

L'hétérochromatine, un composant plastique du noyau des cellules d'*Arabidopsis thaliana*

Federico Tessadori

Cardiac Development and Genetics group, Hubrecht Institute-KNAW & University Medical Center Utrecht, Uppsalalaan 8, 3584 CT Utrecht, Pays Bas

Auteur correspondant : Federico Tessadori, F.Tessadori@hubrecht.eu

Reçu le 29 mars 2010

Résumé – Chez la brassicacée *Arabidopsis thaliana*, l'observation cytogénétique du noyau cellulaire révèle une organisation simple du contenu nucléaire. Le volume nucléaire est en effet occupé par deux formes de chromatine distinctes et facilement discernables : une importante fraction d'euchromatine relativement peu condensée et transcriptionnellement active entoure une dizaine de régions facilement identifiables, les chromocentres, qui contiennent la majorité des séquences hétérochromatiques répétées et fortement condensées. Remarquablement, durant le développement d'*A. thaliana* ou lorsque celle-ci est exposée à différents types de changements de son environnement, on observe d'importantes variations dans l'aspect, la taille ou la présence des chromocentres. Un certain nombre de travaux, notamment par une approche cytogénétique, ont non seulement caractérisé les séquences génomiques des constituants, mais aussi établi la dynamique de leur assemblage et de leur décondensation. De plus, plusieurs facteurs endogènes et exogènes affectant la présence et la taille des chromocentres ont été récemment identifiés. Dans leur ensemble, ces études chez *A. thaliana* indiquent que l'hétérochromatine est une fraction véritablement « malléable » du génome, dont l'organisation dynamique n'est pas uniquement contrôlée par des marques épigénétiques et dont l'importance dans les fonctions nucléaires dépasse le simple regroupement des séquences génomiques non-codantes.

Mots clés : *Arabidopsis thaliana* / hétérochromatine / chromocentres / séquences répétées / cytogénétique

Abstract – Heterochromatin, a plastic component in the nucleus of *Arabidopsis thaliana* cells.

The cytogenetic observation of the nucleus of *Arabidopsis thaliana*, a plant member of the *brassicaceae* family, reveals a simple organization of the nuclear content. Indeed, the nuclear volume is occupied by two distinct and easily distinguishable forms of chromatin: a large fraction of relatively decondensed and transcriptionally active euchromatin surrounds about ten conspicuous regions, the chromocenters, which contain most repeated and highly condensed heterochromatic sequences. Remarkably, during the development of *A. thaliana* or when the plant is exposed to certain environmental variations, dramatic changes in the appearance, the size or the presence of the chromocenters occur. A number of cytogenetic studies have not only characterized the genomic sequences accommodated in the chromocenters, but have also established the dynamics of their assembly and disruption. Moreover, various endogenous and exogenous factors involved in the presence and the size of chromocenters were recently identified. Taken together, these studies carried out in *A. thaliana* suggest that heterochromatin is a truly “malleable” fraction of the genome whose dynamic organization is not controlled only by epigenetic marks and whose importance in nuclear function goes beyond merely grouping together non-coding genomic sequences.

Key words: *Arabidopsis thaliana* / heterochromatin / chromocenters / repeated sequences / cytogenetics

Introduction

La chromatine est constituée par l'étroite association de la fibre d'ADN, le support du génome, avec les histones et d'autres protéines structurales et fonctionnelles. Chez *A. thaliana*, une plante de la famille des brassicacées qui, entre autres, grâce à sa petite taille, son cycle de développement très court et son génome entièrement séquencé est devenue l'un des principaux organismes modèles utilisés en recherche végétale, l'observation microscopique de la chromatine dans un noyau de cellule du mésophylle en interphase révèle des régions de chromatine fortement condensées, qui sont constituées d'hétérochromatine, entourées d'une forme de chromatine moins condensée, l'euchromatine (figure 1). Les régions euchromatiques du génome sont caractérisées par une forte concentration de gènes, une transcription génique active et un niveau de condensation chromatinienne relativement bas. Au contraire, les régions dites hétérochromatiques sont fortement condensées et supposées en grande partie inactives. Chez un grand nombre d'eucaryotes, il est impossible de discriminer par observation microscopique l'hétérochromatine des régions euchromatiques. Ceci peut être dû à l'enchevêtrement étroit des deux formes de chromatine, souvent au-delà des possibilités de résolution microscopique ou bien à la forte hétérochromatinisation des génomes (ou euchromatinisation dans des cas plus rares). Toutefois, historiquement, la première définition de l'hétérochromatine dérive de son observation cytologique : c'est la fraction chromatinienne qui, tout au long du cycle cellulaire, demeure fortement condensée (Heitz, 1928). En effet, chez certains organismes, tels que la souris, *Arabidopsis thaliana*, ou les brassicacées en général, l'hétérochromatine est confinée principalement dans des domaines clairement visibles après coloration avec des marqueurs fluorescents tels que le 4',6'-diamidino-2-phénylindole (DAPI) ou le Hoechst. Ces domaines sont appelés chromocentres (Fransz *et al.*, 2002; van Driel et Fransz, 2004; figure 1). La séparation de deux états de la chromatine en deux fractions facilement discernables a fait d'*A. thaliana* un des organismes modèles pour l'étude de l'organisation nucléaire en interphase.

L'hétérochromatine, un composant nucléaire aux caractéristiques diverses

Au fil des années, des définitions additionnelles de l'hétérochromatine ont été proposées, qui complètent mais ne se « superposent » pas toujours parfaitement à la définition initiale de Heitz. D'un point de vue biochimique, l'hétérochromatine peut être définie comme une fraction de la chromatine portant des

marques répressives pour la transcription telles que la 5-méthylcytosine (méthylation de l'ADN) ou des groupes méthyles sur la lysine 9 des histones H3 (H3K9me1, 2 ou 3). D'un point de vue moléculaire, l'hétérochromatine est principalement composée de séquences d'ADN répétées, alors que les séquences uniques sont principalement euchromatiques. D'un point de vue structurel et physique, les nucléosomes sont disposés de manière régulière sur la fibre d'ADN dans un contexte hétérochromatique, alors que dans les régions euchromatiques, leur agencement est beaucoup plus irrégulier, du fait notamment d'une activité transcriptionnelle beaucoup plus importante (Henikoff *et al.*, 2000; Li *et al.*, 2007). Enfin, du point de vue fonctionnel, l'hétérochromatine est en général transcriptionnellement inactive et les activités de recombinaison sont très réduites dans ces régions durant la méiose (Fransz *et al.*, 2003).

