HAL
open science

Rôle de l'ETP Corto et de la protéine ribosomique RPL12 dans la régulation transcriptionnelle chez Drosophila melanogaster

Anne Coleno-Costes

To cite this version:

Anne Coleno-Costes. Rôle de l'ETP Corto et de la protéine ribosomique RPL12 dans la régulation transcriptionnelle chez Drosophila melanogaster. Biologie du développement. Université Pierre et Marie Curie - Paris VI, 2012. Français. NNT : 2012PAO66170 . tel-00828236

HAL Id: tel-00828236

https://theses.hal.science/tel-00828236v1

Submitted on 30 May 2013

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

THESE DE DOCTORAT DE
L'UNIVERSITE PIERRE ET MARIE CURIE

Spécialité

Biologie Moléculaire et Cellulaire
Ecole doctorale Complexité du vivant

Présentée par

Mme Anne COLENO-COSTES

Pour obtenir le grade de

DOCTEUR de l'UNIVERSITÉ PIERRE ET MARIE CURIE

Sujet de la thèse :

Rôle de l'ETP Corto et de la protéine ribosomique RPL12 dans la régulation transcriptionnelle chez *Drosophila melanogaster*

soutenue le 28 JUIN 2012

devant le jury composé de :

Mme. Frédérique PERONNET	Directeur de thèse
M. Sébastien BLOYER	Co-Directeur de thèse
Mme. Anne-Marie MARTINEZ	Rapporteur
M. Slimane AIT-SI-ALI	Rapporteur
M. André VERDEL	Examinateur
M. Olivier JEAN-JEAN	Examinateur

Université Pierre & Marie Curie - Paris 6
Bureau d'accueil, inscription des doctorants et base de données
Esc G, 2ème étage
15 rue de l'école de médecine
75270-PARIS CEDEX 06

Tél. Secrétariat : 01 42 34 68 35
Fax : 01 42 34 68 40
Tél. pour les étudiants de A à EL : 01 42 34 69 54
Tél. pour les étudiants de EM à MON : 01 42 34 68 41
Tél. pour les étudiants de MOO à Z : 01 42 34 68 51
E-mail : scolarite.doctorat@upmc.fr

Je tiens tout d'abord à remercier Anne-Marie MARTINEZ, Slimane AIT-SI-ALI, André VERDEL et Olivier JEAN-JEAN pour avoir accepté d'évaluer mon travail de thèse et de faire partie de mon jury.

Un grand merci à Sébastien pour ton encadrement si particulier, tu m'as rendue encore plus autonome que je ne l'étais déjà. Les réunions-café-clope sur la terrasse du 7ème étaient juste ce qu'il fallait au moment où il le fallait, enfin je crois. J'ai adoré tes éclats de voix (tonitruants) quand tu t'énervais tout seul devant ton ordinateur (surtout quand les stagiaires passaient très inquiets), et encore plus ton enthousiasme pour mes manips alors que j'étais moi-même sceptique. Parmi les images les plus frappantes que je garderai, Obélix ne laissera pas sa place, mais d'autres costumes, parait-il, te vont également à ravir.

Frédérique, tu m'as accueillie dans ton équipe, un peu surprise et très heureuse que je choisisse l'association de la chromatine et du développement. Je n'ai jamais regretté ce choix et crois bien que c'est le cœur très lourd que je vous quitterai. Un simple merci ne suffira pas pour te remercier pour tout, pour ton implication exceptionnelle d'abord pour les corrections de mon manuscrit, pour ta disponibilité et ta patience, pour ta franchise aussi quand on avait besoin de se remettre sur les rails, pour les bons moments qui sont nombreux et aussi pour ta vision de la science. Tu fais partie du peu de gens que j'admire.

Merci à mes collègues et amies du laboratoire, j'ai eu la chance de faire ma thèse dans une équipe très sympathique et dont l'ambiance fait du bien au moral, je me suis sentie soutenue et poussée vers le haut, ce n'est pas comme ça dans tous les labos.
D'abord, merci à Valérie dont l'aide est précieuse chaque jour, tu déteste qu'on t'appelle « la maman des mouches », il faut dire que tu veilles autant sur elles que sur nous, je te dois plus qu'un merci pour cette dernière année de thèse, tu m'as sauvé plus d'une fois sur le planning des croisements et des dissections, merci aussi pour ton écoute dans les moments de doutes et à chaque fois que je devais vider mon panier.
Merci à toi Delphine, également pour ton écoute et ta confiance, je savais également pouvoir compter sur toi à chaque fois que j'en avais besoin (je ne crois pas en avoir abusé). Tu gagnerais à te plaindre plus, rien ne transparait sur toi, ni la fatigue, ni la douleur, c'est à la fois une chance et une calamité. Mais j'adore quand tu es fatiguée, le filtre s'évapore un peu et on oublie le prime, j'aime beaucoup !!!! Bon courage pour ta thèse, tu en auras besoin, avec deux enfants ça devient une course, c'est un sacré challenge dont on peut être fier.
Merci aussi à Camille, tu commences ta thèse, quoique, dans quelques mois la deuxième année commencera… tictac tictac, bon courage à toi aussi.
Merci Emmanuelle, tu as toujours été disponible quand j'avais des questions à te poser et que j'étais dans l'expectative… Merci Neel, tu prends toujours beaucoup de ton temps pour faire une réponse exhaustive aux questions qu'on te pose, grâce à toi j'ai comblé quelques lacunes sur le développement de la drosophile. Merci Jean-Michel, tu es arrivé depuis peu dans l'équipe et tous les matins tu prends soin de prendre des nouvelles et surtout d'écouter ce qu'on a à raconter.
Merci aux anciens thésards de l'équipe, Floria et Julien, vos départs m'ont rapprochés de la date de ma soutenance, j'ai hérité à mon tour des nuits courtes et de la boule au ventre. Je la laisse avec joie aux suivantes .

Comment ne pas remercier l'équipe Ronsseray avec qui nous partageons bien plus que la salle des mouches ! Stéphane, tu es pour moi le stéréotype du chercheur fou même s'il te manque la blouse, mais entre les gniainchouin, les chansons et les discussions philosophiques, c'est plutôt ça…Ton disciple Léonard-Antoine en prend le chemin et en est fier, ça ne doit donc pas être si grave.
Merci Laure pour ton aide sur mdg3, et merci Valérie, Catherine et Nathalie de votre amitié, ce n'est pas rien de se sentir entouré.

Dépassons le « bout du couloir du 7ème, pour remercier les plus proches voisins, l'équipe de Muriel Umbauer et Jean-François Riou avec qui nous avons partagé, en plus de la machine à café, les sessions Beaujolais nouveau et autres galettes des rois, on entend parfois les éclats de rire de Ronan traverser les murs, inévitablement ça me faisait sourire pendant mes manip, et un grand merci aux thésardes de l'équipe, Mélinée pour ton organisation du club des Docs auquel j'ai pris plaisir à venir à chaque fois que je le pouvais et à Isabelle, dans la même situation que moi, c'est pas toujours facile de faire une thèse avec une famille à charge, courage.
D'un point de vue plus global, je remercie Catherine Jessus de m'avoir permis de choisir l'équipe de Frédérique quand je suis arrivée au laboratoire.

Je remercie enfin mes proches, les amis qui me prennent pour une folle quand je leur raconte mes mouches sans tête et qui désespèrent quand je commence à parler de mon boulot (tout le monde ne peut pas faire de l'informatique non plus !).
Merci à ma mère qui crois en moi depuis toujours, j'imagine que tu dois être fière, enfin je l'espère. Tu m'a appris à aller toujours plus haut, à demander le meilleur de moi-même, cette thèse, elle est pour toi aussi.
Merci Alex, c'est aussi grâce à toi que je me suis lancée sereine (enfin, sereine au début…) dans cette aventure qu'est la thèse. Tu m'as toujours soutenue, grâce à toi je suis solide, merci de me supporter, dans tous les sens du terme. Je t'aime.
Un grand cri d'amour pour mes petits poulets qui me portent chaque jour un peu plus loin, grâce à vous je ne m'autorise pas l'idée de baisser les bras, j'aurai toujours envie que vous soyez fiers de moi comme je suis fière de vous.

Duncan, tu as un petit grain de folie qu'il ne faudra surtout pas perdre en grandissant, cultive ton originalité, c'est quelque chose de précieux dans ce vilain monde de morne conformité. Je suis ta première fan, je ne doute pas que tu sauras toujours nous surprendre.

Arwen, tu me régales de tes beaux dessins et de tes mots d'amour, de plus en plus serviable et gentille, si tu pouvais continuer comme ça très longtemps je serais la plus heureuse des maman.

Hanaë, ma petite fleur, tu illumines nos journées, tu colores nos vies. Telle une petite fée, tu allies déjà douceur et petit air coquin, je ne doute pas que tu nous en fera voir de toutes les couleurs. Ne nous en veux pas des surnoms étranges que tu auras à supporter, entre Poï-Poï, choucroute, bébé-chou, Hananounette, Micro Doudou et Ananas, bon courage avec tes parents !

Résumé

Les chromodomaines sont présents dans de nombreux régulateurs de la structure chromatinienne. Ils sont très conservés et reconnaissent spécifiquement certaines lysines méthylées sur les histones. Chez la drosophile, l'*Enhancer de Trithorax et Polycomb* Corto, impliqué dans la répression et dans l'activation transcriptionnelle de nombreux gènes, contient un chromodomaine (CortoCD). La surexpression de CortoCD dans des drosophiles transgéniques montre que c'est un module d'adressage à la chromatine. L'identification par spectrométrie de masse des polypeptides retenus par CortoCD *in vitro* révèle qu'ils correspondent à des protéines ribosomiques nucléaires (RPs). Je me suis concentrée sur l'une d'entre elle, RPL12, car les homologues de cette dernière dans d'autres espèces possédent de nombreux résidus lysines méthylés. J'ai montré que CortoCD reconnaît spécifiquement la lysine 3 de RPL12 triméthylée (RPL12K3me3). De plus, Corto et RPL12 co-localisent avec des marques épigénétiques activatrices sur les chromosomes polytènes. L'analyse par ChIP (immunoprécipitation de la chromatine), de deux cibles transcriptionnelles de Corto et RPL12, révèle que ces deux protéines sont localisées dans le corps des gènes et ne sont pas enrichies sur les promoteurs, suggèrant un rôle dans l'élongation de la transcription. Des analyses transcriptomiques (RNAseq) montrent que Corto et RPL12 régulent majoritairement des gènes impliqués dans la biogenèse des ribosomes. Nos résultats mettent en évidence pour la première fois une coopération entre une protéine ribosomique et un facteur de maintien de la mémoire épigénétique dans la régulation transcriptionnelle.

Abstract

Chromodomains are conserved domains found in many regulators of chromatin structure. Most of them recognize methylated lysine on histone tails. The *Drosophila melanogaster Enhancer of Polycomb and Trithorax* Corto that is involved in both silencing and activation of gene expression bears a chromodomain (CortoCD). Overexpression of CortoCD in transgenic flies shows that it behaves as a chromatin-targeting module. Mass spectrometry analysis of peptides pulled-down by CortoCD from nuclear extracts reveals that they correspond to nuclear ribosomal proteins (RPs). Among them, I focused on RPL12 since homologues of this RP have been shown to be methylated in several species. CortoCD binds with high affinity RPL12 trimethylated on lysine 3 (RPL12K3me3) as demonstrated by real-time interaction analyses. Co-localization of Corto and RPL12 with active epigenetic marks on polytene chromosomes suggests that they are involved in fine-tuning transcription of genes located in open chromatin. Analysis of two Corto and RPL12 transcriptional targets by ChIP (Chromatin Immuno Precipitation) shows that both proteins are not enriched at promoters but rather located in the core region of these genes. Altogether, our results suggest a role for Corto and RPL12 in transcriptional elongation. RNAseq analyses of wing imaginal discs overexpressing either Corto or RPL12 show that most deregulated genes are shared by both factors. Interestingly, RP genes are among these common targets suggesting that Corto and RPL12 are involved in dynamic coordination of ribosome biogenesis. Our results show for the first time that an RP and a chromatin regulator can cooperate in the control of gene expression.

Mots clés

Epigénétique, Chromodomaine, protéines ribosomiques, ETP, Enhancer de Trithorax et Polycomb, régulation de la transcription, biogenèse des ribosomes

Key words

Epigenetic, chromodomain, ribosomal proteins, ETP, Enhancer of Trithorax and Polycomb, transcriptional regulation, ribosomal biogenesis.

Nom et adresse du laboratoire

UMR7622

Chromatine et développement

Bat C 7eme étage case 24

9 Quai st bernard

75005 Paris

TABLE DES MATIERES

Table des Matières

Liste des Figures 13
Figures des données complémentaires 14
Liste des abréviations 17
Nomenclatures utilisées 19
I- INTRODUCTION 23
1 Notions d'épigénétique 25
1.1. Historique, définition 25
1.2. La mémoire épigénétique 27
1.3. Les supports de la mémoire épigénétique 29
1.3.1. L'ADN : l'ADN méthylé 29
1.3.2. L'ARN : les ARN non codants 29
1.3.3. La chromatine 33
1.4. Exemples de processus épigénétiques 33
1.5. Perturbation de la mémoire épigénétique par l'environnement 37
2. La chromatine et le "code histone" 41
2.1. Structure et organisation de la chromatine 41
2.2. Les modifications post-traductionnelles des histones 43
2.2.1. Nomenclature 43
2.2.2. Les kinases 45
2.2.3. Les histones acétyltransférases 45
2.2.4. Les histones méthyltransférases (HMT) 47
2.2.4.1. Les lysines méthyltransférases 47
2.2.4.2. Les protéines arginine méthyltransférases (PRMT). 47
2.2.5. Les polyADP ribosylases 49
2.2.6. Les ubiquitines-ligases 49
2.3. Le code histone 49
2.3.1. Writers , Readers et Erasers 51
2.3.2. Histone crosstalk 53
2.4. Les gommes épigénétiques ou *Erasers* 55
2.4.1. Les phosphatases 55
2.4.2. Les histones désacétylases (HDAC) 55

2.4.3. Les histones déméthylases (HDMases) 57
2.4.4. La déribosylase PARG (polyADP-ribose glycohydrolase) 57
2.4.5. La déubiquitinase MYSM1 59
2.5. Les lecteurs du code histone ou *Readers* 59
2.5.1. Les domaines 14-3-3 59
2.5.2. Les bromodomaines 61
2.5.3. Les chromodomaines 61
2.5.3.1. Structure des chromodomaines 63
2.5.3.2. Classification des chromodomaines 63
2.5.3.3. Fixation des acides nucléiques 65
2.5.3.4. Adressage à la chromatine 67
2.6. Les complexes de remodelage de la chromatine 67
2.7. Les complexes Polycomb et Trithorax. 69
2.7.1. Les complexes Polycomb (PcG) 71
2.7.2. Les complexes Trithorax (TrxG) 73
2.7.3. Les éléments de maintien de la mémoire épigénétique 75
2.7.4. Les Enhancers de Trithorax et Polycomb ou ETP 77
3 La transcription 79
3.1. Les ARN polymérases. 79
3.2. Le cycle de transcription 83
3.2.1. L'initiation 83
3.2.2. L'élongation précoce 85
3.2.3. La pause transcriptionnelle 87
3.2.4. L'épissage alternatif 91
3.2.4. La terminaison 95
3.3. Chromatine, organisation nucléaire et contrôle de la transcription 97
3.3.1. Structure de la chromatine et régulation de la transcription 97
3.3.2. Compartimentation nucléaire 99
4 La biogenèse des ribosomes 101
4.1. Le ribosome 101
4.1.1. Structure du ribosome 103
4.1.2. Les ARN ribosomiques 103
4.1.3. Les protéines ribosomiques (RPs) 105
4.1.4. Assemblage des ribosomes 107

4.1.5. Activité du ribosome 111
4.2. Fonctions extra-ribosomiques des RPs 111
4.2.1. Epissage et NMD (Non-sense Mediated Decay) 111
4.2.1.1. Le NMD 111
4.2.1.2. Régulation transcriptionnelle par des RPs 115
4.3. Les ribosomes, gardiens de l'homéostasie cellulaire 119
4.3.1. La voie Myc 119
4.3.2. La voie p53 123
4.3.3. Contrôle de la croissance au cours du cycle cellulaire 125
5 Corto, une protéine à chromodomaine atypique 127
5.1. Le gène *corto* 127
5.1.1. Mutants de corto 129
5.1.2. Surexpression de corto 129
5.1.3. Phénotypes des mutants 131
5.1.4. corto, un nouvel Enhancer de Trithorax et Polycomb (ETP) 133
5.2. La protéine Corto 133
5.3. Corto, un régulateur transcriptionnel 135
Présentation du projet de thèse 139
II- RESULTATS 141
RESUME DE L'ARTICLE 143
ARTICLE 145
DONNEES COMPLEMENTAIRES A L'ARTICLE 185
1 Analyses génétiques 189
1.A.. Génétique de *RPL12* 189
1.A.1. Perte de fonction de RPL12 189
1.A.2. Gain de fonction de RPL12 191
1.A.3. Interaction génétique entre Corto et RPL12 193
1.B. Caractérisation moléculaire des mutations $corto^{420}$ et $corto^{L1}$ 193
1.B.1. Caractérisation de la mutation $corto^{420}$ 193
1.B.2. Caractérisation de la mutation $corto^{L1}$ 195
1.B.3. Anomalie de transcription dans les mutants corto 197
2 Analyses fonctionnelles 199
2.A. Analyse de l'inactivation de *RPL12* et *corto* par RNAi dans les cellules S2 199
2.A.1. Inactivation de RPL12 199

2.A.2. Inactivation de RPL12 dans les disques d'aile.....201
2.A3. Inactivation de corto en cellules S2 203
2.A.4. Inactivation de corto en cellules S3 203
2.B. Autorégulation de *corto*..... 203
2.C. Caractérisation de cibles directes de Corto et RPL12 par XChIP 205
2.C.1. Cible RPS4 207
2.C.2. Cible HSP70.....207
III-DISCUSSION.....211
Conclusion 213
Discussion.....215
1-Réseau d'interacteurs de RPL12 215
2-Protéines ribosomiques et régulation épigénétique de l'expression des gènes 219
3-Les protéines ribosomiques agissent-elles en complexes ou sous forme libre ?.....221
4- La biogenèse des ribosomes est coordonnée par la régulation transcriptionnelle des protéines ribosomiques 222
5-La régulation transcriptionnelle par les protéines ribosomiques est-elle conservée au cours de l'évolution ?.....225
Perspectives.....227
1- Dynamique et rôle de la méthylation de la lysine 3 dans l'activité transcriptionnelle de RPL12. 227
2- Analyse du recrutement de Corto et de RPL12 sur la chromatine 228
Etude du rôle de la méthylation de RPL12 228
3- Etude des cibles transcriptionnelles directes de Corto et de RPL12 229
4- RPL12 agit-elle seule ou fait-elle partie d'un pseudo-ribosome impliquant d'autres RPs et ARNr ?.....229
5- Perspectives évolutives.....230

Liste des Figures

Figure 1 : Le paysage epigenetique. 26
Figure 2 : PcG et TrxG 28
Figure 3 : Complexite des petits ARN chez la drosophile. 30
Figure 4 : Differents niveaux de compaction de la chromatine. 40
Figure 5 : Modifications des l'histones. 42
Figure 6 : Methylation de H3K4 chez S. cerevisiae. 46
Tableau 1 : Histones Methyltransferases activatrices 48
Tableau 2 : Histones Methyltransferases repressives. 48
Figure 7 : Conversations croisees impliquant des lysines demethylases. 54
Figure 8 : Conversations croisees entre modifications d'histones. 54
Figure 9 : Domaines d'organisation des HDAC de la levure a l'homme. 56
Figure 10 : Exemples de *Readers*. 58
Figure 11: Chromodomaine de HP1 60
Figure 12: Affinite des chromodomaines de PC et HP1 pour leurs substrats respectifs. 62
Tableau 3 : Exemples de proteines a chromodomaine chez la drosophile. 64
Figure 13 : Remodelage de la chromatine ATP-dependant. 66
Figure 14 : Les differents complexes PcG et leurs interactions chez la drosophile. 70
Figure 15 : Nouvelle classification des proteines impliquees dans les fonctions PcG et TrxG 76
Figure. 16 : Etapes et facteurs impliques dans la generation d'un complexe d'elongation productive. 80
Figure. 17: Vue schematique du cycle de transcription de l'ARN polymerase II. 82
Figure 18 : Mecanisme de *Backtracking*. 84
Figure 19: *Pause button* (PB) 86
Figure 20 : Sequences consensus des sites donneur et accepteur de l'epissage alternatif. 88
Figure 21 : exemple du pre-ARNm du gene *Dscam* chez *Drosophila melanogaster* 90
Figure 22 : Enrichissement de l'ARN polymerase II du cote de l'exon a la jonction exon-intron. 90
Figure 23 : Modele torpedo et localisation de la phosphorylation du CTD de l'ARN polymerase II et de facteurs de terminaison 92
Figure 24 : Processus du *gene looping* 94
Figure 25 : Cycle de transcription dans un contexte chromatinien. 96
Figure 26 : Diversite des corps nucleaires. 98
Figure 27 : Schema du locus des ADNr de la drosophile. 102
Figure 28 : Conservation des proteines ribosomiques 104
Figure 29 : Assemblage des ribosomes. 106
Figure 30: *Ribosome stalk* du ribosome prokaryote. 108
Figure 31 : Assemblage du *stalk* du ribosome eucaryote 108
Figure 32. Activite du ribosome durant la traduction chez les procaryotes 110
Figure 33 : Modele de regulation negative de l'epissage alternatif de *RPL12* et de *RPS13*. 112
Figure 34 : Les proteines ribosomiques fixent la chromatine. 114
Figure 35 : Proteines ribosomiques nucleaires co-immunoprecipitees par l'histone H1. 116
Figure 36 : c-Myc, biogenese des ribosomes et traduction. 118
Figure 37 : Modele de l'activation de *p53* par un stress ribosomique 120
Figure 38 : Region chromosomique du gene *corto*. 126
Figure 39 : Phenotypes LOF de *corto*. 130
Figure 40 : Phenotypes GOF de *corto*. 130

FIGURE 41 : STRUCTURE DE LA PROTEINE CORTO 134
FIGURE 42 : REPRESENTATION SCHEMATIQUE DES CONSTRUCTIONS CORTO. 136

Figures des données complémentaires

FIGURE 1. DESCRIPTION DES TROIS LIGNEES TRANSGENIQUES PERMETTANT L'INACTIVATION DE *RPL12* PAR ARN INTERFERENCE. 188
FIGURE 2 : PHENOTYPES ENGENDRES PAR L'INACTIVATION DE *RPL12* 190
FIGURE 3 : SUREXPRESSION DE *CORTO* ET *RPL12* PAR *DA ::GAL4>RPL12MYC ; FHCORTOCD.* 192
FIGURE 4 : CARACTERISATION DU MUTANT *CORTO*^{420} 194
FIGURE 5 : CARACTERISATION DU MUTANT *CORTO*^{L1} 196
FIGURE 6 : QUANTIFICATION DES TRANSCRITS *CORTO* 196
FIGURE 7 : ETENDUE DES TRANSCRITS PRODUITS A PARTIR DU PROMOTEUR DE *CORTO* DANS LA COMBINAISON HETEROALLELIQUE *CORTO*^{420}/*CORTO*^{L1}. 198
FIGURE 8 : EXPRESSION DE DIFFERENTS GENES EN CONDITION D'INACTIVATION DE *RPL12* PAR ARNI. 200
FIGURE 9 : EXPRESSION DE DIFFERENTS GENES EN CONDITION D'INACTIVATION DE *CORTO* PAR ARNI. 202
FIGURE 10 : QUANTIFICATION DES TRANSCRITS *CORTO* LOF OU GOF 204
FIGURE 11 : CORTOCD ET RPL12 SONT ENRICHIS SUR LE GENE *RPS4* 206
FIGURE 12 : EXPRESSION DU GENE *HSP70* APRES UN CHOC THERMIQUE. 208
FIGURE 13 : CORTOCD ET RPL12 SONT ENRICHIS SUR LE GENE *HSP70* 210
FIGURE 14 : RESEAU D'INTERACTIONS PROTEIQUES INTEROLOGFINDER CENTRE SUR RPL12. 216
FIGURE 15 : RESEAU D'INTERACTIONS PROTEIQUES DROID CENTREE SUR RPL12. 218
INTERACTIONS PROTEIQUES PUBLIEES ET PREDITES PAR DROID ENTRE CYCG, RPL12 ET ELONGIN-C. LE TABLEAU SUR LA DROITE DONNE LE CODE COULEUR UTILISE EN FONCTION DE L'ORIGINE DES DONNEES EXPERIMENTALES. LES INTERACTIONS DE CORTO SONT RAJOUTEES EN ROSE 218
FIGURE 16 : MODELE DE COOPERATION ENTRE TRADUCTION ET TRANSCRIPTION CHEZ LES PROCARYOTES. 224

LISTE DES ABREVIATIONS

Liste des abréviations

AIRN	*Antisense Igf2r RNA non coding*
ANT-C	*Antennapedia Complex*
ARF	*ADP ribosylation factor*
ARN Pol	ARN polymérase
Ash1	*absent, small, or homeotic-1*
bp	*base pair*
BRM	Brahma
BX-C	Bithorax complex
CB	corps de Cajal ou *cajal body*
CBP/p300	*CREB-binding protein*
CBX	Chromodomain BoX
CDK7	Cyclin Dependant Kinase 7
CENP-A	CENtromeric Protein - A
CHD	Chromodomaine, Hélicase et DNA binding
ChIP	Chromatin Immuno Precipitation
COMPASS	*Complex Proteins Associated with Set1*
RISC	*RNA-Induced Silencing Complex*
RITS	*RNA-Induced Transcriptional Silencing complex*
CoREST	REST *co-repressor*
CPSF	Cleavage/Polyadenylation Specificity Factor
CTD	C Terminal Domain (de la sous-unité RBP1 de l'ARN Pol II)
CTF/NF1	CCAAT-binding transcription factor / NFIC nuclear factor I
DAPI	4',6'-DiAmidino-2-PhénylIndole
DFC	*Dense Fibrillar Compartment* ou compartiment fibrillaire dense du nucléole
FISH	Fluorescence In Situ Hybridization
DNMT	DNA Méthyltransférases
DPE	*Downstream Promoter Element*
dRAF	*related dRing-Associated factors*
DSIF	DRB (5,6-Dichloro-1-β-D-ribofuranosylbenzimidazole) Sensitivity Inducing Factor
DSP1	*Dorsal switch protein 1*
EJC	*Exon Junction Complex*
ESC	*Extra sex combs*
ESCL	*Extra sex combs Like*
ETP	*Enhancer* de Trithorax et Polycomb
ETS	*External Transcribed Spacer*
FAD	Flavine Adénine Dinucléotide
FC	*Fibrillar Center* ou centre fibrillaire du nucléole
GAF	GAGA Associated Factor, aussi appelé GAGA
GC	*Granular Component* ou composant granulaire du nucléole
GROseq	*Global Run On sequencing*
GST	Glutathione S-Transférase
GTF	*General Transcription Factor*
H2A.Bbd	*H2A.Bar Body deleted*
HAT	Histones Acétyltransférases
HDAC	Histones Désacétylases
HDM	Histone DéMéthylases
HLB	Histone Locus Body
HMT	Histones Méthyltransférases
HOTAIR	*HOX transcript antisense intergenic RNA*
HP1	Heterochromatin Protein 1
HSF	*Heat Shock Factor*
IGS	Inter Genic Spacer
INO80	*INOsitol requiring 80*
ISWI	*Imitation of SWItch*
ITS	*Internal Transcribed Spacer*
KAT	Lysines Acétyltransférases

KMT	Lysine Méthyltransférases
LNA	*Locked Nucleic Acids*
lncARN	long ARN non codants
LSU	Large Sub Unit
miARN	microARN
MPT	Modification Post Traductionnelle
MSL	Male Specific Lethal
ncARN	ARN non codants
NELF	Negative ELongation Factor
NMD	Non-sense Mediated Decay
NOR	Nucleolar Organizer Region
PARG	poly(ADP-Ribose) Glycohydrolase
PARP1	Poly ADP Ribose Protein 1
PC	Polycomb
PcG	Groupe Polycomb
PEV	Position Effect Variegation
PH	Polyhomeotic
PHO	Pleiohomeotic
PhoRC	Pleiohomeotic Repressive Complex
piARN	piwi associated RNA
PIC	Pre Initiation Complex
PML	ProMyelocytic Leukemia nuclear bodies
PRC1	Polycomb Repressive Complex 1
PRC2	Polycomb Repressive Complex 2
PR-DUB	Polycomb Repressive DeUbiquitination
PRE	Polycomb Response Element
PRMT	Protéine Arginine Méthyltransférases
PRPF	Pre-mRNA Processing Factor
PSC	Posterior Sex Combs
P-TEFb	Positive Transcription Elongation Factor b
REST	RE1-silencing transcription factor
RPB1	RNA Pol II sous-unité B1
RPS6K	Ribosomal protein S6 kinase
SAM	S-Adénosyl Méthionine
SCM	Sex Comb on Middleg
SET	Su(var)3-9 , Enhancer of Zeste et Trithorax
siARN	small interfering RNA
snARN	small nucleolar RNA
snRNP	small nucleolar RiboNucleoProtein
SPR	Surface Plasmon Resonance
SPT	Suppressor of Ty
SRB	Suppressor of RNA polymerase B
SRF	Serum Responsive Factor
SSU	Small Sub Unit
SWI/SNF	mating type SWItch et Sucrose Non-Fermenting
TAF	TBP Associated Factors
TBP	TATA box Binding Protein
TFII	Transcription Factor associés à l'ARN Polymérase II
TGS	Transcriptional Gene Silencing
Trr	Trithorax related
TRX	Trithorax
TSS	Transcriptional Start Site
UAS	*Upon Activating Sequence*
UTR	UnTranslated Region

Nomenclatures utilisées

Marques épigénétiques :

H3K27me3	tri-méthylation (me3) de la lysine 27 (K27) de l'histone H3
H3K4me3	tri-méthylation (me3) de la lysine 4 (K4) de l'histone H3
H3K27me3S28p	tri-méthylation (me3) de la lysine 27 (K27) et phosphorylation (p)de la Sérine 28 (S28) de l'histone H3
H4K14ac	acétylation (ac) de la lysine 14 (K14) de l'histone H4
H2BK123ub	ubiquitination (Ub) de la lysine 123 (K123) de l'histone H2B

…..

Protéines ribosomiques :

Les protéines ribosomiques ont des nomenclatures différentes en fonction de l'organisme dans lequel elles sont étudiées. De plus, le gène et la protéine suivent également un code différent. Afin de faciliter la lecture, j'ai choisi d'utiliser un seul format pour toutes les espèces, gène et protéine confondus : RPL pour Ribosomal Protein Large subunit et RPS pour Ribosomal Protein Small subunit.

Exemples de différences de nomenclature pour RPL12.

Organisme	**gène**	**protéine**
E.coli	*rplK*	L11p
S.cerevisiae	*RPL12A*	RPL12p
D.melanogaster	*RpL12*	RpL12
C.elegans	*rpl12*	RPL12
M.musculus	*Rpl12*	RPL12
H.sapiens	*RPL12*	RPL12

INTRODUCTION

I- INTRODUCTION

Les eucaryotes ont évolué en espèces différentes depuis des millions d'années; cependant, un grand nombre de gènes sont très conservés chez les levures, les insectes, les plantes, l'homme *etc.*. Les processus intervenant dans la régulation des génomes sont pour la plupart communs à ces divers organismes.

Les eucaryotes multicellulaires sont composés de nombreux tissus différenciés. Une cellule musculaire n'exprime pas les mêmes gènes qu'un neurone. Cependant, l'information génétique contenue dans ces cellules est la même. Elle provient du contenu génétique délivré par les gamètes parentaux au cours de la fécondation. A partir du zygote seront engendrées de nombreuses cellules filles qui se différencieront et formeront l'organisme adulte. Le développement est une succession d'étapes coordonnées, en particulier grâce au contrôle de l'expression des gènes. Diverses régulations transcriptionnelles assurent la mise en place du plan d'organisation du corps, des organes et des tissus, tout en minimisant les effets de l'environnement et la variabilité intrinsèque, permettant ainsi de maintenir l'homéostasie du développement.

L'expression des gènes dépend de facteurs de transcription spécifiques activateurs ou répresseurs. La transcription fait intervenir différents complexes protéiques que l'on peut regrouper sous le terme générique de « machinerie transcriptionnelle ». Récemment, un niveau supplémentaire de régulation transcriptionnelle impliquant la structure de la chromatine a été mis en évidence. La molécule d'ADN, support de l'information génétique est en effet condensée dans le noyau sous forme de chromatine. La chromatine se subdivise en hétérochromatine, contenant de la chromatine très condensée peu permissive pour la transcription, et en euchromatine, contenant de la chromatine beaucoup moins dense, où la transcription peut avoir lieu ou non. Ainsi, l'état de compaction de la chromatine influe directement sur l'expression des gènes. Au cours du développement, les profils d'expression des gènes sont précocement mis en place, puis maintenus à une échelle plus globale par la conformation de la chromatine. La transmission de l'état de la chromatine aux cellules filles au cours des divisions cellulaires successives est appelée mémoire épigénétique.

Les protéines qui contrôlent l'état de la chromatine, en particulier les protéines des groupes Polycomb et Trithorax (PcG et TrxG), sont impliquées dans la mémoire épigénétique. Initialement découvertes chez la drosophile car elles maintiennent l'expression des gènes homéotiques au cours du développement, ces protéines ont fait l'objet de nombreuses études aux cours des dix dernières années. On sait aujourd'hui que les protéines PcG et TrxG régulent de très nombreux de gènes. L'intérêt croissant pour leur étude vient du fait que ces dernières, très conservées au cours de l'évolution, sont impliquées dans un très grand nombre de processus biologiques, en particulier les cancers. Les protéines PcG et TrxG forment des complexes protéiques de composition variable qui maintiennent respectivement la répression et l'activation des gènes. Certains co-facteurs de ces complexes interviennent dans des processus de régulation à la fois positive et négative. C'est le cas des co-facteurs appartenant au groupe des Enhancers de Trithorax et Polycomb (ETP), qui pourraient assurer les transitions entre état activé et état réprimé des gènes.

Au cours de ma thèse, je me suis intéressée à un ETP de la drosophile, appelé Corto. La protéine Corto contient un domaine qui rappelle les chromodomaines de certains facteurs chromatiniens. J'ai étudié ce domaine afin de comprendre son rôle dans l'adressage de la protéine à la chromatine et dans la régulation de la transcription chez *Drosophila melanogaster*. Les résultats que j'ai obtenus montrent que Corto interagit avec une protéine ribosomique nucléaire méthylée, RPL12, *via* son chromodomaine. Corto et RPL12 co-régulent l'expression d'un grand nombre de gènes, en particulier ceux qui codent les composants du ribosome. Ainsi, l'interaction entre l'ETP Corto et RPL12 pourrait intervenir dans le contrôle de la biogenèse des ribosomes et donc de l'homéostasie cellulaire.

1 Notions d'épigénétique

1.1. Historique, définition

Le terme "épigénétique" a été proposé en 1942 par Conrad H. Waddington, biologiste du développement, paléontologue et généticien. Il s'inspire d'épigenèse : la théorie selon laquelle un embryon se développe par différenciation progressive des organes (par opposition à la théorie de la préformation). Waddington, qui souhaitait réunir la génétique, relativement récente à l'époque, et l'embryologie, a défini l'épigénétique comme l'ensemble des mécanismes par lesquels le génotype engendre le phénotype (Figure 1). Aujourd'hui, la définition la plus généralement admise est « l'étude des changements de l'expression des gènes, transmissibles à travers la mitose et/ou la méiose, n'impliquant aucune modification de la séquence nucléotidique de l'ADN » (Riggs *et al.*, 1996). La notion d'hérédité y est donc centrale. Le paysage épigénétique de Waddington schématise le contrôle épigénétique du développement (Figure 1).

On peut estimer l'impact de l'épigénétique chez des jumeaux monozygotes. En effet, alors qu'ils partagent le même génome, leurs profils épigénétiques diffèrent de plus en plus au cours du temps. Cela est particulièrement vrai pour des jumeaux élevés séparément dans deux environnements distincts, ou ayant des styles de vie très différents (*i.e.* habitudes nutritionnelles, consommation de tabac, d'alcool et de médicaments, historique des maladies, activité physique). Ces derniers diffèrent plus que ceux de jumeaux ayant vécu ensemble ou ayant partagé des environnements et des expériences similaires (Fraga *et al.*, 2005).

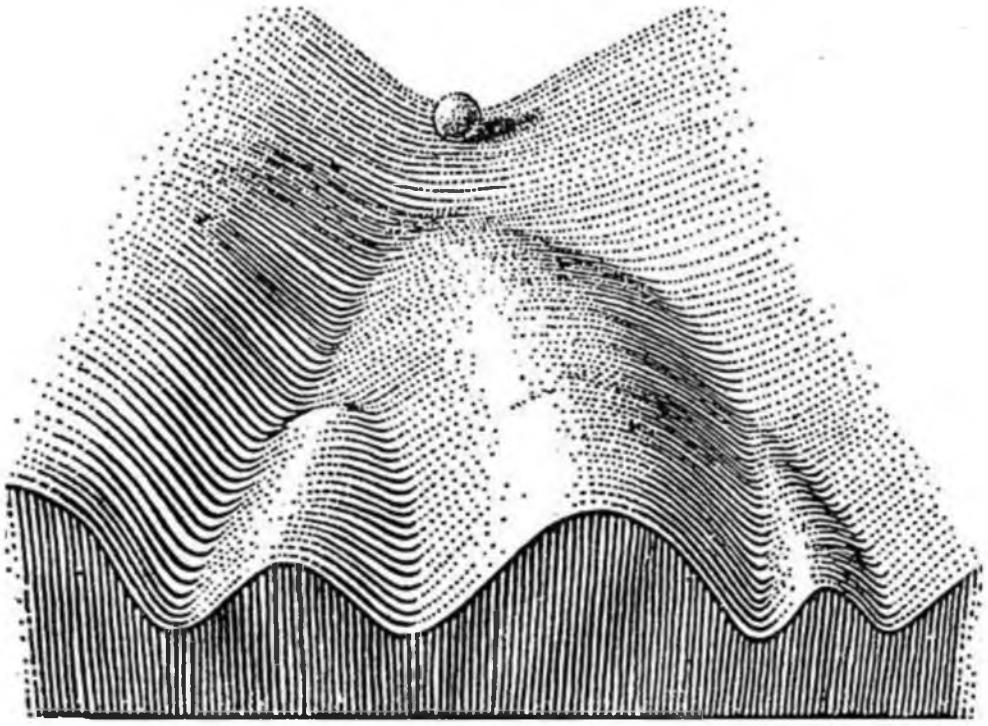


Figure 1 : Le paysage épigénétique.

Le chemin suivi par la balle (*e.g.* une. cellule souche plutipotente), qui roule vers l'observateur, correspond à l'histoire du développement. Le paysage épigénétique est constitué de vallées et de collines; il est sous-tendu par les gènes. Il existe une première alternative pour cette cellule, s'engager dans la vallée de droite où dans celle de gauche (qui correspondent à deux voies de détermination différentes). Plus loin sur le parcours, une seconde alternative est possible. Plusieurs choix de voies apparaissent ainsi dans le chemin développemental mais il n'y a pas de retour en arrière possible. A l'extrémité du chemin, la balle tombe dans un puit, qui schématise le type cellulaire. Ainsi, le paysage épigénétique canalise le développement. Il est sous-tendu par les gènes. Tiré de C.H. Waddington (1942). «epigenotype». Effort 1: 18-20.

1.2. La mémoire épigénétique

Le maintien de l'état transcriptionnel des gènes au travers des mitoses et/ou de la méiose, en absence des facteurs qui l'ont induit, est qualifié de mémoire épigénétique. La mémoire épigénétique a été mise en évidence pour la première fois chez la drosophile grâce aux travaux de génétique du développement, plus précisément lors de l'étude de la régulation de l'expression des gènes homéotiques (Figure 2A). Les gènes homéotiques spécifient l'identité des segments selon l'axe antéro-postérieur du corps. Chez la drosophile, les gènes Hox sont regroupés en deux complexes sur le chromosome 3R (Figure 2B). Le premier complexe qui a été découvert est le complexe Bithorax (BX-C). Il contient trois gènes : *Ubx, Abd-A et Abd-B*, qui sont responsables de l'identité du 3ème segment thoracique et des segments abdominaux. Le second "cluster" est le complexe Antennapedia (ANT-C), qui contient cinq gènes (*lab, pb, Dfd, Scr* et *Antp*) responsables de l'identité de la tête et des deux premiers segments thoraciques. L'expression ectopique de l'un de ces gènes transforme une partie du corps en une autre, cette transformation est dite homéotique. Le patron d'expression des gènes homéotiques est initié par des facteurs de transcription précoces codés par les gènes de segmentation. L'expression de ces facteurs de transcription est transitoire et s'arrête après la gastrulation. L'état transcrit ou réprimé des gènes homéotiques est maintenu pendant la suite du développement par les protéines Polycomb (PcG) et Trithorax (TrxG). Ce maintien de l'état transcriptionnel des gènes est appellé mémoire épigénétique. Nous verrons que les protéines PcG et TrxG forment des complexes qui se lient à la chromatine et maintiennent respectivement l'état réprimé ou activé des gènes.

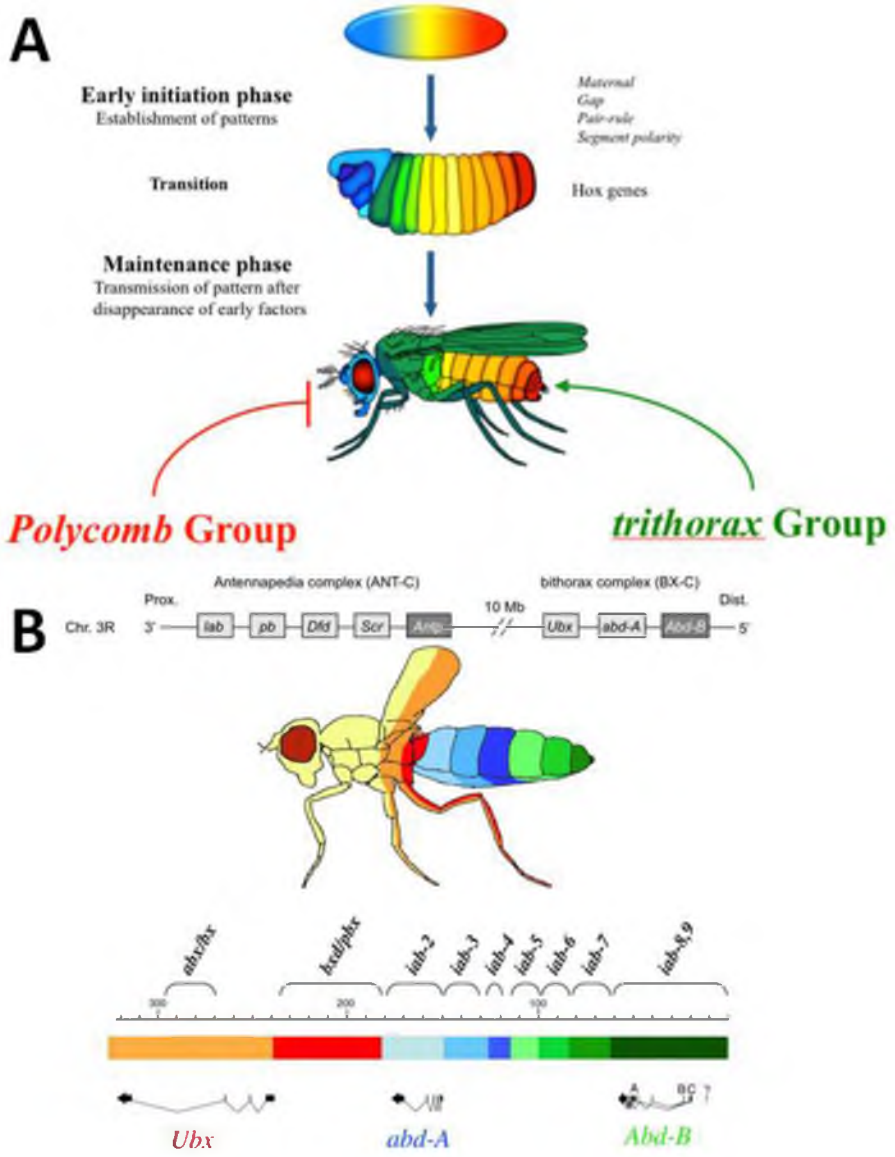


Figure 2 : PcG et TrxG

A Les protéines TrxG jouent un rôle dans le maintien de l'activation des gènes; inversement, les protéines PcG interviennent dans le maintien de la répression des gènes. Les individus mutants pour un gène *trxG* ou *PcG* présentent des dérégulations tardives de l'expression des gènes *Hox*, qui induisent des phénotypes homéotiques. D'une façon générale, les mutants pour les gènes *trxG* présentent des phénotypes de perte de fonction des gènes homéotiques et inversement les mutants pour les gènes *PcG* présentent des phénotypes de gain de fonction des gènes homéotiques. C'est sur ces critères génétiques que la plupart des gènes des groupes *trxG* et *PcG* ont été identifiés chez la drosophile (Brock et Fisher, 2005).

B Schéma illustrant les complexes antérieur et postérieur de gènes Hox chez la drosophile (Adapté de Grimaud *et al.,* 2006). La barre multicolore représente un agrandissement du complexe BX-C. Les trois gènes homéotiques, *Ubx*, *abd-A* et *Abd-B* sont indiqués. Les segments adultes affectés par les mutations dans chaque région *cis*-régulatrice (*abx/bx, bxd/pbx, iab-2* à *iab-8, iab-9*) sont indiqués sur le dessin avec le même code couleur (Adapté de Maeda et Karch, 2006).

1.3. Les supports de la mémoire épigénétique

Les supports moléculaires de la mémoire épigénétique sont l'ADN, l'ARN et la chromatine. Ils ne sont pas indépendants les uns des autres et agissent de façon concertée et/ou séquentielle. Je les décrirai très brièvement ici.

1.3.1. L'ADN : l'ADN méthylé

Certaines bases nucléotidiques de l'ADN peuvent être modifiées par l'addition d'un groupement méthyl (CH3). Chez les bactéries, la méthylation peut intervenir sur les cytosines, mais aussi sur la position N6 des adénines, sur les séquences 5'-GATC-3'. Chez les vertébrés, la cytosine est méthylée (5-méthylcytosine) sur les séquences CG de l'ADN, en particulier dans les îlots CpG (région génomique enrichie en dinucléotides CG). La méthylation de l'ADN a un impact sur le taux d'expression des gènes. Chez les eucaryotes, lorsque les ilôts CpG d'un promoteur sont méthylés, le gène correspondant est réprimé (pour revue, voir Deaton et Bird, 2011).

Les enzymes qui méthylent l'ADN font partie de la famille des DNMT (DNA MéthylTransférases). Par exemple chez les mammifères, ces enzymes sont responsables de la mise en place du patron de méthylation du génome au cours du développement embryonnaire. Chez la drosophile, l'existence d'ADN méthylé est controversée. La drosophile possède une DNMT (Dnmt2) qui pourrait méthyler à la fois l'ADN et les ARNt (Krauss et Reuter, 2011).

1.3.2. L'ARN : les ARN non codants

Différents types d'ARN sont produits dans les cellules : les ARN ribosomiques représentent jusqu'à 80% des ARN cellulaires, les ARN de transfert environ 15%, enfin les ARNm ne représentent que 2 à 3% des ARN cellulaires. Les autres ARN, non codants, peuvent être classés en différentes catégories selon leur taille et leur voie de biogenèse.

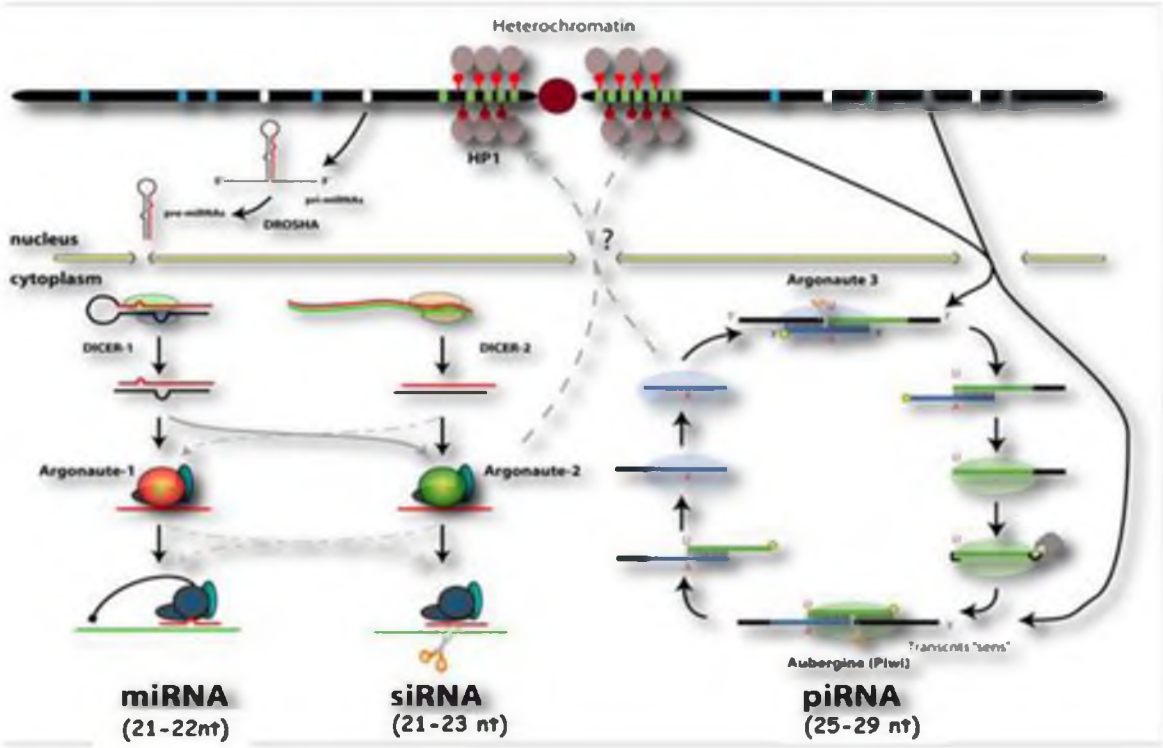


Figure 3 : Complexité des petits ARN chez la drosophile.

Les trois espèces d'ARN misipi peuvent être distinguées par leur biogénèse, leur taille, l'identification de leur partenaire Argonaute et leur mécanisme d'inactivation des gènes. Les protéines Dicer 1 et 2 génèrent les mi et les siRNA à partir d'ARN double brin en les clivant. Les piARN sont produits dans la lignée germinale par le mécanisme appelé « ping-pong ». D'après C. Antoniewski

Les lncARN (*long non coding RNA*) se trouvent dans différents compartiments nucléaires suggérant des rôles précis en fonction de leur localisation. Ces ARN ont une taille supérieure à 2 Kb. Les plus étudiés sont *Xist* (*X inactive specific transcript*), responsable de la compensation de dose chez la femelle des mammifères, *AIRN* (*Antisense Igf2r RNA non coding*), responsable de l'inactivation de trois gènes du "cluster" Igf2r sur l'allèle paternel du chromosome 17 de la souris, et *HOTAIR* (*HOX Transcript Antisense Intergenic RNA*) transcrit à partir du locus HOX C et qui interviendrait en *trans* dans le recrutement d'un complexe Polycomb sur le locus HOX D permettant l'inactivation des gènes de ce locus de façon tissu-spécifique (Rinn *et al.,* 2007 et pour revue, voir Hung et Chang, 2010 ; Saxena et Carninci, 2011).

Après la découverte de l'interférence par les ARN chez *Caenorhabditis elegans* (Fire *et al.,* 1998 ; Mello et Conte, 2004), la caractérisation moléculaire de ce mécanisme a permis de mettre en évidence des petits ARN de 21 à 25 nt nommés siARN (*small interfering RNA*). Deux autres groupes de petits ARN ont été décrits ultérieurement, ce sont les miARN (microARN) et les piARN (*piwi associated RNA*). On distingue ces trois groupes de petits ARN (misipi) par leur voie de biogenèse, leur taille, leur mode d'action et les protéines Argonautes avec lesquelles elles s'associent (Figure 3).

Chez la plupart des organismes étudiés, les miARN induisent une répression post-transcriptionnelle en bloquant la traduction dans le cytoplasme, alors que les siARN peuvent agir soit dans le cytoplasme, post-transcriptionnellement (PTGS ou *Post-Transcriptional Gene Silencing*), en dégradant de longs ARN *via* le complexe RISC, (*RNA-Induced Silencing Complex*), soit directement dans le noyau de façon co-transcriptionnelle (TGS ou *Transcriptional Gene Silencing*), en induisant une hétérochromatinisation locale de la région génomique ciblée par le complexe RITS (*RNA-Induced Transcriptional Silencing complex*) (pour revue, voir Verdel *et al.,* 2009).

Les piARN sont de plus grande taille (entre 25 et 29nt). Leur production ne fait pas intervenir de protéine Dicer. Chez la drosophile, les piARN sont principalement dérivés du brin antisens de transcrits d'éléments transposables hétérochromatiques. Le modèle du « ping-pong » (Figure 3) explique la production des piARN de cette façon : les piARN antisens associés à Piwi et Aubergine génèrent des piARN sens en ciblant le transcrit de transposons hétérochromatiques (non fonctionnels) ou euchromatiques (qui peuvent être fonctionnels).

Les piARN sens pourraient être à leur tour utilisés pour produire d'autres piARN antisens en guidant le clivage des transcrits antisens synthétisés dans le locus hétérochromatique. Les piARN jouent un rôle important dans la régulation de l'expression et donc de la mobilité des transposons dans les cellules germinales (Aravin *et al.*, 2007).

Les lncARN, siARN et piARN modifient la structure de la chromatine et induisent une répression transcriptionnelle de leurs cibles qui peut être transmise aux cellules filles. Les miARN induisent une répression traductionnelle des gènes cibles mais peuvent être eux-mêmes hérités par le cytoplasme d'un gamète parental ou lors des mitoses. Il s'agit donc bien de mécanismes épigénétiques.

1.3.3. La chromatine

Dans les cellules, l'ADN est compacté sous forme de chromatine. Cette structure a été décrite par Miescher en 1869 et nommée chromatine par Fleming en 1882. La composition et la structure de la chromatine ainsi que son impact sur l'expression des gènes fera l'objet du chapitre suivant.

1.4. Exemples de processus épigénétiques

Ces supports moléculaires de la mémoire épigénétique interviennent dans de très nombreux processus. Je ne les décrirai pas en détail ici mais je prendrai quelques exemples frappants :

(1) Le premier exemple, déjà cité ci-dessus, est celui du maintien de l'expression des gènes homéotiques au cours du développement (mémoire épigénétique). Il fait intervenir les complexes PcG et TrxG qui contrôlent la structure de la chromatine.

(2) Un second exemple est celui de l'empreinte parentale, découverte chez les mammifères au début des années 80. Alors que l'expression de la plupart des gènes est bi-allélique, un petit nombre d'entre eux présente une expression mono-allélique, maternelle ou paternelle. Ce processus, appelé empreinte parentale, dépend de mécanismes épigénétiques, en particulier de la méthylation de l'ADN, d'ARN non codants et de modifications post-traductionnelles des histones (Anaka *et al.*, 2009).

(3) Chez la femelle des mammifères, l'un des deux chromosomes X est inactivé (Lyon, 1961). Ce processus rétablit l'égalité du taux d'expression des gènes portés par le chromosome X entre la femelle et le mâle. Il est pour cela appelé compensation de dose. L'un ou l'autre des chromosomes X est inactivé (de façon aléatoire) juste après l'implantation de la blastula dans la paroi utérine. ARN non codants, méthylation de l'ADN, et complexes chromatiniens interviennent de façon séquentielle dans la compensation de dose. Chez la drosophile, la compensation de dose se manifeste de façon opposée: les gènes de l'unique chromosome X du mâle sont beaucoup plus exprimés (pour revue, voir Conrad et Akhtar, 2011).

(4) Le *bookmarking* est un mécanisme par lequel le promoteur d'un gène exprimé reste "signalé" durant la mitose par des facteurs de transcription et autres marques épigénétiques apposées sur la chromatine, diminuant ainsi sa compaction locale (Zaidi *et al.,* 2010). Ceci faciliterait la reprise rapide de la transcription des gènes "signalés" dès la phase G1 suivante. Ainsi, le maintien de l'activation transcriptionnelle du gène (mémoire épigénétique) serait assuré au cours des divisions cellulaires successives.

(5) On observe fréquemment une perturbation de l'expression des gènes dont l'environnement chromatinien est modifié, par exemple lors d'une translocation, on parle alors d'effet de position. Ce processus a été décrit chez la drosophile notamment grâce à des translocations plaçant le gène *white* (qui code le transporteur de pigment dans l'œil) à proximité de l'hétérochromatine péricentromérique. Il est connu sous le nom de PEV pour *Position Effect Variegation* (Weiler and Wakimoto, 1995 ; Grewal and Elgin, 2002). En effet, l'hétérochromatine péricentromérique, dont l'expansion est variable d'une cellule à une autre, induit l'inactivation stochastique du gène *white* (variégation de la pigmentation).

(6) Enfin, la transmission d'informations épigénétiques au travers des générations a été beaucoup étudiée chez les plantes, et en particulier chez le maïs. Ces travaux ont permis de mettre en évidence un cas particulier de mémoire épigénétique appelé paramutation (Chandler *et al.,* 2004). La paramutation repose sur l'interaction entre deux allèles d'un locus (dans un individu hétérozygote) qui conduit à la modification épigénétique de l'un des allèles (épimutation) par l'autre (sans modification de la séquence d'ADN), ce nouvel état devenant héritable.

La paramutation a également été mise en évidence chez la souris (Rassoulzadegan *et al.*, 2006) et plus récemment, chez la drosophile (de Vanssay *et al.*, soumis). De nombreux cas de paramutation décrits chez les plantes reposent sur la présence de transposons dont l'ADN est méthylé. Les génomes des eucaryotes étant très riches en éléments transposables [les éléments transposables ou leurs dérivés représentent 50% du génome humain, 15% du génome de *Drosophila melanogaster*, et plus de 70% du génome du maïs (Castillo *et al.*, 2011 ; Wessler 2006)], il est possible que la paramutation soit un mécanisme plus largement répandu.

L'altération des processus épigénétiques physiologiques comme l'empreinte parentale ou l'inactivation du chromosome X, et, d'un point de vue plus général, la perturbation de la mémoire épigénétique, peut conduire à des maladies elles-mêmes qualifiées d'épigénétiques. Ainsi, ces processus épigénétiques sont impliqués dans la tératogenèse, l'apparition et l'évolution des cancers, les maladies métaboliques, et de nombreuses autres pathologies.

1.5. Perturbation de la mémoire épigénétique par l'environnement

Certains facteurs environnementaux induisent des modifications épigénétiques qui peuvent être transmises au travers des générations. Par exemple chez l'homme, la privation d'acide folique au cours de la grossesse serait responsable de la plus grande incidence de schizophrénies chez les descendants des victimes de la famine en Hollande durant la seconde guerre mondiale (Brown and Susser 2008). Chez les souris *Agouti*, une supplémentation en acide folique diminue l'incidence de l'obésité héréditaire (Waterland RA, 2008). Chez les mammifères, l'alimentation de la mère durant la gestation, et également avant la conception, a un impact sur le phénotype de sa descendance; par exemple, l'alimentation peut favoriser des maladies métaboliques (obésité, diabète) (pour revue, voir Zhang S *et al.*, 2010 ; Seki *et al.*, 2012). L'acide folique est un donneur de groupements méthyls : en cas de déprivation, le profil de méthylation de l'ADN est modifié et l'information transmise à la génération suivante est perturbée.

Chez le rat, le stress induit par une séparation précoce ou un défaut d'attention de la part de la mère induit un comportement asocial, alors que la descendance de mères apportant un soin accru durant la première semaine de vie montre une meilleure résistance au stress. Ceci serait lié à un taux d'hormone adrénocorticotropique et de corticostérone élevé (Liu *et al.,* 1997; Francis *et al.,* 1999). Ces résultats suggèrent que le comportement maternel conditionne les réponses au stress de la descendance en reprogrammant l'information épigénétique dans les glandes neuroendocrines.

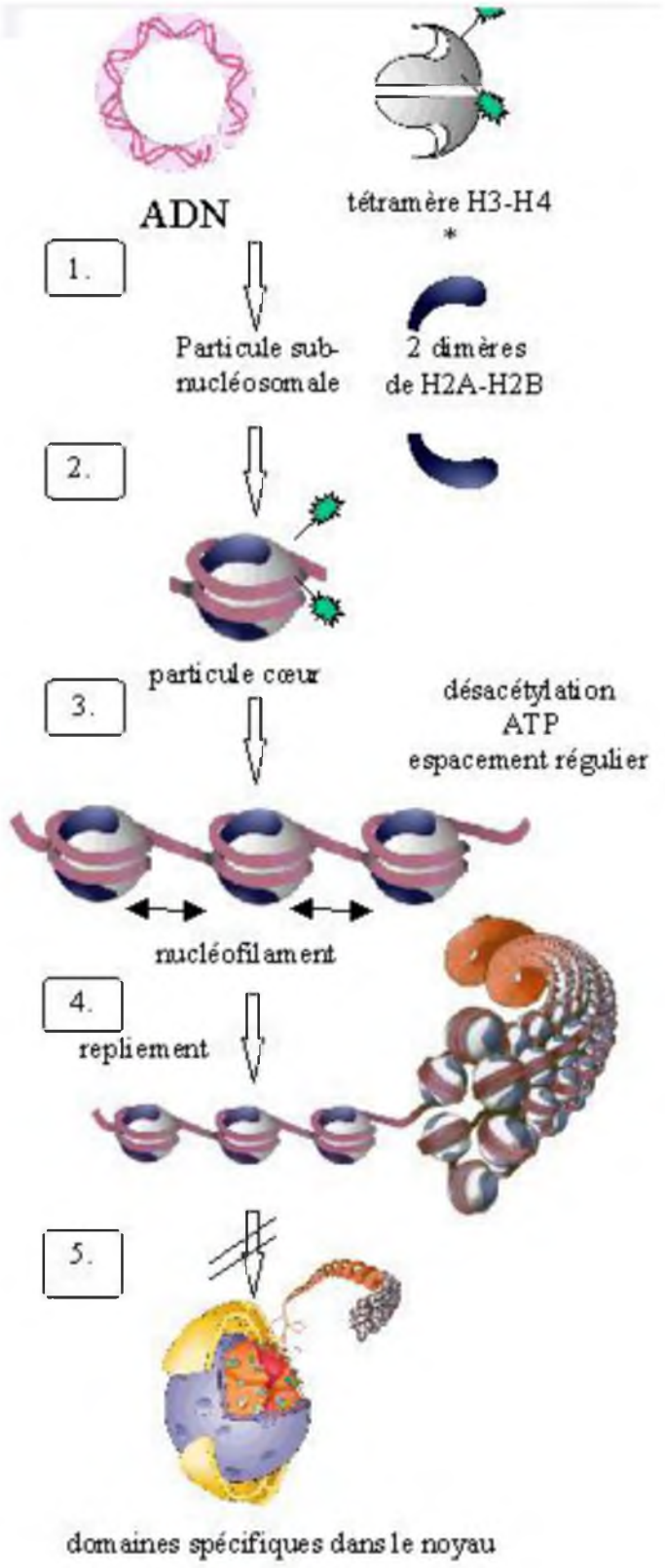


Figure 4 : Différents niveaux de compaction de la chromatine.

L'assemblage commence avec la mise en place d'un hétérotétramère (H3-H4) (1), auquel vient s'ajouter deux dimères H2A-H2B (2). Les histones nouvellement synthétisées sont spécifiquement modifiées; la modification la plus conservée est l'acétylation de l'histone H4 sur les lysines 5 et 12 (H3-H4*). L'étape de maturation nécessite la présence d'ATP afin d'établir un espacement régulier des nucléosomes. Les histones nouvellement incorporées sont désacétylées (3). L'incorporation des histones H1 est accompagnée du repliement du nucléofilament. Le modèle de type solénoïde (6 nucléosomes par tour) est présenté ici (4). Finalement, plusieurs repliements successifs conduisent à des niveaux d'organisation supérieurs jusqu'à la formation du chromosome mitotique (5). Adapté de Ridgway *et al.*, 2002.

2. La chromatine et le "code histone"

2.1. Structure et organisation de la chromatine

Au sein du noyau interphasique, l'état de compaction de l'ADN n'est pas homogène; en effet, une simple coloration HE (Hematoxyline/Eosine) laisse apparaître différentes zones en microscopie optique. On distingue l'hétérochromatine, en permanence très condensée, et l'euchromatine, décondensée pendant l'interphase mais condensée jusqu'à 10 000 fois dans les chromosomes métaphasiques (Li *et al.,* 1998). L'hétérochromatine est généralement localisée en périphérie du noyau et du nucléole tandis que l'euchromatine est répartie à l'intérieur du nucléoplasme, préférentiellement au centre du noyau.

La compaction de l'ADN est liée à son enroulement autour de nucléosomes (Figure 4). Les nucléosomes sont formés d'octamères d'histones. Le cœur histone est un tétramère formé de deux histones H3 et de deux histones H4, entouré par deux hétérodimères d'histones H2A et H2B, autour desquels 147,5 paires de bases d'ADN sont enroulées. La liaison entre l'ADN et le nucléosome implique les résidus arginines des histones qui se glissent à l'intérieur du petit sillon de la double hélice, ainsi que des interactions amides avec les groupements phosphates et des interactions hydrophobes avec les sucres de l'ADN (Wolffe and Hayes, 1999). L'enroulement de l'ADN autour des nucléosomes produit le nucléofilament. L'histone H1 clampe l'ADN sur le nucléosome ainsi formé et permet de faire la liaison entre nucléosomes adjacents, favorisant un degré supplémentaire de compaction en passant d'une fibre de 11 nm à une fibre de 30 nm (Bednar *et al.,* 1998).

Des variants des histones canoniques sont associés à des fonctions particulières. Par exemple, le variant de l'histone H3, CenH3 (encore appelé CENP-A chez les mammifères) se trouve au niveau de la chromatine centromérique, un autre variant de H3, H3.3, est associé aux gènes transcrits. Ces variants ne diffèrent de l'histone canonique H3 que par 4 ou 5 acides aminés. Quatre variants de l'histone H2A ont été décrits chez les mammifères : H2A.Z, H2A.X, macroH2A and H2A.Bbd (*Bar Body deleted*) (pour revue, voir Yuan et Zhu, 2012). Par exemple le variant macroH2A, est associé au chromosome X inactif des femelles de mammifères, alors que le variant H2A.Bbd en est totalement exclu. H2A.Bbd est présent dans tout le reste du génome (Chadwick *et al.,* 2001).

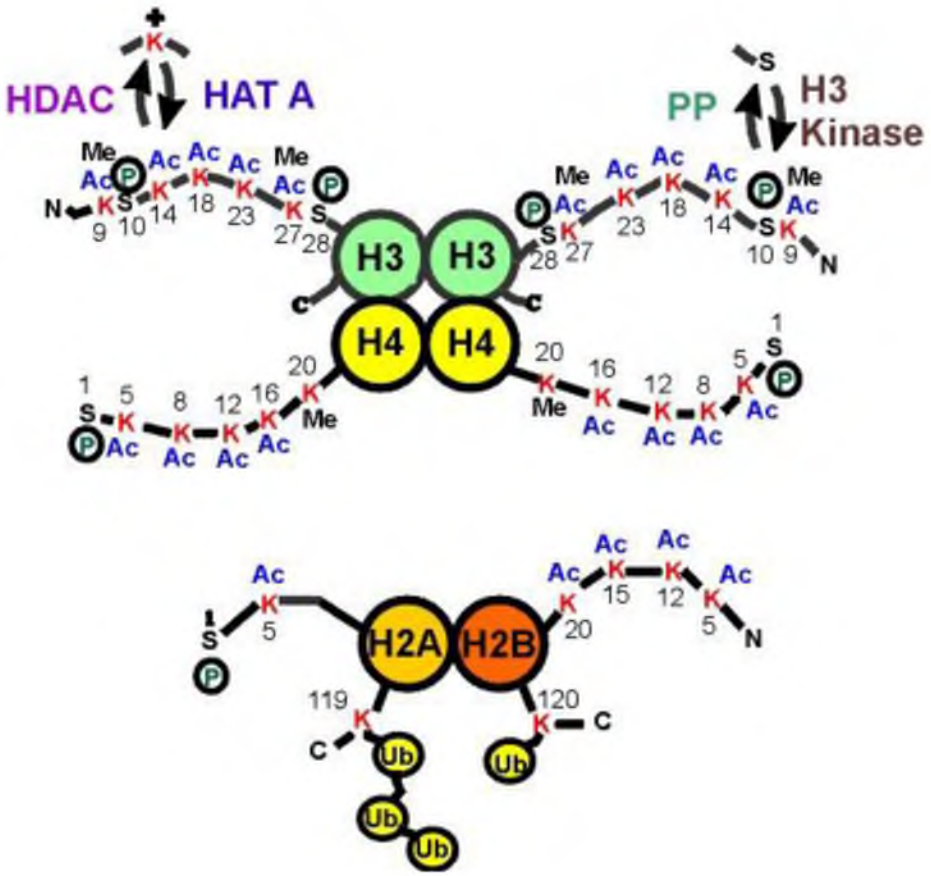


Figure 5 : Modifications des l'histones.

Les histones sont soumises à de nombreuses modifications post-traductionnelles. Ces modifications incluent les acétylations (Ac), les méthylations (Me), les déiminations (Clt), les phosphorylations (P), les ubiquitinations (Ub) et les isomérisations (iso). Ne sont indiquées ici que les marques Ac, Me, P. D'après http://mol-biol4masters.masters.grkraj.org/html/Gene_Expression_II13-Chromosomal_Nature_Before_During_and_After_Gene_Activation.htm

2.2. Les modifications post-traductionnelles des histones

Les histones subissent de nombreuses modifications post-traductionnelles, telles que des phosphorylations, méthylations, acétylations, sumoylations, ubiquitinations... appelées marques épigénétiques. La plupart de ces modifications ont lieu directement dans le noyau alors que les histones et l'ADN sont déjà assemblés en nucléosomes. L'histone dont on connaît la plus grande diversité de modifications post-traductionnelles est l'histone H3 (Figure 5). Les kinases phosphorylent les thréonines, les sérines ou les tyrosines, les HAT (Histones AcétylTransférases) acétylent les lysines et les arginines, les HMTases (Histones Méthyltransférases) méthylent les lysines ou les arginines, et d'autres enzymes modifient principalement les lysines en rajoutant des résidus ubiquitine, ADP-ribose, carbonyl, biotine… Plus de 67 types de modifications post-traductionnelles des histones ont été identifiées dont, récemment, la crotonylation des lysines (Tan *et al.,* 2011 et pour revue, voir Bannister et Kouzarides, 2011 et Figures 5).

2.2.1. Nomenclature

La grande diversité des enzymes de modification post-traductionnelle des histones, ainsi que leur conservation au cours de l'évolution dans différentes espèces, a conduit plusieurs chercheurs à réaliser un travail collectif pour harmoniser la nomenclature de ces protéines. L'article « *New Nomenclature for Chromatin-Modifying Enzymes* » paru en 2007 dans la revue Cell, concerne la nomenclature des lysines déméthylases, des lysines acétyltransférases et des lysines méthyltransférases. J'ai regroupé les trois Tableaux de nomenclature en Annexe 3. Mon but n'étant pas de faire une revue exhaustive de toutes les protéines ou complexes intervenant chez les différents organismes, je ne citerai que les principales enzymes responsables des modifications les plus étudiées.

2.2.2. Les kinases

Le domaine kinase catalyse le transfert d'un groupement phosphate d'un donneur comme l'ATP ou le GTP, spécifiquement vers une sérine, une thréonine ou une tyrosine de la protéine receveuse, ici une histone.

La protéine kinase Aurora B phosphoryle la sérine 10 de l'histone H3 durant la mitose, et également sa sérine 28 au début de la prophase. H3S10ph est nécessaire pour une condensation chromosomique correcte (Goto *et al.*, 2002). Souvent considérée comme une marque spécifique de la mitose, la phosphorylation de la sérine 10 de l'histone H3 peut cependant être apposée par la kinase JIL1 durant l'interphase. Cette phosphorylation contrecarre la propagation de l'hétérochromatine et empêche la répression génique chez la drosophile (Wang *et al.*, 2011).

La kinase Haspin phosphoryle la thréonine 3 de l'histone H3 durant la prophase. Elle inhiberait la fixation de TFIID sur la marque H3K4me3 lors de la mitose, et régulerait négativement la transcription (Varier *et al.*, 2010). Elle est importante pour un alignement correct des chromosomes sur la plaque métaphasique (Dai *et al.*, 2005).

La Ribosomal protein S6 kinase (ou MSK1 et 2 chez les mammifères) phosphoryle la sérine 28 de l'histone H3, ce qui entraîne le déplacement des complexes Polycomb fixés sur H3K27me3, provoquant ainsi l'activation du gène (voir *Phospho-méthyl switch*; Lau et Cheung, 2011). RpS6K est une kinase mitogène activée par le stress. Elle joue un rôle important dans la réponse aux stimuli environnementaux (Gehani *et al.*, 2010).

2.2.3. Les histones acétyltransférases

L'acétylation des résidus lysines des histones est médiée par des lysines acétyltransférases (KAT). Elles catalysent le transfert d'un groupement acétyl à partir d'un acétyl-CoA vers les résidus lysines. Ce transfert neutralise la charge positive des lysines et donc diminue l'interaction entre l'histone et l'ADN. Les histones acétylées servent également de plateforme de recrutement pour les protéines à bromodomaine. Les histones acétyltransférases sont majoritairement impliquées dans l'activation transcriptionnelle.

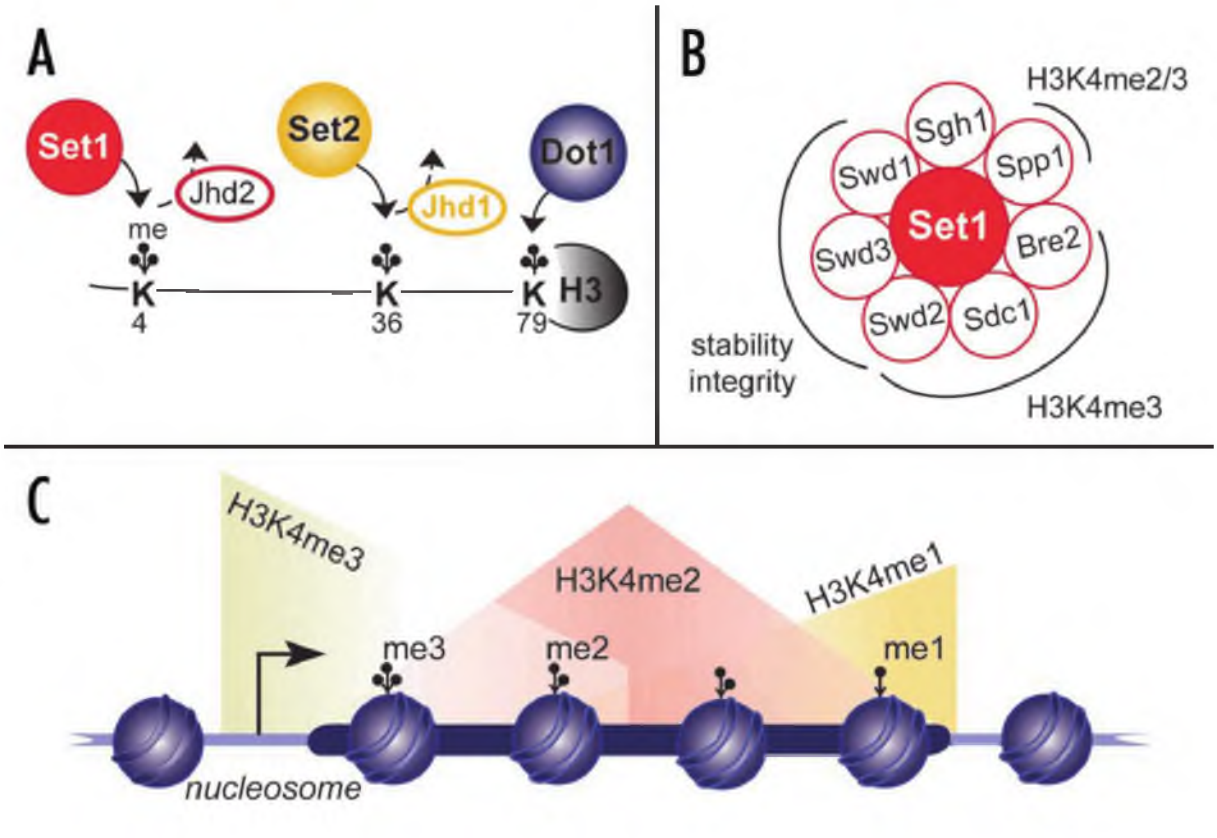


Figure 6 : Méthylation de H3K4 chez S. cerevisiae.

A) Les HMT Set1, Set2 et Dot1 mono-, di- ou tri-méthylent H3K4, K36 et K79, respectivement chez *S. cerevisiae*. Les histones déméthylases JHD2 and JHD1 déméthylent H3K4me3 and H3K36me3, respectivement.

B) Le complexe SET1C consiste en 8 sous-unités ayant des propriétés régulatrices distinctes.

C) Distribution différentielle des marques H3K4me1, me2 and me3 le long d'un gène transcrit. Tiré de Pinskaya et Morillon, 2009.

Chez l'homme, l'acétylation de H3K9 près d'un *Transcriptional Start Site* (*TSS)* est essentiellement corrélée à l'activation transcriptionnelle (Nishida *et al.,* 2006). Par exemple, GCN5 et TIP60 acétylent H3K9, ce qui entraîne le recrutement de TFIID sur le promoteur des gènes cibles (Agalioti *et al.,* 2002 ; Rybtsova *et al.,* 2007). Chez la drosophile, l'acétylation de H3K27 est médiée par CBP/p300 et contre l'activité des complexes PcG (Tie *et al.,* 2009).

2.2.4. Les histones méthyltransférases (HMT)

Parmi les histones méthyltransférases, on distingue les KMT (Lysines Méthyltransférases) et les PRMT (Protéines Arginines Méthyltransférases) (pour revue voir Zhang *et al.,* 2012).

2.2.4.1. Les lysines méthyltransférases

Ces enzymes catalysent le transfert de un, deux ou trois groupements méthyles au résidu lysine, à partir d'un donneur SAM (S-Adénosyl Méthionine). La plupart des lysines méthyltransférases possèdent un domaine catalytique, le domaine SET, qui permet la mono-, di- ou tri-méthylation des lysines cibles. Ce domaine tire son nom des premières enzymes identifiées possédant ce domaine, à savoir : *Su(var)3-9* (diméthyle H3K9), *Enhancer of Zeste* (triméthyle H3K27) et *Trithorax* (triméthyle H3K4). Ce domaine catalytique est très conservé au cours de l'évolution (Rea *et al.,* 2000).

Les histones mono-, di-, ou triméthylées ont pour effet d'activer (H3K4me2/3, H3K36me3, H3K79me3…) ou de réprimer (H3K27me3, H3K9me2/3…) la transcription. Certaines de ces marques épigénétiques sont présentées dans les Tableaux 1 (marques activatrices) et 2 (marques répressives).

2.2.4.2. Les protéines arginine méthyltransférases (PRMT).

Ces enzymes peuvent mono- ou di-méthyler des résidus arginine. Les PRMT sont généralement des activateurs transcriptionnels mais certaines, comme PRMT6 chez l'homme, catalysent des marques épigénétiques répressives. PRMT6, en diméthylant H3R2me2, empêche la sous-unité Spp1 de la méthylase SET1 de se fixer à la queue N-terminale de l'histone H3 et de méthyler la lysine 4 (Figure 6B). Les deux marques H3R2me2 et H3K4me3 sont mutuellement exclusives (Kirmizis A *et al.,* 2007).

Marque	Enzyme	Organisme	Fonctions	Référence
H3K4	SET1 dSET1 TrX, TrR, ASH1	*Sc* *Dm* *Dm*	COMPASS (*Complex Proteins Associated with Set1*) peut mono-, di- et triméthyler H3K4. Responsable des di- et tri-méthylations de H3K4 dans les stades tardifs du développement larvaire. Réguleraient des gènes ou des voies de signalisation clés du développement; joueraient un rôle plus précoce que dSET1 dans le développement.	Miller *et al.*, 2001 Krogan *et al.*, 2002 ; Roguev *et al.*, 2001 ; Shilatifard, 2006 ; Wood *et al.*, 2007 Hallson *et al.*, 2012
H3K36	ASH1 SET2	*Dm* *Sc*	Triméthylation de H3K36, marque associée à l'activation de la transcription ; prévient la propagation de la méthylation de H3K27 par le complexe PRC2.	Tanaka Y *et al.*, 2007 Yuan W *et al.*, 2011
H3K79	DOT1L DOT1	*Hs* *Sc, Dm*	HMT sans domaine SET. La diméthylation de H3K79 dépend du cycle cellulaire. Elle décroît durant la phase S, atteignant son niveau le plus bas en phase G2, et augmente en mitose pour se maintenir à un niveau élevé durant la phase G1.	Feng *et al.*, 2002

Tableau 1 : Histones Méthyltransférases activatrices

Marque	Enzyme	Organisme	Fonctions	Référence
H3K9	SUV39h1, G9a, GLP, et SETDB1	*Hs, Dm, Sc*	La monométhylation de H3K9 est associée aux promoteurs actifs; les di- et tri-méthylations de H3K9 sont liées à la répression transcriptionnelle.	Fritsch *et al.*, 2010 Barski *et al.*, 2007 Wang *et al.*, 2008 Collins *et al.*, 2010
H4K20	SUV420H2		Interagit avec HP1 et contribue à la formation de l'hétérochromatine. Le statut de méthylation de H4K20 (mono- ou di-) a un impact sur le comportement du chromosome durant la mitose et dans la cytokinèse.	Souza *et al.*, 2009 Julien *et al.*, 2004
H3K27	E(Z)	*Dm*	me1: Marque plus abondante sur les promoteurs actifs que sur les promoteurs des gènes réprimés. me2/3: Complexe PRC2, rôle dans la répression transcriptionnelle	Wang *et al.*, 2008 Barski A *et al.*, 2007

Tableau 2 : Histones Méthyltransférases répressives

2.2.5. Les polyADP ribosylases

La polyADP ribosylation est l'ajout d'une chaîne d'ADP ribose à certaines lysines de la queue N-terminale des histones. Chez les mammifères, PARP1 (*PolyADP Ribose Protein 1*) aurait pour cible les lysines K13 de H2A, K30 de H2B, K27 et K37 de H3, et K16 de H4. PARP1 poly ADP-ribosyle également l'histone H1 en contexte de réparation des lésions de l'ADN (Kreimeyer, 1984). L'acétylation de H4K16 inhibe sa poly ADP-ribosylation par PARP1 (Messner *et al.,* 2010). L'enzyme PARP1 est associée sous sa forme inactive au promoteur de certains gènes, comme *hsp70* chez la drosophile. Lors d'un choc thermique, HSF (*Heat Shock Factor*), fixé sur le promoteur d'*hsp70*, est activé ce qui permet l'acétylation de H2AK5 par dTip60. Cette acétylation active PARP1 qui poly ADP-ribosyle la chromatine, entraînant une restructuration et la transcription rapide du gène (Petesch et Lis, 2011)

2.2.6. Les ubiquitines-ligases

L'ubiquitination est la ligation d'un groupement ubiquitine (polypeptide constitué de 76 acides aminés) sur les résidus lysine. La mono-ubiquitination des histones est associée à la répression ou à l'activation de la transcription (alors que la poly-ubiquitination cible généralement les protéines pour leur dégradation par le protéasome). Chez la drosophile, le complexe Polycomb dRAF (*related dRing-associated factors*) contient une E3 ubiquitine ligase, dRING/PSC, qui mono-ubiquitine H2AK119 (Scheuermann *et al.,* 2010). dRING/PSC fait également partie du complexe PRC1 et lui confère son activité E3 ubiquitine ligase (Saurin *et al.,* 2001), (voir Tableau des complexes PcG, TrxG et de leurs recruteurs en Annexe 5).

2.3. Le code histone

Les modifications post-traductionnelles des histones permettent une communication entre la chromatine et l'environnement nucléaire; selon les marques apposées, la chromatine se condense, prenant une structure non permissive pour la transcription, ou au contraire, se relâche, facilitant la transcription.

L'hypothèse du code histone, proposé par Strahl et Allis en 2000, établit un lien direct entre la combinatoire des différentes marques épigénétiques de certains résidus de la queue des histones et l'état transcriptionnel de la chromatine. Ce « code », en étant lu par d'autres protéines, permettrait le recrutement de protéines ou complexes protéiques agissant sur la structure de la chromatine. Par exemple, les lysines acétylées ou méthylées sont spécifiquement reconnues par certaines protéines grâce à des domaines de reconnaissance particuliers. De plus, le recrutement de certaines protéines sur la chromatine fait intervenir non seulement des histones modifiées, mais aussi d'autres protéines ou complexes protéiques. Le code histone est donc interprété dans un contexte intégré, dans lequel de nombreux facteurs interviennent.

2.3.1. Writers , Readers et Erasers

Les enzymes qui apposent les modifications, enzymes citées ci-dessus (histones méthyltransférases, histones acétylases *etc*…), sont appelées *Writers*. Le concept de code histone implique également l'existence de protéines qui interprètent ces modifications et servent de plateforme d'ancrage à d'autres protéines qui agiront à leur tour sur la chromatine, les *Readers*, et de protéines qui effacent ces modifications, les *Erasers*. La grande diversité de *Writers, Readers* et *Erasers* et leur spécificité augmentent la complexité du code.

Par exemple HP1 (*Heterochromatin Protein 1*) participe à l'initiation du processus d'hétérochromatinisation en reconnaissant la marque H3K9me2/3 (Schotta *et al.*, 2002). Chez l'homme, H4K20me3 et H3K9me3 sont enrichies dans l'hétérochromatine péricentromérique, alors que les formes diméthylées sont enrichies sur les bras chromosomiques. De plus, H3K9me1 et H4K20me1 définissent des régions distinctes de l'hétérochromatine chez les mammifères (Sims *et al.*, 2006).

Chez la drosophile, la protéine Enhancer of Zeste [E(Z), homologue de EZH1/2 chez les mammifères], qui fait partie du complexe PcG PRC2 (*Polycomb Repressive Complex 2*), triméthyle H3K27 et joue ainsi un rôle dans la répression transcriptionnelle. En effet, H3K27me3 est reconnue par Polycomb (PC), un composant du complexe PcG PRC1 (*Polycomb Repressive Complex 1*); cette interaction permet le recrutement de PRC1 et l'établissement de la répression (Cao *et al.*, 2002).

2.3.2. Histone crosstalk

La dynamique du code histone repose sur l'existence de nombreuses « conversations croisées » entre les histones (*Histone crosstalk*). Deux revues récentes décrivent ces interactions (Figures 7 et 8). Elles se déclinent en divers schémas :

(1) Plusieurs enzymes de modification ciblant le même site peuvent entrer en compétition. Ceci est particulièrement vrai pour les lysines qui peuvent être acétylées, méthylées ou ubiquitinylées. C'est le cas par exemple de H3K9ac et H3K9me3. Lorsque H3K9 est acétylée, l'affinité entre l'histone et l'ADN diminue et la chromatine devient permissive pour la transcription. Lorsque H3K9 est triméthylée au contraire, la protéine HP1 se fixe et participe avec d'autres interacteurs à l'hétérochromatinisation du locus et ainsi à sa répression.

(2) Une modification post-traductionnelle peut être dépendante d'une autre. Un exemple ce type de *trans*-régulation est observé chez la levure où la méthylation de H3K4 par COMPASS et celle de H3K79 par Dot1 sont totalement dépendantes de l'ubiquitination de H2BK123 par l'enzyme Rad6/Bre1 (Lee *et al.,* 2007). Chez l'homme, l'ubiquitination de l'histone H2BK120 est un prérequis pour la méthylation de H3K79 (Zhu *et al.,* 2005).

(3) La fixation d'une protéine sur une modification particulière peut être inhibée par une modification adjacente. Par exemple, la protéine HP1 se fixe à la marque H3K9me2/3, mais durant la mitose, la liaison est rompue à cause de la phosphorylation de la sérine 10 adjacente (Fischle *et al.,* 2005). Ce mécanisme, décrit comme « *phospho/méthyl switch* », permettrait la transcription des régions hétérochromatiques lors de la phase S et la production de petits ARN non-codants spécifiques de ces régions.

De même, lors d'un stress cellulaire, le recrutement du complexe PRC1 sur la marque H3K27me3 est inhibé par la phosphorylation de la sérine 28 voisine par la kinase MSK1/2 (Gehani *et al.,* 2010).

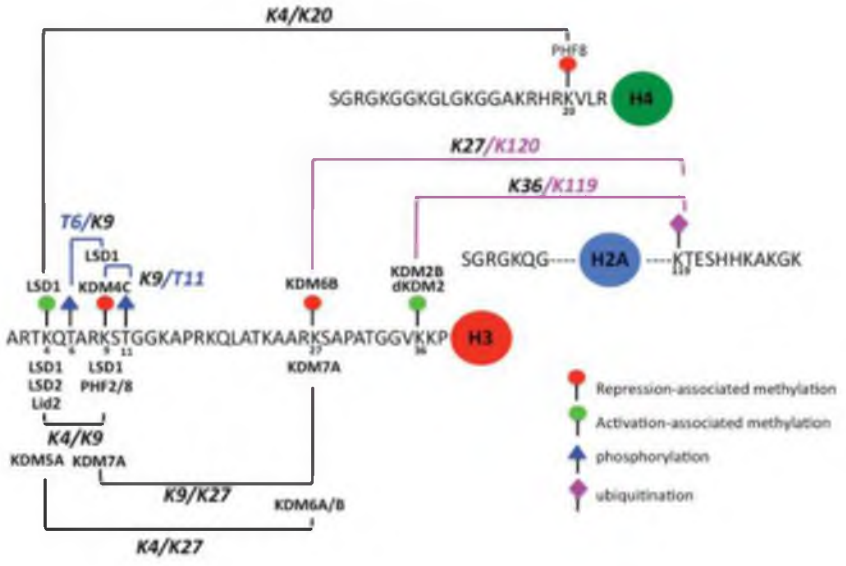


Figure 7 : Conversations croisées impliquant des lysines déméthylases.

Les lignes relient les modifications qui "conversent" (trait noir : méthylation/méthylation, trait bleu : méthylation/phosphorylation, trait violet : méthylation/ubiquitination). Les différentes lysines déméthylases impliquées sont mentionnées au-dessus ou au-dessous du résidu qu'elles déméthylent spécifiquement. Tiré de Verrier *et al.*, 2011.

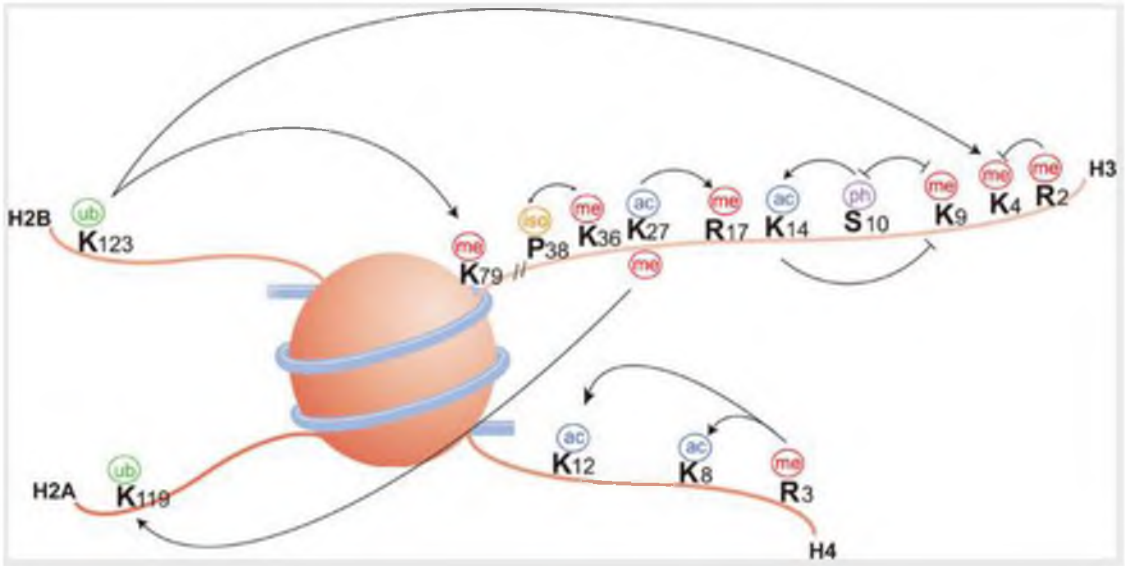


Figure 8 : Conversations croisées entre modifications d'histones.

Les modifications des histones peuvent affecter positivement ou négativement d'autres modifications. Un effet positif est indiqué par une flèche et un effet négatif est indiqué par un trait à tête plate. Tiré de Bannister et Kouzarides, 2011.

2.4. Les gommes épigénétiques ou *Erasers*

La dynamique et la spécificité du code histone sont dues non seulement à une régulation spatio-temporelle précise de son écriture, mais également à la possibilité d'effacer ces marques de façon spécifique.

2.4.1. Les phosphatases

Les phosphatases catalysent l'élimination d'un groupement phosphate. Les sérine/thréonine phosphatases sont des métallo-enzymes; leur site catalytique contient des ions Mn^{2+}, Fe^{2+}, ou Zn^{2+}. Chez les mammifères, la phosphatase PP1 (Protéine Phosphatase 1) agit de façon antagoniste à Aurora-B, une des kinases responsables des marques H3S10ph et de H3S28ph (Sugiyama *et al.,* 2002 ; Goto *et al.,* 2002) qui diminue la phosphorylation de H3S28ph jusqu'à un niveau indetectable juste avant l'entrée en mitose.

2.4.2. Les histones désacétylases (HDAC)

Chez les eucaryotes, le niveau d'acétylation est établi et maintenu par les HAT et les HDAC (Histone Désacétylases). Les HDAC contiennent un domaine catalytique « histone désacétylase » responsable de leur fonction. Elles sont le plus souvent associées à des complexes multimériques répresseurs. Elles ont été classées en 4 groupes en fonction de leur mécanisme d'action (Figure 9).

Chez la drosophile, comme chez la levure, l'HDAC la plus étudiée est Rpd3, elle est responsable de la déacétylation de plusieurs lysines de la queue des histones. Au contraire de l'acétylation, la déacétylation des histones est généralement liée à la répression de la transcription (Yang et Seto, 2008). Rpd3 fait partie des facteurs fréquemment associés au complexe PRC2 (De Rubertis *et al.,* 1996), ainsi qu'au complexe NURD (Murawsky*et al.,* 2001), voir Tableau des complexes PcG, TrxG et de leurs recruteurs en Annexe 5.

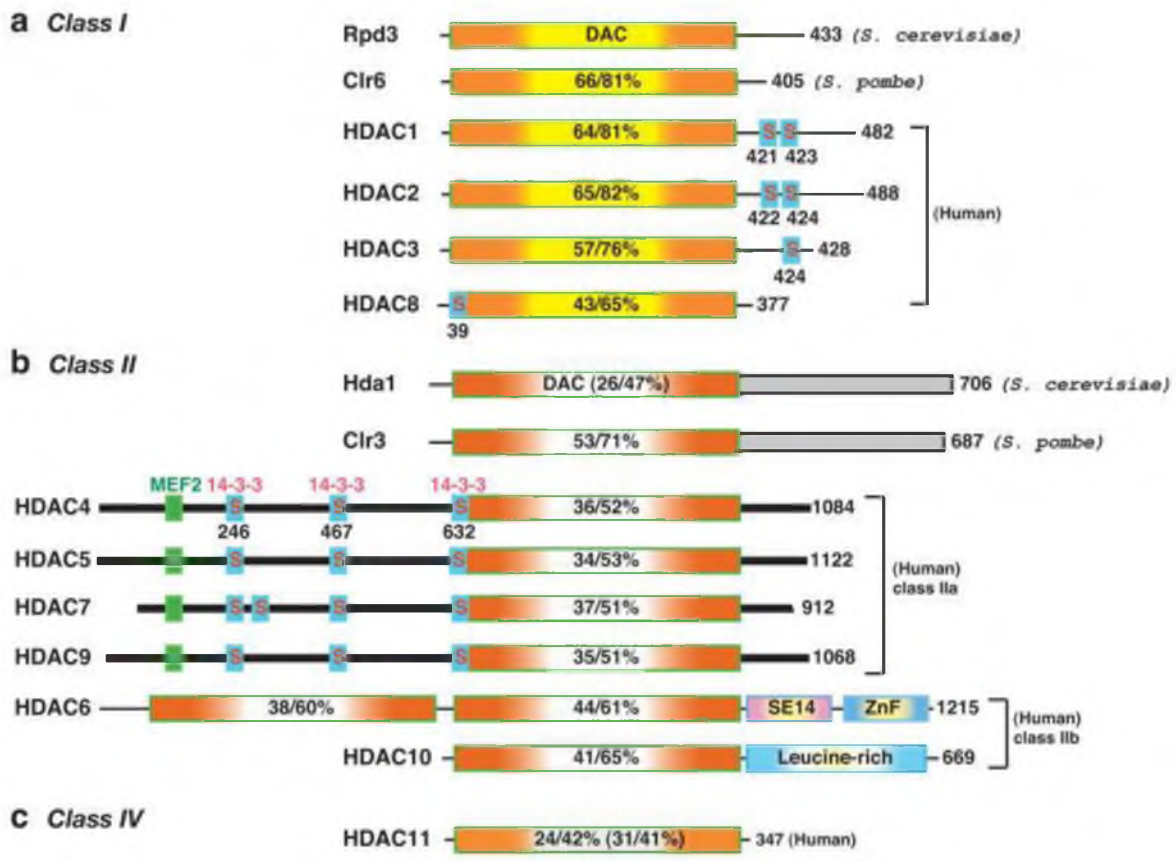


Figure 9 : Domaines d'organisation des HDAC de la levure à l'homme.

Les désacétylases sont groupées en fonction de leur similarité de séquence avec les HDAC de levure. Chez les mammifères, les HDAC de classe I (Rpd3-like) incluent HDAC1, 2, 3 et 8; les HDAC de classe II sont HDAC4, 5, 6, 7, 9 et 10 (similaires à Hda1); et les HDAC de classe IV ne sont représentées que par HDAC11. Beaucoup de HDAC ont des isoformes résultant de l'épissage alternatif (le nombre en C-ter représente le nombre d'acides aminés de l'isoforme la plus longue). Le domaine désacétylase (DAC) est représenté par un rectangle orange, avec au centre le pourcentage d'identité par rapport à l'enzyme de référence de la levure (*i.e.* Rpd3 pour la classe I ou Hda1 pour la classe II/IV). Les motifs de fixation à MEF-2 (Myocyte Enhancer Factor 2) sont représentés par les carrés verts, alors que les motifs de fixation 14-3-3 (décrits plus tard dans le manuscrit) sont représentés par des carrés bleus avec la lettre S pour sérine. Le motif SE14 est une répétition de 14 Ser-Glu; ZnF représente un motif zinc finger qui fixe les régions ubiquitinées. Tiré de Yang et Seto, 2008.

Les HADC ont de très nombreuses cibles. Je ne citerai ici que quelques exemples. Chez l'homme, HDAC3 déacétyle H3K4ac spécifiquement sur les centromères, permettant la cohésion des chromatides sœurs lors de la méiose (Eot-Houllier *et al.*, 2008). Dans les lignées MCF10A et rat12 humaines, HDAC3 et CBP/p300, sont recrutées sur le promoteur de *c-Myc* où elles entraînent la déacétylation et la répression du gène (Sankar *et al.*, 2008). Chez l'homme, SIRT1 est impliquée dans la formation de l'hétérochromatine facultative en déacétylant H3K9Ac et H4K16Ac (Vaquero *et al.*, 2004). SIRT1, en collaboration avec la méthylase SUV39H1, entraîne la répression du locus des *ADNr* en réponse au niveau d'énergie intra-cellulaire (ratio AMP/ATP), jouant ainsi un rôle crucial dans l'homéostasie cellulaire (Murayama *et al.*, 2008).

2.4.3. Les histones déméthylases (HDMases)

La méthylation des histones a des conséquences importantes sur la régulation des gènes et est soumise à une régulation très dynamique. Deux familles d'histones déméthylases (HDMases) éliminent les groupements méthyls des histones. Les lysines déméthylases 1 (KDM1, aussi connue sous le nom de LSD1) sont des Flavine Adénine Dinucléotide (FAD)- enzymes qui éliminent les mono- et di-méthylations. Les histones déméthylases *Jumonji C-terminal domain* (JmjC) éliminent tous les états de méthylation existants (Hou et Yu, 2010).

LSD1 déméthyle les mono et di-méthylations de H3K4 et H3K9 (Shi *et al.*, 2004 ; Metzger *et al.*, 2005). LSD1, qui fait partie du complexe REST (*REl-Silencing Transcription factor*), réprime les gènes cibles de ce complexe (Lee *et al.*, 2005). LSD1 peut également coopérer avec JMJD2C pour réaliser une déméthylation complète de H3K9me3 (Metzger *et al.*, 2005 ; Wissmann *et al.*, 2007).

2.4.4. La déribosylase PARG (polyADP-ribose glycohydrolase)

Elle catalyse la dégradation de la chaîne poly ADP-ribose sur toutes les histones. PARG agit de façon synchrone avec PARP pour coordonner la régulation des évènements de réparation de l'ADN (Fisher *et al.*, 2007).

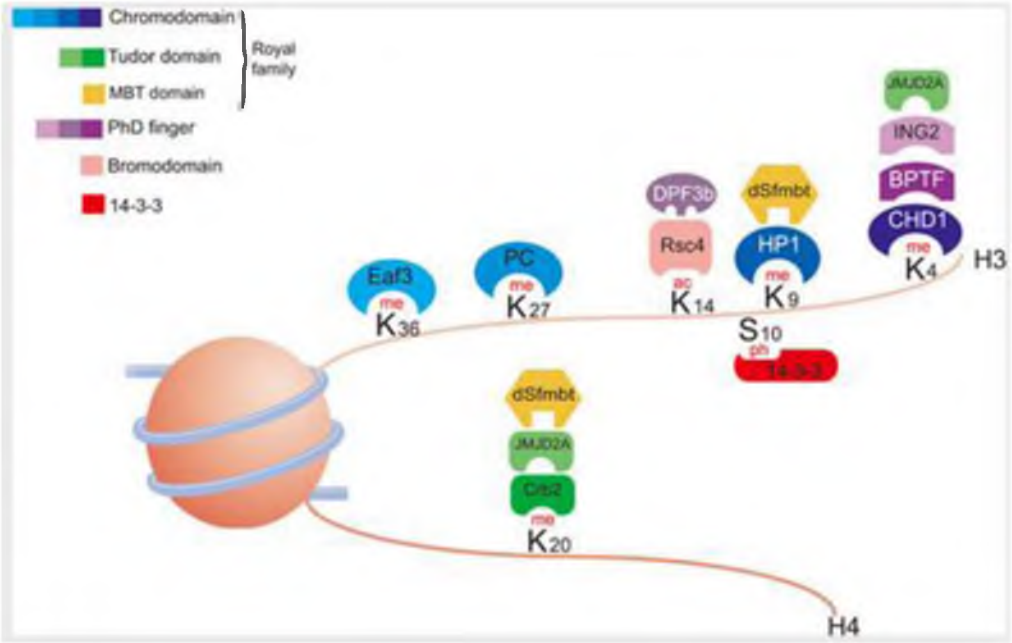


Figure 10 : Exemples de *Readers*.

Exemples de protéines dont les domaines fixent spécifiquement les histones modifiées. Les domaines spécifiques sont notés de différentes couleurs. Tiré de Bannister et Kouzarides, 2011

2.4.5. La déubiquitinase MYSM1

Chez l'homme, MYSM1 (également appelée 2A-DUB), déubiquitine la lysine 119 de H2A. Elle facilite également l'exclusion de l'histone H1 et joue donc un rôle important dans la régulation de la transcription (Zhu *et al.*, 2007). Chez la drosophile, le complexe Polycomb PR-DUB est associé à la répression de l'expression des gènes. La déubiquitinase du complexe, Calypso, est responsable de la déubiquitination de la lysine 119 de H2A (Scheuermann *et al.*, 2010).

2.5. Les lecteurs du code histone ou *Readers*

Les *Readers* du code histone se différencient des *Writers* par le fait qu'ils n'induisent aucune modification directe sur la chromatine, mais reconnaissent une marque épigénétique particulière et participent au recrutement d'autres protéines ou complexes protéiques sur la chromatine. Leur spécificité de reconnaissance est liée aux différents domaines spécialisés qu'ils contiennent (Figure 10).

2.5.1. Les domaines 14-3-3

Les protéines à domaine 14-3-3 reconnaissent les sérines phosphorylées. Elles forment une famille très conservée avec au moins deux isoformes exprimées chez la levure et jusqu'à 15 chez les plantes. La famille 14-3-3 comprend 7 orthologues chez les mammifères et deux chez la drosophile (pour revue, voir Winter *et al.*, 2008a).

Les protéines 14-3-3 reconnaissent H3S10p et H3S28p. La fixation à H3S10ph est stabilisée si la même queue d'histone est acétylée sur la lysine 9 ou la lysine 14. Ces associations semblent liées à l'activation de la transcription (Winter *et al.*, 2008b). Chez la drosophile, cette famille de protéines est impliquée dans le recrutement à la chromatine de composants des complexes d'élongation de la transcription comme ELP3 (*Elongator protein 3*) qui interagit avec 14-3-3 (Karam *et al.*, 2010), et qui possède elle-même une activité acétyltransférase facilitant la transcription.

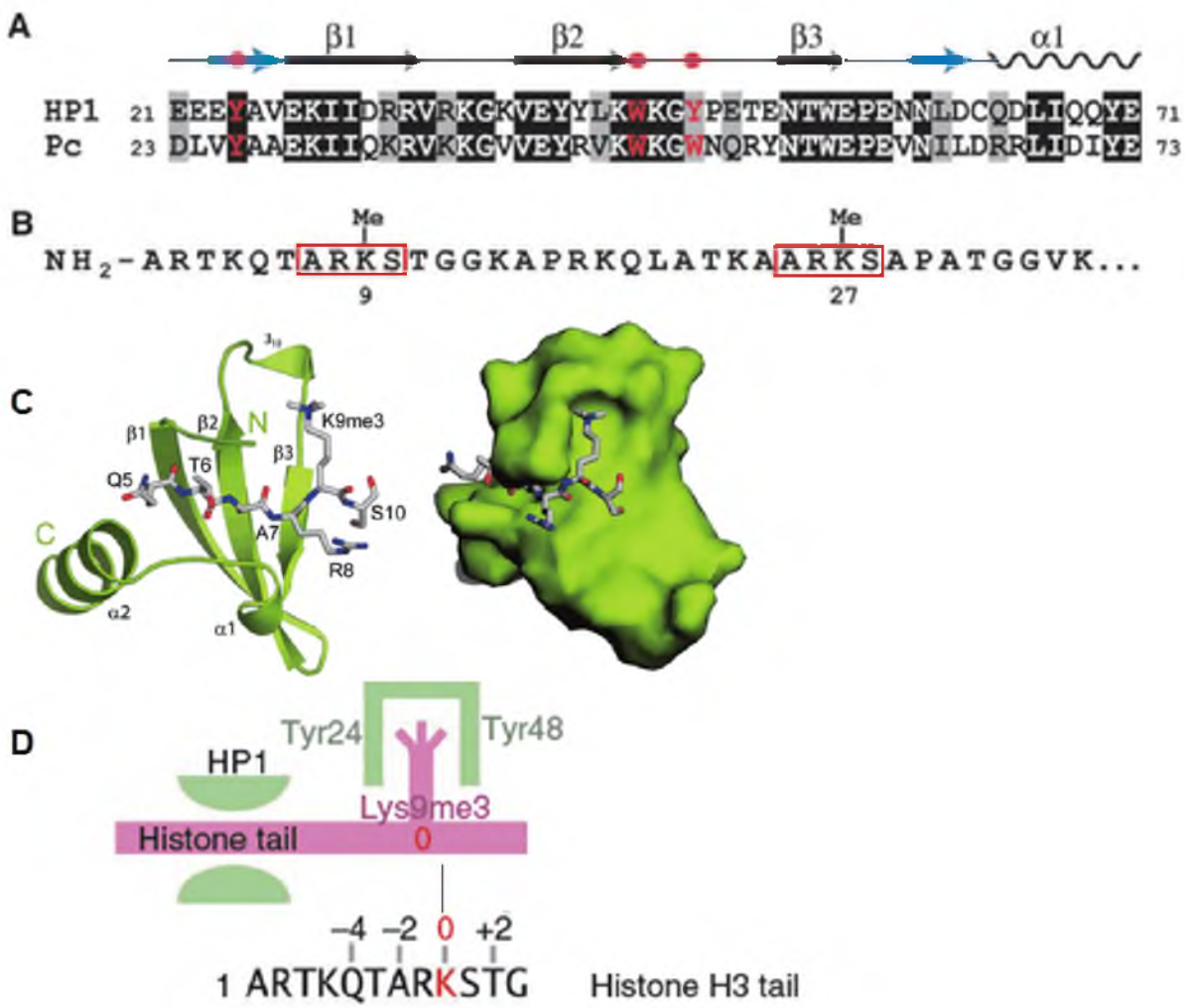


Figure 11: Chromodomaine de HP1

A Alignement des séquences primaires des chromodomaines de HP1 et PC. Les acides aminés aromatiques conservés sont écrits en rouge. Tiré de Fischle *et al.*, 2003.

B Séquence de la queue N-terminale de l'histone H3. La séquence entourant les lysines 9 et 27 méthylées sont similaires. Tiré de Fischle *et al.*, 2003.

C Représentation de la structure tridimensionnelle du chromodomaine de HP1 liant la lysine 9 triméthylée de l'histone H3. Tiré de Blus *et al.*, 2011.

D Schéma d'interaction entre la lysine 9 triméthylée de l'histone H3 et les acides aminés formant la cage aromatique du chromodomaine de HP1. Adapté de Holdermann *et al.*, 2012.

2.5.2. Les bromodomaines

Les bromodomaines tirent leur nom de la protéine du complexe TrxG Brahma (BRM) de la drosophile chez qui ils ont initialement été découverts (Tamkun *et al.,* 1992). Les bromodomaines reconnaissent les lysines acétylées (Dhalluin *et al.,* 1999).

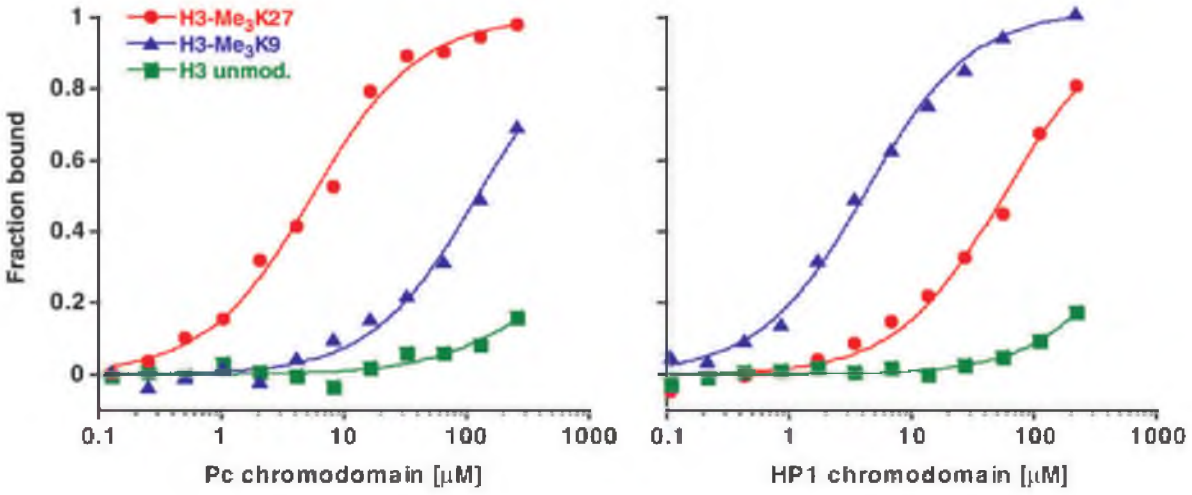
Plusieurs complexes chromatiniens contiennent des protéines à bromodomaine (Mujtaba *et al.,* 2007 et Annexe 1 et 3). Par exemple, le complexe RSC contient trois protéines présentant un bromodomaine (Rsc1, Rsc2 et Rsc4) (Cairns *et al.,* 1999), le complexe HAT SAGA contient deux protéines à bromodomaine (GCN5 et SPT7).

Chez l'homme, TAFII250, la plus grande sous-unité de TFIID, contient deux bromodomaines en tandem qui fixent l'histone H4 acétylée (Jacobson *et al.,* 2000), permettant ainsi la liaison de TFIID aux promoteurs. Dans les cellules NIH/3T3, BRD4 reconnaîtrait la marque épigénétique H4K5ac associée aux gènes activés *via* ses 2 bromodomaines et marquerait ainsi les gènes transcrits durant la mitose (*Bookmarking*; voir « Exemples de processus épigénétiques »). Ceci permettrait de reprendre la transcription dès la sortie de la mitose dans les cellules filles et donc de maintenir la mémoire transcriptionnelle (Dey *et al.,* 2009).

Les bromodomaines ne reconnaissent pas toujours les lysines acétylées de façon spécifique. L'affinité pour leurs cibles peut être accrue par l'environnement du site de liaison (pour revue, voir Zeng et Zhou, 2002). De plus, leur répétition en tandem, jusqu'à 6 bromodomaines dans la protéine *polybromo* (PB), augmente leur affinité pour la cible (Charlop-Powers *et al.,* 2010).

2.5.3. Les chromodomaines

Historiquement, les chromodomaines ont été identifiés dans les protéines Polycomb (PC) et Hétérochromatine Protéine 1 (HP1) (Paro et Hogness, 1991 et Figure 11). L'acronyme « Chromo » pour *Chromatin organization modifier* a été proposé car ce domaine est un domaine d'adressage à la chromatine. En effet, des mutations dans le chromodomaine de PC ou d'HP1 abolissent la fixation de la protéine à la chromatine (Messmer *et al.,* 1992 ; Platero *et al.,* 1995).



	Me_1K9	Me_2K9	Me_3K9	Me_1K27	Me_2K27	Me_3K27
Pc	>1000	>1000	125 ± 28	20 ± 3	28 ± 4	5 ± 1
HP1	46 ± 9	7 ± 2	4 ± 1	n.d.	n.d.	64 ± 7

Figure 12: Affinité des chromodomaines de PC et HP1 pour leurs substrats respectifs.

Affinité du chromodomaine de PC (résidus 1 à 98) et de HP1 (résidus 17 à 76) pour différents peptides méthylés ou non. Les valeurs de Kd (en µM) sont présentées dans le tableau. *nb* : aucun des chromodomaines ne fixe les peptides non méthylés de l'histone H3. Adapté de Fischle *et al.*, 2003.

2.5.3.1. Structure des chromodomaines

Des comparaisons structurales ont placé les chromodomaines dans le groupe des protéines de la famille Royale, qui contient également les domaines Tudor, Agenet, PWWP et MBT (Maurer-Stroh *et al.,* 2003; Taverna *et al.,* 2007; Yap and Zhou, 2010). Ces différents domaines fixent les lysines méthylées avec une forte affinité (de l'ordre de 1 à 10 µM) (Figure 12). Les chromodomaines canoniques sont formés de trois feuillets β anti-parallèles flanqués d'une hélice α du côté C-terminal (Ball *et al.,* 1997 et Figure 11A).

