

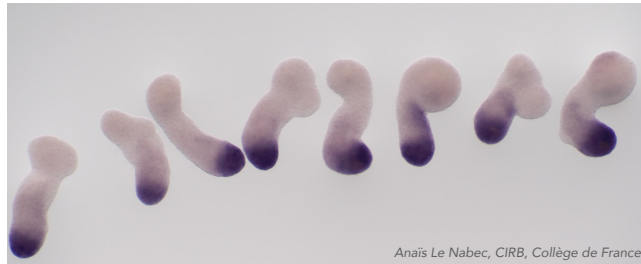


COLLÈGE DE FRANCE
—1530—

Collège de France; Chaire:
Evolution du Développement et des Génomes
Denis.Duboule@college-de-france.fr

Cours 2025: Régulation des Gènes du Développement: Les Séquences 'Enhancers'

Leçon 6, vendredi 28 mars 2025





Anais Le Nabec, CIRB, Collège de France

[@denisduboule](https://twitter.com/denisduboule).blsk.social

1

Denis Duboule/2025 Régulation des Gènes du Développement

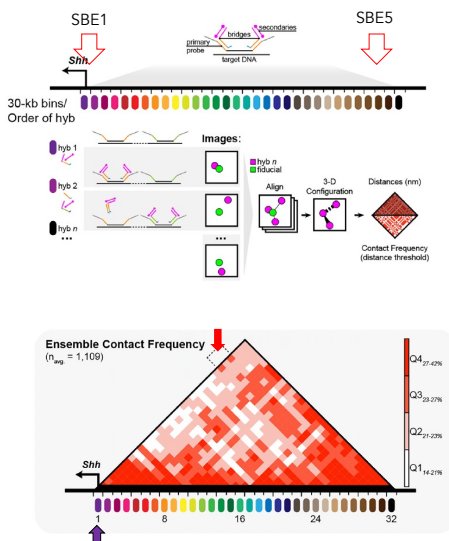
Article
Multiple allelic configurations govern long-range *Shh* enhancer-promoter communication in the embryonic forebrain

Jalynn Harke,^{1,2} Jeewon R. Lee,^{1,2} Son C. Nguyen,^{1,2} Arjan Arab,^{1,2} Staci M. Rakowicki,¹ Sewert Hugelier,² Christina Falaki,¹ Antonella Rizzuto,^{1,2} Rebecca Yunker,^{1,2} Kellen Xu,¹ Yao Yao,¹ Meike Lakadamyali,^{1,2} Guillaume Andrey,^{1,2} Douglas J. Epstein,^{1,2} and Eric F. Joyce^{1,2,3,4}

Analyse séquentielle en FISH et super-résolution en testant séparément des 'bins' de 30kb (couleurs...). Ils regardent les espaces occupés par les bins les unes après les autres...(dans la Zli)

La bin contenant le gène *Shh* ↑ co-occupe un espace avec deux bins distaux ↓ reflétant des interactions potentielles

Résolution des sous-structures possibles du locus



30-kb bins/ Order of hyb

Images: hyb 1, hyb 2, ..., hyb n

Align Configuration Distances (nm) Contact Frequency (distance thresholds)

Ensemble Contact Frequency (n_{bins} = 1,108)

Q4: 27.42%
Q3: 22.27%
Q2: 21.23%
Q1: 14.21%

2

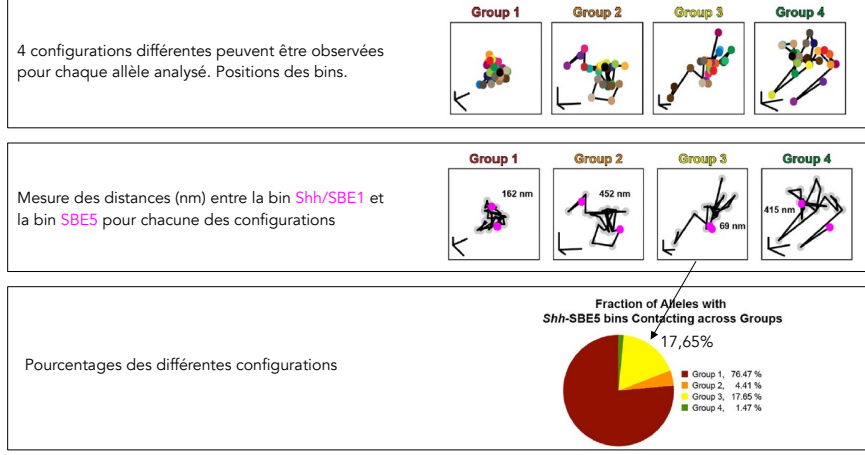


4 configurations alléliques possible avec des % différents de contacts entre SBE1 et SBE5

Article

Multiple allelic configurations govern long-range *Shh* enhancer-promoter communication in the embryonic forebrain

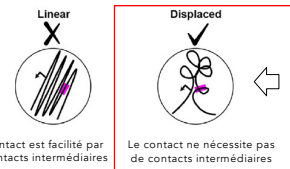
Jalynn Harke,^{1,2} Jeewon R. Lee,¹ Son C. Nguyen,^{1,2} Arian Arab,^{1,2} Staci M. Rakowski,¹ Sewert Hugelier,² Christina Palau,¹ Antonella Rivas,^{1,2} Rebecca Yunker,^{1,2} Kellen Xu,¹ Yao Yao,¹ Melike Lakadamyali,^{1,2} Guillaume Andrey,^{1,2} Douglas J. Epstein,^{1,2} and Eric F. Joyce^{1,2,3,4}



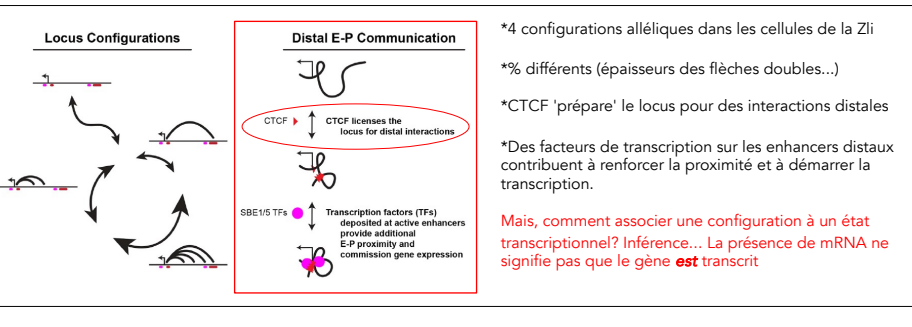
3



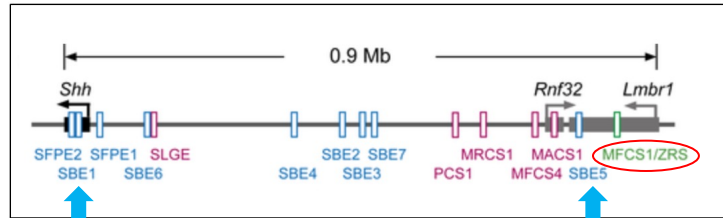
Les contacts SBE1/SBE5 'déplacent' les séquences intermédiaires plutôt que d'utiliser leurs contacts...



Conclusions et modèle



4



Dans ce cas, CTCF est nécessaire pour rapprocher l'enhancer **SBE5** du promoteur de *Shh/SBE1* par l'intermédiaire de la formation d'un squelette général de la chromatine à ce locus. Cette situation est très comparable à celle décrite dans le cas de la mutation *Acheiropodia* et la **ZRS** chez les humains (cours #5 de l'année 2020-2021).

5



Acheiropodia (*Cheiros, podos..*)

Genetics of *Acheiropodia* (the Handless and Footless Families of Brazil). VI. Formal Genetic Analysis

ADEMAR FREIRE-MAIA,¹ NEWTON FREIRE-MAIA,² NEWTON E. MORTON,³
ELIANE S. AZEVEDO,⁴ AND ANTONIO QUELCE-SALGADO⁵

Am J Hum Genet 27:521-527, 1975



*Une mutation récessive présente dans plusieurs familles brésiliennes avec des individus atteints suite à de la **consanguinité**

6

Am. J. Hum. Genet. 68:38–45, 2001

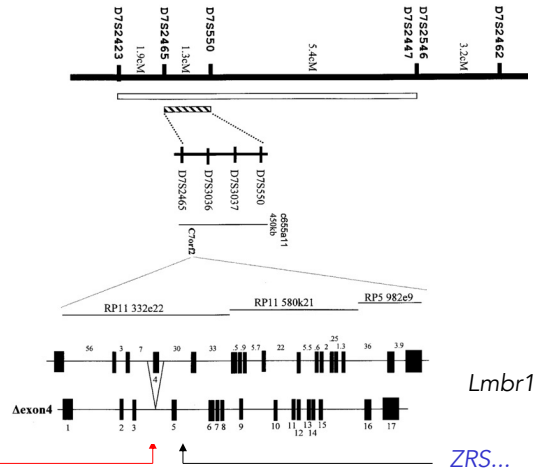
Acheiropodia Is Caused by a Genomic Deletion in *C7orf2*, the Human Orthologue of the *Lmbr1* Gene

C7orf2 = *Lmbr1*
(Humain) (souris)

P. Ianakiev,¹ M. J. van Baren,² M. J. Daly,³ S. P. A. Toledo,⁴ M. G. Cavalcanti,⁴ J. Correa Neto,³ E. Lemos Silveira,⁶ A. Freire-Maia,⁷ P. Heutink,² M. W. Kilpatrick,¹ and P. Tsipouras¹

*En 2001, la mutation est localisée au sein du gène humain *C7orf2*, le gène orthologue à *Lmbr1* chez la souris. Il s'agit d'une délétion de quelques Kb incluant l'exon No 4 de ce gène.

