

L'organisation tridimensionnelle du génome à partir des protéines du groupe Polycomb

Frédéric Bantignies

Institut de Génétique Humaine, CNRS UPR-1142, 141 rue de la Cardonille, 34396 Montpellier Cedex 5, France

Auteur correspondant : Frédéric Bantignies, frederic.bantignies@igh.cnrs.fr

Reçu le 15 janvier 2013

Résumé – Aujourd'hui, de plus en plus de génomes sont décryptés et annotés, et en parallèle, des avancées toutes récentes révèlent leur organisation tridimensionnelle (3D). Les dernières découvertes qui concernent cet aspect seront présentées, en prenant comme exemple les protéines du groupe Polycomb (PcG). Ce sont des facteurs de chromatine très bien conservés au cours de l'évolution, qui répriment la transcription de nombreux gènes cibles. Ils se lient au génome à de nombreux sites, et forment des domaines chromatiniens associés à des modifications d'histones spécifiques, ainsi qu'à des structures chromatiniennes d'ordre supérieur. Ces structures 3D de chromatine impliquent des interactions entre des éléments liés par Polycomb à des distances plus ou moins grandes, et peuvent contribuer à la fonction des protéines du PcG. Des analyses récentes de « Capture de la Conformation des Chromosomes » (3C) à haut débit ont mis au jour un très grand nombre de structures d'ordre supérieur le long de la fibre chromatinienne, segmentant le génome en domaines topologiques très bien démarqués. Ces études révèlent un lien sans précédent entre l'organisation linéaire des domaines épigénétiques et l'architecture des chromosomes, qui peut en conséquence être intimement lié à la fonction du génome.

Mots clés : Organisation tridimensionnelle de la chromatine / fonction du génome / protéines du Groupe Polycomb (PcG) / Capture de la Conformation des Chromosomes (3C) / hybridation *in situ* fluorescente (FISH)

Abstract – Three-Dimensional Genome Organization: a lesson from the Polycomb-Group proteins.

As more and more genomes are being explored and annotated, important features of three-dimensional (3D) genome organization are just being uncovered. In the light of what we know about Polycomb group (PcG) proteins, we will present the latest findings on this topic. The PcG proteins are well-conserved chromatin factors that repress transcription of numerous target genes. They bind the genome at specific sites, forming chromatin domains of associated histone modifications as well as higher-order chromatin structures. These 3D chromatin structures involve the interactions between PcG-bound regulatory regions at short- and long-range distances, and may significantly contribute to PcG function. Recent high throughput “Chromosome Conformation Capture” (3C) analyses have revealed many other higher order structures along the chromatin fiber, partitioning the genomes into well demarcated topological domains. This revealed an unprecedented link between linear epigenetic domains and chromosome architecture, which might be intimately connected to genome function.

Key words: Three-dimensional organization of chromatin / genome function / Polycomb Group (PcG) proteins / Chromosome Conformation Capture (3C) / fluorescent *in situ* hybridization (FISH)

Abréviations

3C :	<i>Chromosome Conformation Capture</i>
3D :	organisation tridimensionnelle
4C :	<i>3C on Chip</i>
5C :	<i>Chromosome Conformation Capture Carbon Copy</i>
ANT-C :	complexe Antennapedia de gènes Hox de drosophile
BX-C :	complexe bithorax de gènes Hox de drosophile
ChIP :	<i>Chromatin Immuno-Precipitation</i>
E(z) :	<i>Enhancer of zeste</i>
Esc :	<i>Extra sex combs</i>
FISH :	<i>Fluorescent In Situ Hybridization</i>
FISH-I :	FISH couplée à un immuno-marquage
Hi-C :	<i>High-throughput 3C</i>
Hox :	gènes homéotiques
kb :	kilobases
Mb :	Mégabases
Nurf-55 :	<i>nucleosome-remodeling factor 55</i>
Pc :	<i>Polycomb</i>
PcG :	<i>Polycomb Group</i>
Ph :	<i>Polyhomeotic</i>
PRC :	<i>Polycomb Repressive Complex</i>
PRE :	<i>Polycomb-Response Element</i>
Psc :	<i>Posterior sex combs</i>
RCH :	<i>Repressive Chromatin Hub</i>
See :	<i>Sex combs extra</i> , appelé aussi <i>dRing</i>
Su(z) 12 :	<i>Suppressor of zeste 12</i>
TADs :	<i>Topologically Associating Domains</i>

Introduction

Le génome est l'ensemble de l'information génétique, particulier à tout organisme vivant. Les chromosomes représentent le support physique de cette information, qui est fidèlement retranscrite à travers les cycles cellulaires et les générations. Situés à l'intérieur des noyaux des cellules, les chromosomes sont des structures complexes formées de la molécule d'ADN représentant une succession de paires de nucléotides (ou bases). Le génome humain n'en compte pas moins de 3 milliards (environ 20 fois moins pour l'organisme modèle : la drosophile). À l'intérieur de ce génome sont inscrits nos gènes, ainsi qu'une multitude d'éléments régulateurs. L'ADN des chromosomes s'enroule autour de protéines très basiques, les « histones », formant un matériel composite appelé chromatine. Ces histones jouent un rôle majeur dans la fonction du génome. Notamment, des modifications post-traductionnelles au niveau des queues d'histones peuvent servir d'indicateurs de l'activité génique (expression ou non d'un gène) à un endroit particulier du génome. Ces modifications peuvent être des acétylations, des méthylation, des phosphorylations, des ubiquitylations... (pour revue, Bannister & Kouzarides, 2011).

Ce sont donc des étiquettes moléculaires qui viennent s'ajouter à l'information génétique déjà contenue dans l'ADN. On parle également de marques ou de signatures épigénétiques.

Après la découverte de la structure de la molécule d'ADN par Watson et Crick en 1953, un autre grand pas a été franchi au début de ce siècle avec le décryptage des génomes. Ainsi, certains d'entre eux comme celui de l'Homme, de la souris ou encore de la drosophile, ont été séquencés puis annotés. Aujourd'hui, avec la révolution technologique du séquençage à haut débit, le séquençage des génomes est toujours fortement d'actualité. Parmi les recherches actuelles, on citera le séquençage de nombreuses espèces, l'analyse de variations chez des individus d'une même espèce, la recherche de caractères géniques liés à des maladies, ou encore l'étude de génomes ancestraux. Cependant, ces travaux ne répondent pas à la question de l'expression différentielle du génome pour produire la multitude de types cellulaires que possède un organisme. Tout un pan de recherche s'est donc développé, visant à comprendre comment le génome est organisé dans l'espace tridimensionnel (3D) des noyaux, et comment cette organisation est capable d'influencer l'expression des gènes.

Les chercheurs ont d'abord utilisé la technique de "*Fluorescent In Situ Hybridization*" (FISH) pour comprendre l'organisation des chromosomes dans le noyau des cellules. De nombreuses données utilisant cette technique couplée à l'observation en microscopie photonique semblaient d'ailleurs indiquer qu'il existait une réelle organisation nucléaire. En effet, les chromosomes adoptent une structure particulière, appelée territoire chromosomique, avec des positionnements préférentiels dans les noyaux. D'autres expériences de FISH sur des gènes ont aussi permis de révéler un positionnement radial non aléatoire en fonction de leur densité sur les chromosomes et de leur état d'expression (pour revues, Lanctot *et al.*, 2007; Cheutin *et al.*, 2010). Ces techniques cytologiques possèdent cependant une faible résolution à l'échelle moléculaire.

