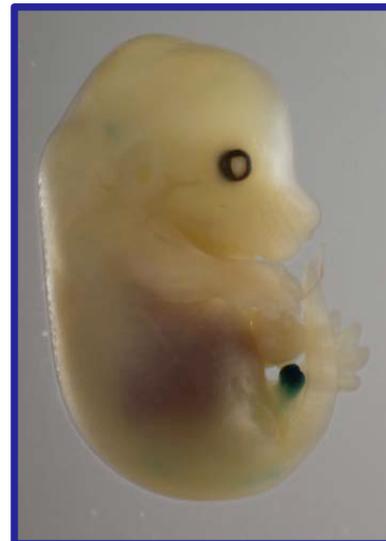


Collège de France  
Chaire: *Evolution des Génomes et du Développement*

Cours 2019-2020: Régulation génétique et développement des mammifères:  
Les séquences enhancers (Cours #4, 2 juin 2020)

Vidéos des cours sur le site: <https://www.college-de-france.fr>  
Questions, commentaires: #CdFenhancer



 @Duboule  
 @CdF1530



*\*Identification des enhancers par profilage épigénétique, modifications post-traductionnelles des histones*

*\*Approches technologiques pour déterminer les positions de ces modifications ou des protéines associées aux enhancers (ChIP-seq, Cut&Run)*

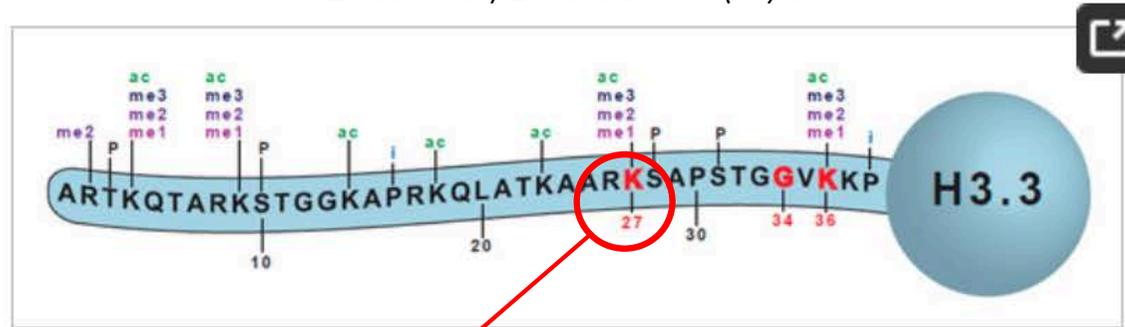
*\*Mesure de l'accessibilité de la chromatine par ATAC-seq*

*\*Structure de la chromatine et des paysages de régulation, correspondance fonctionnelle avec les domaines topologiques (TADs), capture de conformation chromosomique*

*\*Régulation à très grande distance, le cas du gène Shh*

# Modifications épigénétiques de la chromatine (histones)

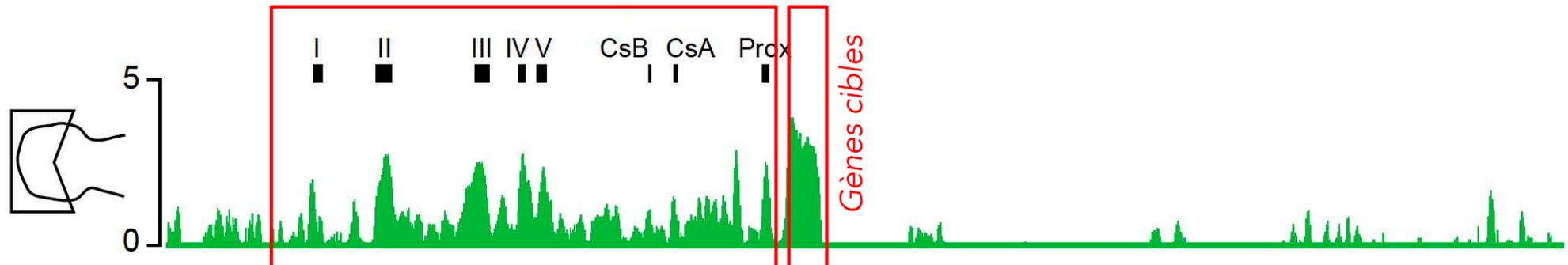
Lowe et al., 2019 Cancers (11) 660



H3K27ac

Chromatine active (gènes transcrits, enhancers..)

Séquences enhancers



- \*Il existe des **anticorps** qui reconnaissent ces modifications de façon spécifique
- \*L'utilisation de ces anticorps associée au séquençage ADN à haut débit permet de localiser les endroits où ces modifications se trouvent (ChIP-seq)

*\*Identification des enhancers par profilage épigénétique, modifications post-traductionnelles des histones*

*\*Approches technologiques pour déterminer les positions de ces modifications ou des protéines particulières associées aux enhancers (ChIP-seq, Cut&Run)*

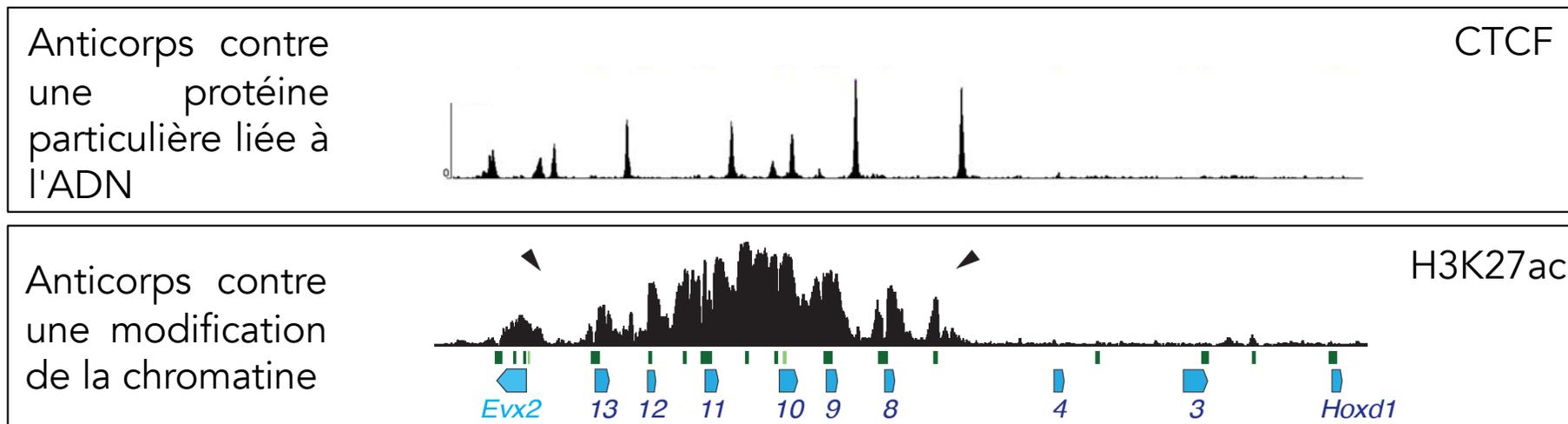
*\*Mesure de l'accessibilité de la chromatine par ATAC-seq*

*\*Structure de la chromatine et des paysages de régulation, correspondance fonctionnelle avec les domaines topologiques (TADs), capture de conformation chromosomique*

*\*Régulation à très grande distance, le cas du gène Shh*

# ChIP-seq avec des protéines spécifiques

\*L'approche en ChIP-seq permet aussi d'utiliser des anticorps contre des protéines qui lient les séquences de régulation (signaux mieux discriminés car le marquage ne touche pas chaque nucléosome..)



# Exemple: ChIP-seq de p300 (acétyltransférase)

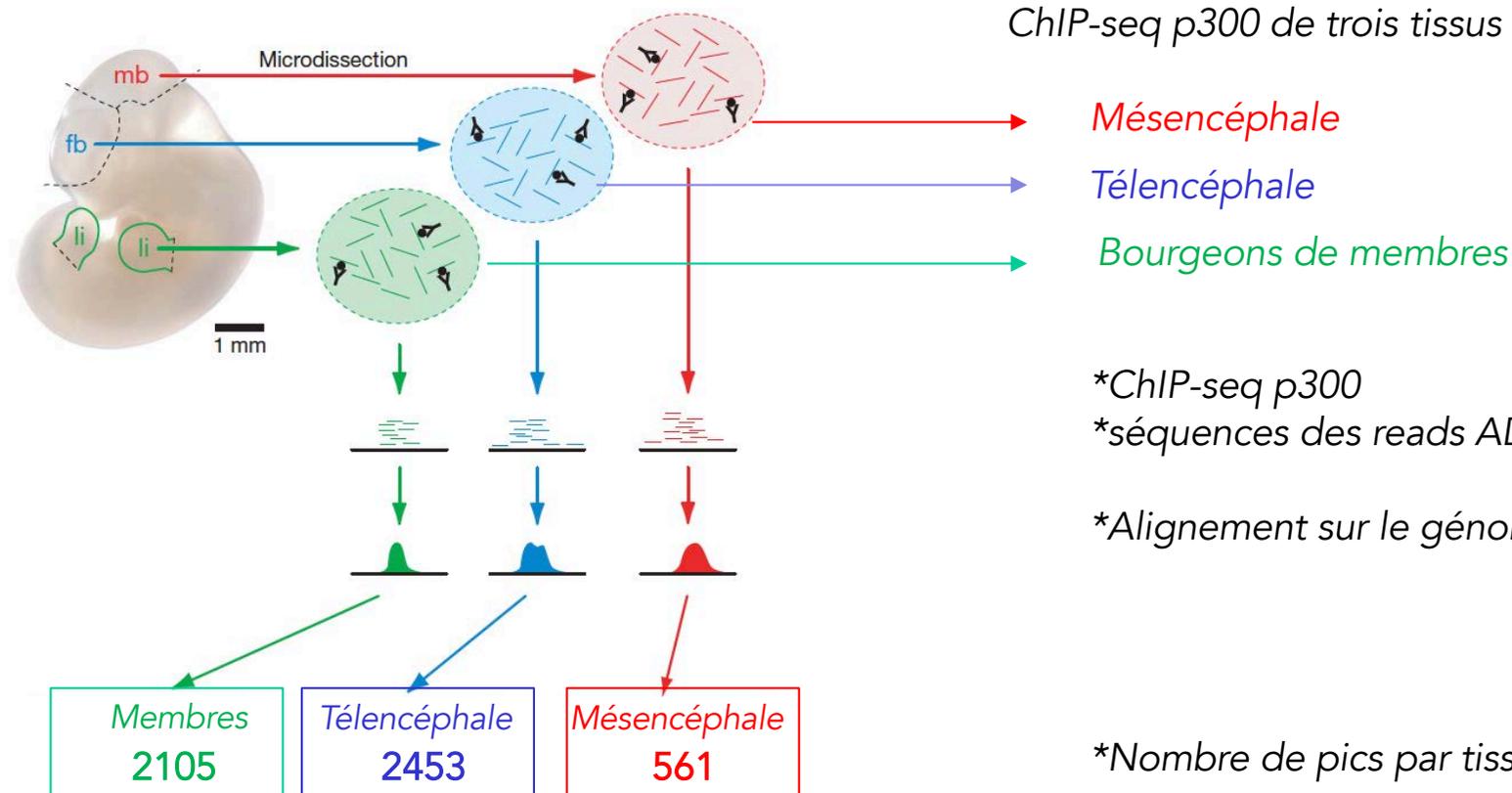
## ChIP-seq accurately predicts tissue-specific activity of enhancers

Axel Visel<sup>1\*</sup>, Matthew J. Blow<sup>1,2\*</sup>, Zirong Li<sup>3</sup>, Tao Zhang<sup>2</sup>, Jennifer A. Akiyama<sup>1</sup>, Amy Holt<sup>1</sup>, Ingrid Plajzer-Frick<sup>1</sup>, Malak Shoukry<sup>1</sup>, Crystal Wright<sup>2</sup>, Feng Chen<sup>2</sup>, Veena Afzal<sup>1</sup>, Bing Ren<sup>3</sup>, Edward M. Rubin<sup>1,2</sup> & Len A. Pennacchio<sup>1,2</sup>

Nature, 2009 ©2009 Macmillan Publishers Limited. All rights reserved

La protéine p300 est une acétyl-transférase et un co-activateur transcriptionnel localisée entre autre sur les séquences enhancers actives

ChIP-seq p300 de trois tissus foetaux différents



\*ChIP-seq p300

\*séquences des reads ADN (X Mios)

\*Alignement sur le génome

\*Nombre de pics par tissu (150 embryons..)

*\*Identification des enhancers par profilage épigénétique, modifications post-traductionnelles des histones*

*\*Approches technologiques pour déterminer les positions de ces modifications ou des protéines associées aux enhancers (ChIP-seq, Cut&Run)*

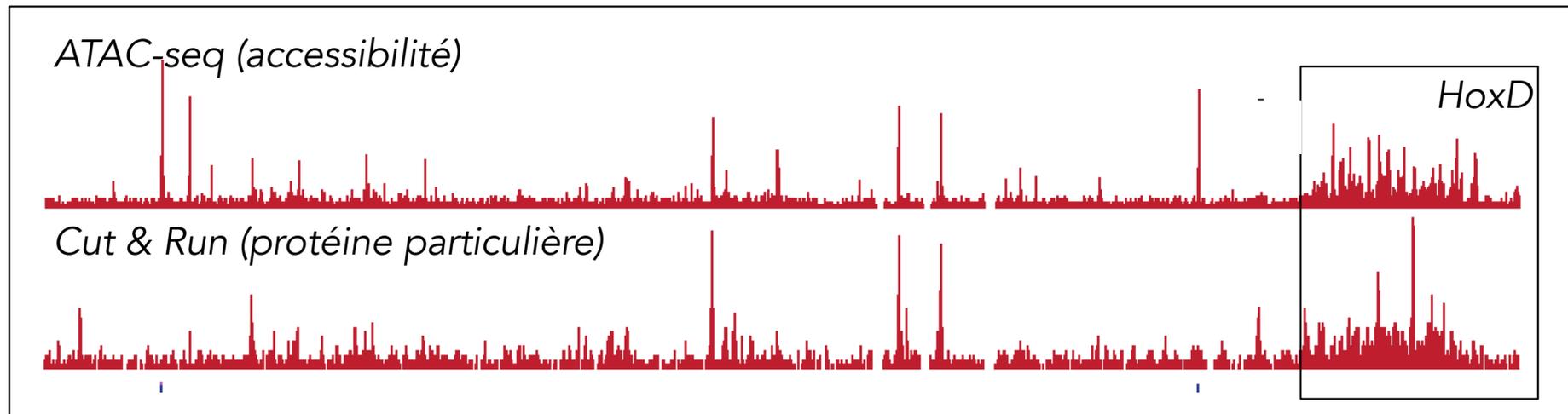
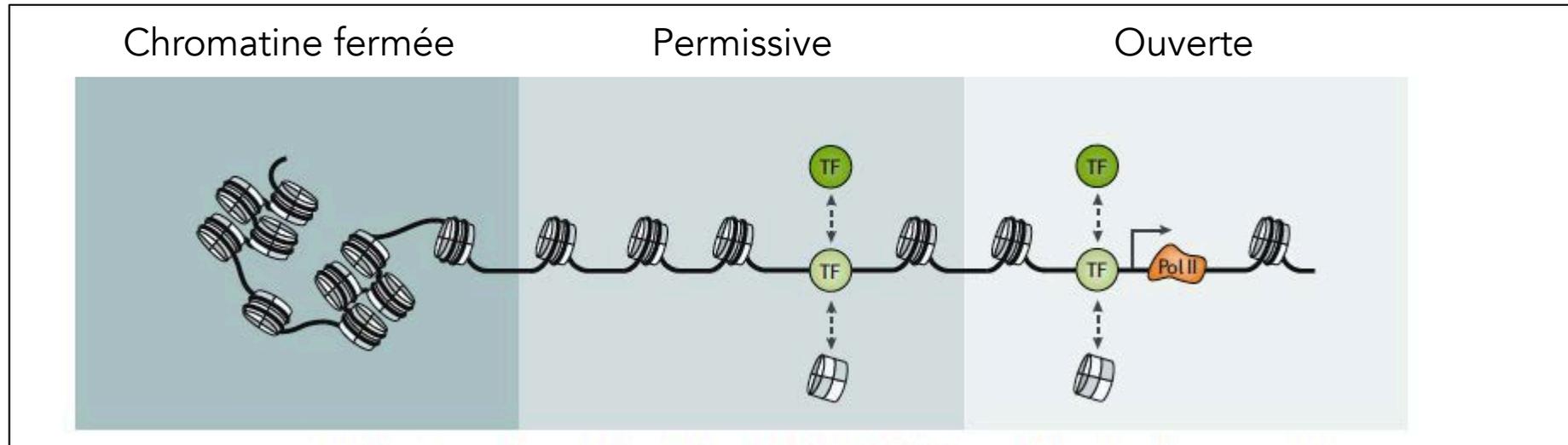
**\*Mesure de l'accessibilité de la chromatine par ATAC-seq**

*\*Structure de la chromatine et des paysages de régulation, correspondance fonctionnelle avec les domaines topologiques (TADs), capture de conformation chromosomique*

*\*Régulation à très grande distance, le cas du gène Shh*

# ATAC-seq ('Assay for transposase-accessible chromatin using sequencing')

Klemm, Shipony and Greenleaf, 2019 Nature Review Genetics



*\*Identification des enhancers par profilage épigénétique, modifications post-traductionnelles des histones*

*\*Approches technologiques pour déterminer les positions de ces modifications ou des protéines associées aux enhancers (ChIP-seq, Cut&Run)*

*\*Mesure de l'accessibilité de la chromatine par ATAC-seq*

**\*Structure de la chromatine et des paysages de régulation, correspondance fonctionnelle avec les domaines topologiques (TADs), capture de conformation chromosomique**

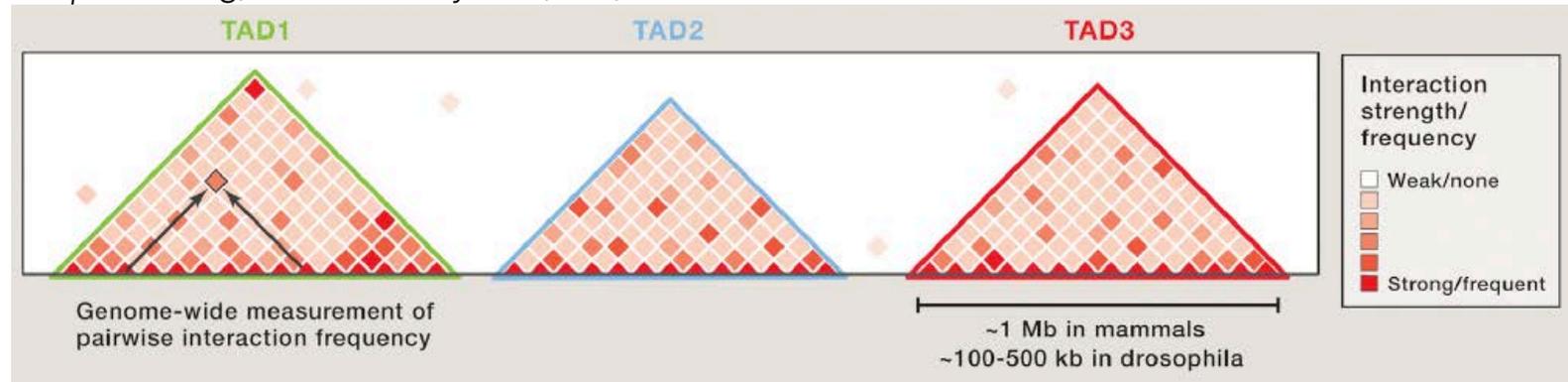
*\*Régulation à très grande distance, le cas du gène Shh*

# Chromosome Conformation Capture (TAD)

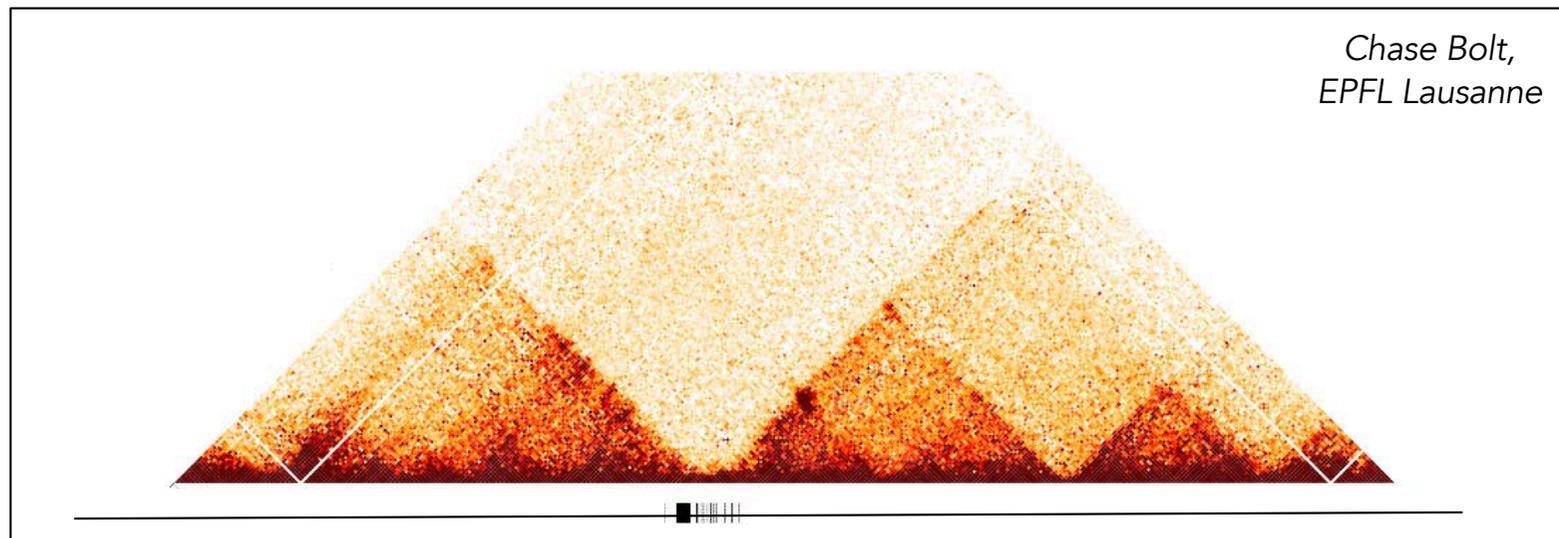
- \*Carte globale des interactions de la chromatine
- \*Topologically Associating Domains (TADs, 2012)
- \*B. Ren, E. Heard, J. Dekker, G. Cavalli labs

Chromosome Conformation Capture  
(3C, 4C, 5C, HiC..)

