation de l'ADN est diminuée principalement au niveau des ETs (Bond et Baulcombe, 2014). Dans ce cas il est suggéré que la déméthylation observée permet la transcription des ETs, ce qui a, entre autres, pour

effet de générer la production de petits ARNs qui seraient capables de transiter vers les cellules reproductrices et permettraient de renforcer la méthylation des ETs. Un autre exemple de la présence d'une certaine voie de reprogrammation est celle observée dans des lignées affectées dans les gènes MET1 ou DDM1, dont les produits sont impliqués dans la maintenance de la méthylation de l'ADN principalement dans les contextes CpG. Ces lignées présentent une forte dé-méthylation de leur ADN sur au moins 5 générations, puis les méthylations de l'ADN se remettent progressivement en place (Youngson *et al.*, 2014).

En conclusion si l'importance des ARNs régulateurs dans l'hérédité épigénétique est clairement démontrée dans un certain nombre d'études, la compréhension fine des processus en jeu est loin d'être résolue. Il est essentiel de mieux comprendre comment ces petits ARNs affectent l'expression des gènes et comment l'environnement affecte leur production. L'interrogation ultime est de reconstituer les mécanismes par lesquels ces molécules véhiculent des informations permettant de modifier l'épigénome sur plusieurs générations et, si ces modifications sont transmises sur un nombre suffisant de générations, pour donner prise à la sélection naturelle.

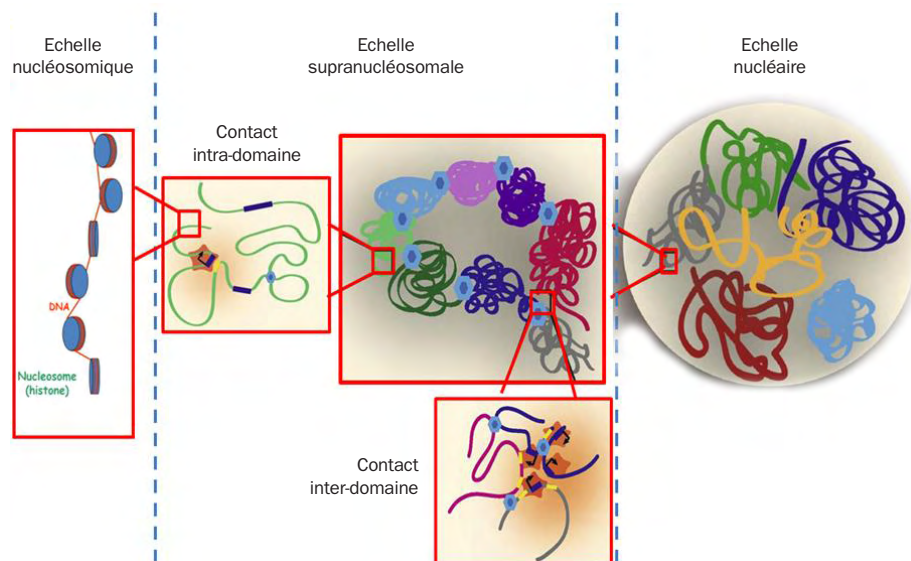
III.4

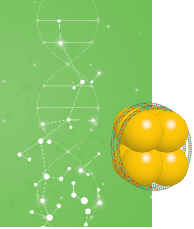
La topologie du noyau

Pendant longtemps, notre compréhension des mécanismes de régulation de l'expression des gènes s'est appuyée sur une vision linéaire du génome. Cette vision est actuellement beaucoup plus complexe et repose sur une dynamique très active de l'organisation tridimensionnelle de la chromatine à l'intérieur du noyau. Les techniques modernes d'imagerie permettent de visualiser spécifiquement chaque molécule d'ADN et apportent un éclairage nouveau sur les liens entre la conformation de la chromatine et le contrôle de l'expression des gènes.

Les études menées sur le noyau ont ainsi montré que l'architecture chromatinienne, c'est-à-dire son organisation en « boucles », « domaines » et « territoires » avec des fonctions dédiées, correspond à un facteur structural régulant l'interaction physique entre les promoteurs et des éléments régulateurs distants (figure 3.12). Cette architecture chromosomique est établie par l'action des complexes de modification des histones, de remodelage de la chromatine, des longs ARNs non-codants et d'un arsenal de protéines médiatrices. Plusieurs études ont montré

Figure 3.12 : Vue globale du noyau d'une cellule et de l'organisation de la chromatine en domaines, superdomaines et territoires chromosomiques.





que chaque chromosome occupe son propre territoire à l'intérieur du noyau, suivant une distribution leur permettant d'interagir avec d'autres régions génomiques présentant des similarités dans leurs états transcriptionnel et épigénétique. Cette organisation chromosomique facilite le regroupement spatial de régions chromatiniennes en super-domaines qui s'assemblent pour donner ce que l'on appelle les territoires chromosomiques (Cremer et Cremer, 2001). Les

territoires chromosomiques peuvent rester très stables au cours de l'évolution. Par exemple chez les primates, il a été montré que les chromosomes humains et les chromosomes correspondants du gibbon, du chimpanzé et du gorille sont situés à la même position dans les noyaux (Tanabe *et al.*, 2002). L'impact physiologique de telles organisations tridimensionnelles suggère qu'il correspond à un évènement biologique sélectionné au cours de l'évolution.

Imagerie et séquençage pour reconstruire la topologie du noyau

La microscopie a été la première approche utilisée pour étudier la conformation des chromosomes dans différents organismes et types cellulaires mais cette approche ne permet pas de déterminer l'impact de l'architecture chromosomique sur la physiologie cellulaire puisque les données produites ne peuvent pas être interprétées au niveau génomique et transcriptionnel. Pour surmonter une telle limitation, les techniques dérivées du *Chromosome Conformation Capture* (3C) ont émergé (figure 3.13), contribuant de façon significative à l'identification de régions géno-

miques interagissant les unes avec les autres chez la levure, les animaux et les plantes. Le principe commun à ce groupe de techniques est l'identification de deux ou plusieurs régions génomiques qui sont suffisamment proches pour être liées de façon croisée à l'aide d'un agent fixateur et donc susceptible d'interagir ou par exemple d'être régulées *in vivo* par la même protéine. L'ensemble de l'ADN génomique ainsi « piégé » est fragmenté et séquençé par des approches de séquençage massif. Un traitement bio-informatique permet de reconstruire les interactions.

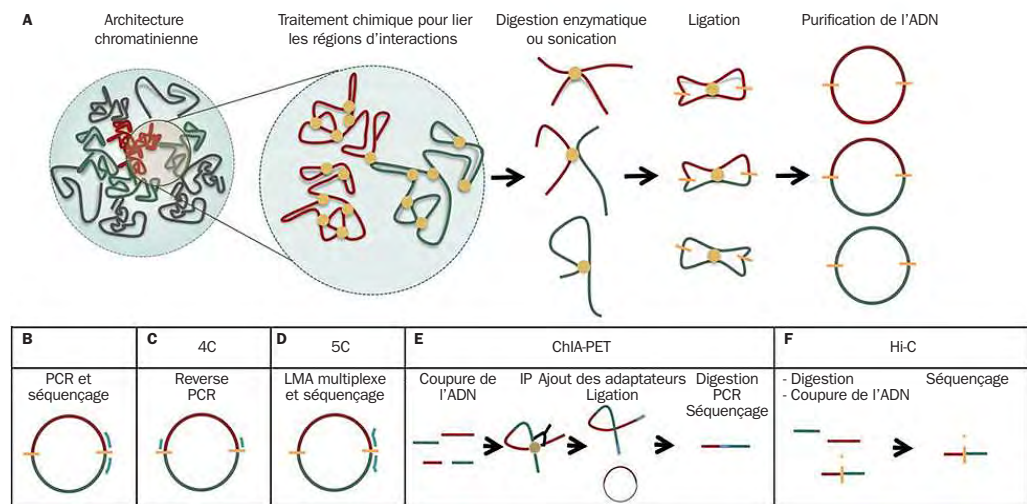


Figure 3.13 : Description générale des techniques dérivées du 3C. A. Initialement, toutes les techniques basées sur le 3C ont pour point commun le principe d'isoler des régions génomiques qui interagissent à l'aide d'un agent fixateur tel que le formaldéhyde (points jaunes). Plusieurs interactions spécifiques et non spécifiques sont obtenues, digérées avec une enzyme ou soniquées, et finalement liguées et purifiées. Les étapes suivantes diffèrent selon la technique utilisée. B. Le 3C utilise les produits de ligation obtenus pour réaliser une PCR et identifier les interactions entre deux fragments d'intérêt. C. Le 4C combine le 3C et le séquençage haut débit pour identifier les contacts entre un locus défini et les régions interagissant avec lui.

D. Le 5C permet l'identification simultanée des interactions entre plusieurs régions génomiques. E. Le ChIA-PET combine l'immunoprécipitation de la chromatine et des analyses de type 3C pour déterminer des interactions entre fragments d'ADN reconnus par une protéine d'intérêt qui est précipitée à l'aide d'un anticorps spécifique. Les fragments obtenus sont ensuite purifiés et séquençés. F. Le Hi-C est une technique de 3C à l'échelle du génome qui permet d'obtenir une information concernant les interactions chromosomiques. Des oligonucléotides biotinylés sont incorporés pour la purification des fragments interagissant et sont ensuite amplifiés et séquençés par séquençage haut débit.

Les déterminants conformationnels diffèrent entre les animaux et les plantes

Chez les animaux, ces approches ont été menées récemment et ont révélé l'existence d'un partitionnement des chromosomes en domaines appelés TADs ou *Topologically Associated Domains* (Sexton *et al.*, 2012). Ces domaines d'environ 1 Mb présentent des fréquences d'interactions chromatiniennes élevées entre les régions internes au domaine, comparées à des régions externes au domaine. Les domaines sont séparés par des zones frontières caractérisées par un enrichissement en protéines structurales, tels que le répresseur transcriptionnel CTCF (pour *CCCTC-binding factor*) et les cohésines, et en gènes fortement transcrits. Les TADs apparaissent comme des organisateurs fonctionnels du génome. Par exemple, ils correspondent à des sous-unités de réplication avec des cinétiques de réplication différentes entre TADs. Ils présentent également des états chromatiniens homogènes enrichis en marques répressives, telles que H3K27me3 ou H3K9me3, ou en marques activatrices, telles que H3K36me3. Cette signature épigénétique à l'intérieur des TADs diffère entre les types cellulaires suggérant un rôle de ces structures dans l'établissement des profils chromatiniens spécifiques à chaque type cellulaire.

Des mécanismes cellulaires spécifiques supplémentaires permettent également d'établir les profils d'expression des gènes à l'intérieur de chaque TAD : la formation de boucles chromatiniennes peut exclure des gènes ou des groupes de gènes de l'influence générale du TAD et/ou leur attribuer des séquences régulatrices spécifiques, subdivisant ainsi le TAD en sous-domaines et boucles. De façon intéressante, les frontières secondaires de ces sous-structures sont plus dynamiques et diffèrent entre les types cellulaires. Il a ainsi été proposé que les TADs fonctionnent comme une structure

cellulaire invariante qui facilite la formation de boucles fonctionnelles cellules-spécifiques, limitant ainsi les interactions fonctionnelles possibles qui pourraient être engagées.

L'architecture chromosomique chez la plante *Arabidopsis* diffère de celle des animaux en particulier par l'absence de TADs. Cependant, des régions génomiques similaires ont été trouvées chez *Arabidopsis* telles que les régions frontières délimitant les TADs et caractérisées par la présence de gènes fortement exprimés. Il a été proposé que cette différence d'organisation entre *Arabidopsis* et les génomes animaux soit due à l'absence prédite de la protéine CTCF et d'autres protéines de même fonction. Ces différences d'organisation pourraient également s'expliquer par les particularités structurales du génome d'*Arabidopsis* tels que sa petite taille, son faible espacement entre les gènes, et la faible proportion de régions péri-centromériques riches en séquences répétées comparées aux régions plus distales et plus riches en gènes. Chez *Arabidopsis*, les études récentes indiquent que les interactions chromatiniennes ont lieu à la fois à longue et à courte distances. Les interactions à longue distance sont importantes pour déterminer la conformation chromosomique générale et ces structures peuvent atteindre 5 Mb en taille. Cependant, la majorité des interactions longue distance chez *Arabidopsis* impliquent des régions hétérochromatiniennes et peuvent être intra- ou interchromosomiques. Récemment, des études cytologiques ont montré que ces régions d'hétérochromatine fortement condensées, appelées chromocentres, sont mises en place pendant la photomorphogenèse de la plantule, suggérant une dynamique et un rôle fonctionnel pour les interactions chromatiniennes dans ces régions au cours du développement.

Impact physiologique de la conformation tridimensionnelle de la chromatine

L'étude des interactions chromatiniennes a révélé que les interactions locales, telles que les boucles chromatiniennes, sont l'une des stratégies les plus utilisées par les éléments régulateurs pour communiquer avec leurs séquences cibles quelle que soit la distance génomique qui

les sépare. Ce mécanisme permet aux génomes complexes de créer des réseaux de régulation, basés sur la proximité spatiale, fonctionnant comme un système intégrateur dynamique et modulable capable d'exprimer plusieurs gènes de façon sélective et coordonnée. Les boucles

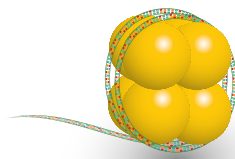
chromatiniennes ont été classées en fonction de leur effet sur la transcription, des éléments génomiques et des protéines impliqués. Chez les plantes, des boucles intra-chromosomiques ont été décrites entre l'extrémité 5' et l'extrémité 3' des gènes transcrits (boucle génique) et également entre des *enhancers* et des promoteurs. C'est au niveau du *locus FLC*, codant un répresseur central de la transition florale, que la première boucle génique a été décrite chez *Arabidopsis*. Divers facteurs endogènes et environnementaux, tels que la durée du jour et la température, convergent au niveau de ce *locus* et y sont intégrés par de multiples mécanismes épigénétiques impliquant en particulier des ARNs non codants, assurant ainsi la coordination entre une étape développementale clé dans la vie de la plante et les conditions environnementales les plus favorables à la reproduction. Un niveau de régulation additionnel a ainsi été mis en évidence avec la formation d'une boucle génique dont l'ouverture apparaît comme une étape précoce des changements épigénétiques qui ont lieu sur ce *locus* au cours de la vernalisation.

Le deuxième type de boucle chromatinienne, qui implique un contact physique entre des *enhancers* et leurs promoteurs, a été décrit chez le maïs au niveau du *locus b1*, dont le niveau d'expression contrôle la pigmentation par les flavonoïdes d'une façon tissu-spécifique. Cette différence de niveau de pigmentation repose sur des change-

ments de l'architecture chromatinienne médiée par la formation de boucles multiples entre le TSS (*Transcription Start Site*) de *b1* et différentes régions génomiques situées en amont.

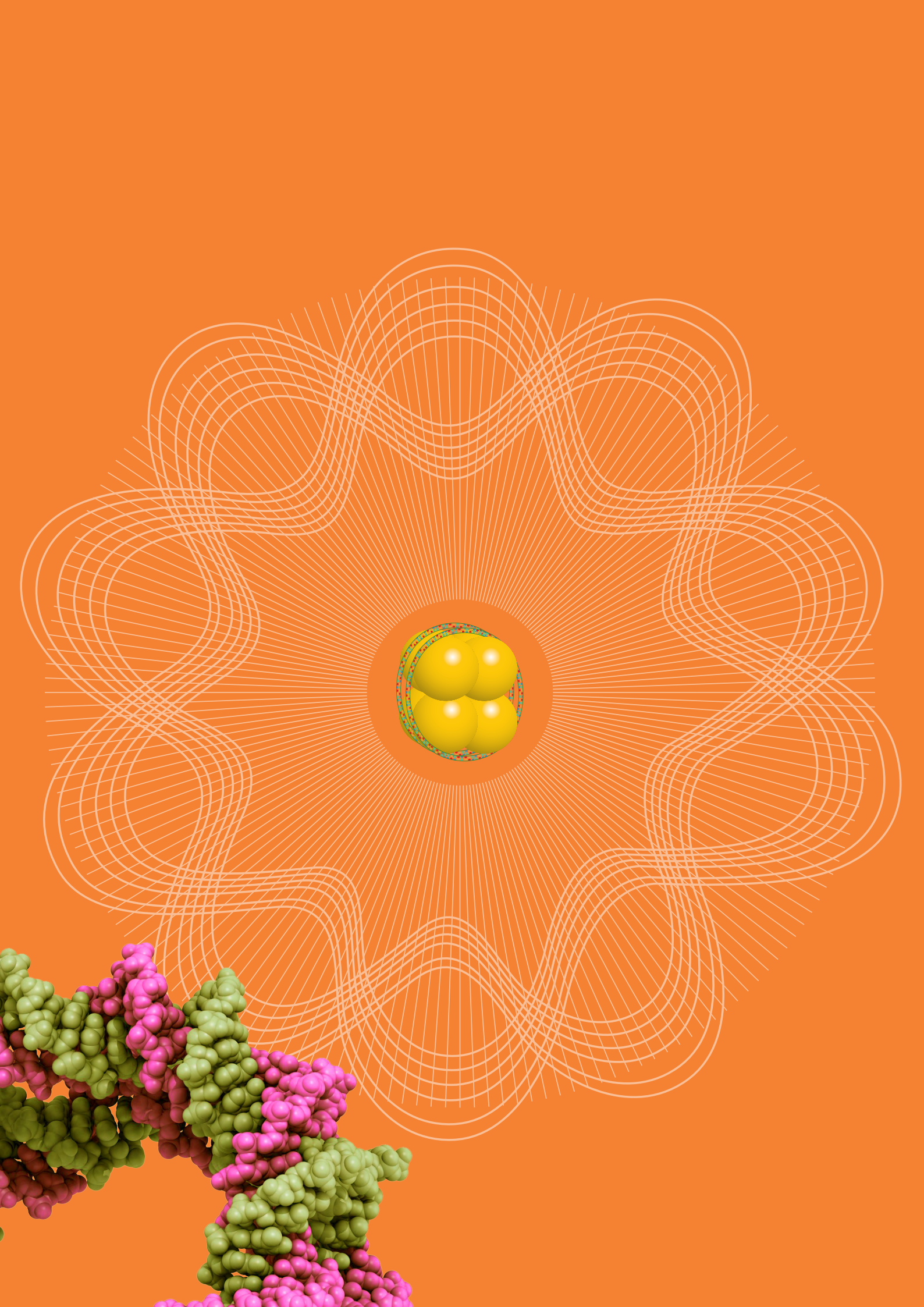
Chez les plantes, la recherche des différents facteurs associés à l'architecture chromatinienne et l'étude de leurs fonctions a permis d'identifier des régulateurs tels que des facteurs de transcription, des complexes de remodelage ATP dépendant, des ARNs non codants, des modifications des histones, la méthylation de l'ADN, et des complexes répresseurs Polycomb.

Les différents travaux menés jusqu'à présent ont permis d'établir une vue générale de l'organisation de la chromatine chez les plantes. Des avancées majeures ont été menées chez la plante modèle diploïde *Arabidopsis thaliana* qui présente un génome de petite taille et compact. L'(in)disponibilité de ressources génomiques est un inconvénient majeur des techniques 4C. Avec l'augmentation du nombre de séquences génomiques disponibles, en particulier pour les plantes avec des génomes de plus grande taille, la diversité de l'organisation de la structure chromatinienne à travers le règne végétal a commencé seulement à être explorée. Pour le moment, des techniques d'observations microscopiques, plus accessibles mais moins résolutes, pourraient être plus adaptées aux organismes non-modèles (Arican-Goktas *et al.*, 2014).