Toute région génomique dans un état hétérochromatique ne porte pas nécessairement l'ensemble de ces traits. Par exemple, des gènes non transcrits situés dans des régions génomiques euchromatiques portant des marques répressives, telles que la triméthylation du résidu H3K27, ne sont généralement pas dans des domaines chromatiniens fortement condensés. Cet état de la chromatine, souvent associé à des régulations développementales est appelé hétérochromatine « cryptique » (Lippman *et al.*, 2003; Lippman & Martienssen, 2004) ou chromatine « poised » (« prête »; Spivakov & Fisher, 2007). Par exemple, l'activation du gène *FWA* chez le mutant d'*A. thaliana* *ddm1* (*Decreased DNA Methylation 1*, Diminution de la Méthylation de l'ADN) est corrélée avec une perte de marques hétérochromatiques sur la séquence génomique de *FWA*, bien que le gène *FWA* se situe constamment en-dehors de chromocentres, quel que soit son niveau de transcription (Soppe *et al.*, 2002; Lindroth *et al.*, 2004; Lippman & Martienssen, 2004). Le terme « chromatine prête (*poised*) » est aussi utilisé pour décrire les états chromatiniens des gènes dont la transcription est activée ou réprimée pendant des étapes spécifiques du développement par le biais de modifications des marqueurs épigénétiques. C'est le cas du gène *FLC* (*Flowering Locus C*) pendant la vernalisation et la transition florale (Bastow *et al.*, 2004; He & Amasino, 2005; De Lucia *et al.*, 2008).

Un modèle d'organisation de la chromatine en rosette ou en « chromocentre-boucle »

Chez *A. thaliana*, les chromocentres contiennent les séquences répétées centromériques, péricentromériques, des transposons ainsi que des séquences répétées codant des gènes ribosomiques (Fransz *et al.*, 2002; Soppe *et al.*, 2002). Les régions riches en gènes

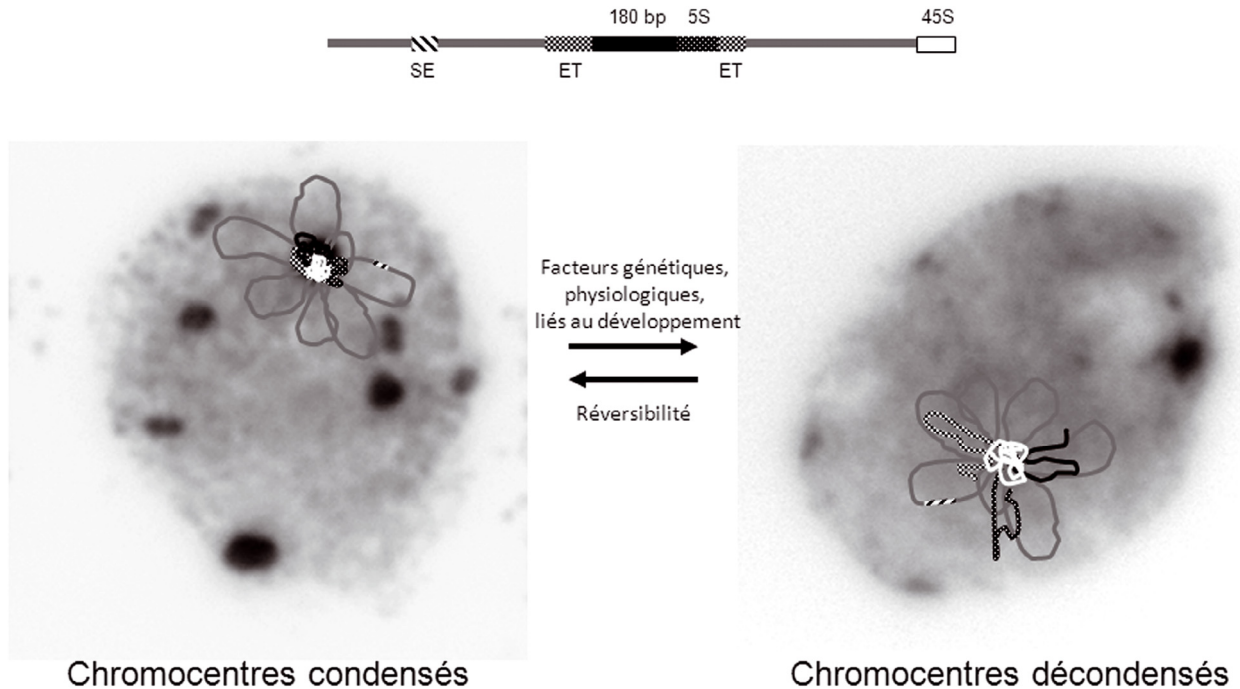


Fig. 1. Modèle en rosette ou « chromocentre-boucle ». Organisation linéaire (en haut) d'un chromosome d'*A. thaliana* et son agencement en rosette dans un noyau interphasique d'*A. thaliana*. Des stimuli endogènes ou exogènes provoquent une réorganisation réversible des séquences autour du chromocentre. 180 bp : séquences répétées centromériques; 5S : ADN répété ribosomique péri-centromérique; ET : éléments transposables; SE : séquence euchromatique; 45S : ADN répété ribosomique sub-télocérique. Figure adaptée à partir de Fransz *et al.* (2002) et Tessadori *et al.* (2007a).

s'organisent « en rosette » autour de ces chromocentres en boucles de 0.2–2 Mbp. Un modèle d'organisation appelé modèle « *chromocenter-loop* » (chromocentre-boucle) a été proposé, qui suppose l'existence de séquences « d'ancrage » situées dans les boucles euchromatiques riches en gènes fixant la fibre de chromatine à un chromocentre (Fransz *et al.*, 2002; figure 1). L'identité de ces séquences n'a toutefois pas encore été élucidée.

