

# Contrôle génétique des différents types de fibres musculaires

Matthieu Dos Santos, Iori Sakakibara, Frédéric Auradé, Maud Wurmser, Stéphanie Backer, Marcio Do Cruzeiro, Jean Paul Concordet, Daan Noordermer, Frédéric Relaix, Pascal Maire

Les muscles squelettiques sont composés de fibres à vitesse de contraction lente ou rapide. Il existe trois sous-types de fibres rapides, chacun exprimant une isoforme différente de chaîne lourde de la myosine (MYH) codée par trois gènes distincts situés au même locus [1]. Le contrôle spatio-temporel de l'expression de ces gènes n'est pas connu. Notre objectif est d'étudier le lien entre l'organisation 3D de la chromatine du locus *Myh* et l'expression de ces gènes dans les fibres musculaires.

Nous avons créé un modèle de souris transgénique à partir d'un BAC (*Bacterial Artificial Chromosome*) d'environ 250 kb du locus *Myh* rapide ou nous avons cloné différents gènes rapporteurs fluorescents au niveau des premiers exons de chaque gène *Myh* rapide. Ce BAC a été injecté dans des ovocytes de souris et deux lignées de souris ont été obtenues : une lignée ayant intégré 2 copies complètes du BAC (*Enh*<sup>+</sup>) et une autre avec une délétion de la région 5' (*Enh*<sup>-</sup>). Dans la lignée *Enh*<sup>+</sup>, l'expression des transgènes récapitule celle des gènes endogènes. L'expression des transgènes dans la lignée *Enh*<sup>-</sup> est fortement réduite : la région 5' du BAC absente dans ces souris, est nécessaire pour contrôler spatialement l'expression des trois gènes rapides *Myh*.

Pour identifier ces éléments régulateurs, nous avons réalisé des expériences de *Chromatin Conformation Capture* (4C-seq) à partir de muscles squelettiques adultes. Ces expériences permettent d'identifier les interactions physiques entre un promoteur et des séquences régulatrices. Nous avons identifié une séquence régulatrice en cis d'environ 40 kb qui interagit avec le promoteur *Myh4* au niveau du quadriceps et le promoteur *Myh2* au niveau du soleus. Cette séquence pourrait être l'association de multiples séquences régulatrices ; un *SuperEnhancer*. Son absence dans la lignée BAC *Enh*<sup>-</sup> suggère que cette séquence est nécessaire pour activer et restreindre l'expression d'un seul gène de *Myh* rapide. Nous sommes en train de mieux caractériser les propriétés de ce *SuperEnhancer* dans la régulation des gènes de *Myh* rapides en générant des souris possédant une délétion de cet élément grâce à la technique de *Crispr/Cas9* (Figure 1).

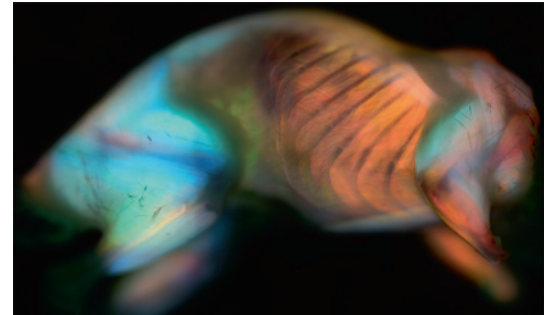


Figure 1  
Image d'une souris transgénique 5 jours après la naissance, exprimant différents transgènes au niveau des différents types de fibres rapides. Les fibres bleues expriment *Myh4*, les fibres rouges *Myh1* et les fibres vertes *Myh2* (© photo : Matthieu Dos Santos, Institut Cochin).

Les fibres musculaires squelettiques sont des cellules plurinucléées pouvant posséder plus de 250 noyaux chez la souris. Moins de 5 % des fibres adultes expriment plusieurs isoformes de *Myh* au niveau protéique [2, 3], ce sont des fibres hybrides. Ces résultats suggèrent que dans 95 % des fibres adultes, un seul gène *Myh* rapide du locus est activé et qu'un noyau ne peut exprimer qu'un seul gène de *Myh* rapide à la fois. Pour tester cette hypothèse, nous avons isolé des noyaux de muscle lent et rapide et nous avons séquencé les ARNm de chaque noyau individuellement grâce à la technique de *Single Cell RNAseq* de 10X genomics. Les résultats montrent que moins de 5 % des noyaux expriment 2 isoformes à la fois. Pour confirmer cela et visualiser si les noyaux d'une myofibre ont une expression de *Myh* coordonnée, nous avons visualisé l'expression des premARN de *Myh* rapide par hybridation *in situ* à fluorescence (RNAscope) sur des fibres musculaires isolées. Dans la majorité des cas un seul gène *Myh* rapide est exprimé par noyau et les différents noyaux d'une myofibre expriment la même isoforme de *Myh*. Cependant, dans l'EDL, environ 5 % des fibres possèdent une décoordination d'expression : dans une même myofibre, certains noyaux expriment différentes isoformes et d'autres expriment deux gènes de *Myh* en même temps. Le

