



# ETUDE DE L'ORGANISATION DES GÈNES DES PROTÉINES DU LAIT AU SEIN DU NOYAU : ATTACHEMENT DE CES GÈNES À LA MATRICE NUCLÉAIRE

**Monsieur Mohammad Bagher MONTAZER TORBATI** Discipline : **BIOLOGIE  
MOLECULAIRE** Laboratoire : **INRA**

L'expression des gènes des protéines du lait est induite au cours de la gestation, elle est maximale en lactation. Cette expression est régulée par les hormones lactogènes. La WAP est une protéine majeure dans le lait de certaines espèces. Chez ces espèces, l'expression du gène WAP est spécifiquement mammaire et associée à des variations de structure chromatinienne. Chez l'homme la souris et le porc, le gène WAP est situé entre deux autres gènes, Ramp3 et Tbrg4, dont l'expression est ubiquitaire. Ce travail de thèse, nous avons permis de décrire le profil de méthylation de l'ADN qui varie tout au long de la séquence du locus entourant le gène WAP chez la lapine et qui est différent entre la glande mammaire et le foie. Ces variations de profils de méthylation ont pu être associées à l'existence de plusieurs régions d'attachement à la matrice nucléaire (MAR) décrites dans un premier temps par une étude in silico chez la lapine et la souris. Dans un deuxième temps, nous avons montré qu'une de ces MARs, située à +13 kb en aval du gène WAP, est associée à la matrice par la Topoisomérase II dans les cellules épithéliales mammaires de souris (HC11), que ces cellules soient stimulées ou non par les hormones lactogènes. Parmi les autres MARs, quatre MAR, situées à -14,5, -11, -2,2, et +8,5 kb, sont également en interaction avec la matrice nucléaire dans les cellules

HC11 et ont été mise en évidence grâce à l'utilisation de macro-réseaux spécifiques du locus WAP de souris.. En plus de ces MARs observées quelles que soient les conditions de culture des cellules, une cinquième est retrouvée dans les cellules HC11 non stimulées par les hormones lactogènes (situées à +3 kb). Ces régions permettent d'organiser la chromatine qui entoure le gène WAP en différentes boucles. Une boucle plus grande entourerait le gène WAP dans les cellules stimulées (11,7 kb versus 5,2 kb dans les cellules non stimulées). Cette organisation pourrait favoriser l'expression du gène WAP. Deux MARs supplémentaires, qui pourraient interagir avec la protéine SATB1, sont présentes à -16 et -7,4 kb en amont du gène WAP. Elles pourraient ancrer la chromatine à la matrice nucléaire dans les cellules qui expriment cette protéine en abondance comme les lymphomes ou les cellules mammaires tumorales agressives et participer à une répression de l'expression du gène.

**Mots clé :** WAP, RAMP3, Tbrg4, épigénétique, méthylation de l'ADN, organisation nucléaire, attachement à la matrice nucléaire (MAR), prolactine, lactation.

### **Abstract :**

Milk protein genes expression is induced during pregnancy and peaks during lactation under the influence of lactogenic hormones. WAP is a major protein in the milk of some species. In these species, WAP gene expression is specific to the mammary gland and related to variation in the chromatin structure surrounding the gene. In the human, mouse and pig, the WAP gene is localized between the Tbrg4 and Ramp3 which are expressed ubiquitously. Our results show a differential DNA methylation profile not only between mammary gland and liver, but also throughout the WAP locus. These variations in the methylation profile have been related to the presence matrix of several matrix attachment regions (MARs) which were predicted around the mouse and rabbit WAP gene in silico. Our further studies have shown that one of these MARs located at +13 kb downstream of WAP gene is found associated to nuclear matrix by its interaction with Topoisomerase II. Four other MARs located at -14.5, -11, -2.2, and +8.5 kb from transcription start point of the WAP gene have been identified in HC11 cells using macroarrays specific to the mouse WAP locus. A fifth MAR, located at +3 kb downstream of WAP gene, has been detected only in non-induced HC11. These MARs could contribute to organize the chromatin surrounding the WAP gene in several loops. The loop containing WAP gene is larger in induced cells (11.7) kb than that in non induced cells (5.7 kb) and could explain differential expression profile of the WAP gene. Two other MAR predicted in silico and located at -16 and -7.4 kb may bind to SATB1. They may anchor the chromatin to the

nuclear matrix in cell expressing this protein such as lymphoma or aggressive mammary tumor cells, and contribute to the repression of the expression of the WAP gene.  
**Key words:** WAP, RAMP3, Tbrg4, epigenetics,, DNA methylation, nuclear organization, matrix attachment region (MAR), prolactin, lactation.

## INFORMATIONS COMPLÉMENTAIRES

**Thierry FORNE**, Directeur de Recherche, Habilité à diriger des Recherches, à l'Institut de Génétique Moléculaire de Montpellier- Rapporteur **Emmanuel KAS**, Directeur de Recherche, Habilité à diriger des Recherches, au Laboratoire de Biologie Moléculaire Eucaryote, Toulouse- Rapporteur **Valérie GAUDIN**, Chargée de Recherche, à l'Institut National de la Recherche Agronomique, Versailles - Examineur **Jean-Luc VILOTTE**, Directeur de Recherche, à l'Institut National de la Recherche Agronomique, Jouy-en-Josas - Examineur **Bernard MIGNOTTE**, Professeur des Universités à l'Université de Versailles Saint-Quentin-en-Yvelines - Examineur **Eve DEVINOY**, Directrice de Recherche, à l'Institut National de la Recherche Agronomique, Jouy-en-Josas - Directrice de thèse