

M/S : médecine sciences



## Épigénétique : la paramécie comme modèle d'étude Epigenetics : *Paramecium* as a model system

Éric Meyer and Janine Beisson

Volume 21, Number 4, avril 2005

Épigénétique

URI: <https://id.erudit.org/iderudit/010771ar>

[See table of contents](#)

Publisher(s)

SRMS: Société de la revue médecine/sciences  
Éditions EDK

ISSN

0767-0974 (print)  
1958-5381 (digital)

[Explore this journal](#)

Cite this article

Meyer, É. & Beisson, J. (2005). Épigénétique : la paramécie comme modèle d'étude. *M/S : médecine sciences*, 21(4), 377–383.

Article abstract

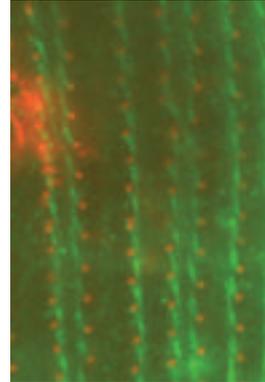
Since the middle of the last century, *Paramecium* has appeared as an intriguing genetic model, displaying a variety of heritable characters which do not follow the Mendel laws but are cytoplasmically inherited. The analysis of the hereditary mechanisms at play in this eukaryotic unicellular organism has provided new insight into epigenetics mechanisms. Interestingly, the revealing phenomena concern two peculiarities of *Paramecium*, its highly elaborate surface structure (with thousands of ciliary basal bodies as cytoskeleton organizers), and its nuclear dualism (coexistence of a diploid « germline » micronucleus and a highly polyploid somatic macronucleus devoted to transcription, which contains a rearranged version of the germline genome). Analysis of variant cortical organization has led to the concept of structural inheritance, implying that assembly of new organelles and supramolecular protein complexes is guided by pre-existing organization. Analysis of other cytoplasmically inherited characters revealed that the developing macronucleus is epigenetically programmed by the maternal macronucleus through RNA-mediated, homology-dependent effects, suggesting the transcriptome should be recognized as a third actor in cellular inheritance, along with the « structurome » and the genome.

> Si la paramécie apparaît comme un modèle de choix pour analyser les composantes épigénétiques de l'hérédité, cela tient sans doute à sa complexité structurale et fonctionnelle qui en fait une sorte de métazoaire non cellularisé. Ses deux caractéristiques les plus atypiques, en effet, sont la complexité de son organisation corticale - offrant une énorme amplification des structures centriolaires qui n'existent ailleurs qu'en deux exemplaires par cellule - et son dualisme nucléaire, avec un micronoyau diploïde à fonction germinale et un macronoyau très polyploïde, dérivé du micronoyau, mais contenant un génome «simplifié» dédié à la transcription. Cet article tente de décrire comment l'analyse génétique de caractères touchant justement à ces particularités - l'organisation du cortex et l'expression de fonctions macronucléaires - a conduit à mettre en évidence le rôle, dans l'hérédité cellulaire chez la paramécie, de trois composantes: génome, transcriptome et « structurome », trilogie qui a quelques chances d'avoir une signification biologique, voire évolutive, générale. <

Il y a plus de soixante ans que la paramécie a pris rang parmi les systèmes génétiques modèles. Eucaryote unicellulaire, facile à cultiver, sa taille permet de suivre, à faible grossissement, cycle cellulaire, conjugaison, comportement, sécrétion et morphogénèse, et de cribler visuellement des mutations touchant une gamme de fonctions cellulaires. Plusieurs particularités biologiques en facilitent l'étude génétique. D'une part, le processus d'autogamie, qui produit des clones 100% homozygotes, simplifie l'analyse génétique et permet l'expression de mutations récessives à l'issue d'une mutagenèse. D'autre part, lors d'un croisement, la descendance de chaque couple de conjugants présente simultanément le résultat des deux croisements réciproques (Figure 1). Ce modèle, apprivoisé par Jennings au début du siècle dernier, fut véritablement lancé par

## Épigénétique : la paramécie comme modèle d'étude

Éric Meyer, Janine Beisson



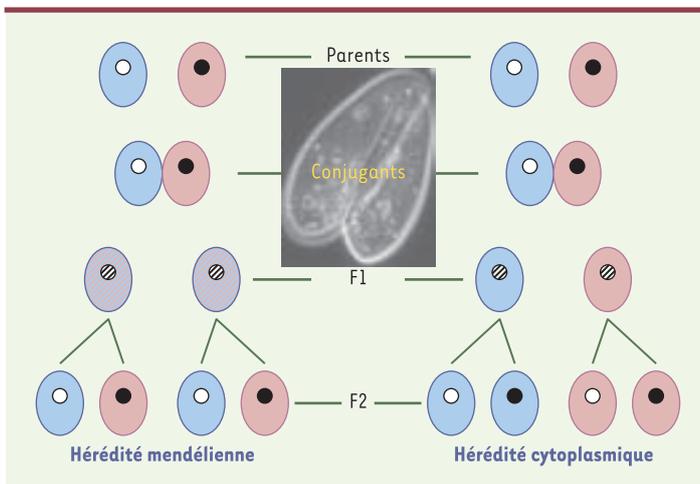
E. Meyer: Laboratoire de Génétique moléculaire, CNRS UMR 8541, École Normale Supérieure, 46, rue d'Ulm, 75005 Paris, France.  
[emeyer@biologie.ens.fr](mailto:emeyer@biologie.ens.fr)