**Matthieu Dos Santos**  
**Iori Sakakibara**  
**Maud Wurmser**  
**Stéphanie Backer**  
**Marcio Do Cruzeiro**  
**Pascal Maire**  
Institut Cochin, Paris,  
France  
**Frédéric Auradé**  
**Frédéric Relaix**  
Université de Créteil,  
France  
**Jean Paul Concordet**  
Muséum National  
d'Histoire Naturelle  
(MNHN), Paris, France  
**Daan Noordermer**  
Institut de Biologie  
Intégrative de la Cellule  
(IBIC), Gif-sur-Yvette,  
France  
**Contact**  
dossantos.ferreira.  
matthieu@gmail.com

nombre de fibres hybrides augmente de 10 fois au cours de la dénervation, prouvant que l'innervation participe à la coordination de l'expression des gènes de *Myh* rapide dans les myofibrilles.


### Genetic control of skeletal muscle fiber type

#### LIENS D'INTÉRÊT


Les auteurs déclarent n'avoir aucun lien d'intérêt concernant les données publiées dans cet article.

#### RÉFÉRENCES

1. Schiaffino S, Reggiani C. Fiber types in mammalian skeletal muscles. *Physiol Rev* 2011 ; 91 : 1447-531.
2. Sawano S, Komiya Y, Ichitsubo R, et al. A one-step Immunostaining method to visualize rodent muscle fiber type within a single specimen. *PLoS One* 2016 ; 11 : e0166080.
3. Rowan SL, Rygiel K, Purves-Smith FM, et al. Denervation causes fiber atrophy and myosin heavy chain co-expression in senescent skeletal muscle. *PLoS One* 2012 ; E7 : e29082.



**MYOBASE**  
LE PORTAIL DOCUMENTAIRE SUR LES MALADIES NEUROMUSCULAIRES



**AFMTELETHON**


## MYOBASE.ORG


LE PORTAIL DOCUMENTAIRE SUR LES MALADIES NEUROMUSCULAIRES


Ce portail documentaire spécialisé dans le domaine des maladies neuromusculaires, les situations de handicap qu'elles génèrent et leurs aspects psychologiques est publié par l'AFM-Téléthon.

UN ACCÈS facile et simple

- Utiliser les guillemets pour la recherche d'une expression "**maladie de pompe**"
- Utiliser le signe + pour signifier ET "**sma++mutation**"
- Utiliser le signe - pour signifier NON "**Duchenne--diagnostic**"  
(- : barre espace)

  
Alertes Myobase

  
Veille Maladies Neuromusculaires

  
Fils RSS

- Cliquez sur l'**onglet thématique** qui vous convient (haut de la page d'accueil)
- Abonnez-vous aux **alertes thématiques**. Créez vos alertes personnalisées en ouvrant un **compte personnel**
- Téléchargez la **Veille Neuromusculaire**
- Abonnez-vous aux **flux RSS**

Un outil ergonomique, UNE INTERFACE BILINGUE

- Laissez-vous guider par les **tutoriels**
- Lancez une **recherche** et affinez votre sélection grâce aux filtres

**TOUT MYOBASE**

Rechercher...

Recherche avancée

Histo **FILTRES**

Type de document

Article [3443]

Publication AFM [176]

Thèse/Mémoire [107]

Brève [102]

> PUBLICATIONS AFM-Téléthon

> BRÈVES

> DOCUMENTS DE SYNTHÈSE

INSTITUT DES BIOTHÉRAPIES PUBLICATIONS

- **Partagez** les résultats de votre recherche
- **Utilisez** les onglets thématiques ou type de publication

**En 2019, Myobase donne un accès libre à 75 % des 55 000 notices bibliographiques du fond documentaire collecté depuis 1990**

- > **articles** de la littérature biomédicale et psycho-sociale
- > **livres, thèses...**
- > **guides** d'associations et **rapports** institutionnels d'agences internationales
- > **brèves en français**, synthèses des articles médico-scientifiques internationaux les plus pertinents
- > **publications AFM-Téléthon** destinées aux professionnels de santé ou aux personnes atteintes de maladie neuromusculaire et à leur entourage