La structure des chromodomaines liés aux lysines méthylées a été résolue par cristallographie. La lysine 9 méthylée de l'histone H3 est imbriquée dans une région du chromodomaine de HP1 qui forme la « cage aromatique » (Figure 11D). Chez la drosophile, cette cage est formée par les tyrosines 24 et 48, et le tryptophane 45 (Hughes *et al.,* 2007). La lysine 27 triméthylée de l'histone H3 s'insère dans une cage formée par la tyrosine 26, et les tryptophanes 47 et 50 du chromodomaine de Polycomb. Les lysines 9 et 27 de l'histone H3 sont au centre d'une séquence conservée d'acides aminés : ARKS (Figure 11B). Cette séquence, flanquant la lysine triméthylée, serait également importante pour la liaison du chromodomaine, augmentant son affinité pour le ligand (Fischle *et al.,* 2003).

2.5.3.2. Classification des chromodomaines

Les protéines à chromodomaine sont classées en trois groupes en fonction de leur structure globale : (1) les protéines possédant un seul chromodomaine, comme PC; (2) les protéines possédant un chromodomaine en partie N-terminale et un domaine chromoshadow (domaine structurellement similaire au chromodomaine), comme HP1; (3) les protéines possédant deux chromodomaines en tandem, comme les protéines CHD (*Chromodomain Helicase DNA-binding domain*). Un troisième type de protéine fixant les lysines méthylées est le groupe des protéines à domaine *ChromoBarrel*. Leur structure tridimentionnelle diffère des chromodomaines : seuls deux des trois acides aminés formant la cage aromatique sont conservés (pour revue, voir Yap et Zhou, 2011). Des exemples de protéines à chromodomaine chez la drosophile sont regroupés dans le Tableau 3 (pour revue, voir Eisenberg, 2012).

Tableau 3 : Exemples de protéines à chromodomaine chez la drosophile

Chromodomain protein (yeast and human orthologs)	Chromodomain type (a.a.)	Mutant phenotype	Chromodomain target
Chromodomain + chromo shadow domain			
SU(VAR)205/HP1a (*H. sapiens* = HP1α/CBX5)	Chromo (24–73) + chromo shadow (141–201)	Lethal[a]	H3K9me2/3[b]
HP1b (*S. pombe* = Swi6; *H. sapiens* = HP1 β/CBX1)	Chromo (4–53) + chromo shadow (97–154)		
HP1c (*S. pombe* = Chp2; HP1 γ/CBX3)	Chromo (8–58) + chromo shadow (83–135)		
RHINO (no ortholog in yeast or vertebrates)	Chromo (24–-74) + chromo shadow (360–415)	Female-sterile[c]	
HP1e (no ortholog in yeast or human?)	Chromo (27–76) + chromo shadow (110–167)		
Single chromodomain[*]			
POLYCOMB (no *S. pombe* ortholog; *H. sapiens* = CBX2, CBX4, CBX7 and CBX8)	Single chromo (26–75)	Lethal[d]	H3K27me2/3[e]
SU(VAR)3-9 (*S. pombe* = clr4; *H. sapiens* = Suv39a, b)	Single chromo (219–268)	Viable[f]	
HP6 (no orthologs in yeast or vertebrates)	Chromo shadow (22–79)		
CG8289 (no orthologs in yeast or vertebrates)	Single chromo (233–282)		
Chromator (no orthologs in yeast or vertebrates)	Single chromo (221–272)	Lethal[g]	
CG18186	Single chromo (23–86)		
A16	Chromo shadow (301–360)		
Tandem chromodomains			
CHD1 (*S. pombe* = hrp3; *H. sapiens* = CHD1, CHD2)	Double chromo (318–414; 439–501)	Sterile[h]	H3K4me[i]
CHD3 (*S. pombe* = mit1; *H. sapiens* = CHD5)	Double chromo (84–156; 179–-240)	Viable[j]	
MI-2 (*S. pombe* = mit1; *H. sapiens* = CHD3, CHD4)	Double chromo (490–557; 612–664)	Lethal[k]	
KISMET-L (no *S. pombe* ortholog; *H. sapiens* = CHD7)	Tandem chromo (1879–1921; 1941–1993)	Lethal[l]	Does not bind methylated histone tails *in vitro*[m]
Chromo barrel domain			
MSL-3 (no *S. pombe* homolog; *H. sapiens* = MSL3)	Single chromo (–90)	Male lethal[n]	H4K20me1 + DNA[o]; H3K36me[p]
MOF (no *S. pombe* homolog; *H. sapiens* = MYST1)	Single chromo (376–434)	Male-lethal[q]	roX1 and roX2 RNA[r]
MRG15 (*S. pombe* = alp13; *H. sapiens* = MORF4L1)	Single chromo (22–75)		H3K36me3[s]
Tip60 (*S. pombe* = mst1; *H. sapiens* = KAT5)	Single chromo (38–89)	Lethal[t]	
CG34422 (no *S. pombe* homolog; *H. sapiens* = ARID4A)	Single chromo (535–585)		

a Eissenberg *et al.*, 1992.; **b** Bannister *et al.*, 2001; Lachner *et al.*, 2001; Nielsen *et al.*, 2002; Jacobs and Khorasanizadeh, 2002.; **c**.Volpe *et al.*, 2001.; **d** Lewis, 1947; **e**.Min *et al.*, 2003.; **f**.Tschiersch *et al.*, 1994 ; **g**.Rath *et al.*, 2004; 2006.; **h**.Konev *et al.*, 2007; McDaniel et al. 2008.; **i**.Flanagan *et al.*, 2005; 2007.; **j**.;Cooper *et al.*, 2010.;**k**.Kehle *et al.*, 1998 ; **l**.Daubresse *et al.*, 1999 ; **m** Srinivasan *et al.*, 2008 ; **n**.Uenoyama *et al.*, 1982 ; **o**.Kim *et al.*, 2010 ; **p**.Sural *et al.*, 2008 ; **q**.Hilfiker *et al.*, 1997 ; **r**.Akhtar *et al.*, 2000; Nielsen *et al.*, 2005 ; **s**.Zhang et a, 2006a, 2006b ; **t**.Zhu *et al.*, 2007.

* Corto est également classée parmi les protéines à chromodomaine (Salvaing *et al.*, 2003), mais la faible similarité de séquence avec les autres chromodomaines et l'absence d'analyse cristallographique le maintiennent hors de cette liste. Tiré de Eisenberg, 2012.

2.5.3.3. Fixation des acides nucléiques

Plusieurs protéines à chromodomaine fixent les acides nucléiques, ARN ou ADN, *via* leur chromodomaine. La chromo-acétyltransférase MOF (*Male absent On the First*) a été le premier exemple d'une protéine dont le chromodomaine se lie aux ARN (Akhtar *et al.,* 2000). Chez la drosophile, MOF fait partie du complexe ribonucléoprotéique MSL (*Male Specific Lethal*) requis pour la compensation de dose du chromosome X chez le mâle (pour revue, voir Rea *et al.,* 2007). Ce complexe cible de nombreux sites sur le chromosome X du mâle (appelés sites d'entrée) et se répand en *cis* à partir de ces sites. Il contient les deux ARN non codants *roX1* et *roX2*. MOF fixe *roX1* et *roX2* avec peu de spécificité de séquence, et dans le cas de *roX2*, l'interaction est dépendante du chromodomaine. L'adressage de MOF au chromosome dépend de sa liaison à ces ARN (Akhtar *et al.,* 2000). Par ailleurs, MOF ne semble pas interagir avec des histones modifiées.

Chez la drosophile, la protéine MSL3 porte un chromodomaine en N-terminal. Ce chromodomaine fixe la marque H3K36me3 (marque d'élongation de la transcription), tout comme les chromodomaines des homologues de MSL3 chez la levure et l'homme (Eaf3 et MRG15, respectivement) (Joshi et Struhl, 2005; Zhang *et al.,* 2006a, 2006b; Sural *et al.,* 2008). *In vitro*, le chromodomaine de MSL3 fixe également l'ADN et H4K29me (Kim *et al.,* 2010).

Les chromodomaines de la plupart des protéines Polycomb humaines (CBX2, CBX4, CBX6, CBX7 et CBX8) fixent les ARN *in vitro* sans spécificité de séquence (Bernstein *et al.,* 2006). En particulier, CBX7, l'un des homologues de Polycomb chez l'homme, est une sous-unité du complexe PRC1, elle fixe les ARN et H3K27me3 *in vitro* (Yap *et al.,* 2010).

Le chromodomaine de HP1 n'est pas clairement impliqué dans la fixation aux ARN. Il semblerait que ce soit la région charnière (*hinge region*), située entre le chromodomaine et le chromoshadow domaine, qui en soit responsable. Chez la souris, la localisation de HP1α sur l'hétérochromatine péricentromérique (marquée par H3K9me2), dépend également des ARN (Maison *et al.,* 2002).

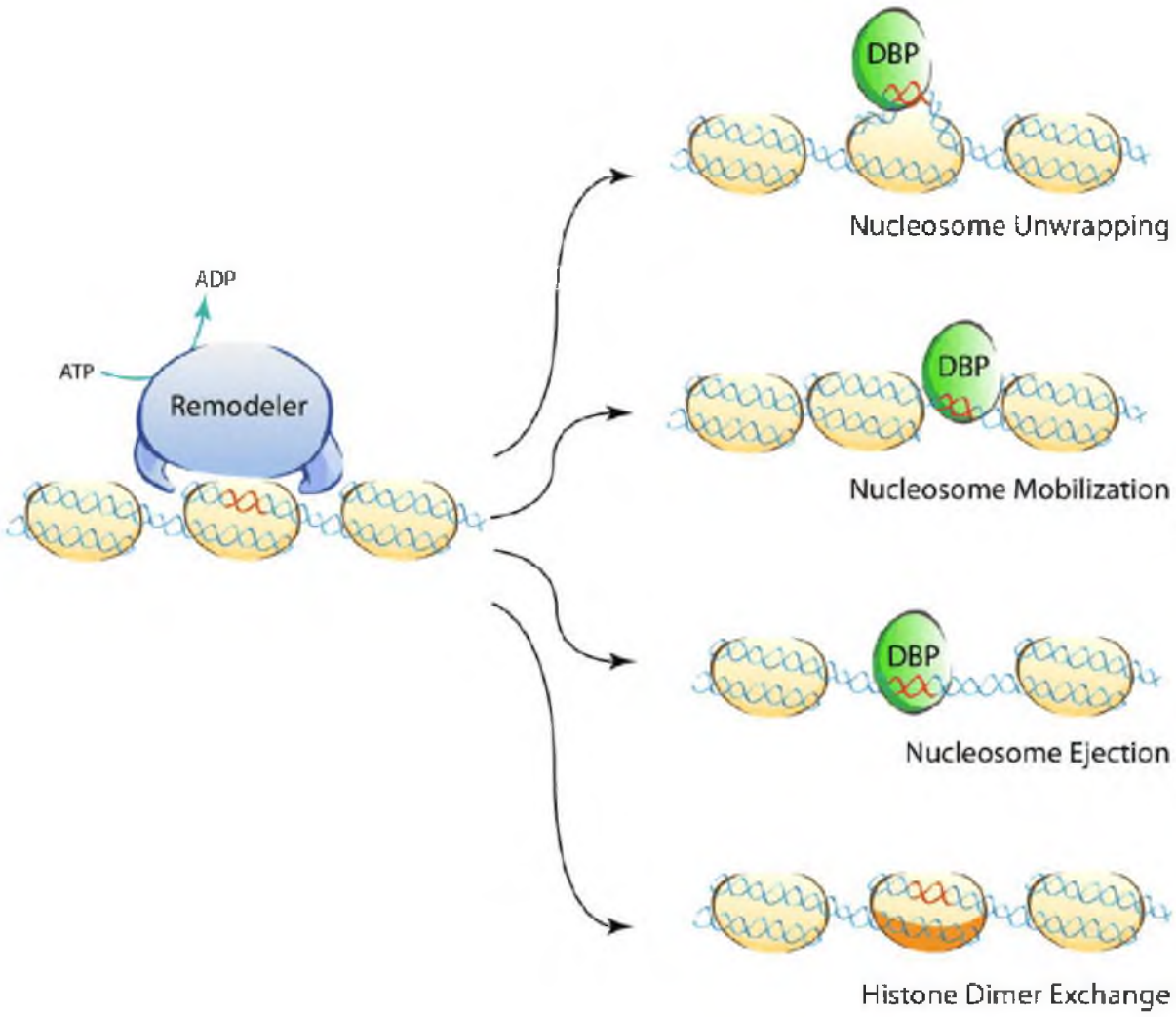


Figure 13 : Remodelage de la chromatine ATP-dépendant.

Après hydrolyse de l'ATP, une région protégée de la chromatine peut devenir permissive pour des complexes de fixation à l'ADN (DBP), comme les facteurs de transcription (en vert). Les nucléosomes peuvent être désassemblés, déplacés ou éjectés pour permettre ce processus. Dans certains cas, les complexes de remodelage ATP-dépendants introduisent des variants d'histones dans le nucléosome par un procédé appelé « dimer exchange ». Tiré de Tang *et al.*, 2010.

2.5.3.4. Adressage à la chromatine

Le chromodomaine est un module de fixation à la chromatine spécifique de son substrat méthylé. Par exemple, le chromodomaine de HP1 présente une forte affinité pour H3K9me3 (Bannister *et al.*, 2001 ; Lachner *et al.*, 2001). Une perte de la méthylation de H3K9 entraîne la délocalisation de HP1 chez la levure, la drosophile et dans les cellules de mammifères (Jacobs *et al.*, 2001 ; Lachner *et al.*, 2001 ; Nakayama *et al.*, 2001 ; Schotta *et al.*, 2004 ; Ebert *et al.*, 2004).

Chez la drosophile, la spécificité de liaison du chromodomaine (CD) de PC a été démontrée en remplaçant le chromodomaine de HP1α par celui de PC, résultant en une protéine chimérique HP1/PC-CD qui est adressée aux sites euchromatiques de PC (Platero *et al.*, 1995). En reconnaissant les lysines triméthylées des queues N-terminales des histones, les chromodomaines permettent donc l'adressage de la protéine à la chromatine.

2.6. Les complexes de remodelage de la chromatine

La chromatine est une structure dynamique. On entend par remodelage de la chromatine le déplacement, voire l'éviction, des nucléosomes.

Une première famille de gènes impliqués dans le remodelage de la chromatine, *SWI/SNF*, a été découverte chez *Saccharomyces cerevisiae* lors de deux cribles génétiques indépendants dont le but était d'identifier des gènes impliqués dans le changement de type sexuel (*mating type*) et la fermentation du sucrose (*SWI* pour *mating type SWItch* et *SNF* pour *Sucrose Non-Fermenting*) (Laurent *et al.*, 1991 ; Peterson et Herskowitz, 1992). Ces gènes codent les protéines du complexe SWI/SNF. Plusieurs familles de complexes de remodelage ont depuis été identifiées principalement chez la levure, ISWI (pour *Imitation of SWItch*), CHD (pour Chromodomaine, Hélicase et DNA binding) et INO80 (pour *INOsitol requiring 80*) (pour revue, voir Clapier et Cairns, 2009). Les complexes de remodelage de la chromatine sont impliqués dans différents processus tels que le « désenroulement » de l'ADN autour des histones, le glissement des nucléosomes, l'éjection des nucléosomes et l'échange de dimères d'histones avec des dimères de leurs variants (par exemple H2A-H2B remplacé par H2A.Z-H2B) (Figure 13).

Ils ont pour propriété principale de modifier l'affinité entre l'ADN et les nucléosomes en utilisant de l'énergie (ATP). Ils contiennent (1) une ou plusieurs protéines reconnaissant certaines marques épigénétiques (*reader*) (par exemple, les complexes de la famille SWI/SNF comportent une protéine à bromodomaine qui reconnaît les lysines acétylées), (2) une ATPase ADN-dépendante qui mobilise l'ADN et élimine le contact entre l'ADN et les histones, (3) une sous-unité qui régule l'activité ATPase, (4) et plusieurs sous-unités qui interagissent avec d'autres facteurs de la chromatine (pour revue, voir Clapier et Cairns, 2009).

Chez la drosophile, le complexe TrxG Brahma (BRM, appellé BRG1 chez les mammifères), homologue du complexe SWI/SNF de la levure, contient l'ATPase BRM, qui reconnaît les lysines acétylées *via* son Bromodomaine. Les protéines Brahma, Osa, Moira, Zeste et SNR1 forment le cœur du complexe et sont associées à d'autres protéines appelées BAP (*Brahma Associated Protein*). Ce complexe faciliterait l'accès des séquences régulatrices aux facteurs de transcription généraux (Kal *et al.,* 2000). Il est requis pour l'initiation de la transcription de la plupart des gènes (Armstrong *et al.,* 2002).

Le complexe INO80, qui intervient dans la réparation de l'ADN; contient la protéine Pho (Pleiohomeotic) chez la drosophile, ou YY1 (Ying Yang 1) chez les mammifères (Morrisson et shen, 2009). La protéine Pho est également présente dans le complexe PcG PhoRC (Klymenko, *et al.,* 2006). Cette protéine cible le complexe dans lequel elle se trouve sur une séquence d'ADN *cis*-régulatrice spécifique et médie ainsi un remodelage local de la chromatine.

Les différentes familles de complexe de remodelage de la chromatine sont globalement très conservées de la levure à l'homme, bien qu'il y ait quelques variations dans leur composition (Voir Tableau en Annexe2, Clapier et Cairns, 2009).

2.7. Les complexes Polycomb et Trithorax.

Les protéines Polycomb et Trithorax forment respectivement les complexes PcG et TrxG qui s'associent à la chromatine et modulent sa structure. Ces complexes sont des acteurs importants du code histone dans la mesure où ils contiennent *Writers*, *Readers* ou même *Erasers* (voir Tableau en Annexe 5).

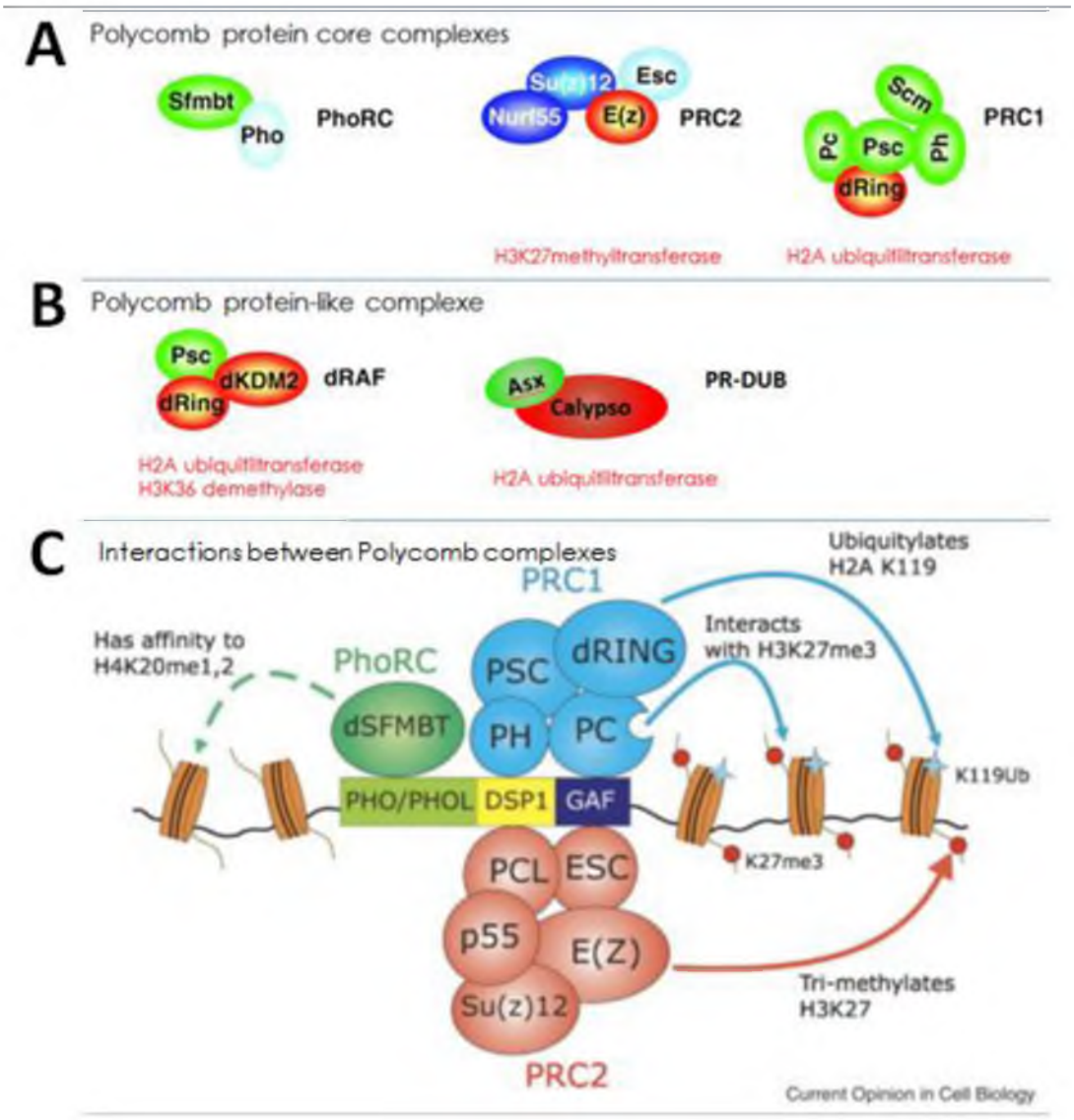


Figure 14 : Les différents complexes PcG et leurs interactions chez la drosophile.
A Protéines du cœur des complexes PhoRC, PRC2 et PRC1.
B Autres complexes PcG (Adapté de Schuettengruber et Cavalli, 2009).
C Interactions entre les complexes PRC1, PRC2 et PhoRC (tiré de Schwartz et Pirotta, 2008).

2.7.1. Les complexes Polycomb (PcG)

Les gènes du groupe *Polycomb* ont initialement été décrits comme des régulateurs négatifs de l'expression des gènes homéotiques (Hox). Le gène *Polycomb,* membre fondateur du groupe, est unique chez la drosophile, alors qu'il existe 5 homologues chez les mammifères (*CBX2*, *4*, *6*, *7* et *8*) (Tajul-Arifin *et al.,* 2003). Leurs mutations induisent des transformations des segments antérieurs en segments plus postérieurs chez la drosophile et chez les vertébrés (Akasaka *et al.,* 1996, Core *et al.,* 1997 ; del Mar Lorente *et al.,* 2000).

Les complexes PcG maintiennent la répression de leurs gènes cibles durant le développement (pour revue, voir Martinez et Cavalli, 2006). Les complexes Polycomb principaux (Figure 14A) sont PRC1 (*Polycomb Repressive Complex 1*, Francis *et al.,* 2001 ; Saurin *et al.,* 2001), PRC2 (*Polycomb Repressive Complex 2,* Ng *et al.,* 2000) et PhoRC (*Pho Repressive Complex* Klymenko, 2006). Chez la drosophile, le cœur du complexe PRC1 (PCC : *Polycomb core complex*) contient quatre protéines : Polycomb (PC) (*reader* qui reconnaît la marque H3K27me3 *via* son chromodomaine), Posterior Sex Combs (PSC), Polyhomeotic (PH), et dRING (*Writer* qui ubiquitine la lysine 119 de l'histone H2A). De nombreuses autres protéines co-purifient avec ce complexe (Francis *et al.,* 2001; Saurin *et al.,* 2001). Le complexe PRC2 comprend la méthyltransférase E(Z) (*Writer* qui appose la marque H3K27me3), Su(Z)12, et Extra sex combs (ESC), ou son paralogue, ESCL (Ng *et al.,* 2000). Le complexe PhoRC (Klymenko, 2006) contient la protéine de liaison à l'ADN Pho, homologue du facteur YY1 des mammifères, ainsi que la protéine dSfmbt, qui se lie à H3K9me1/2 et H4K20me1/2 (*reader*).

D'autres complexes Polycomb ont été purifiés plus récemment (Figure 14B). Le complexe PR-DUB (*Polycomb Repressive DeUBiquitinase*) contient la protéine Calypso (*eraser* qui déubiquitine la lysine 119 de l'histone H2A) et la protéine ASX (Scheuermann *et al.,* 2010). Le complexe dRAF (dRing-associated factors) comprend dRING, associée à la protéine PSC (co-activateur de dRING) et à la déméthylase dKDM2 (*eraser* qui déméthyle H3K36me2). *In vivo*, dKDM2 partage de nombreuses cibles transcriptionnelles avec Polycomb et contrebalance l'effet des méthyltransférases TRX et ASH1 (Lagarou *et al.,* 2008).

Les différents complexes PcG ont des fonctions complémentaires (Figure 14C). Ils maintiennent l'état réprimé de leurs gènes cibles. Bien que le cœur de ces complexes soit très conservé, la caractérisation des complexes PcG chez plusieurs organismes montre une très grande hétérogénéité des protéines secondaires associées. Ces résultats suggèrent qu'il n'existe pas de complexe PcG type et que ces derniers sont probablement beaucoup plus hétérogènes et dynamiques que cela n'a été décrit jusqu'à présent. Leur composition pourrait varier d'un type cellulaire à l'autre et au cours du développement.

2.7.2. Les complexes Trithorax (TrxG)

Le gène éponyme du groupe, *trithorax* (*trx*), a été isolé à partir d'un mutant spontané dans lequel certains des segments sont transformés en segments plus antérieurs (Ingham, 1983 et 1998), reflétant une perte de fonction de certains gènes homéotiques. Deux autres gènes, *ash1* et *ash2* (*absent, small or homeotic 1 et 2*), ont été isolés car leurs mutants présentaient des phénotypes semblables. Ces gènes forment le groupe trithorax (trxG). L'association de plusieurs mutations de gènes trxG augmente les phénotypes trxG. Par ailleurs, les mutations des gènes trxG suppriment les phénotypes des mutants PcG : ces deux familles de gènes sont antagonistes (Shearn, 1989 ; LaJeunesse et Shearn, 1995 ; Tripoulas *et al.,* 1996). Ainsi, d'autres gènes trxG ont été isolés pour leur qualité de suppresseurs de mutations des gènes PcG (Kennison et Tamkun, 1988).

Les protéines TrxG forment des complexes multimériques qui modifient les histones comme les complexes TRX ou TAC1, ASH1 et ASH2 (voir Tableau en Annexe 5), ou remodèlent la chromatine comme le complexe BRM (voir remodelage de la chromatine).

Chez la drosophile, le complexe TAC1 (*Trithorax Acetylation Complex 1*) contient les protéines TRX (homologue MLL chez l'homme) (*Writer* qui méthyle la lysine 4 de l'histone H3), dCBP, également appelée Nejire (*Writer* qui acétyle H3K18 et H3K27) et Sbf1 (SET domain binding factor 1 qui stabilise la fixation du complexe à la chromatine) (Petruk *et al.,* 2001). La composition des complexes MLL chez les mammifères est différente de celle des complexes TRX chez la drosophile.

Le complexe ASH1 empêche l'action des complexes PcG en maintenant une conformation permissive de la chromatine. La protéine ASH1 (*Writer* qui triméthyle H3K4, et H3K36) et la protéine dCBP ou Nejire forment le complexe ASH1 (Papoulas *et al.*, 1998 ; Bantignies *et al.*, 2000). Chez la drosophile comme chez l'homme, le complexe ASH2 comprend la protéine ASH2 (*Writer* qui triméthyle H3K4) et d'autres protéines dont Sin3a (désacétylase) et HCF (Host Cell Factor) (Papoulas *et al.*, 1998 ; Beltran *et al.*, 2007). La protéine ASH2 est également trouvée dans d'autres complexes, associée à TRX, TRR (Trithorax-related) et SET1 (pour revue, voir Schuettengruber *et al.*, 2011).

2.7.3. Les éléments de maintien de la mémoire épigénétique

Chez la drosophile, les complexes TrxG se fixent à des séquences d'ADN appelées TRE (*Trithorax Response Elements*). Ces éléments coïncident en grande partie avec des PRE (*Polycomb Response Elements*) et sont ainsi appelés PRE/TRE (*Polycomb or Trithorax Response Elements*) (Bloyer *et al.*, 2003). Fonctionnellement, les PRE étant indissociables des TRE, il a été proposé de renommer les PRE/TRE *Maintenance Elements* (ME), et de façon générique, les protéines PcG et TrxG qui s'y fixent Maintenance Proteins (MP) {(Brock et Fischer, 2005). Différentes protéines de liaison à l'ADN comme par exemple DSP1 (*Dorsal Switch Protein 1*), GAF (*GAGA Associated Factor*), Pho et Zeste se fixent sur les ME et sont impliquées dans le recrutement des complexes PcG et TrxG. Les ME sont situés dans les régions *cis*-régulatrices de leurs gènes cibles, et parfois localisés à plusieurs centaines de kb des promoteurs. Les différents ME identifiés n'ont pas de similarité de séquence mais ils sont enrichis en séquences de fixation de DSP1, GAF, Pho, PhoL (Pleiohomeotic-like), Zeste, GRH (GrainyHead) et PSQ (PipSQueak) (Ringrose et Paro, 2007; pour revue, voir Grimaud *et al.*, 2006, Beck *et al.* 2010).

Les PRE/TRE n'ont été que rarement identifiés chez les mammifères (Sing *et al.*, 2009), chez lesquels il semble que les ilôts CpG jouent un rôle dans le recrutement des complexes PcG et TrxG. En effet, les îlots CpG non méthylés seraient reconnus par les protéines MLL, et au contraire, les ilôts CpG méthylées serviraient de plateforme de recrutement des complexes PcG (Mendenhall *et al.*, 2010).

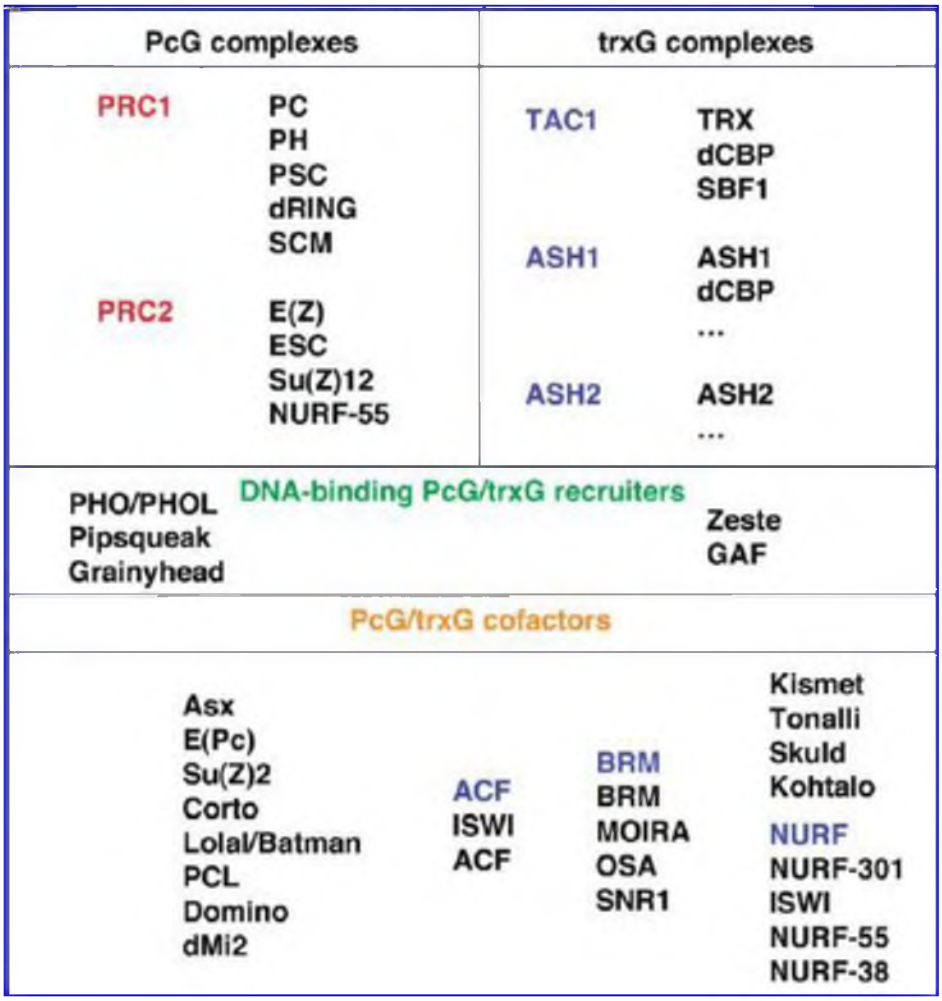


Figure 15 : Nouvelle classification des protéines impliquées dans les fonctions PcG et TrxG

Tiré de Grimaud *et al.*, 2006.

2.7.4. Les Enhancers de Trithorax et Polycomb ou ETP

Au cours d'un crible génétique visant à isoler des gènes dont les mutations aggravent (*enhancers*) ou suppriment (*suppressors*) les phénotypes d'une mutation perte de fonction du gène trxG *ash1*, Gildea et ses coll. ont mis en évidence une nouvelle classe de gènes se comportant génétiquement à la fois comme des gènes PcG et comme des gènes trxG (Gildea *et al.,* 2000). En effet, de manière inattendue, plusieurs gènes isolés dans ce crible et initialement classés parmi les gènes PcG aggravent le phénotype du mutant *ash1*. Ce sont les gènes *Asx* (*Additional sex combs*), *Scm* (*Sex combs on midleg*), *E(Pc)* (*Enhancer of Polycomb*), *Psc* (*Posterior sex combs*) et *Su(Z)2* (*Suppressor of Zeste 2*). Les auteurs de cette étude ont proposé d'appeler cette famille de gènes *Enhancers of Trithorax and Polycomb* ou ETP.

Les mutants des ETP présentent des phénotypes similaires à ceux des mutants PcG et trxG. D'autres gènes, préalablement définis comme PcG ou trxG, ont été reclassés parmi les ETP en se basant sur ces mêmes critères (Figure 15). C'est le cas de *pho* (Mohd-Sarip *et al.,* 2002), *GAF* (*GAGA Factor*, Horard *et al.,* 2000 ; Bejarano et Busturia, 2004), *dsp1* (Decoville *et al.,* 2001; Salvaing *et al.,* 2006), *CAF1/p55* (Anderson *et al.,* 2011), *dHSF* (Rodriguez-Jato *et al.,* 2011) et *corto* (Salvaing *et al.,* 2003).

3 La transcription

Le code histone et la conformation de la chromatine qui en découle jouent un rôle prépondérant dans la régulation de l'expression des gènes. En effet, la structure locale de la chromatine influence l'activité de la machinerie transcriptionnelle. Pour comprendre ces mécanismes, je décrirai ici la machinerie transcriptionnelle et son fonctionnement.

3.1. Les ARN polymérases.

L'enzyme clé de la transcription est l'ARN polymérase. Dans les cellules eucaryotes, on dénombre trois types d'ARN polymérases (ARN Pol).

L'ARN Pol I est composée de 8 à 14 sous-unités. Elle transcrit l'ADN codant les ARN ribosomiques (ARNr) à l'exception de l'ARNr 5S, transcrit par l'ARN polymérase III. La transcription de l'ADNr est confinée au nucléole, lieu de l'assemblage des pré-ribosomes, où plusieurs centaines de copies des gènes d'ADNr sont présentes. L'ARN Pol I produit un grand transcrit d'ARNr qui est ensuite clivé par des snARN en ARNr 18S, 5,8S et 28S (pour revue chez les mammifères, voir Russell J, 2005).

L'ARN Pol II est composée de 12 sous-unités formant le cœur d'un complexe holoenzymatique de 550 kDa. Elle catalyse la transcription des gènes codants (ARNm) ainsi que de nombreux gènes non codants (ARNnc) tels que des précurseurs de snARN et de micros ARN. L'ARN polymérase II de la levure comprend 12 sous-unités, nommées RPB1 à RPB12, de taille comprise entre 6 et 220 kDa.

Une particularité du complexe holoenzymatique de l'ARN pol II est le domaine C-terminal de la plus grande sous-unité : RPB1. Ce domaine, très conservé entre espèces et communément appelé CTD (*C-Terminal Domain*), est constitué de multiples répétitions (52 chez l'homme, 43 chez la drosophile, 26 chez la levure) d'un heptapeptide de séquence consensus YSPTSPS (Hampsey et Reinberg, 2003).

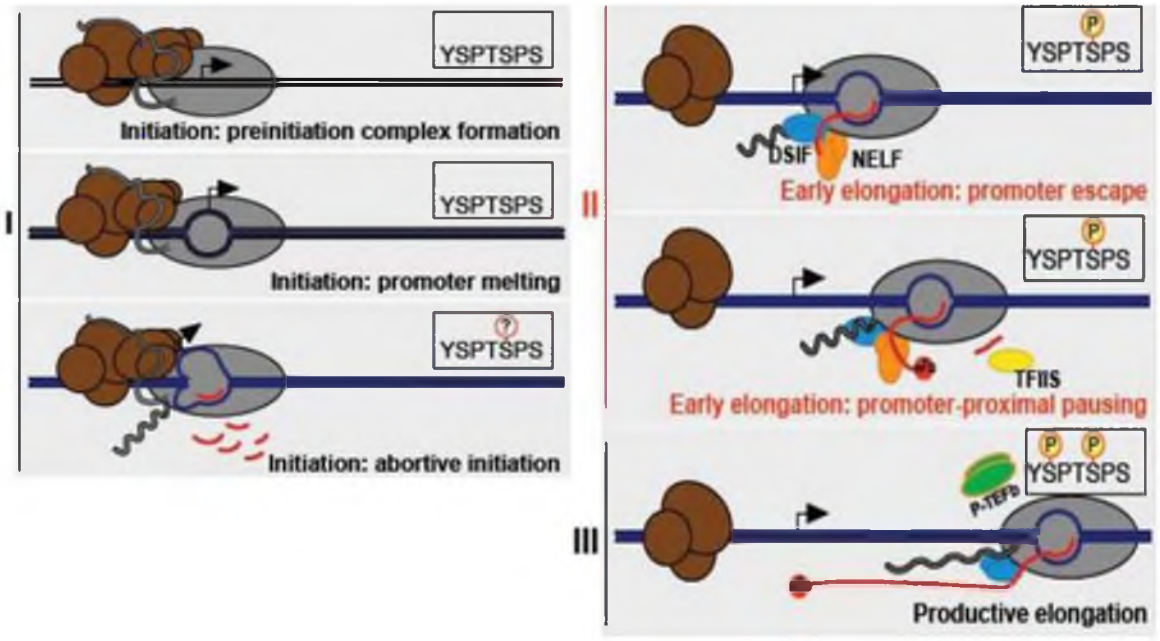


Figure. 16 : Etapes et facteurs impliqués dans la génération d'un complexe d'élongation productive

L'ARN pol II est représentée en gris, avec le domaine CTD saillant de la plus grosse sous-unité RPB1. L'ADN est indiqué en bleu foncé et l'ARN en rouge. Le statut de phosphorylation du CTD est représenté dans l'insert à droite.

I , TFIID se fixe sur la boîte TATA (environ 10nt avant le TSS) *via* TBP, créant un angle dans la double hélice d'ADN. Une boucle d'ADN s'enroule autour de l'ARN polymérase II et du domaine C-terminal de TFIIB. L'écart entre la boîte TATA et le TSS permet le positionnement favorable de l'ARN polymérase. Le domaine N-terminal de TFIIB place l'ADN dans une position adaptée pour entrer dans le site actif de l'ARN polymérase II. TFIIE rejoint le complexe et recrute TFIIH (complexe contenant, entre autres, le complexe CDK7 (*Cyclin Dependant Kinase 7*) / Cycline H et une ADN hélicase) qui crée une tension en surenroulant l'ADN. Cette tension ouvre la double hélice d'ADN et forme la bulle de transcription. TFIIF se fixe au brin transcrit de l'ADN simple brin ainsi formé et maintient la bulle ouverte. Le simple brin non transcrit de l'ADN peut ainsi entrer dans le site actif de l'ARN polymérase. Stabilisé par le complexe Médiator, TFIIH phosphoryle les sérines 5 et 7 du CTD de la sous-unité RPB1 de l'ARN polymérase II (Buratowski, 2009), ce qui va permettre la transcription de 2 à 3 nucléotides. Cette structure est encore très instable et peut facilement avorter (Liu X, 2011). Lorsque le transcrit naissant atteint une taille de 7 nucléotides, ce qui correspond à la sortie du promoteur, sa taille provoque l'effondrement de la bulle de transcription (Pal *et al.,* 2005). Ce phénomène est appelé « promoter clearance » ou « promoter escape ». TFIID reste fixé au promoteur alors que TFIIB, E et H quittent le complexe PIC et TFIIF s'associe à la polymérase qui entre en élongation. (Zawel *et al.,* 1995).

II , P-TEFb est recruté durant l'élongation précoce et phosphoryle Spt5 (sous-unité de DSIF), ce qui libèrerait NELF (facteur négatif de l'élongation).

III , P-TEFb induit le relargage des facteurs de pause en phosphorylant la sérine 2 du CTD et permet ainsi l'entrée en élongation productive.

Adapté de Nechaev and Adelman, 2011

Le CTD est une plateforme d'interactions protéiques et un substrat pour de nombreuses kinases. En effet, il peut être phosphorylé sur les sérines 2, 5 et 7 (RNAPIIS2p, -S5p, -S7p). Ces phosphorylations jouent un rôle majeur dans la régulation de l'activité de l'ARN polymérase II. L'analyse de la dynamique de la phosphorylation du CTD sur les gènes révèle un gradient de phosphorylation avec un ratio S5p/S2p élevé quand la polymérase est en 5' du gène et faible quand elle se trouve en 3' (Komarnitsky *.et al.,* 2000). Les protéines impliquées dans des évènements de transcription précoce, comme celles de la coiffe, fixent préférentiellement la S5p du CTD, alors que les protéines impliquées dans les évènements tardifs de la transcription, comme la terminaison, fixent préférentiellement la S2p du CTD (Ahn *et al.,* 2004). Le rôle de la phosphorylation de la S7 n'est pas clairement établi, son profil suit généralement celui de la S5, mais sa mutation ne modifie la transcription que de quelques ARN non codants (Kim *et al.,* 2010). De plus, au sein des répétitions de l'heptapeptide composant le CTD, la S7 est l'acide aminé le moins conservé. Chez l'homme, elle est présente dans seulement 52% des heptapeptides (contre 83% et 100% pour S2 et S5 respectivement), et chez la drosophile, elle n'est présente que dans 23% des heptapeptides (contre 82% pour S2 et S5) (Chapman *et al.,* 2008).

D'autres facteurs généraux de la transcription font également partie du complexe holoenzymatique ARN Pol II, ce sont les TFIIX (TFFIIA à TFIIH), chacun potentiellement composé de plusieurs protéine, par exemple, TFIID est composé des sous-unités TBP et de protéines TAF cibles spécifiques. Les complexes Mediator sont des complexes multi-protéiques de grande taille (de l'ordre du MDa) qui servent d'adaptateur entre les activateurs transcriptionnels et la machinerie transcriptionnelle (pour revue, voir Rachez et Freedman, 2001). Les protéines faisant partie du complexe Mediator, appelées SRB (*Suppressors of RNA polymerase B*), ont été caractérisées par Koleske et Young, en 1994 (pour revue, voir Myers et Young, 1998).

<u>L'ARN Pol III</u> transcrit les ARNr 5S, les ARN de transfert (ARNt) et d'autres petits ARN non codants dans tous les types cellulaires. Elle interagit avec beaucoup moins de protéines régulatrices que l'ARN Pol II. Cependant, il semble que les gènes d'ARNt ne soient pas tous exprimés de façon ubiquitaire, mais régulés de façon tissu-spécifique (pour revue, voir White, 2011). Ainsi, la régulation de l'ARN Pol III est fortement liée à la croissance et au cycle cellulaire.

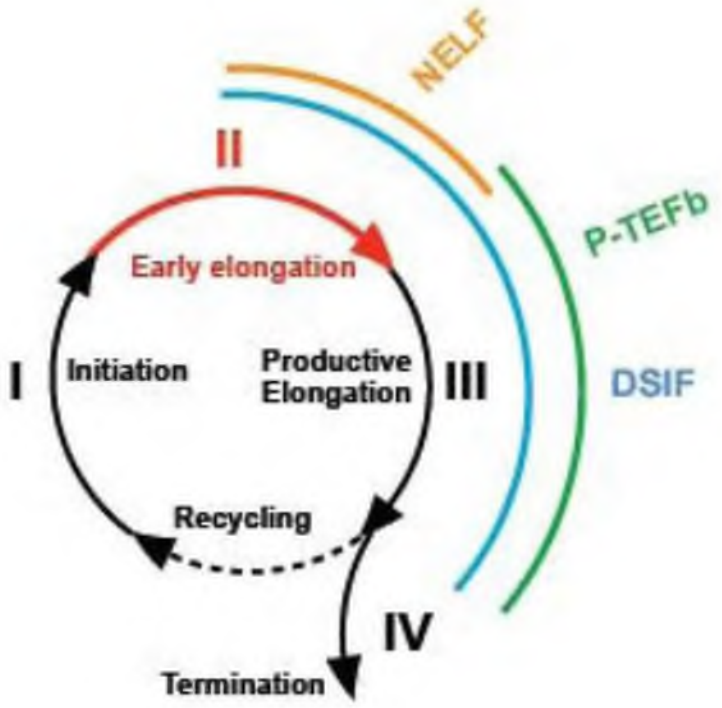


Figure. 17: Vue schématique du cycle de transcription de l'ARN polymérase II.

Les étapes « conventionnelles » du cycle sont montrées en noir, et l'élongation précoce en rouge. Les pointillés représentent la capacité de l'ARN polymérase à réinitier la transcription sur le même gène. Les facteurs impliqués dans la régulation de la transition entre l'élongation précoce et l'élongation productive sont montrés en couleur, avec des arcs indiquant les étapes auxquelles les dits facteurs sont associés avec le complexe Pol II. Adapté de Nechaev and Adelman, 2011

3.2. Le cycle de transcription

Le cycle de transcription de ces trois ARN polymérases comprend trois étapes : l'initiation, l'élongation, la terminaison. Au cours de l'initiation, le complexe de pré-initiation de la transcription (ou PIC) et différents facteurs de transcription sont mis en place de façon séquentielle sur le promoteur du gène. L'élongation correspond à la synthèse du transcrit. Enfin, la terminaison met fin à la production du transcrit et désassemble le complexe ARN Polymérase. L'initiation et l'élongation sont hautement régulées. Une phase de pause intervient très souvent juste après l'initiation. Les facteurs associés aux trois polymérases dans les différentes étapes de la transcription sont pour certains spécifiques et pour d'autres communs, néanmoins, le principe de la transcription étant globalement le même, je me baserai sur l'exemple de l'ARN polymérase II.

3.2.1. L'initiation

La transcription commence avec le recrutement et l'assemblage de l'ARN polymérase et de différents facteurs de transcription sur le promoteur du gène pour former le PIC. Le PIC minimal de l'ARN polymérase II est composé de la polymérase hypophosphorylée et des facteurs TFIIA, TFIIB, TFIID, TFIIE, TFIIF et TFIIH. Le complexe TFIID s'assemble séquentiellement, il est lui-même composé de TBP (*TATA box Binding Protein*) et de 15 TAF différents (*TBP Associated Factors*). Cependant d'autres facteurs de transcription peuvent intervenir. Parmi eux, CTF/NF1 (CCAAT-binding transcription factor/NFIC nuclear factor I) se lie à la boîte CAAT (70 à 80 nt en amont du point de départ de la transcription ou TSS (*Transcriptional Start Site*), et Sp1 se lie aux boîtes GC : ce sont des trans-activateurs transcriptionnels. De plus, le complexe Mediator se fixe aux séquences *enhancers* et forme une boucle avec l'ADN polymérase non phosphorylée pour entrer en contact avec la boîte TATA *via* TBP (Buratowski, 2009).

En 2007, Kornberg a proposé un modèle d'assemblage séquentiel du PIC sur les promoteurs des gènes ayant une boîte TATA, ce modèle est résumé sur la Figure 16, I.

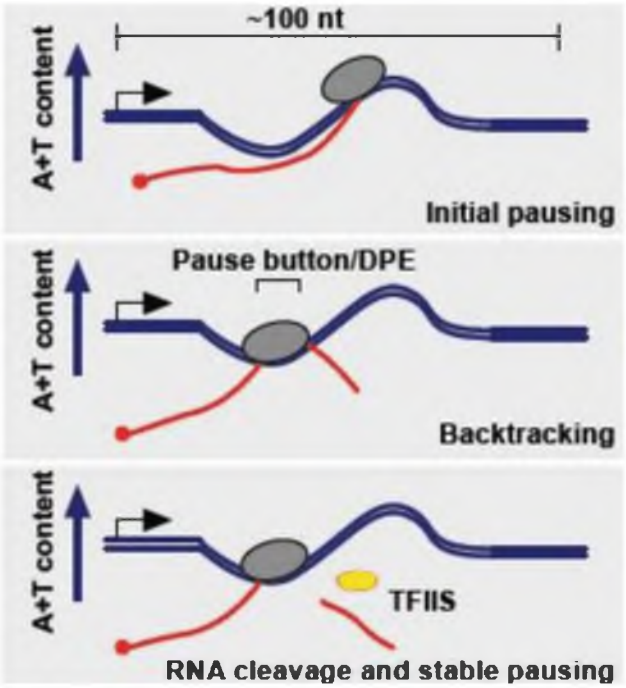


Figure 18 : Mécanisme de *Backtracking*.

Modèle d'un mécanisme de pause à proximité du promoteur en deux étapes. L'axe vertical représente le contenu en A-T. L'ARN synthétisé est en rouge. La transcription d'une région riche en A-T induit la pause (panneau du haut). L'ARN polymérase recule alors jusqu'à ce qu'elle rencontre une séquence riche en G-C qui contient le motif DPE (*downstream promoter element*) (panneau du milieu). Le facteur de transcription TFIIS (en jaune) intervient dans le clivage de l'extrémité 3' de l'ARN naissant (panneau du bas). Le clivage de l'ARN par TFIIS est nécessaire mais pas suffisant pour permettre la reprise d'une élongation productive. Adapté de Nechaev et Adelman, 2011.

3.2.2. L'élongation précoce

La transition entre l'initiation et l'entrée en élongation est accompagnée d'un échange très contrôlé de facteurs (Figure 16) qui est en partie orchestré par la phosphorylation du CTD de RPB1 (Figure 16, II).

L'élongation précoce est une étape lente et peu efficace. Le complexe d'élongation précoce montre une forte tendance à s'arrêter dans les 50 premières paires de bases après le TSS. P-TEFb (*Positive Transcriptional Elongating Factor b*), hétérodimère de la kinase Cdk9 (*Cyclin dependent kinase 9*) et de la Cycline T (Peng *et al.,* 1998), s'associe avec l'ARN polymérase II. Ceci n'est pas suffisant pour induire une élongation effective, l'effet positif de P-TEFb étant contrebalancé par des facteurs négatifs. Ces facteurs sont l'hétérodimère DSIF (*DRB Sensitivity Inducing Factor*), composé de SPT4 et SPT5, et le complexe négatif d'élongation NELF (*Negative Elongation Factor*). Les gènes de la famille *SPT* (*Suppressor of Ty*) ont été identifiés par un crible génétique qui visait à identifier des mutations restaurant l'expression de gènes éteints par l'insertion du rétrotransposon *Ty* chez *Saccharomyces cerevisiae* (Yamaguchi *et al.,* 2001). DSIF est nécessaire à l'association de NELF avec le complexe d'élongation précoce, et la présence de ces deux complexes inhibe l'élongation de la transcription (Renner *et al.,* 2001). La quantité et l'activité de P-TEFb sont contrôlées par sa séquestration dans un complexe inactif avec la protéine HEXIM et l'ARN non codant 7SK (Peterlin *et al.,* 2006).

P-TEFb peut être recruté directement par des activateurs de la transcription tels que NFkB et c-Myc (Barboric *et al.,* 2001 ; Rahl *et al.,* 2010), ou par la protéine à bromodomaine Brd4 (Ai *et al.,* 2011). Le recrutement de P-TEFb est un point crucial pour l'entrée en élongation productive car il induit le relargage des facteurs de pause. Par exemple, P-TEFb phosphoryle SPT5, ce qui libère NELF, et il phosphoryle la sérine 2 du CTD. Cette modification induit un changement conformationnel qui favorise les échanges de facteurs interagissant avec l'ARN polymérase II (Peterlin *et al.,* 2006).

L'ARN naissant est coiffé durant la phase d'élongation précoce. SPT5 active l'enzyme de *capping* (Wen *et al.,* 1999). En effet, quand le transcrit naissant atteint environ 20 nucléotides, son extrémité 5' est modifiée par l'addition d'un résidu 7-méthyl-guanosine appelé coiffe (Rasmussen et Lis, 1993).

Figure 19: *Pause button* (PB)

Séquence consensus du motif *Pause Button* (PB), défini *in silico* à partir des gènes en pause. Adapté de Hendrix *et al.*, 2008.

Cette modification est critique pour la stabilité des ARN, leur prise en charge ultérieure, leur export hors du noyau et leur traduction en protéines.

3.2.3. La pause transcriptionnelle

Un promoteur en pause transcriptionnelle est fixé par l'ARN polymérase (dont le CTD est phosphorylé sur la sérine 5) entre 30 et 50 nucléotides après le TSS, est associé à un transcrit naissant coiffé, et présente au moins 10 fois plus de polymérase à proximité du promoteur que dans la moyenne du corps du gène. On parle aussi d'index de pause qui est le rapport entre la quantité de polymérase dans la région proximale du promoteur et la quantité de polymérase sur l'ensemble du gène (Zeitlinger *et al.,* 2007 ; Muse *et al.,* 2007).

En anglais la terminologie concernant la pause transcriptionnelle est plus précise, les différents états « *poised, backtraked, paused* » sont décrits ci-après. Ces différents états sont regroupés sous le terme générique de « *stalled* », qui se réfère à l'engagement d'un promoteur dans la transcription avec un blocage de l'élongation productive (Arndt and Kane, 2003).

On dispose de quantités croissantes d'informations sur la pause transcriptionnelle. En effet, les données de ChIPseq (*Chromatin Immunoprécipitation and sequencing*) montrent une sur-représentation de l'ARN polymérase, ainsi que de TFIID et de marques épigénétiques activatrices en position 5' de gènes qui ne produisent pas de transcrits de taille complète et subissent donc une transcription abortive (Kim TH, *et al.,* 2005). Plusieurs hypothèses peuvent expliquer la présence d'ARN polymérase sur le promoteur :

(1) L'ARN polymérase s'associe et se dissocie de l'ADN de façon dynamique, de sorte que les données de ChIPseq représenteraient l'occupation moyenne (pour revue, voir Fuda *et al.,* 2009; Gilchrist *et al.,* 2009). En absence de données complémentaires de RNAseq, ces données reflètent la présence d'ARN polymérase II à proximité d'un promoteur mais n'établissent pas de relation avec le cycle transcriptionnel, on emploie en anglais le terme de « *poised* ».

(2) Plus précisément, il a été décrit que la polymérase se fixe à l'ADN et commence la transcription puis recule le long de l'ADN par un effet de « *backtracking* » jusqu'à une

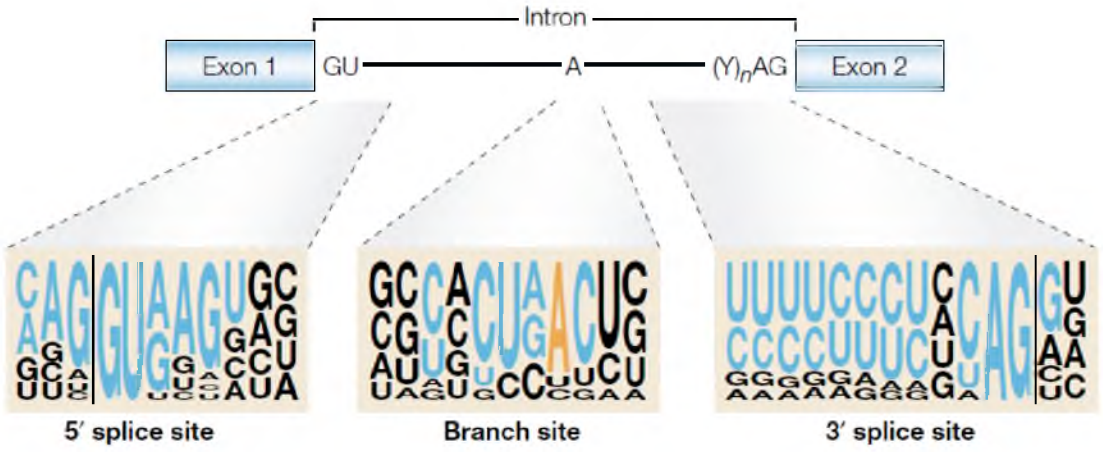


Figure 20 : Séquences consensus des sites donneur et accepteur de l'épissage alternatif.

Représentation d'un site d'épissage avec le site donneur en 5', le site de branchement au centre et le site accepteur en 3'. Adapté de Cartegni *et al.*, 2002.

séquence appelée DPE (*Downstream Promoter Element*) (Figure 18). Cette séquence de 7nt a été décrite en 1996 par Burke et Kadonaga chez la drosophile. Elle correspond à un site de fixation de TFIID environ 28nt après le TSS (Figure 19). On parle alors de polymérase "*backtracked*". Sans intervention de TFIIS, qui clive le transcrit naissant en 3' de la polymérase, la structure (polymérase, ARN, ADN) est instable et la polymérase peut se dissocier. Plus récemment, des études de séquençage à haut débit ont mis en évidence une séquence, préférentiellement associée aux gènes en pause chez la drosophile, située 28 à 32 nt après le TSS. Elle a été nommée *pause button* et correspond à la séquence DPE initialement caractérisée par Burke et Kadonaga en 1996.

(3) Enfin, la polymérase peut être complètement engagée, liée de façon stable à l'ADN, stabilisée après avoir produit un transcrit naissant de 30 à 50 nucléotides, et en attente d'un stimulus pour repartir en élongation productive (Nechaev *et al.,* 2010). Ce type de pause, appelée « *paused* » en anglais, peut être également appelé pause constitutive. La pause constitutive permettrait l'induction rapide et efficace de la transcription des gènes. Longtemps considérée comme un type de régulation particulière des gènes de stress, comme les gènes de choc thermique, elle semble être un processus général au cours du développement, ainsi que des expériences de séquençage à haut débit des transcrits naissants (*GROseq : Global Run On sequencing*) l'ont montré (Core LJ *et al.,* 2008 ; Nechaev S *et al.,* 2010).

La première preuve de pause transcriptionnelle (*stalled*) a été donnée en 1986 par David Gilmour et John Lis chez la drosophile sur le gène de choc thermique *hsp70* avant choc thermique. L'ARN polymérase II est en pause constitutive en aval du promoteur de *hsp70*. Le choc thermique engendre une cascade d'évènements responsables de l'activation de l'ARN polymérase qui entre en élongation productive et qui produit rapidement une grande quantité de transcrits du gène *hsp70* (Rougvie AE et Lis JT, 1988). D'autres gènes soumis à la pause transcriptionnelle, comme *c-Myc* chez l'homme et les gènes précoces d'HIV (*Human Immunodeficiency Virus*), seraient également soumis à une pause constitutive plutôt qu'à un phénomène de *backtracking* (Krumm *et al.,* 1992 ; Kao *et al.,* 1987). Chez la drosophile, il a récemment été montré qu'environ un tiers des gènes serait soumis à une pause transcriptionnelle à proximité du promoteur.

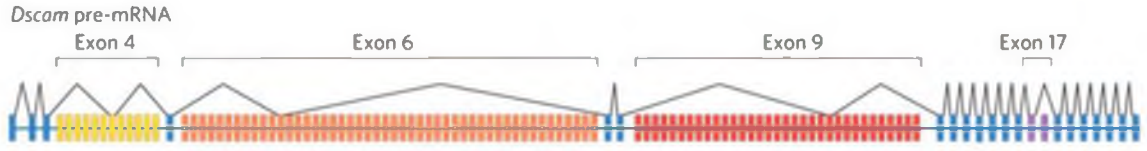


Figure 21 : exemple du pre-ARNm du gene *Dscam* chez *Drosophila melanogaster*

Dscam est représenté avec les exons constitutifs en bleu, et les exons alternatifs des groups exons 4, 6, 9 et 17, en jaune, orange, rouge et violet, respectivement. Le patron d'épissage d'une des isoforms de l'ARNm est montré en exemple. Adapté de Nielsen et Graveley, 2010.

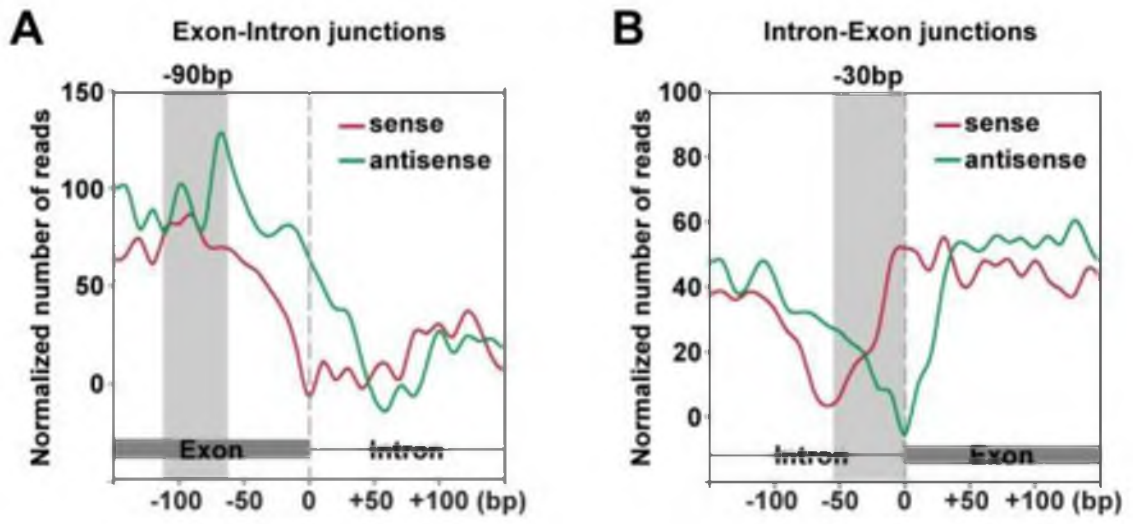


Figure 22 : Enrichissement de l'ARN polymérase II du côté de l'exon à la jonction exon-intron.

- **A.** La zone en gris montre la région enrichie en ARN polymérase II par ChIPseq chez la drosophile, centrée -90nt en amont de la jonction exon-intron.
- **B.** La zone en gris indique que l'ARN polymérase II est sous-représentée dans une région centrée -30nt en amont de la jonction intron-exon. Adapté de Yin *et al.*, 2011.

Ces gènes seraient impliqués dans le développement et la réponse à divers stimuli, suggérant que la pause de l'ARN polymérase durant l'élongation précoce jouerait un rôle important dans le contrôle rapide et précis de l'expression des gènes (Nechaev S, Adelman K, 2008).

3.2.4. L'épissage alternatif

L'élimination des introns du pré-ARNm et la ligation des exons constituent l'épissage. L'épissage est réalisé au cours de la transcription par le spliceosome, un complexe d'environ un mégadalton qui comprend 5 petits ARN nucléaires non codants (*snARN U1* à *U5*) assemblés de façon stable avec des protéines PRPF spécifiques (*pre-mRNA processing factor*), formant ainsi les *small nucleolar RiboNucleoProtein* ou snRNP (pour revue, voir Will *et al.,* 2011 ; Oesterreich *et al.,* 2011). A la jonction exon-intron, dans l'intron, se trouvent des séquences consensus servant à l'excision et au raboutage des exons par les complexes EJC (*Exon Junction Complex*). Ces sites sont conservés et sont appelés : site donneur d'épissage pour celui qui est situé en 5' de la liaison (consensus: AG\GUA-AGU; représenté par l'extrémité, GU), et site accepteur d'épissage pour celui qui est situé en 3' de la liaison (consensus: (C)CAG/G; représenté par l'extrémité, AG) (Figure 20). A une trentaine de nucléotides en amont du site accepteur, le site de branchement du complexe snRNP est constitué par une adénine localisée dans une séquence riche en pyrimydines. Les nucléotides entourant les dinucléotides donneur (GU) et accepteur (AG) varient ; ceci crée des sites d'épissage forts (séquence consensus très conservée) ou des sites d'épissages faibles (séquence consensus peu conservée) et permet, le cas échéant, l'épissage alternatif (Cartegni *et al.,* 2002).

L'épissage alternatif est le processus par lequel plusieurs ARNm sont générés à partir d'un seul et même gène. On pense qu'au moins 70 % des quelques 30 000 gènes qui composent le génome humain peuvent subir un épissage alternatif et que, en moyenne, un gène donnerait naissance à 4 variants d'épissage. En combinant les possibilités d'épissage du génome humain, 100 000 protéines différentes pourraient être produites. Durant l'épissage alternatif, les exons sont soit conservés dans l'ARNm, soit ciblés en vue de leur élimination. Ceci produit, à partir d'un seul pré-ARNm, des ARNm variés composés de différents exons. Le cas le plus extrême décrit chez la drosophile est celui d'un gène d'un

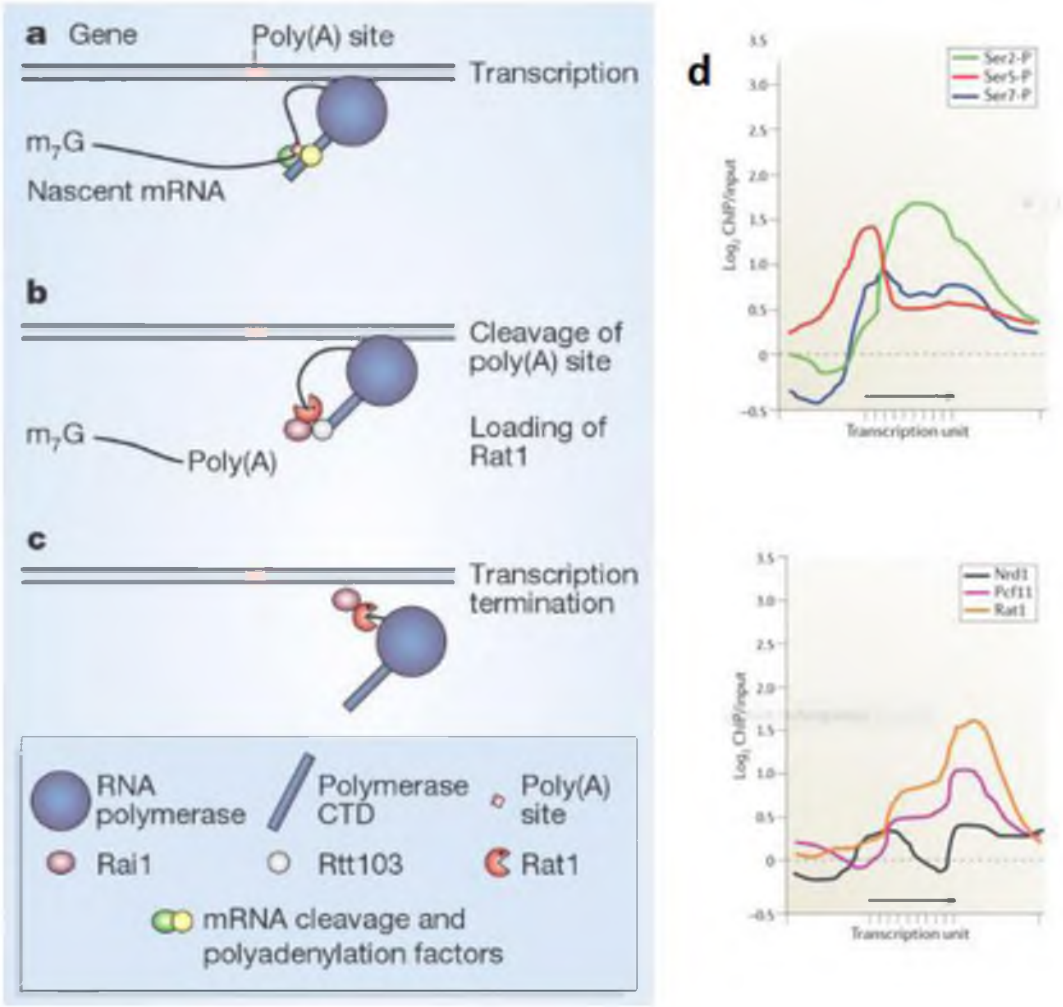


Figure 23 : Modèle torpedo et localisation de la phosphorylation du CTD de l'ARN polymérase II et de facteurs de terminaison

A (a,b,c) Modèle torpedo.

B En fin de production de l'ARNm, qui porte une coiffe (m7G) en 5' et une queue polyA en 3', la protéine Rtt103 fixe le CTD de la polymérase phosphorylée sur la sérine 2 et s'associe à l'exonucléase Rat1 (Xrn2 chez l'homme) et à son co-facteur Rai1. Après le clivage du site polyA, l'ARNm est libéré, Rat1 se fixe sur l'extrémité 5' du reliquat post-polyA de l'ARNm

C La partie libre de l'ARN est dégradée jusqu'à atteindre la polymérase (Kim H *et al.,* 2010).

Tiré de Tollervey, 2004 .

D Chez la levure, distribution moyenne de l'ARN polymérase II par ChIP-chip pour les longs ARNm codants et fortement exprimés (>2000nt, 128 gènes). Les unités de transcription du TSS au signal de polyA, ainsi que 1kb de séquences 3' et 5', sont indiqués par des flèches et divisés en 10 intervalles égaux. Adapté de Kuehner *et al.,* 2011.

récepteur impliqué dans le guidage axonal : *Dscam* (*Down Syndrome Cell Adhesion Molecule*) (Schmucker *et al.,* 2000). Il présente 95 exons alternatifs organisés en 4 groupes d'exons mutuellement exclusifs (un seul exon de chaque groupe est épissé par isoforme de l'ARNm) (Figure 21). Ces quatre groupes sont nommés exons 4, 6, 9 et 17, et contiennent respectivement 12, 48, 33 et 2 exons variables. En combinaison avec les 20 exons constitutifs de *Dscam*, cette structure permettrait la synthèse de 38 016 ARNm différents à partir d'un seul pré-ARNm. Chaque neurone présente une seule protéine Dscam à sa surface (Wojtowicz *et al.,* 2004).

La progression de la transcription n'est pas uniforme. Ainsi, des expériences de ChIPseq montrent que l'ARN polymérase n'est pas distribuée uniformément, elle apparaît concentrée dans les exons, avec un pic plus important centré 90 nt en amont de la jonction exon-intron (transcription ralentie) (Figure 22A). La quantité d'ARN polymérase détectée chute fortement lorsque la machinerie de transcription traverse un intron (transcription rapide). La région 30 nt en amont de la liaison intron-exon est dépourvue d'ARN polymérase, qui s'accumule du côté de l'exon (transcription ralentie) (Figure 22B) (Yin *et al.,* 2011). Ce profil de distribution de l'ARN polymérase suit la distribution des nucléosomes autour de la jonction exon-intron chez la drosophile (Schwartz *et al.,* 2009), impliquant une influence de la structure de la chromatine sur la vitesse d'élongation de la transcription. Ces données supportent l'idée qu'une densité plus grande en nucléosomes dans les exons ralentirait la transcription aux jonctions d'épissage et permettrait l'épissage de l'ARNm de façon co-transcriptionnelle. De plus, la vitesse d'élongation de l'ARN polymérase semble être cruciale pour l'épissage alternatif. Une diminution uniforme de la vitesse d'élongation favorise l'inclusion d'exons normalement faiblement représentés (contenant un site accepteur d'épissage faible) (Howe *et al.,* 2003). Chez l'homme, le complexe de remodelage de la chromatine SWI/SNF est impliqué dans l'épissage *via* la sous-unité BRM qui interagit de façon co-transcriptionnelle avec des facteurs d'épissage et qui favorise l'inclusion d'exons alternatifs dans certains gènes (Batsche *et al.,* 2006). A l'inverse, une augmentation locale de la vitesse d'élongation défavorise leur inclusion (Hnilicova J *et al.,* 2011). L'épissage serait donc régulé de façon

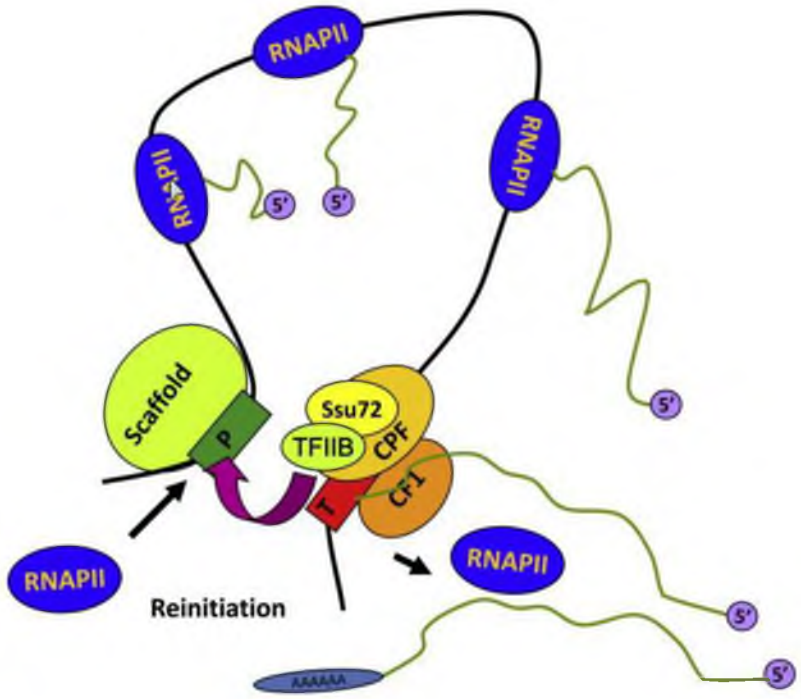


Figure 24 : Processus du *gene looping* .

Une boucle se forme entre le promoteur et le terminateur à la fin du premier cycle de transcription. La boucle est une structure labile, maintenue par l'interaction physique entre les composants des complexes d'initiation de la transcription (TFIIB) et les complexes de terminaison CPF (clivage and polyadenylation factor) et CF-1A (clivage factor 1A) respectivement *via* les sous-unités Ssu72 et Rna15.

L'ARN polymérase réaliserait ainsi plusieurs cycles de transcription sans se décrocher de l'ADN. Tiré de Hampsey *et al.*, 2011.

co-transcriptionnelle où facteurs d'épissages et complexes de remodelage de la chromatine seraient impliqués. (Allemand *et al.*, 2008).

3.2.4. La terminaison

La terminaison est la dernière étape du cycle de transcription. Elle correspond au clivage du transcrit puis à sa polyadénylation avec relargage de l'ARN polymérase II et son éventuel recyclage.

La polyadénylation est l'ajout d'adénines (jusqu'à 200) à l'extrémité 3' du transcrit primaire par la polyA-polymérase. Ce processus fait intervenir un certain nombre d'autres facteurs comme le complexe CPSF (*Cleavage/Polyadenylation Specificity Factor*) qui se fixe au signal AAUAA et clive l'ARNm à l'endroit où démarre la polyadénylation, soit 20 nucléotides en aval. Le signal de polyadénylation est une séquence en deux parties, constituée d'un hexamère AAUAAA situé 10 à 30 nt en amont du site de clivage et de polyadénylation, et d'une région riche en GU qui se trouve en aval de ce site (Colgan et Manley, 1997). Il est reconnu co-transcriptionnellement par des protéines du complexe de clivage et de polyadénylation (Guo *et al.*, 2011).

Deux modèles non exclusifs sont proposés pour la terminaison de la transcription. Dans le modèle « allostérique », le complexe d'élongation serait déstabilisé par l'interaction de facteurs tels que Pcf11 et Nrd1 qui fixent le CTD (Figure 23d) et l'ARN polymérase relarguerait le transcrit. Dans le modèle « torpedo », l'exonucléase Rat1 se fixe après clivage de l'ARN sur l'extrémité 5' du reliquat post-polyA de l'ARNm (Figure 23c) et dégrade la partie libre de l'ARN jusqu'à atteindre la polymérase (Kim H *et al.*, 2010).

Enfin, une boucle peut se former entre le promoteur et le site de terminaison *via* la protéine TFIIB qui permettrait le recyclage de l'ARN polymérase et de différents facteurs du complexe d'élongation. Ce phénomène est appelé *gene looping* (Figure 24) (pour revue, voir Kuehner *et al.*, 2011).

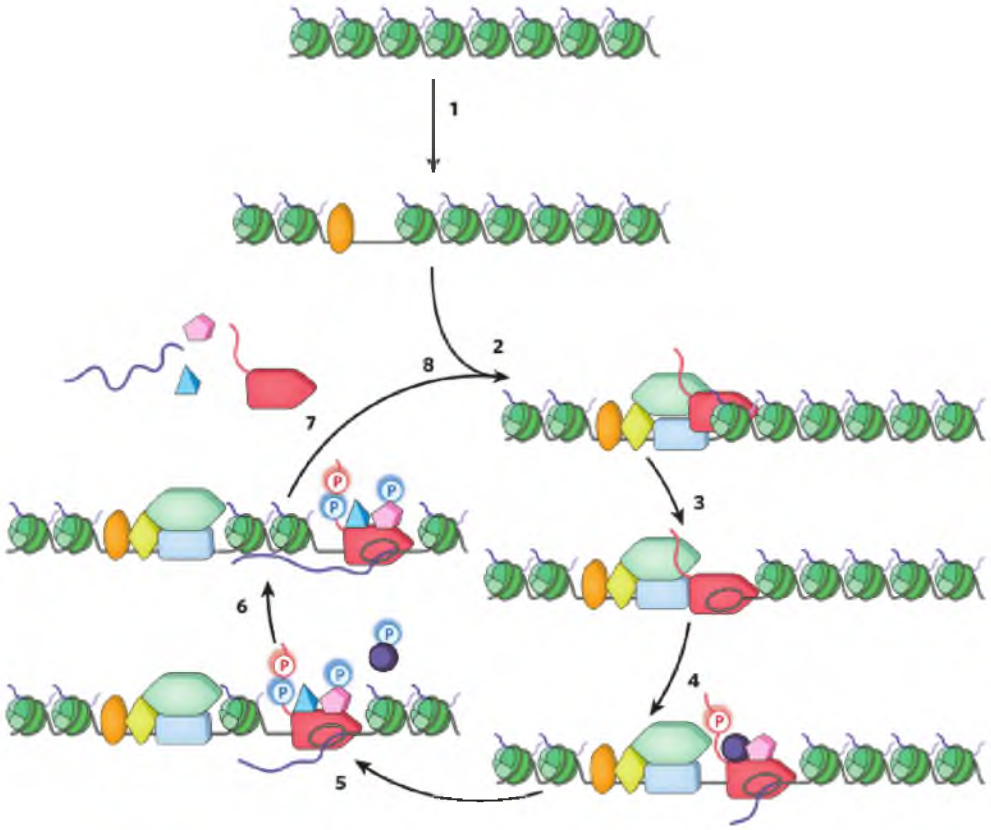


Figure 25 : Cycle de transcription dans un contexte chromatinien.

L'étape 1 débute à partir d'un gène qui n'était pas exprimé précédemment, la chromatine n'est pas permissive pour la transcription, il est donc nécessaire de « l'ouvrir », sachant que le locus est entièrement empaqueté en nucléosomes condensés (vert).

L'étape 2 correspond à la formation du PIC grâce à la fixation d'un premier activateur (orange) qui va fixer l'ADN et recruter des remodeleurs de nucléosomes pour libérer le promoteur. Un second activateur (losange jaune) fixe le promoteur, recrute les GTF (facteurs de transcription généraux, hexagone vert clair). Les étapes 3 à 5 ont été décrites précédemment (3 : initiation, 4 : échappement du promoteur, 5 : échappement de la pause). A l'étape 6, lors de l'élongation productive, les nucléosomes sont désassemblés puis réassemblés, au passage de l'ARN polymérase. Tiré de Fuda *et al.*, 2011.

3.3. Chromatine, organisation nucléaire et contrôle de la transcription

Ces étapes de la transcription sont intrinsèquement très régulées, et permettent un premier niveau de régulation de la transcription.

Cependant, comme nous l'avons vu précédemment, il existe un second niveau de régulation de la transcription, plus global, qui est intimement lié à la structure de la chromatine et au code histone. La chromatine a, en effet, un impact fort sur l'activité transcriptionnelle des gènes par le biais des modifications post-traductionnelles des histones dites "marques épigénétiques" qui induisent le recrutement d'autres facteurs directement impliqués soit dans la compaction de la chromatine, soit dans l'interaction avec la machinerie transcriptionnelle.

Enfin, un troisième niveau de régulation de la transcription, également lié à la conformation de la chromatine, est l'organisation de structures particulières dans le noyau.

3.3.1. Structure de la chromatine et régulation de la transcription

On peut intégrer le niveau de régulation chromatinien au cycle de transcription décrit précédemment (Figure 25). Dans un contexte chromatinien répressif, la densité en nucléosomes et en histone de liaison H1 est élevée alors que, dans un contexte chromatinien permissif pour la transcription (chromatine "ouverte"), elle est beaucoup plus faible. Le passage de la machinerie transcriptionnelle à travers la chromatine "ouverte" impose néanmoins le déplacement des nucléosomes. Ce déplacement peut être facilité par les complexes de remodelage de la chromatine ATP-dépendants décrits précédemment. Ainsi, la vitesse d'élongation de l'ARN polymérase dépend en partie de la vitesse de remodelage de la chromatine. Par ailleurs, certaines marques épigénétiques portées par les nucléosomes peuvent également influencer l'épissage alternatif.

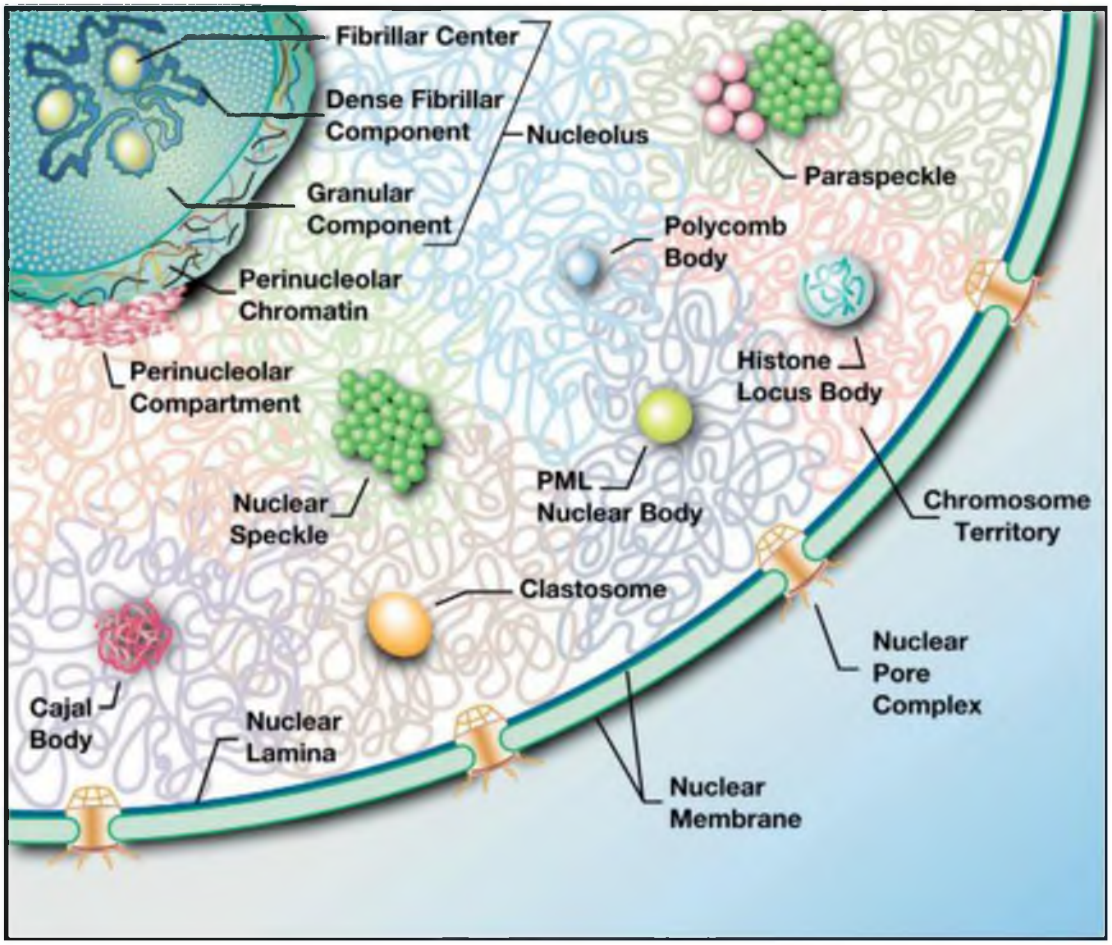


Figure 26 : Diversité des corps nucléaires.

Le dessin représente le paysage d'un noyau de mammifère en interphase. Sous la face intérieure de l'enveloppe nucléaire, la lamina fournit un support mécanique et participe à l'organisation de la chromatine. Les chromosomes en interphase occupent différents territoires. L'espace interchromatinien est très organisé, hautement dynamique et contient de nombreux corps nucléaires tels que les corps de Cajal, les *histones locus bodies*, le nucléole, les *Polycomb bodies*, les PML *bodies*, les clastosomes… Tiré de Mao YS *et al.*, 2011.

3.3.2. Compartimentation nucléaire

Le noyau est une structure très dynamique où se déroulent réplication et réparation de l'ADN, transcription et traitement des ARN (épissage, polyadénylation, …), transport des ARN du site de transcription vers le pore nucléaire *etc*… La plupart des fonctions nucléaires sont associées à des compartiments nucléaires distincts sans barrière physique (Figure 26). Citons par exemple, le nucléole, lieu de transcription des ARNr et de l'assemblage des pré-ribosomes, les *transcriptional factories*, l'association de gènes en cours de transcription (Cook PR, 1995), les *Polycomb bodies*, l'association de gènes réprimés pris en charge par les complexes PcG (Buchenau P *et al.,* 1998), les corps de Cajal (CB), sites d'assemblage des snRNPs impliquées dans l'épissage des ARNm, le *Histone Locus Body*, lieu de transcription et de traitement des pré-ARNm codant les différentes histones, les *ProMyelocytic Leukemia nuclear bodies* (PML), impliqués dans la réponse au stress, la défense contre les virus et la stabilité du génome (Takahashi JH *et al.,* 2003), et enfin, les clastosomes, qui contiennent des composants du protéasome et se forment en réponse à des stimuli qui activent la protéolyse dépendante du protéasome (Lafarga M *et al.,* 2002). Ces structures sont très dynamiques. Leur présence en quantité anormalement élevée peut être indicative de pathologies (pour revue, voir Mao YS *et al.,* 2011).

Grâce aux techniques de DNA FISH (*DNA Fluorescence In Situ Hybridization*) ou de capture 3C (*Chromosome Conformation Capture*) couplée à l'analyse à haut débit (Dekker *et al.,* 2002; Simonis *et al.,* 2006; Lieberman-Aiden *et al.,* 2009), il est possible d'explorer les interactions chromatiniennes *in vivo* à l'échelle d'un génome (Sexton *et al.,* 2012). Les données ainsi obtenues suggèrent que des gènes distants l'un de l'autre, localisés en *cis* sur le même chromosome, ou en *trans* sur un autre chromosome, ne sont pas des entités indépendantes mais interagissent au contraire dans un même corps nucléaire. Par exemple, dans l'embryon de drosophile, les complexes homéotiques ANT-C et BX-C, bien que situés à plusieurs mégabases l'un de l'autre sur le même chromosome, sont préférentiellement rassemblés au sein de *Polycomb bodies* dans un tissu où ils sont simultanément réprimés (Bantignies *et al.,* 2011).

4 La biogenèse des ribosomes

Chez la drosophile, les mutants *Minute* présentent un cycle développemental plus long, sont peu fertiles et ont une durée de vie réduite. La taille globale du corps est réduite et les soies sont plus fines. Ces mutants présentent une perturbation générale de l'homéostasie. Kongsuwan et coll. (1985) furent les premiers à relier sans équivoque les *loci Minute* aux gènes codant des protéines ribosomiques. Plus récemment, une analyse à l'échelle du génome a montré que la plupart des gènes des protéines ribosomiques, à l'exception de quelques uns, peuvent être reliés aux phénotypes *Minute* (Marygold *et al.*, 2007). Les phénotypes *Minute* s'observent chez des individus hétérozygotes, soit pour des délétions chromosomiques, soit pour des allèles perte de fonction, ce qui indique que les gènes des protéines ribosomiques sont haplo-insuffisants (Lindsley *et al.*, 1972 et 1992; Lambertsson, 1998). Les protéines ribosomiques étant présentes en quantité équimolaire dans les ribosomes, la perte d'un allèle produirait un déséquilibre stoechiométrique qui conduirait à la diminution du nombre de ribosomes fonctionnels de la cellule et perturberait la traduction dans son ensemble (Lambertsson, 1998). Ainsi, le contrôle de l'homéostasie cellulaire passe par une régulation précise des différents composants ribosomiques.

4.1. Le ribosome

Les ribosomes sont présents dans les cellules eucaryotes et procaryotes. Ils forment des complexes ribonucléoprotéiques au sein desquels la synthèse protéique a lieu. Ils sont constitués d'ARN ribosomiques (ARNr), et de nombreuses protéines ribosomiques (RPs). Ils sont assemblés en deux sous-unités, la plus petite (40S) qui décode l'ARN messager et la plus grosse (60S) qui synthétise le polypeptide correspondant.

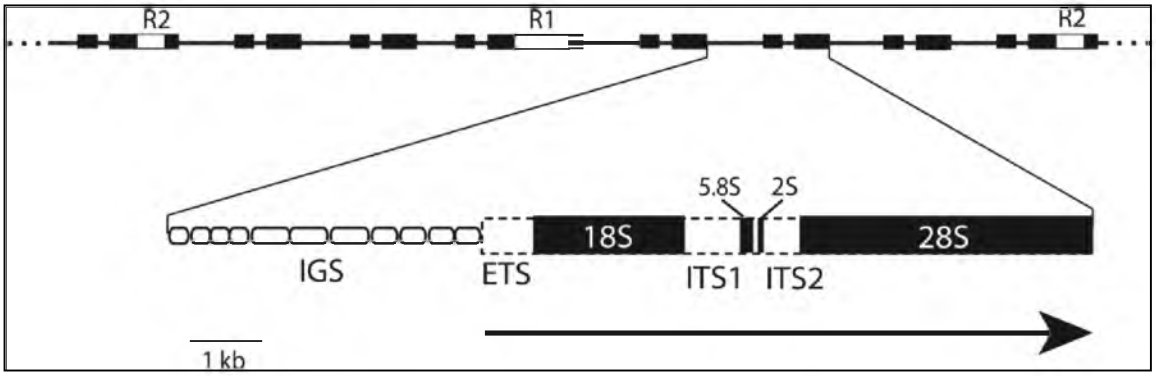


Figure 27 : Schéma du locus des ADNr de la drosophile.

La polymérase I transcrit un pré-ARNr qui contient des séquences ETS (*External Transcribed Spacer*) et ITS (*Internal Transcribed Spacer*) en blanc et IGS (*Inter Genic Spacer*) séquences répétées représentées par des formes arrondies, ainsi que des séquences codant les ARNr en noir. Les séquences R2 et R1 correspondent à des rétrotransposons insérés dans environ 50% des gènes d'ADNr de la drosophile. Tiré de Stage *et al.*, 2007.

La biogenèse des ribosomes représente une part importante de l'activité cellulaire. Dans un tissu en développement, les cellules se divisent rapidement, et jusqu'à 60% des événements de transcription sont dédiés à la production des ARN ribosomiques. Chez la levure, on estime que 50% de la transcription par l'ARN polymérase II et 90% des événements d'épissage sont dédiés à la synthèse de RPs. La coordination de la régulation des génes des ARNr et des RPs est essentielle pour l'homéostasie de la cellule. De nombreuses voies de transduction du signal sont engagées dans cette régulation et peuvent rapidement induire ou réprimer la transcription de ces génes, impliquant en parallèle des modifications majeures dans l'expression d'autres génes (Warner, 1999).

4.1.1. Structure du ribosome

Les ribosomes mitochondriaux se rapprochent des ribosomes procaryotes et leur biogenése ne sera pas présentée ici. Chez les eucaryotes, la grande sous-unité du ribosome (60S) est constituée de trois molécules d'ARNr (5S, 28S et 5,8S) et de 49 RPs. La petite sous-unité (40S) est constituée de la molécule d'ARNr 18S et de 32 RPs. La biogenése des ribosomes a été trés étudiée, en particulier chez la levure. Les voies de biogenése des ribosomes et leurs composants sont trés conservés. Cependant, il existe des différences entre eucaryotes, comme le nombre de copies des différents génes codant les RPs.

4.1.2. Les ARN ribosomiques

Les génes des ARNr sont répétés en tandem, regroupés dans des régions chromosomiques appelées régions organisatrices du nucléole ou NOR (*Nucleolar Organizer Region*). Le nucléole s'organise autour du NOR et dans certaines espèces comme par exemple chez l'homme, plusieurs NOR coopèrent pour former un nucléole. Chez la drosophile, les NOR sont situés sur le bras long des chromosomes sexuels (Roy *et al.,* 2005). Le nombre de génes des ARNr varie de 100 à plusieurs centaines chez les mammiféres, on en trouve 96 copies sur le chromosome X et 144 sur le chromosome Y de *Drosophila melanogaster* (Lyckegaard et Clark, 1991).

RP genes for *"Drosophila melanogaster"*

Small Subunit		Large Subunit	
S4	sta	L3	RpL3
S2	sop	L4	RpL4
S3	RpS3	L5	RpL5
S3A	RpS3A	L6	RpL6
S4	RpS4	L7	RpL7
S5	RpS5a	L7A	RpL7A
	RpS5b	L8	RpL8
S6	RpS6	L9	RpL9
S7	RpS7	L10	Qm
S8	RpS8	L10A	RpL10Ab
S9	RpS9		RpL10Aa
S10	RpS10b	L11	RpL11
	RpS10a	L12	RpL12
S11	RpS11	L13	RpL13
S12	RpS12	L13A	RpL13A
S13	RpS13	L14	RpL14
S14	RpS14a	L15	RpL15
	RpS14b	L17	RpL17
S15	RpS15	L18	RpL18
S15A	RpS15Ab	L18A	RpL18A
	RpS15Aa	L19	RpL19
S16	RpS16	L21	RpL21
S17	RpS17	L22	RpL22
S18	RpS18	L23	RpL23
S19	RpS19a	L23A	RpL23A
	RpS19b	L24	RpL24
S20	RpS20	L26	RpL26
S21	oho23B	L27	RpL27
S23	RpS23	L27A	RpL27A
S24	RpS24	L28	RpL28
S25	RpS25	L29	RpL29
S26	RpS26	L30	RpL30
S27	RpS27	L31	RpL31
S27A	RpS27A	L32	RpL32
S28	RpS28b	L34	RpL34a
	RpS28a		RpL34b
S29	RpS29	L35	RpL35
S30	RpS30	L35A	RpL35A
		L36	RpL36
		L36A	RpL36A
		L37	RpL37a
		L37A	RpL37A
		L38	RpL38
		L39	RpL39
		L40	RpL40
		L41	RpL41
		LP0	RpLP0
		LP1	RpLP1
		LP2	RpLP2

38 gènes
dont 6 gènes dupliqués
et 26 gènes uniques

49 gènes
dont 2 gènes dupliqués
et 45 gènes uniques

RP genes for *"Homo sapiens"*

Small Subunit		Large Subunit	
S4	RPS4	L3	RPL3
S2	RPS2	L4	RPL4
S3	RPS3	L5	RPL5
S3A	RPS3A	L6	RPL6
S4	RPS4X	L7	RPL7
	RPS4Y	L7A	RPL7A
S5	RPS5	L8	RPL8
S6	RPS6	L9	RPL9
S7	RPS7	L10	RPL10
S8	RPS8	L10A	RPL10A
S9	RPS9	L11	RPL11
S10	RPS10	L12	RPL12
S11	RPS11	L13	RPL13
S12	RPS12	L13A	RPL13A
S13	RPS13	L14	RPL14
S14	RPS14	L15	RPL15
S15	RPS15	L17	RPL17
S15A	RPS15A	L18	RPL18
S16	RPS16	L18A	RPL18A
S17	RPS17	L19	RPL19
S18	RPS18	L21	RPL21
S19	RPS19	L22	RPL22
S20	RPS20	L23	RPL23
S21	RPS21	L23A	RPL23A
S23	RPS23	L24	RPL24
S24	RPS24	L26	RPL26
S25	RPS25	L27	RPL27
S26	RPS26	L27A	RPL27A
S27	RPS27	L28	RPL28
S27A	RPS27A	L29	RPL29
S28	RPS28	L30	RPL30
S29	RPS29	L31	RPL31
S30	RPS30	L32	RPL32
		L34	RPL34
		L35	RPL35
		L35A	RPL35A
		L36	RPL36
		L36A	RPL36A
		L37	RPL37
		L37A	RPL37A
		L38	RPL38
		L39	RPL39
		L40	RPL40
		L41	RPL41
		LP0	RPLP0
		LP1	RPLP1
		LP2	RPLP2

33 gènes
dont 1 gène dupliqué
et 31 gènes uniques

47 gènes uniques

RP genes for *"Saccharomyces cerevisiae"*

Small Subunit		Large Subunit		Large Subunit	
S0	RPS0A	L3	RPL3	L27A	RPL28
	RPS0B	L4	RPL4A	L28	
S2	RPS2		RPL4B	L29	RPL29
S3	RPS3	L5	RPL5	L30	RPL30
S3A	RPS1A	L6	RPL6A	L31	RPL31A
	RPS1B		RPL6B		RPL31B
S4	RPS4A	L7	RPL7A	L32	RPL32
	RPS4B		RPL7B	L34	RPL34A
S5	RPS5	L7A	RPL8A		RPL34B
S6	RPS6A		RPL8B	L35	RPL35A
	RPS6B	L8	RPL2A		RPL35B
S7	RPS7A		RPL2B	L35A	RPL33A
	RPS7B	L9	RPL9A		RPL33B
S8	RPS8A		RPL9B	L36	RPL36A
	RPS8B	L10	RPL10		RPL36B
S9	RPS9A	L10A	RPL1A	L36A	RPL42A
	RPS9B		RPL1B		RPL42B
S10	RPS10A	L11	RPL11A	L37	RPL37A
	RPS10B		RPL11B		RPL37B
S11	RPS11A	L12	RPL12A	L37A	RPL43A
	RPS11B		RPL12B		RPL43B
S12	RPS12	L13	RPL13A	L38	RPL38
S13	RPS13		RPL13B	L39	RPL39
S14	RPS14A	L13A	RPL16A	L40	RPL40A
	RPS14B		RPL16B		RPL40B
S15	RPS15	L14	RPL14A	L41	RPL41A
S15A	RPS22A		RPL14B		RPL41B
	RPS22B	L15	RPL15A	LP0	RPP0
S16	RPS16A		RPL15B	LP1	RPP1A
	RPS16B	L17	RPL17A		RPP1B
S17	RPS17A		RPL17B	LP2	RPP2A
	RPS17B	L18	RPL18A		
S18	RPS18A		RPL18B		
	RPS18B	L18A	RPL20A		
S19	RPS19A		RPL20B		
	RPS19B	L19	RPL19A		
S20	RPS20		RPL19B		
S21	RPS21A	L21	RPL21A		
	RPS21B		RPL21B		
S23	RPS23A	L22	RPL22A		
	RPS23B		RPL22B		
S24	RPS24A	L23	RPL23A		
	RPS24B		RPL23B		
S25	RPS25A	L23A	RPL25		
	RPS25B	L24	RPL24A		
S26	RPS26A		RPL24B		
	RPS26B	L26	RPL26A		
S27	RPS27A		RPL26B		
	RPS27B	L27	RPL27A		
S27A	RPS31		RPL27B		

81 gènes
dont 34 gènes dupliqués
et 13 gènes uniques

Small Subunit	
S28	RPS28A
	RPS28B
S29	RPS29A
	RPS29B
S30	RPS30A
	RPS30B

56 gènes
dont 24 dupliqués
et 8 gènes uniques

Figure 28 : Conservation des protéines ribosomiques

Gènes conservés et dupliqués de protéines ribosomiques chez la drosophile, l'homme et la levure. Les gènes sont notés en noir, et leur produit en bleu. Les protéines dont les gènes sont dupliqués sont encadrées en noir. Noter que les numéros de noms des gènes ne correspondent pas toujours au numéro du nom de leur produit. Par exemple chez la levure, les gènes *RPL43A* et *B* produisent la protéine ribosomique RPL37A. Les listes proviennent de la base de données « *ribosomal protein database* ».

La synthèse des ARNr suit de multiples étapes avant la construction d'un ribosome mature. Dans le nucléole, l'ADNr est transcrit par l'ARN polymérase I en un ARNr 45S chez la levure et 47S chez les autres eucaryotes. La maturation de cet ARNr 45/47S a lieu en plusieurs étapes : tout d'abord il subit de nombreuses méthylations et pseudo-uridylations, puis il est clivé par le complexe U3 snRNP au niveau des sites ETS (*External Transcribed Spacer*) et ITS (*Inter Genic Spacer*) pour donner les ARN fonctionnels 28S, 18S, 5,8S (et 2S chez la drosophile : Figure 27) qui seront ensuite intégrés dans le ribosome (Venema etTollervey, 1999 ; Filipowicz et Pogacic, 2002). Présent uniquement chez les insectes, l'ARNr 2S s'hybride à l'ARNr 5,8S pour former une structure tige-boucle conservée au sein de l'ARNr 5,8S des autres espèces (Pavlakis *et al.,* 1979). L'ARN 5S est transcrit au niveau d'un site chromosomique extra-nucléolaire par l'ARN polymérase III (pour revue, voir White, 2011) et intégré au ribosome dans le cytoplasme.

4.1.3. Les protéines ribosomiques (RPs)

Pendant la maturation de l'ARNr 45/47S, les protéines ribosomiques (RPs) de la grande sous-unité (L) et de la petite sous-unité (S) sont importées vers le nucléole et s'associent à celui-ci.

Les RPs de la grande sous-unité (RPL) et de la petite sous-unité (RPS) sont très conservées chez les eucaryotes. La nomenclature des protéines ribosomiques tend aujourd'hui à être harmonisée (McConkey *et al.,* 1979 ; Wool *et al.,* 1991). On dénombre 47 RPL et 32 RPS de la levure à l'homme. (Figure 28) Chez la levure, la plupart des gènes codant les RPS sont dupliqués : 72% pour les RPL et 75% pour les RPS. Les différents paralogues ont parfois évolué en acquérant des fonctions distinctes (Komili *et al.,*2007). De plus, les RPs subissent de nombreuses modifications post-traductionnelles (méthylations, unbiquitinations, phosphorylations, acétylations,…) qui peuvent moduler leur fonction. Ceci a suggéré à Komili et coll. l'hypothèse du "code ribosome" dans laquelle l'assemblage de différents variants de RPs, porteurs de différentes modifications post-traductionnelles, conférerait au ribosome une certaine spécificité fonctionnelle (Komili *et al.,* 2007). Cette hypothèse n'est pas sans rappeler celle du code histone.

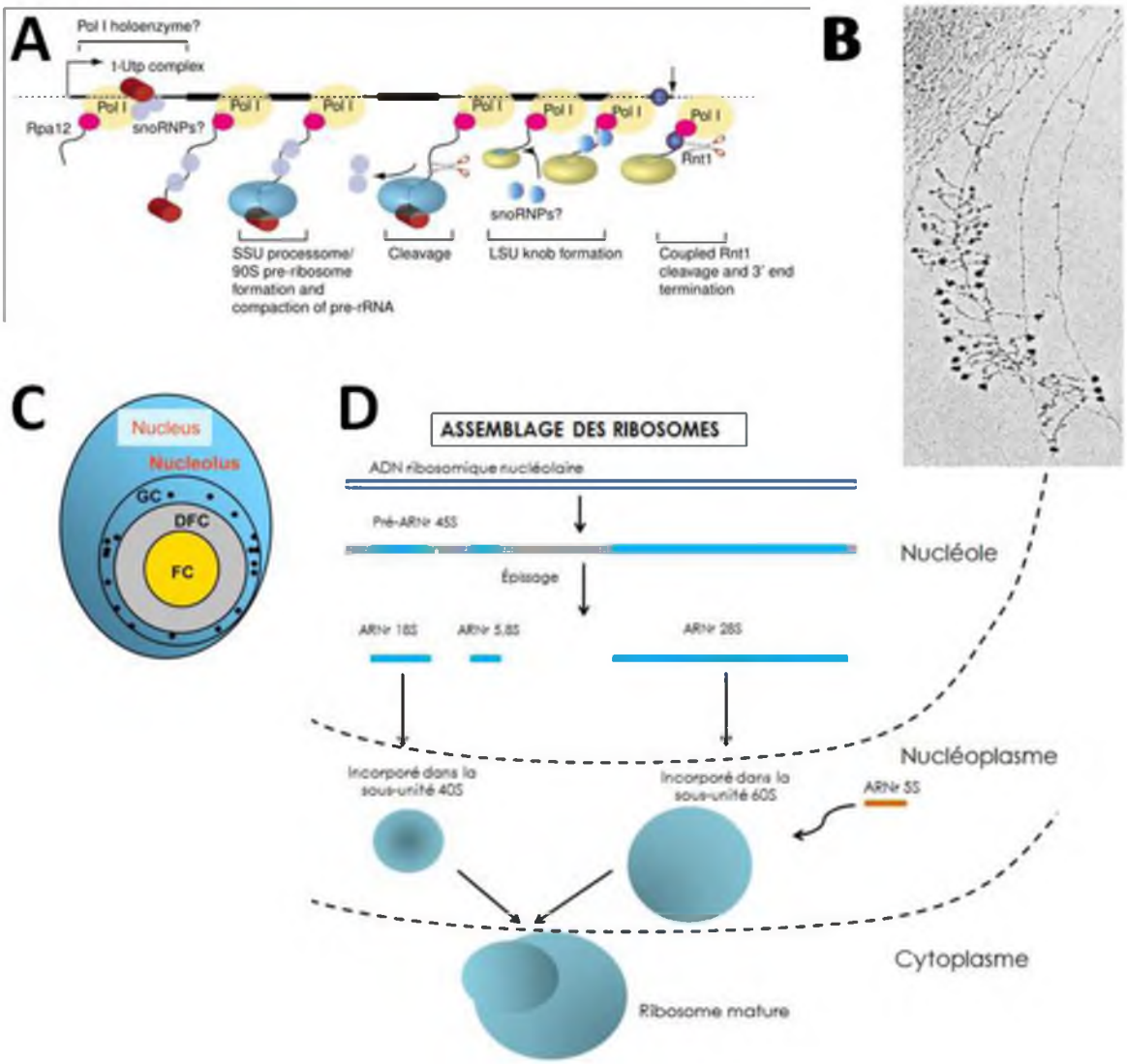


Figure 29 : Assemblage des ribosomes

A Modèle de transcription de l'ADNr couplée à la modification du pré-ARNr et à son assemblage. Un clivage co-transcriptionnel a lieu au niveau du site ITS1. Une petite pelote est visible sur le pré-ARNr, qui devient plus compacte quand l'ARN polymérase I s'approche du côté 3' de l'ARNr. Cette pelote, appelée « LSU *knob* » contiendrait les facteurs nécessaires à la synthèse des ARNr 5,8S et 25S, qui participent à la sous-unité 60S. Quand la polymérase I atteint le site de terminaison, l'endonucléase Rnt1 est chargée sur le pré-ARNr et clive la partie 3' de façon co-transcriptionnelle (Granemann et Baserga, 2005). **B** visualisation en microscopie électronique d'ADNr en cours de transcription dans le nucléole. (Adapté de Granemann et Baserga, 2005). **C** Schéma des structures composant le nucléole. **D** Schéma simplifié des étapes de l'assemblage des ribosomes.

Comme les histones, les RPs sont des protéines très basiques. La plupart d'entre elles interagissent avec l'ARN. Certaines RPs présentent des similarités avec les queues des histones. Par exemple, la partie N-terminale des RPs de drosophile RPL22 et RPL23a, et la partie C-terminale de la protéine ribosomique RPS6 du moustique présentent une séquence d'acides aminés *Histone H1-like* (Zhai et Fallon, 2005 ; Hernandez et Fallon, 2007). Les RPs sont présentes en un seul exemplaire dans le ribosome à l'exception des RPs acides P1 et P2 qui forment un hétéro-tétramère. P1 et P2 sont localisés à l'extérieur de la grande sous-unité du ribosome et forment une protubérance appellée *stalk*.

4.1.4. Assemblage des ribosomes

Le pré-ribosome est assemblé dans le noyau (Fromont-Racine *et al.,* 2003). Les RPs sont importées dans le noyau par différents transporteurs nucléaires, comme les karyophérines Pse1p et Kap123p (Rout *et al.,* 1997). Chez la souris, RPL12 est importée dans le noyau par une voie différente, spécifiquement prise en charge par l'Importine 11 (Plafker et Macara, 2002). RPL12 est incorporée tardivement dans le ribosome et les auteurs proposent un rôle régulateur de cette voie d'assemblage différente.

Le processus d'assemblage des ribosomes est très conservé, étroitement régulé en réponse aux stress environnementaux et aux conditions de croissance cellulaire. L'assemblage débute dans le nucléole, se poursuit transitoirement dans le nucléoplasme, et s'achève dans le cytoplasme (Figure 29D).

Le nucléole est organisé en trois sous-structures distinctes, les centres fibrillaires (FCs), le compartiment fibrillaire dense (DFC) et le composant granulaire (GC) (Figure 29C). Ces compartiments contiennent chacun des facteurs d'assemblage du ribosome différents. Il a donc été proposé qu'ils participent à l'organisation spatio-temporelle de la biogenèse des ribosomes (Scheer et Hock, 1999). L'analyse du DFC montre la présence de fibrillarine (Nop1 chez la levure), de snoARN (comme *U3*) et des ARNr (Beven *et al.,* 1996). Cette région particulière du nucléole est celle où l'ARN polymérase I transcrit les ARNr (Cmarko *et al.,* 2000). Ainsi, le grand transcrit initial qui est assemblé avec le pré-ribosome est situé dans la région DFC (Figure 29A).

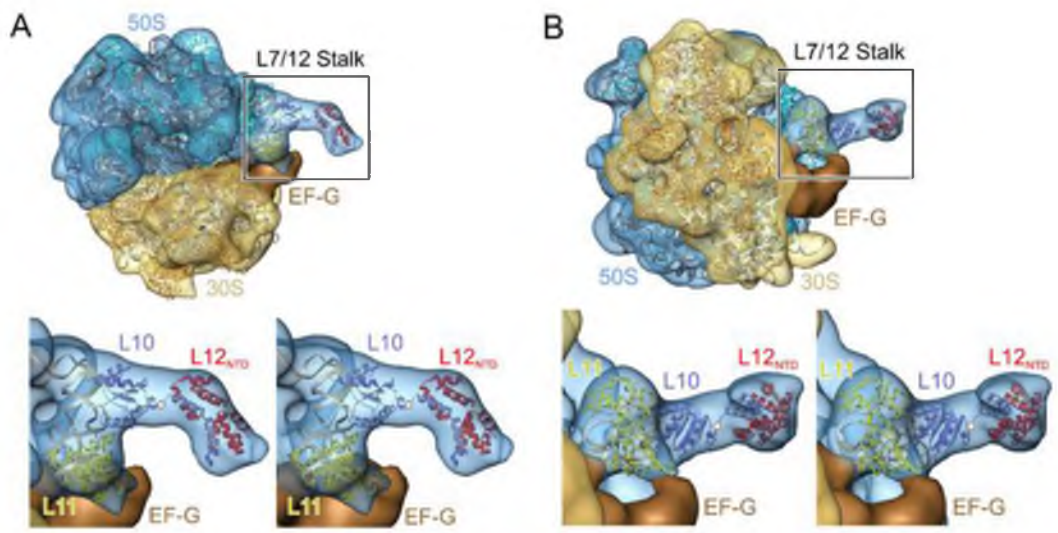


Figure 30: *Ribosome stalk* du ribosome prokaryote

Structure cristallographique d'une partie du ribosome procaryote associée au facteur d'élongation EF-G. **A** Sous-unité 50S (bleu transparent) en haut et sous-unité 30S en bas (jaune transparent) en bas. Les ARNr 23S et 5S sont les rubans gris dans la sous unité 50S et l'ARNr 16S est le ruban gris clair dans la sous-unité 30S. Le facteur EF-G est coloré en marron. Le stalk est rendu flexible grâce à P0 (RPL10 chez les procaryotes). Le *stalk* peut être divisé en trois segments structurels et fonctionnels. Le premier segment, considéré comme la base du *stalk*, est formé par la région de fixation à l'ARNr des protéines L10/L11 (**P0 et RPL12** chez les eucaryotes). Le second segment est composé de l'hélice α8 de L10 (**P0** eucaryote) complexée aux dimères des parties N terminales de L12 (**P1** eucaryote). Les régions charnières de L10 et C terminale des dimères L12 forment le troisième segment (Diaconu *et al.,* 2005).**B** Vue du ribosome du côté de la sous unité 30S. Adapté de Diaconu *et al.,* 2005.

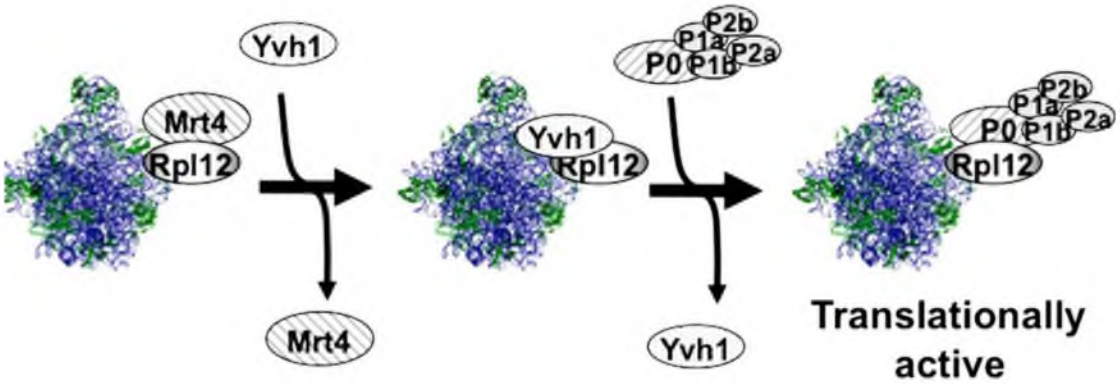


Figure 31 : Assemblage du *stalk* du ribosome eucaryote

Mrt4 et RpL12 permettent le repliement de l'ARNr à la base du *stalk* durant la biogenèse du ribosome dans le nucléole**.** Yvh1 se fixe à RPL12 ce qui conduit à la libération de Mrt4. Par la suite, Yvh1 est déplacée en même temps que le *stalk* s'assemble à la sous-unité 60S. Tiré de Lo *et al.,* 2009.

La synthèse des ARNr est immédiatement suivie de l'initiation de leur maturation par épissage réalisé par des snoRNP. De nombreux facteurs d'assemblage du pré-ARNr, comme le *snoARN U3* et le complexe t-UTP, sont recrutés sur le pré-ARNr.

Le complexe d'assemblage de la petite sous-unité (SSU pour *Small-SubUnit Processome*) est un grand complexe ribonucléoprotéique nécessaire à la biogenèse de l'ARNr 18S et correspond vraisemblablement à la pelote terminale visualisée en microscopie électronique en 5' de l'ARNr naissant (Figure 29B). Le pré-ARNr subit des clivages en plus de 10 sites ETS et ITS avant de donner naissance aux ARNr 18S, 25S, et 5,8S matures chez la levure (18S, 28S et 5,8S chez les autres eucaryotes) (Figure 27 pour la drosophile). Plus de 170 facteurs d'assemblage du ribosome ont été purifiés, ils interviennent à différentes étapes de leur maturation. Les RPs s'associent séquentiellement aux pré-ARNr tout au long du processus de maturation. Après translocation indépendante de la grande et de la petite sous-unité par des facteurs d'exports spécialisés, elles sont assemblées dans le cytoplasme (Fromont-Racine *et al.*, 2003). La dernière étape de l'assemblage du ribosome, qui a également lieu dans le cytoplasme, est l'assemblage du *stalk* du ribosome.

