



Palais de l'Institut © Institut de France

## Conférence-débat et controverses

Organisée par la section de  
Biologie moléculaire et cellulaire, génomique

Coordinateurs : Marcel Méchali et Moshe Yaniv

Mardi 13 mai 2008 de 14h30 à 17h15

### **ÉPIGÉNÉTIQUE ET MÉMOIRE CELLULAIRE, UNE NOUVELLE DISCIPLINE, AU CŒUR DU DÉVELOPPEMENT ET DES PATHOLOGIES**

Académie  
des sciences

Grande salle  
des séances

Palais de  
l'Institut de  
France

23, quai de  
Conti  
75006 Paris

- 14 h 30 **Introduction**  
Moshe YANIV, de l'Académie des sciences, Institut Pasteur, Paris
- 14 h 35 **Epigénétique et développement / Epigenetics and development**  
Giacomo CAVALLI, Institut de Génétique Humaine, Montpellier
- 14 h 55 **Questions / discussion**
- 15 h 05 **L'inactivation du chromosome X : comment éteindre un chromosome avec de l'ARN / Inactivation of the X chromosome : how silencing a chromosome with RNA**  
Claire ROUGEULLE, Institut Pasteur, Paris
- 15 h 25 **Questions / discussion**
- 15 h 35 **Epigénétique et maladies génétiques : MeCP2 et le syndrome de RETT en exemple / Epigenetics and genetic diseases : MeCP2 and Rett Syndrome as an example**  
Adrian BIRD, Institute of Cell Biology, University of Edinburgh, UK
- 15 h 55 **Questions / discussion**
- 16 h 05 **L'empreinte génomique et son rôle dans le développement / Genomic imprinting and its role in development**  
Robert FEIL, Institut de Génétique Moléculaire, Montpellier
- 16 h 25 **Questions / discussion**
- 16 h 35 **Hérédité épigénétique par les ARNs : d'un bout de queue blanc aux maladies familiales / RNA-mediated epigenetic heredity : from a white-tipped tail to familial diseases**  
Minoo RASSOULZADEGAN, Université de Nice-Sophia Antipolis
- 16 h 55 **Questions / discussion**
- 17 h 05 **Discussion générale et conclusions**  
Marcel MECHALI, de l'Académie des sciences, Institut de Génétique Humaine, Montpellier

**Conférence débat et controverses « Epigénétique et mémoire cellulaire,  
une nouvelle discipline, au cœur du développement et des pathologies »  
Mardi 13 mai 2008**

---

***Introduction***

**Moshe YANIV**, de l'Académie des sciences,  
Institut Pasteur, Paris

Notre texte génétique, l'ADN, est le même dans toutes les cellules de l'organisme. Pourtant, l'information portée par ce texte n'est pas lue de la même manière dans nos cellules, et ceci contribue à la formation des tissus et organes variés qui constituent notre individu. Cette lecture différente de notre information selon la lignée cellulaire est permise par des modifications des protéines qui enrobent notre ADN, les histones, ainsi que par des méthylations de l'ADN, ou des molécules d'ARN. Ces modifications de la chromatine sont transmises au cours de la duplication de nos chromosomes, permettant ainsi de les garder en mémoire au cours des divisions cellulaires. Des anomalies de ces modifications épigénétiques peuvent aboutir à diverses pathologies dont le cancer.

Cette conférence-débat illustrera les progrès récents dans cette nouvelle discipline qui représente un bouleversement important de notre compréhension de l'hérédité et de la variété biologique.

### ***Epigénétique et développement***

**Giacomo CAVALLI**, Institut de Génétique Humaine, Montpellier

L'épigénétique concerne la transmission héréditaire de caractères propres à chaque type cellulaire d'un même organisme. Des nombreux processus biologiques essentiels pour le développement et la vie adulte dépendent des phénomènes "épigénétiques", c'est-à-dire que différentes cellules et tissus acquièrent des "identités" différentes, même si l'ADN de chaque cellule est identique. Ces identités sont maintenues durablement tout au long de la vie des cellules et sont transmises aux cellules filles de façon héréditaire. On sait maintenant que c'est la structure chromatinienne qui est le support de cette identité cellulaire et qui la transmet aux cellules filles au sein d'une même lignée.

Or, la structure des différentes régions chromosomiques est régulée par des facteurs appelés "Polycomb" et "trithorax". Les protéines Polycomb conduisent à la formation de structures condensées et inactives, alors que les protéines trithorax ouvrent la chromatine et permettent à l'ADN d'exprimer son information génétique pour obtenir les ARNs et protéines cellulaires. Nous avons montré que les protéines Polycomb et trithorax peuvent transmettre de manière héréditaire la mémoire des états activés et réprimés de leurs gènes cibles. Nous cherchons à comprendre les mécanismes sous-jacents cette mémoire et leur rôle durant le développement normal et dans le cadre de l'émergence des cancers.