Mais...la délétion ne touche pas la ZRS... et pourtant le phénotype acheiropodia est une copie de celui induit par la mutation du gène *Shh* chez la souris!!



7

ARTICLE

<https://doi.org/10.1038/s41467-021-22470-z> OPEN



Deletion of CTCF sites in the *SHH* locus alters enhancer-promoter interactions and leads to acheiropodia

Aki Ushiki^{1,2}, Yichi Zhang^{1,3}, Chenling Xiong^{1,2}, Jingjing Zhao^{1,2}, Ilias Georgakopoulos-Soares^{1,2}, Lauren Kane⁴, Kirsty Jamieson⁷, Michael J. Bamshad^{5,6,7}, Deborah A. Nickerson⁵, University of Washington Center for Mendelian Genomics¹, Yin Shen^{2,8}, Laura A. Lettice⁴, Elizabeth Lemos Silveira-Lucas⁹, Florence Pettit¹⁰ & Nadav Ahituv^{1,2,9}

NATURE COMMUNICATIONS | <https://doi.org/10.1038/s41467-021-22470-z> avril 2021

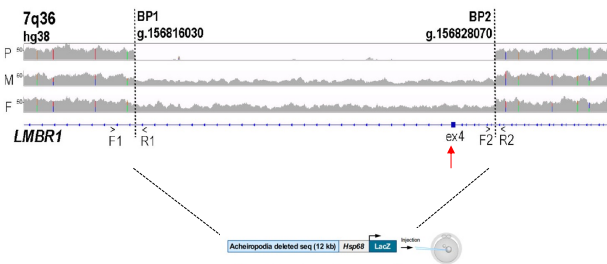
Acheiropodia délétion dans le gène *Lmbr1*

*ADN d'une famille brésilienne différente. avec plusieurs liens consanguins.

*Une délétion de 12 kb est identifiée, contenant l'exon 4 de *Lmbr1* et insertion de 2 nucléotides

*L'inactivation de *Lmbr1* ne donne pas de phénotype dans les membres...

*Les 12 kb perdus ne contiennent pas d'activité enhancer dans les membres..



Un transgène chez la souris ne révèle aucune activité de régulation dans les membres (donc pas de délétion d'une séquence régulatrice)

8

ARTICLE

https://doi.org/10.1038/s41467-021-22470-z OPEN



Deletion of CTCF sites in the SHH locus alters enhancer-promoter interactions and leads to acheiropodia

Aki Ushiki^{1,2}, Yichi Zhang^{1,2,3}, Chenling Xiong^{2,3}, Jingjing Zhao^{2,3}, Ilas Georgakopoulos-Soares^{1,2}, Lauren Kameg¹, Kinty Jameson¹, Michael J. Bamshad^{1,2}, Deborah A. Nickerson^{1,2}, University of Washington Center for Mendelian Genomics¹, Yin Shen^{1,2}, Laura A. Lettice^{1,4}, Elizabeth Lemos-Silveira-Lucas¹, Florence Petit^{1,2} & Nadav Ahitov^{1,2,5} [✉]

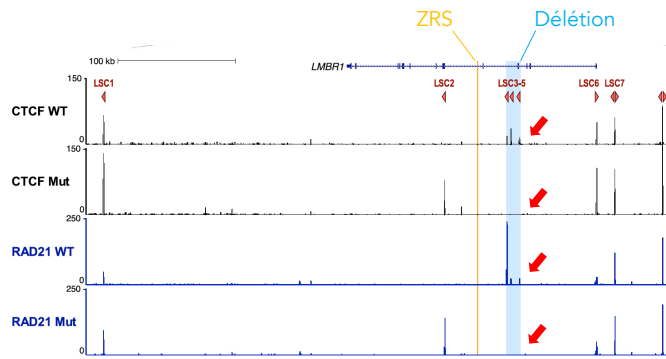
NATURE COMMUNICATIONS | https://doi.org/10.1038/s41467-021-22470-z

*Profils des sites CTCF occupés et de l'enrichissement de RAD21 (sous-unité du complexe de la cohésine)

LSC1-7: Lmbr1-Shh CTCF sites

*La délétion enlève trois sites de liaison à CTCF, sites qui par ailleurs accumulent de la protéine RAD21 (cohésine).

*Hypothèse: les sites CTCF enlevés dans la délétion sont nécessaires pour établir le contact avec le gène cible Shh sans contenir eux-mêmes de l'information de régulation ('tethering element')



9

ARTICLE

https://doi.org/10.1038/s41467-021-22470-z OPEN

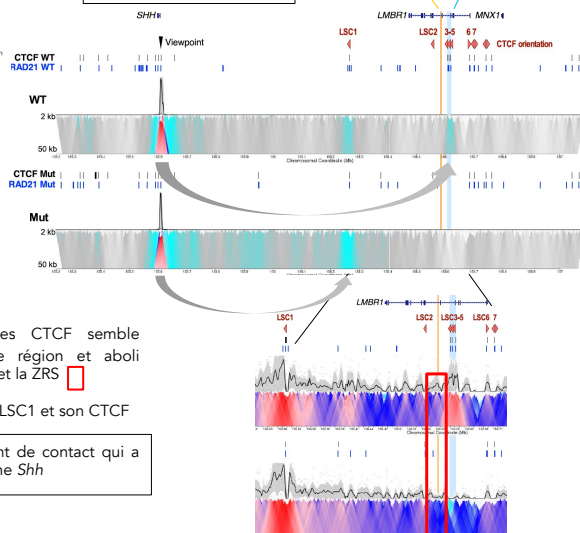


Deletion of CTCF sites in the SHH locus alters enhancer-promoter interactions and leads to acheiropodia

Aki Ushiki^{1,2}, Yichi Zhang^{1,2,3}, Chenling Xiong^{2,3}, Jingjing Zhao^{2,3}, Ilas Georgakopoulos-Soares^{1,2}, Lauren Kameg¹, Kinty Jameson¹, Michael J. Bamshad^{1,2}, Deborah A. Nickerson^{1,2}, University of Washington Center for Mendelian Genomics¹, Yin Shen^{1,2}, Laura A. Lettice^{1,4}, Elizabeth Lemos-Silveira-Lucas¹, Florence Petit^{1,2} & Nadav Ahitov^{1,2,5} [✉]

NATURE COMMUNICATIONS | https://doi.org/10.1038/s41467-021-22470-z

*Profils d'interactions par 4C avec Shh comme 'point de vue'



*Conclusion: La délétion de ces sites CTCF semble interrompre les interactions avec cette région et aboli également les contacts entre le gène Shh et la ZRS

*Les contacts sont redirigés vers la région LSC1 et son CTCF

*Il s'agit bien de la délétion d'un élément de contact qui a pour fonction de rapprocher la ZRS du gène Shh

10

ARTICLE

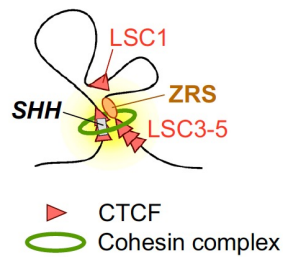
<https://doi.org/10.1038/s41467-021-22470-z> OPEN


Deletion of CTCF sites in the *SHH* locus alters enhancer-promoter interactions and leads to acheiropodia

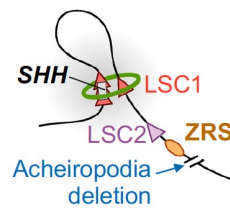
Aki Ushiki^{1,2}, Yichi Zhang^{1,2,3}, Chenling Xiong², Jingjing Zhao², Ilas Georgakopoulos-Soares^{1,2}, Lauren Kameg², Kirsty Jamieson², Michael J. Bamshad^{2,4}, Deborah A. Nickerson², University of Washington Center for Mendelian Genomics⁵, Yin Sheng^{1,2}, Laura A. Lettice¹, Elizabeth Lemos-Silvera-Lucas⁶, Florence Petit^{1,2} & Nadav Ahitov^{1,2*}

NATURE COMMUNICATIONS | <https://doi.org/10.1038/s41467-021-22470-z>

*Situation normale: La région LSC3-5 et ses trois sites CTCF rapprochent la ZRS du promoteur *Shh*. La région LSC1 est également contactée



*Chez les patients, l'absence de la région LSC3-5 et ses trois sites CTCF dérive les contacts vers la région LSC1 et la ZRS est donc laissée de côté..



