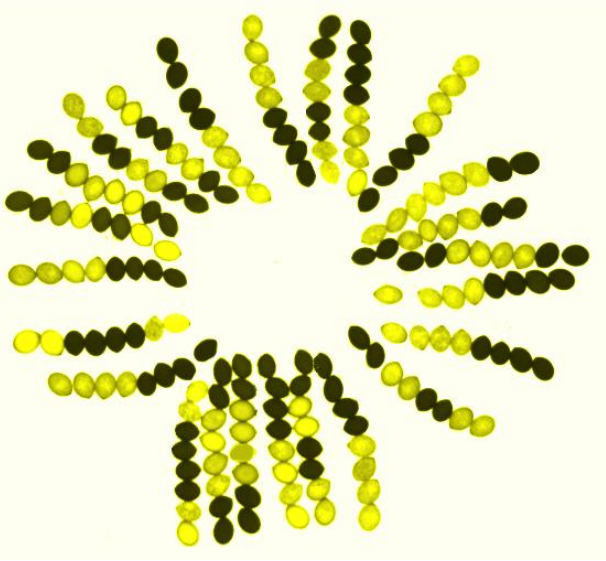
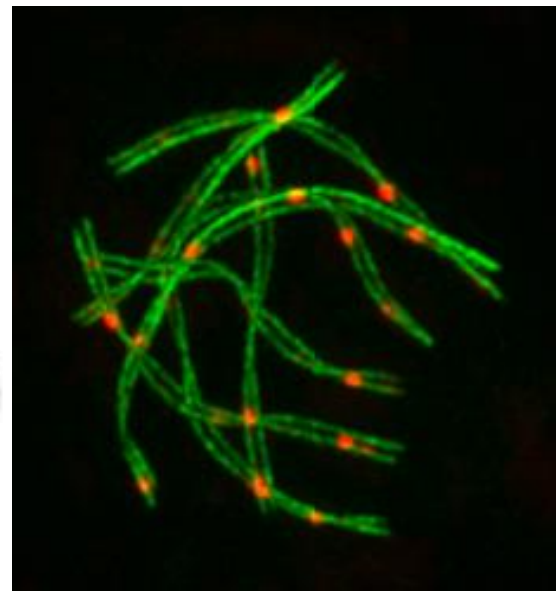
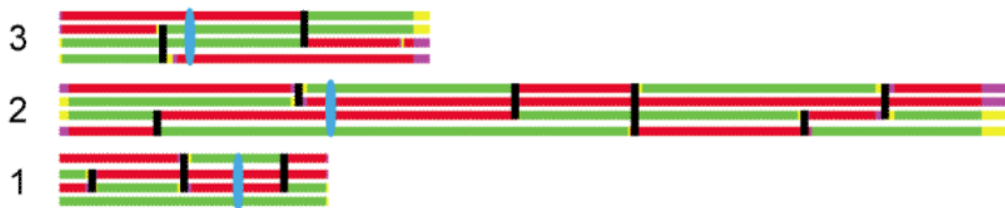


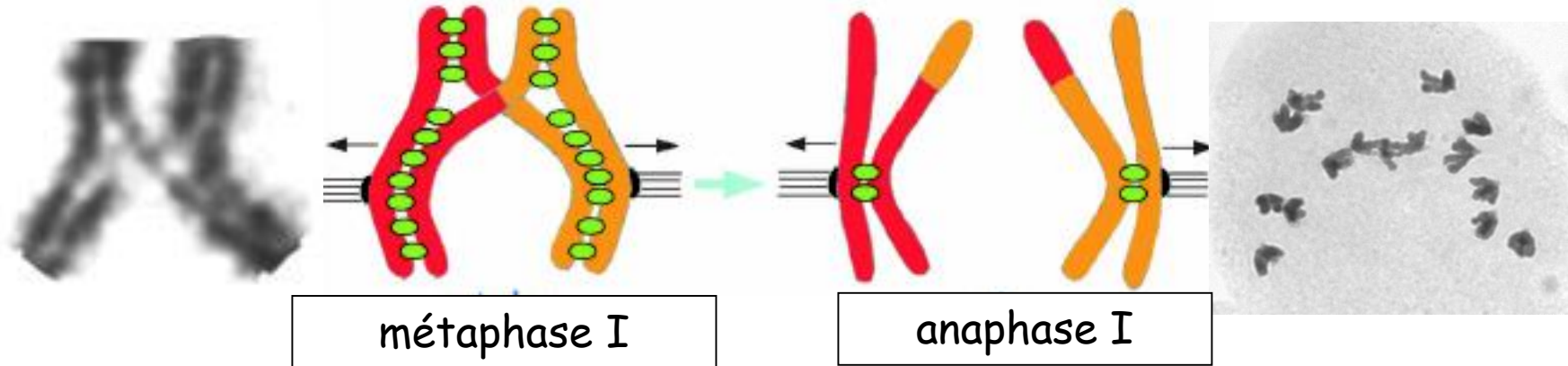
La recombinaison méiotique :
initiation, déroulement
et liens avec l'appariement chromosomique



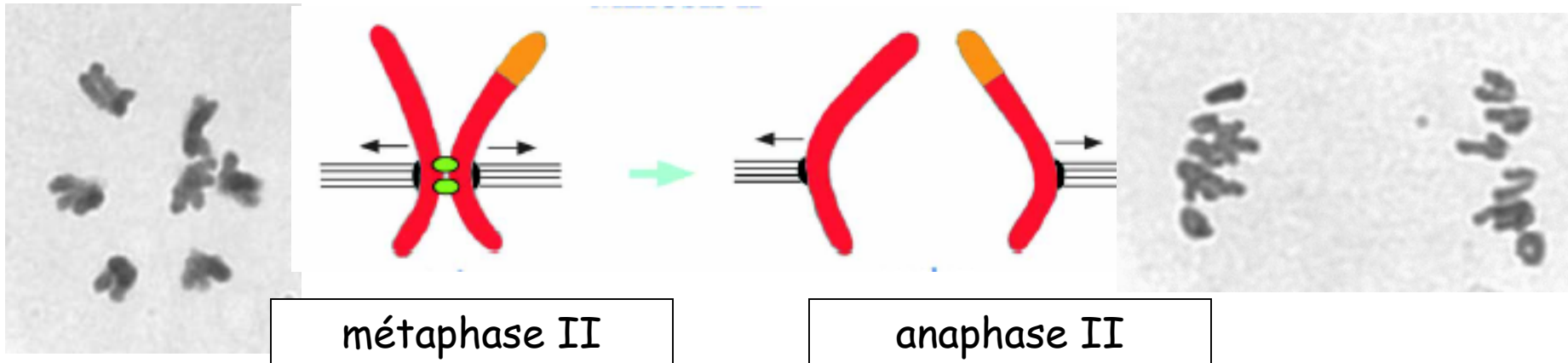
LA MEIOSE permet le passage de l'état diploïde à l'état haploïde par :
deux divisions successives sans phase de réplication intermédiaire

Division 1 : séparation des chromosomes paternels et maternels

réplication

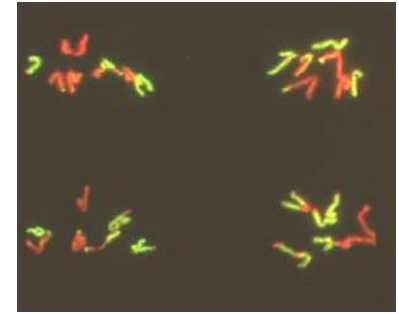
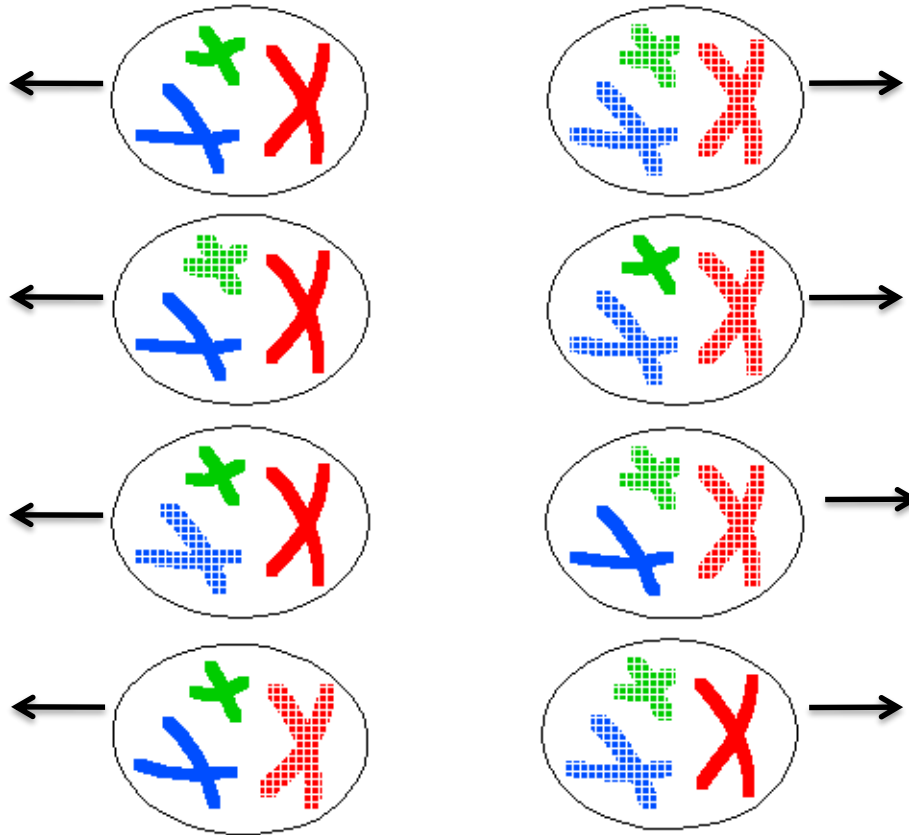
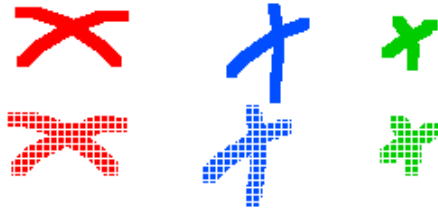