RÉFÉRENCES

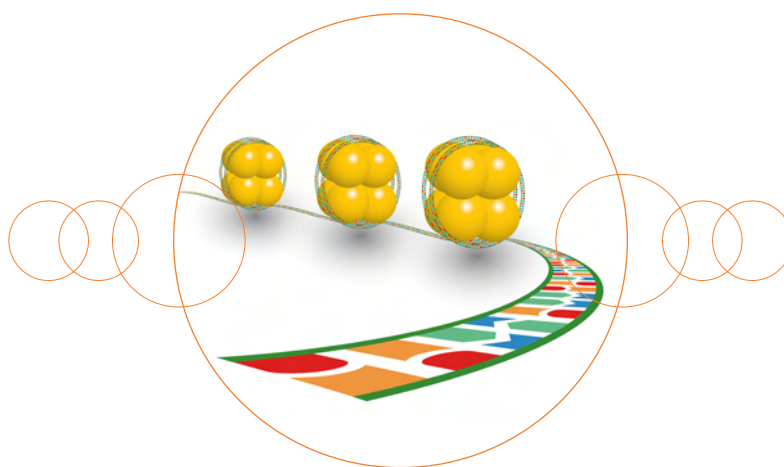
- Arican-Goktas HD, Ittiprasert W, Bridger JM, Knight M. 2014. Differential spatial repositioning of activated genes in *Biomphalaria glabrata* snails infected with *Schistosoma mansoni*. *PLoS Negl Trop Dis* 8:e3013.
- Bantignies F, Cavalli G. 2011. Polycomb group proteins: repression in 3D. *Trends Genet* 27:454-464.
- Baulcombe DC, Dean C. 2014. Epigenetic regulation in plant responses to the environment. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 6:a019471.
- Bond DM, Baulcombe DC. 2014. Small RNAs and heritable epigenetic variation in plants. *Trends Cell Biol* 24:100-107.
- Ciabrelli F, et al. 2017. Stable Polycomb-dependent transgenerational inheritance of chromatin states in *Drosophila*. *Nat Genet* 49:876-886.
- Cremer T, Cremer C. 2001. Chromosome territories, nuclear architecture and gene regulation in mammalian cells. *Nat Rev Genet* 2:292-301.
- Cremer T, Cremer C. 2001. Chromosome territories, nuclear architecture and gene regulation in mammalian cells. *Nat Rev Genet* 2:292-301.
- Filion GJ, et al. 2010. Systematic protein location mapping reveals five principal chromatin types in *Drosophila* cells. *Cell* 143:212-224.
- Fuks F, Hurd PJ, Deplus R, Kouzarides T. 2003. The DNA methyltransferases associate with HP1 and the SUV39H1 histone methyltransferase. *Nucleic Acids Res* 31:2305-2312.
- Gardner KE, Allis CD, Strahl BD. 2011. Operating on chromatin, a colorful language where context matters. *J Mol Biol* 409:36-46.
- Grentzinger T, Armenise C, Brun C, Mugat B, Serrano V, Pelisson A, Chambeyron S. 2012. piRNA-mediated transgenerational inheritance of an acquired trait. *Genome Res* 22:1877-1888.
- He L, et al. 2018. A naturally occurring epiallele associates with leaf senescence and local climate adaptation in *Arabidopsis* accessions. *Nat Commun* 9:460.
- Heintzman ND, et al. 2007. Distinct and predictive chromatin signatures of transcriptional promoters and enhancers in the human genome. *Nat Genet* 39:311-318.
- Herr AJ, Jensen MB, Dalmay T, Baulcombe DC. 2005. RNA polymerase IV directs silencing of endogenous DNA. *Science* 308:118-120.
- Ho JW, et al. 2014. Comparative analysis of metazoan chromatin organization. *Nature* 512:449-452.
- Hu Z, Tee WW. 2017. Enhancers and chromatin structures: regulatory hubs in gene expression and diseases. *Biosci Rep* 37.
- Iyer LM, Zhang D, Aravind L. 2016. Adenine methylation in eukaryotes: Apprehending the complex evolutionary history and functional potential of an epigenetic modification. *BioEssays* 38:27-40.
- Lahmy S, et al. 2016. Evidence for ARGONAUTE4-DNA interactions in RNA-directed DNA methylation in plants. *Genes Dev* 30:2565-2570.
- Lee HG, Kahn TG, Simcox A, Schwartz YB, Pirrotta V. 2015. Genome-wide activities of Polycomb complexes control pervasive transcription. *Genome Res* 25:1170-1181.
- Li CF, Pontes O, El-Shami M, Henderson IR, Bernatavichute YV, Chan SW, Lagrange T, Pikaard CS, Jacobsen SE. 2006. An ARGONAUTE4-containing nuclear processing center colocalized with Cajal bodies in *Arabidopsis thaliana*. *Cell* 126:93-106.
- Lopez Sanchez A, Stassen JH, Furci L, Smith LM, Ton J. 2016. The role of DNA (de)methylation in immune responsiveness of *Arabidopsis*. *Plant J* 88:361-374.
- Luger K, Mader AW, Richmond RK, Sargent DF, Richmond TJ. 1997. Crystal structure of the nucleosome core particle at 2.8 Å resolution. *Nature* 389:251-260.
- Mikkelsen TS, et al. 2007. Genome-wide maps of chromatin state in pluripotent and lineage-committed cells. *Nature* 448:553-560.
- Onodera Y, Haag JR, Ream T, Costa Nunes P, Pontes O, Pikaard CS. 2005. Plant nuclear RNA polymerase IV mediates siRNA and DNA methylation-dependent heterochromatin formation. *Cell* 120:613-622.
- Pontier D, Yahubyan G, Vega D, Bulski A, Saez-Vasquez J, Hakimi MA, Lerbs-Mache S, Colot V, Lagrange T. 2005. Reinforcement of silencing at transposons and highly repeated sequences requires the concerted action of two distinct RNA polymerases IV in *Arabidopsis*. *Genes Dev* 19:2030-2040.
- Rasmann S, De Vos M, Jander G. 2012. Ecological role of transgenerational resistance against biotic threats. *Plant Signal Behav* 7:447-449.
- Saksouk N, Simboeck E, Dejardin J. 2015. Constitutive heterochromatin formation and transcription in mammals. *Epigenetics Chromatin* 8:3.
- Schuettengruber B, Bourbon HM, Di Croce L, Cavalli G. 2017. Genome rRegulation by Polycomb and Trithorax: 70 years and counting. *Cell* 171:34-57.
- Schwartz S, Meshorer E, Ast G. 2009. Chromatin organization marks exon-intron structure. *Nat Struct Mol Biol* 16:990-995.
- Sexton T, Yaffe E, Kenigsberg E, Bantignies F, Leblanc B, Hoichman M, Parrinello H, Tanay A, Cavalli G. 2012. Three-dimensional folding and functional organization principles of the *Drosophila* genome. *Cell* 148:458-472.
- Tanabe H, Muller S, Neusser M, von Hase J, Calcagno E, Cremer M, Solovei I, Cremer C, Cremer T. 2002. Evolutionary conservation of chromosome territory arrangements in cell nuclei from higher primates. *Proc Natl Acad Sci U S A* 99:4424-4429.
- de Vanssay A, Bouge AL, Boivin A, Hermant C, Teyssset L, Delmarre V, Antoniewski C, Ronsseray S. 2012. Paramutation in *Drosophila* linked to emergence of a piRNA-producing locus. *Nature* 490:112-115.
- Youngson NA, Lin PC, Lin SS. 2014. The convergence of autophagy, small RNA and the stress response - implications for transgenerational epigenetic inheritance in plants. *Biomol Concepts* 5:1-8.
- Zenk F, Loeser E, Schiavo R, Kilpert F, Bogdanovic O, Iovino N. 2017. Germ line-inherited H3K27me3 restricts enhancer function during maternal-to-zygotic transition. *Science* 357:212-216.



IV

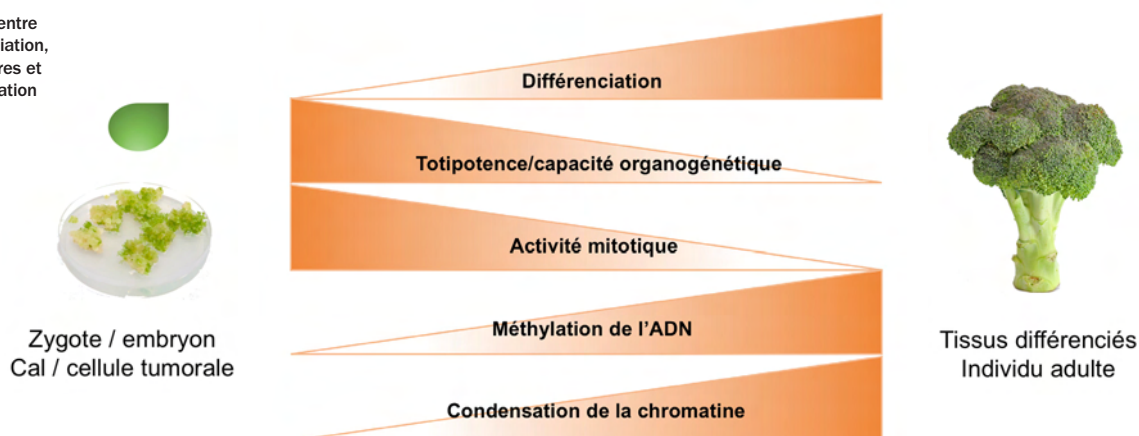
ÉPIGÉNÉTIQUE ET DÉVELOPPEMENT

Estelle Jaligot



Le patrimoine génétique est essentiellement identique dans chacune des cellules constituant un organisme pluricellulaire. Cependant, chaque type cellulaire l'exprime différemment en fonction de son stade de différenciation et de son degré de spécialisation acquis au cours du développement. Les caractéristiques et les modalités de cette expression différentielle, associées pour partie à des régulations épigénétiques, distinguent le règne animal du règne végétal. De plus, elles sont susceptibles de fluctuer en fonction de l'environnement et notamment des situations de contraintes, générant une variabilité inter-individuelle parfois héritable.

Figure 4.1 : Représentation schématique des correspondances entre stade de différenciation, propriétés cellulaires et niveau de modification épigénétique d'un génome.



Régulations épigénétiques, différenciation et développement

Le développement d'un organisme animal ou végétal s'accompagne de la mise en œuvre de manière séquentielle et coordonnée, dans le temps comme dans l'espace, de programmes d'expression des gènes. Ceux-ci sont spécifiques de différentes phases (juvénile/végétative puis mature/reproductrice) et/ou de différents organes, tissus voire types cellulaires (ailes ou pattes, feuilles ou racines...) aux potentialités distinctes. Cette orchestration précise de la détermination du « destin cellulaire » est associée à des transitions dynamiques entre des statuts épigénétiques activés ou réprimés affectant successivement les gènes et régions du génome impliqués (figure 4.1).

Ainsi, l'état zygotique est-il associé à un taux de méthylation de l'ADN quasi nul et à une chromatine décondensée sur l'ensemble du génome, qui vont de pair avec son statut totipotent lui permettant de générer un individu entier. Au fil des divisions cellulaires permettant la formation de l'embryon puis du jeune individu, l'expression des gènes-clés contrôlant le maintien de l'état indifférencié/totipotent est réprimée par les complexes protéiques Polycomb (initialement décrits chez la drosophile) qui induisent la condensation de la chromatine (méthylation en position H3K27, ubiquitinylation H2aK119) et agissent de concert avec des ADN-méthyltransférases. Dans le même temps, l'expression des gènes responsables de la différenciation et de la spécialisation est activée par des complexes de type Trithorax, induisant la méthylation de la chromatine en H3K4 et l'augmentation de son accessibilité

à la machinerie transcriptionnelle (Cantone et Fisher, 2013 - cf. page 28).

De tout ceci il ressort que l'expression (et, souvent, le statut épigénétique) d'un gène sera différent d'un tissu à un autre, voire d'un type cellulaire à un autre. À cela s'ajoutent des variations liées au cycle de vie de l'organisme, correspondant à la mise en œuvre de nouvelles compétences (passage de la phase immature à la phase reproductive) ou leur perte (sénescence). De ce fait tout organisme possède de multiples épigénomes, que ce soit simultanément dans ses différents tissus ou successivement, pour une même lignée cellulaire entre plusieurs stades de développement. L'étude de certains de ces épigénomes représente un défi technique du fait de leurs limitations, qu'elles soient spatiales au sein d'une population réduite de cellules, ou temporelles au cours d'un stade éphémère du cycle de vie. Cette hyper-variabilité épigénétique se traduit pour partie dans des variations du transcriptome qu'il convient donc d'analyser en parallèle des variations épigénétiques, que ce soit au niveau quantitatif (niveau d'expression) ou qualitatif (épissage alternatif des transcrits, production d'ARNs non codants, activation des éléments transposables). La multiplicité des facteurs influant sur l'épigénome amène donc le chercheur à revisiter la notion de répétition biologique en fonction des particularités de chaque question de recherche, afin de dégager les seules variations épigénétiques pertinentes tout en se dotant d'un échantillonnage suffisant pour s'affranchir du bruit de fond.

Remise à zéro : réinitialisation et dédifférenciation

Au cours des gamétogenèses mâle et femelle et plus encore lors de la fécondation, les marques épigénétiques provenant des génomes parentaux sont réinitialisées en l'espace de quelques divisions cellulaires afin de laisser place au programme de développement du nouvel individu. Au niveau moléculaire, ce phénomène dépend à la fois de l'inhibition des enzymes en charge des modifications épigénétiques (ADN-méthyltransférases, histone-acétyltransférases et -méthyltransférases) et de

l'activation d'enzymes responsables de l'ablation des groupements modifiés (histone-déacétylases et -déméthylases) voire des bases de l'ADN ou des protéines histones de la chromatine (ADN-glycosylases-lyases ou hydroxylases). Chez les organismes animaux, le bon déroulement de la « vague de déméthylation de l'ADN » balayant l'ensemble du génome zygotique est une condition préalable indispensable à la mise en place correcte du programme de développement de l'individu nouvellement formé. C'est

d'ailleurs contre cet impératif de remise à zéro complète que buttent les tentatives de clonage reproductif appliquées aux organismes animaux, car les conditions artificielles ne permettent que très difficilement la réinitialisation épigénétique totale et les anomalies développementales qui en découlent sont souvent létales. La transformation en cellule tumorale, quant à elle, permet une dé-différenciation partielle et le retour à une division cellulaire active.

En revanche, il semblerait que chez les plantes l'effacement post-fécondation des épigénomes parentaux soit beaucoup moins exhaustif, ce qui laisse à penser qu'il existe chez ces organismes une plus grande tolérance à la rémanence des marques épigénétiques lors des étapes de reprogrammation. Il est probable que cette caractéristique soit liée à l'absence chez les plantes d'une séparation nette entre lignée germinale et lignée somatique, et à leur capacité à générer de manière continue des cellules méristématiques, au comportement de cellules souches pluripo-

tentes, tout au long de leur vie. L'ensemble de ces éléments pourrait également expliquer pourquoi il est relativement aisé de cloner la plupart des espèces végétales en induisant *in vitro* la dé-différenciation de cellules somatiques provenant de fragments de tissus plus ou moins différenciés (Etienne *et al.*, 2016).

Les populations clonales, qu'elles soient animales ou végétales, constituent un outil d'intérêt majeur pour l'étude des régulations épigénétiques puisqu'elles permettent de s'affranchir de la variabilité génétique présente dans les descendances sexuées. Elles constituent également un système expérimental idéal pour manipuler la plasticité phénotypique, notamment par l'imposition de stress (voir paragraphe suivant). Réciproquement, l'utilisation de marqueurs épigénétiques comme outils de la conformité phénotypique des individus issus de clonage est un enjeu important dans une optique de conservation *ex situ* des ressources végétales au moyen de la culture *in vitro* et de la cryoconservation.

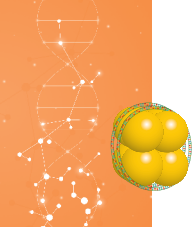
Influence de l'environnement sur le développement : impact des stress et plasticité phénotypique

A l'intérieur d'un tissu différencié donné, la transmission mitotique du statut épigénétique d'une séquence donnée s'effectue de manière essentiellement stable et fidèle. Cependant, la grande sensibilité des mécanismes épigénétiques aux conditions environnementales fait d'eux une interface permettant de moduler les voies de régulations et les processus biologiques dans lesquels ils interviennent en fonction des fluctuations de cet environnement. Ces régulations épigénétiques différentielles contribuent potentiellement à la plasticité phénotypique permettant à des individus génétiquement semblables de manifester des phénotypes distincts en fonction du milieu.

L'émergence des thématiques de recherche liées aux changements climatiques et globaux ont attiré l'attention sur l'urgence de mieux comprendre les mécanismes de réponse (court terme) et d'acclimatation (moyen terme) ou d'adaptation (moyen/long terme) face à l'augmentation de fréquence et d'intensité des

contraintes (sécheresses, inondations, épidémies, pollutions, etc.). Dans cette optique, l'étude des processus épigénétiques, en combinaison avec l'analyse des transcriptomes et protéomes ainsi que le phénotypage, est susceptible de nous apporter des informations précieuses quant aux mécanismes de régulation et d'expression des réponses aux stress (Richards, 2011).

Toutefois, en dépit de la forte augmentation du nombre des publications consacrées à ces questions, il n'est pas clairement établi dans quelle mesure les modifications épigénétiques observées sont associées de manière spécifique à telle ou telle condition, si elles interviennent en tant que causes ou conséquences de la réponse, ou si au contraire elles se manifestent de manière générique et font partie d'un « bruit de fond » stochastique. Les approches de biologie fonctionnelle ne sont pas toujours accessibles, ou pas concluantes, chez les organismes non modèles pour per-



mettre de trancher entre ces options. Pour ces cas de figure (qui représentent la majorité : les organismes modèles n'étant le plus souvent pas des espèces exploitées par l'homme), il est donc *a minima* nécessaire de définir des

dispositifs expérimentaux plus informatifs incluant à la fois une gradation ou une cinétique dans l'établissement du stress, et le suivi de la phase de retour aux conditions normales (figure 4.2).

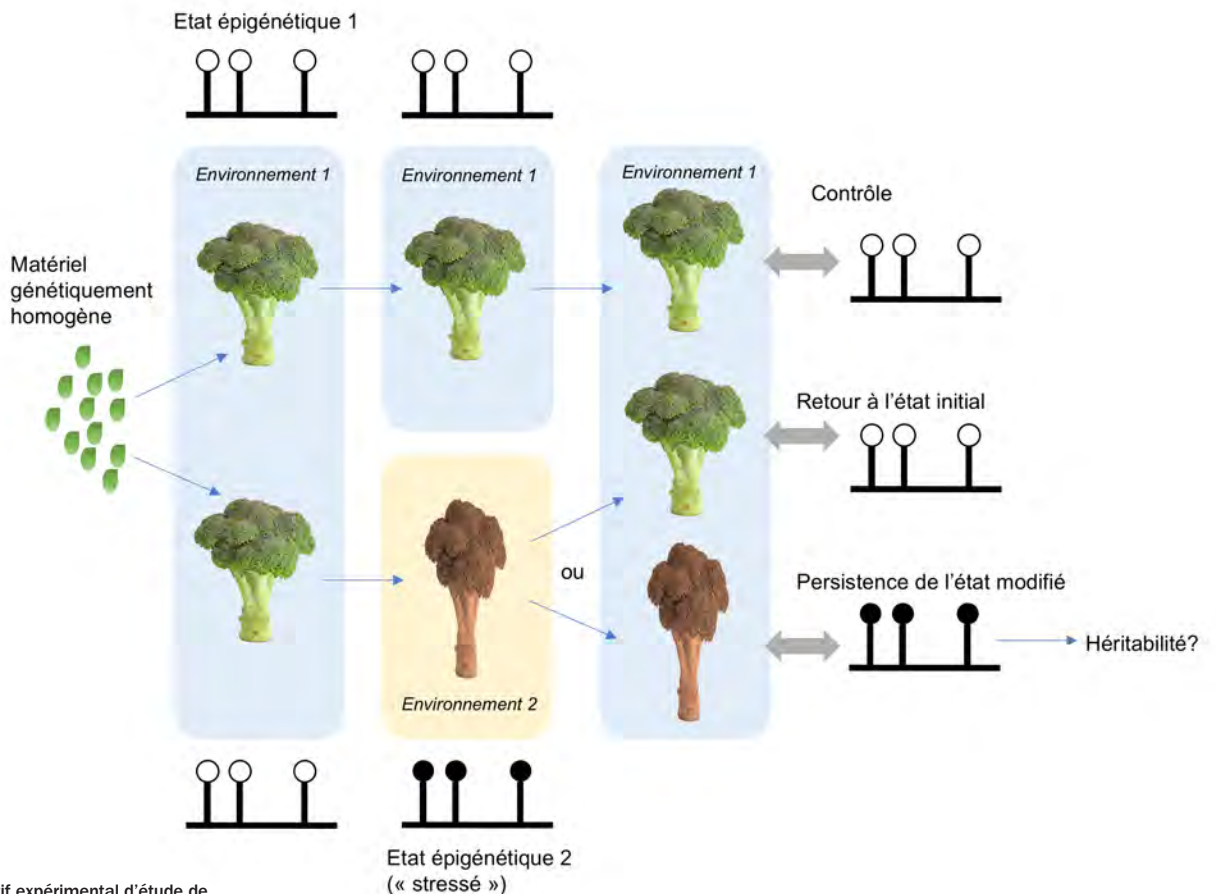


Figure 4.2 : Dispositif expérimental d'étude de modifications épigénétiques liées à l'émergence d'un nouveau phénotype en condition de stress. On cherche à établir une corrélation entre un changement d'état épigénétique (limité dans l'exemple représenté ici à un locus unique) et l'apparition du phénotype suite au passage de l'environnement 1 à l'environnement 2. Dans la plupart des cas, le retour aux conditions initiales s'accompagnera de la disparition combinée de l'état épigénétique modifié et du phénotype (partie droite de la figure, rangée centrale). Occasionnellement, les altérations épigénétiques et le phénotype persisteront au-delà de la levée des conditions inductrices et il conviendra d'évaluer leur transmission à la descendance sexuée (rangée du bas). Dans un souci de clarté, les autres situations possibles (pas de changement en réponse au nouvel environnement, ou absence de corrélation entre modifications épigénétiques et phénotype) n'ont pas été représentées.

demeure néanmoins incontournable pour la prise en compte des effets complexes résultant de l'interaction entre paramètres et l'ancrage des études au plus près de la réalité biologique.