La méthode de choix pour étudier la chromatine est la technique de "*Chromatin Immuno-Precipitation*" (ChIP), qui permet d'étudier à l'aide d'anticorps spécifiques les sites de fixation d'un facteur d'intérêt connu ou encore l'emplacement de différentes modifications d'histone le long d'un génome. Depuis 2002, une nouvelle technique moléculaire appelée "*Chromosome Conformation Capture*" (3C) a révolutionné le domaine de l'organisation chromatienne. D'abord employés chez l'organisme modèle *Saccharomyces cerevisiae*, cette technique et ses nombreux dérivés sont désormais très utilisés pour l'étude des repliements de la chromatine (Dekker *et al.*, 2002; Naumova & Dekker, 2010). Cette méthode permet de détecter la proximité de deux régions

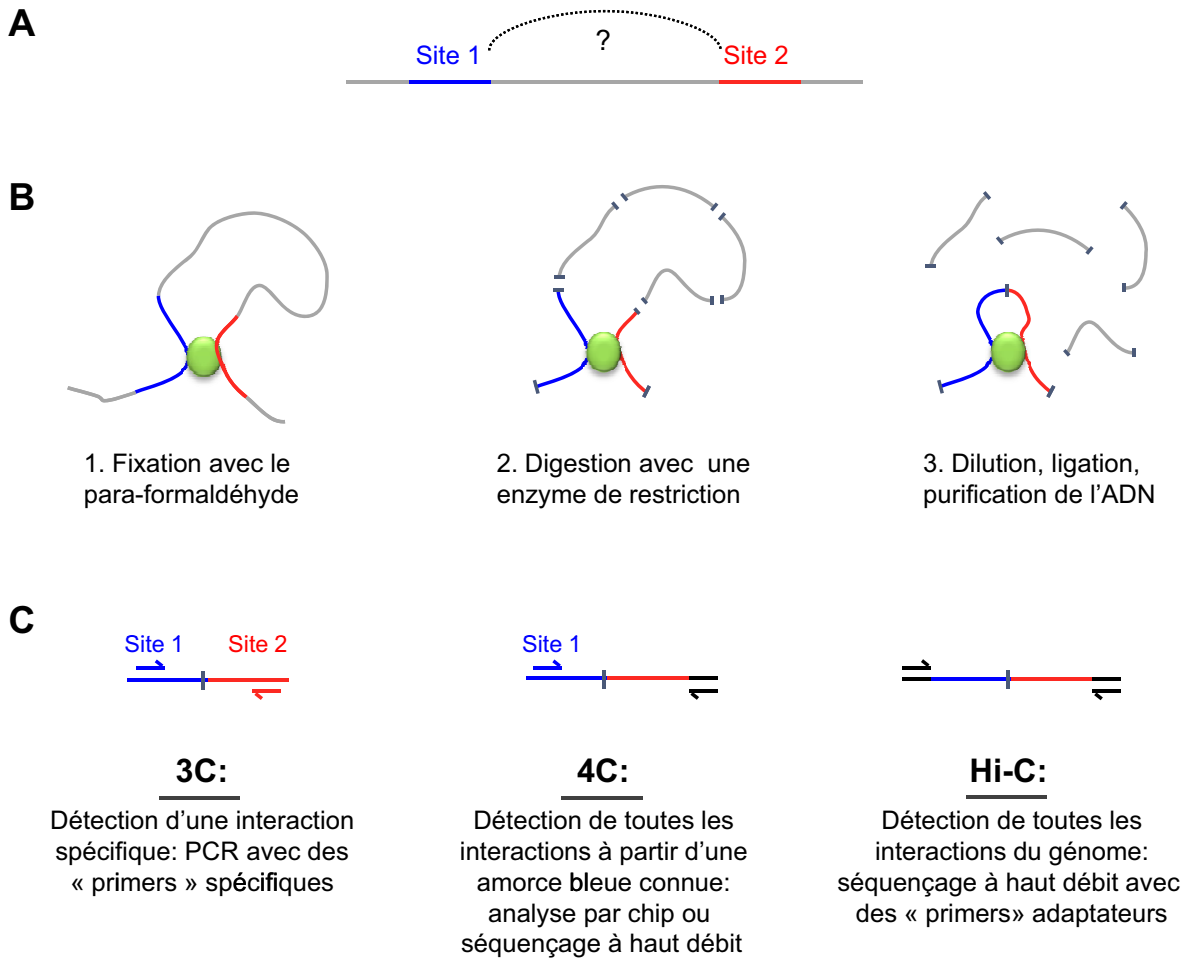


Fig. 1. Représentation schématique de la technique de “*Chromosome Conformation Capture*” ou 3C : (A) La méthode permet de détecter l'interaction 3D dans les noyaux entre deux sites distants sur le génome linéaire afin d'établir la topologie de la chromatine. (B) Représentation des trois étapes fondamentales du 3C. (C) Principales différences entre le 3C et ses dérivés 4C et Hi-C.

génomiques distantes dans l'espace 3D des noyaux, et ainsi d'étudier la topologie de la chromatine (figure 1). Les études de 3C ont récemment identifié un nombre important de repliements de chromatine, en anglais “*chromatin loops*”, et d'interactions chromosomiques à longue distance, qui permettent de rapprocher des éléments régulateurs éloignés de leurs gènes ainsi que des gènes distants entre eux (Sexton *et al.*, 2009). Ces conformations 3D peuvent aider à réguler l'état d'expression actif ou réprimé de nombreux gènes et leur existence nous permettre de mieux comprendre l'organisation fonctionnelle des génomes. À l'instar du séquençage des génomes, les techniques de ChIP et de 3C bénéficient largement aujourd'hui de l'avènement des méthodes de séquençage à haut débit.

Les protéines du groupe Polycomb (PcG) sont des facteurs très conservés au cours de l'évolution.

Elles se fixent à la chromatine au niveau de marques épigénétiques spécifiques et régulent un grand nombre de gènes chez les eucaryotes supérieurs. À travers l'exemple fourni par ces facteurs, nous traiterons des avancées majeures et toutes récentes concernant les principes d'organisation du génome chez les métazoaires.

Les protéines du groupe Polycomb (PcG)

L'histoire des protéines du PcG a commencé avant la découverte de l'ADN. En effet, le gène éponyme Polycomb a été découvert en 1947 par Pamela Lewis qui examinait des mutations dominantes chez la drosophile. Un peu plus tard, on a attribué à leur fonction la régulation des gènes homéotiques (Hox), qui sont très importants pour le développement (Lewis, 1978).

Depuis le début des années 2000, le domaine Polycomb a littéralement explosé, couvert désormais par de multiples aspects de recherche. Ainsi, les facteurs du PcG sont définis comme des protagonistes majeurs de nombreuses régulations épigénétiques chez les vertébrés, telles que l'inactivation du chromosome X, l'empreinte génomique parentale, la plasticité et le renouvellement des cellules souches, ou encore la détermination du destin cellulaire. Leur rôle est crucial dans de nombreux processus biologiques de développement, de différenciation et de prolifération cellulaires (pour revues, Ringrose, 2007; Schuettengruber *et al.*, 2007; Pasini *et al.*, 2008; Roure & Bantignies, 2009). De plus, il est avéré que des dérégulations au niveau de ces facteurs entraînent des cancers chez l'Homme (Mills, 2010). La drosophile représente un système génétique manipulable pour décrypter ces mécanismes (Classen *et al.*, 2009; Martinez *et al.*, 2009).

Les facteurs du PcG agissent au niveau de la chromatine sous forme de complexes multimériques. PRC1 et PRC2 sont les deux premiers "*Polycomb Repressive Complexes*" à avoir été isolés chez la drosophile. PRC1 contient *Polycomb* (Pc; les protéines CBX chez l'Homme), *Polyhomeotic* (Ph), *Posterior sex combs* (Psc) et *Sex combs extra* (Sce, aussi appelé dRing) (Shao *et al.*, 1999), tandis que PRC2 contient l'histone *methyltransferase Enhancer of zeste* (E(z); EZH2 chez l'Homme), *Extra sex combs* (Esc), *Suppressor of zeste 12* (Su(z)12), et *Nucleosome-remodeling factor 55* (Nurf-55) (Ng *et al.*, 2000). On compte désormais cinq complexes différents du PcG chez la drosophile. Chez les mammifères, ces complexes sont assez bien conservés. Cependant, des duplications de gènes, des usages alternatifs de sites d'initiation de la traduction, ou encore des interactions avec d'autres facteurs nucléaires, entraînent plus de diversité dans la composition des complexes du PcG (pour revue, Beisel & Paro, 2011).

Mode d'action des protéines du PcG sur la chromatine

Le paradigme du mode d'action de ces facteurs est le suivant : les protéines du PcG peuvent être recrutées au niveau de séquences particulières du génome appelées PRE pour "*Polycomb-Response Element*". Chez les mammifères, les PREs sont moins bien caractérisés que chez la drosophile et les sites de fixations des protéines du PcG au niveau du génome correspondent très souvent à des îlots de dinucléotides CpG dépourvus de méthylation (Ku *et al.*, 2008; Mendenhall *et al.*, 2010; Lynch *et al.*, 2012). Une fois recruté, le complexe PRC2, grâce à l'activité catalytique d'E(z), dépose la marque chromatiniennne histone H3 triméthylée sur la lysine 27

(H3K27me3) qui est caractéristique de la répression. Cette marque peut alors servir de plate-forme de fixation pour PRC1 qui contient Pc avec son chromodomaine. PRC1 est, lui, responsable du dépôt d'une seconde marque chromatiniennne, grâce à l'activité catalytique de dRing, qui mono-ubiquityle la lysine 119 de l'histone H2A (H2AK119ub). Ces deux marques épigénétiques contribuent au maintien de la répression dépendante des protéines du PcG (figure 2).