Division 2 : séparation des chromatides soeurs



Séparer des chromosomes en Anaphase I est un avantage pour la production d'une grande diversité génétique

avec 3 paires
de chromosomes
homologues

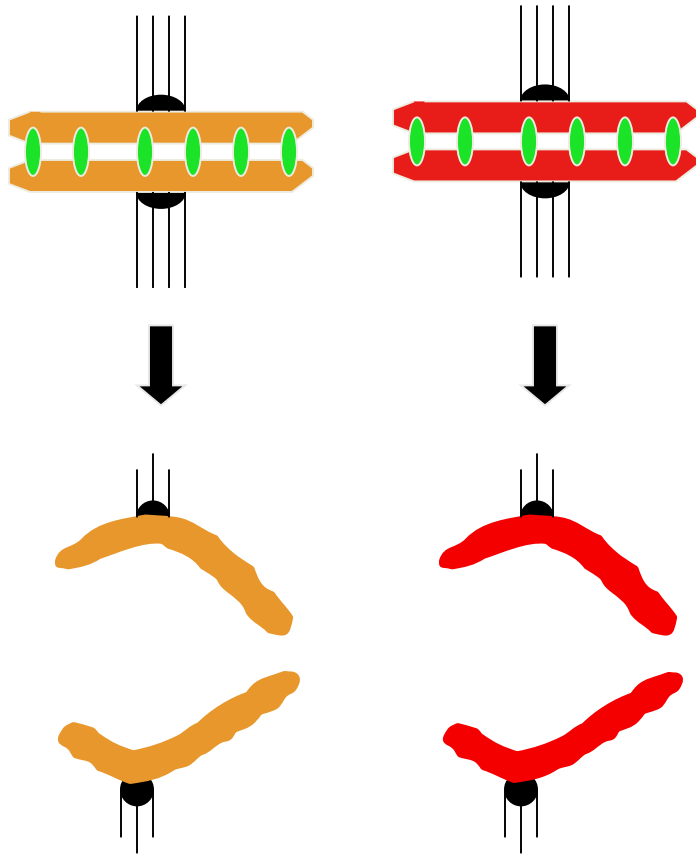


$\Rightarrow 2^3$ gamètes
différents

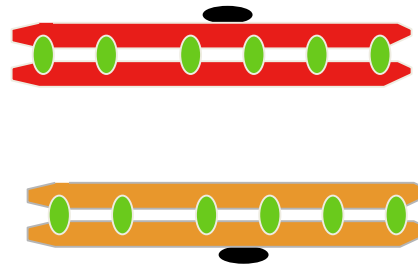
Homme : $2^{23} = 8,4 \times 10^6$ gamètes, tous différents

Mais séparer des chromosomes en Anaphase I est une contrainte car il faut tout d'abord établir un lien entre les 2 chromosomes homologues

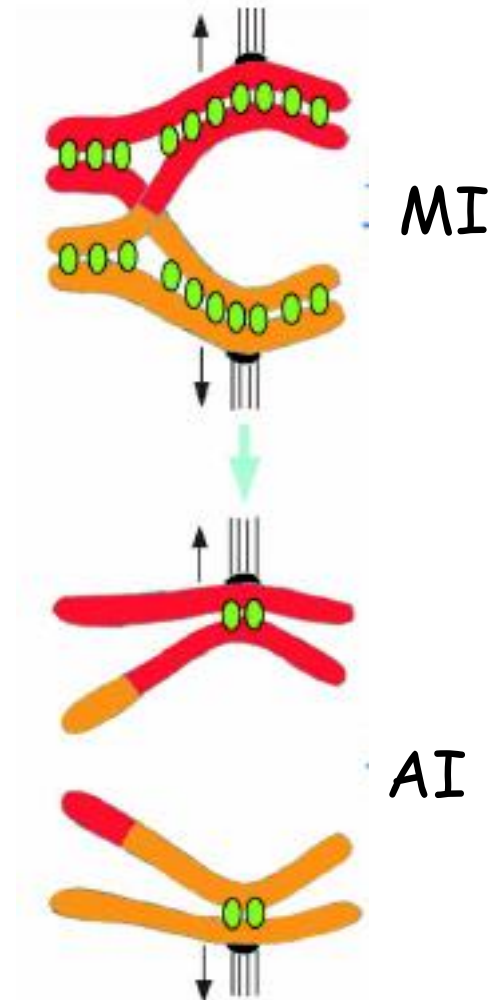
mitose



meiose



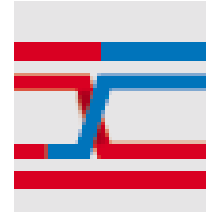
Maintenir
les cohésines
au niveau des
centromères



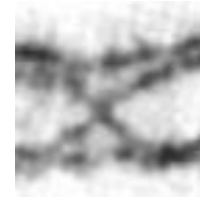
● complexe des cohésines

La division réductionnelle requiert donc l'établissement de connexions entre chromosomes homologues

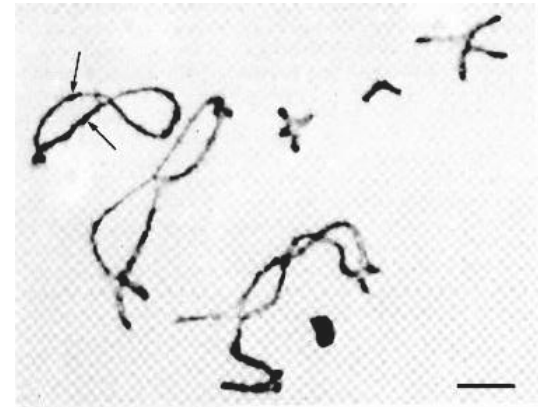
réalisé par les événements de recombinaison homologues réciproques ou crossing over (CO) au niveau de l'ADN



dont la représentation cytologique est le chiasma



→ Les CO sont très régulés pour assurer la présence d'au moins un échange par chromosome quelque soit sa taille



→ Les CO permettent un brassage intra-chromosomique par la création de nouvelles combinaisons d'allèles à chaque génération

➔ En absence de crossing over/chiasma les chromosomes montent au hasard vers l'un des pôles du fuseau ou séparent leurs centromères dès l'Anaphase I



0 chiasma



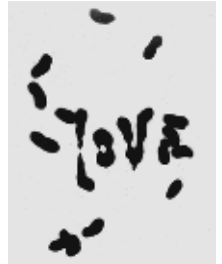
A I

ou



A I

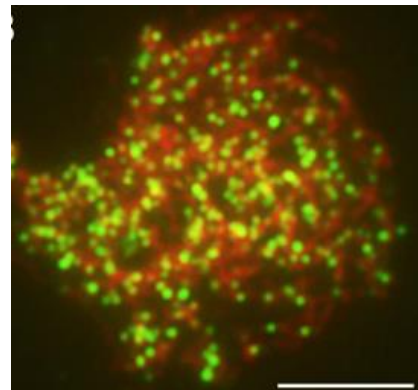
⇒ gamètes
aneuploïdes



Recombinaison nécessite d'induire des cassures double brin d'ADN (CDB)
programmées et hautement régulées en début de méiose
et
ainsi faire courir un grand risque aux méiocytes
si les CDB ne sont pas réparées
correctement !