Si la majorité des changements épigénétiques répondant aux stress semble avoir vocation à être effacée une fois la contrainte levée ou, au plus tard, entre les générations sexuées, dans certains cas une fraction de ces modifications est maintenue jusque dans la descendance, ce qui pose la question de leur rôle à plus long terme dans l'évolution et la spéciation (voir chapitre suivant). La grande difficulté à documenter de manière fiable, sur plusieurs générations successives, la transmission conjointe d'une modification épigénétique et d'un caractère phénotypique de tolérance ou d'adaptation au stress empêchent pour le moment de conclure quant à la généralisation du phénomène d'hérabilité épigénétique transgénérationnelle. Pour la même raison, les mécanismes moléculaires

Les expérimentations dans les conditions contrôlées du laboratoire sont un passage nécessaire afin de distinguer la part des différents paramètres environnementaux et d'acquérir des données préliminaires qui pourront permettre d'entraîner des modèles de simulation. La réalisation d'études en conditions de terrain non ou semi-contrôlées (milieu naturel, enclos/champ...)

gouvernant cette héritabilité inductible et sélective sont encore largement à élucider. La maîtrise de l'induction et de la stabilisation de cette composante épigénétique de la plasticité phénotypique en réponse aux stress environnementaux constitue bien entendu un enjeu majeur

en sélection animale comme végétale, afin de garantir la sécurité alimentaire future (Mirouze et Paszkowski, 2011).

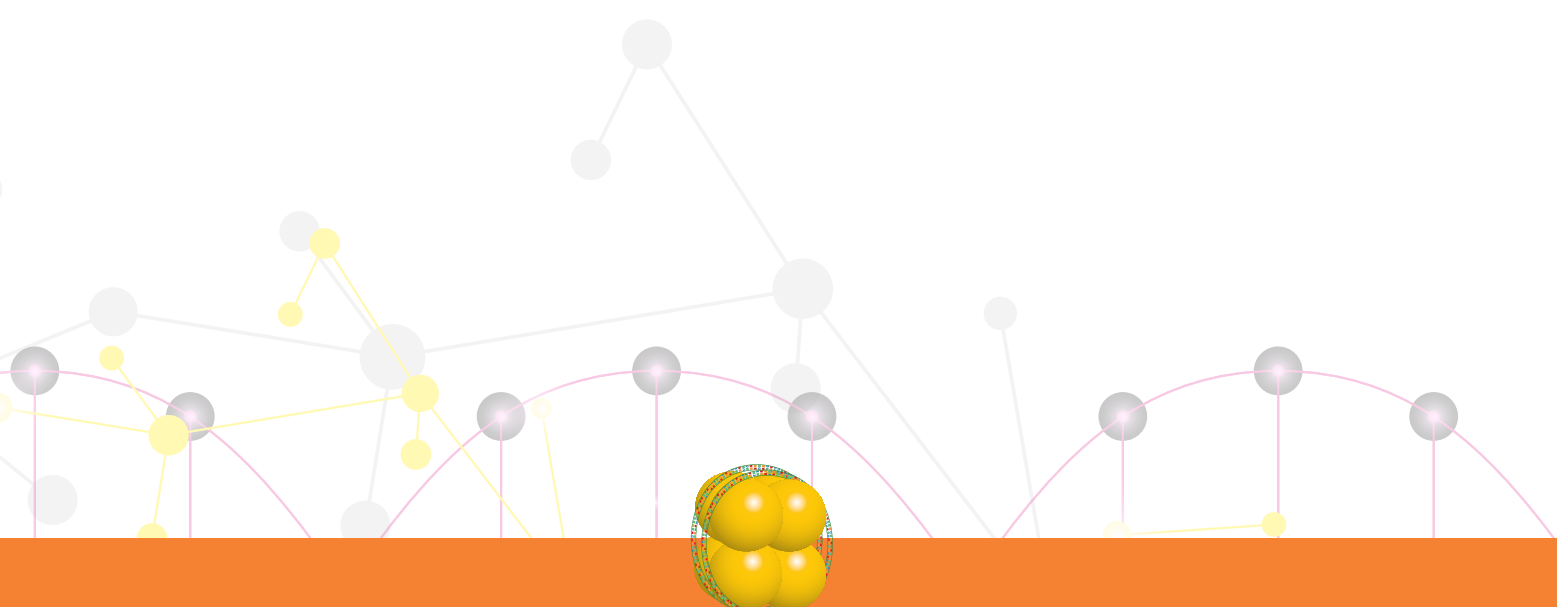
RÉFÉRENCES

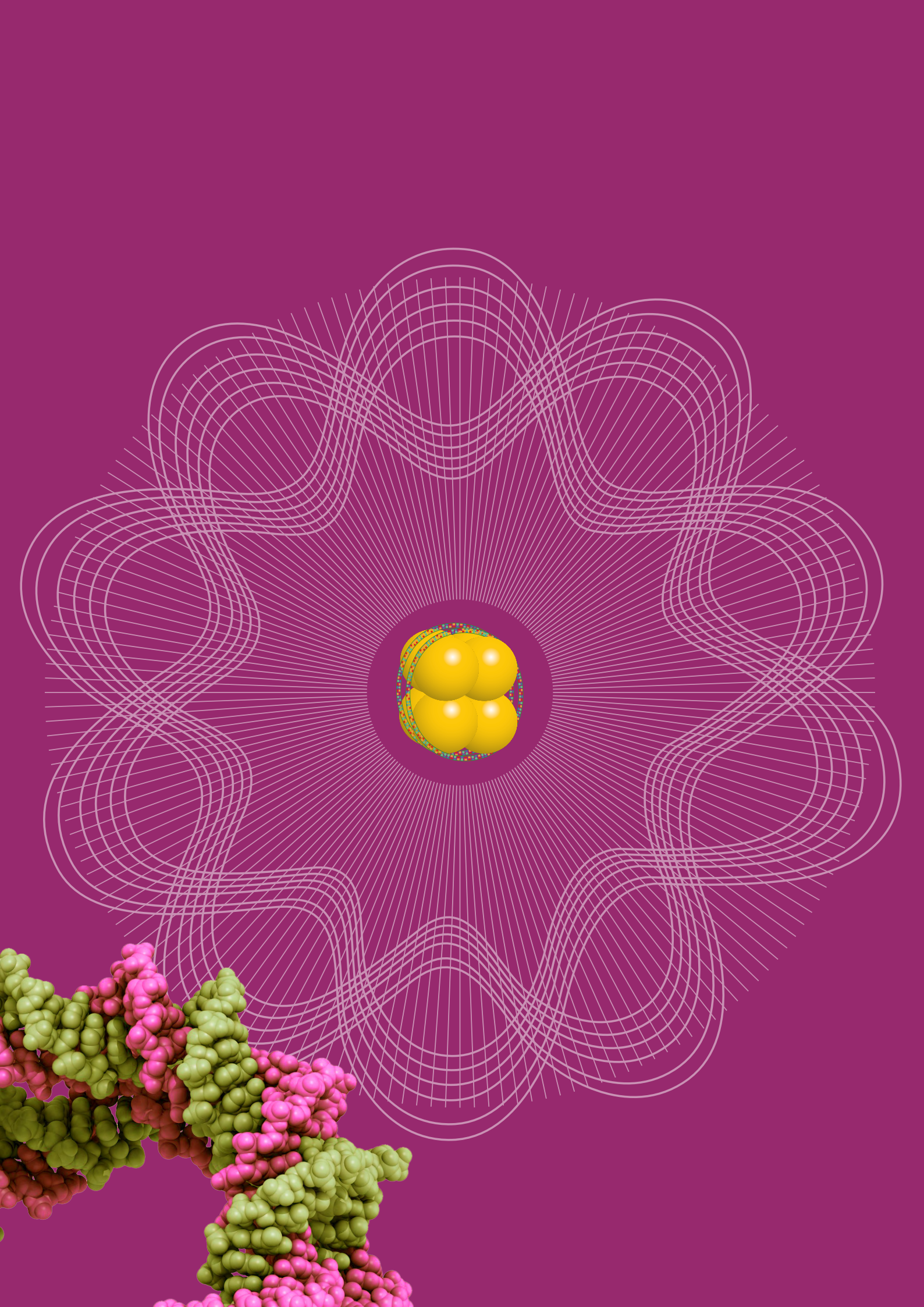
Cantone I, Fisher AG. 2013. Epigenetic programming and reprogramming during development. *Nat Struct Mol Biol* 20:282-289.

Etienne H, Guyot R, Beulé T, Breitler J-C, Jaligot E. 2016. Plant Fidelity in Somatic Embryogenesis-Regenerated Plants. In VM Loyola-Vargas, N Ochoa-Alejo, eds, *Somatic Embryogenesis: Fundamental Aspects and Applications*. Springer International Publishing, pp 121-150.

Richards EJ. 2011. Natural epigenetic variation in plant species: a view from the field. *Curr Opin Plant Biol*, 14:204-209.

Mirouze M, Paszkowski J. 2011. Epigenetic contribution to stress adaptation in plants. *Curr Opin Plant Biol* 14:267-274.





V

HÉRÉDITÉ ÉPIGÉNÉTIQUE EN ÉVOLUTION

Arnaud Pocheville

La théorie actuelle de l'évolution par sélection naturelle est basée sur le postulat que la transmission de l'information est réalisée par voie génétique via les informations portées par la molécule d'ADN. Il est maintenant clair que l'hérédité épigénétique invite à réviser ce postulat. Ce constat pose une double question : quelles sont les modalités précises de l'hérédité des caractères non déterminés par un changement de séquence de l'ADN et quels sont les aménagements théoriques à proposer pour tenir compte de ces nouveaux mécanismes ?

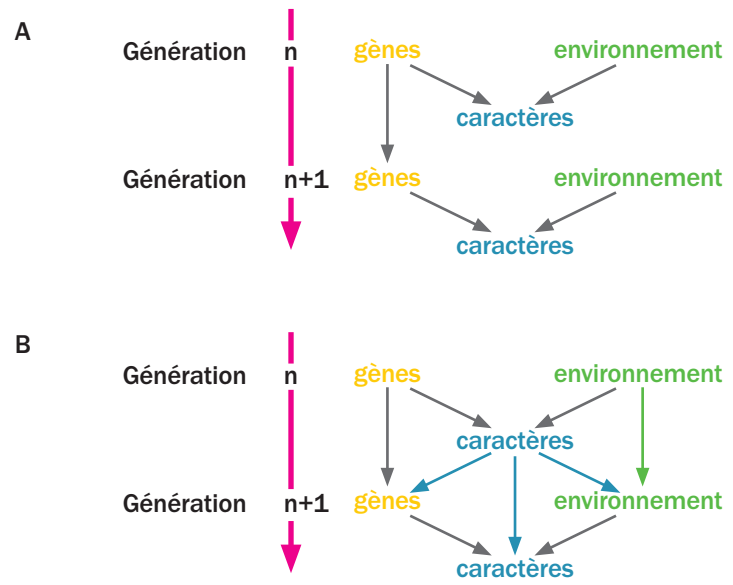
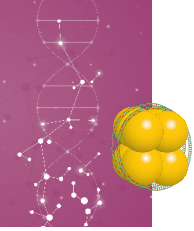


Figure 5.1 : Hérédité de l'information.
A : vision classique des transferts et expression de l'information au cours du développement et entre générations.
B : Vision prenant en compte l'hérédité épigénétique (ou d'autres hérédités non-génétiques).

Pour comprendre certains défis actuels – qu'ils soient institutionnels, sociologiques, ou théoriques – il est bon d'examiner d'abord comment, d'un point de vue historique, l'hérédité épigénétique en est venue à représenter une

idée qui bouleverse la conception classique de la transmission de l'information au cours des générations, et au travers d'exemples d'en comprendre les enjeux évolutifs.



Comment l'hérédité épigénétique bouleverse les concepts

Darwin, quand il propose la théorie de l'évolution par la sélection naturelle, a pour but d'expliquer l'adaptation des organismes à leur milieu de façon matérialiste, c'est-à-dire sans faire appel à des forces surnaturelles ou divines (Darwin 1859). Il propose un mécanisme désormais bien connu : l'évolution procède par sélection de caractères héréditaires qui varient de façon aléatoire. L'aléat de la variation permet de s'affranchir de l'idée que le vivant est organisé autour d'une fin surnaturelle : c'est la sélection naturelle, et elle seule, qui modèle les organismes.

Darwin, comme la plupart de ses contemporains, n'écarte pas l'idée que des caractères acquis – éventuellement adaptatifs – puissent être transmis à la descendance. Cependant, cette possibilité affaiblit considérablement la prééminence de la sélection naturelle pour expliquer l'adaptation (Pocheville et Danchin 2017). Weismann (1891), grand défenseur du Darwinisme, se convainc quant à lui que l'hérédité des caractères acquis est impossible. Pour lui, les déterminants des caractères (qui seront appelés quelques années plus tard les gènes) sont d'une autre nature que les caractères eux-mêmes : les déterminants peuvent être traduits en caractères, mais pas l'inverse. Il est impossible de traduire un caractère acquis en un déterminant (ou gène) pour ensuite le transmettre.

Cette idée de Weismann percole comme postulat de base de la Synthèse Moderne. Ce mouvement théorique fonde, dans la première moitié du XX^e siècle, les éléments de la théorie de l'évolution telle que nous la connaissons aujourd'hui. La Synthèse Moderne restreint la notion d'hérédité à la génétique mendélienne et

des populations. Pratiquement dans le même temps, le support de l'information génétique est lui-même identifié à l'ADN, et en particulier, à sa séquence.

L'idée de l'impossibilité de l'hérédité des caractères acquis trouve alors un renfort inattendu, provenant de la biologie moléculaire. Francis Crick (1958), qui étudie la synthèse des protéines, fait l'hypothèse que l'information séquentielle peut être transmise des acides nucléiques (ADN, ARN) vers d'autres acides nucléiques et vers les protéines, mais pas l'inverse : les protéines représentent un point terminal des transferts d'information. Cette hypothèse, bien connue sous le nom de « Dogme Central de la biologie moléculaire », figure encore en bonne place dans les manuels. De nombreux évolutionnistes modernes identifient, à tort, le Dogme Central à un principe – voire une preuve – de la non-hérédité des caractères acquis. Pourtant, le Dogme Central concerne uniquement le fonctionnement cellulaire, il est silencieux quant à l'hérédité. Rien n'empêche que des caractères acquis sous forme d'acides nucléiques (ou protéines) soient transmis à la descendance, comme nous l'observons justement empiriquement.

L'hérédité épigénétique, comme nous allons le voir, complète la vision classique de la théorie de l'évolution à deux titres : d'abord parce que, d'un point de vue théorique, elle permet de s'interroger sur la variation aveugle des caractères en préalable à leur transmission, ensuite parce que, d'un point de vue empirique, elle remet en question l'hégémonie du substrat génétique comme seul support de l'information transmise (Jablonka et Lamb 1995).

Quelques exemples d'hérédité épigénétique

L'hérédité épigénétique est aujourd'hui illustrée par de nombreux exemples, tant chez les bactéries, les champignons, que chez les plantes et les animaux (Jablonka et Raz 2009). Les facteurs environnementaux provoquant des modifications épigénétiques transmissibles incluent l'hybridation, le régime alimentaire, les toxiques, les comportements parentaux et le stress social. Les mécanismes de transmission de l'information sont divers, incluant des « modifications de liaisons covalentes » (méthylations de l'ADN et modifica-

tions des histones), et des ARN non-codants (petits ARNs interférants, micro-ARNs, ARNs interagissant avec Piwi et fragments d'ARNs de transfert). Ces mécanismes peuvent interagir les uns avec les autres dans la production de la réponse épigénétique.

Chez la souris, des résultats récents éclairent comment certains troubles métaboliques acquis (troubles provoqués par un régime riche en lipides et comparables au diabète acquis) sont transmissibles des pères à leurs descendants mâles (figure 5.2 - Chen *et al.*, 2016).

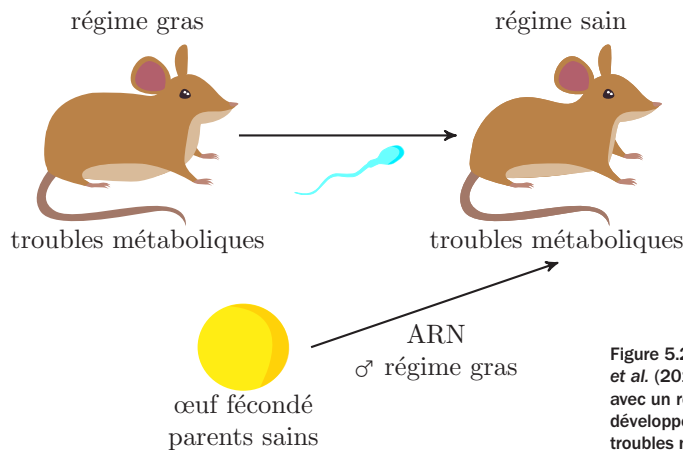


Figure 5.2 : Expérience de Chen et al. (2016). Des souris nourries avec un régime riche en lipides développent une obésité et des troubles métaboliques. Les troubles métaboliques sont transmissibles par la voie mâle, et une fraction des ARNs de tête de spermatozoïdes d'un mâle nourri avec un régime riche en lipides suffit à provoquer une partie des troubles chez le descendant.

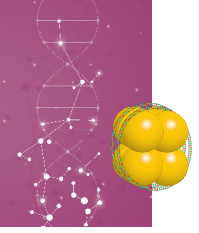
L'injection dans un embryon de parents sains d'une fraction des ARNs (ARNt de 30 à 34 nucléotides de longueur) provenant de têtes de spermatozoïdes d'un mâle atteint de diabète acquis suffit à transmettre une partie des troubles métaboliques (Chen et al., 2016). Ces ARNs pourraient être injectés dans la tête de spermatozoïdes au cours du transfert du sperme dans l'épididyme (Sharma et al., 2016). Il n'est pas clair si cette hérédité épigénétique augmente l'adaptation des descendants.

Chez la souris encore, des comportements acquis peuvent être transmis de façon épigénétique. Dias et Ressler (2014) ont conditionné des souris à craindre une odeur (l'acétophénone) en y associant un choc électrique. Les descendants de souris conditionnées craignent spontanément cette odeur, sur deux générations. L'information est transmise par les spermatozoïdes et les ovules, et les auteurs montrent que le gène codant pour le récepteur à l'acétophénone est hypométhylé dans les spermatozoïdes des mâles conditionnés. L'odorat étant un sens important chez la souris, cette expérience illustre un mécanisme potentiel d'apprentissage d'un danger à l'échelle de la lignée.