Ce paradigme doit toutefois être élargi avec la découverte récente de nouveaux complexes du PcG associés à d'autres activités enzymatiques de modification de la chromatine, et le fait que, sur la chromatine, des membres PRC1 peuvent être trouvés sans PRC2 et *vice versa* (pour revue, Bantignies & Cavalli, 2011). Dans certains cancers, la sous-unité EZH2 peut même être associée à d'autres facteurs que Polycomb et avoir des fonctions de régulation différentes (Xu *et al.*, 2012).

Une fois installées sur la chromatine, les protéines du PcG peuvent entraîner un certain compactage de la chromatine, la rendant moins accessible à la machinerie de transcription des gènes et/ou moins compatible avec son fonctionnement (pour revue, Bantignies & Cavalli, 2011). La chromatine liée par les facteurs du PcG n'est cependant pas complètement impénétrable, ni figée. En effet, des facteurs de la machinerie de transcription, et notamment la RNA polymérase II « pausée », peuvent être trouvés au niveau de nombreux promoteurs régulés par les complexes du PcG (Stock *et al.*, 2007; Enderle *et al.*, 2011; Kharchenko *et al.*, 2011). D'autre part, une certaine dynamique existe dans le mode de répression de ces facteurs. Un taux élevé de remplacement d'histones est observé au niveau des PREs (Mito *et al.*, 2007), même si celui-ci reste moins fort par rapport aux régions actives du génome (Deal *et al.*, 2010); les facteurs du groupe Polycomb ont un temps de résidence très court sur la chromatine (de l'ordre de 1 à 10 min) (Ficz *et al.*, 2005). La répression de la chromatine dépendante des PcG apparaît donc comme un processus complexe et dynamique, impliquant recrutement, compactage, et interférences avec les facteurs de la machinerie transcriptionnelle.

Les protéines du PcG et des domaines chromatiniens en couleur

Tout d'abord, des efforts ont été faits pour connaître l'ensemble des sites de fixation de Polycomb au niveau du génome. De multiples cartographies de "*genome-wide ChIP*" (immunoprécipitations de la chromatine et analyses sur l'ensemble du génome) ont été réalisées chez la drosophile et dans les cellules mammaliennes. Ces données ont permis d'identifier les nombreux

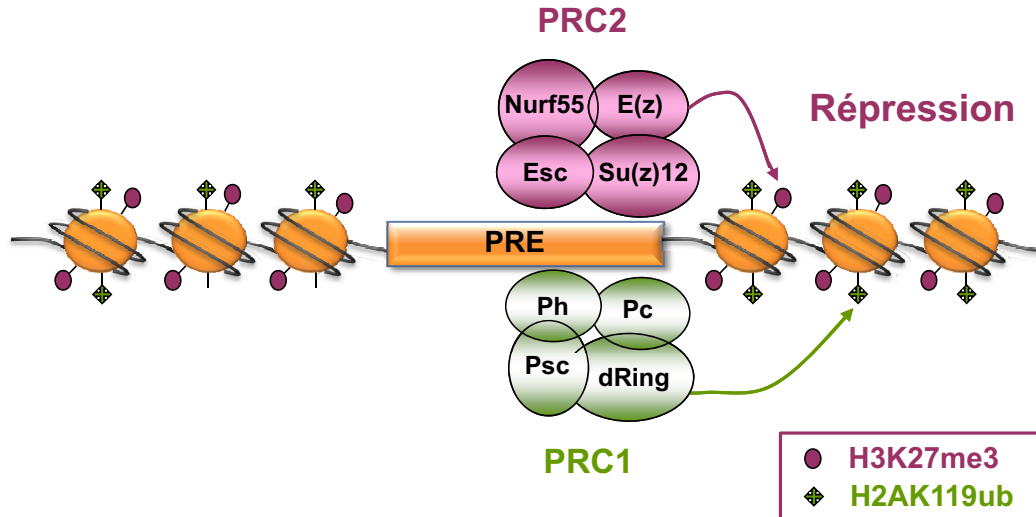


Fig. 2. Mode d'action des protéines du groupe Polycomb sur la chromatine. Les protéines du PcG sont recrutées sur la chromatine au niveau de la séquence PRE pour “*Polycomb Response Element*”. Les deux complexes majeurs de drosophile PRC1 et PRC2 sont montrés ici. Leurs équivalents sont trouvés chez les mammifères. PRC2, par l'intermédiaire de l'activité catalytique d'E(z), dépose la marque épigénétique H3K27me3. Cette modification sert de plate-forme pour PRC1 par l'intermédiaire de Polycomb et de son chromodomaine qui reconnaît spécifiquement cette marque. PRC1, par l'intermédiaire de dRing, dépose la marque H2AK119ub. Ces deux marques vont contribuer à la répression stable des gènes cibles des protéines du PcG, notamment en rendant la chromatine moins accessible aux facteurs d'activation de la transcription. Figure adaptée de (Bantignies & Cavalli, 2011).

gènes cibles des protéines du PcG et de réaffirmer leur rôle de régulation dans beaucoup de processus biologiques. Ces gènes cibles sont enrichis en facteurs de transcription impliqués dans des fonctions cellulaires et des voies développementales très variées (pour revues, Ringrose, 2007; Schuettengruber *et al.*, 2007).

Très récemment, plusieurs groupes ont réalisé des cartographies extensives des facteurs qui lient la chromatine (incluant les facteurs Polycomb) et des modifications d'histones, chez l'Homme (Ernst *et al.*, 2011), le ver (Liu *et al.*, 2011), la drosophile (Filion *et al.*, 2010; Kharchenko *et al.*, 2011) et les plantes (Roudier *et al.*, 2011). La combinaison de ces profils a mis au jour un caractère important des génomes : leur subdivision en plusieurs types ou « couleurs » de chromatine. Pour les décrire de manière simplifiée, quatre couleurs peuvent être utilisées : la verte représente la chromatine centromérique qui contient la marque H3K9me2, une diméthylation au niveau de l'histone H3, et la protéine hétérochromatinienne HP-1; la bleue est la chromatine liée par les facteurs du PcG avec sa marque canonique de répression H3K27me3; la rouge est la chromatine enrichie en marques actives H3K4me3, H3K36me3 et hyperacétylation des queues d'histones; la noire, appelée “*void* ou *null chromatin*”, est enrichie en histone H1 ou “*histone linker*”, mais semble dépourvue de marques épigénétiques connues. Elle représente cependant jusqu'à la moitié du génome non répété chez la drosophile et renferme de nombreux

gènes exprimés de manière spécifique dans les tissus. Les couleurs verte, bleue et noire correspondent à des chromatines de type répressif (la chromatine est plutôt considérée comme fermée, moins accessible, et les gènes y sont souvent inactifs), tandis que la couleur rouge correspond à un type actif (la chromatine est considérée comme ouverte et les gènes y sont plutôt exprimés). Cette subdivision reste cependant une caractérisation assez grossière et à ce niveau de résolution, il apparaît que les états de chromatine sont largement conservés entre différents types cellulaires (Ernst *et al.*, 2011; Kharchenko *et al.*, 2011). Ceci indique une organisation globale du génome en modules épigénétiques bien conservés, avec de larges régions actives ou réprimées. Cependant, à plus haute résolution, on peut constater que cette organisation n'est pas complètement figée et qu'une rérégulation plus fine peut exister à l'intérieur des domaines, permettant l'expression spécifique de certains gènes. Ainsi, il a été observé des changements fréquents des marques chromatiniennes entre différentes lignées de cellules humaines (Ernst *et al.*, 2011), ou au cours du développement chez la drosophile (Nègre *et al.*, 2011).