Le nombre de CDB par cellule varie de méiocyte à méiocyte dans un même
organisme et d'un organisme à l'autre :

- environ 160 chez *S. cerevisiae*
- 200-400 chez les mammifères
- et chez les plantes de 150-250 chez *A. thaliana* et le riz à plus de 1000 chez le lys



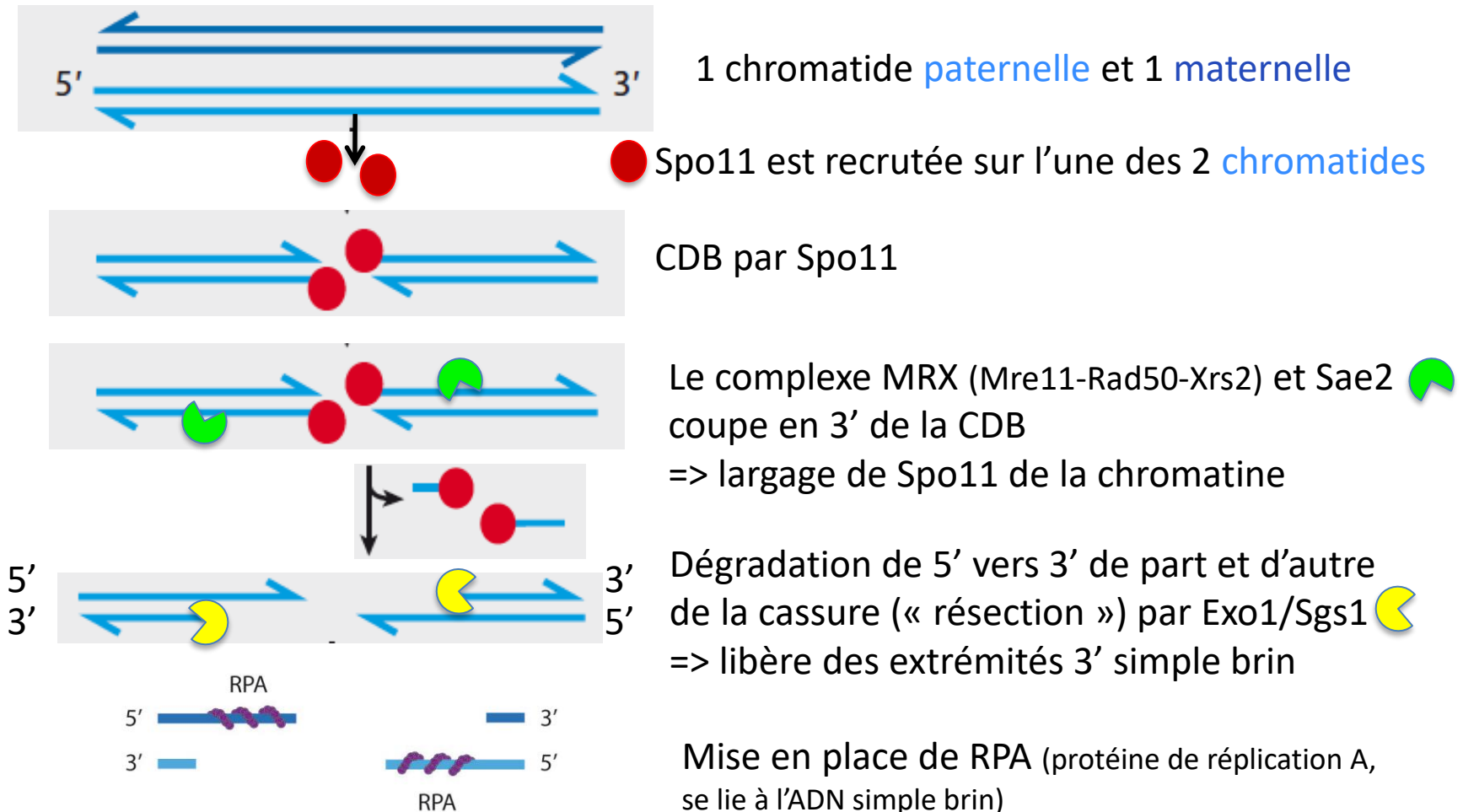
Riz

DMC1

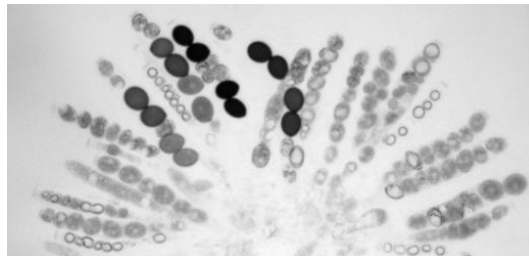
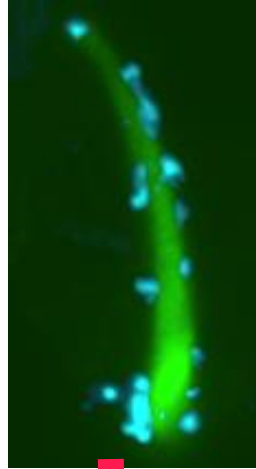
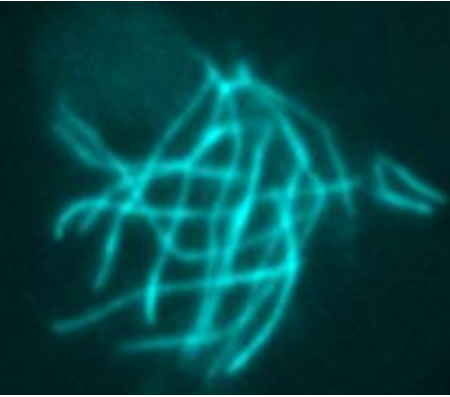
marque l'emplacement des CDB
le long des chromosomes

les CDB sont catalysées par la protéine Spo11

- Spo11 est très conservée chez les eucaryotes
 - elle possède un domaine topoisomérase, homologue à celui de la topoisomérase VIA des archées mais Spo11 n'a pas la capacité de « suturer » les brins coupés
- La caractérisation biochimique de l'activité de Spo11 reste non résolue

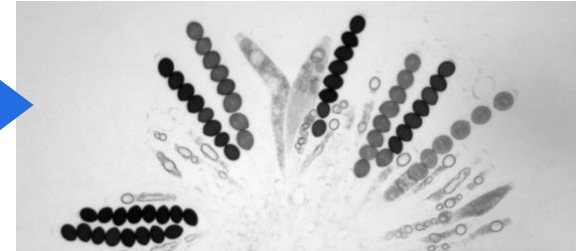
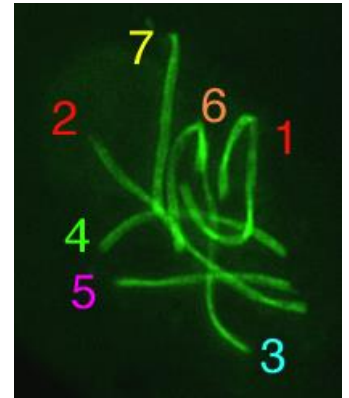


En absence de Spo11
et donc de CDB chez Sordaria



spo11^{-/-} Sordaria

Des CDB exogènes
(rayons gamma)
restaurent
l'appariement et
la recombinaison

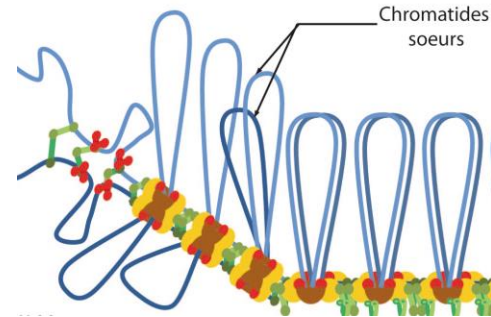


Ce sont donc les CDB et non Spo11 per se
qui permettent la formation de CO et la
ségrégation correcte des homologues

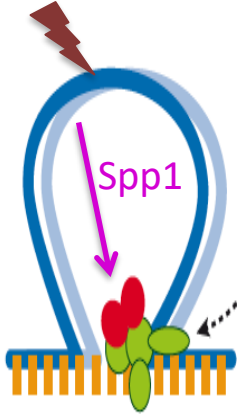
Storlazzi et al, G&Dev 2003;
Bishop & Zickler, Cell 2004

les CDB ont lieu sur l'axe des chromosomes

- En méiose la chromatine est organisée en boucles attachées à un axe formé entre autre de cohésines et de condensines
- Et la taille des boucles est proportionnelle à la taille du génome



Les CDB sont initiées dans l'ADN des boucles de chromatine

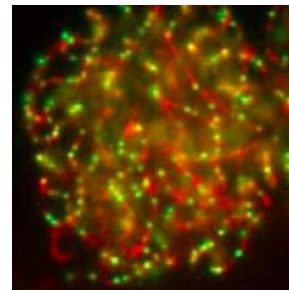


Puis le site est ramené sur l'axe des chromosomes par Spp1
(membre du complexe COMPASS) qui interagit avec l'histone H3K4me3
de la chromatine

et Mer2 située sur l'axe chromosomique

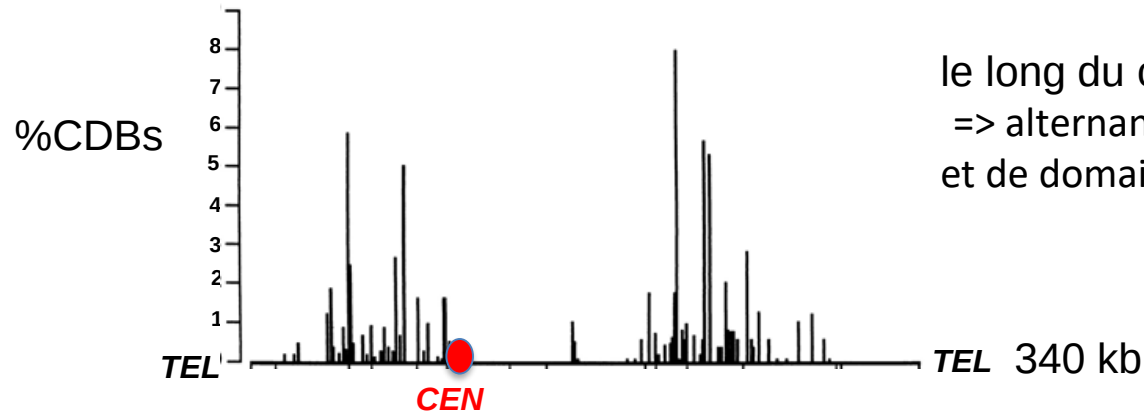


mais l'ADN n'est clivé qu'après localisation des CDB
sur l'axe chromosomique où
sont situées les protéines annexes de Spo11
également nécessaires à la cassure (9 chez la levure,
peu conservées par l'évolution; pas de CDB en leur
absence)
et les cohésines