Les *stalk* des ribosomes eucaryotes et procaryotes sont composés de protéines très conservées. Cependant, les changements de nomenclature peuvent prêter à confusion : le *stalk* des ribosomes procaryotes est composé de RPL11, RPL10, RPL12 et RPL7 qui correspondent respectivement à **RPL12, P0, P1 et P2** dans les ribosomes eucaryotes (protéines eucaryotes notées en **gras**). Le *stalk* des ribosomes procaryotes a été cristallisé, ce qui a permis de comprendre sa structure (Diaconu *et al.*, 2005). Cette protubérance flexible localisée à la surface de la grande sous-unité du ribosome au niveau de la sortie du tunnel peptidique, est formée par **P1** et **P2** (RPL7/RPL12). Le *stalk* sert de plateforme d'interaction entre les facteurs d'élongation de la traduction EF-Tu et EF-G (Figure 30) et le ribosome. Il est indispensable aux mécanismes GTP-dépendants de la traduction (voir paragraphe activité du ribosome) (Diaconu *et al.*, 2005).

Chez la levure, l'assemblage du *stalk* a lieu grâce à l'échange entre la protéine **Mrt4** (facteur d'assemblage) et **RPL12**. Ces deux protéines interagissent avec **P0**. L'assemblage séquentiel du *stalk*, qui est spécifique des ribosomes eucaryotes, serait une voie de régulation supplémentaire de son activité (Figure 31) (Lo *et al.*, 2009 ; Rodriguez-Mateos *et al.*, 2009).

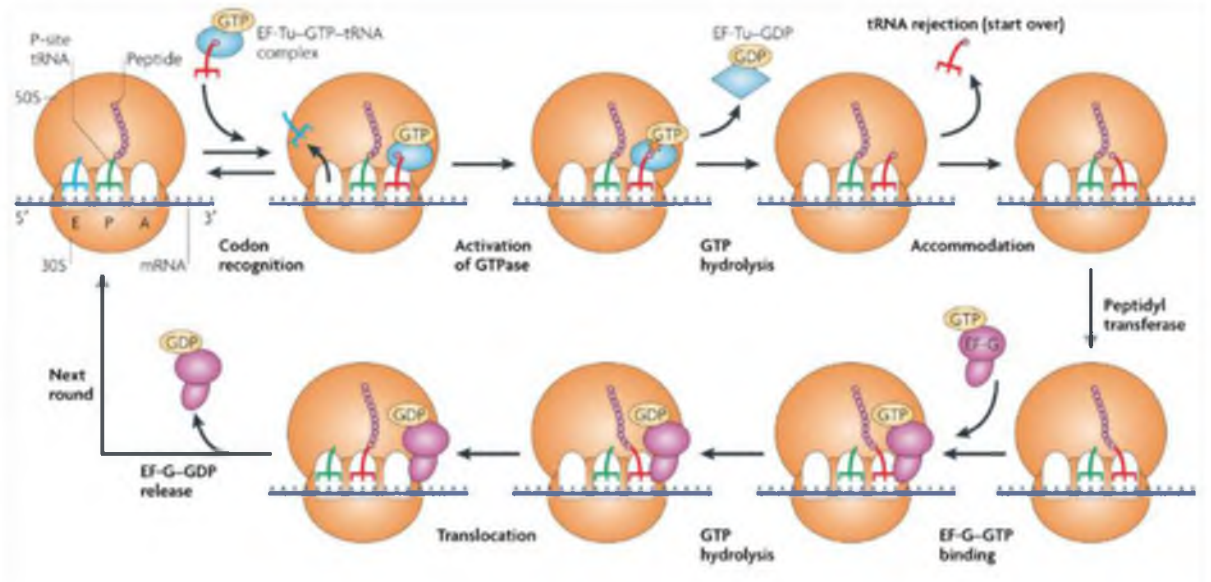


Figure 32. Activité du ribosome durant la traduction chez les procaryotes

La traduction de l'ARN messager est initiée par la liaison de l'ARN de transfert initial (ARNtfmet) au site P. L'ARNt suivant est fixé au site A, complexé aux facteurs d'élongation (EF)-Tu–GTP. Un appariement codon–anticodon concordant active le centre GTPase du ribosome formé par le stalk qui hydrolyse la GTP et sépare la partie acide aminé de l'ARNt. Le changement de conformation de l'ARNr induit par cette réaction permet à la peptidyl transférase de réaliser le transfert de l'acide aminé du site A à la chaîne d'acides aminés fixée au site P. La chaîne peptidique est donc maintenant fixée au site A. Le ribosome « glisse » ensuite vers le 3' de l'ARNm pour décoder le codon suivant. La translocation de l'ARNt et de l'ARNm est facilitée par la fixation de la GTPase EF-G, qui désacétyle l'ARNt au site P et le transfère au site E et qui transfère la chaîne peptidique couplée à l'ARNt du site A vers le site P grâce à l'hydrolyse du GTP. Le ribosome peut ensuite recommencer un nouveau tour d'élongation de la traduction. Tiré de Steitz, 2008.

4.1.5. Activité du ribosome

La grande sous-unité ribosomique forme un tunnel par lequel sort la chaîne protéique en cours de synthèse (*exit tunnel*). Elle présente trois sites de fixation des ARNt porteurs des acides aminés: (A) ou site Aminoacyl, (P) ou site Peptidyl et (E) ou site *exit* (Figure 32). Le site (P) est occupé par un ARNt porteur d'un acide aminé lié à la chaîne polypeptidique néoformée. Le site (A) est occupé par un ARNt porteur d'un acide aminé en attente d'être lié à la chaîne polypeptidique. Enfin, le site (E) permet la libération de l'ARNt déacétylé qui a délivré son acide aminé.

Enfin, le ribosome est un moteur moléculaire qui avance sur l'ARNm en consommant l'énergie fournie par l'hydrolyse du GTP. Plusieurs protéines, appelées facteurs d'élongation, sont associées à cette translocation.

4.2. Fonctions extra-ribosomiques des RPs

Outre leur rôle dans la traduction, des fonctions extra-ribosomiques ont été décrites pour certaines RPs.

4.2.1. Epissage et NMD (Non-sense Mediated Decay)

Les gènes codant les RPs sont souvent régulés par épissage alternatif, ou par l'utilisation de promoteurs alternatifs. Certaines RPs bloquent l'épissage de leur propre ARNm et, ce faisant, créent un transcrit alternatif comportant un codon non-sens prématuré (contenu dans l'intron). Ce transcrit est dégradé par la machinerie du NMD (*Non-sense Mediated Decay*).

4.2.1.1. Le NMD

La dégradation des ARNm non-sens, ou NMD, est un mécanisme de contrôle qualité chez les eucaryotes. Il élimine les ARNm abbérants qui comportent un codon stop prématuré résultant, soit d'une erreur de transcription, d'une mutation, d'une erreur d'épissage induisant un changement du cadre de lecture, soit d'un défaut d'épissage laissant l'intron

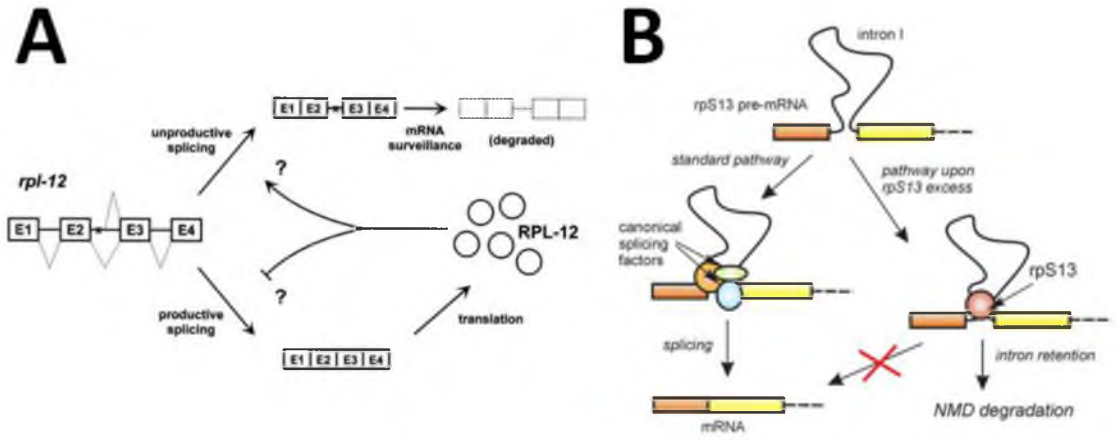


Figure 33 : Modèle de régulation négative de l'épissage alternatif de *RPL12* et de *RPS13*.

A L'ARNm codant RPL12 est épissé. Quand la protéine est présente en excès, la forme libre, non-associée au ribosome régulerait négativement l'épissage de son propre pré-ARNm. Cette boucle de rétro-contrôle négatif réduirait la quantité d'ARNm épissé productif, au profit d'un ARNm non épissé qui serait éliminé par la voie du NMD (Adapté de Mitrovitch *et al.*, 2000). **B** Représentation schématique de l'auto-régulation de la voie de biosynthèse de *RPS13*, par l'épissage imparfait de son premier intron. Adapté de Malygin *et al.*, 2007.

dans le transcrit. Ceci limite la production de protéines tronquées ou mutantes. Dans certains cas particuliers, le NMD participe à la régulation de l'expression des gènes.

Le NMD est déclenché lorsqu'un codon stop est détecté avant le dernier exon de l'ARNm. Lors de l'épissage de l'ARN pré-messager, des complexes protéiques, appelés *Exon Junction Complexes* ou EJC, sont déposés à proximité des jonctions exons-introns par le spliceosome. L'ARN maturé est exporté dans le cytoplasme avec ses EJC. Lors de la traduction, le premier ribosome engagé enlève les EJC durant sa progression. En situation normale, lorsque le ribosome atteint le codon stop, tous les EJC ont été enlevés par son passage. S'il s'agit d'un codon stop prématuré, la persistance d'EJC en aval, c'est à dire entre le ribosome et l'extrémité 3' de l'ARN messager, déclenche l'adressage de celui-ci vers des complexes de dégradation comme l'exosome (pour revue, voir Chang *et al.,* 2007).

En 2000, Mitrovitch et coll. ont montré l'implication de la voie du NMD dans la dégradation des ARNm de *RPL3, RPL7a, RPL10a* et *RPL12* comportant un codon stop prématuré chez *Caenorhabditis elegans* (Figure 33B). Un vecteur de surexpression du gène *RPL12* dans un contexte mutant pour la voie du NMD (mutants *smg*$^{-/-}$) produit des transcrits non épissés. De façon inattendue, en contexte sauvage, ce vecteur de surexpression n'induit pas d'augmentation de la quantité totale de protéine RPL12. En effet, un ARNm non épissé est alors produit et ciblé par la voie du NMD, réduisant la quantité de transcrits épissés productifs (Figure 33A). Ainsi, la quantité totale de RPL12 reste stable. Ces résultats ont été confirmés chez l'homme et la souris pour *RPL12* et *RPL3* (Cucurese *et al.,* 2005), suggérant une voie d'auto-régulation conservée de certaines RPs. D'autres ARN codant des RPs, comme RPS13 (Malygin *et al.,* 2007) et RPS16 (Ivanov *et al.,* 2010), sont soumis à ce type d'auto-régulation qui favoriserait la rétention d'un intron contenant un codon stop (Figure 33B).

Chez l'homme, RPS26 inhiberait l'épissage du premier intron de ses transcrits (Ivanov et Malygin, 2005). Une augmentation de la concentration de RPL1 dans des ovocytes de *Xenopus laevis* conduit à la formation d'isoformes d'ARNm *RPL1* contenant les introns 2 et 3 (Caffarelli *et al.,* 1987).

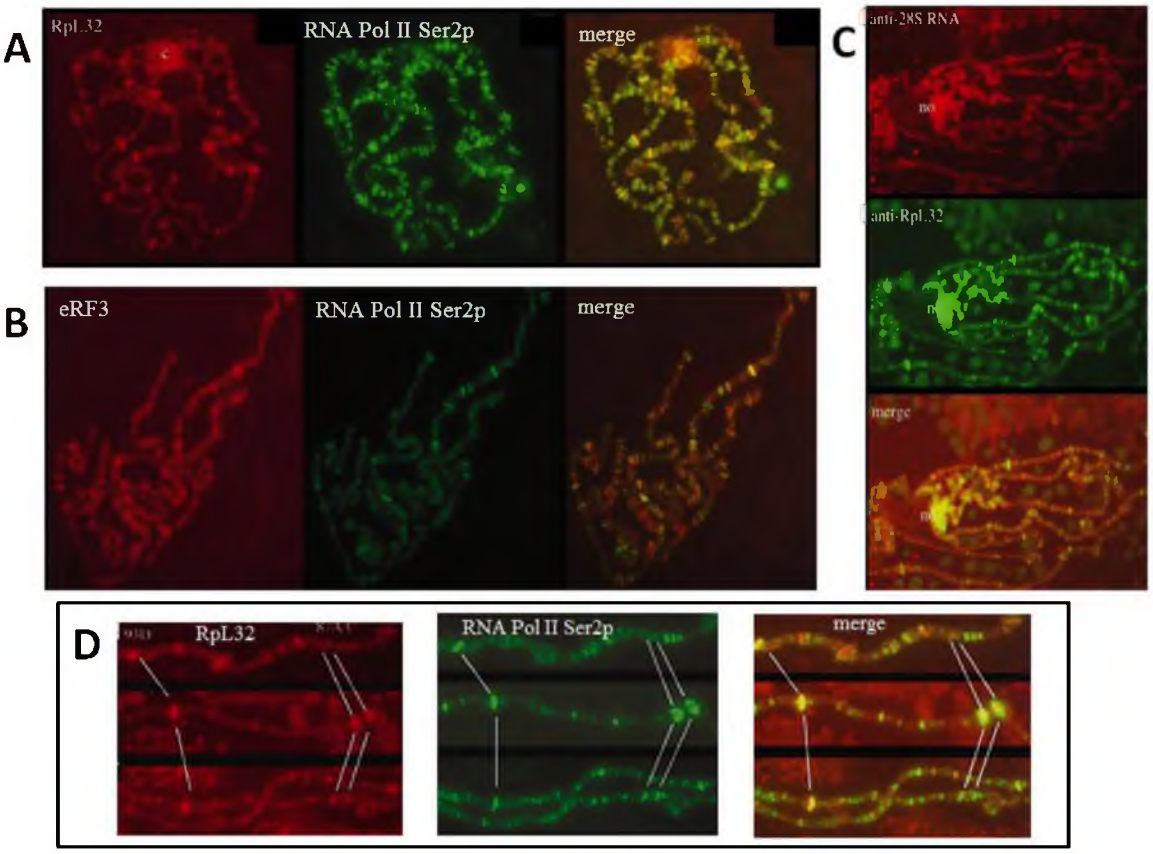


Figure 34 : Les protéines ribosomiques fixent la chromatine.

A co-localisation sur chromosomes polytènes de RpL32 (en rouge) et de l'ARN Pol II Ser2p (en vert). La superposition des images (merge) montre une co-localisation parfaite.
B co-localisation sur chromosomes polytènes de eRF3, facteur de terminaison de la traduction (en rouge) et de l'ARN Pol II Ser2p (en vert). La superposition des images (merge) montre une co-localisation partielle.
C co-localisation sur chromosomes polytènes de l'ARNr28S (en rouge) et de RpL32 (en vert). La superposition des images (merge) montre une co-localisation parfaite.
D co-localisation de RpL32 (en rouge) et de l'ARN pol II Ser2p aux loci 93D et 87A/C sur le chromosome III à température ambiante (panneaux du haut), après 45 min de choc thermique (panneaux du milieu) et après 45 minutes de choc thermique puis 5 minutes de pause après choc (panneaux du bas). Les RPs et l'ARN Pol II Ser2p sont enrichies aux *loci hsp* avec un choc thermique, mais se dissocient rapidement à la fin du choc thermique.
Modifié de Brogna *et al.*, 2002.

Chez la levure, RPL32 (RP49 chez la drosophile) inhibe non seulement l'épissage de son propre ARNm en se fixant sur son premier intron (comme RPS13, Figure 33B) mais également sa traduction en restant fixée sur son propre ARNm (Dabeva *et al.,* 1993).

Ainsi, certaines RPs s'auto-régulent en contrôlant l'épissage de leur propre messager. L'épissage étant un mécanisme co-transcriptionnel, ces données suggèrent qu'elles sont présentes sur leur propre gène pendant la transcription, où elles bloqueraint l'action des facteurs d'épissage. Enfin, cela suggère également que ces RPs participeraient directement au contrôle transcriptionnel de la biogenèse des ribosomes et au maintien de l'homéostasie cellulaire.

4.2.1.2. Régulation transcriptionnelle par des RPs

Longtemps considérées uniquement pour leur fonction dans la traduction, et comme des contaminants lors d'analyse d'interacteurs protéiques par spectrométrie de masse, les RPs remplissent en fait de multiples fonctions, dites "extra-ribosomiques". En particulier, elles participent à la régulation de la transcription. En effet, les RPs se lient à la chromatine et contrôlent la transcription.

Depuis 1995, RPS14 est connue pour réguler la transcription de son propre gène chez l'homme. RPS14 libre (c'est à dire indépendamment du ribosome) se fixe pendant la transcription de son propre gène sur l'ARNm naissant, sur une région qui couvre une centaine de bases en 5'. Elle se fixe également sur des ARN antisens produits à partir de son premier intron. La fixation de RPS14 sur son messager bloque la transcription de *RPS14*, alors que les ARN antisens introniques l'activent (Tasheva et Roufa, 1995*)*.

Cependant, l'implication des RPs dans la régulation transcriptionnelle ne se limite pas à leur propre régulation :

En 2002, Brogna et coll. ont rapporté la fixation de 27 RPs sur les chromosomes polytènes chez la drosophile (Brogna *et al.,* 2002). Les sites de fixation des RPs correspondent à des interbandes de DAPI, régions transcriptionnellement actives. De plus, les RPs co-localisent parfaitement avec l'ARN pol II en cours d'élongation (ARN Pol II Ser2p Figure 34A), ce qui suggère que ces différentes RPs sont potentiellement associées sous forme de pseudo-ribosome (*ribosome-like*) et interagissent avec le transcrit naissant produit par l'ARN pol II.

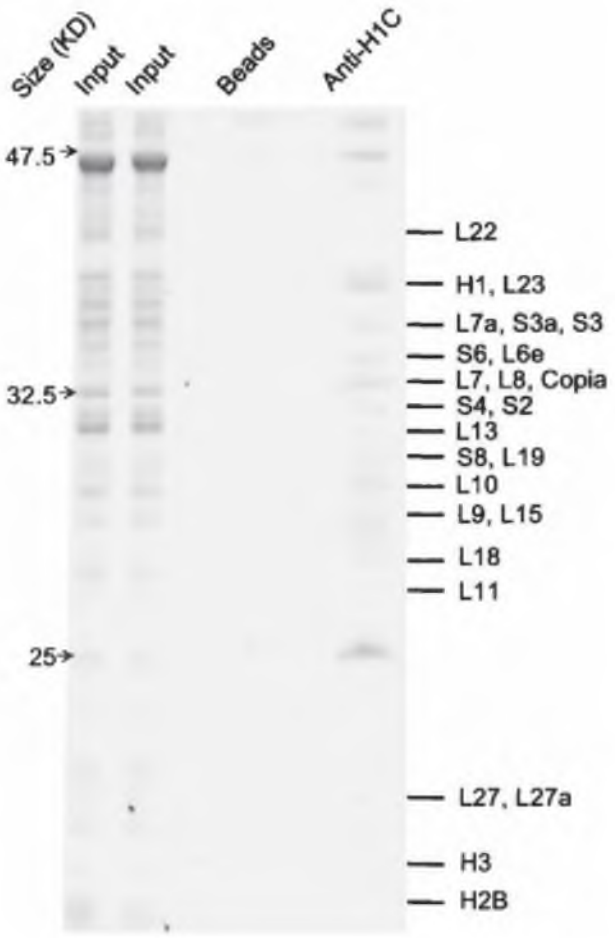


Figure 35 : Protéines ribosomiques nucléaires co-immunoprécipitées par l'histone H1.

Immunoprécipitation d'extraits nucléaires de cellules Kc de drosophile par des anticorps dirigés contre la partie C terminale de l'histone H1 (anti-H1C). Tiré de Ni *et al.*, 2006.

Ces auteurs ont également montré que ces RPs étaient associées sur la chromatine avec des facteurs de traduction (eRF3 et IF2 Figure 34B) et des ARNr des deux sous-unités (Figure 34C), suggérant alors la possibilité d'une traduction nucléaire.

La fixation des protéines RPS7bp, RPL7bp, RPL26ap et RPL34bp sur différents gènes cibles chez la levure *Saccharomyces cerevisiae* a également été démontrée par ChIP-PCR (Schroder et Moore, 2005). Des transcrits codants, mais également non codants, se fixent aux RPs, ce qui suggère que la présence de RPs ou de pseudo-ribosomes sur la chromatine n'est pas liée à une traduction nucléaire, comme initialement proposé par Iborra et coll. en 2001.

L'étude de la fixation sur la chromatine des RPs RPL11, RPL7 et RPL25 chez la levure *Schizosaccharomyces pombe* par ChIP-on-chip, révèle la fixation de ces trois protéines en de nombreux sites communs. Dans le cas de RPL7 et RPL11, la fixation dépend de l'ARN. Les trois protéines sont abondantes sur les régions transcrites mais également sur les promoteurs. De façon intéressante, les gènes des ARNt représentent 44% des cibles des trois RPs analysées. Les auteurs suggèrent que ces trois RPs sont associées en pseudo-ribosomes et contrôlent la synthèse des ARNt (De et Brogna, 2011). En accord avec ceci, trois autres RPs (RPL6, RPL26 et RPL14) co-immunoprécipitent avec TFIIIE chez *S. cerevisiae* (Dieci *et al.* 2009). De plus, RPL11 réprime la transcription médiée par l'ARN polymérase III dans des cellules de mammifères (Dai *et al.* 2010).

Dans les cellules Jurkat (lignée lymphocytaire T humaine), RPS3 est une sous-unité essentielle du complexe NF-κB qui interagit avec la sous-unité p65 du complexe. Ce complexe se fixe à des séquences d'ADN nommées *κB* motifs, avec peu d'affinité *in vitro*. RPS3, qui possède un domaine KH de liaison à l'ADN, permettrait la fixation spécifique du complexe NF-κB à ses cibles transcriptionnelles *in vivo* (Wan *et al.,* 2007).

Comme mentionné précédemment, certaines RPs sont impliquées dans la répression transcriptionnelle. Plusieurs RPs nucléaires co-immunoprécipitent avec l'histone H1 dans les cellules Kc de drosophile (Figure 35). En particulier, RPL22 s'associe avec l'histone H1 dans des régions de chromatine condensée. Lorsque l'expérience est réalisée en pré-incubant les extraits nucléaires avec du bromure d'éthidium (qui limite les interactions ADN-protéines), seules RPL7 et RPL22 co-immunoprécipitent avec H1, ce qui suggère que l'interaction entre H1 et les autres RPs n'est pas directe. La surexpression de RPL22

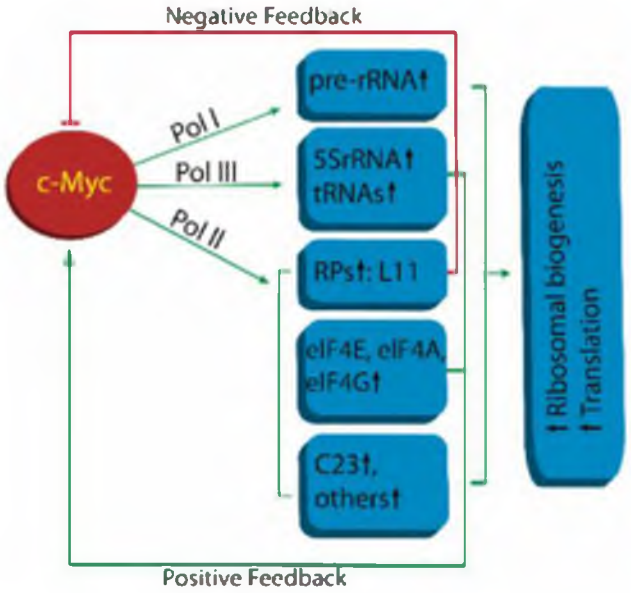


Figure 36 : c-Myc, biogenèse des ribosomes et traduction.

Tiré de Dai et Lu, 2008.

ou H1 réprime la transcription de certains gènes alors que leur inactivation par ARN interférence les active (Ni *et al.*, 2006).

4.3. Les ribosomes, gardiens de l'homéostasie cellulaire

Initialement définie par Claude Bernard, l'homéostasie est la capacité d'un système vivant à conserver son équilibre en dépit des contraintes extérieures (Bernard, 1865). L'homéostasie cellulaire s'appuie sur l'ajustement de la quantité de tous les composants cellulaires en fonction de l'environnement et de l'état physiologique de la cellule. La régulation de la biogenèse des ribosomes est donc cruciale pour le maintien de l'homéostasie cellulaire. La participation des RPs au contrôle de l'expression de leurs propres gènes ou des gènes des ARNt suggèrent qu'elles exercent elles-mêmes un contrôle de la biogenèse des ribosomes et, en conséquence, de l'homéostasie cellulaire. De plus, certaines RPs contrôlent d'autres voies impliquées dans l'homéostasie cellulaire, corroborant leur importance dans ce processus.

4.3.1. La voie Myc

c-Myc est un facteur de transcription essentiel à la croissance et à la prolifération cellulaires. c-Myc forme un hétérodimère avec Max; cet hétérodimère Myc/Max se fixe sue les séquences *E-box* (CACGTG), présentes dans les promoteurs de certains gènes (Adhikary et Eilers, 2005). c-Myc régule, entre autres, la transcription des trois ARN polymérases, contrôlant ainsi indirectement la biogenèse des ribosomes (Adhikary et Eilers, 2005 ; Oskarsson et Trumpp, 2005) (Figure 36).

De plus, c-Myc interagit avec différents facteurs de régulation des ARN polymérases. Par exemple, en se fixant aux TAFs, elle facilite le recrutement de l'ARN pol I sur les promoteurs des gènes des ARNr et augmente ainsi la synthèse des pré-ARNr (Arabi *et al.*, 2005 ; Grandori *et al.*, 2005 ; Grewal *et al.*, 2005). c-Myc augmente également la transcription du pré-ARNr 5S et des ARNt, médiée par l'ARN pol III, en interagissant directement avec TFIIIB (Gomez-Roman *et al.*, 2003).

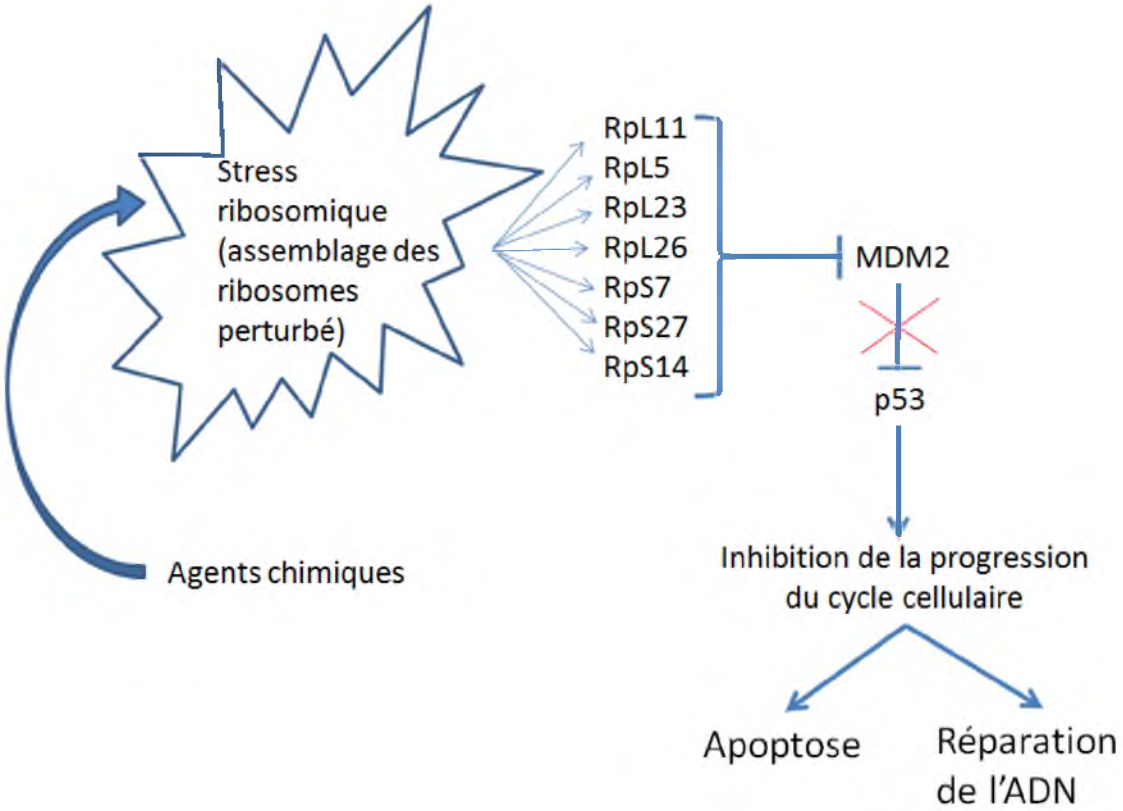


Figure 37 : Modèle de l'activation de *p53* par un stress ribosomique

En condition de surexpression de protéines ribosomiques libres, MDM2 est inactivée, ce qui conduit à l'activation de la voie p53.

Enfin, c-Myc active la transcription de nombreux gènes qui codent des protéines impliquées dans la biogenèse des ribosomes et la traduction (Boon *et al.,* 2001 ; Coller *et al.,* 2000 ; Guo *et al.,* 2000 ; Menssen et Hermeking, 2002). c-Myc contrôlerait ainsi directement la biogenèse des ribosomes.

Le gène *RPL11* fait également partie des cibles de c-Myc. De façon intéressante, la protéine RPL11 est impliquée dans une boucle de rétro-contrôle négatif de l'activité de c-Myc dans les cellules Kc de drosophile. En effet, l'inactivation de *RPL11* par ARN interférence augmente l'activité de c-Myc (Dai *et al.,* 2007a). RPL11 régulerait l'activité de c-Myc par différents mécanismes :

(1) RPL11 interagit physiquement avec c-Myc sur les promoteurs de ses cibles et inhiberait le recrutement d'un co-activateur essentiel de c-Myc appelé TRRAP (co-facteur des HATs TIP60 et GCN5). En effet, RPL11 et TRRAP interagissent avec le même domaine de c-Myc et entreraient en compétition (Dai *et al.,* 2007a). En empêchant la fixation de TRRAP, RPL11 réduirait l'acétylation des histones sur les promoteurs des gènes cibles ce qui diminuerait leur transcription.

(2) Un autre mode de régulation de l'activité de c-Myc passerait par sa relocalisation dans le nucléole en cas de surexpression de *RPL11* (Dai *et al.,* 2007b). Alors qu'on s'attendrait à ce que la quantité de c-Myc diminue en cas de surexpression de *RPL11*, le taux de c-Myc insoluble (présent dans les fractions nucléolaires et cytoplasmiques) augmente. En effet, RPL11 le relocaliserait dans le nucléole, empêchant sa dégradation.

(3) Enfin, l'inactivation de *RPL11* induit une augmentation du nombre des transcrits de *c-myc* dans les cellules (Dai *et al.,* 2007b). RPL11 régule les transcrits de *c-myc via* la voie des microARN. RPL11 se fixe au 3' UTR du transcrit *c-myc*, et recrute un complexe RISC chargé de *miR24* qui induit sa dégradation (Challagundla *et al.,* 2011).

D'autres protéines ribosomiques, comme RPL5, RPL23, et RPS7, co-purifient avec c-Myc sans que leur interaction directe et leur fonction dans le contrôle de l'activité de c-Myc n'ait été démontrées (Dai *et al.,* 2007a).

4.3.2. La voie p53

Le rôle du suppresseur de tumeurs p53 a été mis en évidence lors de l'étude du blocage du cycle cellulaire à la suite de lésions de l'ADN.

Dans les conditions normales, chez les mammifères, la quantité de protéine p53 libre dans la cellule est très faible, car p53 est séquestrée par la protéine MDM2, responsable de son ubiquitinylation. Cette modification entraîne la dégradation de p53 en la dirigeant vers le protéasome. En réponse à des lésions de l'ADN, ARF (*ADP ribosylation factor*) est synthétisée et séquestre MDM2 dans le nucléole (Lowe et Sherr, 2003). Ceci contribue indirectement à l'activation de p53 qui est libérée.

Un stress ribosomique ou nucléolaire (maturation anormale des ARNr par exemple) induit l'accumulation de p53. Un tel stress est provoqué par des agents chimiques ou génétiques qui perturbent la biogenèse des ribosomes (Figure 37). Entre autres évènements, on peut citer les défauts d'assemblage des petites et grandes sous-unités ribosomiques, ainsi qu'un défaut dans le dosage de certaines protéines ribosomiques. En effet, des mutations des gènes *RPS6* (Fumagali *et al.,* 2009), *RPL29* et *RPL30* (Sun *et al.,* 2010) perturbent l'assemblage des ARNr 18S et 28S dans le ribosome (Hölzel *et al.,* 2010) ce qui conduit à l'activation de la voie p53 et au blocage du cycle cellulaire. En conditions de stress ribosomique, le taux de RPs libres augmente, plusieurs RPs comme RPL11 (Bhat *et al.,* 2004 ; Zhang *et al.,* 2003), RPL5 (Dai et Lu, 2004), RPL23 (Dai *et al.,* 2004 ; Jin *et al.,* 2004), RPL26 (Zhang *et al.,* 2010), RPS7 (Chen *et al.,* 2007 ; Zhu *et al.,* 2009) RPS27 (Xiong *et al.,* 2011) et RPS14 (Zhou *et al.,* 2012) s'associent à MDM2, ce qui conduit à inhiber l'ubiquitination et ainsi la dégradation de p53.

Pour conclure, RPL11 semble jouer un rôle central de biocapteur de l'activité de biogenèse des ribosomes. Chez l'homme, diverses mutations de gènes codant des RPs conduisent à des syndromes regroupés sous le nom de ribosomopathies (Fumagali *et al.,* 2011). Les symptômes de ces pathologies laissent suggérer une action tissu-spécifique. Cependant, les interacteurs protéiques tissus-spécifiques des RPs ne sont pas connus car la plupart des études mettant en évidence l'implication des protéines ribosomiques dans les voies p53 et Myc ont été réalisées en lignées cellulaires ou chez la levure.

4.3.3. Contrôle de la croissance au cours du cycle cellulaire

Lors de la division cellulaire, une grande quantité de composants est partagée entre les deux cellules filles. Puis, en phase G1 du cycle, les cellules grossissent jusqu'à atteindre une taille critique (mis en évidence chez la levure *Saccharomyces cerevisiae* et appelé *setpoint*) à partir de laquelle les cellules entrent en phase S (Hartwell *et al.,* 1974 ; Johnston *et al.,* 1977). Chez *Saccharomyces cerevisiae*, l'inactivation de l'assemblage de la petite sous-unité ribosomique conduit à un blocage en phase G1 (Bernstein et Baserga, 2004). D'autres défauts du cycle cellulaire ont été observés lorsque la biogenèse des ribosomes est inhibée (Du et Stillman, 2002 ; Oeffinger et Tollervey, 2003; Jorgensen *et al.,* 2004 ; Saracino *et al.,* 2004). Dans des cellules murines, la déplétion de BOP1, qui est nécessaire pour l'assemblage du pré-ARNr de la grande sous-unité ribosomique, conduit également à un arrêt du cycle en phase G1 (Pestov *et al.,* 2001a, 2001b; Strezoska *et al.,* 2002).

Le volume cellulaire, le contenu protéique des cellules, le taux de synthèse protéique ou le taux de synthèse des ribosomes sont autant de facteurs qui pourraient représenter des "senseurs" de la taille critique de la cellule (*setpoint*) (Jorgensen et Tyers, 2004). Le biocapteur du *setpoint* n'est pas connu à ce jour mais plusieurs facteurs dont les mutants présentent des tailles cellulaires anormales ont été proposés : SFP1, facteur de transcription des ARNr, CDH1, activateur du complexe APC/C, ou WHI5, répresseur transcriptionnel (Jorgensen *et al.,* 2002; pour revue, voir Cook et Tyers, 2007).

De façon intéressante, nous avons montré au laboratoire que l'inactivation du gène codant la Cycline G chez la drosophile conduit à une augmentation de la taille des cellules, alors qu'inversement, sa surexpression conduit à une diminution de celle-ci, suggérant que cette cycline est impliquée dans le contrôle de la croissance cellulaire (Faradji *et al.,* 2011; Debat *et al.,* 2011). La surexpression du gène *Cycline G* rallonge la phase G1 du cycle, permettant d'émettre l'hypothèse que Cycline G participerait au *setpoint*. De façon intéressante, cette cycline possède également une activité transcriptionnelle, interagit avec plusieurs ETP (Corto, ASX) et se fixe sur la chromatine où elle co-localise en de multiples sites avec Corto et ASX (Salvaing *et al.,* 2008 et résultats non publiés). Ainsi, Cycline G et ces ETP pourraient être impliqués dans le contrôle du *setpoint*.

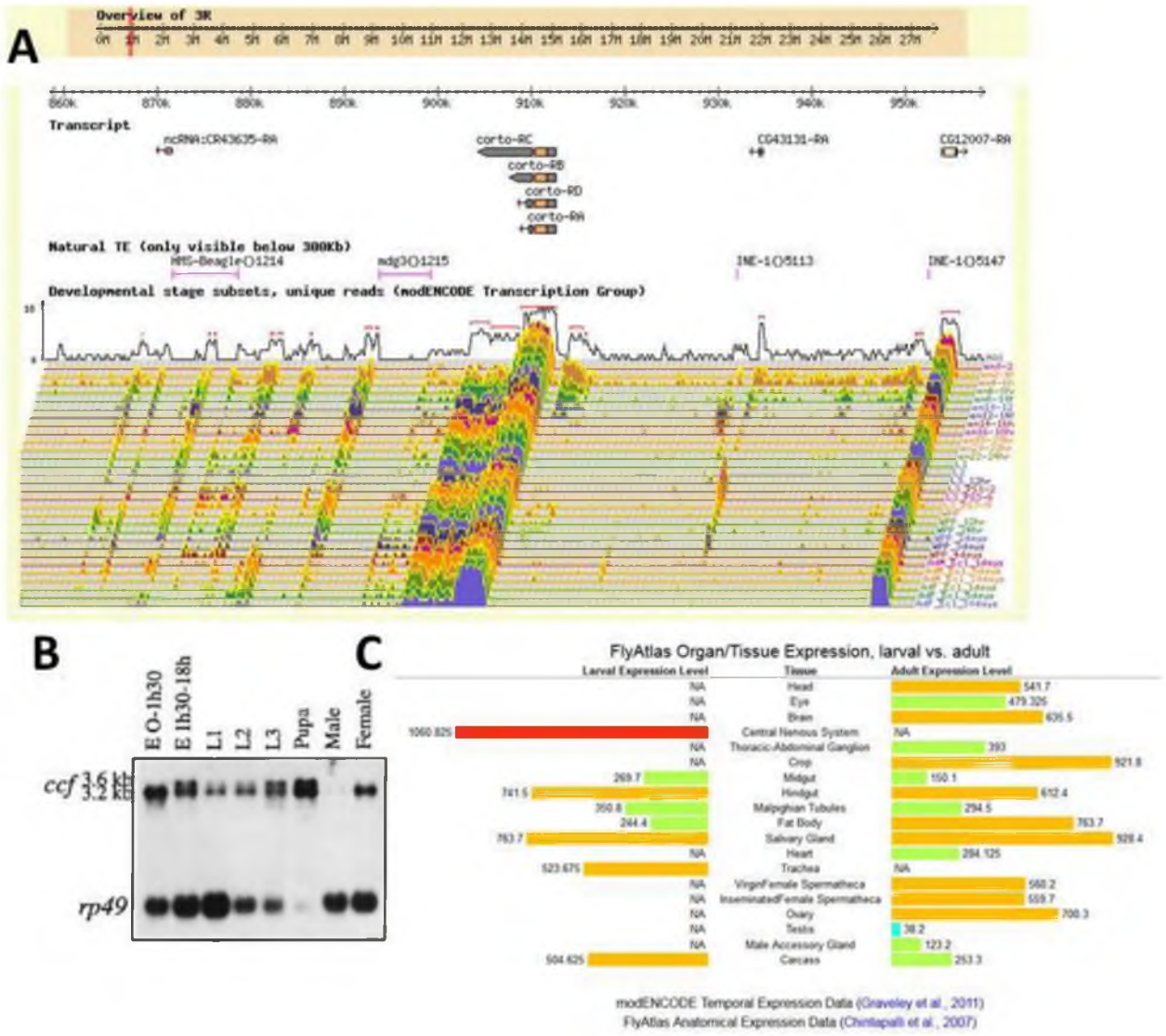


Figure 38 : Région chromosomique du gène *corto*

A Panneau du haut : Région 3R:858497-958496, comprenant les annotations de transcrits où la partie codante est en orange et les parties 5' et 3' UTR en gris, ainsi que les transposons naturels en rose. (d'après Flybase http://flybase.org). Panneau du bas : profils d'expression de la même région chromosomique ne montrant que les lectures uniques (issues du séquençage, en position unique dans le génome). Ainsi l'expression des transposons n'est pas indiquée, ceux-ci étant pour la plupart des éléments présents en plusieurs copies dans le génome. **B** Détection par Northern blot des transcrits du gène *corto* à différents stades du développement de la drosophile : embryons de 0-1h30 (présence de l'ARN maternel), embryons de 1h30-18h (ARN maternel et zygotique), et dans des banques de cDNA publiées (Brown and Kafatos, 1988). Adapté de Kodjabachian *et al.*, 1998. **C** Comparaison de l'expression de *corto* dans différents tissus de larve de troisième stade et adulte (Flybase : http://flybase.org/reports/FBgn0010313.html)

5 Corto, une protéine à chromodomaine atypique

Le gène *corto* a été mis en évidence dans une lignée "*enhancer-trap*" provenant du crible mené par Christiane Nüsslein-Volhard et Eric F. Wieschaus (prix Nobel de Physiologie et Médecine, 1995) pour identifier des gènes du développement chez la drosophile. Recensé à la fois sous le nom de *corto* et de *ccf* pour *centrosomal and chromosomal factor* (Kodjabachian *et al.*, 1998 et thèse), nous avons conservé le nom de *corto*, la localisation centrosomale de la protéine n'ayant pu être confirmée par la suite.

Comme discuté dans le Tableau 3 (Voir INTRODUCTION 2.5.3.2, Eisenberg, 2012), la protéine Corto présente un domaine structurel qui rappelle les chromodomaines, ou domaines d'adressage à la chromatine. Cependant, la similarité de séquence entre ce domaine et les chromodomaines reconnus comme tels est limitée. De plus, la structure de ce domaine n'a pas été caractérisée précisément (par exemple par cristallographie). Ainsi, la fonctionnalité de ce domaine n'était pas connue lorsque j'ai commencé ce travail.

5.1. Le gène *corto*

Le gène *corto* couvre une région de 3,6 kb sur le chromosome 3R. Il est isolé au sein d'une région chromosomique de 53kb (Figure 38A). Une unique CDS (*coding sequence*) de 1650 bp code une protéine de 550 acides aminés. Deux transcrits de 3,2 et 3,6 kb sont détectés par Northern blot (Figure 38B), correspondant à deux sites d'initiation de la transcription différents, le premier maternel, le second zygotique. L'expression de ces deux transcrits est forte durant l'embryogenèse et maximale aux stades larvaire tardif et pupal. Il faut noter que le transcrit maternel, exprimé dans les embryons précoces est encore détectable au stade pupal.

Des études plus récentes de l'expression de *corto* dans différents organes chez la larve de 3ème stade et chez l'adulte (RNAseq) confirment la présence ubiquitaire des transcrits à l'exception des testicules (ModENCODE, Figure 38C). L'expression dans les ovaires des femelles adultes est en accord avec la grande quantité de dépôt maternel d'ARN dans les embryons.

5.1.1. Mutants de corto

L'élément *P* (*P{LacZ, ry}*) de la souche "*enhancer-trap*" A46 est situé dans le promoteur de *corto* une vingtaine de paires de bases en amont du TSS. L'excision imprécise de A46 a entraîné une délétion de 16kb en aval du promoteur de *corto*, créant ainsi un allèle nul nommé $corto^{420}$ (Kodjabachian *et al.*, 1998). L'allèle $corto^{L1}$ a été obtenu par mutagénèse à l'EMS (Ethane Methyl Sulfoxide) (Marenda *et al.*, 2004).

Jusqu'à présent, ces deux allèles mutants n'avaient pas été décrits de façon précise moléculairement. La caractérisation moléculaire par RNAseq des allèles $corto^{420}$ et $corto^{L1}$ est présentée dans les données complémentaires de la partie résultats. Ces allèles sont des pertes de fonction (LOF), $corto^{420}$ est un allèle nul alors que $corto^{L1}$ est probablement un allèle amorphe.

Un autre allèle mutant, $corto^{07128}$, caractérisé récemment, correspond à l'insertion d'un élément *P* dans le promoteur du gène 0,5 Kb en amont de la partie 5'UTR (Smulders-Srinivasan *et al.*, 2010). $corto^{07128}$ est décrit comme un allèle nul (Mouchel-Viehl *et al.*, 2011).

Enfin, la déficience *Df(3R)6-7* est une délétion d'une région entière du chromosome 3R couvrant les positions cytologiques 82D à 82F et contenant une cinquantaine de gènes. Elle a été obtenue par mutagénèse aux rayons gamma (http://flybase.org).

5.1.2. Surexpression de corto

La séquence d'ADNc de *corto* a été clonée par Kodjabachian et coll. en 1998, puis insérée dans un vecteur de transgenèse sous le contrôle de séquences UAS permettant de l'exprimer en présence de Gal4 (*P[UAS-corto]*).

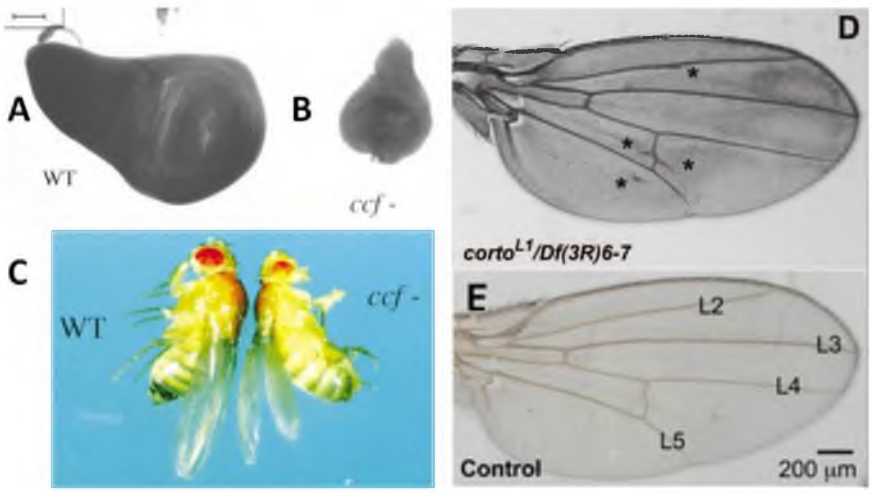


Figure 39 : Phénotypes LOF de *corto*.

A Disque imaginal d'aile de 3ème stade larvaire sauvage. **B** Disque imaginal d'aile de 3ème stade larvaire d'un mutant *corto*. Les disques sont présentés au même grossissement. **C** Mouche adulte *corto*^{420}*/Df(3R)6-7* comparée à une mouche sauvage. Adapté de Kodjabachian *et al.,* 1998. **D** Aile de mutant *corto* (*corto*^{L1}*/Df(3R)6-7*) présentant des veines ectopiques (astérisques), à comparer avec **E** aile de drosophile sauvage. Adapté de Mouchel-Viehl *et al.,* 2011.

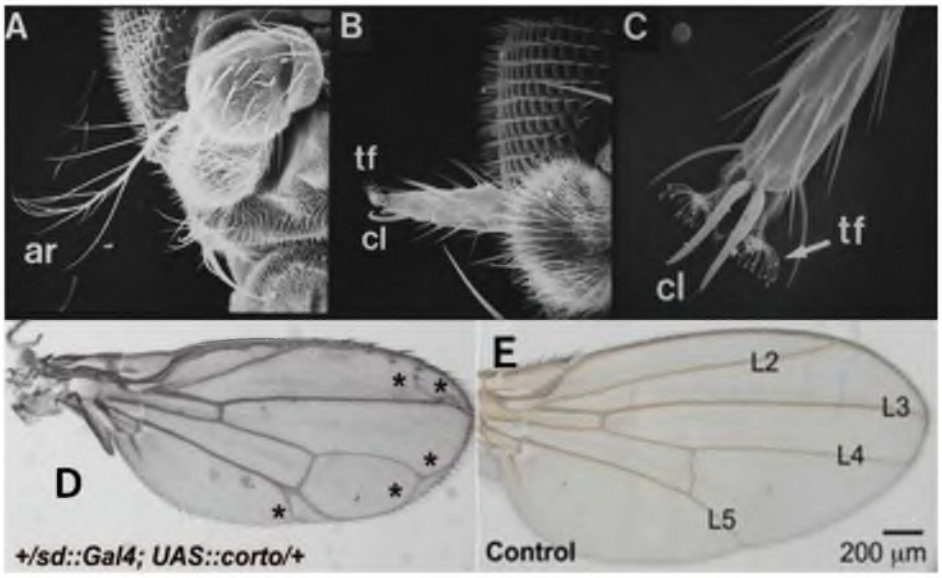


Figure 40 : Phénotypes GOF de *corto*.

A Arista sauvage (ar), **B** Arista de mouches GOF *corto* (*ptc-Gal4>UAS-corto*) transformé en segment tarsique de patte (phénotype *aristapedia*) où l'on distingue les structures distales « touffe » et griffe, notées tf (*tuft*) et cl (*claw*), grossies en **C**. Adapté de Kodjabachian *et al.,* 1998. **D** Aile de mouches GOF *corto* (*sd-Gal4>UAS-corto*) présentant des veines ectopiques (astérisques), **E** Aile de drosophile sauvage. Adapté de Mouchel-Vielh *et al.,* 2011.

5.1.3. Phénotypes des mutants

La perte de *corto* conduit à 90% de mortalité, s'étendant du premier stade larvaire au stade pupal tardif. En comparaison avec les hétérozygotes (*corto*^{420}/+), les individus homozygotes *corto*^{420} se développent très lentement, sont peu actifs durant les stades larvaires et présentent des disques imaginaux de taille très réduite (Figure 39A et B). Les survivants (≈10%) présentent des défauts des soies, comme la perte ou la duplication des macrochètes thoraciques, ainsi que des veines ectopiques sur les ailes (Figure 39 D et E). 50% des mâles survivants présentent un peigne sexuel ectopique sur le 2ème segment du tarse de la première paire de pattes (Kodjabachian *et al.*, 1998). Les clones germinaux *corto*^{420} (obtenus par recombinaison en utilisant le système FRT/FLP) meurent dès la fin du 1er stade larvaire, soulignant l'importance de la contribution maternelle de *corto* (Lopez *et al.*, 2001).

La surexpression ubiquitaire de *corto* (*P[UAS-corto]*) sous le contrôle de divers pilotes Gal4: *daughterless* (*da-Gal4*), *69B* (*69B-Gal4*), *tubulin* (*tub-Gal4*) et *Actin5C* (*Act5C-Gal4*) est létale. Sous le contrôle du pilote *scalloped* (*sd-Gal4*) (pilote exprimé pendant le développement dans les disques imaginaux, le cerveau, l'intestin et les trachées), la surexpression de *corto* induit la formation de veines ectopiques dans les ailes (Figure 40D et E). La surexpression de *corto* induite par le pilote *hsp70* (*hs-Gal4*) a été réalisée à différents moments du développement larvaire : 46% des individus présentent des veines ectopiques lorsque le choc thermique est réalisé au 3ème stade larvaire entre 96 et 120 heures après ponte (contre 18% en absence de choc thermique,). L'étude de l'interaction entre *corto* et différents acteurs de la détermination des tissus de l'aile suggére qu'il serait antagoniste à *rolled* (qui code la MAP kinase ERK) dans la formation des tissus de l'aile. La dérégulation de *corto* pourrait entraîner celle de certains gènes de pro-veine, comme *rhomboid*, et de pro-interveine, comme *blistered*, qui code l'homologue du SRF (*Serum Responsive Factor*) (Mouchel-Vielh *et al.*, 2011). La surexpression de *corto* à la frontière antéro-postérieure des disques imaginaux (en utilisant le pilote *patched-Gal4*) induit peu de mortalité au cours du développement. 100% des individus présentent un phénotype *aristapedia*, (Figure 4OA, B C) correspondant à la transformation partielle de l'arista en patte, des transformations partielles des balanciers en aile (transformations homéotiques), des *rotated genitalia* et la perte de soies scutellaires (Kodjabachian *et al.*, 1998; Lopez *et al.*, 2001).

5.1.4. corto, un nouvel Enhancer de Trithorax et Polycomb (ETP)

Comme nous l'avons souligné, les mutants *corto* présentent une transformation du second article de tarse en premier article de tarse dans la 1ère paire de pattes (phénotype dit homéotique bien qu'il corresponde à une transformation selon l'axe proximo-distal de la patte et non selon l'axe antéro-postérieur du corps) (Kodjabachian *et al.*, 1998 ; Lopez *et al.*, 2001). Ces phénotypes rappellent ceux de certains mutants de gènes du groupe Polycomb comme *Pc* (*Polycomb*), *ph* (*polyhomeotic*), *E(z)* (*Enhancer of zeste*) et *mxc* (*multi sex comb*).

Par ailleurs, environ 10% des individus $corto^{420}/+$ présentent des défauts des macrochètes thoraciques (duplication ou disparition de l'organe complet ou juste de la soie) et des veines ectopiques sur les ailes. Ces phénotypes sont également observés chez les mutants *trx*, *brm*, *ash2, kis* et *osa* (Adamson et shearn, 1996). Les mutants *corto* présentent donc également des phénotypes identiques à ceux de mutants de gènes trxG (Lopez *et al.*, 2001).

L'analyse des interactions génétiques entre *corto* et les gènes PcG et trxG montre une augmentation de la pénétrance des phénotypes PcG chez les individus hétéroalléliques $corto^-$ et PcG^- ainsi qu'une augmentation de la pénétrance des phénotypes trxG chez les individus hétéroalléliques $corto^-$ et $trxG^-$. Les gènes PcG et trxG étant généralement antagonistes (les mutants d'un groupe suppriment les phénotypes mutants de l'autre groupe), ces résultats étaient inattendus. Ces résultats placent le gène *corto* dans la catégorie des ETP.

5.2. La protéine Corto

La protéine Corto, d'une taille de 68 kDa, a une composition assez particulière : les sérines, glutamines et alanines représentent plus de 50% des acides aminés (contre 20% pour la moyenne des protéines de drosophile) et la glutamine représente à elle seule environ 25% des acides aminés (Kodjabachian *et al.*, 1998). Corto présente de nombreux sites potentiels de phosphorylation pour différentes kinases.

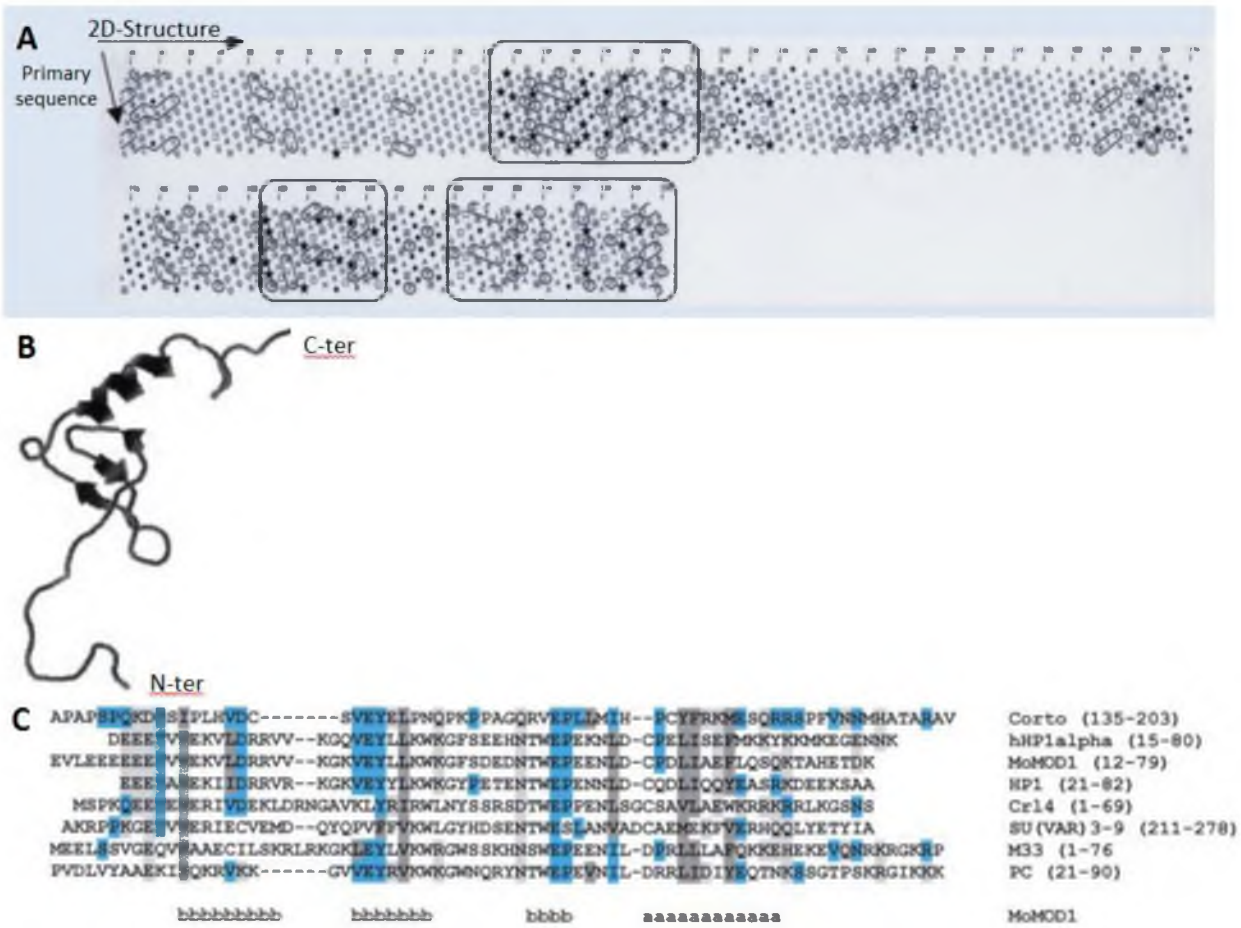


Figure 41 : Structure de la protéine Corto

A Représentation des groupes de résidus hydrophobes de la protéine Corto (P41046). Chaque point représente un acide aminé. Les trois domaines globulaires localisés en positions 127–203, 418–455 et 480–550, sont encadrés. **B** Structure en trois dimensions du chromodomaine putatif de Corto obtenu avec le logiciel MODELLER en utilisant le chromodomaine MoMOD1 comme modèle. **C** Alignement du domaine globulaire N-terminal de Corto et des chromodomaines de HP1α humaine, *Mouse Modifier Protein 1* (MoMOD1), HP1 de *D.melanogaster*, Clr4 de *S.pombe*, SU(VAR) 3-9 de *D.melanogaster*, M33 de souris et PC de *D.melanogaster*. Les acides aminés identiques entre Corto et les autres chromodomaines sont surlignés en bleu, ceux qui sont similaires sont surlignés en gris (résidus hydrophobes en gris foncés et résidus chargés en gris clair). La position des structures secondaires déterminées pour MoMOD1 sont indiquées sous l'alignement (a pour hélice α, b pour feuillet β) Tiré de Salvaing *et al.,* 2003.

Alors qu'aucune similarité entre la séquence primaire de Corto et d'autres protéines n'avait été révélée, l'étude de sa structure secondaire par *Hydrophobic Cluster Analysis* (Figure 41A) a montré l'existence de trois domaines globulaires.

Les deux domaines C-terminaux ne présentent pas de similarités avec des domaines conservés décrits, alors que le domaine N-terminal (acides aminés 127-203) présente des similarités avec le chromodomaine de MoMOD1 (*Mouse Modifier Protein 1*). L'alignement avec la séquence primaire de différents chromodomaines et la représentation de la structure en trois dimensions du domaine N-terminal de Corto suggèrent que ce domaine est un chromodomaine composé de trois feuillets β suivi d'une hélice α (Salvaing *et al.,* 2003) (Figure 41B et C) (pour revue, voir Yap et Zhou, 2011).

Des sous-parties de *corto* ont été clonées afin d'étudier l'implication de ces différents domaines lors d'analyses d'interactions protéiques (GST pull/down, crible double-hybride, co-immunoprécipitations) (Salvaing *et al.,* 2003, 2006, 2008) (Figure 42). Ces analyses ont permis de mettre en évidence (1) une dimérisation de Corto *via* son chromodomaine, (2) l'interaction directe du chromodomaine de Corto avec les ETP GAF et DSP1 eux-mêmes impliqués dans le recrutement à la chromatine des complexes TrxG et PcG (Horard *et al.,* 2000; Dejardin *et al.,* 2005), (3) l'interaction directe Corto avec les protéines PcG E(Z), ESC, PH, SCM (ce qui laisse envisager une interaction possible entre Corto et les complexes PcG PRC2 et PRC1), et (4) plus récemment, l'interaction de Corto avec une cycline atypique, Cycline G (Salvaing *et al.,* 2003, 2006 et 2008).

5.3. Corto, un régulateur transcriptionnel

Corto est impliqué dans la régulation de l'expression de certains gènes homéotiques. Les interactions génétiques entre *corto* et *dsp1* suggèrent leur implication dans l'activation du gène homéotique *Sex comb reduced* (*Scr*) dans le disque imaginal de patte T1 et leur participation à sa répression dans les disques T2 et T3. L'immunoprécipitation de la chromatine fixée à la formaldéhyde (XChIP) par un anticorps anti-Corto montre un enrichissement de la protéine sur le PRE/TRE du gène *Scr* dans les cellules S2 et dans les embryons.

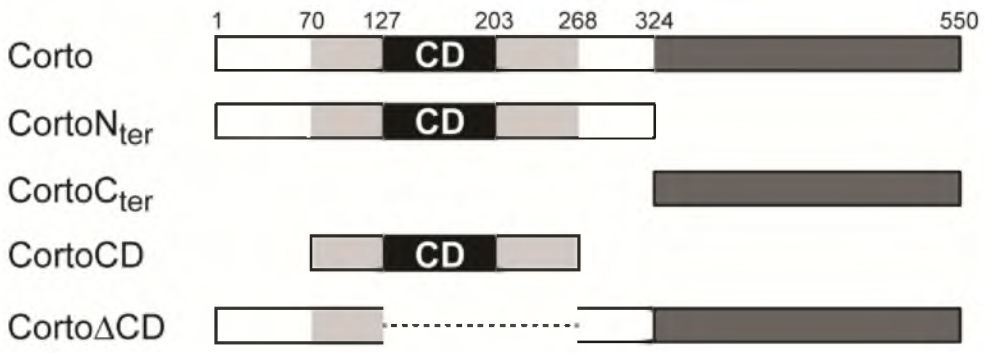


Figure 42 : Représentation schématique des constructions Corto.

En haut sont notés les acides aminés inclus dans les différentes constructions ; le chromodomaine est représenté en noir.

DSP1 fixe ce même PRE/TRE mais uniquement dans les cellules S2, où le gène *Scr* est exprimé (Salvaing *et al.,* 2006). Il est donc envisageable qu'en l'absence de fixation de DSP1 sur le PRE/TRE de *Scr*, Corto recrute les protéines PcG, maintenant ainsi la répression de *Scr*. Lorsque Corto et DSP1 sont présents simultanément sur le PRE/TRE, le recrutement des complexes PcG serait inhibé et celui des complexes TrxG serait favorisé, conduisant à l'expression de *Scr*.

Ainsi, ces données suggèrent que des combinatoires différentes d'ETP pourraient orienter le recrutement de complexes PcG *versus* TrxG sur les PRE/TRE (Salvaing, 2006).

Corto est également impliquée dans la régulation du gène *Abd-B* et se fixe sur le promoteur et le PRE/TRE *iab-7* d'*Abd-B* dans l'embryon (Salvaing *et al.,* 2008a et b).

Enfin, l'existence de très nombreux autres sites de fixation de Corto sur les chromosomes polytènes, ainsi que les phénotypes non-homéotiques de *corto*, suggérent que cette protéine est impliquée dans la régulation de nombreux autres gènes.

Au cours de ma thèse, je me suis attachée à caractériser les cibles transcriptionnelles ainsi que le chromodomaine atypique de Corto afin de comprendre comment cette protéine interagit avec la chromatine et comment elle induit le recrutement d'autres protéines, comme les complexes PcG ou TrxG.

Présentation du projet de thèse

La protéine Corto participe à la régulation transcriptionnelle des gènes Hox. Elle interagit avec différentes protéines des complexes Trithorax et Polycomb, ainsi qu'avec des ETP. La recherche de partenaires protéiques de Corto par un crible double hybride a mis en évidence son interaction avec plusieurs protéines, notamment Cycline G, la protéine d'échaffaudage MP1, le facteur d'élongation de la transcription ElonginC, et la protéine ribosomique Rp40.

L'interaction directe de Corto avec certains de ces ligands a été établie. Cependant, aucune interaction avec des histones susceptibles d'être méthylées, comme c'est le cas des autres chromodomaines, n'a été detectée.

L'objectif de ma thèse a été la caractérisation du chromodomaine de Corto et de son/ses ligand(s) spécifique(s), ainsi que l'étude de leur implication dans la régulation de la transcription.

II- RESULTATS

RESUME DE L'ARTICLE

Les chromodomaines sont des domaines conservés de nombreux régulateurs de la structure chromatinienne. La plupart d'entre eux reconnaît des histones méthylées. Nous avons étudié le rôle du chromodomaine de Corto. Cette protéine, Enhancer de Trithorax et Polycomb (ETP), est impliquée aussi bien dans la répression transcriptionnelle que dans l'activation transcriptionnelle. La surexpression du chromodomaine de Corto (CortoCD) dans une lignée de drosophiles transgéniques montre que ce domaine est critique pour la fonction de Corto, et qu'il se comporte comme un module d'adressage à la chromatine. Une étude par spectrométrie de masse des protéines immunoprécipités par CortoCD (peptide pull-down) à partir d'extraits nucléaires d'embryons de drosophile, révèle que les ligands correspondent à des RPs nucléaires (RPs) dont RPL12. Une mutagenèse dirigée des résidus potentiellement méthylés a montré l'importance de la lysine 3 de RPL12 dans la liaison avec CortoCD. Comme cela a été démontré par des analyses d'interaction protéique en temps réel, CortoCD se fixe à RPL12 tri-méthylée sur la lysine 3 (RPL12K3me3) de façon très spécifique. La co-localisation sur chromosomes polytènes de Corto et de RPL12 avec des marques épigénétiques activatrices suggère que ces protéines seraient impliquées dans la régulation de la transcription des gènes situés dans des régions de chromatine ouverte. De plus, nos résultats suggèrent que des complexes pseudo-ribosomiques composés de plusieurs RPs participeraient à la régulation de l'expression de gènes en collaboration avec des régulateurs de la chromatine. Des analyses par RNAseq du transcriptome des disques imaginaux d'aile de drosophile surexprimant soit CortoCD, soit RPL12, montrent que les deux protéines dérégulent majoritairement les mêmes gènes. De façon intéressante, ces cibles communes sont enrichies en gènes de RPs, suggérant que Corto et RPL12 seraient impliquées dans la coordination dynamique de la biogenèse des ribosomes.

ARTICLE

New partners in regulation of gene expression: the Enhancer of Trithorax and Polycomb Corto chromodomain interacts with methylated RPL12.

Anne Coléno-Costes, Suk Min Jang, Augustin de Vanssay, Julien Rougeot, Tahar Bouceba, Neel B. Randsholt, Stéphane Le Crom5, Emmanuèle Mouchel-Vielh, Sébastien Bloyer,† and Frédérique Peronnet,†.

INTRODUCTION

Chromatin structure strongly impacts on regulation of gene expression. Indeed, post-translational histone modifications (methylations, acetylations, phosphorylations *etc*...), called epigenetic marks, are recognized by protein complexes that shape chromatin (reviewed in Bannister and Kouzarides, 2011). A number of protein domains specifically interact with these modifications, thus inducing recruitment of chromatin remodelling or transcriptional complexes. Bromodomains recognize acetylated histones (reviewed in Zeng and Zhou, 2002) whereas 14-3-3 domains recognize phosphorylated histones (reviewed in Winter *et al.,* 2008). Methylated histones are recognized by chromodomains (chromatin organization modifier) (Paro and Hogness, 1991), which therefore belong to the Royal family of domains, known for their methylated lysine or arginine binding activity (reviewed in Yap and Zhou, 2011). Chromodomains share a common structure encompassing a folded three-stranded anti-parallel ß-sheet supported by an α-helix that runs across the sheet. This structure contains two to four well-conserved aromatic residues that form a cage around the methylated ligand (Ball *et al.,* 1997; Yap and Zhou, 2011).

Chromodomains were first identified in Polycomb (PC) and Heterochromatin Protein 1 (HP1) (Paro and Hogness, 1991). They are found in many other chromatin-associated proteins that belong to three classes according to their global structure: (1) PC family proteins harbor a single N-terminal chromodomain, (2) HP1 family proteins have an N-terminal chromodomain followed by a region termed a chromoshadow domain, and (3) CHD (Chromodomain/Helicase/DNA-binding domain) family proteins present two tandem chromodomains (reviewed in Yap and Zhou, 2011). Most chromodomains specifically recognize particular methylated residues on histones. For instance, the chromodomain of PC, which is a subunit of the PRC1 complex (Polycomb Responsive Complex 1), binds specifically H3K27me3 (Min *et al.,* 2003; Bernstein *et al.,* 2006).

Once recruited, PRC1 prevents RNA Polymerase II recruitment or transcriptional elongation and therefore mediates gene silencing (reviewed in Müller and Verrijzer, 2009). The chromodomain of HP1 binds H3K9me2 and H3K9me3, which are epigenetic marks characteristic of heterochromatin, and thus participates in heterochromatin shaping (Bannister *et al.,* 2001; Lachner *et al.,* 2001). Very few cases of non-histone chromodomain substrates are known (Huang and Berger, 2008). For example, the HP1 chromodomain also recognizes an autocatalytically methylated residue of the G9a histone H3 methyl-transferase (Sampath *et al.,* 2007).

Nucleic acid binding is another typical attribute of chromodomains, although the weak in vitro DNA-binding activity of HP1 or PC is not related to their chromodomains (Breiling et al., 1999; Zhao et al., 2000). Indeed, both chromodomains of the CHD protein dMi-2 bind DNA (Bouazoune et al., 2002). Several chromodomains bind RNA, notably non-coding RNA. The association of the mouse Polycomb protein CBX7 with the inactive X chromosome depends upon interaction of its chromodomain with RNA (Bernstein et al., 2006). Moreover, the CBX7 chromodomain also participates in repression of the INK4b/ARF/INK4a locus by binding the ANRIL RNA, antisense to this locus (Yap et al., 2010). Finally, MOF histone acetyl-transferase, involved in dosage compensation in Drosophila, binds the roX2 non-coding RNA via its chromodomain, this enabling recruitment of MOF to chromatin (Akhtar et al., 2000). Binding to non-coding RNA might thus be essential to recruit some chromodomain proteins to chromatin.

The *Drosophila melanogaster corto* gene encodes an Enhancer of Trithorax and Polycomb (ETP), *i.e.* a Polycomb (PcG) and Trithorax (TrxG) complex co-factor involved in both silencing and activation of gene expression (Gildea *et al.,* 2000; Lopez *et al.,* 2001). Indeed, Corto participates in transcriptional regulation of several homeotic genes together with these complexes and other ETPs (Salvaing *et al.,* 2006; Salvaing *et al.,* 2008). Corto protein binds chromatin and contains in its N-terminal part a single structured domain identified by hydrophobic cluster analysis and structural comparison as a chromodomain (Salvaing *et al.,* 2003). Hence, Corto would be closer to CBX proteins of the PcG class (Yap and Zhou, 2011). However, its chromodomain is rather divergent, since only two aromatic residues are conserved among the four that make a cage around the methylated residue. How Corto anchors to chromatin and more specifically, whether the chromodomain addresses Corto to chromatin, is not known. Here, we address this question by expressing a tagged Corto chromodomain in flies or in S2 cells.

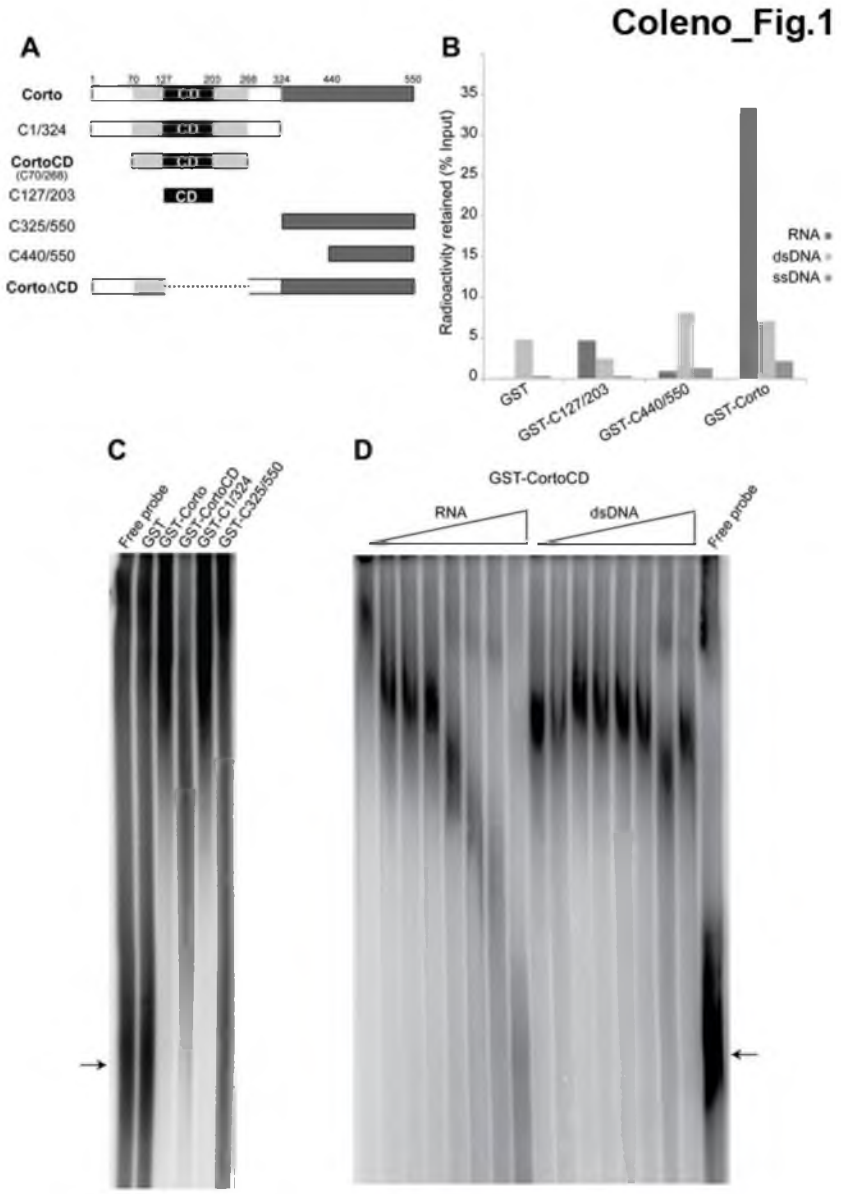


Figure 1: The Corto chromodomain binds RNA.

(A) Diagrams of Corto full-length and sub-parts used in this study. CD: chromodomain (amino-acids 127 to 203). Note that CortoCD (the enlarged chromodomain) covers amino-acids 70 to 268.
(B) Amounts of radioactive third instar larval RNA, double-stranded DNA (dsDNA) or single-stranded DNA (ssDNA) retained by GST, GST-C127/203, GST-C440/550 or GST-Corto as a percentage of total input radioactivity. RNAs were significantly retained by GST-Corto and to a lesser extent by GST-C127/203.
(C) EMSA using GST, GST-Corto, GST-CortoCD, GST-C1/324 and GST-C325/550, and a radioactive *AbdB* probe. Free radioactive probe is shown by an arrow. Note that the probe was retsained by GST-Corto, GST-CortoCD and GST-C1/324.
(D) EMSA showing that the GST-CortoCD/probe complex competed with RNA but not with double-stranded DNA. Free radioactive probe is shown by an arrow.

We show that the Corto chromodomain binds RNA and is a functional chromatin-targeting module, thus presenting main characteristics of other chromodomains. However, by peptide pull-down and mass spectrometry, we find that the Corto chromodomain interacts with nuclear ribosomal proteins, and notably binds with high affinity RPL12 tri-methylated on lysine 3 (RPL12K3me3).

Co-localization of Corto and RPL12 with active epigenetic marks on polytene chromosomes suggests that both proteins are involved in fine-tuning transcription of genes located in open chromatin. Lastly, investigation of Corto and RPL12 transcriptional targets by RNA-seq suggests that many are shared by both factors. Interestingly, these common targets are enriched in genes involved in ribosomal biogenesis.

RESULTS

The Corto chromodomain binds RNA

To analyze the affinity of Corto for nucleic acids, we checked its binding to radioactively labeled DNA or RNA extracted from *Drosophila* third instar larvae using GST pull-down. We examined GST, GST-Corto which is the full-length, 550 amino-acid protein, GST-C127/203 containing amino-acids 127 to 203 that correspond to the chromodomain *sensu stricto*, and GST-C440/550 containing the C-terminal end of Corto (Figure 1A); Salvaing *et al.,* 2003). Neither double-stranded nor single-stranded DNA were retained by the GST fusion proteins. However, RNAs were retained by GST-Corto and to a lesser extent by GST-C127/203, but not by GST-C440/550 (Figure 1B). We then performed EMSA using GST, GST-Corto, GST-C1/324 (the N-terminal half of the protein that contains the chromodomain), GST-C325/550 (the C-terminal half of the protein that contains the chromodomain) and GST-C70/268, an enlarged version of the chromodomain corresponding to amino-acids 70 to 268, and hereafter called CortoCD (Figure 1A).

Genotype	Number of fly observed	Lethality (%)	Duplicated macrochaetes (%)	Aristapedia (%)	Mean number of sex comb teeth (n=number of male first leg observed)	Rotated genitalia (%) (n=number of male observed)
Act::Gal4>UAS::FH-cortoCD-231	73	63.0	32.8	35.6	8.8 ± 0.8 (n=46)	nd
Act::Gal4>UAS::FH-cortoCD-41	143	79.0	30.0	34.3	9.2 ± 1.1 (n = 35)	nd
Act::Gal4>UAS::FH-cortoCD-45	67	76.0	31.3	43.3	8.6 ± 0.5 (n=10)	nd
Act::Gal4/+	164	22.5	3.6	0.6	10.8 ± 0.7 (n=41)	nd
da::Gal4>UAS::FH-cortoCD-231	93	91.0	9.7	38.7	8.8 ± 0.8 (n=54)	55.0 (n=82)
da::Gal4>UAS::FH-cortoCD-41	34	nd	8.8	67.6	8.7 ± 0.9 (n=30)	59.0 (n=27)
da::Gal4>UAS::FH-cortoCD-45	0	100.0	-	-	-	-
da::Gal4/+	202	19.0	2.0	0	11.2 ± 0.8 (n=80)	0

Table 1: Phenotype of flies overexpressing *cortoCD* under the control of ubiquitous Gal4 drivers.

Three different insertions of the *cortoCD* transgene (named 231, 41 and 45) were analysed.

nd: not determined.

Since Corto regulates expression of the homeotic gene *Abdominal B* (*AbdB*) and binds to its promoter (Salvaing *et al.,* 2008), we used a radioactive RNA probe covering the 5'-UTR of the *AbdB-m* transcript to check Corto binding. This probe was retained by GST-Corto, GST-CortoCD and GST-C1/324 but not by GST or GST-C325/550 (Figure 1C). Furthermore, RNA, but not DNA, competed the GST-CortoCD/probe complex (Figure 1D).

Similarly, the three fusion proteins containing the chromodomain, but neither GST nor GST-C325/550, retained an exogenous RNA probe corresponding to a *Wint* gene from Axolotl (*Awnt1*) (data not shown). Taken together, these data suggest that the Corto chromodomain binds RNA *in vitro* but without any sequence specificity.

The Corto chromodomain genetically reproduces full-length Corto function

To address the role of the Corto chromodomain *in vivo*, we used germline transformation and the binary *UAS/Gal4* system to construct transgenic flies expressing either full-length *corto*, *cortoΔCD* deleted of the chromodomain, or *cortoCD* fused to a nuclear localization signal coding sequence to force its entry into nuclei. Whereas transgenic flies ubiquitously overexpressing *corto* deleted of its chromodomain [*Actin5C* (*Act::Gal4>UAS::FH-cortoΔCD*) or *daughterless* (*da::Gal4>UAS::FH-cortoΔCD*) drivers] were perfectly viable and fertile, overexpression of *corto* using the same drivers (*Act::Gal4>UAS::corto* or *da::Gal4>UAS::corto*) was 100% lethal. Overexpression of FLAG and HA double-tagged *cortoCD* using again these drivers (*Act::Gal4>UAS::FH-cortoCD* or *da::Gal4>UAS::FH-cortoCD*) also induced high lethality at all developmental stages (from 63% to 100% depending on the transgenic line and the driver, Table 1). The escaper flies displayed rotated genitalia and duplicated macrochaetae as well as very penetrant homeotic phenotypes (Table 1, Figure 2).

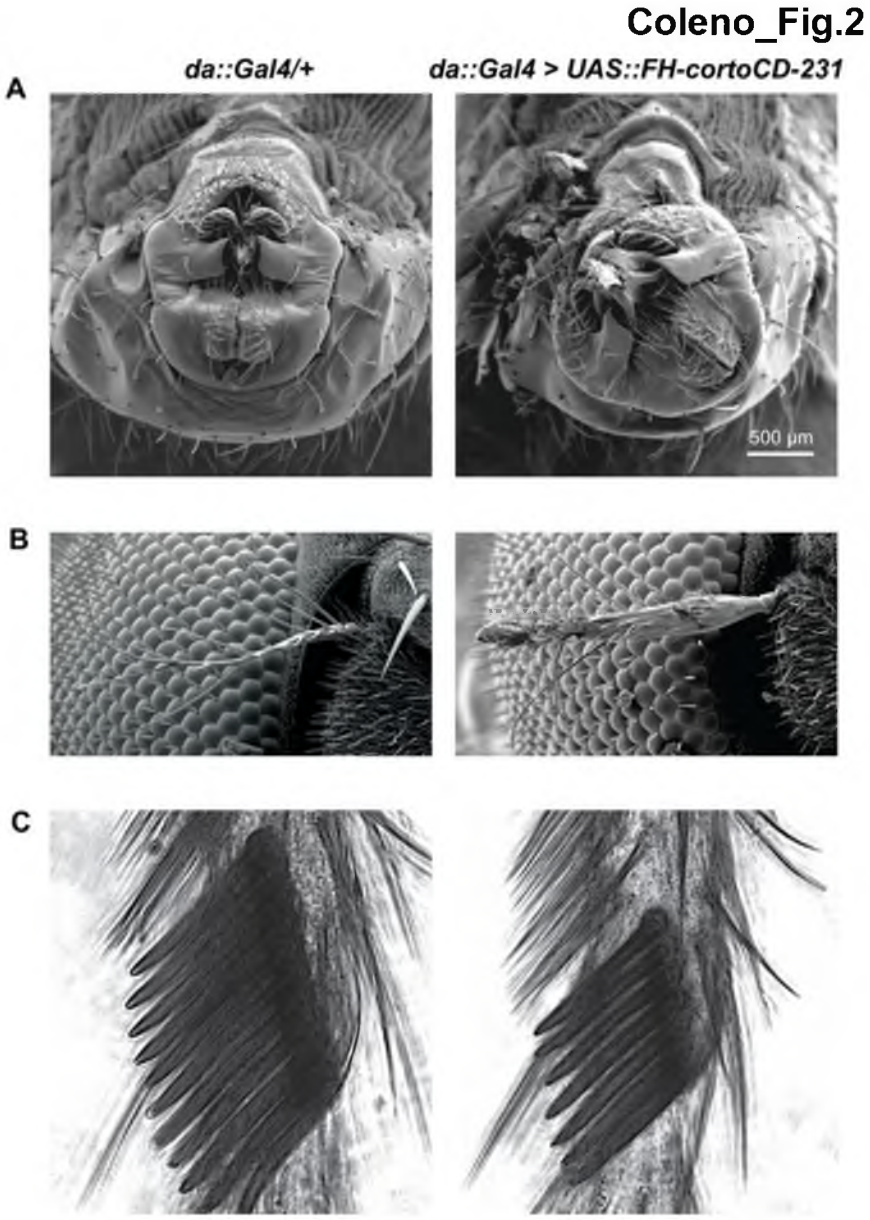


Figure 2: Phenotype of transgenic flies over-expressing *cortoCD*.

Scanning electron microscopy images of **(A)** genitalia, **(B)** arista and **(C)** sex combs On the left, control *da::Gal4/+* flies. On the right, *da::Gal4>UAS::FH-cortoCD-231* flies. Genitalia of males over-expressing *FH-cortoCD* present a phenotype called rotated genitalia. Arista of males over-expressing *FH-cortoCD* are transformed into leg, a phenotype called aristapedia. Finally, males over-expressing *FH-cortoCD* exhibit sex combs of reduced number of teeth, leading to a lower comb size.

Many flies presented a partial transformation of arista into leg, a homeotic phenotype called *Aristapedia*, that could reflect down-regulation of the *spineless-aristapedia* gene (Struhl, 1982). A similar phenotype is also observed when over-expressing full-length *corto* at the antero-posterior border of imaginal discs (*patched::Gal4>UAS::corto*) (Kodjabachian *et al.,* 1998).

Males over-expressing *cortoCD* also displayed smaller sex-combs, a phenotype opposed to that of *corto* mutant males that have ectopic sex combs (Kodjabachian *et al.,* 1998; Lopez *et al.,* 2001), and which could reflect reduced expression of the homeotic gene *Sex combs reduced* (*Scr*) (Pattatucci *et al.,* 1991). Taken together, these results suggest that the chromodomain is critical for Corto function.

The Corto chromodomain is a chromatin-targeting module

Corto binds polytene chromosomes of third instar larva salivary glands at many sites (Salvaing *et al.,* 2003). To test the role of Corto chromodomain in chromatin binding, we immunostained polytene chromosomes of larvae over-expressing *cortoCD* in salivary glands [*escargot* Gal4 driver, (*esg::Gal4>UAS::FH-cortoCD*)] with anti-FLAG antibodies. FH-CortoCD bound polytene chromosomes at many discrete sites, showing that the chromodomain is a genuine chromatin-targeting module (Figure 3A). Like endogenous Corto, FH-CortoCD preferentially bound DAPI interbands and puffs, *i.e.* regions corresponding to open or actively transcribed chromatin. Comparison of endogenous Corto binding in wild-type larvae and FH-CortoCD binding in *esg::Gal4>UAS::FH-cortoCD* larvae at the tip of chromosome 3L showed that these proteins shared most of their binding sites (Figure 3B).

These results indicate that FH-CortoCD mimics Corto binding on polytene chromosomes and that the Corto chromodomain is a true chromatin-addressing module.

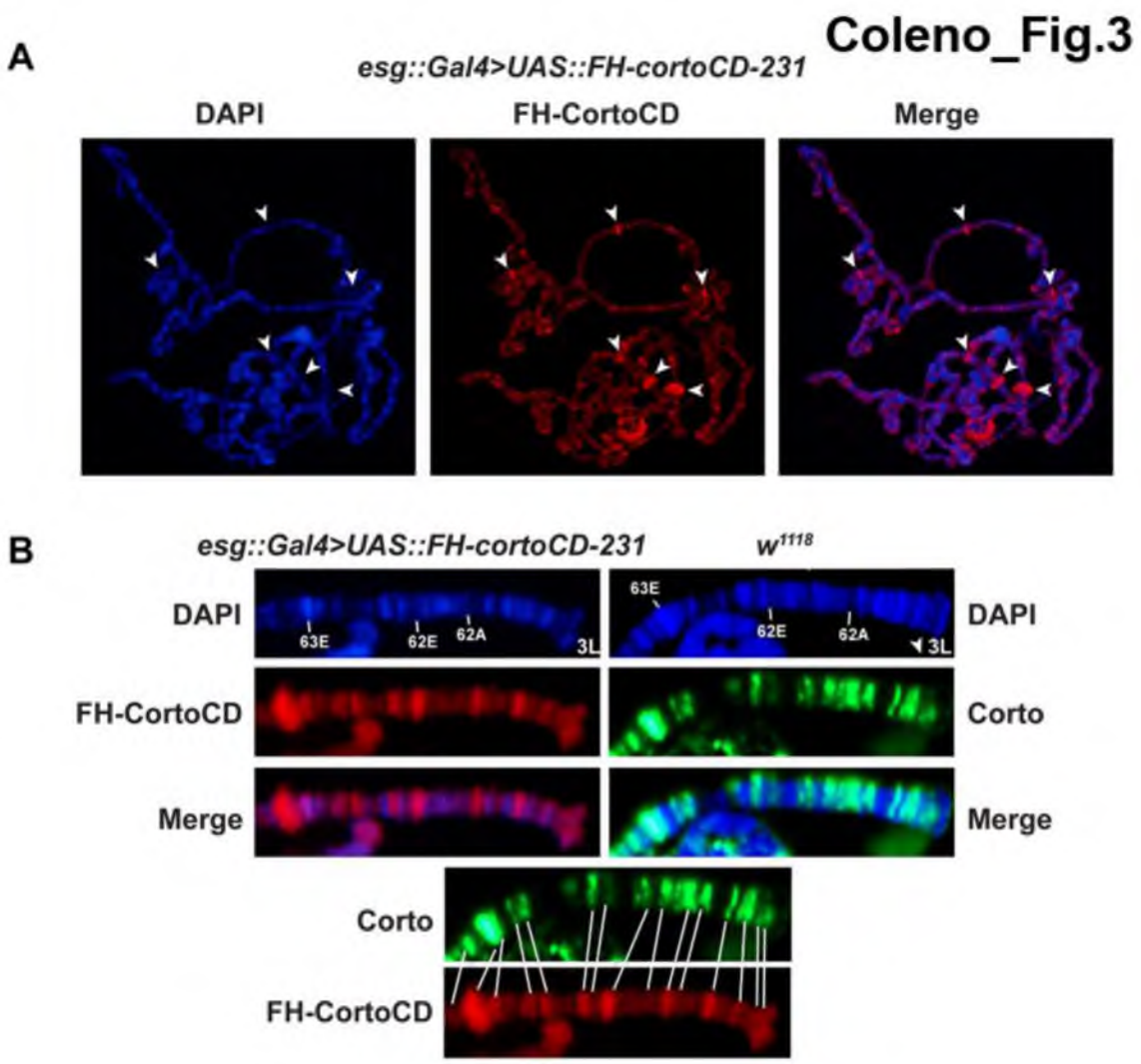


Figure 3: The Corto chromodomain is a chromatin-targeting module.

(A) Squash of salivary gland polytene chromosomes from an *esg::Gal4>UAS::FH-cortoCD-231* third instar larva. Anti-FLAG immunostaining shows that FH-CortoCD binds chromatin at many sites (left: DAPI, middle: anti-FLAG, right: merge). Arrow-heads point to DAPI free Corto bands.
(B) Magnifications of the tip of polytene chromosome 3L (segments 61 to 63) from either an *esg::Gal4>UAS::FH-cortoCD-231* third instar larva immunostained with anti-FLAG antibody or a w^{1118} third instar larva immunostained with anti-Corto antibody (DAPI, immunostaining, merge). Bottom: conformity between endogenous Corto and FH-CortoCD binding sites.

The Corto chromodomain interacts with nuclear ribosomal proteins

These results prompted us to identify the anchor(s) of Corto chromodomain on chromatin. Binding of endogenous Corto to chromatin, as well as binding of FH-CortoCD, was resistant to RNase treatment, indicating that Corto binding does not depend on its interaction with RNA (data not shown). We next incubated GST-CortoCD or GST with nuclear extracts from embryos and resolved retained polypeptides by SDS-PAGE. Four bands between 30 and 15 kDa (P30, P21, P20 and P15) consistently appeared after incubation with GST-CortoCD, but were not seen after incubation with GST (Figure 4A). The content of the bands were identified by mass spectrometry. Surprisingly, all four contained ribosomal proteins: RPL7 for P30, RPS11 for P21, RPS10, RPL12 and RPL27 for P20, and RPS14 for P15 (Table 2).

Table 2: Mass spectrometry analysis of peptides specifically pulled down by Corto-CD.

The four bands (P30, P21, P20 and P15) were excised from the gel (see Figure 4) and analyzed by mass spectrometry.

Band	Protein	CG	MW (Da)	Score	Peptides	Coverage %	Sequences
P30	RpL7	CG4897-PA	29534	107	2	10	R.QRVPITDNFVIER.KR.IAEPYITWGYPNLK.S
P21	RpS11	CG8857	18101	38	2	9	K.QFGVNLNR.K R.DYLHFVR.K
P20	RpS10	CG14206-PC	17867	42	1	8	K.GDVGPGAGEVEFR.G
	RpL12	CG3195-PA	17585	56	2	14	K.IGPLGLSPK.K R.CVGGEVGATSSLAPK.I + carbamidomethyl (C)
	RpL27	CG4759-PA	15893	79	2	15	R.YTAHDISFEK.L K.SLNYNHLMPTR.Y + oxidation (M)
P15	RpS14	CG1524-PB	16255	82	3	17	K.EEVQVQLGPQVR.D R.IEDVTPIPSDSTR.R R.IEDVTPIPSDSTRR.K

Although ribosomal proteins might be contaminants, their consistent enrichment in peptide pull-down experiments performed with nuclear extracts prompted us to consider their binding to CortoCD.

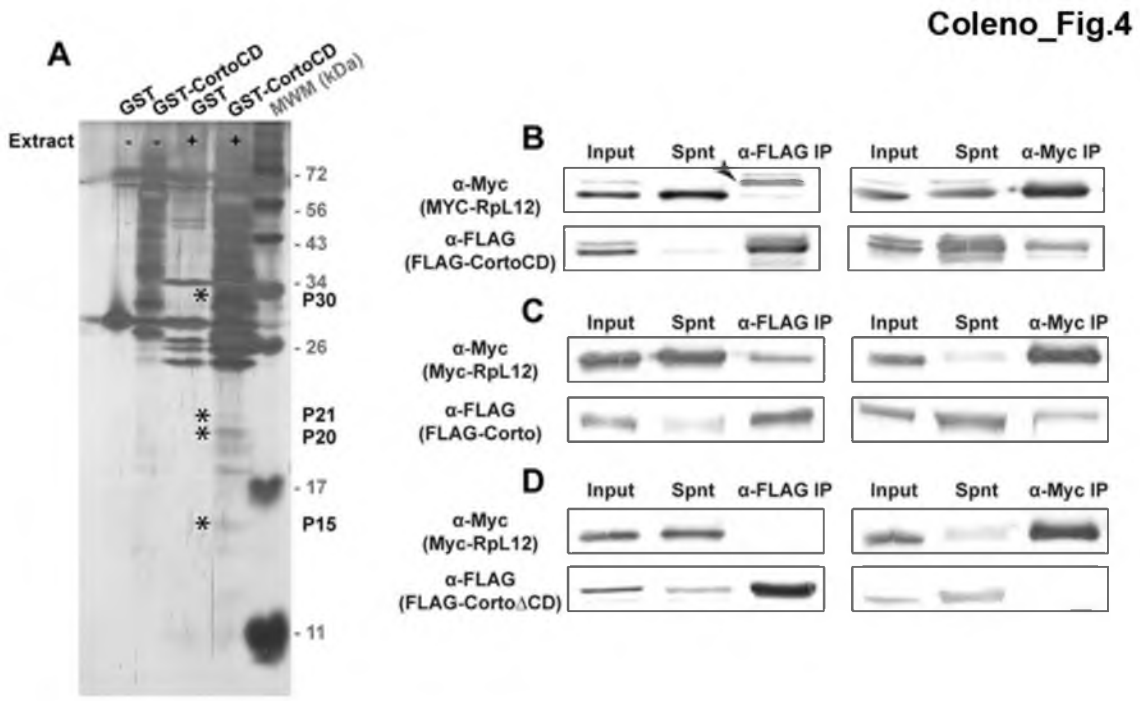


Figure 4: Corto interacts with nuclear ribosomal proteins.

(A) Silver stained polyacrylamide gel showing peptides pulled down by GST or GST-CortoCD from embryonic nuclear extracts. Four bands consistently appearing after incubation with GST-CortoCD are shown by asterisks (P30, P21, P20 and P15).
(B, C, D) Co-immunoprecipitation experiments. S2 cells were co-transfected with plasmids expressing FLAG-CortoCD, FLAG-Corto or FLAG-CortoΔCD and Myc-RPL12. Immunoprecipitations were performed with either anti-FLAG (α-FLAG) or anti-Myc (α-Myc) and revealed with the same antibodies. Spnt: supernatant, IP: immunoprecipitation.
(B) FLAG-CortoCD co-immunoprecipitated Myc-RPL12 and conversely. Note that Myc-RPL12 co-immunoprecipitated with FLAG-CortoCD was enriched in the higher molecular weight forms (arrowhead).
(C) FLAG-Corto co-immunoprecipitated Myc-RPL12 and conversely.
(D) FLAG-CortoΔCD did not co-immunoprecipitate with Myc-RPL12 and conversely.

Among ribosomal proteins pulled down by Corto chromodomain, only RPL12 is known to be methylated in several species (Porras-Yakushi *et al.,* 2006; Polevoda and Sherman, 2007; Sadaie *et al.,* 2008). As many chromodomains recognize methylated lysines, we focused on the interaction between CortoCD and RPL12.

Corto interacts with RPL12

We generated vectors to produce FLAG-tagged Corto or Corto derivatives (CortoCD, CortoΔCD) and Myc-tagged RPL12 in *Drosophila* S2 cells. Co-immunoprecipitations were performed on cell extracts from transfected cells, using either anti-FLAG or anti-Myc antibodies. Anti-FLAG co-immunoprecipitated Myc-RPL12 with FLAG-CortoCD and conversely, anti-Myc co-immunoprecipitated FLAG-CortoCD with Myc-RPL12 (Figure 4B). In a similar experiment using FLAG-tagged full-length Corto, co-immunoprecipitation was again observed in both directions (Figure 4C). However, no co-immunoprecipitation was observed between FLAG-tagged CortoΔCD and Myc-tagged RPL12 (Figure 4D). These results demonstrated the interaction between RPL12 and full-length Corto and showed that Corto chromodomain was necessary and sufficient for this interaction.

Interestingly, FLAG-CortoCD mainly immunoprecipitated with an electrophoretically retarded form of RPL12, suggesting that CortoCD interacts with a post-translationally modified form of RPL12.

The Corto chromodomain interacts with RPL12 tri-methylated on lysine 3

Since chromodomains typically recognize methylated lysines, we asked whether Corto chromodomain could bind a methylated form of RPL12. *D. melanogaster* RPL12 was aligned with RPL12 from several species to identify conserved residues known to be methylated in some of them (Figure 5A).

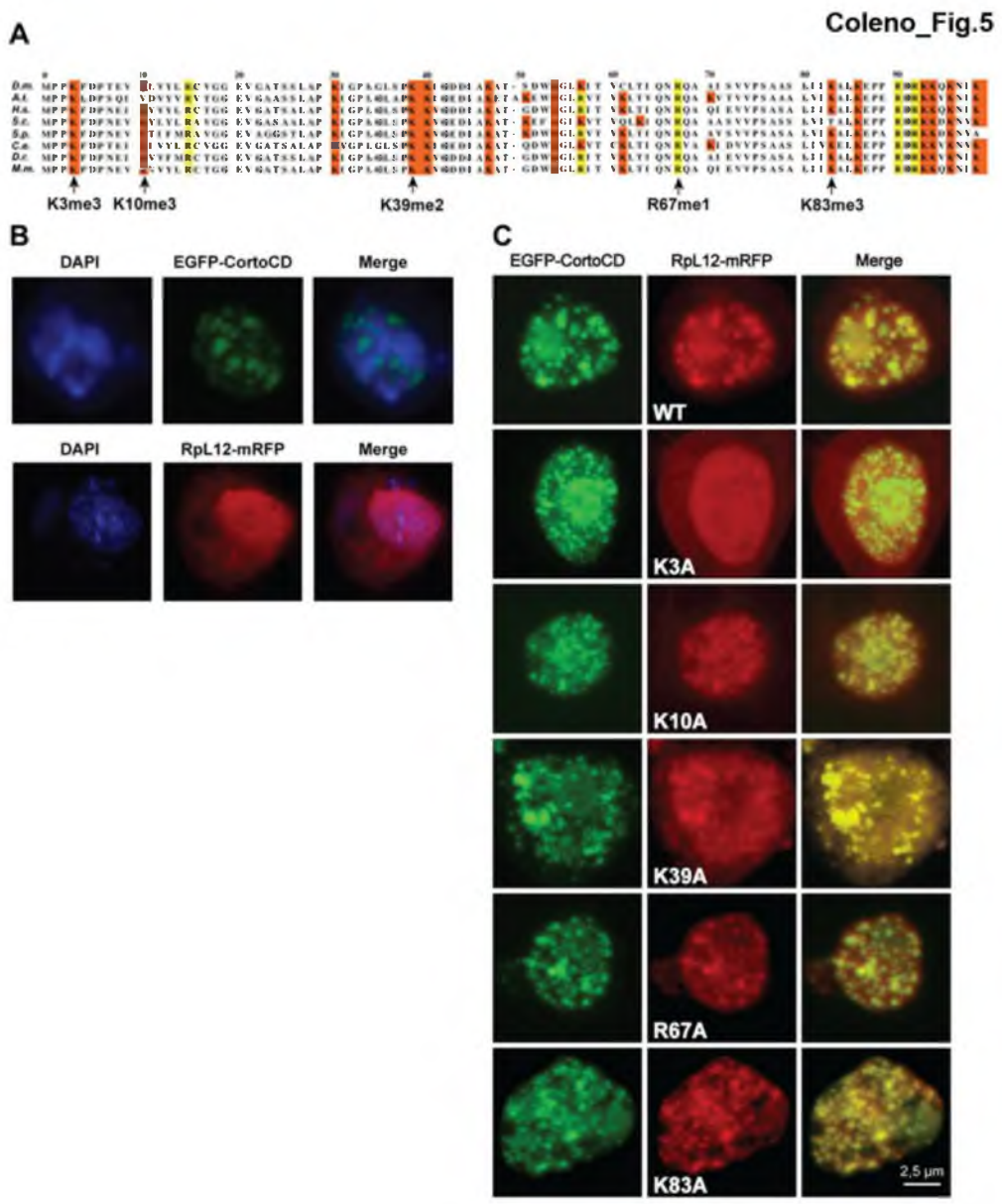


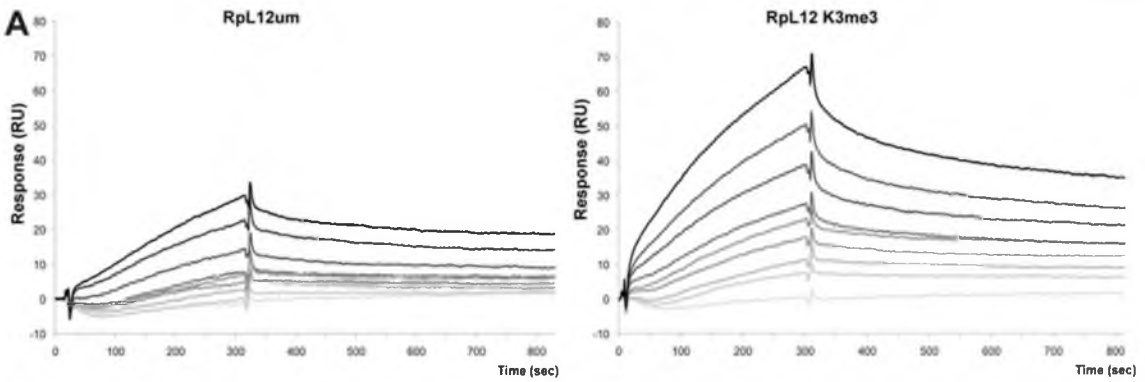
Figure 5: Lysine 3 of RPL12 is essential for interaction with Corto.

(A) PRALINE multiple sequence alignment of the 100 first residues of RPL12 from several species showing lysines (highlighted in orange) or arginines (highlighted in yellow) known to be methylated in several species. *Drosophila melanogaster* (*D.m.*; AE013599), *Arabidopsis thaliana* (*A.t.*; AAD18140), *Homo sapiens* (*H.s.*; NM_000976), *Saccharomyces cerevisiae* (*S.c.*; NP_010860), *Schizosaccharomyces pombe* (*S.p.*; NP_587897), *Cænorhabditis elegans* (*C.e.*; NP_502542), *Danio rerio* (*D.r.*; AAI65413) and *Mus musculus* (*M.m.*; CAM22324). Lysine 3 is trimethylated in *H.s, S.c, S.p.* and *A.t.*; lysine 10 was shown to be trimethylated in *S.c.*; lysine 39 was shown to be dimethylated in *S.p.* (Sadaie et al., 2008); arginine 66 was shown to be δ-monomethylated in *S.c.* and *S.p.* (Porras-Yakushi et al., 2006; Chern et al., 2002;Sadaie et al., 2008;Carroll et al., 2008). **(B)** *Drosophila* S2 cells expressing either EGFP-CortoCD (top) or RPL12-mRFP (bottom). CortoCD was provided with a nuclear localization signal to force its entry into the nucleus. Note its punctuated pattern in the nucleus. RPL12-mRFP was present in both nuclear and cytoplasmic compartments. **(C)** Simultaneous expression of EGFP-CortoCD and wild-type or mutant RPL12-mRFPs in *Drosophila* S2 cells. EGFP-CortoCD perfectly co-localized with RPL12-mRFP, as well as with RPL12K10A, RPL12K39A, RPL12R67A and RPL12K83A, within nuclei, exhibiting a punctuated pattern. Note that wild-type RPL12 and these mutant forms were no more detectable in the cytoplasm. RPL12K3A did not adopt a punctuated nuclear pattern and was still detectable in the cytoplasm.
Scale bar: 2.5 µm.

Lysines 3, 10, 39 and 82, as well as arginine 66 fulfilled these criteria. Using site-directed mutagenesis, we replaced these residues with alanine in RPL12 cDNA, thus generating a serie of mutants (RPL12K3A, RPL12K10A, RPL12K39A, RPL12R67A and RPL12K83A). These cDNAs were introduced into a plasmid allowing their expression as mRFP-tagged proteins in *Drosophila* S2 cells. Similarly, the *cortoCD* cDNA, supplied with a nuclear localization signal, was introduced into a plasmid allowing its expression as an EGFP-tagged protein in S2 cells. When expressed in these cells, EGFP-CortoCD artificially entered the nucleus where it exhibited a punctuated pattern, that recalled Polycomb bodies (Figure 5B) (Strutt and Paro, 1997). A similar nuclear pattern was observed after immunostaining of untransfected S2 cells with anti-Corto antibodies. However, these "Corto bodies" did not overlap with Polyhomeotic (PH) but with RNA Polymerase II suggesting that they were transcriptional factories rather than Polycomb bodies (Suppl. Figure 1).

RPL12-mRFP expressed alone was present in the cytoplasm and the nucleus, where it appeared slightly punctuated (Figure 5B). Interestingly, when co-expressed with EGFP-CortoCD, all the RPL12-mRFP localized in the nucleus (Figure 5C). Both proteins perfectly matched in a punctuated nuclear pattern, corroborating the interaction between CortoCD and RPL12. Similar experiments were carried out using the RPL12 mutant forms. Whereas RPL12K10A, RPL12K39A, RPL12R67A and RPL12K83A co-localized with CortoCD, RPL12K3A did not, strongly suggesting that Corto chromodomain interacts with lysine 3 of RPL12, and that this interaction is functional *in vivo* (Figure 5C).

Coleno_Fig.6



B

CortoCD	K_a ($M^{-1}s^{-1}$)	K_d (s^{-1})	K_D (µM)
RpL12um	1.2	$7.6.10^{-4}$	624
RpL12K3me2	4.1	$9.9.10^{-4}$	238
RpL12K3me3	106	$8.2.10^{-4}$	8

C

	RpL12um	RpL12K3me2	RpL12K3me3	RpL12K10me3	RpL12K3A
CortoCD	624	238	8	NB	NB
HP1CD	> 1000	nd	292	NB	NB

D

	H3K4me3	H3K9me3	H3K27me3	H3um	H3K27um
CortoCD	NB	NB	NB	NB	NB
HP1CD	NB	0.4	0.7	NB	NB

Figure 6: Preferential binding of Corto chromodomain to RPL12 trimethylated on lysine 3.

(A) Biacore™ sensorgrams showing binding to CortoCD of either RPL12 unmethylated peptide (RPL12um, left panel) or RPL12 peptide methylated on lysine 3 (RPL12K3me3, right panel). Increasing concentrations of RPL12um or RPL12K3me3 peptides were used [from 0 (light grey lines) to 10 µM (darker grey to black lines]. Binding (Y-axis, Response) is expressed in resonance unit (RU).
(B) Kinetic parameters of interaction between CortoCD and RPL12um, RPL12K3me2 or RPL12K3me3 peptides. Note that CortoCD interacts specifically with RPL12 trimethylated on lysine 3 (K_D=8 µM).
(C) Equilibrium dissociation constant (K_D) calculated for CortoCD or HP1CD in interaction with RPL12um peptide, RPL12 methylated peptides, and RPL12K3A peptide.
(D) Equilibrium dissociation constant (K_D) calculated from CortoCD or HP1CD interacting with unmethylated or trimethylated histone H3 peptides. For H3K9me3, peptide concentrations were increased from 0 to 1 µM. For RPL12 and H3K27me3 peptide concentrations were increased from 0 to 10 µM. NB: no binding; nd: not determined.

To test this, we measured real-time binding between CortoCD and several RPL12 peptides using Biacore™. GST-CortoCD or GST was immobilized on a sensor chip. Then, several RPL12 peptides [unmodified (RPL12um), methylated on lysine 3 (RPL12K3me2, RPL12K3me3), methylated on lysine 10 (RPL12K10me3) or lysine 3 mutated (RPL12K3A)] were assayed for their binding to GST-CortoCD or GST (Figures 6A,B,C). None of these peptides bound GST. Furthermore, unmodified RPL12, RPL12K3me2, RPL12K10me3 and RPL12K3A peptides did not interact with CortoCD (no binding or unspecific binding *i.e.* K_D>200 μM). Only RPL12K3me3 interacted with high specificity with CortoCD (K_D=8 μM).

To investigate whether RPL12K3me3 could bind to other chromodomains, we repeated these experiments using that of HP1 (HP1CD). GST-HP1CD was immobilized on the sensor chip and binding of either RPL12, RPL12K3me3, RPL12K10me3 or RPL12K3A was tested. None of these peptides interacted with HP1CD (Figure 6C).Although no histones were revealed among peptides pulled down by CortoCD, we monitored binding of several histone H3 peptides to CortoCD. No binding of unmodified H3, H3K27me3, H3K9me3 or H3K4me3 peptides was observed (Figure 6D) while, as expected, the H3K9me3 peptide bound HP1CD with high affinity (K_D = 0.4 μM for H3K9me3). Surprisingly, the H3K27me3 peptide bound HP1CD with a similar affinity (K_D = 0.7 μM), probably because it requires the hinge and chromodomain regions adjacent to the chromodomain in HP1 for selective targeting (Smothers and Henikoff, 2001).

Altogether these data demonstrate that the Corto Chromodomain specifically recognizes RPL12 trimethylated on lysine 3 (RPL12K3me3).

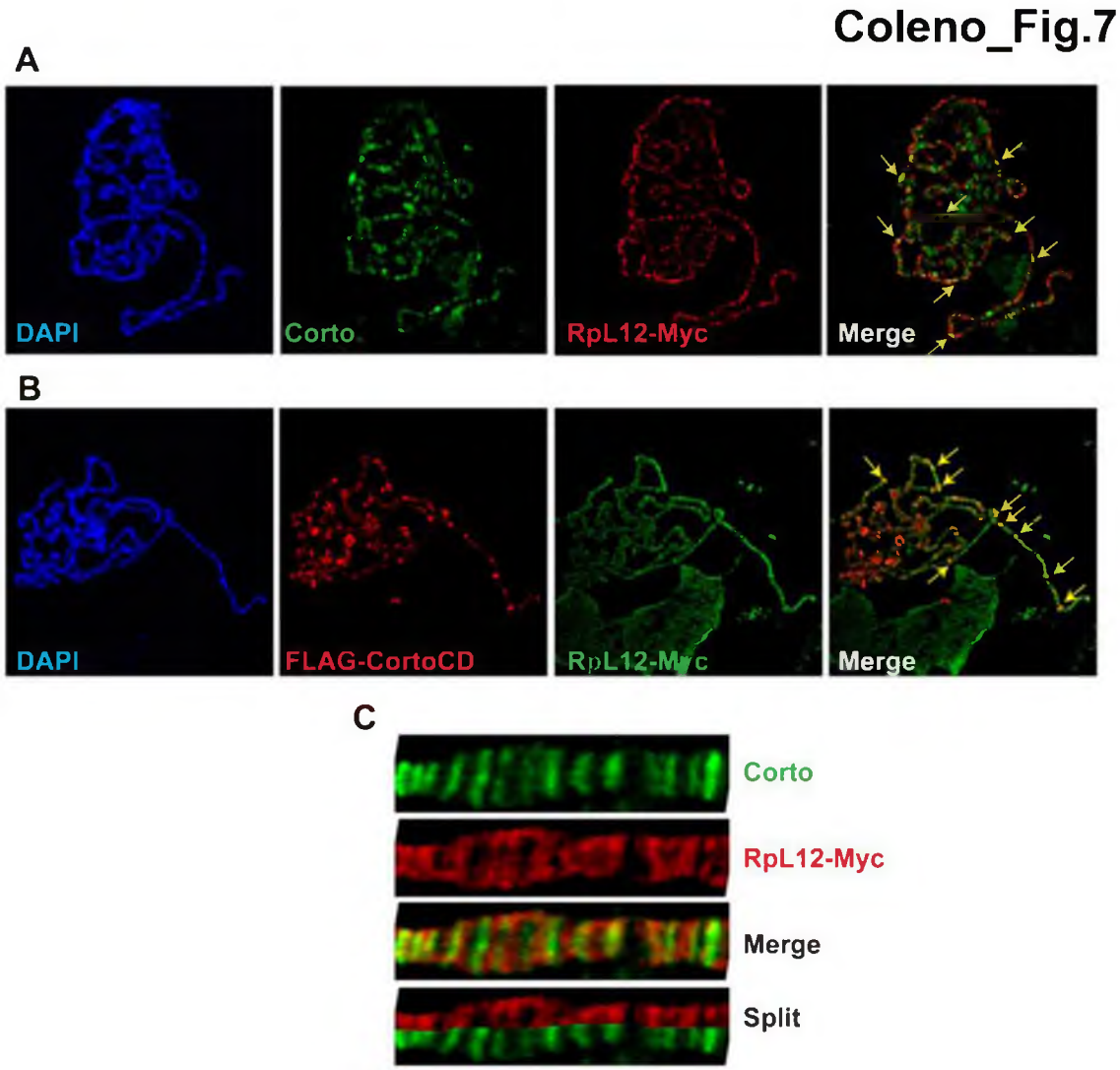


Figure 7: Corto and RPL12 share many sites on polytene chromosomes.