Les protéines du PcG : une répression en 3D

Au sein des noyaux des cellules de drosophile et de mammifères, les protéines du groupe Polycomb

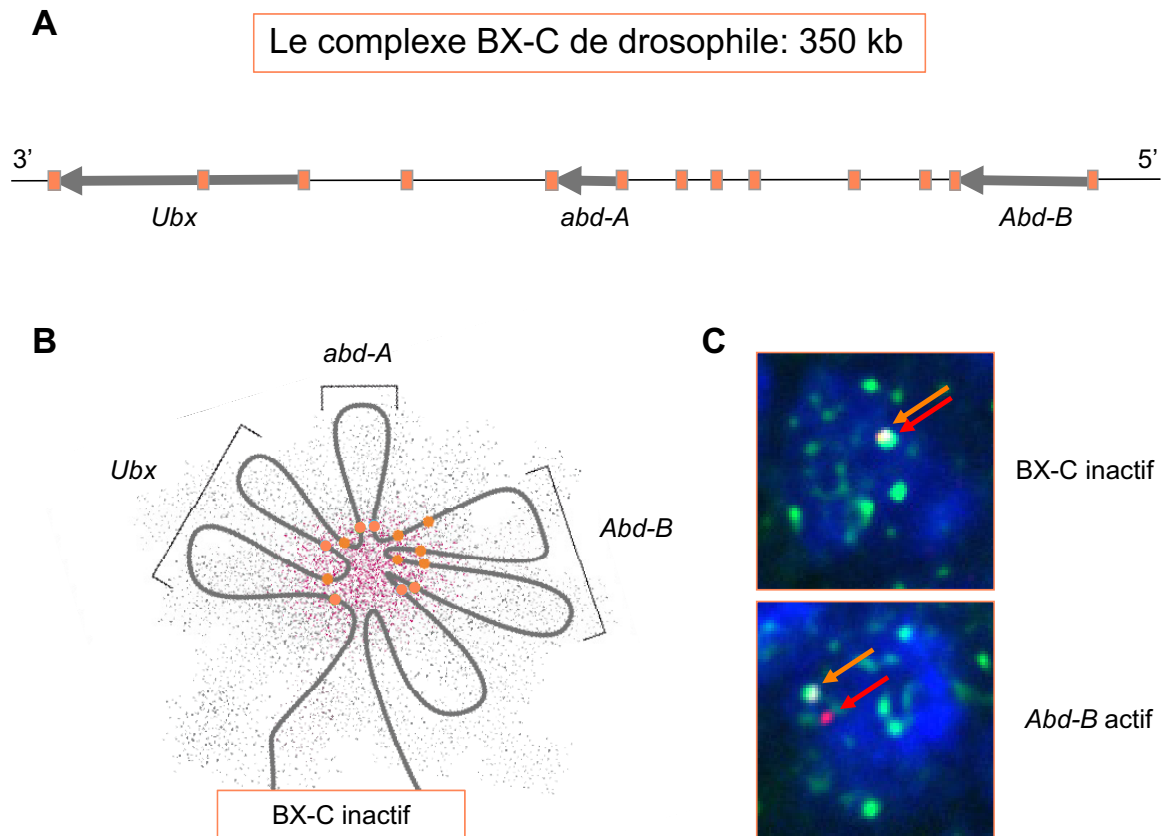


Fig. 3. Représentation schématique des structures 3D de la chromatine. (A) Le complexe bithorax (BX-C) est représenté sous une forme linéaire, avec ses trois gènes représentés par des flèches : *Ubx*, *abd-A*, *Abd-B*. Les rectangles orange indiquent les sites de fixation des protéines du PcG le long du complexe. (B) Lorsque tous les gènes du BX-C sont réprimés, les interactions entre les éléments liés par les facteurs du PcG entraînent la formation d’une structure d’ordre supérieur de chromatine appelée “*Repressive Chromatin Hub*” (RCH). Ces interactions sont probablement très dynamiques et n’interviennent pas forcément toutes simultanément dans les noyaux, la structure représentant en fait la somme de toutes les interactions les plus favorables. Lorsqu’un des gènes du complexe s’active, il a tendance à quitter le RCH. (C) Noyaux représentatifs obtenus avec la technique d’immuno-FISH (FISH-I). Lorsque le BX-C est inactif, les deux gènes les plus distants, *Ubx* et *Abd-B* (indiqués respectivement par des flèches orange et rouge), colocalisent au niveau d’un large foyer Polycomb ou “*PcG bodies*” (en vert). Lorsque le gène *Abd-B* s’active, il se détache de la structure. Figure adaptée de (Bantignies & Cavalli, 2011).

s’organisent en foyers facilement repérables par microscopie fluorescente appelés “*PcG bodies*” (Buchenau *et al.*, 1998; Saurin *et al.*, 1998), et cette propriété suggère une organisation nucléaire particulière de leurs gènes cibles.

Beaucoup de loci cibles des protéines du PcG, comme les complexes Hox chez la drosophile et les mammifères, sont formés de plusieurs gènes et contiennent de nombreux sites de fixation pour les protéines du PcG, certains étant localisés au promoteur des gènes, d’autres à plus grande distance. Par exemple, le complexe bithorax (BX-C) est l’un des deux complexes Hox chez la drosophile. Il forme un large domaine chromosomique qui s’étale sur environ 350 kb (kilobases) et contient 3 gènes. En utilisant

les techniques de 3C et de FISH couplées à l’immunomarquage de Polycomb (FISH-I), de nombreuses interactions à longue distance entre les différents éléments liés par Polycomb au sein du BX-C ont été décrites (Lanzuolo *et al.*, 2007) (figure 3). Ces interactions forment une structure d’ordre supérieur de chromatine, appelée “*Repressive Chromatin Hub*” (RCH). On parle aussi de boucle locale, en anglais “*local loop*”. De plus, ces interactions sont perdues ou diminuées lorsqu’un des gènes du complexe s’active. Ce “*Hub*” de chromatine est une propriété conservée chez les gènes Hox de mammifères à l’état réprimé et, comme dans le cas du BX-C, les gènes activés sont déplacés de la structure (Ferraiuolo *et al.*, 2010). Les structures 3D sont très dépendantes de l’état transcriptionnel

du locus. Leur fonctionnalité est d'ailleurs confirmée par une étude récente chez la souris, utilisant une variante de la technique de 3C (4C) (Noordermeer *et al.*, 2011). Les loci Hox de mammifères peuvent former deux domaines topologiques distincts suivant l'activité transcriptionnelle des gènes à l'intérieur des complexes. Au fur et à mesure que les gènes Hox d'un complexe s'activent de manière colinéaire (à la suite les uns des autres, suivant leur emplacement chromosomique), une structure 3D active va progressivement s'établir, distincte du RCH. Deux domaines topologiques sont alors formés : l'un contenant les gènes encore inactifs et la marque de répression H3K27me3, l'autre contenant les gènes activés et la marque active H3K4me3. Ces structures 3D semblent ainsi capables d'orchestrer l'induction colinéaire spatiale et temporelle des gènes Hox. Une organisation en "Hub" impliquant les protéines du PcG et dépendante de l'activité transcriptionnelle a également été décrite au niveau du locus génomique *GATA-4* (Tiwari *et al.*, 2008b) précédant la différenciation des cellules humaines. Les structures chromatiniennes d'ordre supérieur pourraient donc jouer un rôle important dans le maintien de la répression des loci cibles des protéines du PcG, et permettre de contrôler des processus clés de différenciation et de développement.

Les interactions décrites entre sites de fixation Polycomb à l'intérieur d'un même locus peuvent être considérées comme des interactions à relativement courte distance ou locale. Des expériences avec des transgènes contenant des PREs avaient déjà indiqué que les protéines du PcG sont impliquées dans des interactions à très longues distances, entre transgènes situés à des endroits différents du génome (Bantignies *et al.*, 2003; Grimaud *et al.*, 2006; Vazquez *et al.*, 2006). Récemment, les études des interactions entre gènes cibles Polycomb situés le long du génome ont montré une propriété similaire. Tout d'abord, la technique de FISH-I a permis de révéler l'existence d'interactions spécifiques entre les gènes du complexe Hox Antennapedia (ANT-C) et ceux du BX-C. Bien que séparés de 10 Mégabases d'ADN (la moitié d'un bras chromosomique de drosophile), les gènes de ces complexes se rencontrent régulièrement dans les cellules où ils ne sont pas actifs (Grimaud *et al.*, 2006; Bantignies *et al.*, 2011). Lorsqu'un gène Hox s'active, l'interaction entre les deux complexes diminue significativement. Ensuite, l'application de la technique de 4C (*3C on Chip*) pour étudier ces contacts à plus grande échelle génomique a permis d'étendre l'observation faite initialement en FISH. En effet, deux études complémentaires ont révélé l'existence d'un véritable réseau d'interactions spécifiques entre les gènes cibles endogènes du PcG (Bantignies *et al.*, 2011; Tolhuis *et al.*, 2011). Ces interactions apparaissent très spécifiques car elles excluent la

chromatine active et les gènes faiblement activés ou réprimés, mais non liés par les facteurs du PcG. Elles s'établissent majoritairement entre loci cibles du PcG se situant sur un même bras chromosomique, indiquant que ces interactions nucléaires sont contraintes par la topologie des chromosomes (Tolhuis *et al.*, 2011). Par ailleurs, d'autres études suggèrent que les complexes Polycomb pourraient aussi former des réseaux spécifiques d'interactions géniques chez les mammifères (Tiwari *et al.*, 2008a; Choi *et al.*, 2011). En utilisant des délétions de régions reconnues par Polycomb dans le BX-C, il a pu être montré que des gènes d'ANT-C, bien que localisés à l'autre bout du bras chromosomique, pouvaient être partiellement dérégulés (Bantignies *et al.*, 2011). Même si les effets biologiques apparaissent faibles dans ce cas, les interactions chromosomiques à longue distance peuvent aussi jouer un rôle fonctionnel dans la régulation génique.