Adapté de Long, Prescott and Wysocka, Cell, 2016



- \*Le nombre de reads est représenté par l'intensité de la couleur
- \*Une carte des interactions au niveau du génome entier (ici sur 2-3 mégabases)



*\*Identification des enhancers par profilage épigénétique, modifications post-traductionnelles des histones*

*\*Approches technologiques pour déterminer les positions de ces modifications ou des protéines associées aux enhancers (ChIP-seq, Cut&Run)*

*\*Mesure de l'accessibilité de la chromatine par ATAC-seq*

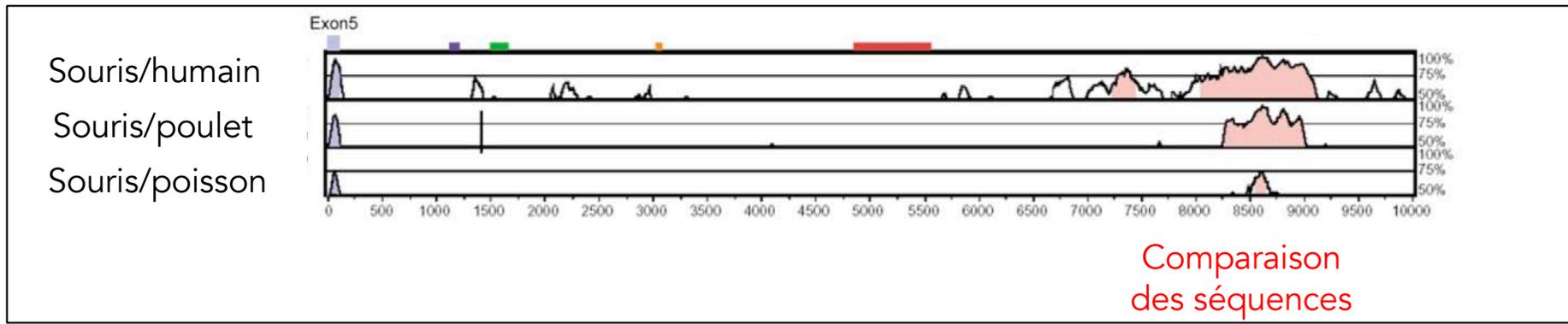
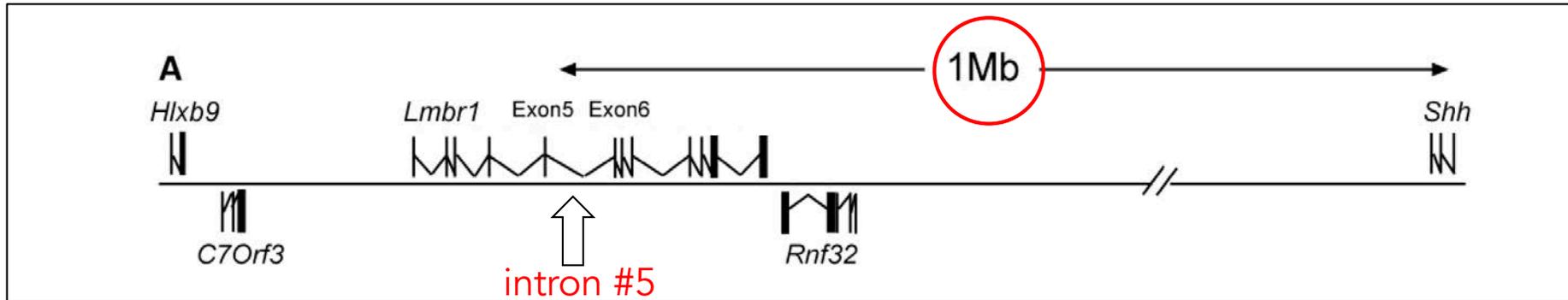
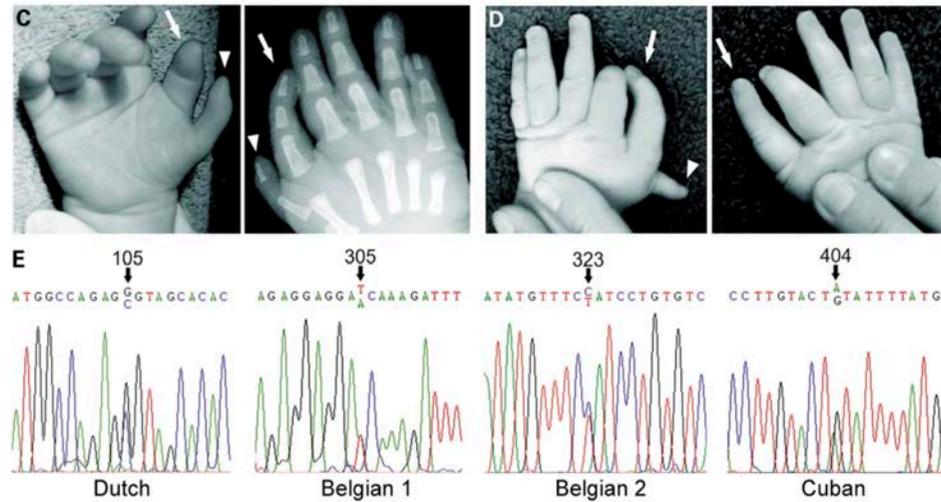
*\*Structure de la chromatine et des paysages de régulation, correspondance fonctionnelle avec les domaines topologiques (TADs), capture de conformation chromosomique*

*\*Régulation à très grande distance, le cas du gène Shh*

# Enhancers à distance: L'exemple Sonic Hedgehog (Shh)

**A long-range *Shh* enhancer regulates expression in the developing limb and fin and is associated with preaxial polydactyly**

Laura A. Lettice<sup>1</sup>, Simon J.H. Heaney<sup>1</sup>, Lorna A. Purdie<sup>1</sup>, Li Li<sup>2</sup>, Philippe de Beer<sup>3</sup>, Ben A. Oostra<sup>2</sup>, Debbie Goode<sup>4</sup>, Greg Elgar<sup>4</sup>, Robert E. Hill<sup>1,\*</sup> and Esther de Graaff<sup>2</sup>

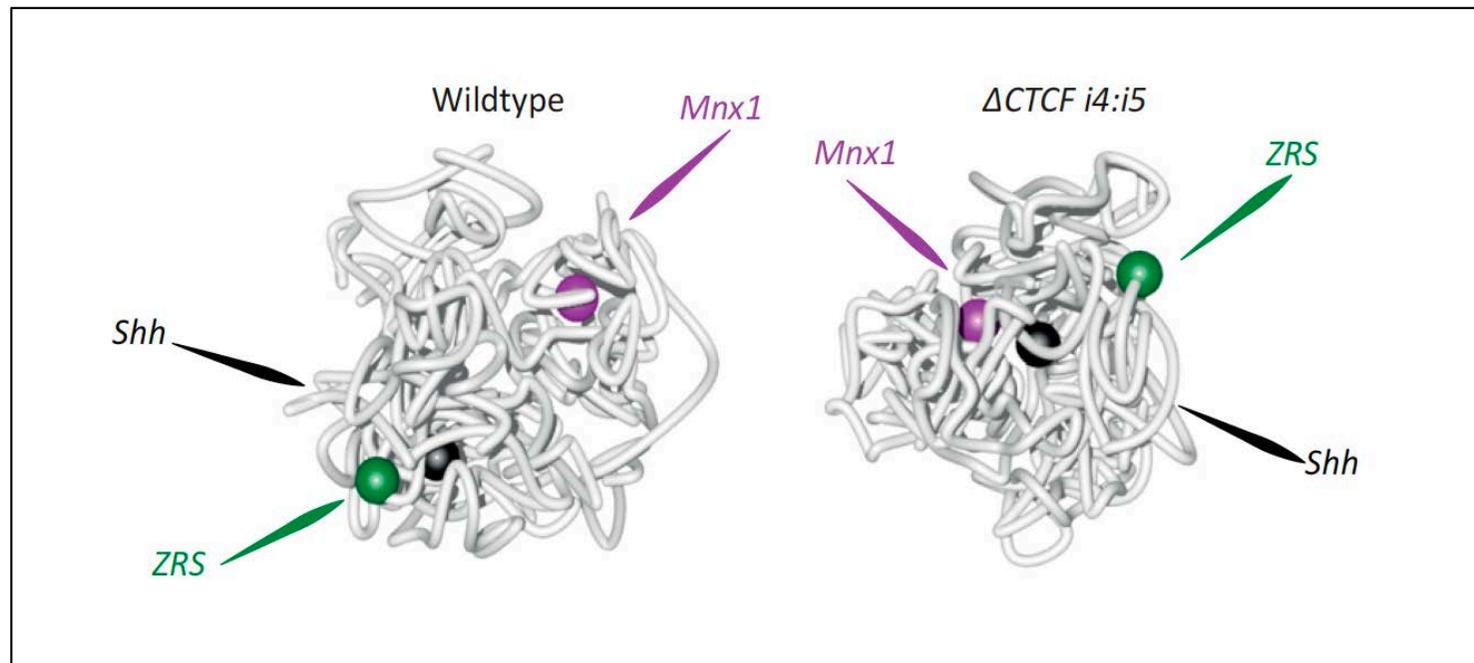


# Enhancers à distance: L'exemple Sonic Hedgehog (Shh)

## Preformed chromatin topology assists transcriptional robustness of *Shh* during limb development

Christina Paliou<sup>a,b</sup>, Philine Guckelberger<sup>a</sup>, Robert Schöpflin<sup>a,c</sup>, Verena Heinrich<sup>d</sup>, Andrea Esposito<sup>e,f,g</sup>,  
Andrea M. Chiariello<sup>e,f</sup>, Simona Bianco<sup>e,f</sup>, Carlo Annunziatella<sup>e,f</sup>, Johannes Helmuth<sup>h,1</sup>, Stefan Haas<sup>d</sup>, Ivana Jerković<sup>a,2</sup>,  
Norbert Brieske<sup>a</sup>, Lars Wittler<sup>i</sup>, Bernd Timmermann<sup>i</sup>, Mario Nicodemi<sup>e,f,g</sup>, Martin Vingron<sup>d</sup>, Stefan Mundlos<sup>a,b,c,3</sup>,  
and Guillaume Andrey<sup>a,b,3,4</sup>

12390–12399 | PNAS | June 18, 2019 | vol. 116 | no. 25



\*Un modèle de polymère 3D (basé sur les résultats Hi-C) montre la proximité spatiale entre la ZRS et le gène *Shh* (boucle)

*\*Organisation de paysages d'enhancers intégrés*

*\*Fonctionnement des enhancers, facteurs pionniers et grammaire*

*\*Evolution des séquences enhancers*

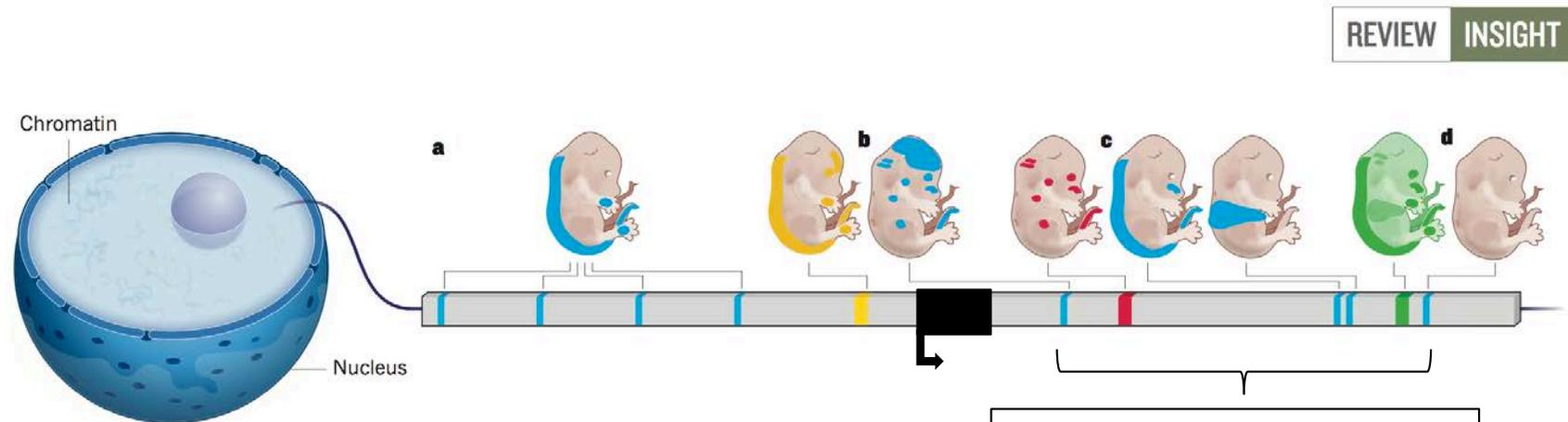
*\*Pathologies liées à des séquences enhancers*

*\*Organisation de paysages d'enhancers intégrés*

*\*Fonctionnement des enhancers et grammaire*

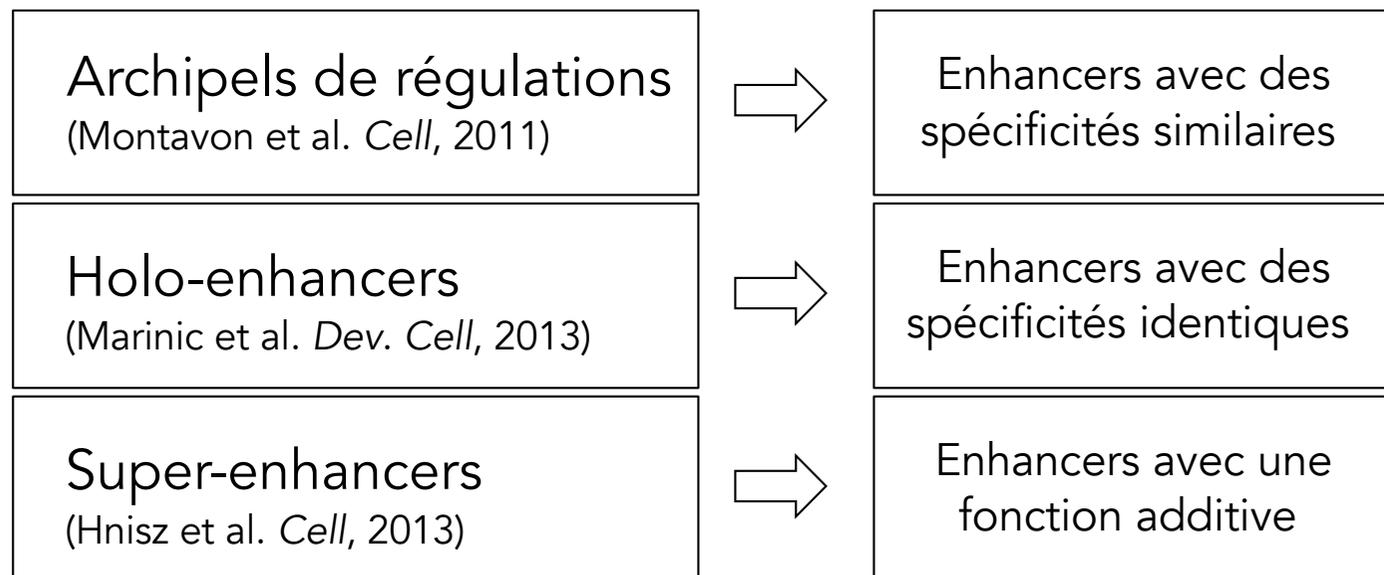
*\*Evolution des séquences enhancers*

*\*Pathologies liées à des séquences enhancers*



**Figure 2 | The mammalian regulatory jungle.**

Modifié de: de Laat and Duboule, 2013 Nature



# Groupement d'enhancers

Très souvent, les paysages de régulation contiennent de nombreux enhancers qui contribuent à une (ou plusieurs) fonction(s) commune(s)

- A. Les holo-enhancers
- B. Les super-enhancers
- C. Les archipels de régulation

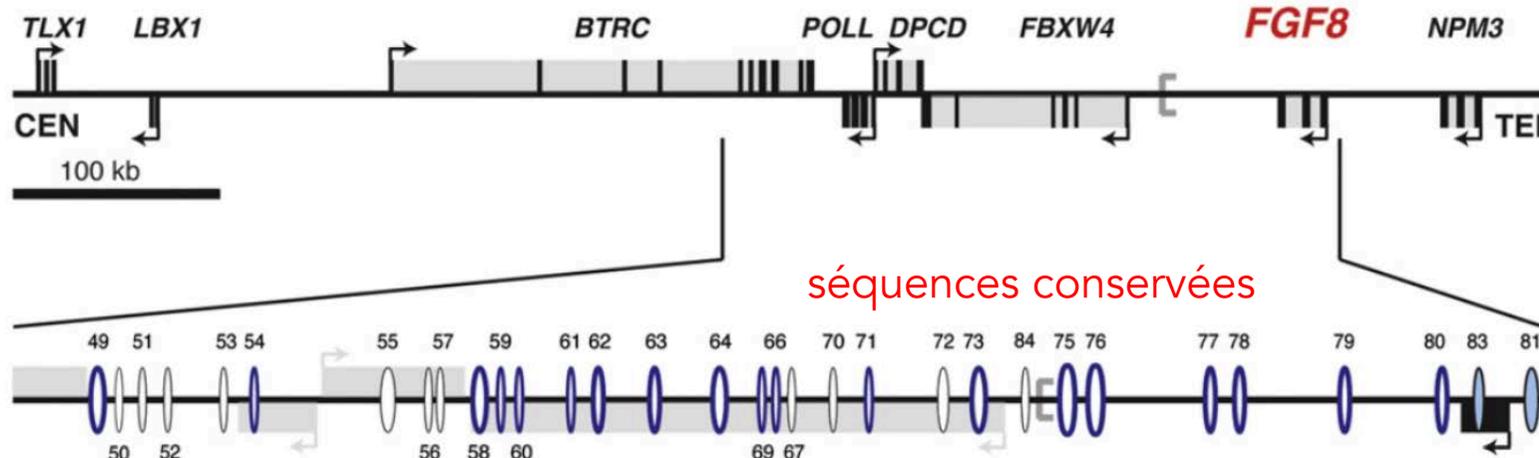
## An Integrated Holo-Enhancer Unit Defines Tissue and Gene Specificity of the *Fgf8* Regulatory Landscape

Mirna Marinić,<sup>1</sup> Tugce Aktas,<sup>1</sup> Sandra Ruf,<sup>1</sup> and François Spitz<sup>1,\*</sup>  
<sup>1</sup>Developmental Biology Unit, EMBL, Meyerhofstrasse 1, Heidelberg 69117, Germany