(A) Polytene chromosomes from an *esg::Gal4>UAS::RPL12-Myc* larva immunostained with anti-Corto (green) and anti-Myc (red) antibodies. Many sites were common to Corto and RPL12-Myc. Some are shown by yellow arrows on the merged picture.
(B) Polytene chromosomes from an *esg::Gal4>UAS::FH-cortoCD,UAS::RPL12-Myc* larva immunostained with anti-FLAG (red) and anti-Myc (green) antibodies. Many sites were common to CortoCD and RPL12-Myc. Some are shown by yellow arrows on the merged picture.
(C) Close-up showing numerous co-localizations of Corto and RPL12.

Epigenetic landscape of Corto and RPL12

RPL12, along with 19 other ribosomal proteins, is known to bind polytene chromosomes of *Drosophila* larval salivary glands where it specifically associates with sites of transcription Brogna 2002. To investigate the potential role of the Corto-RPL12 interaction in gene expression regulation, we first analyzed the epigenetic landscape of these proteins on polytene chromosomes. For this, we generated Myc-tagged RPL12 transgenic fly lines (*UAS::RPL12-Myc*). Unlike *corto* or *cortoCD*, *RPL12-Myc* over-expression using ubiquitous Gal4 drivers (*da::Gal4>UAS::RPL12-Myc* or *Act::Gal4>UAS::RPL12-Myc*) induced no lethality and adult flies presented no phenotype except a shortened development (data not shown). *RPL12-Myc* was then overexpressed with the salivary gland driver *esg* (*esg::Gal4>UAS::RPL12-Myc*) to test its binding to polytene chromosomes. RPL12-Myc bound polytene chromosomes at numerous sites, preferentially at DAPI interbands and puffs, suggesting that it mimics the binding of endogenous RPL12 (Brogna *et al.,* 2002) (Figure 7A).

Many but not all of these sites were shared with Corto, as shown by co-immunostaining of the endogenous Corto protein (Figures 7A, 7C). Simultaneous over-expression of FH-CortoCD and RPL12-Myc (*esg::Gal4>UAS::FH-cortoCD,UAS::RPL12-Myc*) established that CortoCD like full-length Corto co-localized with RPL12 on many sites (Figure 7B).

Chromatin environment of Corto and RPL12 was further analyzed using antibodies against epigenetic marks (H3K27me3, H3K4me3) and RNA Polymerase II (paused, *i.e.* phosphorylated on serine 5: RNAPolIIS5p; elongating *i.e.* phosphorylated on serine 2: RNAPolIIS2p).

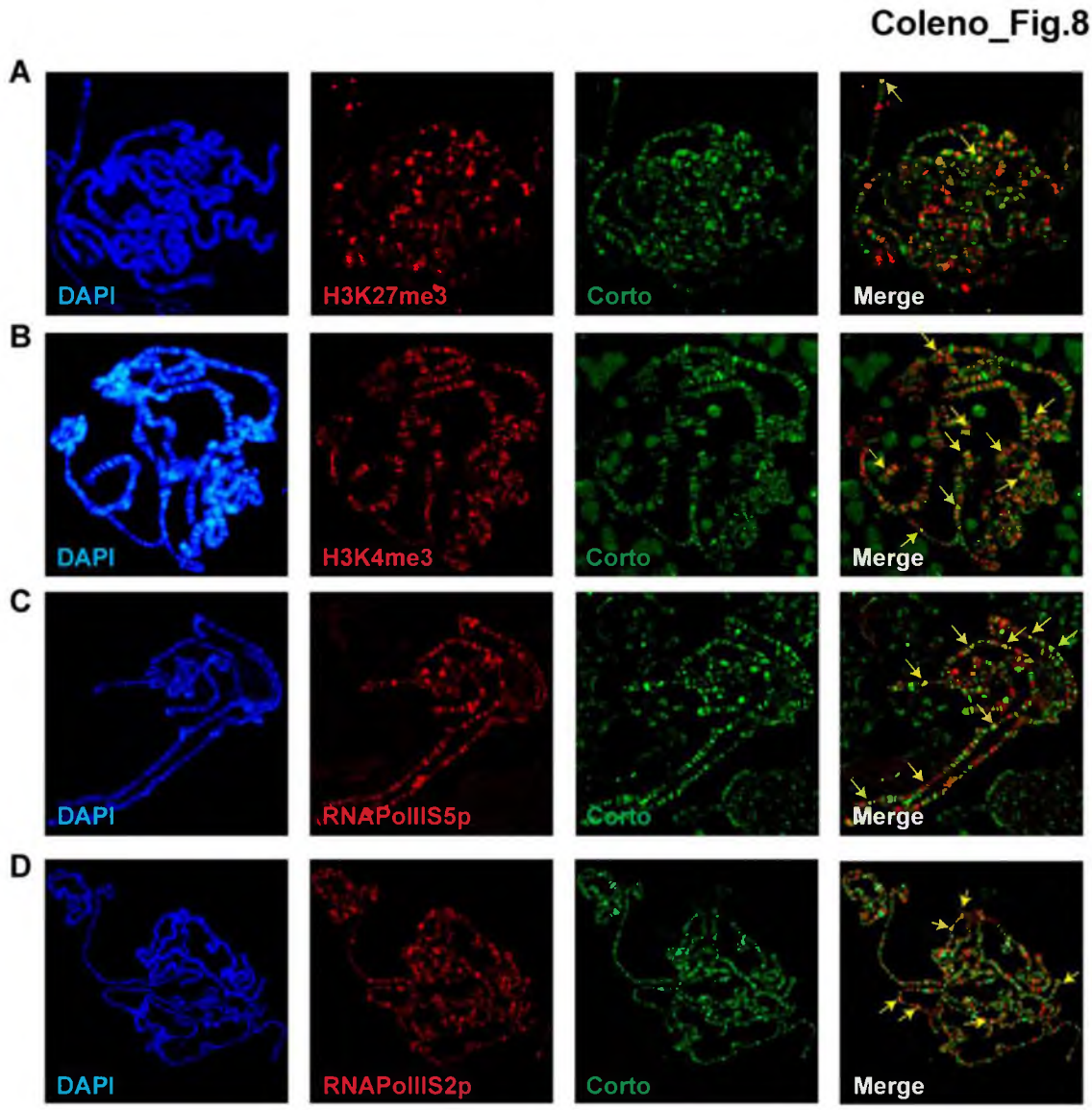


Figure 8: Epigenetic landscape of Corto.

Co-immunostainings of salivary gland polytene chromosomes from w^{1118} larvae using anti-Corto antibodies (green) and anti-H3K27me3, anti-H3K4me3, anti-RNAPolIIS5p or anti-RNAPolIIS2p antibodies (red). Some co-localizations between Corto and these epigenetic marks are shown with yellow arrows on the merged pictures. Note that the two arrows on A point to the X chromosome tips of two nuclei.

In agreement with our Biacore™ analyses, Corto did not bind centromeric heterochromatin – marked by H3K9me3 – and did not overlap with H3K27me3 (except at the tip of chromosome X) (Figure 8A).

Similarly, very few co-localizations with H3K27me3 were observed for RPL12-Myc (Figure 9A). Corto, as well as RPL12-Myc, partially co-localized with H3K4me3 (Figures 8B, 9B). However, whereas Corto showed many co-localizations with RNAPolIIS5p and few with RNAPolIIS2p (Figures 8C, 8D), RPL12 shared but few sites with RNAPolIIS5p and strongly co-localized with RNAPolIIS2p (Figures 9C, 9D), as previously described (Brogna *et al.*, 2002).

Taken together, these data suggest that Corto and RPL12 mostly bind open, transcriptionally permissive chromatin. It is tempting to speculate that their interaction could modulate the process of transcription *e.g.* the balance between paused and active transcription.

Genome-wide transcriptome analyses of wing imaginal discs over-expressing cortoCD or RPL12

To address the role of Corto and RPL12 in regulation of transcription, we deep-sequenced transcripts of wing imaginal discs from third instar larvae over-expressing either *FH-cortoCD* or *RPL12-Myc* under control of the wing-specific *scalloped::Gal4* driver (*sd::Gal4>UAS::FH-cortoCD* or *sd::Gal4>UAS::RPL12-Myc*) (hereafter called assays).

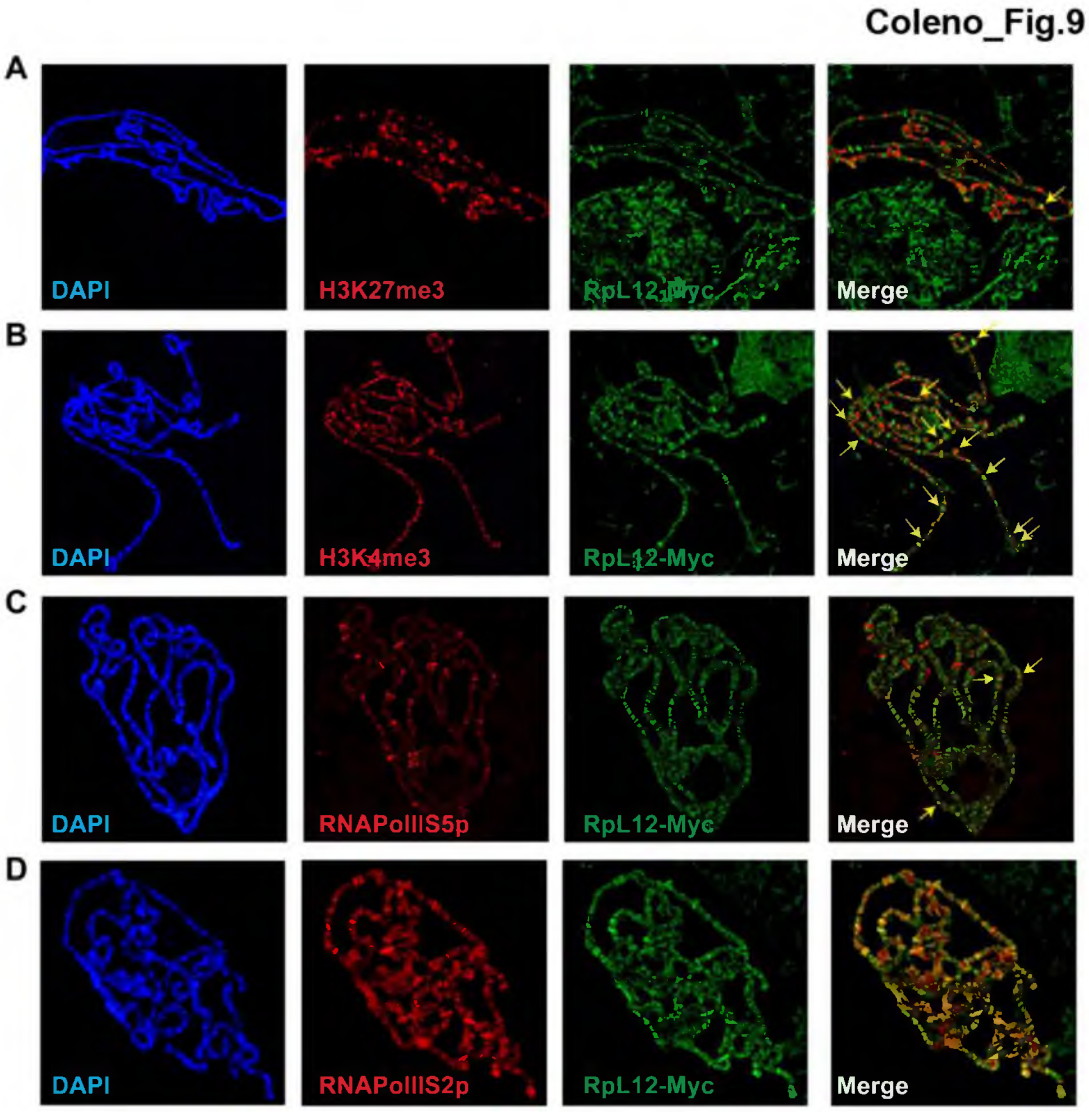
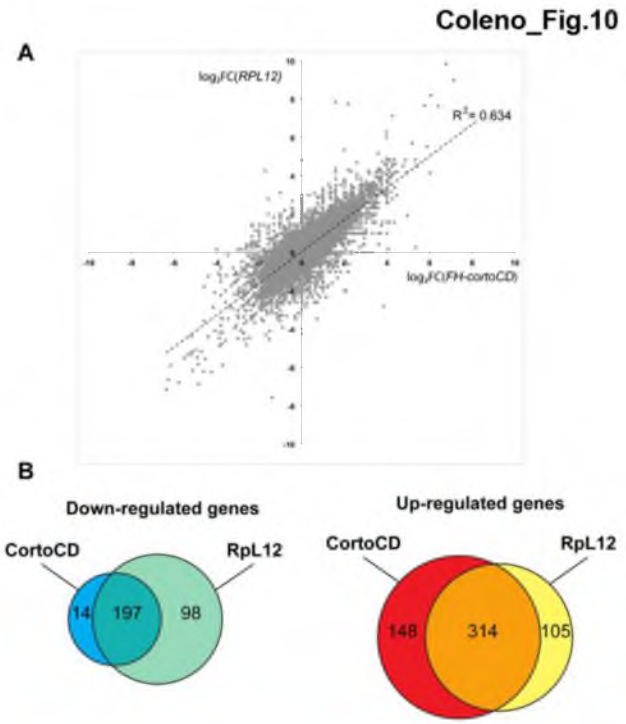


Figure 9: Epigenetic landscape RPL12.

Co-immunostainings of salivary gland polytene chromosomes from *esg::Gal4>UAS::RPL12-Myc* larvae using anti-Myc antibodies (green) and anti-H3K27me3, anti-H3K4me3, anti-RNAPolIIS5p or anti-RNAPolIIS2p antibodies (red). Some co-localizations between RPL12-Myc and these epigenetic marks are shown with yellow arrows on the merged pictures. Note the numerous co-localizations between RPL12-Myc and RNAPolIIS2p.

Total RNA from the assays, the *sd::Gal4/+* control or a w^{1118} reference line were isolated from pools of wing imaginal discs and subjected to RNA-seq on an Illumina high throughput sequencer. Sequence reads were aligned with the *D. melanogaster* genome to generate global gene expression profiles. Sequence reads of the assays were compared to sequence reads of the *sd::Gal4/+* control. Differential analyses were performed to obtain adjusted *P*-values associated to expression changes for the assays compared to the *sd::Gal4/+* control. In addition, sequence reads from the w^{1118} reference line were compared to sequence reads of the *sd::Gal4/+* control. This reference was used to fix the threshold of the adjusted *P*-value to get only 1% of transcripts as significantly expressed in this control experiment (false discovery rate). By doing so, we obtained an adjusted *P*-value cutoff of 4.10^{-18}. Using this threshold, we retrieved the highest expression variations from the two assays [with absolute $\log_2$(assay/control)>1]. 463 genes were up-regulated when over-expressing c*ortoCD* (Suppl. Table 1). Among them, 314 were also up-regulated when over-expressing *RPL12*, representing 75% of all genes up-regulated by *RPL12* over-expression (Suppl. Table 2). Furthermore, 211 genes were down-regulated when over-expressing *cortoCD* (Suppl. Table 3). Among them, 197 were also down-regulated when over-expressing *RPL12*, representing 67% of all genes down-regulated by *RPL12* over-expression (Suppl. Table 4). These results are summarized on Figure 10 and Suppl. Table 5. They suggest that Corto and RPL12 play similar role in transcriptional regulation of many genes.

Strikingly, analysis of Gene Ontology (GO) revealed that common up-regulated genes were enriched in "translation" (24% for Corto and 21% for RPL12) and "structural constituent of ribosomes" (30% for Corto and 38% for RPL12) categories (Figure 11 and Suppl. Tables 6 to 9).



<u>Figure 10: Comparison of genes deregulated by *cortoCD* or *RPL12* over-expression.</u>

(A) Scatter plot of $\log_2$ fold changes (FC) showing (*sd::Gal4>UAS::RPL12-Myc vs sd::Gal4/+*) on Y-axis and (*sd::Gal4>UAS::FH-cortoCD vs sd::Gal4/+*) on X-axis.
(B) Venn diagrams showing the intersection of genes deregulated with both overexpressions after cutoff [*P*-value<4.10^{-18}; absolute $\log_2$(assay/control)>1]. See Suppl. Tables 1 to 5 for detailed gene lists.

DISCUSSION

Chromodomains play a critical role in addressing transcriptional regulators to chromatin. Investigating the role of the ETP Corto chromodomain, we found that it is a typical chromodomain, acting as a chromatin targeting module and binding RNAs *in vitro*. Surprisingly, the Corto chromodomain does not bind methylated histones, as most known chromodomains do, but Ribosomal Protein L12 trimethylated on lysine 3 (RPL12K3me3). In agreement, RPL12 and Corto share many sites on polytene chromosomes. Transcriptomic analyses of wing imaginal tissues in which either *cortoCD* or *RPL12* were overexpressed reveal that a large part of deregulated genes are common, indicating that Corto and RPL12 might indeed be partners in transcriptional regulation.

RPs and regulation of gene expression

The ETP Corto is a partner of Polycomb and Trithorax complexes and participates in epigenetic maintenance of gene expression, notably homeotic genes (Lopez *et al.,* 2001; Salvaing *et al.,* 2008). Multiple Corto binding sites on polytene chromosomes as well as pleiotropic phenotype of *corto* mutants show that Corto transcriptional targets are numerous and involved in many developmental pathways. The interaction reported here between Corto and RPL12 raises the interesting possibility of a connection between RPs and epigenetic regulation of gene expression.

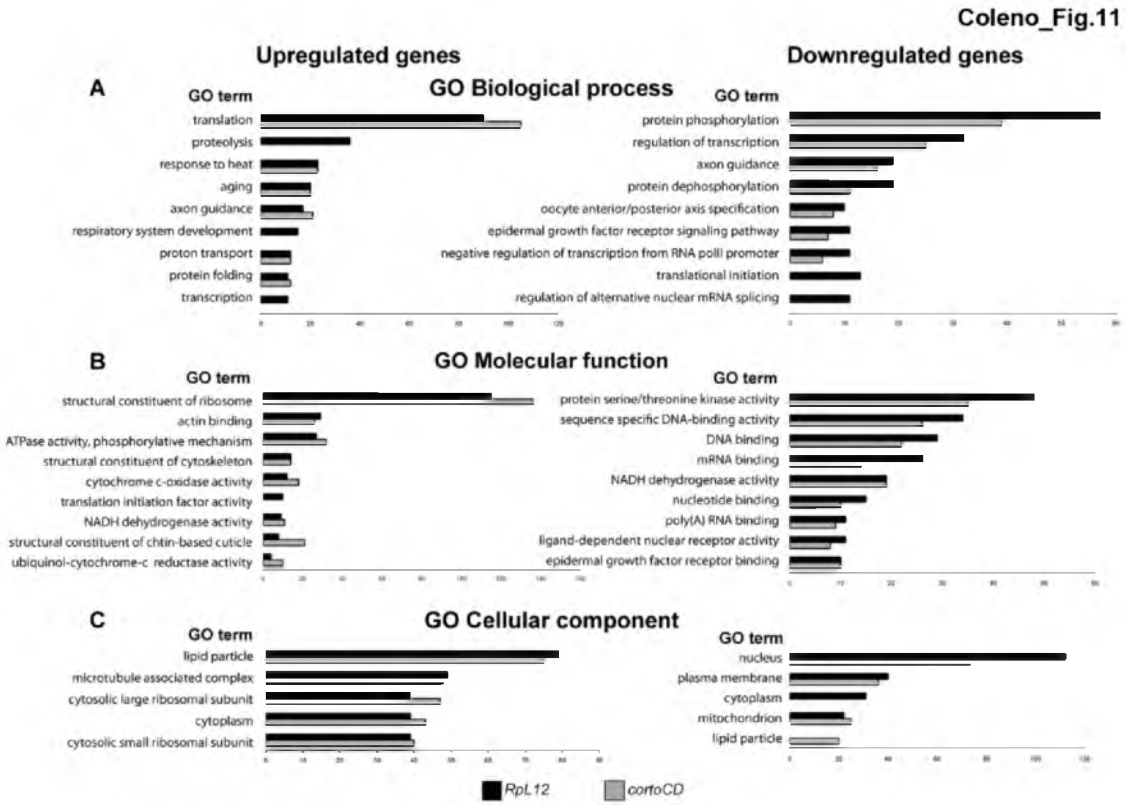


Figure 11: Ontology of genes deregulated in wing imaginal discs over-expressing cortoCD or RpL12.

Gene Ontology (GO) term enrichment of genes deregulated by CortoCD and RPL12 considering DAVID identification (Huang et al., 2009). Highly represented, non-redundant categories, were selected according to the hypergeometric test adjusted P-values. The number of genes in each category is shown in the X-axis. GO of biological process (A, B), molecular function (C, D) and cellular component (E, F) of genes up-regulated (A, C and E) and down-regulated (B, D and F) by over-expression of RpL12 or cortoCD. Full GO data (GO ID, description, number of genes in each category, enrichment and adjusted P-values) for each category are presented in Suppl. Tables 6 to 9.

Apart from protein synthesis, RPs are involved in many cellular functions referred as "extra-ribosomal" (reviewed in Bhavsar *et al.,* 2010). The first report on a RP's role in transcriptional regulation came from *E. coli* where RPS10 is involved in anti-termination of transcription (Friedman *et al.,* 1981), followed by the finding that yeast RPS20 also participates in anti-termination of transcripts synthesized by RNA Pol III (Hermann-Le Denmat *et al.,* 1994). Many eukaryotic RPs, notably RPL12, regulate their own transcription, basically by regulating their own splicing (reviewed in Ivanov *et al.,* 2006). Furthermore, RPs bind chromatin at many sites suggesting that they have multiple transcriptional targets (Brogna *et al.,* 2002; Schroder and Moore, 2005; Ni *et al.,* 2006; De *et al.,* 2011).

Direct interaction between several RPs and histone H1 in transcriptional repression (Ni *et al.,* 2006), as well as presence of RPs in the repressor complex H1.2 that contains the ETP ASXL1, suggest that RPs could modulate transcription *via* chromatin structure (Kim *et al.,* 2008). The interaction between RPL12 and the ETP Corto reinforces this idea. Moreover, RPs co-purify with a PcG complex {Saurin 2001), and BRM, the catalytic subunit of the SWI/SNF TrxG complex, associates with components of the spliceosome (Batsché *et al.,* 2006) that contains several RPs including RPL12 (Ajuh *et al.,* 2000). However, the role of RPs in the above mentioned complexes could relate to structure preservation and not to transcriptional regulation *per se*. For more than 40 years, many genetic screens to isolate new *Polycomb* (*PcG*) and *trithorax* (*trxG*) genes have identified *Minute* mutants as *PcG* and *trxG* modifiers (Gildea *et al.,* 2000). Indeed, *Minute* mutations suppress the ectopic sex-comb phenotype of *Polycomb* or *polyhomeotic* mutants (Denell, 1978; Fauvarque *et al.,* 2001). *D. melanogaster Minute* loci are disseminated throughout the genome and many of them correspond to RP genes (Saebøe-

Larssen *et al.,* 1998, and references therein). *Minute* mutations might indirectly suppress phenotypes of *PcG* mutants by lengthening development, thus globally counteracting homeosis. However, *Minute* mutants can exhibit *PcG* mutant phenotypes, which is at variance with this assumption. Indeed, mutants in *stubarista* that encodes RP40 exhibit transformation of arista into legs (Melnick *et al.,* 1993). Overall, these findings lead us to favor the hypothesis of an active involvement of RPs in regulation of gene expression.

RP combinations and post-translational modifications, a ribosomal code for transcription?

Whether individual RPs regulate transcription independently of other RPs or in the context of a ribosome-like complex is an interesting and much debated question (reviewed in De and Brogna, 2010). Many data point to a collaborative role of RPs in transcription. In *D. melanogaster*, at least 20 RPs as well as rRNA are present at transcription sites on polytene chromosomes, suggesting that they could be components of ribosomal-like subunits (Brogna *et al.,* 2002). Genome-wide ChIP-on-chip analysis of L7, L11 and L25 in *S. pombe* reveal a striking similarity of their binding sites, suggesting that they might bind chromatin as complexes (De *et al.,* 2011). Along the same line, mass spectrometry of Corto partners identified not only RPL12 but also RP L7, L27, S10, S11 and S14, indicating that Corto interacts with several RPs that could form a complex. Interestingly, in prokaryotic as well as in eukaryotic ribosomes, RP L12 and L7 form a flexible protruding stalk that acts as a recruitment platform for translation factors (Chandramouli *et al.,* 2008). Our results might point to the existence of pseudo-ribosomes composed of several RPs on chromatin. The role of RPs in nuclear translation has been very much debated and whether these pseudo-ribosomes are involved in translation is still unknown (Dahlberg *et al.,* 2003). However, this possibility seems unlikely in view of the

numerous data showing lack of translation factors in nuclei as well as association on chromatin between RPs and nascent coding as well as non-coding RNAs (Schroder and Moore, 2005). Overall, these data suggest that pseudo-ribosomal complexes composed of various RPs are associated on chromatin and could thus participate in transcriptional regulation.

Like histones, RPs are subjected to a plethora of post-translational modifications including ubiquitinylations, phosphorylations, acetylations and methylations (Carroll *et al.,* 2008, and references therein). We show here that Corto chromodomain binds RPL12K3me3. Strikingly, the chromodomain protein CBX1, a human homolog of *Drosophila* HP1α, also interacts with RPL12 (Stelzl *et al.,* 2005), suggesting that chromodomain binding to methylated RPL12 might be conserved. It is tempting to speculate about a role for RPL12 methylation in chromodomain protein recruitment to chromatin. This mechanism might be analogous to the one by which histone methylation marks, such as H3K27me3, recruit the PRC1 complex, *i.e.* by binding of the Polycomb chromodomain to methyl groups. Under this hypothesis, RPL12K3me3 might recruit Corto or/and other chromodomain proteins to chromatin. In yeast and *A. thaliana*, RPL12 can be trimethylated on lysine 3 by methyl-transferase SET11/Rkm2 (Porras-Yakushi *et al.,* 2007; Carroll *et al.,* 2008; Sadaie *et al.,* 2008). Rkm2 is conserved in *Drosophila* and abundantly transcribed in S2 cells as well as all along development (Graveley *et al.,* 2011). It would be interesting to determine whether this enzyme is an RPL12K3 methyl-tranferase in *Drosophila*.

Based on the existence of a panel of ribosomes composed of diverse RPs bearing various post-translational modifications, it was proposed that selective mRNA translation might depend on a ribosome code similar to the histone code (Komili *et al.,* 2007). Our

results lead us to suggest that such a ribosome code might also concern regulation of gene transcription.

Ribosomal homeostasis by coordinated transcriptional regulation of RPs

Surprisingly, GO analysis of RPL12 and Corto upregulated genes reveals that the "translation" and "structural component of ribosomes" categories are over-represented. Interestingly, the expression of RP genes decreases in *RPL12A* mutants in yeast (Komili *et al.,* 2007). Our finding that over-expression of *Drosophila RPL12* increased RP gene expression reinforces the idea that RPL12 can activate RPs at the transcriptional level. Interestingly, up-regulation of ribosome related genes is also observed in mutants of *ash2* that encodes a TrxG protein, and that genetically interacts with *corto* (Lopez *et al.,* 2001; Beltran *et al.,* 2007). Hence RPL12, Corto and chromatin regulators of the TrxG family might all participate in dynamic coordination of ribosome biogenesis. Such global co-regulation of genes involved in a given function does indeed exist in eukaryotes. In *Drosophila*, housekeeping genes are co-regulated by the NSL complex and, in yeast, RPL12 coordinates transcription of genes involved in phosphate assimilation as well as RP genes (Komili *et al.,* 2007; Tu *et al.,* 2011; Feller *et al.,* 2011). As regulation of ribosome biogenesis is essential for cellular health (Warner and McIntosh, 2009), such a transcriptional co-regulation of RP genes might have evolved to insure that the cell's protein synthesis capacity can be rapidly adjusted to changing environmental conditions.

MATERIAL AND METHODS

Cloning and site-directed mutagenesis

Clones and site-directed mutagenesis are described in Suppl. Material and Methods. Primers are described in Suppl. Table 10.

Drosophila strains and genetics

D. melanogaster stocks and crosses were kept on standard media at 25°C. *UAS::FH-cortoCD*, *UAS::FH-cortoΔCD* and *UAS::RPL12-Myc* transgenic lines were established by standard *P*-element mediated transformation. Over-expression was carried out using *Gal4* drivers either ubiquitous [*daughterless* (*da::Gal4*); *Actin5C* (*Act::Gal4*)], salivary gland-specific [*escargot* (*esg::Gal4*)], or wing-specific [*scalloped::Gal4* (*sd::Gal4*)]. Five females bearing the *Gal4* driver were crossed with three males bearing the *UAS* transgene or w^{1118} as a control. Crosses were transferred to new vials every third day. The *sd::Gal4*, *UAS::FH-cortoCD* and *UAS::RPL12-Myc* lines were isogenized for six rounds with the isogenic w^{1118} line, prior to deep-sequencing, as previously described (Debat *et al.*, 2011). Lethality was calculated as described (Krattinger *et al.*, 2007).

Peptide pull-down experiments and mass spectrometry

Nuclear extracts were prepared from 0-16 h embryos as previously described (Mouchel-Vielh *et al.*, 2011). 1 mg of nuclear protein extract was incubated with 200 µg of purified GST or GST-CortoCD in binding buffer [0.5 mM DTT, 0.1 mM EDTA, 4 mM $MgCl_2$, 0.05% Igepal, 20 mM Hepes, 300 mM KCl, 10% glycerol, protease inhibitor cocktail (Roche)] for 1 h at 25°C. After 5 washes in binding buffer, bound peptides were resolved on a large 15% SDS–polyacrylamide gel and stained either with EZblue™ (Sigma) or with the SilverQuest staining kit (Invitrogen). Bands were excised from the gel and analyzed by LC-MSMS mass spectrometry.

Cell culture and transfection

S2 cells were cultured at 25°C in Schneider's *Drosophila* medium (Lonza) supplemented with 10% heat inactivated fetal bovine serum and 100 units.mL^{-1} of

penicillin and streptomycin. Cells were transfected using Effecten® (Qiagen) as previously described (Mouchel-Vielh *et al.,* 2011).

Co-immunoprecipitations

Co-immunoprecipitations were performed as already described (Mouchel-Vielh *et al.,* 2011) using anti-FLAG (Sigma F-3165) or anti-Myc (Santa Cruz, sc-40).

Confocal imaging

S2 cells were harvested 24 h after transfection and treated as described (Rogers and Rogers, 2008). For each transfection, 30 to 60 nuclei were analyzed with an SP5 confocal microscope (Leica microsystems) using LAS (Image Analysis Software).

Real-time protein interaction assays

GST or GST fusion proteins were dialyzed using a Slide-A-Lyser cassette (Thermo Scientific) in running buffer (10 mM Hepes pH7.4, 150 mM NaCl, 3 mM EDTA, 0.005% P20 surfactant). Real-time protein interaction assays were performed using a Biacore™ 3000. A CM5 sensor chip was activated by EDC–NHS amine coupling. GST was first immobilized on the chip by injection of a 30 $\mu g.mL^{-1}$ solution in NaOAc pH5 buffer. GST-CortoCD and GST-HP1CD were immobilized by injecting a 100$\mu g.mL^{-1}$ solution in the same buffer. Binding tests were performed by injecting peptides at 1 or 10 µM in running buffer at a flow rate of 25 $\mu L.min^{-1}$ during 5 min. None of the peptides used bound GST. Kinetic assays were performed only when the binding test was positive. Real-time monitoring was displayed in a sensorgram as the optical response (RU) *versus* time (s). To calculate association constants, peptides were diluted in series from 1 to 10 µM in running buffer and dilutions were injected sequentially at a flow rate of 25 $\mu L.mL^{-1}$ during 5 min. Dissociation kinetics were then run during 10 min to calculate

dissociation constants. Between each assays, the chip was washed with glycine pH2.0. Kinetic constants were calculated with the BIAevaluation Software (Biacore™) using the Fit kinetic simultaneous ka/kd (1:1 binding; Langmuir algorithm). Sequences of the RPL12 peptides are shown on Suppl. Table 11. Histone peptides were kindly provided by Diagenode (H3K27me3: sp-069-050; H3K4me3: sp-003-050; H3K9me3: sp-056-050; H3K4/K9um: sp-999-050; H3K27um: sp-998-050).

Nucleic acid binding

Binding of GST fusion proteins to radiactivelly labeled RNA and DNA is described in Suppl. Material and Methods.

Electrophoretic Mobility Shift Assays (EMSA)

A 296 bp insert from the 5'-UTR region of the *AbdB-m* transcript was obtained by PCR amplification of genomic DNA (see Suppl. Table 10 for the primers used). *Awnt-1* was used as alternative probe. Radiolabeled RNA probes were synthesized by α^{32}P-CTP incorporation using Riboprobe *in vitro* transcription System (Promega). Detailed procedure is described in Suppl. Material and Methods.

Immunostaining of polytene chromosomes

Polytene chromosome immunostainings were performed as described in (Salvaing *et al.,* 2003) for all antigens except RNA Pol II, for which we used experimental conditions described in (Pérez-Lluch *et al.,* 2011). Mouse anti-FLAG (1:20) (Sigma, F-3165), mouse anti-Myc (1:20) (Santa Cruz, sc-40), rabbit anti-H3K4me3 (1:40) (Diagenode, pAB-003), rabbit anti-H3K27me3 (1:70) (Diagenode, pAB-069), rabbit anti-RNA Pol II Ser2p (1:200) (Abcam, an5095), rabbit anti-RNA Pol II Ser5p (1:40) (Covance, MMS-134R) and rabbit anti-Corto (1:30) (Salvaing *et al.,* 2003) were used as

primary antibodies. Secondary antibodies [Alexa Fluor® 488 goat anti-rabbit IgG (Molecular Probes, A-11008), Alexa Fluor® 594 goat anti-mouse IgG (Molecular probes, A-11005) and Alexa Fluor® 488 goat anti-mouse IgG, IgA and IgM (Molecular Probes, A-10667)] were used at a 1:1000 dilution.

RNA-seq and bioinformatics analysis

Wing imaginal discs of third instar larvae (one disc per larva) were dissected by batches of 50 in PBS and frozen in liquid nitrogen. 300 discs (6 batches) were pooled and homogenized in lysis buffer using a FastPrep-24 during 20 s at $4m.s^{-1}$ (MP Biomedicals, Lysing Matrix D). Total RNA were extracted using RNeasy® kit (Quiagen). Library preparation and Illumina sequencing (multiplexed 50 bp paired-end sequencing on HiSeq 2000) were performed at the BC Cancer Agency Genome Sciences Center (Canada) following the manufacturer's protocol. A mean of 46±11 million reads were obtained for each of the 4 samples (w^{1118}; *sd::Gal4/+*; *sd::Gal4>UAS::FH-cortoCD*; *sd::Gal4>UAS::RPL12-Myc*). Before mapping, poly N read tails were trimmed, reads ≤11 bases were removed, and reads with quality mean ≤12 were discarded. Reads were then aligned against the *D. melanogaster* genome (dm3 genome assembly, BDGP Release 5.38) using Bowtie mapper (version 0.12.7) (Langmead *et al.,* 2009). Alignments from reads matching more than once on the reference genome were removed using Java version of samtools. To compute gene expression, *D. melanogaster* GFF3 genome annotation from FlyBase (version 5.38) was used. All overlapping regions between alignments and referenced exons were counted.

Technical replicates coming from paired-end reads were first summed. Then, all samples were normalized together. Data were normalized according to the scaling normalization proposed by Robinson and Oshlack and implemented in the edgeR package

version 1.6.10 (Robinson and Oshlack, 2010). A Fisher's Exact Test was then performed using the sage.test function of the statmod package version 1.4.6. Finally, a Benjamini and Hochberg (BH) *P*-value adjustment was made.

ACKNOWLEDGMENTS

The authors wish to thank V. Ribeiro for excellent technical assistance, all members of the Chromatin and Development team for fruitful discussions, A. Esta and Dr. F. Faradji for preliminary experiments, Pr. Y. Andéol for the *Awnt1* RNA, Dr. G. Cavalli for PH antibodies, M. Bocquet for Bioanalyser RNA quality assessment, Dr. I. Le Disquet for SEM (IFR83, Paris), Dr. C. Piesse for RPL12 peptide synthesis (IFR83, Paris), Diagenode for histone peptides, Dr. V. Labas for mass spectrometry analyses (INRA, Tours) and the Bloomington stock center for fly stocks. This work was supported by CNRS and UPMC, PEPS (CNRS) to S.B. and "Appel à projets" (IFR 83) to F.P.

REFERENCES

Ajuh, P., Kuster, B., Panov, K., Zomerdijk, J.C., Mann, M., and Lamond, A.I. 2000. Functional analysis of the human CDC5L complex and identification of its components by mass spectrometry. *EMBO J* **19:**6569-6581.

Akhtar, A., Zink, D., and Becker, P.B. 2000. Chromodomains are protein-RNA interaction modules. *Nature* **407:**405-409.

Ball, L.J., Murzina, N.V., Broadhurst, R.W., Raine, A.R., Archer, S.J., Stott, F.J., Murzin, A.G., Singh, P.B., Domaille, P.J., and Laue, E.D. 1997. Structure of the chromatin binding (chromo) domain from mouse modifier protein 1. *EMBO J* **16:**2473-2481.

Bannister, A.J., and Kouzarides, T. 2011. Regulation of chromatin by histone modifications. *Cell Res* **21:**381-395.

Bannister, A.J., Zegerman, P., Partridge, J.F., Miska, E.A., Thomas, J.O., Allshire, R.C., and Kouzarides, T. 2001. Selective recognition of methylated lysine 9 on histone H3 by the HP1 chromo domain. *Nature* **410:**120-124.

Batsché, E., Yaniv, M., and Muchardt, C. 2006. The human SWI/SNF subunit Brm is a regulator of alternative splicing. *Nat Struct Mol Biol* **13:**22-29.

Beltran, S., Angulo, M., Pignatelli, M., Serras, F., and Corominas, M. 2007. Functional dissection of the ash2 and ash1 transcriptomes provides insights into the transcriptional basis of wing phenotypes and reveals conserved protein interactions. *Genome Biol* **8:**R67.

Bernstein, E., Duncan, E.M., Masui, O., Gil, J., Heard, E., and Allis, C.D. 2006. Mouse polycomb proteins bind differentially to methylated histone H3 and RNA and are enriched in facultative heterochromatin. *Mol Cell Biol* **26:**2560-2569.

Bhavsar, R.B., Makley, L.N., and Tsonis, P.A. 2010. The other lives of ribosomal proteins. *Hum Genomics* **4:**327-344.

Bouazoune, K., Mitterweger, A., Längst, G., Imhof, A., Akhtar, A., Becker, P.B., and Brehm, A. 2002. The dMi-2 chromodomains are DNA binding modules important for ATP-dependent nucleosome mobilization. *EMBO J* **21:**2430-2440.

Breiling, A., Bonte, E., Ferrari, S., Becker, P.B., and Paro, R. 1999. The *Drosophila* polycomb protein interacts with nucleosomal core particles In vitro via its repression domain. *Mol Cell Biol* **19:**8451-8460.

Brogna, S., Sato, T.A., and Rosbash, M. 2002. Ribosome components are associated with sites of transcription. *Mol Cell* **10:**93-104.

Carroll, A.J., Heazlewood, J.L., Ito, J., and Millar, A.H. 2008. Analysis of the Arabidopsis cytosolic ribosome proteome provides detailed insights into its components and their post-translational modification. *Mol Cell Proteomics* **7:**347-369.

Chandramouli, P., Topf, M., Ménétret, J.F., Eswar, N., Cannone, J.J., Gutell, R.R., Sali, A., and Akey, C.W. 2008. Structure of the mammalian 80S ribosome at 8.7 A resolution. *Structure* **16:**535-548.

Chern, M.K., Chang, K.N., Liu, L.F., Tam, T.C., Liu, Y.C., Liang, Y.L., and Tam, M.F. 2002. Yeast ribosomal protein L12 is a substrate of protein-arginine methyltransferase 2. *J Biol Chem* **277:**15345-15353.

Dahlberg, J.E., Lund, E., and Goodwin, E.B. 2003. Nuclear translation: What is the evidence? *RNA* **9:**1-8.

De, S., and Brogna, S. 2010. Are ribosomal proteins present at transcription sites on or off ribosomal subunits? *Biochem Soc Trans* **38:**1543-1547.

De, S., Varsally, W., Falciani, F., and Brogna, S. 2011. Ribosomal proteins' association with transcription sites peaks at tRNA genes in Schizosaccharomyces pombe. *RNA* .

Debat, V., Bloyer, S., Faradji, F., Gidaszewski, N., Navarro, N., Orozco-Terwengel, P., Ribeiro, V., Schlötterer, C., Deutsch, J.S., and Peronnet, F. 2011. Developmental Stability: A Major Role for Cyclin G in *Drosophila melanogaster*. *PLoS Genet* **7:**e1002314.

Denell, R.E. 1978. Homoeosis in *Drosophila*. II. a Genetic Analysis of Polycomb. *Genetics* **90:**277-289.

Fauvarque, M.O., Laurenti, P., Boivin, A., Bloyer, S., Griffin-Shea, R., Bourbon, H.M., and Dura, J.M. 2001. Dominant modifiers of the polyhomeotic extra-sex-combs phenotype induced by marked P element insertional mutagenesis in *Drosophila*. *Genet Res* **78:**137-148.

Feller, C., Prestel, M., Hartmann, H., Straub, T., Söding, J., and Becker, P.B. 2011. The MOF-containing NSL complex associates globally with housekeeping genes, but activates only a defined subset. *Nucleic Acids Res* doi: 10.1093/nar/gkr869.

Friedman, D.I., Schauer, A.T., Baumann, M.R., Baron, L.S., and Adhya, S.L. 1981. Evidence that ribosomal protein S10 participates in control of transcription termination. *Proc Natl Acad Sci U S A* **78:**1115-1118.

Gildea, J.J., Lopez, R., and Shearn, A. 2000. A screen for new trithorax group genes identified little imaginal discs, the *Drosophila melanogaster* homologue of human retinoblastoma binding protein 2. *Genetics* **156:**645-663.

Graveley, B.R., Brooks, A.N., Carlson, J.W., Duff, M.O., Landolin, J.M., Yang, L., Artieri, C.G., van Baren, M.J., Boley, N., Booth, B.W. et al. 2011. The developmental transcriptome of *Drosophila melanogaster*. *Nature* **471:**473-479.

Hermann-Le Denmat, S., Sipiczki, M., and Thuriaux, P. 1994. Suppression of yeast RNA polymerase III mutations by the URP2 gene encoding a protein homologous to the mammalian ribosomal protein S20. *J Mol Biol* **240:**1-7.

Huang, D. .W., Sherman, B.T., and Lempicki, R.A. 2009. Systematic and integrative analysis of large gene lists using DAVID bioinformatics resources. *Nat Protoc* **4:**44-57.

Huang, J., and Berger, S.L. 2008. The emerging field of dynamic lysine methylation of non-histone proteins. *Curr Opin Genet Dev* **18:**152-158.

Ivanov, A.V., Malygin, A.A., and Karpova, G.G. 2006. Eukaryotic ribosomal proteins: Interactions with their own pre-mRNAs and their involvement in splicing regulation. *Molecular Biology* **40:**570-578.

Kim, K., Choi, J., Heo, K., Kim, H., Levens, D., Kohno, K., Johnson, E.M., Brock, H.W., and An, W. 2008. Isolation and characterization of a novel H1.2 complex that acts as a repressor of p53-mediated transcription. *J Biol Chem* **283:**9113-9126.

Kodjabachian, L., Delaage, M., Maurel, C., Miassod, R., Jacq, B., and Rosset, R. 1998. Mutations in ccf, a novel *Drosophila* gene encoding a chromosomal factor, affect progression through mitosis and interact with Pc-G mutations. *Embo J* **17:**1063-1075.

Komili, S., Farny, N.G., Roth, F.P., and Silver, P.A. 2007. Functional specificity among ribosomal proteins regulates gene expression. *Cell* **131:**557-571.

Krattinger, A., Gendre, N., Ramaekers, A., Grillenzoni, N., and Stocker, R.F. 2007. DmOAZ, the unique *Drosophila melanogaster* OAZ homologue is involved in posterior spiracle development. *Dev Genes Evol* **217:**197-208.

Lachner, M., O'Carroll, D., Rea, S., Mechtler, K., and Jenuwein, T. 2001. Methylation of histone H3 lysine 9 creates a binding site for HP1 proteins. *Nature* **410:**116-120.

Langmead, B., Trapnell, C., Pop, M., and Salzberg, S.L. 2009. Ultrafast and memory-efficient alignment of short DNA sequences to the human genome. *Genome Biol* **10:**R25.

Lopez, A., Higuet, D., Rosset, R., Deutsch, J., and Peronnet, F. 2001. corto genetically interacts with Pc-G and trx-G genes and maintains the anterior boundary of Ultrabithorax expression in *Drosophila* larvae. *Mol Genet Genomics* **266:**572-583.

Melnick, M.B., Noll, E., and Perrimon, N. 1993. The *Drosophila* stubarista phenotype is associated with a dosage effect of the putative ribosome-associated protein D-p40 on spineless. *Genetics* **135:**553-564.

Min, J., Zhang, Y., and Xu, R.M. 2003. Structural basis for specific binding of Polycomb chromodomain to histone H3 methylated at Lys 27. *Genes Dev* **17:**1823-1828.

Mouchel-Vielh, E., Rougeot, J., Decoville, M., and Peronnet, F. 2011. The MAP kinase ERK and its scaffold protein MP1 interact with the chromatin regulator Corto during *Drosophila* wing tissue development. *BMC Dev Biol* **11:**17.

Müller, J., and Verrijzer, P. 2009. Biochemical mechanisms of gene regulation by polycomb group protein complexes. *Curr Opin Genet Dev* **19:**150-158.

Ni, J.Q., Liu, L.P., Hess, D., Rietdorf, J., and Sun, F.L. 2006. *Drosophila* ribosomal proteins are associated with linker histone H1 and suppress gene transcription. *Genes Dev* **20:**1959-1973.

Paro, R., and Hogness, D.S. 1991. The Polycomb protein shares a homologous domain with a heterochromatin-associated protein of *Drosophila*. *Proc Natl Acad Sci U S A* **88:**263-267.

Pattatucci, A.M., Otteson, D.C., and Kaufman, T.C. 1991. A functional and structural analysis of the Sex combs reduced locus of *Drosophila melanogaster*. *Genetics* **129:**423-441.

Pérez-Lluch, S., Blanco, E., Carbonell, A., Raha, D., Snyder, M., Serras, F., and Corominas, M. 2011. Genome-wide chromatin occupancy analysis reveals a role for ASH2 in transcriptional pausing. *Nucleic Acids Res* **39:**4628-4639.

Polevoda, B., and Sherman, F. 2007. Methylation of proteins involved in translation. *Mol Microbiol* **65:**590-606.

Porras-Yakushi, T.R., Whitelegge, J.P., and Clarke, S. 2006. A novel SET domain methyltransferase in yeast: Rkm2-dependent trimethylation of ribosomal protein L12ab at lysine 10. *J Biol Chem* **281:**35835-35845.

Porras-Yakushi, T.R., Whitelegge, J.P., and Clarke, S. 2007. Yeast ribosomal/cytochrome c SET domain methyltransferase subfamily: identification of Rpl23ab methylation sites and recognition motifs. *J Biol Chem* **282:**12368-12376.

Robinson, M.D., and Oshlack, A. 2010. A scaling normalization method for differential expression analysis of RNA-seq data. *Genome Biol* **11:**R25.

Rogers, S.L., and Rogers, G.C. 2008. Culture of *Drosophila* S2 cells and their use for RNAi-mediated loss-of-function studies and immunofluorescence microscopy. *Nat Protoc* **3:**606-611.

Sadaie, M., Shinmyozu, K., and Nakayama, J. 2008. A conserved SET domain methyltransferase, Set11, modifies ribosomal protein RPL12 in fission yeast. *J Biol Chem* **283:**7185-7195.

Saebøe-Larssen, S., Lyamouri, M., Merriam, J., Oksvold, M.P., and Lambertsson, A. 1998. Ribosomal protein insufficiency and the minute syndrome in *Drosophila*: a dose-response relationship. *Genetics* **148:**1215-1224.

Salvaing, J., Decoville, M., Mouchel-Vielh, E., Bussière, M., Daulny, A., Boldyreva, L., Zhimulev, I., Locker, D., and Peronnet, F. 2006. Corto and DSP1 interact and bind to a maintenance element of the Scr Hox gene: understanding the role of Enhancers of trithorax and Polycomb. *BMC Biol* **4:**9.

Salvaing, J., Lopez, A., Boivin, A., Deutsch, J.S., and Peronnet, F. 2003. The *Drosophila* Corto protein interacts with Polycomb-group proteins and the GAGA factor. *Nucleic Acids Res* **31:**2873-2882.

Salvaing, J., Nagel, A.C., Mouchel-Vielh, E., Bloyer, S., Maier, D., Preiss, A., and Peronnet, F. 2008. The enhancer of trithorax and polycomb corto interacts with cyclin G in *Drosophila*. *PLoS ONE* **3:**e1658.

Sampath, S.C., Marazzi, I., Yap, K.L., Krutchinsky, A.N., Mecklenbrauker, I., Viale, A., Rudensky, E., Zhou, M.M., Chait, B.T., and Tarakhovsky, A. 2007. Methylation of a histone mimic within the histone methyltransferase G9a regulates protein complex assembly. *Mol Cell* **27:**596-608.

Schroder, P.A., and Moore, M.J. 2005. Association of ribosomal proteins with nascent transcripts in S. cerevisiae. *RNA* **11:**1521-1529.

Smothers, J.F., and Henikoff, S. 2001. The hinge and chromo shadow domain impart distinct targeting of HP1-like proteins. *Mol Cell Biol* **21:**2555-2569.

Stelzl, U., Worm, U., Lalowski, M., Haenig, C., Brembeck, F.H., Goehler, H., Stroedicke, M., Zenkner, M., Schoenherr, A., Koeppen, S. et al. 2005. A human protein-protein interaction network: a resource for annotating the proteome. *Cell* **122:**957-968.

Struhl, G. 1982. Spineless-aristapedia: a homeotic gene that does not control the development of specific compartments in *Drosophila*. *Genetics* **102:**737-749.

Strutt, H., and Paro, R. 1997. The polycomb group protein complex of *Drosophila melanogaster* has different compositions at different target genes. *Mol Cell Biol* **17:**6773-6783.

Tu, W.Y., Huang, Y.C., Liu, L.F., Chang, L.H., and Tam, M.F. 2011. RPL12p affects the transcription of the PHO pathway high-affinity inorganic phosphate transporters and repressible phosphatases. *Yeast* **28:**481-493.

Warner, J.R., and McIntosh, K.B. 2009. How common are extraribosomal functions of ribosomal proteins? *Mol Cell* **34:**3-11.

Winter, S., Fischle, W., and Seiser, C. 2008. Modulation of 14-3-3 interaction with phosphorylated histone H3 by combinatorial modification patterns. *Cell Cycle* **7:**1336-1342.

Yap, K.L., and Zhou, M.M. 2011. Structure and mechanisms of lysine methylation recognition by the chromodomain in gene transcription. *Biochemistry* **50:**1966-1980.

Yap, K.L., Li, S., Muñoz-Cabello, A.M., Raguz, S., Zeng, L., Mujtaba, S., Gil, J., Walsh, M.J., and Zhou, M.M. 2010. Molecular interplay of the noncoding RNA ANRIL and methylated histone H3 lysine 27 by polycomb CBX7 in transcriptional silencing of INK4a. *Mol Cell* **38:**662-674.

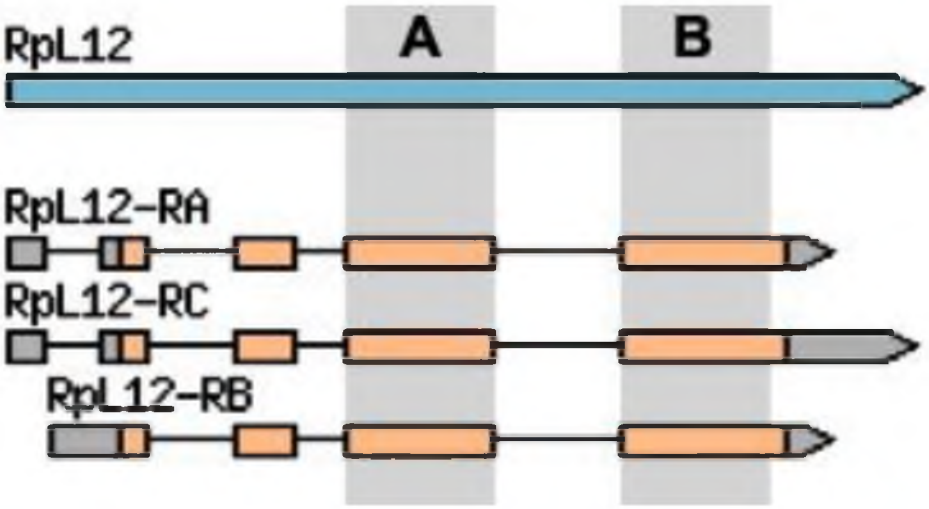
Zeng, L., and Zhou, M.M. 2002. Bromodomain: an acetyl-lysine binding domain. *FEBS Lett* **513:**124-128.

Zhao, T., Heyduk, T., Allis, C.D., and Eissenberg, J.C. 2000. Heterochromatin protein 1 binds to nucleosomes and DNA in vitro. *J Biol Chem* **275:**28332-28338.

DONNEES COMPLEMENTAIRES A L'ARTICLE

Les résultats obtenus au cours de ma thèse m'ont permis de mettre en évidence l'interaction spécifique du chromodomaine de l'ETP Corto avec la protéine ribosomique RPL12 tri-méthylée sur la lysine 3. L'étude du transcriptome des disques imaginaux d'aile de larves de drosophile en condition de surexpression de *cortoCD* ou de *RPL12* montre une dérégulation des mêmes gènes dans les deux conditions, à savoir les gènes codant les RPs ainsi que les gènes de choc thermique. Ceci m'a conduit à débuter une analyse fonctionnelle de ces deux gènes. J'ai réalisé une analyse génétique de *RPL12* et des interactions entre *RPL12* et *corto*. Puis, j'ai étudié la fonction des protéines RPL12 et Corto en les inactivant par ARN interférence dans les cellules de drosophile et dans les disques d'aile. Enfin, j'ai identifié par ChIP deux cibles directes communes à Corto et RPL12 dans des disques imaginaux d'aile, *hsp70* et *RPS4*.

A



B

Transformant ID	Construct ID	Target	ON Targets	OFF Targets	CAN Repeats	Viability	Inserted chromosome	Hairpin length
32449	8701	RPL12	1	1	2	Sterile	2	373 bp
32450	8701	RPL12	1	1	2	Lethal	3	373 bp
109447	108734	RPL12	1	0	2	Viable	2*	177 bp

Figure 1. Description des trois lignées transgéniques permettant l'inactivation de *RPL12* par ARN interférence.

A Représentation schématique de la structure du gène *RPL12* et de ses transcrits (Source : FlyBase BLAST (http://flybase.org/blast/). Les lignées transgéniques 32449 et 32450 ciblent les régions A et B. La lignée 109447 cible la région B.

B Tableau des lignées transgéniques permettant l'inactivation de *RPL12* par le système UAS-Gal4. Les *ON targets* représentent les gènes présentant un alignement parfait avec au moins 50% des 19-mer sens de la construction (soit 25% de tous les 19-mer), les *OFF targets* représentent les gènes qui présentent au moins un alignement parmi les 19-mers sens de la construction. Les transgènes sont insérés sur le chromosome II en position 22019296 (5` to CR33987). (*phiC31 ARNi Library*).

Source : VDRC (http://stockcenter.vdrc.at)

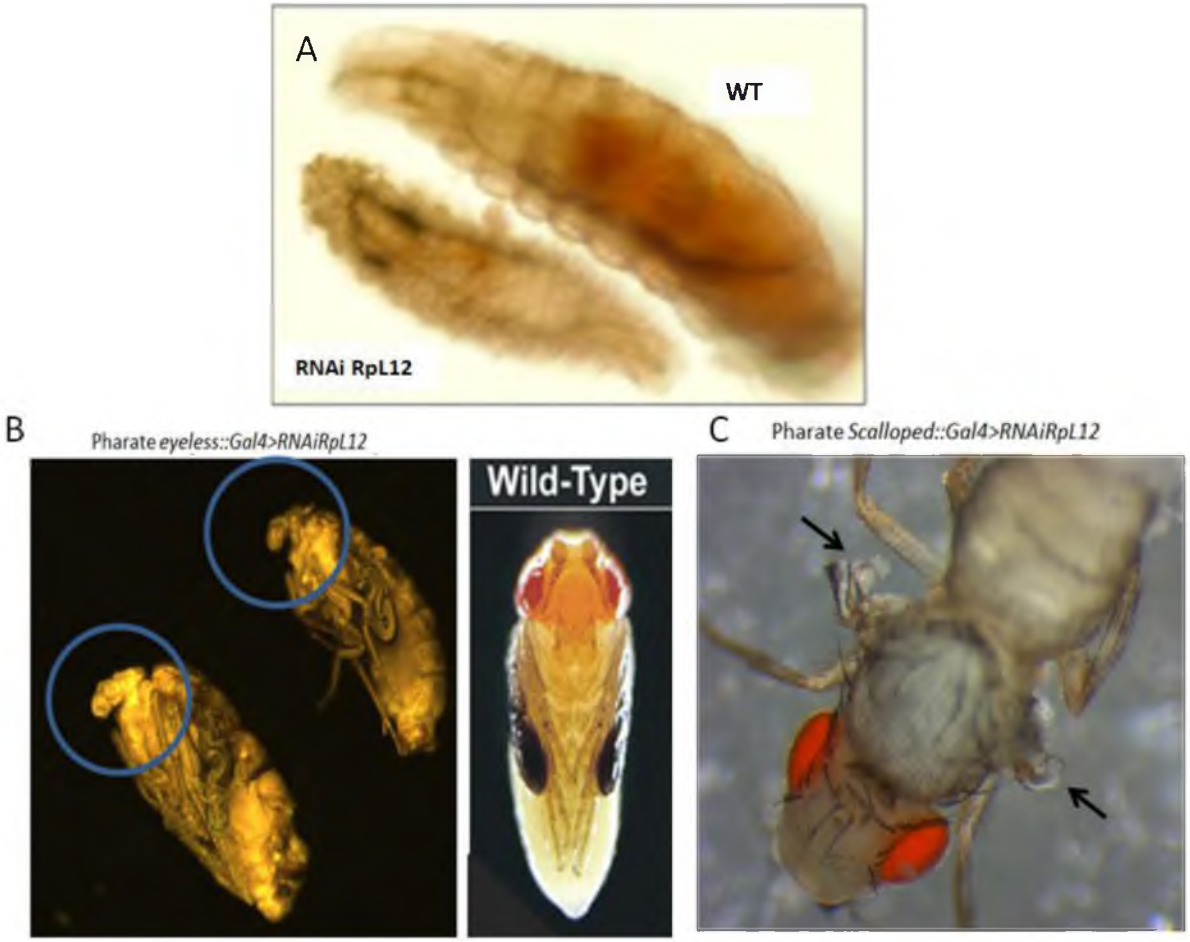
1 Analyses génétiques

1.A.. Génétique de *RPL12*

Chez la drosophile, *RPL12* est un gène unique, situé sur le chromosome II en position 60B7. Trois transcrits ont été décrits codant une seule protéine de 165 acides aminés (Figure 1A). Des études portant sur l'inactivation de *RPL12* ont été menées chez la levure *Saccharomyces cerevisiae*. Dans cet organisme, RPL12 est codée par deux gènes dupliqués *RPL12A* et *RPL12B*, codant une protéine RPL12p unique. L'inactivation des deux paralogues *RPL12A* et *RPL12B* ralentit très fortement la croissance cellulaire mais n'est pas létale. Une analyse transcriptomique de ce double mutant montre que RPL12 affecte la transcription des acteurs de la voie PHO (transport du phosphate inorganique) (Tu *et al.*, 2011). Comme mentionné dans l'introduction, d'autres auteurs ont utilisé la surexpression de formes étiquetées de RPL12 (Mitrovitch *et al.*, 2000 chez le nématode ; Plafker et Macara, 2002 dans des cellules de mammifères) et montré que RPL12 contrôle l'épissage de son propre transcrit (voir INTRODUCTION 4.2.1 et Figure 34). Nous avons étudié l'inactivation de *RPL12* par ARNi et sa surexpression chez la drosophile.

1.A.1. Perte de fonction de RPL12

Il n'existe pas de mutants de *RPL12* décrits à ce jour chez la drosophile, ce qui suggère que ce gène est haploinsuffisant, contrairement à ce qui a été observé chez *Saccharomyces cerevisiae*. Afin d'analyser la perte de fonction de *RPL12*, j'ai utilisé des lignées transgéniques de drosophile permettant son inactivation par ARNi. Trois lignées ARNi ciblant *RPL12* (*UAS-ARNi-RPL12*) ont été obtenues auprès du consortium VDRC (*Vienna Drosophila RNAi Center*) (Figure 1B). L'inactivation de *RPL12* en utilisant ces trois lignées et différents pilotes Gal4 ubiquitaires montre les mêmes phénotypes. Je ne présenterai donc que les résultats obtenus avec la lignée homozygote viable ne présentant pas de *OFF targets* (Lignée 109447). Sauf indication contraire, tous les croisements ont été réalisés à 25°C.



<u>Figure 2 : Phénotypes engendrés par l'inactivation de *RPL12*</u>
A Comparaison d'une larve de stade L1 sauvage (*WT*) et d'une larve ARNi *RPL12* (*da::Gal4>UAS-ARNi RPL12*)
B Inactivation de *RPL12* par le pilote *ey::Gal4*. Pharates *eyeless ::Gal4>UAS-ARNi RPL12* (à gauche) et sauvage (à droite).
Le gène *eyeless* s'exprime essentiellement dans les yeux et dans le cerveau.
C Inactivation de *RPL12* par le pilote *sd::Gal4*. Pharate *scalloped ::Gal4>UAS-ARNi RPL12*.
Le gène *scalloped* s'exprime dans la poche de l'aile, dans les trachées, les pattes, et d'autres organes internes.

L'étude de l'inactivation de *RPL12* par ARNi démontre que c'est un gène essentiel. En effet, l'inactivation ubiquitaire précoce de *RPL12* avec le pilote *daughterless::Gal4* (*da::Gal4 >UAS-ARNiRPL12*) induit une mortalité au 1er stade larvaire. Après l'éclosion, les larves sont plus petites, peu mobiles et meurent rapidement (Figure 2A). Au cours du développement, l'inactivation de *RPL12* avec différents pilotes Gal4 tissus-spécifiques semble affecter la viabilité cellulaire. Par exemple, l'inactivation de *RPL12* dans les disques imaginaux d'œil en utilisant le pilote *eyeless::Gal4* (*ey::Gal4*) (également exprimé dans le cerveau embryonnaire) induit une létalité pupale. La dissection des pupes pour en extraire les pharates (individu adulte dans son cocon) montre l'absence totale de tête (Figure 2B). De même, l'inactivation de *RPL12* dans les disques imaginaux d'aile par le pilote *scalloped::Gal4* (*sd::Gal4*) à 25°C induit une létalité larvaire. En revanche, à 18°C, les individus se développent jusqu'au stade pupal; ils présentent une disparition presque complète des ailes (Figure 2C).

Ces résultats montrent que *RPL12* est indispensable pour la viabilité cellulaire et suggèrent qu'il est impliqué dans la croissance cellulaire, la prolifération cellulaire, et/ou l'apoptose.

1.A.2. Gain de fonction de RPL12

Ne disposant pas d'anticorps dirigés contre RPL12, j'ai réalisé différents outils génétiques permettant l'étude de *RPL12 in vivo*. J'ai généré des lignées de drosophiles transgéniques permettant la surexpression de *RPL12-Myc* (*UAS-RPL12-Myc*) (cf article) ainsi que de sa forme mutée *RPL12K3A* (*UAS-RPL12K3A-Myc*).

La surexpression ubiquitaire de *RPL12* (*da::Gal4>UAS-RPL12-Myc*) ne produit pas de phénotype externe visible, mais le temps de développement est raccourci d'environ 20h à 25°C par rapport aux individus sauvages. Les adultes ont une taille normale. La surexpression de la forme mutée K3A ne présente pas non plus de phénotype externe. La durée du développement des individus *da::Gal4>UAS-RPL12K3A-Myc* n'a pas encore été mesurée.

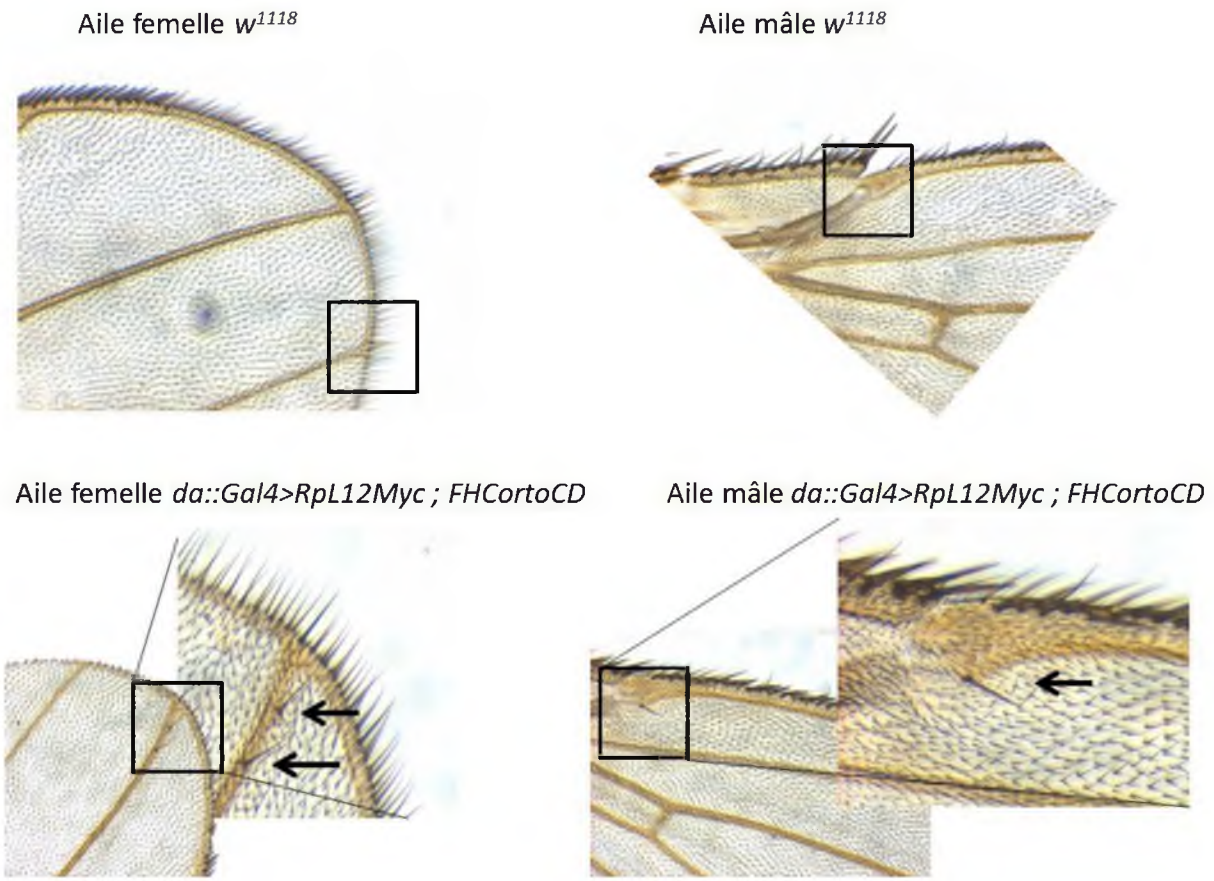


Figure 3 : Surexpression de *corto* et *RPL12* par *da ::Gal4>RPL12Myc ; FHCortoCD.*

Panneaux du haut : Ailes de phénotype sauvage.
Panneaux du bas : Ailes d'individus *da ::Gal4>RPL12Myc ; FHCortoCD* présentant des soies ectopiques sur l'extrémité des veines. La zone encadrée en noir représente un zoom sur le phénotype observé.

1.A.3. Interaction génétique entre Corto et RPL12

La surexpression simultanée de *RPL12* et du chromodomaine de Corto (*da::Gal4>UAS-FH-cortoCD; UAS-RPL12-Myc*) produit des phénotypes identiques à ceux générés par la surexpression du chromodomaine seul (cf article). On peut toutefois noter des phénotypes alaires discrets comme l'apparition de soies ectopiques sur les extrémités des veines (Figure 3). Ces phénotypes, qui n'existent ni chez les individus surexprimant *RPL12*, ni chez les individus surexprimant *cortoCD,* confirment l'existence d'une interaction entre les deux gènes.

1.B. Caractérisation moléculaire des mutations *corto*^{420} et *corto*^{L1}

L'analyse des données de RNAseq obtenues à partir de disques d'aile d'individus homozygotes mutants pour *corto* (combinaison hétéroallélique *corto*^{420}/*corto*^{L1}) nous a permis de caractériser précisément la nature moléculaire des mutations des deux allèles de *corto* utilisés.

1.B.1. Caractérisation de la mutation corto^{420}

L'allèle *corto*^{420} a été initialement décrit comme une délétion unilatérale de 16 Kb issue de l'excision imparfaite de l'élément *P* inséré 20 bp en amont du TSS de *corto* dans la lignée *A46* (Figure 4) (Kodjabachian *et al.,* 1998).

Afin de définir l'étendue exacte de la délétion du mutant *corto*^{420}, j'ai réalisé des PCR sur de l'ADN génomique extrait d'individus hétéroalléliques *corto*^{420}/ *Df(3R)6-7* (fragments de PCR 1 à 12, Figure 4B). La déficience *Df(3R)6-7* couvre la région génomique 82E à 82F et contient *corto* (en 82E). Tous les fragments de PCR correspondants aux régions 1 à 12 sont amplifiés à partir d'ADN génomique sauvage (lignée de référence *w*^{1118}). En revanche, seuls les fragments 1 et 12 sont amplifiés à partir de l'ADN génomique *corto*^{420}/*Df(3R)6-7* (Figure 4C). Ce résultat suggère que la délétion du mutant *corto*^{420} chevauche tout ou partie des régions 2 à 11.

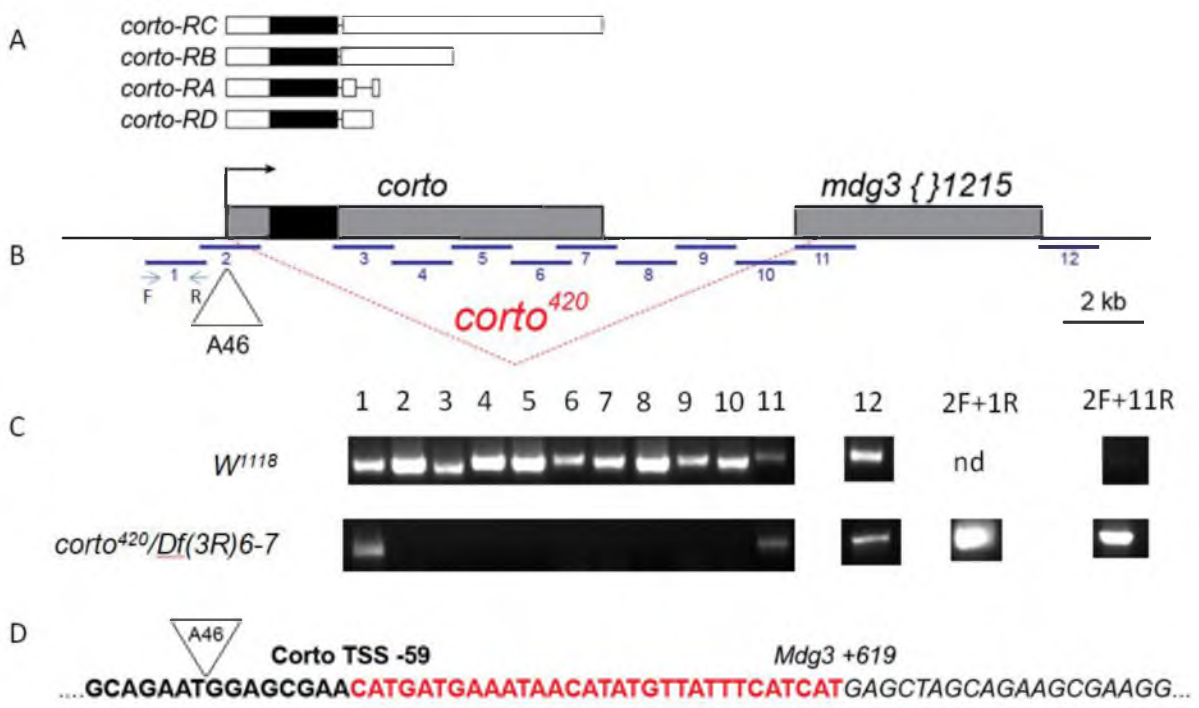


Figure 4 : Caractérisation du mutant *corto*^{420}

A Représentation des différents transcrits de *corto*, avec les régions codantes en noir
B Le triangle représente le site d'insertion de l'élément P dans la lignée *A46* ayant servi à générer le mutant *corto*^{420}. La délétion est indiquée en rouge. Les barres bleues numérotées correspondent aux différents amplicons de PCR sur le gène *corto* (primers F (Forward) et R (Reverse)). Chaque amplicon chevauche les amplicons voisins de 100 à 250 bp.
C Gel d'agarose présentant les amplicons de PCR réalisées à partir d'ADN génomique de mouche adulte *w*^{1118} ou *corto*^{420}*/Df(3R)6-7*. Les amplicons 1 à 12 ont une taille comprise entre 1500 et 1600 bp, l'amplicon 2F+1R a une taille de 200 bp et l'amplicon 2F+11R détecté uniquement dans l'ADN de *corto*^{420}*/Df(3R)6-7* à une taille de 1200 bp environ.
D Le séquençage de l'amplicon 2F+11R permet d'obtenir les bornes précises de la délétion : de 59 bp en amont du TSS de *corto* jusqu'à 619 bp en aval de *mdg3{}1215*. Une séquence de 31 bases est insérée à la place de la délétion (notée en rouge).

Afin de caractériser précisément les bornes de la délétion du mutant *corto*^{420}, j'ai réalisé une amplification avec les amorces sens de la région 2 et antisens de la région 11 et j'ai séquencé cet amplicon de 1200 bp (Figure 4D). J'ai ainsi montré que la mutation *corto*^{420} correspond à une délétion de 14209 nt de la position -59 nt en amont du TSS de *corto*, jusqu'à +619 nt du rétrotransposon *mdg3{}1215* (c'est à dire environ 400 nt après le LTR 5'). J'ai également mis en évidence la présence d'une séquence de 30 nt, non identifiée, entre ces deux bornes (en rouge dans la figure 4D).

Le mutant *corto*^{420} est donc un mutant nul.

1.B.2. Caractérisation de la mutation *corto*^{L1}

L'allèle *corto*^{L1} est issu d'une mutagénèse à l'EMS; il est génétiquement défini comme un amorphe (Mouchel-Vielh *et al.*, 2011).

L'alignement des séquences obtenues par RNAseq à partir de la combinaison hétéroallélique *corto*^{420}/*corto*^{L1} et du génome de référence (*FB2011_06 Dmel Release 5.38* de juin 2011) met en évidence quelques polymorphismes silencieux (différences de nucléotides par rapport à la souche de référence n'entraînant pas de changement d'acide aminé) dont certains sont localisés dans la séquence codante (Figure 5). De plus, la combinaison hétéroallélique *corto*^{420}/*corto*^{L1} montre l'apparition d'un codon non-sens à la position 73 [changement de CAA (Q) en TAA (Stop)]. Afin de vérifier ce résultat, j'ai amplifié cette région à partir d'ADN génomique d'individus *corto*^{L1}*/Df3R(6-7)* et j'ai séquencé le produit de PCR. J'ai ainsi confirmé la présence d'une mutation ponctuelle C>T, non-sens, à la position +73 par rapport au TSS de *corto*.

Le mutant *corto*^{L1} est donc un mutant amorphe, n'exprimant qu'un polypeptide correspondant aux 24 premiers acides aminés de Corto.

Ces résultats corroborent les expériences de RT-PCR quantitative réalisées à partir d'ADNc provenant de disques imaginaux d'aile issus de larves de 3ème stade *corto*^{420}*/Df(3R)6-7* et *corto*^{L1}*/Df(3R)6-7* qui montrent l'absence de transcrits dans la 1ère combinaison mais pas dans la seconde (Figure 6) (Mouchel-Vielh *et al.*, 2011).

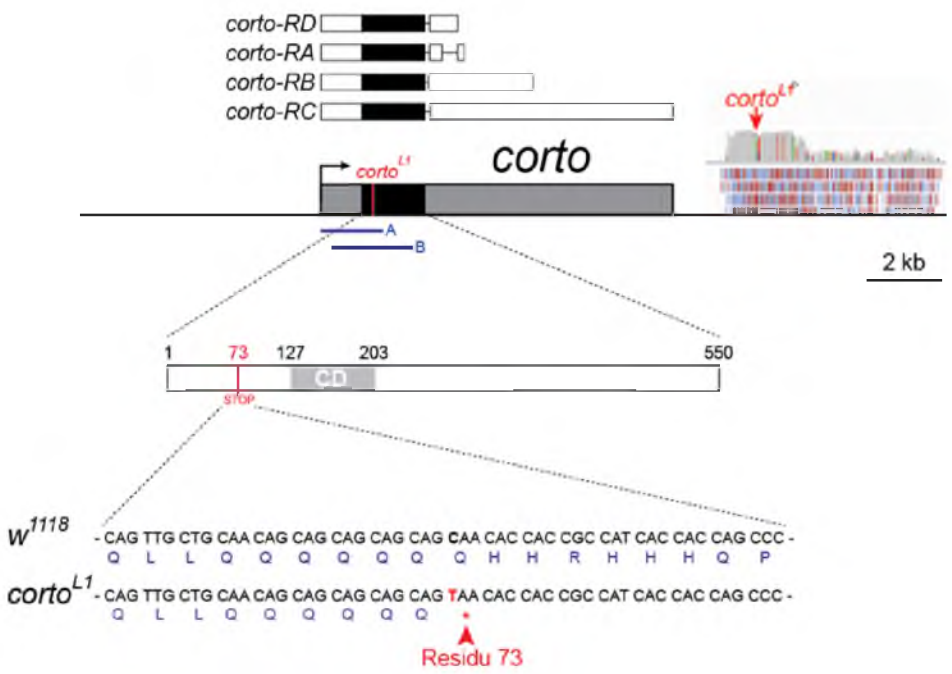


Figure 5 : Caractérisation du mutant *corto*^{L1}

Panneau du haut : région chromosomique 3R :914,075..874,433[-]. Représentation des différents transcrits *corto*, avec la région traduite en noir. A droite, profil obtenu par RNAseq indiquant les polymorphismes (lignes de couleur sur profil gris). Panneau du bas : séquence de la région comportant le codon muté. Les PCR réalisées pour l'étude de cette région sont notées en bleu(A, B).

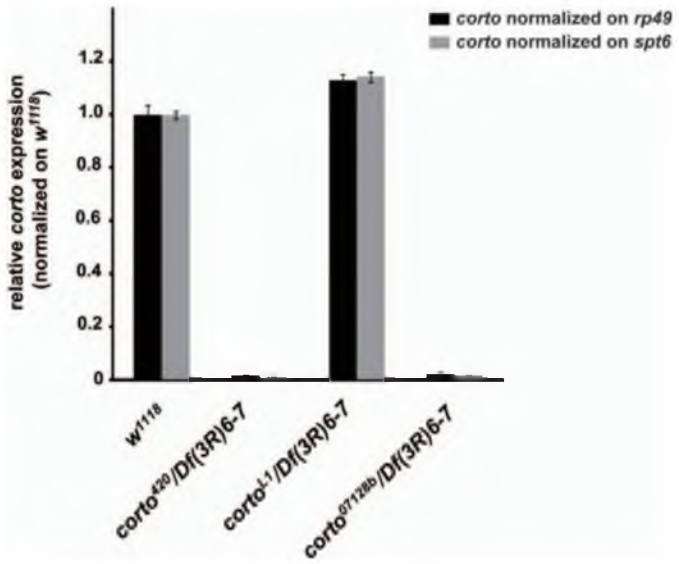


Figure 6 : Quantification des transcrits *corto*

RT-PCR quantitative à partir de disques imaginaux d'aile de *corto*^{420}/Df(3R)6-7, *corto*^{L1}/Df(3R)6-7 et *corto*^{07128b}/Df(3R)6-7 au 3ème stade larvaire. Tiré de Mouchel-Vielh *et al.*, 2011.

1.B.3. Anomalie de transcription dans les mutants corto

L'alignement des séquences obtenues par RNAseq met en évidence, dans la combinaison hétéroallélique mutante *corto*^{420}/*corto*^{L1}, la présence de transcrits en aval du rétrotransposon *mdg3{}1215,* alors que cette même zone n'est pas transcrite dans les individus contrôles (Figure 7).

L'allèle *corto*^{L1} n'ayant pas d'autre mutation que celle qui conduit à l'introduction d'un codon stop en +73, nous faisons l'hypothèse que ces transcrits sont produits à partir de l'allèle *corto*^{420}. Cet allèle étant une déficience qui couvre le site de terminaison de la transcription de *corto*, il est possible que les séquences de terminaison de la transcription localisées dans les LTR du rétrotransposon *mdg3{}1215* ne soient pas suffisantes pour arrêter la transcription initiée à partir du promoteur de *corto*. Une analyse par q-RT-PCR de cette région, à partir d'individus *corto*^{420}/*Df(3R)6-7,* permettrait de vérifier notre hypothèse.

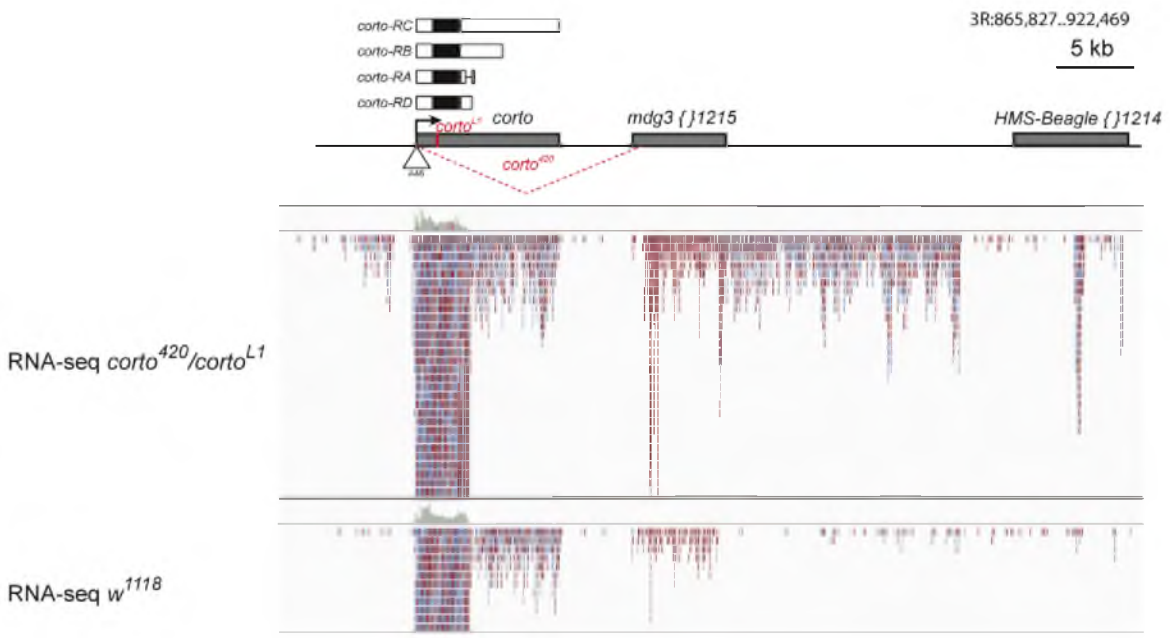


Figure 7 : Etendue des transcrits produits à partir du promoteur de *corto* dans la combinaison hétéroallélique *corto*^{420}/*corto*^{L1}.

Alignement par IGV (*Integrative Genomics Viewer*) des séquences obtenues par RNAseq sur la région de *corto*. Noter que la région en 3' du rétrotransposon *mdg3{}1215* n'est pas transcrite dans la lignée sauvage.

2 Analyses fonctionnelles

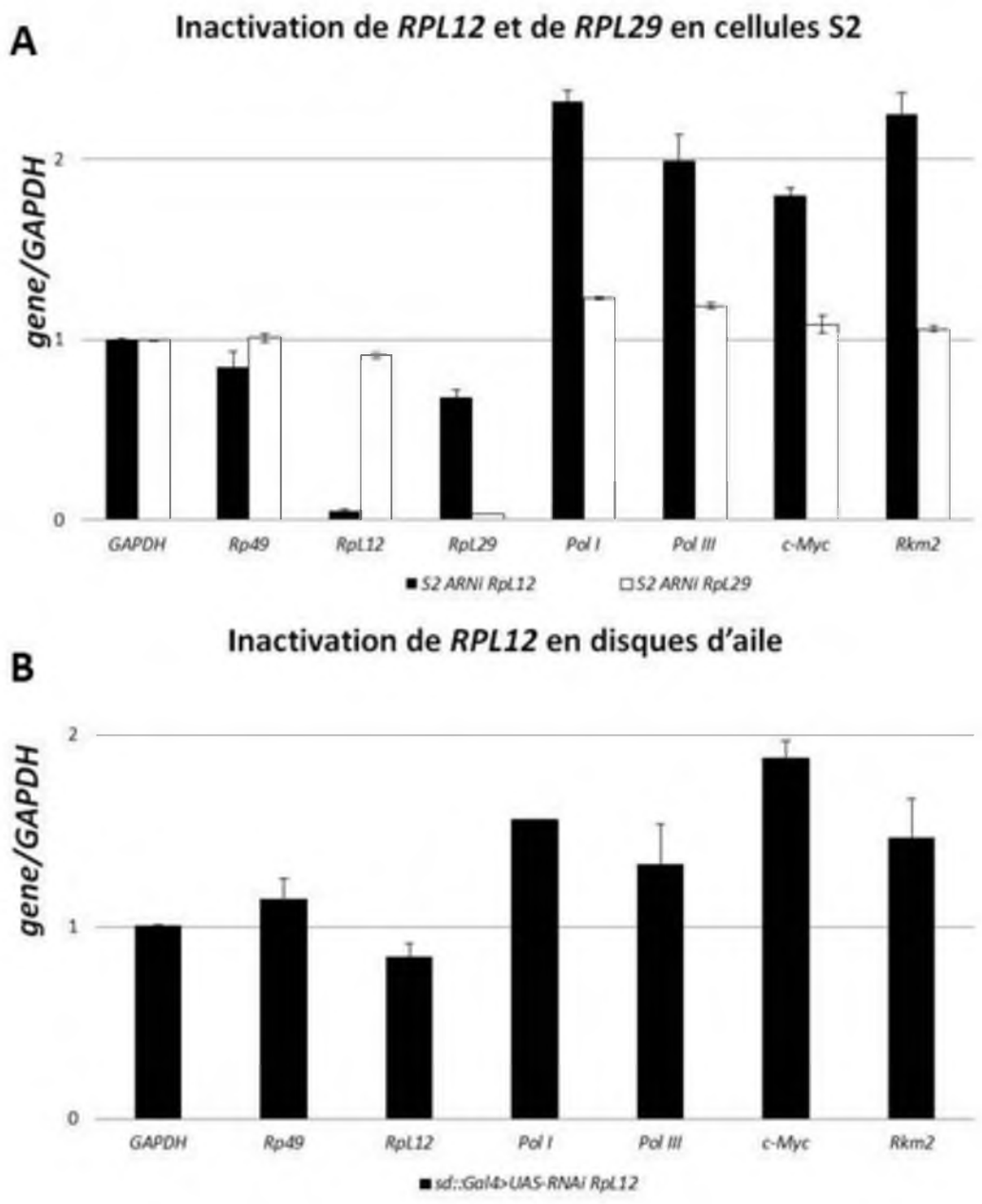
2.A. Analyse de l'inactivation de *RPL12* et *corto* par RNAi dans les cellules S2

2.A.1. Inactivation de RPL12

L'inactivation de *RPL12* étant létale à un stade larvaire précoce, j'ai analysé par RT-PCR quantitative l'expression de certains gènes cibles potentiels dans les cellules S2 de drosophile traitées par des ARNi ciblant *RPL12*.

Dans un premier temps, j'ai construit des vecteurs permettant la synthèse *in vitro* d'ARN double brin pour *RPL12, RPL29* et *GFP* (contrôles négatifs). Le gène *RPL29* a été choisi comme témoin négatif car Dai et coll. ont montré que l'ARNi de *RPL29* ne modifie pas l'expression des gènes d'ARNt et de l'ARNr 5S (Dai *et al.*, 2010). Dans un premier temps, j'ai mis au point les conditions expérimentales de l'inactivation par ARNi de *RPL12* (quantité d'ARN double brin, temps de traitement, mortalité cellulaire,…). Après 7 jours de traitement, le nombre de cellules dans les ARNi *RPL12* étant plus faible que dans les cellules contrôles ARNi *RPL29* et *GFP*, les extractions ont été réalisées à partir d'un même nombre de cellules. Les résultats de PCR quantitative ont été normalisés par rapport au gène de référence *GAPDH* et rapportés à la condition de référence contrôle ARNi *GFP*. Les calculs ont été réalisés par la méthode de Pfaffl (Pfaffl, 2001).

L'inactivation de *RPL12* et de *RPL29* conduit à une diminution significative du nombre de transcrits de *RPL12* et de *RPL29* respectivement, confirmant l'inactivation spécifique de chacun des gènes cibles (Figure 8A).



<u>Figure 8 : Expression de différents gènes en condition d'inactivation de *RPL12* par ARNi.</u>

A Niveau d'expression de différents gènes mesuré dans les cellules S2 de drosophile. Les niveaux d'expression sont mesurés par RT-qPCR et normalisés sur le gène *GAPDH* puis sur l'ARNi GFP comme groupe de référence, avec les barres d'erreur représentant la déviation standard de trois répliquats.

B Niveau d'expression de différents gènes mesuré dans les disques d'ailes de larves de 3ème stade *sd::gal4>UAS-ARNi-RPL12* élevées à 18°C. Les niveaux d'expression sont mesurés par RT-qPCR et normalisés sur le gène *GAPDH* puis sur le génotype *UAS-ARNi RPL12Myc/+* comme groupe de référence, avec les barres d'erreur représentant la déviation standard de trois répliquats.

L'inactivation de *RPL29* perturbe peu le taux d'expression des gènes étudiés (*Rp49, ARN Pol I, ARN Pol III, c-Myc, Rkm2*,). En revanche, l'inactivation de *RPL12* ne modifie pas l'expression de *RPL29* mais augmente d'environ 2 fois le niveau d'expression des gènes *c-Myc, ARN Pol I* et *ARN Pol III* qui sont impliqués dans la régulation de la biogenèse des ribosomes. De plus, le gène *Rkm2* (*CG33230*), codant l'homologue de la lysine-méthyltransférase responsable de la triméthylation de RPL12 sur la lysine 3 chez la levure, est également surexprimé. Ces résultats suggèrent que *RPL12* réprime les gènes *ARN Pol I, ARN Pol III, c-Myc, et Rkm2.*

2.A.2. Inactivation de RPL12 dans les disques d'aile

Afin de confirmer ces résultats, j'ai réalisé la même analyse sur des ARN extraits de disques imaginaux d'aile de larves de 3ème stade *sd::gal4>UAS-ARNiRPL12* élevées à 18°C. En effet, comme indiqué précédemment, le croisement *sd::gal4>UAS-ARNiRPL12* est létal à 25°C, mais les individus atteignent le stade pharate à 18°C, ce qui nous a permis de disséquer des disques d'ailes de 3ème stade larvaire afin d'étudier le niveau d'expression des mêmes gènes que ceux étudiés dans les cellules S2. La normalisation est réalisée sur le génotype contrôle *UAS-ARNi RPL12/+*.

Les résultats de l'inactivation de *RPL12* dans les disques d'aile (Figure 8B) sont similaires à ceux obtenus dans les cellules S2 en culture, bien que l'amplitude soit plus faible. Ceci peut s'expliquer, d'une part, par la faible expression de l'*ARNi RPL12* à 18°C (comme le suggère la faible inactivation de *RPL12* dans les disques *sd ::gal4>ARNi RPL12*), d'autre part car le pilote *sd::Gal4* utilisé ne s'exprime que dans une partie du disque imaginal d'aile : la poche de l'aile. Ainsi, les ARN extraits proviendraient d'un mélange d'ARN de cellules sauvages et de cellules dans lesquelles *RPL12* est inactivé.

Les résultats de l'inactivation de *RPL12* dans les disques d'aile confirment donc ceux obtenus dans les cellules S2 en culture

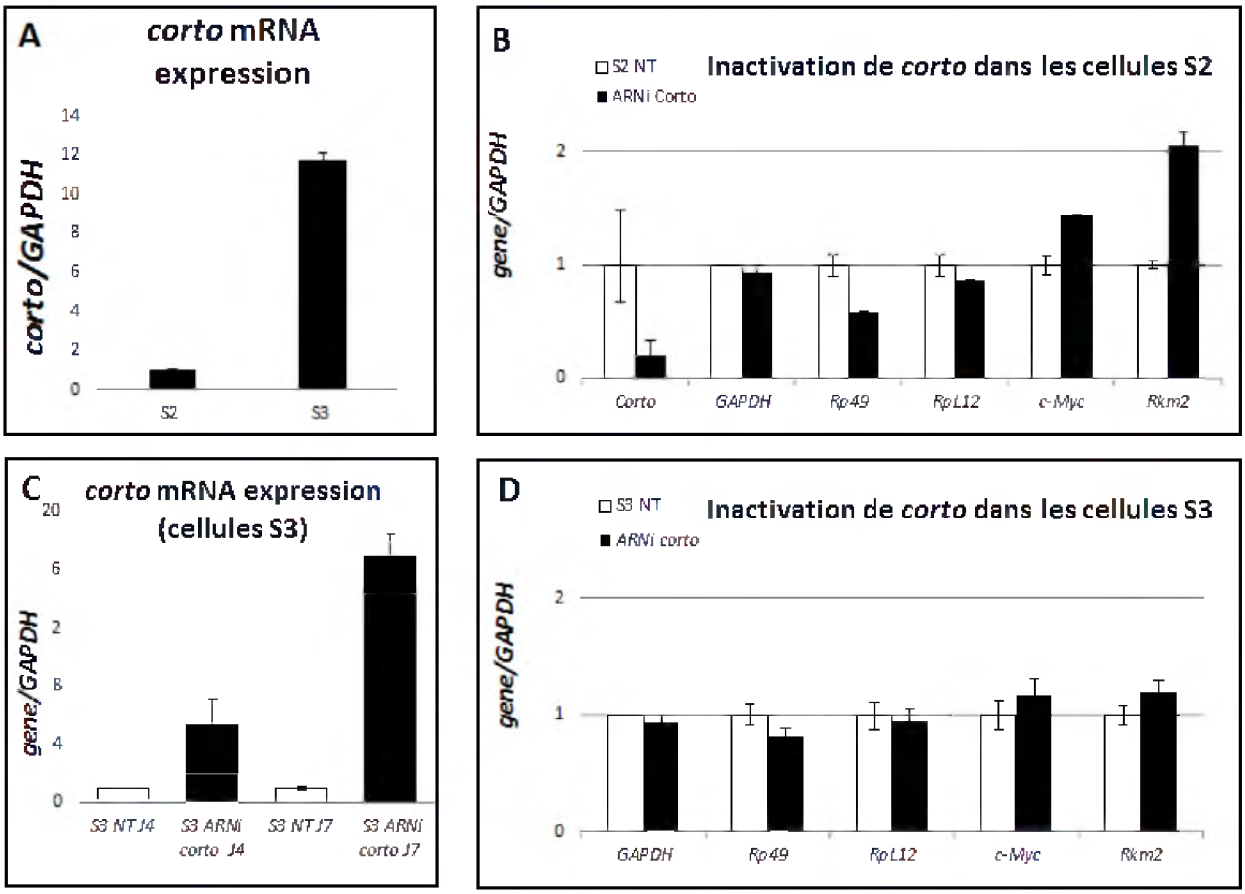


Figure 9 : Expression de différents gènes en condition d'inactivation de *corto* par ARNi.

A Comparaison du niveau d'expression de *corto* dans les cellules S3 par rapport aux cellules S2, normalisé sur *GAPDH*.

B Niveau d'expression de différents gènes mesurés dans les cellules S2 de drosophile traitées par ARNi ciblant l'inactivation de *corto*. Le niveau d'expression est mesuré par RT-qPCR et normalisé sur le gène *GAPDH* puis sur les cellules S2 non traitées comme groupe de référence, avec les barres d'erreur représentant la déviation standard de deux répliquats.

C Niveau d'expression de *corto* dans les cellules S3 traitées par ARNi ciblant l'inactivation de *corto* à 4 puis 7 jours de traitement (J4 et J7 respectivement) comparé au niveau d'expression en cellules S3 non traitées (S3 NT) (S3 ARNi corto : barres noires) ou non traitées (S3 NT : barres blanches), normalisé sur *GAPDH*.

D *idem* **B** dans les cellules S3 en condition ARNi *corto*.

2.A3. Inactivation de corto en cellules S2

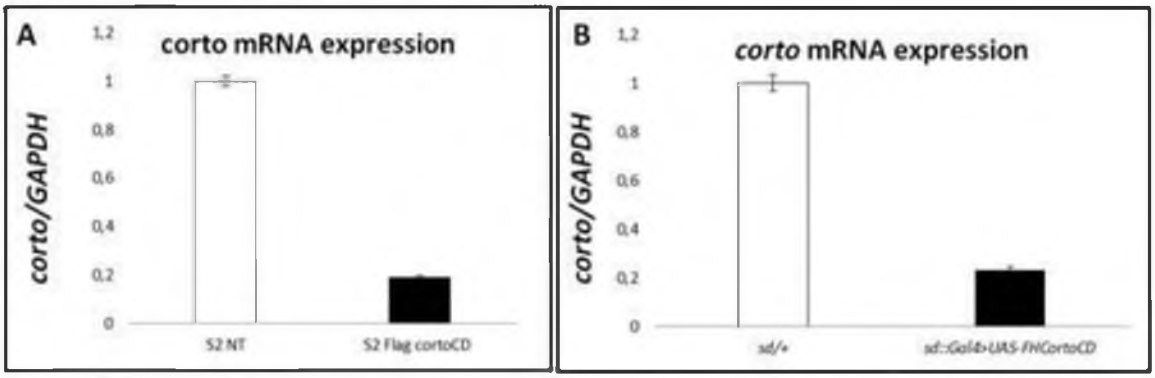
Les cellules S2 et S3 de drosophile (Schneider-2 et 3) dérivent de cellules embryonnaires (Schneider, 1972). De façon surprenante, *corto* est beaucoup plus fortement exprimé dans les cellules S3 que dans les cellules S2 (Figure 9A). L'inactivation de corto dans les cellules S2 donner des résultats similaires à ceux obtenus avec l'inactivation de *RPL12* pour les gènes *c-Myc* et *Rkm2* (Figure 9B) ce qui suggère qe corto maintient la répression de ce gène dans les cellules S2.

2.A.4. Inactivation de corto en cellules S3

De façon surprenante, l'étude de l'expression de *corto* dans les cellules S3 dans lesquelles *corto* est inactivé montre qu'il augmente fortement (Figure 9C), suggérant que l'inactivation de *corto* dans ce type cellulaire activerait la transcription du gène. Ce résultat suggère que *corto* s'autorégule négativement dans ces cellules. Nous n'avons pas pu tester l'augmentation ou la diminution de la protéine Corto en Western Blot, la quantité de cellules après 7 jours de traitement étant trop faible. L'inactivation de corto ne semble pas être efficace en cellules S3, en effet, le niveau d'expression des gènes testés ne varie pas par rapport au contrôle.

2.B. Autorégulation de *corto*

La surexpression de *cortoCD* dans les cellules S2 conduit à la diminution du nombre de transcrits *corto* (par comparaison avec les cellules non transfectées) (Figure 10A). Les amorces de q-PCR utilisées n'amplifiant pas la région correspondant au chromodomaine, seuls les transcrits *corto* endogènes sont mesurés. Le même résultat est obtenu en surexprimant *cortoCD* dans les disques d'aile sous le contrôle du pilote *sd ::Gal4* (Figure 10B) : la quantité de transcrits *corto* endogène diminue. Ceci confirme que Corto réprimerait la transcription de son propre gène et suggère que la surexpression de *cortoCD* se conduit comme un dominant négatif.



C

	Reads number		Ratio log:	Stat.
corto transcripts	Control w^{1118}	*corto* LOF*	*corto* LOF/w^{1118}	padj
corto-RA	4 616	9 633	1,0613	2,87E-26
corto-RB	5 223	10 205	0,9663	4,11E-13
corto-RC	5 424	10 509	0,9542	6,14E-12
corto-RD	5 083	9 986	0,9742	7,49E-14
	Control *sd::Gal4*	*corto* GOF**	*corto* GOF/*sd::Gal4*	padj
corto-RA	6 642	80 369	3,5969	0
corto-RB	7 485	80 672	3,4299	0
corto-RC	7 766	80 903	3,3809	0
corto-RD	7 349	80 516	3,4536	0
	Control *sd::Gal4*	*CortoCD* OE***	*CortoCD/sd::Gal4*	padj
corto-RA	6 642	5 485	-0,2761	3,72E-89
corto-RB	7 485	5 849	-0,3558	3,54E-129
corto-RC	7 766	6 164	-0,3333	2,85E-125
corto-RD	7 349	5 649	-0,3795	8,86E-136

Figure 10 : Quantification des transcrits *corto* LOF ou GOF

A Niveau d'expression de *corto* en condition de surexpression de *cortoCD* dans les cellules S2 transfectées par le vecteur *Act::Flag-cortoCD* (promoteur Actine; étiquette Flag) comparé au niveau d'expression dans les cellules S2 non transfectées (S2 NT).

B Niveau d'expression de *corto* en condition de surexpression de *cortoCD* dans les disques d'aile comparé au niveau d'expression dans les individus sauvages (sd::Gal4/+).

C Dérégulation des transcrits de *corto* (RNAseq), * *corto* LOF : combinaison hétéroallèlique $corto^{L1}/corto^{420}$; ** *corto* GOF : *sd::Gal4>UAS-Corto,* ***cortoCD* OE: s*d::Gal4>UAS-cortoCD ;* padj **:** adjusted *p*-value.

Dans ce contexte, le chromodomaine pourrait entrer en compétition avec la protéine Corto endogène pour la régulation de son propre promoteur. Les séquences flanquant le chromodomaine étant absentes, le recrutement des partenaires de Corto n'aurait pas lieu.

Les données de RNAseq de la combinaison hétéroallélique *corto*^{420}/*corto*^{L1} (Figure 10C), montrent une augmentation des transcrits *corto* (par rapport au témoin *w*^{1118}). Rappelons que dans ces conditions, seul l'allèle *corto*^{L1} peut produire des transcrits, l'allèle *corto*^{420} étant une délétion. On observe donc une surproduction de transcrits alors qu'il n'y a plus qu'une seule copie du gène. Lorsque l'on surexprime *corto* (*sd ::Gal4>UAS-corto*), on observe une augmentation du nombre de transcrits *corto*, correspondant probablement en grande partie aux transcrits du transgène (qui ne sont pas différentiables des transcrits endogènes). En revanche, la surexpression du chromodomaine de *corto* (*sd::Gal4>UAS-cortoCD*) induit une diminution du nombre de transcrits *corto* endogènes (par rapport au témoin *sd::Gal4/+*). Ces résultats confirment l'autorégulation négative de *corto*.

2.C. Caractérisation de cibles directes de Corto et RPL12 par XChIP

Afin d'étudier les cibles transcriptionnelles directes de Corto et RPL12, j'ai réalisé des expériences de XChIP (Immunoprécipitation de la chromatine fixée au paraformaldéhyde) à partir de disques imaginaux d'aile exprimant les formes étiquetées RPL12-Myc et FH-CortoCD (*sd::Gal4>UAS-RPL12-Myc* et *sd::Gal4>UAS-FH-cortoCD*).

Les données que je présente dans cette partie, obtenues à partir de *sd::Gal4>UAS-RPL12Myc*, sont préliminaires et devront être validées ultérieurement.

Après avoir mis au point le protocole de XChIP sur les disques d'aile, adapté d'un protocole publié (Perez-Lluch *et al.*, 2011), j'ai étudié la fixation de RPL12-Myc (IP Myc) et de FH-CortoCD (IP HA). En parallèle, j'ai également testé la distribution de l'ARN polymérase II phosphorylée sur la sérine 2 du CTD (généralement associée à l'élongation de la transcription) ou sur la sérine 5 du CTD, (IP RNAPIISer2p et IP RNAPIISer5p, respectivement). Une sur-représentation de Ser5p par rapport Ser2p est généralement associée à la pause transcriptionnelle (voir chapitre 3.2.3).

J'ai choisi d'analyser les gènes les plus surexprimés quand *cortoCD* ou *RPL12* sont surexprimés (voir données de RNAseq Annexe 6), soit, *RPS4*, qui apparait comme le plus surexprimé parmi l'ensemble des RPs dérégulées, et *hsp70*, qui curieusement est surexprimé en absence de choc thermique.

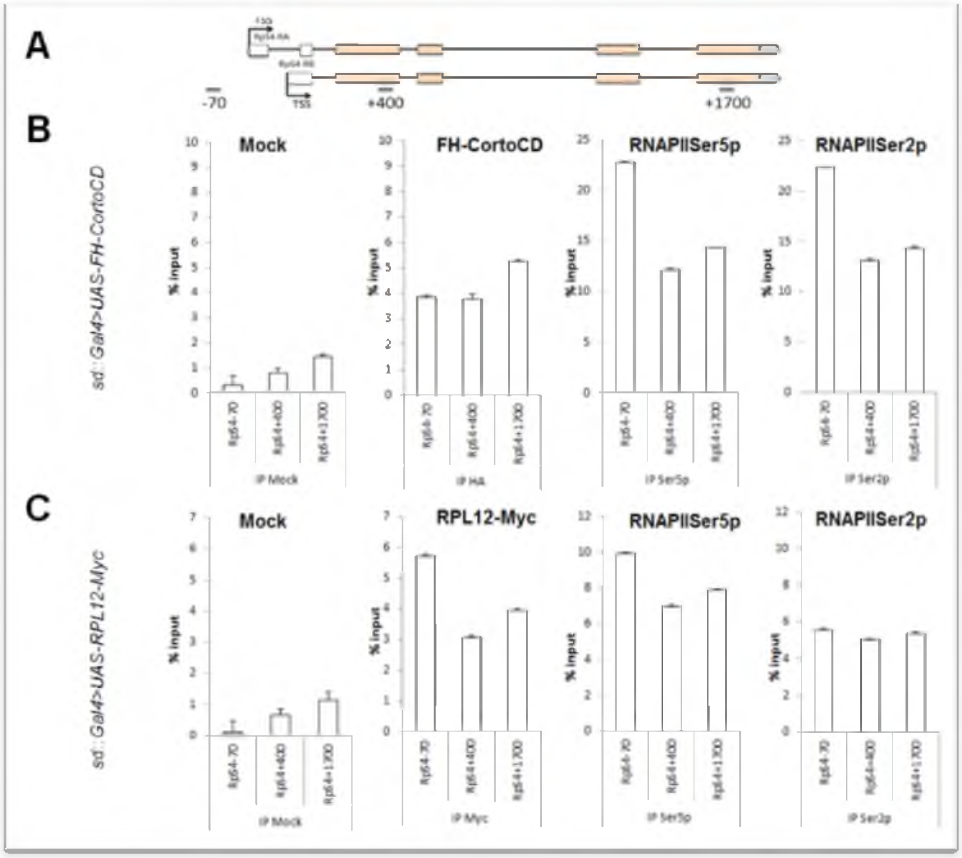


Figure 11 : CortoCD et RPL12 sont enrichis sur le gène *RPS4*

A Représentation schématique du gène *RPS4* avec les amorces utilisées.

B XChIP Mock, anti-HA, anti-ARN polymérase II Ser2ph et Ser5ph en disques d'aile de génotype *sd ::Gal4>UAS-FHcortoCD*, détection de la fixation par qPCR sur les sites -70, +400 et +1700 de la cible *RPS4*.

C XChIP Mock, anti-Myc, anti-ARN polymérase II Ser2p et Ser5p sur les disques d'aile de génotype *sd ::Gal4>UAS-RPL12Myc,* détection de la fixation par qPCR sur les sites -70, +400 et +1700 de la cible *RPS4*.

Les primers utilisés pour *RPS4* ont été dessinés avec le logiciel primer3 (voir liste ci-dessous).

RPS4-70s ATTGATACAGGGGCTGAGGA

RPS4-70a CAGGGTTACTTTTGCGAGGA

RPS4TSS+400s CCTGGTTAAGGTCGATGGAA

RPS4TSS+400a ATGTAGCCAGCGGGATAGG

RPS4TSS+1700s AAGGACTCGCAAGGTCATGT

RPS4TSS+1700a CCAATGATGAACACGTTGGT

2.C.1. Cible RPS4

Dans les disques d'aile *sd ::Gal4>UAS-FH-cortoCD* et *sd ::Gal4>UAS-RPL12-Myc,* le gène *RPS4* est surexprimé. Afin d'analyser la distribution de la fixation de RPL12, du chromodomaine de Corto et de l'ARN polymérase II par XChIP, j'ai étudié le promoteur de *RPS4* (-70 du TSS) ainsi que deux régions dans le corps du gène (+450 et +1700 par rapport au TSS) par qPCR (Figure 11A).

Le profil de fixation de l'ARN polymérase II (formes Ser5p et Ser2p) sur *RPS4* correspond à celui d'un gène transcrit, à savoir un enrichissement sur le promoteur et sur le corps du gène. CortoCD et RPL12 ont des profils de fixation identiques : elles sont uniformément présentes sur *RPS4*, sans enrichissement notable sur le promoteur, suggérant plutôt un rôle dans l'élongation de la transcription (Figure 11).

2.C.2. Cible HSP70

En absence de choc thermique, le gène *hsp70* est en pause transcriptionnelle (Boehm *et al.,* 2003). Il est connu que RPL32 se fixe sur les *loci* des gènes de choc thermique sur les chromosomes polytènes et s'y accumule au cours du choc thermique. Les RPs co-localisant en de multiples sites sur les chromosomes polytènes, ceci suggère que *hsp70* pourrait également être une cible directe de RPL12 (Brogna *et al.,* 2002 voir Figure 35E en introduction). Ainsi, j'ai analysé la fixation de RPL12 et de CortoCD sur le gène *hsp70* avant et après choc thermique.

Dans les cellules S2, le gène *hsp70* est exprimé très faiblement à température ambiante (Figure 12A); son expression est 2 fois plus importante après 5 minutes de choc thermique, et 7 fois après 20 minutes de choc thermique (Petesch et Lis, 2012). De façon intéressante, la surexpression de *RPL12* et de *cortoCD* dans les disques d'aile augmente l'expression de *hsp70* après choc thermique (Figure 12B).

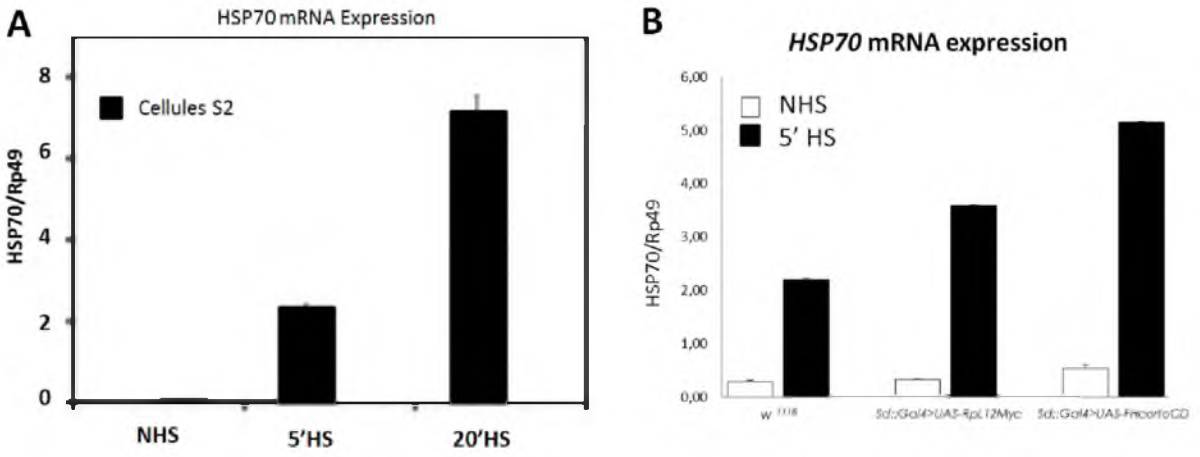


Figure 12 : Expression du gène *hsp70* après un choc thermique.

A Niveau d'expression de *hsp70* après 0, 5, et 20 minutes de choc thermique (HS) mesurés dans les cellules S2 de drosophile. Les niveaux d'expression de *hsp70* sont mesurés par RT-qPCR et normalisés sur le gène *Rp49* avec les barres d'erreur représentant la déviation standard à la moyenne de trois répliquats. D'après Petesch et Lis, 2012.

B Niveau d'expression de *hsp70* après 0 (NHS barres blanches) ou 5 minutes (HS barres noires) de choc thermique mesurés dans les disques d'aile de chaque génotype (w^{1118}, *sd::Gal4>UAS-RPL12Myc* et *sd::Gal4>UAS-FH-cortoCD*). Les niveaux d'expression des gènes sont mesurés par RT-qPCR et normalisés sur le gène *Rp49* avec les barres d'erreur représentant la déviation standard à la moyenne de deux répliquats.

Dans les disques d'aile de 3ème stade larvaire de génotype *sd::Gal4>UAS-FH-cortoCD,* on peut noter que l'ARN Polymérase II Ser5p est particulièrement enrichie en position +58 du gène *hsp70*, site correspondant au site de pause de la polymérase (voir INTRODUCTION 3.2.2). Après 5 minutes de choc thermique, on observe une augmentation des deux formes de l'ARN Polymérase II dans les régions transcrites du gène liée à l'augmentation du taux de transcription (Figure 13).

En absence de choc thermique (no HS : *no heat shock*), CortoCD et RPL12 sont présentes sur *hsp70*, principalement fixées sur le corps du gène (Figure 13). Après choc thermique (5 min HS), on remarque une augmentation significative de la fixation de CortoCD sur *hsp70*, avec un fort enrichissement vers l'extrémité 3' du gène (régions transcrites). L'analyse de la présence de RPL12 sur *hsp70* avant et après choc thermique n'a pas encore été réalisée.

Ces données et l'ensemble de nos données d'interactions génétiques et moléculaires suggèrent fortement que ces CortoCD et RPL12 interagissent sur la chromatine. *hsp70* et *RPS4* sont des cibles communes aux deux protéines. Les profils de fixation de Corto et RPL12, très similaires à celui des deux formes de l'ARN Polymérase II, montrent un enrichissement dans le corps des gènes, suggérant un rôle dans l'élongation de la transcription. Ces résultats sont en accord avec ceux obtenus par immunomarquage des chromosomes polytènes (cf. Article) et renforcent l'hypothèse d'une implication de Corto et/ou de RPL12 dans la transition pause/élongation de la transcription.