J. Beisson: Centre de Génétique moléculaire, CNRS UPR 2167, allée de la Terrasse, 91190 Gif-sur-Yvette, France.  
[Janine.Beisson@cgm.cnrs-gif.fr](mailto:Janine.Beisson@cgm.cnrs-gif.fr)

T.M. Sonneborn, qui décrit les types sexuels, entama l'étude génétique de cet organisme prometteur... et découvrit que plusieurs des caractères qu'il étudiait ne suivaient pas les lois de Mendel, mais une hérédité de type cytoplasmique. Et tandis que la communauté des généticiens se focalisait sur l'étude de la structure et de la fonction des gènes, T.M. Sonneborn et ses collaborateurs s'attachèrent à débusquer, *beyond the gene* [1], les déterminants héréditaires responsables de cette phénoménologie. Jusque vers la fin des années 1960, les phénomènes décrits chez la paramécie (transmission cytoplasmique du caractère *killer*, du type antigénique, du type sexuel, de l'organisation corticale) faisaient partie du bagage de l'étudiant en génétique. Puis la paramécie s'est marginalisée [2], en relation avec le développement des modèles eucaryotes supérieurs, mais aussi sans doute à cause de la nature même des phénomènes non orthodoxes offerts par ce protozoaire sympathique, mais « bizarre » avec son architecture cellulaire byzantine et son dimorphisme nucléaire. Maintenant que rebondit l'intérêt pour l'épigénétique, la paramécie, son génome complètement séquencé, redevient un modèle attractif. Il est donc intéressant d'évoquer les apports de cet organisme à l'évolution des concepts et à l'analyse des mécanismes épigénétiques.

## Épigénétique et hérédité cytoplasmique

L'hérédité cytoplasmique d'un caractère ne préjuge pas de son déterminisme génétique. Le caractère *killer* de certaines lignées vis-à-vis d'autres dites sensibles se révéla associé à une bactérie endosymbiotique se multipliant dans le cytoplasme. Le phénomène rentra finalement dans l'orthodoxie génétique, comme divers caractères à hérédité cytoplasmique décrits chez des végétaux, des insectes ou des champignons, et qui se révélèrent déterminés par des gènes mitochondriaux



**Figure 1. Analyse génétique chez la paramécie.** La conjugaison est un processus de fécondation réciproque. Dans un couple de conjugants (encart), chaque partenaire subit la méiose, et un seul des noyaux haploïdes produits dans chacune des deux cellules survit. Celui-ci subit alors une mitose qui aboutit à la formation de deux noyaux gamétiques identiques dans chaque cellule post-méiotique. L'un de ces noyaux haploïdes migre alors vers le partenaire (pronucleus mâle), tandis que l'autre demeure dans la cellule d'origine (pronucleus femelle). Cet échange de noyau s'effectue, en règle générale, sans échange de cytoplasme. Dans chaque cellule, la fusion du noyau résident et du noyau migrateur venant du partenaire forme le noyau zygotique diploïde : les deux conjugants auront donc des noyaux zygotiques identiques, hétérozygotes si les partenaires avaient des génotypes différents. Après leur séparation, chacun des ex-conjugants reprend la multiplication végétative, ce qui donne naissance à deux clones F1 qui sont génétiquement identiques, mais possèdent des cytoplasmes différents. Ainsi, une différence phénotypique (rose/bleu) entre les parents, qui est maintenue en F1, témoigne d'un phénomène d'hérédité « cytoplasmique » et ne peut pas être déterminée par le génotype nucléaire. Le noir et le blanc symbolisent deux allèles du génome micronucléaire (voir Figure 4). L'autogamie est un processus d'autofécondation qui survient en l'absence de partenaire sexuel : comme dans le cas de la conjugaison, le noyau haploïde qui survit après la méiose subit une mitose, mais les deux produits frères de cette mitose fusionnent pour redonner un noyau diploïde : la cellule se trouve alors homozygote pour tous ses gènes. La survie d'un seul des produits de la méiose s'effectuant au hasard, l'autogamie d'un clone F1 hétérozygote donnera des descendants F2 homozygotes qui ont une probabilité égale à 50 % de garder l'un ou l'autre des allèles F1. Dans le cas des caractères soumis à une hérédité cytoplasmique, aucune ségrégation n'est observée.

ou chloroplastiques, ou par un virus. Mais d'autres phénomènes ne pouvaient s'expliquer sans de nouveaux concepts. C'est le cas du type antigénique, correspondant à l'expression exclusive, parmi un répertoire de protéines de surface (antigènes), de l'une ou l'autre d'entre elles. Si l'on croise deux clones exprimant de manière stable des antigènes différents, A et B, les deux clones ex-conjugants, bien que génétiquement identiques, continuent à exprimer l'antigène de leur parent cytoplasmique. La stabilité et l'héritabilité de phénotypes alternatifs chez deux lignées de même génotype inspira à M. Delbrück, en 1949 [3], le modèle dit « d'équilibres de flux » : deux voies métaboliques a1-a2-a3 et b1-b2-b3 peuvent produire deux états stables alternatifs si le produit b2 inhibe la formation de a2 et le produit a2 inhibe la formation de b2. Première conceptualisation d'un mécanisme épigénétique, ce modèle schématise un mécanisme ne touchant pas à l'information génique, et qui assure l'auto-entretien d'un phénotype. Un tel mécanisme peut aussi impliquer une boucle de rétrocontrôle positif ou négatif agissant au niveau transcriptionnel [4], post-transcriptionnel [5] ou traductionnel [6], ou encore un changement conformationnel de type prion. La caractéristique commune de tels systèmes est que, une fois établi, accidentellement ou en réponse à des changements de l'environnement, le nouveau phénotype se maintiendra par continuité cytoplasmique au cours des divisions cellulaires et des processus sexuels, autogamie ou conjugaison. De plus, le nouvel état peut être « contagieux » en cas de fusion cellulaire et mélange de cytoplasme : c'est ce que l'on observe pour les prions de levure ou de *P. anserina* (pour revue, voir [7]) et, chez la paramécie, pour l'hérédité du type antigénique ou du type sexuel lorsqu'un pont cytoplasmique s'établit entre les conjugants [1].