Plusieurs facteurs contrôlent la localisation des CDB

1) La distribution des CDB le long des chromosomes ne se fait pas au hasard : les CDB sont plus fréquentes à certains sites que d'autres

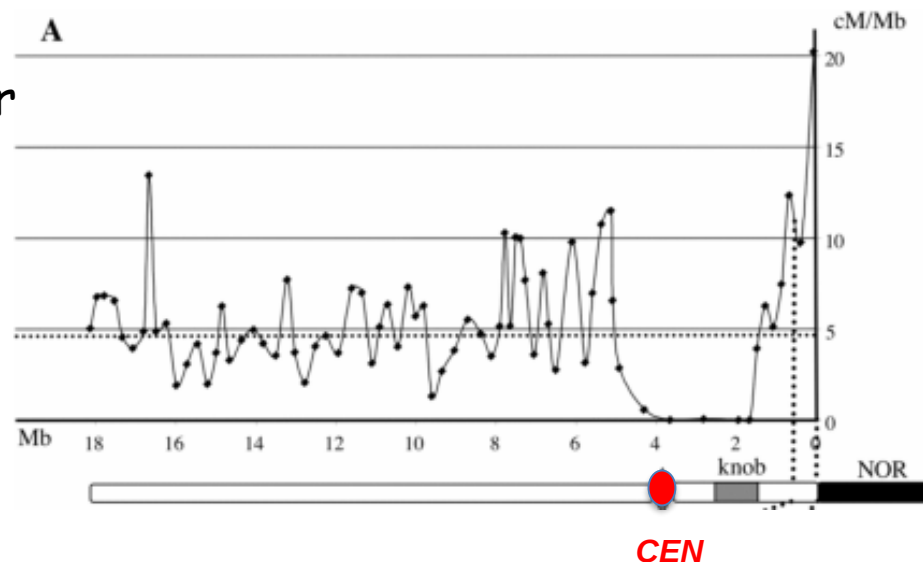


Baudat & Nicolas (1997),
Lichten&Goldman (1995)

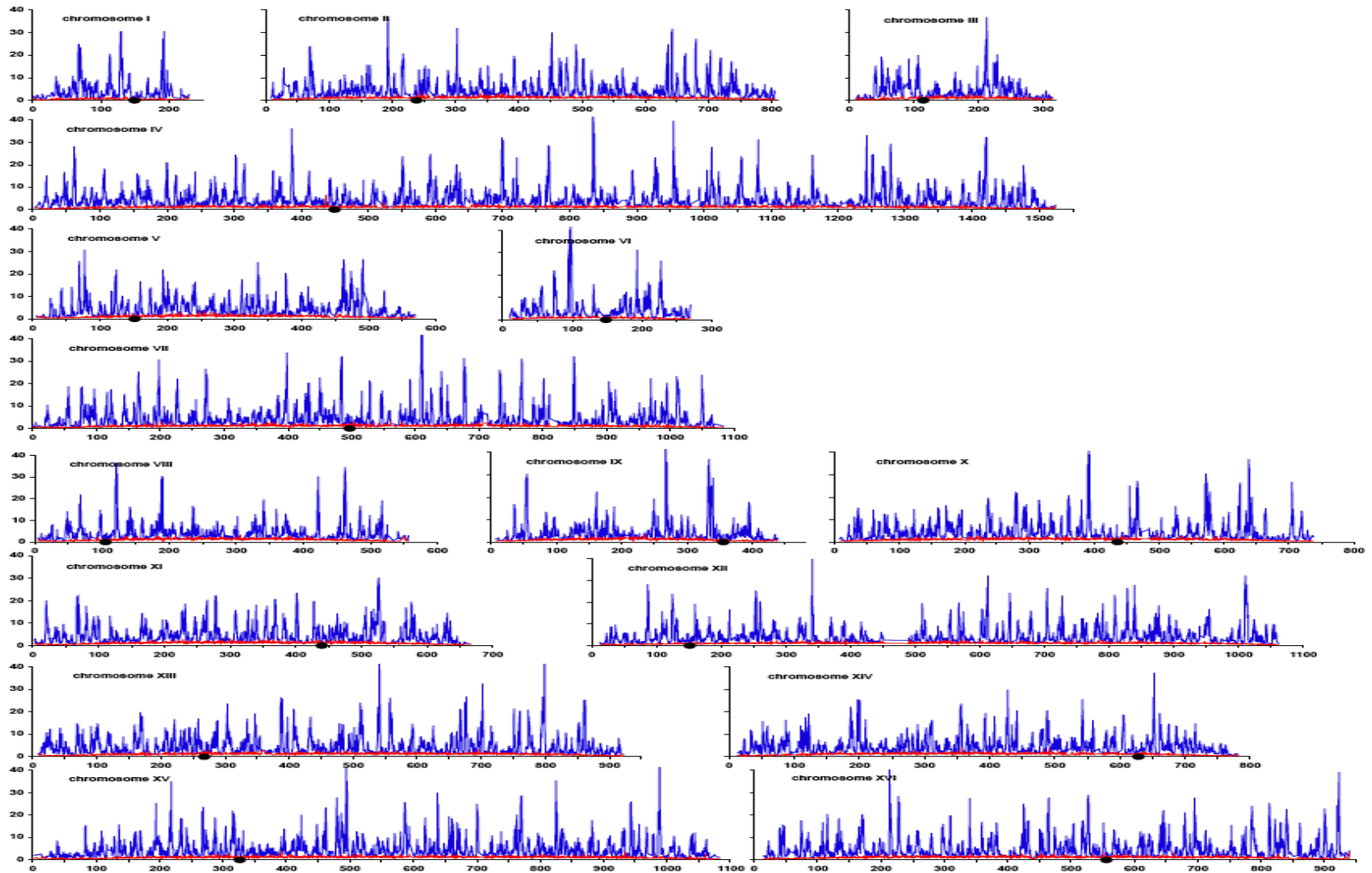
Si on déplace une séquence de point « chaud » dans la région centromérique => « froide »

Distribution des crossing over
chez *Arabidopsis thaliana*

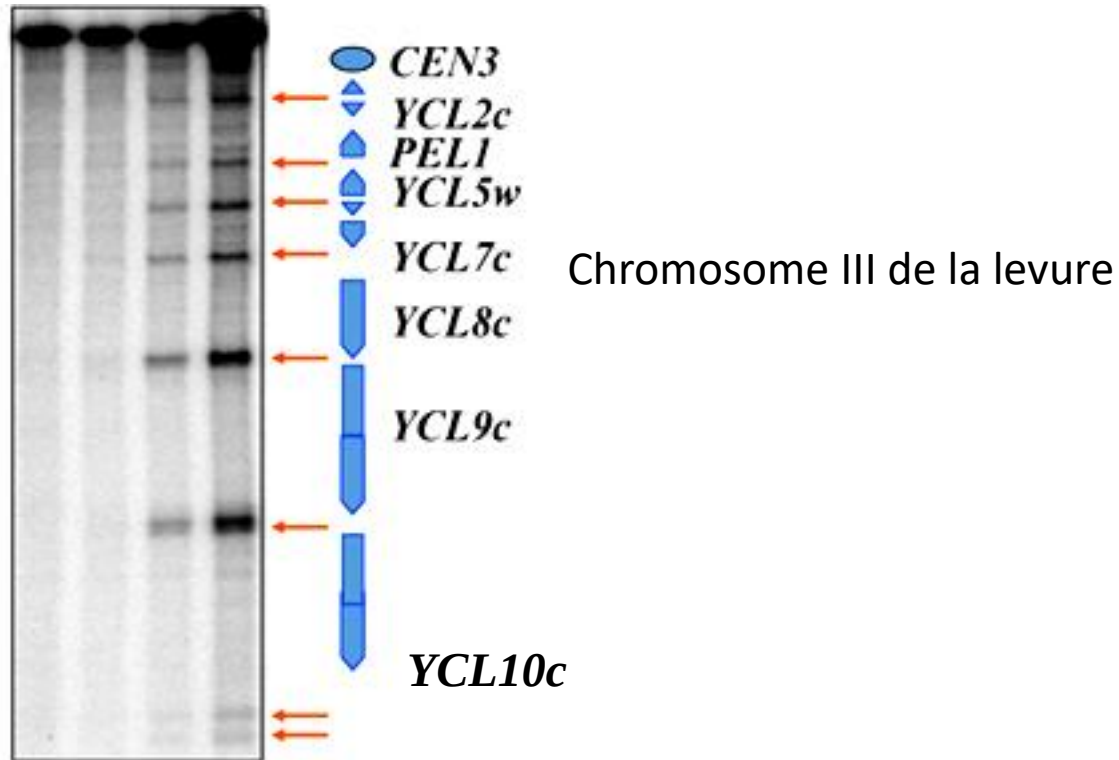
Génotypage
de 702 plantes
sur le chromosome 4