530 Developmental Cell 24, 530–542, March 11, 2013 ©2013 Elsevier Inc.

Developmental Cell  
Article

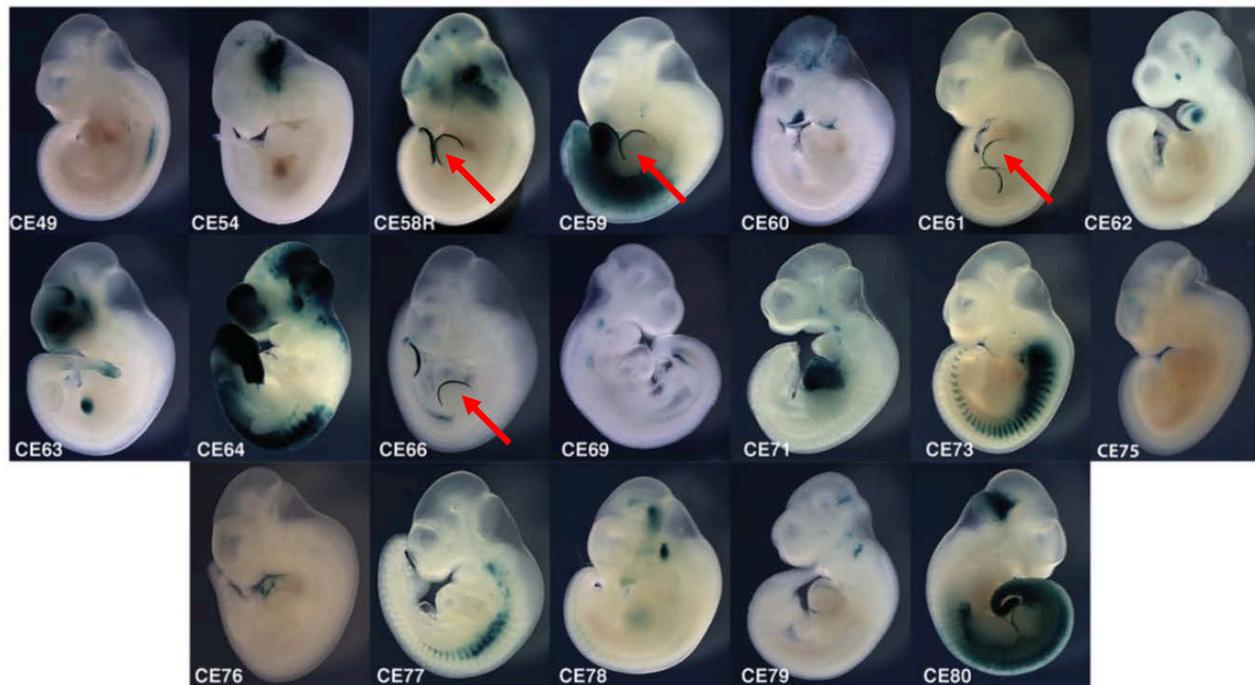
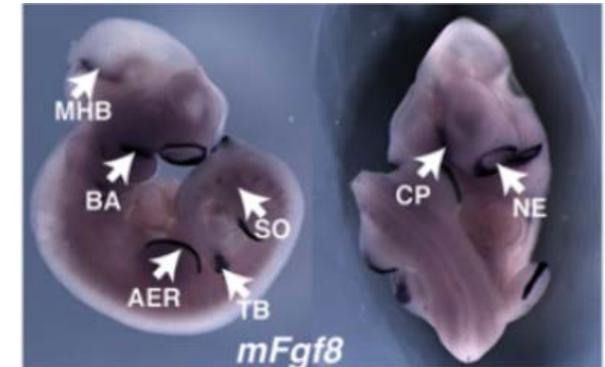
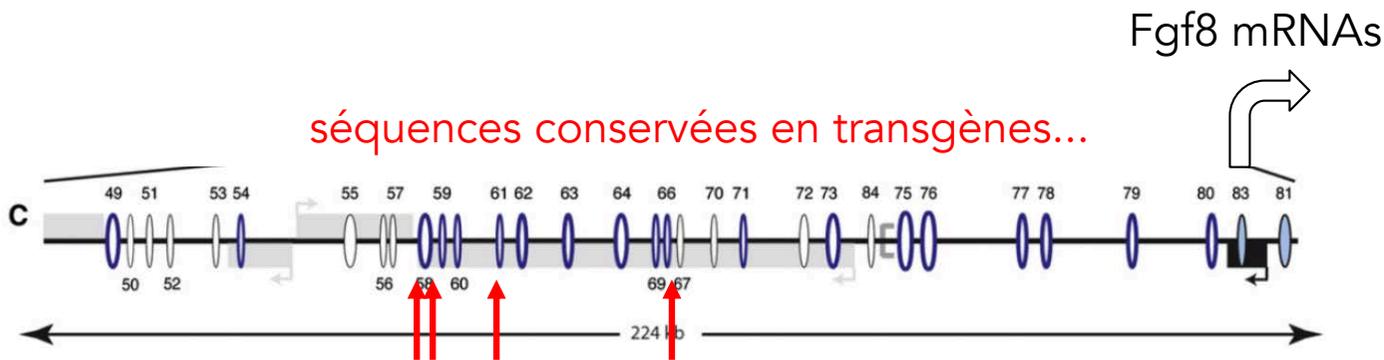
Le gène *Fgf8* et sa régulation complexe..



# Le gène *Fgf8* et sa régulation

**Figure 1. Structure and Expression of the *TLX1-NPM3* Interval**

(A) Expression patterns detected by in situ hybridization in E10.5 mouse embryos. Arrows indicate specific expression domains of *Lbx1* and *Fgf8*. AER, apical ectodermal ridge; BA, first branchial arch ectoderm; CP, forebrain commissural plate; MHB, midbrain-hindbrain boundary; MY, myoblasts; NE, nasal pit epithelium; SO, somites; TB, tail bud. See Figure S1 for qPCR data.



Comment intégrer ces différentes spécificités pour réguler la transcription aux promoteurs différents?

Scan de l'intervalle ADN par un 'enhancer' sensor'

# Un 'enhancer sensor' (trappe à enhancer avec 'homing')

Large-scale analysis of the regulatory architecture of the mouse genome with a transposon-associated sensor

Sandra Ruf<sup>1</sup>, Orsolya Symmons<sup>1</sup>, Veli Vural Uslu<sup>1</sup>, Dirk Dolle<sup>2</sup>, Chloé Hot<sup>1</sup>, Laurence Ettwiller<sup>2</sup> & François Spitz<sup>1</sup>

NATURE GENETICS | VOLUME 43 | NUMBER 4 | APRIL 2011

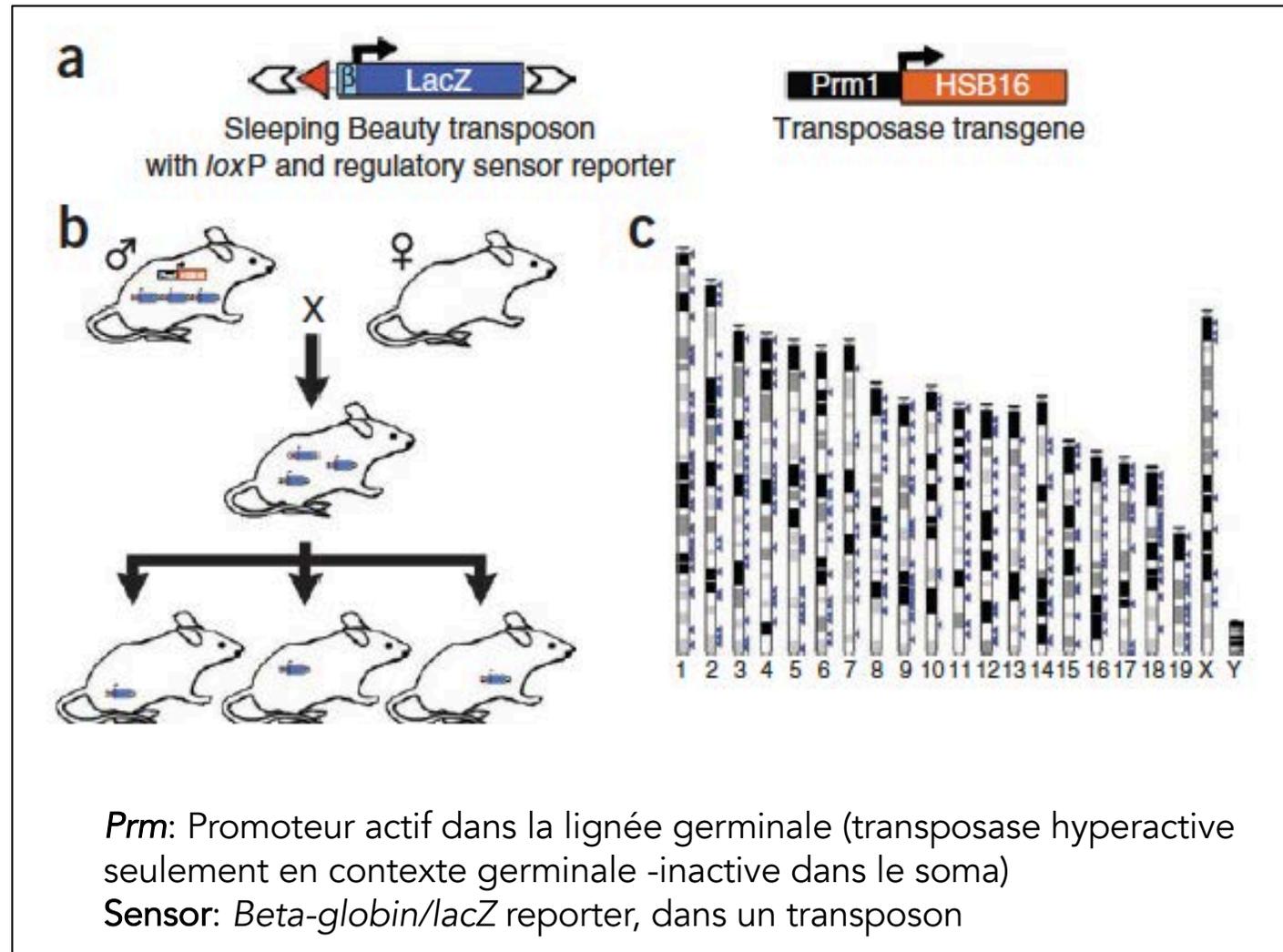
nature  
genetics

Approche dérivée d'une trappe à enhancers mais en définissant l'intervalle d'ADN à piéger par la capacité du transposon à se relocaliser à proximité... (homing)

Mobilisation dans la lignée germinale et intégration de une ou X copie(s)

Ségrégation des copies

HOMING



# Un 'enhancer sensor' (trappe à enhancer avec 'homing')

## Large-scale analysis of the regulatory architecture of the mouse genome with a transposon-associated sensor

nature  
genetics

Sandra Ruf<sup>1</sup>, Orsolya Symmons<sup>1</sup>, Veli Vural Uslu<sup>1</sup>, Dirk Dolle<sup>2</sup>, Chloé Hot<sup>1</sup>, Laurence Ettwiller<sup>2</sup> & François Spitz<sup>1</sup>

NATURE GENETICS | VOLUME 43 | NUMBER 4 | APRIL 2011

### Fréquence de remobilisation des transposons à copie unique

Donor		Chr.	F1	SBlac	Remob <sup>b</sup>	Mapped	Intrachrom <sup>c</sup>	Local <sup>d</sup>
Insertion	Type							
177184c	Het	5	71	25	9	9	2	1
183038	Het	7	52	33	7	4	0	0
183036	Het	1	237	90	44	37	12	5
176599b	Het	2	104	46	11	10	4	3
176599bc <sup>a</sup>	Het	1, 2	53	41	19	17	7	2
176599b	Hom	2	61	57	12	11	2	1
176148b	Hom	16	24	22	7	3	0	0
178235	Hom	16	15	15	3	3	0	0
183041a	Het	3	261	106	41	24	5	4
178137a	Het	11	145	60	11	8	2	2
<b>Total</b>			<b>1,023</b>	<b>495</b>	<b>164 (33%)</b>	<b>126</b>	<b>34 (27%)</b>	<b>18 (14%)</b>

Chr., chromosome; het, heterozygous; hom, homozygous; remob, remobilized; intrachrom, intrachromosomal.

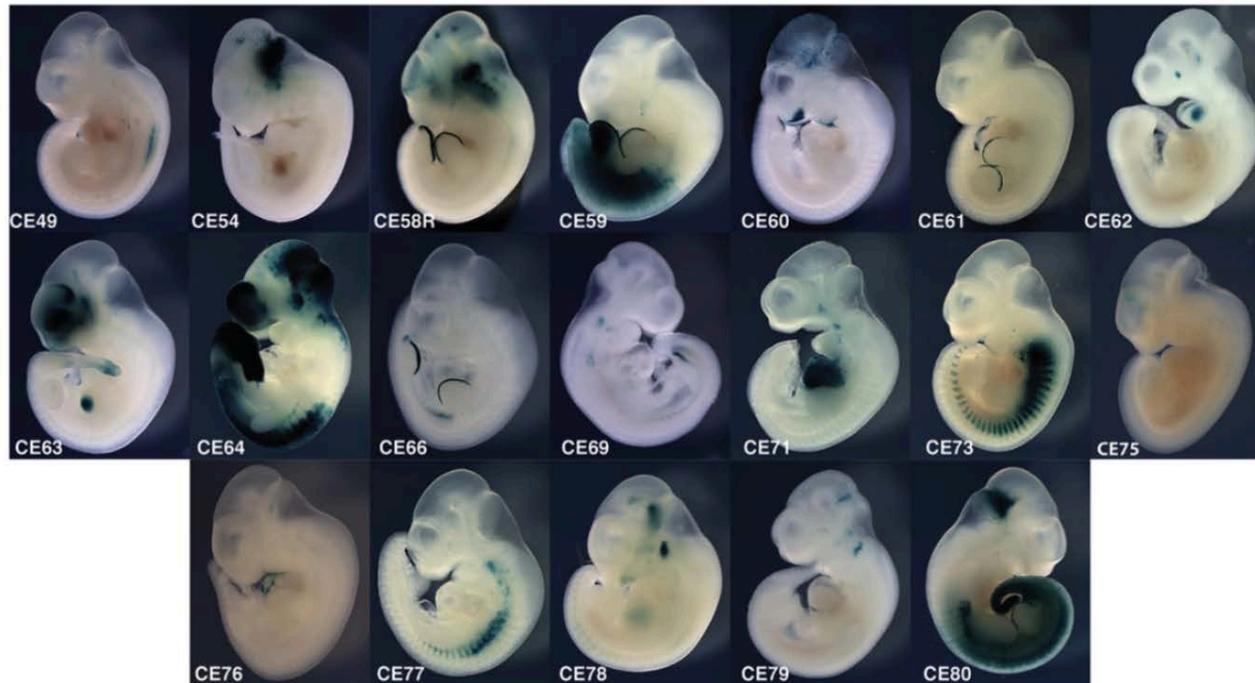
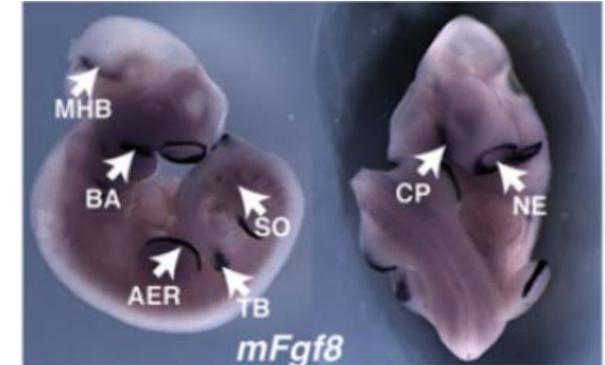
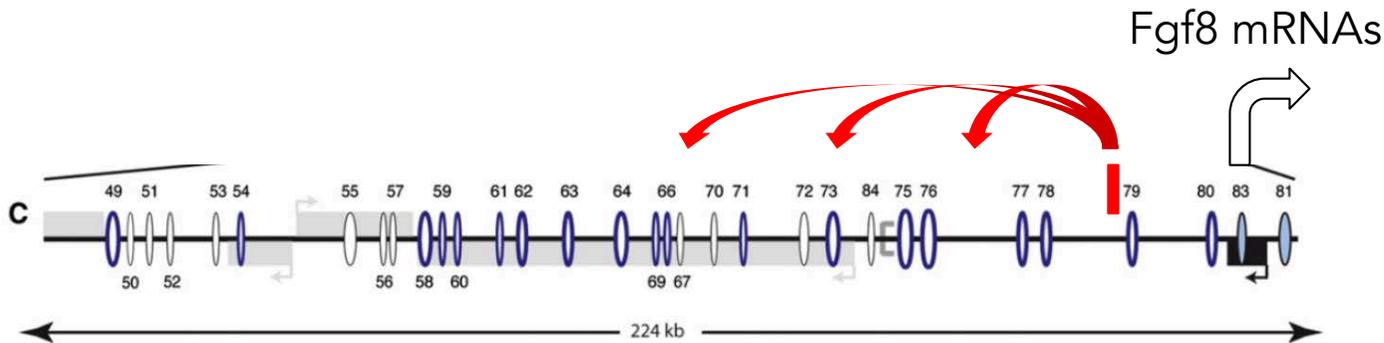
<sup>a</sup>Male with two unlinked insertions (176599b and 176599c). The number of remobilizations is an underestimate as only F1 individuals, which were negative for both 176599b and 176599c, were considered as 'remobilized'. <sup>b</sup>Number of animals with a SBlac transposon in the genome but not at the starting position. <sup>c</sup>New insertions on the same chromosome than the donor site. <sup>d</sup>New insertions within 2 Mb of the position of the donor site.

↳ 'Homing' (2 Mb)

# Le gène *Fgf8* et sa régulation ('homing' ciblé)

**Figure 1. Structure and Expression of the TLX1-NPM3 Interval**

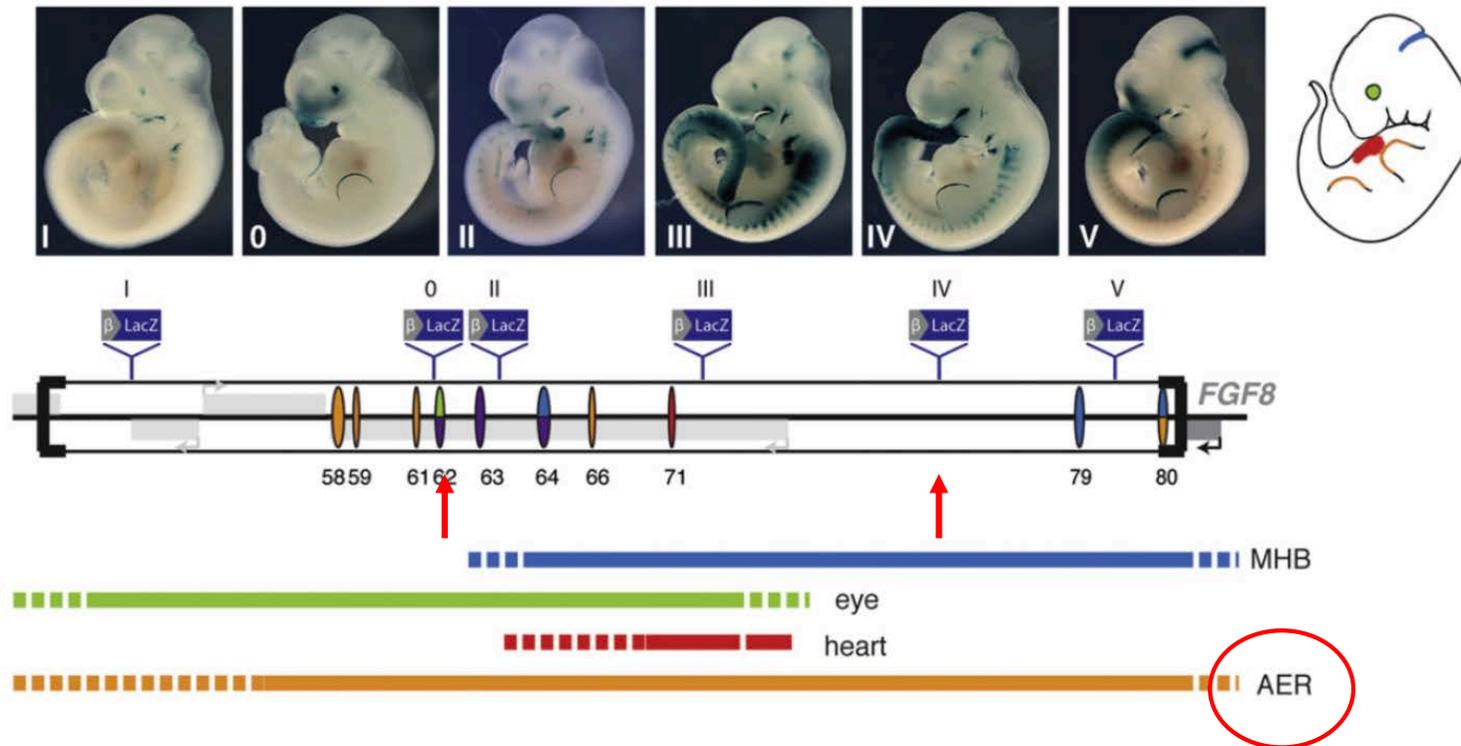
(A) Expression patterns detected by in situ hybridization in E10.5 mouse embryos. Arrows indicate specific expression domains of *Lbx1* and *Fgf8*. AER, apical ectodermal ridge; BA, first branchial arch ectoderm; CP, forebrain commissural plate; MHB, midbrain-hindbrain boundary; MY, myoblasts; NE, nasal pit epithelium; SO, somites; TB, tail bud. See Figure S1 for qPCR data.



Comment intégrer ces différentes spécificités pour réguler la transcription aux promoteurs différents?