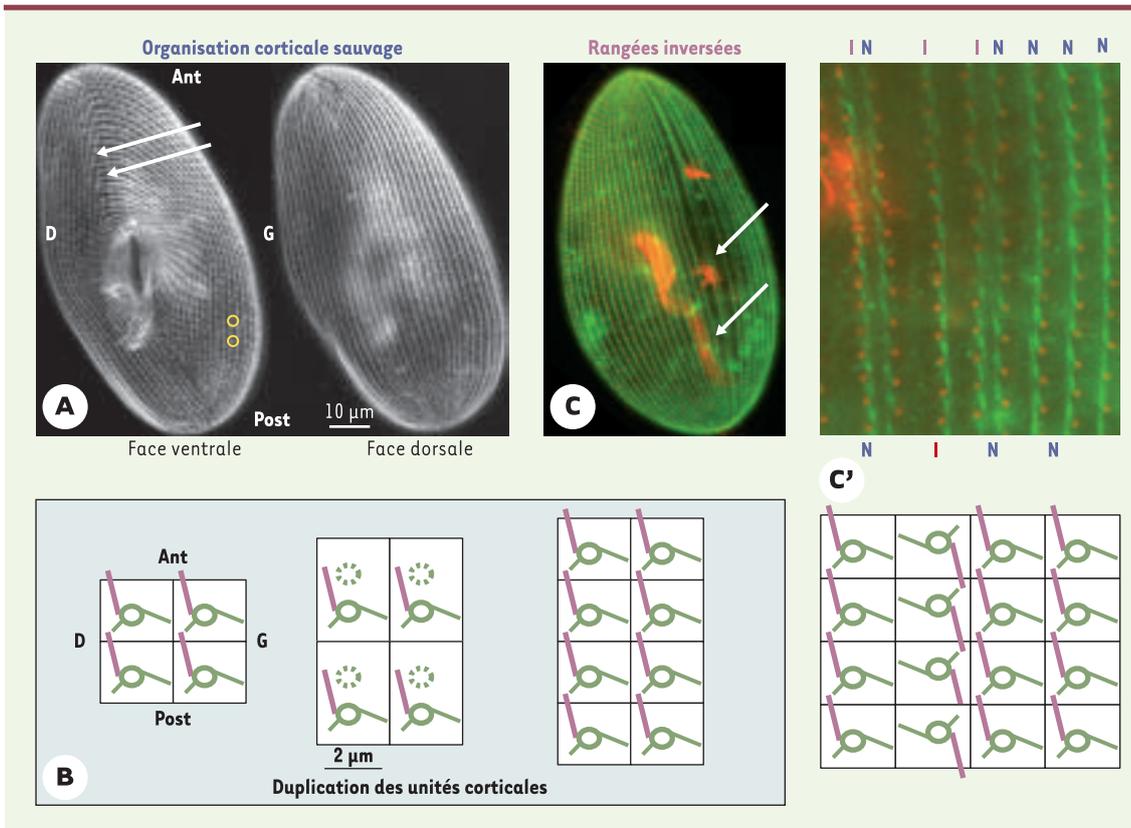
L'hérédité cytoplasmique de caractères affectant deux particularités de la paramécie, la complexité de son architecture corticale et celle de son macronoyau, ont permis la mise en évidence de nouveaux mécanismes épigénétiques.

### Hérédité de structure

Quatre mille cils jalonnent la surface d'une paramécie. La complexité apparente de son cortex se résout en fait en l'arrangement régulier de motifs répétitifs, les unités corticales, arrangées en files parallèles à l'axe antéro-postérieur de la cellule (Figure 2A). Une unité comporte un ou deux cils, chacun issu d'un corps basal (centriole) flanqué d'appendices cytosquelettiques (Figure 2B). Le

cortex dans son ensemble montre une asymétrie droite-gauche, présente aussi dans chaque unité, et une polarité dorso-ventrale. La duplication des corps basaux, comme celle des centrioles, est couplée à la division. Pour restituer aux deux cellules filles ces asymétries, un véritable processus de développement est nécessaire dont les deux moteurs sont la duplication des corps basaux, chaque nouveau s'insérant à l'avant de son père (*Figure 2B*) et, comme dans le cas d'un œuf

mosaïque, une contribution différentielle programmée des différents territoires de la cellule mère au développement des cellules filles [8]. L'étonnante reproductibilité d'une organisation si complexe conduit T.M. Sonneborn à en examiner le déterminisme [9] chez des «doublets», issus de la fusion accidentelle de deux conjugants et pourvus d'un double jeu de toutes les structures corticales. Leur analyse génétique montra que le