11

Il s'agit là d'une des façons de faire ce rapprochement dans l'espace et d'autres mécanismes/molécules ont été proposés depuis.

*Dans d'autres situations, il semble que des protéines soit se liant, soit ne se liant pas à l'ADN, peuvent rapprocher des séquences de régulation de leurs promoteurs cibles.

Deux exemples récents:

1) Une séquence ADN indépendante de CTCF qui aide à faire des loops à très longue distance.

2) Une protéine ne se liant pas à l'ADN (LDB1) qui pourtant peut induire des boucles enhancers-promoteurs.

12



2) Une séquence ADN indépendante de CTCF (REX) qui aide à faire des loops à très longue distance.

► bioRxiv [Preprint]. 2024 May 26;2024.05.26.595809. [Version 1] doi: [10.1101/2024.05.26.595809](https://doi.org/10.1101/2024.05.26.595809)

Conserved *Cis*-Acting Range Extender Element Mediates Extreme Long-Range Enhancer Activity in Mammals

Grace Bower¹, Ethan W Hollingsworth^{1,2}, Sandra Jacinto¹, Benjamin Clock¹, Kaitlyn Cao¹, Mandy Liu¹, Adam Dziulko³, Ana Alcajina-Caro⁴, Qianlan Xu⁵, Dorota Skowronska-Krawczyk⁵, Javier Lopez-Rios⁴, Diane E Dickel^{3,7}, Anaïs F Bardet⁶, Len A Pennacchio^{3,7,8}, Axel Visel^{3,7,8}, Evgeny Z Kvon^{1,*}

Est-ce que tout les enhancers peuvent travailler à longue distance? Est-ce là une caractéristique ontologique de ces séquences?

*Analyse par échanges d'enhancers...

13



► bioRxiv [Preprint]. 2024 May 26;2024.05.26.595809. [Version 1] doi: [10.1101/2024.05.26.595809](https://doi.org/10.1101/2024.05.26.595809)

Conserved *Cis*-Acting Range Extender Element Mediates Extreme Long-Range Enhancer Activity in Mammals

Grace Bower¹, Ethan W Hollingsworth^{1,2}, Sandra Jacinto¹, Benjamin Clock¹, Kaitlyn Cao¹, Mandy Liu¹, Adam Dziulko³, Ana Alcajina-Caro⁴, Qianlan Xu⁵, Dorota Skowronska-Krawczyk⁵, Javier Lopez-Rios⁴, Diane E Dickel^{3,7}, Anaïs F Bardet⁶, Len A Pennacchio^{3,7,8}, Axel Visel^{3,7,8}, Evgeny Z Kvon^{1,*}

Est-ce que tout les enhancers peuvent travailler à longue distance? Est-ce là une caractéristique ontologique de ces séquences?

*Analyse par échanges d'enhancers...

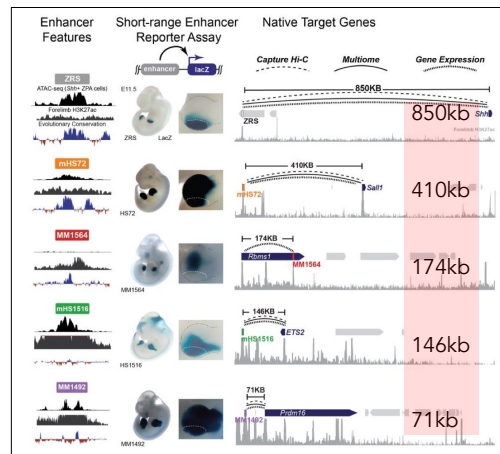
*5 enhancers différents fonctionnant dans le bourgeon de membre, affectés à la régulation de 5 gènes différents.

*Ces enhancers sont tous isolés par leurs caractéristiques épigénétiques (ATAC, H3K27ac...).

*Ces enhancers sont localisés à des distances différentes de leurs gènes cibles, avec un facteur de 1 à 10.

*Ces enhancers fonctionnent au bon endroit en transgenèse 'classique'.

*Les courbes indiquent des contacts détectés par par des approches 'C'.



14

bioRxiv [Preprint]. 2024 May 26;2024.05.26.595809. [Version 1] doi: [10.1101/2024.05.26.595809](https://doi.org/10.1101/2024.05.26.595809)

Conserved *Cis*-Acting Range Extender Element Mediates Extreme Long-Range Enhancer Activity in Mammals

Grace Bower¹, Ethan W Hollingsworth^{1,2}, Sandra Jacinto³, Benjamin Clock⁴, Kaitlyn Cao¹, Mandy Liu¹, Adam Dziulko⁵, Ana Alcaina-Coto⁴, Qianlan Xu⁵, Dorota Skowronska-Krawczyk⁵, Javier Lomez-Rios⁴, Diane E Dickel^{3,†}, Anaïs F Bardet⁶, Len A Pennacchia^{3,7,8}, Axel Visel^{3,7,8}, Evgeniy Z Kwon^{1,†}

Est-ce que tout les enhancers peuvent travailler à longue distance? Est-ce là une caractéristique ontologique de ces séquences?

*Analyse par échanges d'enhancers...

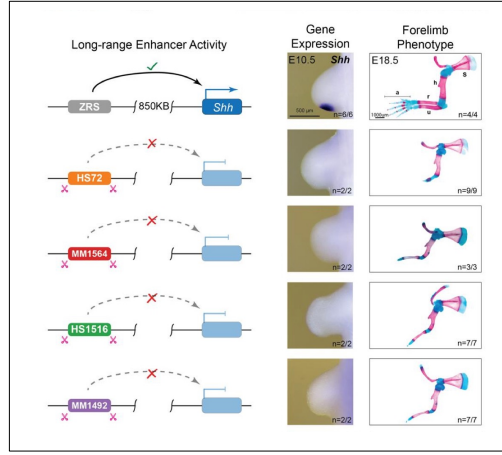
*Remplacement de la ZRS au locus *Shh* par chacun des 4 autres enhancers.

*Aucun de ces enhancers ne peut remplacer l'activité de la ZRS.

*S'en suivent des souris avec des phénotypes ressemblant à une achéiropodia (i.e., la délétion complète de la ZRS et l'absence de *Shh*).

*MAIS! Ces enhancers peuvent activer le gène *Shh* lorsqu'ils sont placés à proximité dans un transgène.

*DONC, pas d'effet de spécificité mais bien un effet de distance.



15

bioRxiv [Preprint]. 2024 May 26;2024.05.26.595809. [Version 1] doi: [10.1101/2024.05.26.595809](https://doi.org/10.1101/2024.05.26.595809)

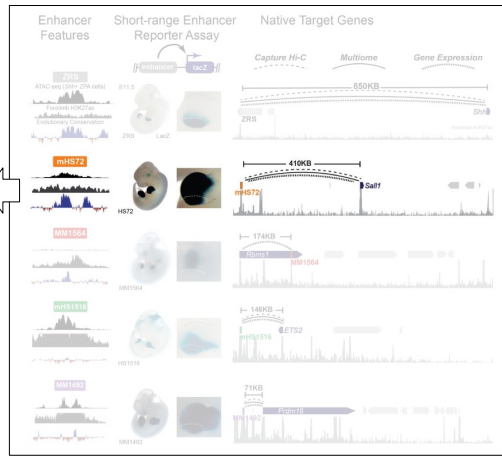
Conserved *Cis*-Acting Range Extender Element Mediates Extreme Long-Range Enhancer Activity in Mammals

Grace Bower¹, Ethan W Hollingsworth^{1,2}, Sandra Jacinto³, Benjamin Clock⁴, Kaitlyn Cao¹, Mandy Liu¹, Adam Dziulko⁵, Ana Alcaina-Coto⁴, Qianlan Xu⁵, Dorota Skowronska-Krawczyk⁵, Javier Lomez-Rios⁴, Diane E Dickel^{3,†}, Anaïs F Bardet⁶, Len A Pennacchia^{3,7,8}, Axel Visel^{3,7,8}, Evgeniy Z Kwon^{1,†}

Est-ce que tout les enhancers peuvent travailler à longue distance? Est-ce là une caractéristique ontologique de ces séquences?

*Comment cet enhancer peut fonctionner à 410kb et être inactif à 850kb, tout en pouvant réguler le gène *Shh* quand il est placé à proximité?

*Analyse fine de la conservation des séquences ADN à ce locus *Sall1*, autour de la séquence enhancer...