Scan de l'intervalle ADN par un 'enhancer' sensor'

# Le gène *Fgf8* et sa régulation ('homing' ciblé)



\*Le transposon sensor intègre différentes influences de régulations selon son site d'insertion, sans présenter de logique particulière qui serait 'calculable' ou prévisible'

# Le gène *Fgf8* et sa régulation par 'holo-enhancer'

## An Integrated Holo-Enhancer Unit Defines Tissue and Gene Specificity of the *Fgf8* Regulatory Landscape

Mirna Marinić,<sup>1</sup> Tugce Aktas,<sup>1</sup> Sandra Ruf,<sup>1</sup> and François Spitz<sup>1,\*</sup>  
<sup>1</sup>Developmental Biology Unit, EMBL, Meyerhofstrasse 1, Heidelberg 69117, Germany

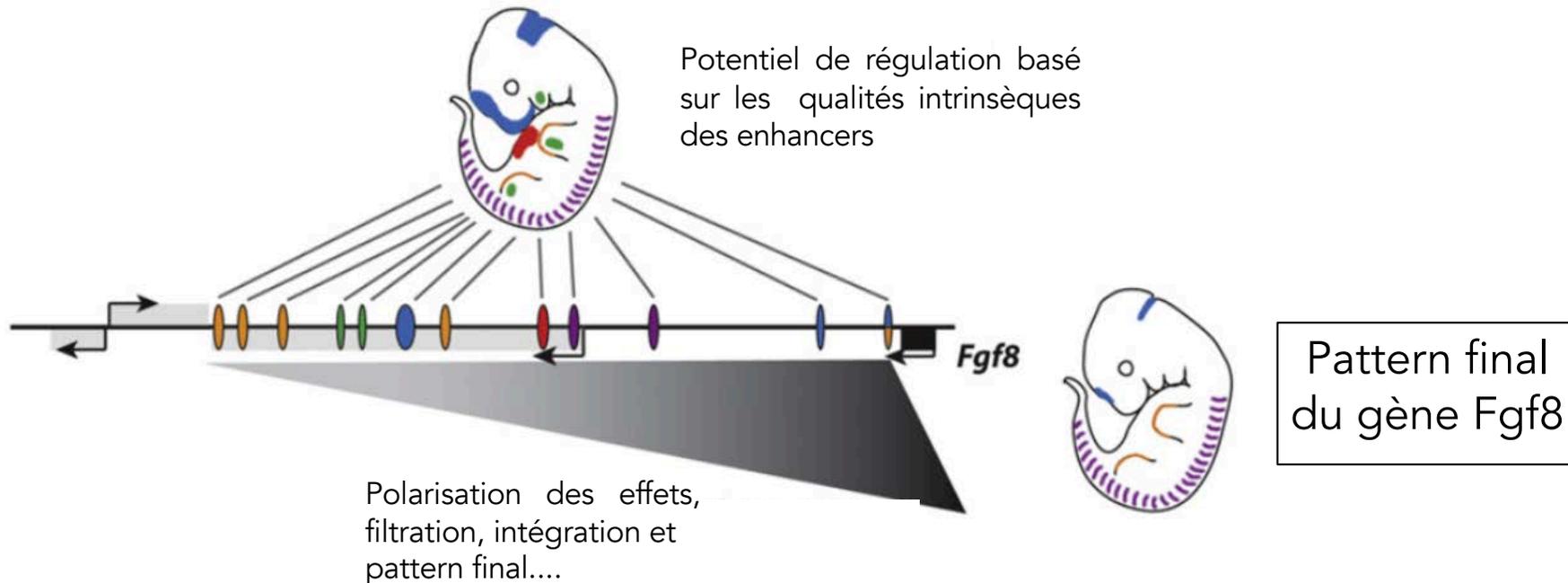
530 Developmental Cell 24, 530–542, March 11, 2013 ©2013 Elsevier Inc.

### Figure 7. A Holo-Enhancer Region

The *Fgf8* gene-dense region comprises multiple enhancers (ovals) distributed within introns of the bystander genes (gray rectangles). Enhancers are color-coded to match the expression domains depicted on the mouse embryo outlines.

(A) Although individual enhancers possess large and diverse intrinsic autonomous activities (upper embryo), their collective output is not equal to their superposition: only a subset of these activities is displayed over distance to endogenous genes and polarized to the genomic position normally occupied by *Fgf8* (lower-right embryo).

Addition des  
patterns Tg



# Les 'super-enhancers'

- A. Les holo-enhancers
- B. Les super-enhancers**
- C. Les archipels de régulation

## Super-Enhancers in the Control of Cell Identity and Disease

Denes Hnisz,<sup>1,3</sup> Brian J. Abraham,<sup>1,3</sup> Tong Ihn Lee,<sup>1,3</sup> Ashley Lau,<sup>1,2</sup> Violaine Saint-André,<sup>1</sup> Alla A. Sigova,<sup>1</sup> Heather A. Hoke,<sup>1,2</sup> and Richard A. Young<sup>1,2,\*</sup>

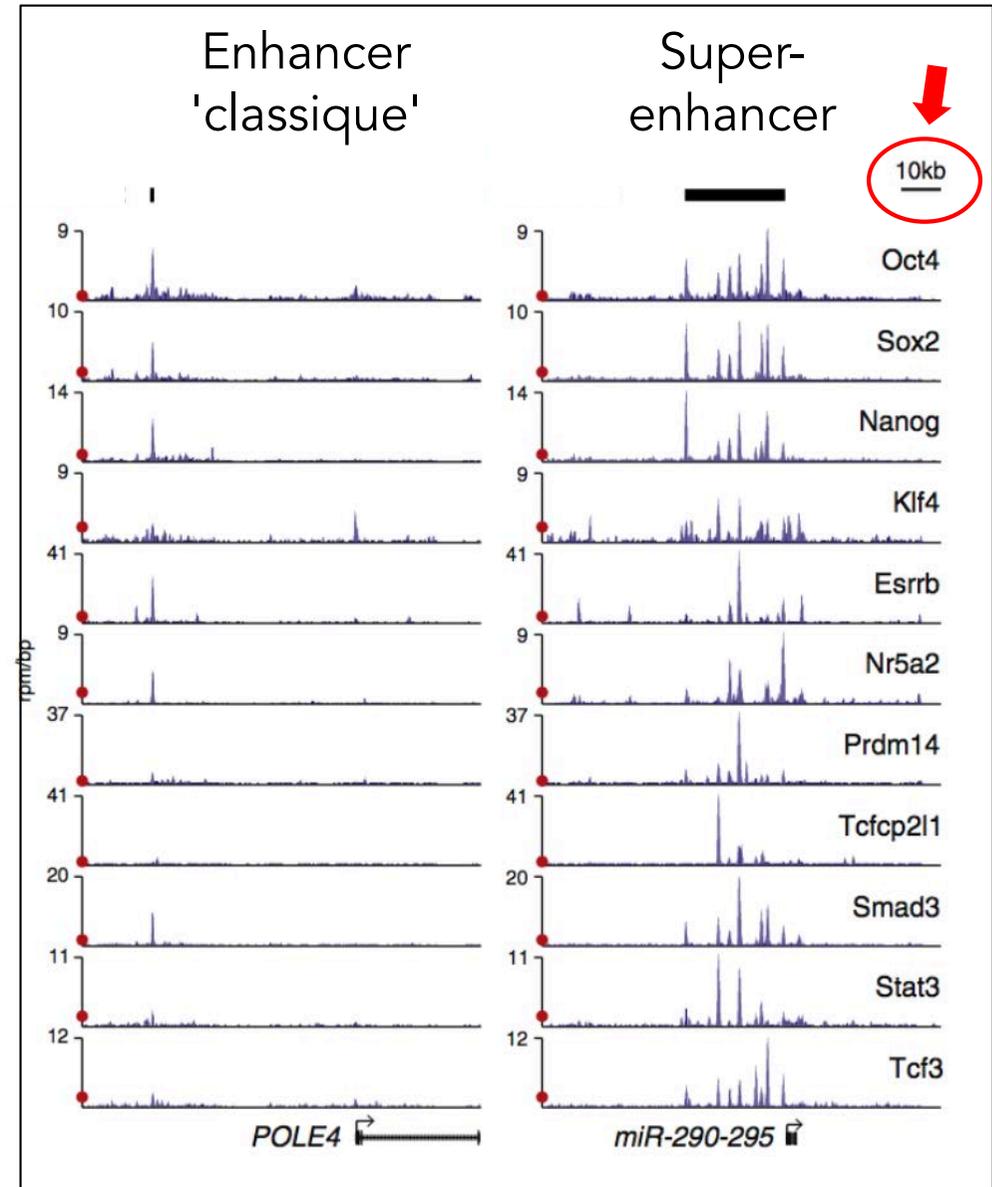
<sup>1</sup>Whitehead Institute for Biomedical Research, 9 Cambridge Center, Cambridge, MA 02142, USA

<sup>2</sup>Department of Biology, Massachusetts Institute of Technology, Cambridge, MA 02139, USA

Cell 155, 934–947, November 7, 2013 ©2013 Elsevier Inc.

Les **super-enhancers** sont des clusters d'enhancers qui ensemble assemblent une haute densité de l'appareil transcriptionnel afin de produire une **expression robuste** de gènes cibles qui ont des rôles essentiels dans l'identité cellulaire.

## ChIP en cellules ES



# Les 'super-enhancers'

## Super-Enhancers in the Control of Cell Identity and Disease

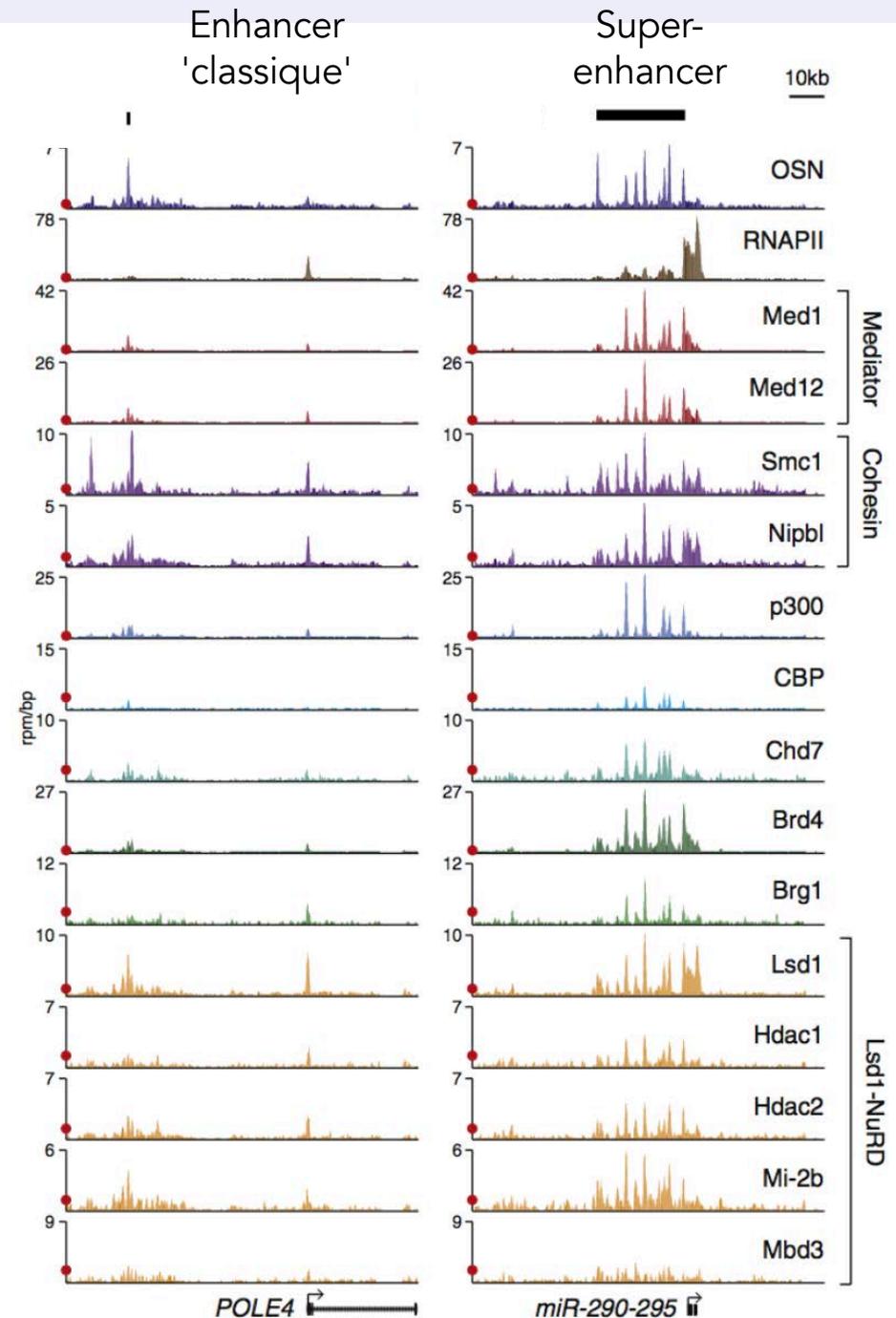
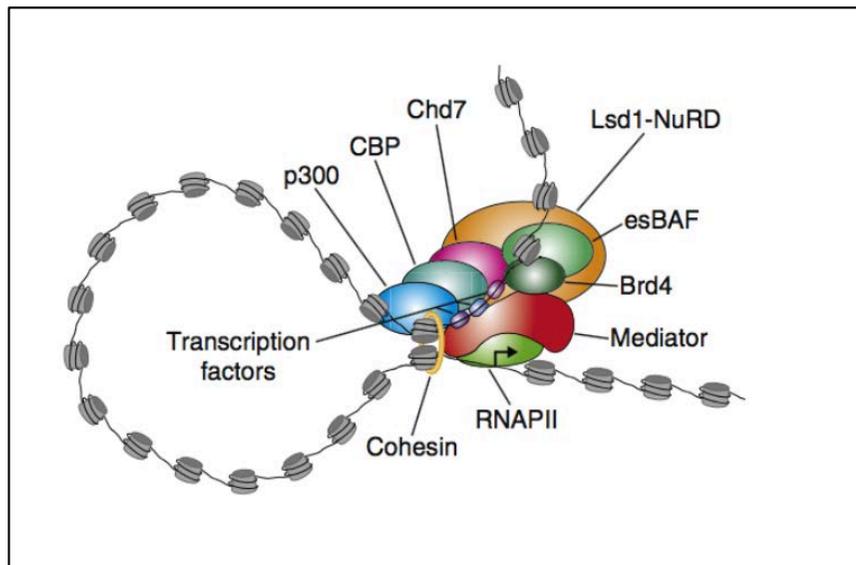
Denes Hnisz,<sup>1,3</sup> Brian J. Abraham,<sup>1,3</sup> Tong Ihn Lee,<sup>1,3</sup> Ashley Lau,<sup>1,2</sup> Violaine Saint-André,<sup>1</sup> Alla A. Sigova,<sup>1</sup> Heather A. Hoke,<sup>1,2</sup> and Richard A. Young<sup>1,2,\*</sup>

<sup>1</sup>Whitehead Institute for Biomedical Research, 9 Cambridge Center, Cambridge, MA 02142, USA

<sup>2</sup>Department of Biology, Massachusetts Institute of Technology, Cambridge, MA 02139, USA

Cell 155, 934–947, November 7, 2013 ©2013 Elsevier Inc.

\*Les composants de l'appareil transcriptionnel sont présents sur les super-enhancers, ainsi que les complexes cohésines et les modificateurs de la chromatine



# Les 'super-enhancers'

## Super-Enhancers in the Control of Cell Identity and Disease

Denes Hnisz,<sup>1,3</sup> Brian J. Abraham,<sup>1,3</sup> Tong Ihn Lee,<sup>1,3</sup> Ashley Lau,<sup>1,2</sup> Violaine Saint-André,<sup>1</sup> Alla A. Sigova,<sup>1</sup> Heather A. Hoke,<sup>1,2</sup> and Richard A. Young<sup>1,2,\*</sup>

<sup>1</sup>Whitehead Institute for Biomedical Research, 9 Cambridge Center, Cambridge, MA 02142, USA

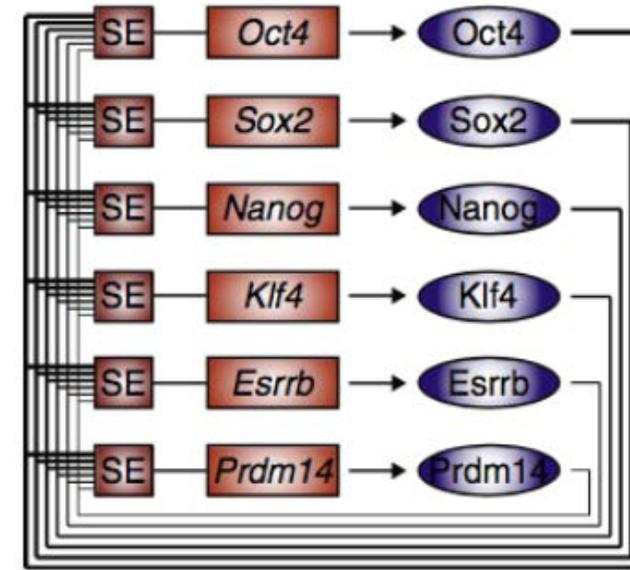
<sup>2</sup>Department of Biology, Massachusetts Institute of Technology, Cambridge, MA 02139, USA

Cell 155, 934–947, November 7, 2013 ©2013 Elsevier Inc.

### SUMMARY

Super-enhancers are large clusters of transcriptional enhancers that drive expression of genes that define cell identity. Improved understanding of the roles that super-enhancers play in biology would be afforded by knowing the constellation of factors that constitute these domains and by identifying super-enhancers across the spectrum of human cell types. We describe here the population of transcription factors, cofactors, chromatin regulators, and transcription apparatus occupying super-enhancers in embryonic stem cells and evidence that super-enhancers are highly transcribed. We produce a catalog of super-enhancers in a broad range of human cell types and find that super-enhancers associate with genes that control and define the biology of these cells. Interestingly, disease-associated variation is especially enriched in the super-enhancers of disease-relevant cell types. Furthermore, we find that cancer cells generate super-enhancers at oncogenes and other genes important in tumor pathogenesis. Thus, super-enhancers play key roles in human cell identity in health and in disease.

Super-  
enhancer    Gene    Protein



Cellules ES (feedback)



Les super-enhancers stimulent un haut niveau de transcription



Les super-enhancers sont associés à des gènes impliqués dans la différenciation cellulaire (linéage..)



Des variations dans des super-enhancers peuvent être associées à des pathologies (cancer)



# Les 'archipels de régulation'

- A. Les holo-enhancers
- B. Les super-enhancers
- C. Les archipels de régulation

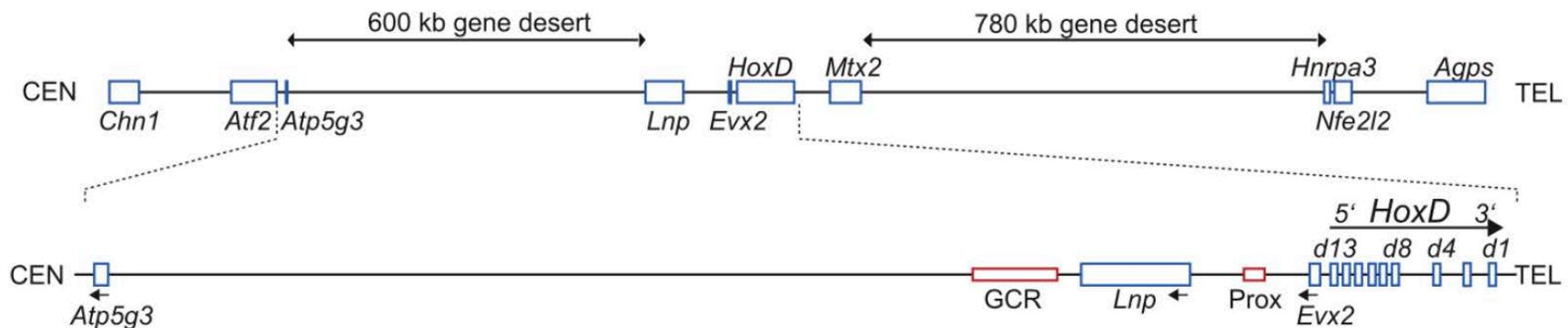
## A Regulatory Archipelago Controls *Hox* Genes Transcription in Digits

Thomas Montavon,<sup>1</sup> Natalia Soshnikova,<sup>2</sup> Bénédicte Mascrez,<sup>2</sup> Elisabeth Joye,<sup>1</sup> Laurie Thevenet,<sup>2</sup> Erik Splinter,<sup>3</sup> Wouter de Laat,<sup>3</sup> François Spitz,<sup>4</sup> and Denis Duboule<sup>1,2,\*</sup>

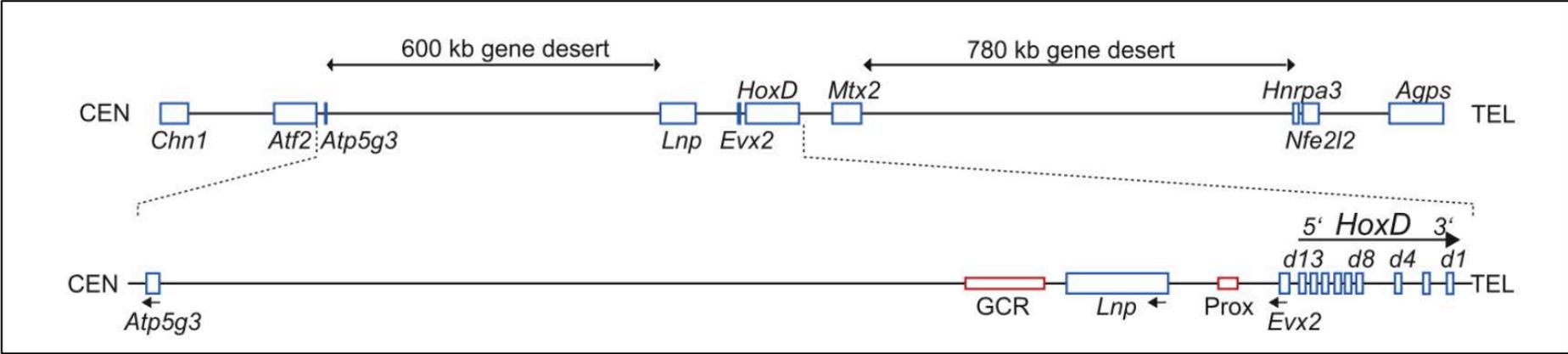
Cell 147, 1132–1145, November 23, 2011 ©2011 Elsevier Inc.