**Figure 2. L'organisation corticale et son hérité.** **A.** Vue des surfaces ventrale et dorsale d'une paramécie sauvage. L'immunomarquage des corps basaux (petits cercles jaunes) et de la racine ciliaire émanant de chacun d'eux (flèches blanches) révèle l'organisation générale du cortex en rangées parallèles de corps basaux. La face ventrale est marquée par l'ouverture de la cavité buccale, dans l'axe d'une ligne de suture; ce méridien oral définit une asymétrie droite/gauche (D/G). Sur la face dorsale, les rangées parallèles s'étendent d'un pôle à l'autre sans discontinuité. **B.** Duplication des corps basaux et croissance du cortex. Chaque unité est sous-tendue et entourée par des réseaux cytosquelettiques formant des mailles ou des écailles, schématisées ici par un carré. Au centre, chaque corps basal (cercle vert) est flanqué, sur sa droite, d'une racine ciliaire (mauve) et de 2 « rubans » de microtubules (verts). Toutes les unités corticales ont les mêmes polarités, alignées sur les polarités antéropostérieure et droite-gauche de la cellule. Au moment de la division cellulaire, la duplication des corps basaux suit une géométrie stricte: chaque nouveau corps basal se positionne à l'avant de son père et nucléé des appendices de mêmes polarités que dans l'unité parentale. Pendant la division, la croissance est essentiellement longitudinale et, dans les cellules filles, anciennes et nouvelles unités alternent donc le long de chaque rangée longitudinale. **C.** Surface dorsale d'une paramécie présentant des rangées d'unités corticales à polarité inversée. Les corps basaux (en rouge) sont marqués par un anticorps monoclonal anti-tubuline et les racines ciliaires (en vert) par un anticorps polyclonal spécifique. Sur la surface dorsale, la régularité du profil cortical est interrompue par deux discontinuités (flèches blanches) dues à l'intercalation de rangées à polarité inversée. **C'.** Organisation dans une région d'inversion de la polarité des unités corticales. L'agrandissement montre que, dans les rangées inversées (I), les racines ciliaires pointent vers l'arrière et la gauche de la cellule, tandis que, dans les rangées normales (N), les racines pointent vers l'avant et la droite de la cellule, ici vue de dos. L'organisation des unités corticales au niveau des zones d'inversion est schématisée au-dessous.

déterminisme du caractère « doublet », transmis au cours des divisions et hérité maternellement lors du croisement avec un « simplet », se localisait dans le cortex lui-même. T.M. Sonneborn appela « cytotaxie » le processus interactif par lequel l'assemblage de nouvelles structures est guidé par l'organisation préexistante [9]. Cette cytotaxie opère en fait au niveau de l'unité corticale : si une cellule sauvage reçoit un petit greffon cortical inséré en polarité antéro-postérieure inversée, les unités corticales greffées se dupliquent en conservant leur polarité inversée et forment, après quelques divisions, des rangées à polarité inversée d'un pôle à l'autre de la cellule, parallèles aux rangées normales (Figure 2C-C'), sorte de *situs inversus* cellulaire. Comme dans le cas des doublets, cette modification de l'architecture corticale peut se maintenir à travers des centaines de divisions cellulaires et s'hérite maternellement au cours des croisements [10].

Cette hérédité de structure n'est pas une curiosité zoologique, mais bien le révélateur de mécanismes généraux établissant une mémoire cellulaire à différents niveaux. Au niveau moléculaire, la variation héréditaire observée ne concerne que l'organisation spatiale d'édifices protéiques, comme dans le phénomène prion [7]. Au niveau subcellulaire, l'hérédité corticale traduit directement les propriétés de la structure centriolaire, fortement conservée au cours de l'évolution [11] : capacité de duplication et transmission des polarités au cours de la duplication [12]. Ces propriétés jouent sans doute un rôle majeur dans la division et la différenciation cellulaires comme dans le développement : certains ARNm s'associent au centrosome et sont transmis avec lui de manière semi-conservative à l'une des deux cellules filles [13] ; au cours de l'ovogenèse de la drosophile, l'origine de la polarité de l'embryon se précise : le fusome, structure émanant du centrosome, transmet la polarité du cystoblaste à l'ovocyte [14]. Chez le trypanosome, une spectaculaire transmission d'information structurale s'effectue par le flagelle, issu du corps basal : une liaison étroite entre le nouveau flagelle en croissance et l'ancien flagelle assure l'hérédité de la forme cellulaire et de sa polarité [15]. Une mémoire structurale est également à l'œuvre dans la reproduction d'autres organites subcellulaires : le centromère, qui se comporte comme un complexe protéique autorépliatif résidant sur l'ADN, mais non déterminé par lui [16], ou le Golgi, dont la reconstitution à l'issue de la mitose impliquerait la rémanence de composants spécifiques et non une redifférenciation *de novo* à partir du réticulum [17].

Enfin, au niveau cellulaire, l'hérédité corticale révèle que l'organisation globale n'est pas « génétiquement programmée » dans les détails : la cellule utilise des éléments structurés et des marqueurs de polarité existants. Ainsi, la géométrie des réseaux microtubulaires dépend de la localisation d'un centre de nucléation et d'interactions avec d'autres structures dans la cellule [18]. Chez la levure, des protéines comme Rax2p marquent de manière stable le site de formation des bourgeons

successifs [19]. Comme les cailloux blancs du *Petit Poucet*, la cellule utilise des éléments structurés et des marqueurs de polarité, stables ou relayés au cours des divisions, pour localiser et orienter complexes supramoléculaires et édifices subcellulaires. Cette utilisation des structures existantes offre une certaine flexibilité à l'hérédité cellulaire.