L'organisation en rosette n'est pas figée et la taille et la compaction des chromocentres sont soumises à régulation. Des chromocentres présentant une taille réduite ont été décrits dans plusieurs situations différentes (Soppe *et al.*, 2002; Mathieu *et al.*, 2003; Probst *et al.*, 2004; Pavet *et al.*, 2006; Tessadori *et al.*, 2007a, 2007b, 2009). Des analyses FISH (*Fluorescent In Situ Hybridation*; Hybridation *In Situ* Fluorescente) ont démontré que la réduction de la taille des chromocentres était due à la décompaction et à la dispersion des régions péri-centromériques (Soppe *et al.*, 2002; Tessadori *et al.*, 2007b; figure 2). Dans certains cas extrêmes, cela s'accompagne également de la dispersion des séquences répétées centromériques (Tessadori *et al.*, 2007a, 2009; figure 2). La décondensation transitoire des séquences appartenant aux chromocentres peut s'accompagner d'une

perte de marques épigénétiques. Ce phénomène a été observé par exemple lors de l'infection par une bactérie pathogène, *Pseudomonas syringae* (Pavet *et al.*, 2006). Toutefois, cette association entre modifications de la structure de la chromatine et modifications épigénétiques n'est pas systématique. Ainsi, nous avons observé que les protoplastes (cellules végétales dépourvues de leurs parois et ayant acquis des caractéristiques de cellules dédifférenciées) d'*A. thaliana* présentent une très importante décondensation des chromocentres (Tessadori *et al.*, 2007a) mais nous n'avons pas observé de perte massive de marques épigénétiques répressives. De plus dans ce cas, aucune réactivation de la transcription des séquences répétées transposables TSI et transgéniques HPT, qui pourtant étaient largement décompactées, n'a été observée (Tessadori *et al.*, 2007a). La fonction et les mécanismes sous-jacents à ces processus de décondensation restent toutefois difficiles à déterminer.

Les chromocentres ne sont pas les seules régions génomiques d'*Arabidopsis* qui possèdent une certaine plasticité. Durant la transition florale, alors que la réduction de la fraction hétérochromatique du génome d'*A. thaliana* est déjà détectable par coloration au DAPI, une analyse plus fine par FISH a révélé qu'il y avait aussi décondensation des régions contenues dans

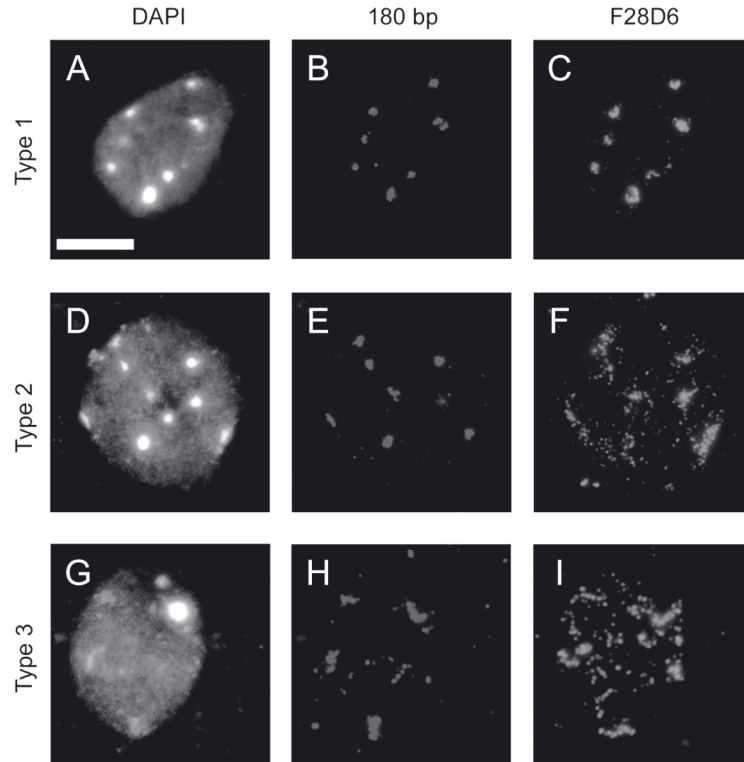


Fig. 2. Analyse cytogénétique de noyaux en interphase de cellules du mésophylle foliaire d'*A. thaliana*. A, D, G : Marquage au 4',6-diamidino-2-phenylindole (DAPI). A : Les noyaux de type 1 ont 6–10 chromocentres ronds, facilement discernables. Ce phénotype nucléaire est dit « normal ». D : Les noyaux de type 2 ont un phénotype « intermédiaire », qui consiste en des chromocentres aux contours plus irréguliers, parfois ayant des formes allongées ou un marquage DAPI moins intense. G : Les noyaux de type 3 ont un nombre réduit de chromocentres. B, E, H : Marquage FISH des séquences répétées centromériques (180 bp) et C, F, I marquage d'une région péricentromérique riche en transposons (BAC F28D6). B, C : Dans les noyaux de type 1, les deux sondes (180 bp et F28D6) sont localisées au niveau des chromocentres. E, F : Dans les noyaux de type 2, le signal de la sonde F28D6 est dispersé, mais celui des séquences répétées centromériques est encore condensé dans les chromocentres. Cela montre un état de décondensation intermédiaire. H, I : Dans les noyaux de type 3, la décondensation est complète : les séquences répétées centromériques et péricentromériques sont dispersées. Barre = 5 μm .

les boucles euchromatiques (Tessadori *et al.*, 2007b). Ceci indique que la dynamique chromatinienne ne concerne pas seulement les régions du génome les plus condensées. Toutefois, les chromocentres peuvent fonctionner comme des sortes des témoins de l'état général d'organisation du génome d'*A. thaliana*. En effet, ils sont facilement observables et on peut aisément quantifier leurs changements de structure par coloration au DAPI.