Pour résumer cette partie, il existe des interactions spécifiques à courtes distances entre des éléments régulateurs à l'intérieur des loci régulés par les protéines du PcG (« *local loops* »), ainsi que des interactions à plus grande distance entre les cibles du PcG le long du bras chromosomique (« *super loops* »). Ces repliements de chromatine peuvent influencer la régulation des gènes.

Le génome vu en 3D : des couleurs de chromatine au repliement des chromosomes

Comme souvent en science, les choses peuvent aller très vite. Ainsi, après le 3C et le 4C, de nombreuses études ont utilisé tout récemment le Hi-C ("*High-throughput 3C*"). Cette technologie couple le 3C au séquençage à haut débit et permet d'identifier toutes les interactions d'un génome qui peuvent se produire dans l'espace 3D des noyaux (Lieberman-Aiden *et al.*, 2009; Rodley *et al.*, 2009; Duan *et al.*, 2010; Tanizawa *et al.*, 2010) (figure 1C). On peut ainsi cartographier de manière non biaisée toutes les interactions intra- et interchromosomiques dans une population de cellules. Ces premières cartes restent à des niveaux de résolution assez faibles, car elles utilisent un nombre relativement restreint de séquences par rapport à la complexité de l'information. Ces premiers « interactomes » ont parfaitement réussi à récapituler des propriétés déjà connues de l'organisation des génomes, comme l'organisation des chromosomes en territoire dans les cellules humaines (Lieberman-Aiden *et al.*, 2009) ou la conformation de Rabl pour les levures (Duan *et al.*, 2010). Ils en ont également révélé de nouvelles et des liens entre l'organisation spatiale du génome et la régulation transcriptionnelle des gènes

ont émergé. Par exemple, les chromosomes des cellules humaines s'organisent en deux types de compartiments nucléaires : l'un riche en gènes actifs et chromatine ouverte, l'autre contenant une chromatine inactive et fermée (Lieberman-Aiden *et al.*, 2009). De manière remarquable, ces deux compartiments sont fortement corrélés avec les régions riches et les régions pauvres en gènes, qui avaient été identifiées au niveau d'un génome linéaire (Versteeg *et al.*, 2003). La séparation spatiale de ces deux types de régions dans les noyaux avait été visualisée par FISH (Shopland *et al.*, 2006). À ce niveau de résolution, le repliement des génomes semblait déjà avoir une certaine fonctionnalité.

En 2012, un nouveau pas important a été franchi. En utilisant des méthodes analogues au Hi-C ou le 5C ("*Chromosome Conformation Capture Carbon Copy*"), mais cette fois-ci avec un nombre beaucoup plus grand de séquences, quatre groupes ont démontré l'existence de « domaines physiques » ou « domaines topologiques » au niveau de la fibre chromatinienne (figure 4A) (Dixon *et al.*, 2012; Hou *et al.*, 2012; Nora *et al.*, 2012; Sexton *et al.*, 2012). En anglais, ils sont appelés respectivement "*physical domains*" ou "*topological domains*", ou encore "*topologically associating domains*" (TADs). Ils représentent une multitude d'interactions locales le long de la fibre chromatinienne. Ces domaines topologiques sont de tailles variables, de 50 à 500 kb chez la drosophile, de 200 kb à 1 Mégabase chez les mammifères. Plus de 1100 domaines physiques ont ainsi été identifiés chez la drosophile (Hou *et al.*, 2012; Sexton *et al.*, 2012), et environ le double chez les cellules ES de souris (Dixon *et al.*, 2012). Parmi eux, on retrouve bien sûr les domaines Hox, cibles majeures des protéines du PcG.

Les domaines topologiques apparaissent très stables selon le type cellulaire analysé et sont conservés au cours de l'évolution (tout au moins entre souris et Homme) (Dixon *et al.*, 2012; Nora *et al.*, 2012). À l'instar des couleurs de chromatine, ceux-ci indiquent une bonne conservation de l'organisation 3D du génome. Mais une fois encore, il s'agit ici d'une analyse à faible résolution, avec des régions analysées de l'ordre de 100 kb. En prenant des régions de 20 kb, on s'aperçoit alors qu'il existe de nombreuses différences d'interactions entre deux types cellulaires (Dixon *et al.*, 2012). Ceci n'est pas sans rappeler la dynamique topologique observée pour les gènes Hox (Lanzuolo *et al.*, 2007; Ferraiuolo *et al.*, 2010; Noordermeer *et al.*, 2011). Par conséquent, les domaines physiques apparaissent stables entre les cellules, mais des régions situées à l'intérieur, pouvant correspondre à un ou plusieurs gènes, sont susceptibles d'engager des contacts spécifiques selon leur état transcriptionnel dans des types cellulaires variés.

Deux propriétés de ces domaines topologiques sont particulièrement frappantes. La première est que les domaines sont très bien démarqués le long de la fibre chromatinienne. Ces frontières, appelées régions barrières (en anglais, "*boundary regions*") correspondent à des chutes brutales d'interactions locales, révélant un partitionnement du génome sous forme de « triangles » (figure 4B). Des facteurs spécifiques s'associent à ces frontières et notamment la protéine insulatrice CTCF (Dixon *et al.*, 2012; Hou *et al.*, 2012; Nora *et al.*, 2012; Sexton *et al.*, 2012). Chez la drosophile, on trouve également les protéines insulatrices Cp190 et Beaf-32, ainsi que Chromator, une protéine du fuseau mitotique qui possède un chromodomaine (Hou *et al.*, 2012; Sexton *et al.*, 2012). Un enrichissement en marque d'histone active H3K4me3, une plus grande accessibilité de la chromatine, une meilleure perméabilité à la transcription et une densité plus haute en gènes sont d'autres caractères trouvés pour ces régions (Hou *et al.*, 2012; Sexton *et al.*, 2012). Chez les mammifères, des gènes de « ménage » et des rétrotransposons de type SINE sont aussi souvent associés aux régions barrières (Dixon *et al.*, 2012).

La seconde particularité est que les domaines physiques coïncident fortement avec les marques épigénétiques trouvées sur la chromatine (Hou *et al.*, 2012; Nora *et al.*, 2012; Sexton *et al.*, 2012). On peut ainsi attribuer à chacun une couleur de chromatine particulière. On va alors trouver des domaines topologiques verts correspondant à l'hétérochromatine, des domaines bleus correspondant aux régions fixées par les protéines du PcG et la marque H3K27me3, de grands domaines noirs et enfin des domaines physiques rouges pour la chromatine active et la marque H3K4me3 (figure 4A). Le repliement 3D du génome en domaines topologiques semble donc fonctionnel.

Enfin, chez la drosophile, des domaines de mêmes couleurs chromatiniennes ont aussi la propension à interagir entre eux (Sexton *et al.*, 2012). Ainsi, on retrouve les interactions à longue distance entre les domaines bleus Polycomb, notamment l'interaction décrite précédemment entre les deux complexes de gènes Hox séparés de 10 Mb. On note également de nombreuses interactions entre des domaines rouges actifs, entre des domaines noirs réprimés, mais très peu d'interactions entre des domaines de couleurs différentes. Au total, 268 interactions spécifiques inter-domaines sont décrites chez l'embryon de drosophile (Sexton *et al.*, 2012). Beaucoup d'interactions existent également entre les régions frontières des domaines topologiques de drosophile (Hou *et al.*, 2012). Chez les mammifères, des gènes liés par le même facteur de transcription, appartenant donc à un même type de domaine, tendent aussi à s'associer entre eux dans l'espace 3D des noyaux (Fullwood *et al.*, 2009; Schoenfelder *et al.*, 2010; Handoko *et al.*, 2011). Cette