Carte génomique des CDB de la levure *S. cerevisiae*



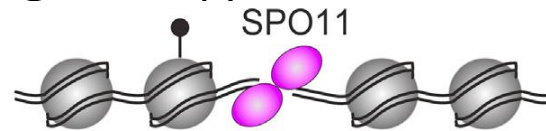
2) la grande majorité des CDB a lieu dans le promoteur des gènes



3) chez la levure et *Arabidopsis* dans la région pauvre en nucléosomes
des promoteurs des gènes et des régions hypersensibles à la

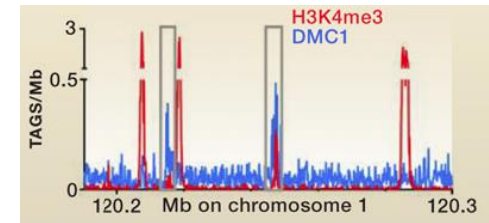
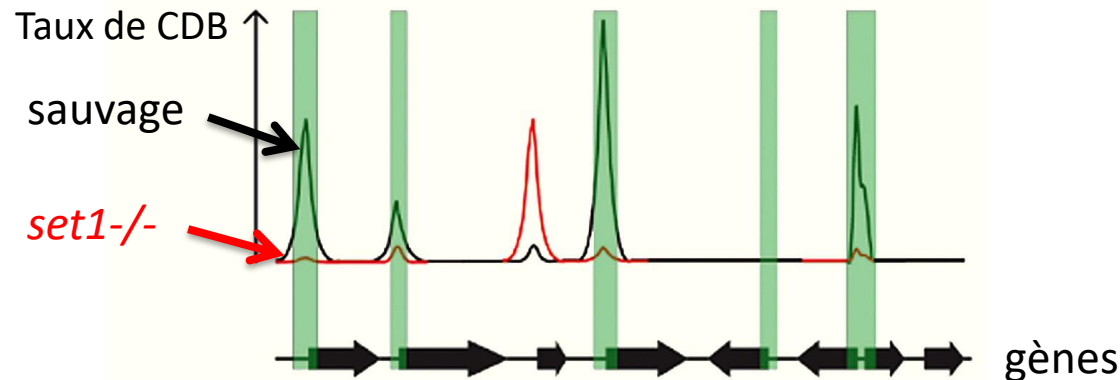
DNaseI

donc + accessibles pour Spo11



4) Une modification post-traductionnelle de l'histone H3 est impliquée dans la formation des CDB => Structure « ouverte » de la chromatine

Immunoprécipitation de la chromatine +
révélation sur puces à ADN (ChIP-chip, chromatin
Immunoprecipitation on chip)

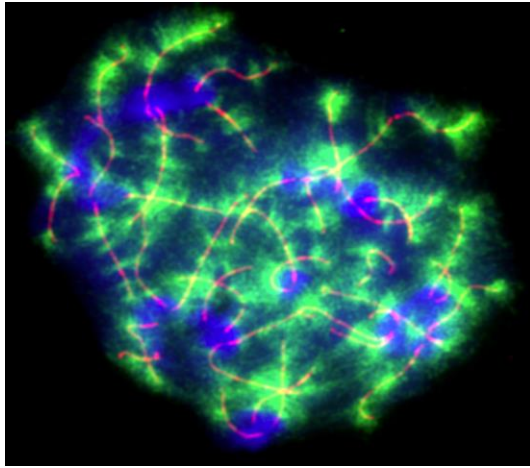


La triméthylation de la lysine 4 de l'histone H3 (**H3K4me3**) est en général associée aux régions 5' des gènes activement transcrits

En absence de **Set1** (méthyltransférase de levure) la formation des CDB est fortement réduite chez la levure (Borde et al, 2009)

également vrai chez Arabidopsis (Choi et al, 2013), et souris (Buard et al, 2009)

Dans *set1*^{-/-} d'autres CDB apparaissent => Spo11 n'a pas ou peu de spécificité de séquence mais requiert un ADN accessible



L'histone H2AX est également modifiée aux sites des CDB

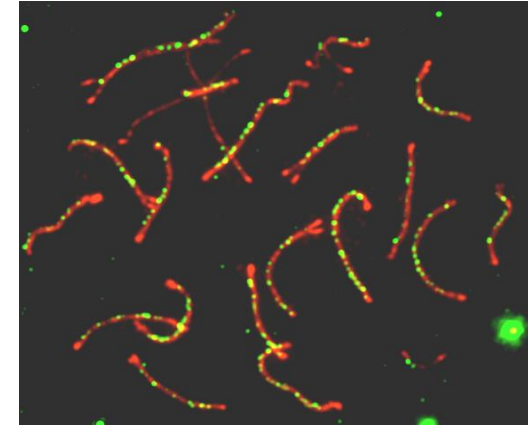
Anticorps anti-H2AX

Axe chromosome

Chromatine (DAPI)

(souris)

DMC1

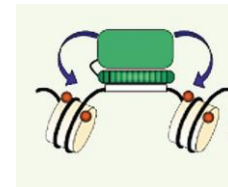


- chez la souris et l'homme, des séquences



sont spécifiquement

reconnues par la méthyltransférase PRDM9 (PR domain zinc finger protein 9) qui se lie à l'ADN par ses motifs doigts de zinc



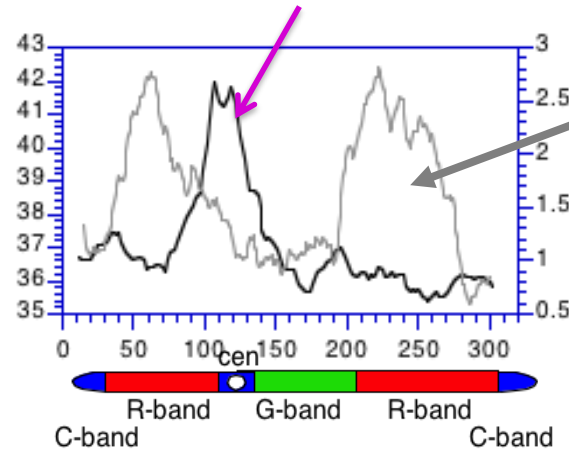
=> triméthylation de H3K4

=> changement dans chromatine qui permet l'accessibilité pour Spo11

=> point chaud de recombinaison (revue Lichten & de Massy, 2014)

5) les CDB ne sont pas localisées dans les mêmes domaines que les cohésines

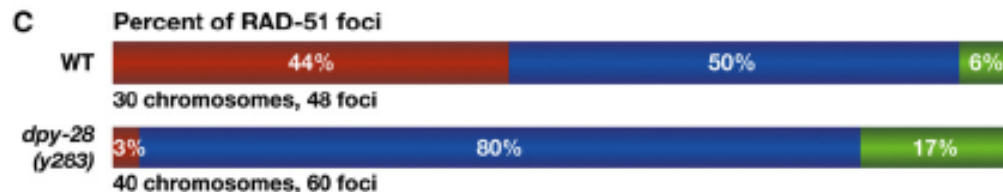
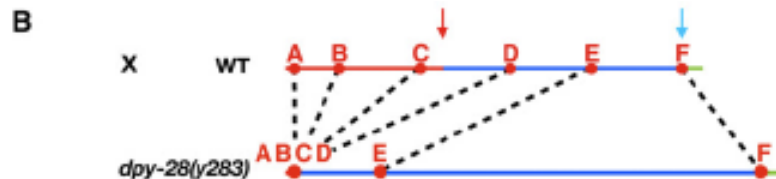
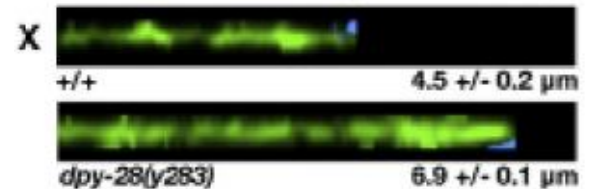
Cohésine Rec8 (enrichie au niveau du centromère)



CDB
chromosome III de levure

6) Le nombre de CDB peut être modulé par la taille de l'axe chromosomique

En absence de condensine I chez *C. elegans* l'axe est plus long



Le nombre de CDB (foci Rad51) augmente et est réparti différemment

Réparation des CDB

et invasion par l'une des extrémités de la CDB au niveau de la séquence homologue d'un des 2 chromatides du chromosome homologue (D-loop)