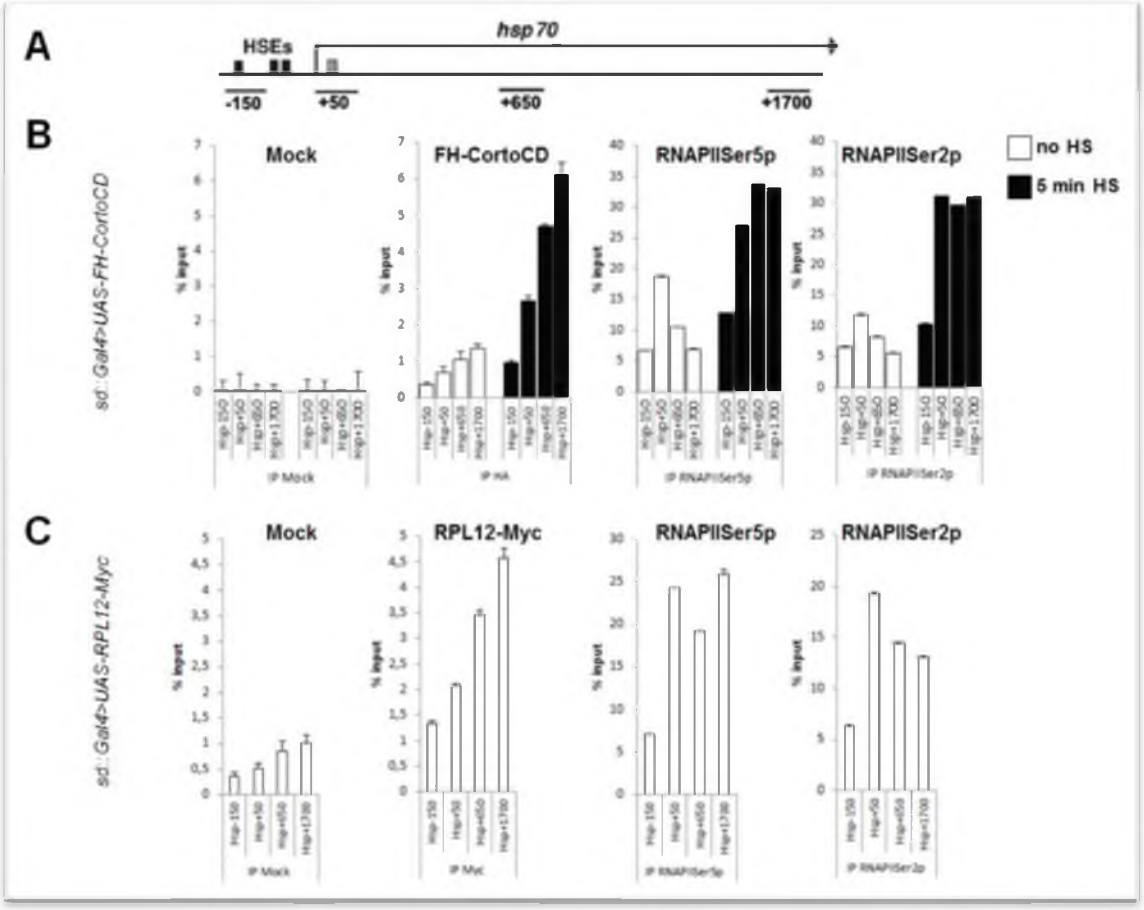


Figure 13 : CortoCD et RpL12 sont enrichis sur le gène *hsp70*

Les couples d'amorces utilisés pour *hsp70* ont été décrits précédemment (Boehm *et al.*, 2003) et ciblent précisément les régions -154, +58, +682, +1702 avec le TSS pour référence 0.

A Représentation schématique du gène *hsp70* avec les amorces utilisées.

B XChIP Mock, anti-HA, anti-ARN polymérase II Ser2ph et Ser5ph sur les disques d'aile de génotype *sd ::Gal4>UAS-FHCortoCD*, soumis à un choc thermique de 5 minutes (HS barres noires) ou sans choc thermique (NHS barres blanches) selon les conditions expérimentales déterminées par Boehm *et al.*, 2003, détection de la fixation par qPCR sur les sites -150, +50, +650 et +1700 du gène *hsp70*.

C XChIP Mock, anti-Myc, ARN polymérase II Ser2ph et Ser5ph sur les disques d'aile de génotype *sd ::Gal4>UAS-RPL12Myc,* sans choc thermique, détection de la fixation par qPCR sur les sites -150, +50, +650 et +1700 du gène *hsp70*.

III-DISCUSSION

Conclusion

Les chromodomaines jouent un rôle critique dans l'adressage des régulateurs transcriptionnels à la chromatine. L'étude du chromodomaine de l'ETP Corto montre qu'il présente certaines caractéristiques des chromodomaines canoniques, agissant comme un module d'adressage à la chromatine et fixant les ARN *in vitro*. De façon inattendue, ce chromodomaine (CortoCD) ne semble pas se fixer aux histones méthylées comme le font la plupart des chromodomaines connus, mais à la protéine ribosomique RPL12 triméthylée sur la lysine 3 (RPL12K3me3). Corto et RPL12 co-localisent en de nombreux sites sur les chromosomes polytènes. Les analyses transcriptomiques de disques imaginaux d'aile surexprimant soit *cortoCD* soit *RPL12* révèlent qu'une grande majorité des gènes dérégulés sont communs, suggérant que Corto et RPL12 pourraient être partenaires dans la régulation transcriptionnelle de certains gènes, notamment ceux impliqués dans la biogenèse des ribosomes. Les expériences d'immunoprécipitation de la chromatine confirment que Corto et RPL12 ont des cibles directes communes. Nos résultats mettent en évidence pour la première fois une coopération entre une protéine ribosomique et un facteur de maintien de la mémoire épigénétique dans la régulation transcriptionnelle.

Discussion

La quantité de ribosomes est l'un des facteurs limitant de la progression du cycle cellulaire. Aussi faut-il considérer la biogenèse des ribosomes comme un facteur important dans le contrôle de la croissance et de la prolifération cellulaires. La biogenèse des ribosomes requiert la coordination de l'expression et de l'assemblage en ribosomes de plusieurs centaines de protéines ribosomiques (RPs) et d'ARN ribosomiques (ARNr). L'assemblage des pré-ribosomes se fait de façon co-transcriptionnelle lors de la synthèse des ARNr dans le nucléole. L'état transcriptionnel des gènes codant les ARNr dépend en grande partie de mécanismes épigénétiques qui interviennent pendant la phase d'élongation de la transcription (McStay et Grummt, 2008). J'ai montré que RPL12 et Corto contrôlent la transcription de gènes impliqués dans la biogenèse des ribosomes, et plus particulièrement des gènes codant des RPs. Ainsi, la biogenèse des ribosomes serait soumise à des régulations épigénétiques coordonnées des gènes des RPs.

1-Réseau d'interacteurs de RPL12

La construction d'un réseau d'interactions centré sur RPL12 conforte les résultats que nous avons obtenus au laboratoire et met en lumière certaines corrélations potentiellement intéressantes.

Ce réseau a été construit en utilisant les logiciels Cytoscape et InterologFinder. Il inclut l'ensemble des données de haut-débit disponibles (co-immunoprécipitation suivie de spectrométrie de masse, crible double-hybride, interactions génétiques…) [DPIM (Drosophila Protein Interaction Mapping project ; Guruharsha *et al.,* 2011), BIOGRID (Bio General Repository for Interaction Datasets; Stark *et al.,* 2006), DroID (Drosophila Interaction Database ; Murali *et al.,* 2011) …], ainsi que des données publiées dans la littérature.

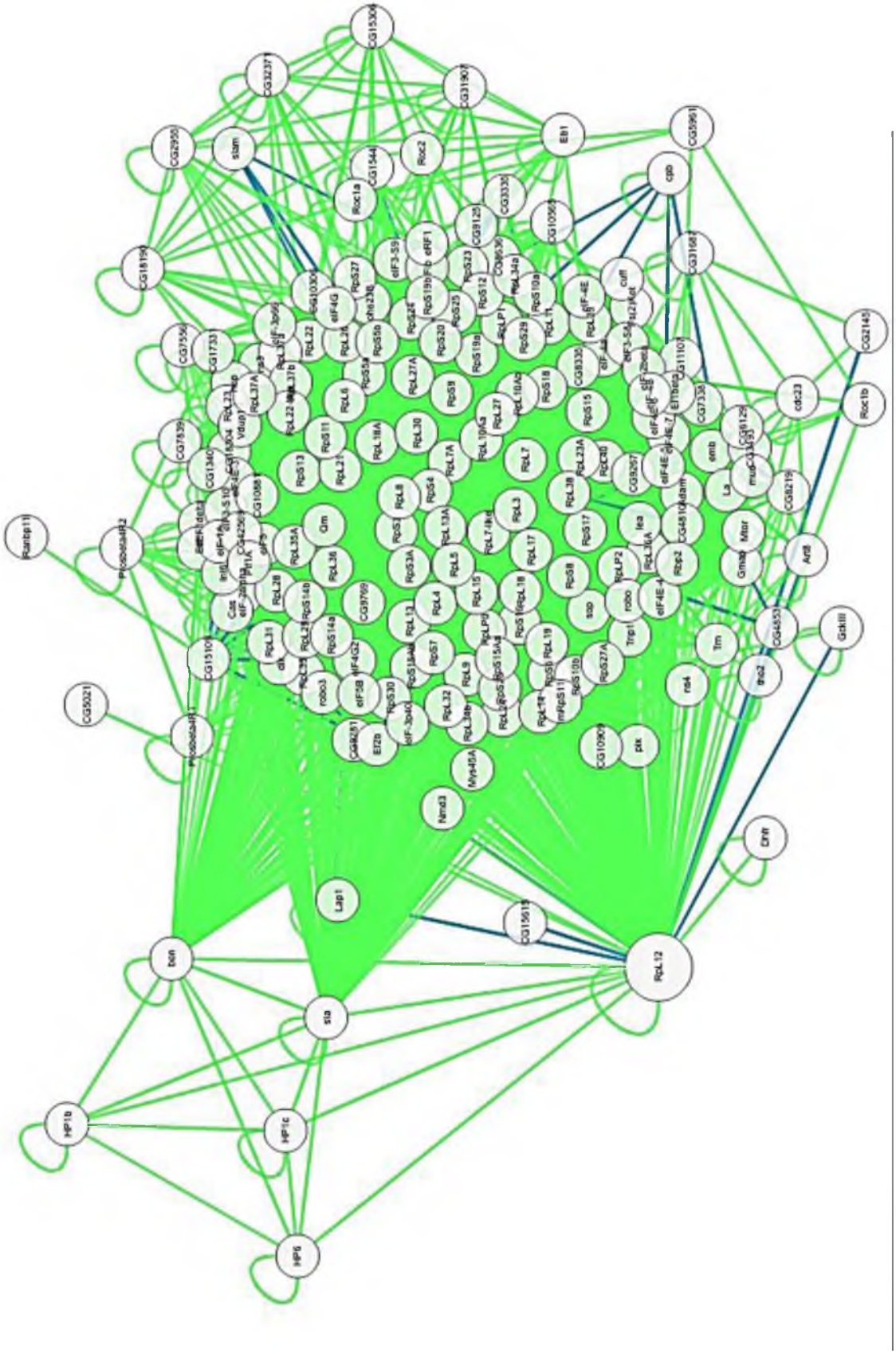


Figure 14 : Réseau d'interactions protéiques interologfinder centré sur RPL12.

Ce réseau inclut les données d'interactions disponibles non seulement chez *Drosophila melanogaster*, mais également chez l'homme, la souris, *Caenorhabditis elegans* et les levures *Saccharomyces cerevisiae* et *Schizosaccharomyces pombe* (Figure 14).

Outre l'interaction attendue de RPL12 avec d'autres RPs composant le ribosome (Figure 14), ce réseau met en évidence l'interaction entre RPL12 et CBX1 chez l'homme (résultats de double-hybride) (Stelzl *et al.,* 2005). CBX1 est une protéine à chromodomaine, homologue d'HP1β de la drosophile. Cette observation, qui mériterait d'être validée par d'autres techniques, suggère que RPL12 interagirait avec des protéines à chromodomaine chez l'homme. Ce réseau met également en évidence une interaction potentielle entre RPL12 et HP6 ou HP1c, deux autres protéines à chromodomaine. A ce jour, il n'y a pas d'homologue de Corto connu chez les vertébrés, qui ne semble être conservé que chez les insectes. Le fait que RPL12 interagisse avec des protéines à chromodomaine chez d'autres espèces que la drosophile suggère que Corto pourrait être l'homologue fonctionnel d'une de ces protéines.

RPL12 interagirait également avec la protéine TRIM24 humaine en double-hybride (Figure 14). TRIM24 et son homologue Bonus chez la drosophile sont des régulateurs négatifs de la voie p53 (Allton *et al.,* 2009). Cette observation suggère que RPL12 pourrait interagir avec la voie p53 dans le contrôle de la biogenèse des ribosomes et rappelle l'interaction entre la voie Myc et RPL11.

De façon intéressante, ce réseau montre également que RPL12 interagit en double-hybride avec Stubarista, qui correspond à RP40 chez la drosophile. Or, de façon complètement indépendante, nous avons mis en évidence par un crible double-hybride réalisé au laboratoire, une interaction entre Corto et Sta/RP40. Cette interaction a été confirmée par co-immunoprécipitation de protéines étiquetées en cellules S2 (Suk-min Jang). De plus, comme mentionné dans l'introduction, une perte de fonction de *Sta/RP40* induit un phénotype aristapedia (Melnick *et al.,* 1993) similaire à celui observé par la surexpression de *corto* ou de son chromodomaine (*cortoCD*) (Kodjabachian *et al.,* 1998 ; cf article). Dans l'ensemble, ces résultats suggèrent l'existence d'un complexe Corto-RPL12-Sta/RP40.

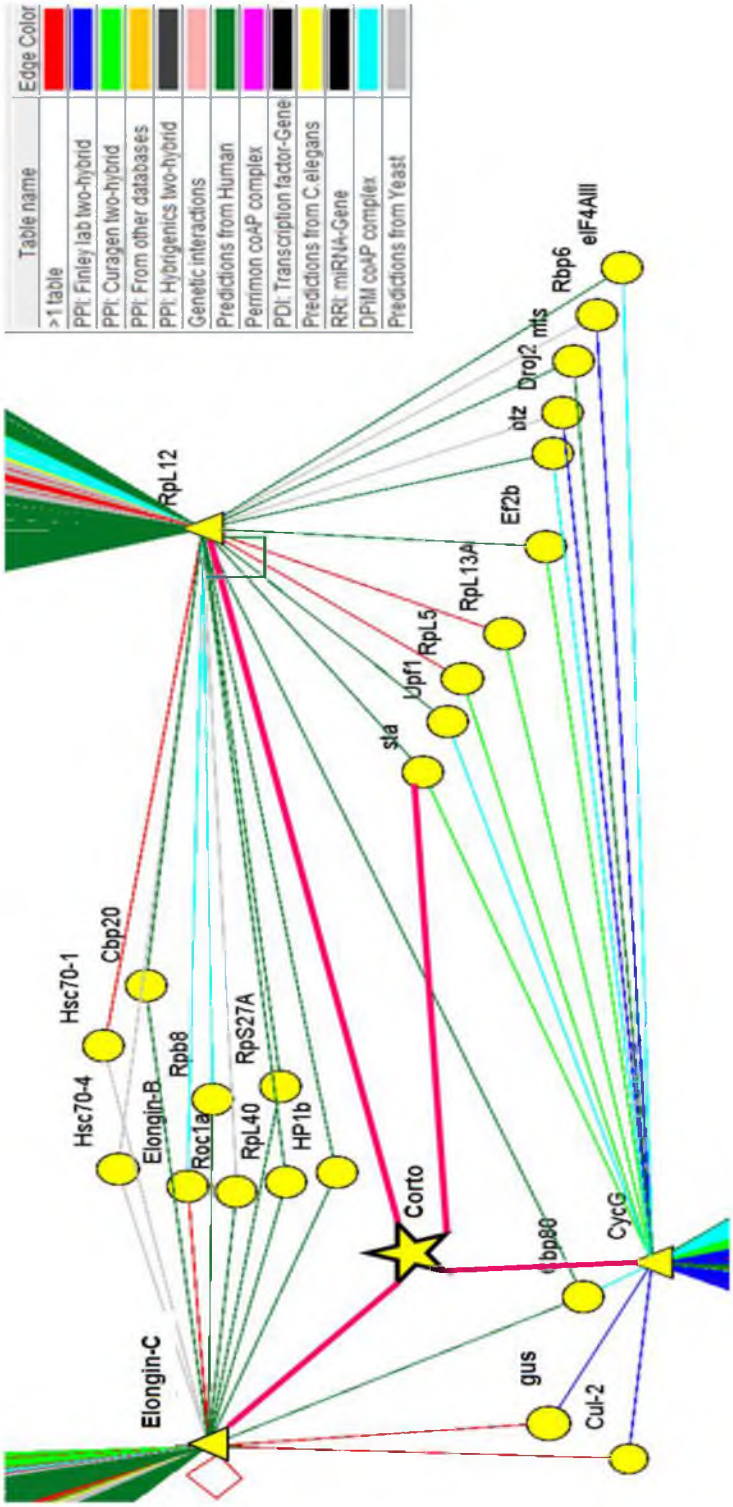


Figure 15 : Réseau d'interactions protéiques DroID centrée sur RPL12.

Interactions protéiques publiées et prédites par DroID entre CycG, RPL12 et Elongin-C. Le tableau sur la droite donne le code couleur utilisé en fonction de l'origine des données expérimentales. Les interactions de Corto sont rajoutées en rose.

Au laboratoire, nous avons également mis en évidence une interaction entre Corto et une cycline atypique, Cyclin G (Salvaing *et al.,* 2008b), ainsi qu'entre Corto et Elongin-C (Rougeot *et al.,* en préparation) (interaction en rouge dans la Figure 15). Or, le réseau montre que Corto, RPL12, Cyclin G, et Elongin-c partagent de très nombreux interacteurs communs, parmi lesquels on peut citer Elongin-b (une des trois protéines du complexe Elongin impliqué dans l'élongation de la transcription), des sous-unités du complexe RNAPII (RBP6 et 8), des protéines ribosomiques (Sta/RP40, RPL5, RPL13A, RPS27a), HP1β et UPF1 (une protéine des complexes EJC impliquée dans le mécanisme de NMD). Ces interactions nous orientent vers un rôle de Corto et RPL12 dans la régulation de l'élongation de la transcription.

2-Protéines ribosomiques et régulation épigénétique de l'expression des gènes

L'ETP Corto est un co-facteur des complexes PcG et TrxG et participe au maintien de l'expression des gènes homéotiques (Lopez *et al.,* 2001 ; Salvaing *et al.,* 2008a et b). Les nombreux sites de fixation de Corto à la chromatine, les phénotypes pléiotropes des mutants *corto,* ainsi que les données d'analyse du transcriptome montrent que les cibles transcriptionnelles de Corto sont nombreuses. L'interaction entre Corto et RPL12 soulève la possibilité intéressante d'une connexion entre les RPs et la régulation épigénétique de l'expression des gènes.

Outre leur rôle dans la synthèse protéique, les RPs sont impliquées dans de nombreuses fonctions référencées comme *extra-ribosomiques* (pour revue, voir Bahvsar *et al.,* 2010). La première observation de l'implication d'une protéine ribosomique dans la régulation de la transcription a été faite chez *E. coli*, avec le rôle d'anti-terminaison de la transcription de RPS10 (Friedman *et al.,* 1981). Ceci a été confirmé chez la levure, où RPS20 inhibe la terminaison des transcrits synthétisés par l'ARN Pol III (Hermann-Le Denmat *et al.,* 1994). De plus, chez la levure et chez d'autres eucaryotes, plusieurs RPs

dont RPL12 régulent leur propre transcription, notamment en régulant l'épissage de leur propre transcrit (pour revue, Ivanov *et al.,* 2006). Enfin, chez la drosophile, les RPs se fixent sur la chromatine en de nombreux sites, suggérant qu'elles régulent de multiples cibles transcriptionnelles (Brogna *et al.,* 2002 ; Shroder et Moore, 2005 ; Ni *et al.,* 2006, De *et al.,* 2011).

L'histone H1 interagit directement avec plusieurs RPs; H1 et ces RPs sont impliquées dans la répression transcriptionnelle (Ni *et al.,* 2006). De plus, de nombreux complexes impliqués dans les mécanismes épigénétiques contiennent des RPs. C'est par exemple le cas (1) du complexe PRC1 (Saurin *et al.,* 2001), (2) du complexe répresseur H1.2, qui contient l'ETP ASXL1, (3) du complexe TrxG SWI/SNF, dont la sous-unité catalytique BRM s'associe avec des composants du spliceosome (Batsché *et al.,* 2006) qui contient plusieurs RPs, dont RPL12 (Ajuh *et al.,* 2000), (4) du complexe RISC chez l'homme (Chendrimada *et al.,* 2007) et chez la drosophile (Ishizuka *et al.,* 2002; Tim A Rand, 2004) qui sont potentiellement impliqués dans la biogenèse des ribosomes (Challagundla *et al.,* 2011; Xue-hai Liang, 2011). L'ensemble de ces données suggèrent que les RPs pourraient moduler la transcription *via* des mécanismes épigénétiques (Kim *et al.,* 2008). L'interaction entre l'ETP Corto et RPL12 renforce cette idée.

Le rôle des RPs dans les complexes mentionnés ci-dessus pourraient être structural et sans lien direct avec la régulation transcriptionnelle proprement dite. Cependant, depuis plus de 40 ans, de nombreux cribles génétiques visant à isoler de nouveaux gènes *Polycomb* (PcG) et *Trithorax* (TrxG) ont identifié des mutants *Minute* comme modificateurs dominants des phénotypes *PcG* et *TrxG* (Gildea *et al.,* 2000). Par exemple, les mutations *Minute* suppriment le phénotype de peigne sexuel ectopique dans les mutants *Polycomb* et *polyhomeotic* (Denell, 1978 ; Fauvarque *et al.,* 2001). Chez *Drosophila melanogaster*, les *loci Minute* sont disséminés dans le génome et la plupart d'entre eux correspondent à des gènes ribosomiques (Saebøe-Larssen *et al.,* 1998 ; Marygold *et al.,* 2007). Il a été proposé que les mutants *Minute* supprimeraient les phénotypes des mutants PcG de façon non spécifique, simplement en ralentissant le développement (Denell, 1978). Cependant, certains mutants *Minute* présentent des phénotypes identiques à ceux de mutants PcG ce qui ne soutient pas l'hypothèse

précédente. Comme mentionné précédemment, les mutants du gène *Stubarista (Sta/RP40)*, présentent un phénotype *aristapedia* (transformations de l'arista en patte). Globalement, ces données nous orientent en faveur de l'hypothèse d'une implication active des RPs dans la régulation épigénétique de l'expression des gènes.

3-Les protéines ribosomiques agissent-elles en complexes ou sous forme libre ?

L'implication des RPs dans la régulation de la transcription, soit sous forme libre (non complexées en ribosomes), soit sous forme de complexes ribonucléoprotéiques (*pseudo-ribosome*) est une question vivement débattue (pour revue, voir De et Brogna, 2010). De nombreuses données citent un rôle collaboratif des RPs dans la transcription. Chez la drosophile, au moins 20 RPs sont présentes sur les chromosomes polytènes, et co-localisent en de multiples sites, suggérant qu'elles pourraient agir sous forme de pseudo-ribosomes (Brogna *et al.,* 2002). De plus, des études à large échelle (ChIP-chip) sur RPL7, RPL11 et RPL25 chez *S. pombe* révèlent une similarité frappante de leurs sites de fixation, suggérant qu'elles pourraient être associées en complexe (De *et al.,* 2011). De la même façon, l'identification des partenaires protéiques de Corto par spectrométrie de masse n'a pas seulement révélé RPL12, mais également RPL7, RPL27, RPS10, RPS11 et RPS14, indiquant que Corto pourrait interagir avec plusieurs RPs formant un complexe.

Le rôle des RPs dans la traduction nucléaire a également été largement débattu (Dahlberg *et al.,* 2003). Cependant, l'association des RPs à la chromatine sur des transcrits naissants codants et non codants s'oppose à cette hypothèse (Schroder et Moore, 2005). Ainsi, il est probable que ces pseudo-ribosomes associés à la chromatine participeraient à la régulation de la transcription.

Comme les histones, les RPs sont soumises à de nombreuses modifications post-traductionnelles, incluant l'ubiquitination, la phosphorylation, l'acétylation, la méthylation … (Carroll *et al.,* 2008 ; Huang et Berger, 2008 ; Pang *et al.,* 2010 ; Polevoda et Shermann, 2007 ; Webb *et al.,* 2010). Nous avons montré que le chromodomaine de Corto se lie à RPL12 triméthylée sur la lysine 3 (RPL12K3me3). Comme mentionné

précédemment, un crible double-hybride à grande échelle révèle que la protéine à chromodomaine CBX1, homologue humain de HP1β de la drosophile, interagit avec RPL12. Il est tentant de spéculer sur un rôle de la méthylation de RPL12 dans le recrutement de protéines à chromodomaine sur la chromatine. Ce mécanisme de recrutement pourrait être similaire à celui par lequel des marques épigénétiques, comme H3K27me3, recrutent des complexes protéiques, comme PRC1, grâce à sa liaison avec le chromodomaine de Polycomb. Selon cette hypothèse, RPL12K3me3 pourrait recruter Corto ou d'autres protéines à chromodomaine sur la chromatine. En se basant sur l'existence d'un panel de ribosomes composés de différentes RPs portant des modifications post-traductionnelles variées, il a été proposé que la traduction sélective de certains ARNm pourrait dépendre d'un *code ribosome*, similaire au code histone (Komili *et al.,* 2007). Nos résultats nous conduisent à suggérer qu'un tel code ribosome pourrait également concerner la régulation de la transcription.

4- La biogenèse des ribosomes est coordonnée par la régulation transcriptionnelle des protéines ribosomiques

De façon surprenante, l'analyse (par *Gene Ontology*) du rôle des gènes surexprimés lors de la surexpression de *RPL12* ou de *cortoCD* révèle une représentation majoritaire de gènes impliqués dans la biogenèse des ribosomes, en particulier les gènes codant les RPs (cf article). Il est intéressant de noter que dans l'étude réalisée par Komili et coll. en 2007 sur l'analyse des rôles différents des paralogues des RPs chez la levure *S. cerevisiae*, une délétion de *RPL12a* diminue l'expression des gènes des RPs, alors qu'une délétion du paralogue RPL12b diminue l'expression des gènes impliqués dans la modification des ARNr. Le fait que la surexpression de RPL12 augmente l'expression des gènes codant d'autres RPs renforce l'idée selon laquelle RPL12 pourrait activer la production de RPs au niveau transcriptionnel. De façon intéressante, la surexpression des gènes liés à la biogenèse des ribosomes est également observée dans des mutants *ash2* (*absent, small or homeotic disc 2*), un gène TrxG interagissant avec *corto* (Lopez *et al.,* 2001 ; Beltran *et al.,* 2007). Tout comme RPL12, Corto et des régulateurs de la chromatine pourraient

participer à une régulation épigénétique coordonnée de la biogenèse des ribosomes. Ce type de co-régulation globale de gènes associés à une même fonction a déjà été décrit chez les eucaryotes. Chez la levure, RPL12 coordonne la transcription des gènes impliqués dans l'assimilation du phosphate ainsi que celle des gènes de RPs.

En effet, l'inactivation de *RPL12* entraîne la suppression de la transcription du gène PHO84, codant un transporteur du phosphate, alors que PHO4, un activateur de la transcription de la voie PHO est surexprimé dans ces conditions. Ainsi, RPL12 régule la voie PHO en fonction des conditions environnementales (présence ou absence de phosphate assimilable) (Komili *et al.,* 2007 ; Tu *et al.,* 2011). Par ailleurs, chez la drosophile, l'expression des gènes de ménage serait coordonnée par le complexe NSL (*Non Specific Lethal complex*) (Feller *et al.,* 2011).

La régulation de la biogenèse des ribosomes étant essentielle pour la viabilité cellulaire (Warner et McIntosh, 2009), un tel mode de régulation transcriptionnelle des gènes codant les RPs, pourrait avoir évolué, assurerant l'ajustement rapide de la synthèse protéique en cas de modification des conditions environnementales,

Récemment il a été décrit chez la levure *Schizosaccharomyces pombe* que RPL7, RPL11 et RPL25 s'associent à la chromatine de façon dépendante de l'ARN (De *et al.,* 2011). Une analyse globale de leur fixation par ChIP-on-chip révèle que ces trois RPs sont majoritairement présentes sur les promoteurs des gènes d'ARNt (167 sur 171 gènes d'ARNt) suggérant que certaines RPs participent à la biogenèse des ARNt. Ainsi les RPs contrôleraient transcriptionnellement à la fois la biogenèse des ribosomes et celle des ARNt impliquant un nouveau mode de régulation des différents acteurs de la traduction.

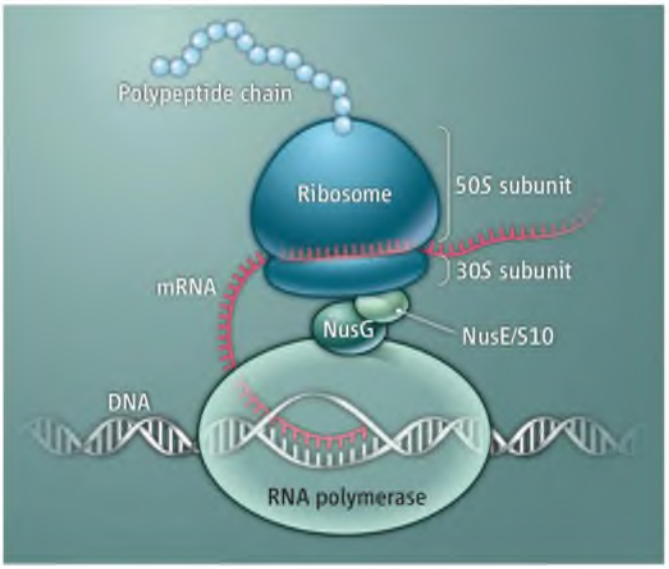


Figure 16 : Modèle de coopération entre traduction et transcription chez les procaryotes.

Lors de l'initiation de la traduction, le ribosome procaryote s'associe à l'ARN polymérase via les protéines NusE (également appelée RPS10) et NusG. Cette interaction inhibe les effets de *backtracking* associés à la pause transcriptionnelle (décrits en INTRODUCTION 3.2.3) qui ralentissent l'ARN polymérase en absence du ribosome.
Tiré de (Roberts, 2010)

5-La régulation transcriptionnelle par les protéines ribosomiques est-elle conservée au cours de l'évolution ?

La régulation transcriptionnelle par les RPs a été aussi décrite chez les procaryotes. Chez les eucaryotes, transcription et traduction sont réalisés dans deux compartiments différents, alors que chez les procaryotes, transcription et traduction sont couplées.

Le facteur d'élongation de la transcription Spt5, appelé NusG chez les procaryotes, est conservé dans les trois royaumes eucaryotes, procaryotes et archées. Spt5 fait partie du complexe DSIF (voir INTRODUCTION 3.2.2). Le rôle conservé de NusG/Spt5 est de stimuler l'élongation de la transcription et la processivité de l'ARN polymérase (Burova *et al.,* 1995 et pour revue voir Werner, 2012). Récemment, plusieurs équipes ont montré que NusG s'associe de façon co-transcriptionnelle à RPS10 (NusE) chez *E. coli* (Burmann *et al.,* 2010; Proshkin *et al.,* 2010; Roberts, 2010 et Figure 16). De façon surprenante, les auteurs ont montré que le taux d'élongation de la transcription par l'ARN polymérase bactérienne dépend du taux d'élongation de la traduction par les ribosomes. L'utilisation d'antibiotiques, de RPs mutantes ou l'augmentation de codons rares dans les transcrits diminuent la processivité de l'ARN polymérase bactérienne. Inversement, des mutations gain de fonction de RPs accélèrent la transcription et augmentent le taux de traduction. Ainsi les auteurs proposent un modèle où transcription et traduction sont étroitement coordonnées. Chez les eucaryotes, l'association de RPs en pseudo-ribosomes pourrait contrer le *backtracking* lors de la pause transcriptionnelle (voir INTRODUCTION 3.2.2).

Ce mécanisme de couplage entre transcription et traduction existe également dans la mitochondrie. En effet, il a été montré que la forme libre, non associée aux ribosomes mitochondriaux, de la protéine mitochondriale humaine L7/L12 (mRPL12, homologue de P1) interagit directement avec l'ARN polymérase mitochondriale (POLRMT)

(Surovtseva *et al.,* 2011). Des expériences de surexpression montrent que mRPL12 stimule la transcription des gènes mitochondriaux. Inversement, la déplétion de mRPL12 dans des cellules HeLa diminue le taux de transcription de la POLRMT. Il semblerait que la régulation de la transcription par les RPs soit un mécanisme conservé.

Les résultats de la littérature, ainsi que nos propres résultats suggèrent que certaines RPs, libres ou complexées en pseudo-ribosomes, pourraient agir comme médiateurs pour permettre une régulation fine de l'homéostasie cellulaire chez les eucaryotes.

Perspectives

1- Dynamique et rôle de la méthylation de la lysine 3 dans l'activité transcriptionnelle de RPL12.

Il n'existe pas de mutants de *RPL12* chez la drosophile et son inactivation par ARNi induit la mort des cellules.

Afin d'analyser le rôle de la triméthylation de la lysine 3 de RPL12 *in vivo* chez la drosophile, nous envisageons de remplacer, par recombinaison homologue, le gène *RPL12* par une forme mutée $RPL12^{K3A}$ non méthylable. Une analyse comparative des transcriptomes d'individus $RPL12^{+}$ et $RPL12^{K3A}$ (par RNAseq) sera ensuite réalisée afin de comprendre le rôle de la triméthylation de la lysine 3 de RPL12 dans la transcription.

En parallèle, des lignées de *Drosophila melanogaster* transgéniques permettant d'exprimer les formes sauvage et mutée (K3A) de *RPL12* de *Drosophila pseudoobscura* (transgènes *UAS-Dp-RPL12* et $UAS\text{-}Dp\text{-}RPL12^{K3A}$) seront générées. Des combinaisons génétiques seront réalisées afin d'exprimer de façon conditionnelle (système UAS/Gal4), l'un ou l'autre de ces transgènes et un transgène permettant d'inactiver *RPL12* de *Drosophila melanogaster* par ARNi (transgène *UAS-Dm-RNAi-RPL12*). L'ARNi ciblant spécifiquement l'ARN *Dm-RPL12*, les ARN sauvage et muté *Dp-RPL12* et $Dp\text{-}RPL12^{K3A}$ ne seront pas dégradés. Ainsi il sera possible de remplacer la fonction endogène de *Dm-RPL12* par celle de $Dp\text{-}RPL12^{K3A}$ et d'analyser, de façon conditionnelle, la fonction de la triméthylation de la lysine 3 de RPL12 dans la transcription.

2- Analyse du recrutement de Corto et de RPL12 sur la chromatine

L'interaction de Corto sur la chromatine dépend-elle de RPL12 ou, au contraire, Corto est-il nécessaire à la fixation de RPL12 à la chromatine ?

Nos résultats démontrent clairement que Corto interagit *via* son chromodomaine avec RPL12 triméthylée sur la lysine 3. Toutefois, nous ne connaissons pas l'ordre de recrutement sur la chromatine de ces deux protéines. Les outils génétiques générés permettront également d'investiguer ce mécanisme.

Etude du rôle de la méthylation de RPL12

Chez la levure *S. cerevisiae*, chez *A. thaliana* et chez l'homme, RPL12 peut être triméthylée sur la lysine 3 par la méthyl-transférase Rkm2 (*Ribosomal lysine methyltransferase 2*, SET11 chez les vertébrés) (Porras-Yakushi *et al.*, 2007 ; Carroll *et al.*, 2008 ; Sadaie *et al.*, 2008)(Webb *et al.*, 2010). Le gène *Rkm2* est conservé chez la drosophile (CG33230) et abondamment transcrit en cellules S2, et tout au long du développement (Graveley *et al.*, 2011). Il serait intéressant de déterminer si cette enzyme est la méthyl-transférase responsable de la triméthylation de la lysine 3 de RPL12 chez la drosophile. L'inactivation ubiquitaire de *Rkm2* à partir d'une lignée de drosophile transgénique *UAS-ARNi-Rkm2* est létale aux stades larvaires L2/L3. Afin d'analyser l'effet d'une surexpression de *Rkm2*, j'ai produit une lignée de drosophiles transgéniques (*UAS-Rkm2*). J'ai également construit divers vecteurs d'expression permettant la production de Rkm2 étiquetée en cellules S2, ainsi que la production de protéine recombinante GST-Rkm2. Ces outils seront utilisés pour étudier le rôle de Rkm2 dans la méthylation de RPL12 *in vitro* et *in vivo*. Des résultats très préliminaires laissent penser que la surexpression de *Rkm2* dans les cellules S2 augmente la quantité de forme haute de RPL12 observée en Western Blot (supposée tri-méthylée, cf article). Ces résultats devront être reproduits et confirmés à l'aide de vecteurs $RPL12^{K3A}$. Il sera également intéressant d'analyser les phénotypes induits par la surexpression conjointe de *RPL12* et de *Rkm2* (*da ::Gal4>UAS-RPL12Myc, UAS-Rkm2*).

3- Etude des cibles transcriptionnelles directes de Corto et de RPL12

La co-localisation sur les chromosomes polytènes de Corto et RPL12 n'est pas complète et certains sites discrets ne sont marqués que par l'une ou l'autre de ces protéines. J'ai montré par ChIP que RPL12 et CortoCD sont fixés sur la chromatine sur les gènes *RPS4* et *hsp70*. L'ensemble des sites de fixation de Corto et RPL12 sur le génome sera déterminé par ChIPseq.

La comparaison de nos données de haut-débit (RNAseq et ChIPseq) et des données épigénomiques du consortium modENCODE (http://www.modencode.org/) permettra de révéler le statut épigénétique (marques épigénétiques activatrices ou répressives, co-localisation avec des protéines PcG et TrxG *etc* …) et le statut transcriptionnel (ARN Pol II en pause ou en élongation; Perez-Lluch *et al.*, 2011) des gènes cibles. Nous porterons une attention particulière aux gènes impliqués dans la biogenèse des ribosomes, et plus spécialement aux gènes codant les protéines et les ARN ribosomiques et de transfert.

4- RPL12 agit-elle seule ou fait-elle partie d'un pseudo-ribosome impliquant d'autres RPs et ARNr ?

Nos données de spectrométrie de masse ainsi que des données de la littérature suggèrent que les RPs impliquées dans la transcription agissent sous forme de pseudo-ribosomes (De and Brogna, 2010; De *et al.*, 2011). Afin de tester cette hypothèse, il faudrait réaliser un fractionnement biochimique pour isoler le complexe nucléaire RPL12K3me3/Corto et caractériser l'ensemble des protéines associées par spectrométrie de masse. La présence d'ARN structuraux non codants, notamment d'ARNr, associés à ce complexe nucléaire pourrait être recherchée par qRT-PCR.

5- Perspectives évolutives

Les mécanismes généraux de la biogenèse des ribosomes semblant être conservés chez les eucaryotes, il serait intéressant de savoir si la régulation épigénétique coordonnée des gènes codant les RPs est conservée chez les mammifères.

De façon intéressante, des cribles double-hybride à haut-débit ont montré que chez l'homme, RPL12 interagit avec CBX1, l'homologue d'HP1β, suggérant que RPL12 pourrait également interagir avec une protéine à chromodomaine chez les vertébrés.

Aucun homologue de Corto n'a été caractérisé à ce jour chez les mammifères. Il serait intéressant d'identifier un homologue fonctionnel. Pour cela, il serait envisageable de caractériser, par peptide pull-down et spectrométrie de masse, l'ensemble des protéines humaines retenues *in vitro* par des peptides RPL12 ou RPL12K3me3. L'analyse différentielle des protéines retenues spécifiquement par le peptide RPL12K3me3 pourrait révéler un homologue fonctionnel de Corto.

Le chromodomaine de Corto est atypique comparé aux autres chromodomaines caractérisés à ce jour. En effet, bien que sa structure soit conservée, sa séquence ainsi que sa spécificité de reconnaissance sont divergents. Il serait intéressant d'analyser la liaison de ce chromodomaine à RPL12K3A par cristallographie. Ceci permettrait éventuellement de définir une nouvelle famille de chromodomaines.

BIBLIOGRAPHIE

Adamson, A.L., and Shearn, A. (1996). Molecular genetic analysis of Drosophila ash2, a member of the trithorax group required for imaginal disc pattern formation. Genetics *144*, 621–633.
Adhikary, S., and Eilers, M. (2005). Transcriptional regulation and transformation by Myc proteins. Nat. Rev. Mol. Cell Biol. *6*, 635–645.
Agalioti, T., Chen, G., and Thanos, D. (2002). Deciphering the transcriptional histone acetylation code for a human gene. Cell *111*, 381–392.
Ahn, S.H., Kim, M., and Buratowski, S. (2004). Phosphorylation of serine 2 within the RNA polymerase II C-terminal domain couples transcription and 3' end processing. Mol. Cell *13*, 67–76.
Ai, N., Hu, X., Ding, F., Yu, B., Wang, H., Lu, X., Zhang, K., Li, Y., Han, A., Lin, W., et al. (2011). Signal-induced Brd4 release from chromatin is essential for its role transition from chromatin targeting to transcriptional regulation. Nucleic Acids Research *39*, 9592–9604.
Ajuh, P., Kuster, B., Panov, K., Zomerdijk, J.C.B.M., Mann, M., and Lamond, A.I. (2000). Functional analysis of the human CDC5L complex and identification of its components by mass spectrometry. Embo J *19*, 6569–6581.
Akasaka, T., Kanno, M., Balling, R., Mieza, M.A., Taniguchi, M., and Koseki, H. (1996). A role for mel-18, a Polycomb group-related vertebrate gene, during theanteroposterior specification of the axial skeleton. Development *122*, 1513–1522.
Akhtar, A., Zink, D., and Becker, P.B. (2000). Chromodomains are protein-RNA interaction modules. Nature *407*, 405–409.
Allton, K., Jain, A.K., Herz, H.-M., Tsai, W.-W., Jung, S.Y., Qin, J., Bergmann, A., Johnson, R.L., and Barton, M.C. (2009). Trim24 targets endogenous p53 for degradation. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. *106*, 11612–11616.
Anaka, M., Lynn, A., McGinn, P., and Lloyd, V.K. (2009). Genomic imprinting in Drosophila has properties of both mammalian and insect imprinting. Dev. Genes Evol. *219*, 59–66.
Arabi, A., Wu, S., Ridderstråle, K., Bierhoff, H., Shiue, C., Fatyol, K., Fahlén, S., Hydbring, P., Söderberg, O., Grummt, I., et al. (2005). c-Myc associates with ribosomal DNA and activates RNA polymerase I transcription. Nat. Cell Biol. *7*, 303–310.
Aravin, A.A., Hannon, G.J., and Brennecke, J. (2007). The Piwi-piRNA pathway provides an adaptive defense in the transposon arms race. Science *318*, 761–764.
Armstrong, J.A., Papoulas, O., Daubresse, G., Sperling, A.S., Lis, J.T., Scott, M.P., and Tamkun, J.W. (2002). The Drosophila BRM complex facilitates global transcription by RNA polymerase II. Embo J. *21*, 5245–5254.
Arndt, K.M., and Kane, C.M. (2003). Running with RNA polymerase: eukaryotic transcript elongation. Trends Genet. *19*, 543–550.
Ball, L.J., Murzina, N.V., Broadhurst, R.W., Raine, A.R., Archer, S.J., Stott, F.J., Murzin, A.G., Singh, P.B., Domaille, P.J., and Laue, E.D. (1997). Structure of the chromatin binding (chromo) domain from mouse modifier protein 1. Embo J. *16*, 2473–2481.
Ballesta, J.P., and Remacha, M. (1996). The large ribosomal subunit stalk as a regulatory element of the eukaryotic translational machinery. Prog. Nucleic Acid Res. Mol. Biol. *55*, 157–193.
Bannister, A.J., and Kouzarides, T. (2011). Regulation of chromatin by histone modifications. Cell Res. *21*, 381–395.
Bannister, A.J., Zegerman, P., Partridge, J.F., Miska, E.A., Thomas, J.O., Allshire, R.C., and Kouzarides, T. (2001). Selective recognition of methylated lysine 9 on histone H3 by the HP1 chromo domain. Nature *410*, 120–124.
Bantignies, F., Roure, V., Comet, I., Leblanc, B., Schuettengruber, B., Bonnet, J., Tixier, V., Mas, A., and Cavalli, G. (2011). Polycomb-dependent regulatory contacts between distant Hox loci in Drosophila. Cell *144*, 214–226.
Barboric, M., Nissen, R.M., Kanazawa, S., Jabrane-Ferrat, N., and Peterlin, B.M. (2001). NF-kappaB binds P-TEFb to stimulate transcriptional elongation by RNA polymerase II. Mol. Cell *8*, 327–337.
Bauer, U.-M., Daujat, S., Nielsen, S.J., Nightingale, K., and Kouzarides, T. (2002). Methylation at arginine 17 of histone H3 is linked to gene activation. EMBO Rep. *3*, 39–44.

Baylin, S.B., and Jones, P.A. (2011). A decade of exploring the cancer epigenome - biological and translational implications. Nat. Rev. Cancer *11*, 726–734.
Bednar, J., Horowitz, R.A., Grigoryev, S.A., Carruthers, L.M., Hansen, J.C., Koster, A.J., and Woodcock, C.L. (1998). Nucleosomes, linker DNA, and linker histone form a unique structural motif that directs the higher-order folding and compaction of chromatin. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. *95*, 14173–14178.
Beltran, S., Angulo, M., Pignatelli, M., Serras, F., and Corominas, M. (2007). Functional dissection of the ash2 and ash1 transcriptomes provides insights into the transcriptional basis of wing phenotypes and reveals conserved protein interactions. Genome Biol. *8*, R67.
Bernard C, Introduction à l'étude de la médecine expérimentale, 1865
Bernstein, E., Duncan, E.M., Masui, O., Gil, J., Heard, E., and Allis, C.D. (2006). Mouse polycomb proteins bind differentially to methylated histone H3 and RNA and are enriched in facultative heterochromatin. Mol. Cell. Biol. *26*, 2560–2569.
Bernstein, K.A., and Baserga, S.J. (2004). The small subunit processome is required for cell cycle progression at G1. Mol. Biol. Cell *15*, 5038–5046.
Beven, A.F., Lee, R., Razaz, M., Leader, D.J., Brown, J.W., and Shaw, P.J. (1996). The organization of ribosomal RNA processing correlates with the distribution of nucleolar snRNAs. J. Cell. Sci. *109 (Pt 6)*, 1241–1251.
Bhat, K.P., Itahana, K., Jin, A., and Zhang, Y. (2004). Essential role of ribosomal protein L11 in mediating growth inhibition-induced p53 activation. Embo J. *23*, 2402–2412.
Bloyer, S., Cavalli, G., Brock, H.W., and Dura, J.-M. (2003). Identification and characterization of polyhomeotic PREs and TREs. Dev. Biol. *261*, 426–442.
Blus, B.J., Wiggins, K., and Khorasanizadeh, S. (2011). Epigenetic virtues of chromodomains. Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology 1–20.
Boamah, E.K., Kotova, E., Garabedian, M., Jarnik, M., and Tulin, A.V. (2012). Poly(ADP-Ribose) polymerase 1 (PARP-1) regulates ribosomal biogenesis in Drosophila nucleoli. PLoS Genet. *8*, e1002442.
Boehm, A.K., Saunders, A., Werner, J., and Lis, J.T. (2003). Transcription Factor and Polymerase Recruitment, Modification, and Movement on dhsp70 In Vivo in the Minutes following Heat Shock. Molecular and Cellular Biology *23*, 7628–7637.
Boon, K., Caron, H.N., van Asperen, R., Valentijn, L., Hermus, M.C., van Sluis, P., Roobeek, I., Weis, I., Voûte, P.A., Schwab, M., et al. (2001). N-myc enhances the expression of a large set of genes functioning in ribosome biogenesis and protein synthesis. Embo J. *20*, 1383–1393.
Breiling, A., O'Neill, L.P., D'Eliseo, D., Turner, B.M., and Orlando, V. (2004). Epigenome changes in active and inactive polycomb-group-controlled regions. EMBO Rep. *5*, 976–982.
Brennecke, J., Aravin, A.A., Stark, A., Dus, M., Kellis, M., Sachidanandam, R., and Hannon, G.J. (2007). Discrete Small RNA-Generating Loci as Master Regulators of Transposon Activity in Drosophila. Cell *128*, 1089–1103.
Brock, H.W., and Fisher, C.L. (2005). Maintenance of gene expression patterns. Dev. Dyn. *232*, 633–655.
Brogna, S., Sato, T.-A., and Rosbash, M. (2002). Ribosome Components Are Associated with Sites of Transcription. Molecular Cell *10*, 93–104.
Brown, A.S., and Susser, E.S. (2008). Prenatal nutritional deficiency and risk of adult schizophrenia. Schizophr Bull *34*, 1054–1063.
Buchenau, P., Hodgson, J., Strutt, H., and Arndt-Jovin, D.J. (1998). The Distribution of Polycomb-Group Proteins During Cell Division and Development in Drosophila Embryos: Impact on Models for Silencing. The Journal of Cell Biology *141*, 469.
Buratowski, S. (2009). Progression through the RNA polymerase II CTD cycle. Mol. Cell *36*, 541–546.
Burke, T.W., and Kadonaga, J.T. (1996). Drosophila TFIID binds to a conserved downstream basal promoter element that is present in many TATA-box-deficient promoters. Genes Dev. *10*, 711–724.

Burke, T.W., and Kadonaga, J.T. (1997). The downstream core promoter element, DPE, is conserved from Drosophila to humans and is recognized by TAFII60 of Drosophila. Genes & Development *11*, 3020.

Burmann, B.M., Schweimer, K., Luo, X., Wahl, M.C., Stitt, B.L., Gottesman, M.E., and Rösch, P. (2010). A NusE:NusG complex links transcription and translation. Science *328*, 501–504.

Burova, E., Hung, S.C., Sagitov, V., Stitt, B.L., and Gottesman, M.E. (1995). Escherichia coli NusG protein stimulates transcription elongation rates in vivo and in vitro. J. Bacteriol. *177*, 1388–1392.

Caffarelli, E., Fragapane, P., Gehring, C., and Bozzoni, I. (1987). The accumulation of mature RNA for the Xenopus laevis ribosomal protein L1 is controlled at the level of splicing and turnover of the precursor RNA. Embo J. *6*, 3493–3498.

Cairns, B.R., Schlichter, A., Erdjument-Bromage, H., Tempst, P., Kornberg, R.D., and Winston, F. (1999). Two functionally distinct forms of the RSC nucleosome-remodeling complex, containing essential AT hook, BAH, and bromodomains. Mol. Cell *4*, 715–723.

Cao, R., Wang, L., Wang, H., Xia, L., Erdjument-Bromage, H., Tempst, P., Jones, R.S., and Zhang, Y. (2002). Role of histone H3 lysine 27 methylation in Polycomb-group silencing. Science *298*, 1039–1043.

Carroll, A.J., Heazlewood, J.L., Ito, J., and Millar, A.H. (2008). Analysis of the Arabidopsis cytosolic ribosome proteome provides detailed insights into its components and their post-translational modification. Mol. Cell Proteomics *7*, 347–369.

Cartegni, L., Chew, S.L., and Krainer, A.R. (2002). Listening to silence and understanding nonsense: exonic mutations that affect splicing. Nat. Rev. Genet. *3*, 285–298.

Castillo, D.M., Mell, J., Box, K.S., and Blumenstiel, J.P. (2011). Molecular evolution under increasing transposable element burden in Drosophila: A speed limit on the evolutionary arms race. BMC Evolutionary Biology *11*, 258.

Chadwick, B.P., and Willard, H.F. (2001). A novel chromatin protein, distantly related to histone H2A, is largely excluded from the inactive X chromosome. J. Cell Biol. *152*, 375–384.

Challagundla, K.B., Sun, X.-X., Zhang, X., DeVine, T., Zhang, Q., Sears, R.C., and Dai, M.-S. (2011). Ribosomal protein L11 recruits miR-24/miRISC to repress c-Myc expression in response to ribosomal stress. Mol. Cell. Biol. *31*, 4007–4021.

Chandler, V.L., and Stam, M. (2004). Chromatin conversations: mechanisms and implications of paramutation. Nat. Rev. Genet. *5*, 532–544.

Chang, Y.-F., Imam, J.S., and Wilkinson, M.F. (2007). The Nonsense-Mediated Decay RNA Surveillance Pathway. Annual Review of Biochemistry *76*, 51–74.

Charlop-Powers, Z., Zeng, L., Zhang, Q., and Zhou, M.-M. (2010). Structural insights into selective histone H3 recognition by the human Polybromo bromodomain 2. Cell Res. *20*, 529–538.

Chen, D., Zhang, Z., Li, M., Wang, W., Li, Y., Rayburn, E.R., Hill, D.L., Wang, H., and Zhang, R. (2007). Ribosomal protein S7 as a novel modulator of p53-MDM2 interaction: binding to MDM2, stabilization of p53 protein, and activation of p53 function. Oncogene *26*, 5029–5037.

Chieffi, P., Cozzolino, L., Kisslinger, A., Libertini, S., Staibano, S., Mansueto, G., De Rosa, G., Villacci, A., Vitale, M., Linardopoulos, S., et al. (2006). Aurora B expression directly correlates with prostate cancer malignancy and influence prostate cell proliferation. Prostate *66*, 326–333.

Clapier, C.R., and Cairns, B.R. (2009). The biology of chromatin remodeling complexes. Annu. Rev. Biochem. *78*, 273–304.

Cmarko, D., Verschure, P.J., Rothblum, L.I., Hernandez-Verdun, D., Amalric, F., van Driel, R., and Fakan, S. (2000). Ultrastructural analysis of nucleolar transcription in cells microinjected with 5-bromo-UTP. Histochem. Cell Biol. *113*, 181–187.

Colgan, D.F., and Manley, J.L. (1997). Mechanism and regulation of mRNA polyadenylation. Genes Dev. *11*, 2755–2766.

Coller, H.A., Grandori, C., Tamayo, P., Colbert, T., Lander, E.S., Eisenman, R.N., and Golub, T.R. (2000). Expression analysis with oligonucleotide microarrays reveals that MYC

regulates genes involved in growth, cell cycle, signaling, and adhesion. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. *97*, 3260–3265.
Collins, R., and Cheng, X. (2010). A case study in cross-talk: the histone lysine methyltransferases G9a and GLP. Nucleic Acids Res. *38*, 3503–3511.
Conrad, T., and Akhtar, A. (2011). Dosage compensation in Drosophila melanogaster: epigenetic fine-tuning of chromosome-wide transcription. Nat. Rev. Genet. *13*, 123–134.
Cook, M., and Tyers, M. (2007). Size control goes global. Curr. Opin. Biotechnol. *18*, 341–350.
Cook, P.R. (1995). A chromomeric model for nuclear and chromosome structure. J. Cell. Sci. *108 (Pt 9)*, 2927–2935.
Core, L.J., Waterfall, J.J., and Lis, J.T. (2008). Nascent RNA sequencing reveals widespread pausing and divergent initiation at human promoters. Science *322*, 1845–1848.
Coré, N., Bel, S., Gaunt, S.J., Aurrand-Lions, M., Pearce, J., Fisher, A., and Djabali, M. (1997). Altered cellular proliferation and mesoderm patterning in Polycomb-M33-deficient mice. Development *124*, 721–729.
Cuccurese, M., Russo, G., Russo, A., and Pietropaolo, C. (2005). Alternative splicing and nonsense-mediated mRNA decay regulate mammalian ribosomal gene expression. Nucleic Acids Res *33*, 5965–5977.
Dabeva, M.D., and Warner, J.R. (1993). Ribosomal protein L32 of Saccharomyces cerevisiae regulates both splicing and translation of its own transcript. J. Biol. Chem. *268*, 19669–19674.
Dahlberg, J.E., Lund, E., and Goodwin, E.B. (2003). Nuclear translation: what is the evidence? RNA *9*, 1–8.
Dai, J., and Higgins, J.M.G. (2005). Haspin: a mitotic histone kinase required for metaphase chromosome alignment. Cell Cycle *4*, 665–668.
Dai, J., Sultan, S., Taylor, S.S., and Higgins, J.M.G. (2005). The kinase haspin is required for mitotic histone H3 Thr 3 phosphorylation and normal metaphase chromosome alignment. Genes Dev. *19*, 472–488.
Dai, M.-S., Arnold, H., Sun, X.-X., Sears, R., and Lu, H. (2007a). Inhibition of c-Myc activity by ribosomal protein L11. Embo J. *26*, 3332–3345.
Dai, M.-S., and Lu, H. (2004). Inhibition of MDM2-mediated p53 ubiquitination and degradation by ribosomal protein L5. J. Biol. Chem. *279*, 44475–44482.
Dai, M.-S., and Lu, H. (2008). Crosstalk between c-Myc and ribosome in ribosomal biogenesis and cancer. J Cell Biochem *105*, 670–677.
Dai, M.-S., Sears, R., and Lu, H. (2007b). Feedback regulation of c-Myc by ribosomal protein L11. Cell Cycle *6*, 2735–2741.
Dai, M.-S., Sun, X.-X., and Lu, H. (2010). Ribosomal protein L11 associates with c-Myc at 5 S rRNA and tRNA genes and regulates their expression. J. Biol. Chem. *285*, 12587–12594.
Dai, M.-S., Zeng, S.X., Jin, Y., Sun, X.-X., David, L., and Lu, H. (2004). Ribosomal protein L23 activates p53 by inhibiting MDM2 function in response to ribosomal perturbation but not to translation inhibition. Mol. Cell. Biol. *24*, 7654–7668.
De, S., and Brogna, S. (2010). Are ribosomal proteins present at transcription sites on or off ribosomal subunits? Biochem. Soc. Trans. *38*, 1543–1547.
De, S., Varsally, W., Falciani, F., and Brogna, S. (2011). Ribosomal proteins' association with transcription sites peaks at tRNA genes in Schizosaccharomyces pombe. RNA *17*, 1713–1726.
Deaton, A.M., and Bird, A. (2011). CpG islands and the regulation of transcription. Genes Dev. *25*, 1010–1022.
Debat, V., Bloyer, S., Faradji, F., Gidaszewski, N., Navarro, N., Orozco-Terwengel, P., Ribeiro, V., Schlötterer, C., Deutsch, J.S., and Peronnet, F. (2011). Developmental stability: a major role for cyclin G in drosophila melanogaster. PLoS Genet. *7*, e1002314.
Déjardin, J., Rappailles, A., Cuvier, O., Grimaud, C., Decoville, M., Locker, D., and Cavalli, G. (2005). Recruitment of Drosophila Polycomb group proteins to chromatin by DSP1. Nature *434*, 533–538.

Dekker, J. (2006). The three "C" s of chromosome conformation capture: controls, controls, controls. Nat. Methods *3*, 17–21.
Dey, A., Nishiyama, A., Karpova, T., McNally, J., and Ozato, K. (2009). Brd4 marks select genes on mitotic chromatin and directs postmitotic transcription. Mol. Biol. Cell *20*, 4899–4909.
Dhalluin, C., Carlson, J.E., Zeng, L., He, C., Aggarwal, A.K., and Zhou, M.M. (1999). Structure and ligand of a histone acetyltransferase bromodomain. Nature *399*, 491–496.
Diaconu, M., Kothe, U., Schlünzen, F., Fischer, N., Harms, J.M., Tonevitsky, A.G., Stark, H., Rodnina, M.V., and Wahl, M.C. (2005). Structural basis for the function of the ribosomal L7/12 stalk in factor binding and GTPase activation. Cell *121*, 991–1004.
Dieci, G., Ruotolo, R., Braglia, P., Carles, C., Carpentieri, A., Amoresano, A., and Ottonello, S. (2009). Positive modulation of RNA polymerase III transcription by ribosomal proteins. Biochem. Biophys. Res. Commun. *379*, 489–493.
Du, Y.-C.N., and Stillman, B. (2002). Yph1p, an ORC-interacting protein: potential links between cell proliferation control, DNA replication, and ribosome biogenesis. Cell *109*, 835–848.
Dundr, M., Hebert, M.D., Karpova, T.S., Stanek, D., Xu, H., Shpargel, K.B., Meier, U.T., Neugebauer, K.M., Matera, A.G., and Misteli, T. (2004). In vivo kinetics of Cajal body components. J. Cell Biol. *164*, 831–842.
Ebert, A., Schotta, G., Lein, S., Kubicek, S., Krauss, V., Jenuwein, T., and Reuter, G. (2004). Su(var) genes regulate the balance between euchromatin and heterochromatin in Drosophila. Genes Dev. *18*, 2973–2983.
Eissenberg, J.C. (2012). Structural biology of the chromodomain: form and function. Gene *496*, 69–78.
Eot-Houllier, G., Fulcrand, G., Watanabe, Y., Magnaghi-Jaulin, L., and Jaulin, C. (2008). Histone deacetylase 3 is required for centromeric H3K4 deacetylation and sister chromatid cohesion. Genes Dev. *22*, 2639–2644.
Faradji, F., Bloyer, S., Dardalhon-Cuménal, D., Randsholt, N.B., and Peronnet, F. (2011). Drosophila melanogaster Cyclin G coordinates cell growth and cell proliferation. Cell Cycle *10*, 805–818.
Feller, C., Prestel, M., Hartmann, H., Straub, T., Söding, J., and Becker, P.B. (2012a). The MOF-containing NSL complex associates globally with housekeeping genes, but activates only a defined subset. Nucleic Acids Res. *40*, 1509–1522.
Feller, C., Prestel, M., Hartmann, H., Straub, T., Söding, J., and Becker, P.B. (2012b). The MOF-containing NSL complex associates globally with housekeeping genes, but activates only a defined subset. Nucleic Acids Res. *40*, 1509–1522.
Feng, Q., Wang, H., Ng, H.H., Erdjument-Bromage, H., Tempst, P., Struhl, K., and Zhang, Y. (2002). Methylation of H3-lysine 79 is mediated by a new family of HMTases without a SET domain. Curr. Biol. *12*, 1052–1058.
Fichelson, P., and Huynh, J.-R. (2009). [Asymetric growth in Drosophila stem cells is related to ribosomal biogenesis]. Med Sci (Paris) *25*, 780–781.
Filipowicz, W., and Pogacić, V. (2002). Biogenesis of small nucleolar ribonucleoproteins. Curr. Opin. Cell Biol. *14*, 319–327.
Fire, A., Xu, S., Montgomery, M.K., Kostas, S.A., Driver, S.E., and Mello, C.C. (1998). Potent and specific genetic interference by double-stranded RNA in Caenorhabditis elegans. Nature *391*, 806–811.
Fischle, W., Tseng, B.S., Dormann, H.L., Ueberheide, B.M., Garcia, B.A., Shabanowitz, J., Hunt, D.F., Funabiki, H., and Allis, C.D. (2005). Regulation of HP1-chromatin binding by histone H3 methylation and phosphorylation. Nature *438*, 1116–1122.
Fischle, W., Wang, Y., Jacobs, S.A., Kim, Y., Allis, C.D., and Khorasanizadeh, S. (2003). Molecular Basis for the Discrimination of Repressive Methyl-Lysine Marks in Histone H3 by Polycomb and HP1 Chromodomains. Genes Dev. *17*, 1870–1881.
Fisher, A.E.O., Hochegger, H., Takeda, S., and Caldecott, K.W. (2007). Poly(ADP-ribose) polymerase 1 accelerates single-strand break repair in concert with poly(ADP-ribose) glycohydrolase. Mol. Cell. Biol. *27*, 5597–5605.

Fraga, M.F., Ballestar, E., Paz, M.F., Ropero, S., Setien, F., Ballestar, M.L., Heine-Suñer, D., Cigudosa, J.C., Urioste, M., Benitez, J., et al. (2005). Epigenetic differences arise during the lifetime of monozygotic twins. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. *102*, 10604–10609.
Francis, D.D., Champagne, F.A., Liu, D., and Meaney, M.J. (1999). Maternal care, gene expression, and the development of individual differences in stress reactivity. Ann. N. Y. Acad. Sci. *896*, 66–84.
Fromont-Racine, M., Senger, B., Saveanu, C., and Fasiolo, F. (2003). Ribosome assembly in eukaryotes. Gene *313*, 17–42.
Fuda, N.J., Ardehali, M.B., and Lis, J.T. (2009). Defining mechanisms that regulate RNA polymerase II transcription in vivo. Nature *461*, 186–192.
Fumagalli, S., Di Cara, A., Neb-Gulati, A., Natt, F., Schwemberger, S., Hall, J., Babcock, G.F., Bernardi, R., Pandolfi, P.P., and Thomas, G. (2009). Absence of nucleolar disruption after impairment of 40S ribosome biogenesis reveals an rpL11-translation-dependent mechanism of p53 induction. Nat. Cell Biol. *11*, 501–508.
Fumagalli, S., and Thomas, G. (2011). The role of p53 in ribosomopathies. Semin. Hematol. *48*, 97–105.
García-Marcos, A., Morreale, A., Guarinos, E., Briones, E., Remacha, M., Ortiz, A.R., and Ballesta, J.P.G. (2007). In vivo assembling of bacterial ribosomal protein L11 into yeast ribosomes makes the particles sensitive to the prokaryotic specific antibiotic thiostrepton. Nucleic Acids Res. *35*, 7109–7117.
Gehani, S.S., Agrawal-Singh, S., Dietrich, N., Christophersen, N.S., Helin, K., and Hansen, K. (2010). Polycomb group protein displacement and gene activation through MSK-dependent H3K27me3S28 phosphorylation. Mol. Cell *39*, 886–900.
Gilchrist, D.A., Fargo, D.C., and Adelman, K. (2009). Using ChIP-chip and ChIP-seq to study the regulation of gene expression: genome-wide localization studies reveal widespread regulation of transcription elongation. Methods *48*, 398–408.
Gildea, J.J., Lopez, R., and Shearn, A. (2000). A screen for new trithorax group genes identified little imaginal discs, the Drosophila melanogaster homologue of human retinoblastoma binding protein 2. Genetics *156*, 645–663.
Gilmour, D.S., and Lis, J.T. (1986). RNA polymerase II interacts with the promoter region of the noninduced hsp70 gene in Drosophila melanogaster cells. Mol. Cell. Biol. *6*, 3984–3989.
Gomez-Roman, N., Grandori, C., Eisenman, R.N., and White, R.J. (2003). Direct activation of RNA polymerase III transcription by c-Myc. Nature *421*, 290–294.
Gonzalo, P., and Reboud, J.-P. (2003). The puzzling lateral flexible stalk of the ribosome. Biol. Cell *95*, 179–193.
Goodman, R.H., and Smolik, S. (2000). CBP/p300 in cell growth, transformation, and development. Genes Dev. *14*, 1553–1577.
Goto, H., Yasui, Y., Nigg, E.A., and Inagaki, M. (2002). Aurora-B phosphorylates Histone H3 at serine28 with regard to the mitotic chromosome condensation. Genes Cells *7*, 11–17.
Grandori, C., Gomez-Roman, N., Felton-Edkins, Z.A., Ngouenet, C., Galloway, D.A., Eisenman, R.N., and White, R.J. (2005). c-Myc binds to human ribosomal DNA and stimulates transcription of rRNA genes by RNA polymerase I. Nat. Cell Biol. *7*, 311–318.
Grewal, S.I.S., and Elgin, S.C.R. (2002). Heterochromatin: new possibilities for the inheritance of structure. Curr. Opin. Genet. Dev. *12*, 178–187.
Grewal, S.S., Li, L., Orian, A., Eisenman, R.N., and Edgar, B.A. (2005). Myc-dependent regulation of ribosomal RNA synthesis during Drosophila development. Nat. Cell Biol. *7*, 295–302.
Grimaud, C., Nègre, N., and Cavalli, G. (2006). From genetics to epigenetics: the tale of Polycomb group and trithorax group genes. Chromosome Res. *14*, 363–375.
Guo, J., Garrett, M., Micklem, G., and Brogna, S. (2011). Poly(A) signals located near the 5' end of genes are silenced by a general mechanism that prevents premature 3'-end processing. Mol. Cell. Biol. *31*, 639–651.

Guo, Q.M., Malek, R.L., Kim, S., Chiao, C., He, M., Ruffy, M., Sanka, K., Lee, N.H., Dang, C.V., and Liu, E.T. (2000). Identification of c-myc responsive genes using rat cDNA microarray. Cancer Res. *60*, 5922–5928.

Guruharsha, K.G., Rual, J.-F., Zhai, B., Mintseris, J., Vaidya, P., Vaidya, N., Beekman, C., Wong, C., Rhee, D.Y., Cenaj, O., et al. (2011a). A protein complex network of Drosophila melanogaster. Cell *147*, 690–703.

Guruharsha, K.G., Rual, J.-F., Zhai, B., Mintseris, J., Vaidya, P., Vaidya, N., Beekman, C., Wong, C., Rhee, D.Y., Cenaj, O., et al. (2011b). A protein complex network of Drosophila melanogaster. Cell *147*, 690–703.

Hampsey, M., and Reinberg, D. (2003). Tails of intrigue: phosphorylation of RNA polymerase II mediates histone methylation. Cell *113*, 429–432.

Hampsey, M., Singh, B.N., Ansari, A., Lainé, J.-P., and Krishnamurthy, S. (2011). Control of eukaryotic gene expression: gene loops and transcriptional memory. Adv. Enzyme Regul. *51*, 118–125.

Hartwell, L.H. (1974). Saccharomyces cerevisiae cell cycle. Bacteriological Reviews *38*, 164.

Hendrix, D.A., Hong, J.-W., Zeitlinger, J., Rokhsar, D.S., and Levine, M.S. (2008). Promoter elements associated with RNA Pol II stalling in the Drosophila embryo. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. *105*, 7762–7767.

Hernandez, V.P., and Fallon, A.M. (2007). Histone H1-like, lysine-rich low complexity amino acid extensions in mosquito ribosomal proteins RpL23a and RpS6 have evolved independently. Arch. Insect Biochem. Physiol. *64*, 100–110.

Hnilicová, J., Hozeifi, S., Dušková, E., Icha, J., Tománková, T., and Staněk, D. (2011). Histone deacetylase activity modulates alternative splicing. PLoS ONE *6*, e16727.

Hnilicová, J., and Staněk, D. (2011). Where splicing joins chromatin. Nucleus *2*, 182–188.

Holdermann, I., Meyer, N.H., Round, A., Wild, K., Sattler, M., and Sinning, I. (2012). Chromodomains read the arginine code of post-translational targeting. Nat. Struct. Mol. Biol. *19*, 260–263.

Hölzel, M., Orban, M., Hochstatter, J., Rohrmoser, M., Harasim, T., Malamoussi, A., Kremmer, E., Längst, G., and Eick, D. (2010). Defects in 18 S or 28 S rRNA processing activate the p53 pathway. J. Biol. Chem. *285*, 6364–6370.

Horard, B., Tatout, C., Poux, S., and Pirrotta, V. (2000). Structure of a polycomb response element and in vitro binding of polycomb group complexes containing GAGA factor. Mol. Cell. Biol. *20*, 3187–3197.

Hou, H., and Yu, H. (2010). Structural insights into histone lysine demethylation. Curr. Opin. Struct. Biol. *20*, 739–748.

Howe, K.J., Kane, C.M., and Ares, M., Jr (2003). Perturbation of transcription elongation influences the fidelity of internal exon inclusion in Saccharomyces cerevisiae. RNA *9*, 993–1006.

Huang, J., and Berger, S.L. (2008). The emerging field of dynamic lysine methylation of non-histone proteins. Curr. Opin. Genet. Dev. *18*, 152–158.

Hughes, R.M., Wiggins, K.R., Khorasanizadeh, S., and Waters, M.L. (2007). Recognition of trimethyllysine by a chromodomain is not driven by the hydrophobic effect. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. *104*, 11184–11188.

Hung, T., and Chang, H.Y. (2010). Long noncoding RNA in genome regulation: prospects and mechanisms. RNA Biol *7*, 582–585.

Iborra, F.J., Jackson, D.A., and Cook, P.R. (2001). Coupled transcription and translation within nuclei of mammalian cells. Science *293*, 1139–1142.

Ivanov, A.V., Malygin, A.A., and Karpova, G.G. (2005). Human ribosomal protein S26 suppresses the splicing of its pre-mRNA. Biochimica Et Biophysica Acta (BBA) - Gene Structure and Expression *1727*, 134–140.

Ivanov, A.V., Parakhnevich, N.M., Malygin, A.A., and Karpova, G.G. (2010). [Human ribosomal protein S16 inhibites excision of the first intron from its own]. Mol. Biol. (Mosk.) *44*, 90–97.

Jacobs, S.A., Taverna, S.D., Zhang, Y., Briggs, S.D., Li, J., Eissenberg, J.C., Allis, C.D., and Khorasanizadeh, S. (2001). Specificity of the HP1 chromo domain for the methylated N-terminus of histone H3. Embo J. *20*, 5232–5241.

Jacobson, R.H., Ladurner, A.G., King, D.S., and Tjian, R. (2000). Structure and function of a human TAFII250 double bromodomain module. Science *288*, 1422–1425.

Jain, A.K., and Barton, M.C. (2009). Regulation of p53: TRIM24 enters the RING. Cell Cycle *8*, 3668–3674.

Jin, A., Itahana, K., O'Keefe, K., and Zhang, Y. (2004). Inhibition of HDM2 and activation of p53 by ribosomal protein L23. Mol. Cell. Biol. *24*, 7669–7680.

Johnston, G.C., Pringle, J.R., and Hartwell, L.H. (1977). Coordination of growth with cell division in the yeast Saccharomyces cerevisiae. Experimental Cell Research *105*, 79–98.

Jorgensen, P., Nishikawa, J.L., Breitkreutz, B.-J., and Tyers, M. (2002). Systematic identification of pathways that couple cell growth and division in yeast. Science *297*, 395–400.

Jorgensen, P., Rupes, I., Sharom, J.R., Schneper, L., Broach, J.R., and Tyers, M. (2004). A dynamic transcriptional network communicates growth potential to ribosome synthesis and critical cell size. Genes Dev. *18*, 2491–2505.

Jorgensen, P., and Tyers, M. (2004). How cells coordinate growth and division. Curr. Biol. *14*, R1014–1027.

Joshi, A.A., and Struhl, K. (2005). Eaf3 chromodomain interaction with methylated H3-K36 links histone deacetylation to Pol II elongation. Mol. Cell *20*, 971–978.

Julien, E., and Herr, W. (2004). A switch in mitotic histone H4 lysine 20 methylation status is linked to M phase defects upon loss of HCF-1. Mol. Cell *14*, 713–725.

Kadonaga, J.T. (2002). The DPE, a core promoter element for transcription by RNA polymerase II. Exp. Mol. Med. *34*, 259–264.

Kal, A.J., Mahmoudi, T., Zak, N.B., and Verrijzer, C.P. (2000). The Drosophila brahma complex is an essential coactivator for the trithorax group protein zeste. Genes Dev. *14*, 1058–1071.

Kao, S.Y., Calman, A.F., Luciw, P.A., and Peterlin, B.M. (1987). Anti-termination of transcription within the long terminal repeat of HIV-1 by tat gene product. Nature *330*, 489–493.

Karam, C.S., Kellner, W.A., Takenaka, N., Clemmons, A.W., and Corces, V.G. (2010). 14-3-3 mediates histone cross-talk during transcription elongation in Drosophila. PLoS Genet. *6*, e1000975.

Kearse, M.G., Chen, A.S., and Ware, V.C. (2011). Expression of ribosomal protein L22e family members in Drosophila melanogaster: rpL22-like is differentially expressed and alternatively spliced. Nucleic Acids Res. *39*, 2701–2716.

Kennison, J.A., and Tamkun, J.W. (1988). Dosage-dependent modifiers of polycomb and antennapedia mutations in Drosophila. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. *85*, 8136–8140.

Kim, D., Blus, B.J., Chandra, V., Huang, P., Rastinejad, F., and Khorasanizadeh, S. (2010a). Corecognition of DNA and a methylated histone tail by the MSL3 chromodomain. Nat. Struct. Mol. Biol. *17*, 1027–1029.

Kim, H., Erickson, B., Luo, W., Seward, D., Graber, J.H., Pollock, D.D., Megee, P.C., and Bentley, D.L. (2010b). Gene-specific RNA polymerase II phosphorylation and the CTD code. Nature Structural & Molecular Biology *17*, 1279–1286.

Kim, M., Krogan, N.J., Vasiljeva, L., Rando, O.J., Nedea, E., Greenblatt, J.F., and Buratowski, S. (2004). The yeast Rat1 exonuclease promotes transcription termination by RNA polymerase II. Nature *432*, 517–522.

Kim, T.H., Barrera, L.O., Zheng, M., Qu, C., Singer, M.A., Richmond, T.A., Wu, Y., Green, R.D., and Ren, B. (2005). A high-resolution map of active promoters in the human genome. Nature *436*, 876–880.

Kirmizis, A., Santos-Rosa, H., Penkett, C.J., Singer, M.A., Vermeulen, M., Mann, M., Bähler, J., Green, R.D., and Kouzarides, T. (2007). Arginine methylation at histone H3R2 controls deposition of H3K4 trimethylation. Nature *449*, 928–932.

Klymenko, T. (2006). A Polycomb group protein complex with sequence-specific DNA-binding and selective methyl-lysine-binding activities. Genes & Development *20*, 1110–1122.

Kodjabachian, L., Delaage, M., Maurel, C., Miassod, R., Jacq, B., and Rosset, R. (1998). Mutations in ccf, a novel Drosophila gene encoding a chromosomal factor, affect progression through mitosis and interact with Pc-G mutations. Embo J *17*, 1063–1075.
Koleske, A.J., and Young, R.A. (1994). An RNA polymerase II holoenzyme responsive to activators. Nature *368*, 466–469.
Komarnitsky, P. (2000). Different phosphorylated forms of RNA polymerase II and associated mRNA processing factors during transcription. Genes & Development *14*, 2452–2460.
Komili, S., Farny, N.G., Roth, F.P., and Silver, P.A. (2007). Functional Specificity among Ribosomal Proteins Regulates Gene Expression. Cell *131*, 557–571.
Kongsuwan, K., Yu, Q., Vincent, A., Frisardi, M.C., Rosbash, M., Lengyel, J.A., and Merriam, J. (1985). A Drosophila Minute gene encodes a ribosomal protein. Nature *317*, 555–558.
Kornberg, R.D. (2007). The molecular basis of eucaryotic transcription. Cell Death Differ. *14*, 1989–1997.
Krauss, V., and Reuter, G. (2011). DNA methylation in Drosophila--a critical evaluation. Prog Mol Biol Transl Sci *101*, 177–191.
Kruiswijk, T., Kunst, A., Planta, R.J., and Mager, W.H. (1978). Modification of yeast ribosomal proteins. Methylation. Biochem. J. *175*, 221–225.
Krumm, A., Meulia, T., Brunvand, M., and Groudine, M. (1992). The block to transcriptional elongation within the human c-myc gene is determined in the promoter-proximal region. Genes Dev. *6*, 2201–2213.
Kuehner, J.N., Pearson, E.L., and Moore, C. (2011). Unravelling the means to an end: RNA polymerase II transcription termination. Nat. Rev. Mol. Cell Biol. *12*, 283–294.
Lachner, M., O'Carroll, D., Rea, S., Mechtler, K., and Jenuwein, T. (2001). Methylation of histone H3 lysine 9 creates a binding site for HP1 proteins. Nature *410*, 116–120.
Lafarga, M. (2002). Clastosome: A Subtype of Nuclear Body Enriched in 19S and 20S Proteasomes, Ubiquitin, and Protein Substrates of Proteasome. Molecular Biology of the Cell *13*, 2771–2782.
Lagarou, A., Mohd-Sarip, A., Moshkin, Y.M., Chalkley, G.E., Bezstarosti, K., Demmers, J.A.A., and Verrijzer, C.P. (2008). dKDM2 couples histone H2A ubiquitylation to histone H3 demethylation during Polycomb group silencing. Genes Dev. *22*, 2799–2810.
Lambertsson, A. (1998). The minute genes in Drosophila and their molecular functions. Adv. Genet. *38*, 69–134.
Lau, P.N.I., and Cheung, P. (2011). Histone Code Pathway Involving H3 S28 Phosphorylation and K27 Acetylation Activates Transcription and Antagonizes Polycomb Silencing. Pnas *108*, 2801–2806.
Laurent, B.C., Treitel, M.A., and Carlson, M. (1991). Functional interdependence of the yeast SNF2, SNF5, and SNF6 proteins in transcriptional activation. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. *88*, 2687–2691.
Lee, C., Li, X., Hechmer, A., Eisen, M., Biggin, M.D., Venters, B.J., Jiang, C., Li, J., Pugh, B.F., and Gilmour, D.S. (2008). NELF and GAGA Factor Are Linked to Promoter-Proximal Pausing at Many Genes in Drosophila. Molecular and Cellular Biology *28*, 3290–3300.
Lee, J.-S., Shukla, A., Schneider, J., Swanson, S.K., Washburn, M.P., Florens, L., Bhaumik, S.R., and Shilatifard, A. (2007). Histone crosstalk between H2B monoubiquitination and H3 methylation mediated by COMPASS. Cell *131*, 1084–1096.
Lee, M.G., Wynder, C., Cooch, N., and Shiekhattar, R. (2005). An essential role for CoREST in nucleosomal histone 3 lysine 4 demethylation. Nature *437*, 432–435.
Lee, S.-W., Berger, S.J., Martinović, S., Pasa-Tolić, L., Anderson, G.A., Shen, Y., Zhao, R., and Smith, R.D. (2002). Direct mass spectrometric analysis of intact proteins of the yeast large ribosomal subunit using capillary LC/FTICR. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. *99*, 5942–5947.
Li, G., Sudlow, G., and Belmont, A.S. (1998). Interphase cell cycle dynamics of a late-replicating, heterochromatic homogeneously staining region: precise choreography of condensation/decondensation and nuclear positioning. J. Cell Biol. *140*, 975–989.
Li, H., Pan, L., and Gou, K. (2010). Depletion of ribosomal protein L8 impairs Drosophila development and is associated with apoptosis. Sci China Life Sci *53*, 1092–1097.

Lieberman-Aiden, E., van Berkum, N.L., Williams, L., Imakaev, M., Ragoczy, T., Telling, A., Amit, I., Lajoie, B.R., Sabo, P.J., Dorschner, M.O., et al. (2009). Comprehensive mapping of long-range interactions reveals folding principles of the human genome. Science *326*, 289–293.

Lindsley, D.L., Sandler, L., Baker, B.S., Carpenter, A.T., Denell, R.E., Hall, J.C., Jacobs, P.A., Miklos, G.L., Davis, B.K., Gethmann, R.C., et al. (1972). Segmental aneuploidy and the genetic gross structure of the Drosophila genome. Genetics *71*, 157–184.

Liu, D., Diorio, J., Tannenbaum, B., Caldji, C., Francis, D., Freedman, A., Sharma, S., Pearson, D., Plotsky, P.M., and Meaney, M.J. (1997). Maternal care, hippocampal glucocorticoid receptors, and hypothalamic-pituitary-adrenal responses to stress. Science *277*, 1659–1662.

Liu, X., Bushnell, D.A., Silva, D.-A., Huang, X., and Kornberg, R.D. (2011). Initiation complex structure and promoter proofreading. Science *333*, 633–637.

Lo, K.-Y., Li, Z., Wang, F., Marcotte, E.M., and Johnson, A.W. (2009). Ribosome stalk assembly requires the dual-specificity phosphatase Yvh1 for the exchange of Mrt4 with P0. The Journal of Cell Biology *186*, 849 –862.

Lopez, A., Higuet, D., Rosset, R., Deutsch, J., and Peronnet, F. (2001). genetically interacts with Pc-G and trx-G genes and maintains the anterior boundary of expression in larvae. Molecular Genetics and Genomics *266*, 572–583.

Lowe, S.W., and Sherr, C.J. (2003). Tumor suppression by Ink4a-Arf: progress and puzzles. Curr. Opin. Genet. Dev. *13*, 77–83.

Lyckegaard, E.M., and Clark, A.G. (1991). Evolution of ribosomal RNA gene copy number on the sex chromosomes of Drosophila melanogaster. Mol. Biol. Evol. *8*, 458–474.

LYON, M.F. (1961). Gene action in the X-chromosome of the mouse (Mus musculus L.). Nature *190*, 372–373.

Maeda, R.K., and Karch, F. (2006). The ABC of the BX-C: the bithorax complex explained. Development *133*, 1413–1422.

Malygin, A.A., Parakhnevitch, N.M., Ivanov, A.V., Eperon, I.C., and Karpova, G.G. (2007). Human ribosomal protein S13 regulates expression of its own gene at the splicing step by a feedback mechanism. Nucleic Acids Res *35*, 6414–6423.

Mao, Y.S., Zhang, B., and Spector, D.L. (2011). Biogenesis and function of nuclear bodies. Trends Genet. *27*, 295–306.

del Mar Lorente, M., Marcos-Gutiérrez, C., Pérez, C., Schoorlemmer, J., Ramírez, A., Magin, T., and Vidal, M. (2000). Loss- and gain-of-function mutations show a polycomb group function for Ring1A in mice. Development *127*, 5093–5100.

Marenda, D.R., Zraly, C.B., and Dingwall, A.K. (2004). The Drosophila Brahma (SWI/SNF) chromatin remodeling complex exhibits cell-type specific activation and repression functions. Dev. Biol. *267*, 279–293.

Margueron, R., Trojer, P., and Reinberg, D. (2005). The key to development: interpreting the histone code? Curr. Opin. Genet. Dev. *15*, 163–176.

Markaki, Y., Christogianni, A., Politou, A.S., and Georgatos, S.D. (2009). Phosphorylation of histone H3 at Thr3 is part of a combinatorial pattern that marks and configures mitotic chromatin. J. Cell. Sci. *122*, 2809–2819.

Martinez, A.-M., and Cavalli, G. (2006). The role of polycomb group proteins in cell cycle regulation during development. Cell Cycle *5*, 1189–1197.

Marygold, S.J., Roote, J., Reuter, G., Lambertsson, A., Ashburner, M., Millburn, G.H., Harrison, P.M., Yu, Z., Kenmochi, N., Kaufman, T.C., et al. (2007). The ribosomal protein genes and Minute loci of Drosophila melanogaster. Genome Biol. *8*, R216.

Maurer-Stroh, S., Dickens, N.J., Hughes-Davies, L., Kouzarides, T., Eisenhaber, F., and Ponting, C.P. (2003). The Tudor domain "Royal Family": Tudor, plant Agenet, Chromo, PWWP and MBT domains. Trends Biochem. Sci. *28*, 69–74.

McCLINTOCK, B. (1950). The origin and behavior of mutable loci in maize. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. *36*, 344–355.

McConkey, E.H., Bielka, H., Gordon, J., Lastick, S.M., Lin, A., Ogata, K., Reboud, J.P., Traugh, J.A., Traut, R.R., Warner, J.R., et al. (1979). Proposed uniform nomenclature for mammalian ribosomal proteins. Mol. Gen. Genet. *169*, 1–6.

Mello, C.C., and Conte, D., Jr (2004). Revealing the world of RNA interference. Nature *431*, 338–342.

Mendenhall, E.M., Koche, R.P., Truong, T., Zhou, V.W., Issac, B., Chi, A.S., Ku, M., and Bernstein, B.E. (2010). GC-rich sequence elements recruit PRC2 in mammalian ES cells. PLoS Genet. *6*, e1001244.

Menssen, A., and Hermeking, H. (2002). Characterization of the c-MYC-regulated transcriptome by SAGE: identification and analysis of c-MYC target genes. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. *99*, 6274–6279.

Messmer, S., Franke, A., and Paro, R. (1992). Analysis of the functional role of the Polycomb chromo domain in Drosophila melanogaster. Genes Dev. *6*, 1241–1254.

Metzger, E., Wissmann, M., Yin, N., Müller, J.M., Schneider, R., Peters, A.H.F.M., Günther, T., Buettner, R., and Schüle, R. (2005). LSD1 demethylates repressive histone marks to promote androgen-receptor-dependent transcription. Nature *437*, 436–439.

Miao, F., Li, S., Chavez, V., Lanting, L., and Natarajan, R. (2006). Coactivator-associated arginine methyltransferase-1 enhances nuclear factor-kappaB-mediated gene transcription through methylation of histone H3 at arginine 17. Mol. Endocrinol. *20*, 1562–1573.

Mitrovich, Q.M. (2000). Unproductively spliced ribosomal protein mRNAs are natural targets of mRNA surveillance in C. elegans. Genes & Development *14*, 2173–2184.

Morrison, A.J., and Shen, X. (2009a). Chromatin remodelling beyond transcription: the INO80 and SWR1 complexes. Nat. Rev. Mol. Cell Biol. *10*, 373–384.

Morrison, A.J., and Shen, X. (2009b). Chromatin remodelling beyond transcription: the INO80 and SWR1 complexes. Nature Reviews Molecular Cell Biology *10*, 373–384.

Mouchel-Vielh, E., Rougeot, J., Decoville, M., and Peronnet, F. (2011). The MAP kinase ERK and its scaffold protein MP1 interact with the chromatin regulator Corto during Drosophila wing tissue development. BMC Dev Biol *11*, 17.

Mujtaba, S., Zeng, L., and Zhou, M.-M. (2007). Structure and acetyl-lysine recognition of the bromodomain. Oncogene *26*, 5521–5527.

Murali, T., Pacifico, S., Yu, J., Guest, S., Roberts, G.G., 3rd, and Finley, R.L., Jr (2011a). DroID 2011: a comprehensive, integrated resource for protein, transcription factor, RNA and gene interactions for Drosophila. Nucleic Acids Res. *39*, D736–743.

Murali, T., Pacifico, S., Yu, J., Guest, S., Roberts, G.G., 3rd, and Finley, R.L., Jr (2011b). DroID 2011: a comprehensive, integrated resource for protein, transcription factor, RNA and gene interactions for Drosophila. Nucleic Acids Res. *39*, D736–743.

Murawsky, C.M., Brehm, A., Badenhorst, P., Lowe, N., Becker, P.B., and Travers, A.A. (2001). Tramtrack69 interacts with the dMi-2 subunit of the Drosophila NuRD chromatin remodelling complex. EMBO Rep. *2*, 1089–1094.

Murayama, A., Ohmori, K., Fujimura, A., Minami, H., Yasuzawa-Tanaka, K., Kuroda, T., Oie, S., Daitoku, H., Okuwaki, M., Nagata, K., et al. (2008). Epigenetic control of rDNA loci in response to intracellular energy status. Cell *133*, 627–639.

Muse, G.W., Gilchrist, D.A., Nechaev, S., Shah, R., Parker, J.S., Grissom, S.F., Zeitlinger, J., and Adelman, K. (2007). RNA polymerase is poised for activation across the genome. Nat. Genet. *39*, 1507–1511.

Myer, V.E., and Young, R.A. (1998). RNA Polymerase II Holoenzymes and Subcomplexes. J. Biol. Chem. *273*, 27757–27760.

Nakayama, J., Rice, J.C., Strahl, B.D., Allis, C.D., and Grewal, S.I. (2001). Role of histone H3 lysine 9 methylation in epigenetic control of heterochromatin assembly. Science *292*, 110–113.

Nechaev, S., and Adelman, K. (2008). Promoter-proximal Pol II: when stalling speeds things up. Cell Cycle *7*, 1539–1544.

Nechaev, S., and Adelman, K. (2011). Pol II waiting in the starting gates: Regulating the transition from transcription initiation into productive elongation. Biochim. Biophys. Acta *1809*, 34–45.
Nechaev, S., Fargo, D.C., dos Santos, G., Liu, L., Gao, Y., and Adelman, K. (2010). Global analysis of short RNAs reveals widespread promoter-proximal stalling and arrest of Pol II in Drosophila. Science *327*, 335–338.
Ng, H.H., and Bird, A. (2000). Histone deacetylases: silencers for hire. Trends Biochem. Sci. *25*, 121–126.
Ni, J.-Q. (2006). Drosophila ribosomal proteins are associated with linker histone H1 and suppress gene transcription. Genes & Development *20*, 1959–1973.
Nishida, H., Suzuki, T., Kondo, S., Miura, H., Fujimura, Y., and Hayashizaki, Y. (2006). Histone H3 acetylated at lysine 9 in promoter is associated with low nucleosome density in the vicinity of transcription start site in human cell. Chromosome Res. *14*, 203–211.
O'Kane, C.J., and Gehring, W.J. (1987). Detection in situ of genomic regulatory elements in Drosophila. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. *84*, 9123–9127.
Oeffinger, M., and Tollervey, D. (2003). Yeast Nop15p is an RNA-binding protein required for pre-rRNA processing and cytokinesis. Embo J. *22*, 6573–6583.
Oesterreich, F.C., Bieberstein, N., and Neugebauer, K.M. (2011). Pause locally, splice globally. Trends Cell Biol. *21*, 328–335.
Oskarsson, T., and Trumpp, A. (2005). The Myc trilogy: lord of RNA polymerases. Nat. Cell Biol. *7*, 215–217.
Ota, T., Suto, S., Katayama, H., Han, Z.-B., Suzuki, F., Maeda, M., Tanino, M., Terada, Y., and Tatsuka, M. (2002). Increased mitotic phosphorylation of histone H3 attributable to AIM-1/Aurora-B overexpression contributes to chromosome number instability. Cancer Res. *62*, 5168–5177.
Pal, M., Ponticelli, A.S., and Luse, D.S. (2005). The role of the transcription bubble and TFIIB in promoter clearance by RNA polymerase II. Mol. Cell *19*, 101–110.
Pang, C.N.I., Gasteiger, E., and Wilkins, M.R. (2010). Identification of arginine- and lysine-methylation in the proteome of Saccharomyces cerevisiae and its functional implications. BMC Genomics *11*, 92.
Papoulas, O., Beek, S.J., Moseley, S.L., McCallum, C.M., Sarte, M., Shearn, A., and Tamkun, J.W. (1998). The Drosophila trithorax group proteins BRM, ASH1 and ASH2 are subunits of distinct protein complexes. Development *125*, 3955–3966.
Paro, R., and Hogness, D.S. (1991). The Polycomb protein shares a homologous domain with a heterochromatin-associated protein of Drosophila. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. *88*, 263–267.
Pavlakis, G.N., Jordan, B.R., Wurst, R.M., and Vournakis, J.N. (1979). Sequence and secondary structure of Drosophila melanogaster 5.8S and 2S rRNAs and of the processing site between them. Nucleic Acids Res. *7*, 2213–2238.
Peng, J., Zhu, Y., Milton, J.T., and Price, D.H. (1998). Identification of multiple cyclin subunits of human P-TEFb. Genes Dev. *12*, 755–762.
Pérez-Lluch, S., Blanco, E., Carbonell, A., Raha, D., Snyder, M., Serras, F., and Corominas, M. (2011). Genome-wide chromatin occupancy analysis reveals a role for ASH2 in transcriptional pausing. Nucleic Acids Res. *39*, 4628–4639.
Pestov, D.G., Stockelman, M.G., Strezoska, Z., and Lau, L.F. (2001a). ERB1, the yeast homolog of mammalian Bop1, is an essential gene required for maturation of the 25S and 5.8S ribosomal RNAs. Nucleic Acids Res. *29*, 3621–3630.
Pestov, D.G., Strezoska, Z., and Lau, L.F. (2001b). Evidence of p53-dependent cross-talk between ribosome biogenesis and the cell cycle: effects of nucleolar protein Bop1 on G(1)/S transition. Mol. Cell. Biol. *21*, 4246–4255.
Peterlin, B.M., and Price, D.H. (2006). Controlling the elongation phase of transcription with P-TEFb. Mol. Cell *23*, 297–305.
Peterson, C.L., and Herskowitz, I. (1992). Characterization of the yeast SWI1, SWI2, and SWI3 genes, which encode a global activator of transcription. Cell *68*, 573–583.

Petesch, S.J., and Lis, J.T. (2012). Activator-induced spread of poly(ADP-ribose) polymerase promotes nucleosome loss at Hsp70. Mol. Cell *45*, 64–74.
Petruk, S., Sedkov, Y., Smith, S., Tillib, S., Kraevski, V., Nakamura, T., Canaani, E., Croce, C.M., and Mazo, A. (2001). Trithorax and dCBP acting in a complex to maintain expression of a homeotic gene. Science *294*, 1331–1334.
Pfaffl, M.W. (2001). A new mathematical model for relative quantification in real-time RT-PCR. Nucleic Acids Res. *29*, e45.
Pinskaya, M., and Morillon, A. (2009). Histone H3 lysine 4 di-methylation: a novel mark for transcriptional fidelity? Epigenetics *4*, 302–306.
Plafker, S.M., and Macara, I.G. (2002). Ribosomal protein L12 uses a distinct nuclear import pathway mediated by importin 11. Mol. Cell. Biol. *22*, 1266–1275.
Platero, J.S., Hartnett, T., and Eissenberg, J.C. (1995). Functional analysis of the chromo domain of HP1. Embo J. *14*, 3977–3986.
Plath, K., Fang, J., Mlynarczyk-Evans, S.K., Cao, R., Worringer, K.A., Wang, H., de la Cruz, C.C., Otte, A.P., Panning, B., and Zhang, Y. (2003). Role of histone H3 lysine 27 methylation in X inactivation. Science *300*, 131–135.
Polevoda, B., and Sherman, F. (2007). Methylation of proteins involved in translation. Molecular Microbiology *65*, 590–606.
Porras-Yakushi, T.R., Whitelegge, J.P., and Clarke, S. (2006). A Novel SET Domain Methyltransferase in Yeast. Journal of Biological Chemistry *281*, 35835 –35845.
Proshkin, S., Rahmouni, A.R., Mironov, A., and Nudler, E. (2010). Cooperation between translating ribosomes and RNA polymerase in transcription elongation. Science *328*, 504–508.
Qiu, D., Parada, P., Marcos, A.G., Cárdenas, D., Remacha, M., and Ballesta, J.P.G. (2006). Different roles of P1 and P2 Saccharomyces cerevisiae ribosomal stalk proteins revealed by cross-linking. Mol. Microbiol. *62*, 1191–1202.
Rachez, C., and Freedman, L.P. (2001). Mediator complexes and transcription. Curr. Opin. Cell Biol. *13*, 274–280.
Rahl, P.B., Lin, C.Y., Seila, A.C., Flynn, R.A., McCuine, S., Burge, C.B., Sharp, P.A., and Young, R.A. (2010). c-Myc regulates transcriptional pause release. Cell *141*, 432–445.
Rasmussen, E.B., and Lis, J.T. (1993). In vivo transcriptional pausing and cap formation on three Drosophila heat shock genes. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. *90*, 7923–7927.
Rassoulzadegan, M., Grandjean, V., Gounon, P., Vincent, S., Gillot, I., and Cuzin, F. (2006). RNA-mediated non-mendelian inheritance of an epigenetic change in the mouse. Nature *441*, 469–474.
Rea, S., Eisenhaber, F., O'Carroll, D., Strahl, B.D., Sun, Z.W., Schmid, M., Opravil, S., Mechtler, K., Ponting, C.P., Allis, C.D., et al. (2000). Regulation of chromatin structure by site-specific histone H3 methyltransferases. Nature *406*, 593–599.
Rea, S., Xouri, G., and Akhtar, A. (2007). Males absent on the first (MOF): from flies to humans. Oncogene *26*, 5385–5394.
Remacha, M., Jimenez-Diaz, A., Santos, C., Briones, E., Zambrano, R., Rodriguez Gabriel, M.A., Guarinos, E., and Ballesta, J.P. (1995). Proteins P1, P2, and P0, components of the eukaryotic ribosome stalk. New structural and functional aspects. Biochem. Cell Biol. *73*, 959–968.
Renner, D.B., Yamaguchi, Y., Wada, T., Handa, H., and Price, D.H. (2001). A highly purified RNA polymerase II elongation control system. J. Biol. Chem. *276*, 42601–42609.
Ridgway, P., and Almouzni, G. (2001). Chromatin Assembly and Organization. J Cell Sci *114*, 2711–2712.
Riggs, A.D, Russo, V.E.A., Martienssen, R.A, 1996 Epigenetic mechanisms of gene regulation. Cold Spring Harbor Laboratory Press, Plainview, NY.
Ringrose, L., and Paro, R. (2007). Polycomb/Trithorax response elements and epigenetic memory of cell identity. Development *134*, 223–232.
Ringrose, L., Rehmsmeier, M., Dura, J.-M., and Paro, R. (2003). Genome-wide prediction of Polycomb/Trithorax response elements in Drosophila melanogaster. Dev. Cell *5*, 759–771.

Rinn, J.L., Kertesz, M., Wang, J.K., Squazzo, S.L., Xu, X., Brugmann, S.A., Goodnough, L.H., Helms, J.A., Farnham, P.J., Segal, E., et al. (2007). Functional Demarcation of Active and Silent Chromatin Domains in Human HOX Loci by Noncoding RNAs. Cell *129*, 1311–1323.

Roberts, J.W. (2010). Molecular biology. Syntheses that stay together. Science *328*, 436–437.

Rodriguez-Gabriel, M.A., Bou, G., Briones, E., Zambrano, R., Remacha, M., and Ballesta, J.P. (1999). Structure and function of the stalk, a putative regulatory element of the yeast ribosome. Role of stalk protein phosphorylation. Folia Microbiol. (Praha) *44*, 153–163.

Rodriguez-Mateos, M., Garcia-Gomez, J.J., Francisco-Velilla, R., Remacha, M., de la Cruz, J., and Ballesta, J.P.G. (2009). Role and dynamics of the ribosomal protein P0 and its related trans-acting factor Mrt4 during ribosome assembly in Saccharomyces cerevisiae. Nucleic Acids Research *37*, 7519–7532.

Rougvie, A.E., and Lis, J.T. (1988). The RNA polymerase II molecule at the 5' end of the uninduced hsp70 gene of D. melanogaster is transcriptionally engaged. Cell *54*, 795–804.

Rout, M.P., Blobel, G., and Aitchison, J.D. (1997). A distinct nuclear import pathway used by ribosomal proteins. Cell *89*, 715–725.

Roy, V., Monti-Dedieu, L., Chaminade, N., Siljak-Yakovlev, S., Aulard, S., Lemeunier, F., and Montchamp-Moreau, C. (2005). Evolution of the chromosomal location of rDNA genes in two Drosophila species subgroups: ananassae and melanogaster. Heredity (Edinb) *94*, 388–395.

De Rubertis, F., Kadosh, D., Henchoz, S., Pauli, D., Reuter, G., Struhl, K., and Spierer, P. (1996). The histone deacetylase RPD3 counteracts genomic silencing in Drosophila and yeast. Nature *384*, 589–591.

Russell, J., and Zomerdijk, J.C.B.M. (2005). RNA-polymerase-I-directed rDNA transcription, life and works. Trends in Biochemical Sciences *30*, 87–96.

Rybtsova, N., Leimgruber, E., Seguin-Estévez, Q., Dunand-Sauthier, I., Krawczyk, M., and Reith, W. (2007). Transcription-coupled deposition of histone modifications during MHC class II gene activation. Nucleic Acids Res. *35*, 3431–3441.

Sadaie, M., Shinmyozu, K., and Nakayama, J. (2008). A Conserved SET Domain Methyltransferase, Set11, Modifies Ribosomal Protein Rpl12 in Fission Yeast. Journal of Biological Chemistry *283*, 7185 –7195.

Saebøe-Larssen, S., Lyamouri, M., Merriam, J., Oksvold, M.P., and Lambertsson, A. (1998). Ribosomal protein insufficiency and the minute syndrome in Drosophila: a dose-response relationship. Genetics *148*, 1215–1224.

Salvaing, J., Decoville, M., Mouchel-Vielh, E., Bussière, M., Daulny, A., Boldyreva, L., Zhimulev, I., Locker, D., and Peronnet, F. (2006). Corto and DSP1 interact and bind to a maintenance element of the Scr Hox gene: understanding the role of Enhancers of trithorax and Polycomb. BMC Biol *4*, 9.

Salvaing, J., Lopez, A., Boivin, A., Deutsch, J.S., and Peronnet, F. (2003). The Drosophila Corto protein interacts with Polycomb-group proteins and the GAGA factor. Nucleic Acids Res *31*, 2873–2882.

Salvaing, J., Mouchel-Vielh, E., Bloyer, S., Preiss, A., and Peronnet, F. (2008a). Regulation of Abd-B expression by Cyclin G and Corto in the abdominal epithelium of Drosophila. Hereditas *145*, 138–146.

Salvaing, J., Nagel, A.C., Mouchel-Vielh, E., Bloyer, S., Maier, D., Preiss, A., and Peronnet, F. (2008b). The Enhancer of Trithorax and Polycomb Corto Interacts with Cyclin G in Drosophila. PLoS ONE *3*,.

Sankar, N., Baluchamy, S., Kadeppagari, R.-K., Singhal, G., Weitzman, S., and Thimmapaya, B. (2008). p300 provides a corepressor function by cooperating with YY1 and HDAC3 to repress c-Myc. Oncogene *27*, 5717–5728.

Saracino, F., Bassler, J., Muzzini, D., Hurt, E., and Agostoni Carbone, M.L. (2004). The yeast kinase Swe1 is required for proper entry into cell cycle after arrest due to ribosome biogenesis and protein synthesis defects. Cell Cycle *3*, 648–654.

Saurin, A.J., Shao, Z., Erdjument-Bromage, H., Tempst, P., and Kingston, R.E. (2001). A Drosophila Polycomb group complex includes Zeste and dTAFII proteins. Nature *412*, 655–660.

Saxena, A., and Carninci, P. (2011). Long non-coding RNA modifies chromatin: epigenetic silencing by long non-coding RNAs. Bioessays *33*, 830–839.

Scheer, U., and Hock, R. (1999). Structure and function of the nucleolus. Curr. Opin. Cell Biol. *11*, 385–390.

Scheuermann, J.C., de Ayala Alonso, A.G., Oktaba, K., Ly-Hartig, N., McGinty, R.K., Fraterman, S., Wilm, M., Muir, T.W., and Müller, J. (2010). Histone H2A deubiquitinase activity of the Polycomb repressive complex PR-DUB. Nature *465*, 243–247.

Schmucker, D., Clemens, J.C., Shu, H., Worby, C.A., Xiao, J., Muda, M., Dixon, J.E., and Zipursky, S.L. (2000). Drosophila Dscam is an axon guidance receptor exhibiting extraordinary molecular diversity. Cell *101*, 671–684.

Schneider, I. (1972). Cell lines derived from late embryonic stages of Drosophila melanogaster. J Embryol Exp Morphol *27*, 353–365.

Schotta, G., Ebert, A., Krauss, V., Fischer, A., Hoffmann, J., Rea, S., Jenuwein, T., Dorn, R., and Reuter, G. (2002). Central role of Drosophila SU(VAR)3-9 in histone H3-K9 methylation and heterochromatic gene silencing. Embo J. *21*, 1121–1131.

Schotta, G., Lachner, M., Sarma, K., Ebert, A., Sengupta, R., Reuter, G., Reinberg, D., and Jenuwein, T. (2004). A silencing pathway to induce H3-K9 and H4-K20 trimethylation at constitutive heterochromatin. Genes Dev. *18*, 1251–1262.

Schroder, P.A., and Moore, M.J. (2005). Association of ribosomal proteins with nascent transcripts in S. cerevisiae. RNA *11*, 1521–1529.

Schuettengruber, B., and Cavalli, G. (2009). Recruitment of polycomb group complexes and their role in the dynamic regulation of cell fate choice. Development *136*, 3531–3542.

Schuettengruber, B., Martinez, A.-M., Iovino, N., and Cavalli, G. (2011). Trithorax group proteins: switching genes on and keeping them active. Nat. Rev. Mol. Cell Biol. *12*, 799–814.

Schurter, B.T., Koh, S.S., Chen, D., Bunick, G.J., Harp, J.M., Hanson, B.L., Henschen-Edman, A., Mackay, D.R., Stallcup, M.R., and Aswad, D.W. (2001). Methylation of histone H3 by coactivator-associated arginine methyltransferase 1. Biochemistry *40*, 5747–5756.

Schwartz, S., Meshorer, E., and Ast, G. (2009). Chromatin organization marks exon-intron structure. Nature Structural & Molecular Biology *16*, 990–995.

Schwartz, Y.B., and Pirrotta, V. (2008). Polycomb complexes and epigenetic states. Curr. Opin. Cell Biol. *20*, 266–273.

Seki, Y., Williams, L., Vuguin, P.M., and Charron, M.J. (2012). Minireview: epigenetic programming of diabetes and obesity: animal models. Endocrinology *153*, 1031–1038.

Sexton, T., Yaffe, E., Kenigsberg, E., Bantignies, F., Leblanc, B., Hoichman, M., Parrinello, H., Tanay, A., and Cavalli, G. (2012). Three-dimensional folding and functional organization principles of the Drosophila genome. Cell *148*, 458–472.

Shao, Z., Raible, F., Mollaaghababa, R., Guyon, J.R., Wu, C.T., Bender, W., and Kingston, R.E. (1999a). Stabilization of chromatin structure by PRC1, a Polycomb complex. Cell *98*, 37–46.

Shao, Z., Raible, F., Mollaaghababa, R., Guyon, J.R., Wu, C.T., Bender, W., and Kingston, R.E. (1999b). Stabilization of chromatin structure by PRC1, a Polycomb complex. Cell *98*, 37–46.

Shi, Y., Lan, F., Matson, C., Mulligan, P., Whetstine, J.R., Cole, P.A., Casero, R.A., and Shi, Y. (2004). Histone demethylation mediated by the nuclear amine oxidase homolog LSD1. Cell *119*, 941–953.

Shi, Y.-J., Matson, C., Lan, F., Iwase, S., Baba, T., and Shi, Y. (2005). Regulation of LSD1 histone demethylase activity by its associated factors. Mol. Cell *19*, 857–864.

Shirai, A., Sadaie, M., Shinmyozu, K., and Nakayama, J. (2010). Methylation of ribosomal protein L42 regulates ribosomal function and stress-adapted cell growth. J. Biol. Chem. *285*, 22448–22460.

Simonis, M., Klous, P., Splinter, E., Moshkin, Y., Willemsen, R., de Wit, E., van Steensel, B., and de Laat, W. (2006). Nuclear organization of active and inactive chromatin domains uncovered by chromosome conformation capture-on-chip (4C). Nat. Genet. *38*, 1348–1354.
Sims, J.K., Houston, S.I., Magazinnik, T., and Rice, J.C. (2006). A trans-tail histone code defined by monomethylated H4 Lys-20 and H3 Lys-9 demarcates distinct regions of silent chromatin. J. Biol. Chem. *281*, 12760–12766.
Sing, A., Pannell, D., Karaiskakis, A., Sturgeon, K., Djabali, M., Ellis, J., Lipshitz, H.D., and Cordes, S.P. (2009). A vertebrate Polycomb response element governs segmentation of the posterior hindbrain. Cell *138*, 885–897.
Sistayanarain, A., Tsuneyama, K., Zheng, H., Takahashi, H., Nomoto, K., Cheng, C., Murai, Y., Tanaka, A., and Takano, Y. (2006). Expression of Aurora-B kinase and phosphorylated histone H3 in hepatocellular carcinoma. Anticancer Res. *26*, 3585–3593.
Smith, E.R., Lee, M.G., Winter, B., Droz, N.M., Eissenberg, J.C., Shiekhattar, R., and Shilatifard, A. (2008). Drosophila UTX is a histone H3 Lys27 demethylase that colocalizes with the elongating form of RNA polymerase II. Mol. Cell. Biol. *28*, 1041–1046.
Smulders-Srinivasan, T.K., Szakmary, A., and Lin, H. (2010). A Drosophila Chromatin Factor Interacts With the Piwi-Interacting RNA Mechanism in Niche Cells to Regulate Germline Stem Cell Self-Renewal. Genetics *186*, 573–583.
Souza, P.P., Völkel, P., Trinel, D., Vandamme, J., Rosnoblet, C., Héliot, L., and Angrand, P.-O. (2009). The histone methyltransferase SUV420H2 and Heterochromatin Proteins HP1 interact but show different dynamic behaviours. BMC Cell Biol. *10*, 41.
Stark, C., Breitkreutz, B.-J., Reguly, T., Boucher, L., Breitkreutz, A., and Tyers, M. (2006). BioGRID: a general repository for interaction datasets. Nucleic Acids Res. *34*, D535–539.
Steitz, T.A. (2008). A structural understanding of the dynamic ribosome machine. Nat. Rev. Mol. Cell Biol. *9*, 242–253.
Stelzl, U., Worm, U., Lalowski, M., Haenig, C., Brembeck, F.H., Goehler, H., Stroedicke, M., Zenkner, M., Schoenherr, A., Koeppen, S., et al. (2005). A human protein-protein interaction network: a resource for annotating the proteome. Cell *122*, 957–968.
Strahl, B.D., and Allis, C.D. (2000). The language of covalent histone modifications. Nature *403*, 41–45.
Strezoska, Z., Pestov, D.G., and Lau, L.F. (2002). Functional inactivation of the mouse nucleolar protein Bop1 inhibits multiple steps in pre-rRNA processing and blocks cell cycle progression. J. Biol. Chem. *277*, 29617–29625.
Sugiyama, K., Sugiura, K., Hara, T., Sugimoto, K., Shima, H., Honda, K., Furukawa, K., Yamashita, S., and Urano, T. (2002). Aurora-B associated protein phosphatases as negative regulators of kinase activation. Oncogene *21*, 3103–3111.
Sun, X.-X., Wang, Y.-G., Xirodimas, D.P., and Dai, M.-S. (2010). Perturbation of 60 S ribosomal biogenesis results in ribosomal protein L5- and L11-dependent p53 activation. J. Biol. Chem. *285*, 25812–25821.
Sural, T.H., Peng, S., Li, B., Workman, J.L., Park, P.J., and Kuroda, M.I. (2008). The MSL3 chromodomain directs a key targeting step for dosage compensation of the Drosophila melanogaster X chromosome. Nat. Struct. Mol. Biol. *15*, 1318–1325.
Surovtseva, Y.V., Shutt, T.E., Cotney, J., Cimen, H., Chen, S.Y., Koc, E.C., and Shadel, G.S. (2011). Mitochondrial Ribosomal Protein L12 selectively associates with human mitochondrial RNA polymerase to activate transcription. Proceedings of the National Academy of Sciences *108*, 17921 –17926.
Tajul-Arifin, K., Teasdale, R., Ravasi, T., Hume, D.A., and Mattick, J.S. (2003). Identification and analysis of chromodomain-containing proteins encoded in the mouse transcriptome. Genome Res. *13*, 1416–1429.
Takahashi, J., Fujigasaki, H., Iwabuchi, K., Bruni, A.C., Uchihara, T., El Hachimi, K.H., Stevanin, G., Dürr, A., Lebre, A.S., Trottier, Y., et al. (2003). PML nuclear bodies and neuronal intranuclear inclusion in polyglutamine diseases. Neurobiol. Dis. *13*, 230–237.

Tamkun, J.W., Deuring, R., Scott, M.P., Kissinger, M., Pattatucci, A.M., Kaufman, T.C., and Kennison, J.A. (1992). brahma: a regulator of Drosophila homeotic genes structurally related to the yeast transcriptional activator SNF2/SWI2. Cell *68*, 561–572.

Tan, M., Luo, H., Lee, S., Jin, F., Yang, J.S., Montellier, E., Buchou, T., Cheng, Z., Rousseaux, S., Rajagopal, N., et al. (2011). Identification of 67 histone marks and histone lysine crotonylation as a new type of histone modification. Cell *146*, 1016–1028.

Tanaka, Y., Katagiri, Z.-I., Kawahashi, K., Kioussis, D., and Kitajima, S. (2007). Trithorax-group protein ASH1 methylates histone H3 lysine 36. Gene *397*, 161–168.

Tang, L., Nogales, E., and Ciferri, C. (2010). Structure and function of SWI/SNF chromatin remodeling complexes and mechanistic implications for transcription. Prog. Biophys. Mol. Biol. *102*, 122–128.

Tan-Wong, S.M., Wijayatilake, H.D., and Proudfoot, N.J. (2009). Gene loops function to maintain transcriptional memory through interaction with the nuclear pore complex. Genes & Development *23*, 2610–2624.