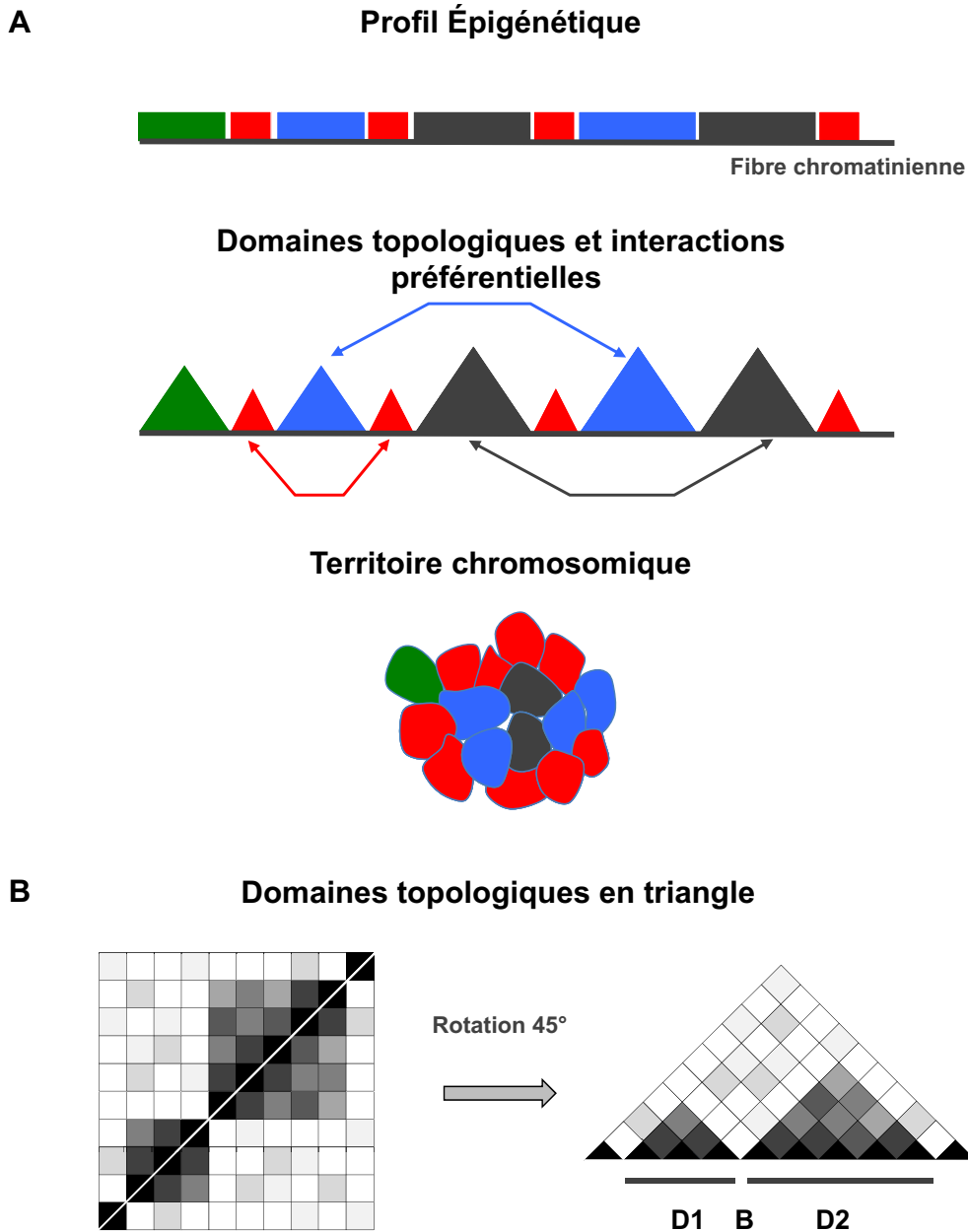


Fig. 4. Représentation schématique des domaines physiques ou topologiques. (A) En fonction des facteurs et des marques épigénétiques, la chromatine peut être sous-divisée en quatre couleurs principales : vert pour l’hétérochromatine, bleu pour Polycomb et H3K27me3, noir pour la chromatine “*null*” dépourvue de marques particulières, et rouge pour la chromatine active. Ensuite, des cartes d’interactions à haute résolution ont mis en évidence les domaines topologiques ou physiques. Ceux-ci sont très bien démarqués par des régions barrières et coïncident assez bien avec les couleurs épigénétiques. Ils sont représentés sous forme de triangles (voir explication en B). Un autre niveau d’organisation s’ajoute avec des interactions préférentielles entre les domaines de même couleur, indiquées par des flèches. Ces différents niveaux d’organisation du génome pourraient permettre son repliement fonctionnel en territoires chromosomiques au sein des noyaux cellulaires. (B) Les fréquences d’interactions normalisées sont obtenues entre différentes portions du génome ou “*bins*”, visualisés par des carrés. Elles sont représentées sur des cartes ou matrices d’interactions selon une échelle de fréquence (ici l’échelle de gris va des plus fortes fréquences d’interactions en noir aux plus faibles en blanc). Les coordonnées génomiques se trouvent sur la diagonale dessinée en blanc. Après une rotation de 45° de ces matrices, les coordonnées génomiques redeviennent linéaires et les domaines topologiques apparaissent sous forme de triangles. Deux domaines fictifs D1 et D2 sont représentés séparés par une région barrière B.

propriété pourrait permettre le repliement fonctionnel du génome en territoires chromosomiques (figure 4A).

Le fait de voir apparaître aussi clairement les domaines topologiques dans divers organismes avec des propriétés conservées indique qu'ils représentent un tout nouveau principe d'organisation des génomes.

Conclusion

Notre vision du génome est en train de subir une véritable métamorphose, bien sûr grâce au séquençage en masse, mais également grâce aux études faites sur son repliement dans l'espace 3D des noyaux. Ainsi, les cartes d'interaction très détaillées ont permis de montrer le partitionnement du génome en domaines physiques ou topologiques. Séparés par des régions frontières, ces domaines reflètent différents états épigénétiques de la chromatine, avec des zones activement exprimées et des zones inactives. Les preuves expérimentales de la fonctionnalité de cette organisation en domaines semblent déjà émerger (Hou *et al.*, 2012; Nora *et al.*, 2012). De plus, des réseaux d'interactions inter-domaines et inter-frontières existent également (Hou *et al.*, 2012; Sexton *et al.*, 2012). Dans un futur proche, la détermination de la nature et de la spécificité de ces interactions à longue distance devrait conduire à mieux appréhender leurs fonctions. Par ailleurs, les mécanismes moléculaires conduisant à la formation et/ou la stabilisation de ces interactions restent encore mal connus, et des efforts devront être fournis pour déterminer les facteurs responsables de ces repliements chromosomiques.

De nombreuses études suggèrent que des maladies causées par des réarrangements chromosomiques pourraient être la conséquence de rapprochement entre des régions génomiques particulières dans l'espace 3D des noyaux (Nikiforova *et al.*, 2000; Roix *et al.*, 2003; Branco & Pombo, 2006; Osborne *et al.*, 2007; Lin *et al.*, 2009). Par ailleurs, la cartographie de repliements génomiques à haute résolution peut permettre d'aller chercher des mutations dans d'autres endroits du génome pour expliquer la cause de certaines maladies (Li *et al.*, 2012). Ces travaux pionniers auront donc des implications directes dans la compréhension de nombreuses pathologies.

Références

- Bannister A.J., Kouzarides T., Regulation of chromatin by histone modifications. *Cell Research*, 2011, 21, 381–395.
- Bantignies F., Cavalli G., Polycomb group proteins: repression in 3D. *Trends Genet*, 2011, 27, 454–464.
- Bantignies F., Grimaud C., Lavrov S., Gabut M., Cavalli G., Inheritance of Polycomb-dependent chromosomal interactions in *Drosophila*. *Genes Dev*, 2003, 17, 2406–2420.
- Bantignies F., Roure V., Comet I., Leblanc B., Schuettengruber B., Bonnet J., Tixier V., Mas A., Cavalli G., Polycomb-dependent regulatory contacts between distant Hox loci in *Drosophila*. *Cell*, 2011, 144, 214–226.
- Beisel C., Paro R., Silencing chromatin: comparing modes and mechanisms. *Nat Rev Genet*, 2011, 12, 123–135.
- Branco M.R., Pombo A., Intermingling of chromosome territories in interphase suggests role in translocations and transcription-dependent associations. *PLoS Biology*, 2006, 4, e138.
- Buchenau P., Hodgson J., Strutt H., Arndt-Jovin D.J., The distribution of polycomb-group proteins during cell division and development in *Drosophila* embryos: impact on models for silencing. *J Cell Biol*, 1998, 141, 469–481.
- Cheutin T., Bantignies F., Leblanc B., Cavalli G., Chromatin folding: from linear chromosomes to the 4D nucleus. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol*, 2010, 75, 461–473.
- Choi D., Goo H.G., Yoo J., Kang S., Identification of RNF2-responding loci in long-range chromatin interactions using the novel 4C-ChIP-Cloning technology. *J Biotechnol*, 2011, 151, 312–318.
- Classen A.K., Bunker B.D., Harvey K.F., Vaccari T., Bilder D., A tumor suppressor activity of *Drosophila* Polycomb genes mediated by JAK-STAT signaling. *Nat Genet*, 2009, 41, 1150–1155.
- Deal R.B., Henikoff J.G., Henikoff S., Genome-wide kinetics of nucleosome turnover determined by metabolic labeling of histones. *Science*, 2010, 328, 1161–1164.
- Dekker J., Rippe K., Dekker M., Kleckner N., Capturing chromosome conformation. *Science*, 2002, 295, 1306–1311.
- Dixon J.R., Selvaraj S., Yue F., Kim A., Li Y., Shen Y., Hu M., Liu J.S., Ren B., Topological domains in mammalian genomes identified by analysis of chromatin interactions. *Nature*, 2012, 485, 376–380.
- Duan Z., Andronescu M., Schutz K., McIlwain S., Kim Y.J., Lee C., Shendure J., Fields S., Blau C.A., Noble W.S., A three-dimensional model of the yeast genome. *Nature*, 2010, 465, 363–367.
- Enderle D., Beisel C., Stadler M.B., Gerstung M., Athri P., Paro R., Polycomb preferentially targets stalled promoters of coding and noncoding transcripts. *Genome Res*, 2011, 21, 216–226.
- Ernst J., Kheradpour P., Mikkelsen T.S., Shores N., Ward L.D., Epstein C.B., Zhang X., Wang L., Issner R., Coyne M., Ku M., Durham T., Kellis M., Bernstein B.E., Mapping and analysis of chromatin state dynamics in nine human cell types. *Nature*, 2011, 473, 43–49.