Transcription of *Hoxd* genes in digits integrates the collective activities of several regulatory elements. While some of these sequences did activate transcription in digits on their own, others may play a more structural role. 'Regulatory archipelagos' such as the one we characterize here may be numerous in vertebrate genomes and are different from other reported large scale regulatory controls at work e.g., at the  $\beta$ -globin locus, where various elements span a much shorter chromosomal segment (about 130 kb) and do not overlap with a gene desert (Tolhuis et al., 2002), or at the *Shh* locus, where activation in limb buds requires the association with a single remote enhancer, whose deletion abolishes transcription (Sagai et al., 2005; Amano et al., 2009).

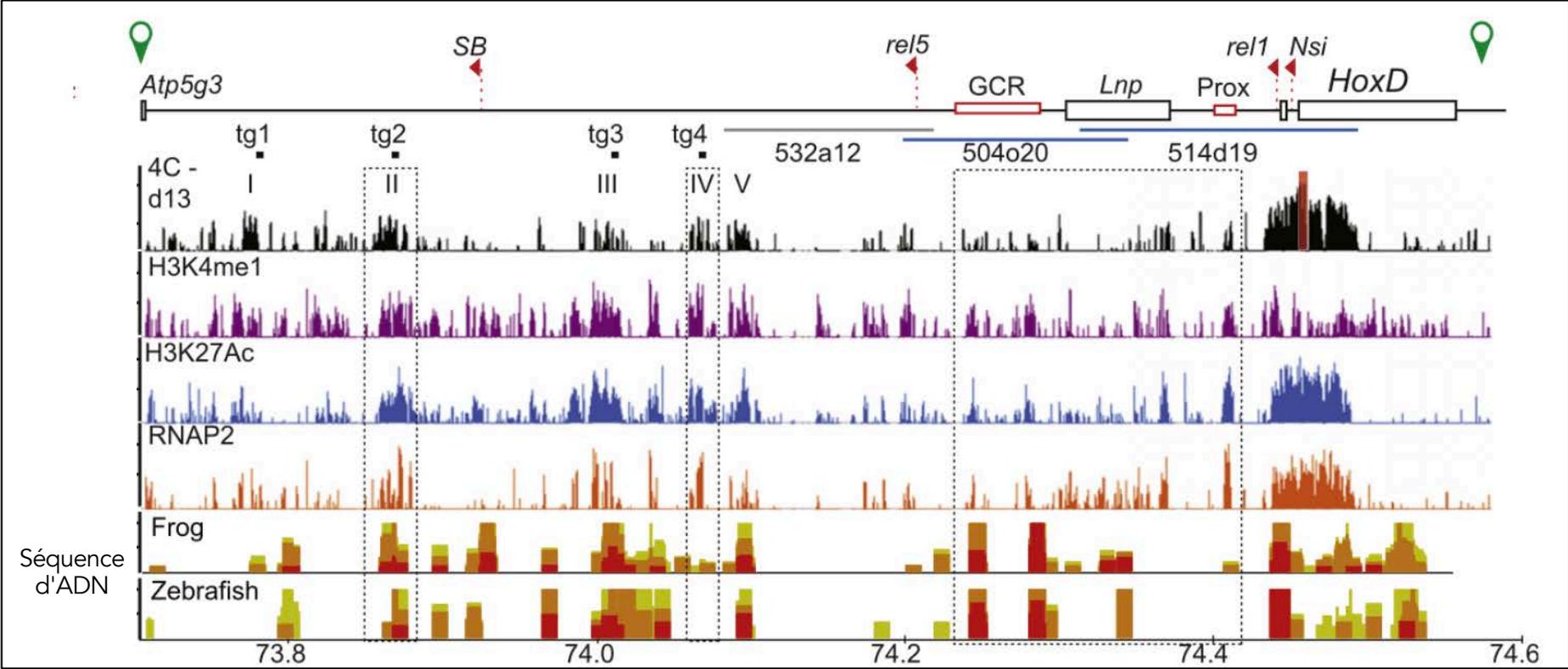
Le cluster de gènes *HoxD*: Plusieurs gènes cibles au milieu de deux grands déserts de gènes



# Les 'archipels de régulation' (identification)



Une combinaison de critères pour définir des îlots de régulation



# Les 'archipels de régulation' (approche génétique)

## A complex regulatory landscape involved in the development of mammalian external genitals

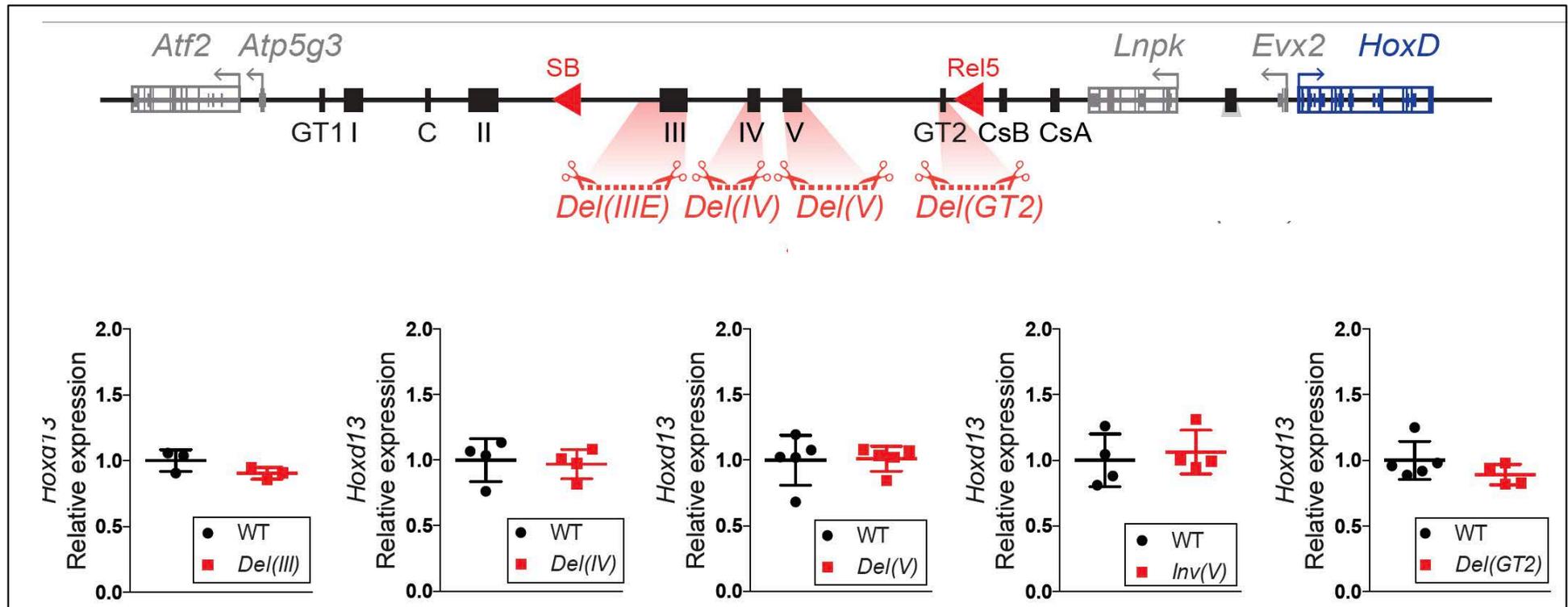
Amandio et al. (2020)



Ana Rita Amândio<sup>1</sup>, Lucille Lopez-Delisle<sup>1</sup>, Christopher Chase Bolt<sup>1</sup>,  
Bénédicte Mascrez<sup>2</sup>, Denis Duboule<sup>1,2,3\*</sup>

<sup>1</sup>School of Life Sciences, Ecole Polytechnique Fédérale de Lausanne (EPFL), Lausanne, Switzerland; <sup>2</sup>Department of Genetics and Evolution, University of Geneva, Geneva, Switzerland; <sup>3</sup>Collège de France, Paris, France

\*Les délétions singulières de séquences enhancers ont généralement peu d'effet sur la transcription du(des) gène(s) cible(s). *Résilience fonctionnelle*



*\*Organisation de paysages d'enhancers intégrés*

**\*Fonctionnement des enhancers, facteurs pionniers et grammaire**

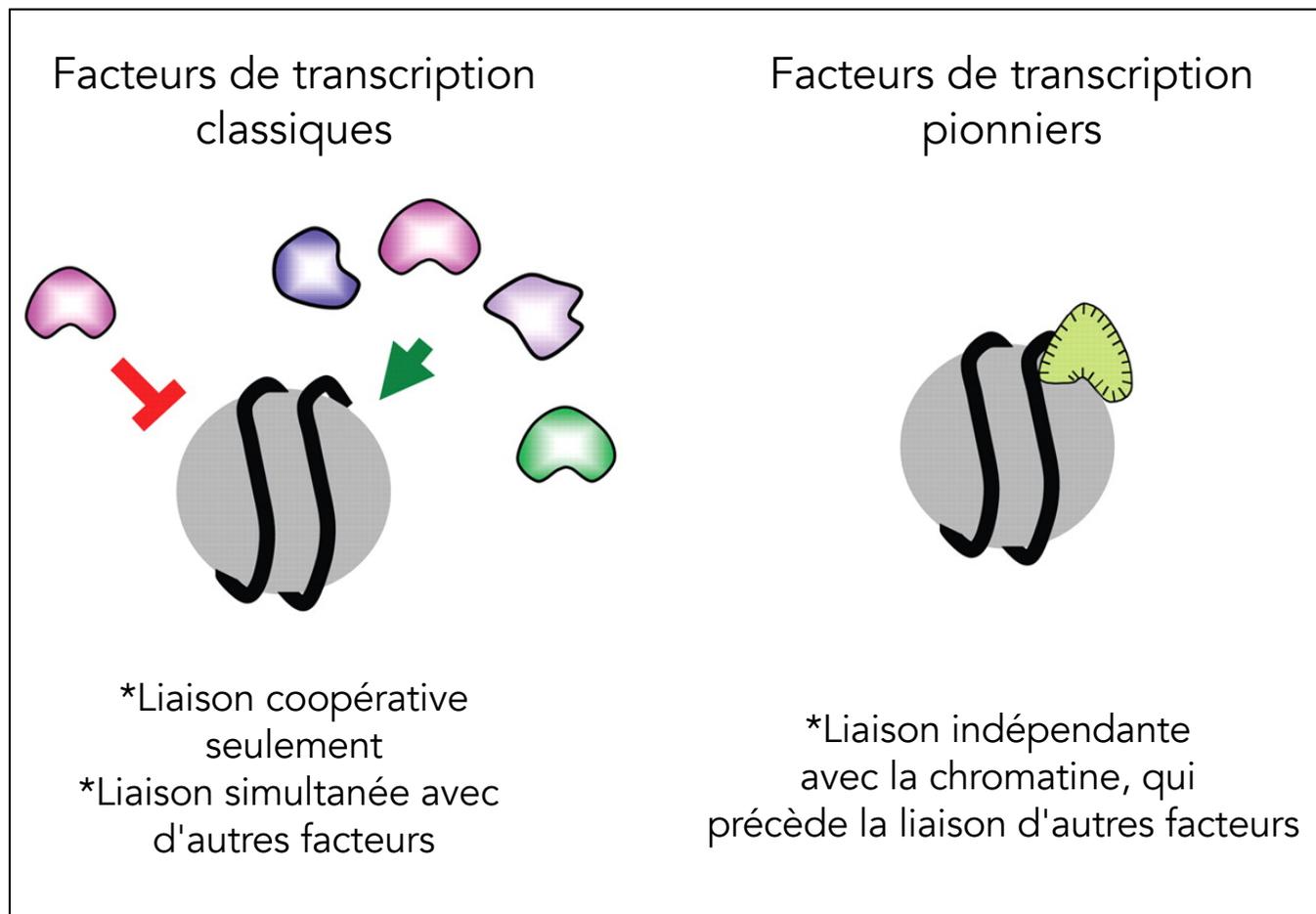
*\*Evolution des séquences enhancers*

*\*Pathologies liées à des séquences enhancers*

## Pioneer transcription factors: establishing competence for gene expression

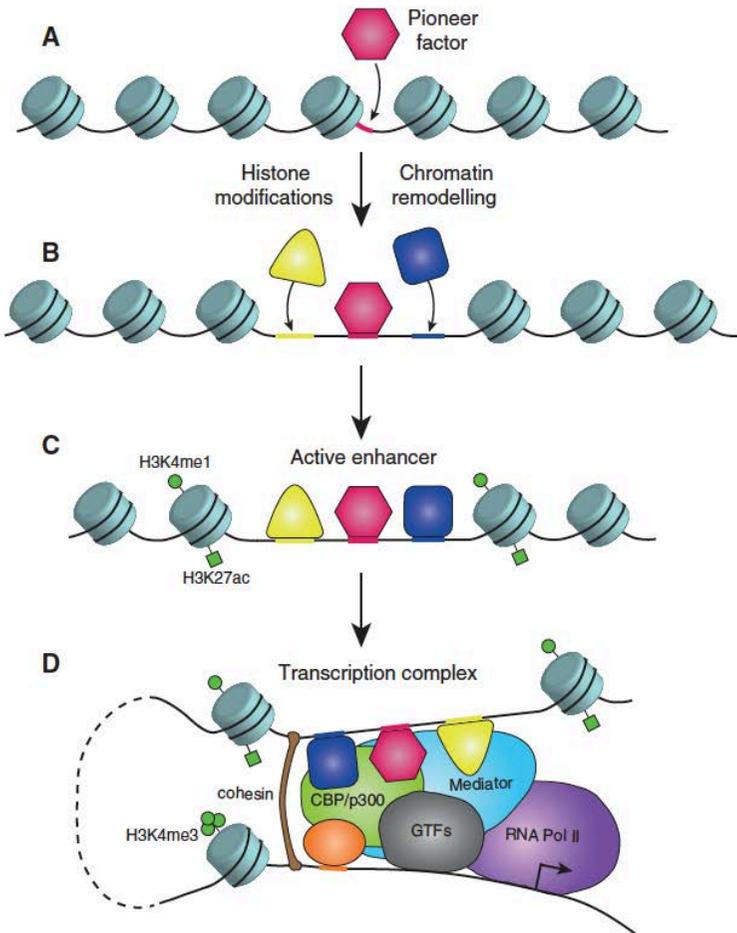
Kenneth S. Zaret<sup>1,3</sup> and Jason S. Carroll<sup>2</sup>

GENES & DEVELOPMENT 25:2227–2241 © 2011 by Cold Spring Harbor Laboratory Press



# Mobilisation des enhancers, facteurs pionniers

\*Principe général du recrutement et du fonctionnement d'un enhancer



Reconnaissance par  
un **facteur pionnier**



Modifications locales de la  
chromatine, réorganisation..



Liaisons d'autres facteurs  
enhancer 'actif'



Contact avec le promoteur  
activation de la transcription

# Contact enhancer-promoteur et transcription

## Feature Review

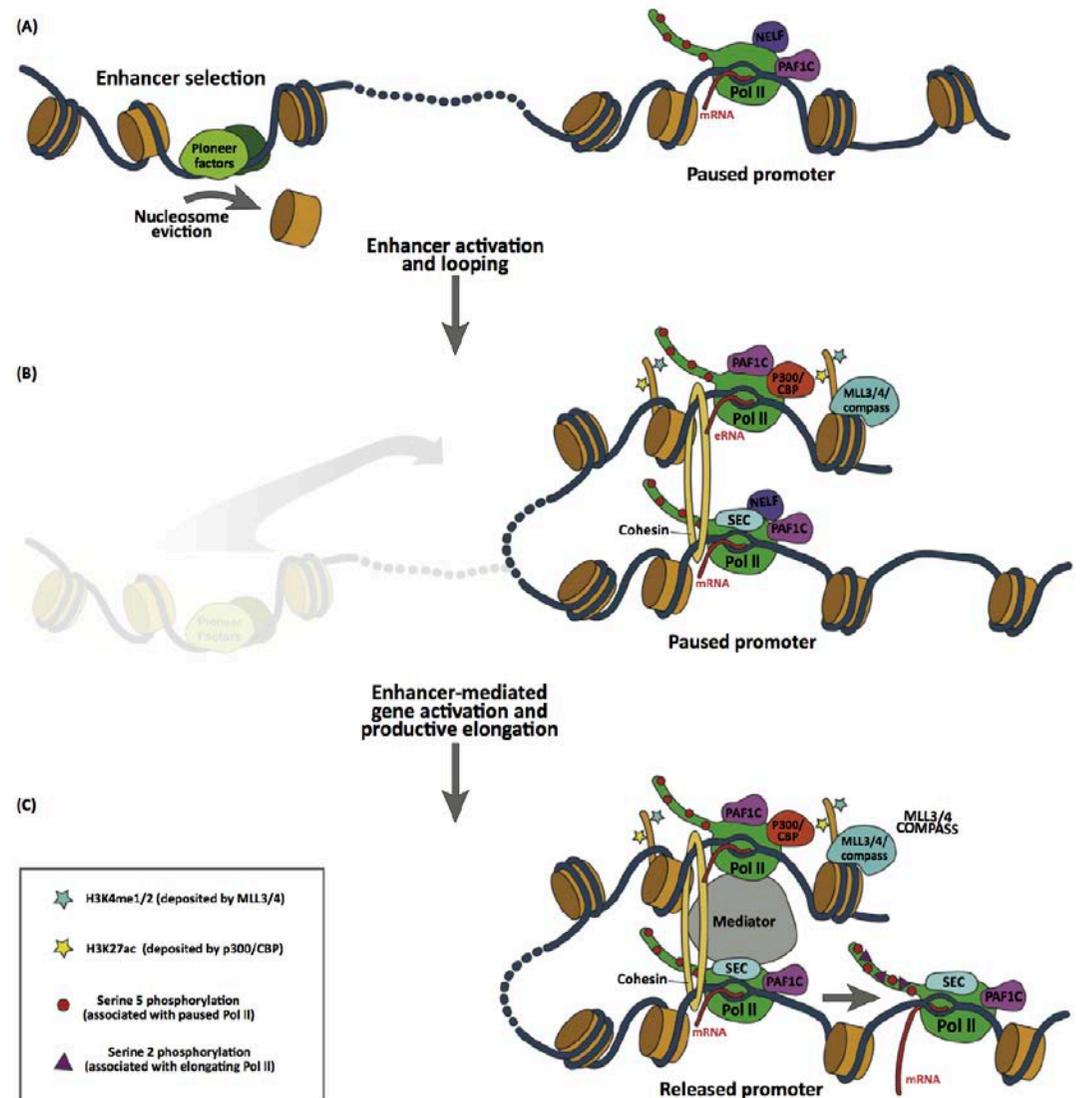
### Enhancer Logic and Mechanics in Development and Disease

Ryan Rickels<sup>1</sup> and Ali Shilatifard<sup>1,\*</sup>

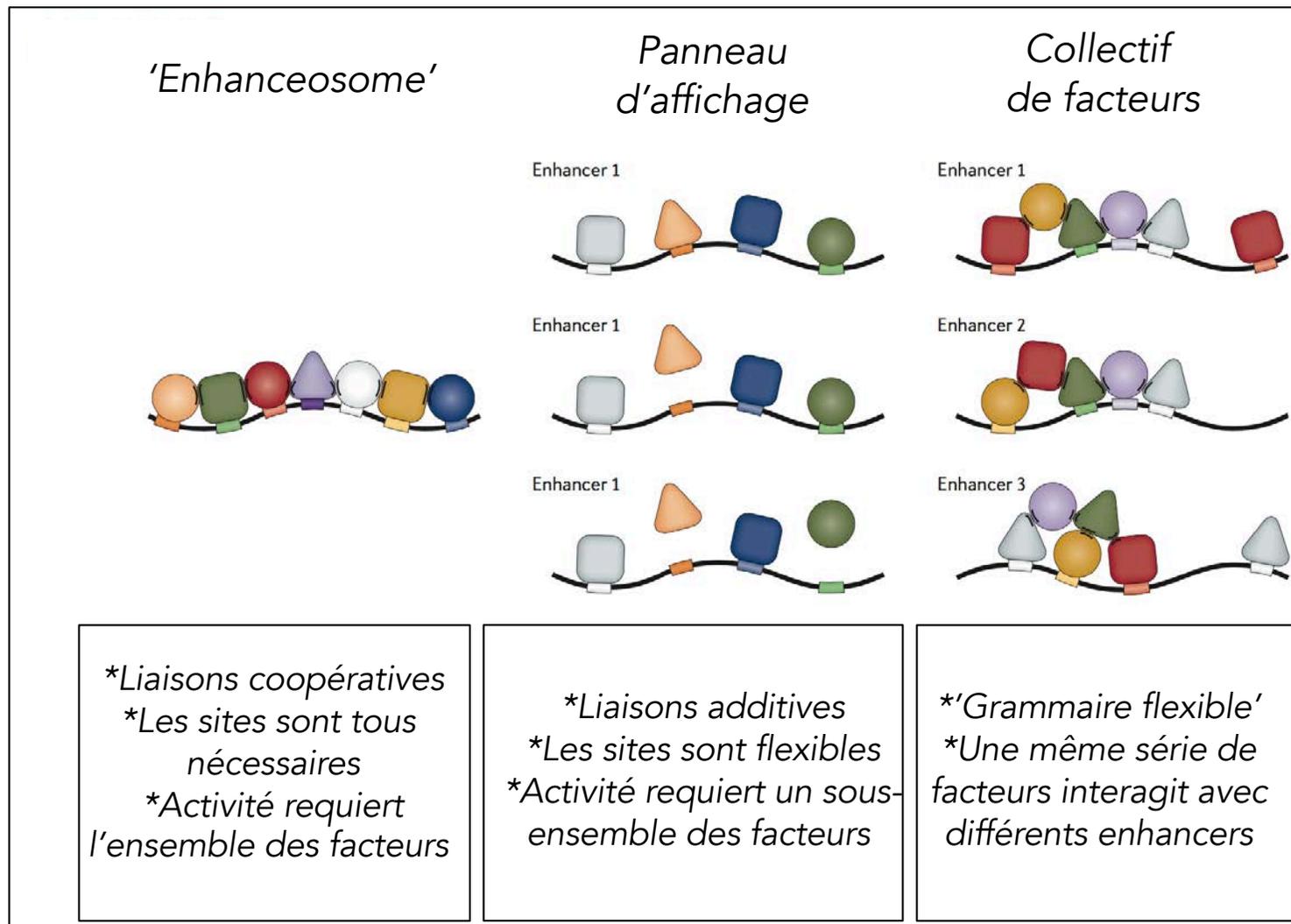
Trends in Cell Biology, August 2018, Vol. 28, No. 8 <https://doi.org/10.1016/j.tcb.2018.04.001>  
© 2018 Published by Elsevier Ltd.