Quantification de l'hétérochromatine basée sur son observation cytogénétique

Pour suivre les variations affectant les chromocentres, nous avons développé deux outils basés sur des observations en microscopie. Ces deux outils, la fraction relative hétérochromatique ou

« *Relative Heterochromatin Fraction* » (RHF; Soppe *et al.*, 2002; Tessadori *et al.*, 2004) et l'index hétérochromatique ou « *Heterochromatin Index* » (HX; Tessadori *et al.*, 2009) permettent de quantifier la fraction hétérochromatique du génome d'*A. thaliana* après coloration au DAPI des noyaux. La RHF est définie comme le quotient de l'intensité de la fluorescence totale de l'ensemble des chromocentres du noyau divisée par l'intensité de la fluorescence totale du noyau. En calculant la moyenne des RHF des noyaux (généralement un minimum de 50 noyaux est utilisé), on peut ainsi mesurer et quantifier la fraction hétérochromatique d'une population donnée de noyaux. Les valeurs obtenues sont d'environ 13 %, ce qui correspond approximativement au pourcentage de séquences répétées dans le génome d'*A. thaliana* (*The Arabidopsis Genome Initiative*, 2000). Le paramètre RHF a été utilisé par exemple pour démontrer que

dans certains mutants, pour lesquels les niveaux de méthylation des histones et de l'ADN sont réduits, le génome présente aussi une réduction de la fraction hétérochromatique (Soppe *et al.*, 2002). Cependant, pour des populations hétérogènes de noyaux, le calcul de la RHF moyenne ne reflète pas toujours la variété des types de noyaux présents. Un second paramètre a donc été créé, l'index hétérochromatique (HX) qui représente le pourcentage de noyaux de type 1 (c'est-à-dire des noyaux ayant un phénotype « normal »), dans une population donnée (figure 2). L'utilisation concertée de ces deux méthodes de quantification de l'hétérochromatine nous a permis d'identifier les tissus d'*A. thaliana* présentant un contenu hétérochromatique altéré en réponse à des stimuli endogènes ou exogènes (Tessadori *et al.*, 2009; van Zanten *et al.*, en révision).

Perturbation du contenu hétérochromatique

Contrairement à une réduction stable de la fraction hétérochromatique que l'on observe dans des mutants d'*A. thaliana* tels que les mutants *ddm1* ou *hda6* (affectés dans un gène codant une histone déacétylase; Soppe *et al.*, 2002; Probst *et al.*, 2004), la décondensation de l'hétérochromatine durant la formation de protoplastes, lors de la transition florale ou lors d'exposition à une faible intensité lumineuse, est un phénomène transitoire. Quel(s) facteur(s) nucléaire(s) sont donc impliqués durant la décondensation et la recondensation des chromocentres ?

Dans les protoplastes, aucune variation à grande échelle des marques épigénétiques accompagnant la décondensation des chromocentres n'a été détectée (Tessadori *et al.*, 2007a). Il est donc probable que le contrôle de l'état hétérochromatique des séquences concernées par la décondensation n'est pas uniquement épigénétique, mais que des mécanismes de contrôle additionnels existent. Par exemple, chez les mammifères et la drosophile, la protéine *Heterochromatin Protein 1* (HP1) est un composant majeur de l'hétérochromatine constitutive (James *et al.*, 1989; Verschure *et al.*, 2005). Cependant, l'homologue chez *A. thaliana* de la protéine HP1, « *Like Heterochromatin Protein 1* » (LHP1) (Gaudin *et al.*, 2001; Kotake *et al.*, 2003) a une localisation « extérieure » aux chromocentres (Libault *et al.*, 2005; Nakahigashi *et al.*, 2005). Plusieurs études ont montré que LHP1 a un rôle important dans la régulation de gènes impliqués dans le développement d'*A. thaliana*, et qu'il s'agit donc d'une protéine agissant au niveau de l'hétérochromatine cryptique ou chromatine « *poised* » en s'associant à la marque H3K27me3 (Zhang *et al.*, 2007; Turck *et al.*, 2007). En outre,

un rôle structurel pour la maintenance de l'identité hétérochromatique de séquences péricentromériques a été proposé pour SUV39H1 chez la souris, qui agirait comme un sorte de « ciment », comme ce qui a été démontré pour HP1 (Krouwels *et al.*, 2005; Cheutin *et al.*, 2003; Lomber *et al.*, 2006). Toutefois, chez *A. thaliana*, aucune histone méthyltransférase ne paraît à ce jour jouer un rôle structurel.

Décondensation et réactivation génique

Nous avons décrit précédemment des cas de décondensation massive et à grande échelle de la chromatine dans les protoplastes (Tessadori *et al.*, 2007a), pendant la transition florale (Tessadori *et al.*, 2007b), après exposition des plantes à une intensité lumineuse réduite (Tessadori *et al.*, 2009) et en réaction à une infection bactérienne (Pavet *et al.*, 2006). Remarquablement, ces phénomènes ne sont pas nécessairement accompagnés d'une hausse des niveaux d'expression des gènes situés dans les régions décondensées (Tessadori *et al.*, 2007a). Il est généralement admis qu'un état plus « ouvert » de la chromatine permet la fixation de facteurs de transcription et d'autres protéines régulatrices sur la fibre chromatinienne. Toutefois, la relation de cause à effet entre décondensation de la chromatine et initiation de la transcription n'est pas élucidée. Dans les cellules de mammifères, on sait que la transcription induite par les récepteurs des glucocorticoïdes précède la décondensation de régions hétérochromatiques (Müller *et al.*, 2001). De même, l'observation microscopique *in vivo* et en temps réel au niveau cellulaire a indiqué qu'un début de transcription est nécessaire pour l'induction de la décompaction de la fibre chromatinienne (Janicki *et al.*, 2004). Des résultats similaires ont aussi été obtenus chez les végétaux : la décondensation des séquences des gènes codant la gluténine du blé huit jours après l'anthèse est toujours précédée par l'initiation de leur transcription (Wegel *et al.*, 2005). Il a aussi été suggéré que la décondensation à grande échelle de la chromatine observée dans les protoplastes d'*A. thaliana* ou de tabac est cruciale pour la ré-initiation du cycle cellulaire et leur dé-différentiation (Zhao *et al.*, 2001; Grafi, 2004; Grafi & Avivi, 2004; Tessadori *et al.*, 2007a). Dans les protoplastes d'*A. thaliana*, les éléments transposables Athila et TSI, ainsi que les transgènes HPT sont largement décompactés en comparaison avec leur état dans le tissu d'origine, le mésophylle. Toutefois, leur transcription n'est pas réactivée, ce qui tend à démontrer que, bien que la décompaction de la chromatine soit très importante dans les protoplastes, seul un nombre limité de gènes sont en fait réactivés. Par ailleurs, une décondensation à grande échelle de la chromatine a été rapportée dans des cellules de mammifères