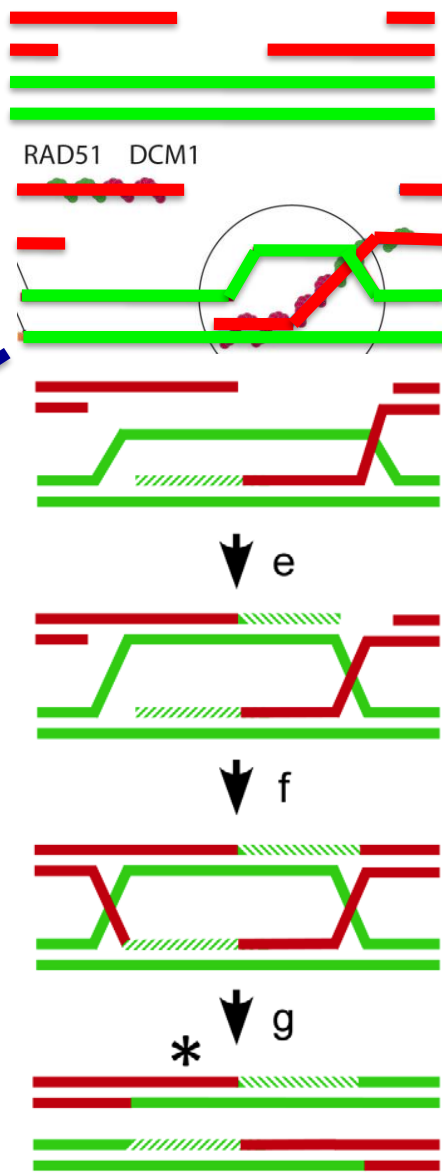
voie de crossing over

Réparation par synthèse d'ADN en utilisant l'ADN de la chromatide homologue comme matrice de réparation

Capture du 2^{ème} brin et formation d'une double-jonction de Holliday

Résolution par coupure de la dHj => crossing over

Changement de la continuité des chromosomes paternels et maternels

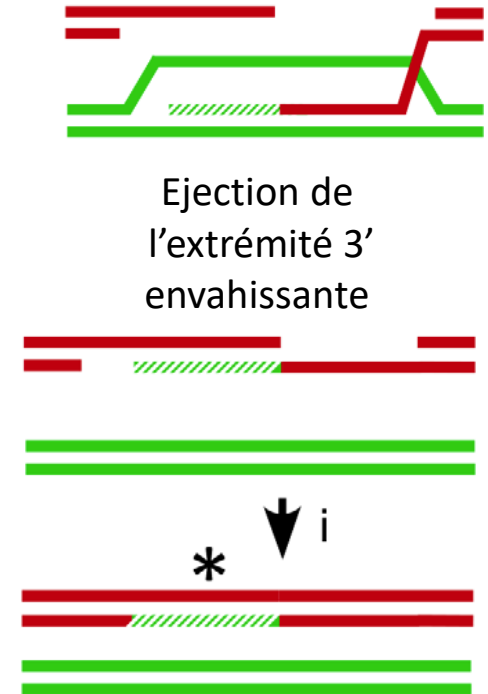


mise en place des recombinaisons Rad51 et Dmc1

voie de non-crossing over

Ejection de l'extrémité 3' envahissante

Maintien de la continuité chromosomique mais introduction d'hétérologies

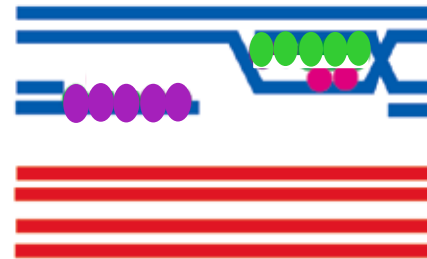
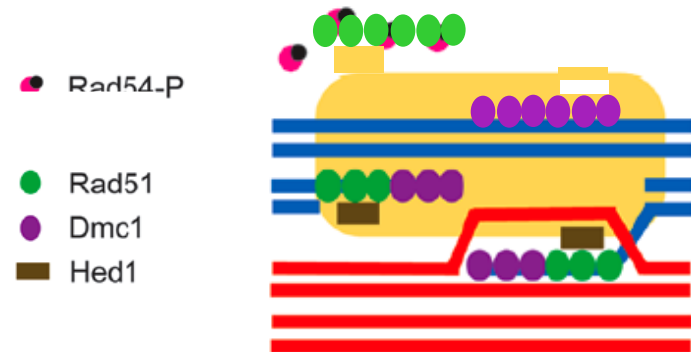


Autre particularité de la méiose : la réparation des CDB se fait préférentiellement vers la chromatide du chromosome homologue et non vers la chromatide sœur comme en mitose

Plusieurs protéines sont impliquées dans ce biais de réparation : Dmc1, la cohésine Rec8, et Mek1

WT

mek1Δ



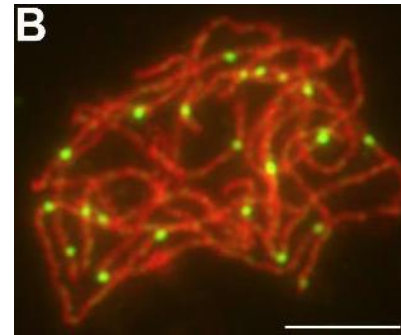
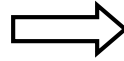
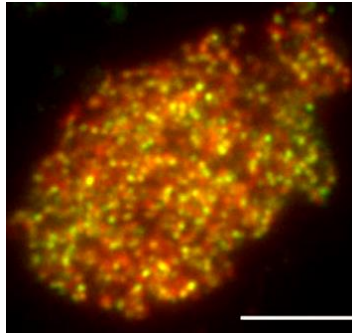
Réparation avec l'homologue

Réparation avec la sœur

revue dans Hunter, CSH, 2015,
Zickler & Kleckner, CSH, 2015

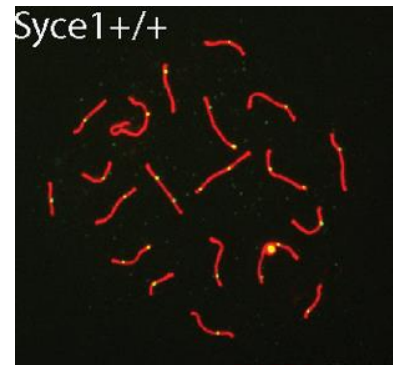
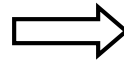
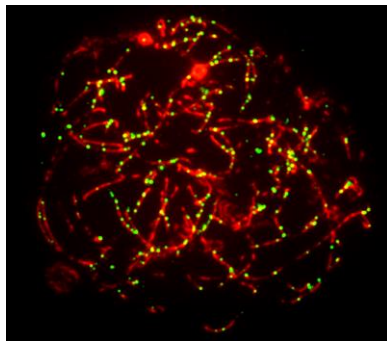
Pourquoi autant de CDB (3 à 100x plus) pour si peu de CO ?