Tasheva, E.S., and Roufa, D.J. (1995). Regulation of human RPS14 transcription by intronic antisense RNAs and ribosomal protein S14. Genes Dev. *9*, 304–316.

Taverna, S.D., Li, H., Ruthenburg, A.J., Allis, C.D., and Patel, D.J. (2007). How chromatin-binding modules interpret histone modifications: lessons from professional pocket pickers. Nat. Struct. Mol. Biol. *14*, 1025–1040.

Tie, F., Banerjee, R., Stratton, C.A., Prasad-Sinha, J., Stepanik, V., Zlobin, A., Diaz, M.O., Scacheri, P.C., and Harte, P.J. (2009). CBP-mediated acetylation of histone H3 lysine 27 antagonizes Drosophila Polycomb silencing. Development *136*, 3131–3141.

Tu, W.-Y., Huang, Y.-C., Liu, L.-F., Chang, L.-H., and Tam, M.F. (2011). Rpl12p affects the transcription of the PHO pathway high-affinity inorganic phosphate transporters and repressible phosphatases. Yeast *28*, 481–493.

Vaquero, A., Scher, M., Lee, D., Erdjument-Bromage, H., Tempst, P., and Reinberg, D. (2004). Human SirT1 interacts with histone H1 and promotes formation of facultative heterochromatin. Mol. Cell *16*, 93–105.

Varier, R.A., Outchkourov, N.S., de Graaf, P., van Schaik, F.M.A., Ensing, H.J.L., Wang, F., Higgins, J.M.G., Kops, G.J.P.L., and Timmers, H.T.M. (2010). A phospho/methyl switch at histone H3 regulates TFIID association with mitotic chromosomes. Embo J. *29*, 3967–3978.

Venema, J., and Tollervey, D. (1999). Ribosome synthesis in Saccharomyces cerevisiae. Annu. Rev. Genet. *33*, 261–311.

Verdel, A., Vavasseur, A., Le Gorrec, M., and Touat-Todeschini, L. (2009). Common themes in siRNA-mediated epigenetic silencing pathways. Int. J. Dev. Biol. *53*, 245–257.

Wahl, M.C., and Möller, W. (2002). Structure and function of the acidic ribosomal stalk proteins. Curr. Protein Pept. Sci. *3*, 93–106.

Wan, F., Anderson, D.E., Barnitz, R.A., Snow, A., Bidere, N., Zheng, L., Hegde, V., Lam, L.T., Staudt, L.M., Levens, D., et al. (2007). Ribosomal protein S3: a KH domain subunit in NF-kappaB complexes that mediates selective gene regulation. Cell *131*, 927–939.

Wang, C., Cai, W., Li, Y., Deng, H., Bao, X., Girton, J., Johansen, J., and Johansen, K.M. (2011). The epigenetic H3S10 phosphorylation mark is required for counteracting heterochromatic spreading and gene silencing in Drosophila melanogaster. J. Cell. Sci. *124*, 4309–4317.

Warner, J.R., and McIntosh, K.B. (2009). How Common Are Extraribosomal Functions of Ribosomal Proteins? Molecular Cell *34*, 3–11.

Waterland, R.A., Travisano, M., Tahiliani, K.G., Rached, M.T., and Mirza, S. (2008). Methyl donor supplementation prevents transgenerational amplification of obesity. International Journal of Obesity *32*, 1373–1379.

Webb, K.J., Lipson, R.S., Al-Hadid, Q., Whitelegge, J.P., and Clarke, S.G. (2010). Identification of protein N-terminal methyltransferases in yeast and humans. Biochemistry *49*, 5225–5235.

Weiler, K.S., and Wakimoto, B.T. (1995). Heterochromatin and gene expression in Drosophila. Annu. Rev. Genet. *29*, 577–605.

Wen, Y., and Shatkin, A.J. (1999). Transcription elongation factor hSPT5 stimulates mRNA capping. Genes Dev. *13*, 1774–1779.
Werner, F. (2012). A nexus for gene expression-molecular mechanisms of Spt5 and NusG in the three domains of life. J. Mol. Biol. *417*, 13–27.
Wessler, S.R. (2006). Transposable elements and the evolution of eukaryotic genomes. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. *103*, 17600–17601.
Wheeler, B.S., Ruderman, B.T., Willard, H.F., and Scott, K.C. (2011). Uncoupling of Genomic and Epigenetic Signals in the Maintenance and Inheritance of Heterochromatin Domains in Fission Yeast. Genetics *190*, 549–557.
White, R.J. (2011). Transcription by RNA polymerase III: more complex than we thought. Nat. Rev. Genet. *12*, 459–463.
Wiles, A.M., Doderer, M., Ruan, J., Gu, T.-T., Ravi, D., Blackman, B., and Bishop, A.J.R. (2010). Building and analyzing protein interactome networks by cross-species comparisons. BMC Syst Biol *4*, 36.
Will, C.L., and Lührmann, R. (2011). Spliceosome structure and function. Cold Spring Harb Perspect Biol *3*,.
Winston, F., and Carlson, M. (1992). Yeast SNF/SWI transcriptional activators and the SPT/SIN chromatin connection. Trends in Genetics *8*, 387–391.
Winter, S., Fischle, W., and Seiser, C. (2008a). Modulation of 14-3-3 interaction with phosphorylated histone H3 by combinatorial modification patterns. Cell Cycle (Georgetown, Tex.) *7*, 1336.
Winter, S., Simboeck, E., Fischle, W., Zupkovitz, G., Dohnal, I., Mechtler, K., Ammerer, G., and Seiser, C. (2008b). 14-3-3 proteins recognize a histone code at histone H3 and are required for transcriptional activation. Embo J. *27*, 88–99.
Wissmann, M., Yin, N., Müller, J.M., Greschik, H., Fodor, B.D., Jenuwein, T., Vogler, C., Schneider, R., Günther, T., Buettner, R., et al. (2007). Cooperative demethylation by JMJD2C and LSD1 promotes androgen receptor-dependent gene expression. Nat. Cell Biol. *9*, 347–353.
Wojtowicz, W.M., Flanagan, J.J., Millard, S.S., Zipursky, S.L., and Clemens, J.C. (2004). Alternative splicing of Drosophila Dscam generates axon guidance receptors that exhibit isoform-specific homophilic binding. Cell *118*, 619–633.
Wolf, J.B., and Wade, M.J. (2009). What are maternal effects (and what are they not)? Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences *364*, 1107.
Wolffe, A.P., and Hayes, J.J. (1999). Chromatin disruption and modification. Nucleic Acids Res. *27*, 711–720.
Wool, I.G., Chan, Y.L., Glück, A., and Suzuki, K. (1991). The primary structure of rat ribosomal proteins P0, P1, and P2 and a proposal for a uniform nomenclature for mammalian and yeast ribosomal proteins. Biochimie *73*, 861–870.
Xiang, Y., Zhu, Z., Han, G., Lin, H., Xu, L., and Chen, C.D. (2007). JMJD3 is a histone H3K27 demethylase. Cell Res. *17*, 850–857.
Xiong, X., Zhao, Y., He, H., and Sun, Y. (2011). Ribosomal protein S27-like and S27 interplay with p53-MDM2 axis as a target, a substrate and a regulator. Oncogene *30*, 1798–1811.
Yamaguchi, Y., Narita, T., Inukai, N., Wada, T., and Handa, H. (2001). SPT genes: key players in the regulation of transcription, chromatin structure and other cellular processes. J. Biochem. *129*, 185–191.
Yang, X.-J., and Seto, E. (2008). Lysine acetylation: codified crosstalk with other posttranslational modifications. Mol. Cell *31*, 449–461.
Yap, K.L., Li, S., Muñoz-Cabello, A.M., Raguz, S., Zeng, L., Mujtaba, S., Gil, J., Walsh, M.J., and Zhou, M.-M. (2010). Molecular interplay of the noncoding RNA ANRIL and methylated histone H3 lysine 27 by polycomb CBX7 in transcriptional silencing of INK4a. Mol. Cell *38*, 662–674.
Yap, K.L., and Zhou, M.-M. (2010). Keeping it in the family: diverse histone recognition by conserved structural folds. Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol. *45*, 488–505.

Yap, K.L., and Zhou, M.-M. (2011). Structure and mechanisms of lysine methylation recognition by the chromodomain in gene transcription. Biochemistry *50*, 1966–1980.
Yin, H., Sweeney, S., Raha, D., Snyder, M., and Lin, H. (2011). A high-resolution whole-genome map of key chromatin modifications in the adult Drosophila melanogaster. PLoS Genet. *7*, e1002380.
Yuan, G., and Zhu, B. (2012). Histone variants and epigenetic inheritance. Biochimica Et Biophysica Acta (BBA) - Gene Regulatory Mechanisms *1819*, 222–229.
Yuan, W., Xu, M., Huang, C., Liu, N., Chen, S., and Zhu, B. (2011). H3K36 methylation antagonizes PRC2-mediated H3K27 methylation. J. Biol. Chem. *286*, 7983–7989.
Zaidi, S.K., Young, D.W., Montecino, M.A., Lian, J.B., van Wijnen, A.J., Stein, J.L., and Stein, G.S. (2010). Mitotic bookmarking of genes: a novel dimension to epigenetic control. Nature Reviews Genetics *11*, 583–589.
Zawel, L., Kumar, K.P., and Reinberg, D. (1995). Recycling of the general transcription factors during RNA polymerase II transcription. Genes Dev. *9*, 1479–1490.
Zeitlinger, J., Stark, A., Kellis, M., Hong, J.-W., Nechaev, S., Adelman, K., Levine, M., and Young, R.A. (2007). RNA polymerase stalling at developmental control genes in the Drosophila melanogaster embryo. Nat. Genet. *39*, 1512–1516.
Zhai, Y., and Fallon, A.M. (2005). PCR cloning of a histone H1 gene from Anopheles stephensi mosquito cells: comparison of the protein sequence with histone H1-like, C-terminal extensions on mosquito ribosomal protein S6. BMC Genomics *6*, 8.
Zhang, P., Du, J., Sun, B., Dong, X., Xu, G., Zhou, J., Huang, Q., Liu, Q., Hao, Q., and Ding, J. (2006a). Structure of human MRG15 chromo domain and its binding to Lys36-methylated histone H3. Nucleic Acids Res. *34*, 6621–6628.
Zhang, P., Zhao, J., Wang, B., Du, J., Lu, Y., Chen, J., and Ding, J. (2006b). The MRG domain of human MRG15 uses a shallow hydrophobic pocket to interact with the N-terminal region of PAM14. Protein Sci. *15*, 2423–2434.
Zhang, S., Rattanatray, L., McMillen, I.C., Suter, C.M., and Morrison, J.L. (2011). Periconceptional nutrition and the early programming of a life of obesity or adversity. Prog. Biophys. Mol. Biol. *106*, 307–314.
Zhang, X., Wen, H., and Shi, X. (2012). Lysine methylation: beyond histones. Acta Biochim. Biophys. Sin. (Shanghai) *44*, 14–27.
Zhang, Y., Wang, J., Yuan, Y., Zhang, W., Guan, W., Wu, Z., Jin, C., Chen, H., Zhang, L., Yang, X., et al. (2010). Negative regulation of HDM2 to attenuate p53 degradation by ribosomal protein L26. Nucleic Acids Res. *38*, 6544–6554.
Zhou, X., Hao, Q., Liao, J., Zhang, Q., and Lu, H. (2012). Ribosomal protein S14 unties the MDM2-p53 loop upon ribosomal stress. Oncogene.
Zhu, B., Zheng, Y., Pham, A.-D., Mandal, S.S., Erdjument-Bromage, H., Tempst, P., and Reinberg, D. (2005). Monoubiquitination of human histone H2B: the factors involved and their roles in HOX gene regulation. Mol. Cell *20*, 601–611.
Zhu, P., Zhou, W., Wang, J., Puc, J., Ohgi, K.A., Erdjument-Bromage, H., Tempst, P., Glass, C.K., and Rosenfeld, M.G. (2007). A histone H2A deubiquitinase complex coordinating histone acetylation and H1 dissociation in transcriptional regulation. Mol. Cell *27*, 609–621.
Zhu, Y., Poyurovsky, M.V., Li, Y., Biderman, L., Stahl, J., Jacq, X., and Prives, C. (2009). Ribosomal protein S7 is both a regulator and a substrate of MDM2. Mol. Cell *35*, 316–326.

ANNEXES

Contenu des Annexes

Annexe 1 : RNA polymerase II holoenzyme components in *S. cerevisiae*.....

Annexe 2 : Conservation des familles de remodeleurs de la chromatine de la levure à l'humain. .....

Annexe 3 : Nouvelle nomenclature des enzymes de modification de la chromatine.....

Annexe 4 : Tableau 1 de la revue « Readers of histone modifications » .....

Annexe 5 : Tableau des complexes Polycomb, Trithorax et de leurs recruteurs..

Annexe 6 : Figures et tables supplémentaires de l'Article. .....

Annexe 7 : Liste de publications antérieures à la thèse. .....

Annexe 8 : Principe de méthodes utilisées .....

Annexe 1 : RNA polymerase II holoenzyme components in *S. cerevisiae*

adapté de Myers et Young, 1998

Factor	Gene	Subunit	Essential ?	Features	Refs.
		kDa			
RNA polymerase II	*RPB1*	192	Y	Heptapeptide repeat	71, 72, 73
	RPB2	139	Y		74
	RPB3	35	Y		75
	RPB4	25	N		76
	RPB5	25	Y	Shared with PolI, II, III	77
	RPB6	18	Y	Shared with PolI, II, III	77, 78
	RPB7	19	Y		79
	RPB8	17	Y	Shared with PolI, II, III	77
	RPB9	14	N		80
	RPB10	8	Y	Shared with PolI, II, III	81
	RPB11	14	Y		82
	RPB12	8	Y	Shared with PolI, II, III	83
TFIIH	*TFB1*	73	Y	Nucleotide excision repair	84
	TFB2	59	Y	Nucleotide excision repair	85
	TFB3	32	Y	Nucleotide excision repair	85
	TFB4	37	Y		85
	RAD3	90	Y	DNA helicase	86
	SSL1	52	Y	Nucleotide excision repair	86
	SSL2/RAD25	95	Y	DNA helicase	87
	KIN28	35	Y	Cyclin-dependent CTD kinase	88
	CCL1	45	Y	Kin28 cyclin partner	89
TFIIE	*TFA1*	55	Y		90
	TFA2	37	Y		90
TFIIF	*SSU1/TFG1*	82	Y		91
	TFG2	47	Y		91
	ANC1/TFG3	27	N		91
TFIIB	*SUA7*	38	Y		92
Srbs	*SRB2*	23	N		1, 2, 4, 8, 30, 35
	SRB4	78	Y		1, 4, 8, 35
	SRB5	34	N		1, 4, 8, 35
	SRB6	14	Y		1, 4, 8, 35
	SRB7	16	Y		36
	SRB8	166	N		36
	SRB9	160	N		36
	SRB10	63	N	Cyclin-dependent CTD kinase	55, 60
	SRB11	38	N	Srb10 cyclin partner	55, 60
Meds	*MED1*	64	N		29
	MED2	48	N		29
	MED4	32	Y		29
	MED6	33	Y		29, 39
	MED7	26	Y		29
	MED8	25	Y		29
Gal11	*GAL11*	120	N		54, 93
Rgr1	*RGR1*	123	Y		54
Sin4	*SIN4*	111	N		54
Pgd1	*PGD1*	47	N		29, 46
Rox3	*ROX3*	25	Y		94
Swi/Snf	*SWI1*	148	N		63, 64
	SWI2/SNF2	194	N	DNA-dependent ATPase	63, 64
	SWI3	93	N		63, 64
	SNF5	103	N		63, 64
	SNF6	38	N		63, 64
	SNF11	19	N		65
	SWp59p	~59	?		63, 64
	SWp61p	~61	?		63, 64
	SNF12/SWp73p	64	N		95
	SWp82p	~82	?		63, 64
	ANC1/TFG3	27	N		96

1. Koleske, A. J., and Young, R. A. (1994) *Nature* **368,** 466–469
2. Nonet, M. L., and Young, R. A. (1989) *Genetics* **123,** 715–724
4. Kim, Y.-J., Bjorklund, S., Li, Y., Sayre, M. H., and Kornberg, R. D. (1994) *Cell* **77,** 599–608
8. Thompson, C. M., Koleske, A. J., Chao, D. M., and Young, R. A. (1993) *Cell* **73,** 1361–1375
29. Myers, L. C., Gustafsson, C. M., Bushnell, D. A., Lui, M., Erdjument-Bromage, H., Tempst, P., and Kornberg, R. D. (1998) *Genes Dev.* **12,** 45–54
30. Koleske, A. J., Buratowski, S., Nonet, M., and Young, R. A. (1992) *Cell* **69,** 883–894
35. Koh, S. S., Ansari, A. Z., Ptashne, M., and Young, R. A. (1998) *Mol. Cell* **1,** 895–904
36. Hengartner, C. J., Thompson, C. M., Zhang, J., Chao, D. M., Liao, S.-M., Koleske, A. J., Okamura, S., and Young, R. A. (1995) *Genes Dev.* **9,** 897–910
39. Lee, Y. C., Min, S., Gim, B. S., and Kim, Y. J. (1997) *Mol. Cell. Biol.* **17,** 4622–4632
46. Piruat, J. I., Chavez, S., and Aguilera, A. (1997) *Genetics* **147,** 1585–1594
54. Li, Y., Bjorklund, S., Jiang, Y.-W., Kim, Y.-J., Lane, W. S., Stillman, D. J., and Kornberg, R. D. (1995) *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **92,** 10864–10868
55. Liao, S.-M., Zhang, J., Jeffery, D. A., Koleske, A. J., Thompson, C. M., Chao, D. M., Viljoen, M., van Vuuren, H. J. J., and Young, R. A. (1995) *Nature* **374,** 193–196
60. Hengartner, C. J., Myer, V. E., Liao, S. M., Wilson, C. J., Koh, S. S., and Young, R. A. (1998) *Mol. Cell* **2,** 43–53
63. Treich, I., Cairns, B. R., de los Santos, T., Brewster, E., and Carlson, M. (1995) *Mol. Cell. Biol.* **15,** 4240–4248
64. Winston, F., and Carlson, M. (1992) *Trends & Genet.* **8,** 387–391
65. Peterson, C. L., and Tamkun, J. W. (1995) *Trends Biochem. Sci.* **20,** 143–146
71. Young, R. A., and Davis, R. W. (1983) *Science* **222,** 778–782
72. Ingles, C. J., Himmelfarb, H. J., Shales, M., Greenleaf, A. L., and Friesen, J. D. (1984) *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **81,** 2157–2161
73. Allison, L. A., Moyle, M., Shales, M., and Ingles, C. J. (1985) *Cell* **42,** 599–610
74. Sweetser, D., Nonet, M., and Young, R. A. (1987) *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **84,** 1192–1196
75. Kolodziej, P., and Young, R. A. (1989) *Mol. Cell. Biol.* **9,** 5387–5394
76. Woychik, N. A., and Young, R. A. (1989) *Mol. Cell. Biol.* **9,** 2854–2859
77. Woychik, N. A., Liao, S. M., Kolodziej, P. A., and Young, R. A. (1990) *Genes Dev.* **4,** 313–323
78. Woychik, N. A., and Young, R. A. (1992) *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **89,** 3999–4003
79. McKune, K., Richards, K. L., Edwards, A. M., Young, R. A., and Woychik, N. A. (1993) *Yeast* **9,** 295–299
80. Woychik, N. A., Lane, W. S., and Young, R. A. (1991) *J. Biol. Chem.* **266,** 19053–19055
81. Woychik, N. A., and Young, R. A. (1990) *J. Biol. Chem.* **265,** 17816–17819
82. Woychik, N. A., McKune, K., Lane, W. S., and Young, R. A. (1993) *Gene Expr.* **3,** 77–82
83. Treich, I., Carles, C., Riva, M., and Sentenac, A. (1992) *Gene Expr.* **2,** 31–37
84. Gileadi, O., Feaver, W. J., and Kornberg, R. D. (1992) *Science* **257,** 1389–1392
85. Feaver, W. J., Henry, N. L., Wang, Z., Wu, X., Svejstrup, J. Q., Bushnell, D. A., Friedberg, E. C., and Kornberg, R. D. (1997) *J. Biol. Chem.* **272,** 19319–19327
86. Feaver, W. J., Svejstrup, J. Q., Bardwell, L., Bardwell, A. J., Buratowski, S., Gulyas, K. D., Donahue, T. F., Friedberg, E. C., and Kornberg, R. D. (1993) *Cell* **75,** 1379–1387
87. Svejstrup, J. Q., Wang, Z., Feaver, W. J., Wu, X., Bushnell, D. A., Donahue, T. F., Friedberg, E. C., and Kornberg, R. D. (1995) *Cell* **80,** 21–28
88. Feaver, W. J., Svejstrup, J. Q., Henry, N. L., and Kornberg, R. D. (1994) *Cell* **79,** 1103–1109
89. Svejstrup, J. Q., and Feaver, W. J. (1996) *J. Biol. Chem.* **271,** 643–645
90. Feaver, W. J., Henry, N. L., Bushnell, D. A., Sayre, M. H., Brickner, J. H., Gileadi, O., and Kornberg, R. D. (1994) *J. Biol. Chem.* **269,** 27549–27553
91. Henry, N. L., Campbell, A. M., Feaver, W. J., Poon, D., Weil, P. A., and Kornberg, R. D. (1994) *Genes Dev.* **8,** 2868–2878
92. Pinto, I., Ware, D. E., and Hampsey, M. (1992) *Cell* **68,** 977–988
93. Barberis, A., Pearlberg, J., Simkovich, N., Farrell, S., Reinagel, P., Bamdad, C., Sigal, G., and Ptashne, M. (1995) *Cell* **81,** 359–368
94. Gustafsson, C. M., Myers, L. C., Li, Y., Redd, M. J., Lui, M., Erdjument-Bromage, H., Tempst, P., and Kornberg, R. D. (1997) *J. Biol. Chem.* **272,** 48–50
95. Cairns, B. R., Levinson, R. S., Yamamoto, K. R., and Kornberg, R. D. (1996) *Genes Dev.* **10,** 2131–2144
96. Cairns, B. R., Henry, N. L., and Kornberg, R. D. (1996) *Mol. Cell. Biol.* **16,**

Annexe 2 : Conservation des familles de remodeleurs de la chromatine de la levure à l'humain.

Tiré de Clapier et Cairns, 2009

Family and composition		Organisms								
		Yeast			Fly			Human		
SWI/SNF	Complex	SWI/SNF		RSC	BAP	PBAP		BAF		PBAF
	ATPase	Swi2/Snf2		Sth1	BRM/Brahma			hBRM or BRG1		BRG1
	Noncatalytic homologous subunits	Swi1/Adr6			OSA/eyelid			BAF250/hOSA1		
						Polybromo BAP170				BAF180 BAF200
		Swi3		Rsc8/Swh3	MOR/BAP155			BAF155, BAF170		
		Swp73		Rsc6	BAP60			BAF60a or b or c		
		Snf5		Sfh1	SNR1/BAP45			hSNF5/BAF47/INI1		
					BAP111/dalao			BAF57		
		Arp7, Arp9			BAP55 or BAP47			BAF53a or b		
					Actin			β-actin		
	Unique	[a]		[b]						
ISWI	Complex	ISW1a	ISW1b	ISW2	NURF	CHRAC	ACF	NURF	CHRAC	ACF
	ATPase	Isw1		Isw2	ISWI			SNF2L	SNF2H[c]	
	Noncatalytic homologous subunits			Itc1	NURF301	ACF1		BPTF	hACF1/WCRF180	
						CHRAC14			hCHRAC17	
						CHRAC16			hCHRAC15	
					NURF55/p55			RbAp46 or 48		
	Unique	Ioc3	Ioc2, Ioc4		NURF38					
CHD	Complex	CHD1			CHD1	Mi-2/NuRD		CHD1	NuRD	
	ATPase	Chd1			dCHD1	dMi-2		CHD1	Mi-2α/CHD3, Mi-2β/CHD4	
	Noncatalytic homologous subunits					dMBD2/3			MBD3	
						dMTA			MTA1,2,3	
						dRPD3			HDAC1,2	
						p55			RbAp46 or 48	
						p66/68			p66α,β	
	Unique								DOC-1?	
INO80	Complex	INO80		SWR1	Pho-dINO80	Tip60		INO80	SRCAP	TRRAP/Tip60
	ATPase	Ino80		Swr1	dIno80	Domino		hIno80	SRCAP	p400
	Noncatalytic homologous subunits	Rvb1,2			Reptin, Pontin			RUVBL1,2/Tip49a,b		
		Arp5,8		Arp6	dArp5,8	BAP55		BAF53a		
		Arp4, Actin1			dActin1	Actin87E		Arp5,8	Arp6	Actin
		Taf14		Yaf9		dGAS41			GAS41	
		Ies2,6						hIes2,6		
				Swc4/Eaf2		dDMAP1			DMAP1	
				Swc2/Vps72		dYL-1			YL-1	
				Bdf1		dBrd8				Brd8/TRC/p120
				H2AZ,H2B		H2Av,H2B			H2AZ,H2B	
				Swc6/Vps71					ZnF-HIT1	
						dTra1				TRRAP
						dTip60				Tip60
						dMRG15				MRG15 MRGX
						dEaf6				FLJ11730
						dMRGBP				MRGBP
						E(Pc)				EPC1, EPC-like
						dING3				ING3
	Unique	Ies1,Ies3-5,Nhp10		Swc3,5,7	Pho			[d]		

[a]Swp82, Taf14, Snf6, Snf11.

[b]Rsc1 or Rsc2, Rsc3-5, 7, 9, 10, 30, Htl1, Ldb7, Rtt102.

[c]In addition, SNF2H associates respectively with Tip5, RSF1, and WSTF to form **NoRC**, **RSF**, and **WICH** remodelers.

[d]Amida, NFRKB, MCRS1, UCH37, FLJ90652, FLJ20309.

Annexe 3 : Nouvelle nomenclature des enzymes de modification de la chromatine.

Par Allis et al, 2007

(1) Lysines-Déméthylases (KDM anciennement Lysine Déméthylases)

New Name	Human	*D. melanogaster*	*S. cerevisiae*	*S. pombe*	Substrate Specificity	Function
KDM1	LSD1/BHC110	Su(var)3-3		SpLsd1/Swm1/ Saf110	H3K4me1/2, H3K9me1/2	Transcription activation and repression, hetero-chromatin formation
KDM2			Jhd1		H3K36me1/2	Transcription elongation
KDM2A	JHDM1a/FBXL11				H3K36me1/2	
KDM2B	JHDM1b/FBXL10				H3K36me1/2	
KDM3A	JHDM2a				H3K9me1/2	Androgen receptor gene ac-tivation, spermatogenesis
KDM3B	JHDM2b				H3K9me	
KDM4			Rph1		H3K9/ K36me2/3	Transcription elongation
KDM4A	JMJD2A/JHDM3A				H3K9/ K36me2/3	Transcription repression, genome integrity
KDM4B	JMJD2B				H3K9/ H3K36me2/3	Heterochromatin formation
KDM4C	JMJD2C/GASC1				H3K9/ K36me2/3	Putative oncogene
KDM4D	JMJD2D				H3K9me2/3	
KDM5		Lid	Jhd2	Jmj2	H3K4me2/3	
KDM5A	JARID1A/RBP2				H3K4me2/3	Retinoblastoma-interacting protein
KDM5B	JARID1B/PLU-1				H3K4me1/2/3	Transcription repression
KDM5C	JARID1C/SMCX				H3K4me2/3	X-linked mental retardation
KDM5D	JARID1D/SMCY				H3K4me2/3	Male-specific antigen
KDM6A	UTX				H3K27me2/3	Transcription activation
KDM6B	JMJD3				H3K27me2/3	Transcription activation

(2) Lysines-Acétyltransférases (KATs; anciennement Acétyltransférases)

New Name	Human	*D. melanogaster*	*S. cerevisiae*	*S. pombe*	Substrate Specificity	Function
KAT1	HAT1	CG2051	Hat1	Hat1/ Hag603	H4 (5, 12)	Histone deposition, DNA repair
KAT2		dGCN5/PCAF	Gcn5	Gcn5	H3 (9, 14, 18, 23, 36)/ H2B; yHtzl (14)	Transcription activation, DNA repair
KAT2A	hGCN5				H3 (9, 14, 18)/H2B	Transcription activation
KAT2B	PCAF				H3 (9, 14, 18)/H2B	Transcription activation
KAT3		dCBP/NEJ			H4 (5, 8); H3 (14, 18)	Transcription activation, DNA repair
KAT3A	CBP				H2A (5); H2B (12, 15)	Transcription activation
KAT3B	P300				H2A (5); H2B (12, 15)	Transcription activation
KAT4	TAF1	dTAF1	Taf1	Taf1	H3 > H4	Transcription activation
KAT5	TIP60/PLIP	dTIP60	Esa1	Mst1	H4 (5, 8, 12, 16); H2A (yeast 4, 7; chicken 5, 9, 13, 15); dH2Av/yHtzl (14)	Transcription activation, DNA repair
KAT6		(CG1894)	Sas3	(Mst2)	H3 (14, 23)	Transcription activation and elongation, DNA replication
KAT6A	MOZ/MYST3	ENOK			H3 (14)	Transcription activation
KAT6B	MORF/MYST4				H3 (14)	Transcription activation
KAT7	HBO1/MYST2	CHM		(Mst2)	H4 (5, 8, 12) > H3	Transcription, DNA replication
KAT8	HMOF/MYST1	dMOF (CG1894)	Sas2	(Mst2)	H4 (16)	Chromatin boundaries, dosage compensation, DNA repair
KAT9	ELP3	dELP3/ CG15433	Elp3	Elp3	H3	
KAT10			Hap2		H3 (14); H4	
KAT11			Rtt109		H3 (56)	Genome stability, transcription elongation
KAT12	TFIIIC90				H3 (9, 14, 18)	Pol III transcription
KAT13A	SRC1				H3/H4	Transcription activation
KAT13B	ACTR				H3/H4	Transcription activation
KAT13C	P160				H3/H4	Transcription activation
KAT13D	CLOCK				H3/H4	Transcription activation

3 Lysines-Méthyltransférases (KMTs; anciennement Lysine Méthyltransférases)

New Name	Human	*D. melanogaster*	*S. cerevisiae*	*S. pombe*	Substrate Specificity	Function
KMT1		Su(Var)3-9		Clr4	H3K9	Heterochromatin formation/silencing
KMT1A	SUV39H1				H3K9	Heterochromatin formation/silencing
KMT1B	SUV39H2				H3K9	Heterochromatin formation/silencing
KMT1C	G9a				H3K9	Heterochromatin formation/silencing
KMT1D	EuHMTase/GLP				H3K9	Heterochromatin formation/silencing
KMT1E	ESET/SETDB1				H3K9	Transcription repression
KMT1F	CLL8					
KMT2			Set1	Set1	H3K4	Transcription activation
KMT2A	MLL1	Trx			H3K4	Transcription activation
KMT2B	MLL2	Trx			H3K4	Transcription activation
KMT2C	MLL3	Trr			H3K4	Transcription activation
KMT2D	MLL4	Trr			H3K4	Transcription activation
KMT2E	MLL5				H3K4	Transcription activation
KMT2F	hSET1A				H3K4	Transcription activation
KMT2G	hSET1B				H3K4	Transcription activation
KMT2H	ASH1	Ash1			H3K4	Transcription activation
KMT3			Set2	Set2	H3K36	Transcription activation
KMT3A	SET2				H3K36	Transcription activation
KMT3B	NSD1				H3K36	
KMT3C	SYMD2				H3K36 (p53)	Transcription activation
KMT4	DOT1L		Dot1		H3K79	Transcription activation
KMT5				Set9	H4K20	DNA-damage response
KMT5A	Pr-SET7/8	PR-set7			H4K20	Transcription repression
KMT5B	SUV4-20H1	Suv4-20			H4K20	DNA-damage response
KMT5C	SUV4-20H2					
KMT6	EZH2	E(Z)			H3K27	Polycomb silencing
KMT7	SET7/9				H3K4 (p53 and TAF10)	
KMT8	RIZ1				H3K9	Transcription repression

Annexe 4 : Tableau 1 de la revue « Readers of histone modifications »

par Yun et al, 2011

PTMs	Position		Recognition Module(s)	Protein	Related Modifications		Functions	3D	References*
					Enhanced by	Inhibited by			
Lysine Methylation	H3	K4me0	PHD	BHC80			LSD1.com	Y	[24]
				AIRE		H3R2me	Autoimmune regulator	Y	[5, 36]
			WD40	WDR5/WDR9			HAT	Y	[44, 53]
			ADD	Dnmt3L		K4me	DNA methylation	Y	[35]
		K4me	Chromo	CHD1			ATPase	Y	[13, 41]
			PHD	RAG2			Recombination		[28]
				ING2			HDAC	Y	[40]
				BPTF	H3K9Ac, H3K14Ac		ATPase	Y	[47, 54]
				TAF3	H3K9Ac, H3K14Ac	H3R2me2	TFIID	Y	[47–48]
				PHF2			H3K9 demethylation		[52]
				ING4			HBO1.com, H3 acetylation		[17]
				YNG1			NuA3, histone acetylation		[43]
				PHF8	H3K9Ac, H3K14Ac		Histone demethylation		[22, 47]
			Tudor	JMJD2A			Histone demethylase		[16]
				JMJD2C			Histone demethylase		[3]
				Sgf29	H3K9Ac, H3K14Ac		Histone acetylation (SAGA)		[47]
			MBT	PHF20L1			–		[21]
			Zf-CW	ZCWPW1			Novel PTM reader	Y	[15]
		K9	Chromo	HP1	SU(VAR) Protein	Y41Ph, S10Ph	Heterochromatin	Y	[1, 10, 20, 23, 34]
				CDY1			–		[21]
				CDY, CDYL, CDYL2		S10Ph	Repressor of REST		[11, 33, 47]
			PHD	SMCX			Demethylation		[19]
			Tudor	TDRD7			–		[3]
				UHRF1			–	Y	[39]
			WD40	EED			PRC2 activity	Y	[31]

PTMs	Position		Recognition Module(s)	Protein	Related Modifications		Functions	3D	References*
					Enhanced by	Inhibited by			
				LRWD1			DNA replication (ORC binding)		[47]
			Ankyrin Repeats	G9a/GLP			Methyltransferase	Y	[7]
		K23	Chromo	MPP8			–		[38]
		K27	WD40	EED			PRC mediated repression	Y	[31]
				LRWD1		S28Ph	DNA replication (ORC binding)		[47]
			Chromo	PC			PRC1	Y	[12]
				CDY, CDYL, CDYL2			–		[11]
				CBX7			PRC mediated repression		[59]
				MPP8			–		[3]
		K36	Chromo	Eaf3			Histone deacetylation	Y	[56]
				MSL3			Dosage compensation		[25]
				MRG15			Splicing		[29]
			PWWP	DNMT3A			Guide DNA methylation		[9]
				BRPF1			Histone acetylation (MOZ)	Y	[49]
				NSD1,2,3			Histone methylation		[47]
				MSH-6			DNA mismatch recognition		[47]
				N-PAC			Transcription elongation		[47]
		K79	Tudor	53BP1			DSB response		[18]
	H4	K20	Tudor	53BP1/Crb2			DNA damage repair	Y	[2]
				PHF20			–		[21]
			MBT	PHF20L1			–		[21]
				L(3)MBTL1			Chromatin lock	Y	[45]
				Sfmbt			Polycomb group repression	Y	[14]
			PWWP	Pdp1			Localizes Set9, promotes K20me3		[51]
			WD40	LRWD1			DNA replication (ORC binding)		[47]
	H1	K26	MBT	L(3)MBTL1			Chromatin lock		[45]
			WD40	EED			Inhibits PRC2 methyltransferase		[55]
Arginine Methylation	H3	R2							

PTMs	Position		Recognition Module(s)	Protein	Related Modifications		Functions	3D	References*
					Enhanced by	Inhibited by			
		R17	Tudor	TDRD3			Transcription activation		[58]
		R26							
	H4	R3	Tudor	TDRD3			Transcription activation		[58]
			?	PCAF or p300			H3 acetylation		[27]
			ADD	Dnmt3a					[61]
Phosphorylation	H3	S10	(Gcn5)	Gcn5			Histone acetylation	Y	[6]
			2014-3-3	2014-3-3			Adaptor protein	Y	[30]
				Bmh1, Bmh2		K14Ac	Adaptor protein		[50]
		Y41	–				Exclude HP1α binding		[8]
	H2AX	S139		BRCT repeat		MDC1	Damage repair		[42]
Ubiquitination	H2B	K120/123	?	Cps35			H3K4 methylation		[26, 62]
	H2A	K119	–						
Acetylation	H3	K14	Tandem PHD	DPF3b		K4me	Remodeling (BAF.com)	Y	[60]
			Tandem Bromo	Rsc4			Remodeling	Y	[46]
			Bromo 2	Polybromo			Remodeling (hPBAF.com)		[4]
		K56		Snf5			Gene expression		[57]
	H4	K5,8	Bromo	Brdt			Chromatin compaction	Y	[32]
		K16	Bromo	GCN5			Histone acetylation	Y	[37]

References for Table 1: 1.Nature (2001) V410,120–124; 2.Cell (2006) V127,1361–1373; 3.PLoS One (2009) V4,e6789; 4.Cell Res (2010) V20,529–538; 5.Nucleic Acids Res (2009) V37,2951–2961; 6.Mol Cell (2003) V12,461–473; 7.Nat Struct Mol Biol (2008) V15,245–250; 8.Nature (2009) V461,819–822; 9.J Biol Chem (2010) V285,26114–26120; 10.Mol Cell Biol (2007) V27,453–465; 11.J Biol Chem (2008) V283,19626–19635; 12.Genes Dev (2003) V17,1870–1881; 13.Nature (2005) V438,1181–1185; 14.EMBO J (2009) V28,1965–1977; 15.Structure (2010) V18,1127–1139; 16.Science (2006) V312,748–751; 17.Mol Cell (2009) V33,248–256; 18.Nature (2004) V432,406–411; 19.Cell (2007) V128,1077–1088; 20.Science (2002) V295,2080–2083; 21.EMBO Rep (2006) V7,397–403; 22.Mol Cell (2010) V38,165–178; 23.Nature (2001) V410,116–120; 24.Nature (2007) V448,718–722; 25.Mol Cell (2007) V28,121–133; 26.Cell (2007) V131,1084–1096; 27.Blood (2010) V115,2028–2037; 28.Immunity (2007) V27,561–571; 29.Science (2010) V327,996–1000; 30.Mol Cell (2005) V20,199–211; 31.Nature (2009) V461,762–767; 32.Nature (2009) V461,664–668; 33.Mol Cell (2008) V32,718–726; 34.Nature (2002) V416,103–107; 35.Nature (2007) V448,714–717; 36.EMBO Rep (2008) V9,370–376; 37.EMBO J (2000) V19,6141–6149; 38.Nucleic Acids Res (2010) V38,e11; 39.Nucleic Acids Res (2010) V38,1796–1804; 40.Nature (2006) V442,96–99; 41.J Biol Chem (2005) V280,41789–41792; 42.Cell (2005) V123,1213–1226; 43.Mol Cell (2006) V24,785–796; 44.Nat Struct Mol Biol (2009) V16,678–680; 45.Cell (2007) V129,915–928; 46.Mol Cell (2007) V27,817–828; 47.Cell (2010) V142,967–980; 48.Cell (2007) V131,58–69; 49.Nat Struct Mol Biol (2010) V17,617–619; 50.Mol Cell Biol (2008) V28,2840–2849; 51.Mol Cell (2009) V33,428–437; 52.J Biol Chem (2010) V285,9322–9326; 53.Cell (2005) V121,859–872; 54.Nature (2006) V442,86–90; 55.Proc Natl Acad Sci U S A (2010) V 56.Structure (2008) V16,1740–1750; 57.Cell (2005) V121,375–385; 58.Mol Cell (2010) V40,1016–1023; 59.Mol Cell (2010) V38,662–674; 60.Nature (2010) V466,258–262; 61.Nat Struct Mol Biol (2009) V16,304–311; 62.Mol Cell Biol (2010) V30,3635–3645;

Notes: Y in the "3D" column represents that the corresponding 3-D structure has been solved.

Annexe 5 : Tableau des complexes Polycomb, Trithorax et de leurs recruteurs.

Complexes (*D.m.*)	Protein (*D.m.*)	Homologues (*H.s.*)	Functional domains	Described activity
PhoRC complex				
PhoRC complex (Tetyana Klymenko, 2006)	pleiohomeotic (Pho) (Simon et al., 1992)	YY1	Zn finger, C2H2-type/integrase, DNA-binding	chromatin DNA binding
	pleiohomeotic like (Phol) (Brown et al., 2003)	YY2	Zn finger, C2H2-type/integrase, DNA-binding	sequence-specific DNA binding
	Scm-related gene containing four mbt domains (dSfmbt)	L3MBTL2	Zn finger, Mbt repeat; SAM domain	H4K20me1 binding
PcG complexes				
Polycomb repressive complex2 (PRC2) (Cao et al., 2002)	Enhancer of Zest (E(Z)) (JONES and GELBART, 1990)	EZH1, EZH2	SET, SANT	HMTase H3K27me3
	Extra sex combs (ESC) (Struhl, 1981)	EED	WD40	Acetylated histones recognition
	ESC-Like (ESCL)	?	WD40 repeat	
	Suppressor of Zeste-12 (Su(Z)12) (Birve et al., 2001)	SUZ12	VEFS box, Zn finger	?
	NURF55 (p55)/CAF1 (BULGER et al., 1995)	RBBP4/RbpAp48 RBBP7/RbAp46	WD40	?
PRC2-associated factors	Sex comb on midleg (SCM) (Jürgens, 1985)	SCMH1	SAM, MBT, Zn finger	?
	Polycomblike (Pcl) (Duncan, 1982)	PHF1	Tudor domain, Zinc finger, PHD-finger	
	Rpd3 (Rubertis et al., 1996)	HDAC2	HDAC	HDAC
	Sir2 (Rosenberg and Parkhurst, 2002)	SIRT1	sirtuin family	HDAC
Polycomb repressive complex*1* *(PRC1)* (Saurin et al., 2001)	Polycomb (PC) (Lewis, 1978)	CBX2/HPC1/M33 CBX4/HPC2 CBX8/HPC3/PC3	Chromodomain	H3K27me3 binding
	Polyhomeotic (PHP/PHD) (Dura et al., 1985)	PHC1/EDR1/HPH1 PHC2/EDR2/HPH2 PHC3/EDR3/HPH3	Zn finger, SAM	?
	Posterior sex combs (PSC) (Jürgens, 1985)	BMI1 PCGF2/RNF110/ZFP144 ZNF134	RING *finger*	dRing co-activator
	Sex comb extra (Sce)/dRing (BREEN and DUNCAN, 1986)	RING1/RING1A/RNF1 RNF2/RING1B/RING2	RING *finger*	E3 Ubiquitin ligase H2AK119
	Zeste (Z) (M P Shannon, 1972)			
	TBP-associated factor (TAFs)	TBP-associated factor (TAFs)		TFIID components

Complexes (*D.m.*)	Protein (*D.m.*)	Homologues (*H.s.*)	Functional domains	Described activity
Trithorax Complexes				
SWI/SNF – Brahma – BRG1 complex (Arnoud J Kal, 2000; Daniel R Marenda, 2003)	brahma (brm) (Kennison and Tamkun, 1988)	SMARCA2/BRM SMARCA4/BRG1	[illegible] domain, DEAD-like helicase; Glutamine-Leucine-Glutamine, QLQ; HAS subgroup, SANT, SNF2-related	ATP-dependent chromatin remodeling complex
	Osa (Vazquez et al., 1999)	ARID1A/BAF250	ARID/BRIGHT DNA-binding domain	
	moira (mor) (Kennison and Tamkun, 1988)	**SMARCC2**/BAF170	Homeodomain-like, Myb, SANT, SWIRM	
	Zeste (Z) (M P Shannon, 1972)			
	Snf5-related 1 (Snr1) (DINGWALL et al., 1995)	SMARCB1/hSNF5/BAF47	SNF5/SMARCB1/INI1,	
Nucleosome remodeling factor (*NURF) complex* (Tsukiyama and Wu, 1995)	Gaga factor / Trithorax-like (Trl) (Farkas et al., 1994)	Zbtb3	Zn finger, BTB/POZ	DNA binding activity
	Imitation SWI (Iswi) (ELFRING et al., 1994)	SMARCA1/SNF2L/ISWI	ATPase, HAND domain; DEAD-like helicase, Homeodomain-like; SANT domain, SLIDE; SNF2-related	Chromatin remodeling
	Nucleosome remodeling factor - 38kD (Nurf-38) (Tsukiyama and Wu, 1995)	?	Inorganic pyrophosphatase	inorganic diphosphatase activity
	Nurf-55/ Chromatin assembly factor 1 subunit (Caf1) (BULGER et al., 1995)	RBBP4/RbpAp48 RBBP7/RbAp46	Histone-binding protein RBBP4, WD40 repeat	
	Enhancer of bithorax E(bx)/Nurf-301 (Bhosekar and Babu, 1987)	BPTF	AT hook, DNA-binding motif, Bromodomain, DDT domain, Zinc finger, PHD-finger	H3K4me3 binding
TAC1 complex (Petruk et al., 2001)	Trithorax (Trx) (Ingham and Whittle, 1980)	* Human homologs exist (see below for Trx homologs MLL1-3), but the homolog complex has not been found. Instead, MLL complexes have been isolated, which are not known in flies.	SET, FY-rich, Zinc finger, PHD-finger,	HMTase H3K4me3
	nejire (nej/dCBP) (Hou et al., 1997)		Bromodomain, Coactivator CBP, KIX, HAT, Zinc finger, PHD-type	H3-K27 and H3-K18 specific HAT
	SET domain binding factor (Sbf1) (Zev Bryant, 1999)		PHD, DENN, GRAM, dDENN	Chromatin binding
Ash1 complex (Papoulas et al., 1998; Frédéric Bantignies, 2000)	absent, small, or homeotic discs 1 (Ash1) (Shearn, 1989)	* Homologs exist in human, but it is unknown whether they form a complex	SET, AT hook, Bromo adjacent homology (BAH) domain, Zinc finger, PHD-finger	HMTase H3K4, -K36me3
	nejire (nej/dCBP) (Hou et al., 1997)		Bromodomain, Coactivator CBP, KIX, HAT, Zinc finger, PHD-type,	H3-K27 and H3-K18 specific HAT
Ash2 complex (Papoulas et al., 1998)	absent, small, or homeotic discs 2 (Ash2) (Shearn, 1989)	ASH2L	PHD-finger, SPRY domain, Zinc finger, PHD-type, RING finger	Required for H3K4me3
MLL COMPASS	* Fly homologs of the MLL subunits exist, but no MLL complexes have been isolated in flies	MLL/ALL-1/HRX/TRX1 MLL2 MLL3 WDR5 ASH2L RBBP5/SWD1 C10orf9/CFP1	(complex of proteins associated with Set1)-like complexes For review see (Edwin Smith, 2011)	

PcG/trxG recruiters				
	Dorsal switch protein 1 (Dsp1) (Déjardin et al., 2005)	HMGB2	HMG box A	DNA binding activity
	grainy head (Grh)	GRHL1, 2, 3	CP2 transcription factor	DNA binding activity
FACT (Facilitates Chromatin Transcription) *complex* (Tsukasa Shimojima, 2003)	Gaga factor / Trithorax-like (Trl) (Farkas et al., 1994)	Zbtb3	Zn finger, BTB/POZ	RNA polymerase II elongation
	dre4 (Saurin et al., 2001)	SPT16		
	Structure specific recognition protein (Ssrp) (S L Bruhn, 1993)	SSRP1	HMG1/HMG2	
	lola like (Lolal)/Batman (M Faucheux, 2003)	?	BTB/POZ	DNA binding activity
	pipsqueak (Psq) (Siegel et al., 1993)	?	BTB/POZ	DNA binding activity
	Zeste (Z) (Gans, 1948)	?	ATPase, Homeodomain-like	DNA binding activity
	?	E2F transcription factor 6 (E2F6)	DNA binding domain, dimerization domain	inhibitor of E2F-dependent transcription
	?	B-cell lymphoma 6 protein (BCL6)	Zn finger, BTB/POZ	sequence-specific repressor of transcription
	Retinoblastoma-family protein (Rbf) (Du et al., 1996)	RB1 RBL1	Cyclin-like; Domain, A-box; Retinoblastoma-associated protein, B-box	
	?	Promyelocytic leukemia zinc finger (PLZF) zinc finger and BTB domain containing 16	Zn finger, BTB/POZ	
	Cramped (CRM) (Yamamoto et al., 1997)	CRAMP1L	SANT	DNA binding
	Enhancer of Polycomb (E(Pc)) (Takashi Sato, 1983)	EPC1		
	Multi sex combs (MXC) (Santamaría and Randsholt, 1995)	NPAT		DNA binding activity
	Corto (Kodjabachian et al., 1998)		Chromodomain	RNA binding activity Bind RpL12K3me3

Complexes (*D.m.*)	Protein (*D.m.*)	Homologues (*H.s.*)	Functional domains	Described activity
PcG/trxG related proteins				
	little imaginal discs (Lid) (Gildea et al., 2000)	JARID1C/XLMR/SMCX JARID1B/PLU-1	Lysine-specific demethylase-like domain (jumonji familly), ARID/BRIGHT DNA-binding domain, Zinc finger, PHD-finger	H3K4 demethylase, H3-K9 specific HAT
	dUTX (Edwin R Smith, 2008)	UTX JMJD3	Lysine-specific demethylase-like domain (jumonji familly), Tetratricopeptide TPR-1	H3K27 demethylases
Polycomb repressive deubiquitinase *(PR-DUB) complex* (Scheuermann et al., 2010)	Additional sex combs (Asx) (Jürgens, 1985)	ASXL1 ASXL2	Zinc finger, PHD-finger	H2AK119Ub deubiquitylation
	Calypso (Andrés Gaytán de Ayala Alonso, 2007)	BAP1	Ubiquitin carboxy-terminal hydrolase, Peptidase C12	
TIP60 complex (Kusch T, 2004)	Tip60 (Brody et al., 2002)	KAT5	HAT, Chromoshadow, MOZ/SAS-like protein	HAT complex
	Domino (Dom) (Ruhf et al., 2001)	EP400/P400	DEAD-like helicase, MYB-like; SNF2-related, DNA binding	
	dMRG15 (Bertram and Pereira-Smith, 2001)	MRG15	Chromoshadow	
	Reptin (Rept) (Carrera et al., 1998)	RuvB-like 2	ATPase, OB-fold-like; TIP49	
	Pontin (Pont) (Andreas Bauer, 2000)	RuvB-like 1	ATPase, OB-fold-like; TIP49,	
	Enhancer of Polycomb (E(Pc)) (Sato et al., 1984)	EPC1		
NURD complex (Chris M Murawsky, 2001)	Mi-2 (Kehle et al., 1998)	CHD4/Mi-2	ATPase, chromodomain, chromoshadow, DEAD-like helicase, Zinc finger, PHD-finger, HMG box-like	HDAC complex
	Tramtrack (ttk) (S D Harrison, 1990)	Ttk69	AT hook, BTB/POZ, Zinc finger, C2H2-type/integrase	
	Rpd3 (Sinclair, 1983)	HDAC2	HDAC	
	---			
	kismet (kis) (Daubresse et al., 1999)	CHD7	BRK domain, Chromodomain, chromoshadow, DEAD-like helicase	ATP-dependent helicase activity
	Devenir/Breathless (Dev/Btl) (Maixner et al., 1998)	FGFR1 FGFR2	Immunoglobulin I-set, ATP binding site, fibroblast growth factor receptor-related	Serine-threonine/tyrosine-protein kinase
	Suppressor of Zeste 2 (Su(Z)2) (Adler et al., 1989)		Zinc finger	
	tonalli (tna) (Gutierrez et al., 2003)	ZMIZ2	Zinc finger, MIZ-type	chromatin-mediated maintenance of transcription
	Taranis (tara) (Stéphane Calgaro, 2002)	SERTAD2	SERTA	
	modifier of mdg4 (mod(mdg4)) (Georgiev and Gerasimova, 1989)		BTB/POZ domain, Zinc finger	
Mediator complex (Janody et al., 2003)	kohtalo (kto) (Treisman, 2001)	MED12L/TRAP 230/TRALP	LCEWAV-domain	RNA polymerase II transcription cofactor activity
	skuld (skd) (Kennison and Tamkun, 1988)	THRAP2/TRAP 240/MED13		
	super sex combs (Sxc) (Ingham, 1984)		Tetratricopeptide TPR-1	Acetylglucosaminyltransferase activity
dRing-associated factors (dRAF) complex (Lagarou et al., 2008)	Sex comb extra (Sce)/dRing (BREEN and DUNCAN, 1986)	RING1/RING1A /RNF1 RNF2/RING1B/ RING2	RING finger	E3 Ubiquitin ligase H2AK119
	Posterior sex combs (PSC) (Jürgens, 1985)	BMI1 PCGF2/RNF110 /ZFP144 ZNF134	RING *finger*	dRing co-activator
	Lysine (K)-specific demethylase 2 (KDM2) (Das et al., 2002)	KDM2	F-box, jumonji/aspartyl beta-hydroxylase	H3K36me2 déméthylation, H2A ubiquitinylation

Annexe 6 : Figures et tables supplémentaires de l'Article.

Supp-fig 1 : Corto overlaps with transcriptional factories

Supp-table3 : Gènes up régulés dans la condition sd ::Gal4>FH-CortoCD

Supp-table 4 : Gènes up régulés dans la condition sd ::Gal4>RpL12-Myc

Supp-table5 : Gènes down régulés dans la condition sd ::Gal4>FH-CortoCD

Supp-table6 : Gènes down régulés dans la condition sd ::Gal4>RpL12-Myc

Supp-table7 :gènes dérégulés communs à sd ::Gal4>FH-CortoCD et sd ::Gal4>RpL12Myc

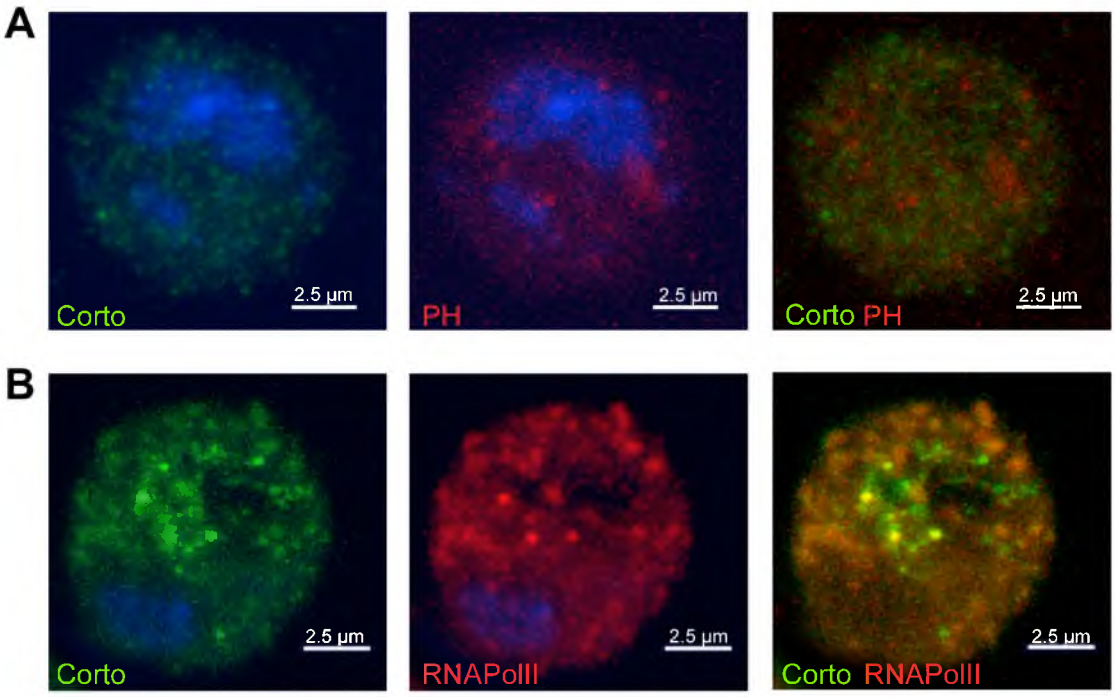
Supp-table 8 : Gene Ontology des gènes up régulés par sd ::Gal4>FH-CortoCD et sd ::Gal4>RpL12Myc

Supp-table 9 : Gene Ontology des gènes down régulés par sd ::Gal4>FH-CortoCD et sd ::Gal4>RpL12Myc

Supplementary Figure 1: Corto overlaps with transcriptional factories.

(A) Immunostaining of S2 cells with anti-Corto (green) and anti-PH (red) antibodies showing that Corto bodies and Polycomb bodies did not overlap. Blue: DAPI. Close-up of a nucleus.

(B) Immunostaining of S2 cells with anti-Corto (green) and anti-RNAPolII (red) antibodies showing that Corto bodies and transcriptional factories overlapped. Blue: DAPI. Close-up of a nucleus.



Supplementary Table 3: Genes up-regulated in *sd::Gal4>UAS::FH-cortoCD* vs *sd::Gal4/+*. FC: Fold Change.

Flybase Gene Symbol	Flybase ID Genes	Flybase ID Transcripts	Number of reads *sd::Gal4*>UAS::*FH-cortoCD*	*sd::Gal4/+*	Adjusted *P*-value	log_2(FC)
RpS10b	FBgn0261593	FBtr0074731,FBtr0074732,FBtr0308192	44201	22084	0	**1,00108**
pck	FBgn0013720	FBtr0100198	2899	1448	5,81826E-60	**1,00149**
CG10527	FBgn0034583	FBtr0071541	1920	959	5,93532E-40	**1,00150**
CG32212	FBgn0052212	FBtr0074932	2549	1273	7,35002E-53	**1,00170**
cic	FBgn0262582	FBtr0305026,FBtr0305027,FBtr0305028, FBtr0305029,FBtr0305030,FBtr0305031	8336	4162	5,78156E-167	**1,00208**
pck	FBgn0013720	FBtr0070255,FBtr0070256	2899	1446	3,26466E-60	**1,00349**
Cchl	FBgn0038925	FBtr0084185	1548	772	1,50462E-32	**1,00373**
Vps28	FBgn0021814	FBtr0088825	1470	733	5,79182E-31	**1,00393**
sli	FBgn0003425	FBtr0087302,FBtr0087303,FBtr0087304	953	475	2,24757E-20	**1,00455**
SmF	FBgn0000426	FBtr0088010	2456	1224	2,70685E-51	**1,00471**
Taf10	FBgn0028398	FBtr0077717	1503	749	1,01672E-31	**1,00481**
RpL3	FBgn0020910	FBtr0082347,FBtr0082346,FBtr0302586	4538	2260	2,31682E-94	**1,00573**
CG4036	FBgn0032149	FBtr0303447,FBtr0303448	952	474	1,66979E-20	**1,00607**
Updo	FBgn0033428	FBtr0088524	2632	1309	2,64901E-55	**1,00769**
pcx	FBgn0003048	FBtr0070395	5417	2692	2,81048E-113	**1,00882**
mRpL18	FBgn0026741	FBtr0087852	872	433	5,54362E-19	**1,00996**
rhea	FBgn0260442	FBtr0076627,FBtr0305210,FBtr0305211, FBtr0305212	7452	3695	1,07596E-152	**1,01205**
CG18343	FBgn0033683	FBtr0087982	1309	649	3,57281E-28	**1,01217**
CG4036	FBgn0032149	FBtr0079870	964	477	4,40730E-21	**1,01504**
CG13349	FBgn0033886	FBtr0087610,FBtr0087611,FBtr0114493,FBtr0114494	3145	1556	4,99432E-67	**1,01522**
CG30410	FBgn0050410	FBtr0301852	3657	1809	6,96792E-78	**1,01547**
CG10664	FBgn0032833	FBtr0081300,FBtr0081301	5363	2652	5,97598E-114	**1,01596**
CG13349	FBgn0033886	FBtr0114495	3147	1556	3,19282E-67	**1,01614**
CG8891	FBgn0031663	FBtr0079048	1568	775	6,70087E-34	**1,01666**
RpS30	FBgn0038834	FBtr0083969,FBtr0083970	20690	10221	0	**1,01740**
hang	FBgn0026575	FBtr0074276,FBtr0074277	4445	2195	4,82424E-95	**1,01796**
CG1707	FBgn0033162	FBtr0089013	4362	2152	1,39310E-93	**1,01931**
Cpr49Ah	FBgn0033731	FBtr0087924	987	486	5,76268E-22	**1,02209**
CG34347	FBgn0085376	FBtr0290046	1020	502	1,01302E-22	**1,02281**
Rpb12	FBgn0262954	FBtr0112379	1685	828	4,30839E-37	**1,02505**
CG15012	FBgn0035528	FBtr0073240	810	398	3,06267E-18	**1,02515**
CG9034	FBgn0040931	FBtr0071343	922	453	1,10836E-20	**1,02526**
PDCD-5	FBgn0036580	FBtr0075483	3710	1822	6,87942E-81	**1,02590**
larp	FBgn0261618	FBtr0301180,FBtr0306389,FBtr0306390	1908	937	5,27586E-42	**1,02594**
mRpS11	FBgn0038474	FBtr0089894	1001	491	1,71900E-22	**1,02765**
Prosbeta1	FBgn0010590	FBtr0087262	6364	3114	9,22842E-140	**1,03116**
rut	FBgn0003301	FBtr0073992,FBtr0305581	3391	1659	6,95553E-75	**1,03140**
CG15012	FBgn0035528	FBtr0300776	808	395	1,54694E-18	**1,03250**
bou	FBgn0261284	FBtr0071004	2997	1465	1,94792E-66	**1,03262**
obst-B	FBgn0027600	FBtr0079934	3357	1640	2,02164E-74	**1,03348**
Rbcn-3A	FBgn0023458	FBtr0303341	10392	5071	1,08035E-223	**1,03513**
mei-P26	FBgn0026206	FBtr0071303	4958	2419	5,24173E-110	**1,03535**
CG30423	FBgn0050423	FBtr0300122	3189	1555	3,45868E-71	**1,03619**
CG30185	FBgn0050185	FBtr0072060	1526	744	1,62240E-34	**1,03638**
Ten-a	FBgn0259240	FBtr0300201,FBtr0300202,FBtr0300203, FBtr0300204,FBtr0299858,FBtr0299859, FBtr0299860,FBtr0308221,FBtr0308222, FBtr0308223	22588	11010	0	**1,03674**
m2	FBgn0002592	FBtr0084981	3400	1657	6,12686E-76	**1,03696**
Arp11	FBgn0031050	FBtr0074760	1705	830	1,31642E-38	**1,03859**
Spase22-23	FBgn0039172	FBtr0305044	10017	4874	1,47481E-217	**1,03927**
CG6878	FBgn0036488	FBtr0075643	1252	609	1,10402E-28	**1,03972**
ATPsyn-Cf6	FBgn0016119	FBtr0084432,FBtr0305982	3169	1541	2,33932E-71	**1,04016**
RpS13	FBgn0010265	FBtr0079724,FBtr0100541	79412	38614	0	**1,04023**
CG5548	FBgn0030605	FBtr0073960	1533	745	5,57960E-35	**1,04105**
dom	FBgn0020306	FBtr0071602,FBtr0071603,FBtr0071604, FBtr0301350	4443	2159	5,51313E-100	**1,04117**
CG6746	FBgn0032394	FBtr0080313	1774	862	2,01221E-40	**1,04125**
fwd	FBgn0004373	FBtr0072516	826	401	2,49966E-19	**1,04254**
Bruce	FBgn0037808	FBtr0082239	16056	7785	0	**1,04434**
CG11999	FBgn0037312	FBtr0078807	1977	957	2,06572E-45	**1,04672**
l(2)37Cg	FBgn0086447	FBtr0081161	798	386	6,16178E-19	**1,04779**
CG5446	FBgn0032429	FBtr0080388	3732	1804	1,77975E-85	**1,04875**
Tpi	FBgn0086355	FBtr0085584	4221	2040	1,30830E-96	**1,04902**
tweek	FBgn0261671	FBtr0304927,FBtr0304928,FBtr0304929, FBtr0304930	6595	3187	1,37337E-150	**1,04917**
Act5C	FBgn0000042	FBtr0070823	7261	3508	2,57214E-161	**1,04952**
Act57B	FBgn0000044	FBtr0300946	3932	1899	2,85891E-90	**1,05002**
Act57B	FBgn0000044	FBtr0071519	3931	1898	2,63649E-90	**1,05042**
Spase12	FBgn0040623	FBtr0085435	1830	883	1,61959E-42	**1,05136**
CR41548	FBgn0085802	FBtr0114256	2815	1357	3,44527E-65	**1,05271**
CG2862	FBgn0031459	FBtr0077718	5162	2486	2,82840E-119	**1,05410**
sni	FBgn0030026	FBtr0071183	840	404	3,97114E-20	**1,05603**
Dhc64C	FBgn0261797	FBtr0273370,FBtr0073359	26306	12641	0	**1,05728**
CG13185	FBgn0033661	FBtr0113071	5574	2677	7,47688E-130	**1,05810**
CG32276	FBgn0047135	FBtr0073107	1048	503	4,45874E-25	**1,05901**
CG13751	FBgn0033340	FBtr0088644	1342	644	6,61190E-32	**1,05925**
Nxt1	FBgn0028411	FBtr0072241	1041	499	5,13712E-25	**1,06086**
CG9603	FBgn0040529	FBtr0081855,FBtr0305680	7612	3647	2,24491E-173	**1,06157**
Nurf-38	FBgn0016687	FBtr0305985	2779	1331	1,08241E-65	**1,06206**
CG32276	FBgn0047135	FBtr0073106	1086	520	3,29877E-26	**1,06244**
PHGPx	FBgn0035438	FBtr0073066,FBtr0073067,FBtr0073068	5639	2700	1,31506E-132	**1,06248**
CG11505	FBgn0035424	FBtr0073045,FBtr0073046,FBtr0308061	7684	3679	2,31078E-175	**1,06254**
CR40959	FBgn0085777	FBtr0114228	4012	1920	1,30836E-94	**1,06322**
CG3621	FBgn0025839	FBtr0070386	1114	533	7,17632E-27	**1,06354**
CG13185	FBgn0033661	FBtr0113072	5755	2748	2,00142E-136	**1,06643**
Tpi	FBgn0086355	FBtr0085582,FBtr0085583	4179	1994	1,87672E-99	**1,06749**
CR40621	FBgn0085757	FBtr0114207	5659	2700	1,86684E-134	**1,06759**
nocte	FBgn0261710	FBtr0071461	2003	955	3,18899E-48	**1,06859**
tutl	FBgn0010473	FBtr0089271,FBtr0089269,FBtr0089270, FBtr0301863,FBtr0301864	1544	736	2,56970E-37	**1,06890**

CG13630	FBgn0039219	FBtr0084745	2361	1123	4,69705E-57	**1,07204**
CG6891	FBgn0030955	FBtr0074631	14114	6711	0	**1,07253**
br	FBgn0000210	FBtr0300430	3537	1680	1,75454E-85	**1,07406**
CG8206	FBgn0030679	FBtr0074085	906	430	1,41203E-22	**1,07517**
Pros29	FBgn0261394	FBtr0071522	9558	4531	1,91552E-224	**1,07688**
CG5703	FBgn0030853	FBtr0074452	2013	953	1,98151E-49	**1,07880**
CG5903	FBgn0038400	FBtr0083281	5124	2423	3,85832E-125	**1,08048**
RpS5a	FBgn0002590	FBtr0074406	78164	36960	0	**1,08054**
trx	FBgn0003862	FBtr0082950,FBtr0082949,FBtr0082947, FBtr0082948,FBtr0100277	13801	6521	0	**1,08161**
CG34439	FBgn0085468	FBtr0112740,FBtr0112741	999	472	4,58604E-25	**1,08170**
CG9669	FBgn0036667	FBtr0075339,FBtr0305272	1488	703	5,63998E-37	**1,08178**
RpS19a	FBgn0010412	FBtr0074312,FBtr0074313,FBtr0074311	75397	35551	0	**1,08462**
CG11753	FBgn0037603	FBtr0081879	895	422	1,16551E-22	**1,08464**
malpha	FBgn0002732	FBtr0084956	5935	2798	4,30082E-146	**1,08485**
RFeSP	FBgn0021906	FBtr0077914,FBtr0077915	722	340	1,55017E-18	**1,08646**
CG15237	FBgn0033104	FBtr0086212	1143	538	5,88978E-29	**1,08715**
Spase22-23	FBgn0039172	FBtr0084564	9906	4659	5,95698E-238	**1,08828**
Tina-1	FBgn0035083	FBtr0072411	4210	1978	6,35904E-105	**1,08978**
		FBtr0273184	2365	1111	2,86998E-59	**1,08998**
Roc1a	FBgn0025638	FBtr0070122	2363	1110	3,35908E-59	**1,09006**
CG11267	FBgn0036334	FBtr0075875	6335	2969	1,32459E-158	**1,09337**
RpS6	FBgn0261592	FBtr0071135,FBtr0071136	108886	50993	0	**1,09445**
CG12203	FBgn0031021	FBtr0074712	1921	899	7,57751E-49	**1,09546**
CG17680	FBgn0062440	FBtr0086781	1302	609	2,11499E-33	**1,09622**
eIF-3p40	FBgn0022023	FBtr0079030,FBtr0079031	19533	9133	0	**1,09675**
Smr	FBgn0024308	FBtr0073706,FBtr0073707,FBtr0073708	21018	9819	0	**1,09798**
RpS9	FBgn0010408	FBtr0076424	15140	7070	0	**1,09858**
CG3500	FBgn0034849	FBtr0072038	892	416	2,62942E-23	**1,10046**
CG17202	FBgn0038043	FBtr0082587	2685	1252	1,25176E-68	**1,10069**
CG2812	FBgn0034931	FBtr0072140	1622	756	8,77155E-42	**1,10132**
CG5569	FBgn0034919	FBtr0072128	717	334	5,63781E-19	**1,10213**
Neb-cGP	FBgn0083167	FBtr0071449	5476	2550	9,09946E-140	**1,10263**
CG31548	FBgn0051548	FBtr0078736	1164	542	2,20963E-30	**1,10273**
CG9240	FBgn0030669	FBtr0074060	1113	517	3,07163E-29	**1,10622**
N	FBgn0004647	FBtr0070507,FBtr0304659	44071	20453	0	**1,10752**
Rpb11	FBgn0032634	FBtr0081011	1341	621	2,24716E-35	**1,11064**
RpL14	FBgn0017579	FBtr0076633	42610	19705	0	**1,11263**
Got2	FBgn0001125	FBtr0077867,FBtr0077868	911	421	2,18921E-24	**1,11363**
RpS4	FBgn0011284	FBtr0075884,FBtr0075885	104248	48111	0	**1,11558**
SmD2	FBgn0261789	FBtr0081737	5038	2324	3,76841E-132	**1,11624**
mRpL22	FBgn0030786	FBtr0074330	1702	785	3,98575E-45	**1,11647**
Arf79F	FBgn0010348	FBtr0078574	1835	846	1,07618E-48	**1,11705**
CG2862	FBgn0031459	FBtr0077719	5573	2569	2,08954E-146	**1,11725**
RpS9	FBgn0010408	FBtr0076423,FBtr0076425	14743	6794	0	**1,11770**
skpA	FBgn0025637	FBtr0070124	1637	753	7,80107E-44	**1,12033**
SdhC	FBgn0037873	FBtr0082372	2140	983	2,89397E-57	**1,12235**
CG3560	FBgn0030733	FBtr0074216	2826	1298	2,27455E-75	**1,12247**
poe	FBgn0011230	FBtr0079545	26949	12354	0	**1,12525**
CG42377	FBgn0259744	FBtr0299980	660	302	1,97716E-18	**1,12792**
RpS26	FBgn0261597	FBtr0081090,FBtr0081089	18376	8397	0	**1,12988**
CR31144	FBgn0051144	FBtr0303864	32532	14849	0	**1,13149**
RpL3	FBgn0020910	FBtr0082347	32534	14850	0	**1,13149**
Trxr-1	FBgn0020653	FBtr0071168	1028	468	1,23313E-28	**1,13526**
B52	FBgn0004587	FBtr0082804,FBtr0082806	3909	1779	1,53914E-106	**1,13573**
RpL9	FBgn0015756	FBtr0080163,FBtr0080164	57751	26270	0	**1,13643**
CG5941	FBgn0029833	FBtr0070867,FBtr0305344	1761	801	1,75916E-48	**1,13652**
mRpL27	FBgn0053002	FBtr0077451	975	443	2,81006E-27	**1,13810**
14-3-3zeta	FBgn0004907	FBtr0088412	773	351	7,68583E-22	**1,13900**
cic	FBgn0262582	FBtr0305029	7999	3622	2,10832E-213	**1,14303**
mRpL55	FBgn0038678	FBtr0083754	815	369	3,64282E-23	**1,14318**
B52	FBgn0004587	FBtr0082801,FBtr0082802,FBtr0082803, FBtr0300586,FBtr0300588,FBtr0300589, FBtr0308195,FBtr0308196,FBtr0308197	3866	1747	1,82879E-107	**1,14596**
CG11015	FBgn0031830	FBtr0079288	6391	2887	2,08576E-177	**1,14647**
wb	FBgn0261563	FBtr0302731,FBtr0305063	658	297	4,47687E-19	**1,14762**
CG13993	FBgn0031776	FBtr0079191	2756	1243	3,04272E-77	**1,14875**
Cypl	FBgn0035141	FBtr0072564	1003	452	1,17629E-28	**1,14993**
CG11873	FBgn0039633	FBtr0085365	14712	6623	0	**1,15144**
mRpS16	FBgn0033907	FBtr0087578	1069	481	1,29678E-30	**1,15215**
CG11699	FBgn0030311	FBtr0073510	1954	879	2,13060E-55	**1,15250**
Cctgamma	FBgn0015019	FBtr0083338	816	367	1,40345E-23	**1,15279**
CG9603	FBgn0040529	FBtr0081855	2274	1021	1,13655E-64	**1,15525**
Elongin-C	FBgn0023211	FBtr0086541	987	442	1,21186E-28	**1,15900**
TfIIA-S	FBgn0013347	FBtr0084526	5528	2474	2,41248E-157	**1,15991**
RpII15	FBgn0004855	FBtr0082925	2492	1114	1,60129E-71	**1,16155**
CG7603	FBgn0036726	FBtr0075220	1772	792	3,42111E-51	**1,16181**
CG30499	FBgn0050499	FBtr0088954	2692	1203	2,52268E-77	**1,16204**
osa	FBgn0261885	FBtr0301487,FBtr0089582,FBtr0089581	1092	487	5,02737E-32	**1,16498**
Cpr66D	FBgn0052029	FBtr0076567	747	333	3,53073E-22	**1,16559**
larp	FBgn0261618	FBtr0301180	633	282	5,87390E-19	**1,16651**
RpS3	FBgn0002622	FBtr0084410	128804	57350	0	**1,16731**
sdk	FBgn0021764	FBtr0302259	703	313	6,18479E-21	**1,16736**
CG12384	FBgn0033624	FBtr0304698	701	312	5,52714E-21	**1,16787**
asrij	FBgn0034793	FBtr0071902	1329	591	4,60990E-39	**1,16911**
Actn	FBgn0000667	FBtr0070345,FBtr0070343,FBtr0070344	758	337	1,13129E-22	**1,16945**
Elongin-C	FBgn0023211	FBtr0086540	937	416	6,68169E-28	**1,17147**
CG9674	FBgn0036663	FBtr0075341,FBtr0075344,FBtr0305915, FBtr0305916	4623	2052	1,26264E-134	**1,17180**
mRpL49	FBgn0030433	FBtr0073691	762	338	7,53277E-23	**1,17277**
CG3566	FBgn0029854	FBtr0089869,FBtr0089870,FBtr0305177	787	349	1,36289E-23	**1,17314**
CG3731	FBgn0038271	FBtr0083001	774	343	2,64726E-23	**1,17412**
RpL10Ab	FBgn0036213	FBtr0302135	5163	2286	2,84297E-151	**1,17538**
Tao-1	FBgn0031030	FBtr0074771,FBtr0303999	1108	490	3,95967E-33	**1,17710**
tyf	FBgn0026083	FBtr0070643,FBtr0300931,FBtr0305180, FBtr0305181,FBtr0305182	1771	783	1,29241E-52	**1,17748**
RpS15	FBgn0034138	FBtr0087124	659	291	3,95890E-20	**1,17926**
HP4	FBgn0035829	FBtr0076765	2170	958	1,82191E-64	**1,17960**

CG2200	FBgn0030447	FBtr0073721	1236	545	3,38571E-37	**1,18135**
CG3446	FBgn0029868	FBtr0070924	3564	1571	6,96157E-106	**1,18181**
CG34422	FBgn0085451	FBtr0112723	2761	1217	4,05808E-82	**1,18186**
HP4	FBgn0035829	FBtr0076764	2169	956	1,14015E-64	**1,18195**
Arf79F	FBgn0010348	FBtr0078573	1807	796	3,55313E-54	**1,18276**
GstD1	FBgn0001149	FBtr0082607	24617	10835	0	**1,18396**
CG8036	FBgn0037607	FBtr0081881	4979	2191	2,91866E-148	**1,18427**
CG5261	FBgn0031912	FBtr0079444	909	400	9,98471E-28	**1,18428**
CG12432	FBgn0030843	FBtr0074433	1032	454	2,22501E-31	**1,18468**
LRP1	FBgn0053087	FBtr0088791	11637	5118	0	**1,18507**
CG8036	FBgn0037607	FBtr0081882	4979	2188	9,60122E-149	**1,18624**
Got2	FBgn0001125	FBtr0100359	1712	750	4,28699E-52	**1,19072**
CG3609	FBgn0031418	FBtr0077791,FBtr0303027	1532	671	1,22177E-46	**1,19103**
CG30415	FBgn0250838	FBtr0072030,FBtr0072031	2360	1031	6,25220E-72	**1,19474**
RpL37A	FBgn0261608	FBtr0302570,FBtr0079016	10786	4711	2,3426E-315	**1,19505**
awd	FBgn0000150	FBtr0085864	56390	24628	0	**1,19514**
RpL37A	FBgn0261608	FBtr0079017	10833	4731	8,1482E-317	**1,19522**
l(1)G0255	FBgn0028336	FBtr0070953	733	320	5,31699E-23	**1,19574**
vfl	FBgn0259789	FBtr0307536,FBtr0307537	15475	6742	0	**1,19869**
RpL30	FBgn0086710	FBtr0302491,FBtr0081181	7996	3480	5,95090E-236	**1,20019**
mRpL48	FBgn0031357	FBtr0077882	669	291	3,72146E-21	**1,20099**
sea	FBgn0037912	FBtr0100464	6494	2819	5,92255E-200	**1,20392**
fabp	FBgn0037913	FBtr0100320,FBtr0100321,FBtr0100323	6494	2819	5,92255E-200	**1,20392**
olf186-F	FBgn0041585	FBtr0086796,FBtr0086797	694	301	4,62433E-22	**1,20517**
RpS7	FBgn0039757	FBtr0089425,FBtr0089422,FBtr0089423	69140	29982	0	**1,20542**
Aldh-III	FBgn0010548	FBtr0300477	595	258	4,85430E-19	**1,20552**
RpS15	FBgn0034138	FBtr0087123	677	293	9,35480E-22	**1,20826**
p16-ARC	FBgn0031437	FBtr0077694	3717	1608	1,12935E-115	**1,20887**
CR40728	FBgn0085769	FBtr0114219	3815	1648	3,30772E-119	**1,21097**
vsg	FBgn0045823	FBtr0076399,FBtr0076401	1503	649	1,79102E-47	**1,21155**
mRpL42	FBgn0033480	FBtr0088403	856	369	1,77519E-27	**1,21399**
mRpL42	FBgn0033480	FBtr0305670	856	369	1,77519E-27	**1,21399**
mRpL42	FBgn0033480	FBtr0304041	856	369	1,77519E-27	**1,21399**
Arc-p20	FBgn0031781	FBtr0079200	2176	935	3,68671E-69	**1,21864**
stv	FBgn0086708	FBtr0075806,FBtr0075807,FBtr0075809	2559	1098	1,75260E-81	**1,22070**
shot	FBgn0013733	FBtr0301964,FBtr0087621,FBtr0087617, FBtr0087618,FBtr0087619,FBtr0087620, FBtr0087616,FBtr0273222,FBtr0273223, FBtr0273224,FBtr0273225,FBtr0273226, FBtr0301591,FBtr0301592,FBtr0301593, FBtr0304847,FBtr0304848,FBtr0304849, FBtr0304850,FBtr0304851,FBtr0304852, FBtr0304853	15882	6807	0	**1,22230**
stv	FBgn0086708	FBtr0075808,FBtr0113425	2770	1187	1,88171E-88	**1,22257**
GstD1	FBgn0001149	FBtr0100410	24045	10303	0	**1,22267**
betaTub56D	FBgn0003887	FBtr0086536	24093	10277	0	**1,22919**
CG10418	FBgn0036277	FBtr0075954	1130	482	5,34231E-37	**1,22922**
CG8191	FBgn0030675	FBtr0074083	952	406	2,84011E-31	**1,22948**
HSPC300	FBgn0061198	FBtr0072194	1456	619	8,38802E-48	**1,23400**
mRpL51	FBgn0032053	FBtr0079696	1482	630	1,16560E-48	**1,23412**
zormin	FBgn0052311	FBtr0089864,FBtr0110856,FBtr0110857,FBtr0110858	3974	1689	3,42259E-129	**1,23442**
w	FBgn0003996	FBtr0070490	18794	7981	0	**1,23563**
CG11438	FBgn0037164	FBtr0078504	2040	865	4,89774E-67	**1,23780**
RpL13	FBgn0011272	FBtr0079888,FBtr0100164	70213	29771	0	**1,23783**
br	FBgn0000210	FBtr0070261,FBtr0070262,FBtr0070263, FBtr0070265,FBtr0070266,FBtr0300427, FBtr0300428,FBtr0300429,FBtr0300430, FBtr0303562,FBtr0303563,FBtr0303564	33663	14266	0	**1,23858**
RpL11	FBgn0013325	FBtr0086533	48731	20647	0	**1,23891**
Tfb1	FBgn0033929	FBtr0305616	687	291	3,72772E-23	**1,23929**
nej	FBgn0261617	FBtr0302722,FBtr0302723,FBtr0071402	10966	4642	0	**1,24022**
RpL10Ab	FBgn0036213	FBtr0076032,FBtr0304648	4417	1869	6,02289E-145	**1,24080**
CG2310	FBgn0039665	FBtr0085433,FBtr0085434	4466	1889	8,77298E-147	**1,24136**
Tfb1	FBgn0033929	FBtr0087548,FBtr0087549	688	291	2,83518E-23	**1,24139**
skpA	FBgn0025637	FBtr0070126	1447	612	4,80097E-48	**1,24146**
CG11455	FBgn0031228	FBtr0301888	1328	561	3,06078E-44	**1,24318**
CG11876	FBgn0039635	FBtr0085366,FBtr0085367,FBtr0085368, FBtr0085369	635	268	1,33986E-21	**1,24452**
RpL8	FBgn0261602	FBtr0072925	1729	729	9,98643E-58	**1,24595**
Tim10	FBgn0027360	FBtr0071677,FBtr0071676	1089	459	1,22184E-36	**1,24644**
skpA	FBgn0025637	FBtr0070127	1468	618	2,73795E-49	**1,24817**
CR41602	FBgn0085813	FBtr0114268	10829	4558	0	**1,24843**
CG42574	FBgn0260794	FBtr0303911,FBtr0303912,FBtr0303913, FBtr0303914,FBtr0303915,FBtr0303917, FBtr0301437	2389	1004	5,06869E-80	**1,25065**
Mlc2	FBgn0002773	FBtr0089746	538	226	1,18046E-18	**1,25128**
vsg	FBgn0045823	FBtr0076398,FBtr0076400	1576	662	4,29687E-53	**1,25136**
Pcd	FBgn0024841	FBtr0085458	1475	619	7,82159E-50	**1,25270**
CG7630	FBgn0040793	FBtr0075217	2295	962	1,99017E-77	**1,25439**
RpS9	FBgn0010408	FBtr0076423,FBtr0076424	16388	6868	0	**1,25468**
RpS9	FBgn0010408	FBtr0076425	16381	6861	0	**1,25553**
CG34417	FBgn0085446	FBtr0112703	4397	1839	2,34443E-148	**1,25760**
RpL8	FBgn0261602	FBtr0072924	1705	713	5,60524E-58	**1,25780**
RpS28b	FBgn0030136	FBtr0071360	50264	21009	0	**1,25852**
CG9027	FBgn0033631	FBtr0089939,FBtr0089938,FBtr0110897	1494	624	5,13403E-51	**1,25956**
CG34383	FBgn0085412	FBtr0112621,FBtr0112622,FBtr0112623,FBtr0112624,FBtr0290011	6391	2669	3,96959E-216	**1,25974**
Tfb1	FBgn0033929	FBtr0087550	731	305	2,04145E-25	**1,26106**
Cctgamma	FBgn0015019	FBtr0083337,FBtr0302370,FBtr0302371	749	312	3,93723E-26	**1,26342**
cl	FBgn0000318	FBtr0079095	5171	2154	4,80201E-176	**1,26343**
CG1354	FBgn0030151	FBtr0089384,FBtr0089385,FBtr0089383	1239	516	8,79730E-43	**1,26373**
scu	FBgn0021765	FBtr0074511	10494	4370	0	**1,26386**
CG7181	FBgn0037097	FBtr0078382	5258	2184	3,85754E-180	**1,26754**
CG42574	FBgn0260794	FBtr0303916	2503	1039	2,84960E-86	**1,26846**
CG7267	FBgn0030079	FBtr0071354	2912	1207	1,20782E-100	**1,27058**
CR40469	FBgn0058469	FBtr0307364	5465	2265	3,64451E-188	**1,27071**
Mlc2	FBgn0002773	FBtr0089747	553	229	7,96628E-20	**1,27193**

pix	FBgn0086706	FBtr0076558	1367	566	9,81140E-48	**1,27214**
Smr	FBgn0024308	FBtr0073708	2197	909	2,01539E-76	**1,27318**
CG18809	FBgn0042132	FBtr0074810,FBtr0074811	1385	573	1,89890E-48	**1,27328**
mask	FBgn0043884	FBtr0084562,FBtr0084563,FBtr0305043	32566	13467	0	**1,27394**
CG11455	FBgn0031228	FBtr0301887	1317	544	2,96396E-46	**1,27558**
CG11455	FBgn0031228	FBtr0078117,FBtr0306542	1305	539	6,42800E-46	**1,27569**
mRpL17	FBgn0035122	FBtr0072503	1087	448	1,41092E-38	**1,27878**
ox	FBgn0011227	FBtr0087861	2029	835	1,87746E-71	**1,28092**
uif	FBgn0031879	FBtr0079354,FBtr0307072,FBtr0307073, FBtr0307074,FBtr0290119,FBtr0302162	47563	19565	0	**1,28156**
RpS7	FBgn0039757	FBtr0089424	59156	24301	0	**1,28351**
RpL34a	FBgn0039406	FBtr0084972,FBtr0084973	2207	904	1,49172E-78	**1,28769**
RpL34a	FBgn0039406	FBtr0302369	2203	902	2,00494E-78	**1,28827**
RpL24	FBgn0032518	FBtr0080524	42747	17445	0	**1,29301**
CG5938	FBgn0046247	FBtr0085159,FBtr0085160	761	310	5,73526E-28	**1,29563**
HERC2	FBgn0031107	FBtr0301344	10192	4147	0	**1,29730**
CG13044	FBgn0036599	FBtr0075470	1321	537	3,85383E-48	**1,29864**
capt	FBgn0261458	FBtr0100022	1191	484	1,78304E-43	**1,29909**
Hsc70-4	FBgn0001219	FBtr0083057	18800	7616	0	**1,30363**
spen	FBgn0016977	FBtr0078122,FBtr0078121,FBtr0078123, FBtr0306341	23146	9374	0	**1,30403**
hoip	FBgn0015393	FBtr0079846	6828	2765	1,01545E-247	**1,30418**
LBR	FBgn0034657	FBtr0071713	857	347	8,23581E-32	**1,30436**
Mi-2	FBgn0262519	FBtr0100394	670	271	4,11576E-25	**1,30587**
Mi-2	FBgn0262519	FBtr0074919,FBtr0302046	670	271	4,11576E-25	**1,30587**
CG12384	FBgn0033624	FBtr0088155	654	264	1,20926E-24	**1,30875**
CG32069	FBgn0052069	FBtr0076241	825	333	9,46662E-31	**1,30887**
CG3214	FBgn0031436	FBtr0077745,FBtr0273393	1851	747	3,47361E-68	**1,30912**
CG17343	FBgn0032751	FBtr0081151	1341	541	1,16381E-49	**1,30961**
B52	FBgn0004587	FBtr0308196	522	210	6,38859E-20	**1,31366**
CR43334	FBgn0263039	FBtr0306918	660	265	4,28974E-25	**1,31647**
sta	FBgn0003517	FBtr0070289,FBtr0070290,FBtr0070291	94998	38139	0	**1,31663**
Nurf-38	FBgn0016687	FBtr0273253	2233	896	3,60835E-83	**1,31741**
Nurf-38	FBgn0016687	FBtr0072343	2233	896	3,60835E-83	**1,31741**
futsch	FBgn0259108	FBtr0112628,FBtr0307597,FBtr0307598	481	193	1,54168E-18	**1,31744**
RpS20	FBgn0019936	FBtr0083964	56978	22860	0	**1,31758**
Pcmt	FBgn0086768	FBtr0078758	4031	1617	1,31060E-149	**1,31782**
LBR	FBgn0034657	FBtr0071711,FBtr0071712	833	334	1,40353E-31	**1,31847**
RpL34b	FBgn0037686	FBtr0082049	6567	2633	1,36396E-243	**1,31853**
RpL34b	FBgn0037686	FBtr0082050	6575	2634	2,68329E-244	**1,31974**
RpL8	FBgn0261602	FBtr0072924,FBtr0072925	76066	30467	0	**1,32000**
Ef2b	FBgn0000559	FBtr0085911	10797	4304	0	**1,32688**
RpL37a	FBgn0030616	FBtr0074027	76903	30634	0	**1,32791**
CG11151	FBgn0030519	FBtr0073819	2418	963	1,88537E-91	**1,32821**
B52	FBgn0004587	FBtr0082801,FBtr0082802,FBtr0082803, FBtr0300586,FBtr0300588,FBtr0300589, FBtr0308197	543	216	3,29820E-21	**1,32992**
Hsp26	FBgn0001225	FBtr0076496	17674	7030	0	**1,33003**
ATPsyn-d	FBgn0016120	FBtr0083728	10108	4018	0	**1,33095**
B52	FBgn0004587	FBtr0308195	544	216	2,45758E-21	**1,33258**
ATPsyn-d	FBgn0016120	FBtr0083727	9926	3934	0	**1,33522**
CG13364	FBgn0026879	FBtr0070159	3588	1418	1,50839E-137	**1,33932**
CG3625	FBgn0031245	FBtr0078136	793	313	4,39624E-31	**1,34116**
Rack1	FBgn0020618	FBtr0079565	139923	55225	0	**1,34124**
Smr	FBgn0024308	FBtr0073707	2147	846	4,70490E-83	**1,34359**
RpS11	FBgn0033699	FBtr0088006,FBtr0088007	60034	23650	0	**1,34394**
CG14235	FBgn0031066	FBtr0074815,FBtr0074816,FBtr0074817	960	378	1,07575E-37	**1,34465**
RpS15Ab	FBgn0033555	FBtr0088226	34526	13574	0	**1,34684**
levy	FBgn0034877	FBtr0072061	8802	3457	0	**1,34831**
RpS11	FBgn0033699	FBtr0088007	13337	5237	0	**1,34862**
ft	FBgn0001075	FBtr0077478	42317	16531	0	**1,35606**
RpS15	FBgn0034138	FBtr0087123,FBtr0087124	56637	22078	0	**1,35914**
Pdsw	FBgn0021967	FBtr0077520,FBtr0077521	3076	1199	1,51208E-121	**1,35922**
CG9350	FBgn0034576	FBtr0071530	1489	578	1,08001E-59	**1,36520**
RpL37A	FBgn0261608	FBtr0302570	25185	9765	0	**1,36687**
RpL35A	FBgn0037328	FBtr0078769	28461	11033	0	**1,36716**
CG12935	FBgn0033547	FBtr0088221	1659	643	1,05239E-66	**1,36742**
CG13926	FBgn0035243	FBtr0072823	756	293	8,30855E-31	**1,36749**
CG4692	FBgn0035032	FBtr0072339,FBtr0072340	5360	2077	8,52063E-214	**1,36773**
CG5794	FBgn0039214	FBtr0084667,FBtr0084668,FBtr0306172	7438	2874	2,76307E-285	**1,37185**
RpL37A	FBgn0261608	FBtr0079017,FBtr0079016	25102	9689	0	**1,37338**
Smr	FBgn0024308	FBtr0073706	2125	820	6,36333E-86	**1,37377**
pix	FBgn0086706	FBtr0076557	2243	865	1,05033E-90	**1,37466**
CG11455	FBgn0031228	FBtr0301886	2288	882	1,30196E-92	**1,37524**
CG11455	FBgn0031228	FBtr0078118	2349	904	2,28922E-95	**1,37765**
CG9205	FBgn0035181	FBtr0072621,FBtr0072622	1528	588	2,53988E-62	**1,37776**
CG42239	FBgn0250868	FBtr0290307	1483	569	6,02045E-61	**1,38202**
CG3321	FBgn0038224	FBtr0082931,FBtr0082932,FBtr0303795	5102	1931	1,30016E-213	**1,40171**
CG32038	FBgn0052038	FBtr0076462	1185	448	2,61223E-50	**1,40332**
Sod	FBgn0003462	FBtr0076229	16857	6364	0	**1,40534**
Ten-m	FBgn0004449	FBtr0078509,FBtr0306107	13753	5180	0	**1,40872**
RpL18A	FBgn0010409	FBtr0086947	65888	24791	0	**1,41020**
RpL26	FBgn0036825	FBtr0075066	56833	21381	0	**1,41040**
Oscp	FBgn0016691	FBtr0083064	6231	2342	2,76402E-264	**1,41172**
RpL40	FBgn0003941	FBtr0077470	60926	22857	0	**1,41442**
janA	FBgn0001280	FBtr0085596	627	235	1,90738E-27	**1,41580**
CG10320	FBgn0034645	FBtr0071663,FBtr0113101,FBtr0113102,F Btr0300679,FBtr0300680	1061	397	5,90476E-46	**1,41821**
trol	FBgn0261451	FBtr0091965,FBtr0305158,FBtr0305159, FBtr0305160,FBtr0305161,FBtr0305162, FBtr0305164,FBtr0305167,FBtr0305168, FBtr0305169,FBtr0305170,FBtr0305171, FBtr0305172,FBtr0305173,FBtr0305174, FBtr0305175,FBtr0305176	436	163	1,88709E-19	**1,41946**
l(1)G0230	FBgn0028342	FBtr0071438	8914	3325	0	**1,42272**
CG34242	FBgn0085271	FBtr0300028	551	205	1,41524E-24	**1,42643**
Oscp	FBgn0016691	FBtr0083063	7510	2791	2,2539E-310	**1,42803**
Rcd4	FBgn0032034	FBtr0303472	526	195	1,15396E-23	**1,43159**

CG8204	FBgn0034033	FBtr0087349	421	156	3,87958E-19	**1,43227**
Rcd4	FBgn0032034	FBtr0079652	535	198	3,96334E-24	**1,43404**
Idh	FBgn0001248	FBtr0076667,FBtr0076668,FBtr0114548	592	219	1,46466E-26	**1,43467**
RpS18	FBgn0010411	FBtr0086273,FBtr0086274	69553	25697	0	**1,43651**
CG34242	FBgn0085271	FBtr0112436	547	202	1,17639E-24	**1,43719**
CG8184	FBgn0030674	FBtr0074082	31112	11476	0	**1,43885**
primo-2	FBgn0040076	FBtr0091746	510	188	3,20466E-23	**1,43976**
Cpr65Ec	FBgn0035737	FBtr0076909	513	189	2,75162E-23	**1,44057**
kis	FBgn0086902	FBtr0299837	1781	654	1,50505E-79	**1,44533**
Dsp1	FBgn0011764	FBtr0089260	537	197	1,29357E-24	**1,44673**
CG42574	FBgn0260794	FBtr0303911,FBtr0303913,FBtr0303915, FBtr0303916,FBtr0301437	1483	544	2,20424E-66	**1,44684**
primo-1	FBgn0040077	FBtr0091747,FBtr0091748	510	187	1,95790E-23	**1,44746**
CG14184	FBgn0036932	FBtr0074872,FBtr0302366	1141	418	2,16274E-51	**1,44872**
Mgstl	FBgn0025814	FBtr0077243	1152	422	6,36610E-52	**1,44883**
CG31126	FBgn0051126	FBtr0084663	604	221	1,19105E-27	**1,45050**
mRpS14	FBgn0044030	FBtr0074785	719	263	8,78820E-33	**1,45093**
ksh	FBgn0040890	FBtr0300214	798	291	1,76418E-36	**1,45537**
Msp-300	FBgn0261836	FBtr0303385,FBtr0303387,FBtr0303388, FBtr0303389	20374	7412	0	**1,45879**
CG12859	FBgn0033961	FBtr0087440	1380	502	6,50361E-63	**1,45891**
CG42574	FBgn0260794	FBtr0303914	851	308	1,71701E-39	**1,46623**
rhea	FBgn0260442	FBtr0305210,FBtr0305211,FBtr0305212	413	149	1,13874E-19	**1,47083**
RpL32	FBgn0002626	FBtr0114555,FBtr0114556	48531	17501	0	**1,47147**
RpL32	FBgn0002626	FBtr0085592,FBtr0085593,FBtr0085594	48533	17501	0	**1,47153**
CG1607	FBgn0039844	FBtr0085786	527	190	7,11910E-25	**1,47180**
CG34306	FBgn0085335	FBtr0112502	464	167	4,80272E-22	**1,47428**
Got2	FBgn0001125	FBtr0077867	717	258	1,00809E-33	**1,47460**
RpL35	FBgn0029785	FBtr0070801	8662	3106	0	**1,47964**
CoVa	FBgn0019624	FBtr0082474	8129	2914	0	**1,48008**
CG6543	FBgn0033879	FBtr0087644	603	216	9,88919E-29	**1,48113**
CG17508	FBgn0039970	FBtr0086071,FBtr0307172	394	141	4,94653E-19	**1,48250**
CG13053	FBgn0040801	FBtr0075480	450	161	1,12352E-21	**1,48286**
		FBtr0113128	797	285	8,65983E-38	**1,48362**
CG7414	FBgn0037135	FBtr0303246,FBtr0303247	1183	423	9,38629E-56	**1,48372**
RpL18	FBgn0035753	FBtr0076892	57566	20582	0	**1,48383**
CG7414	FBgn0037135	FBtr0078441,FBtr0303245	1185	423	4,92643E-56	**1,48616**
CG9065	FBgn0030610	FBtr0073966	580	207	9,49841E-28	**1,48642**
RpL7A	FBgn0014026	FBtr0070915	398	142	2,24666E-19	**1,48688**
CG34417	FBgn0085446	FBtr0112703,FBtr0112704,FBtr0112706,FBtr0112707,FBtr0303205,FBtr0303206,FBtr0301323,FBtr0301324	656	234	2,14424E-31	**1,48719**
CG13551	FBgn0040660	FBtr0072035	953	339	1,68022E-45	**1,49119**
RpL28	FBgn0035422	FBtr0073095,FBtr0073097,FBtr0073098, FBtr0302300,FBtr0302301,FBtr0306567	64655	22974	0	**1,49276**
CG13551	FBgn0040660	FBtr0072033,FBtr0072034	949	337	2,23387E-45	**1,49366**
janA	FBgn0001280	FBtr0085595,FBtr0085597	597	212	6,59566E-29	**1,49367**
CoVa	FBgn0019624	FBtr0082473	8026	2850	0	**1,49372**
glo	FBgn0259139	FBtr0089918,FBtr0089919	372	132	2,45200E-18	**1,49476**
Mgstl	FBgn0025814	FBtr0077242,FBtr0077243	1239	439	2,71972E-59	**1,49688**
Ten-a	FBgn0259240	FBtr0300202,FBtr0300203,FBtr0300204, FBtr0299858,FBtr0299859,FBtr0299860, FBtr0308221,FBtr0308222,FBtr0308223	466	165	9,16055E-23	**1,49786**
RpS14a	FBgn0004403	FBtr0071095	15929	5603	0	**1,50738**
CG14104	FBgn0040786	FBtr0299563	966	339	3,25808E-47	**1,51074**
CG14566	FBgn0037127	FBtr0078453	1199	419	8,61389E-59	**1,51681**
		FBtr0091745	459	160	4,98359E-23	**1,52042**
		FBtr0091749	459	160	4,98359E-23	**1,52042**
CG14997	FBgn0035515	FBtr0073225	465	162	1,92081E-23	**1,52124**
Doa	FBgn0259220	FBtr0299747	833	290	2,23775E-41	**1,52226**
dikar	FBgn0261934	FBtr0303751	948	330	5,88637E-47	**1,52242**
kek5	FBgn0031016	FBtr0074707	839	292	1,22891E-41	**1,52270**
mRpL52	FBgn0033208	FBtr0088942	1057	367	1,71659E-52	**1,52612**
RpS14a	FBgn0004403	FBtr0071094	15835	5493	0	**1,52745**
Hsp60	FBgn0015245	FBtr0073434	2133	739	1,22739E-105	**1,52924**
mask	FBgn0043884	FBtr0305043	3551	1230	1,62207E-175	**1,52957**
mask	FBgn0043884	FBtr0084562,FBtr0084563	3549	1227	4,65767E-176	**1,53228**
CR40502	FBgn0085737	FBtr0114187	1563	540	6,62857E-78	**1,53329**
Cpr78E	FBgn0037114	FBtr0078463	597	206	2,91016E-30	**1,53509**
vnc	FBgn0263251	FBtr0076348,FBtr0076350,FBtr0076349	584	201	7,93250E-30	**1,53877**
CG42455	FBgn0259932	FBtr0300238,FBtr0300239	584	201	7,93250E-30	**1,53877**
CG14997	FBgn0035515	FBtr0073226	462	159	1,08224E-23	**1,53887**
RpS7	FBgn0039757	FBtr0089423	5880	2021	3,32251E-294	**1,54075**
CG11752	FBgn0030292	FBtr0073452	1532	526	3,15868E-77	**1,54228**
CG6543	FBgn0033879	FBtr0087643	648	222	2,94334E-33	**1,54543**
kis	FBgn0086902	FBtr0078144	764	261	3,26085E-39	**1,54952**
RpL13A	FBgn0037351	FBtr0078705	71431	24399	0	**1,54973**
RpL36A	FBgn0031980	FBtr0079546	48536	16561	0	**1,55127**
Vha68-2	FBgn0020367	FBtr0080418	985	336	1,64027E-50	**1,55166**
mamo	FBgn0263115	FBtr0112554,FBtr0307299,FBtr0307298, FBtr0112555,FBtr0303571	660	225	3,65954E-34	**1,55254**
CG9669	FBgn0036667	FBtr0075339	494	168	7,76434E-26	**1,55605**
CG9669	FBgn0036667	FBtr0305272	494	168	7,76434E-26	**1,55605**
RpS7	FBgn0039757	FBtr0089424,FBtr0089425,FBtr0089422	5715	1937	6,11376E-293	**1,56093**
CG42238	FBgn0250867	FBtr0290305	828	280	2,90338E-43	**1,56420**
RpS26	FBgn0261597	FBtr0081091	74875	25311	0	**1,56472**
RpS26	FBgn0261597	FBtr0081090	74866	25308	0	**1,56472**
RpS26	FBgn0261597	FBtr0081089	74866	25308	0	**1,56472**
trol	FBgn0261451	FBtr0305158,FBtr0305159,FBtr0305160, FBtr0305161,FBtr0305167,FBtr0305168, FBtr0305169,FBtr0305170,FBtr0305171, FBtr0305172,FBtr0305173,FBtr0305174, FBtr0305175	738	249	1,18581E-38	**1,56748**
Vha68-2	FBgn0020367	FBtr0080419	983	331	1,52864E-51	**1,57036**
kek5	FBgn0031016	FBtr0074708	823	277	3,04931E-43	**1,57101**
CR33222	FBgn0053222	FBtr0300652	3218	1083	3,68146E-167	**1,57113**
CG42574	FBgn0260794	FBtr0303912,FBtr0303915,FBtr0301437	2196	739	2,63352E-114	**1,57123**
CG42574	FBgn0260794	FBtr0303913	2197	739	1,87443E-114	**1,57189**

CG42574	FBgn0260794	FBtr0303911,FBtr0303914,FBtr0303916, FBtr0303917	2210	742	1,63127E-115	**1,57456**
Cpr49Ag	FBgn0033730	FBtr0087922	1193	400	8,48189E-63	**1,57652**
CG5527	FBgn0039564	FBtr0085255	472	158	2,10920E-25	**1,57886**
Not1	FBgn0085436	FBtr0112674	398	133	1,35884E-21	**1,58134**
CG13319	FBgn0033781	FBtr0087788	1208	403	3,72812E-64	**1,58377**
CG13319	FBgn0033781	FBtr0300890	1208	403	3,72812E-64	**1,58377**
pncr002:3R	FBgn0063127	FBtr0091948	2537	845	2,92109E-134	**1,58610**
CG15523	FBgn0039727	FBtr0085505,FBtr0300825	401	133	4,87925E-22	**1,59218**
Bet5	FBgn0260860	FBtr0085570	766	254	2,49300E-41	**1,59252**
Cyt-b5	FBgn0033189	FBtr0088905	1065	353	4,06283E-57	**1,59311**
RpL17	FBgn0029897	FBtr0070980	341	113	8,26233E-19	**1,59345**
CG11455	FBgn0031228	FBtr0078117,FBtr0301887,FBtr0301888	1007	333	2,41441E-54	**1,59647**
RpL7A	FBgn0014026	FBtr0070916	487	161	1,30023E-26	**1,59686**
RpL35	FBgn0029785	FBtr0070800,FBtr0070801	57876	19116	0	**1,59818**
Hsp68	FBgn0001230	FBtr0084589	3477	1148	2,74089E-186	**1,59872**
CR12628	FBgn0042701	FBtr0085952	1099	362	1,37283E-59	**1,60213**
RpS18	FBgn0010411	FBtr0086273	854	281	1,31080E-46	**1,60367**
CG9775	FBgn0037261	FBtr0301297,FBtr0078894	942	308	9,81866E-52	**1,61280**
CG4692	FBgn0035032	FBtr0072340	1640	536	1,00487E-89	**1,61339**
trx	FBgn0003862	FBtr0082950,FBtr0082947	872	284	2,71852E-48	**1,61844**
rg	FBgn0086911	FBtr0110993,FBtr0290088,FBtr0299589	348	113	7,26088E-20	**1,62276**
RpL36	FBgn0002579	FBtr0070155	1419	460	1,11182E-78	**1,62517**
CG14482	FBgn0034245	FBtr0086905	2548	824	2,92025E-141	**1,62865**
Megalin	FBgn0261260	FBtr0302153	15429	4974	0	**1,63317**
RpS14b	FBgn0004404	FBtr0071096	21107	6788	0	**1,63666**
eIF-3p40	FBgn0022023	FBtr0079030	3068	986	1,04374E-171	**1,63764**
CG12848	FBgn0040666	FBtr0072437	582	187	3,26108E-33	**1,63798**
CG30415	FBgn0250838	FBtr0072031	1767	565	4,92965E-100	**1,64498**
RpL17	FBgn0029897	FBtr0070982	830	265	2,06949E-47	**1,64712**
CG4692	FBgn0035032	FBtr0072339	1511	481	4,08546E-86	**1,65139**
tweek	FBgn0261671	FBtr0304928,FBtr0304929	645	205	2,93590E-37	**1,65368**
tweek	FBgn0261671	FBtr0304927,FBtr0304930	642	204	3,34417E-37	**1,65400**
RpL36	FBgn0002579	FBtr0070158	2636	837	1,92276E-150	**1,65505**
RpS18	FBgn0010411	FBtr0086274	950	300	3,86823E-55	**1,66297**
RpL36	FBgn0002579	FBtr0070156	2678	845	2,79763E-154	**1,66413**
btsz	FBgn0053555	FBtr0091530,FBtr0273200,FBtr0306612	2799	883	2,93476E-161	**1,66443**
CG2310	FBgn0039665	FBtr0085433	419	132	7,07603E-25	**1,66641**
CG30415	FBgn0250838	FBtr0072030	1706	534	8,45147E-100	**1,67571**
RpL36	FBgn0002579	FBtr0070157	2645	825	4,07556E-155	**1,68080**
RpS6	FBgn0261592	FBtr0071135	19764	6147	0	**1,68492**
brat	FBgn0010300	FBtr0081159	647	201	9,19244E-39	**1,68657**
RpS6	FBgn0261592	FBtr0071136	19557	6034	0	**1,69650**
Mical	FBgn0053208	FBtr0082213	1141	352	2,58563E-68	**1,69665**
Mical	FBgn0053208	FBtr0082210,FBtr0082211,FBtr0082212, FBtr0082206,FBtr0082207,FBtr0082208, FBtr0082209,FBtr0273185,FBtr0306607, FBtr0306608,FBtr0306609,FBtr0306610	1141	352	2,58563E-68	**1,69665**
Abi	FBgn0020510	FBtr0082910,FBtr0307077	308	95	4,57949E-19	**1,69693**
sun	FBgn0014391	FBtr0074176,FBtr0074177	7933	2444	0	**1,69862**
RpL17	FBgn0029897	FBtr0070980,FBtr0070981,FBtr0070982, FBtr0070983	69258	21266	0	**1,70343**
eIF-3p40	FBgn0022023	FBtr0079031	2926	891	9,29318E-178	**1,71543**
RpL12	FBgn0034968	FBtr0072175,FBtr0072174	8791	2676	0	**1,71595**
Obp99a	FBgn0039678	FBtr0085450	337	102	2,56603E-21	**1,72418**
RpS13	FBgn0010265	FBtr0079724	1540	466	1,21993E-94	**1,72453**
RpS13	FBgn0010265	FBtr0100541	1540	466	1,21993E-94	**1,72453**
CG11943	FBgn0031078	FBtr0074798	526	159	7,21940E-33	**1,72604**
CG11943	FBgn0031078	FBtr0074799	526	159	7,21940E-33	**1,72604**
CG13393	FBgn0032035	FBtr0079719	4746	1434	3,55532E-291	**1,72667**
dikar	FBgn0261934	FBtr0303748,FBtr0303751	414	125	4,19100E-26	**1,72770**
RpL12	FBgn0034968	FBtr0072176	8813	2652	0	**1,73255**
CG1753	FBgn0031148	FBtr0077244	326	98	8,37932E-21	**1,73402**
Vha100-2	FBgn0028670	FBtr0083656	291	87	7,80707E-19	**1,74193**
CG14057	FBgn0036696	FBtr0075286	292	87	5,39415E-19	**1,74688**
CG14057	FBgn0036696	FBtr0300718	293	87	3,74343E-19	**1,75181**
RpS17	FBgn0005533	FBtr0076479	37720	11037	0	**1,77298**
Hsp70Aa	FBgn0013275	FBtr0082512	7048	2041	0	**1,78794**
RpS21	FBgn0015521	FBtr0273293	28457	8236	0	**1,78877**
Hsp70Ab	FBgn0013276	FBtr0082482	7268	2096	0	**1,79392**
RpL41	FBgn0066084	FBtr0100231	88787	25328	0	**1,80962**
CG9336	FBgn0032897	FBtr0081427,FBtr0307498	348	99	6,16860E-24	**1,81359**
CG42497	FBgn0260223	FBtr0300626	4208	1191	1,10687E-282	**1,82096**
RpS12	FBgn0260441	FBtr0075878	48860	13793	0	**1,82472**
CR41583	FBgn0085805	FBtr0114259	267	75	8,61536E-19	**1,83188**
CG3214	FBgn0031436	FBtr0273393	924	259	2,12054E-63	**1,83494**
CG2310	FBgn0039665	FBtr0085434	622	174	4,76114E-43	**1,83783**
fd68A	FBgn0036134	FBtr0300783,FBtr0301967	401	112	5,68224E-28	**1,84010**
sls	FBgn0086906	FBtr0072848,FBtr0072849	4029	1125	1,22380E-275	**1,84050**
RpS21	FBgn0015521	FBtr0077621,FBtr0077623	27931	7783	0	**1,84347**
Vha44	FBgn0262511	FBtr0290032,FBtr0087173	318	88	1,15506E-22	**1,85345**
cher	FBgn0014141	FBtr0089471,FBtr0290014	731	202	3,20752E-51	**1,85552**
RpS8	FBgn0039713	FBtr0085489,FBtr0306645	98829	27184	0	**1,86218**
Tom7	FBgn0033357	FBtr0088657	6086	1661	0	**1,87344**
Wnk	FBgn0037098	FBtr0305329	323	88	1,67089E-23	**1,87596**
CG3214	FBgn0031436	FBtr0077745	997	271	5,86287E-71	**1,87930**
RpL17	FBgn0029897	FBtr0070981	736	200	1,13119E-52	**1,87971**
Wnk	FBgn0037098	FBtr0305328	324	88	1,13741E-23	**1,88042**
rno	FBgn0035106	FBtr0072532,FBtr0305548,FBtr0305549	1243	336	4,60125E-89	**1,88729**
RpS23	FBgn0033912	FBtr0087575	62416	16835	0	**1,89045**
CG16936	FBgn0027590	FBtr0305309	670	180	1,04143E-48	**1,89616**
nej	FBgn0261617	FBtr0302722	7300	1956	0	**1,89999**
nej	FBgn0261617	FBtr0302723,FBtr0071402	7300	1955	0	**1,90073**
RpS30	FBgn0038834	FBtr0083969	1653	442	8,53087E-120	**1,90297**
CG16936	FBgn0027590	FBtr0072436	653	174	5,50887E-48	**1,90800**
CG1969	FBgn0039690	FBtr0085475,FBtr0306104	418	111	5,41749E-31	**1,91294**
Wnk	FBgn0037098	FBtr0305330	279	74	6,00346E-21	**1,91467**
l(2)35Di	FBgn0001989	FBtr0080771,FBtr0080772	2673	702	1,27392E-197	**1,92892**

primo-1	FBgn0040077	FBtr0091748	332	87	3,45493E-25	**1,93210**
primo-1	FBgn0040077	FBtr0091747,FBtr0091749	332	87	3,45493E-25	**1,93210**
		FBtr0091745,FBtr0091746	332	87	3,45493E-25	**1,93210**
dikar	FBgn0261934	FBtr0303748,FBtr0303749,FBtr0303750, FBtr0303751	626	164	5,75895E-47	**1,93247**
CG10320	FBgn0034645	FBtr0300679,FBtr0300680	532	139	4,55073E-40	**1,93634**
CG10320	FBgn0034645	FBtr0113101,FBtr0113102	532	139	4,55073E-40	**1,93634**
sta	FBgn0003517	FBtr0070291	51560	13449	0	**1,93875**
CG1746	FBgn0039830	FBtr0085774,FBtr0306237	3190	832	1,05288E-237	**1,93890**
CG10320	FBgn0034645	FBtr0071663	533	139	3,03553E-40	**1,93905**
sta	FBgn0003517	FBtr0070289,FBtr0070290	51484	13414	0	**1,94038**
CG1746	FBgn0039830	FBtr0085772,FBtr0085773,FBtr0305120, FBtr0305121	3190	830	1,65127E-238	**1,94237**
RpL17	FBgn0029897	FBtr0070983	711	184	4,89507E-54	**1,95014**
CG17776	FBgn0040899	FBtr0070390	1774	458	4,45333E-134	**1,95359**
RpS10b	FBgn0261593	FBtr0308192	6988	1792	0	**1,96331**
trol	FBgn0261451	FBtr0305158,FBtr0305159,FBtr0305160, FBtr0305161,FBtr0305163,FBtr0305167, FBtr0305168,FBtr0305169,FBtr0305170, FBtr0305171,FBtr0305172,FBtr0305173, FBtr0305174,FBtr0305175	623	159	3,24932E-48	**1,97021**
RpS10b	FBgn0261593	FBtr0074731,FBtr0074732	6946	1765	0	**1,97651**
NP15.6	FBgn0027785	FBtr0083712	4754	1205	0	**1,98011**
rg	FBgn0086911	FBtr0070745,FBtr0110993,FBtr0290088, FBtr0299588	401	101	9,47462E-32	**1,98925**
CG2021	FBgn0035271	FBtr0072791	1284	322	1,52835E-100	**1,99551**
stan	FBgn0024836	FBtr0303223,FBtr0304899,FBtr0304900	1879	471	5,13918E-147	**1,99617**
CR41540	FBgn0085797	FBtr0114251	773	193	5,34087E-61	**2,00187**
brm	FBgn0000212	FBtr0075525	239	59	1,22731E-19	**2,01822**
RpS30	FBgn0038834	FBtr0083970	1607	394	5,17838E-129	**2,02810**
RpLP1	FBgn0002593	FBtr0078056	84340	20638	0	**2,03091**
LBR	FBgn0034657	FBtr0071711	224	54	5,57374E-19	**2,05247**
CG7834	FBgn0039697	FBtr0085536	646	155	1,70738E-53	**2,05927**
CG7834	FBgn0039697	FBtr0085535	661	158	8,23674E-55	**2,06473**
Mhc	FBgn0086783	FBtr0080895,FBtr0080896,FBtr0080897, FBtr0080898,FBtr0080899,FBtr0080900, FBtr0080901,FBtr0080902,FBtr0080903, FBtr0080905,FBtr0080906,FBtr0080907, FBtr0301827,FBtr0301828,FBtr0301829, FBtr0307492,FBtr0307493,FBtr0307494, FBtr0307495,FBtr0307496	459	109	1,33232E-38	**2,07417**
CG7637	FBgn0033548	FBtr0088252	3018	711	2,07713E-252	**2,08567**
Tim10	FBgn0027360	FBtr0071676	3119	732	5,88566E-262	**2,09117**
stan	FBgn0024836	FBtr0088214,FBtr0300578	1590	369	2,46706E-135	**2,10733**
Tim10	FBgn0027360	FBtr0071677	3073	713	3,99202E-261	**2,10767**
CG34250	FBgn0085279	FBtr0112444	281	65	1,19654E-24	**2,11206**
RpS21	FBgn0015521	FBtr0077621,FBtr0077623,FBtr0273293	1777	409	1,45148E-152	**2,11927**
Hsp70Bc	FBgn0013279	FBtr0082638	2160	496	1,22290E-185	**2,12262**
sphinx	FBgn0083990	FBtr0111044,FBtr0111045	577	131	9,90892E-51	**2,13900**
rg	FBgn0086911	FBtr0290088	203	46	2,65205E-18	**2,14177**
rg	FBgn0086911	FBtr0070745,FBtr0110993,FBtr0299588, FBtr0299589	203	46	2,65205E-18	**2,14177**
kis	FBgn0086902	FBtr0078144,FBtr0299837	25872	5823	0	**2,15156**
CG13041	FBgn0036605	FBtr0075432	348	78	4,03172E-31	**2,15754**
Hsp70Bb	FBgn0013278	FBtr0082637	2257	495	2,55133E-203	**2,18891**
mRpL33	FBgn0040907	FBtr0070655	820	177	2,10745E-75	**2,21187**
snRNA:U12:73B	FBgn0041721	FBtr0075315	278	60	6,47495E-26	**2,21205**
CR40560	FBgn0085743	FBtr0114193	510	110	3,27652E-47	**2,21299**
Hsp70Ba	FBgn0013277	FBtr0082679	4096	882	0	**2,21537**
CR40677	FBgn0085765	FBtr0114215	275	59	6,31482E-26	**2,22064**
CG13731	FBgn0036717	FBtr0306800	304	65	1,30386E-28	**2,22556**
Obp83g	FBgn0046875	FBtr0078617	253	53	2,13383E-24	**2,25507**
RpL32	FBgn0002626	FBtr0085594	13427	2806	0	**2,25855**
RpL32	FBgn0002626	FBtr0085592,FBtr0085593,FBtr0114555, FBtr0114556	13427	2805	0	**2,25906**
RpL9	FBgn0015756	FBtr0080164	6292	1250	0	**2,33159**
RpL9	FBgn0015756	FBtr0080163	6217	1230	0	**2,33756**
RpL29	FBgn0016726	FBtr0071592,FBtr0071593,FBtr0305669	68236	13437	0	**2,34432**
LBR	FBgn0034657	FBtr0071712	194	38	4,95286E-20	**2,35199**
dp	FBgn0053196	FBtr0290006,FBtr0305136,FBtr0305137, FBtr0305138,FBtr0305139,FBtr0305140, FBtr0305141,FBtr0305142,FBtr0305143, FBtr0305144,FBtr0305145,FBtr0305146	24756	4829	0	**2,35798**
CR41544	FBgn0085799	FBtr0114253	805	157	3,43329E-81	**2,35822**
CG7580	FBgn0036728	FBtr0075222,FBtr0302509,FBtr0302510	1672	324	6,85330E-169	**2,36751**
RNaseP:RNA	FBgn0046696	FBtr0085775	575	111	1,04906E-58	**2,37300**
Hsp70Bbb	FBgn0051354	FBtr0082636	2241	425	2,46665E-230	**2,39861**
Doa	FBgn0259220	FBtr0299751	2064	391	2,13191E-212	**2,40020**
dp	FBgn0053196	FBtr0290006,FBtr0305136,FBtr0305137, FBtr0305138,FBtr0305139,FBtr0305140, FBtr0305141,FBtr0305143,FBtr0305144, FBtr0305145,FBtr0305146	886	165	7,61881E-93	**2,42484**
CR40639	FBgn0085758	FBtr0114208	958	171	1,18640E-103	**2,48603**
CR40641	FBgn0085760	FBtr0114210	928	158	3,57339E-104	**2,55420**
CR40640	FBgn0085759	FBtr0114209	895	149	2,68610E-102	**2,58658**
RpL27	FBgn0039359	FBtr0084932	157054	26028	0	**2,59312**
shot	FBgn0013733	FBtr0087617,FBtr0087619,FBtr0087616, FBtr0273222,FBtr0273223,FBtr0273224, FBtr0273225,FBtr0273226,FBtr0301591, FBtr0301592,FBtr0301593,FBtr0304847, FBtr0304848,FBtr0304849,FBtr0304850, FBtr0304851,FBtr0304852,FBtr0304853	297	49	1,44072E-34	**2,59961**
Doa	FBgn0259220	FBtr0299743	678	111	1,32812E-78	**2,61073**
		FBtr0302095,FBtr0302097,FBtr0302098, FBtr0302099,FBtr0302100,FBtr0302101, FBtr0302102,FBtr0302103	222	36	2,10090E-26	**2,62449**
RpL31	FBgn0025286	FBtr0088525	27890	4332	0	**2,68664**
RpL31	FBgn0025286	FBtr0088526,FBtr0088527	27815	4294	0	**2,69547**

CR41539	FBgn0085796	FBtr0114250	1168	179	2,65979E-141	**2,70601**
spen	FBgn0016977	FBtr0078122	412	63	2,80057E-50	**2,70922**
spen	FBgn0016977	FBtr0078121,FBtr0306341	412	63	2,80057E-50	**2,70922**
CR40642	FBgn0085761	FBtr0114211	1042	159	1,51184E-126	**2,71226**
Lcp2	FBgn0002533	FBtr0088761	375	57	5,66580E-46	**2,71786**
CR41613	FBgn0085822	FBtr0114280	978	143	3,91405E-122	**2,77382**
RpL31	FBgn0025286	FBtr0088527	63967	9249	0	**2,78996**
RpL31	FBgn0025286	FBtr0088526,FBtr0088525	63967	9247	0	**2,79027**
CR34335	FBgn0085364	FBtr0307366	116759	16764	0	**2,80010**
CG5021	FBgn0035944	FBtr0301140	295	42	8,52333E-38	**2,81225**
CG5021	FBgn0035944	FBtr0076513,FBtr0301139	295	42	8,52333E-38	**2,81225**
CG5021	FBgn0035944	FBtr0076514	295	42	8,52333E-38	**2,81225**
CR40766	FBgn0085773	FBtr0114223	606	86	2,54423E-77	**2,81691**
shot	FBgn0013733	FBtr0301964,FBtr0087621,FBtr0087617, FBtr0087618,FBtr0087619,FBtr0087620, FBtr0087616,FBtr0273222,FBtr0273223, FBtr0273224,FBtr0273225,FBtr0273226, FBtr0301591,FBtr0301592,FBtr0301593, FBtr0304847,FBtr0304848,FBtr0304849, FBtr0304850,FBtr0304852,FBtr0304853	3232	451	0	**2,84123**
Msp-300	FBgn0261836	FBtr0303383,FBtr0303385,FBtr0303388, FBtr0303389	1405	196	2,23395E-180	**2,84164**
CG7580	FBgn0036728	FBtr0075222,FBtr0302510	4472	604	0	**2,88830**
shot	FBgn0013733	FBtr0087621	2299	309	7,42956E-302	**2,89533**
RpS19a	FBgn0010412	FBtr0074313	5770	770	0	**2,90564**
l(2)efl	FBgn0011296	FBtr0072101	136	18	1,16224E-18	**2,91754**
l(2)efl	FBgn0011296	FBtr0072100	136	18	1,16224E-18	**2,91754**
CG7580	FBgn0036728	FBtr0302509	5172	678	0	**2,93137**
ple	FBgn0005626	FBtr0076956,FBtr0076957	313	41	4,67102E-42	**2,93247**
Msp-300	FBgn0261836	FBtr0303384	10170	1318	0	**2,94790**
Msp-300	FBgn0261836	FBtr0303387	10155	1307	0	**2,95786**
CR41535	FBgn0085795	FBtr0114249	1735	220	8,22182E-236	**2,97936**
CR40668	FBgn0085764	FBtr0114214	1511	189	5,45978E-207	**2,99905**
shot	FBgn0013733	FBtr0087617,FBtr0087618,FBtr0087619, FBtr0087616,FBtr0273222,FBtr0273223, FBtr0273224,FBtr0273225,FBtr0273226, FBtr0301591,FBtr0301592,FBtr0304849, FBtr0304850	226	27	3,11258E-32	**3,06529**
Lcp4	FBgn0002535	FBtr0088744	486	58	1,12664E-68	**3,06683**
zye	FBgn0036985	FBtr0078191	147	17	1,72053E-21	**3,11221**
Lcp3	FBgn0002534	FBtr0088743	183	21	1,24018E-26	**3,12338**
CG42500	FBgn0260226	FBtr0300627	282	32	3,83167E-41	**3,13955**
Msp-300	FBgn0261836	FBtr0303383,FBtr0303384,FBtr0303385, FBtr0303386,FBtr0303387,FBtr0303388, FBtr0303389	704	76	3,04342E-104	**3,21150**
CG7580	FBgn0036728	FBtr0075222	700	74	7,99058E-105	**3,24176**
CG7580	FBgn0036728	FBtr0302510	700	74	7,99058E-105	**3,24176**
RpS19a	FBgn0010412	FBtr0074312,FBtr0074311	5476	576	0	**3,24898**
CR41609	FBgn0085819	FBtr0114277	651	66	2,20914E-99	**3,30212**
CG34227	FBgn0085256	FBtr0112420	158	16	1,26353E-24	**3,30378**
Lin29	FBgn0262636	FBtr0307043,FBtr0307044,FBtr0307045, FBtr0307046,FBtr0089129,FBtr0089128	230	23	1,44564E-35	**3,32193**
CG6793	FBgn0036242	FBtr0076051	172	17	4,96306E-27	**3,33880**
CR40546	FBgn0085742	FBtr0114192	1356	133	8,49863E-210	**3,34986**
dp	FBgn0053196	FBtr0290006,FBtr0305136,FBtr0305138, FBtr0305139,FBtr0305140,FBtr0305141, FBtr0305142,FBtr0305143,FBtr0305144, FBtr0305146	594	56	1,17436E-93	**3,40696**
Msp-300	FBgn0261836	FBtr0303383,FBtr0303385	152	14	1,69611E-24	**3,44057**
shot	FBgn0013733	FBtr0087617,FBtr0087616,FBtr0273222, FBtr0273223,FBtr0273224,FBtr0301591, FBtr0304849,FBtr0304850	243	21	5,13686E-40	**3,53250**
CR40596	FBgn0085753	FBtr0114203	1657	137	4,78875E-275	**3,59633**
Lcp1	FBgn0002531	FBtr0088763	789	63	4,96932E-133	**3,64660**
CG11854	FBgn0039299	FBtr0084811	113	9	1,40418E-19	**3,65025**
shot	FBgn0013733	FBtr0087618,FBtr0087619,FBtr0273225, FBtr0273226,FBtr0301592	362	28	8,52855E-62	**3,69249**
RpS4	FBgn0011284	FBtr0075884	1107	82	1,67400E-191	**3,75489**
CR40963	FBgn0085779	FBtr0114230	112	8	4,26876E-20	**3,80735**
GstS1	FBgn0010226	FBtr0087006	100	7	3,82447E-18	**3,83650**
7SLRNA:CR42652	FBgn0261504	FBtr0302398	689	44	3,01389E-125	**3,96893**
CG17374	FBgn0040001	FBtr0305959	216	13	3,81913E-40	**4,05445**
RpS4	FBgn0011284	FBtr0075885	1058	62	4,68864E-197	**4,09293**
dp	FBgn0053196	FBtr0290006,FBtr0305136,FBtr0305137, FBtr0305138,FBtr0305139,FBtr0305140, FBtr0305144,FBtr0305146	446	26	1,70905E-83	**4,10046**
dp	FBgn0053196	FBtr0290006,FBtr0305136,FBtr0305137, FBtr0305139,FBtr0305140,FBtr0305141, FBtr0305142,FBtr0305143,FBtr0305144, FBtr0305146	457	25	7,59119E-87	**4,19219**
dp	FBgn0053196	FBtr0290006,FBtr0305136,FBtr0305137, FBtr0305138,FBtr0305139,FBtr0305140, FBtr0305143,FBtr0305146	397	21	3,73179E-76	**4,24068**
7SLRNA:CR32864	FBgn0000003	FBtr0081624	1163	57	2,25588E-227	**4,35075**
dp	FBgn0053196	FBtr0290006,FBtr0305136,FBtr0305137, FBtr0305138,FBtr0305139,FBtr0305140, FBtr0305141,FBtr0305142,FBtr0305143, FBtr0305144	3523	157	0	**4,48797**
Or2a	FBgn0023523	FBtr0070397	961	31	5,00750E-205	**4,95420**
dp	FBgn0053196	FBtr0290006,FBtr0305137,FBtr0305138, FBtr0305139,FBtr0305140,FBtr0305141, FBtr0305142,FBtr0305143,FBtr0305144	121	3	3,55179E-27	**5,33390**
Cyp4g1	FBgn0010019	FBtr0070099	204	5	1,64451E-45	**5,35050**
RNaseMRP:RNA	FBgn0065098	FBtr0091662	641	11	3,72336E-149	**5,86475**
Obp56d	FBgn0034470	FBtr0086477	1032	16	2,51983E-242	**6,01123**
CG8664	FBgn0030836	FBtr0074445	133	2	1,57588E-31	**6,05528**
CG14302	FBgn0038647	FBtr0083673	84	1	2,82643E-20	**6,39232**
CG30025	FBgn0050025	FBtr0088158	109	1	9,98671E-27	**6,76818**

Jon65Aiv	FBgn0250815	FBtr0077040	704	5	7,35623E-175	**7,13750**
yip7	FBgn0040060	FBtr0077038	282	2	6,30492E-70	**7,13955**
CG30031	FBgn0050031	FBtr0088123	243	1	2,03050E-61	**7,92481**
Jon65Aiii	FBgn0035665	FBtr0077041	585	2	2,34171E-149	**8,19229**
CG33333	FBgn0053333	FBtr0083441	119	0	5,38256E-31	**Infinity**
gammaTry	FBgn0010359	FBtr0088159	123	0	4,24171E-32	**Infinity**
Jon25Bi	FBgn0020906	FBtr0100432	201	0	1,27844E-52	**Infinity**
Jon25Bi	FBgn0020906	FBtr0079054	201	0	1,27844E-52	**Infinity**
deltaTry	FBgn0010358	FBtr0088124	255	0	7,45484E-67	**Infinity**
CG42834	FBgn0262023	FBtr0303853	278	0	6,67100E-73	**Infinity**
CG14332	FBgn0038509	FBtr0083446	394	0	1,97948E-103	**Infinity**

Supplementary Table 4: Genes up-regulated in *sd::Gal4>UAS::RpL12-Myc vs sd::Gal4/+*. FC: Fold Change.