- \*Facteur pionnier, éviction de nucléosome
- \*Promoteur (Pol II) en mode pause
- \*Looping et contact (cohesin, CTCF..)
- \*Recrutement modificateurs histones (p300)
- \*Recrutement du complexe Mediateur
- \*Démarrage de la Pol II, élongation

NELF: Negative elongation complex  
SEC: Super elongation complex  
TF: Transcription factors



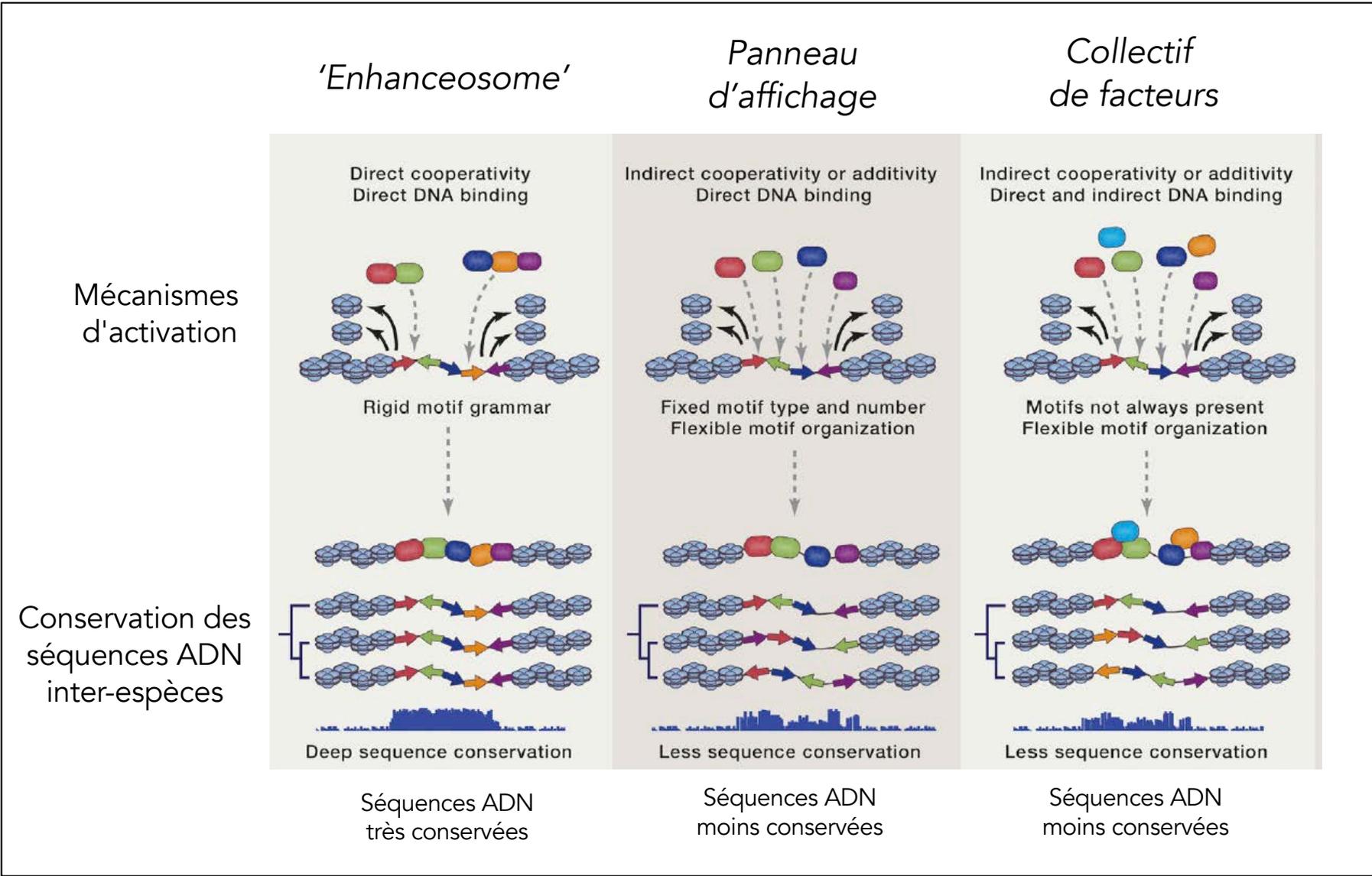
# Grammaire des enhanceurs (spécificité)



Les différents types de liaisons de facteurs correspondent à des niveaux différents de conservation des séquences cibles...

# Grammaire des enhanceurs (spécificité)

Long, Prescott and Wysocka, Cell, 2016



*\*Organisation de paysages d'enhancers intégrés*

*\*Fonctionnement des enhancers, facteurs pionniers et grammaire*

*\*Evolution des séquences enhancers*

*\*Pathologies liées à des séquences enhancers*

# Evolution des séquences enhancers

## \*Approche par cas particuliers:

S. Carroll, B. Prud'Homme et N. Gompel labs

Transcription factor

Binding sites

Black abdominal band

Yellow gene

Wing spot

New binding site

Lost binding site

*Drosophile*

\*2 Enhancers en amont du gène *Yellow*

\*Modulations quantitatives de ces enhancers donnent des pigmentations différentes des ailes et de l'abdomen

David Kingsley lab

*Epinoche*

\*Paysage de régulation autour du gène PITX1, dont un enhancer 'nageoire'

\*l'absence de cet enhancer modifie l'expression du gène et supprime les épines ventrales

# Evolution des séquences enhancers

\*Approche au niveau des génomes entiers

## Enhancer Evolution across 20 Mammalian Species

Diego Villar,<sup>1,11</sup> Camille Berthelot,<sup>2,11</sup> Sarah Aldridge,<sup>1,12</sup> Tim F. Rayner,<sup>1</sup> Margus Lukk,<sup>1</sup> Miguel Pignatelli,<sup>2</sup> Thomas J. Park,<sup>3</sup> Robert Deaville,<sup>4</sup> Jonathan T. Erichsen,<sup>5</sup> Anna J. Jasinska,<sup>6</sup> James M.A. Turner,<sup>7</sup> Mads F. Bertelsen,<sup>8</sup> Elizabeth P. Murchison,<sup>9</sup> Paul Flicek,<sup>2,10,\*</sup> and Duncan T. Odom<sup>1,10,\*</sup>

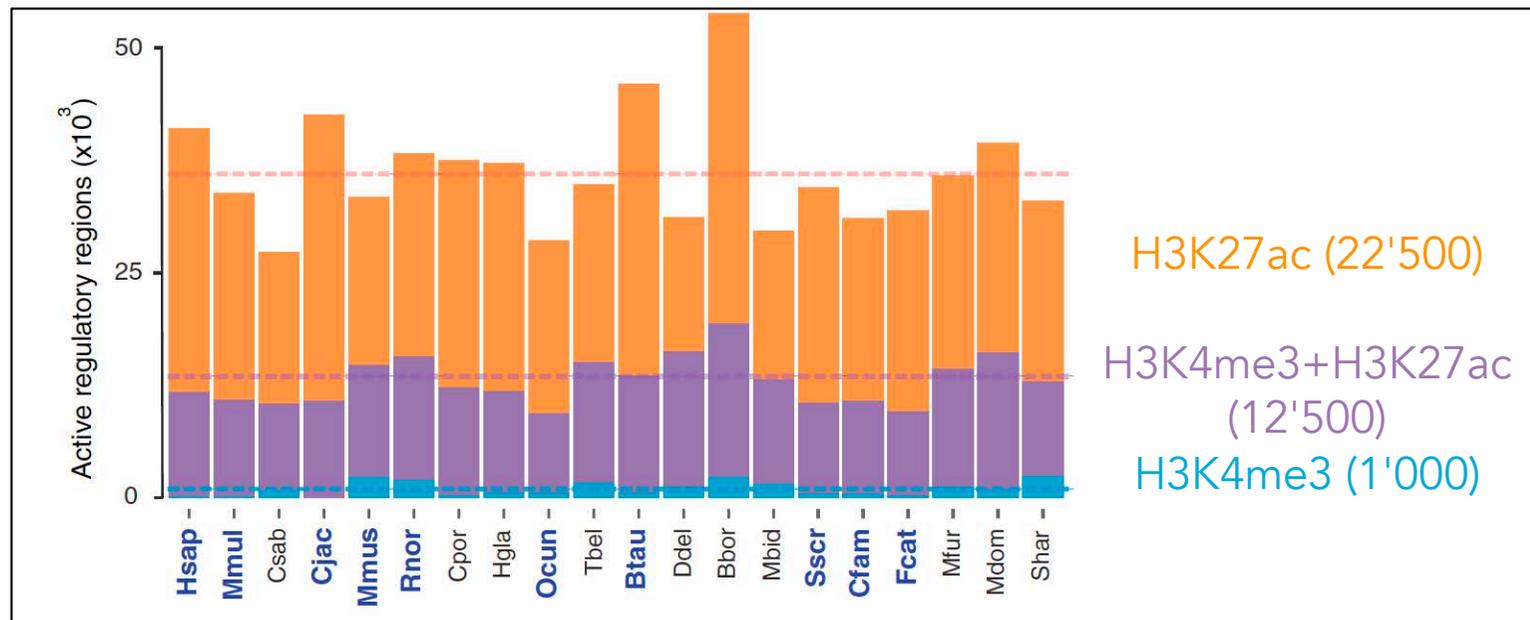
Cell 160, 554–566, January 29, 2015 ©2015 The Authors

Cell

\*Sélection de 20 espèces de **mammifères** (bonne couverture du taxon)

\*Sélection du **foie** comme tissu test

\*Sélection de deux marques épigénétiques: **H3K27ac** pour le repérage des **séquences enhancers** et **H3K4me3** pour le marquage des **séquences promoteurs**



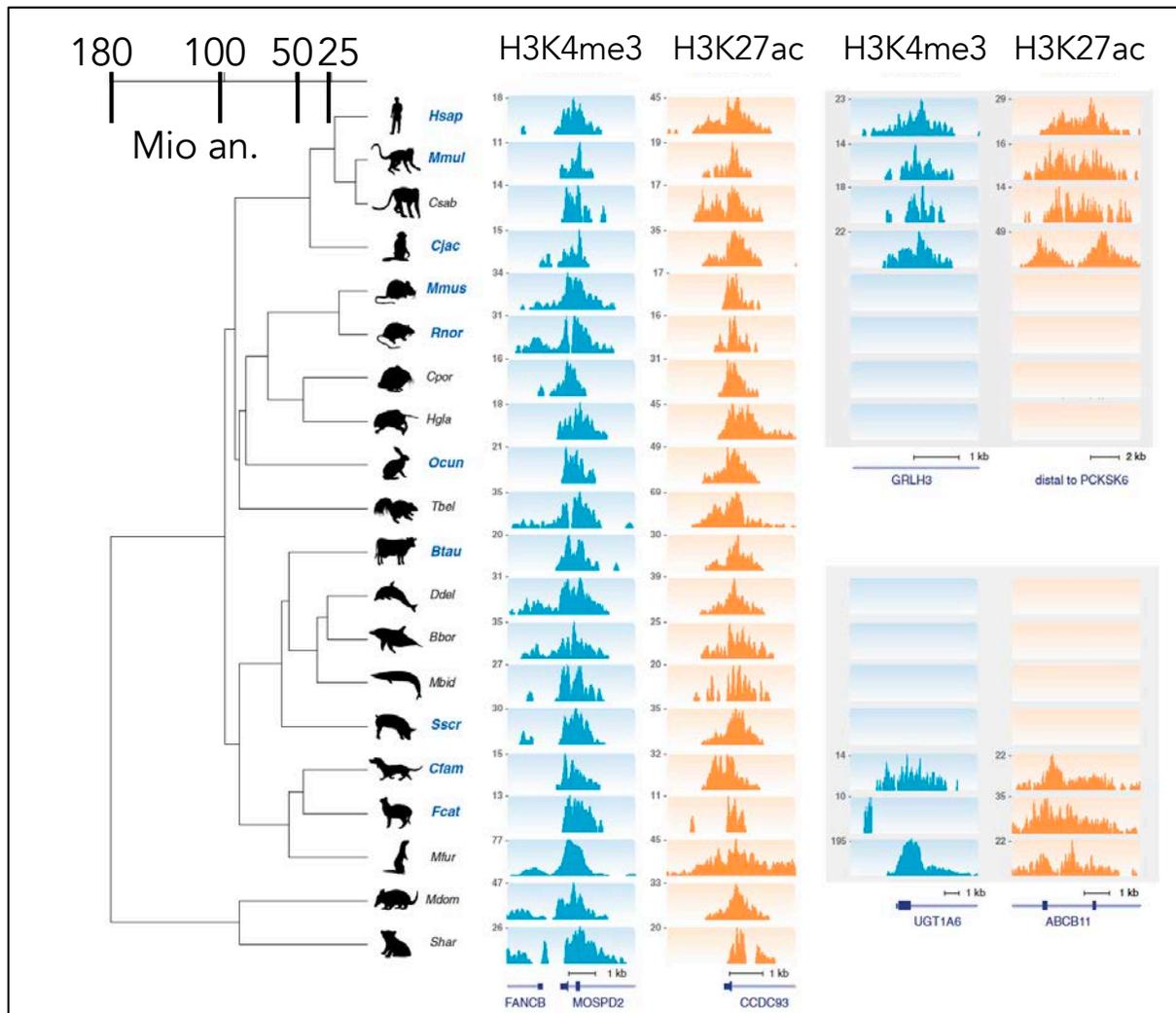
# Evolution des séquences enhancers

## Enhancer Evolution across 20 Mammalian Species

Diego Villar,<sup>1,11</sup> Camille Berthelot,<sup>2,11</sup> Sarah Aldridge,<sup>1,12</sup> Tim F. Rayner,<sup>1</sup> Margus Lukk,<sup>1</sup> Miguel Pignatelli,<sup>2</sup> Thomas J. Park,<sup>3</sup> Robert Deaville,<sup>4</sup> Jonathan T. Erichsen,<sup>5</sup> Anna J. Jasinska,<sup>6</sup> James M.A. Turner,<sup>7</sup> Mads F. Bertelsen,<sup>8</sup> Elizabeth P. Murchison,<sup>9</sup> Paul Flicek,<sup>2,10,\*</sup> and Duncan T. Odom<sup>1,10,\*</sup>

Cell 160, 554–566, January 29, 2015 ©2015 The Authors

Cell



⇒ Signaux spécifiques aux primates

⇒ Signaux spécifiques aux carnivores

# Evolution des séquences enhancers

## Enhancer Evolution across 20 Mammalian Species

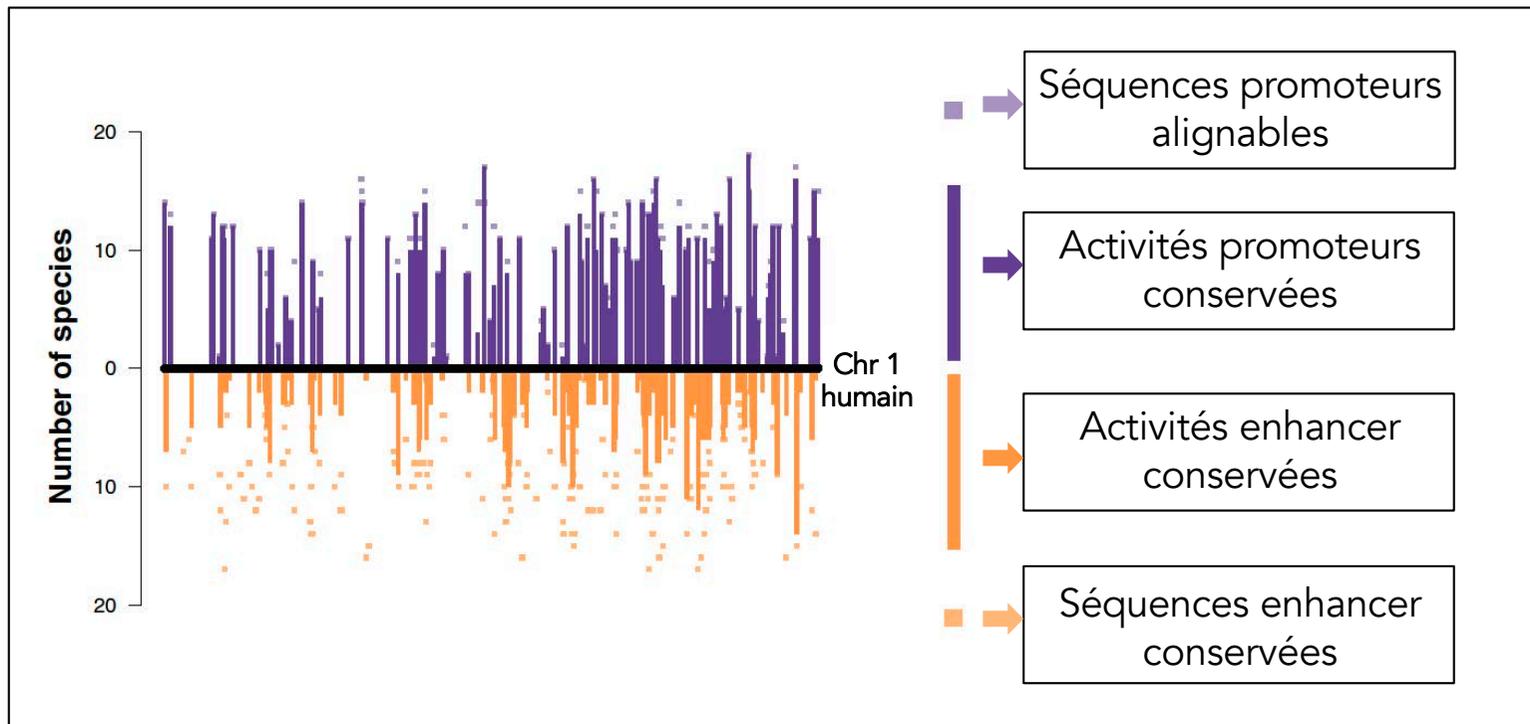
Diego Villar,<sup>1,11</sup> Camille Berthelot,<sup>2,11</sup> Sarah Aldridge,<sup>1,12</sup> Tim F. Rayner,<sup>1</sup> Margus Lukk,<sup>1</sup> Miguel Pignatelli,<sup>2</sup> Thomas J. Park,<sup>3</sup> Robert Deaville,<sup>4</sup> Jonathan T. Erichsen,<sup>5</sup> Anna J. Jasinska,<sup>6</sup> James M.A. Turner,<sup>7</sup> Mads F. Bertelsen,<sup>8</sup> Elizabeth P. Murchison,<sup>9</sup> Paul Flicek,<sup>2,10,\*</sup> and Duncan T. Odom<sup>1,10,\*</sup>