avec absence totale d'activation de la transcription (Tumbar *et al.*, 1999). Cependant, il a été proposé que la décondensation de la chromatine observée dans les régions euchromatiques pendant la transition florale (Tessadori *et al.*, 2007b) faciliterait les régulations géniques nécessaires à cette importante étape du développement de la plante (Schmid *et al.*, 2003). Le mécanisme pourrait aussi éventuellement résulter d'une induction mutuelle, de la même façon que dans les cellules animales (Chambeyron & Bickmore, 2004), où la décondensation de la chromatine facilite la fixation des complexes moléculaires effectuant la transcription, qui à leur tour, du fait de l'activité transcriptionnelle, déplacent les nucléosomes et participent donc à la mise en place d'une organisation plus « lâche » de la chromatine. Enfin, l'existence d'une activité transcriptionnelle dans des environnements hétérochromatiques a été rapportée chez la drosophile et dans des systèmes de cellules de mammifères (Tanaka *et al.*, 1983; Devlin *et al.*, 1990; Eberl *et al.*, 1993; Carrel *et al.*, 1999) ainsi que chez le mutant *mom1* d'*A. thaliana* (Scheid *et al.*, 2002; Probst *et al.*, 2003). Cela sous-entend que la transcription génique n'est pas uniquement un trait de l'euchromatine *per se*. Pris dans leur ensemble, ces résultats soulignent l'existence d'une grande complexité des niveaux de régulation lorsque l'on envisage un contrôle de l'expression génique en relation avec l'état de la chromatine.

L'hétérochromatine : un trait adaptatif à l'intensité lumineuse ?

Nous avons démontré l'existence de variations naturelles du contenu hétérochromatique chez différentes accessions d'*A. thaliana* (Tessadori *et al.*, 2009). De plus, nous avons mis en évidence l'origine adaptative de cette variation, en établissant une relation étroite entre la lumière reçue par les plantes et la fraction hétérochromatique de leur génome. En effet, chez l'accession sub-tropicale *Cape Verde Island-0* (Cvi-0, originaire des îles du Cap-Vert), la fraction hétérochromatique mesurée dans les cellules du mésophylle foliaire est directement dépendante de l'intensité lumineuse à laquelle les plantes sont exposées durant la journée (Tessadori *et al.*, 2009). De plus, dans des conditions de culture standard, les plantes Cvi-0 ont des traits morphologiques typiques de plantes cultivées dans des conditions de lumière de faible intensité. Ayant observé des variations similaires pour d'autres accessions, nous avons proposé la décondensation de l'hétérochromatine comme une manifestation d'un mécanisme d'adaptation induit par l'intensité lumineuse (figure 2). Nous avons confirmé ces observations pour de nombreuses autres accessions

d'*A. thaliana* (van Zanten *et al.*, en révision). L'analyse de mutants d'*Arabidopsis* affectés pour plusieurs photorécepteurs et une analyse QTL (*Quantitative Trait Locus*; Locus déterminant des Caractères Quantitatifs; Tessadori *et al.*, 2007b, 2009, van Zanten *et al.*, en révision) tendent à démontrer l'importance du rôle joué par les photorécepteurs pour le contrôle du contenu hétérochromatique des noyaux du mésophylle foliaire. Le résultat de l'analyse QTL que nous avons réalisée est particulièrement intéressant, puisque nous avons identifié des gènes codant des photorécepteurs (*Phytochrome B (PHYB)*, *Cryptochrome 1 (CRY1)* et *Phototropin 1*), une histone déacétylase (HDA6; Histone Déacétylase 6) et un composant moléculaire impliqué dans la formation de la chromatine MSI1 (*Multicopy Suppressor Of Ira1*; Tessadori *et al.*, 2009). Ces résultats pourraient indiquer l'existence d'une relation de causalité entre les voies de transduction du signal lumineux (*light-signalling pathways*) et l'organisation de la chromatine. Ainsi, il a été établi que la protéine PHYB interagit avec la protéine CRY2 dans des *foci* localisés dans le noyau (Mas *et al.*, 2000) et que la protéine CRY2 peut s'associer à la chromatine (Cutler *et al.*, 2000; Yu *et al.*, 2007, 2009). Chez le mutant *cry2*, nous avons montré qu'il n'y a pas de réduction de la fraction hétérochromatique pendant la transition florale (Tessadori *et al.*, 2007b) et ainsi pu proposer des rôles pour les photorécepteurs CRY2 et PHYB dans l'organisation de la chromatine. CRY2 serait directement impliqué dans la décondensation des séquences hétérochromatiques et PHYB aurait une action modulatrice sur le niveau cellulaire de CRY2. Cette action modulatrice serait matérialisée par les *foci* nucléaires de co-localisation de CRY2 et PHYB décrits précédemment (Mas *et al.*, 2000). À cela, on peut ajouter que les cryptochromes CRY1 et CRY2 moduleraient aussi l'action du complexe protéique COP/DET1/FUS, qui réprime la photomorphogénèse en maintenant un état compact de la chromatine par le biais de l'interaction de sa sous-unité DET1 avec l'histone H2B (Benvenuto *et al.*, 2002). Enfin, CRY2 régule la transcription de l'intégrateur floral *FT* par une interaction indirecte avec la chromatine après excitation lumineuse (Liu *et al.*, 2008).