Un autre exemple, spectaculaire du point de vue du nombre de générations concernées, est trouvé chez *Caenorhabditis elegans*. Vastenhouw

et al. (2006) ont nourri des vers avec une bactérie exprimant un ARN interférant double-brin qui silencie l'expression d'un gène de la protéine fluorescente verte (présent chez cette souche de vers). Une fraction significative des descendants montre des niveaux d'expressions réduits de ce gène, et ce, jusqu'à 80 générations. Si la réponse physiologique initiale est bien provoquée par l'ARN interférant, la transmission transgénérationnelle pourrait en revanche être due en partie à des modifications de la chromatine (Vastenhouw et al., 2006 ; Gu et al., 2012). Les ARNs interférants font partie de l'arsenal de réponse de *C. elegans* aux virus et cette expérience peut être interprétée comme illustrant l'hérédité d'une réponse immunitaire.

Il n'est pas clair, enfin, que toute réponse épigénétique adaptative appartienne à un répertoire pré-défini de réponses. Chez la drosophile, Stern et al. (2012) ont soumis des larves à un stress en les nourrissant avec un toxique à des concentrations normalement léthales, et en plaçant un gène de résistance à ce toxique sous le contrôle d'un promoteur impliqué dans le développement. Le stress est sévère, car le promoteur n'est pas normalement un régulateur de ce gène de résistance, et son expression – donc aussi la concentration du toxique – varie suivant les tissus. Cependant, la survie des larves possédant le gène est significativement augmentée (jusqu'à 100 %).



Elle s'accompagne de la suppression du groupe Polycomb, qui à son tour conduit à la dérégulation des régulateurs du développement et à de nouveaux patrons d'expression. Enfin, des modi-

fications développementales sont transmises, de façon vraisemblablement épigénétique, sur 1 à 24 générations (voir Braun, 2015, pour des expériences similaires chez la levure).

Les défis de l'hérédité épigénétique en biologie évolutive

Les biologistes, aujourd'hui, qu'ils soient moléculaires ou évolutionnistes, ne doutent plus de l'hérédité épigénétique. Cette vision contraste fortement avec celle qui a dominé le siècle dernier. Ce dont nombre de biologistes doutent encore, en revanche, c'est si ce type d'hérédité joue un réel rôle évolutif. C'est bien légitime : la théorie de l'évolution actuelle s'est construite, parfois avec douleur, sur un rejet progressif puis total de l'hérédité des caractères acquis (Mayr, 1982).

Pour les biologistes évolutionnistes classiques, ce sont, *in fine*, des gènes qui permettent l'existence de l'hérédité épigénétique. Ces biologistes insistent sur le fait que l'hérédité épigénétique est labile, et disparaît généralement en quelques générations. Son rôle pourrait être la transmission à la descendance d'information sur les défis sélectifs rencontrés par les parents (état actuel d'un environnement changeant, réponse à des parasites, etc). Si, parfois,

l'hérédité épigénétique s'avère adaptative, c'est vraisemblablement parce que les gènes qui la permettent, variant de manière aléatoire, ont été sélectionnés (Merlin, 2010).

D'autres biologistes, en revanche, considèrent que l'hérédité épigénétique (mais aussi les hérédités culturelle, environnementale, etc.) doit conduire à profondément réformer la théorie de l'évolution (Jablonka et Lamb, 2005). Pour eux, des effets transitoires tels qu'un changement de marques épigénétiques transmissibles provoqué par un changement environnemental, peuvent malgré tout durablement infléchir la course évolutive. Certaines marques épigénétiques pourraient aussi être assez stables pour modifier les réponses écologiques et donner prise à la sélection naturelle (Bossdorf et al., 2008), ou encore, inscrire des traces à long terme dans le génome en augmentant la mutabilité locale (Jablonka et Lamb, 1995).

L'hérédité épigénétique met ainsi la biologie évolutive face à plusieurs défis

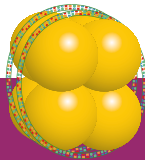
Un premier défi est théorique : il s'agira d'accorder des intuitions si radicalement différentes sur l'opportunité, voire la nécessité, d'un changement théorique majeur en biologie évolutive (Pocheville, 2018). Cela nécessitera de favoriser le dialogue entre des disciplines comme la biologie évolutive théorique, la philosophie et l'histoire des sciences. La question de ce qu'est la théorie de l'évolution actuelle et la caractérisation de ses changements relèvent en effet d'une réflexion philosophique et historique, mais qui, pour porter ses fruits, doit se faire en dialogue avec la pratique théorique. Il sera possible, sur ce point, de capitaliser sur une tradition bien établie en France de dialogue entre biologie et philosophie de la biologie.

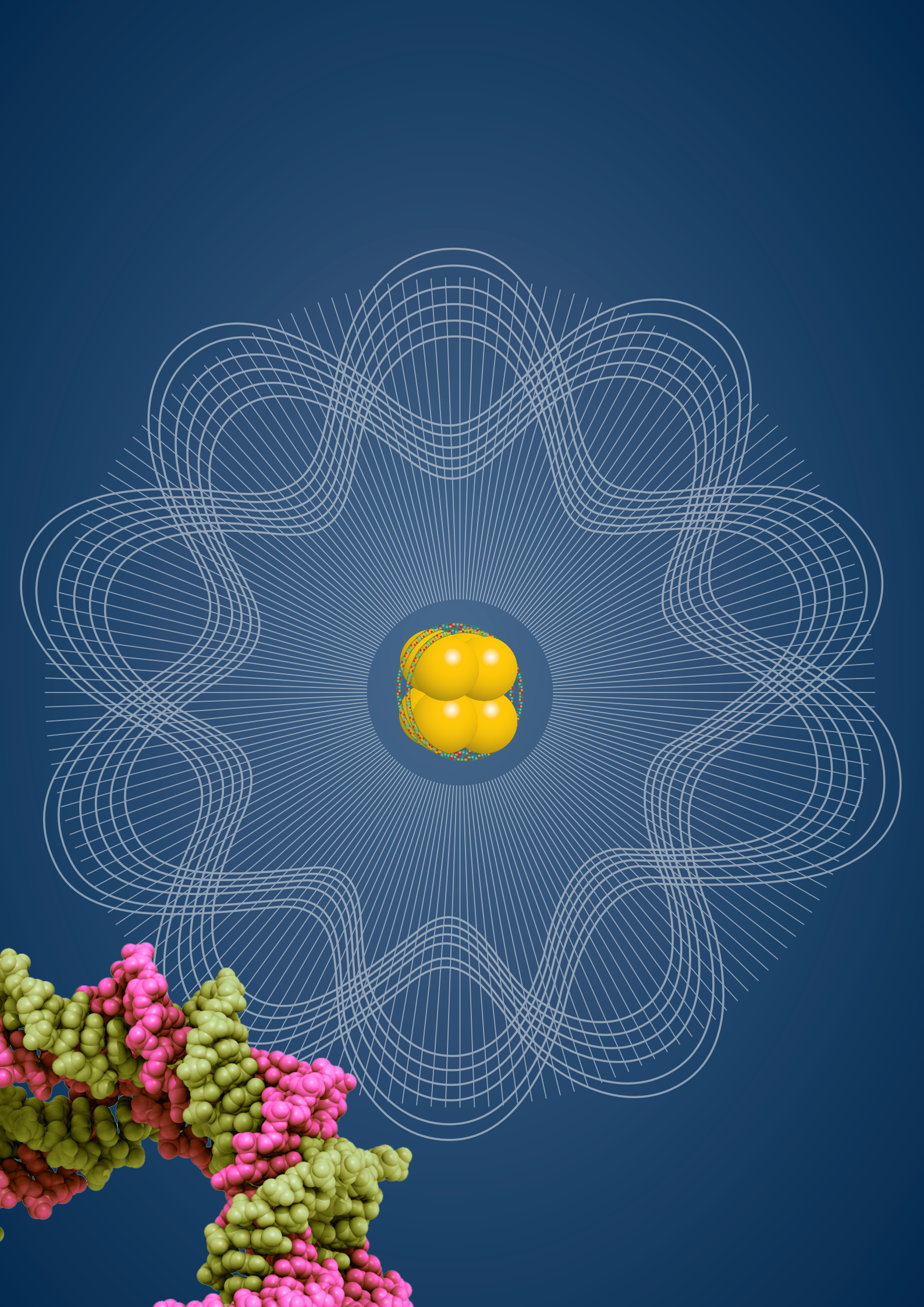
Un second défi est empirique : il s'agira de continuer à caractériser de plus en plus finement les mécanismes d'hérédité épigénétique d'un point de vue évolutif. Cette caractérisation passe notamment par une estimation fine de la

valeur adaptative et de la stabilité des diverses transmissions épigénétiques. Cela signifie de pouvoir effectuer des études d'une durée potentiellement indéterminée (de quelques générations à une centaine ou plus) et à grain temporel fin (en testant chaque génération) sur des modèles à temps de génération divers (de la levure au rongeur), dans un contexte actuel où la pression de publication invite plutôt à abréger les études.

RÉFÉRENCES

- Bossdorf O, Richards CL, Pigliucci M. 2008. Epigenetics for ecologists. *Ecol Lett* 11:106-115.
- Braun E. 2015. The unforeseen challenge: from genotype-to-phenotype in cell populations. *Rep Prog Phys* 78:036602.
- Chen Q, et al. 2016. Sperm tsRNAs contribute to intergenerational inheritance of an acquired metabolic disorder. *Science* 351:397-400.
- Crick F. 1958. On Protein Synthesis. Symposium of the Society for Experimental Biology XII. New York: Academic Press.
- Darwin, Charles R. 1859. On The Origin Of Species By Means Of Natural Selection, Or The Preservation Of Favoured Races In The Struggle For Life. 1st. London: John Murray.
- Dias BG, Ressler KJ. 2014. Parental olfactory experience influences behavior and neural structure in subsequent generations. *Nat Neurosci* 17:89-96.
- Gu SG, Pak J, Guang S, Maniar JM, Kennedy S, Fire A. 2012. Amplification of siRNA in *Caenorhabditis elegans* generates a transgenerational sequence-targeted histone H3 lysine 9 methylation footprint. *Nat Genet* 44:157-164.
- Jablonka E, Lamb MJ. 1995. Epigenetic Inheritance and Evolution: The Lamarckian Dimension. Oxford: Oxford University Press. 364 p.
- Jablonka E, Lamb MJ. 2005. Evolution In Four Dimensions: Genetic, Epigenetic, Behavioral, And Symbolic Variation In The History Of Life. Cambridge, MA: MIT Press. 492 p.
- Jablonka E, Raz G. 2009. Transgenerational epigenetic inheritance: prevalence, mechanisms, and implications for the study of heredity and evolution. *The Quarterly Review of Biology* 84.2, p. 131-176.
- Mayr E. 1982. The Growth Of Biological Thought: Diversity, Evolution, And Inheritance. Harvard University Press. 996 p.
- Merlin F. 2010. Evolutionary Chance Mutation: A Defense of the Modern Synthesis' Consensus View. In: *Philosophy & Theory in Biology*.
- Pocheville A. 2018. A Darwinian Dream: On Time, Levels, And Processes In Evolution. In: *Evolutionary Causation. Biological and philosophical reflections*. Tobias U. et Kevin N. L.. (eds) Vienna Series in Theoretical Biology. Boston: MIT Press.
- Pocheville A, Danchin E. 2017. Genetic Assimilation And The Paradox Of Blind Variation. In: *Challenging the Modern Synthesis*. Denis M. W., Huneman P. Oxford: Oxford University Press.
- Sharma U, et al. 2016. Biogenesis and function of tRNA fragments during sperm maturation and fertilization in mammals. *Science* 351:391-396.
- Stern S, Fridmann-Sirkis Y, Braun E, Soen Y. 2012. Epigenetically heritable alteration of fly development in response to toxic challenge. *Cell Rep* 1:528-542.
- Vastenhouw NL, Brunschwig K, Okihara KL, Muller F, Tijsterman M, Plasterk RH. 2006. Gene expression: long-term gene silencing by RNAi. *Nature* 442:882.
- Weismann A. 1891. *Essays Upon Heredity and Kindred Biological Problems*. T. II. Oxford, UK: Clarendon Press





VI INFLUENCE DE L'ENVIRONNEMENT SUR LES MARQUES ÉPIGÉNÉTIQUES ET LE FONCTIONNEMENT DES ORGANISMES

Sara Fneich, Anne Gabory, Claudine Junien

Le phénotype d'un individu est le résultat d'interactions complexes entre son génotype et son environnement présent et passé. Dans le domaine de la santé, la détermination des facteurs concernant les pathologies métaboliques et cardiovasculaires dépendent en partie de la mémorisation de l'environnement précoce pouvant induire à long terme une susceptibilité plus grande.

Les maladies non transmissibles telles que le diabète, l'obésité, les maladies cardiovasculaires et les affections respiratoires chroniques, sont responsables de 70 % de décès à l'échelle mondiale selon l'Organisation mondiale de la santé (2015). L'obésité et le diabète constituent les plus importants facteurs de risque. Ces maladies résultent d'une association de plusieurs facteurs, génétiques, physiologiques, comportementaux et environnementaux. Les études épidémiologiques et les modèles animaux mettent en évidence la notion des origines développementales de la santé et des maladies (DOHaD pour *Developmental Origins of Health and Disease*). Cette hypothèse a été proposée par l'épidémiologiste David Barker après ses études effectuées sur des cohortes britanniques dans les années 1980. Une corrélation a été mise en évidence entre le poids de naissance, la pression artérielle à l'âge adulte et la mortalité due aux maladies cardiovasculaires (Barker *et al.*, 1989).

Des expositions environnementales précoces lors de la période prénatale et de l'enfance, ou

la période de 1000 jours, ont un impact à long terme sur la santé de l'individu. La période de neuf mois de conception et les deux ans qui suivent est une période cruciale parce qu'elle implique la création d'un individu à partir d'une cellule fécondée, le zygote. Le zygote se divise pour donner des cellules qui se différencient en organes aux fonctions différentes, qui seront entièrement fonctionnels et qui vont permettre au bébé d'acquieser son autonomie. Toutes ces étapes sont gérées par des mécanismes épigénétiques (figure 6.1). L'épigénétique est l'une des plus importantes découvertes en biologie des trente dernières années. Les mécanismes épigénétiques modulent, activent ou inhibent l'expression des gènes à travers des protéines qui structurent l'ADN, sans modifier sa séquence nucléotidique. Ils regroupent la méthylation de l'ADN, les modifications post-traductionnelles des histones, les ARNs non-codant et la topologie du noyau (voir chapitre 3). Ces marques épigénétiques sont stables, héréditaires au cours des divisions cellulaires et sensibles à l'environnement (Gabory *et al.*, 2011).

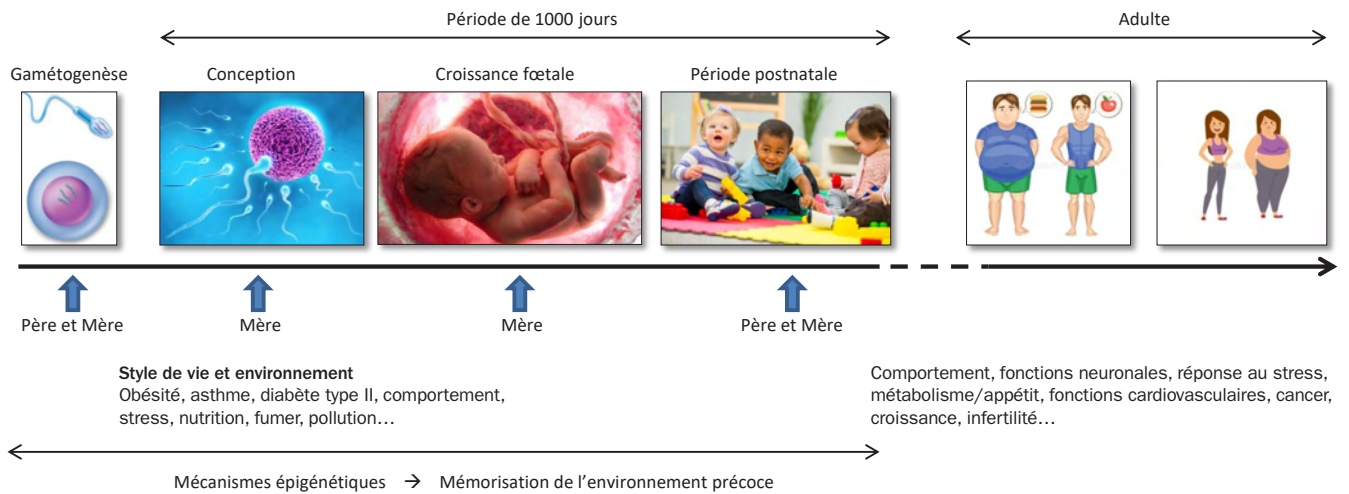


Figure 6.1 : Implications des mécanismes épigénétiques dans le contexte de la théorie « DOHaD ». Le développement peut être découpé en quatre fenêtres critiques : la gamétogenèse, le développement préimplantatoire précoce où se mettent en place les premiers lignages embryonnaires et extra-embryonnaires, la phase de croissance fœtale et d'organogenèse et la période postnatale où les soins parentaux sont cruciaux et où se font les changements environnementaux. Au cours de la gamétogenèse, les marques épigénétiques sont effacées dans les cellules germinales primordiales, puis un épigénome spécifique des gamètes est apposé. L'identité gamétique doit être effacée au cours du développement précoce. Dans la masse cellulaire interne du blastocyste, qui donnera l'embryon proprement dit, l'épigénome permet la totipotence. Au cours de la différenciation cellulaire, pendant les phases d'organogenèse et de croissance fœtale et post-natale, un épigénome spécifique de chaque type cellulaire est apposé, permettant le patron d'expression et le fonctionnement spécialisé de chaque cellule. L'environnement paternel et/ou maternel, en fonction de la fenêtre impliquée, peut affecter l'effaçage ou l'apposition de l'épigénome, et influencer la mise en place des marques spécifiques à chaque type cellulaire. Cela peut modifier le profil d'expression à long terme et influencer le développement de pathologies (Adaptée de Panchenko *et al.*, 2015).

Le cas de l'obésité

Les mécanismes épigénétiques sont impliqués dans le « conditionnement développemental ». Ce terme a été récemment proposé pour le concept de la DOHaD (Hanson and Gluckman, 2014). Le conditionnement développemental a été surtout observé dans le cas de l'obésité. L'ensemble des études montrent que les mères obèses sont susceptibles de transmettre à leurs enfants un risque de développer une obésité et ses comorbidités associées (Hochner *et al.*, 2012). Chez la souris, l'obésité maternelle montre des effets liés au syndrome métabolique sur la descendance. A court terme, le poids fœtal et les fonctions placentaires sont affectés ainsi que l'expression des gènes métaboliques et de la machinerie épigénétique placentaire (Panchenko *et al.*, 2015). A long terme, la descendance des mères obèses développe un poids corporel élevé lié à une adiposité accrue. Des altérations du métabolisme glucidique et des sécrétions des hormones pourront contribuer à des cas d'intolérance au glucose et d'insulinorésistance (Williams *et al.*, 2014). Différents travaux ont illustré l'implication des

marques épigénétiques dans le conditionnement du phénotype chez la descendance en impactant l'expression des gènes. L'expression des gènes dopaminergiques et opioïdes hypothalamiques est élevée chez les descendants des mères obèses (Vucetic *et al.*, 2010). Cette augmentation d'expression est corrélée à une hypométhylation des régions promotrices de ces gènes dans l'hypothalamus et le noyau accumbens, deux régions du cerveau impliquées dans l'équilibre de la balance énergétique et le comportement alimentaire. Les descendants ont une préférence pour une nourriture sucrée et grasse. Non seulement l'environnement nutritionnel maternel, mais aussi l'environnement paternel pourraient affecter le phénotype des descendants. La transmission de l'obésité des pères obèses à la descendance est réalisée via des microARNs apportés par les spermatozoïdes lors de la fécondation (Grandjean *et al.*, 2015). Plus précisément, le miR19b induit chez les descendants des altérations métaboliques qui sont similaires au phénotype des pères obèses, telles que l'intolérance au glucose et l'insulinorésistance.