### Hérédité macronucléaire

D'autres phénomènes d'hérédité cytoplasmique dépendent de la différenciation, à chaque génération sexuelle, de deux types de noyaux, les micronoyaux germinaux et le macronoyau somatique, qui se forment tous deux à partir de produits de mitose du noyau zygotique (Figure 3A). Les micronoyaux diploïdes assurent par la méiose la transmission du patrimoine génétique, mais leur génome n'est pas exprimé pendant la croissance végétative. À l'inverse, le macronoyau polyploïde est responsable de l'expression des gènes, mais le macronoyau parental est perdu après la fécondation et remplacé par le macronoyau zygotique nouvellement différencié. Certains caractères, tels que les types sexuels (désignés O ou E), sont déterminés au cours de la différenciation du macronoyau à partir d'un génome micronucléaire totipotent [20]. Transplantations nucléaires et fusions cytoplasmiques ont depuis longtemps révélé le rôle déterminant du macronoyau maternel<sup>1</sup>, encore présent dans le cytoplasme à ce stade : dans chaque cellule conjugante, il oriente la différenciation du nouveau macronoyau vers le même type sexuel, assurant ainsi l'hérédité maternelle (cytoplasmique) du caractère.

La biologie moléculaire a permis de préciser les mécanismes mis en jeu dans ce type d'hérédité, baptisé hérédité macronucléaire, en montrant que le génome macronucléaire, qui gouverne le phénotype, est une version réarrangée du génome micronucléaire [21]. Il en diffère par l'excision précise d'un grand nombre de courtes séquences non codantes qui interrompent fréquemment gènes et régions intergéniques, et par l'élimination des séquences répétées (transposons, minisatellites) par un mécanisme imprécis qui provoque généralement la fragmentation des chromosomes (Figure 3B). Ces réarrangements programmés permettent une certaine flexibilité des relations génotype/phénotype car, bien que reproductibles, ils ne sont pas strictement déterminés par la séquence du génome micronucléaire.

La capacité du macronoyau maternel à déterminer, à travers le cytoplasme, le choix de réarrangements alternatifs fut tout d'abord établie par l'étude d'une souche variante incapable d'exprimer l'antigène de surface A (Figure 4). Les analyses

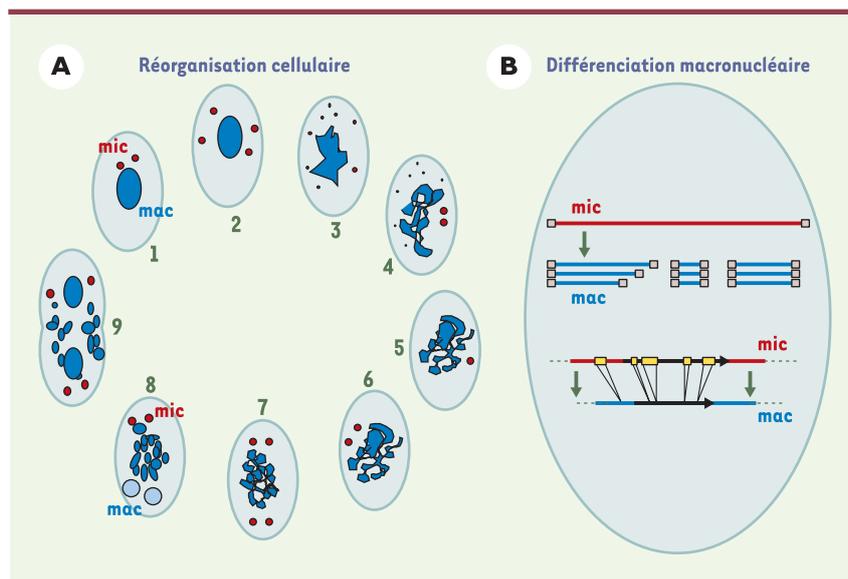
<sup>1</sup> Les ciliés sont des organismes hermaphrodites et la conjugaison est une fécondation réciproque, chacun des deux partenaires fécondant l'autre. On peut cependant définir, pour chacun des descendants F1, une mère (la cellule parentale ayant fourni le cytoplasme et une copie du génome haploïde) et un père (la cellule parentale dont la contribution est limitée à une copie du génome haploïde).

moléculaires montrèrent que le gène *A* était délété dans le génome macronucléaire de cette souche [22]. Pourtant, la génétique indiquait un génome micronucléaire entièrement sauvage, la délétion macronucléaire

étant héritée de manière cytoplasmique, et non mendélienne, dans les croisements avec la souche sauvage [23]. De plus, la réintroduction du gène *A* par micro-injection dans le macronoyau mutant permettait de restaurer l'amplification du gène dans le macronoyau de la génération sexuelle suivante, après méiose des micronoyaux sauvages [24]. D'autres expériences ont montré que ce phénomène ne dépend pas d'une particularité du gène *A*, mais témoigne d'un contrôle général des réarrangements par des effets maternels dépendants de l'homologie [25, 26]. De telles délétions macronucléaires peuvent être créées expérimentalement pour à peu près n'importe quel gène: il suffit pour cela d'induire son extinction par interférence par l'ARN<sup>2</sup> avant la méiose, par exemple en nourrissant les cellules avec des bactéries produisant de l'ARN double-brin homologue de ce gène. Le *silencing* végétatif s'accompagne de l'accumulation de petits ARN double-brin d'environ 23 nucléotides (*siRNA*, *short interfering RNA*) qui sont apparemment capables, après la méiose, de cibler la délétion du même gène dans le nouveau macronoyau de manière dépendante de l'homologie [27].