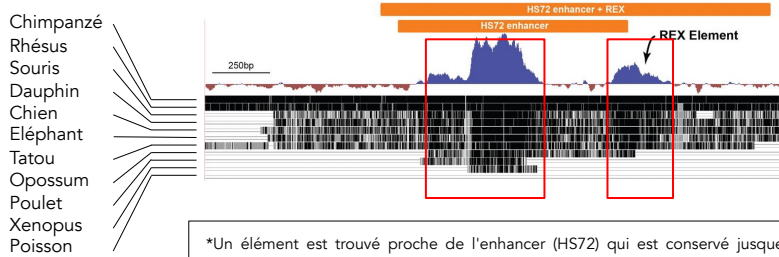
16

bioRxiv [Preprint]. 2024 May 26:2024.05.26.595809. [Version 1] doi: 10.1101/2024.05.26.595809

Conserved Cis-Acting Range Extender Element Mediates Extreme Long-Range Enhancer Activity in Mammals

Grace Bower¹, Ethan W Hollingsworth^{1,2}, Sandra Jacinto¹, Benjamin Clock¹, Kaitlyn Cao¹, Mandy Liu¹, Adam Dziulko³, Ana Alcaina-Coto⁴, Qianlan Xu⁵, Dorota Skowronska-Krawczyk⁵, Javier Lomez-Rios⁴, Diane E Dickel^{3,7}, Anaïs F Bardet⁶, Len A Pennacchio^{3,7,8}, Axel Visel^{3,7,8}, Evgeniy Z Kwon^{1,7}

Est-ce que tout les enhancers peuvent travailler à longue distance? Est-ce là une caractéristique ontologique de ces séquences?



*Un élément est trouvé proche de l'enhancer (HS72) qui est conservé jusque chez les marsupiaux (opossum). REX: 'Range EXtender' (qui peut étendre l'action d'un enhancer).

*Aussi présent chez les oiseaux et les batraciens mais pas chez les poissons...

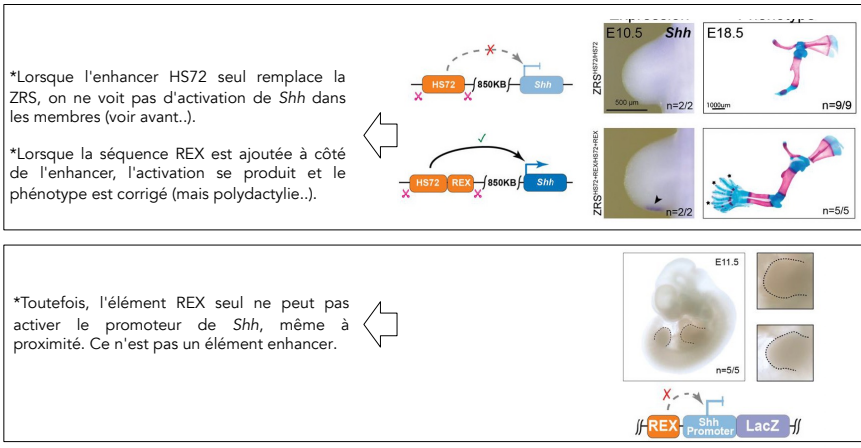
17

bioRxiv [Preprint]. 2024 May 26:2024.05.26.595809. [Version 1] doi: 10.1101/2024.05.26.595809

Conserved Cis-Acting Range Extender Element Mediates Extreme Long-Range Enhancer Activity in Mammals

Grace Bower¹, Ethan W Hollingsworth^{1,2}, Sandra Jacinto¹, Benjamin Clock¹, Kaitlyn Cao¹, Mandy Liu¹, Adam Dziulko³, Ana Alcaina-Coto⁴, Qianlan Xu⁵, Dorota Skowronska-Krawczyk⁵, Javier Lomez-Rios⁴, Diane E Dickel^{3,7}, Anaïs F Bardet⁶, Len A Pennacchio^{3,7,8}, Axel Visel^{3,7,8}, Evgeniy Z Kwon^{1,7}

Est-ce que tout les enhancers peuvent travailler à longue distance? Est-ce là une caractéristique ontologique de ces séquences?



18



bioRxiv [Preprint]. 2024 May 26;2024.05.26.595809. [Version 1] doi: 10.1101/2024.05.26.595809

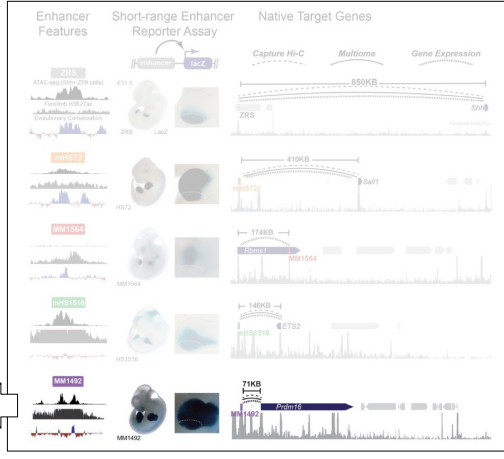
Conserved *Cis*-Acting Range Extender Element Mediates Extreme Long-Range Enhancer Activity in Mammals

Grace Bower¹, Ethan W Hollingsworth^{1,2}, Sandra Jacinto¹, Benjamin Clock¹, Kaitlyn Cao¹, Mandy Liu¹, Adam Dziulko³, Ana Alcaina-Coto⁴, Qianlan Xu⁵, Dorota Skowronska-Krawczyk⁵, Javier Lomez-Rios⁴, Diane E Dickel^{3,†}, Anaïs F Bardet⁶, Len A Pennacchia^{3,7,8}, Axel Visel^{3,7,8}, Evgeny Z Kwon^{1,†}

Est-ce que tout les enhancers peuvent travailler à longue distance? Est-ce là une caractéristique ontologique de ces séquences?

*Est-ce que la séquence REX est capable de rapprocher l'enhancer 1492 qui semble fonctionner à courte distance?

*Remplacement de la ZRS avec la séquence REX placée à côté



19



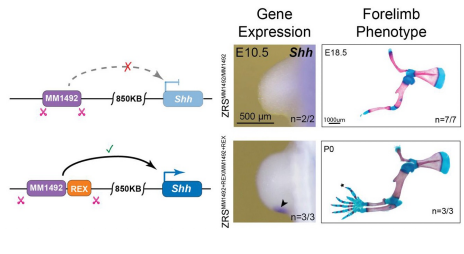
bioRxiv [Preprint]. 2024 May 26;2024.05.26.595809. [Version 1] doi: 10.1101/2024.05.26.595809

Conserved *Cis*-Acting Range Extender Element Mediates Extreme Long-Range Enhancer Activity in Mammals

Grace Bower¹, Ethan W Hollingsworth^{1,2}, Sandra Jacinto¹, Benjamin Clock¹, Kaitlyn Cao¹, Mandy Liu¹, Adam Dziulko³, Ana Alcaina-Coto⁴, Qianlan Xu⁵, Dorota Skowronska-Krawczyk⁵, Javier Lomez-Rios⁴, Diane E Dickel^{3,†}, Anaïs F Bardet⁶, Len A Pennacchia^{3,7,8}, Axel Visel^{3,7,8}, Evgeny Z Kwon^{1,†}

Est-ce que tout les enhancers peuvent travailler à longue distance? Est-ce là une caractéristique ontologique de ces séquences?

*Effectivement le rajout de la séquence REX à côté de l'enhancer 1492 permet à celui-ci d'agir sur le promoteur Shh, comme déduit des ARNs détectés et de la correction du phénotype (avec -encore- de la polydactylie..).



20

Il s'agit là d'une des façons de faire ce rapprochement dans l'espace et d'autres mécanismes/molécules ont été proposés depuis.

*Dans d'autres situations, il semble que des protéines soit se liant, soit ne se liant pas à l'ADN, peuvent rapprocher des séquences de régulation de leurs promoteurs cibles.

Deux exemples récents:

- 1) Une séquence ADN indépendante de CTCF qui aide à faire des loops à très longue distance.
- 2) Une protéine ne se liant pas à l'ADN (LDB1) qui pourtant peut induire des boucles enhancers-promoteurs.

21

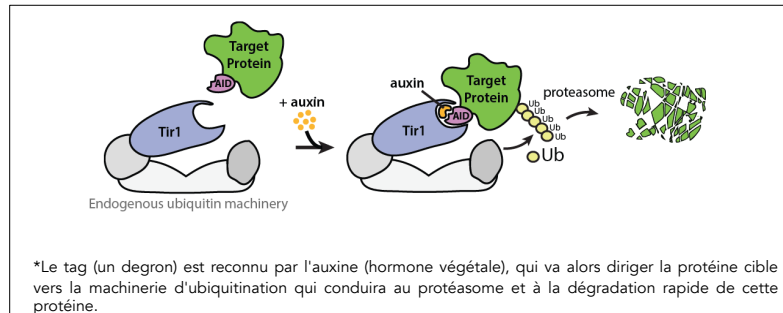
- 1) Une protéine ne se liant pas à l'ADN (LDB1) qui pourtant peut induire des boucles enhancers-promoteurs.

Il s'agit d'une protéine ne se liant PAS à l'ADN mais qui peut reconnaître les complexes protéiques liant les enhancers et se 'charger' du contact avec le promoteur. Exemple de la protéine LDB1 dans des cellules érythroïdes.

Les auteurs utilisent un système de dégradation rapide de protéines ciblées pour des études fonctionnelles –**minimal Auxin-Inducible Degron (AID)**.