Le cas des maladies psychosociales

En plus du stress nutritionnel prénatal, d'autres facteurs comme l'environnement psychosocial et l'adversité précoce pourraient être des facteurs déterminants pour l'état de santé psychique et physique de l'enfant à un âge adulte. L'adversité précoce est généralement définie par l'exposition à des maltraitances au cours de l'enfance. Chez le rat, la mère maternelle soigneusement ses petits (préparation du nid, allaitement actif en position arc-boutée, léchage ano-génital... - figure 6.2). Ce soin est crucial pour la maturité des fonctions cérébrales et l'adaptation comportementale vis-à-vis d'un stress chez les descendants (Hackman *et al.*, 2010). L'implication de mécanismes épigénétiques dans la réponse à ce stress précoce chez les rats n'a été montrée qu'en 2004 (Weaver *et al.*, 2004). Le faible maternage conduit à une augmentation de la méthylation de l'ADN dans le promoteur des récepteurs aux glucocorticoïdes entraînant une diminution de l'expression de ces gènes dans l'hippocampe. Ces modifications sont corrélées à des troubles comportementaux et des altérations endocriniennes en réponse au stress chez la descendance.

Les études effectuées jusqu'à présent montrent que les apports nutritionnels, le mode de vie et l'environnement psychosocial parentaux semblent affecter l'expression des gènes de la machinerie épigénétique au cours de la gaméto-genèse et du développement embryonnaire. Les marques qui se situent au niveau des gènes clés du développement, du métabolisme, et d'autres

systèmes tels que le système cognitif seront perturbées ce qui entraînera, par conséquent, des modifications dans le fonctionnement des organes. Cependant le lien de causalité directe entre une marque épigénétique et une pathologie associée reste encore méconnu. Les recherches sur des cohortes humaines et des modèles animaux actuellement en cours devraient apporter des connaissances très importantes pour adapter la réponse thérapeutique à mettre en œuvre pour le traitement de ces maladies.

Figure 6.2 : Soins maternels chez les rats.



RÉFÉRENCES

Barker DJ, Osmond C, Golding J, Kuh D, Wadsworth ME. 1989. Growth in utero, blood pressure in childhood and adult life, and mortality from cardiovascular disease. *BMJ* 298:564-567.

Hackman DA, Farah MJ, Meaney MJ. 2010. Socioeconomic status and the brain: mechanistic insights from human and animal research. *Nat Rev Neurosci* 11:651-659.

Hanson MA, Gluckman PD. 2014. Early developmental conditioning of later health and disease: physiology or pathophysiology? *Physiol Rev* 94:1027-1076.

Hochner H, Friedlander Y, Calderon-Margalit R, Meiner V, Sagy Y, Avgil-Tsadok M, Burger A, Savitsky B, Siscovick DS, Manor O. 2012. Associations of maternal prepregnancy body mass index and gestational weight gain with adult offspring cardiometabolic risk factors: the Jerusalem perinatal family follow-up study. *Circulation* 125:1381-1389.

Gabory A, Attig L, Junien C. 2011. Developmental programming and epigenetics. *Am J Clin Nutr* 94:1943S-1952S.

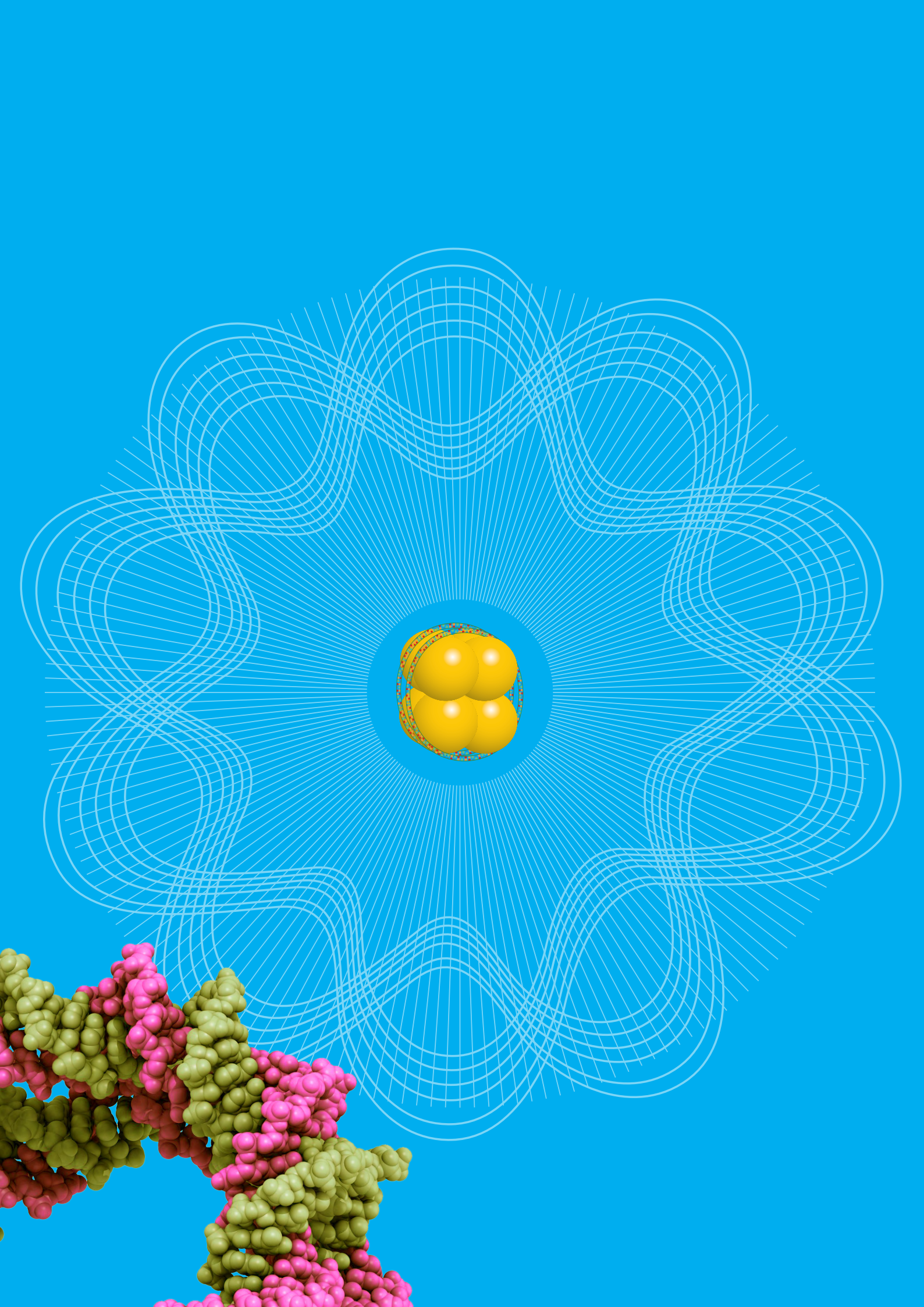
Grandjean V, Fourre S, De Abreu DA, Derieppe MA, Remy JJ, Rassoulzadegan M. 2015. RNA-mediated paternal heredity of diet-induced obesity and metabolic disorders. *Sci Rep* 5:18193.

Panchenko PE, Lemaire M, Fneich S, Voisin S, Jouin M, Junien C, Gabory A. 2015. Epigénétique et Nutrition : impacts de l'alimentation maternelle sur le développement placentaire et la santé de la descendance. *Biologie Aujourd'hui* 209:175-187.

Vucetic Z, Kimmel J, Totoki K, Hollenbeck E, Reyes TM. 2010. Maternal high-fat diet alters methylation and gene expression of opamine and opioid-related genes. *Endocrinology* 151:4756-4764.

Weaver IC, Cervoni N, Champagne FA, D'Alessio AC, Sharma S, Seckl JR, Dymov S, Szyf M, Meaney MJ. 2004. Epigenetic programming by maternal behavior. *Nat Neurosci* 7:847-854.

Williams L, Seki Y, Vuguin PM, Charron MJ. 2014. Animal models of in utero exposure to a high fat diet: a review. *Biochim Biophys Acta* 1842:507-519.



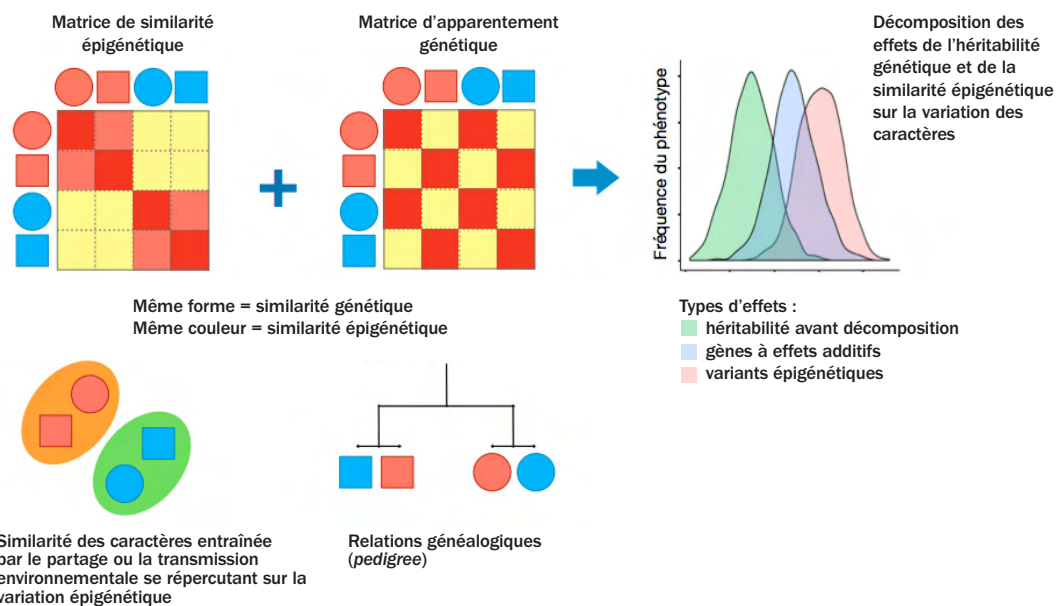
VII

ÉPIGÉNÉTIQUE QUANTITATIVE

Delphine Gourcilleau et Benoit Pujol

La valeur adaptive de l'épigénétique est mise en question par de nombreux scientifiques. Le reproche qui est fait est que la variation génétique n'est jamais dissociée de la variation épigénétique dans un cadre d'étude réaliste – la nature – qui permettrait de quantifier et ainsi d'évaluer son rôle dans l'écologie et l'adaptation à l'environnement. Les compétences requises, pour aborder cette question, en écologie, épigénétique et génétique quantitative, sont disponibles et mobilisables au sein de la communauté française. Associées à une approche pluridisciplinaire, des avancées majeures, expérimentales et conceptuelles, sont attendues pour mieux intégrer le poids relatif de chacune de ces composantes dans la dynamique du vivant.

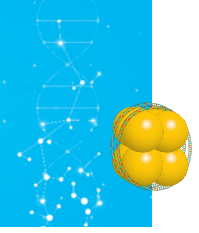
Figure 7.1 : Représentation simplifiée d'une approche de décomposition de l'hérédité des caractères pour quantifier la variation génétique ou épigénétique.



Impact de l'épigénétique dans la vraie vie : mythe ou potentiel significatif ?

Une partie du monde de la recherche est sceptique sur le rôle que pourrait jouer la variation épigénétique dans l'écologie et l'adaptation à l'environnement des populations et des espèces. Ce scepticisme s'explique facilement par le fait qu'il n'existe aucune preuve empirique quantitative attestant qu'une part non négligeable de l'adapta-

tion d'une population ou d'une espèce est basée sur la variation épigénétique. Pour démontrer un tel phénomène, il faut dans un premier temps pouvoir quantifier la variation des caractères adaptatifs qui est associée à la variation épigénétique en la dissociant de celle causée par la variation de l'ADN. Dans un second temps, il faut



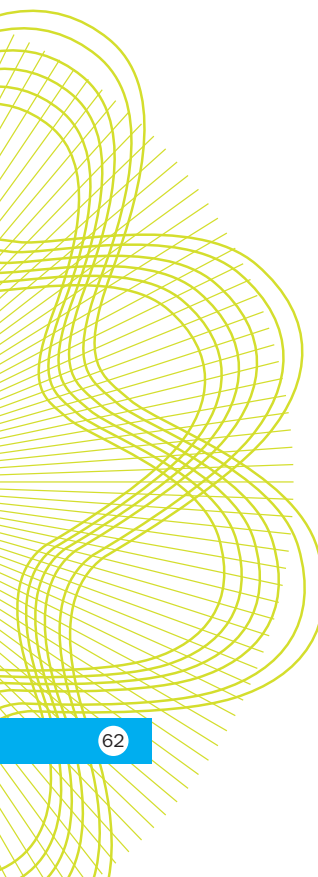
prouver que cette variation épigénétique des caractères est associée à un changement de valeur sélective (*fitness*). Ne pas dissocier la variation épigénétique de la variation de l'ADN revient à ne pas tester si les caractères sont déterminés épigénétiquement. Ne pas conduire ces évaluations de manière quantifiée dans le milieu naturel où les contraintes sont réalistes revient à ne pas prendre la mesure du phénomène et à ne pas le tester s'il n'est pas négligeable. Il reste donc à tester si l'épigénétique joue un rôle significatif qui influence concrètement l'écologie et l'adaptation à l'environnement des espèces. Il est surprenant de s'apercevoir que certains scientifiques assimilent le fait de ne pas avoir testé la significativité de l'épigénétique pour l'adaptation avec le fait qu'elle puisse être négligée. L'absence

d'informations sur un phénomène doit motiver sa recherche et non son ignorance. A ce jour, les preuves expérimentales que l'épigénétique peut potentiellement être impliquée dans l'adaptation existent. Il ne reste qu'à évaluer ce potentiel et quantifier le plus finement possible et dans les conditions les plus réalistes possibles, si l'épigénétique joue un rôle significatif. Comme discuté dans l'ensemble des chapitres de cette prospective, le cadre conceptuel pour de telles études existe. De plus, fait peu pris en compte, de nombreuses études de génétique quantitative montrent que lorsque l'on observe l'adaptation d'une population naturelle, cette adaptation n'est que très peu souvent, dans un tiers des cas seulement (Gienapp *et al.*, 2007), basée sur la sélection de variation génétique.

Le verrou du manque d'intégration pluridisciplinaire

La raison principale évoquée pour justifier de l'absence d'intérêt de l'épigénétique pour l'écologie et l'adaptation aux contraintes environnementales des populations est que les sources génétiques et non-génétiques de variation des caractères ne sont pas mesurées simultanément mais sont dissociées. En réalité, elles sont souvent étudiées de façon indépendante. Cela est dû au fait que différentes disciplines ont généralement des objectifs différents. Les études de biologie moléculaire cherchent à détecter les mécanismes épigénétiques. De façon très efficace, et afin que la variation épigénétique ne soit pas confondue avec la variation de l'ADN, elles excluent cette dernière. Les expériences en laboratoire permettent en effet de fixer le fond génétique (ou épigénétique) via l'utilisation de clones ou de lignées consanguines (par exemple les lignées consanguines recombinantes épigénétiques, epiRILs pour les plantes), ce qui donne accès à la variation non génétique (Cortijo *et al.*, 2014). C'est ainsi par exemple qu'il est possible de quantifier la variation épigénétique des caractères (epiQTLs). L'avantage de ces études est aussi leur principale limite. En milieu contrôlé et en l'absence d'organismes génétiquement variables, elles sont pertinentes pour détecter et identifier un mécanisme mais très peu pour évaluer si ce mécanisme a la moindre importance dans la nature. Les populations naturelles présentent généralement de la variation génétique. De plus dans la nature, les conditions environne-

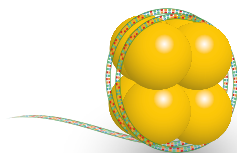
mentales sont multivariées et plus complexes que les conditions de laboratoire. À l'inverse, les études d'écologie en populations naturelles prennent bien la mesure de la variation environnementale qui est la base des modifications épigénétiques. Cependant, et c'est de là qu'une grande part du débat prend sa source, l'étude de la transmission de l'environnement ne prend pas en compte la dimension moléculaire de l'ADN, dont la variation peut être confondue avec l'hétérogénéité spatiale et temporelle de l'environnement, et n'identifie pas non plus la variation épigénétique moléculaire (Laland *et al.*, 2014). Ce n'est qu'à l'interface de ces deux types d'approches qu'il sera possible de tester l'hypothèse du rôle de l'épigénétique dans l'écologie et l'adaptation à l'environnement des populations naturelles. Les variations génétiques et non génétiques (environnementale et/ou épigénétique) des individus sont intimement liées et elles agissent de manière simultanée sur les phénotypes, ce qui rend difficile leur séparation et leur quantification. Dans ces conditions, notre capacité à comprendre comment la sélection naturelle façonne la diversité des organismes est limitée. Il est devenu ainsi nécessaire de pouvoir mesurer simultanément l'héritabilité génétique et la variation épigénétique des populations (Danchin *et al.*, 2011). C'est dans ce contexte que la génétique quantitative peut servir de cadre méthodologique pour une intégration appropriée des diverses disciplines.



Solutions envisagées

Des tentatives ont été faites pour permettre de quantifier simultanément la variation génétique et épigénétique des caractères (Otto *et al.*, 1994, Day et Bonduriansk, 2011, Townley et Ezard, 2013). Cependant, ces méthodes ne sont pas utilisées. C'est très probablement car elles ne sont pas forcément adaptées aux données empiriques existantes, ou qui peuvent être produites en quantité suffisante. Récemment, des approches de génétique quantitative ont commencé à inclure de multiples matrices d'effets dans des modèles d'analyses plus fréquemment utilisés et exploitant des données existantes (Stooper *et al.*, 2012, Germain *et al.*, 2016, Regan *et al.*, 2017). Ces approches incluent des gammes d'habitats pour tenir compte de la complexité de l'environnement et du fait que sa similarité entre générations peut, pour certains groupes d'individus, être confondue avec l'héritabilité génétique des caractères. Sur la base de ces approches, le modèle d'analyse de génétique quantitative a été étendu au traitement de données épigénétiques (Thomson *et al.*, 2018). Ce modèle permet de dissocier simultanément des

effets de matrices multiples et ainsi de démêler les causes génétiques et non génétiques de la variabilité des caractères. De la même façon que l'on utilise l'apparement génétique pour estimer l'héritabilité des caractères, ce modèle ajoute une matrice de distance épigénétique, qui accomode l'instabilité intergénérationnelle des méthylations de l'ADN, pour estimer la similarité entre individus qui est causée par le fait qu'ils partagent les mêmes marques épigénétiques (qu'il s'agisse de méthylations ou autres). Dans les années à venir, l'intérêt pour lever ou confirmer le doute associé à la valeur écologique et adaptative de l'épigénétique dans la nature sera au centre des préoccupations de nombreux scientifiques. Il l'est déjà dans le cadre du débat international sur le besoin de faire évoluer la théorie de l'évolution. Cependant, si la mobilisation scientifique est au rendez-vous, c'est certainement en France que l'on trouvera les compétences en écologie, en épigénétique et en génétique quantitative pour mener à bien cette avancée d'« écologie épigénétique » capables d'engendrer une rupture scientifique majeure.



RÉFÉRENCES

Cortijo S, *et al.* 2014. Mapping the epigenetic basis of complex traits. *Science* 343:1145-1148.

Danchin E, Charmantier A, Champagne FA, Mesoudi A, Pujol B. 2011. Beyond DNA: integrating inclusive inheritance into an extended theory of evolution. *Nature Reviews Genetics* 12:475-486.

Day T, Bonduriansky R. 2011. A unified approach to the evolutionary consequences of genetic and nongenetic inheritance. *Am Nat* 178:E18-36.

Germain RR, Wolak ME, Arcese P, Losdat S, Reid JM. 2016. Direct and indirect genetic and fine-scale location effects on breeding date in song sparrows. *J Anim Ecol* 85:1613-1624.

Gienapp P, Teplitsky C, Alho JS, Mills JA, Merila J. 2008. Climate change and evolution: disentangling environmental and genetic responses. *Mol Ecol* 17:167-178.

Laland K, *et al.* 2014. Does evolutionary theory need a rethink? *Nature* 514:161-164.