Riz : environ 200 CDB
par noyau



21 CO

Spermatocyte souris :
environ 400 CDB



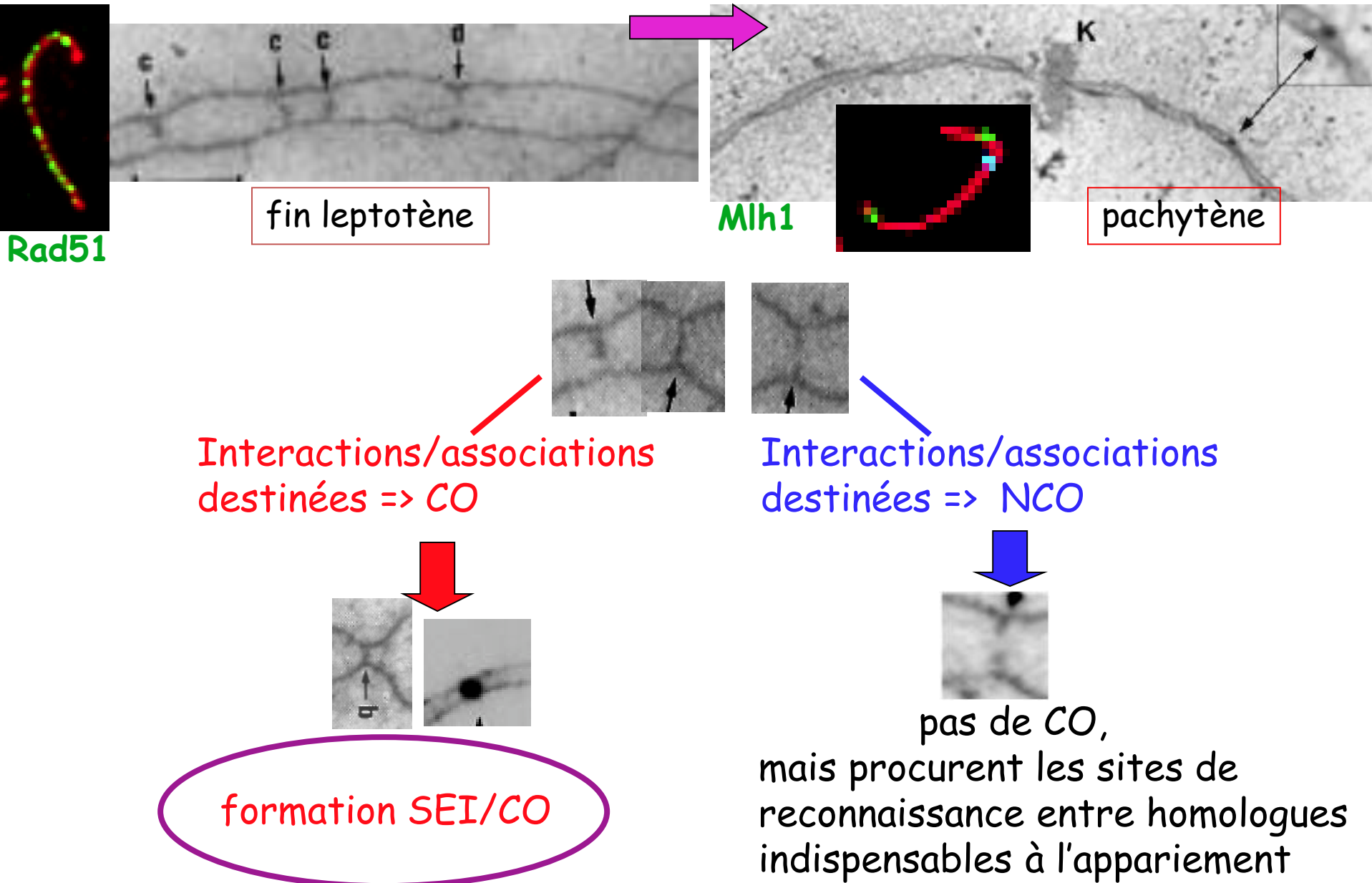
25 CO

Environ 160 CDBs chez *S. cerevisiae* => 90 CO

Par contre chez le nématode *C. elegans* et la femelle de *Drosophila* le nombre de CDB est seulement 2-3 x plus élevé que le nombre de CO

=> Différence avec les autres espèces : l'appariement a lieu avant la formation des CDB

Rôle de la réparation des multiples CDB dans l'appariement ?



L'appariement des chromosomes homologues et la formation de la structure d'appariement appelée « complexe synaptonemal » (CS) se font en étroite liaison avec les étapes de la recombinaison

- Les sites d'initiation des crossing over correspondent aux sites d'initiation du CS
- le CS maintient les homologues pendant les étapes de la mise en place des jonctions de Holliday donc des CO
- les protéines du CS sont nécessaires au bon déroulement de la recombinaison et les protéines de recombinaison sont impliquées dans la formation du CS

Au pachytène les chromosomes homologues sont appariés par une structure spécifique : le complexe synaptonémal (CS)

microscope photonique



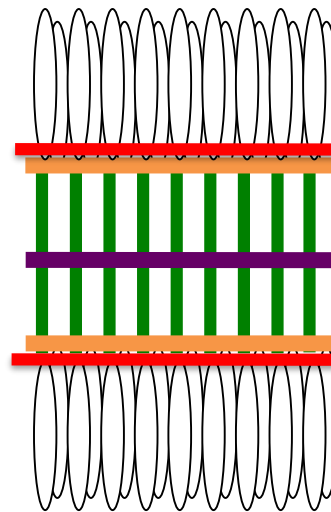
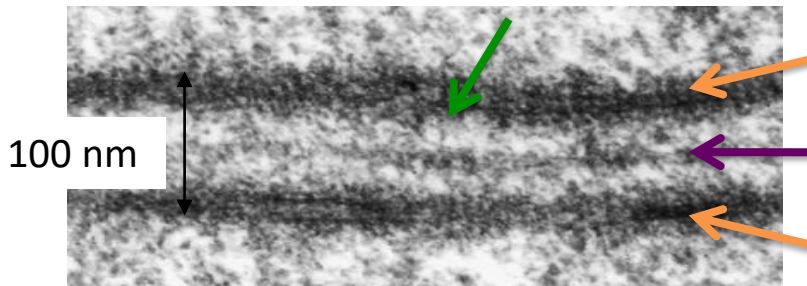
Chromosome paternel