22

Auxin-Inducible Degron (AID)



Elphège Nora, UCSF

23

CellPress

Molecular Cell

Article
**LDB1 establishes multi-enhancer networks
to regulate gene expression**

Nicholas G. Aborelen,^{1,2} Jessica C. Lam,^{1,2} Virral Y. Gole,^{3,4,5} Siqing Wang,¹ Xiaokang Wang,⁶ Susannah C. Mida,² Alma Quijano,^{1,2} Cheryl A. Keller,¹ Belinda M. Giardina,⁷ Ross C. Hardison,⁸ Haoyue Zhang,¹ Anders S. Hansen,^{2,4,5} and Geri A. Blobel^{1,2,5}

Molecular Cell 85, 376–393, January 16, 2025 © 2024 Elsevier Inc.

SUMMARY

How specific enhancer-promoter pairing is established remains mostly unclear. Besides the CTCF/cohesin machinery, few nuclear factors have been studied for a direct role in physically connecting regulatory elements. Using a murine erythroid cell model, we show via acute degradation experiments that LDB1 directly and broadly promotes connectivity among regulatory elements. Most LDB1-mediated contacts, even those spanning hundreds of kb, can form in the absence of CTCF, cohesin, or YY1 as determined using multiple degron systems. Moreover, an engineered LDB1-driven chromatin loop is cohesin independent. Cohesin-driven loop extrusion does not stall at LDB1-occupied sites but aids the formation of a subset of LDB1-anchored loops. Leveraging the dynamic reorganization of nuclear architecture during the transition from mitosis to G1 phase, we observe that loop formation and *de novo* LDB1 occupancy correlate and can occur independently of structural loops. Tri-C and Region Capture Micro-C reveal that LDB1 organizes multi-enhancer networks to activate transcription. These findings establish LDB1 as a driver of spatial connectivity.

Approches expérimentales par soustraction de protéines (CTCF, cohésine sub-units –SMC3–, LDB1....et analyses des effets par des approches 'classiques' (CaptureC, ChIP..) afin d'établir la présence ou l'absence de contacts (loops) et leurs relations avec la transcription. Cellules de la lignée sanguine (LDB1 est connue pour réguler la bêta-globine..)

24

Denis Duboule/2025 Régulation des Gènes du Développement

COLLÈGE DE FRANCE
—1530—

CellPress Molecular Cell

Article
LDB1 establishes multi-enhancer networks to regulate gene expression
Nicholas G. Aboreien,^{1,2} Jessica C. Lam,^{1,2} Viraal Y. Gool,^{3,4,5} Siqing Wang,⁶ Xiaokang Wang,⁷ Susannah C. Midla,⁸ Alma Quijano,⁹ Cheryl A. Ketter,¹⁰ Belinda M. Giardina,¹¹ Ross C. Hardison,¹² Haoyue Zhang,¹³ Anders S. Hansen,^{5,14} and Gerit A. Blobel^{1,5,*}
 Molecular Cell 85, 376–393, January 16, 2025 © 2024 Elsevier Inc.

Différents types de loops impliquant LDB1 et des séquences de régulations (CRE)-promoteurs

LDB1-dependent CRE loops

Independent of both CTCF and cohesin

Dependent on both CTCF and cohesin

Dependent on cohesin/Independent of CTCF

Highlights

- LDB1 promotes enhancer-enhancer and enhancer-promoter loops to activate transcription
- Cohesin-independent LDB1 contacts can span large genomic distances
- Cohesin-driven loop extrusion promotes a minority of LDB1-controlled interactions
- Cell-cycle dynamics reveal LDB1's role in *de novo* loop formation

25

Denis Duboule/2025 Régulation des Gènes du Développement

COLLÈGE DE FRANCE
—1530—

**Pathologies/syndromes associés aux enhancers
'Enhanceropathies'**

Un domaine d'études en pleine expansion. Il s'agit de maladies et de syndromes génétiques dans lesquels les régulations de certains gènes sont atteintes, plutôt que les gènes eux-mêmes (certaines thalassémies).

Rôle(s) émergent(s) des éléments transposables

Egalement un domaine d'études en pleine expansion qui touche aux fonctions de régulations des transposons mais également à l'évolution de ces régulations.

26

Pathologies/syndromes associés aux enhancers
'Enhanceropathies'

Situations multiples et très différentes

*Mutations dans des protéines qui lient les enhancers et qui les font fonctionner (par ex. syndromes de Kabuki (MLL4 or UTX) ou de Rubinstein-Taybi (CBP, p300).

*Mutations dans la séquence des enhancers eux-mêmes (ex. la séquence ZRS du gène Shh, association de polymorphismes dans plusieurs pathologies).

*Délétion d'une séquence enhancer (par exemple un enhancer des gènes humains Dlx5 et Dlx6).

*Remaniement chromosomique conduisant au mauvais usage (réallocation) d'une séquence enhancer (exemple du TAD EPHA4).

27

Pathologies/syndromes associés aux enhancers
'Enhanceropathies'

Situations multiples et très différentes

*Mutations dans des protéines qui lient les enhancers et qui les font fonctionner (par ex. syndromes de Kabuki (MLL4 or UTX) ou de Rubinstein-Taybi (CBP, p300).

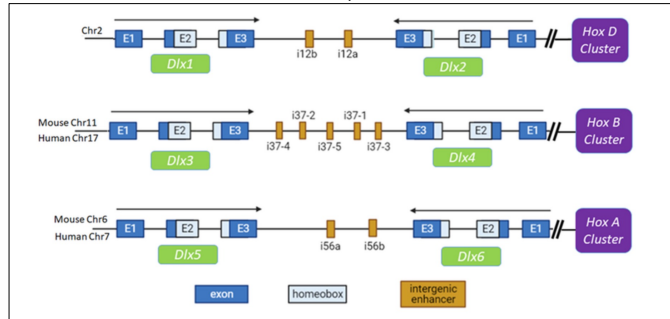
*Mutations dans la séquence des enhancers eux-mêmes (ex. la séquence ZRS du gène Shh, association de polymorphismes dans plusieurs pathologies).

*Délétion d'une séquence enhancer (par exemple un enhancer des gènes humains Dlx5 et Dlx6).

*Remaniement chromosomique conduisant au mauvais usage (réallocation) d'une séquence enhancer (exemple du TAD EPHA4).

28

Pathologies/syndromes associés aux enhancers
'Enhanceropathies'



***Délétion d'une séquence enhancer** (par exemple un enhancer des gènes humains *Dlx5* et *Dlx6*).

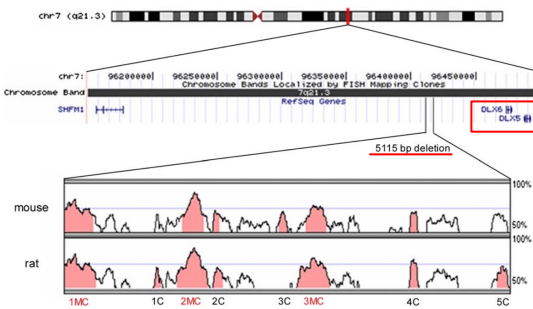
29

Hum Genet (2010) 127:19–31
DOI 10.1007/s00439-009-0736-4
Délétion d'une séquence enhancer (les gènes *Dlx5-6*)

ORIGINAL INVESTIGATION

Deletion of an enhancer near *DLX5* and *DLX6* in a family with hearing loss, craniofacial defects, and an inv(7)(q21.3q35)

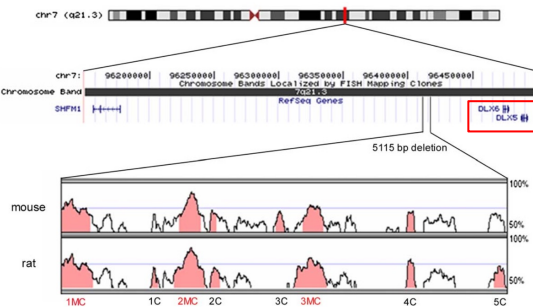
Kerry K. Brown · Jacob A. Reiss · Kate Crow · Heather L. Ferguson · Chantal Kelly · Bernd Fritsch · Cynthia C. Morton



30

Hum Genet (2010) 127:19–31
DOI 10.1007/s00439-009-0736-4Délétion d'une séquence enhancer (les gènes *Dlx5-6*)

ORIGINAL INVESTIGATION

Deletion of an enhancer near *DLX5* and *DLX6* in a family with hearing loss, craniofacial defects, and an inv(7)(q21.3q35)Kerry K. Brown · Jacob A. Reiss · Kate Crow ·
Heather L. Ferguson · Chantal Kelly · Bernd Fritsch ·
Cynthia C. Morton

High resolution mapping of the inversion showed that the 7q21.3 breakpoint is located 65 and 80 kb centromeric of *DLX6* and *DLX5*, respectively. Further analysis revealed a 5,115 bp deletion at the 7q21.3 breakpoint. While the breakpoint does not disrupt either *DLX5* or *DLX6*, the syndrome present in the family is similar to that observed in *Dlx5* knockout mice and includes a subset of the features observed in individuals with *DLX5* and *DLX6* deletions, implicating dysregulation of *DLX5* and *DLX6* in the family's phenotype.