Une fois induites expérimentalement, ces délétions macronucléaires sont reproduites spontanément dans les générations sexuelles suivantes, toujours suivant la même hérédité maternelle. Pour programmer les réarrangements du génome dans le macronoyau en développement, la paramécie semble donc comparer la séquence du génome micronucléaire à la version précédemment réarrangée contenue dans le macronoyau

maternel. Une telle comparaison de séquences entre différents noyaux a également été proposée chez le cilié apparenté *Tetrahymena thermophila* pour expliquer des phénomènes similaires, et fait probablement intervenir une autre classe de petits ARN, distincts des *siRNA* précédemment cités parce qu'ils ne dépendent pas d'un phénomène de *silencing*



**Figure 3. Cycle sexuel et réorganisation macronucléaire.** **A.** Événements cellulaires. **1.** La paramécie en croissance végétative possède deux micronoyaux diploïdes (*mic*, en rouge) et un macronoyau (*mac*, en bleu) polypléide (800 à 1 000 n). Des conditions de jeûne modéré induisent la réactivité sexuelle: en présence d'un partenaire de type sexuel complémentaire, la cellule conjuguera; sinon, elle subira l'autogamie. **2-3.** Conjugaison et autogamie déclenchent la méiose des micronoyaux, aboutissant à 8 noyaux haploïdes dont 7 dégèrent et un seul survit, tandis que le macronoyau entame un processus de fragmentation. **4.** Le noyau haploïde survivant subit une mitose. **5.** Dans le cas de l'autogamie, les produits de cette mitose fusionnent; dans le cas de la conjugaison, il y a échange réciproque de l'un des produits de cette mitose et fusion dans chaque conjugant pour donner un noyau zygotique diploïde. **6-7.** Le noyau diploïde subit deux mitoses post-zygotiques. Le macronoyau a achevé sa fragmentation. **8.** Les deux noyaux localisés au pôle postérieur de la cellule se différencient en macronoyaux. **9.** À l'issue de ces processus sexuels, lors de la première division, les deux macronoyaux nouvellement formés sont répartis entre les deux cellules filles, tandis que les deux micronoyaux subissent chacun une mitose. Lors des divisions suivantes, le macronoyau se divise en même temps que les micronoyaux, tandis que les fragments de l'ancien macronoyau, qui ne répliquent plus leur ADN, sont répartis au hasard dans les cellules filles, et finalement dégradés. **B.** Événements moléculaires. La différenciation des nouveaux macronoyaux implique l'amplification du génome micronucléaire de  $2n$  à  $800n$ , ainsi que deux types de réarrangements reproductibles qui surviennent après quelques cycles de réplication. Le premier est l'élimination imprécise de relativement grandes régions du génome germlinal contenant des séquences répétées telles que transposons et minisatellites. Faute de religation des séquences flanquantes, ce processus provoque généralement la fragmentation des chromosomes micronucléaires (en rouge) en « chromosomes » macronucléaires (en bleu) plus petits et acentriques, dont les extrémités sont réparées par l'ajout *de novo* de télomères. Le deuxième type de réarrangements est l'excision, précise cette fois, de plus de 50 000 courtes séquences non codantes (en jaune), sorte d'introns d'ADN qui interrompent fréquemment gènes et régions intergéniques. Chacune de ces IES (*internal eliminated sequences*) semble présente en copie unique dans le génome haploïde.

<sup>2</sup> L'interférence par l'ARN est un mécanisme épigénétique conservé chez les eucaryotes, par lequel une molécule d'ARN double-brin homologue à un gène endogène inhibe l'expression de celui-ci.

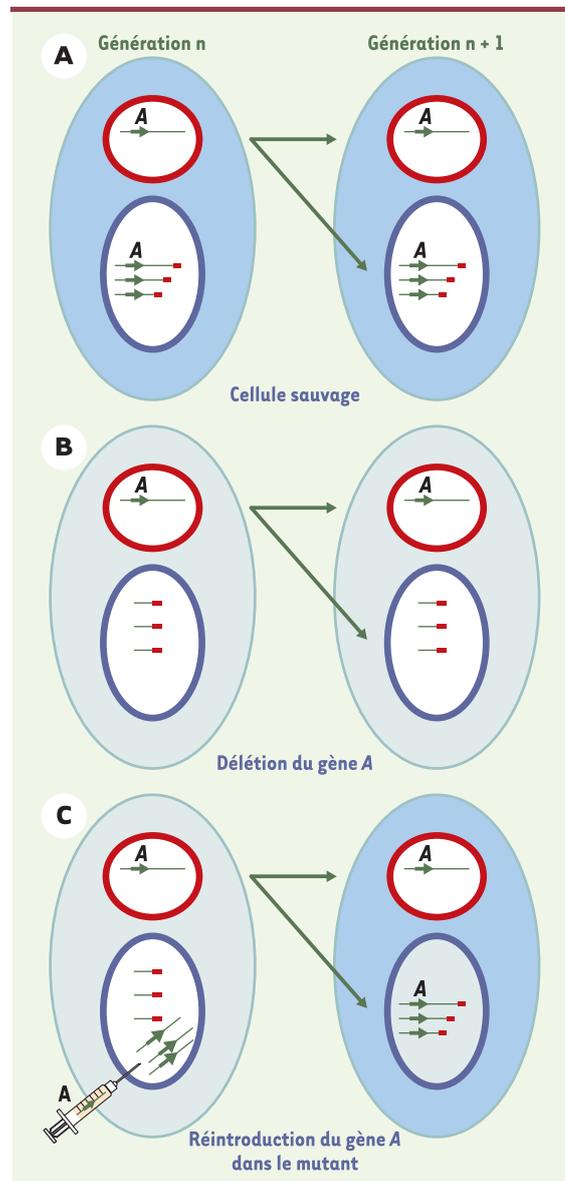
et parce qu'ils sont produits par le génome micronucléaire au cours de la méiose [28]. Ces *scnRNA* (*scan RNA*) seraient exportés dans le macronoyau maternel où ils seraient triés par des appariements avec les séquences du génome réarrangé: ceux qui n'y trouvent pas de séquence homologue, c'est-à-dire ceux qui correspondent à des séquences spécifiquement micronucléaires, seraient réexportés vers le nouveau macronoyau en développement pour y cibler les délétions. Ce ciblage se fait vraisemblablement par l'intermédiaire de la formation d'hétérochromatine (méthylation de l'histone H3 sur la lysine 9), puisqu'il a été montré chez *T. thermophila* que cette modification est nécessaire et suffisante pour programmer l'élimination d'ADN pendant le développement macronucléaire [29]. Une partie de ces mécanismes n'est pas propre aux ciliés: de petits ARN produits par interférence par l'ARN ont récemment été impliqués dans la formation d'hétérochromatine chez de nombreux autres eucaryotes [30]. Ainsi, le rôle de l'interférence par l'ARN dans la programmation épigénétique des réarrangements génomiques chez les ciliés semble être un aspect particulier d'un mécanisme conservé qui assure plus généralement la régulation épigénétique de l'expression du génome.