Cell 160, 554–566, January 29, 2015 ©2015 The Authors

Cell

\*Les séquences et activité promoteurs sont très conservées

\*Les activités enhancers évoluent rapidement



# Evolution des séquences enhancers

## Enhancer Evolution across 20 Mammalian Species

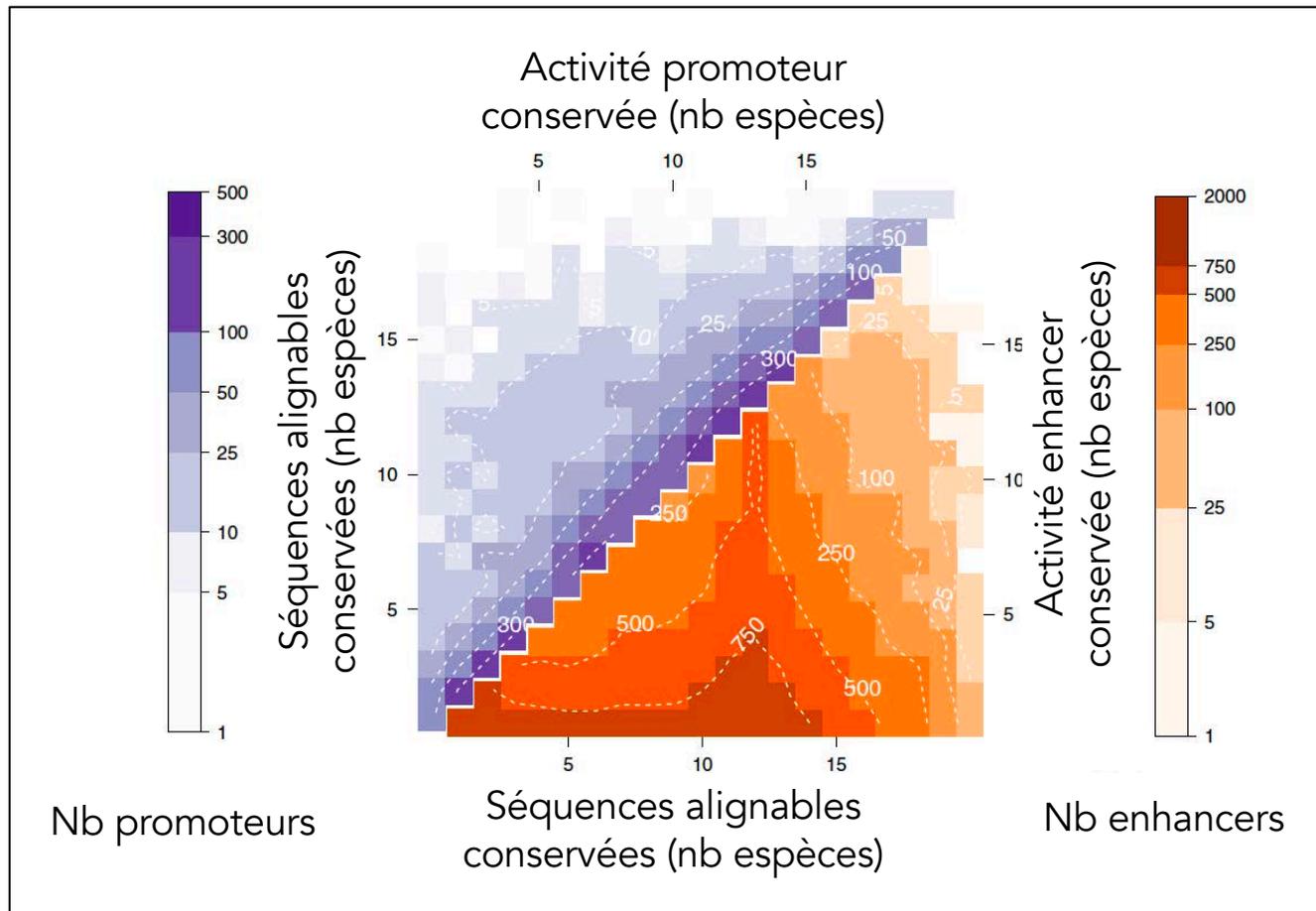
Diego Villar,<sup>1,11</sup> Camille Berthelot,<sup>2,11</sup> Sarah Aldridge,<sup>1,12</sup> Tim F. Rayner,<sup>1</sup> Margus Lukk,<sup>1</sup> Miguel Pignatelli,<sup>2</sup> Thomas J. Park,<sup>3</sup> Robert Deaville,<sup>4</sup> Jonathan T. Erichsen,<sup>5</sup> Anna J. Jasinska,<sup>6</sup> James M.A. Turner,<sup>7</sup> Mads F. Bertelsen,<sup>8</sup> Elizabeth P. Murchison,<sup>9</sup> Paul Flicek,<sup>2,10,\*</sup> and Duncan T. Odom<sup>1,10,\*</sup>

Cell 160, 554–566, January 29, 2015 ©2015 The Authors

Cell

\*Les séquences et activités promoteurs sont très conservées

\*Les activités enhancers évoluent rapidement



Clé: La plupart des séquences promoteurs conservées (alignables) ont une activité promoteur dans la plupart des espèces.

Clé: La plupart des séquences 'enhancers' conservées (alignables) n'ont pas d'activité enhancers dans la plupart des espèces.

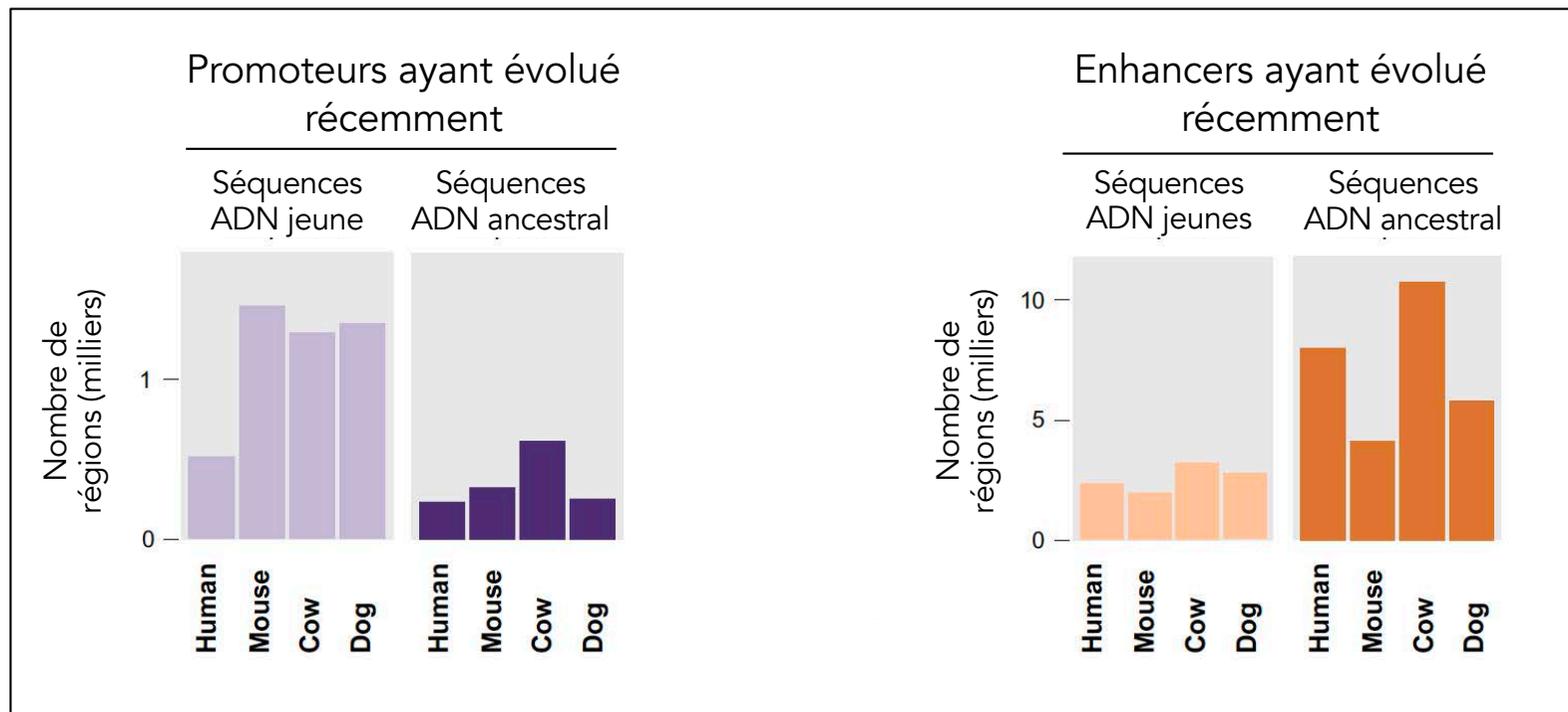
# Evolution des séquences enhancers

## Enhancer Evolution across 20 Mammalian Species

Diego Villar,<sup>1,11</sup> Camille Berthelot,<sup>2,11</sup> Sarah Aldridge,<sup>1,12</sup> Tim F. Rayner,<sup>1</sup> Margus Lukk,<sup>1</sup> Miguel Pignatelli,<sup>2</sup> Thomas J. Park,<sup>3</sup> Robert Deaville,<sup>4</sup> Jonathan T. Erichsen,<sup>5</sup> Anna J. Jasinska,<sup>6</sup> James M.A. Turner,<sup>7</sup> Mads F. Bertelsen,<sup>8</sup> Elizabeth P. Murchison,<sup>9</sup> Paul Flicek,<sup>2,10,\*</sup> and Duncan T. Odom<sup>1,10,\*</sup>

Cell 160, 554–566, January 29, 2015 ©2015 The Authors

Cell



\*Les 'nouvelles' séquences promoteurs dérivent en majorité d'ADN 'jeune' (non conservé, repeats etc)

\*Les 'nouvelles' séquences enhancers dérivent en majorité d'ADN 'ancestral' (co-optation) (séquences présentes partout mais utilisées différemment)

*\*Organisation de paysages d'enhancers intégrés*

*\*Fonctionnement des enhancers, facteurs pionniers et grammaire*

*\*Evolution des séquences enhancers*

**\*Pathologies liées à des séquences enhancers**

## Plusieurs cas de figure

\***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)

## Plusieurs cas de figure

\*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)

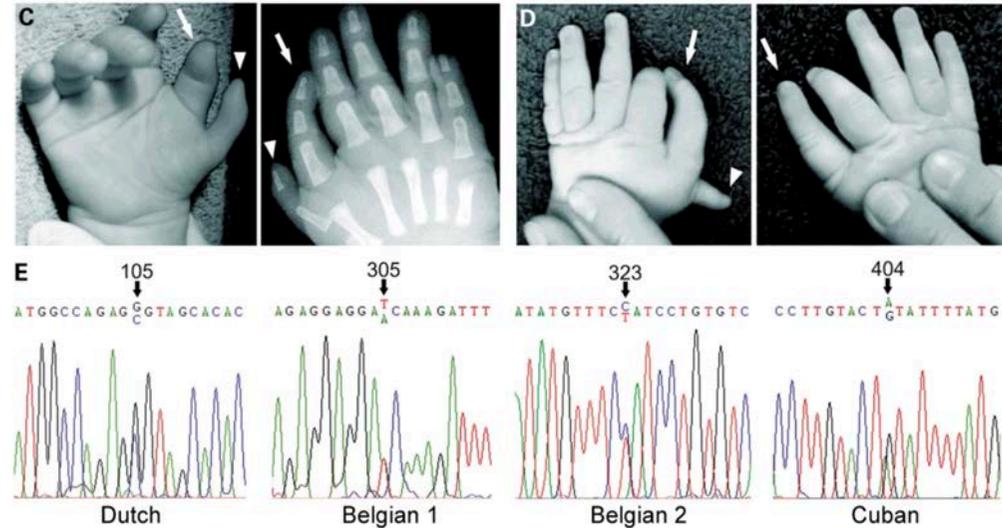
\*Délétion d'une séquence enhancer (par exemple un enhancer des gènes humains *Dlx5* et *Dlx6*)

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

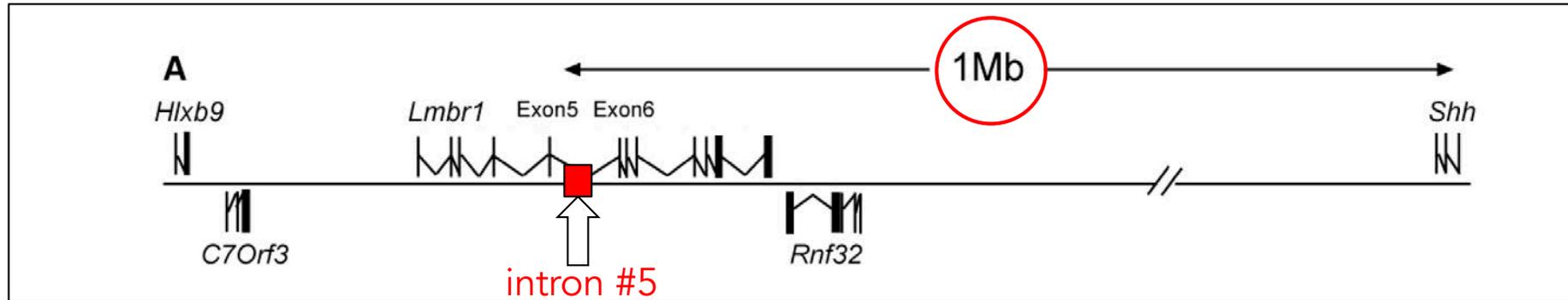
# Mutations dans une séquence enhancer (*Shh*)

## A long-range *Shh* enhancer regulates expression in the developing limb and fin and is associated with preaxial polydactyly

Laura A. Lettice<sup>1</sup>, Simon J.H. Heaney<sup>1</sup>, Lorna A. Purdie<sup>1</sup>, Li Li<sup>2</sup>, Philippe de Beer<sup>3</sup>, Ben A. Oostra<sup>2</sup>, Debbie Goode<sup>4</sup>, Greg Elgar<sup>4</sup>, Robert E. Hill<sup>1,\*</sup> and Esther de Graaff<sup>2</sup>



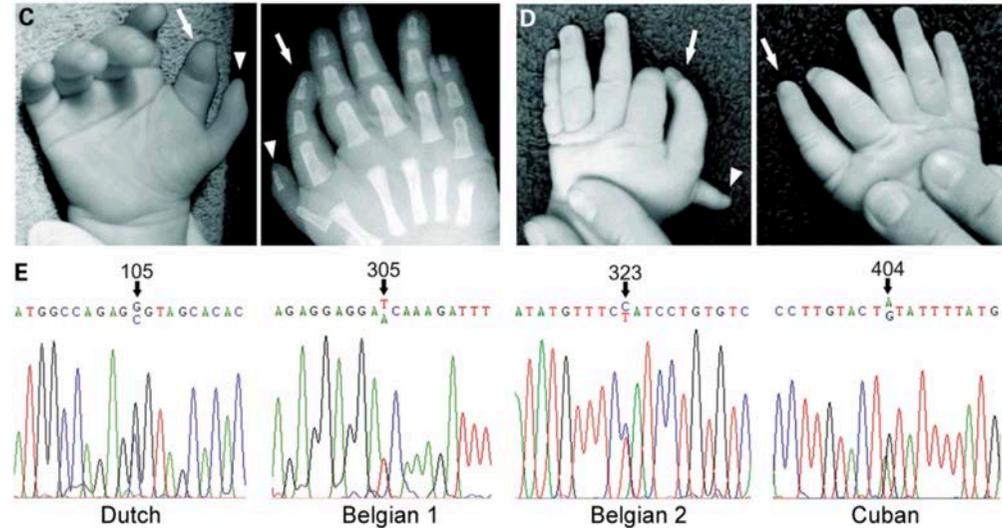
Polydactylie pré-axiale



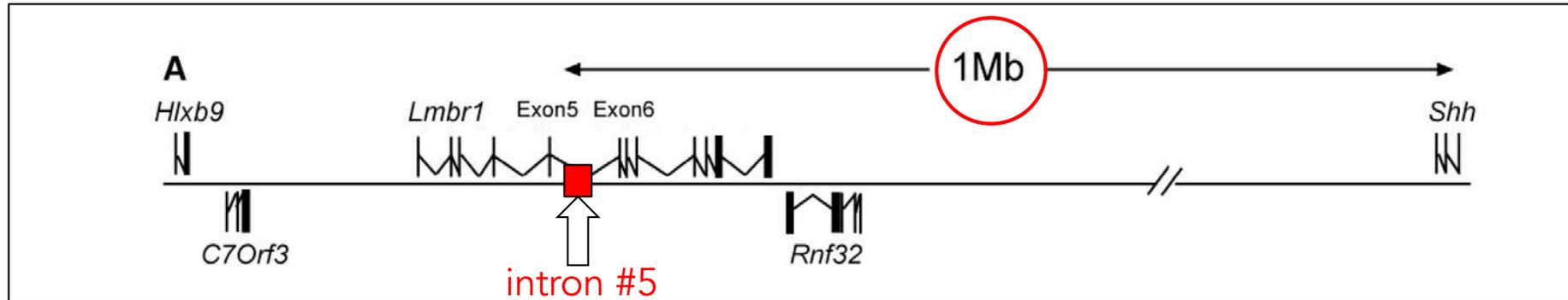
# Mutations dans une séquence enhancer (*Shh*)

## A long-range *Shh* enhancer regulates expression in the developing limb and fin and is associated with preaxial polydactyly

Laura A. Lettice<sup>1</sup>, Simon J.H. Heaney<sup>1</sup>, Lorna A. Purdie<sup>1</sup>, Li Li<sup>2</sup>, Philippe de Beer<sup>3</sup>, Ben A. Oostra<sup>2</sup>, Debbie Goode<sup>4</sup>, Greg Elgar<sup>4</sup>, Robert E. Hill<sup>1,\*</sup> and Esther de Graaff<sup>2</sup>



Polydactylie pré-axiale



Des mutations qui sont aussi responsables de la polydactylie des chats (les chats de Hemingway)



[https://fr.wikipedia.org/wiki/Chat\\_polydactyle](https://fr.wikipedia.org/wiki/Chat_polydactyle)

## Plusieurs cas de figure

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

*\*Mutations dans la séquence des enhanceurs 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)*

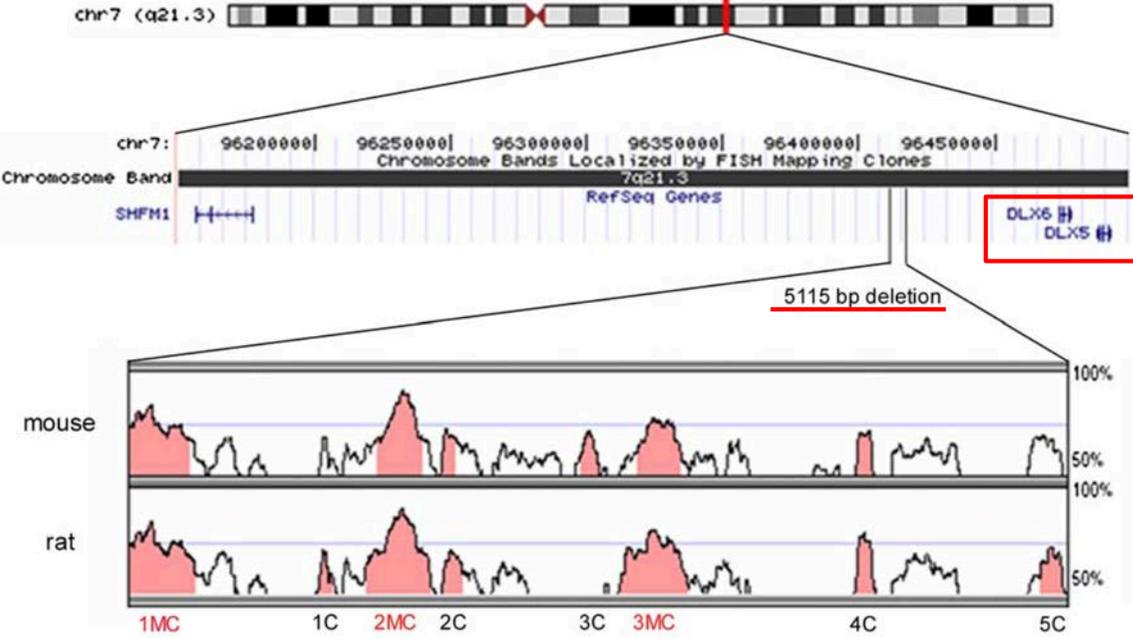
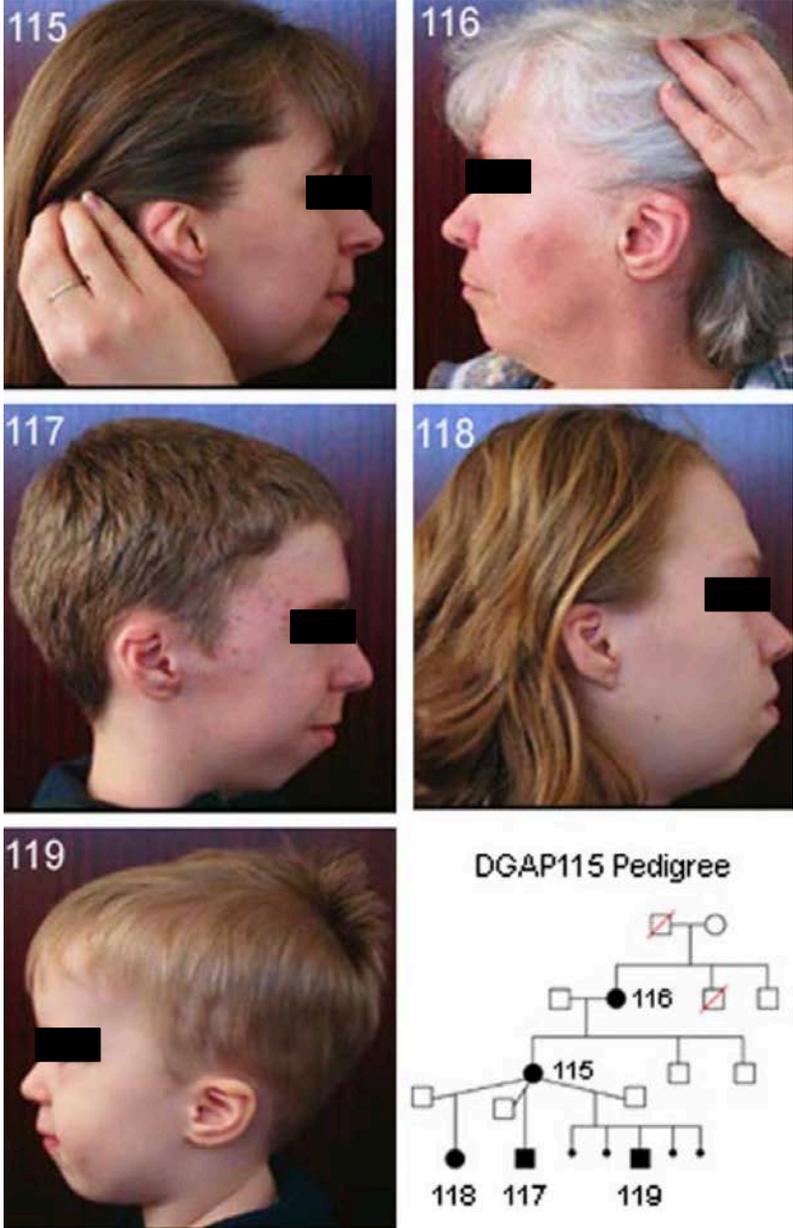
# Délétion d'une séquence enhancer (les gènes *Dlx5-6*)