Hypothèse: Dérégulation des gènes *Dlx5* et *Dlx6* pendant le développement de la face et du système auditif suite à l'absence d'un enhancer.

31

Pathologies/syndromes associés aux enhancers
'Enhanceropathies'

Situations multiples et très différentes

*Mutations dans des protéines qui lient les enhancers et qui les font fonctionner (par ex. syndromes de Kabuki (*MLL4* or *UTX*) ou de Rubinstein-Taybi (*CBP*, *p300*).

*Mutations dans la séquence des enhancers eux-mêmes (ex. la séquence ZRS du gène *Shh*, association de polymorphismes dans plusieurs pathologies).

*Délétion d'une séquence enhancer (par exemple un enhancer des gènes humains *Dlx5* et *Dlx6*).

*Remaniement chromosomique conduisant au mauvais usage (réallocation) d'une séquence enhancer (exemple du TAD *EPHA4*).

32



Remaniements chromosomiques

**Disruptions of Topological Chromatin Domains
Cause Pathogenic Rewiring
of Gene-Enhancer Interactions**

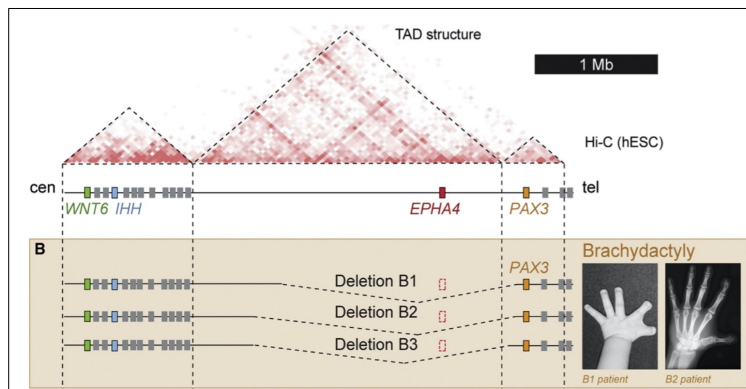
Cell

Dario G. Lupiáñez,^{1,2} Katerina Kraft,^{1,2} Verena Heinrich,² Peter Krawitz,^{1,2} Francesco Brancati,³ Eva Klopocki,⁴ Denise Horn,⁵ Hülya Kayserli,⁶ John M. Opliz,⁷ Renata Laxova,⁸ Fernando Santos-Simarro,⁹ Brigitte Gilbert-Dussardier,¹⁰ Lars Wittler,¹¹ Marina Borschliwer,¹² Stefan A. Haas,¹¹ Marco Osterwalder,¹² Martin Franke,^{1,2} Bernd Timmermann,¹³ Jochen Hecht,^{1,14} Malte Spielmann,^{1,2,14} Axel Visel,^{15,16,18} and Stefan Mundlos^{1,2,14,*}

Cell 161, 1012–1025, May 21, 2015 ©2015

Patients brachydactyles (avec les doigts courts) qui présentent des délétions au locus *EPHA4*

EPHA4: Récepteur 4 des ephrins de type A (RTKinase). Guidage axonal, migration cellulaire..



33



Remaniements chromosomiques

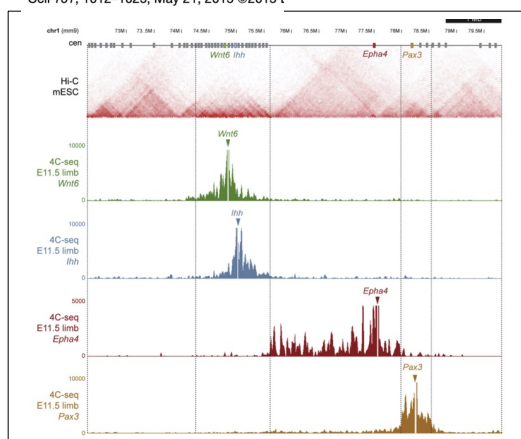
**Disruptions of Topological Chromatin Domains
Cause Pathogenic Rewiring
of Gene-Enhancer Interactions**

Cell

Dario G. Lupiáñez,^{1,2} Katerina Kraft,^{1,2} Verena Heinrich,² Peter Krawitz,^{1,2} Francesco Brancati,³ Eva Klopocki,⁴ Denise Horn,⁵ Hülya Kayserli,⁶ John M. Opliz,⁷ Renata Laxova,⁸ Fernando Santos-Simarro,⁹ Brigitte Gilbert-Dussardier,¹⁰ Lars Wittler,¹¹ Marina Borschliwer,¹² Stefan A. Haas,¹¹ Marco Osterwalder,¹² Martin Franke,^{1,2} Bernd Timmermann,¹³ Jochen Hecht,^{1,14} Malte Spielmann,^{1,2,14} Axel Visel,^{15,16,18} and Stefan Mundlos^{1,2,14,*}

Cell 161, 1012–1025, May 21, 2015 ©2015

Patients brachydactyles (avec les doigts courts) qui présentent des délétions au locus *EPHA4*



Les paysages de régulations des gènes *EPHA4* et *Pax3* sont clairement séparés (TADs différents) et ne présentent pas de régulations communes

34



Remaniements chromosomiques

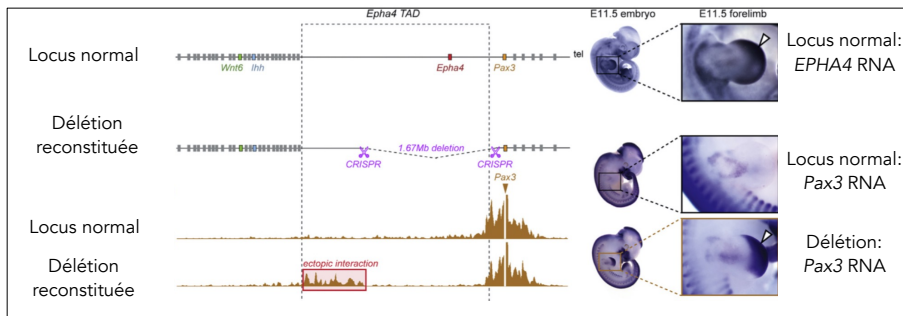
**Disruptions of Topological Chromatin Domains
Cause Pathogenic Rewiring
of Gene-Enhancer Interactions**

Cell

 Patients brachydactyles (avec les
doigts courts) qui présentent des
déletions au locus *EPHA4*

Dario G. Lupiáñez,^{1,2} Katerina Kraft,^{1,2} Verena Heinrich,² Peter Krawitz,^{1,2} Francesco Brancati,³ Eva Klopocki,⁴
Denise Horn,⁵ Hülya Kayserli,⁵ John M. Opitz,⁶ Renata Laxova,⁶ Fernando Santos-Simarro,⁷
Brigitte Gilbert-Dussardier,⁸ Lars Wittler,¹ Marina Borschiwer,¹ Stefan A. Haas,¹¹ Marco Osterwalder,¹² Martin Franke,^{1,2}
Bernd Timmermann,^{1,2} Jochen Hecht,^{1,14} Malte Spielmann,^{1,2,14} Axel Visel,^{10,15,16} and Stefan Mundlos^{1,2,14,*}

Cell 161, 1012–1025, May 21, 2015 ©2015



Conclusion: La délétion 'casse' les TADs et rapproche le gène *Pax3* des séquences enhancers du gène *EPHA4*. Dès lors, le gène *Pax3* est transcrit de façon ectopique pendant le développement des doigts, conduisant à une brachydactylie.. (enhancer hijacking..)



35



Remaniements chromosomiques

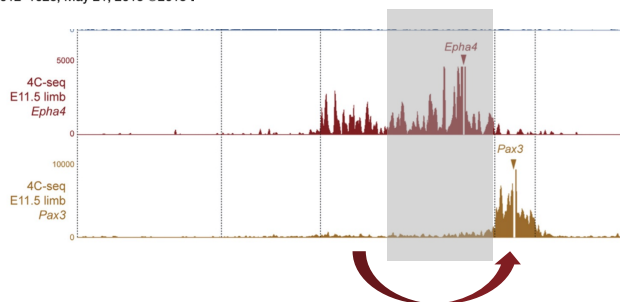
**Disruptions of Topological Chromatin Domains
Cause Pathogenic Rewiring
of Gene-Enhancer Interactions**

Cell

 Patients brachydactyles (avec les
doigts courts) qui présentent des
déletions au locus *EPHA4*

Dario G. Lupiáñez,^{1,2} Katerina Kraft,^{1,2} Verena Heinrich,² Peter Krawitz,^{1,2} Francesco Brancati,³ Eva Klopocki,⁴
Denise Horn,⁵ Hülya Kayserli,⁵ John M. Opitz,⁶ Renata Laxova,⁶ Fernando Santos-Simarro,⁷
Brigitte Gilbert-Dussardier,⁸ Lars Wittler,¹ Marina Borschiwer,¹ Stefan A. Haas,¹¹ Marco Osterwalder,¹² Martin Franke,^{1,2}
Bernd Timmermann,^{1,2} Jochen Hecht,^{1,14} Malte Spielmann,^{1,2,14} Axel Visel,^{10,15,16} and Stefan Mundlos^{1,2,14,*}

Cell 161, 1012–1025, May 21, 2015 ©2015



Conclusion: La délétion 'casse' les TADs et rapproche le gène *Pax3* des séquences enhancers du gène *EPHA4*. Dès lors, le gène *Pax3* est transcrit de façon ectopique pendant le développement des doigts, conduisant à une brachydactylie.. (enhancer hijacking..)