### ***Epigenetics and development***

*Epigenetics regards the heritable transmission of the traits that distinguish each cell type in a given organism. Many biological processes depend on epigenetic components that are able to drive different cells in different cell fate states despite the fact that they share the same DNA sequence. These cell identities can be transmitted through cell division, and this cellular memory involves the regulation of DNA packaging into chromatin.*

*The proteins of the Polycomb group (PcG) are able to transmit the cellular memory of silent states of gene expression, while trithorax group (trxG) proteins, counteract silencing with an activation function that allows their target genes to be expressed in the appropriate cell types. Our research has shown that these two groups of proteins can transmit the memory of gene expression states throughout development and even through meiosis into the progeny. We are thus trying to decipher the molecular mechanisms that are responsible for the maintenance of this memory during normal development, and to understand how the perturbation of cellular memory generates diseases such as cancer.*

***L'inactivation du chromosome X :  
comment éteindre un chromosome avec de l'ARN***

**Claire ROUGEULLE, Institut Pasteur, Paris**

L'inactivation du chromosome X est un processus fondamental qui permet d'assurer, chez les mammifères, un dosage génique équivalent entre les individus mâles (possédant 1 chromosome X) et les femelles (possédant 2 X). L'inactivation se met en place très tôt au cours du développement embryonnaire précoce des femelles et se caractérise, *in fine*, par l'extinction transcriptionnelle de la quasi-totalité des quelque deux mille gènes portés par le chromosome touché. L'inactivation est souvent considérée comme un paradigme de régulation épigénétique dans la mesure où elle implique que deux chromosomes homologues (les deux chromosomes X) se comportent différemment au sein d'un même noyau, l'un restant actif et l'autre étant inactivé. De façon surprenante, on sait que l'acteur principal de ce processus est un ARN non-codant, dont l'expression à partir d'un seul des deux chromosomes X entraîne l'inactivation de ce dernier. Comment un ARN peut-il éteindre un chromosome entier, et comment cet ARN est lui-même contrôlé sont deux questions cruciales qui seront discutées.

***Inactivation of the X chromosome :  
how silencing a chromosome with RNA***

*X chromosome inactivation is a fundamental process, which ensures gene dosage equilibrium in mammals between males (with one X chromosome) and females (with two Xs). X-inactivation is established very early during female embryonic development and results in the transcriptional silencing of some 2000 genes carried by the affected chromosome. X-inactivation is often described as a paradigm for epigenetic regulation since it implies that two chromosome homologues (the two Xs) are differentially treated within a single nucleus (one remaining active and the other being inactivated). Strikingly, the key player of the process has appeared to be a non-coding RNA, whose expression from a single X leads to inactivation of this chromosome. How can a RNA silence an entire chromosome, and how this RNA is itself controlled are two central questions that will be discussed.*

***Epigénétique et maladies génétiques: MeCP2 et le syndrome de RETT en exemple***

**Adrian BIRD**, The Wellcome Trust Centre for Cell Biology, University of Edinburgh, Michael Swann Building, The King's Buildings, Edinburgh EH9 3JR, UK

L'ADN des vertébrés est modifié de façon covalente par la méthylation des cytosines dans les dinucléotides 5'CG 3', des modifications qui sont considérées comme une forme de mémoire cellulaire. Un moyen de comprendre ce marquage épigénétique consiste à étudier des protéines qui reconnaissent les résidus méthyl-CpG dans le génome.

MeCP2 est d'un intérêt particulier puisque des mutations affectant ce gène sont à la base du Syndrome de Rett, la forme la plus fréquente de retard mental du à une maladie génétique affectant les filles. Cet exposé résumera, au plan moléculaire, la structure et la dynamique de l'association de MeCP2 à l'ADN méthylé. A un niveau supérieur de complexité, des expériences qui explorent la réversibilité des symptômes ressemblant au Syndrome de Rett chez les souris déficientes dans le gène *Mecp2* seront décrites.

Des informations moléculaires et neurobiologiques renforcent la vision que MeCP2 fonctionne pour maintenir le programme d'expression génique dans les neurones matures.