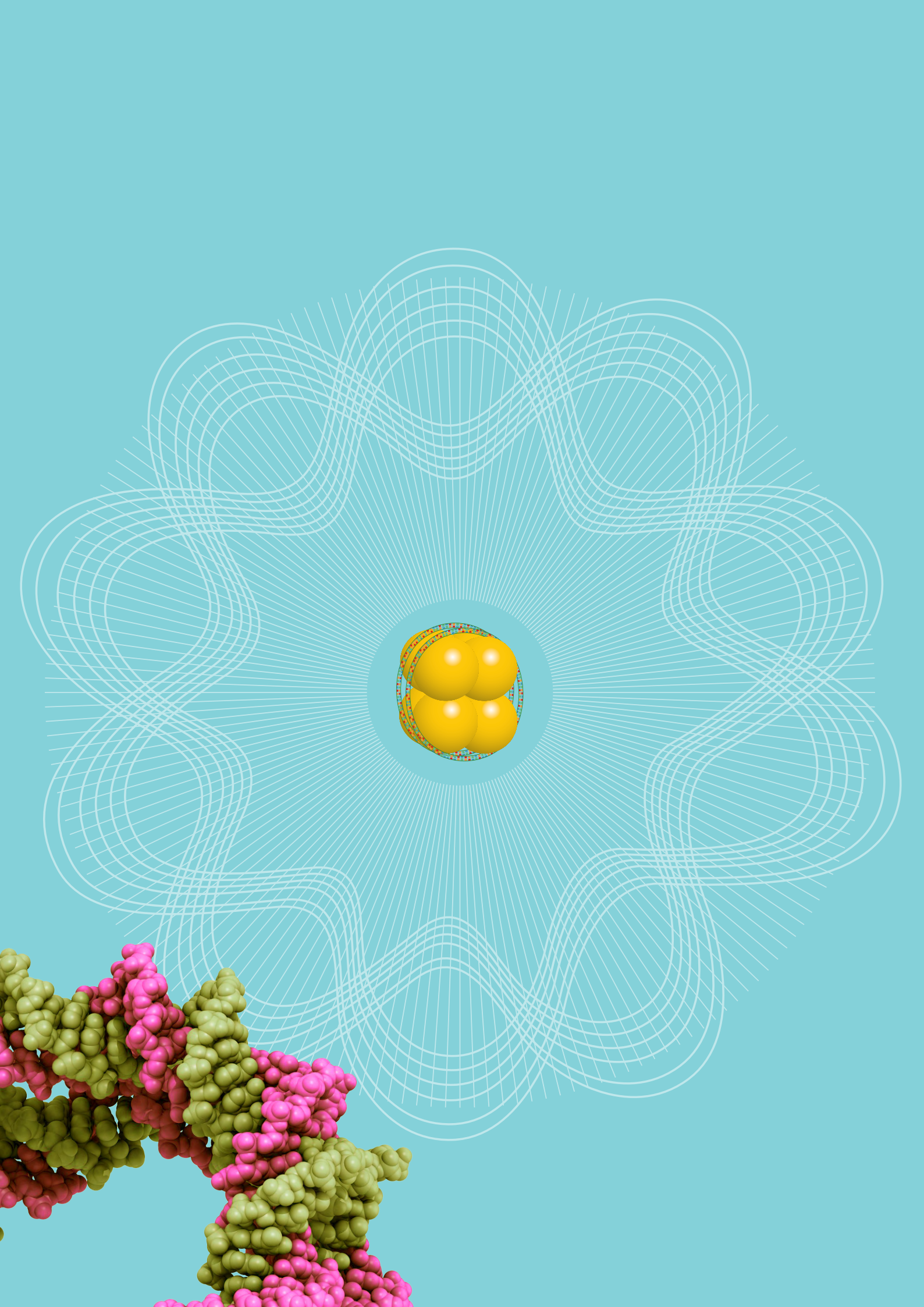
Otto, SP, Christiansen F, Feldman MW. 1995. Genetic and cultural inheritance of continuous traits. Morrison Institute for Population and Resource Studies Working Paper Series: #0065.

Regan CE, Pilkington JG, Berenos C, Pemberton JM, Smiseth PT, Wilson AJ. 2017. Accounting for female space sharing in St. Kilda Soay sheep (*Ovis arles*) results in little change in heritability estimates. *J Evol Biol* 30:96-111.

Stooper KV, Walling CA, Morris A, Guinness FE, Clutton-Brock TH, Pemberton JM, Nussey DH. 2012. Shared spatial effects on quantitative genetic parameters: accounting for spatial autocorrelation and home range overlap reduces estimates of heritability in wild red deer. *Evolution* 66:2411-2426.

Thomson CE, Winney IS, Salles O, Pujol B. 2018. A guide to using a multiple-matrix animal model to disentangle genetic and nongenetic causes of phenotypic variance. *PLoS ONE* In Press.

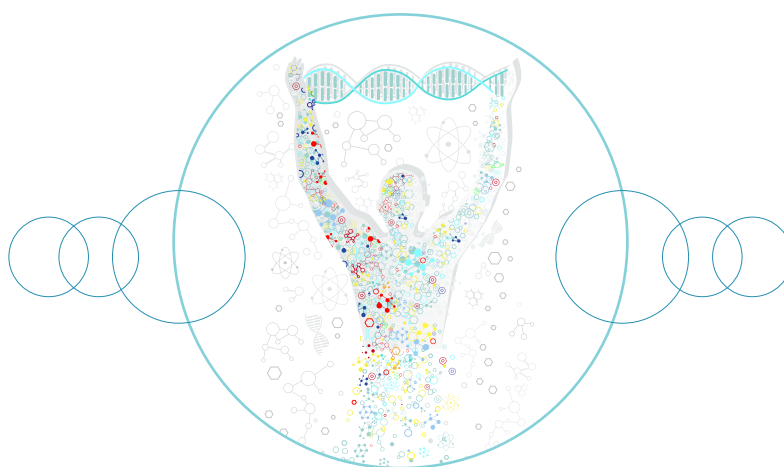
Townley S, Ezard TH. 2013. A G matrix analogue to capture the cumulative effects of nongenetic inheritance. *J Evol Biol* 26:1234-1243.



VIII

ENJEUX SOCIÉTAUX
DE L'ÉPIGÉNÉTIQUE

Raphaëlle Chaix



« L'homme ne se résume pas à son ADN », « l'épigénétique va changer votre vie », « votre esprit peut reprogrammer vos gènes » : voici certaines des promesses de l'épigénétique telles qu'on peut les lire de plus en plus souvent dans les médias. Ce mot est ainsi utilisé de façon croissante pour vendre cosmétiques, vitamines, ou ouvrages exposant les conduites à tenir pour influencer positivement sur l'expression des gènes. Les comportements alimentaires, le niveau d'exercice physique, la gestion des émotions, permettraient de reprendre sa vie en main et d'échapper au triste déterminisme des gènes, voire même transmettre à sa descendance les bénéfices d'une bonne hygiène de vie.

Ces promesses sont-elles fondées ? L'épigénétique est-elle synonyme d'une liberté retrouvée allant à l'encontre du « dogme » de la biologie moléculaire selon lequel l'information circule de l'ADN vers les protéines et non l'inverse ? Le potentiel exact de ces recherches est incertain. Certains chercheurs parlent de révolution, voire même invoquent un changement de paradigme (Julien *et al.*, 2016), pendant que d'autres qualifient ces découvertes de novatrices, en appelant à la mesure (Merlin 2016), ou que d'autres encore soulignent les effets de « mode » dans lequel on retrouve « tout et n'importe quoi ». En outre, le champ de l'épigénétique est sous-tendu

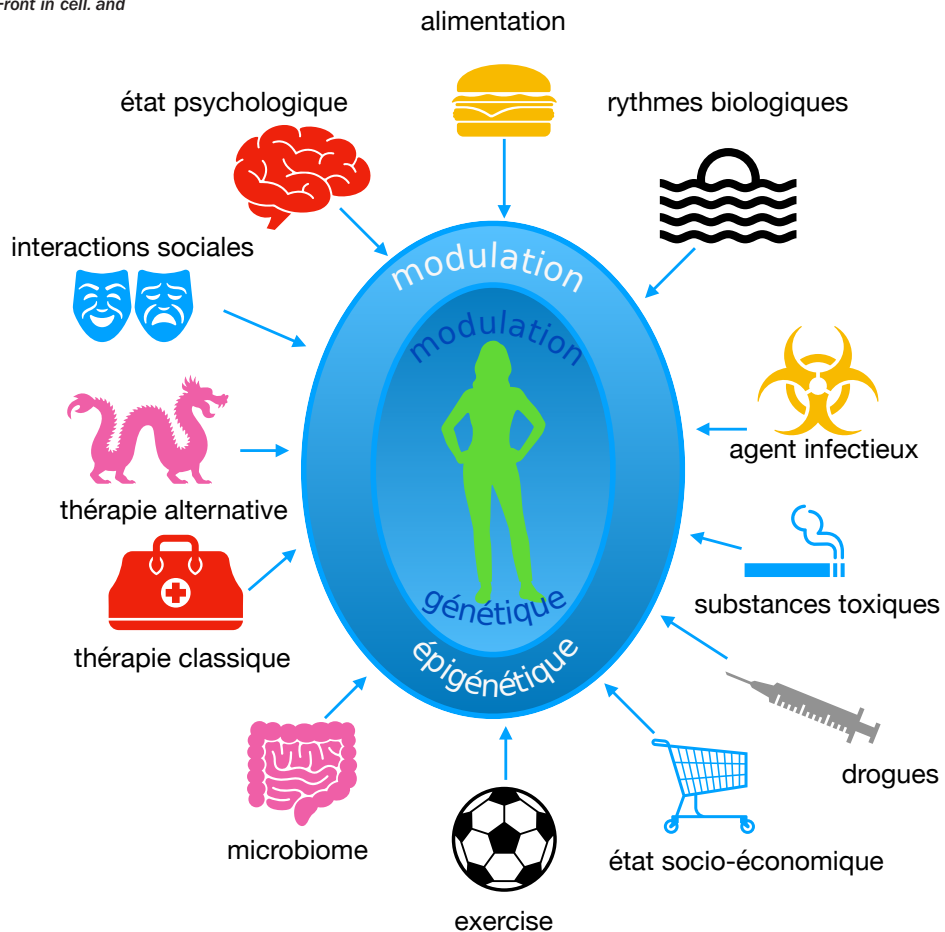
par des idéologies fortes, héritières du débat entre inné et acquis, entre part des gènes et part de l'environnement, qui a traversé tout le XX^e siècle (Gouyon, 2017). Cerner le rôle exact joué par l'épigénome dans la plasticité phénotypique et l'hérédité, et la marge de liberté pour le façonner, sera donc, dans les années à venir, un des grands défis des sciences du vivant. Du fait des nombreux enjeux sociétaux et environnementaux qu'elles soulèvent, ces recherches devront autant que possible associer des chercheurs issus des sciences humaines, depuis la collecte des données jusqu'à la diffusion des connaissances auprès du grand public.

Un champ de recherche interdisciplinaire en développement

L'un des enjeux principaux de ces recherches sera donc d'identifier les rapports de causalité entre épigénome et phénotype : est-ce l'épigénome qui influence le phénotype ou l'inverse ? Et quelles sont les influences respectives de l'environnement et du génome sur l'épigénome (figure 8.1) ? Ces relations de causalité pourront être élucidées grâce à la constitution de nouveaux jeux de données, notamment les suivis longitudinaux de grandes cohortes, si possible sur plusieurs générations (Rakyan *et al.*, 2011). Ceux-ci permettront en outre de mesurer la part de transmission épigénétique intergénérationnelle (c'est-à-dire du père à ses enfants, de la mère à ses enfants, et de la grand-mère à ses petits-enfants), voire

transgénérationnelle (Heard et Martienssen, 2014 ; Skinner, 2014). Ce recueil de données devra prendre en compte la pluralité des environnements de l'individu (physique, social, économique, culturel, avec une réflexion à mener sur la quantification de ces informations), ainsi que la nature « emboîtée » de ces environnements : celui de la population, de l'individu mais aussi le micro-environnement de chaque cellule, avec la nécessité d'intégrer des données physiologiques, métaboliques, et multi-tissus. Pour l'homme, ces recueils de données devront dans la mesure du possible s'étendre aux populations non européennes, afin de couvrir la diversité biologique et culturelle de notre espèce (Fagny *et al.*, 2015).

Figure 8.1 : l'épigénome est façonné par de nombreux facteurs génétiques et environnementaux, sans que l'on puisse à l'heure actuelle estimer avec précision les parts respectives jouées par les gènes et par l'environnement (figure copiée de Kankerkar (2014) *Front in cell. and develop. Bio*).



L'épigénétique et ses enjeux médicaux

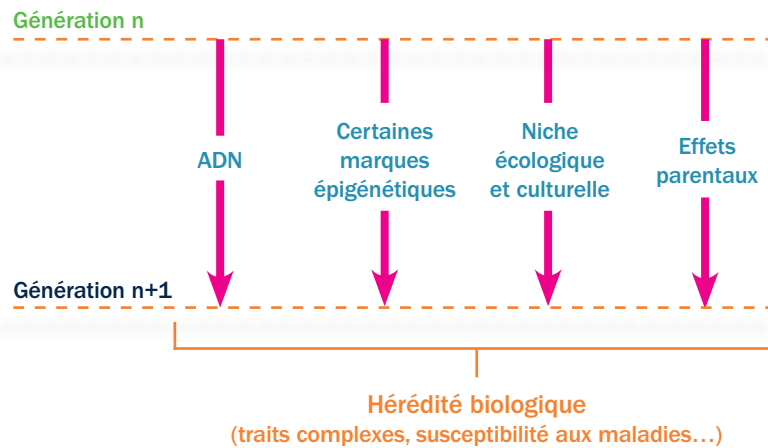


Figure 8.2 : pluralité des canaux de transmission pouvant contribuer à l'hérédité biologique. La part héréditaire des caractères complexes ne dépend pas seulement de l'ADN mais également de marques épigénétiques qui peuvent être transmises de manière intergénérationnelle. La niche écologique et culturelle tend également à être transmise entre générations, se répercutant potentiellement sur les marques épigénétiques. Des effets parentaux (comme par exemple les soins donnés aux enfants) sont également transmissibles d'une génération à l'autre (par des mécanismes génétiques ou non) et peuvent contribuer à l'hérédité biologique de certains traits.

Les enjeux médicaux de l'épigénétique sont importants. Les maladies complexes sont héréditaires, c'est-à-dire qu'elles réapparaissent fréquemment au sein des mêmes lignées familiales. Pourtant, on peine à identifier les déterminants génétiques de ces maladies (Manolio *et al.*, 2009). Il est probable que les facteurs épigénétiques soient l'une des causes de cette hérédité dite manquante (Furrow *et al.*, 2011) notamment via la transmission intergénérationnelle des marques épigénétiques. En outre, les parents tendent à transmettre à leurs enfants leur « niche » écologique et culturelle (Guglielmino *et al.*, 1995), ce qui peut réinitier à chaque génération les mêmes profils épigénétiques, et potentiellement les mêmes risques de maladies complexes (figure 8.2) (Danchin *et al.*, 2011). De plus, les facteurs épigénétiques pourraient être impliqués dans la prévalence croissante des maladies chroniques (78 % des adultes de plus de 55 ans sont touchés, www.cdc.gov).

Des mécanismes de programmation développementale pourraient être ici à l'œuvre : il s'agit de l'hypothèse de la DOHaD (figure 8.3 et chapitre 6) selon laquelle le fœtus serait porteur de marques épigénétiques induites par son environnement précoce, lui permettant d'être adapté à son environnement de vie (figure 8.4), un mécanisme adaptatif qui se révélerait désavantageux si les conditions environnementales se modifient (avec notamment un risque plus élevé de syndrome métabolique en cas d'apports alimentaires accrus) (Gluckman *et al.*, 2007). Ces effets pourraient être médiés par des marques épigénétiques programmées très tôt dans la vie de l'individu, comme l'a confirmé l'étude d'une cohorte d'individus conçus lors de la famine de 1944-45 en Hollande (Heijmans *et al.*, 2008), voire à la génération précédente (Pembrey *et al.*, 2014). Par ailleurs, la réponse au stress pourrait également être sous l'influence d'une programmation épigénétique : les individus exposés

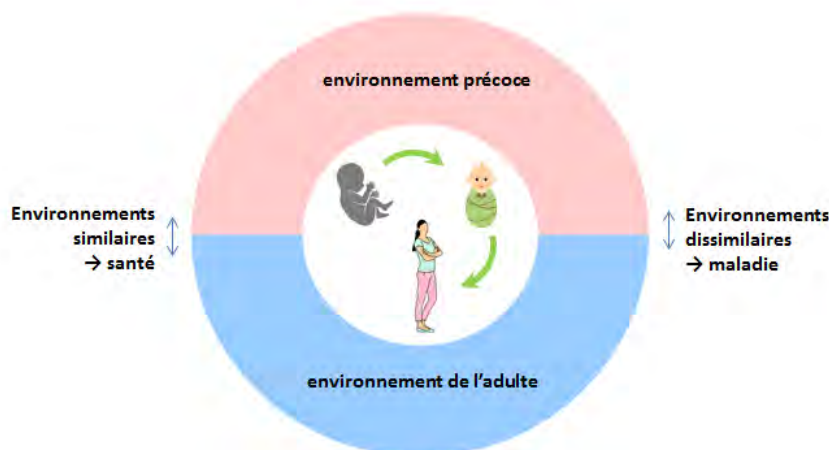


Figure 8.3 : Selon l'hypothèse de la DOHaD (Developmental Origins of Health and Disease), le fœtus serait « programmé » lors de son développement par des processus épigénétiques, afin d'optimiser son adaptation à son environnement futur. Ce processus se révélerait maladaptatif en cas de changement environnemental et pourrait expliquer en partie la prévalence actuelle de certaines maladies chroniques, et notamment du syndrome métabolique.

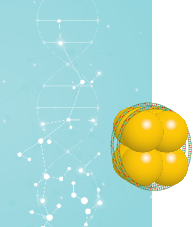
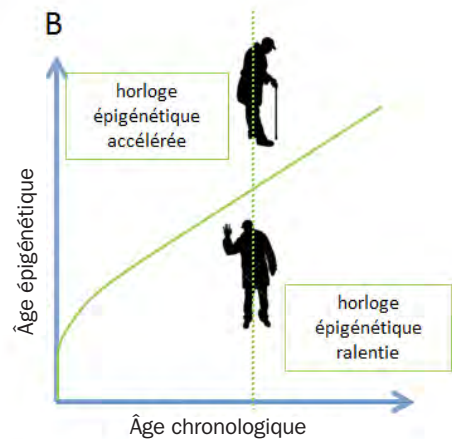
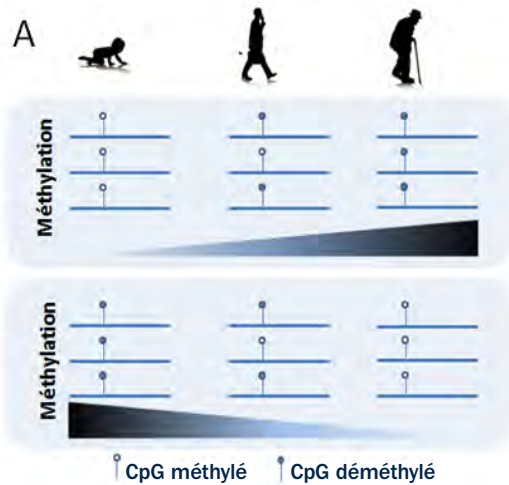


Figure 8.4 :
L'horloge épigénétique.

A) L'épigénome évolue tout au long de la vie de l'individu, selon des dynamiques complexes. Certains sites se méthylent de plus en plus avec les années, d'autres se déméthylent de plus en plus. À partir des profils de méthylation, il est ainsi possible de prédire l'âge de l'individu à environ 4 ans près. Cet âge prédit est appelé âge épigénétique.



B) Le rythme de cette horloge épigénétique est variable selon les individus. Chez certains, l'âge épigénétique est plus élevé que leur âge chronologique, leur horloge épigénétique est donc accélérée : ces individus ont un risque accru de maladies chroniques et de mortalité. Une horloge ralentie est associée à une longévité accrue.

à un stress de début de vie ou durant leur vie pré-natale auraient en niveau de l'hippocampe des marques épigénétiques spécifiques qui limiteraient le rétrocontrôle négatif de l'axe HPA, un des régulateurs principaux de la réponse au stress (chapitre 6).