Conclusion

L'hétérochromatine est un composant nucléaire dynamique et versatile. La nature répétitive des séquences contenues dans les chromocentres leur confère des propriétés spécifiques différentes de celles de gènes prêts (« *poised* ») à être exprimés, et placés dans un contexte euchromatique. À cet égard, il est intéressant de voir que les marques épigénétiques (H3K9me3 et H3K27me3) présentes chez *Arabidopsis thaliana* sur

Tableau 1. Corrélation positive entre le degré de répétition de séquences d'ADN et leur localisation dans les chromocentres.

Séquence	Type de noyau			
	Type 1 « normal »	Mutants ddml et met1 ¹	Type 2 « intermédiaire »	Type 3 « réduit »
Degré de répétition ↑ Gène ²	–	–	–	–
Séquence péricentromérique non transposable	+	–	–	–
Séquence péricentromérique transposable	+	+	–	–
ADN ribosomique péricentromérique 5S	+	+	+/-	–
Séquence répétée centromérique 180 bp	+	+	+	–
ADN ribosomique sub-téломérique 45S	+	+	+	+/-

Les types de noyaux sont décrits dans la figure 2 ;

+ le signal de la sonde FISH pour cette séquence est condensé et co-localisé avec les chromocentres ;

– le signal de la sonde FISH pour cette séquence est dispersé et localisé en dehors des chromocentres ;

¹ d'après Soppe *et al.* (2002) ;

² la majorité des gènes est située en dehors des chromocentres (Soppe *et al.* 2002 ; Fransz *et al.* 2006).

ces gènes sont absentes des chromocentres (Mathieu *et al.*, 2005 ; Naumann *et al.*, 2005).

Par ailleurs, la disparition des chromocentres ou leur réduction sont des phénomènes temporaires. Ceci peut indiquer que la nature intrinsèque des séquences hétérochromatiques leur est conférée par leur degré de répétition (tableau 1). Il a ainsi été proposé que ce degré de répétition est à la base de mécanismes moléculaires impliquant des ARN non-codants, dont le rôle semble chaque jour plus crucial dans l'extinction des gènes et des éléments transposables et la formation de l'hétérochromatine (Martienssen 2003 ; Irvine *et al.*, 2006 ; Wierzbicki *et al.*, 2008). On pourrait donc suggérer que chez *A. thaliana* l'hétérochromatine est définie essentiellement de manière génétique (c'est-à-dire par sa séquence nucléotidique), alors que l'euchromatine ou la chromatine dans un état « poised » le sont principalement de manière épigénétique (c'est-à-dire par les marques portées par l'ADN et les histones de ces régions chromatiniennes).

La grande plasticité de l'(hétéro)chromatine dépend de facteurs génétiques et épigénétiques endogènes ou exogènes et est mise à profit par les cellules végétales pour réagir et s'adapter aux variations de leur environnement. Toutefois, l'étendue de la relation de causalité de ces changements avec la transcription génique que cette réponse entraîne reste à déterminer.

Remerciements. Cet article est rédigé à partir du séminaire donné le 16 décembre 2009 lors de la réunion de la Société de Biologie sur le thème « L'Architecture Fonctionnelle du Noyau ». Je tiens à remercier Ève Devinoy (INRA, Jouy-en-Josas) pour m'y avoir invité à présenter mon travail ainsi que Valérie Gaudin (IJPB-INRA, Versailles) pour ses conseils sur ce texte.

Références

- Bastow R., Mylne J.S., Lister C., Lippman Z., Martienssen R.A., Dean C., Vernalization requires epigenetic silencing of FLC by histone methylation. *Nature*, 2004, 427, 164–167.
- Benvenuto G., Formiggini F., Laflamme P., Malakhov M., Bowler C., The photomorphogenesis regulator DET1 binds the amino-terminal tail of histone H2B in a nucleosome context. *Curr Biol*, 2002, 12, 1529–1534.
- Carrel L., Cottle A.A., Goglin K.C., Willard H.F., A first-generation X-inactivation profile of the human X chromosome. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1999, 96, 14440–14444.
- Chambeyron S., Bickmore W.A., Chromatin decondensation and nuclear reorganization of the HoxB locus upon induction of transcription. *Genes Dev*, 2004, 18, 1119–1130.
- Cheutin T., McNairn A.J., Jenuwein T., Gilbert D.M., Singh P.B., Misteli T., Maintenance of stable heterochromatin domains by dynamic HP1 binding. *Science*, 2003, 299, 721–725.
- Cutler S.R., Ehrhardt D.W., Griffiths J.S., Somerville, C.R., Random GFP::cDNA fusions enable visualization of subcellular structures in cells of *Arabidopsis* at a high frequency. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2000, 97, 3718–3723.
- De Lucia F., Crevillen P., Jones A.M., Greb T., Dean C., A PHD-polycomb repressive complex 2 triggers the epigenetic silencing of FLC during vernalization. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2008, 105, 16831–16836.
- Devlin R.H., Bingham B., Wakimoto B.T., The organization and expression of the light gene, a heterochromatic gene of *Drosophila melanogaster*. *Genetics*, 1990, 125, 129–140.
- Eberl D.F., Duyf B.J., Hilliker A.J., The role of heterochromatin in the expression of a heterochromatic gene, the rolled locus of *Drosophila melanogaster*. *Genetics*, 1993, 134, 277–292.