***Epigenetics and genetic diseases : MeCP2 and Rett Syndrome as an example***

*Vertebrate DNA is covalently modified by methylation of cytosine in the dinucleotide sequence 5'CG3' and this is thought to constitute a form of cellular memory. One way of understanding this "epigenetic" mark, is to study proteins that "read" methyl-CG signals in the genome. MeCP2 is of particular interest as mutations affecting its gene cause Rett Syndrome - the most common inherited form of mental retardation affecting females. At the molecular level, the talk will summarise the structure and dynamics of MeCP2 binding to methylated DNA. At a higher level of complexity, experiments that test the reversibility of Rett Syndrome-like symptoms in *Mecp2*-null mice will be described. Combined molecular and neurobiological information sustains the view that MeCP2 functions to maintain gene expression programs in mature neurons.*

***L’empreinte génomique et son rôle dans le développement***

**Robert Feil**, Institut de Génétique Moléculaire (IGMM), CNRS et Université de Montpellier, Montpellier

Chez les mammifères placentaires, le génome hérité de la mère et celui hérité du père ne sont pas fonctionnellement égaux. Ils sont, au cours de la gestation, tous les deux requis pour un bon développement de l’embryon. La nécessité fonctionnelle des deux génomes parentaux est due à un marquage différent entre le sperme et l’œuf. Ces marques épigénétiques présentes sur les chromosomes parentaux persistent au cours du développement et permettent l’expression allélique de certains gènes à partir de la copie soit maternelle, soit paternelle. Environ une centaine de gènes sont contrôlés par ce phénomène épigénétique appelé « empreinte génomique ». La plupart de ces gènes soumis à l’empreinte joue un rôle fondamental dans le développement foetal et la croissance, alors que d’autres influencent le comportement après la naissance. Ainsi, il n’est pas surprenant que des perturbations pathologiques de l’empreinte génomique entraînent des maladies du développement et comportementales chez l’Homme. Certaines perturbations de l’empreinte sont également impliquées dans des cancers. Après une introduction sur la signification biologique de l’empreinte génomique, je présenterai quelques exemples de recherches récentes sur les mécanismes moléculaires de l’empreinte génomique.

***Genomic imprinting and its role in development***

*In placental mammals, the maternally and paternally inherited genomes are functionally not the same. They are both required for the embryo’s development and well-being, throughout gestation. The functional requirement of both the parental genomes is a consequence of differential ‘epigenetic marking’ in the egg versus the sperm. These differential marks on the chromosomes (the imprints) persist in the developing embryo, and after birth, and convey the allelic expression of genes from either their maternal or their paternal copy. About a hundred genes are controlled by this epigenetic phenomenon called ‘genomic imprinting’. Many of the known imprinted genes play key roles in foetal development and growth, others influence behaviour after birth. Not surprisingly, therefore, pathological perturbation of genomic imprinting gives rise to growth-related and behavioural diseases in humans, and is associated with cancer as well. After introducing to you the biological significance of genomic imprinting, I will present a few examples of recent research on the underlying molecular mechanisms.*

***Hérédité génétique par les ARNs : d'un bout de queue blanc aux maladies familiales***

**Minoo Rassoulzadegan**, Unité 636 de l'INSERM, Université de Nice-Sophia Antipolis, 06108 Nice Cedex

La paramutation est une modification épigénétique héréditaire, initialement découverte chez les plantes (pour revue : Chandler, 2007) et plus récemment chez la souris (Rassoulzadegan et coll., 2006) à la suite de résultats préliminaires (Rassoulzadegan et coll., 2002 ; Herman et coll., 2003). Il s'agit d'une modification du caractère déterminé par un gène lorsque celui-ci a été transmis par un parent hétérozygote chez qui il était confronté à une forme (allèle) mutée (on a parlé de « conversation interchromosomique »). D'une part, contraire à la loi de Mendel, qui pose que les allèles sont retrouvés inchangés lors des ségrégations au cours des croisements, n'est donc pas respectée. D'autre part, la modification est stable et sera transmise à la descendance, bien que la séquence des nucléotides du gène « paramuté », donc le texte génétique lui-même ne soit pas modifié. Le premier cas de paramutation observé chez la souris était une modification de la forme sauvage d'un gène (*Kit*) dans la descendance d'un hétérozygote avec une forme mutée. La souris hétérozygote (*Kit*/*Kit*<sup>+</sup>) est caractérisé par des taches blanches du pelage (queue et pattes), une classe de caractères visibles, donc aisément détectables que le généticien affectionne depuis Mendel. Ce phénotype identique à celui du mutant est transmis en absence de l'allèle inducteur, donc par des animaux porteurs de deux allèles structurellement intacts, et ceci sur plusieurs générations. Le signal induisant l'état modifié est apparu être le transfert de molécules d'ARN à l'embryon au moment de la fécondation. Nous avons observé une charge importante d'ARN dans le spermatozoïde des mâles « paramutés ». Des expériences de reconstruction basées sur l'injection dans l'œuf fécondé de souris normales de l'ARN de ces animaux, ainsi que des ARNs et microARNs synthétiques spécifiques du locus, ont établi leur rôle inducteur. Nous avons récemment étendu ce mode de transmission héréditaire sur plusieurs générations à des situations pathologiques, notamment à une pathologie reproduisant chez la souris une grave malformation cardiaque (Wagner et coll., 2008). Il permet de proposer un modèle pour les maladies dites « familiales », observées de manière récurrente entre parents et enfants ou entre frères et sœurs, alors que, dans de nombreux cas, on n'a pu identifier une altération du texte génétique (mutation). Au delà de l'hérédité d'un texte génétique, nous avons à considérer maintenant l'hérédité de ses modes de lecture.