Microscope électronique



seigle

Chromosome maternel



Chromatides paternelles

Complexe des cohésines
Élément latéral

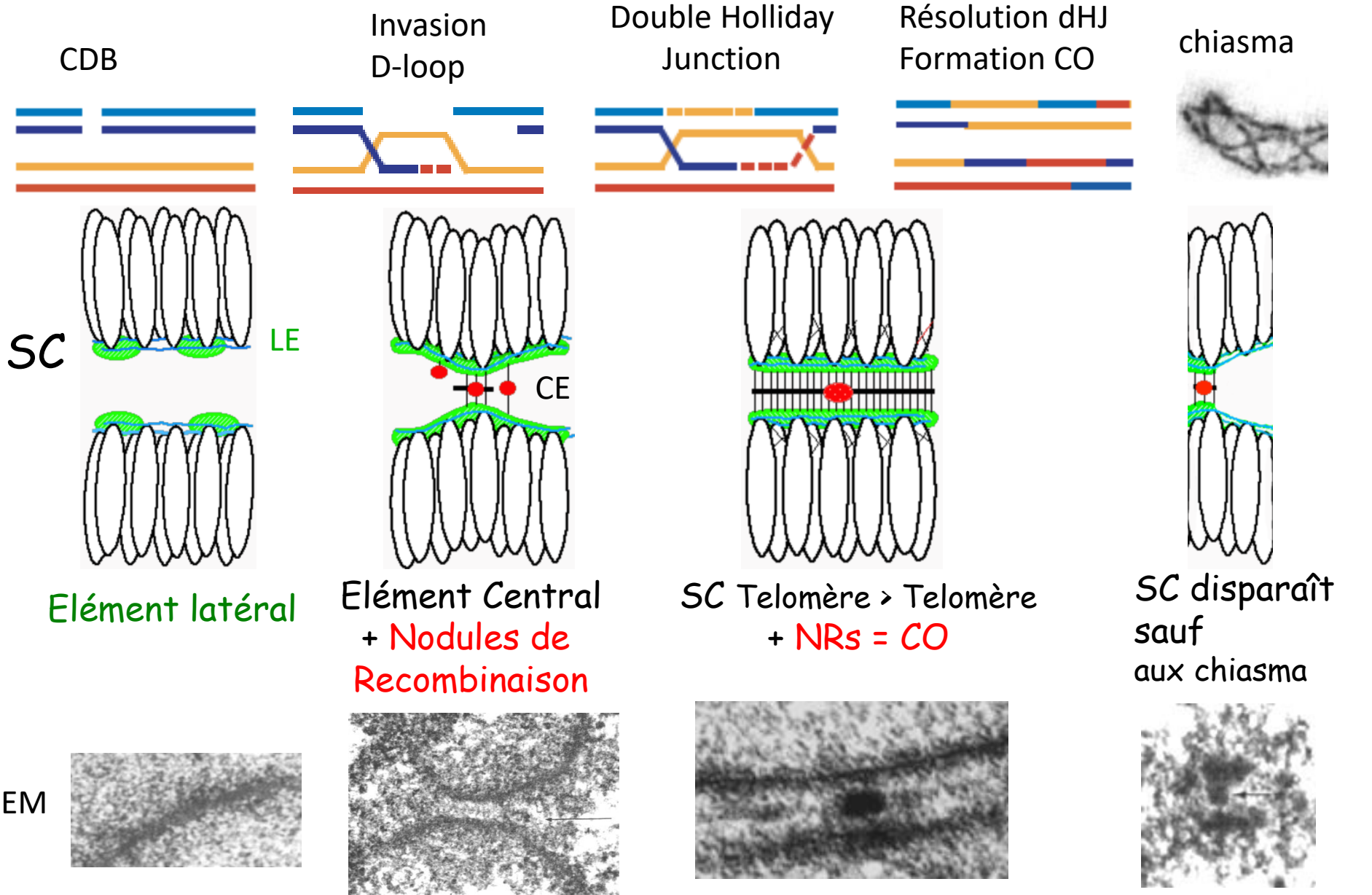
élément central

Élément latéral

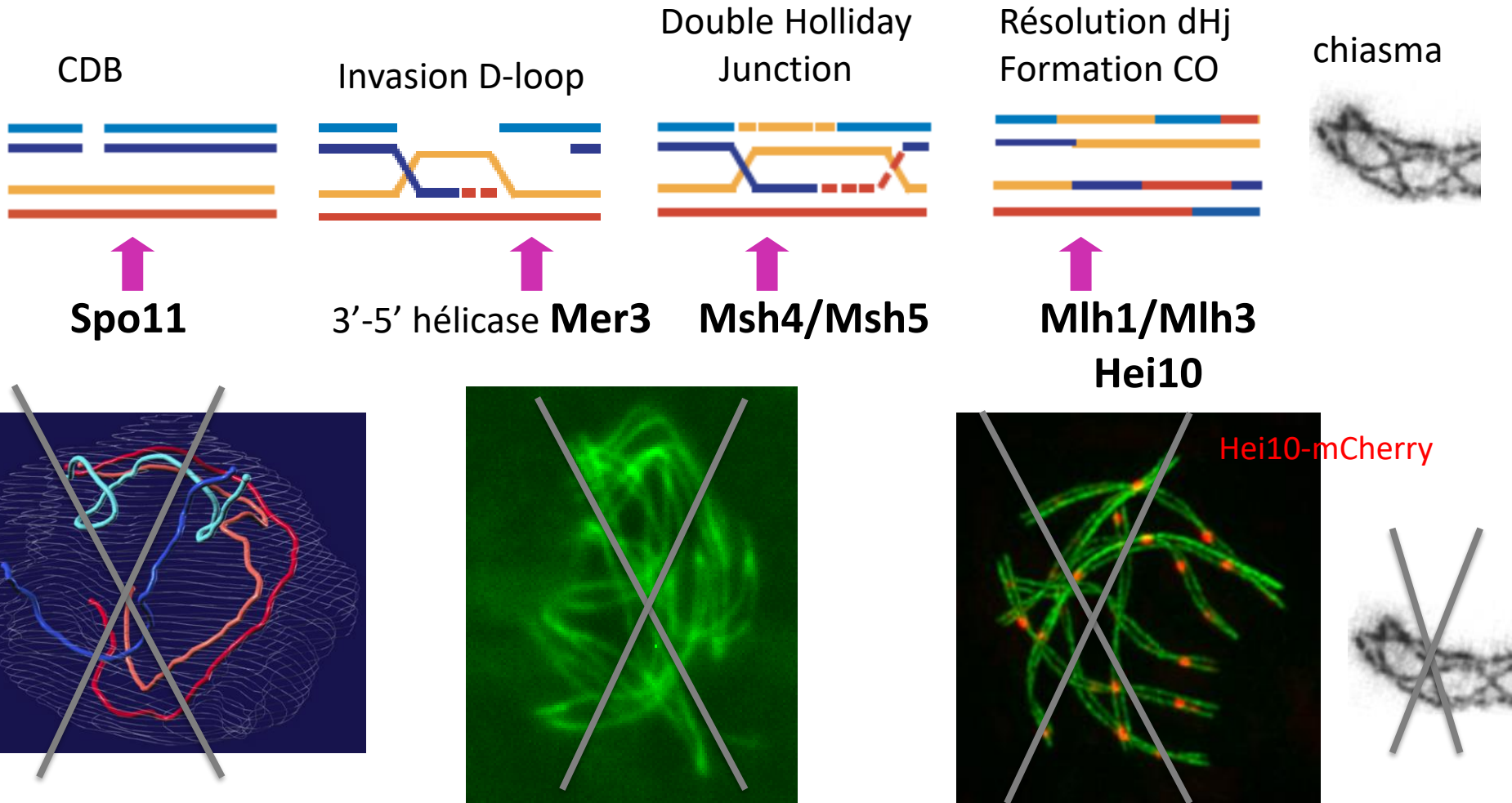
Complexe de cohésines

Chromatides maternelles

Et la mise en place des éléments du CS est corrélée avec les étapes de la recombinaison



De plus, les protéines de recombinaison jouent un rôle essentiel dans l'appariement et la mise en place du CS

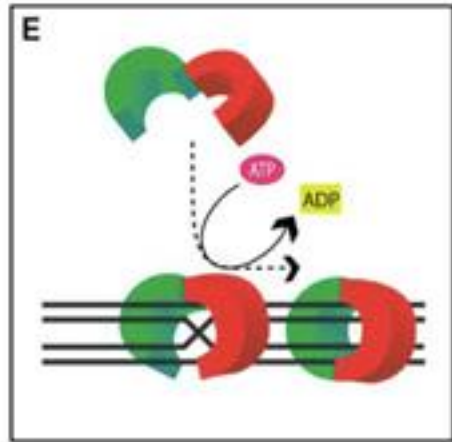


Storlazzi et al, Cell 2010
De Muyt et al, 2014

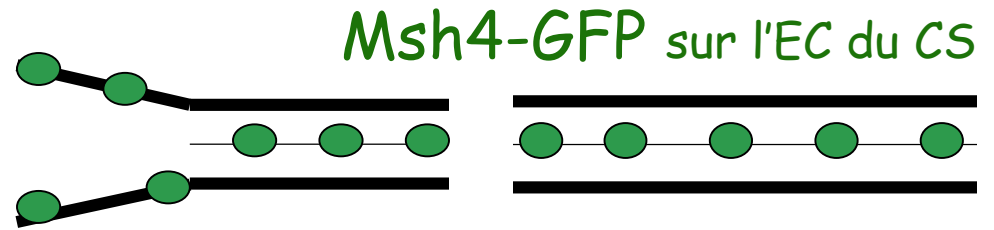
Un exemple : celui de la protéine Msh4 chez Sordaria

Msh4 (MutS homologue)
forme un anneau
avec Msh5 qui la dJh

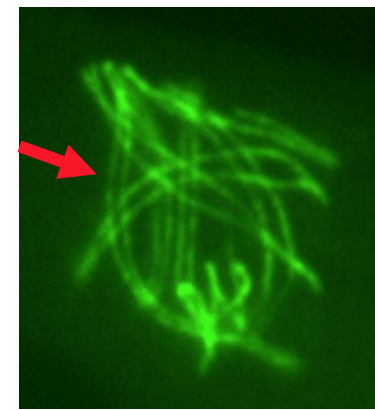
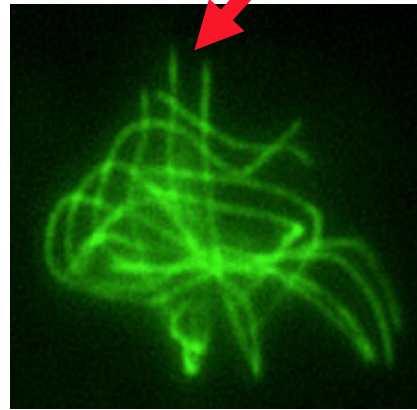
Msh4 module la distanced'appariement



Snowden et al, 2004



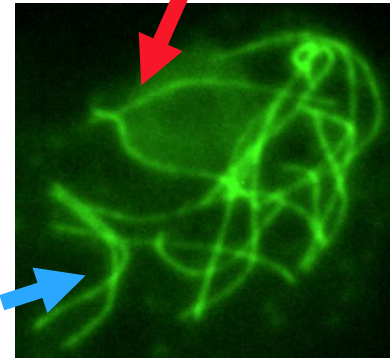
msh4-/-



WT

Et est requise pour un appariement synchrone
de toutes les paires d'homologues

msh4-/-



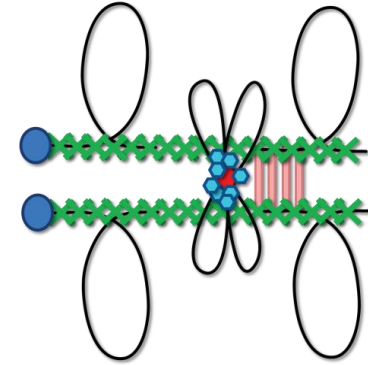
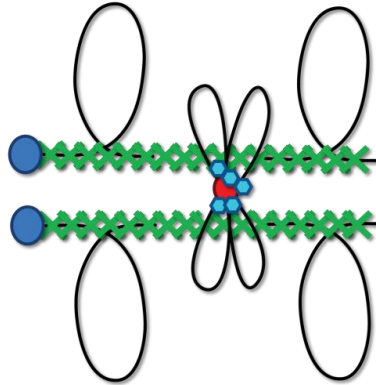
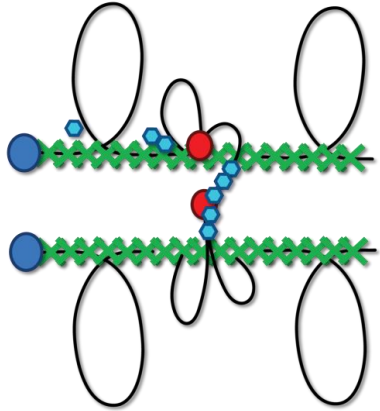
WT

Les protéines du CS sont indispensables à la recombinaison

✕ = cohésins/axes

● = protéines de recombinaison

⬢ = protéines de l'élément central du CS

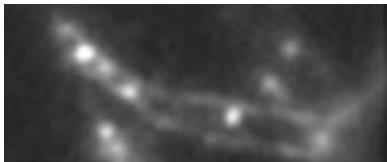


⇒ Lien entre les protéines du CS et celles impliquées dans la formation des CO

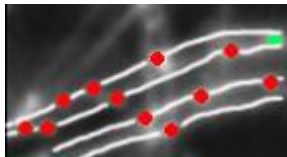
Ce lien entre les 2 types de protéines est indispensable pour :

- l'initiation du CS
- Et la formation des CO

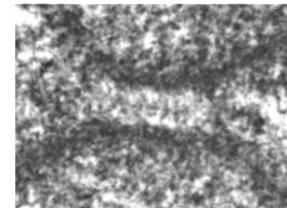
Les protéines de l'élément central du CS re-localisent les protéines de recombinaison de l'axe des chromosomes au centre du CS



WT



zip1^{-/-}



Université Paris-sud
CNRS UMR 9198



Eric Espagne



Sophie Tessé



Emeline Dubois



Karine Budin



Robert Debuchy



Denise Zickler



Molecular and Cellular Biology
Cambridge MA USA



Nancy Kleckner

Liangran Zhang



Institut Curie UMR 3215

Tristan Piolot
Edith Heard



Réparation des CDB en CO

Les protéines ZMM

Zip1, Zip2, Zip3, Zip4, Msh4, Msh5,
Mer3 et Spo16

L'hélicase Mer3 , Msh4 et Msh5 interagissent
Directement avec l'ADN et
stabilisent les joint molécules
Et sont requises pour la formation des COs