- Ferraiuolo M.A., Rousseau M., Miyamoto C., Shenker S., Wang X.Q., Nadler M., Blanchette M., Dostie J., The three-dimensional architecture of Hox cluster silencing. *Nucleic Acids Res*, 2010, 38, 7472–7484.
- Ficz G., Heintzmann R., Arndt-Jovin D.J., Polycomb group protein complexes exchange rapidly in living *Drosophila*. *Development*, 2005, 132, 3963–3976.
- Filion G.J., van Bommel J.G., Braunschweig U., Talhout W., Kind J., Ward L.D., Brugman W., de Castro I.J., Kerkhoven R.M., Bussemaker H.J., van Steensel B., Systematic protein location mapping reveals five principal chromatin types in *Drosophila* cells. *Cell*, 2010, 143, 212–224.
- Fullwood M.J., Liu M.H., Pan Y.F., Liu J., Xu H., Mohamed Y.B., Orlov Y.L., Velkov S., Ho A., Mei P.H., Chew E.G., Huang P.Y., Welboren W.J., Han Y., Ooi H.S., Ariyaratne P.N., Vega V.B., Luo Y., Tan P.Y., Choy P.Y., Wansa K.D., Zhao B., Lim K.S., Leow S.C., Yow J.S., Joseph R., Li H., Desai K.V., Thomsen J.S., Lee Y.K., Karuturi R.K., Hervé T., Bourque G., Stunnenberg H.G., Ruan X., Cacheux-Rataboul V., Sung W.K., Liu E.T., Wei C.L., Cheung E., Ruan Y., An oestrogen-receptor-alpha-bound human chromatin interactome. *Nature*, 2009, 462, 58–64.
- Grimaud C., Bantignies F., Pal-Bhadra M., Ghana P., Bhadra U., Cavalli G., RNAi components are required for nuclear clustering of Polycomb group response elements. *Cell*, 2006, 124, 957–971.
- Handoko L., Xu H., Li G., Ngan C.Y., Chew E., Schnapp M., Lee C.W., Ye C., Ping J.L., Mulawadi F., Wong E., Sheng J., Zhang Y., Poh T., Chan C.S., Kunarso G., Shahab A., Bourque G., Cacheux-Rataboul V., Sung W.K., Ruan Y., Wei C.L., CTCF-mediated functional chromatin interactome in pluripotent cells. *Nat Genet*, 2011, 43, 630–638.
- Hou C., Li L., Qin Z.S., Corces V.G., Gene density, transcription, and insulators contribute to the partition of the *Drosophila* genome into physical domains. *Molecular Cell*, 2012, 48, 471–484.
- Kharchenko P.V., Alekseyenko A.A., Schwartz Y.B., Minoda A., Riddle N.C., Ernst J., Sabo P.J., Larschan E., Gorchakov A.A., Gu T., Linder-Basso D., Plachetka A., Shanower G., Tolstorukov M.Y., Luquette L.J., Xi R., Jung Y.L., Park R.W., Bishop E.P., Canfield T.K., Sandstrom R., Thurman R.E., MacAlpine D.M., Stamatoyannopoulos J.A., Kellis M., Elgin S.C., Kuroda M.I., Pirrotta V., Karpen G.H., Park P.J., Comprehensive analysis of the chromatin landscape in *Drosophila melanogaster*. *Nature*, 2011, 471, 480–485.
- Ku M., Koche R.P., Rheinbay E., Mendenhall E.M., Endoh M., Mikkelsen T.S., Presser A., Nusbaum C., Xie X., Chi A.S., Adli M., Kasif S., Ptaszek L.M., Cowan C.A., Lander E.S., Koseki H., Bernstein B.E., Genomewide analysis of PRC1 and PRC2 occupancy identifies two classes of bivalent domains. *PLoS Genet*, 2008, 4, e1000242.
- Lanctot C., Cheutin T., Cremer M., Cavalli G., Cremer T., Dynamic genome architecture in the nuclear space: regulation of gene expression in three dimensions. *Nat Rev Genet*, 2007, 8, 104–115.
- Lanzuolo C., Roure V., Dekker J., Bantignies F., Orlando V., Polycomb response elements mediate the formation of chromosome higher-order structures in the bithorax complex. *Nat Cell Biol*, 2007, 9, 1167–1174.
- Lewis E.B., A gene complex controlling segmentation in *Drosophila*. *Nature*, 1978, 276, 565–570.
- Li G., Ruan X., Auerbach R.K., Sandhu K.S., Zheng M., Wang P., Poh H.M., Goh Y., Lim J., Zhang J., Sim H.S., Peh S.Q., Mulawadi F.H., Ong C.T., Orlov Y.L., Hong S., Zhang Z., Landt S., Raha D., Euskirchen G., Wei C.L., Ge W., Wang H., Davis C., Fisher-Aylor K.I., Mortazavi A., Gerstein M., Gingeras T., Wold B., Sun Y., Fullwood M.J., Cheung E., Liu E., Sung W.K., Snyder M., Ruan Y., Extensive promoter-centered chromatin interactions provide a topological basis for transcription regulation. *Cell*, 2012, 148, 84–98.
- Lieberman-Aiden E., van Berkum N.L., Williams L., Imakaev M., Ragozcy T., Telling A., Amit I., Lajoie B.R., Sabo P.J., Dorschner M.O., Sandstrom R., Bernstein B., Bender M.A., Groudine M., Gnirke A., Stamatoyannopoulos J., Mirny L.A., Lander E.S., Dekker J., Comprehensive mapping of long-range interactions reveals folding principles of the human genome. *Science*, 2009, 326, 289–293.
- Lin C., Yang L., Tanasa B., Hutt K., Ju B.G., Ohgi K., Zhang J., Rose D.W., Fu X.D., Glass C.K., Rosenfeld M.G., Nuclear receptor-induced chromosomal proximity and DNA breaks underlie specific translocations in cancer. *Cell*, 2009, 139, 1069–1083.
- Liu T., Rechtsteiner A., Egelhofer T.A., Vielle A., Latorre I., Cheung M.S., Ercan S., Ikegami K., Jensen M., Kolasinska-Zwierz P., Rosenbaum H., Shin H., Taing S., Takasaki T., Iniguez A.L., Desai A., Dernburg A.F., Kimura H., Lieb J.D., Ahringer J., Strome S., Liu X.S., Broad chromosomal domains of histone modification patterns in *C. elegans*. *Genome Res*, 2011, 21, 227–236.
- Lynch M.D., Smith A.J., De Gobbi M., Flenley M., Hughes JR., Vernimmen D., Ayyub H., Sharpe J.A., Sloane-Stanley J.A., Sutherland L., Meek S., Burdon T., Gibbons R.J., Garrick D., Higgs D.R., An interspecies analysis reveals a key role for unmethylated CpG dinucleotides in vertebrate Polycomb complex recruitment. *Embo J*, 2012, 31, 317–329.
- Martinez A.M., Schuettengruber B., Sakr S., Janic A., Gonzalez C., Cavalli G., Polyhomeotic has a tumor suppressor activity mediated by repression of Notch signaling. *Nat Genet*, 2009, 41, 1076–1082.
- Mendenhall E.M., Koche R.P., Truong T., Zhou V.W., Issac B., Chi A.S., Ku M., Bernstein B.E., GC-rich sequence elements recruit PRC2 in mammalian ES cells. *PLoS Genetics*, 2010, 6, e1001244.