- Fransz P., De Jong J.H., Lysak M., Castiglione M.R., Schubert I., Interphase chromosomes in *Arabidopsis* are organized as well defined chromocenters from which euchromatin loops emanate. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2002, 99, 14584–14589.
- Fransz P., Soppe W., Schubert I., Heterochromatin in interphase nuclei of *Arabidopsis thaliana*. *Chromosome Res*, 2003, 11, 227–240.
- Fransz P., Ten Hoopen R., Tessadori F., Composition and formation of heterochromatin in *Arabidopsis thaliana*. *Chromosome Res*, 2006, 14, 71–82.
- Gaudin V., Libault M., Pouteau S., Juul T., Zhao G., Lefebvre D., Grandjean O., Mutations in Like Heterochromatin Protein 1 affect flowering time and plant architecture in *Arabidopsis*. *Development*, 2001, 128, 4847–4858.
- Grafi G., How cells dedifferentiate: a lesson from plants. *Dev Biol*, 2004, 268, 1–6.
- Grafi G., Avivi Y., Stem cells: a lesson from dedifferentiation. *Trends Biotechnol*, 2004, 22, 388–389.
- He Y., Amasino R.M., Role of chromatin modification in flowering-time control. *Trends Plant Sci*, 2005, 10, 30–35.
- Heitz E. Das Heterochromatin der Moose. *I Jahrb Wiss Botanik*, 1928, 69, 762–818.
- Henikoff S., Eissenberg J.C., Hilliker A.J., Schmidt E.R., Wallrath L.L., Reaching for new heitz. *Genetica*, 2000, 109, 7–8.
- Irvine D.V., Zaratiegui M., Tolia N.H., Goto D.B., Chitwood D.H., Vaughn M.W., Joshua-Tor L., Martienssen R.A., Argonaute slicing is required for heterochromatic silencing and spreading. *Science*, 2006, 313, 1134–1137.
- James T.C., Eissenberg J.C., Craig C., Dietrich V., Hobson A., Elgin S.C., Distribution patterns of HP1, a heterochromatin-associated nonhistone chromosomal protein of *Drosophila*. *Eur J Cell Biol*, 1989, 50, 170–180.
- Janicki S.M., Tsukamoto T., Salghetti S.E., Tansey W.P., Sachidanandam R., Prasanth K.V., Ried T., Shav-Tal Y., Bertrand E., Singer R.H., Spector D.L., From silencing to gene expression: real-time analysis in single cells. *Cell*, 2004, 116, 683–698.
- Kotake T., Takada S., Nakahigashi K., Ohto M., Goto K., *Arabidopsis* Terminal Flower 2 gene encodes a heterochromatin protein 1 homolog and represses both Flowering Locus T to regulate flowering time and several floral homeotic genes. *Plant Cell Physiol*, 2003, 44, 555–564.
- Krouwels I.M., Wiesmeijer K., Abraham T.E., Molenaar C., Verwoerd N.P., Tanke H.J., Dirks R.W., A glue for heterochromatin maintenance: stable SUV39H1 binding to heterochromatin is reinforced by the SET domain. *J Cell Biol*, 2005, 170, 537–549.
- Li B., Carey M. Workman J.L., The role of chromatin during transcription. *Cell*, 2007, 128, 707–719.
- Libault M., Tessadori F., Germann S., Snijder B., Fransz P., Gaudin V., The Arabidopsis LHP1 protein is a component of euchromatin. *Planta*, 2005, 222, 910–925.
- Lindroth A.M., Shultis D., Jasencakova Z., Fuchs J., Johnson L., Schubert D., Patnaik D., Pradhan S., Goodrich J., Schubert I., Jenuwein T., Khorasanizadeh S., Jacobsen S.E., Dual histone H3 methylation marks at lysines 9 and 27 required for interaction with chromomethylase3. *Embo J*, 2004, 23, 4286–4296.
- Lippman Z., Martienssen R., The role of RNA interference in heterochromatic silencing. *Nature*, 2004, 431, 364–370.
- Lippman Z., May B., Yordan C., Singer T., Martienssen R., Distinct mechanisms determine transposon inheritance and methylation via small interfering RNA and histone modification. *PLoS Biol*, 2003, 1, e67.
- Liu L.J., Zhang Y.C., Li Q.H., Sang Y., Mao J., Lian H.L., Wang L., Yang H.Q., COP1-mediated ubiquitination of CONSTANS is implicated in cryptochrome regulation of flowering in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 2008, 20, 292–306.
- Lomberk G., Wallrath L., Urrutia R., The Heterochromatin Protein 1 family. *Genome Biol*, 2006, 7, 228.
- Martienssen R.A., Maintenance of heterochromatin by RNA interference of tandem repeats. *Nat Genet*, 2003, 35, 213–214.
- Mas P., Devlin P.F., Panda S., Kay S.A., Functional interaction of phytochrome B and cryptochrome 2. *Nature*, 2000, 408, 207–211.
- Mathieu O., Jasencakova Z., Vaillant I., Gendrel A.V., Colot V., Schubert I., Tourmente S., Changes in 5S rDNA chromatin organization and transcription during heterochromatin establishment in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 2003, 15, 2929–2939.
- Mathieu O., Probst A.V., Paszkowski J., Distinct regulation of histone H3 methylation at lysines 27 and 9 by CpG methylation in *Arabidopsis*. *Embo J*, 2005, 24, 2783–2791.
- Muller W.G., Walker D., Hager G.L., McNally J.G., Large-scale chromatin decondensation and recondensation regulated by transcription from a natural promoter. *J Cell Biol*, 2001, 154, 33–48.
- Nakahigashi K., Jasencakova Z., Schubert I., Goto K., The *Arabidopsis* heterochromatin protein1 homolog (Terminal Flower2) silences genes within the euchromatic region but not genes positioned in heterochromatin. *Plant Cell Physiol*, 2005, 46, 1747–1756.
- Naumann K., Fischer A., Hofmann I., Krauss V., Phalke S., Irmeler K., Hause G., Aurich A.C., Dorn R., Jenuwein T., Reuter G., Pivotal role of AtSUVH2 in heterochromatic histone methylation and gene silencing in *Arabidopsis*. *Embo J*, 2005, 24, 1418–1429.
- Pavet V., Quintero C., Cecchini N.M., Rosa A.L., Alvarez M.E., *Arabidopsis* displays centromeric DNA hypomethylation and cytological alterations of heterochromatin upon attack by *Pseudomonas syringae*. *Mol Plant Microbe Interact*, 2006, 9, 577–587.
- Probst A.V., Fransz P.F., Paszkowski J., Scheid O.M., Two means of transcriptional reactivation within heterochromatin. *Plant J*, 2003, 33, 743–749.
- Probst A.V., Fagard M., Proux F., Mourrain P., Boutet S., Earley K., Lawrence R.J., Pikaard C.S., Murfett