36

Pathologies/syndromes associés aux enhancers 'Enhanceropathies'

Un domaine d'études en pleine expansion. Il s'agit de maladies et de syndromes génétiques dans lesquels les régulations de certains gènes sont atteintes, plutôt que les gènes eux-mêmes (certaines thalassémies).

Rôle(s) émergent(s) des éléments transposables

Egalement un domaine d'études en pleine expansion qui touche aux fonctions de régulations des transposons mais également à l'évolution de ces régulations.

37

Les transposons et l'origine de séquences enhancers

Barbara McClintock (1902-1992), Prix Nobel 1983
Une vie entière consacrée à l'étude des transposons

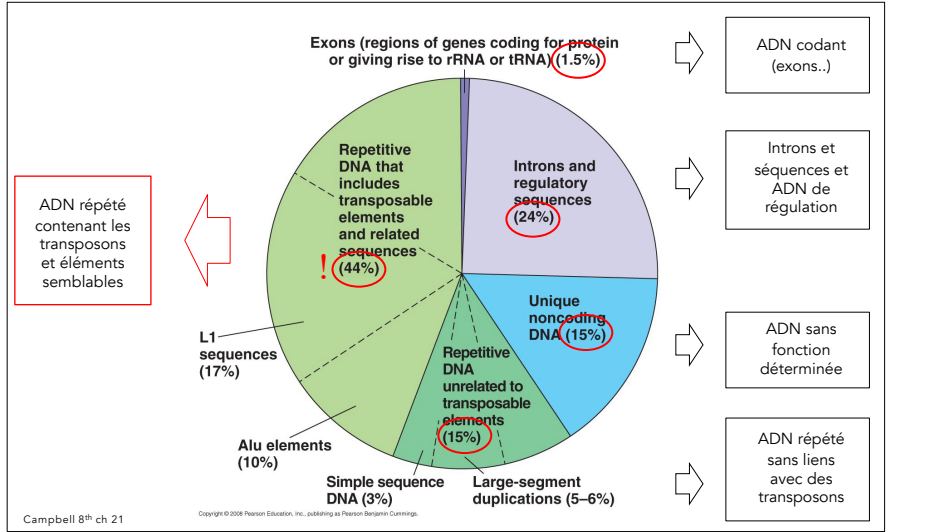
Les transposons modifient la couleur des grains de maïs

Campbell 8th ch 21

38

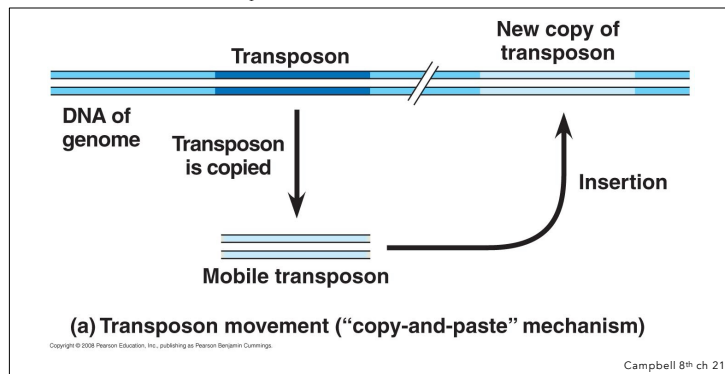
Les transposons et l'évolution des séquences enhancers

Les différents rôles de l'ADN dans notre génome..



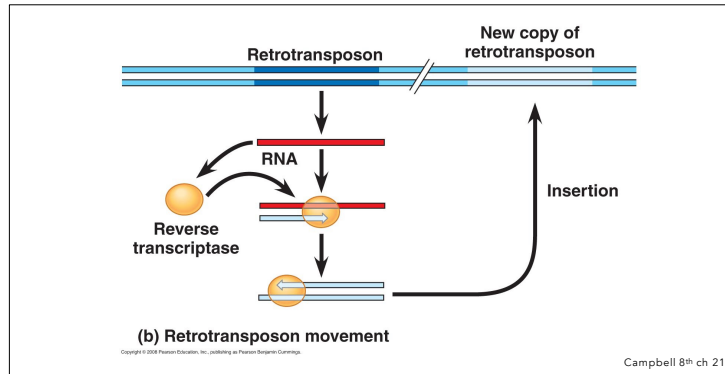
Les transposons et l'évolution des séquences enhancers

Deux grandes classes d'éléments transposables:
Transposons ADN et rétrotransposons



Les transposons et l'évolution des séquences enhancers

Deux grandes classes d'éléments transposables:
Transposons ADN et rétrotransposons



41

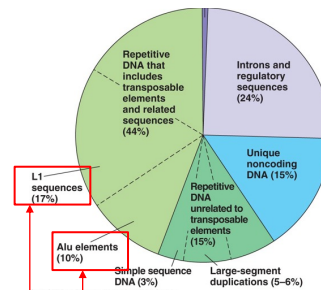
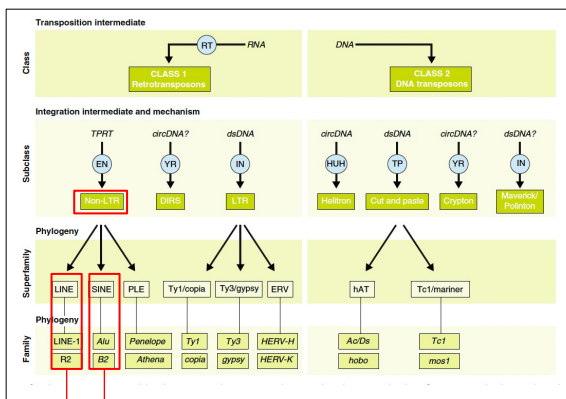
Genome Biology

REVIEW Open Access

Ten things you should know about transposable elements

Guillaume Bourque^{1,2}, Kathleen H. Burns³, Mary Gehring¹, Vera Gorbunova⁴, Andrei Seluanov⁵, Molly Hammell⁶, Michaël Imbeault⁷, Zsuzsanna Izvá⁸, Henry L. Levin⁹, Todd S. Macfarlan¹⁰, Dixie L. Mager¹⁰ and Cédric Feschotte^{1*}

Les transposons de classe 1 sont largement majoritaires



42



Voir le cours de Edith Heard février-mars 2017

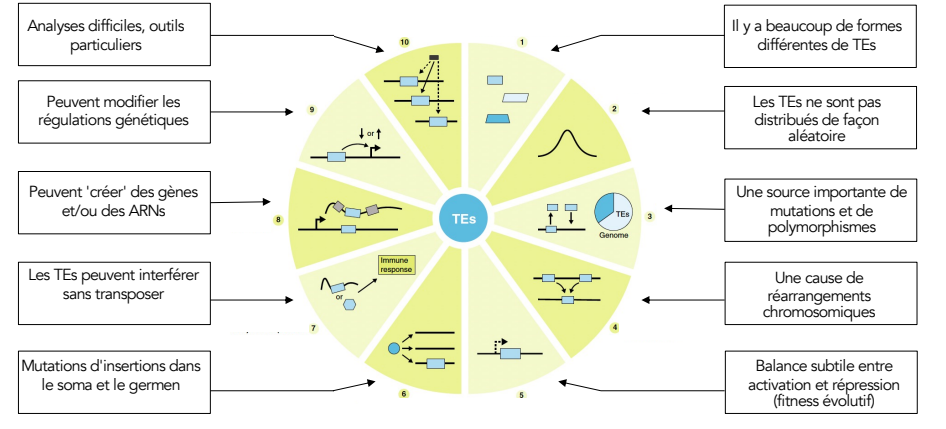
Genome Biology

REVIEW Open Access

Ten things you should know about transposable elements

Guillaume Bourque^{1,2}, Kathleen H. Burns², Mary Gehring³, Vera Gorbunova², Andrei Selanov², Molly Hammell⁶, Michaël Imbeault⁷, Zsuzsanna Izvádk⁸, Henry L. Levin⁹, Todd S. Macfarlan⁹, Dixie L. Mager¹⁰ and Cécile Feschotte^{1*}

10 caractéristiques importantes des éléments transposables (TEs)