### Conclusions et perspectives

La paramécie n'a pas encore livré tous ses secrets, et certains cas d'hérédité cytoplasmique demeurent inexpliqués. L'hérédité du type anti-

**Figure 4. Effets maternels dépendants de l'homologie contrôlant les réarrangements du génome.** **A.** Réarrangements de la région chromosomique du gène *A* dans la souche sauvage. Lors de la reproduction sexuelle, le micronoyau (cercle rouge) de la génération *n* donne naissance aux nouveaux micronoyaux et macronoyau (cercle bleu) de sa descendance cytoplasmique, génération *n*+1. Au cours du développement macronucléaire, le chromosome portant le gène *A* est réarrangé dans une région située en aval du gène: l'élimination de longueurs variables de séquences germinales aboutit à la fragmentation du chromosome et à la formation de télomères (boîtes rouges) dans trois régions alternatives, qui sont fidèlement reproduites de génération en génération. **B.** Réarrangements de la région chromosomique du gène *A* dans la souche variante. Dans cette souche, le chromosome est réarrangé de manière différente, bien que le génome micronucléaire de cette souche soit strictement identique à celui de la souche sauvage: les séquences germinales éliminées sont plus étendues et englobent le gène *A*, de sorte que les télomères qui marquent l'extrémité du chromosome macronucléaire se forment en amont du gène, qui est totalement absent du génome macronucléaire. Comme dans la souche sauvage, le réarrangement alternatif est fidèlement reproduit de génération en génération. Il s'agit donc d'une mutation purement somatique, cependant héréditaire (en lignée maternelle) dans les générations sexuelles suivantes. **C.** Réversion expérimentale de la délétion somatique du gène *A*. La réintroduction du gène *A* par micro-injection directe dans le macronoyau mutant permet, après induction de la méiose dans le clone transformé, de restaurer l'amplification normale du gène *A* dans la génération sexuelle suivante, lorsqu'un nouveau macronoyau se différencie à partir du micronoyau sauvage. Cette expérience montre que le gène *A* n'est maintenu dans le macronoyau zygotique en cours de différenciation que si ce même gène est déjà présent dans le macronoyau maternel.

génique au cours de la reproduction sexuelle, par exemple, ne semble pas, dans le cas général, faire intervenir de réarrangements alternatifs des gènes concernés: lorsque tous les gènes d'antigènes sont présents dans le nouveau macronoyau, seul sera exprimé celui qui était exprimé dans le macronoyau maternel. Mais qu'il s'agisse de régulation de l'expression des gènes ou, à l'extrême, de délétions des gènes dans le noyau somatique, l'état transcriptionnel des gènes maternels (production d'ARN messager ou *silencing* par des petits ARN) semble jouer un rôle majeur dans la programmation épigénétique du génome zygotique de la paramécie. L'idée commune qui



émerge de ces observations est celle d'une héritabilité cytoplasmique du transcriptome, qui impliquerait divers types d'ARN non codants agissant de manière dépendante de l'homologie et qui serait tout aussi essentielle que l'héritabilité mendélienne du génome lui-même. Les particularités des ciliés rendent cette double hérédité très visible, et l'hérédité de structure y rajoute une troisième composante, que l'on pourrait appeler le « structurome ». Il reste à voir dans quelle mesure ces mécanismes non mendéliens permettront de mieux expliquer l'héritabilité des caractères phénotypiques chez les autres eucaryotes. ♦

## SUMMARY

### Epigenetics: *Paramecium* as a model system

Since the middle of the last century, *Paramecium* has appeared as an intriguing genetic model, displaying a variety of heritable characters which do not follow the Mendel laws but are cytoplasmically inherited. The analysis of the hereditary mechanisms at play in this eukaryotic unicellular organism has provided new insight into epigenetics mechanisms. Interestingly, the revealing phenomena concern two peculiarities of *Paramecium*, its highly elaborate surface structure (with thousands of ciliary basal bodies as cytoskeleton organizers), and its nuclear dualism (coexistence of a diploid «germline» micronucleus and a highly polyploid somatic macronucleus devoted to transcription, which contains a rearranged version of the germline genome). Analysis of variant cortical organization has led to the concept of structural inheritance, implying that assembly of new organelles and supramolecular protein complexes is guided by pre-existing organization. Analysis of other cytoplasmically inherited characters revealed that the developing macronucleus is epigenetically programmed by the maternal macronucleus through RNA-mediated, homology-dependent effects, suggesting the transcriptome should be recognized as a third actor in cellular inheritance, along with the «structurome» and the genome. ♦