- Mills A.A., Throwing the cancer switch: reciprocal roles of polycomb and trithorax proteins. *Nat Rev Cancer*, 2010, 10, 669–682.
- Mito Y., Henikoff J.G., Henikoff S., Histone replacement marks the boundaries of cis-regulatory domains. *Science*, 2007, 315, 1408–1411.
- Naumova N., Dekker J., Integrating one-dimensional and three-dimensional maps of genomes. *J Cell Sci*, 2010, 123, 1979–1988.
- Nègre N., Brown C.D., Ma L., Bristow C.A., Miller S.W., Wagner U., Kheradpour P., Eaton M.L., Loriaux P., Sealfon R., Li Z., Ishii H., Spokony R.F., Chen J., Hwang L., Cheng C., Auburn R.P., Davis M.B., Domanus M., Shah P.K., Morrison C.A., Zieba J., Suchy S., Senderowicz L., Victorsen A., Bild N.A., Grundstad A.J., Hanley D., MacAlpine D.M., Mannervik M., Venken K., Bellen H., White R., Gerstein M., Russell S., Grossman R.L., Ren B., Posakony J.W., Kellis M., White K.P., A cis-regulatory map of the *Drosophila* genome. *Nature*, 2011, 471, 527–531.
- Ng J., Hart C.M., Morgan K., Simon J.A., A *Drosophila* ESC-E(Z) protein complex is distinct from other polycomb group complexes and contains covalently modified ESC. *Mol Cell Biol*, 2000, 20, 3069–3078.
- Nikiforova M.N., Stringer J.R., Blough R., Medvedovic M., Fagin J.A., Nikiforov Y.E., Proximity of chromosomal loci that participate in radiation-induced rearrangements in human cells. *Science*, 2000, 290, 138–141.
- Noordermeer D., Leleu M., Splinter E., Rougemont J., De Laat W., Duboule D., The dynamic architecture of Hox gene clusters. *Science*, 2011, 334, 222–225.
- Nora E.P., Lajoie B.R., Schulz E.G., Giorgetti L., Okamoto I., Servant N., Piolot T., van Berkum N.L., Meisig J., Sedat J., Gribnau J., Barillot E., Bluthgen N., Dekker J., Heard E., Spatial partitioning of the regulatory landscape of the X-inactivation centre. *Nature*, 2012, 485, 381–385.
- Osborne C.S., Chakalova L., Mitchell J.A., Horton A., Wood A.L., Bolland D.J., Corcoran A.E., Fraser P., Myc dynamically and preferentially relocates to a transcription factory occupied by Igh. *PLoS Biology*, 2007, 5, e192.
- Pasini D., Bracken A.P., Agger K., Christensen J., Hansen K., Cloos P.A., Helin K., Regulation of stem cell differentiation by histone methyltransferases and demethylases. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol*, 2008, 73, 253–263.
- Ringrose L., Polycomb comes of age: genome-wide profiling of target sites. *Curr Opin Cell Biol*, 2007, 19, 290–297.
- Rodley C.D., Bertels F., Jones B., O’Sullivan J.M., Global identification of yeast chromosome interactions using Genome conformation capture. *Fungal Genet Biol*, 2009, 46, 879–886.
- Roix J.J., McQueen P.G., Munson P.J., Parada L.A., Misteli T., Spatial proximity of translocation-prone gene loci in human lymphomas. *Nat Genet*, 2003, 34, 287–291.
- Roudier F., Ahmed I., Bérard C., Sarazin A., Mary-Huard T., Cortijo S., Bouyer D., Caillieux E., Duvernois-Berthet E., Al-Shikhley L., Giraut L., Després B., Drevensek S., Barnèche F., Derozier S., Brunaud V., Aubourg S., Schnittger A., Bowler C., Martin-Magniette M.L., Robin S., Caboche M., Colot V., Integrative epigenomic mapping defines four main chromatin states in *Arabidopsis*. *Embo J*, 2011, 30, 1928–1938.
- Roure V., Bantignies F., Polycomb group-mediated gene silencing mechanisms: stability versus flexibility. *Epigenomics*, 2009, 1, 301–318.
- Saurin A.J., Shiels C., Williamson J., Satijn D.P., Otte A.P., Sheer D., Freemont P.S. The human polycomb group complex associates with pericentromeric heterochromatin to form a novel nuclear domain. *J Cell Biol*, 1998, 142, 887–898.
- Schoenfelder S., Sexton T., Chakalova L., Cope N.F., Horton A., Andrews S., Kurukuti S., Mitchell J.A., Umlauf D., Dimitrova D.S., Eskiw C.H., Luo Y., Wei C.L., Ruan Y., Bieker J.J., Fraser P., Preferential associations between co-regulated genes reveal a transcriptional interactome in erythroid cells. *Nat Genet*, 2010, 42, 53–61.
- Schuettengruber B., Chourrout D., Vervoort M., Leblanc B., Cavalli G., Genome regulation by polycomb and trithorax proteins. *Cell*, 2007, 128, 735–745.
- Sexton T., Bantignies F., Cavalli G., Genomic interactions: chromatin loops and gene meeting points in transcriptional regulation. *Semin Cell Dev Biol*, 2009, 20, 849–855.
- Sexton T., Yaffe E., Kenigsberg E., Bantignies F., Leblanc B., Hoichman M., Parrinello H., Tanay A., Cavalli G., Three-dimensional folding and functional organization principles of the *Drosophila* genome. *Cell*, 2012, 148, 458–472.
- Shao Z., Raible F., Mollaaghababa R., Guyon J.R., Wu C.T., Bender W., Kingston R.E., Stabilization of chromatin structure by PRC1, a Polycomb complex. *Cell*, 1999, 98, 37–46.
- Shopland L.S., Lynch C.R., Peterson K.A., Thornton K., Kepper N., Hase J., Stein S., Vincent S., Molloy K.R., Kreth G., Cremer C., Bult C.J., O’Brien T.P., Folding and organization of a contiguous chromosome region according to the gene distribution pattern in primary genomic sequence. *J Cell Biol*, 2006, 174, 27–38.
- Stock J.K., Giadrossi S., Casanova M., Brookes E., Vidal M., Koseki H., Brockdorff N., Fisher A.G., Pombo A., Ring1-mediated ubiquitination of H2A restrains poised RNA polymerase II at bivalent genes in mouse ES cells. *Nat Cell Biol*, 2007, 9, 1428–1435.
- Tanizawa H., Iwasaki O., Tanaka A., Capizzi J.R., Wickramasinghe P., Lee M., Fu Z., Noma K., Mapping of long-range associations throughout the fission yeast

- genome reveals global genome organization linked to transcriptional regulation. *Nucleic Acids Res*, 2010, 38, 8164–8177.
- Tiwari V.K., Cope L., McGarvey K.M., Ohm J.E., Baylin S.B., A novel 6C assay uncovers Polycomb-mediated higher order chromatin conformations. *Genome Res*, 2008a, 18, 1171–1179.
- Tiwari V.K., McGarvey K.M., Licchesi J.D., Ohm J.E., Herman J.G., Schubeler D., Baylin S.B., PcG proteins, DNA methylation, and gene repression by chromatin looping. *PLoS Biol*, 2008b, 6, 2911–2927.
- Tolhuis B., Blom M., Kerkhoven R.M., Pagie L., Teunissen H., Nieuwland M., Simonis M., de Laat W., van Lohuizen M., van Steensel B., Interactions among Polycomb domains are guided by chromosome architecture. *PLoS Genet*, 2011, 7, e1001343.
- Vazquez J., Muller M., Pirrotta V., Sedat J.W., The Mcp element mediates stable long-range chromosome-chromosome interactions in *Drosophila*. *Mol Biol Cell*, 2006, 17, 2158–2165.
- Versteeg R., van Schaik B.D., van Batenburg M.F., Roos M., Monajemi R., Caron H., Bussemaker H.J., van Kampen A.H., The human transcriptome map reveals extremes in gene density, intron length, GC content, and repeat pattern for domains of highly and weakly expressed genes. *Genome Res*, 2003, 13, 1998–2004.
- Xu K., Wu Z.J., Groner A.C., He H.H., Cai C., Lis R.T., Wu X., Stack E.C., Loda M., Liu T., Xu H., Cato L., Thornton J.E., Gregory R.I., Morrissey C., Vessella R.L., Montironi R., Magi-Galluzzi C., Kantoff P.W., Balk S.P., Liu X.S, Brown M., EZH2 oncogenic activity in castration-resistant prostate cancer cells is Polycomb-independent. *Science*, 2012, 338, 1465–1469.