## References

- Chandler, V. L. (2007). Paramutation: RNA-mediated instructions passed across generations. *Cell* 23, 641-645.
- Herman, H., Lu, M., Anggraini, M., Sikora, A., Chang, Y., Yoon, B. J., et Soloway, P. D. (2003). Transallele methylation and paramutation-like effects in mice. *Nat Genet* 34, 199-202.
- Rassoulzadegan, M., Magliano, M., et Cuzin, F. (2002). Transvection effects involving DNA methylation during meiosis in the mouse. *Embo J* 21, 440-450.
- Rassoulzadegan, M., Grandjean, V., Gounon, P., Vincent, S., Gillot, I., et Cuzin, F. (2006). RNA-mediated non-Mendelian inheritance of an epigenetic change in the mouse. *Nature* 431, 469-474.
- Wagner, K. D., Wagner, N., Ghanbarian, H., Grandjean, V., Gounon, P., Cuzin, F., et Rassoulzadegan, M. (2008). RNA induction and inheritance of epigenetic cardiac hypertrophy in the mouse. *Dev Cell*, sous presse.

## ***RNA-mediated epigenetic heredity : from a white-tipped tail to familial diseases***

*Paramutation, first observed in maize<sup>1</sup> and subsequently in a variety of plants<sup>2</sup>, is a heritable epigenetic change of the phenotype of a “paramutable” allele, initiated by interaction in heterozygotes with a “paramutagenic” form of the locus. Often referred to as an exception to the law of Mendel, which states that genetic factors segregate unchanged from heterozygotes, paramutation is meiotically stable and inherited in the absence of the inducing allele. For a while, the closest observations in an animal species were changes in the DNA methylation profiles directed by the allelic locus in the mouse that we and others described as “transvection” or “paramutation-like” effects<sup>3</sup>. We then reported a modification in the phenotypic expression of the wild type allele of the Kit receptor gene in the progeny of heterozygotes with a null insertion mutant<sup>3</sup>. In spite of a wild type genomic structure, the modified homozygotes maintain the “White Spotted” phenotype characteristic of Kit mutants, in this case a white tip of the tail and white feet. This epigenetic modification is efficiently inherited in the absence of the mutant allele. It was related to a decreased level of Kit mRNA, concomitant with the accumulation of RNA molecules of abnormal sizes. On the other hand, transcription of the locus was upregulated in heterozygotes. Sustained expression at the postmeiotic stages, at which the gene is normally silent, led to the accumulation of RNA in late spermatids and in the spermatozoon. Microinjection into one-cell embryos of RNA from Kit<sup>tm1Alf/+</sup> heterozygotes, or of Kit specific microRNAs efficiently induced a heritable White-Spotted phenotype. We then extended the concept of paramutation to a pathology well-characterized in humans and in mouse models, HCM (Hypertrophic*



*CardioMyopathy*)<sup>5</sup>. The epigenetic form was efficiently induced by microinjection in the one-cell embryo of either the miR-1 microRNA or its target Cdk9, a major determinant of cardiac development. It is especially worth considering that HCM is known in humans for a frequent familial occurrence, in spite of the fact that no clear Mendelian determination was evidenced. Consistent with converging evidence of a role of RNA in the establishment of epigenetic states and with the detection of RNA in human spermatozoa<sup>6</sup>, our results reveal an unexpected mode of epigenetic inheritance by the zygotic transfer of RNA molecules.

## **References**

1. Brink, R. A. *Genetics* 1956, 41, 872-879.
2. Chandler, V. L. & Stam, M. *Nat Rev Genet* 2004, 5, 532-44.
3. Rassoulzadegan, M. et al. 2002 *EMBO J*, 21, 440-450.
4. Rassoulzadegan, M. et al. *Nature* 2006, 431, 469-474.
5. Wagner et al., *Dev Cell* 2008, in press.
6. Miller, D., Ostermeier, G. C. & Krawetz, S. A. *Trends Mol Med* 2005, 11, 156-63.