Flybase Gene Symbol	Flybase ID Genes	Flybase ID Transcripts	Number of reads *sd::Gal4>UAS::RpL12-Myc*	Number of reads *sd::Gal4/+*	Adjusted *P*-value	log_2(FC)
MrgBP	FBgn0033341	FBtr0088684	1356	678	2,02845E-24	**1**
verm	FBgn0261341	FBtr0074954,FBtr0074957,FBtr0302334, FBtr0302335	1130	565	1,50215E-20	**1**
Ing3	FBgn0030945	FBtr0074614	1072	536	1,55490E-19	**1**
RpL34a	FBgn0039406	FBtr0084972,FBtr0084973	1808	904	3,01288E-32	**1**
RFeSP	FBgn0021906	FBtr0077915	3402	1700	3,88114E-60	**1,00085**
CG6769	FBgn0030878	FBtr0074493	2136	1067	4,27646E-38	**1,00135**
RpL34a	FBgn0039406	FBtr0302369	1806	902	2,16063E-32	**1,00160**
CG12125	FBgn0030037	FBtr0071246,FBtr0300383	1588	793	1,35688E-28	**1,00182**
betaTub56D	FBgn0003887	FBtr0086536,FBtr0086537	235587	117616	0	**1,00218**
Pglym78	FBgn0014869	FBtr0085384,FBtr0100482,FBtr0100483	3008	1501	1,51797E-53	**1,00288**
raptor	FBgn0029840	FBtr0070885	4271	2129	5,56110E-76	**1,00440**
Smr	FBgn0024308	FBtr0073706,FBtr0073707,FBtr0073708	19702	9819	0	**1,00469**
px	FBgn0003175	FBtr0071838	1130	563	8,78571E-21	**1,00512**
eIF-2alpha	FBgn0261609	FBtr0074300	9500	4730	2,15489E-164	**1,00609**
kst	FBgn0004167	FBtr0073070,FBtr0073071,FBtr0073072, FBtr0303857,FBtr0300017	25776	12802	0	**1,00966**
mRpL35	FBgn0038923	FBtr0084171	1019	506	5,40967E-19	**1,00994**
CG10527	FBgn0034583	FBtr0071541	1934	959	1,58821E-35	**1,01199**
ATPsyn-b	FBgn0019644	FBtr0076405,FBtr0076406	4670	2315	1,23433E-84	**1,01241**
PHGPx	FBgn0035438	FBtr0073066	1050	520	8,72547E-20	**1,01381**
brat	FBgn0010300	FBtr0304151	19588	9699	0	**1,01406**
betaTub56D	FBgn0003887	FBtr0086539	258292	127875	0	**1,01427**
skpA	FBgn0025637	FBtr0070124	1521	753	3,11475E-28	**1,01430**
blw	FBgn0011211	FBtr0071883	87603	43350	0	**1,01495**
Upd0	FBgn0033428	FBtr0114567	2213	1095	7,50417E-41	**1,01507**
CG32529	FBgn0052529	FBtr0074800,FBtr0306520	2474	1224	1,47043E-45	**1,01524**
Ef1beta	FBgn0028737	FBtr0087041	36596	18103	0	**1,01546**
chic	FBgn0000308	FBtr0079235	2806	1388	1,45487E-51	**1,01551**
CG9027	FBgn0033631	FBtr0089939,FBtr0089938,FBtr0100658, FBtr0110897	6020	2977	8,94467E-110	**1,01590**
CG9436	FBgn0033101	FBtr0086134	2187	1081	1,63834E-40	**1,01659**
CG4769	FBgn0035600	FBtr0077144,FBtr0306086	2803	1385	9,77260E-52	**1,01709**
CG9027	FBgn0033631	FBtr0100658	3822	1888	2,87431E-70	**1,01747**
CG17121	FBgn0039043	FBtr0084361	1857	917	1,34507E-34	**1,01798**
Spn27A	FBgn0028990	FBtr0079321	10705	5284	7,61289E-191	**1,01858**
RpS9	FBgn0010408	FBtr0076423,FBtr0076425	13789	6794	3,50698E-247	**1,02118**
nocte	FBgn0261710	FBtr0071461	1940	955	1,51231E-36	**1,02248**
		FBtr0071291,FBtr0071289	16918	8328	4,02654E-304	**1,02252**
Tao-1	FBgn0031030	FBtr0074771,FBtr0303999	996	490	2,97305E-19	**1,02336**
betaTub56D	FBgn0003887	FBtr0086538	248380	122143	0	**1,02398**
RpL10Ab	FBgn0036213	FBtr0302135	4650	2286	8,23109E-87	**1,02441**
stan	FBgn0024836	FBtr0088214,FBtr0300578,FBtr0303223, FBtr0304899,FBtr0304900	9416	4628	1,98716E-170	**1,02473**
Oscp	FBgn0016691	FBtr0083064	4767	2342	3,56421E-89	**1,02534**
Oscp	FBgn0016691	FBtr0083063	5681	2791	3,97931E-106	**1,02536**
br	FBgn0000210	FBtr0300430	3420	1680	3,21195E-64	**1,02554**
RpS7	FBgn0039757	FBtr0089425,FBtr0089422,FBtr0089423	61115	29982	0	**1,02743**
Fer1HCH	FBgn0015222	FBtr0085631,FBtr0085632,FBtr0085633, FBtr0085634,FBtr0306587,FBtr0306588	2693	1321	5,64049E-51	**1,02758**
Smr	FBgn0024308	FBtr0073708	1854	909	1,84214E-35	**1,02829**
Spp	FBgn0031260	FBtr0078080	9160	4489	1,77101E-167	**1,02895**
CG8399	FBgn0034067	FBtr0087207	5734	2810	5,60370E-108	**1,02897**
CG5446	FBgn0032429	FBtr0080388	3683	1804	8,45765E-70	**1,02968**
CG5903	FBgn0038400	FBtr0083281	4957	2423	2,48674E-94	**1,03267**
Dph5	FBgn0024558	FBtr0084280	4202	2052	2,54709E-80	**1,03405**
CG13185	FBgn0033661	FBtr0113072	5630	2748	1,50516E-107	**1,03475**
EfTuM	FBgn0024556	FBtr0301389	7014	3422	2,35071E-130	**1,03540**
pcx	FBgn0003048	FBtr0070395	5518	2692	1,48674E-105	**1,03547**
EfTuM	FBgn0024556	FBtr0087670	7016	3422	1,62204E-130	**1,03581**
CG30410	FBgn0050410	FBtr0305675	4286	2090	2,81962E-82	**1,03613**
CG12859	FBgn0033961	FBtr0087440	1030	502	1,75967E-20	**1,03689**
l(2)tid	FBgn0002174	FBtr0089503,FBtr0089504	1700	828	2,87285E-33	**1,03783**
CG13185	FBgn0033661	FBtr0113071	5497	2677	8,27084E-106	**1,03803**
bou	FBgn0261284	FBtr0071004	3011	1465	1,74781E-58	**1,03934**
l(2)tid	FBgn0002174	FBtr0089505	1700	827	2,17364E-33	**1,03958**
l(2)tid	FBgn0002174	FBtr0306253	1700	827	2,17364E-33	**1,03958**
Sop2	FBgn0001961	FBtr0080569,FBtr0080570	4838	2353	1,11810E-93	**1,03991**
RpS26	FBgn0261597	FBtr0081090,FBtr0081089	17268	8397	0	**1,04016**
Aats-ala	FBgn0027094	FBtr0079721	7560	3676	4,88035E-142	**1,04025**
mRpS29	FBgn0034727	FBtr0071842	2019	981	1,10317E-39	**1,04132**
sdt	FBgn0261873	FBtr0308217,FBtr0308218,FBtr0308220	1554	754	7,06316E-31	**1,04335**
RpS5a	FBgn0002590	FBtr0074406	76228	36960	0	**1,04436**
RpL36	FBgn0002579	FBtr0070155	949	460	2,73177E-19	**1,04477**
l(1)G0334	FBgn0028325	FBtr0070711,FBtr0070708,FBtr0070709, FBtr0070710	2644	1281	3,09608E-52	**1,04545**
CG12203	FBgn0031021	FBtr0074712	1856	899	5,77592E-37	**1,04580**
mRpL27	FBgn0053002	FBtr0077451	915	443	1,13579E-18	**1,04647**
B52	FBgn0004587	FBtr0082804,FBtr0082806	3676	1779	1,38073E-72	**1,04707**
Ubp64E	FBgn0016756	FBtr0077095,FBtr0306259	1292	625	4,29989E-26	**1,04768**
Aats-ala	FBgn0027094	FBtr0079722	7373	3565	3,85872E-141	**1,04835**
RpL24	FBgn0032518	FBtr0080524	36081	17445	0	**1,04843**
CG9172	FBgn0030718	FBtr0074151	3146	1521	1,89804E-62	**1,04850**
CG9172	FBgn0030718	FBtr0074152	3128	1512	3,74710E-62	**1,04878**
Arc-p20	FBgn0031781	FBtr0079200	1935	935	8,41494E-39	**1,04930**
vav	FBgn0040068	FBtr0074677,FBtr0074678,FBtr0113316	2326	1123	1,57235E-46	**1,05049**
Zw	FBgn0004057	FBtr0074748,FBtr0074749	1413	681	7,80737E-29	**1,05303**
Ten-a	FBgn0259240	FBtr0300201,FBtr0300202,FBtr0300203, FBtr0300204,FBtr0299858,FBtr0299859, FBtr0299860,FBtr0308221,FBtr0308222, FBtr0308223	22871	11010	0	**1,05471**
Roc1a	FBgn0025638	FBtr0070122	2306	1110	1,20580E-46	**1,05483**
RpL34b	FBgn0037686	FBtr0082050	5473	2634	1,21542E-109	**1,05508**
l(2)03709	FBgn0010551	FBtr0086614,FBtr0086615,FBtr0086616, FBtr0112861,FBtr0112862,FBtr0112863	6680	3214	9,00205E-134	**1,05548**
		FBtr0273184	2311	1111	6,74669E-47	**1,05666**
RpL34b	FBgn0037686	FBtr0082049	5477	2633	3,80051E-110	**1,05668**

Tig	FBgn0011722	FBtr0079275	986	474	1,45030E-20	**1,05670**
Updo	FBgn0033428	FBtr0088524	2724	1309	2,88788E-55	**1,05726**
B52	FBgn0004587	FBtr0082801,FBtr0082802,FBtr0082803, FBtr0300586,FBtr0300588,FBtr0300589, FBtr0308195,FBtr0308196,FBtr0308197	3637	1747	1,45863E-73	**1,05787**
CR41548	FBgn0085802	FBtr0114256	2827	1357	1,68458E-57	**1,05885**
CG1943	FBgn0037468	FBtr0081635	2292	1100	7,39472E-47	**1,05910**
CG9603	FBgn0040529	FBtr0081855	2129	1021	1,12543E-43	**1,06019**
Tsp	FBgn0031850	FBtr0079311,FBtr0079312,FBtr0079313, FBtr0079314,FBtr0114488	3059	1466	1,60260E-62	**1,06117**
mRpL22	FBgn0030786	FBtr0074330	1639	785	6,61194E-34	**1,06205**
RpL3	FBgn0020910	FBtr0082346,FBtr0302586	179648	85974	0	**1,06320**
cp309	FBgn0086690	FBtr0305977,FBtr0305978,FBtr0305979	2467	1180	7,18769E-51	**1,06397**
RpL35	FBgn0029785	FBtr0070800,FBtr0070801	39985	19116	0	**1,06468**
RpL9	FBgn0015756	FBtr0080163,FBtr0080164	54967	26270	0	**1,06515**
Hsp60	FBgn0015245	FBtr0073434,FBtr0073435	30921	14762	0	**1,06670**
Aats-glupro	FBgn0005674	FBtr0084511	7987	3810	1,11739E-159	**1,06786**
RpS9	FBgn0010408	FBtr0076423,FBtr0076424	14398	6868	2,20976E-287	**1,06791**
RpS9	FBgn0010408	FBtr0076425	14386	6861	2,57971E-287	**1,06817**
rhea	FBgn0260442	FBtr0076627,FBtr0305210,FBtr0305211, FBtr0305212	7750	3695	3,21227E-155	**1,06862**
CG10249	FBgn0027596	FBtr0087429,FBtr0112929,FBtr0303757	1129	538	5,09001E-24	**1,06937**
CG9331	FBgn0032889	FBtr0081419,FBtr0081420,FBtr0081421, FBtr0081417,FBtr0081418,FBtr0302942, FBtr0302943,FBtr0302944,FBtr0302945	3119	1486	5,74885E-65	**1,06965**
CG5548	FBgn0030605	FBtr0073960	1564	745	5,87926E-33	**1,06993**
CG11505	FBgn0035424	FBtr0073045,FBtr0073046,FBtr0308061	7724	3679	3,48202E-155	**1,07003**
Mrtf	FBgn0052296	FBtr0072944,FBtr0290067,FBtr0306331, FBtr0306332	926	441	7,12517E-20	**1,07023**
Rpt3	FBgn0028686	FBtr0073436	11484	5459	6,92312E-232	**1,07292**
Mdh1	FBgn0262782	FBtr0080050	5004	2377	1,15282E-104	**1,07394**
cic	FBgn0262582	FBtr0305029	7631	3622	4,92467E-155	**1,07509**
BM-40-SPARC	FBgn0026562	FBtr0085094	2615	1241	2,68763E-55	**1,07531**
hang	FBgn0026575	FBtr0074276,FBtr0074277	4626	2195	3,12667E-97	**1,07554**
CG30185	FBgn0050185	FBtr0072060	1568	744	1,79184E-33	**1,07555**
Taf10	FBgn0028398	FBtr0077717	1580	749	8,51566E-34	**1,07689**
RpL37a	FBgn0030616	FBtr0074027	64643	30634	0	**1,07736**
Arp11	FBgn0031050	FBtr0074760	1752	830	1,71734E-37	**1,07782**
trx	FBgn0003862	FBtr0082950,FBtr0082949,FBtr0082947, FBtr0082948,FBtr0100277	13768	6521	4,30880E-281	**1,07815**
RpS20	FBgn0019936	FBtr0083964	48284	22860	0	**1,07872**
CG8111	FBgn0035825	FBtr0076770	1234	584	8,45395E-27	**1,07930**
CG30499	FBgn0050499	FBtr0088954	2545	1203	1,72548E-54	**1,08103**
Bruce	FBgn0037808	FBtr0082239	16476	7785	0	**1,08160**
RpL11	FBgn0013325	FBtr0086533	43709	20647	0	**1,08200**
RpL10Ab	FBgn0036213	FBtr0076032,FBtr0304648	3961	1869	7,57611E-85	**1,08360**
Rpl15	FBgn0004855	FBtr0082925	2361	1114	7,38044E-51	**1,08365**
tutl	FBgn0010473	FBtr0089271,FBtr0089269,FBtr0089270, FBtr0301863,FBtr0301864	1560	736	6,24925E-34	**1,08377**
Tim10	FBgn0027360	FBtr0071677,FBtr0071676	973	459	1,58722E-21	**1,08395**
proPO-A1	FBgn0261362	FBtr0302291	1904	898	3,17951E-41	**1,08425**
RpL36	FBgn0002579	FBtr0070158	1776	837	1,24978E-38	**1,08533**
CycG	FBgn0039858	FBtr0085801	3220	1517	2,06798E-69	**1,08584**
cher	FBgn0014141	FBtr0089471,FBtr0303364,FBtr0290014	12825	6042	2,75630E-266	**1,08586**
CG2200	FBgn0030447	FBtr0073721	1159	545	1,23436E-25	**1,08855**
RpL36	FBgn0002579	FBtr0070156	1797	845	2,38795E-39	**1,08857**
capt	FBgn0261458	FBtr0100022	1030	484	5,95350E-23	**1,08957**
Ahcy13	FBgn0014455	FBtr0074030	11618	5455	8,39892E-244	**1,09071**
Ppox	FBgn0020018	FBtr0084664	1430	669	4,94926E-32	**1,09594**
CG3321	FBgn0038224	FBtr0082931,FBtr0082932,FBtr0303795	4130	1931	5,80349E-91	**1,09679**
Scsalpha	FBgn0004888	FBtr0073151,FBtr0303096	5813	2713	1,59555E-128	**1,09939**
scf	FBgn0025682	FBtr0089942	1091	509	8,89578E-25	**1,09991**
vsg	FBgn0045823	FBtr0076399,FBtr0076401	1392	649	1,59137E-31	**1,10087**
Got2	FBgn0001125	FBtr0077867,FBtr0077868	903	421	9,86467E-21	**1,10091**
CG5261	FBgn0031912	FBtr0079444	858	400	9,27935E-20	**1,10098**
RpS15	FBgn0034138	FBtr0087123,FBtr0087124	47369	22078	0	**1,10133**
Pros29	FBgn0261394	FBtr0071522	9725	4531	4,48414E-209	**1,10187**
CG3500	FBgn0034849	FBtr0072038	894	416	1,33385E-20	**1,10369**
scf	FBgn0025682	FBtr0089940	1090	507	4,79831E-25	**1,10427**
RpL36	FBgn0002579	FBtr0070157	1774	825	3,14239E-40	**1,10454**
CG4542	FBgn0029906	FBtr0070970	1200	557	1,29857E-27	**1,10729**
CG33156	FBgn0053156	FBtr0087681,FBtr0087682,FBtr0087683, FBtr0087684,FBtr0113450	1178	546	2,71163E-27	**1,10937**
Smr	FBgn0024308	FBtr0073707	1827	846	6,59094E-42	**1,11075**
mRpL52	FBgn0033208	FBtr0088942	793	367	1,05539E-18	**1,11154**
RpS7	FBgn0039757	FBtr0089424	52580	24301	0	**1,11350**
Prosalpha5	FBgn0016697	FBtr0086910,FBtr0086911	4518	2088	4,74544E-103	**1,11356**
Rbcn-3A	FBgn0023458	FBtr0303341	10992	5071	2,52448E-243	**1,11611**
Sop2	FBgn0001961	FBtr0080570	978	451	4,31329E-23	**1,11671**
Aldh-III	FBgn0010548	FBtr0088993	1299	599	1,82255E-30	**1,11677**
RpL13	FBgn0011272	FBtr0079888,FBtr0100164	64576	29771	0	**1,11709**
CG30410	FBgn0050410	FBtr0301852	3924	1809	2,59922E-90	**1,11713**
Got2	FBgn0001125	FBtr0100359	1628	750	4,89251E-38	**1,11814**
		FBtr0302094,FBtr0302095,FBtr0302096, FBtr0302097,FBtr0302098,FBtr0302099, FBtr0302100,FBtr0302101,FBtr0302102, FBtr0302103	7429	3421	1,49151E-165	**1,11875**
vari	FBgn0250785	FBtr0089947,FBtr0089946	3150	1450	4,95283E-73	**1,11930**
CG3523	FBgn0027571	FBtr0077659,FBtr0290093	4259	1958	8,83308E-99	**1,12113**
vari	FBgn0250785	FBtr0089945	3006	1381	3,96900E-70	**1,12213**
RpL36A	FBgn0031980	FBtr0079546	36080	16561	0	**1,12341**
CG42669	FBgn0261551	FBtr0302685,FBtr0302683,FBtr0302684, FBtr0302678,FBtr0302679,FBtr0302682, FBtr0302676,FBtr0306701,FBtr0306702, FBtr0306703	1623	744	1,86271E-38	**1,12529**
RpS6	FBgn0261592	FBtr0071135,FBtr0071136	111250	50993	0	**1,12543**
RFeSP	FBgn0021906	FBtr0077914,FBtr0077915	743	340	3,79271E-18	**1,12783**
obst-B	FBgn0027600	FBtr0079934	3586	1640	1,31360E-84	**1,12868**
mRpS16	FBgn0033907	FBtr0087578	1052	481	1,82160E-25	**1,12903**
Cct5	FBgn0010621	FBtr0087987,FBtr0087988	31691	14486	0	**1,12941**
larp	FBgn0261618	FBtr0301180,FBtr0306389,FBtr0306390	2050	937	8,34373E-49	**1,12950**
CG8036	FBgn0037607	FBtr0081881	4799	2191	1,70528E-113	**1,13114**

tweek	FBgn0261671	FBtr0304927,FBtr0304928,FBtr0304929,FBtr0304930	6981	3187	1,34051E-159	**1,13123**
CR40728	FBgn0085769	FBtr0114219	3614	1648	5,89390E-86	**1,13288**
CG8036	FBgn0037607	FBtr0081882	4799	2188	5,09744E-114	**1,13312**
CG11873	FBgn0039633	FBtr0085365	14527	6623	0	**1,13318**
spen	FBgn0016977	FBtr0078122,FBtr0078121,FBtr0078123,FBtr0306341	20572	9374	0	**1,13395**
RpL32	FBgn0002626	FBtr0114555,FBtr0114556	38439	17501	0	**1,13513**
RpL32	FBgn0002626	FBtr0085592,FBtr0085593,FBtr0085594	38440	17501	0	**1,13517**
mRpS35	FBgn0035374	FBtr0301626	1007	458	8,85487E-25	**1,13664**
CG11151	FBgn0030519	FBtr0073819	2118	963	3,89143E-51	**1,13709**
vsg	FBgn0045823	FBtr0076398,FBtr0076400	1456	662	1,99537E-35	**1,13711**
CG17202	FBgn0038043	FBtr0082587	2755	1252	2,33591E-66	**1,13782**
dom	FBgn0020306	FBtr0071602,FBtr0071603,FBtr0071604,FBtr0301350	4751	2159	5,70525E-114	**1,13787**
eIF-3p40	FBgn0022023	FBtr0079030,FBtr0079031	20098	9133	0	**1,13789**
CG10320	FBgn0034645	FBtr0071663,FBtr0113101,FBtr0113102,FBtr0300679,FBtr0300680	874	397	1,07774E-21	**1,13849**
CG31937	FBgn0031360	FBtr0077884	1566	711	3,07450E-38	**1,13916**
CG34347	FBgn0085376	FBtr0290046	1106	502	2,90180E-27	**1,13959**
skpA	FBgn0025637	FBtr0070126	1350	612	3,64370E-33	**1,14136**
Hsp68	FBgn0001230	FBtr0084589	2533	1148	1,41021E-61	**1,14172**
Smr	FBgn0024308	FBtr0073706	1812	820	1,66556E-44	**1,14389**
mRpL49	FBgn0030433	FBtr0073691	747	338	7,63433E-19	**1,14409**
betaTub56D	FBgn0003887	FBtr0086536	22722	10277	0	**1,14467**
CG32038	FBgn0052038	FBtr0076462	991	448	9,69282E-25	**1,14539**
asrij	FBgn0034793	FBtr0071902	1308	591	1,64796E-32	**1,14613**
RpS15Ab	FBgn0033555	FBtr0088226	30053	13574	0	**1,14666**
CG2812	FBgn0034931	FBtr0072140	1674	756	2,00998E-41	**1,14684**
CG6746	FBgn0032394	FBtr0080313	1909	862	3,56162E-47	**1,14706**
Sop2	FBgn0001961	FBtr0080569	960	433	3,60115E-24	**1,14867**
CG4692	FBgn0035032	FBtr0072339,FBtr0072340	4614	2077	9,03463E-114	**1,15152**
Dpy-30L1	FBgn0032293	FBtr0080112	1865	839	1,34589E-46	**1,15243**
CG14619	FBgn0031187	FBtr0077346,FBtr0077347,FBtr0077348	872	392	2,67198E-22	**1,15347**
skpA	FBgn0025637	FBtr0070127	1375	618	1,31705E-34	**1,15375**
fwd	FBgn0004373	FBtr0072516	893	401	6,81503E-23	**1,15506**
Tpi	FBgn0086355	FBtr0085584	4545	2040	5,24417E-113	**1,15571**
CG11999	FBgn0037312	FBtr0078807	2133	957	1,46128E-53	**1,15629**
RpS3	FBgn0002622	FBtr0084410	127827	57350	0	**1,15633**
CG7267	FBgn0030079	FBtr0071354	2695	1207	8,72760E-68	**1,15886**
CG14184	FBgn0036932	FBtr0074872,FBtr0302366	934	418	4,00500E-24	**1,15992**
zormin	FBgn0052311	FBtr0089864,FBtr0110856,FBtr0110857,FBtr0110858	3785	1689	8,71380E-96	**1,16412**
TflIA-S	FBgn0013347	FBtr0084526	5546	2474	3,45767E-140	**1,16460**
CG9350	FBgn0034576	FBtr0071530	1299	578	1,19570E-33	**1,16826**
RpL35A	FBgn0037328	FBtr0078769	24812	11033	0	**1,16921**
Cctgamma	FBgn0015019	FBtr0083338	827	367	6,41575E-22	**1,17211**
Tpi	FBgn0086355	FBtr0085582,FBtr0085583	4494	1994	1,74024E-115	**1,17233**
Act57B	FBgn0000044	FBtr0071519	4280	1898	3,44358E-110	**1,17313**
Act57B	FBgn0000044	FBtr0300946	4284	1899	1,81495E-110	**1,17372**
Mgstl	FBgn0025814	FBtr0077243	953	422	3,09209E-25	**1,17523**
Dhc64C	FBgn0261797	FBtr0273370,FBtr0073359	28549	12641	0	**1,17533**
MED14	FBgn0035145	FBtr0072554	1189	526	2,20497E-31	**1,17661**
CG8191	FBgn0030675	FBtr0074083	918	406	1,67769E-24	**1,17701**
CG13393	FBgn0032035	FBtr0079719	3245	1434	1,51959E-84	**1,17817**
Sin	FBgn0028402	FBtr0304820	1888	834	1,45531E-49	**1,17874**
ATPsyn-d	FBgn0016120	FBtr0083728	9102	4018	2,02952E-228	**1,17971**
CG10249	FBgn0027596	FBtr0087430	809	357	8,59212E-22	**1,18022**
Sin	FBgn0028402	FBtr0078288	1888	833	1,03530E-49	**1,18047**
m2	FBgn0002592	FBtr0084981	3767	1657	2,98810E-99	**1,18484**
CG3731	FBgn0038271	FBtr0083001	781	343	2,70443E-21	**1,18711**
ATPsyn-d	FBgn0016120	FBtr0083727	8970	3934	4,28410E-229	**1,18911**
r	FBgn0003189	FBtr0089734,FBtr0089733	8357	3665	1,63811E-213	**1,18917**
rut	FBgn0003301	FBtr0073992,FBtr0305581	3792	1659	1,87129E-101	**1,19265**
RpS14a	FBgn0004403	FBtr0071095	12812	5603	0	**1,19322**
ash2	FBgn0000139	FBtr0084660	1303	569	1,55793E-35	**1,19534**
CG13630	FBgn0039219	FBtr0084745	2572	1123	2,04401E-69	**1,19553**
poe	FBgn0011230	FBtr0079545	28310	12354	0	**1,19633**
levy	FBgn0034877	FBtr0072061	7922	3457	4,05860E-205	**1,19634**
osa	FBgn0261885	FBtr0301487,FBtr0089582,FBtr0089581	1117	487	9,55087E-31	**1,19764**
RpL40	FBgn0003941	FBtr0077470	52488	22857	0	**1,19935**
CR41602	FBgn0085813	FBtr0114268	10476	4558	3,56653E-273	**1,20062**
PHGPx	FBgn0035438	FBtr0073066,FBtr0073067,FBtr0073068	6224	2700	7,33921E-170	**1,20488**
CG13349	FBgn0033886	FBtr0087610,FBtr0087611,FBtr0114493,FBtr0114494	3589	1556	1,91705E-98	**1,20574**
CG13349	FBgn0033886	FBtr0114495	3590	1556	1,48786E-98	**1,20614**
nej	FBgn0261617	FBtr0302722,FBtr0302723,FBtr0071402	10720	4642	4,91976E-283	**1,20749**
CG30415	FBgn0250838	FBtr0072031	1305	565	1,77717E-36	**1,20773**
Trxr-1	FBgn0020653	FBtr0071168	1082	468	1,79786E-30	**1,20912**
CG14235	FBgn0031066	FBtr0074815,FBtr0074816,FBtr0074817	876	378	6,22016E-25	**1,21254**
CG5941	FBgn0029833	FBtr0070867,FBtr0305344	1859	801	3,49880E-52	**1,21465**
br	FBgn0000210	FBtr0070261,FBtr0070262,FBtr0070263,FBtr0070265,FBtr0070266,FBtr0300427,FBtr0300428,FBtr0300429,FBtr0300430,FBtr0303562,FBtr0303563,FBtr0303564	33111	14266	0	**1,21473**
RpS14a	FBgn0004403	FBtr0071094	12753	5493	0	**1,21517**
CG18809	FBgn0042132	FBtr0074810,FBtr0074811	1332	573	8,72816E-38	**1,21699**
CG11876	FBgn0039635	FBtr0085366,FBtr0085367,FBtr0085368,FBtr0085369	623	268	3,56711E-18	**1,21700**
pck	FBgn0013720	FBtr0100198	3369	1448	1,39936E-94	**1,21826**
pck	FBgn0013720	FBtr0070255,FBtr0070256	3367	1446	8,87143E-95	**1,21940**
RpS11	FBgn0033699	FBtr0088007	12208	5237	0	**1,22101**
Tom7	FBgn0033357	FBtr0088657	3873	1661	3,25915E-109	**1,22140**
CG42574	FBgn0260794	FBtr0303911,FBtr0303912,FBtr0303913,FBtr0303914,FBtr0303915,FBtr0303917,FBtr0301437	2345	1004	1,07407E-66	**1,22383**
CG34383	FBgn0085412	FBtr0112621,FBtr0112622,FBtr0112623,FBtr0112624,FBtr0290011	6241	2669	6,21303E-177	**1,22548**
CG7637	FBgn0033548	FBtr0088252	1664	711	7,13032E-48	**1,22673**
RpS11	FBgn0033699	FBtr0088006,FBtr0088007	55357	23650	0	**1,22693**
sea	FBgn0037912	FBtr0100464	6604	2819	4,73054E-188	**1,22816**
fabp	FBgn0037913	FBtr0100320,FBtr0100321,FBtr0100323	6604	2819	4,73054E-188	**1,22816**
olf186-F	FBgn0041585	FBtr0086796,FBtr0086797	707	301	4,82222E-21	**1,23195**

CG11438	FBgn0037164	FBtr0078504	2032	865	8,47996E-59	**1,23213**
wdb	FBgn0027492	FBtr0085203,FBtr0085204	610	259	2,30516E-18	**1,23586**
Rack1	FBgn0020618	FBtr0079565	130140	55225	0	**1,23667**
RpS18	FBgn0010411	FBtr0086273,FBtr0086274	60696	25697	0	**1,24000**
CG2310	FBgn0039665	FBtr0085433,FBtr0085434	4463	1889	3,60414E-130	**1,24039**
blot	FBgn0027660	FBtr0075232,FBtr0075233	1118	473	2,86418E-33	**1,24101**
Hsp26	FBgn0001225	FBtr0076496	16622	7030	0	**1,24150**
RpL35	FBgn0029785	FBtr0070801	7348	3106	1,76972E-206	**1,24229**
Act5C	FBgn0000042	FBtr0070823	8303	3508	1,67098E-233	**1,24298**
CG1354	FBgn0030151	FBtr0089384,FBtr0089385,FBtr0089383	1224	516	1,39495E-36	**1,24616**
RpS21	FBgn0015521	FBtr0077621,FBtr0077623,FBtr0273293	972	409	2,34572E-29	**1,24886**
CG7414	FBgn0037135	FBtr0303246,FBtr0303247	1006	423	2,11969E-30	**1,24990**
CG30415	FBgn0250838	FBtr0072030	1271	534	2,36104E-38	**1,25105**
CG7414	FBgn0037135	FBtr0078441,FBtr0303245	1007	423	1,62501E-30	**1,25133**
CG42574	FBgn0260794	FBtr0303916	2476	1039	3,84382E-74	**1,25282**
kek5	FBgn0031016	FBtr0074707	696	292	1,80572E-21	**1,25312**
sta	FBgn0003517	FBtr0070289,FBtr0070290,FBtr0070291	91013	38139	0	**1,25481**
CG2021	FBgn0035271	FBtr0072791	771	322	6,37152E-24	**1,25967**
RpL29	FBgn0016726	FBtr0071592,FBtr0071593,FBtr0305669	32177	13437	0	**1,25982**
CG3609	FBgn0031418	FBtr0077791,FBtr0303027	1608	671	4,40110E-49	**1,26088**
brm	FBgn0000212	FBtr0075523,FBtr0075525	607	253	4,14219E-19	**1,26256**
brm	FBgn0000212	FBtr0075524	607	252	2,84018E-19	**1,26827**
ksh	FBgn0040890	FBtr0300214	701	291	3,31346E-22	**1,26840**
LRP1	FBgn0053087	FBtr0088791	12347	5118	0	**1,27051**
mask	FBgn0043884	FBtr0084562,FBtr0084563,FBtr0305043	32498	13467	0	**1,27092**
CG8193	FBgn0033367	FBtr0088663	2911	1203	2,19217E-90	**1,27488**
Hsc70-4	FBgn0001219	FBtr0083057	18436	7616	0	**1,27542**
CG4692	FBgn0035032	FBtr0072340	1299	536	6,32366E-41	**1,27710**
kek5	FBgn0031016	FBtr0074708	675	277	5,54844E-22	**1,28500**
		FBtr0113128	696	285	9,54732E-23	**1,28813**
Cyt-b5	FBgn0033189	FBtr0088905	863	353	4,45226E-28	**1,28969**
Cctgamma	FBgn0015019	FBtr0083337,FBtr0302370,FBtr0302371	764	312	5,22363E-25	**1,29203**
CG3446	FBgn0029868	FBtr0070924	3847	1571	1,00584E-122	**1,29205**
CG13551	FBgn0040660	FBtr0072033,FBtr0072034	826	337	5,11396E-27	**1,29339**
RpL18A	FBgn0010409	FBtr0086947	60777	24791	0	**1,29371**
CG13551	FBgn0040660	FBtr0072035	832	339	2,88453E-27	**1,29530**
N	FBgn0004647	FBtr0070507,FBtr0304659	50238	20453	0	**1,29647**
Mgstl	FBgn0025814	FBtr0077242,FBtr0077243	1080	439	1,96015E-35	**1,29874**
Tfb1	FBgn0033929	FBtr0305616	718	291	5,61648E-24	**1,30296**
Tfb1	FBgn0033929	FBtr0087548,FBtr0087549	718	291	5,61648E-24	**1,30296**
CG5938	FBgn0046247	FBtr0085159,FBtr0085160	765	310	1,81692E-25	**1,30319**
RpL3	FBgn0020910	FBtr0082347,FBtr0082346,FBtr0302586	5585	2260	9,04915E-182	**1,30523**
Tfb1	FBgn0033929	FBtr0087550	754	305	2,94374E-25	**1,30576**
tyf	FBgn0026083	FBtr0070643,FBtr0300931,FBtr0305180, FBtr0305181,FBtr0305182	1940	783	4,54019E-64	**1,30897**
olf186-F	FBgn0041585	FBtr0086795	548	221	9,45318E-19	**1,31013**
Aldh-III	FBgn0010548	FBtr0300477	640	258	1,13612E-21	**1,31070**
p16-ARC	FBgn0031437	FBtr0077694	3989	1608	3,70245E-131	**1,31076**
RpL3	FBgn0020910	FBtr0082347	36900	14850	0	**1,31316**
RpL26	FBgn0036825	FBtr0075066	53130	21381	0	**1,31320**
CR31144	FBgn0051144	FBtr0303864	36902	14849	0	**1,31333**
shot	FBgn0013733	FBtr0301964,FBtr0087621,FBtr0087617, FBtr0087618,FBtr0087619,FBtr0087620, FBtr0087616,FBtr0273222,FBtr0273223, FBtr0273224,FBtr0273225,FBtr0273226, FBtr0301591,FBtr0301592,FBtr0301593, FBtr0304847,FBtr0304848,FBtr0304849, FBtr0304850,FBtr0304851,FBtr0304852, FBtr0304853	17016	6807	0	**1,32180**
CG42238	FBgn0250867	FBtr0290305	700	280	4,31219E-24	**1,32193**
CG4692	FBgn0035032	FBtr0072339	1205	481	4,20700E-41	**1,32492**
vfl	FBgn0259789	FBtr0307536,FBtr0307537	16920	6742	0	**1,32748**
RpL18	FBgn0035753	FBtr0076892	51658	20582	0	**1,32761**
CG34417	FBgn0085446	FBtr0112703	4622	1839	1,30786E-156	**1,32960**
CG9674	FBgn0036663	FBtr0075341,FBtr0075344,FBtr0305915, FBtr0305916	5183	2052	1,65759E-177	**1,33676**
CG9205	FBgn0035181	FBtr0072621,FBtr0072622	1486	588	1,90608E-51	**1,33755**
RpS14b	FBgn0004404	FBtr0071096	17193	6788	0	**1,34076**
RpL8	FBgn0261602	FBtr0072925	1847	729	3,67771E-64	**1,34119**
CG1620	FBgn0033183	FBtr0088983,FBtr0300830	2336	921	3,34598E-81	**1,34277**
faf	FBgn0005632	FBtr0307549	998	393	3,47063E-35	**1,34451**
RpL28	FBgn0035422	FBtr0073095,FBtr0073097,FBtr0073098, FBtr0302300,FBtr0302301,FBtr0306567	58476	22974	0	**1,34784**
faf	FBgn0005632	FBtr0085843,FBtr0085844,FBtr0307547, FBtr0307548,FBtr0307550	996	391	1,99334E-35	**1,34898**
RpL8	FBgn0261602	FBtr0072924,FBtr0072925	77654	30467	0	**1,34981**
RpL8	FBgn0261602	FBtr0072924	1818	713	4,22117E-64	**1,35038**
Ten-m	FBgn0004449	FBtr0078509,FBtr0306107	13224	5180	0	**1,35213**
vnc	FBgn0263251	FBtr0076348,FBtr0076350,FBtr0076349	514	201	8,97391E-19	**1,35457**
CG42455	FBgn0259932	FBtr0300238,FBtr0300239	514	201	8,97391E-19	**1,35457**
CG3214	FBgn0031436	FBtr0273393	663	259	4,65282E-24	**1,35606**
Sod	FBgn0003462	FBtr0076229	16330	6364	0	**1,35952**
Pdsw	FBgn0021967	FBtr0077520,FBtr0077521	3079	1199	9,65291E-110	**1,36063**
HERC2	FBgn0031107	FBtr0301344	10653	4147	0	**1,36112**
CG9065	FBgn0030610	FBtr0073966	532	207	1,14323E-19	**1,36180**
Ef2b	FBgn0000559	FBtr0085911	11062	4304	0	**1,36186**
Aldh-III	FBgn0010548	FBtr0300478	513	199	3,80716E-19	**1,36619**
RpS18	FBgn0010411	FBtr0086273	727	281	5,44742E-27	**1,37139**
CG34422	FBgn0085451	FBtr0112723	3153	1217	1,49290E-114	**1,37340**
CoVa	FBgn0019624	FBtr0082474	7578	2914	4,11407E-264	**1,37882**
CoVa	FBgn0019624	FBtr0082473	7473	2850	5,86938E-265	**1,39073**
Got2	FBgn0001125	FBtr0077867	678	258	5,23090E-26	**1,39391**
CG6543	FBgn0033879	FBtr0087644	568	216	5,14521E-22	**1,39486**
kis	FBgn0086902	FBtr0299837	1729	654	6,09444E-66	**1,40258**
CG3214	FBgn0031436	FBtr0077745	717	271	7,16269E-28	**1,40368**
ft	FBgn0001075	FBtr0077478	43774	16531	0	**1,40490**
RpL17	FBgn0029897	FBtr0070982	702	265	2,35785E-27	**1,40548**
CG16936	FBgn0027590	FBtr0305309	477	180	6,32678E-19	**1,40599**
CG16936	FBgn0027590	FBtr0072436	462	174	2,06832E-18	**1,40881**
scu	FBgn0021765	FBtr0074511	11634	4370	0	**1,41264**
CG9027	FBgn0033631	FBtr0089939,FBtr0089938,FBtr0110897	1662	624	2,11347E-64	**1,41330**
RpL13A	FBgn0037351	FBtr0078705	65012	24399	0	**1,41388**
RpS26	FBgn0261597	FBtr0081089	67583	25308	0	**1,41707**

RpS26	FBgn0261597	FBtr0081090	67583	25308	0	**1,41707**
RpS26	FBgn0261597	FBtr0081091	67591	25311	0	**1,41707**
RpS18	FBgn0010411	FBtr0086274	802	300	1,15051E-31	**1,41864**
CG6543	FBgn0033879	FBtr0087643	594	222	1,10233E-23	**1,41990**
TflIA-L	FBgn0011289	FBtr0085155,FBtr0085156	504	188	2,38395E-20	**1,42269**
kis	FBgn0086902	FBtr0078144	704	261	2,16974E-28	**1,43153**
CG5794	FBgn0039214	FBtr0084667,FBtr0084668,FBtr0306172	7786	2874	1,08681E-294	**1,43782**
RpS7	FBgn0039757	FBtr0089423	5477	2021	3,11347E-218	**1,43832**
CG9775	FBgn0037261	FBtr0301297,FBtr0078894	835	308	7,12469E-34	**1,43885**
uif	FBgn0031879	FBtr0079354,FBtr0307072,FBtr0307073, FBtr0307074,FBtr0290119,FBtr0302162	53062	19565	0	**1,43940**
Msp-300	FBgn0261836	FBtr0303385,FBtr0303387,FBtr0303388, FBtr0303389	20108	7412	0	**1,43983**
CG34417	FBgn0085446	FBtr0112703,FBtr0112704,FBtr0112706,F Btr0112707,FBtr0303205,FBtr0303206,F Btr0301323,FBtr0301324	642	234	6,02278E-27	**1,45606**
CG1702	FBgn0031117	FBtr0077310,FBtr0300210	580	211	1,95504E-24	**1,45881**
RpL12	FBgn0034968	FBtr0072175,FBtr0072174	7359	2676	1,06329E-286	**1,45943**
tweek	FBgn0261671	FBtr0304928,FBtr0304929	564	205	6,36952E-24	**1,46007**
RpS7	FBgn0039757	FBtr0089424,FBtr0089425,FBtr0089422	5340	1937	3,10484E-220	**1,46302**
l(1)G0230	FBgn0028342	FBtr0071438	9175	3325	0	**1,46435**
tweek	FBgn0261671	FBtr0304927,FBtr0304930	563	204	5,36343E-24	**1,46457**
dikar	FBgn0261934	FBtr0303751	914	330	1,02140E-38	**1,46973**
RpL12	FBgn0034968	FBtr0072176	7369	2652	9,52401E-293	**1,47439**
Ten-a	FBgn0259240	FBtr0300202,FBtr0300203,FBtr0300204, FBtr0299858,FBtr0299859,FBtr0299860, FBtr0308221,FBtr0308222,FBtr0308223	459	165	6,01706E-20	**1,47603**
CG1746	FBgn0039830	FBtr0085773	426	153	1,16010E-18	**1,47732**
CG1607	FBgn0039844	FBtr0085786	530	190	4,05734E-23	**1,47999**
CG13319	FBgn0033781	FBtr0300890	1128	403	1,51085E-48	**1,48492**
CG13319	FBgn0033781	FBtr0087788	1128	403	1,51085E-48	**1,48492**
mask	FBgn0043884	FBtr0305043	3444	1230	1,27091E-146	**1,48543**
CG34306	FBgn0085335	FBtr0112502	468	167	1,29914E-20	**1,48666**
Cpr49Ag	FBgn0033730	FBtr0087922	1121	400	2,31493E-48	**1,48671**
mask	FBgn0043884	FBtr0084562,FBtr0084563	3443	1227	3,00523E-147	**1,48853**
CR40502	FBgn0085737	FBtr0114187	1517	540	1,83393E-65	**1,49019**
l(2)03709	FBgn0010551	FBtr0086614,FBtr0086615,FBtr0112861, FBtr0112862	411	146	2,32033E-18	**1,49317**
brat	FBgn0010300	FBtr0081159	567	201	3,69156E-25	**1,49615**
verm	FBgn0261341	FBtr0074956,FBtr0302333,FBtr0302334	771	273	5,76557E-34	**1,49783**
RpS12	FBgn0260441	FBtr0075878	39217	13793	0	**1,50754**
CG8184	FBgn0030674	FBtr0074082	32770	11476	0	**1,51376**
futsch	FBgn0259108	FBtr0112628,FBtr0307597,FBtr0307598	552	193	4,45728E-25	**1,51607**
mamo	FBgn0263115	FBtr0112554,FBtr0307299,FBtr0307298, FBtr0112555,FBtr0303571	644	225	3,05928E-29	**1,51714**
Hsp60	FBgn0015245	FBtr0073434	2117	739	1,92599E-94	**1,51838**
trx	FBgn0003862	FBtr0082950,FBtr0082947	814	284	7,73322E-37	**1,51914**
Mi-2	FBgn0262519	FBtr0074919,FBtr0302046	777	271	3,22826E-35	**1,51962**
Mi-2	FBgn0262519	FBtr0100394	778	271	2,35543E-35	**1,52148**
trol	FBgn0261451	FBtr0091965,FBtr0305158,FBtr0305159, FBtr0305160,FBtr0305161,FBtr0305162, FBtr0305164,FBtr0305167,FBtr0305168, FBtr0305169,FBtr0305170,FBtr0305171, FBtr0305172,FBtr0305173,FBtr0305174, FBtr0305175,FBtr0305176	472	163	5,23314E-22	**1,53391**
pix	FBgn0086706	FBtr0076558	1642	566	4,56731E-75	**1,53658**
RpS8	FBgn0039713	FBtr0085489,FBtr0306645	79075	27184	0	**1,54046**
CG42574	FBgn0260794	FBtr0303911,FBtr0303913,FBtr0303915, FBtr0303916,FBtr0301437	1586	544	3,45290E-73	**1,54371**
Cyp4e2	FBgn0014469	FBtr0088745	950	323	8,81515E-45	**1,55639**
btsz	FBgn0053555	FBtr0091530,FBtr0273200,FBtr0306612	2600	883	1,30122E-121	**1,55803**
CR33222	FBgn0053222	FBtr0300652	3189	1083	4,43155E-149	**1,55807**
CR12628	FBgn0042701	FBtr0085952	1066	362	2,33199E-50	**1,55815**
Bet5	FBgn0260860	FBtr0085570	748	254	1,34826E-35	**1,55821**
Hsp70Bb	FBgn0013278	FBtr0082637	1484	495	5,24905E-72	**1,58399**
eIF-3p40	FBgn0022023	FBtr0079030	2971	986	1,06406E-144	**1,59129**
Sac1	FBgn0035195	FBtr0072652	417	138	4,15926E-21	**1,59538**
RpL17	FBgn0029897	FBtr0070980,FBtr0070981,FBtr0070982, FBtr0070983	64301	21266	0	**1,59629**
Hsp70Ab	FBgn0013276	FBtr0082482	6355	2096	5,0911E-312	**1,60025**
l(2)35Di	FBgn0001989	FBtr0080771,FBtr0080772	2139	702	2,34782E-106	**1,60739**
CG42574	FBgn0260794	FBtr0303913	2258	739	7,95111E-113	**1,61140**
CG42574	FBgn0260794	FBtr0303912,FBtr0303915,FBtr0301437	2258	739	7,95111E-113	**1,61140**
CG42574	FBgn0260794	FBtr0303911,FBtr0303914,FBtr0303916, FBtr0303917	2268	742	2,76007E-113	**1,61193**
Hsp70Aa	FBgn0013275	FBtr0082512	6244	2041	2,2398E-311	**1,61319**
w	FBgn0003996	FBtr0070490	24501	7981	0	**1,61820**
LBR	FBgn0034657	FBtr0071713	1067	347	2,98977E-54	**1,62055**
pix	FBgn0086706	FBtr0076557	2667	865	3,47800E-135	**1,62445**
NP15.6	FBgn0027785	FBtr0083712	3717	1205	3,10931E-188	**1,62511**
Hsp70Bc	FBgn0013279	FBtr0082638	1532	496	3,53658E-78	**1,62700**
CG42497	FBgn0260223	FBtr0300626	3700	1191	1,60227E-189	**1,63535**
CG13044	FBgn0036599	FBtr0075470	1672	537	2,29718E-86	**1,63858**
rg	FBgn0086911	FBtr0110993,FBtr0290088,FBtr0299589	352	113	8,07683E-19	**1,63925**
CG14566	FBgn0037127	FBtr0078453	1311	419	1,93231E-68	**1,64565**
RpL17	FBgn0029897	FBtr0070981	626	200	4,35608E-33	**1,64616**
LBR	FBgn0034657	FBtr0071711,FBtr0071712	1047	334	5,25938E-55	**1,64834**
RpS17	FBgn0005533	FBtr0076479	34716	11037	0	**1,65325**
RpS30	FBgn0038834	FBtr0083969	1394	442	1,45428E-73	**1,65711**
eIF-3p40	FBgn0022023	FBtr0079031	2814	891	3,27338E-148	**1,65912**
RpS10b	FBgn0261593	FBtr0308192	5661	1792	9,82692E-298	**1,65949**
sta	FBgn0003517	FBtr0070291	42546	13449	0	**1,66152**
sta	FBgn0003517	FBtr0070289,FBtr0070290	42480	13414	0	**1,66304**
CG10320	FBgn0034645	FBtr0300679,FBtr0300680	441	139	4,20980E-24	**1,66569**
CG10320	FBgn0034645	FBtr0113101,FBtr0113102	441	139	4,20980E-24	**1,66569**
CG10320	FBgn0034645	FBtr0071663	441	139	4,20980E-24	**1,66569**
RpS10b	FBgn0261593	FBtr0074731,FBtr0074732	5626	1765	3,36163E-300	**1,67244**
RpS13	FBgn0010265	FBtr0079724	1490	466	2,02153E-80	**1,67691**
RpS13	FBgn0010265	FBtr0100541	1490	466	2,02153E-80	**1,67691**
CG11943	FBgn0031078	FBtr0074798	509	159	4,97075E-28	**1,67864**
CG11943	FBgn0031078	FBtr0074799	509	159	4,97075E-28	**1,67864**
Doa	FBgn0259220	FBtr0299747	934	290	2,69728E-51	**1,68737**
RpLP1	FBgn0002593	FBtr0078056	66904	20638	0	**1,69679**

RpL17	FBgn0029897	FBtr0070983	600	184	6,88621E-34	**1,70526**
Hsp70Ba	FBgn0013277	FBtr0082679	2890	882	2,99430E-161	**1,71222**
RNaseP:RNA	FBgn0046696	FBtr0085775	364	111	5,77067E-21	**1,71338**
RpS6	FBgn0261592	FBtr0071135	20267	6147	0	**1,72118**
CG42574	FBgn0260794	FBtr0303914	1016	308	9,88814E-58	**1,72190**
CG15523	FBgn0039727	FBtr0085505,FBtr0300825	440	133	1,29931E-25	**1,72608**
RpS6	FBgn0261592	FBtr0071136	20076	6034	0	**1,73429**
Megalin	FBgn0261260	FBtr0302153	16691	4974	0	**1,74659**
RpS23	FBgn0033912	FBtr0087575	56586	16835	0	**1,74898**
CG2310	FBgn0039665	FBtr0085434	585	174	1,81391E-34	**1,74935**
CR41540	FBgn0085797	FBtr0114251	649	193	3,31210E-38	**1,74962**
CG7580	FBgn0036728	FBtr0075222,FBtr0302509,FBtr0302510	1100	324	3,19133E-65	**1,76344**
glo	FBgn0259139	FBtr0089918,FBtr0089919	449	132	3,98137E-27	**1,76618**
Mical	FBgn0053208	FBtr0082210,FBtr0082211,FBtr0082212, FBtr0082206,FBtr0082207,FBtr0082208, FBtr0082209,FBtr0273185,FBtr0306607, FBtr0306608,FBtr0306609,FBtr0306610	1203	352	6,55911E-72	**1,77299**
Mical	FBgn0053208	FBtr0082213	1203	352	6,55911E-72	**1,77299**
RpS30	FBgn0038834	FBtr0083970	1351	394	5,52606E-81	**1,77776**
cher	FBgn0014141	FBtr0089471,FBtr0290014	699	202	6,76225E-43	**1,79094**
Hsp70Bbb	FBgn0051354	FBtr0082636	1490	425	3,83321E-92	**1,80978**
Vha68-2	FBgn0020367	FBtr0080418	1183	336	9,76048E-74	**1,81592**
CG1753	FBgn0031148	FBtr0077244	346	98	3,12821E-22	**1,81992**
Vha68-2	FBgn0020367	FBtr0080419	1180	331	8,17851E-75	**1,83388**
CR34335	FBgn0085364	FBtr0307366	59881	16764	0	**1,83673**
Sp1	FBgn0020378	FBtr0071381	409	114	1,22853E-26	**1,84307**
Sp1	FBgn0020378	FBtr0273354	402	112	3,14236E-26	**1,84370**
nej	FBgn0261617	FBtr0302722	7129	1956	0	**1,86579**
nej	FBgn0261617	FBtr0302723,FBtr0071402	7128	1955	0	**1,86633**
trol	FBgn0261451	FBtr0305158,FBtr0305159,FBtr0305160, FBtr0305161,FBtr0305167,FBtr0305168, FBtr0305169,FBtr0305170,FBtr0305171, FBtr0305172,FBtr0305173,FBtr0305174, FBtr0305175	909	249	1,15029E-59	**1,86813**
CR41583	FBgn0085805	FBtr0114259	278	75	3,65309E-19	**1,89012**
Tim10	FBgn0027360	FBtr0071676	2727	732	1,88149E-182	**1,89740**
Tim10	FBgn0027360	FBtr0071677	2666	713	3,03812E-179	**1,90270**
l(2)03659	FBgn0010549	FBtr0302504	792	209	1,15172E-54	**1,92200**
sls	FBgn0086906	FBtr0072848,FBtr0072849	4301	1125	2,75893E-297	**1,93475**
CG1746	FBgn0039830	FBtr0085774,FBtr0306237	3273	832	1,54529E-234	**1,97596**
CG1746	FBgn0039830	FBtr0085772,FBtr0085773,FBtr0305120, FBtr0305121	3271	830	7,90917E-235	**1,97855**
RpL32	FBgn0002626	FBtr0085594	11065	2806	0	**1,97942**
RpL32	FBgn0002626	FBtr0085592,FBtr0085593,FBtr0114555, FBtr0114556	11065	2805	0	**1,97993**
mRpL33	FBgn0040907	FBtr0070655	701	177	3,09869E-51	**1,98567**
Jon65Aiv	FBgn0250815	FBtr0077040	5615	5	0	**10,13310**
CG30031	FBgn0050031	FBtr0088123	1877	1	0	**10,87420**
Jon65Aiii	FBgn0035665	FBtr0077041	4035	2	0	**10,97840**
dikar	FBgn0261934	FBtr0303748,FBtr0303749,FBtr0303750, FBtr0303751	658	164	8,63195E-49	**2,00439**
kis	FBgn0086902	FBtr0078144,FBtr0299837	23745	5823	0	**2,02779**
rg	FBgn0086911	FBtr0070745,FBtr0110993,FBtr0290088, FBtr0299588	419	101	1,22908E-32	**2,05259**
CG7834	FBgn0039697	FBtr0085536	645	155	5,81319E-50	**2,05703**
CG7834	FBgn0039697	FBtr0085535	661	158	1,88600E-51	**2,06473**
rno	FBgn0035106	FBtr0072532,FBtr0305548,FBtr0305549	1413	336	8,51227E-110	**2,07223**
Mhc	FBgn0086783	FBtr0080895,FBtr0080896,FBtr0080897, FBtr0080898,FBtr0080899,FBtr0080900, FBtr0080901,FBtr0080902,FBtr0080903, FBtr0080905,FBtr0080906,FBtr0080907, FBtr0301827,FBtr0301828,FBtr0301829, FBtr0307492,FBtr0307493,FBtr0307494, FBtr0307495,FBtr0307496	461	109	1,51503E-36	**2,08044**
CG5527	FBgn0039564	FBtr0085255	683	158	5,07519E-55	**2,11196**
stan	FBgn0024836	FBtr0303223,FBtr0304899,FBtr0304900	2038	471	4,54002E-163	**2,11336**
RpL9	FBgn0015756	FBtr0080164	5422	1250	0	**2,11690**
RpL9	FBgn0015756	FBtr0080163	5366	1230	0	**2,12519**
RpL27	FBgn0039359	FBtr0084932	115859	26028	0	**2,15423**
Obp83g	FBgn0046875	FBtr0078617	237	53	2,65578E-20	**2,16082**
CR40677	FBgn0085765	FBtr0114215	272	59	7,58356E-24	**2,20482**
stan	FBgn0024836	FBtr0088214,FBtr0300578	1717	369	2,24361E-148	**2,21820**
CR40560	FBgn0085743	FBtr0114193	512	110	9,16523E-45	**2,21864**
trol	FBgn0261451	FBtr0091965,FBtr0305158,FBtr0305159, FBtr0305160,FBtr0305161,FBtr0305162, FBtr0305164,FBtr0305170,FBtr0305171, FBtr0305172,FBtr0305173,FBtr0305174, FBtr0305175,FBtr0305176	317	67	2,41028E-28	**2,24225**
Pdsw	FBgn0021967	FBtr0077521	239	50	9,43386E-22	**2,25701**
CR41544	FBgn0085799	FBtr0114253	763	157	4,48760E-69	**2,28092**
CG13731	FBgn0036717	FBtr0306800	317	65	2,76307E-29	**2,28597**
Doa	FBgn0259220	FBtr0299751	1914	391	1,17758E-173	**2,29135**
dp	FBgn0053196	FBtr0290006,FBtr0305136,FBtr0305137, FBtr0305138,FBtr0305139,FBtr0305140, FBtr0305141,FBtr0305142,FBtr0305143, FBtr0305144,FBtr0305145,FBtr0305146	24449	4829	0	**2,33998**
CR40639	FBgn0085758	FBtr0114208	872	171	1,44483E-82	**2,35033**
RpL31	FBgn0025286	FBtr0088525	22162	4332	0	**2,35498**
LBR	FBgn0034657	FBtr0071711	277	54	7,16803E-27	**2,35885**
RpL31	FBgn0025286	FBtr0088526,FBtr0088527	22083	4294	0	**2,36254**
RpL31	FBgn0025286	FBtr0088527	47798	9249	0	**2,36958**
RpL31	FBgn0025286	FBtr0088526,FBtr0088525	47797	9247	0	**2,36986**
spen	FBgn0016977	FBtr0078122	326	63	1,35009E-31	**2,37145**
spen	FBgn0016977	FBtr0078121,FBtr0306341	326	63	1,35009E-31	**2,37145**
CR40642	FBgn0085761	FBtr0114211	839	159	8,87050E-82	**2,39964**
trol	FBgn0261451	FBtr0305158,FBtr0305159,FBtr0305160, FBtr0305161,FBtr0305163,FBtr0305167, FBtr0305168,FBtr0305169,FBtr0305170, FBtr0305171,FBtr0305172,FBtr0305173, FBtr0305174,FBtr0305175	860	159	1,03851E-85	**2,43531**
CR40640	FBgn0085759	FBtr0114209	808	149	1,35899E-80	**2,43904**
CR40641	FBgn0085760	FBtr0114210	857	158	1,52143E-85	**2,43937**
CG7580	FBgn0036728	FBtr0075222,FBtr0302510	3336	604	0	**2,46550**

CG7580	FBgn0036728	FBtr0302509	3937	678	0	**2,53774**
CR41539	FBgn0085796	FBtr0114250	1050	179	1,43038E-111	**2,55236**
Doa	FBgn0259220	FBtr0299743	659	111	5,85723E-71	**2,56972**
CR41613	FBgn0085822	FBtr0114280	865	143	4,27492E-94	**2,59668**
shot	FBgn0013733	FBtr0087617,FBtr0087619,FBtr0087616, FBtr0273222,FBtr0273223,FBtr0273224, FBtr0273225,FBtr0273226,FBtr0301591, FBtr0301592,FBtr0301593,FBtr0304847, FBtr0304848,FBtr0304849,FBtr0304850, FBtr0304851,FBtr0304852,FBtr0304853	301	49	1,33127E-33	**2,61891**
Msp-300	FBgn0261836	FBtr0303383,FBtr0303385,FBtr0303388, FBtr0303389	1211	196	9,03802E-134	**2,62727**
CG5021	FBgn0035944	FBtr0301140	266	42	1,89011E-30	**2,66297**
CG5021	FBgn0035944	FBtr0076514	266	42	1,89011E-30	**2,66297**
CG5021	FBgn0035944	FBtr0076513,FBtr0301139	266	42	1,89011E-30	**2,66297**
dp	FBgn0053196	FBtr0290006,FBtr0305136,FBtr0305137, FBtr0305138,FBtr0305139,FBtr0305140, FBtr0305141,FBtr0305143,FBtr0305144, FBtr0305145,FBtr0305146	1069	165	3,63714E-122	**2,69572**
CR40766	FBgn0085773	FBtr0114223	576	86	9,73860E-68	**2,74366**
LBR	FBgn0034657	FBtr0071712	255	38	2,93383E-30	**2,74643**
RpS19a	FBgn0010412	FBtr0074313	5172	770	0	**2,74779**
Msp-300	FBgn0261836	FBtr0303384	8863	1318	0	**2,74944**
CR40668	FBgn0085764	FBtr0114214	1273	189	1,84661E-149	**2,75177**
Msp-300	FBgn0261836	FBtr0303387	8847	1307	0	**2,75893**
CR41535	FBgn0085795	FBtr0114249	1557	220	1,13033E-188	**2,82319**
shot	FBgn0013733	FBtr0087621	2321	309	6,23090E-292	**2,90907**
shot	FBgn0013733	FBtr0301964,FBtr0087621,FBtr0087617, FBtr0087618,FBtr0087619,FBtr0087620, FBtr0087616,FBtr0273222,FBtr0273223, FBtr0273224,FBtr0273225,FBtr0273226, FBtr0301591,FBtr0301592,FBtr0301593, FBtr0304847,FBtr0304848,FBtr0304849, FBtr0304850,FBtr0304852,FBtr0304853	3476	451	0	**2,94623**
shot	FBgn0013733	FBtr0087617,FBtr0087618,FBtr0087619, FBtr0087616,FBtr0273222,FBtr0273223, FBtr0273224,FBtr0273225,FBtr0273226, FBtr0301591,FBtr0301592,FBtr0304849, FBtr0304850	218	27	4,71026E-29	**3,01330**
CG7580	FBgn0036728	FBtr0075222	601	74	2,13652E-79	**3,02177**
CG7580	FBgn0036728	FBtr0302510	601	74	2,13652E-79	**3,02177**
RpS19a	FBgn0010412	FBtr0074312,FBtr0074311	4923	576	0	**3,09540**
dp	FBgn0053196	FBtr0290006,FBtr0305136,FBtr0305138, FBtr0305139,FBtr0305140,FBtr0305141, FBtr0305142,FBtr0305143,FBtr0305144, FBtr0305146	481	56	8,38778E-66	**3,10254**
CG6793	FBgn0036242	FBtr0076051	153	17	7,82312E-22	**3,16992**
7SLRNA:CR42652	FBgn0261504	FBtr0302398	397	44	9,97671E-56	**3,17356**
CG34227	FBgn0085256	FBtr0112420	151	16	5,97235E-22	**3,23840**
Lcp4	FBgn0002535	FBtr0088744	549	58	7,46502E-79	**3,24268**
Lcp2	FBgn0002533	FBtr0088761	541	57	1,28545E-77	**3,24659**
CG42500	FBgn0260226	FBtr0300627	304	32	7,16354E-44	**3,24793**
CR41609	FBgn0085819	FBtr0114277	639	66	1,10696E-92	**3,27528**
CR40546	FBgn0085742	FBtr0114192	1289	133	2,05515E-186	**3,27675**
CR40596	FBgn0085753	FBtr0114203	1377	137	1,52824E-202	**3,32928**
Msp-300	FBgn0261836	FBtr0303383,FBtr0303384,FBtr0303385, FBtr0303386,FBtr0303387,FBtr0303388, FBtr0303389	770	76	5,32955E-114	**3,34079**
CG32249	FBgn0052249	FBtr0303003	124	12	5,98986E-19	**3,36923**
7SLRNA:CR32864	FBgn0000003	FBtr0081624	594	57	3,69132E-89	**3,38143**
CG31676	FBgn0051676	FBtr0081424	168	16	1,26871E-25	**3,39232**
Msp-300	FBgn0261836	FBtr0303383,FBtr0303385	148	14	9,40593E-23	**3,40210**
shot	FBgn0013733	FBtr0087617,FBtr0087616,FBtr0273222, FBtr0273223,FBtr0273224,FBtr0301591, FBtr0304849,FBtr0304850	245	21	6,66763E-39	**3,54432**
zye	FBgn0036985	FBtr0078191	199	17	9,68261E-32	**3,54916**
RpS4	FBgn0011284	FBtr0075884	970	82	2,32340E-153	**3,56429**
shot	FBgn0013733	FBtr0087618,FBtr0087619,FBtr0273225, FBtr0273226,FBtr0301592	363	28	1,30971E-59	**3,69647**
CG11854	FBgn0039299	FBtr0084811	124	9	3,20425E-21	**3,78427**
Sgs3	FBgn0003373	FBtr0076096	131	9	1,29458E-22	**3,86350**
RpS4	FBgn0011284	FBtr0075885	911	62	5,90811E-156	**3,87711**
dp	FBgn0053196	FBtr0290006,FBtr0305136,FBtr0305137, FBtr0305139,FBtr0305140,FBtr0305141, FBtr0305142,FBtr0305143,FBtr0305144, FBtr0305146	407	25	2,48580E-72	**4,02503**
dp	FBgn0053196	FBtr0290006,FBtr0305136,FBtr0305137, FBtr0305138,FBtr0305139,FBtr0305140, FBtr0305143,FBtr0305146	345	21	1,46952E-61	**4,03814**
Obp56d	FBgn0034470	FBtr0086477	284	16	7,19216E-52	**4,14975**
fzo	FBgn0011596	FBtr0084399	125	7	5,78661E-23	**4,15843**
dp	FBgn0053196	FBtr0290006,FBtr0305136,FBtr0305137, FBtr0305138,FBtr0305139,FBtr0305140, FBtr0305141,FBtr0305142,FBtr0305143, FBtr0305144	2921	157	0	**4,21763**
Lcp1	FBgn0002531	FBtr0088763	1190	63	8,83966E-220	**4,23947**
dp	FBgn0053196	FBtr0290006,FBtr0305136,FBtr0305137, FBtr0305138,FBtr0305139,FBtr0305140, FBtr0305144,FBtr0305146	495	26	7,91398E-92	**4,25084**
CG13323	FBgn0033788	FBtr0087797	1012	53	1,71492E-187	**4,25507**
Lcp3	FBgn0002534	FBtr0088743	401	21	1,85618E-74	**4,25514**
RNaseMRP:RNA	FBgn0065098	FBtr0091662	505	11	1,10730E-110	**5,52071**
Jon25Bii	FBgn0031654	FBtr0079055	384	6	2,09111E-87	**6**
CG8997	FBgn0028920	FBtr0080563	464	6	1,76286E-107	**6,27302**
CG7953	FBgn0028533	FBtr0080550	559	4	1,12901E-134	**7,12670**
CG14302	FBgn0038647	FBtr0083673	199	1	1,07591E-48	**7,63662**
CG12115	FBgn0030097	FBtr0071341	203	1	9,78933E-50	**7,66534**
CG33346	FBgn0053346	FBtr0302527	432	2	4,93881E-106	**7,75489**
CG13324	FBgn0033789	FBtr0087796	233	1	2,81714E-57	**7,86419**
CG8664	FBgn0030836	FBtr0074445	591	2	2,43871E-146	**8,20701**
yip7	FBgn0040060	FBtr0077038	1014	2	1,82092E-254	**8,98584**
CG30025	FBgn0050025	FBtr0088158	919	1	1,66024E-232	**9,84392**
CG10912	FBgn0034296	FBtr0086807	2431	0	0	**Infinity**

Jon25Bi	FBgn0020906	FBtr0079054	627	0	4,81400E-160	**Infinity**
CG42834	FBgn0262023	FBtr0303853	99	0	3,91641E-25	**Infinity**
Jon25Bi	FBgn0020906	FBtr0100432	627	0	4,81400E-160	**Infinity**
betaTry	FBgn0010357	FBtr0088122	77	0	1,61178E-19	**Infinity**
gammaTry	FBgn0010359	FBtr0088159	853	0	2,70298E-218	**Infinity**
Phae1	FBgn0263234	FBtr0080334	106	0	1,11263E-26	**Infinity**
CG31789	FBgn0051789	FBtr0081071	523	0	1,28207E-133	**Infinity**
fu12	FBgn0026718	FBtr0079703,FBtr0079704,FBtr0302160	131	0	3,39076E-33	**Infinity**
Mur29B	FBgn0051901	FBtr0079607	245	0	2,68673E-62	**Infinity**
dro2	FBgn0052279	FBtr0073059	348	0	9,41430E-89	**Infinity**
CG32302	FBgn0052302	FBtr0072881	875	0	5,91697E-224	**Infinity**
CG33333	FBgn0053333	FBtr0083441	251	0	6,34766E-64	**Infinity**
alphaTry	FBgn0003863	FBtr0088161	398	0	1,96420E-101	**Infinity**
CG8661	FBgn0030837	FBtr0074444	106	0	1,11263E-26	**Infinity**
CG15044	FBgn0030928	FBtr0074627	144	0	2,37484E-36	**Infinity**
CG14332	FBgn0038509	FBtr0083446	142	0	4,11540E-36	**Infinity**
CG15818	FBgn0031910	FBtr0079442	593	0	1,84237E-151	**Infinity**
CG6933	FBgn0036952	FBtr0074853,FBtr0074854,FBtr0074855	266	0	1,06148E-67	**Infinity**
deltaTry	FBgn0010358	FBtr0088124	1855	0	0	**Infinity**
CG7465	FBgn0035551	FBtr0073306	1184	0	2,83852E-303	**Infinity**

Supplementary Table 5: Genes down-regulated in *sd::Gal4>UAS::FH-cortoCD* vs *sd::Gal4/+*. FC: Fold Change.

Flybase Gene Symbol	Flybase ID Genes	Flybase ID Transcripts	Number of reads *sd::Gal4>UAS::FH-cortoCD*	Number of reads *sd::Gal4/+*	Adjusted *P*-value	log_2(FC)
CaMKI	FBgn0016126	FBtr0089069,FBtr0089066,FBtr0089067, FBtr0089068	250	500	6,56626E-30	**-1,00000**
Atf6	FBgn0033010	FBtr0086079,FBtr0086080	1038	2078	4,33038E-122	**-1,00139**
CG11266	FBgn0031883	FBtr0089637,FBtr0089635,FBtr0089636	432	866	1,91378E-51	**-1,00334**
CG11266	FBgn0031883	FBtr0089638,FBtr0089639,FBtr0089640	429	861	3,28916E-51	**-1,00504**
eyg	FBgn0000625	FBtr0075979	248	498	4,70554E-30	**-1,00581**
Dcp2	FBgn0036534	FBtr0304975	6152	12369	0,00000E+00	**-1,00760**
par-1	FBgn0260934	FBtr0100391,FBtr0100392,FBtr0301504	730	1468	3,36598E-87	**-1,00788**
Scm	FBgn0003334	FBtr0082102	768	1546	6,75490E-92	**-1,00936**
gish	FBgn0250823	FBtr0301304,FBtr0305071,FBtr0305072	1312	2644	6,46761E-157	**-1,01095**
tna	FBgn0026160	FBtr0301658	491	995	4,23945E-60	**-1,01897**
Nipped-B	FBgn0026401	FBtr0301454,FBtr0301455,FBtr0301456	572	1162	2,51391E-70	**-1,02252**
RecQ5	FBgn0027375	FBtr0075714,FBtr0075715,FBtr0100362	329	669	6,64369E-41	**-1,02392**
HmgZ	FBgn0010228	FBtr0071673,FBtr0071674	4231	8618	0,00000E+00	**-1,02635**
CG14135	FBgn0036193	FBtr0290309	154	314	9,19721E-20	**-1,02783**
CG11486	FBgn0035397	FBtr0072998,FBtr0072999,FBtr0073000, FBtr0073001,FBtr0073002,FBtr0073003, FBtr0072991,FBtr0072992,FBtr0113130, FBtr0113131	357	730	5,79395E-45	**-1,03197**
CG17528	FBgn0261387	FBtr0111276,FBtr0111275,FBtr0111277	238	487	2,28810E-30	**-1,03296**
Nipped-B	FBgn0026401	FBtr0111119,FBtr0111118	574	1175	4,78325E-72	**-1,03354**
pho	FBgn0002521	FBtr0089204	165	338	2,13210E-21	**-1,03456**
CR42722	FBgn0261639	FBtr0303009	270	556	6,67483E-35	**-1,04213**
heph	FBgn0011224	FBtr0085885	148	305	1,32839E-19	**-1,04321**
Sap47	FBgn0013334	FBtr0083204,FBtr0083205,FBtr0083206, FBtr0083207,FBtr0083208,FBtr0083209, FBtr0083210,FBtr0301655	929	1917	6,73693E-119	**-1,04510**
pAbp	FBgn0261619	FBtr0086740	788	1627	3,81698E-101	**-1,04595**
Bsg	FBgn0261822	FBtr0079570,FBtr0079574,FBtr0079567, FBtr0079566	457	944	5,02225E-59	**-1,04659**
Ckllbeta	FBgn0000259	FBtr0073558	3149	6510	0,00000E+00	**-1,04776**
Gef26	FBgn0021873	FBtr0300039	176	364	2,37699E-23	**-1,04836**
heph	FBgn0011224	FBtr0300268,FBtr0300269	234	484	1,08720E-30	**-1,04850**
Bsg	FBgn0261822	FBtr0079573	474	981	1,88276E-61	**-1,04937**
gro	FBgn0001139	FBtr0084962,FBtr0084963,FBtr0084964, FBtr0084965,FBtr0084966,FBtr0302951, FBtr0302952	926	1919	6,28211E-120	**-1,05127**
l(2)s5379	FBgn0010704	FBtr0100673	1785	3701	8,81470E-231	**-1,05199**
l(2)s5379	FBgn0010704	FBtr0077840	1785	3702	6,09765E-231	**-1,05238**
CG7971	FBgn0035253	FBtr0072806	283	587	2,53582E-37	**-1,05256**
hth	FBgn0001235	FBtr0082256,FBtr0082254,FBtr0082255, FBtr0082253,FBtr0301345,FBtr0301956	2636	5471	0,00000E+00	**-1,05345**
sdt	FBgn0261873	FBtr0089978,FBtr0100376,FBtr0111034, FBtr0089975,FBtr0100375,FBtr0089974, FBtr0308218,FBtr0308219,FBtr0308220	588	1224	2,93396E-77	**-1,05772**
lolal	FBgn0022238	FBtr0086776,FBtr0086777,FBtr0086778, FBtr0086779,FBtr0300483,FBtr0300484, FBtr0305270	1665	3469	3,68144E-218	**-1,05900**
pncr013:4	FBgn0262731	FBtr0091952	490	1021	9,36144E-65	**-1,05913**
CG6700	FBgn0032305	FBtr0080187	2046	4276	4,15016E-270	**-1,06346**
prominin-like	FBgn0026189	FBtr0073118,FBtr0306258	2132	4461	2,38759E-282	**-1,06516**
Pdk1	FBgn0020386	FBtr0072464,FBtr0072465	739	1548	1,19573E-98	**-1,06676**
CG13025	FBgn0036660	FBtr0075346	709	1486	9,81035E-95	**-1,06758**
Mitf	FBgn0263112	FBtr0307326,FBtr0307327,FBtr0307329, FBtr0307330	239	501	1,64678E-32	**-1,06780**
Bsg	FBgn0261822	FBtr0079568,FBtr0079569,FBtr0079571, FBtr0079572	537	1126	4,67877E-72	**-1,06821**
Adar	FBgn0026086	FBtr0070299,FBtr0070300,FBtr0100557, FBtr0307895,FBtr0305498	196	411	8,23339E-27	**-1,06828**
Cf2	FBgn0000286	FBtr0089647,FBtr0089648,FBtr0089649	528	1111	1,58197E-71	**-1,07325**
bun	FBgn0259176	FBtr0299656	469	987	1,25064E-63	**-1,07346**
CrebA	FBgn0004396	FBtr0075557	768	1618	4,33277E-104	**-1,07503**
unk	FBgn0004395	FBtr0305573	1399	2953	7,62875E-190	**-1,07779**
cib	FBgn0026084	FBtr0070641,FBtr0307206	10217	21574	0,00000E+00	**-1,07832**
Antp	FBgn0260642	FBtr0081654,FBtr0081655	477	1009	1,57313E-65	**-1,08087**
Gs1	FBgn0001142	FBtr0078115	259	548	5,69284E-36	**-1,08122**
Rbp2	FBgn0262734	FBtr0074279,FBtr0074280	8823	18674	0,00000E+00	**-1,08169**
CG8116	FBgn0037614	FBtr0300543	164	348	3,07728E-23	**-1,08539**
CG4502	FBgn0031896	FBtr0079417	384	816	1,38407E-53	**-1,08746**
CG40196	FBgn0058196	FBtr0113831	253	538	1,12422E-35	**-1,08847**
Sdc	FBgn0010415	FBtr0071707,FBtr0301557	455	968	1,56036E-63	**-1,08914**
Sdc	FBgn0010415	FBtr0071706,FBtr0071705,FBtr0273206, FBtr0273207	453	964	2,24892E-63	**-1,08952**
pncr013:4	FBgn0262731	FBtr0303019,FBtr0303020,FBtr0303021	221	471	1,85836E-31	**-1,09168**
Dyrk3	FBgn0027101	FBtr0100406	621	1324	7,11001E-87	**-1,09224**
CG4502	FBgn0031896	FBtr0079416	379	809	1,56795E-53	**-1,09394**
Gs1	FBgn0001142	FBtr0300568	221	474	5,98769E-32	**-1,10084**
Parp	FBgn0010247	FBtr0113885	2203	4726	5,8334E-312	**-1,10115**
CG12054	FBgn0039831	FBtr0305118	1800	3863	3,19430E-255	**-1,10172**
gish	FBgn0250823	FBtr0301304,FBtr0083262,FBtr0083261, FBtr0083264,FBtr0100331,FBtr0100332, FBtr0100333,FBtr0305071,FBtr0305072	160	344	2,05306E-23	**-1,10434**
CG11180	FBgn0034528	FBtr0086254	678	1463	6,48815E-98	**-1,10957**
		FBtr0301360,FBtr0301361	3239	6999	0,00000E+00	**-1,11160**
		FBtr0303296	3239	6999	0,00000E+00	**-1,11160**
CG1115	FBgn0037299	FBtr0305001	148	320	3,52764E-22	**-1,11247**
Cf2	FBgn0000286	FBtr0304887	539	1166	1,49484E-78	**-1,11321**
hth	FBgn0001235	FBtr0100454	4826	10441	0,00000E+00	**-1,11336**
A2bp1	FBgn0052062	FBtr0305093,FBtr0305096	1616	3499	1,32866E-234	**-1,11452**
CG1115	FBgn0037299	FBtr0078777,FBtr0305002	168	364	3,64102E-25	**-1,11548**
akirin	FBgn0082598	FBtr0302544	4448	9640	0,00000E+00	**-1,11588**

myoglianin	FBgn0026199	FBtr0089092,FBtr0089093,FBtr0089094, FBtr0089095	1167	2537	2,67258E-171	**-1,12032**
how	FBgn0017397	FBtr0084177	1913	4160	9,86398E-281	**-1,12075**
UbcD2	FBgn0015320	FBtr0080115,FBtr0080116	870	1897	7,55026E-129	**-1,12463**
shi	FBgn0003392	FBtr0111036,FBtr0111037,FBtr0074118,FBtr0074119,FBtr0074121,FBtr0074122,FBtr0301597	596	1300	1,27784E-88	**-1,12513**
cals	FBgn0039928	FBtr0089207	142	310	9,62498E-22	**-1,12638**
R	FBgn0004636	FBtr0072867,FBtr0303154	5306	11589	0,00000E+00	**-1,12706**
Mkk4	FBgn0024326	FBtr0300443	788	1722	1,43309E-117	**-1,12782**
Nos	FBgn0011676	FBtr0100484	513	1126	1,30630E-77	**-1,13418**
Sh3beta	FBgn0035772	FBtr0302548	225	495	1,00933E-34	**-1,13750**
bowl	FBgn0004893	FBtr0077490,FBtr0077491,FBtr0077492, FBtr0307026,FBtr0307027,FBtr0307028, FBtr0307029	539	1186	4,81152E-82	**-1,13775**
Mkk4	FBgn0024326	FBtr0081892	827	1820	1,76362E-125	**-1,13798**
ogre	FBgn0004646	FBtr0071036	1968	4345	2,41522E-300	**-1,14263**
CG5059	FBgn0037007	FBtr0078216,FBtr0078217,FBtr0078218, FBtr0078219	1265	2794	1,97969E-193	**-1,14319**
Dsp1	FBgn0011764	FBtr0089262,FBtr0289960	1896	4190	3,74759E-290	**-1,14399**
Dyb	FBgn0033739	FBtr0087930,FBtr0087929,FBtr0100298, FBtr0305077	275	608	8,95658E-43	**-1,14464**
TBPH	FBgn0025790	FBtr0089624,FBtr0089626,FBtr0089627, FBtr0301643,FBtr0301644	161	356	2,60566E-25	**-1,14482**
Ptp10D	FBgn0004370	FBtr0073524,FBtr0273235	861	1904	2,33165E-132	**-1,14495**
eIF5	FBgn0030719	FBtr0074147,FBtr0074146,FBtr0074144, FBtr0074148,FBtr0074145,FBtr0074150	164	363	7,16997E-26	**-1,14627**
prominin-like	FBgn0026189	FBtr0073119,FBtr0073120	966	2144	1,12338E-149	**-1,15021**
Cklalpha	FBgn0015024	FBtr0073681,FBtr0073682,FBtr0300380	5036	11209	0,00000E+00	**-1,15431**
CR42723	FBgn0261640	FBtr0303010	237	528	1,27183E-37	**-1,15565**
Galpha49B	FBgn0004435	FBtr0087829,FBtr0087830	417	930	7,93344E-66	**-1,15718**
kn	FBgn0001319	FBtr0087465,FBtr0112810,FBtr0301400	257	575	2,83418E-41	**-1,16179**
Bsg	FBgn0261822	FBtr0079570,FBtr0079568,FBtr0079569, FBtr0079573,FBtr0079567,FBtr0079571, FBtr0079572,FBtr0079566	1764	3947	9,57366E-279	**-1,16191**
tup	FBgn0003896	FBtr0081112	224	503	2,47060E-36	**-1,16706**
qkr58E-3	FBgn0022984	FBtr0290254	1092	2461	5,28351E-176	**-1,17227**
CG8500	FBgn0037754	FBtr0082139	192	433	1,25381E-31	**-1,17326**
mrj	FBgn0034091	FBtr0087193,FBtr0087194,FBtr0087195, FBtr0087196,FBtr0113084,FBtr0306652, FBtr0306653	623	1405	7,10353E-101	**-1,17327**
TotA	FBgn0028396	FBtr0083971	117	264	1,45357E-19	**-1,17403**
Gs1	FBgn0001142	FBtr0078114	224	506	7,69237E-37	**-1,17564**
how	FBgn0017397	FBtr0301401	1792	4049	3,78457E-290	**-1,17599**
CG11727	FBgn0262740	FBtr0073547	840	1902	4,30508E-137	**-1,17906**
lin19	FBgn0015509	FBtr0088846	140	317	1,95354E-23	**-1,17906**
tup	FBgn0003896	FBtr0081111	222	503	7,20278E-37	**-1,18000**
pho	FBgn0002521	FBtr0089204,FBtr0089205	1815	4113	4,29367E-296	**-1,18022**
Mhcl	FBgn0026059	FBtr0083231	176	399	1,89475E-29	**-1,18081**
CG11266	FBgn0031883	FBtr0089638,FBtr0089639,FBtr0089635	228	517	8,36609E-38	**-1,18113**
CaMKI	FBgn0016126	FBtr0089065	552	1255	2,73006E-91	**-1,18495**
Hr46	FBgn0000448	FBtr0306346	405	922	2,46024E-67	**-1,18684**
CG5065	FBgn0034145	FBtr0087108,FBtr0302206	161	367	2,40451E-27	**-1,18872**
CG4768	FBgn0030790	FBtr0074332	470	1073	1,10401E-78	**-1,19092**
mRpS5	FBgn0044510	FBtr0111147,FBtr0111146	489	1117	6,09039E-82	**-1,19172**
tna	FBgn0026160	FBtr0076267	876	2005	6,77293E-147	**-1,19460**
CG11266	FBgn0031883	FBtr0089637	228	522	7,67132E-39	**-1,19502**
tal-2A	FBgn0259731	FBtr0299998	442	1015	5,74508E-75	**-1,19936**
tal-1A	FBgn0259730	FBtr0299997	442	1015	5,74508E-75	**-1,19936**
tal-3A	FBgn0259732	FBtr0299999	442	1015	5,74508E-75	**-1,19936**
tal-AA	FBgn0259733	FBtr0299996	442	1015	5,74508E-75	**-1,19936**
mt:Cyt-b	FBgn0013678	FBtr0100884	14497	33560	0,00000E+00	**-1,21099**
Pdk1	FBgn0020386	FBtr0072470,FBtr0072471,FBtr0072466, FBtr0072467	895	2088	2,96546E-157	**-1,22216**
CG30343	FBgn0050343	FBtr0308205	202	474	1,19602E-36	**-1,23053**
qkr58E-3	FBgn0022984	FBtr0307214	1156	2715	2,27542E-206	**-1,23181**
CG11727	FBgn0262740	FBtr0300733	663	1561	2,60548E-119	**-1,23539**
CR41597	FBgn0085810	FBtr0114264	218	514	7,05753E-40	**-1,23744**
CG4662	FBgn0038735	FBtr0083814	119	281	2,77533E-22	**-1,23961**
CG17715	FBgn0041004	FBtr0111249	893	2109	1,11451E-161	**-1,23983**
E2f	FBgn0011766	FBtr0084119	306	723	5,50342E-56	**-1,24046**
Zyx	FBgn0011642	FBtr0089210,FBtr0089213,FBtr0089215	256	605	6,64457E-47	**-1,24079**
Zyx	FBgn0011642	FBtr0089211,FBtr0089212,FBtr0089214, FBtr0089216	297	702	2,62206E-54	**-1,24101**
CG17683	FBgn0262115	FBtr0111301	158	374	2,17093E-29	**-1,24311**
mt:CoIII	FBgn0013676	FBtr0100868	33823	80212	0,00000E+00	**-1,24581**
AP-1gamma	FBgn0030089	FBtr0071295,FBtr0071297,FBtr0071298, FBtr0112965	99	235	8,37405E-19	**-1,24716**
CG15923	FBgn0038814	FBtr0113254	877	2089	3,57269E-162	**-1,25216**
zip	FBgn0005634	FBtr0072399,FBtr0100466,FBtr0100467, FBtr0302572,FBtr0302573,FBtr0302574, FBtr0302575,FBtr0306576	1131	2712	1,96335E-212	**-1,26176**
gus	FBgn0026238	FBtr0089755,FBtr0089752,FBtr0089754, FBtr0089757,FBtr0089753,FBtr0089756	558	1339	2,36463E-105	**-1,26282**
CG17715	FBgn0041004	FBtr0111247	621	1491	2,61716E-117	**-1,26362**
gro	FBgn0001139	FBtr0305047	1898	4562	0,00000E+00	**-1,26519**
PRL-1	FBgn0024734	FBtr0080857,FBtr0080856	3306	8009	0,00000E+00	**-1,27654**
myoglianin	FBgn0026199	FBtr0089095	110	267	5,02911E-22	**-1,27934**
syd	FBgn0024187	FBtr0076769,FBtr0300412,FBtr0300413	129	314	8,16745E-26	**-1,28339**
Pi4KIIalpha	FBgn0037339	FBtr0078755,FBtr0078756,FBtr0078757	111	272	1,20779E-22	**-1,29305**
Hr46	FBgn0000448	FBtr0306345	864	2122	7,22224E-172	**-1,29632**
PMCA	FBgn0259214	FBtr0304046,FBtr0304047,FBtr0304048, FBtr0304049,FBtr0300554,FBtr0300555, FBtr0300556,FBtr0300557	306	753	1,07181E-61	**-1,29912**
CG8419	FBgn0031999	FBtr0079589	164	404	1,56062E-33	**-1,30066**
sky	FBgn0032901	FBtr0081445	310	764	1,08040E-62	**-1,30130**

CG12567	FBgn0039958	FBtr0113704,FBtr0113705,FBtr0300702, FBtr0300703,FBtr0300704	533	1316	1,19764E-107	**-1,30395**
plexA	FBgn0025741	FBtr0089225,FBtr0089226,FBtr0089223	230	573	7,52185E-48	**-1,31690**
CadN	FBgn0015609	FBtr0081016,FBtr0081015,FBtr0100313, FBtr0100315	170	424	9,70881E-36	**-1,31853**
gish	FBgn0250823	FBtr0083262,FBtr0083261,FBtr0083265, FBtr0083264,FBtr0100332,FBtr0100333	924	2311	8,11501E-192	**-1,32255**
grk	FBgn0001137	FBtr0079708	135	338	9,55854E-29	**-1,32406**
lin19	FBgn0015509	FBtr0088845	121	304	5,12092E-26	**-1,32906**
CG6357	FBgn0033875	FBtr0087638	267	671	1,28653E-56	**-1,32947**
CrebA	FBgn0004396	FBtr0075558	1399	3520	2,46196E-294	**-1,33118**
Zyx	FBgn0011642	FBtr0089210,FBtr0089213	181	457	5,03067E-39	**-1,33620**
CG17698	FBgn0040056	FBtr0111168,FBtr0111167	372	941	1,10358E-79	**-1,33889**
dbr	FBgn0067779	FBtr0306536,FBtr0306538	152	386	2,55554E-33	**-1,34453**
qkr54B	FBgn0022987	FBtr0306248	707	1804	7,07324E-154	**-1,35142**
vn	FBgn0003984	FBtr0077082	283	725	1,26624E-62	**-1,35718**
Ptp10D	FBgn0004370	FBtr0073525,FBtr0073522	366	942	1,05130E-81	**-1,36388**
bw	FBgn0000241	FBtr0072117	134	345	2,44673E-30	**-1,36436**
eIF-4B	FBgn0020660	FBtr0113679	182	469	4,02730E-41	**-1,36565**
H	FBgn0001169	FBtr0083915,FBtr0083916	225	580	1,15099E-50	**-1,36613**
crq	FBgn0015924	FBtr0078087	644	1670	1,60109E-145	**-1,37472**
CG17683	FBgn0262115	FBtr0111298,FBtr0111299	94	244	6,34165E-22	**-1,37615**
Zyx	FBgn0011642	FBtr0089212,FBtr0089215	182	476	1,95322E-42	**-1,38702**
Lsd-1	FBgn0039114	FBtr0084455,FBtr0084456,FBtr0084457	76	199	3,26991E-18	**-1,38870**
Zyx	FBgn0011642	FBtr0089211,FBtr0089216	181	474	2,23363E-42	**-1,38890**
inx2	FBgn0027108	FBtr0071005,FBtr0071006	15078	39521	0,00000E+00	**-1,39017**
Muc11A	FBgn0052656	FBtr0089803	144	378	4,09263E-34	**-1,39232**
Mnt	FBgn0023215	FBtr0307278,FBtr0301823	803	2113	1,68494E-187	**-1,39582**
Hsc70-3	FBgn0001218	FBtr0073608	85	225	8,05487E-21	**-1,40439**
Pur-alpha	FBgn0022361	FBtr0089996,FBtr0089995,FBtr0089994, FBtr0089993	514	1363	2,88923E-122	**-1,40695**
CG30343	FBgn0050343	FBtr0088594	293	778	3,55503E-70	**-1,40887**
sgg	FBgn0003371	FBtr0070475,FBtr0070476,FBtr0301966	1341	3564	7,5676E-320	**-1,41019**
Cklalpha	FBgn0015024	FBtr0073680	5372	14301	0,00000E+00	**-1,41258**
CG17528	FBgn0261387	FBtr0111274	85	227	3,35784E-21	**-1,41716**
CaMKI	FBgn0016126	FBtr0089067	181	484	1,89474E-44	**-1,41902**
stai	FBgn0051641	FBtr0304908	2437	6517	0,00000E+00	**-1,41910**
stai	FBgn0051641	FBtr0079196,FBtr0079197,FBtr0079198	2424	6490	0,00000E+00	**-1,42083**
sgg	FBgn0003371	FBtr0070471,FBtr0070472,FBtr0070473, FBtr0070466,FBtr0070468,FBtr0070469, FBtr0070470	1345	3607	0,00000E+00	**-1,42319**
CG42258	FBgn0259143	FBtr0299558,FBtr0299559	426	1149	2,40675E-105	**-1,43145**
loia	FBgn0005630	FBtr0089365,FBtr0089347,FBtr0089361, FBtr0089360,FBtr0089366,FBtr0089355, FBtr0089354,FBtr0089346,FBtr0089345, FBtr0089364	192	518	5,82406E-48	**-1,43185**
zip	FBgn0005634	FBtr0072398	1540	4169	0,00000E+00	**-1,43677**
fwe	FBgn0261722	FBtr0075543	91	250	4,98808E-24	**-1,45799**
		FBtr0082858	13736	37797	0,00000E+00	**-1,46031**
Antp	FBgn0260642	FBtr0081647,FBtr0081648,FBtr0081649, FBtr0081650,FBtr0081651,FBtr0081652, FBtr0081653,FBtr0081656	672	1855	1,08982E-174	**-1,46489**
pAbp	FBgn0261619	FBtr0086738	446	1240	6,88759E-118	**-1,47522**
pAbp	FBgn0261619	FBtr0086743,FBtr0086739	446	1240	6,88759E-118	**-1,47522**
CaMKII	FBgn0004624	FBtr0089218,FBtr0089219,FBtr0089217	554	1545	2,71559E-147	**-1,47965**
CaMKII	FBgn0004624	FBtr0100146,FBtr0100147,FBtr0100148, FBtr0300378	554	1546	1,74278E-147	**-1,48058**
CG8745	FBgn0036381	FBtr0075801	96	268	3,08241E-26	**-1,48113**
CR43241	FBgn0262886	FBtr0306297	98	274	9,98207E-27	**-1,48332**
Hr46	FBgn0000448	FBtr0088366,FBtr0088368,FBtr0112799, FBtr0302438	659	1848	2,53620E-177	**-1,48761**
CaMKI	FBgn0016126	FBtr0089069	70	198	8,66801E-20	**-1,50007**
Mbs	FBgn0005536	FBtr0112850,FBtr0112851,FBtr0112852,F Btr0301472,FBtr0301473,FBtr0301575,F Btr0308213,FBtr0308214,FBtr0308215,F Btr0308216	466	1340	1,53076E-132	**-1,52383**
CG41520	FBgn0087011	FBtr0114111,FBtr0114112,FBtr0302581,F Btr0302582	134	390	1,27207E-39	**-1,54124**
Fas3	FBgn0000636	FBtr0081051,FBtr0081052	2666	7762	0,00000E+00	**-1,54175**
CkIIbeta	FBgn0000259	FBtr0073562	63	185	1,95058E-19	**-1,55410**
Ank	FBgn0011747	FBtr0089174	157	465	6,28408E-48	**-1,56647**
CG17715	FBgn0041004	FBtr0111244,FBtr0111246,FBtr0111245,F Btr0111248,FBtr0306550,FBtr0306551	200	593	5,68733E-61	**-1,56803**
dbr	FBgn0067779	FBtr0078100,FBtr0306537,FBtr0306539	180	540	1,99059E-56	**-1,58496**
Nrg	FBgn0002968	FBtr0071207,FBtr0071209,FBtr0301762, FBtr0301764,FBtr0305914	1144	3445	0,00000E+00	**-1,59042**
Df31	FBgn0022893	FBtr0085919,FBtr0085920	27141	81808	0,00000E+00	**-1,59177**
Df31	FBgn0022893	FBtr0100293	27249	82324	0,00000E+00	**-1,59511**
pallidin	FBgn0036192	FBtr0300097,FBtr0300725,FBtr0300726	93	282	4,31882E-30	**-1,60039**
Cam	FBgn0000253	FBtr0088001,FBtr0088002	7691	23442	0,00000E+00	**-1,60785**
Galpha49B	FBgn0004435	FBtr0304955	1132	3452	0,00000E+00	**-1,60856**
mt:Coll	FBgn0013675	FBtr0100863	10541	32317	0,00000E+00	**-1,61628**
gish	FBgn0250823	FBtr0083263	1002	3086	0,00000E+00	**-1,62286**
Fbp1	FBgn0000639	FBtr0075750	8274	25614	0,00000E+00	**-1,63028**
Fbp1	FBgn0000639	FBtr0075749	8273	25613	0,00000E+00	**-1,63039**
Akap200	FBgn0027932	FBtr0079665,FBtr0079667	5459	16929	0,00000E+00	**-1,63279**
Akap200	FBgn0027932	FBtr0079664,FBtr0079666	5459	16932	0,00000E+00	**-1,63304**
eIF-4B	FBgn0020660	FBtr0113680	70	218	5,21822E-24	**-1,63890**
Mnt	FBgn0023215	FBtr0307277,FBtr0301822	882	2748	7,28101E-296	**-1,63953**
CG7115	FBgn0027515	FBtr0079523	98	306	1,38606E-33	**-1,64268**
CG11266	FBgn0031883	FBtr0089639,FBtr0089635	63	197	6,85753E-22	**-1,64477**
Pdp1	FBgn0016694	FBtr0076775,FBtr0076776,FBtr0076777, FBtr0076780,FBtr0076782,FBtr0300499, FBtr0300500	194	608	2,88267E-66	**-1,64801**
Rfabg	FBgn0087002	FBtr0089188	676	2127	1,72179E-231	**-1,65372**
CG7367	FBgn0031976	FBtr0306002	102	323	5,14858E-36	**-1,66297**
Pdp1	FBgn0016694	FBtr0306535	195	623	3,12539E-69	**-1,67576**

Hr39	FBgn0261239	FBtr0081480	302	966	3,61776E-107	**-1,67747**
mt:Col	FBgn0013674	FBtr0100861	45828	146749	0,00000E+00	**-1,67905**
CG7367	FBgn0031976	FBtr0301128	143	460	1,05238E-51	**-1,68562**
Ank	FBgn0011747	FBtr0089173,FBtr0089171,FBtr0089172, FBtr0300497,FBtr0300498	133	429	1,99072E-48	**-1,68955**
swi2	FBgn0034262	FBtr0086889	88	284	2,22491E-32	**-1,69032**
Pabp2	FBgn0005648	FBtr0088786	143	462	3,99826E-52	**-1,69188**
Cam	FBgn0000253	FBtr0304963,FBtr0304964	8288	26840	0,00000E+00	**-1,69529**
Pdp1	FBgn0016694	FBtr0076776,FBtr0076777,FBtr0300499, FBtr0306535	80	265	7,38196E-31	**-1,72792**
Eph	FBgn0025936	FBtr0089082,FBtr0089083,FBtr0089084	370	1229	2,35036E-141	**-1,73189**
Akap200	FBgn0027932	FBtr0079665	95	324	8,68849E-39	**-1,76999**
Galpha49B	FBgn0004435	FBtr0087829,FBtr0087830,FBtr0087831, FBtr0087833,FBtr0087834,FBtr0304954	710	2445	1,24882E-290	**-1,78394**
ventrally-expressed-protein-D	FBgn0053200	FBtr0307213	48	167	8,87292E-21	**-1,79874**
H	FBgn0001169	FBtr0083914,FBtr0083917	541	1911	1,09283E-232	**-1,82063**
Eph	FBgn0025936	FBtr0089086	303	1076	8,65538E-132	**-1,82829**
myoglianin	FBgn0026199	FBtr0089092,FBtr0089093	105	373	3,33842E-46	**-1,82879**
CG14526	FBgn0027578	FBtr0301945	46	164	9,10662E-21	**-1,83399**
CG2225	FBgn0032957	FBtr0304885	133	476	5,49543E-59	**-1,83954**
		FBtr0076660	623	2241	3,80748E-277	**-1,84684**
Hr39	FBgn0261239	FBtr0081479,FBtr0081481	881	3193	0,00000E+00	**-1,85770**
CG32016	FBgn0052016	FBtr0089232	84	307	5,03507E-39	**-1,86978**
CG9894	FBgn0031453	FBtr0307080	4227	15511	0,00000E+00	**-1,87559**
Cyp6g1	FBgn0025454	FBtr0087992	66	243	3,09904E-31	**-1,88042**
CG9894	FBgn0031453	FBtr0077713,FBtr0077714,FBtr0307080	1452	5391	0,00000E+00	**-1,89251**
pncr013:4	FBgn0262731	FBtr0303019	94	351	2,11269E-45	**-1,90074**
UBL3	FBgn0026076	FBtr0074175	54	204	7,39942E-27	**-1,91754**
CG10417	FBgn0033021	FBtr0086092	90	341	1,07016E-44	**-1,92177**
CG9894	FBgn0031453	FBtr0077713,FBtr0077714	2930	11197	0,00000E+00	**-1,93414**
Fbp2	FBgn0000640	FBtr0079808	817	3125	0,00000E+00	**-1,93545**
CG32016	FBgn0052016	FBtr0089229	82	321	2,67820E-43	**-1,96888**
CG17471	FBgn0039924	FBtr0100544	60	238	1,42722E-32	**-1,98793**
CG17471	FBgn0039924	FBtr0100543	60	241	2,92884E-33	**-2,00600**
CG32016	FBgn0052016	FBtr0089233	105	424	2,21138E-58	**-2,01367**
CG5958	FBgn0031913	FBtr0079466	32	135	1,47629E-19	**-2,07682**
CR43241	FBgn0262886	FBtr0306296	34	149	4,12348E-22	**-2,13171**
nimC2	FBgn0028939	FBtr0080589,FBtr0080588	69	304	7,11246E-45	**-2,13940**
CG12990	FBgn0030859	FBtr0074479	49	226	1,21449E-34	**-2,20547**
Rbp1-like	FBgn0030479	FBtr0073790	215	997	5,50079E-151	**-2,21326**
TpnC25D	FBgn0031692	FBtr0079063	38	178	9,44630E-28	**-2,22781**
E2f	FBgn0011766	FBtr0084118	120	569	1,13696E-87	**-2,24539**
CG10417	FBgn0033021	FBtr0086091	100	485	4,95101E-76	**-2,27798**
CG40196	FBgn0058196	FBtr0113829,FBtr0113830,FBtr0301121	53	258	7,55758E-41	**-2,28331**
CG8979	FBgn0033669	FBtr0088052	64	316	2,18492E-50	**-2,30378**
Act5C	FBgn0000042	FBtr0070822,FBtr0100662,FBtr0100663	1371	7183	0,00000E+00	**-2,38936**
UBL3	FBgn0026076	FBtr0074174,FBtr0300787	94	533	7,59301E-92	**-2,50340**
Pabp2	FBgn0005648	FBtr0088785	941	5443	0,00000E+00	**-2,53214**
CG2233	FBgn0029990	FBtr0071123	192	1126	3,64705E-197	**-2,55203**
mt:tRNA:G	FBgn0013694	FBtr0100869	18	115	1,31510E-21	**-2,67557**
mt:tRNA:Y	FBgn0013710	FBtr0100860	15	96	3,07578E-18	**-2,67807**
CG3999	FBgn0037801	FBtr0082225	21	135	2,00174E-25	**-2,68450**
CG10006	FBgn0036461	FBtr0113171	19	124	1,43049E-23	**-2,70627**
CG32016	FBgn0052016	FBtr0089234	33	217	1,13543E-40	**-2,71716**
Zyx	FBgn0011642	FBtr0089210,FBtr0089211,FBtr0089212	39	257	3,55007E-48	**-2,72022**
Zyx	FBgn0011642	FBtr0089213,FBtr0089215,FBtr0089216	39	257	3,55007E-48	**-2,72022**
Zyx	FBgn0011642	FBtr0089214	38	255	2,51803E-48	**-2,74643**
mt:ND4	FBgn0262952	FBtr0100879	1500	11843	0,00000E+00	**-2,98100**
mt:tRNA:W	FBgn0013709	FBtr0100858	14	112	2,85095E-23	**-3,00000**
pncr013:4	FBgn0262731	FBtr0303020,FBtr0303021	77	623	1,71565E-127	**-3,01630**
mt:ND5	FBgn0013684	FBtr0100877	3108	26146	0,00000E+00	**-3,07253**
mt:ND3	FBgn0013681	FBtr0100870	99	871	2,46348E-184	**-3,13717**
CG10514	FBgn0039312	FBtr0084864	11	132	1,97103E-31	**-3,58496**
CG10513	FBgn0039311	FBtr0114505	6	78	2,91618E-19	**-3,70044**
CG11892	FBgn0039313	FBtr0089644	18	235	4,90467E-57	**-3,70659**
CG11892	FBgn0039313	FBtr0089645	18	235	4,90467E-57	**-3,70659**
mt:tRNA:C	FBgn0013690	FBtr0100859	11	144	3,36099E-35	**-3,71049**
CG32016	FBgn0052016	FBtr0089230,FBtr0089231	10	133	1,17438E-32	**-3,73335**
mt:tRNA:L:UUR	FBgn0013699	FBtr0100862	7	95	1,26312E-23	**-3,76250**
CG9259	FBgn0032913	FBtr0081464	16	232	7,35809E-58	**-3,85798**
mt:ATPase6	FBgn0013672	FBtr0100867	2522	36678	0,00000E+00	**-3,86227**
CG40351	FBgn0040022	FBtr0302248	4	75	4,45652E-20	**-4,22882**
CG40351	FBgn0040022	FBtr0113869,FBtr0302244	4	75	4,45652E-20	**-4,22882**
CG40351	FBgn0040022	FBtr0302243	4	93	6,84826E-26	**-4,53916**
CG40351	FBgn0040022	FBtr0113870,FBtr0113871	6	147	5,26998E-41	**-4,61471**
CG16727	FBgn0038719	FBtr0083780	15	386	7,41482E-108	**-4,68557**
mt:ND1	FBgn0013679	FBtr0100886	365	9585	0,00000E+00	**-4,71481**
CG3292	FBgn0034710	FBtr0071783	16	462	2,51399E-131	**-4,85175**
mt:ATPase8	FBgn0013673	FBtr0100866	567	16433	0,00000E+00	**-4,85710**
mt:lrRNA	FBgn0013686	FBtr0100888	32368	975604	0,00000E+00	**-4,91366**
mt:tRNA:P	FBgn0013702	FBtr0100882	2	62	3,78452E-18	**-4,95420**
Fst	FBgn0037724	FBtr0082101	12	374	1,64425E-107	**-4,96193**
mt:ND2	FBgn0013680	FBtr0100857	151	5273	0,00000E+00	**-5,12600**
CG3264	FBgn0034712	FBtr0071781	11	399	6,11024E-117	**-5,18081**
CG10505	FBgn0034612	FBtr0071619	4	146	5,00948E-43	**-5,18982**
CG7882	FBgn0033047	FBtr0085966	2	81	2,62446E-24	**-5,33985**
Mur18B	FBgn0030999	FBtr0074672	4	182	8,03058E-55	**-5,50779**
mt:ND6	FBgn0013685	FBtr0100883	66	3640	0,00000E+00	**-5,78533**
mt:srRNA	FBgn0013688	FBtr0100890	5	357	1,91917E-111	**-6,15785**
mt:tRNA:L:CUN	FBgn0013698	FBtr0100887	18	1386	0,00000E+00	**-6,26679**
CG17752	FBgn0038718	FBtr0083779	2	157	2,08322E-49	**-6,29462**
mt:ND4L	FBgn0013683	FBtr0100880	33	2698	0,00000E+00	**-6,35328**
CG42235	FBgn0250757	FBtr0290137,FBtr0290138,FBtr0290139, FBtr0290140,FBtr0290141	0	121	8,77010E-41	**-Infinity**

CG42235	FBgn0250757	FBtr0290139	0	104	4,86609E-35	**-Infinity**
CG42235	FBgn0250757	FBtr0290140	0	92	5,45626E-31	**-Infinity**
CG2187	FBgn0017448	FBtr0085861,FBtr0303376	0	60	3,18975E-20	**-Infinity**

Supplementary Table 6: Genes down-regulated in *sd::Gal4>UAS::RpL12-Myc* vs *sd::Gal4/+*. FC: Fold Change.