En outre, des travaux récents soulignent les risques sanitaires liés à l'exposition du fœtus à de nombreux perturbateurs endocriniens d'origine industrielle, incluant le bisphénol A (Woodruff *et al.*, 2011). Ces molécules interfèrent au moment du développement avec l'action des hormones, et notamment de l'hormone thyroïdienne, cruciale pour le développement du cerveau, via des mécanismes

épigénétiques, entraînant des impacts sur la cognition mais aussi sur la différenciation sexuelle et sur la reproduction (Fini *et al.*, 2017). Cette pollution pourrait donc avoir un coût sociétal très élevé, d'autant plus que certains effets délétères pourraient se transmettre de manière intergénérationnelle via des marques épigénétiques. Pour autant, la législation européenne reste à l'heure actuelle très permissive concernant l'usage de nombreux perturbateurs endocriniens.

Evaluer la réversibilité des marques épigénétiques

Un des enjeux sera donc d'établir s'il est possible (par quels moyens et dans quelles fenêtres temporelles) de réguler, voire d'effacer, les marques épigénétiques potentiellement délétères pour la santé de l'individu, notamment dans les cas où le fœtus est à risque, par exemple en cas d'exposition précoce à une sous nutrition, à l'alcool ou à un stress psychologique sévère (Sittig et Reider, 2014). Il sera crucial également de déterminer si ces marques épigénétiques délétères peuvent être effacées une fois l'individu devenu adulte (Meaney et Szyf, 2005).

De plus, l'épigénome n'est pas seulement une cause potentielle de l'état de santé de l'individu ; il fournit également une mesure particulièrement prédictive de son état de santé actuel et futur (figure 8.4). En effet, il évolue au cours de la vie de l'individu, c'est ce que l'on appelle l'horloge épigénétique : certains sites se méthylent de

plus en plus, d'autres se déméthylent de plus en plus avec les années. L'horloge épigénétique de certains individus est accélérée en comparaison aux autres, ce qui est associé à un risque accru de maladies chroniques et de mortalité (Horvath et Raj, 2018). On ne sait pas encore si cette horloge épigénétique est une cause ou une conséquence du vieillissement. En revanche, sa précision et son pouvoir prédictif de l'état de santé de l'individu offrent la possibilité d'évaluer précisément l'efficacité d'interventions de mode de vie. Il a ainsi été montré que l'alimentation et l'exercice physique pouvaient ralentir cette horloge épigénétique (Quach *et al.*, 2017). L'exposition au stress psychologique chronique accélère cette horloge (Gassen *et al.*, 2017), tandis qu'une étude préliminaire suggère que la pratique quotidienne de techniques de gestion du stress pourrait la ralentir (Chaix *et al.*, 2017).

Épigénétique et responsabilités

Les voies thérapeutiques évoquées ci-dessus soulignent la potentielle réversibilité de l'épigénome via des approches pharmacologiques ou des interventions de mode de vie. Cependant, malgré l'emballement médiatique, ces études sont encore préliminaires et la part de l'épigénome qui peut en effet répondre à ces interventions reste à déterminer. Certaines marques épigénétiques, induites par l'environnement précoce (par exemple par l'alimentation des parents) semblent être verrouillées tout au long de la vie de l'individu. Ainsi de nouvelles questions sociétales émergentes, avec un risque de culpabilisation, voire de stigmatisation des mères et des grand-mères qui n'auront pas su optimiser la santé de leurs enfants (Richardson *et al.*, 2014). Les pères commencent également à être visés par ces discours néolibéraux sur la santé (Hughes, 2014).

Des réflexions interdisciplinaires seront nécessaires pour re-contextualiser ces discours. D'une part, les facteurs de risque épigénétiques, mis en exergue à l'heure actuelle dans les médias, tendent à occulter la complexité des mécanismes biologiques réellement impliqués dans le déterminisme du phénotype. D'autre part, les individus ne sont souvent pas pleinement acteurs de leur alimentation ou de leur stress et de ce qu'ils transmettent à leurs enfants : il sera crucial ici de prendre en compte les facteurs socio-économiques, notamment en lien avec les discriminations socio-économiques ou raciales. Ainsi, des préconisations simplistes sur la nécessaire gestion du stress ou de l'alimentation chez les femmes enceintes risquent de se révéler stériles si la chaîne de causalité n'est pas prise en compte dans son ensemble, et que les responsabilités, au niveau de la société, ne sont pas identifiées.

De l'épigénétique sociale à la lutte contre le racisme

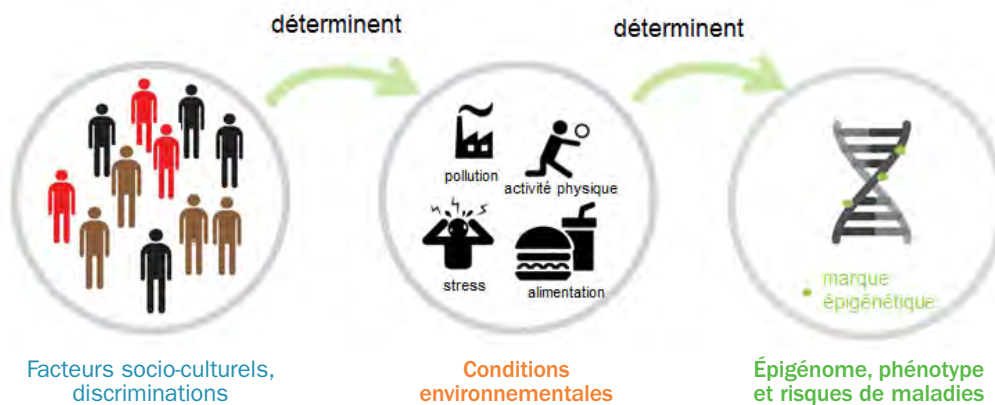
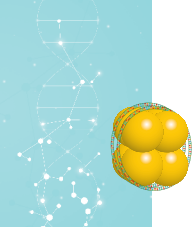


Figure 8.5 : de l'épigénétique sociale à l'embodiment (figure modifiée à partir de <https://epi.grants.cancer.gov/epigen.html>).

Il apparaît donc que les facteurs écologiques et socio-culturels peuvent s'inscrire via ces mécanismes épigénétiques, dans le biologique, un processus que les anglo-saxons dénomment *embodiment* (figure 8.5). Comme nous l'avons dit, les discriminations raciales font potentiellement partie de ces facteurs : ainsi la susceptibilité plus élevée aux maladies cardio-vasculaires des Afro-Américains aux Etats-Unis a été mise en lien avec une exposition pré-natale accrue au stress maternel dans cette population comparativement aux autres (Kuzawa et Sweet, 2009). Les disparités en termes de santé pourraient également résulter d'une exposition différen-

tielle aux molécules toxiques, en lien avec des lieux d'habitation des populations défavorisées souvent plus à proximité des zones industrielles (Olden *et al.*, 2014).

Il y a là un renversement de paradigme possible : au lieu d'une vision des populations humaines selon laquelle leurs différences biologiques sont déterminées par leur ADN, il apparaît que les facteurs écologiques, sociaux, économiques, culturels pourraient, en s'inscrivant dans le biologique via des mécanismes épigénétiques, être à l'origine de ces différences. Ces réflexions s'inscrivent plus généralement

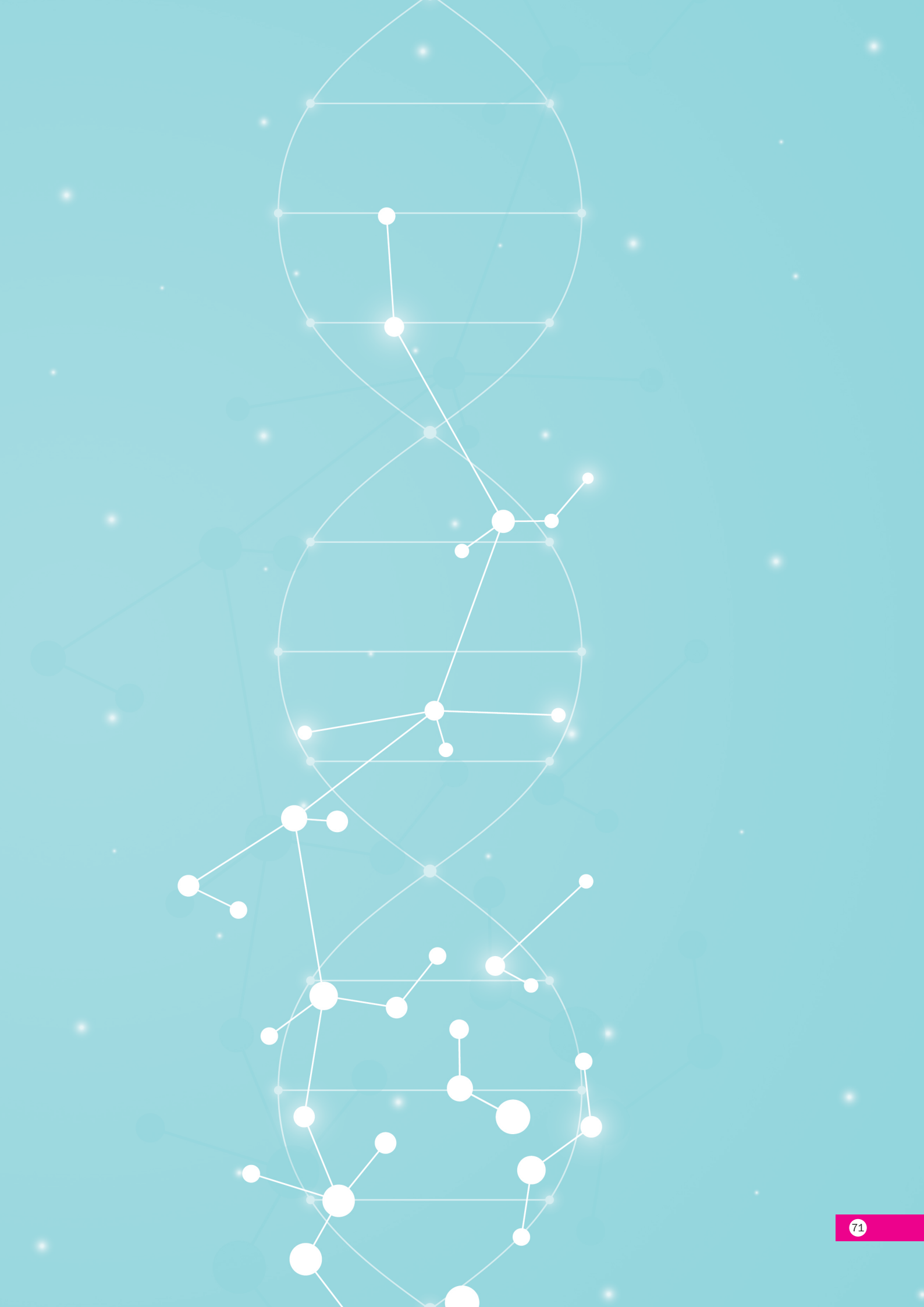


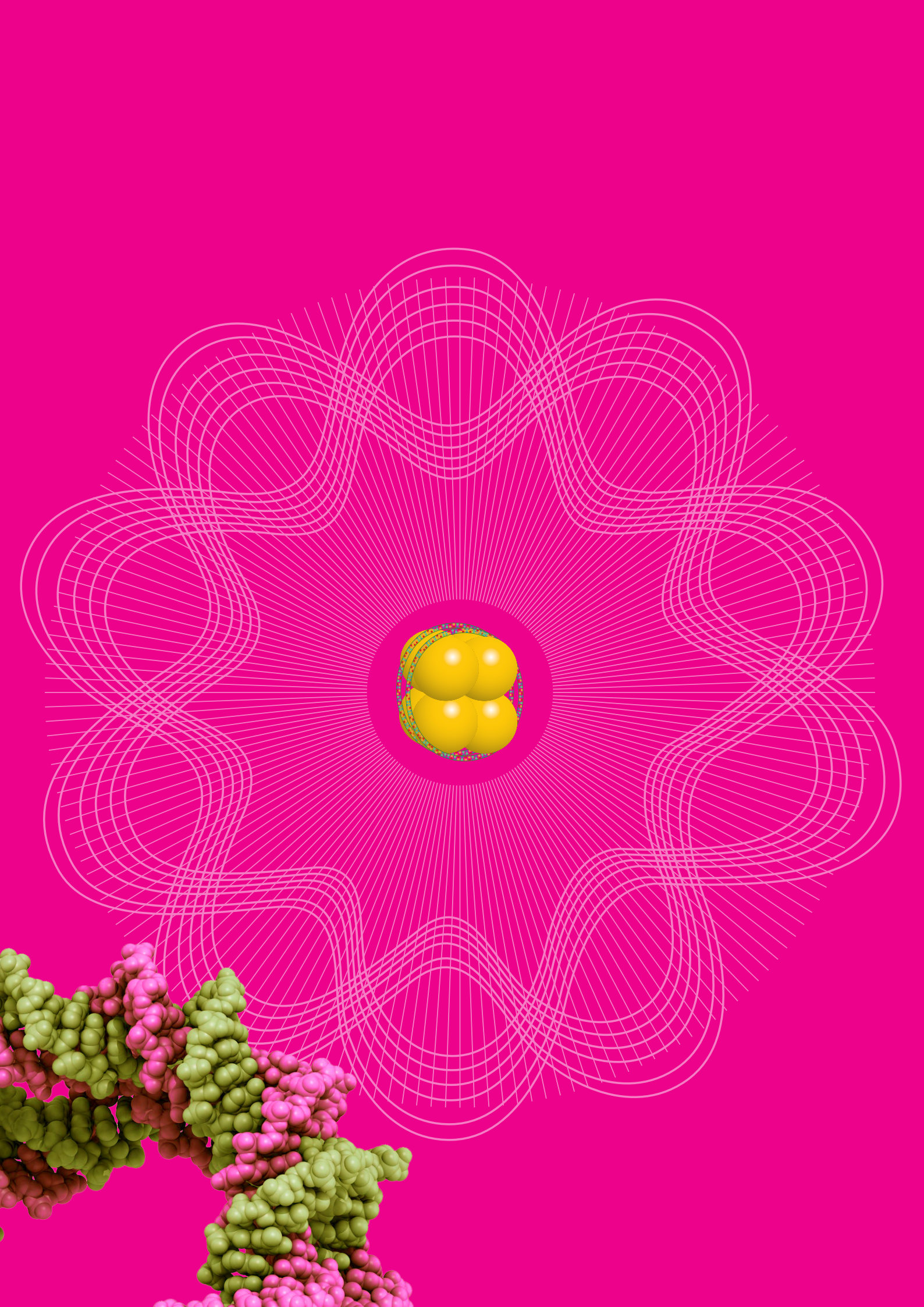
dans le cadre de la théorie de la construction de niche : les populations humaines construisent leur niche, c'est-à-dire le théâtre écologique dans lequel elles évoluent, et en retour, cette niche, avec ses spécificités écologiques et culturelles, exerce des pressions évolutives sur les populations humaines. Les travaux en épigénétique montrent que ce processus ne se fait pas seulement à l'échelle des populations sur

le temps long de l'évolution darwinienne (Laland *et al.*, 2010), mais se fait également à chaque naissance, sur le temps court du développement, sous l'influence des disparités environnementales auxquelles les individus font face. Ces recherches ont donc des implications potentiellement importantes en termes de disparités de santé mais également de lutte contre les inégalités et le racisme.

RÉFÉRENCES

- Chaix R, Alvarez-Lopez MJ, Fagny M, Lemee L, Regnault B, Davidson RJ, Lutz A, Kaliman P. 2017. Epigenetic clock analysis in long-term meditators. *Psychoneuroendocrinology* 85:210-214.
- Danchin E, Charmantier A, Champagne FA, Mesoudi A, Pujol B. 2011. Beyond DNA: integrating inclusive inheritance into an extended theory of evolution. *Nature Reviews Genetics* 12:475-486.
- Fagny M, *et al.* 2015. The epigenomic landscape of African rainforest hunter-gatherers and farmers. *Nat Commun* 6:10047.
- Fini JB, Mughal BB, Le Mevel S, Leemans M, Lettmann M, Spirhanzlova P, Affaticati P, Jenett A, Demeneix BA. 2017. Human amniotic fluid contaminants alter thyroid hormone signalling and early brain development in *Xenopus* embryos. *Sci Rep* 7:43786.
- Furrow RE, Christiansen FB, Feldman MW. 2011. Environment-sensitive epigenetics and the heritability of complex diseases. *Genetics* 189:1377-1387.
- Gassen NC, Chrousos GP, Binder EB, Zannas AS. 2017. Life stress, glucocorticoid signaling, and the aging epigenome: Implications for aging-related diseases. *Neurosci Biobehav Rev* 74:356-365.
- Gluckman PD, Hanson MA, Beedle AS. 2007. Early life events and their consequences for later disease: a life history and evolutionary perspective. *Am J Hum Biol* 19:1-19.
- Gouyon P H. 2017. L'inné, l'acquis, l'information... Le fil de la vie. Available at: <http://lille1tv.univ-lille1.fr/videos/video.aspx?id=fa276722-2f5d-4b8b-8188-1d6e8296d9f6>
- Guglielmino CR, Viganotti C, Hewlett B, Cavalli-Sforza LL. 1995. Cultural variation in Africa: role of mechanisms of transmission and adaptation. *Proc Natl Acad Sci U S A* 92:7585-7589.
- Heard E, Martienssen RA. 2014. Transgenerational epigenetic inheritance: myths and mechanisms. *Cell* 157:95-109.
- Heijmans BT, Tobi EW, Stein AD, Putter H, Blauw GJ, Susser ES, Slagboom PE, Lumey LH. 2008. Persistent epigenetic differences associated with prenatal exposure to famine in humans. *Proc Natl Acad Sci U S A* 105:17046-17049.
- Horvath S, Raj K. 2018. DNA methylation-based biomarkers and the epigenetic clock theory of ageing. *Nat Rev Genet* 19:371-384.
- Hughes V. 2014. Epigenetics: The sins of the father. *Nature* 507:22-24.
- Junien C, Panchenko P, Pirola L, Amarger V, Kaefter B, Parnet P, Torrisani J, Bolanos Jimenez F, Jammes H, Gabory A. 2016. [The new paradigm of the developmental origin of health and diseases (DOHaD)-Epigenetics and environment: evidence and missing links]. *Med Sci (Paris)* 32:27-34.
- Kuzawa CW, Sweet E. 2009. Epigenetics and the embodiment of race: developmental origins of US racial disparities in cardiovascular health. *Am J Hum Biol* 21:2-15.
- Laland KN, Odling-Smee J, Myles S. 2010. How culture shaped the human genome: bringing genetics and the human sciences together. *Nat Rev Genet* 11:137-148.
- Manolio TA, *et al.* 2009. Finding the missing heritability of complex diseases. *Nature* 461:747-753.
- Meaney MJ, Szyf M. 2005. Environmental programming of stress responses through DNA methylation: life at the interface between a dynamic environment and a fixed genome. *Dialogues Clin Neurosci* 7:103-123.
- Merlin F. 2016. Pour une approche mesurée de l'épigénétique. *Cah. Sci. Médecine, Le Monde*.
- Olden K, Lin YS, Gruber D, Sonawane B. 2014. Epigenome: biosensor of cumulative exposure to chemical and nonchemical stressors related to environmental justice. *Am J Public Health* 104:1816-1821.
- Pembrey M, Saffery R, Bygren LO, Network in Epigenetic E. 2014. Human transgenerational responses to early-life experience: potential impact on development, health and biomedical research. *J Med Genet* 51:563-572.
- Quach A, *et al.* 2017. Epigenetic clock analysis of diet, exercise, education, and lifestyle factors. *Ageing (Albany NY)* 9:419-446.
- Rakyan VK, Down TA, Balding DJ, Beck S. 2011. Epigenome-wide association studies for common human diseases. *Nat Rev Genet* 12:529-541.
- Richardson SS, Daniels CR, Gillman MW, Golden J, Kukla R, Kuzawa C, Rich-Edwards J. 2014. Society: Don't blame the mothers. *Nature* 512:131-132.
- Sittig LJ, Redei EE. 2014. Fine-tuning notes in the behavioral symphony: parent-of-origin allelic gene expression in the brain. *Adv Genet* 86:93-106.
- Skinner MK. 2014. Environmental stress and epigenetic transgenerational inheritance. *BMC Med* 12:153.
- Woodruff TJ, Zota AR, Schwartz JM. 2011. Environmental chemicals in pregnant women in the United States: NHANES 2003-2004. *Environ Health Perspect* 119:878-885.