Hum Genet (2010) 127:19–31  
DOI 10.1007/s00439-009-0736-4

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 Fritzscht · Cynthia C. Morton



# Délétion d'une séquence enhancer (les gènes *Dlx5-6*)

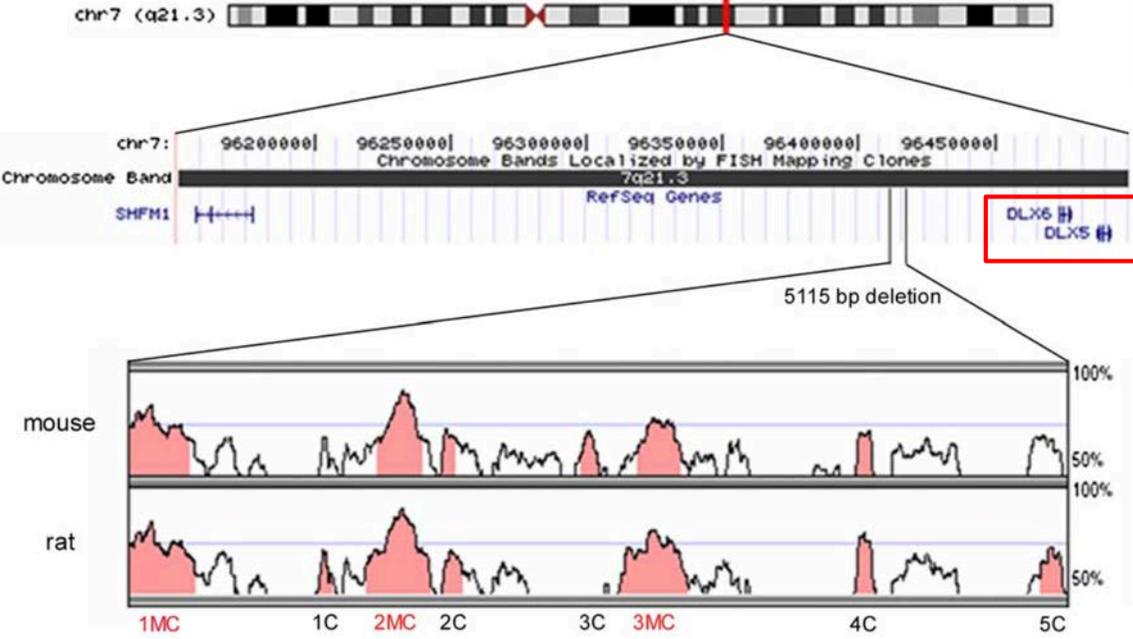
Hum Genet (2010) 127:19–31  
DOI 10.1007/s00439-009-0736-4

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 Fritzsch · 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.



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

## Plusieurs cas de figure

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

*\*Mutations dans la séquence de enhanceurs 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 (exemples du TAD EPHA4)**

# Remaniements chromosomiques

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

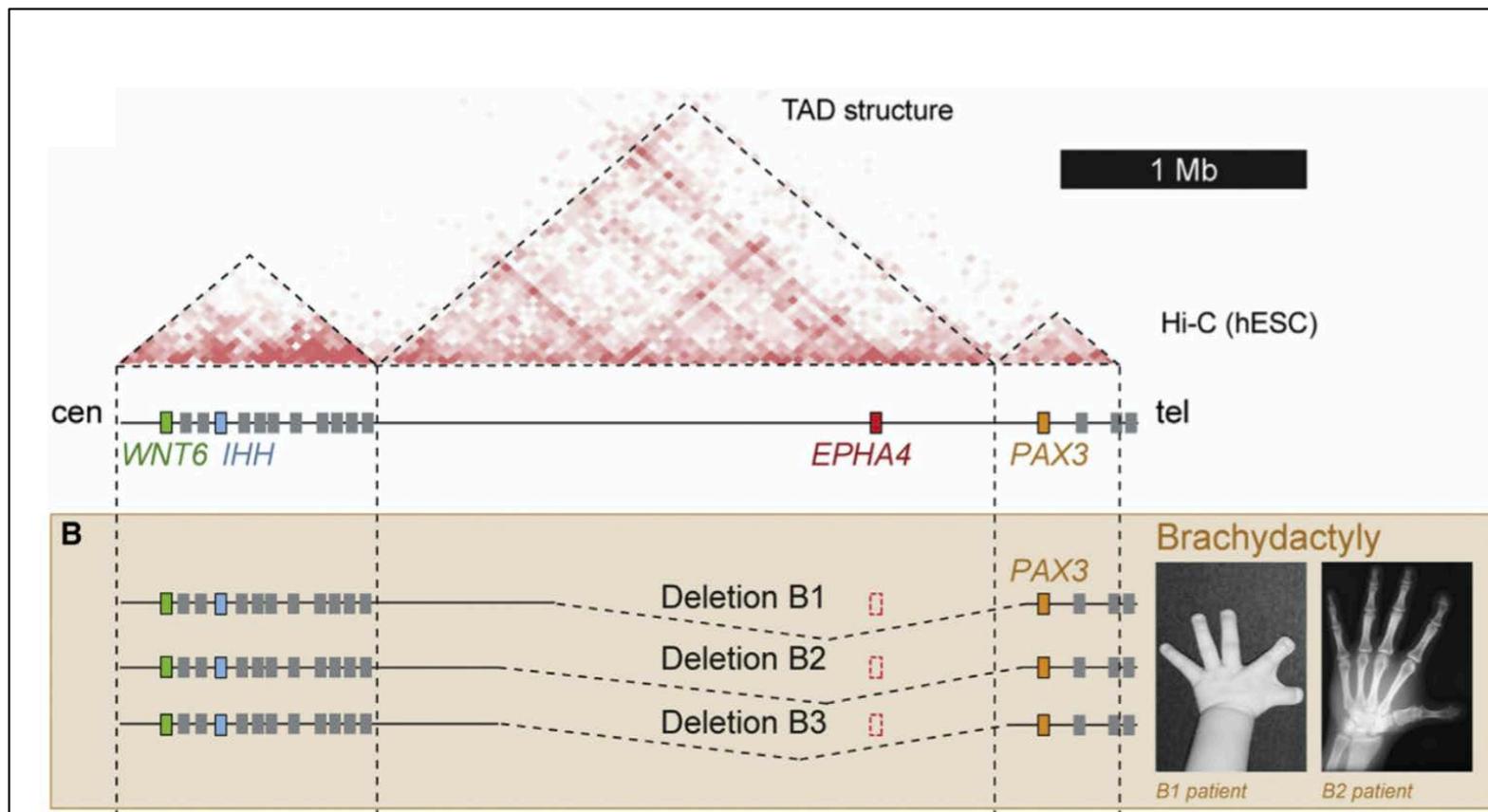
Cell

Darío G. Lupiáñez,<sup>1,2</sup> Katerina Kraft,<sup>1,2</sup> Verena Heinrich,<sup>2</sup> Peter Krawitz,<sup>1,2</sup> Francesco Brancati,<sup>3</sup> Eva Klopocki,<sup>4</sup> Denise Horn,<sup>2</sup> Hülya Kayserili,<sup>5</sup> John M. Opitz,<sup>6</sup> Renata Laxova,<sup>6</sup> Fernando Santos-Simarro,<sup>7,8</sup> Brigitte Gilbert-Dussardier,<sup>9</sup> Lars Wittler,<sup>10</sup> Marina Borschiwer,<sup>1</sup> Stefan A. Haas,<sup>11</sup> Marco Osterwalder,<sup>12</sup> Martin Franke,<sup>1,2</sup> Bernd Timmermann,<sup>13</sup> Jochen Hecht,<sup>1,14</sup> Malte Spielmann,<sup>1,2,14</sup> Axel Visel,<sup>12,15,16</sup> and Stefan Mundlos<sup>1,2,14,\*</sup>

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

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

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



# Remaniements chromosomiques

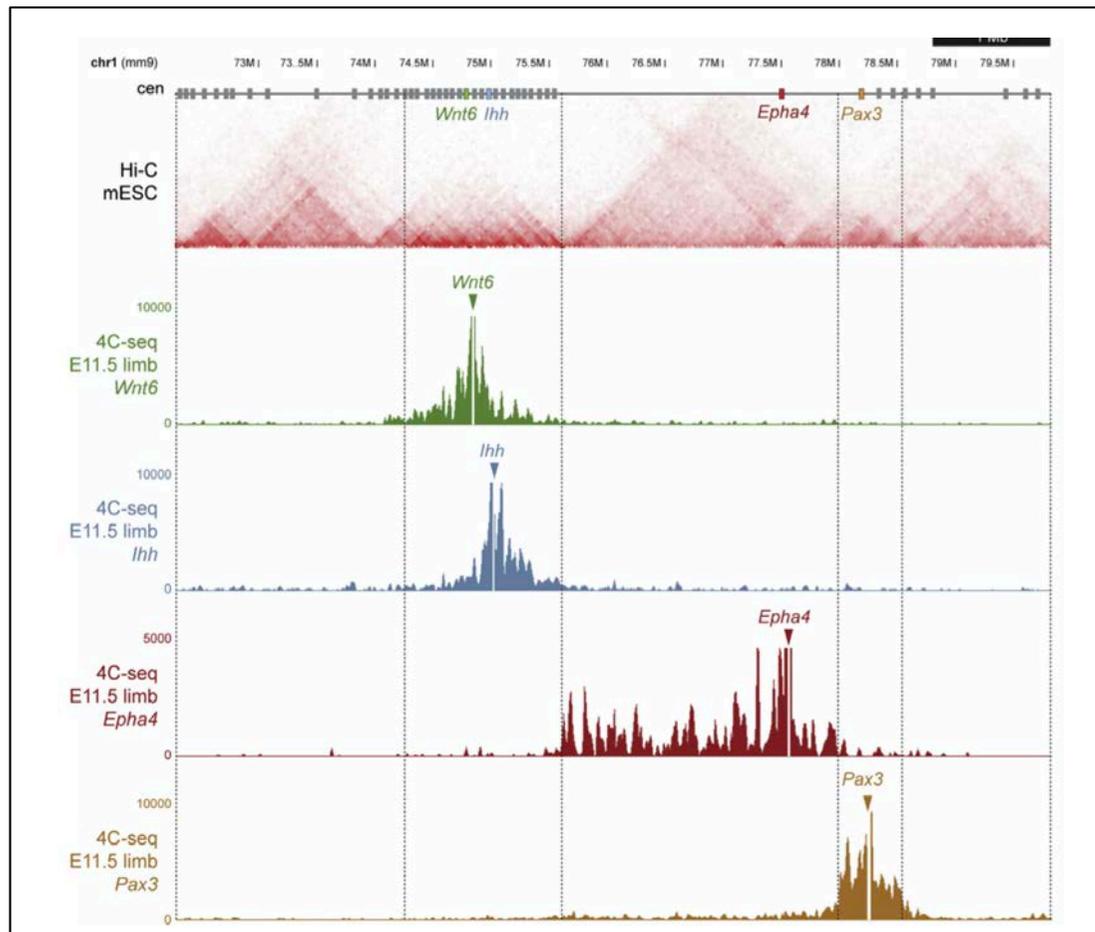
## Disruptions of Topological Chromatin Domains Cause Pathogenic Rewiring of Gene-Enhancer Interactions

Cell

Darío G. Lupiáñez,<sup>1,2</sup> Katerina Kraft,<sup>1,2</sup> Verena Heinrich,<sup>2</sup> Peter Krawitz,<sup>1,2</sup> Francesco Brancati,<sup>3</sup> Eva Klopocki,<sup>4</sup> Denise Horn,<sup>2</sup> Hülya Kayserili,<sup>5</sup> John M. Opitz,<sup>6</sup> Renata Laxova,<sup>6</sup> Fernando Santos-Simarro,<sup>7,8</sup> Brigitte Gilbert-Dussardier,<sup>9</sup> Lars Wittler,<sup>10</sup> Marina Borschiwer,<sup>1</sup> Stefan A. Haas,<sup>11</sup> Marco Osterwalder,<sup>12</sup> Martin Franke,<sup>1,2</sup> Bernd Timmermann,<sup>13</sup> Jochen Hecht,<sup>1,14</sup> Malte Spielmann,<sup>1,2,14</sup> Axel Visel,<sup>12,15,16</sup> and Stefan Mundlos<sup>1,2,14,\*</sup>

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

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



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

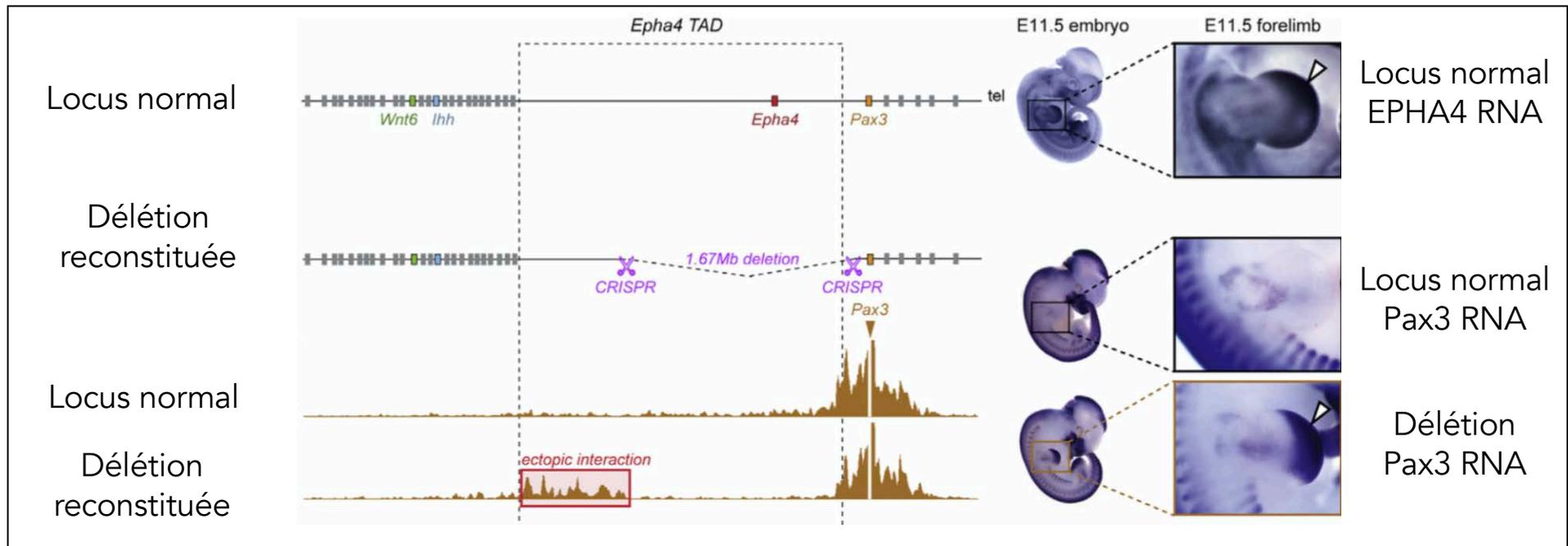
## Disruptions of Topological Chromatin Domains Cause Pathogenic Rewiring of Gene-Enhancer Interactions



Darío G. Lupiáñez,<sup>1,2</sup> Katerina Kraft,<sup>1,2</sup> Verena Heinrich,<sup>2</sup> Peter Krawitz,<sup>1,2</sup> Francesco Brancati,<sup>3</sup> Eva Klopocki,<sup>4</sup> Denise Horn,<sup>2</sup> Hülya Kayserili,<sup>5</sup> John M. Opitz,<sup>6</sup> Renata Laxova,<sup>6</sup> Fernando Santos-Simarro,<sup>7,8</sup> Brigitte Gilbert-Dussardier,<sup>9</sup> Lars Wittler,<sup>10</sup> Marina Borschiwer,<sup>1</sup> Stefan A. Haas,<sup>11</sup> Marco Osterwalder,<sup>12</sup> Martin Franke,<sup>1,2</sup> Bernd Timmermann,<sup>13</sup> Jochen Hecht,<sup>1,14</sup> Malte Spielmann,<sup>1,2,14</sup> Axel Visel,<sup>12,15,16</sup> and Stefan Mundlos<sup>1,2,14,\*</sup>

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

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



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



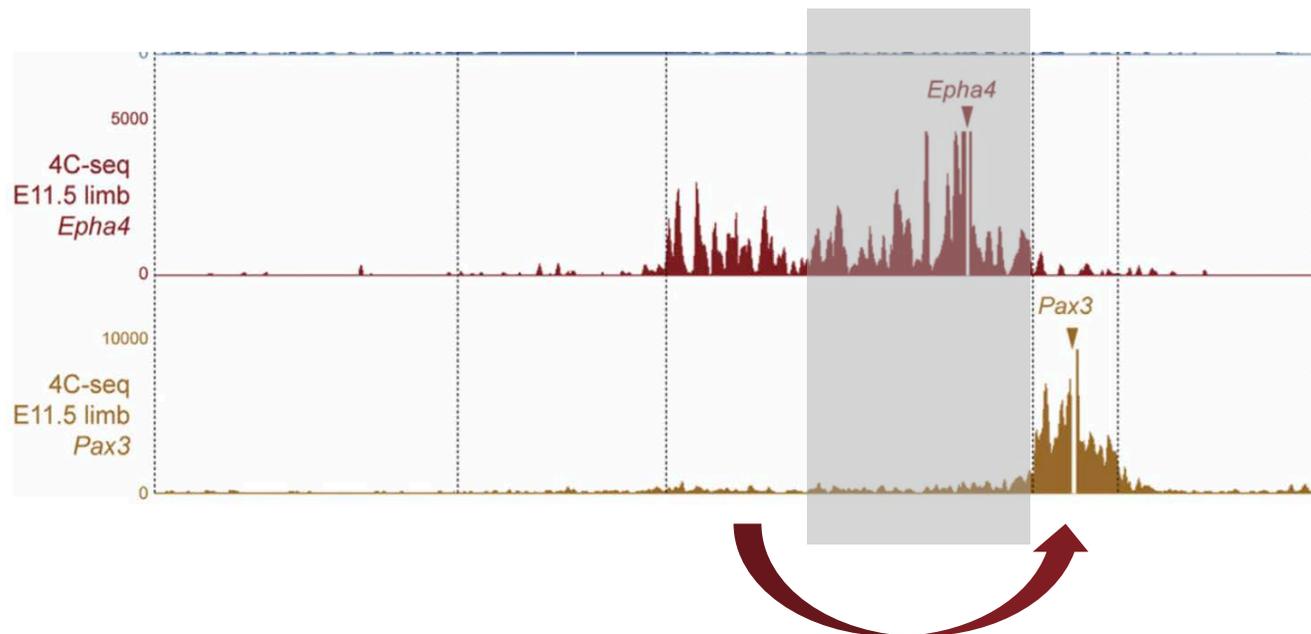
## Disruptions of Topological Chromatin Domains Cause Pathogenic Rewiring of Gene-Enhancer Interactions

Cell

Darío G. Lupiáñez,<sup>1,2</sup> Katerina Kraft,<sup>1,2</sup> Verena Heinrich,<sup>2</sup> Peter Krawitz,<sup>1,2</sup> Francesco Brancati,<sup>3</sup> Eva Klopocki,<sup>4</sup> Denise Horn,<sup>2</sup> Hülya Kayserili,<sup>5</sup> John M. Opitz,<sup>6</sup> Renata Laxova,<sup>6</sup> Fernando Santos-Simarro,<sup>7,8</sup> Brigitte Gilbert-Dussardier,<sup>9</sup> Lars Wittler,<sup>10</sup> Marina Borschiwer,<sup>1</sup> Stefan A. Haas,<sup>11</sup> Marco Osterwalder,<sup>12</sup> Martin Franke,<sup>1,2</sup> Bernd Timmermann,<sup>13</sup> Jochen Hecht,<sup>1,14</sup> Malte Spielmann,<sup>1,2,14</sup> Axel Visel,<sup>12,15,16</sup> and Stefan Mundlos<sup>1,2,14,\*</sup>

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

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



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



Fin du cours 2019-2020

**EPFL**

COLLÈGE  
DE FRANCE  
— 1530 —



**UNIVERSITÉ  
DE GENÈVE**

Collège de France  
Chaire: *Evolution des Génomes et du Développement*

Vidéos des cours sur le site: <https://www.college-de-france.fr>

Merci aux équipes  
techniques!



**UNIVERSITÉ  
DE GENÈVE**

**EPFL**