43



Voir le cours de Edith Heard février-mars 2017

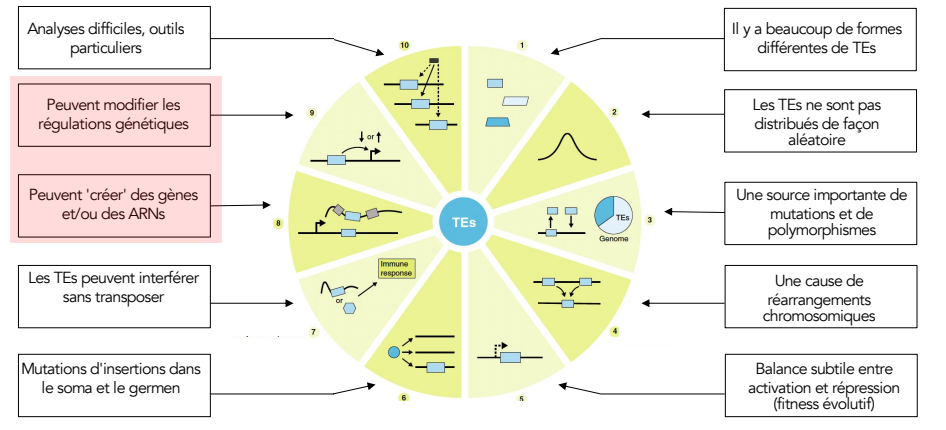
Genome Biology

REVIEW Open Access

Ten things you should know about transposable elements

Guillaume Bourque^{1,2}, Kathleen H. Burns², Mary Gehring³, Vera Gorbunova², Andrei Selanov², Molly Hammell⁶, Michaël Imbeault⁷, Zsuzsanna Izvádk⁸, Henry L. Levin⁹, Todd S. Macfarlan⁹, Dixie L. Mager¹⁰ and Cécile Feschotte^{1*}

10 caractéristiques importantes des éléments transposables (TEs)



44



Roles of transposable elements in the regulation of mammalian transcription

Raquel Fueyo^{1,6}, Julius Judd^{2,6}, Cedric Feschotte^{2,5} and Joanna Wysocka^{1,3,4,5}

NATURE REVIEWS | MOLECULAR CELL BIOLOGY | VOLUME 23 | JULY 2022 | 481

Abstract | Transposable elements (TEs) comprise about half of the mammalian genome. TEs often contain sequences capable of recruiting the host transcription machinery, which they use to express their own products and promote transposition. However, the regulatory sequences carried by TEs may affect host transcription long after the TEs have lost the ability to transpose. Recent advances in genome analysis and engineering have facilitated systematic interrogation of the regulatory activities of TEs. In this Review, we discuss diverse mechanisms by which TEs contribute to transcription regulation. Notably, TEs can donate enhancer and promoter sequences that influence the expression of host genes, modify 3D chromatin architecture and give rise to novel regulatory genes, including non-coding RNAs and transcription factors. We discuss how TEs spur regulatory evolution and facilitate the emergence of genetic novelties in mammalian physiology and development. By virtue of their repetitive and interspersed nature, TEs offer unique opportunities to dissect the effects of mutation and genomic context on the function and evolution of cis-regulatory elements. We argue that TE-centric studies hold the key to unlocking general principles of transcription regulation and evolution.

Les TEs contiennent des séquences ADN qui recrutent la machinerie de transcription de l'hôte pour exprimer les éléments nécessaires à leurs transpositions. Mais des séquences de TEs peuvent rester actives bien après la perte de la capacité à transposer.

Par exemple, les TEs peuvent apporter des promoteurs ou des enhanceurs, ils peuvent modifier les architectures chromatinienne et même produire de nouveaux gènes de régulation, codant pour des lncRNAs mais également pour de nouveaux facteurs de transcription.

45



Roles of transposable elements in the regulation of mammalian transcription

Raquel Fueyo^{1,6}, Julius Judd^{2,6}, Cedric Feschotte^{2,5} and Joanna Wysocka^{1,3,4,5}

NATURE REVIEWS | MOLECULAR CELL BIOLOGY | VOLUME 23 | JULY 2022 | 481

TEs function as cis-regulatory elements

In order to promote their parasitic existence, many TEs contain regulatory sequences that facilitate their own transcription. Over evolutionary timescales, TEs are typically silenced by the host and accumulate mutations, eventually leading to their immobilization, after which they no longer retain the biochemical activities necessary to promote their own spread. However, remnants of their ancestral regulatory sequences often persist and can be repurposed for the transcriptional control of host genes (FIG. 2a).

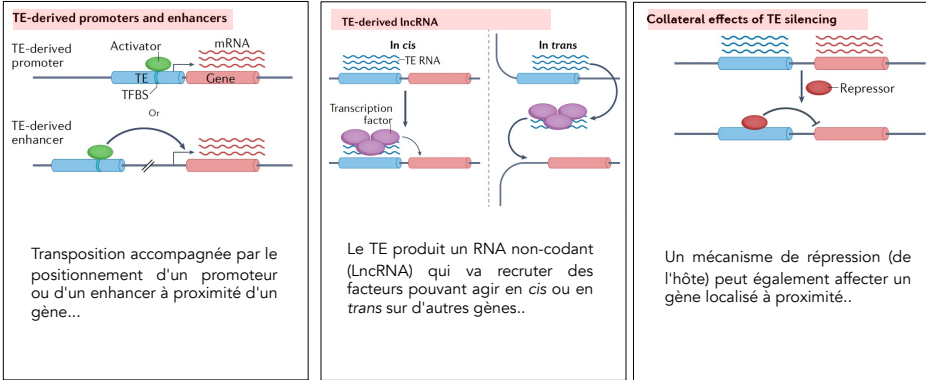
D'un point de vue évolutif, il est probable que des nouveaux transposons ont été contrôlés par des systèmes de défense de l'hôte, conduisant à leurs répressions. Des mutations les ont alors privés de leurs propriétés de transposer et seules des activités de régulations ont été conservées, parfois, pour autant que celles-ci soient adaptatives.

46

Roles of transposable elements in the regulation of mammalian transcription

Raquel Fuego^{1,6}, Julius Judd^{2,6}, Cedric Feschotte^{2,5} and Joanna Wysocka^{1,3,4,5}

NATURE REVIEWS | MOLECULAR CELL BIOLOGY | VOLUME 23 | JULY 2022 | 481

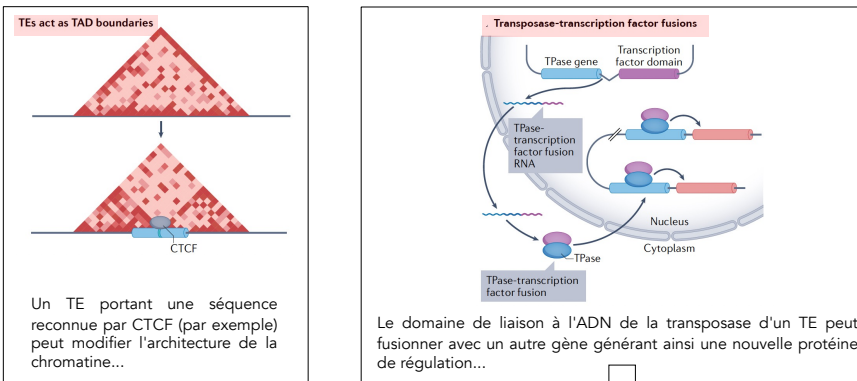


47

Roles of transposable elements in the regulation of mammalian transcription

Raquel Fuego^{1,6}, Julius Judd^{2,6}, Cedric Feschotte^{2,5} and Joanna Wysocka^{1,3,4,5}

NATURE REVIEWS | MOLECULAR CELL BIOLOGY | VOLUME 23 | JULY 2022 | 481



Par exemple le domaine de liaison ADN des protéines PAX semble être dérivé d'une transposase (Tc1). Or les transposases reconnaissent leurs TEs d'origine, d'où la possibilité de changements importants dans les régulations au niveau génomique...

48



Roles of transposable elements in the regulation of mammalian transcription

Raquel Fueyo^{1,6}, Julius Judd^{2,6}, Cedric Feschotte^{2,5} and Joanna Wysocka^{1,3,4,5}

NATURE REVIEWS | MOLECULAR CELL BIOLOGY | VOLUME 23 | JULY 2022 | 481

Conclusions and future perspective

Technological advances in genomics and systems biology over the past few years are ushering in a golden era of TE research. Methods such as CRISPR-Cas9 have empowered the systematic dissection of TE-driven *cis*-regulatory evolution in mammalian cells. These experiments have revealed that, although many TEs bear the biochemical hallmarks of CREs, only a subset of these elements significantly contribute to gene regulation in their native chromosomal context. As the number of functionally validated TE-derived CREs continues to grow, it will soon become possible to explain their potential redundancies, synergies and interactions with each other and with non-TE regulatory elements. Empirical demonstration of TE co-option for adaptive *cis*-regulatory changes remains challenging as regulatory changes driven by TEs may result in subtle phenotypes.

Pour l'instant, une influence de régulation robuste et physiologiquement significative d'un TE sur un gène voisin n'a été observée que dans quelques cas.

49



The End

Le cours 2025-2026 débutera le ...mars 2026,
même auditoire, même horaire

🙏 à l'équipe technique et à vous toutes et vous
tous pour votre présence!

50