- J., Furner I., Vaucheret H., Mittelsten Scheid O., *Arabidopsis* histone deacetylase HDA6 is required for maintenance of transcriptional gene silencing and determines nuclear organization of rDNA repeats. *Plant Cell*, 2004, 16, 1021–1034.
- Scheid O.M., Probst A.V., Afsar K., Paszkowski J., Two regulatory levels of transcriptional gene silencing in *Arabidopsis*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2002, 99, 13659–13662.
- Schmid M., Uhlenhaut N.H., Godard F., Demar M., Bressan R., Weigel D., Lohmann, J.U., Dissection of floral induction pathways using global expression analysis. *Development*, 2003, 130, 6001–6012.
- Soppe W.J., Jasencakova Z., Houben A., Kakutani T., Meister A., Huang M.S., Jacobsen S.E., Schubert I., Fransz P.F., DNA methylation controls histone H3 lysine 9 methylation and heterochromatin assembly in *Arabidopsis*. *Embo J*, 2002, 21, 6549–6559.
- Spivakov M., Fisher A.G., Epigenetic signatures of stem cell identity. *Nat Rev Genet*, 2007, 8, 263–271.
- Tanaka K., Appella E., Jay G., Developmental activation of the H-2K gene is correlated with an increase in DNA methylation. *Cell*, 1983, 35, 457–465.
- Tessadori F., van Driel R., Fransz P., Cytogenetics as a tool to study gene regulation. *Trends Plant Sci*, 2004, 9, 147–153.
- Tessadori F., Chupeau M.C., Chupeau Y., Knip M., Germann S., van Driel R., Fransz P., Gaudin V., Large-scale dissociation and sequential reassembly of pericentric heterochromatin in dedifferentiated *Arabidopsis* cells. *J Cell Sci*, 2007a, 120, 1200–1208.
- Tessadori F., Schulkes R.K., van Driel R., Fransz P., Light-regulated large-scale reorganization of chromatin during the floral transition in *Arabidopsis*. *Plant J*, 2007b, 50, 848–857.
- Tessadori F., van Zanten M., Pavlova P., Clifton R., Pontvianne F., Snoek L.B., Millenaar F.F., Schulkes R.K., van Driel R., Voesenek L.A., Spillane C., Pikaard C.S., Fransz P., Peeters A.J., Phytochrome B, histone deacetylase 6 control light-induced chromatin compaction in *Arabidopsis thaliana*. *PLoS Genet*, 2009, 5e1000638.
- The *Arabidopsis* Genome Initiative. Analysis of the genome sequence of the flowering plant *Arabidopsis thaliana*. *Nature*, 2000, 408, 796–815.
- Tumbar T., Sudlow G., Belmont A.S., Large-scale chromatin unfolding and remodeling induced by VP16 acidic activation domain. *J Cell Biol*, 1999, 145, 1341–1354.
- Turck F., Roudier F., Farrona S., Martin-Magniette M.L., Guillaume E., Buisine N., Gagnot S., Martienssen R.A., Coupland G., Colot V., *Arabidopsis* TFL2/LHP1 specifically associates with genes marked by trimethylation of histone H3 lysine 27. *PLoS Genet*, 2007, e86.
- van Driel R., Fransz P., Nuclear architecture and genome functioning in plants and animals: what can we learn from both? *Exp Cell Res*, 2004, 296, 86–90.
- Verschure P.J., van der Kraan I., de Leeuw W., van der Vlag J., Carpenter A.E., Belmont A.S., van Driel R., *In vivo* HP1 targeting causes large-scale chromatin condensation and enhanced histone lysine methylation. *Mol Cell Biol*, 2005, 25, 4552–4564.
- Wegel E., Vallejos R.H., Christou P., Stoger E., Shaw P., Large-scale chromatin decondensation induced in a developmentally activated transgene locus. *J Cell Sci*, 2005, 118, 1021–1031.
- Wierzbicki A.T., Haag J.R., Pikaard C.S., Noncoding transcription by RNA polymerase Pol IVb/Pol V mediates transcriptional silencing of overlapping and adjacent genes. *Cell*, 2008, 135, 635–648.
- Yang H.Q., Tang R.H., Cashmore A.R., The signaling mechanism of *Arabidopsis* CRY1 involves direct interaction with COP1. *Plant Cell*, 2001, 13, 2573–2587.
- Yu X., Klejnot J., Zhao X., Shalitin D., Maymon M., Yang H., Lee J., Liu X., Lopez J., Lin C., *Arabidopsis* cryptochrome 2 completes its posttranslational life cycle in the nucleus. *Plant Cell*, 2007, 19, 3146–3156.
- Yu X., Sayegh R., Maymon, M., Warpeha, K., Klejnot, J., Yang, H., Huang, J., Lee J., Kaufman L. Lin C., Formation of nuclear bodies of *Arabidopsis* CRY2 in response to blue light is associated with its blue light-dependent degradation. *Plant Cell*, 2009, 21, 118–130.
- Zhang X., Germann S., Blus B.J., Khorasanizadeh S., Gaudin V., Jacobsen S.E., The *Arabidopsis* LHP1 protein colocalizes with histone H3 Lys27 trimethylation. *Nat Struct Mol Biol*, 2007, 14, 869–871.
- Zhao J., Morozova N., Williams L., Libs L., Avivi Y., Grafi G., Two phases of chromatin decondensation during dedifferentiation of plant cells: distinction between competence for cell fate switch and a commitment for S phase. *J Biol Chem*, 2001, 276, 22772–22778.