IX

BILANS ET RECOMMANDATIONS

Fabrice Vavre, Ana Rivero, Irène Till-Bottraud et Xavier Vekemans (CoNRS section 29)

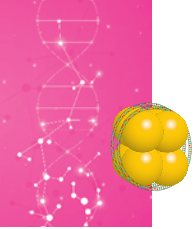


Les riches contributions réunies dans ce cahier de prospectives indiquent clairement que l'épigénétique joue un rôle important dans des processus biologiques extrêmement divers et dont les conséquences (développementales, phénotypiques, écologiques ou évolutives) sont également très variées, et parfois sujettes à controverse. Les réflexions présentées ci-après identifient les points sensibles et proposent quelques pistes pour l'avenir.

Les progrès récents concernant la caractérisation des multiples mécanismes moléculaires de l'épigénétique (méthylation de l'ADN, modifications des histones, petits ARN, conformation de l'ADN dans le noyau...) ont permis d'identifier les bases mécanistiques de phénomènes déjà bien étudiés. Il s'agit notamment de la plasticité développementale (comment les organismes développent-ils une multitude de cellules spécialisées à partir d'un seul zygote ?) ; de la plasticité phénotypique (comment des génotypes identiques produisent-ils des phénotypes différents dans des environnements différents ?) ; ou encore des effets parentaux (comment le phénotype des parents affecte-t-il le phénotype des descendants ?). Ces études commencent à établir des liens solides entre

l'environnement, le génotype et l'épigénotype et la modification, éventuellement adaptative, du phénotype.

L'identification des acteurs moléculaires sous-jacents est une avancée remarquable pour comprendre leur contribution à l'écologie et l'évolution des organismes, mais aussi pour comprendre leur propre évolution (e.g. comment évoluent les normes de réaction ? Quels sont les mécanismes qui sous-tendent la relation environnement-épimutation ?). Ces avancées ont généré des nouvelles découvertes qui répondent à des questions importantes et dont les résultats s'intègrent facilement dans un corpus théorique existant, largement accepté par l'ensemble de la communauté scientifique. En



résumé, nous savons aujourd'hui que (1) les épimutations peuvent modifier le phénotype, (2) l'environnement peut modifier l'épigénotype (3) génotype et épigénotype sont mutuellement dépendants (ils forment un système), et (4) les épimutations sont en partie hérissables.

Cette mise en évidence de la transmission transgénérationnelle de marques épigénétiques a conduit à des propositions fortes et controversées. A l'extrême, la possibilité que certains traits acquis par modification épigénétique puissent être hérissables bouleverserait la science de l'hérissabilité telle qu'elle est perçue aujourd'hui par la communauté, dans un contexte de génétique classique où la transmission des caractères dépend de la séquence ADN. Certaines théories « neo-Lamarckiennes » ont donc trouvé leur place dans la première page des journaux et capturé l'imagination du public car elles ouvriraient la porte à une vision moins « géocentrique » de l'humain (nos gènes ne guideraient pas notre destin, ni celui de nos descendants). Toutefois, dans la très grande majorité des cas de transmission transgénérationnelle, le lien direct entre environnement, épimutation et modification adaptative du phénotype n'a pas encore été démontré. Plus généralement, l'existence de cette hérissabilité épigénétique (étendue à l'hérissabilité non-génétique) a conduit à des appels à une nouvelle synthèse évolutive. Il ne s'agit pas ici de prendre parti, mais de déterminer quels sont les éléments qui doivent maintenant nous permettre d'avancer sur la contribution relative de l'hérissabilité des marques épigénétiques à l'écologie et l'évolution des organismes. Plusieurs appels au développement de modèles théoriques ont été lancés dans cette prospective, nous proposons ici quelques pistes empiriques pour venir enrichir et surtout paramétrer ces développements :

- 1 - Quantifier pour chaque porteur d'information épigénétique (cf. chapitre 3) le taux d'épimutation ainsi que le taux de réversion à l'échelle individuelle et transgénérationnelle. Il sera nécessaire de le réaliser sur différents organismes (modèles et non-modèles), mais aussi dans différents environnements, stable ou fluctuant (influence du stress).
- 2 - Caractériser le patron d'épimutation (aléatoire, dirigé (comme pour la plasticité par exemple), dépendant ou non de l'environnement). Là encore, ce travail de fond doit être réalisé pour les différents mécanismes

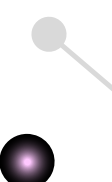
épigénétiques et pour différents niveaux de transmission intergénérationnelle.

3 - Déterminer le degré de contrôle génétique des épimutations en approfondissant nos connaissances sur le rôle joué par les gènes dans l'établissement (et l'effacement) des marques épigénétiques et établir si les marques épigénétiques sont transmises entre générations indépendamment des différences de séquence d'ADN.

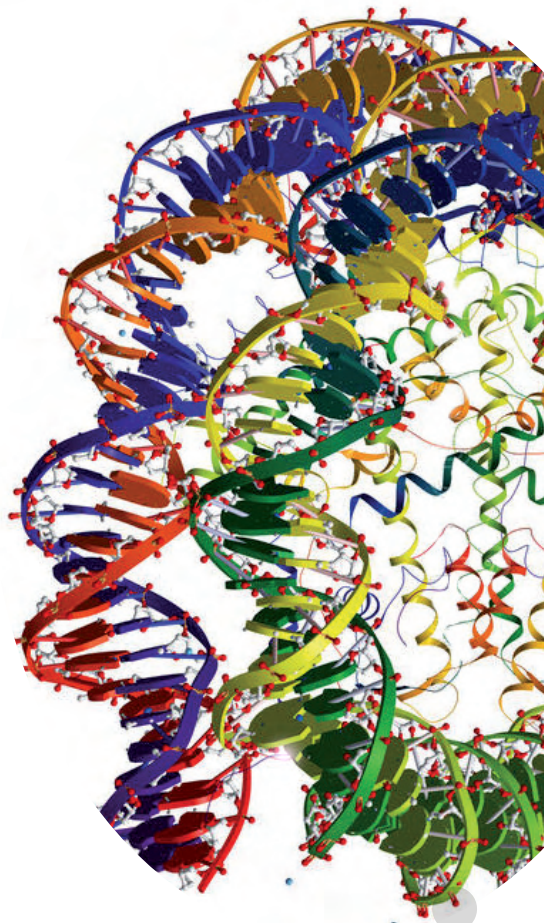
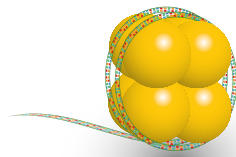
4 - Déterminer le caractère adaptatif des épimutations. Il est nécessaire de faire une connexion explicite non seulement entre environnement et « épimutation » (c'est là que l'effort est surtout concentré actuellement) mais aussi entre épimutation et phénotype, et phénotype et *fitness*.

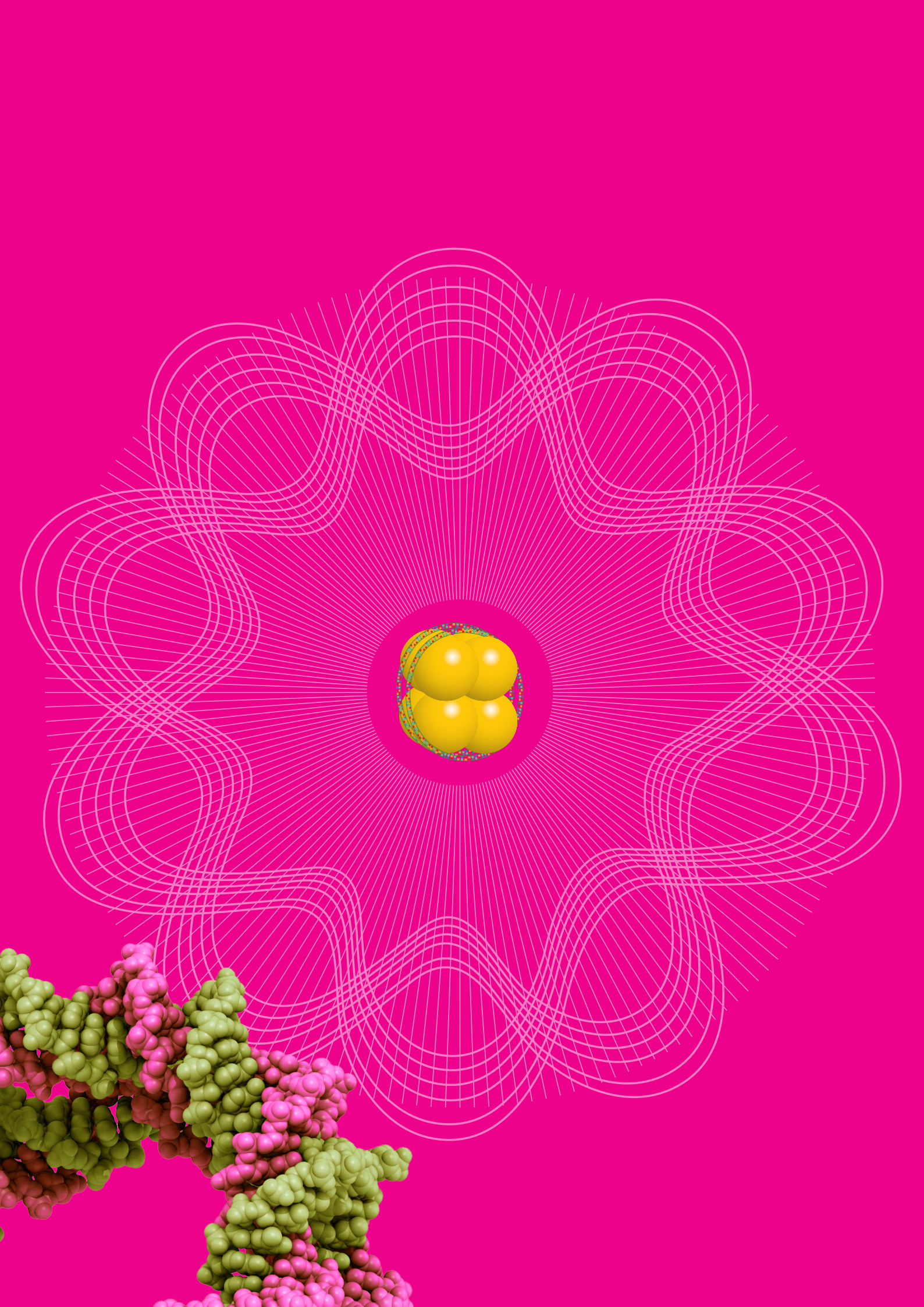
Les trois premiers points peuvent s'appuyer sur les avancées technologiques actuelles en termes de séquençage, et, si le travail est colossal, sa faisabilité est plutôt bonne. Il nécessite toutefois de développer de fortes collaborations entre biologistes moléculaires et écologues. La difficulté la plus importante est certainement pour le quatrième point. Il revient à établir des relations causales entre marques épigénétiques et traits phénotypiques par des études d'association ou en introduisant des épimutations ciblées dans un fond génétique stable chez différents organismes (modèles et non-modèles). Effectivement, une des difficultés majeures sera de valider de manière fonctionnelle le lien entre marque épigénétique et phénotype. Le développement d'outils de manipulation ciblée des marques épigénétiques est probablement central pour y parvenir afin de pouvoir bien séparer les effets génétiques et épigénétiques. L'évolution expérimentale est également une voie prometteuse pour analyser les effets de l'épigénétique (et de ses interactions avec les réponses génétiques) sur la réponse des individus aux changements environnementaux.

Enfin, beaucoup reste à faire pour (1) quantifier l'importance de la transmission des marques épigénétiques en populations naturelles d'espèces non-modèles et ses conséquences phénotypiques et adaptatives, (2) trouver le lien causal (et son sens) entre marque épigénétique, phénotype et caractère adaptatif, (3) développer des outils concernant l'épigénétique quantitative (cf. chapitre 7) à associer à la génétique quantitative pour démêler les liens forts entre variabilité génétique, épigénétique et environnement.



En conclusion, la génétique du début du XX^e siècle a montré que des différences phénotypiques hérissables chez les animaux, les plantes et les champignons sont associées à des variants génétiques, hérités de façon stable et biparentale par héritage mendélien. Le domaine naissant de l'épigénétique est en train de jouer un rôle clé dans notre compréhension des mécanismes moléculaires reliant génotype et phénotype, en particulier en ce qui concerne la biologie du développement et la relation environnement-phénotype. Le transfert transgénérationnel des modifications épigénétiques et son importance pour l'adaptation des populations reste à évaluer tant d'un point de vue théorique qu'empirique. C'est un phénomène intrigant qui fournira sans aucun doute un terrain fertile de recherche et de discussion scientifique dans les années à venir.





écosystémique, d'impacts socio-économiques qui plaident tous pour une approche résolument intégrative et interdisciplinaire de ce domaine de recherche en pleine émergence. C'est vers cet objectif que les activités de la communauté scientifique, au travers du GDR-3E et des actions qu'il pourra mener, devront tendre en renforçant les liens académiques entre disciplines scientifiques et en renforçant ceux avec la société.

Au-delà des enjeux théoriques, technologiques et expérimentaux dont la communauté scientifique doit s'emparer, le GDR-3E s'est donné comme premier objectif transverse de renforcer ses actions sur les interactions avec la société pour adapter le cadre de l'analyse en sciences humaines et sociales par des approches liées à la responsabilité, la reproduction sociale, la transmission des identités, etc. Que ce soit au niveau du droit mais également de la sociologie ou encore des méthodes expérimentales, la prise en compte de l'épigénétique en santé humaine pose des questions fondamentales tant au niveau individuel qu'au niveau populationnel. C'est dans ce dernier cas que les reconfigurations semblent les plus complexes et que les politiques publiques devront être organisées. Pour autant l'échelle individuelle posera de nombreuses questions tant en termes de responsabilité (ex. responsabilité intrafamiliale) qu'en termes de réalisation de la recherche (extrapolation des modèles animaux aux modèles humains).

Le second objectif transverse concerne la communication et la diffusion des connaissances. Il s'agira de battre en brèche, auprès de la communauté scientifique comme du grand public, les idées préconçues qui sont diffusées sur l'épigénétique et l'évolution. Les articles scientifiques comme les articles de vulgarisation pèchent parfois par excès de fantasme sur le rôle de l'épigénétique dans le développement et l'évolution. Il serait juste de souligner les dangers de certaines interprétations et donc la pertinence de définir les concepts et les techniques qui sont en jeu dans cette question sociale. Différents moyens seront mis en oeuvre comme des centres régionaux de compétence dans le domaine 3E permettant de structurer les forces locales et de donner

accès à des experts en cas de question particulière, une page web spécifique alimentée de façon régulière par une chronique scientifique grand public sous la forme d'un blog ainsi que d'un compte Twitter. Une veille scientifique issue de la communauté internationale sera également assurée dans tous les champs scientifiques concernés par le domaine.

Enfin, les atouts de la communauté française seront également importants pour interagir avec la communauté internationale et développer notamment un réseau de recherche européen. Une telle possibilité a d'ores et déjà reçu un accueil très favorable de la part des principaux experts du domaine.







GLOSSAIRE

Biologie des systèmes

École de pensée et approche scientifique qui considère les organismes et leur environnement sous formes d'« éléments » avec des « interactions » réciproques. Les contours des éléments ainsi que la force des interactions sont définis dans la pratique par l'expérimentateur ou l'observateur, et ils sont empiriquement mesurables. Leurs relations sont potentiellement décrites par des fonctions mathématiques.

Élément transposable

Séquence d'ADN capable de se déplacer de manière autonome à l'intérieur d'un génome d'un endroit à un autre. Il contribue à la plasticité génomique. Leur mobilité est soumise à des contraintes épigénétiques.

Empreinte parentale

Chez les organismes diploïdes, l'expression d'un gène peut dépendre de son origine parentale. Par exemple, seulement l'allèle qui est originaire du père peut être exprimé. L'origine parentale est identifiée par des marques épigénétiques.

Epi-allèle

Pour « *epigenetic alleles* ». Introduit par P. Meyer en 1997 pour décrire les différences dans l'accessibilité pour certaines protéines entre allèles (plusieurs formes alternatives du même gène). Aujourd'hui considérés comme des fragments d'ADN identiques ou très similaires qui portent des marques épigénétiques différentes.

Épigénome

Ensemble des marques épigénétiques d'un génome.

Épissage alternatif

Après transcription, la modification principale subie par l'ARN pré-messager consiste en l'élimination d'une grande partie de sa séquence (les introns), un processus qu'on appelle l'épissage. Les autres fragments (les exons) forment l'ARN messager (ARNm) mature. Cependant, il n'est pas obligatoire que tous les exons d'un gène soient inclus, certains exons sont donc considérés comme « alternatifs ». Ainsi un seul gène peut produire différents ARNm matures et par conséquent, plusieurs isoformes protéiques.

Héritabilité

Proportion de la variation phénotypique due à des variations dans des facteurs héréditaires.

Héritité inclusive

Variation phénotypique qui est transmise à la génération suivante, quel que soit le mécanisme de transmission (génétique ou non génétique).

Histones

Protéines basiques très conservées et étroitement associées à l'ADN. Huit protéines histones forment le nucléosome, qui avec l'ADN associé, constituent l'unité de base d'organisation de la chromatine. Les histones peuvent montrer des modifications chimiques qui sont un des porteurs de l'information épigénétique. On parle également des « isoformes » d'histones.

Immunoprécipitation de la chromatine (ChIP)

Technique qui utilise des anticorps pour capturer les séquences d'ADN génomique liées à des isoformes d'histones ou des protéines régulatrices spécifiques. Lors d'une expérience de ChIP, les complexes protéine-ADN sont stabilisés *in vivo*, immuno-précipités, purifiés, amplifiés par PCR et éventuellement séquencés de façon exhaustive à l'échelle du génome (ChIP-seq). La technique permet d'identifier l'association des régions génomiques à des marques épigénétiques.

Marques épigénétiques

Modifications moléculaires associées à l'ADN qui stockent de l'information épigénétique. Leur nature chimique peut être très diverse allant de la méthylation de l'ADN aux isoformes d'histones et des ARNs non-codants.

Omiques

Ensemble des méthodes de séquençage haut débit de l'ADN, ARN, protéines et métabolites.

Paramutation

Action d'un allèle d'un gène sur l'autre qui conduit à la ségrégation du phénotype qui ne respecte plus les règles mendéliennes. La séquence de l'allèle ségrège selon ces règles mais son expression a changé suite à l'exposition à l'allèle paramutagénique. Bien que les mécanismes spécifiques des paramutations varient d'un organisme à l'autre, les modifications épigénétiques semblent être impliquées systématiquement.

Phénotype

Introduit par W. Johannsen en 1909 afin de fournir un terme pour l'apparence (extérieure) d'un être vivant. Selon lui, les phénotypes ont la qualité d'être des « réalités sur lesquelles on peut relever des mesures ». Johannsen insiste sur le fait que « ...de l'apparence elle-même aucune conclusion supplémentaire peut être tirée. »

Plasticité phénotypique

Capacité d'un organisme à montrer différents phénotypes à partir d'un même génotype en fonction des conditions environnementales.

Traitement au bisulfite

Technique qui permet de transformer la méthylation de l'ADN, difficile à mesurer, en différences de séquence de l'ADN plus facilement détectable. L'ADN est purifié et exposé au bisulfite pour convertir les cytosines non méthylées en uracile. Les cytosines méthylées restent intactes. Après amplification par PCR de l'un de ces brins, les cytosines non méthylées sont remplacées par des thymines. Les produits de PCR sont séquencés et comparés à la séquence d'origine. Aux positions où il y a une cytosine dans la séquence d'origine et une thymine dans le produit PCR issue de la conversion bisulfite, il y avait à l'origine une cytosine non méthylée et la présence de cytosine dans les produits PCR indique la méthylation.

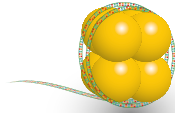
Transcription

C'est la première étape de l'expression des gènes, dans laquelle un segment de l'ADN est copié sous forme d'ARN (en particulier l'ARN pré-messager) par l'enzyme ARN polymérase.

Transcriptome

Ensemble des ARNs transcrits à partir de la séquence ADN d'un individu ou d'une population.





Crédit photos/Illustrations : © Fotolia - © 123 RF - © Wikicommons - Igge - commons.wikimedia.org - CNRS : N. Bies Etheve - C. Grunau