## RÉFÉRENCES

1. Sonneborn TM. Beyond the gene. *American Scientist* 1949; 37: 33-59.
2. Preer JR Jr. Whatever happened to *Paramecium* genetics? *Genetics* 1997; 145: 217-25.
3. Delbrück M. Unités biologiques douées de continuité génétique. *Colloques internationaux du Centre national de la recherche scientifique*. Paris: CNRS, 1949; VIII: 33-4.
4. Serfling E. Autoregulation: a common property of eukaryotic transcription factors? *Trends Genet* 1989; 5: 131-3.
5. Sijen T, Fleenor J, Simmer F, et al. On the role of RNA amplification in dsRNA-triggered gene silencing. *Cell* 2001; 107: 465-76.
6. Cheng MY, Hartl FU, Horwich AL. The mitochondrial chaperonin hsp60 is required for its own assembly. *Nature* 1990; 348: 455-8.
7. Wickner RB, Taylor KL, Edskes HK, et al. Prions in *Saccharomyces* and *Podospora* spp: protein-based inheritance. *Microbiol Mol Biol Rev* 1999; 63: 844-61.
8. Iftode F, Cohen J, Ruiz F, et al. Development of surface pattern during division in *Paramecium*. I. Mapping of duplication and reorganization of cortical cytoskeletal structures in the wild type. *Development* 1989; 105: 191-211.
9. Sonneborn TM. Does preformed cell structure play an essential role in cell heredity? In: Allen JM, ed. *The nature of biological diversity*. New York: McGraw-Hill, 1963: 165-221.
10. Beisson J, Sonneborn TM. Cytoplasmic inheritance of the organization of the cell cortex in *Paramecium aurelia*. *Proc Natl Acad Sci USA* 1965; 53: 275-82.
11. Beisson J, Wright M. Basal body/centriole assembly and continuity. *Curr Opin Cell Biol* 2003; 15: 96-104.
12. Beisson J, Jerka-Dziedzic M. Polarities of the centriolar structure: morphogenetic consequences. *Biol Cell* 1999; 91: 367-78.
13. Lambert JD, Nagy LM. Asymmetric inheritance of centrosomally localized mRNAs during embryonic cleavage. *Nature* 2002; 420: 682-6.
14. Huynh JR, St Johnston D. The origin of asymmetry: early polarisation of the *Drosophila* germline cyst and oocyte. *Curr Biol* 2004; 14: R438-49.
15. Moreira-Leite FF, Sherwin T, Kohl L, et al. A trypanosome structure involved in transmitting cytoplasmic information during cell division. *Science* 2001; 294: 610-2.
16. Cleveland DW, Mao Y, Sullivan KF. Centromeres and kinetochores: from epigenetics to mitotic checkpoint. *Cell* 2003; 112: 407-21.
17. Barr FA. Golgi inheritance: shaken but not stirred. *J Cell Biol* 2004; 164: 955-8.
18. Kirschner M, Mitchison T. Beyond self-assembly: from microtubules to morphogenesis. *Cell* 1986; 45: 329-42.
19. Chen T, Hiroko T, Chaudhuri A, et al. Multigenerational cortical inheritance of the Rax2 protein in orienting polarity and division in yeast. *Science* 2000; 290: 1975-8.
20. Sonneborn TM. Genetics of cellular differentiation: stable nuclear differentiation in eucaryotic unicells. *Annu Rev Genet* 1977; 11: 349-67.
21. Jahn CL, Klobutcher LA. Genome remodeling in ciliated protozoa. *Annu Rev Microbiol* 2002; 56: 489-520.
22. Forney JD, Blackburn EH. Developmentally controlled telomere addition in wild-type and mutant *Paramecia*. *Mol Cell Biol* 1988; 8: 251-8.
23. Epstein LM, Forney JD. Mendelian and non-Mendelian mutations affecting surface antigen expression in *Paramecium tetraurelia*. *Mol Cell Biol* 1984; 4: 1583-90.
24. Jessop-Murray H, Martin LD, Gilley D, et al. Permanent rescue of a non-Mendelian mutation of *Paramecium* by microinjection of specific DNA sequences. *Genetics* 1991; 129: 727-34.
25. Duhaucourt S, Keller AM, Meyer E. Homology-dependent maternal inhibition of developmental excision of internal eliminated sequences in *Paramecium tetraurelia*. *Mol Cell Biol* 1998; 18: 7075-85.
26. Meyer E, Garnier O. Non-Mendelian inheritance and homology-dependent effects in ciliates. *Adv Genet* 2002; 46: 305-37.
27. Garnier O, Serrano V, Duhaucourt S, Meyer E. RNA-mediated programming of developmental genome rearrangements in *Paramecium*. *Mol Cell Biol* 2004; 24: 7370-9.
28. Mochizuki K, Gorovsky MA. Small RNAs in genome rearrangement in *Tetrahymena*. *Curr Opin Genet Dev* 2004; 14: 181-7.
29. Liu Y, Mochizuki K, Gorovsky MA. Histone H3 lysine 9 methylation is required for DNA elimination in developing macronuclei in *Tetrahymena*. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004; 101: 1679-84.
30. Matzke MA, Birchler JA. RNAi-mediated pathways in the nucleus. *Nat Rev Genet* 2005; 6: 24-35.

## TIRÉS À PART

J. Beisson, E. Meyer