Flybase Gene Symbol	Flybase ID Genes	Flybase ID Transcripts	Number of reads		Adjusted *P*-value	log_2(FC)
			sd::Gal4>UAS::RpL12-Myc	*sd::Gal4/+*		
Cklbeta	FBgn0000259	FBtr0308084	151	302	4,25264E-20	**-1**
Tao-1	FBgn0031030	FBtr0303999	1664	3330	5,16696E-213	**-1,00087**
eyg	FBgn0000625	FBtr0100170	241	483	1,41536E-31	**-1,00299**
CG14464	FBgn0033000	FBtr0299923	771	1546	1,48315E-99	**-1,00374**
eIF-4a	FBgn0001942	FBtr0079176	6582	13214	0	**-1,00547**
Sh3beta	FBgn0035772	FBtr0076873,FBtr0302547,FBtr0302548	1276	2566	1,35724E-165	**-1,00789**
Pkn	FBgn0020621	FBtr0088601,FBtr0088603,FBtr0088604, FBtr0088605,FBtr0302604,FBtr0112897, FBtr0301511	1305	2625	1,62687E-169	**-1,00827**
gro	FBgn0001139	FBtr0084962,FBtr0084963,FBtr0084964, FBtr0084965,FBtr0084966,FBtr0302951, FBtr0302952	953	1919	2,54324E-124	**-1,00981**
CG13025	FBgn0036660	FBtr0075346	736	1486	6,14527E-97	**-1,01366**
CG6084	FBgn0086254	FBtr0076139	285	576	3,98708E-38	**-1,01511**
Tsp42Ea	FBgn0029508	FBtr0086171,FBtr0086172,FBtr0086173	183	370	9,90642E-25	**-1,01568**
CG6091	FBgn0036180	FBtr0273305,FBtr0273306	264	534	1,72904E-35	**-1,01630**
gish	FBgn0250823	FBtr0301304,FBtr0083262,FBtr0083261, FBtr0083264,FBtr0100331,FBtr0100332, FBtr0100333,FBtr0305071,FBtr0305072	170	344	4,73567E-23	**-1,01687**
Pur-alpha	FBgn0022361	FBtr0089995,FBtr0089993	201	407	2,77302E-27	**-1,01783**
Pur-alpha	FBgn0022361	FBtr0089996,FBtr0089994	200	405	4,90691E-27	**-1,01792**
mask	FBgn0043884	FBtr0084563	1369	2774	2,21313E-181	**-1,01885**
CG17698	FBgn0040056	FBtr0111166,FBtr0111168,FBtr0111167	568	1152	6,90771E-76	**-1,02018**
mRpS21	FBgn0044511	FBtr0082764	200	406	2,33562E-27	**-1,02148**
CG7337	FBgn0031374	FBtr0077811,FBtr0110882,FBtr0110883,F Btr0113011	232	471	1,62174E-31	**-1,02160**
eIF-4a	FBgn0001942	FBtr0079178	6666	13540	0	**-1,02233**
gus	FBgn0026238	FBtr0089755,FBtr0089752,FBtr0089754, FBtr0089753,FBtr0089756	192	390	2,97285E-26	**-1,02237**
vtd	FBgn0260987	FBtr0113746	1837	3736	1,64579E-245	**-1,02414**
alph	FBgn0086361	FBtr0085443	1613	3283	3,94811E-216	**-1,02527**
CG4662	FBgn0038735	FBtr0083814	138	281	3,03576E-19	**-1,02590**
itp	FBgn0035023	FBtr0300187,FBtr0290219	508	1035	1,01188E-68	**-1,02673**
CG42342	FBgn0259244	FBtr0299895,FBtr0299897	158	322	5,91379E-22	**-1,02714**
4EHP	FBgn0053100	FBtr0300475,FBtr0303159	179	365	9,71646E-25	**-1,02794**
Imp	FBgn0262735	FBtr0305150	3339	6817	0	**-1,02972**
Cf2	FBgn0000286	FBtr0089647,FBtr0089648,FBtr0089649	543	1111	2,97210E-74	**-1,03283**
CG13360	FBgn0025620	FBtr0070147	152	311	2,56838E-21	**-1,03284**
Csk	FBgn0262081	FBtr0299728,FBtr0300548,FBtr0300546, FBtr0300547,FBtr0300549	1521	3114	4,36575E-207	**-1,03375**
Nedd4	FBgn0259174	FBtr0299642,FBtr0299645,FBtr0299647, FBtr0300519	676	1384	2,18570E-92	**-1,03375**
CG31121	FBgn0051121	FBtr0084723	285	584	2,00509E-39	**-1,03501**
eyg	FBgn0000625	FBtr0075979	243	498	7,58304E-34	**-1,03519**
CG4612	FBgn0035016	FBtr0306136	3326	6819	0	**-1,03577**
Sdc	FBgn0010415	FBtr0273207,FBtr0305897	4229	8671	0	**-1,03588**
CG4768	FBgn0030790	FBtr0074332	523	1073	5,00838E-72	**-1,03677**
Ranbp16	FBgn0053180	FBtr0303646	187	384	2,36964E-26	**-1,03807**
CG6700	FBgn0032305	FBtr0301710	1168	2400	1,10371E-160	**-1,03899**
bbg	FBgn0087007	FBtr0273424,FBtr0273425,FBtr0273426	145	298	1,32010E-20	**-1,03926**
Bsg	FBgn0261822	FBtr0079570,FBtr0079574,FBtr0079567, FBtr0079566	459	944	9,72579E-64	**-1,04029**
CG15535	FBgn0039764	FBtr0085629	138	284	9,87170E-20	**-1,04122**
qkr54B	FBgn0022987	FBtr0086923,FBtr0086925	133	274	3,54544E-19	**-1,04275**
CaMKI	FBgn0016126	FBtr0089069,FBtr0089063,FBtr0089064, FBtr0089065,FBtr0089066,FBtr0089067, FBtr0089068	2301	4751	4,7632E-320	**-1,04597**
Cklalpha	FBgn0015024	FBtr0073680,FBtr0300380	845	1745	5,89448E-118	**-1,04620**
CG4612	FBgn0035016	FBtr0306137	3394	7019	0	**-1,04828**
Stlk	FBgn0046692	FBtr0111111	899	1860	3,86625E-126	**-1,04891**
R	FBgn0004636	FBtr0072867,FBtr0303154	5599	11589	0	**-1,04952**
Sdc	FBgn0010415	FBtr0071706,FBtr0071705,FBtr0273206, FBtr0273207	465	964	5,25968E-66	**-1,05180**
CG8949	FBgn0030812	FBtr0074412,FBtr0304839	1469	3046	7,80014E-207	**-1,05208**
Sdc	FBgn0010415	FBtr0071707,FBtr0301557	466	968	1,98752E-66	**-1,05468**
mub	FBgn0262737	FBtr0304980	4130	8594	0	**-1,05719**
E2f	FBgn0011766	FBtr0084119	347	723	4,71004E-50	**-1,05906**
CG17490	FBgn0040009	FBtr0111259	340	709	3,54907E-49	**-1,06025**
CG17883	FBgn0040005	FBtr0111291,FBtr0111292	603	1259	7,25742E-87	**-1,06205**
CaMKI	FBgn0016126	FBtr0089069,FBtr0089066,FBtr0089067, FBtr0089068	239	500	5,08635E-35	**-1,06492**
Haspin	FBgn0046706	FBtr0113784	954	1996	9,74021E-138	**-1,06505**
ewg	FBgn0005427	FBtr0089441,FBtr0308208,FBtr0308209	720	1508	1,96217E-104	**-1,06657**
Bsg	FBgn0261822	FBtr0079573	468	981	3,00647E-68	**-1,06774**
Scm	FBgn0003334	FBtr0082102	734	1546	5,01310E-108	**-1,07469**
Rbp1-like	FBgn0030479	FBtr0304001	1704	3590	6,59884E-250	**-1,07506**
Wnt4	FBgn0010453	FBtr0089291	224	472	1,55779E-33	**-1,07529**
CG7668	FBgn0036929	FBtr0074904,FBtr0074905	267	563	7,36560E-40	**-1,07630**
Patronin	FBgn0263197	FBtr0300603,FBtr0273447,FBtr0086950, FBtr0300604	619	1306	1,28358E-91	**-1,07714**
nimC2	FBgn0028939	FBtr0080589,FBtr0080588	144	304	5,12689E-22	**-1,07800**
CG2316	FBgn0039890	FBtr0089152	204	431	7,94365E-31	**-1,07912**
fwe	FBgn0261722	FBtr0075541	225	476	4,21292E-34	**-1,08104**
csw	FBgn0000382	FBtr0070380	760	1608	4,82866E-113	**-1,08120**
l(2)s5379	FBgn0010704	FBtr0100673	1745	3701	1,76400E-260	**-1,08469**
kn	FBgn0001319	FBtr0112809	430	912	1,19272E-64	**-1,08470**
l(2)s5379	FBgn0010704	FBtr0077840	1745	3702	1,19135E-260	**-1,08508**
knrl	FBgn0001323	FBtr0078212	572	1215	3,69085E-86	**-1,08687**
Bsg	FBgn0261822	FBtr0079568,FBtr0079569,FBtr0079571, FBtr0079572	530	1126	6,65705E-80	**-1,08714**
N	FBgn0004647	FBtr0070507	2603	5537	0	**-1,08893**
smg	FBgn0016070	FBtr0076550	242	515	4,22397E-37	**-1,08957**
tna	FBgn0026160	FBtr0076267	942	2005	3,33567E-142	**-1,08980**
Gef26	FBgn0021873	FBtr0300039	171	364	1,90582E-26	**-1,08994**
CG18812	FBgn0042135	FBtr0088935,FBtr0088936,FBtr0088937	394	839	4,83348E-60	**-1,09048**

mp	FBgn0260660	FBtr0301105,FBtr0301106,FBtr0301107,FBtr0301108,FBtr0301109,FBtr0301110,FBtr0301111,FBtr0301113,FBtr0301114,FBtr0306638	161	343	5,23325E-25	**-1,09115**
cic	FBgn0262582	FBtr0305030	1618	3448	1,65213E-244	**-1,09155**
Rfabg	FBgn0087002	FBtr0089188	998	2127	4,77183E-151	**-1,09171**
Ckllbeta	FBgn0000259	FBtr0307896	2782	5931	0	**-1,09215**
CG11180	FBgn0034528	FBtr0086254	686	1463	2,42496E-104	**-1,09265**
cib	FBgn0026084	FBtr0070641,FBtr0307206	10104	21574	0	**-1,09437**
Cf2	FBgn0000286	FBtr0304887	546	1166	1,72396E-83	**-1,09459**
Mmp1	FBgn0035049	FBtr0306656	418	893	4,43436E-64	**-1,09516**
Sap47	FBgn0013334	FBtr0083204,FBtr0083205,FBtr0083206,FBtr0083207,FBtr0083208,FBtr0083209,FBtr0083210,FBtr0301655	897	1917	6,66569E-137	**-1,09567**
rl	FBgn0003256	FBtr0113701,FBtr0113702	334	714	2,12481E-51	**-1,09608**
unk	FBgn0004395	FBtr0305571,FBtr0305572	1040	2225	5,22280E-159	**-1,09722**
smg	FBgn0016070	FBtr0076551,FBtr0290104	242	519	8,88267E-38	**-1,10073**
CG30343	FBgn0050343	FBtr0308205	221	474	1,18113E-34	**-1,10084**
Sdc	FBgn0010415	FBtr0071706,FBtr0071707,FBtr0071705,FBtr0273206,FBtr0273207,FBtr0301557	137	294	7,93932E-22	**-1,10164**
jim	FBgn0027339	FBtr0078582,FBtr0078581	1235	2654	7,39003E-191	**-1,10366**
CG1115	FBgn0037299	FBtr0078777,FBtr0305002	169	364	5,69829E-27	**-1,10692**
CG5059	FBgn0037007	FBtr0078216,FBtr0078217,FBtr0078218,FBtr0078219	1297	2794	1,04596E-201	**-1,10715**
CG18812	FBgn0042135	FBtr0306239	380	819	1,14834E-59	**-1,10786**
Mmp1	FBgn0035049	FBtr0273263,FBtr0304005,FBtr0304008,FBtr0304009,FBtr0304010,FBtr0304011	411	888	6,48101E-65	**-1,11142**
PMCA	FBgn0259214	FBtr0304050	2618	5673	0	**-1,11565**
dbr	FBgn0067779	FBtr0078100,FBtr0306537,FBtr0306539	249	540	5,10906E-40	**-1,11681**
zfh2	FBgn0004607	FBtr0307167	1034	2245	3,41884E-164	**-1,11848**
CG11486	FBgn0035397	FBtr0072998,FBtr0072999,FBtr0073000,FBtr0073001,FBtr0073002,FBtr0073003,FBtr0072991,FBtr0072992,FBtr0113130,FBtr0113131	336	730	5,97164E-54	**-1,11944**
akirin	FBgn0082598	FBtr0302544	4432	9640	0	**-1,12108**
grh	FBgn0259211	FBtr0300539	2135	4644	0	**-1,12113**
Pi4KIIalpha	FBgn0037339	FBtr0078755,FBtr0078756,FBtr0078757	125	272	1,42300E-20	**-1,12168**
Dsp1	FBgn0011764	FBtr0089262,FBtr0289960	1923	4190	1,76311E-307	**-1,12359**
Pdk1	FBgn0020386	FBtr0072464,FBtr0072465	710	1548	3,46048E-114	**-1,12451**
Sh3beta	FBgn0035772	FBtr0302548	227	495	5,46115E-37	**-1,12474**
mim	FBgn0053558	FBtr0302577,FBtr0302578,FBtr0113470,FBtr0302035,FBtr0306614,FBtr0306615,FBtr0306616	110	240	2,01466E-18	**-1,12553**
Nipped-B	FBgn0026401	FBtr0111119,FBtr0111118	538	1175	5,24400E-87	**-1,12698**
Eph	FBgn0025936	FBtr0301285	861	1883	2,45807E-139	**-1,12895**
sdt	FBgn0261873	FBtr0308217	575	1260	9,51224E-94	**-1,13179**
CG1115	FBgn0037299	FBtr0305001	146	320	2,17364E-24	**-1,13210**
CG9821	FBgn0037636	FBtr0081931	11169	24493	0	**-1,13287**
CG40351	FBgn0040022	FBtr0113869,FBtr0113870,FBtr0113871,FBtr0302243,FBtr0302244,FBtr0302245,FBtr0302246,FBtr0302247,FBtr0302248	2333	5119	0	**-1,13368**
PRL-1	FBgn0024734	FBtr0080857,FBtr0080856	3641	8009	0	**-1,13729**
Nipped-B	FBgn0026401	FBtr0301454,FBtr0301455,FBtr0301456	528	1162	4,02952E-87	**-1,13800**
mim	FBgn0053558	FBtr0302579,FBtr0302034	159	350	9,81333E-27	**-1,13833**
CG11266	FBgn0031883	FBtr0089638,FBtr0089639,FBtr0089640	391	861	8,46007E-65	**-1,13884**
CG40191	FBgn0058191	FBtr0113825,FBtr0113826	113	249	2,42924E-19	**-1,13982**
CG2698	FBgn0037536	FBtr0308076	176	388	9,93943E-30	**-1,14048**
CG8949	FBgn0030812	FBtr0304840	1481	3271	4,99217E-245	**-1,14316**
CG11266	FBgn0031883	FBtr0089637,FBtr0089635,FBtr0089636	392	866	2,19011E-65	**-1,14351**
Dyrk3	FBgn0027101	FBtr0100404	167	369	2,25841E-28	**-1,14377**
Dyrk3	FBgn0027101	FBtr0100405	167	369	2,25841E-28	**-1,14377**
fbl6	FBgn0033609	FBtr0088179,FBtr0088180	429	949	8,63769E-72	**-1,14543**
fs(1)h	FBgn0004656	FBtr0071118,FBtr0071120,FBtr0071121,FBtr0071122	1051	2329	1,57576E-175	**-1,14795**
CG15628	FBgn0031632	FBtr0077384	846	1877	7,06022E-142	**-1,14970**
CG40191	FBgn0058191	FBtr0113827	114	253	9,37541E-20	**-1,15010**
prominin-like	FBgn0026189	FBtr0073119,FBtr0073120	965	2144	2,29549E-162	**-1,15170**
sgg	FBgn0003371	FBtr0111035,FBtr0070471,FBtr0070472,FBtr0070473,FBtr0070474,FBtr0070475,FBtr0070476,FBtr0070466,FBtr0070467,FBtr0070468,FBtr0070469,FBtr0070470,FBtr0301966,FBtr0302185	188	418	2,34799E-32	**-1,15277**
mub	FBgn0262737	FBtr0078468,FBtr0304981,FBtr0304982	2777	6185	0	**-1,15525**
unk	FBgn0004395	FBtr0084402	1094	2439	1,56421E-185	**-1,15668**
CG6700	FBgn0032305	FBtr0080187	1914	4276	0	**-1,15967**
CG31360	FBgn0051360	FBtr0083480	258	577	1,09425E-44	**-1,16120**
Ckllbeta	FBgn0000259	FBtr0073558	2904	6510	0	**-1,16462**
Lis-1	FBgn0015754	FBtr0087236,FBtr0087238,FBtr0087239,FBtr0304747	103	231	1,99239E-18	**-1,16525**
mrj	FBgn0034091	FBtr0087193,FBtr0087194,FBtr0087195,FBtr0087196,FBtr0113084,FBtr0306652,FBtr0306653	626	1405	3,59501E-108	**-1,16634**
Bsg	FBgn0261822	FBtr0079570,FBtr0079568,FBtr0079569,FBtr0079573,FBtr0079567,FBtr0079571,FBtr0079572,FBtr0079566	1757	3947	3,01030E-303	**-1,16764**
prominin-like	FBgn0026189	FBtr0073118,FBtr0306258	1979	4461	0	**-1,17260**
CG40178	FBgn0058178	FBtr0113817,FBtr0113818	373	841	1,42394E-65	**-1,17293**
ens	FBgn0035500	FBtr0073269,FBtr0073266,FBtr0073268,FBtr0073267,FBtr0073265	1535	3462	1,23333E-267	**-1,17337**
snmRNA:838	FBgn0065081	FBtr0091797	409	925	2,95653E-72	**-1,17735**
ovo	FBgn0003028	FBtr0070740,FBtr0070738,FBtr0070739,FBtr0100408	1071	2425	1,30572E-188	**-1,17903**
mp	FBgn0260660	FBtr0301958	262	594	6,42873E-47	**-1,18090**
Parp	FBgn0010247	FBtr0113885	2081	4726	0	**-1,18334**
alpha-Man-I	FBgn0259170	FBtr0300512,FBtr0299632,FBtr0299633,FBtr0300513,FBtr0300514,FBtr0300515,FBtr0300516	420	955	3,50134E-75	**-1,18511**
CG7971	FBgn0035253	FBtr0072806	258	587	1,26070E-46	**-1,18599**
Fbp2	FBgn0000640	FBtr0079808	1368	3125	3,71057E-246	**-1,19179**
Dcp2	FBgn0036534	FBtr0304975	5414	12369	0	**-1,19196**
CG40160	FBgn0058160	FBtr0301802	101	231	5,46026E-19	**-1,19354**
ovo	FBgn0003028	FBtr0301914	1839	4223	0	**-1,19935**

Pten	FBgn0026379	FBtr0089900,FBtr0089901,FBtr0089904, FBtr0089905,FBtr0300562,FBtr0301521	111	255	5,90781E-21	**-1,19994**
Cklalpha	FBgn0015024	FBtr0073681,FBtr0073682,FBtr0300380	4876	11209	0	**-1,20089**
Atf6	FBgn0033010	FBtr0086081	1218	2808	3,49403E-224	**-1,20503**
CR42723	FBgn0261640	FBtr0303010	229	528	9,01143E-43	**-1,20519**
bun	FBgn0259176	FBtr0299656	428	987	2,51707E-79	**-1,20544**
		FBtr0303296	3035	6999	0	**-1,20545**
		FBtr0301360,FBtr0301361	3035	6999	0	**-1,20545**
rl	FBgn0003256	FBtr0113699	111	256	3,92375E-21	**-1,20558**
hth	FBgn0001235	FBtr0082256,FBtr0082254,FBtr0082255, FBtr0082253,FBtr0301345,FBtr0301956	2368	5471	0	**-1,20814**
eIF5	FBgn0030719	FBtr0074147,FBtr0074146,FBtr0074144, FBtr0074148,FBtr0074145,FBtr0074150	157	363	9,02092E-30	**-1,20921**
Rbp2	FBgn0262734	FBtr0074279,FBtr0074280	8054	18674	0	**-1,21325**
CR42722	FBgn0261639	FBtr0303009	239	556	1,25553E-45	**-1,21807**
vfl	FBgn0259789	FBtr0307536	917	2134	8,26687E-173	**-1,21857**
Ank	FBgn0011747	FBtr0089173	131	305	2,05851E-25	**-1,21924**
ci	FBgn0004859	FBtr0089178	725	1692	1,28452E-137	**-1,22268**
Dyrk3	FBgn0027101	FBtr0100402,FBtr0100403,FBtr0100404, FBtr0100405	403	943	2,18515E-77	**-1,22648**
syd	FBgn0024187	FBtr0076769,FBtr0300412,FBtr0300413	134	314	2,37657E-26	**-1,22853**
par-1	FBgn0260934	FBtr0086452,FBtr0086459,FBtr0086453, FBtr0086454,FBtr0086455,FBtr0086457, FBtr0086458,FBtr0100390,FBtr0086460, FBtr0301505,FBtr0301506	1462	3426	1,06454E-279	**-1,22858**
Adar	FBgn0026086	FBtr0305499	1148	2694	1,52968E-220	**-1,23063**
CG17159	FBgn0039945	FBtr0113717,FBtr0113721	702	1649	1,81151E-135	**-1,23205**
sm	FBgn0003435	FBtr0086492,FBtr0100232,FBtr0301609, FBtr0304654,FBtr0304655,FBtr0304656	125	294	8,06989E-25	**-1,23389**
CG7115	FBgn0027515	FBtr0079523	130	306	6,93494E-26	**-1,23502**
Tsp39D	FBgn0032943	FBtr0273404	1442	3405	7,33644E-281	**-1,23958**
Zyx	FBgn0011642	FBtr0089210,FBtr0089211,FBtr0089212, FBtr0089213,FBtr0089214,FBtr0089215, FBtr0089216	1261	2978	7,19690E-246	**-1,23978**
gish	FBgn0250823	FBtr0301304,FBtr0305071,FBtr0305072	1118	2644	7,94552E-219	**-1,24180**
Asator	FBgn0039908	FBtr0300342,FBtr0300344	385	912	3,84307E-76	**-1,24418**
fwe	FBgn0261722	FBtr0075543	105	250	1,28715E-21	**-1,25154**
sdt	FBgn0261873	FBtr0089978,FBtr0100376,FBtr0111034,F Btr0089975,FBtr0100375,FBtr0089974,F Btr0308218,FBtr0308219,FBtr0308220	514	1224	1,36825E-102	**-1,25176**
CG5065	FBgn0034145	FBtr0087108,FBtr0302206	154	367	2,24687E-31	**-1,25285**
PP2A-B'	FBgn0042693	FBtr0290319	321	765	1,95058E-64	**-1,25289**
Nos	FBgn0011676	FBtr0100484	472	1126	9,60926E-95	**-1,25435**
CG2233	FBgn0029990	FBtr0071123	472	1126	9,60926E-95	**-1,25435**
ogre	FBgn0004646	FBtr0071036	1819	4345	0	**-1,25621**
cals	FBgn0039928	FBtr0089207	129	310	6,39671E-27	**-1,26490**
dally	FBgn0011577	FBtr0305901	2835	6822	0	**-1,26685**
RecQ5	FBgn0027375	FBtr0075714,FBtr0075715,FBtr0100362	278	669	2,80617E-57	**-1,26692**
sky	FBgn0032901	FBtr0081442,FBtr0081443,FBtr0081444, FBtr0081446,FBtr0081447,FBtr0081440, FBtr0081441,FBtr0301961	657	1586	3,66855E-135	**-1,27143**
norpA	FBgn0262738	FBtr0100670,FBtr0070651	895	2165	7,09472E-185	**-1,27441**
Pdk1	FBgn0020386	FBtr0072470,FBtr0072471,FBtr0072466, FBtr0072467	863	2088	2,76865E-178	**-1,27469**
CG32350	FBgn0052350	FBtr0070046	1234	2989	2,67323E-255	**-1,27632**
myoglianin	FBgn0026199	FBtr0089092,FBtr0089093,FBtr0089094, FBtr0089095	1046	2537	2,74952E-217	**-1,27824**
TBPH	FBgn0025790	FBtr0089624,FBtr0089626,FBtr0089627, FBtr0301643,FBtr0301644	146	356	2,16580E-31	**-1,28591**
Mkk4	FBgn0024326	FBtr0300443	706	1722	7,66679E-149	**-1,28635**
par-1	FBgn0260934	FBtr0100391,FBtr0100392,FBtr0301504	601	1468	3,71299E-127	**-1,28842**
rl	FBgn0003256	FBtr0113700	97	237	2,94223E-21	**-1,28883**
CdGAPr	FBgn0032821	FBtr0300966	221	540	2,40085E-47	**-1,28891**
unk	FBgn0004395	FBtr0305573	1206	2953	7,19489E-256	**-1,29195**
RpL38	FBgn0040007	FBtr0111120	9077	22236	0	**-1,29261**
Dyrk3	FBgn0027101	FBtr0100402,FBtr0100406	173	424	1,83968E-37	**-1,29329**
CR41604	FBgn0085814	FBtr0114270	408	1000	2,58936E-87	**-1,29336**
CdGAPr	FBgn0032821	FBtr0300967	220	540	1,81284E-47	**-1,29546**
bowl	FBgn0004893	FBtr0077490,FBtr0077491,FBtr0077492, FBtr0307026,FBtr0307027,FBtr0307028, FBtr0307029	483	1186	1,16326E-103	**-1,29601**
heph	FBgn0011224	FBtr0085885	124	305	2,52222E-27	**-1,29847**
CG42724	FBgn0261641	FBtr0303012,FBtr0303018	119	294	1,90589E-26	**-1,30485**
CG42724	FBgn0261641	FBtr0303013,FBtr0303016	119	294	1,90589E-26	**-1,30485**
CG17528	FBgn0261387	FBtr0111276,FBtr0111275,FBtr0111277	197	487	2,37831E-43	**-1,30573**
Mkk4	FBgn0024326	FBtr0081892	735	1820	2,55020E-160	**-1,30812**
gro	FBgn0001139	FBtr0305047	1834	4562	0	**-1,31467**
CG4502	FBgn0031896	FBtr0079417	327	816	4,82499E-73	**-1,31928**
pncr013:4	FBgn0262731	FBtr0091952	409	1021	3,70007E-91	**-1,31981**
CG4502	FBgn0031896	FBtr0079416	324	809	1,79217E-72	**-1,32015**
stai	FBgn0051641	FBtr0304908	2607	6517	0	**-1,32182**
CR41604	FBgn0085814	FBtr0114271,FBtr0114272	412	1034	4,75262E-93	**-1,32752**
CR41604	FBgn0085814	FBtr0114269	411	1032	8,44174E-93	**-1,32823**
stai	FBgn0051641	FBtr0079196,FBtr0079197,FBtr0079198	2583	6490	0	**-1,32917**
Hrb98DE	FBgn0001215	FBtr0085300,FBtr0085303	83	209	2,07856E-19	**-1,33232**
Mhcl	FBgn0026059	FBtr0083231	158	399	1,10417E-36	**-1,33646**
plexA	FBgn0025741	FBtr0089224,FBtr0100296	106	268	7,41937E-25	**-1,33817**
Marf	FBgn0029870	FBtr0070908,FBtr0070910	104	264	1,00277E-24	**-1,34395**
clumsy	FBgn0026255	FBtr0081476,FBtr0110895	137	349	1,62519E-32	**-1,34905**
zip	FBgn0005634	FBtr0072399,FBtr0100466,FBtr0100467, FBtr0302572,FBtr0302573,FBtr0302574, FBtr0302575,FBtr0306576	1064	2712	1,38663E-247	**-1,34986**
mp	FBgn0260660	FBtr0308095	104	266	4,11726E-25	**-1,35484**
CG41454	FBgn0084017	FBtr0111173	78	200	4,13435E-19	**-1,35845**
CrebA	FBgn0004396	FBtr0075557	631	1618	5,28727E-149	**-1,35850**
myoglianin	FBgn0026199	FBtr0089094	294	755	5,04510E-70	**-1,36066**
Hr46	FBgn0000448	FBtr0306346	358	922	1,09639E-85	**-1,36481**
Atf6	FBgn0033010	FBtr0086079,FBtr0086080	805	2078	8,45723E-193	**-1,36813**
Dh44-R2	FBgn0033744	FBtr0113075	143	370	5,37724E-35	**-1,37151**
CG12054	FBgn0039831	FBtr0305118	1490	3863	0	**-1,37441**
CG11727	FBgn0262740	FBtr0073547	733	1902	8,34279E-178	**-1,37563**
CR41597	FBgn0085810	FBtr0114264	198	514	1,42652E-48	**-1,37627**
CG8116	FBgn0037614	FBtr0300543	133	348	1,96894E-33	**-1,38766**

hth	FBgn0001235	FBtr0100454	3987	10441	0	**-1,38888**
pho	FBgn0002521	FBtr0089204,FBtr0089205	1568	4113	0	**-1,39127**
PMCA	FBgn0259214	FBtr0304046,FBtr0304047,FBtr0304048,FBtr0304049,FBtr0300554,FBtr0300555,FBtr0300556,FBtr0300557	287	753	9,53534E-72	**-1,39160**
vn	FBgn0003984	FBtr0077082	276	725	3,85431E-69	**-1,39331**
CaMKI	FBgn0016126	FBtr0089065	476	1255	9,72904E-120	**-1,39865**
CG11266	FBgn0031883	FBtr0089638,FBtr0089639,FBtr0089635	195	517	3,75925E-50	**-1,40669**
Ptp10D	FBgn0004370	FBtr0073524,FBtr0273235	718	1904	1,31837E-182	**-1,40698**
mRpS5	FBgn0044510	FBtr0111147,FBtr0111146	420	1117	7,13268E-108	**-1,41117**
H	FBgn0001169	FBtr0083915,FBtr0083916	217	580	1,01908E-56	**-1,41836**
Nhe3	FBgn0028703	FBtr0273247,FBtr0273248,FBtr0273250	162	433	1,48752E-42	**-1,41837**
UbcD2	FBgn0015320	FBtr0080115,FBtr0080116	709	1897	7,24710E-184	**-1,41986**
CG11266	FBgn0031883	FBtr0089637	195	522	3,88705E-51	**-1,42058**
CG30343	FBgn0050343	FBtr0088594	290	778	4,86016E-76	**-1,42372**
Adar	FBgn0026086	FBtr0070299,FBtr0070300,FBtr0100557,FBtr0307895,FBtr0305498	151	411	3,84228E-41	**-1,44459**
pUf68	FBgn0028577	FBtr0072708,FBtr0072710,FBtr0300418	95	260	1,49000E-26	**-1,45251**
bw	FBgn0000241	FBtr0072117	126	345	5,22632E-35	**-1,45317**
A2bp1	FBgn0052062	FBtr0305093,FBtr0305096	1273	3499	0	**-1,45871**
CG32709	FBgn0052709	FBtr0305288	68	187	1,71352E-19	**-1,45943**
Cam	FBgn0000253	FBtr0088001,FBtr0088002	8477	23442	0	**-1,46747**
sky	FBgn0032901	FBtr0081445	276	764	1,75575E-77	**-1,46890**
crq	FBgn0015924	FBtr0078087	603	1670	1,00872E-168	**-1,46962**
Galpha49B	FBgn0004435	FBtr0087829,FBtr0087830	334	930	8,17659E-95	**-1,47738**
CG41520	FBgn0087011	FBtr0114111,FBtr0114112,FBtr0302581,FBtr0302582	140	390	3,62801E-40	**-1,47805**
tal-1A	FBgn0259730	FBtr0299997	364	1015	1,24397E-103	**-1,47947**
tal-2A	FBgn0259731	FBtr0299998	364	1015	1,24397E-103	**-1,47947**
tal-3A	FBgn0259732	FBtr0299999	364	1015	1,24397E-103	**-1,47947**
tal-AA	FBgn0259733	FBtr0299996	364	1015	1,24397E-103	**-1,47947**
CadN	FBgn0015609	FBtr0081016,FBtr0081015,FBtr0100313,FBtr0100315	152	424	8,51733E-44	**-1,47999**
CG32856	FBgn0052856	FBtr0083239,FBtr0302551	86	240	4,48799E-25	**-1,48063**
pho	FBgn0002521	FBtr0089204	121	338	3,94237E-35	**-1,48202**
Cklalpha	FBgn0015024	FBtr0073680	5117	14301	0	**-1,48275**
eIF-4B	FBgn0020660	FBtr0113680	78	218	7,65373E-23	**-1,48278**
AP-1gamma	FBgn0030089	FBtr0071295,FBtr0071297,FBtr0071298,FBtr0112965	84	235	1,47814E-24	**-1,48420**
heph	FBgn0011224	FBtr0300268,FBtr0300269	173	484	5,90781E-50	**-1,48424**
pncr013:4	FBgn0262731	FBtr0303019,FBtr0303020,FBtr0303021	168	471	1,11139E-48	**-1,48727**
Df31	FBgn0022893	FBtr0085919,FBtr0085920	29123	81808	0	**-1,49008**
Df31	FBgn0022893	FBtr0100293	29264	82324	0	**-1,49219**
CG11727	FBgn0262740	FBtr0300733	554	1561	9,18083E-161	**-1,49451**
how	FBgn0017397	FBtr0084177	1467	4160	0	**-1,50371**
CaMKI	FBgn0016126	FBtr0089066	67	190	1,87120E-20	**-1,50377**
Zyx	FBgn0011642	FBtr0089210,FBtr0089213	160	457	2,71772E-48	**-1,51412**
qkr58E-3	FBgn0022984	FBtr0290254	859	2461	6,85726E-258	**-1,51851**
Dyrk3	FBgn0027101	FBtr0100406	461	1324	1,91524E-139	**-1,52206**
Akap200	FBgn0027932	FBtr0079665	112	324	6,47659E-35	**-1,53250**
how	FBgn0017397	FBtr0301401	1394	4049	0	**-1,53834**
Mitf	FBgn0263112	FBtr0307326,FBtr0307327,FBtr0307329,FBtr0307330	172	501	5,31867E-54	**-1,54240**
Ptp10D	FBgn0004370	FBtr0073525,FBtr0073522	323	942	4,79061E-101	**-1,54419**
gus	FBgn0026238	FBtr0089755,FBtr0089752,FBtr0089754,FBtr0089757,FBtr0089753,FBtr0089756	457	1339	4,93461E-144	**-1,55089**
lin19	FBgn0015509	FBtr0088846	108	317	9,87245E-35	**-1,55345**
slow	FBgn0035539	FBtr0073291	84	247	3,17946E-27	**-1,55605**
Zyx	FBgn0011642	FBtr0089211,FBtr0089216	161	474	1,25213E-51	**-1,55783**
gish	FBgn0250823	FBtr0083262,FBtr0083261,FBtr0083265,FBtr0083264,FBtr0100332,FBtr0100333	783	2311	4,43206E-250	**-1,56143**
Zyx	FBgn0011642	FBtr0089212,FBtr0089215	161	476	3,08894E-52	**-1,56390**
Mbs	FBgn0005536	FBtr0112850,FBtr0112851,FBtr0112852,FBtr0301472,FBtr0301473,FBtr0301575,FBtr0308213,FBtr0308214,FBtr0308215,FBtr0308216	453	1340	1,62726E-145	**-1,56465**
Antp	FBgn0260642	FBtr0081654,FBtr0081655	340	1009	4,03823E-110	**-1,56932**
inx2	FBgn0027108	FBtr0071005,FBtr0071006	13280	39521	0	**-1,57336**
qkr58E-3	FBgn0022984	FBtr0307214	909	2715	2,23244E-297	**-1,57860**
zip	FBgn0005634	FBtr0072398	1395	4169	0	**-1,57944**
Cam	FBgn0000253	FBtr0304963,FBtr0304964	8960	26840	0	**-1,58281**
Hr46	FBgn0000448	FBtr0306345	706	2122	4,88718E-234	**-1,58768**
shi	FBgn0003392	FBtr0111036,FBtr0111037,FBtr0074118,FBtr0074119,FBtr0074121,FBtr0074122,FBtr0301597	432	1300	8,43643E-144	**-1,58941**
CR43241	FBgn0262886	FBtr0306297	91	274	7,23096E-31	**-1,59024**
CG40228	FBgn0063670	FBtr0113841	600	1813	3,02493E-201	**-1,59534**
CG8500	FBgn0037754	FBtr0082139	143	433	9,14005E-49	**-1,59835**
Akap200	FBgn0027932	FBtr0079665,FBtr0079667	5576	16929	0	**-1,60219**
Akap200	FBgn0027932	FBtr0079664,FBtr0079666	5576	16932	0	**-1,60245**
Zyx	FBgn0011642	FBtr0089210,FBtr0089213,FBtr0089215	199	605	4,20877E-68	**-1,60417**
Dyb	FBgn0033739	FBtr0087930,FBtr0087929,FBtr0100298,FBtr0305077	199	608	9,41844E-69	**-1,61130**
CG40196	FBgn0058196	FBtr0113831	176	538	7,09221E-61	**-1,61203**
unc-13	FBgn0025726	FBtr0089245	210	644	5,21925E-73	**-1,61667**
lin19	FBgn0015509	FBtr0088845	99	304	5,74404E-35	**-1,61857**
CG42258	FBgn0259143	FBtr0299558,FBtr0299559	372	1149	1,20800E-130	**-1,62700**
CG15923	FBgn0038814	FBtr0113254	676	2089	4,11093E-237	**-1,62772**
pAbp	FBgn0261619	FBtr0086740	525	1627	2,16402E-185	**-1,63182**
Zyx	FBgn0011642	FBtr0089211,FBtr0089212,FBtr0089214,FBtr0089216	225	702	8,38688E-81	**-1,64155**
unc-13	FBgn0025726	FBtr0089246,FBtr0089247	210	658	3,30170E-76	**-1,64770**
CG17528	FBgn0261387	FBtr0111274	72	227	5,86429E-27	**-1,65662**
CG17698	FBgn0040056	FBtr0111168,FBtr0111167	298	941	1,49195E-109	**-1,65888**
mt:Cyt-b	FBgn0013678	FBtr0100884	10582	33560	0	**-1,66513**
CG11266	FBgn0031883	FBtr0089639,FBtr0089635	62	197	1,30601E-23	**-1,66786**
spz4	FBgn0032362	FBtr0305261	55	175	3,34641E-21	**-1,66985**
Cklbeta	FBgn0000259	FBtr0073562	58	185	2,16939E-22	**-1,67340**
CG17715	FBgn0041004	FBtr0111247	465	1491	1,33298E-175	**-1,68098**
CG17683	FBgn0262115	FBtr0111301	116	374	8,00901E-45	**-1,68891**
CrebA	FBgn0004396	FBtr0075558	1076	3520	0	**-1,70990**
qkr54B	FBgn0022987	FBtr0306248	550	1804	3,30019E-217	**-1,71370**

Hr46	FBgn0000448	FBtr0088366,FBtr0088368,FBtr0112799, FBtr0302438	563	1848	1,26810E-222	**-1,71476**
pncr013:4	FBgn0262731	FBtr0303020	52	171	2,41338E-21	**-1,71741**
CG17715	FBgn0041004	FBtr0111249	640	2109	7,61203E-255	**-1,72042**
clumsy	FBgn0026255	FBtr0081476	44	145	2,87485E-18	**-1,72048**
sgg	FBgn0003371	FBtr0070475,FBtr0070476,FBtr0301966	1077	3564	0	**-1,72648**
		FBtr0082858	11411	37797	0	**-1,72785**
sgg	FBgn0003371	FBtr0070471,FBtr0070472,FBtr0070473, FBtr0070466,FBtr0070468,FBtr0070469, FBtr0070470	1085	3607	0	**-1,73310**
mt:ColII	FBgn0013676	FBtr0100868	24108	80212	0	**-1,73431**
Pabp2	FBgn0005648	FBtr0088786	136	462	6,85597E-58	**-1,76429**
CG12567	FBgn0039958	FBtr0113704,FBtr0113705,FBtr0300702,FBtr0300703,FBtr0300704	386	1316	2,79252E-164	**-1,76949**
CG9894	FBgn0031453	FBtr0077713,FBtr0077714,FBtr0307080	1577	5391	0	**-1,77337**
myoglianin	FBgn0026199	FBtr0089095	77	267	2,47473E-34	**-1,79391**
Pdp1	FBgn0016694	FBtr0076776,FBtr0076777,FBtr0300499, FBtr0306535	76	265	2,51395E-34	**-1,80192**
Pur-alpha	FBgn0022361	FBtr0089996,FBtr0089995,FBtr0089994, FBtr0089993	389	1363	1,89792E-174	**-1,80894**
Cyp6g1	FBgn0025454	FBtr0087992	69	243	1,02594E-31	**-1,81629**
pallidin	FBgn0036192	FBtr0300097,FBtr0300725,FBtr0300726	80	282	7,27341E-37	**-1,81762**
CaMKII	FBgn0004624	FBtr0089218,FBtr0089219,FBtr0089217	438	1545	9,24175E-199	**-1,81860**
CaMKII	FBgn0004624	FBtr0100146,FBtr0100147,FBtr0100148, FBtr0300378	438	1546	5,50608E-199	**-1,81954**
CG17683	FBgn0262115	FBtr0111298,FBtr0111299	68	244	2,17454E-32	**-1,84327**
Mnt	FBgn0023215	FBtr0307278,FBtr0301823	588	2113	4,46420E-276	**-1,84540**
Nrg	FBgn0002968	FBtr0071207,FBtr0071209,FBtr0301762, FBtr0301764,FBtr0305914	955	3445	0	**-1,85093**
eIF4G	FBgn0023213	FBtr0089243,FBtr0112904	120	435	7,55305E-58	**-1,85798**
gish	FBgn0250823	FBtr0083263	845	3086	0	**-1,86871**
eIF4G	FBgn0023213	FBtr0289951	120	439	8,85716E-59	**-1,87119**
CaMKI	FBgn0016126	FBtr0089067	131	484	2,69554E-65	**-1,88544**
CaMKI	FBgn0016126	FBtr0089069	53	198	1,99656E-27	**-1,90144**
tlk	FBgn0086899	FBtr0299580,FBtr0299582,FBtr0301659	44	165	5,18156E-23	**-1,90689**
piwi	FBgn0004872	FBtr0080166	38	143	5,90831E-20	**-1,91194**
UBL3	FBgn0026076	FBtr0074175	54	204	2,24984E-28	**-1,91754**
eIF-4B	FBgn0020660	FBtr0113679	123	469	8,35145E-65	**-1,93093**
mt:Col	FBgn0013674	FBtr0100861	38379	146749	0	**-1,93496**
Antp	FBgn0260642	FBtr0081647,FBtr0081648,FBtr0081649, FBtr0081650,FBtr0081651,FBtr0081652, FBtr0081653,FBtr0081656	485	1855	2,26490E-255	**-1,93536**
		FBtr0076660	582	2241	4,0709E-310	**-1,94505**
Fas3	FBgn0000636	FBtr0081051,FBtr0081052	1972	7762	0	**-1,97677**
kn	FBgn0001319	FBtr0087465,FBtr0112810,FBtr0301400	146	575	2,00160E-81	**-1,97759**
Eph	FBgn0025936	FBtr0089082,FBtr0089083,FBtr0089084	310	1229	2,62596E-174	**-1,98714**
Ank	FBgn0011747	FBtr0089174	117	465	1,75090E-66	**-1,99072**
grk	FBgn0001137	FBtr0079708	85	338	1,74675E-48	**-1,99149**
plexA	FBgn0025741	FBtr0089225,FBtr0089226,FBtr0089223	144	573	6,82466E-82	**-1,99247**
CG2316	FBgn0039890	FBtr0089148	33	132	1,62356E-19	**-2**
CG32016	FBgn0052016	FBtr0089229	80	321	2,16540E-46	**-2,00450**
CG8419	FBgn0031999	FBtr0079589	100	404	1,44467E-58	**-2,01436**
lola	FBgn0005630	FBtr0089365,FBtr0089347,FBtr0089361, FBtr0089360,FBtr0089366,FBtr0089355, FBtr0089354,FBtr0089346,FBtr0089345, FBtr0089364	128	518	6,20061E-75	**-2,01681**
Galpha49B	FBgn0004435	FBtr0304955	828	3452	0	**-2,05973**
CG17715	FBgn0041004	FBtr0111244,FBtr0111246,FBtr0111245,FBtr0111248,FBtr0306550,FBtr0306551	142	593	1,14625E-87	**-2,06214**
Eph	FBgn0025936	FBtr0089086	257	1076	6,00570E-159	**-2,06584**
Ank	FBgn0011747	FBtr0089172	29	122	8,17736E-19	**-2,07276**
Mnt	FBgn0023215	FBtr0307277,FBtr0301822	646	2748	0	**-2,08878**
Rbp1-like	FBgn0030479	FBtr0073790	233	997	8,48509E-150	**-2,09726**
CG9894	FBgn0031453	FBtr0307080	3611	15511	0	**-2,10282**
swi2	FBgn0034262	FBtr0086889	66	284	3,01724E-43	**-2,10535**
Ank	FBgn0011747	FBtr0089173,FBtr0089171,FBtr0089172, FBtr0300497,FBtr0300498	99	429	2,47363E-65	**-2,11548**
CG9894	FBgn0031453	FBtr0077713,FBtr0077714	2522	11197	0	**-2,15047**
H	FBgn0001169	FBtr0083914,FBtr0083917	426	1911	1,96911E-296	**-2,16540**
CG17471	FBgn0039924	FBtr0100543	53	241	3,07592E-38	**-2,18497**
CG17471	FBgn0039924	FBtr0100544	52	238	5,01616E-38	**-2,19438**
Hr39	FBgn0261239	FBtr0081480	209	966	2,89772E-153	**-2,20852**
pncr013:4	FBgn0262731	FBtr0303019	75	351	1,52964E-56	**-2,22651**
CG32016	FBgn0052016	FBtr0089233	90	424	2,16374E-68	**-2,23607**
mt:Coll	FBgn0013675	FBtr0100863	6779	32317	0	**-2,25315**
CG10006	FBgn0036461	FBtr0113171	26	124	1,12738E-20	**-2,25376**
CG10417	FBgn0033021	FBtr0086092	71	341	6,05536E-56	**-2,26388**
pncr013:4	FBgn0262731	FBtr0091952,FBtr0303019,FBtr0303020, FBtr0303021	39	190	1,40467E-31	**-2,28445**
CG32016	FBgn0052016	FBtr0089232	63	307	7,74506E-51	**-2,28481**
CR43241	FBgn0262886	FBtr0306296	30	149	2,98909E-25	**-2,31228**
Pdp1	FBgn0016694	FBtr0076775,FBtr0076776,FBtr0076777, FBtr0076780,FBtr0076782,FBtr0300499, FBtr0300500	120	608	1,55930E-102	**-2,34104**
Galpha49B	FBgn0004435	FBtr0087829,FBtr0087830,FBtr0087831, FBtr0087833,FBtr0087834,FBtr0304954	481	2445	0	**-2,34573**
Pdp1	FBgn0016694	FBtr0306535	122	623	1,68750E-105	**-2,35235**
myoglianin	FBgn0026199	FBtr0089092,FBtr0089093	70	373	5,15266E-65	**-2,41375**
Hr39	FBgn0261239	FBtr0081479,FBtr0081481	593	3193	0	**-2,42881**
CG2225	FBgn0032957	FBtr0304885	87	476	5,94596E-84	**-2,45187**
CG2316	FBgn0039890	FBtr0089147	25	140	1,36617E-25	**-2,48543**
Pabp2	FBgn0005648	FBtr0088785	918	5443	0	**-2,56784**
how	FBgn0017397	FBtr0100514	21	128	1,99577E-24	**-2,60768**
pAbp	FBgn0261619	FBtr0086743,FBtr0086739	201	1240	5,79967E-233	**-2,62507**
pAbp	FBgn0261619	FBtr0086738	201	1240	5,79967E-233	**-2,62507**
ventrally-expressed-protein-D	FBgn0053200	FBtr0307213	27	167	5,16887E-32	**-2,62882**
CG2316	FBgn0039890	FBtr0089146	17	108	3,98726E-21	**-2,66742**
CG40196	FBgn0058196	FBtr0113829,FBtr0113830,FBtr0301121	40	258	6,03165E-50	**-2,68930**
UBL3	FBgn0026076	FBtr0074174,FBtr0300787	82	533	5,23642E-103	**-2,70044**
CG10417	FBgn0033021	FBtr0086091	74	485	2,98528E-94	**-2,71239**
CG7367	FBgn0031976	FBtr0306002	49	323	3,43181E-63	**-2,72068**
CG7367	FBgn0031976	FBtr0301128	69	460	5,56643E-90	**-2,73697**
CG3999	FBgn0037801	FBtr0082225	20	135	5,58658E-27	**-2,75489**

CR30055	FBgn0050055	FBtr0303919	13	90	2,25888E-18	**-2,79141**
E2f	FBgn0011766	FBtr0084118	82	569	1,82339E-113	**-2,79473**
spo	FBgn0003486	FBtr0077130	12	91	2,20890E-19	**-2,92283**
mt:tRNA:Y	FBgn0013710	FBtr0100860	12	96	9,13081E-21	**-3**
CG15406	FBgn0031517	FBtr0077580	17	149	3,68354E-33	**-3,13171**
pncr013:4	FBgn0262731	FBtr0303020,FBtr0303021	65	623	1,52988E-141	**-3,26072**
TpnC25D	FBgn0031692	FBtr0079063	18	178	2,61405E-41	**-3,30581**
Act5C	FBgn0000042	FBtr0070822,FBtr0100662,FBtr0100663	709	7183	0	**-3,34073**
CG8979	FBgn0033669	FBtr0088052	31	316	2,36749E-73	**-3,34958**
CG32016	FBgn0052016	FBtr0089234	21	217	7,63743E-51	**-3,36923**
mt:tRNA:L:UUR	FBgn0013699	FBtr0100862	9	95	1,35926E-22	**-3,39993**
mt:ND4	FBgn0262952	FBtr0100879	1109	11843	0	**-3,41670**
CG32016	FBgn0052016	FBtr0089230,FBtr0089231	12	133	3,91783E-32	**-3,47032**
CG12990	FBgn0030859	FBtr0074479	18	226	3,04199E-56	**-3,65025**
mt:ND5	FBgn0013684	FBtr0100877	1906	26146	0	**-3,77797**
mt:ND3	FBgn0013681	FBtr0100870	57	871	1,88953E-226	**-3,93364**
CG9259	FBgn0032913	FBtr0081464	13	232	8,41808E-63	**-4,15754**
mt:tRNA:C	FBgn0013690	FBtr0100859	8	144	3,09840E-39	**-4,16993**
Zyx	FBgn0011642	FBtr0089214	14	255	2,89275E-69	**-4,18700**
Zyx	FBgn0011642	FBtr0089213,FBtr0089215,FBtr0089216	14	257	6,47050E-70	**-4,19827**
Zyx	FBgn0011642	FBtr0089210,FBtr0089211,FBtr0089212	14	257	6,47050E-70	**-4,19827**
CG10505	FBgn0034612	FBtr0071619	7	146	6,57442E-41	**-4,38247**
mt:ATPase6	FBgn0013672	FBtr0100867	1667	36678	0	**-4,45959**
mt:tRNA:W	FBgn0013709	FBtr0100858	5	112	6,96342E-32	**-4,48543**
mt:tRNA:G	FBgn0013694	FBtr0100869	5	115	7,21270E-33	**-4,52356**
CG15155	FBgn0032669	FBtr0081048	3	85	3,48753E-25	**-4,82443**
Fst	FBgn0037724	FBtr0082101	11	374	4,24785E-112	**-5,08746**
mt:ND1	FBgn0013679	FBtr0100886	268	9585	0	**-5,16047**
CG3264	FBgn0034712	FBtr0071781	10	399	7,96223E-122	**-5,31832**
CG7882	FBgn0033047	FBtr0085966	2	81	4,83172E-25	**-5,33985**
mt:lrRNA	FBgn0013686	FBtr0100888	21890	975604	0	**-5,47795**
Mur18B	FBgn0030999	FBtr0074672	4	182	1,75026E-56	**-5,50779**
CG40351	FBgn0040022	FBtr0302243	2	93	4,43424E-29	**-5,53916**
mt:ATPase8	FBgn0013673	FBtr0100866	290	16433	0	**-5,82440**
CG11892	FBgn0039313	FBtr0089644	4	235	1,72731E-74	**-5,87652**
CG11892	FBgn0039313	FBtr0089645	4	235	1,72731E-74	**-5,87652**
mt:srRNA	FBgn0013688	FBtr0100890	6	357	3,71141E-113	**-5,89482**
mt:ND2	FBgn0013680	FBtr0100857	74	5273	0	**-6,15495**
CG40351	FBgn0040022	FBtr0113870,FBtr0113871	2	147	1,97588E-47	**-6,19967**
CG40351	FBgn0040022	FBtr0302248	1	75	2,36728E-24	**-6,22882**
CG40351	FBgn0040022	FBtr0113869,FBtr0302244	1	75	2,36728E-24	**-6,22882**
mt:tRNA:L:CUN	FBgn0013698	FBtr0100887	14	1386	0	**-6,62936**
mt:ND6	FBgn0013685	FBtr0100883	33	3640	0	**-6,78533**
CG3292	FBgn0034710	FBtr0071783	4	462	1,82753E-152	**-6,85175**
mt:ND4L	FBgn0013683	FBtr0100880	19	2698	0	**-7,14975**
Muc11A	FBgn0052656	FBtr0089803	2	378	4,55348E-127	**-7,56224**
CG42235	FBgn0250757	FBtr0290139	0	104	5,31274E-36	**-Infinity**
CG10513	FBgn0039311	FBtr0114505	0	78	5,38516E-27	**-Infinity**
CG16727	FBgn0038719	FBtr0083780	0	386	3,41807E-134	**-Infinity**
CG17752	FBgn0038718	FBtr0083779	0	157	2,05423E-54	**-Infinity**
CG14292	FBgn0038658	FBtr0083725	0	55	4,66333E-19	**-Infinity**
CG42235	FBgn0250757	FBtr0290140	0	92	7,66522E-32	**-Infinity**
CG42235	FBgn0250757	FBtr0290137,FBtr0290138,FBtr0290139, FBtr0290140,FBtr0290141	0	121	6,66973E-42	**-Infinity**
mt:tRNA:P	FBgn0013702	FBtr0100882	0	62	1,79899E-21	**-Infinity**
CG10514	FBgn0039312	FBtr0084864	0	132	9,98338E-46	**-Infinity**

Supplementary Table 7: Genes de-regulated in *sd::Gal4>UAS::FH-cortoCD vs sd::Gal4/+* and *sd::Gal4>UAS::RpL12-Myc vs sd::Gal4/+*.

Genes up-regulated in *sd::Gal4>UAS::FH-cortoCD* wing discs	Genes up-regulated in *sd::Gal4>UAS::RpL12-Myc* wing discs	Shared up-regulated genes	Genes down-regulated in *sd::Gal4>UAS::FH-cortoCD* wing discs	Genes down-regulated in *sd::Gal4>UAS::RpL12-Myc* wing discs	Shared down-regulated genes
14-3-3zeta	*7SLRNA:CR32864*	*7SLRNA:CR32864*	*A2bp1*	*4EHP*	*A2bp1*
7SLRNA:CR32864	*7SLRNA:CR42652*	*7SLRNA:CR42652*	*Act5C*	*A2bp1*	*Act5C*
7SLRNA:CR42652	*Aats-ala*	*Act57B*	*Adar*	*Act5C*	*Adar*
Abi	*Aats-glupro*	*Act5C*	*Akap200*	*Adar*	*Akap200*
Act57B	*Act57B*	*Aldh-III*	*akirin*	*Akap200*	*akirin*
Act5C	*Act5C*	*Arc-p20*	*Ank*	*akirin*	*Ank*
Actn	*Ahcy13*	*Arp11*	*Antp*	*alph*	*Antp*
Aldh-III	*Aldh-III*	*asrij*	*AP-1gamma*	*alpha-Man-I*	*AP-1gamma*
Arc-p20	*alphaTry*	*ATPsyn-d*	*Atf6*	*Ank*	*Atf6*
Arf79F	*Arc-p20*	*B52*	*bowl*	*Antp*	*bowl*
Arp11	*Arp11*	*Bet5*	*Bsg*	*AP-1gamma*	*Bsg*
asrij	*ash2*	*betaTub56D*	*bun*	*Asator*	*bun*
ATPsyn-Cf6	*asrij*	*bou*	*bw*	*Atf6*	*bw*
ATPsyn-d	*ATPsyn-b*	*br*	*CadN*	*bbg*	*CadN*
awd	*ATPsyn-d*	*brat*	*cals*	*bowl*	*cals*
B52	*B52*	*brm*	*Cam*	*Bsg*	*Cam*
Bet5	*Bet5*	*Bruce*	*CaMKI*	*bun*	*CaMKI*
betaTub56D	*betaTry*	*btsz*	*CaMKII*	*bw*	*CaMKII*
bou	*betaTub56D*	*capt*	*Cf2*	*CadN*	*Cf2*
br	*blot*	*Cctgamma*	*CG10006*	*cals*	*CG10006*
brat	*blw*	*CG10320*	*CG10417*	*Cam*	*CG10417*
brm	*BM-40-SPARC*	*CG10527*	*CG10505*	*CaMKI*	*CG10505*
Bruce	*bou*	*CG11151*	*CG10513*	*CaMKII*	*CG10513*
btsz	*br*	*CG11438*	*CG10514*	*CdGAPr*	*CG10514*
capt	*brat*	*CG11505*	*CG1115*	*Cf2*	*CG1115*
Cchl	*brm*	*CG11854*	*CG11180*	*CG10006*	*CG11180*
Cctgamma	*Bruce*	*CG11873*	*CG11266*	*CG10417*	*CG11266*
CG10320	*btsz*	*CG11876*	*CG11486*	*CG10505*	*CG11486*
CG10418	*capt*	*CG11943*	*CG11727*	*CG10513*	*CG11727*
CG10527	*Cct5*	*CG11999*	*CG11892*	*CG10514*	*CG11892*
CG10664	*Cctgamma*	*CG12203*	*CG12054*	*CG1115*	*CG12054*
CG11015	*CG10249*	*CG12859*	*CG12567*	*CG11180*	*CG12567*
CG11151	*CG10320*	*CG13044*	*CG12990*	*CG11266*	*CG12990*
CG11267	*CG10527*	*CG13185*	*CG13025*	*CG11486*	*CG13025*
CG11438	*CG10912*	*CG13319*	*CG14135*	*CG11727*	*CG15923*
CG11455	*CG11151*	*CG13349*	*CG14526*	*CG11892*	*CG16727*
CG11505	*CG11438*	*CG13393*	*CG15923*	*CG12054*	*CG17471*
CG11699	*CG11505*	*CG1354*	*CG16727*	*CG12567*	*CG17528*
CG11752	*CG11854*	*CG13551*	*CG17471*	*CG12990*	*CG17683*
CG11753	*CG11873*	*CG13630*	*CG17528*	*CG13025*	*CG17698*
CG11854	*CG11876*	*CG13731*	*CG17683*	*CG13360*	*CG17715*
CG11873	*CG11943*	*CG14184*	*CG17698*	*CG14292*	*CG17752*
CG11876	*CG11999*	*CG14235*	*CG17715*	*CG14464*	*CG2225*
CG11943	*CG12115*	*CG14302*	*CG17752*	*CG15155*	*CG2233*
CG11999	*CG12125*	*CG14332*	*CG2187*	*CG15406*	*CG30343*
CG12203	*CG12203*	*CG14566*	*CG2225*	*CG15535*	*CG32016*
CG12384	*CG12859*	*CG15523*	*CG2233*	*CG15628*	*CG3264*
CG12432	*CG13044*	*CG1607*	*CG30343*	*CG15923*	*CG3292*
CG12848	*CG13185*	*CG16936*	*CG32016*	*CG16727*	*CG3999*
CG12859	*CG13319*	*CG17202*	*CG3264*	*CG17159*	*CG40196*
CG12935	*CG13323*	*CG1746*	*CG3292*	*CG17471*	*CG40351*
CG13041	*CG13324*	*CG1753*	*CG3999*	*CG17490*	*CG41520*
CG13044	*CG13349*	*CG18809*	*CG40196*	*CG17528*	*CG42235*
CG13053	*CG13393*	*CG2021*	*CG40351*	*CG17683*	*CG42258*
CG13185	*CG1354*	*CG2200*	*CG41520*	*CG17698*	*CG4502*
CG13319	*CG13551*	*CG2310*	*CG42235*	*CG17715*	*CG4662*
CG13349	*CG13630*	*CG2812*	*CG42258*	*CG17752*	*CG4768*
CG13364	*CG13731*	*CG30025*	*CG4502*	*CG17883*	*CG5059*
CG13393	*CG14184*	*CG30031*	*CG4662*	*CG18812*	*CG5065*
CG1354	*CG14235*	*CG30185*	*CG4768*	*CG2225*	*CG6700*
CG13551	*CG14302*	*CG30410*	*CG5059*	*CG2233*	*CG7115*
CG13630	*CG14332*	*CG30415*	*CG5065*	*CG2316*	*CG7367*
CG13731	*CG14566*	*CG30499*	*CG5958*	*CG2698*	*CG7882*
CG13751	*CG14619*	*CG32038*	*CG6357*	*CG30343*	*CG7971*
CG13926	*CG15044*	*CG3214*	*CG6700*	*CG31121*	*CG8116*
CG13993	*CG15523*	*CG3321*	*CG7115*	*CG31360*	*CG8419*
CG14057	*CG15818*	*CG33333*	*CG7367*	*CG32016*	*CG8500*
CG14104	*CG1607*	*CG34227*	*CG7882*	*CG32350*	*CG8979*
CG14184	*CG1620*	*CG34306*	*CG7971*	*CG3264*	*CG9259*
CG14235	*CG16936*	*CG34347*	*CG8116*	*CG32709*	*CG9894*
CG14302	*CG1702*	*CG34383*	*CG8419*	*CG32856*	*cib*
CG14332	*CG17121*	*CG34417*	*CG8500*	*CG3292*	*Cklalpha*
CG14482	*CG17202*	*CG34422*	*CG8745*	*CG3999*	*CklIbeta*
CG14566	*CG1746*	*CG3446*	*CG8979*	*CG40160*	*CR41597*
CG14997	*CG1753*	*CG3500*	*CG9259*	*CG40178*	*CR42722*
CG15012	*CG18809*	*CG3609*	*CG9894*	*CG40191*	*CR42723*
CG15237	*CG1943*	*CG3731*	*cib*	*CG40196*	*CR43241*
CG15523	*CG2021*	*CG42238*	*Cklalpha*	*CG40228*	*CrebA*
CG1607	*CG2200*	*CG42455*	*CklIbeta*	*CG40351*	*crq*
CG16936	*CG2310*	*CG42497*	*CR41597*	*CG41454*	*Cyp6g1*
CG1707	*CG2812*	*CG42500*	*CR42722*	*CG41520*	*dbr*
CG17202	*CG30025*	*CG42574*	*CR42723*	*CG42235*	*Dcp2*
CG17343	*CG30031*	*CG42834*	*CR43241*	*CG42258*	*Df31*
CG17374	*CG30185*	*CG4692*	*CrebA*	*CG42342*	*Dsp1*
CG1746	*CG30410*	*CG5021*	*crq*	*CG42724*	*Dyb*
CG17508	*CG30415*	*CG5261*	*Cyp6g1*	*CG4502*	*Dyrk3*
CG1753	*CG30499*	*CG5446*	*dbr*	*CG4612*	*E2f*
CG17680	*CG31676*	*CG5527*	*Dcp2*	*CG4662*	*eIF-4B*
CG17776	*CG31789*	*CG5548*	*Df31*	*CG4768*	*eIF5*
CG18343	*CG31937*	*CG5794*	*Dsp1*	*CG5059*	*Eph*
CG18809	*CG32038*	*CG5903*	*Dyb*	*CG5065*	*eyg*
CG1969	*CG3214*	*CG5938*	*Dyrk3*	*CG6084*	*Fas3*

CG2021
CG2200
CG2310
CG2812
CG2862
CG30025
CG30031
CG30185
CG30410
CG30415
CG30423
CG30499
CG31126
CG31548
CG32038
CG32069
CG3214
CG32212
CG32276
CG3321
CG33333
CG34227
CG34242
CG34250
CG34306
CG34347
CG34383
CG34417
CG34422
CG34439
CG3446
CG3500
CG3560
CG3566
CG3609
CG3621
CG3625
CG3731
CG4036
CG42238
CG42239
CG42377
CG42455
CG42497
CG42500
CG42574
CG42834
CG4692
CG5021
CG5261
CG5446
CG5527
CG5548
CG5569
CG5703
CG5794
CG5903
CG5938
CG5941
CG6543
CG6746
CG6793
CG6878
CG6891
CG7181
CG7267
CG7414
CG7580
CG7603
CG7630
CG7637
CG7834
CG8036
CG8184
CG8191
CG8204
CG8206
CG8664
CG8891
CG9027
CG9034
CG9065
CG9205
CG9240
CG9336
CG9350
CG9603
CG9669
CG9674
CG9775
cher
cic
cl
CoVa
Cpr49Ag
Cpr49Ah
Cpr65Ec
Cpr66D
Cpr78E
CR12628
CR31144
CR33222
CR34335

CG32249
CG32302
CG32529
CG33156
CG3321
CG33333
CG33346
CG34227
CG34306
CG34347
CG34383
CG34417
CG34422
CG3446
CG3500
CG3523
CG3609
CG3731
CG42238
CG42455
CG42497
CG42500
CG42574
CG42669
CG42834
CG4542
CG4692
CG4769
CG5021
CG5261
CG5446
CG5527
CG5548
CG5794
CG5903
CG5938
CG5941
CG6543
CG6746
CG6769
CG6793
CG6933
CG7267
CG7414
CG7465
CG7580
CG7637
CG7834
CG7953
CG8036
CG8111
CG8184
CG8191
CG8193
CG8399
CG8661
CG8664
CG8997
CG9027
CG9065
CG9172
CG9205
CG9331
CG9350
CG9436
CG9603
CG9674
CG9775
cher
chic
cic
CoVa
cp309
Cpr49Ag
CR12628
CR31144
CR33222
CR34335
CR40502
CR40546
CR40560
CR40596
CR40639
CR40640
CR40641
CR40642
CR40668
CR40677
CR40728
CR40766
CR41535
CR41539
CR41540
CR41544
CR41548
CR41583
CR41602
CR41609
CR41613
CycG
Cyp4e2
Cyt-b5
deltaTry

CG5941
CG6543
CG6746
CG6793
CG7267
CG7414
CG7580
CG7637
CG7834
CG8036
CG8184
CG8191
CG8664
CG9027
CG9065
CG9205
CG9350
CG9603
CG9674
CG9775
cher
cic
CoVa
Cpr49Ag
CR12628
CR31144
CR33222
CR34335
CR40502
CR40546
CR40560
CR40596
CR40639
CR40640
CR40641
CR40642
CR40668
CR40677
CR40728
CR40766
CR41535
CR41539
CR41540
CR41544
CR41548
CR41583
CR41602
CR41609
CR41613
Cyt-b5
deltaTry
Dhc64C
dikar
Doa
dom
dp
Ef2b
eIF-3p40
fabp
ft
futsch
fwd
gammaTry
glo
Got2
hang
HERC2
Hsc70-4
Hsp26
Hsp60
Hsp68
Hsp70Aa
Hsp70Ab
Hsp70Ba
Hsp70Bb
Hsp70Bbb
Hsp70Bc
Jon25Bi
Jon65Aiii
Jon65Aiv
kek5
kis
ksh
l(1)G0230
l(2)35Di
larp
LBR
Lcp1
Lcp2
Lcp3
Lcp4
levy
LRP1
m2
mamo
mask
Megalin
Mgstl
Mhc
Mi-2
Mical
mRpL22
mRpL27

E2f
eIF-4B
eIF5
Eph
eyg
Fas3
Fbp1
Fbp2
Fst
fwe
Galpha49B
Gef26
gish
grk
gro
Gs1
gus
H
heph
HmgZ
how
Hr39
Hr46
Hsc70-3
hth
inx2
kn
l(2)s5379
lin19
lola
lolal
Lsd-1
Mbs
Mhcl
Mitf
Mkk4
Mnt
mrj
mRpS5
mt:ATPase6
mt:ATPase8
mt:Col
mt:CoI
mt:CoII
mt:Cyt-b
mt:lrRNA
mt:ND1
mt:ND2
mt:ND3
mt:ND4
mt:ND4L
mt:ND5
mt:ND6
mt:srRNA
mt:tRNA:C
mt:tRNA:G
mt:tRNA:L:CUN
mt:tRNA:L:UUR
mt:tRNA:P
mt:tRNA:W
mt:tRNA:Y
Muc11A
Mur18B
myoglianin
nimC2
Nipped-B
Nos
Nrg
ogre
pAbp
Pabp2
pallidin
par-1
Parp
Pdk1
Pdp1
pho
Pi4KIIalpha
plexA
PMCA
pncr013:4
PRL-1
prominin-like
Ptp10D
Pur-alpha
qkr54B
qkr58E-3
R
Rbp1-like
Rbp2
RecQ5
Rfabg
Sap47
Scm
Sdc
sdt
sgg
Sh3beta
shi
sky
stai
swi2
syd

CG6091
CG6700
CG7115
CG7337
CG7367
CG7668
CG7882
CG7971
CG8116
CG8419
CG8500
CG8949
CG8979
CG9259
CG9821
CG9894
ci
cib
cic
CkIalpha
CkIIbeta
clumsy
CR30055
CR41597
CR41604
CR42722
CR42723
CR43241
CrebA
crq
Csk
csw
Cyp6g1
dally
dbr
Dcp2
Df31
Dh44-R2
Dsp1
Dyb
Dyrk3
E2f
eIF-4a
eIF-4B
eIF4G
eIF5
ens
Eph
ewg
eyg
Fas3
fbl6
Fbp2
fs(1)h
Fst
fwe
Galpha49B
Gef26
gish
grh
grk
gro
gus
H
Haspin
heph
how
Hr39
Hr46
Hrb98DE
hth
Imp
inx2
itp
jim
kn
knrl
l(2)s5379
lin19
Lis-1
lola
Marf
mask
Mbs
Mhcl
mim
Mitf
Mkk4
Mmp1
Mnt
mp
mrj
mRpS21
mRpS5
mt:ATPase6
mt:ATPase8
mt:Col
mt:CoI
mt:CoII
mt:Cyt-b
mt:lrRNA
mt:ND1
mt:ND2

Fbp2
Fst
fwe
Galpha49B
Gef26
gish
grk
gro
gus
H
heph
how
Hr39
Hr46
hth
inx2
kn
l(2)s5379
lin19
lola
Mbs
Mhcl
Mitf
Mkk4
Mnt
mrj
mRpS5
mt:ATPase6
mt:ATPase8
mt:Col
mt:CoI
mt:CoII
mt:Cyt-b
mt:lrRNA
mt:ND1
mt:ND2
mt:ND3
mt:ND4
mt:ND4L
mt:ND5
mt:ND6
mt:srRNA
mt:tRNA:C
mt:tRNA:G
mt:tRNA:L:CUN
mt:tRNA:L:UUR
mt:tRNA:P
mt:tRNA:W
mt:tRNA:Y
Muc11A
Mur18B
myoglianin
nimC2
Nipped-B
Nos
Nrg
ogre
pAbp
Pabp2
pallidin
par-1
Parp
Pdk1
Pdp1
pho
Pi4KIIalpha
plexA
PMCA
pncr013:4
PRL-1
prominin-like
Ptp10D
Pur-alpha
qkr54B
qkr58E-3
R
Rbp1-like
Rbp2
RecQ5
Rfabg
Sap47
Scm
Sdc
sdt
sgg
Sh3beta
shi
sky
stai
swi2
syd
tal-1A
tal-2A
tal-3A
tal-AA
TBPH
tna
TpnC25D
UbcD2
UBL3
unk
ventrally-expressed-protein-D
vn

CR40469
CR40502
CR40546
CR40560
CR40596
CR40621
CR40639
CR40640
CR40641
CR40642
CR40668
CR40677
CR40728
CR40766
CR40959
CR40963
CR41535
CR41539
CR41540
CR41544
CR41548
CR41583
CR41602
CR41609
CR41613
CR43334
Cyp4g1
Cypl
Cyt-b5
deltaTry
Dhc64C
dikar
Doa
dom
dp
Dsp1
Ef2b
eIF-3p40
Elongin-C
fabp
fd68A
fi
futsch
fwd
gammaTry
glo
Got2
GstD1
GstS1
hang
HERC2
hoip
HP4
Hsc70-4
Hsp26
Hsp60
Hsp68
Hsp70Aa
Hsp70Ab
Hsp70Ba
Hsp70Bb
Hsp70Bbb
Hsp70Bc
Idh
janA
Jon25Bi
Jon65Aiii
Jon65Aiv
kek5
kis
ksh
l(1)G0230
l(1)G0255
l(2)35Di
l(2)37Cg
l(2)efl
larp
LBR
Lcp1
Lcp2
Lcp3
Lcp4
levy
Lin29
LRP1
m2
malpha
mamo
mask
Megalin
mei-P26
Mgstl
Mhc
Mi-2
Mical
Mlc2
mRpL17
mRpL18
mRpL22
mRpL27
mRpL33
mRpL42

Dhc64C
dikar
Doa
dom
dp
Dph5
Dpy-30L1
dro2
Ef1beta
Ef2b
EfTuM
eIF-2alpha
eIF-3p40
fabp
faf
Fer1HCH
ft
fu12
futsch
fwd
fzo
gammaTry
glo
Got2
hang
HERC2
Hsc70-4
Hsp26
Hsp60
Hsp68
Hsp70Aa
Hsp70Ab
Hsp70Ba
Hsp70Bb
Hsp70Bbb
Hsp70Bc
Ing3
Jon25Bi
Jon25Bii
Jon65Aiii
Jon65Aiv
kek5
kis
ksh
kst
l(1)G0230
l(1)G0334
l(2)03659
l(2)03709
l(2)35Di
l(2)tid
larp
LBR
Lcp1
Lcp2
Lcp3
Lcp4
levy
LRP1
m2
mamo
mask
Mdh1
MED14
Megalin
Mgstl
Mhc
Mi-2
Mical
MrgBP
mRpL22
mRpL27
mRpL33
mRpL35
mRpL49
mRpL52
mRpS16
mRpS29
mRpS35
Mrtf
Msp-300
Mur29B
N
nej
nocte
NP15.6
Obp56d
Obp83g
obst-B
olf186-F
osa
Oscp
p16-ARC
pck
pcx
Pdsw
Pglym78
Phae1
PHGPx
pix
poe
Ppox
proPO-A1

mRpL33
mRpL49
mRpL52
mRpS16
Msp-300
N
nej
nocte
NP15.6
Obp56d
Obp83g
obst-B
olf186-F
osa
Oscp
p16-ARC
pck
pcx
Pdsw
PHGPx
pix
poe
Pros29
Rack1
Rbcn-3A
RFeSP
rg
rhea
RNaseMRP:RNA
RNaseP:RNA
rno
Roc1a
RpII15
RpL10Ab
RpL11
RpL12
RpL13
RpL13A
RpL17
RpL18
RpL18A
RpL24
RpL26
RpL27
RpL28
RpL29
RpL3
RpL31
RpL32
RpL34a
RpL34b
RpL35
RpL35A
RpL36
RpL36A
RpL37A
RpL40
RpL8
RpL9
RpLP1
RpS10b
RpS11
RpS12
RpS13
RpS14a
RpS14b
RpS15
RpS15Ab
RpS17
RpS18
RpS19a
RpS20
RpS21
RpS23
RpS26
RpS3
RpS30
RpS4
RpS5a
RpS6
RpS7
RpS8
RpS9
rut
scu
sea
shot
skpA
sls
Smr
Sod
spen
sta
stan
Taf10
Tao-1
Ten-a
Ten-m
Tfb1
TfIIA-S
Tim10
Tom7
Tpi

tal-1A
tal-2A
tal-3A
tal-AA
TBPH
tna
TotA
TpnC25D
tup
UbcD2
UBL3
unk
ventrally-expressed-protein-D
vn
zip
Zyx

mt:ND3
mt:ND4
mt:ND4L
mt:ND5
mt:ND6
mt:srRNA
mt:tRNA:C
mt:tRNA:G
mt:tRNA:L:CUN
mt:tRNA:L:UUR
mt:tRNA:P
mt:tRNA:W
mt:tRNA:Y
mub
Muc11A
Mur18B
myoglianin
N
Nedd4
Nhe3
nimC2
Nipped-B
norpA
Nos
Nrg
ogre
ovo
pAbp
Pabp2
pallidin
par-1
Parp
Patronin
Pdk1
Pdp1
pho
Pi4KIIalpha
piwi
Pkn
plexA
PMCA
pncr013:4
PP2A-B'
PRL-1
prominin-like
Pten
Ptp10D
pUf68
Pur-alpha
qkr54B
qkr58E-3
R
Ranbp16
Rbp1-like
Rbp2
RecQ5
Rfabg
rl
RpL38
Sap47
Scm
Sdc
sdt
sgg
Sh3beta
shi
sky
slow
sm
smg
snmRNA:838
spo
spz4
stai
Stlk
swi2
syd
tal-1A
tal-2A
tal-3A
tal-AA
Tao-1
TBPH
tlk
tna
TpnC25D
Tsp39D
Tsp42Ea
UbcD2
UBL3
unc-13
unk
ventrally-expressed-protein-D
vfl
vn
vtd
Wnt4
zfh2
zip
Zyx

zip
Zyx

mRpL48
mRpL49
mRpL51
mRpL52
mRpL55
mRpS11
mRpS14
mRpS16
Msp-300
N
Neb-cGP
nej
nocte
Not1
NP15.6
Nurf-38
Nxt1
Obp56d
Obp83g
Obp99a
obst-B
olf186-F
Or2a
osa
Oscp
ox
p16-ARC
Pcd
pck
Pcmt
pcx
PDCD-5
Pdsw
PHGPx
pix
ple
pncr002:3R
poe
primo-1
primo-2
Pros29
Prosbeta1
Rack1
Rbcn-3A
Rcd4
RFeSP
rg
rhea
RNaseMRP:RNA
RNaseP:RNA
rno
Roc1a
Rpb11
Rpb12
RpII15
RpL10Ab
RpL11
RpL12
RpL13
RpL13A
RpL14
RpL17
RpL18
RpL18A
RpL24
RpL26
RpL27
RpL28
RpL29
RpL3
RpL30
RpL31
RpL32
RpL34a
RpL34b
RpL35
RpL35A
RpL36
RpL36A
RpL37A
RpL40
RpL41
RpL7A
RpL8
RpL9
RpLP1
RpS10b
RpS11
RpS12
RpS13
RpS14a
RpS14b
RpS15
RpS15Ab
RpS17
RpS18
RpS19a
RpS20
RpS21
RpS23
RpS26
RpS28b
RpS3
Pros29
Prosalpha5
px
r
Rack1
raptor
Rbcn-3A
RFeSP
rg
rhea
RNaseMRP:RNA
RNaseP:RNA
rno
Roc1a
RpII15
RpL10Ab
RpL11
RpL12
RpL13
RpL13A
RpL17
RpL18
RpL18A
RpL24
RpL26
RpL27
RpL28
RpL29
RpL3
RpL31
RpL32
RpL34a
RpL34b
RpL35
RpL35A
RpL36
RpL36A
RpL37a
RpL40
RpL8
RpL9
RpLP1
RpS10b
RpS11
RpS12
RpS13
RpS14a
RpS14b
RpS15
RpS15Ab
RpS17
RpS18
RpS19a
RpS20
RpS21
RpS23
RpS26
RpS3
RpS30
RpS4
RpS5a
RpS6
RpS7
RpS8
RpS9
Rpt3
rut
Sac1
scf
Scsalpha
scu
sdt
sea
Sgs3
shot
Sin
skpA
sls
Smr
Sod
Sop2
Sp1
spen
Spn27A
Spp
sta
stan
Taf10
Tao-1
Ten-a
Ten-m
Tfb1
TfIIA-L
TfIIA-S
Tig
Tim10
Tom7
Tpi
trol
trx
Trxr-1
Tsp
tutl
trol
trx
Trxr-1
tutl
tweek
tyf
uif
Updo
vfl
Vha68-2
vnc
vsg
w
yip7
zormin
zye

RpS30
RpS4
RpS5a
RpS6
RpS7
RpS8
RpS9
rut
scu
SdhC
sdk
sea
shot
skpA
sli
sls
SmD2
SmF
Smr
sni
snRNA:U12:73B
Sod
Spase12
Spase22-23
spen
sphinx
sta
stan
stv
sun
Taf10
Tao-1
Ten-a
Ten-m
Tfb1
TfIIA-S
Tim10
Tina-1
Tom7
Tpi
trol
trx
Trxr-1
tutl
tweek
tyf
uif
Updo
vfl
Vha100-2
Vha44
Vha68-2
vnc
Vps28
vsg
w
wb
Wnk
yip7
zormin
zye

tweek
tyf
Ubp64E
uif
Updo
vari
vav
verm
vfl
Vha68-2
vnc
vsg
w
wdb
yip7
zormin
Zw
zye

Supplementary Table 8: Ontology of genes up-regulated in *sd::Gal4>UAS::FH-cortoCD vs sd::Gal4/+.*

sd::Gal4>UAS::FH-cortoCD	up-regulated genes					
GO ID	**Description**	**Category**	**GO CortoCD up**	**GO total**	**padj dh**	**Enrichment**
GO:0006412	translation	Biological process	105	511	5,33000E-59	7,13183
GO:0007052	mitotic spindle organization	Biological process	39	209	4,87000E-19	6,47665
GO:0000022	mitotic spindle elongation	Biological process	35	84	5,92000E-30	14,46180
GO:0022008	neurogenesis	Biological process	29	557	8,61400E-03	1,80707
GO:0000398	nuclear mRNA splicing, via spliceosome	Biological process	28	417	3,88092E-04	2,33053
GO:0009408	response to heat	Biological process	23	93	8,59000E-14	8,58375
GO:0007411	axon guidance	Biological process	21	278	6,46852E-04	2,62184
GO:0008340	determination of adult lifespan	Biological process	20	160	8,54000E-07	4,33853
GO:0048813	dendrite morphogenesis	Biological process	20	197	2,03000E-05	3,52368
GO:0001666	response to hypoxia	Biological process	13	41	3,21000E-09	11,00500
GO:0015992	proton transport	Biological process	12	40	3,01000E-08	10,41250
GO:0006457	protein folding	Biological process	12	140	6,45273E-03	2,97499
GO:0006120	mitochondrial electron transport, NADH to ubiquinone	Biological process	11	34	6,07000E-08	11,22910
GO:0006123	mitochondrial electron transport, cytochrome c to oxygen	Biological process	9	17	1,09000E-08	18,37490
GO:0016339	calcium-dependent cell-cell adhesion	Biological process	9	43	6,61000E-05	7,26451
GO:0042067	establishment of ommatidial planar polarity	Biological process	8	45	5,74748E-04	6,17035
GO:0001736	establishment of planar polarity	Biological process	8	55	2,01248E-03	5,04847
GO:0015986	ATP synthesis coupled proton transport	Biological process	7	25	1,08471E-04	9,71830
GO:0016458	gene silencing	Biological process	7	32	4,62982E-04	7,59242
GO:0008587	imaginal disc-derived wing margin morphogenesis	Biological process	7	38	1,27531E-03	6,39362
GO:0016203	muscle attachment	Biological process	7	40	1,69778E-03	6,07394
GO:0007156	homophilic cell adhesion	Biological process	7	46	3,60910E-03	5,28169
GO:0006122	mitochondrial electron transport, ubiquinol to cytochrome c	Biological process	6	13	2,02000E-05	16,01920
GO:0001737	establishment of imaginal disc-derived wing hair orientation	Biological process	6	37	6,45273E-03	5,62836
GO:0006464	protein modification process	Biological process	6	37	6,45273E-03	5,62836
GO:0006417	regulation of translation	Biological process	5	17	1,31501E-03	10,20830
GO:0007016	cytoskeletal anchoring at plasma membrane	Biological process	5	20	2,72343E-03	8,67706
GO:0042066	perineurial glial growth	Biological process	4	11	2,59640E-03	12,62120
GO:0043524	negative regulation of neuron apoptosis	Biological process	4	12	3,57898E-03	11,56940
GO:0007519	skeletal muscle tissue development	Biological process	4	15	8,06719E-03	9,25553
GO:0046331	lateral inhibition	Biological process	4	16	9,03428E-03	8,67706
GO:0003735	structural constituent of ribosome	Molecular function	136	326	8,78000E-126	14,47950
GO:0008553	hydrogen-exporting ATPase activity, phosphorylative mechanism	Molecular function	32	113	2,81000E-21	9,82888
GO:0003779	actin binding	Molecular function	26	202	6,02000E-09	4,46739
GO:0005214	structural constituent of chitin-based cuticle	Molecular function	21	256	2,56151E-04	2,84716
GO:0004129	cytochrome-c oxidase activity	Molecular function	18	42	2,05000E-15	14,87500
GO:0004364	glutathione transferase activity	Molecular function	14	66	1,46000E-07	7,36235
GO:0005200	structural constituent of cytoskeleton	Molecular function	14	67	1,67000E-07	7,25246
GO:0003954	NADH dehydrogenase activity	Molecular function	11	37	1,48000E-07	10,31870
GO:0008121	ubiquinol-cytochrome-c reductase activity	Molecular function	10	18	6,75000E-10	19,28230
GO:0008137	NADH dehydrogenase (ubiquinone) activity	Molecular function	9	52	2,89676E-04	6,00719
GO:0008010	structural constituent of chitin-based larval cuticle	Molecular function	9	61	8,08884E-04	5,12089
GO:0042623	ATPase activity, coupled	Molecular function	9	87	8,10495E-03	3,59051
GO:0008017	microtubule binding	Molecular function	9	88	8,18785E-03	3,54970
GO:0004550	nucleoside diphosphate kinase activity	Molecular function	8	12	9,23000E-09	23,13880
GO:0003713	transcription coactivator activity	Molecular function	8	44	4,95016E-04	6,31059
GO:0003899	DNA-directed RNA polymerase activity	Molecular function	8	65	5,60861E-03	4,27178
GO:0003993	acid phosphatase activity	Molecular function	4	15	8,06719E-03	9,25553
GO:0005811	lipid particle	Cellular component	75	339	1,69000E-43	7,67881
GO:0005875	microtubule associated complex	Cellular component	48	359	2,31000E-17	4,64065
GO:0022625	cytosolic large ribosomal subunit	Cellular component	47	79	4,15000E-50	20,64920
GO:0005737	cytoplasm	Cellular component	43	859	1,96990E-03	1,73743
GO:0022627	cytosolic small ribosomal subunit	Cellular component	40	63	3,83000E-44	22,03700
GO:0005840	ribosome	Cellular component	30	65	3,22000E-27	16,01920
GO:0005739	mitochondrion	Cellular component	23	333	1,03516E-03	2,39726
GO:0016021	integral to membrane	Cellular component	21	1302	8,18785E-03	0,55981
GO:0005747	mitochondrial respiratory chain complex I	Cellular component	19	71	4,99000E-12	9,28812
GO:0030532	small nuclear ribonucleoprotein complex	Cellular component	15	104	6,75000E-06	5,00599
GO:0005762	mitochondrial large ribosomal subunit	Cellular component	14	66	1,46000E-07	7,36235
GO:0005751	mitochondrial respiratory chain complex IV	Cellular component	13	24	1,08000E-12	18,80030
GO:0005750	mitochondrial respiratory chain complex III	Cellular component	11	20	7,80000E-11	19,08950
GO:0005681	spliceosomal complex	Cellular component	11	107	2,72980E-03	3,56814
GO:0030018	Z disc	Cellular component	9	24	3,64000E-07	13,01560
GO:0000276	mitochondrial proton-transporting ATP synthase complex, coupling factor F((	Cellular component	7	17	6,75000E-06	14,29160
GO:0016589	NURF complex	Cellular component	6	21	4,01453E-04	9,91664
GO:0005884	actin filament	Cellular component	6	29	1,96990E-03	7,18101
GO:0005665	DNA-directed RNA polymerase II, core complex	Cellular component	6	34	4,32027E-03	6,12498
GO:0000221	vacuolar proton-transporting V-type ATPase, V1 domain	Cellular component	6	36	5,75482E-03	5,78470
GO:0016585	chromatin remodeling complex	Cellular component	4	9	1,18597E-03	15,42590

Supplementary Table 9: Ontology of genes down-regulated in *sd::Gal4>UAS::FH-cortoCD vs sd::Gal4/+*.

sd::Gal4>UAS::FH-cortoCD	Down-regulated genes					
GO ID	**Description**	**Category**	**GO CortoCD down**	**GO total**	**padj dh**	**Enrichment**
GO:0006468	protein phosphorylation	Biological process	39	545	1,63623E-14	4,90240
GO:0006355	regulation of transcription, DNA-dependent	Biological process	25	520	4,66378E-06	3,29365
GO:0007411	axon guidance	Biological process	16	278	7,19313E-05	3,94290
GO:0006470	protein dephosphorylation	Biological process	11	181	9,76596E-04	4,16346
GO:0007391	dorsal closure	Biological process	11	222	3,63564E-03	3,39453
GO:0000910	cytokinesis	Biological process	10	144	7,40291E-04	4,75749
GO:0007314	oocyte anterior/posterior axis specification	Biological process	8	38	2,62282E-06	14,42270
GO:0016339	calcium-dependent cell-cell adhesion	Biological process	8	43	6,15976E-06	12,74560
GO:0008045	motor axon guidance	Biological process	8	58	5,06639E-05	9,44936
GO:0007623	circadian rhythm	Biological process	8	106	1,98046E-03	5,17040
GO:0007173	epidermal growth factor receptor signaling pathway	Biological process	7	51	1,75769E-04	9,40304
GO:0016319	mushroom body development	Biological process	7	88	3,00987E-03	5,44949
GO:0048096	chromatin-mediated maintenance of transcription	Biological process	6	21	1,33277E-05	19,57370
GO:0045197	establishment or maintenance of epithelial cell apical/basal polarity	Biological process	6	37	2,67995E-04	11,10940
GO:0000122	negative regulation of transcription from RNA polymerase II promoter	Biological process	6	81	8,93779E-03	5,07466
GO:0016325	oocyte microtubule cytoskeleton organization	Biological process	5	20	1,75769E-04	17,12700
GO:0007613	memory	Biological process	5	26	5,98728E-04	13,17460
GO:0016199	axon midline choice point recognition	Biological process	5	29	9,41246E-04	11,81170
GO:0007279	pole cell formation	Biological process	5	36	2,15059E-03	9,51498
GO:0006897	endocytosis	Biological process	5	49	6,23756E-03	6,99060
GO:0045879	negative regulation of smoothened signaling pathway	Biological process	4	19	1,99002E-03	14,42270
GO:0006471	protein ADP-ribosylation	Biological process	4	21	2,59000E-03	13,04910
GO:0016458	gene silencing	Biological process	4	32	9,28695E-03	8,56348
GO:0008284	positive regulation of cell proliferation	Biological process	4	32	9,28695E-03	8,56348
GO:0045196	establishment or maintenance of neuroblast polarity	Biological process	3	10	3,76314E-03	20,55240
GO:0010628	positive regulation of gene expression	Biological process	3	11	4,95626E-03	18,68400
GO:0008069	dorsal/ventral axis specification, ovarian follicular epithelium	Biological process	3	11	4,95626E-03	18,68400
GO:0035293	chitin-based larval cuticle pattern formation	Biological process	3	12	6,20375E-03	17,12700
GO:0046665	amnioserosa maintenance	Biological process	3	13	7,13897E-03	15,80950
GO:0006541	glutamine metabolic process	Biological process	3	13	7,13897E-03	15,80950
GO:0006508	proteolysis	Biological process	1	767	1,62465E-03	0,08932
GO:0004674	protein serine/threonine kinase activity	Molecular function	35	373	2,57122E-16	6,42835
GO:0003700	sequence-specific DNA binding transcription factor activity	Molecular function	26	570	6,38596E-06	3,12492
GO:0003677	DNA binding	Molecular function	22	720	5,29163E-03	2,09330
GO:0008137	NADH dehydrogenase (ubiquinone) activity	Molecular function	19	52	2,04418E-19	25,03170
GO:0003729	mRNA binding	Molecular function	14	275	7,30575E-04	3,48767
GO:0005154	epidermal growth factor receptor binding	Molecular function	10	18	2,12265E-12	38,05990
GO:0000166	nucleotide binding	Molecular function	10	179	2,80619E-03	3,82725
GO:0008143	poly(A) RNA binding	Molecular function	9	13	2,19504E-12	47,42850
GO:0004129	cytochrome-c oxidase activity	Molecular function	9	42	4,55577E-07	14,68030
GO:0004879	ligand-dependent nuclear receptor activity	Molecular function	8	65	9,51982E-05	8,43174
GO:0004714	transmembrane receptor protein tyrosine kinase activity	Molecular function	7	30	6,60813E-06	15,98520
GO:0004683	calmodulin-dependent protein kinase activity	Molecular function	6	9	5,63042E-08	45,67190
GO:0003714	transcription corepressor activity	Molecular function	6	35	2,08578E-04	11,74420
GO:0005516	calmodulin binding	Molecular function	6	53	1,61019E-03	7,75561
GO:0042393	histone binding	Molecular function	5	15	5,06639E-05	22,83600
GO:0005044	scavenger receptor activity	Molecular function	5	42	3,63564E-03	8,15570
GO:0004385	guanylate kinase activity	Molecular function	4	14	7,27467E-04	19,57370
GO:0004708	MAP kinase kinase activity	Molecular function	4	17	1,38602E-03	16,11950
GO:0008187	poly-pyrimidine tract binding	Molecular function	3	13	7,13897E-03	15,80950
GO:0005001	transmembrane receptor protein tyrosine phosphatase activity	Molecular function	3	14	8,74457E-03	14,68030
GO:0005634	nucleus	Cellular component	73	1905	6,47121E-14	2,62524
GO:0005886	plasma membrane	Cellular component	36	594	2,03122E-11	4,15199
GO:0005739	mitochondrion	Cellular component	25	333	1,35150E-09	5,14323
GO:0005811	lipid particle	Cellular component	20	339	4,01418E-06	4,04176
GO:0005921	gap junction	Cellular component	8	31	6,10760E-07	17,67940
GO:0005747	mitochondrial respiratory chain complex I	Cellular component	7	71	1,10459E-03	6,75430
GO:0045169	fusome	Cellular component	5	54	8,93779E-03	6,34332
GO:0016323	basolateral plasma membrane	Cellular component	4	16	1,10459E-03	17,12700
GO:0043186	P granule	Cellular component	4	31	8,73491E-03	8,83972

Annexe 7 : Liste de publications antérieures à la thèse.

1. **N Engl J Med**. 2005 Dec 22;353(25):2654-66.

Effector memory T cells, early metastasis, and survival in colorectal cancer.

Pagès F, Berger A, Camus M, Sanchez-Cabo F, **Costes A**, Molidor R, Mlecnik B, Kirilovsky A, Nilsson M, Damotte D, Meatchi T, Bruneval P, Cugnenc PH, Trajanoski Z, Fridman WH, Galon J.

BACKGROUND: The role of tumor-infiltrating immune cells in the early metastatic invasion of colorectal cancer is unknown.
METHODS: We studied pathological signs of early metastatic invasion (venous emboli and lymphatic and perineural invasion) in 959 specimens of resected colorectal cancer. The local immune response within the tumor was studied by flow cytometry (39 tumors), low-density-array real-time polymerase-chain-reaction assay (75 tumors), and tissue microarrays (415 tumors).
RESULTS: Univariate analysis showed significant differences in disease-free and overall survival according to the presence or absence of histologic signs of early metastatic invasion ($P<0.001$). Multivariate Cox analysis showed that an early conventional pathological tumor-node-metastasis stage ($P<0.001$) and the absence of early metastatic invasion ($P=0.04$) were independently associated with increased survival. As compared with tumors with signs of early metastatic invasion, tumors without such signs had increased infiltrates of immune cells and increased levels of messenger RNA (mRNA) for products of type 1 helper effector T cells (CD8, T-BET [T-box transcription factor 21], interferon regulatory factor 1, interferon-gamma, granulysin, and granzyme B) but not increased levels of inflammatory mediators or immunosuppressive molecules. The two types of tumors had significant differences in the levels of expression of 65 combinations of T-cell markers, and hierarchical clustering showed that markers of T-cell migration, activation, and differentiation were increased in tumors without signs of early metastatic invasion. The latter type of tumors also had increased numbers of CD8+ T cells, ranging from early memory (CD45RO+CCR7-CD28+CD27+) to effector memory (CD45RO+CCR7-CD28-CD27-) T cells. The presence of high levels of infiltrating memory CD45RO+ cells, evaluated immunohistochemically, correlated with the absence of signs of early metastatic invasion, a less advanced pathological stage, and increased survival.
CONCLUSIONS: Signs of an immune response within colorectal cancers are associated with the absence of pathological evidence of early metastatic invasion and with prolonged survival.

2. **Science**. 2006 Sep 29;313(5795):1960-4.

Type, density, and location of immune cells within human colorectal tumors predict clinical outcome.

Galon J, **Costes A**, Sanchez-Cabo F, Kirilovsky A, Mlecnik B, Lagorce-Pagès C, Tosolini M, Camus M, Berger A, Wind P, Zinzindohoué F, Bruneval P, Cugnenc P, Trajanoski Z, Fridman WH, Pagès F.

The role of the adaptive immune response in controlling the growth and recurrence of human tumors has been controversial. We characterized the tumor-infiltrating immune cells in large cohorts of human colorectal cancers by gene expression profiling and in situ immunohistochemical staining. Collectively, the immunological data (the type, density, and location of immune cells within the tumor samples) were found to be a better predictor of patient survival than the histopathological methods currently used to stage colorectal cancer. The results were validated in two additional patient populations. These data support the hypothesis that the adaptive immune response influences the behavior of human tumors. In situ analysis of tumor-infiltrating immune cells may therefore be a valuable prognostic tool in the treatment of colorectal cancer and possibly other malignancies.

3. **J Immunol**. 2008 Oct 15;181(8):5350-9.

Activation of human peripheral IgM+ B cells is transiently inhibited by BCR-independent aggregation of Fc gammaRIIB.

Fournier EM, Sibéril S, **Costes A**, Varin A, Fridman WH, Teillaud JL, Sautès-Fridman C.

Immune complexes can trigger a SHIP-1-independent proapoptotic signal in mouse class-switched IgG(+) B cells and plasma cells by binding to Fc gammaRIIB, in the absence of concomitant coaggregation with BCR, hence regulating plasma cell survival and participating in the selection of B cells producing high affinity Abs during secondary Ab responses. By contrast, we demonstrate in the present study that the unique aggregation of Fc gammaRIIB on human peripheral IgM(+) B cells does not induce apoptosis but transiently inhibits B cell proliferation and calcium influx triggered by BCR cross-linking. Using human peripheral B cells and IIA1.6 lymphoma B cells expressing

wild-type human Fc gammaRIIB (IIA1.6-Fc gammaRIIB), we also show that the unique aggregation of human Fc gammaRIIB induces ITIM phosphorylation. This aggregation provokes the recruitment of phosphorylated SHIP-1 by Fc gammaRIIB and inhibits the constitutive phosphorylation of Akt in human IIA1.6-Fc gammaRIIB cells. This inhibitory signaling pathway is abrogated in IIA1.6 cells expressing ITIM-mutated Fc gammaRIIB (Fc gammaRIIB(Y292G)), suggesting that ITIM phosphorylation is necessary for Fc gammaRIIB-induced B cell blockade. Overall, we demonstrate that the unique aggregation of Fc gammaRIIB on human peripheral IgM(+) B cells is sufficient to transiently down-regulate their activation without inducing apoptosis. Our results suggest that Fc gammaRIIB could negatively regulate IgM(+) B cells before class-switch occurrence and that its unique engagement by immune complexes represents a reversible checkpoint for peripheral IgM(+) B cells.

4. **Cancer Res**. 2009 Mar 15;69(6):2685-93. Epub 2009 Mar 3.

Coordination of intratumoral immune reaction and human colorectal cancer recurrence.

Camus M, Tosolini M, Mlecnik B, Pagès F, Kirilovsky A, Berger A, **Costes A**, Bindea G, Charoentong P, Bruneval P, Trajanoski Z, Fridman WH, Galon J.

A role for the immune system in controlling the progression of solid tumors has been established in several mouse models. However, the effect of immune responses and tumor escape on patient prognosis in the context of human cancer is poorly understood. Here, we investigate the cellular and molecular parameters that could describe in situ immune responses in human colorectal cancer according to clinical parameters of metastatic lymph node or distant organ invasion (META- or META+ patients). Primary tumor samples of colorectal carcinoma were analyzed by integrating large-scale phenotypic (flow cytometry, 39 patients) and gene expression (real time reverse transcription-PCR, 103 patients) data sets related to immune and protumoral processes. In META- colorectal cancer primary tumors with high densities of T cells, we observed significant positive correlations between markers of innate immune cells [tumor-associated macrophages, dendritic cells, natural killer (NK) cells, and NKT cells] and markers of early-activated T cells. Significant correlations were also observed between markers of cytotoxic and effector memory T-cell subpopulations. These correlation profiles were absent in tumors with low T-cell infiltrates and were altered in META+ tumors with high T-cell infiltrates. We show that the coexpression of genes mediating cytotoxicity (GNLY) and Th1 adaptive immune responses (IRF1) accurately predicted patient survival independently of the metastatic status. High intratumoral mRNA expression of the proangiogenic mediator vascular endothelial growth factor was associated with significantly reduced survival rates in patients expressing high mRNA levels of GNLY. Investigation of the colorectal cancer primary tumor microenvironment allowed us to uncover the association of favorable outcomes with efficient coordination of the intratumoral immune response.

5. **British Journal of Cancer** (Accepted 18 Apr 2012)

FADD protein release mirrors the development and aggressiveness of human non-small-cell lung cancer

Yann Cimino*, **Anne Costes***, Diane Damotte, Pierre Validire, Sylvie Mistou, Nicolas Cagnard, Marco Alifano, Jean-François Regnard, Gilles Chiocchia, Catherine Sautès-Fridman, Léa Tourneur.

BACKGROUND: The need to unfold the underlying mechanisms of lung cancer aggressiveness, the deadliest cancer in the world, is of prime importance. Because FADD is the key adaptor molecule transmitting the apoptotic signal delivered by death receptors, we studied the presence and correlation of intra- and extracellular FADD protein with development and aggressiveness of non-small-cell lung cancer (NSCLC).
METHODS: Fifty NSCLC patients were enrolled in this prospective study. Intracellular FADD was detected in patients' tissue by immunohistochemistry. Tumors and distant non tumoral lung biopsies were cultured through trans-well membrane in order to analyse extracellular FADD. Correlation between different clinical/histological parameters with level/localisation of FADD protein has been investigated.
RESULTS: FADD could be specifically downregulated in tumoral cells and FADD loss correlated with the presence of extracellular FADD. Indeed, human NSCLC released FADD protein, and tumoral samples released significantly more FADD than non tumoral tissue ($P = 0.000003$). FADD release by both tumoral and non tumoral tissue increased significantly with the cancer stage, and was correlated with both early and late steps of the metastasis process.
CONCLUSION: FADD release by human NSCLC could be a new marker of poor prognosis as it correlates positively with both tumor progression and aggressiveness.

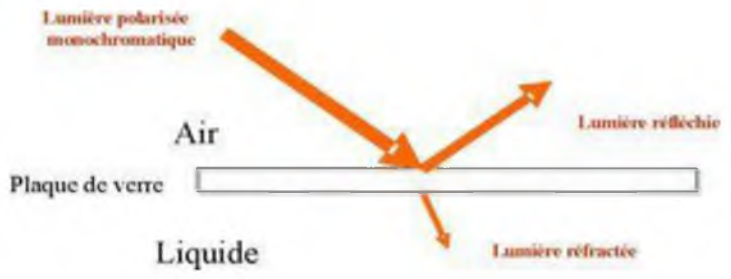
Annexe 8 : Principe de méthodes utilisées

Principe de la méthode Résonnance Plasmonique de Surface (BIACORE).

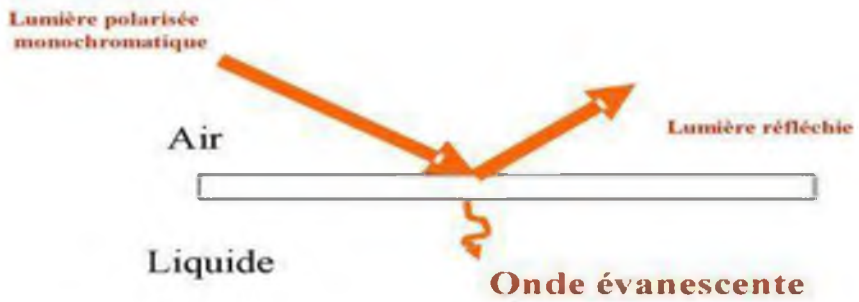
Le terme « Biacore » est généralement employé à tort puisqu'il s'agit d'une marque (comme le fameux Frigidaire) et non pas d'une technique. Le nom de la technique est la « résonnance plasmonique de surface » (c'est pourquoi le terme Biacore est utilisé…).

Principe de la résonance plasmonique de surface :

Lorsqu'un faisceau de lumière polarisée monochromatique illumine une interface entre deux milieux d'indices de réfraction différents, une partie de la lumière incidente est réfléchie sur l'interface et l'autre partie est réfractée à travers la surface.

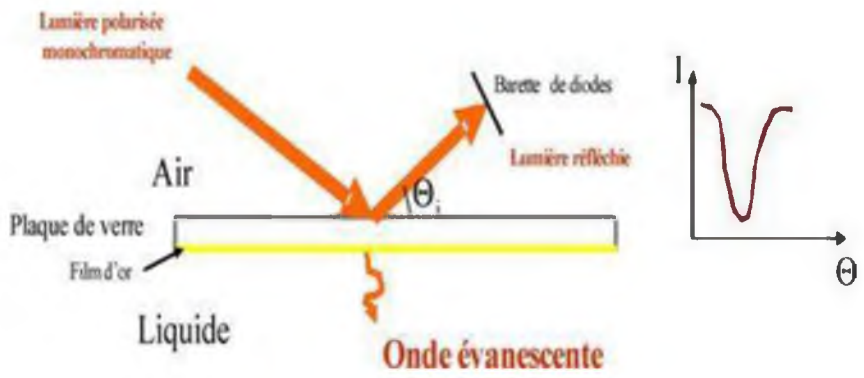


Dans des conditions de réflexion interne la lumière peut être réfléchie totalement. Cela dépend de l'angle d'incidence du faisceau lumineux. Dans ce cas l'angle de réfraction est nul. La lumière est caractérisée par différentes composantes électromagnétiques. L'une de ces composantes est l'onde évanescente qui se propage perpendiculairement à l'interface sur une distance équivalente à sa longueur d'onde.



La zone traversée par l'onde est appelée champ évanescent. Le faisceau incident est riche en photons, ces derniers peuvent entrer en résonance avec des électrons libres. L'application consiste à déposer sur l'interface une couche de métal (l'or) riche en électrons libres, ce qui

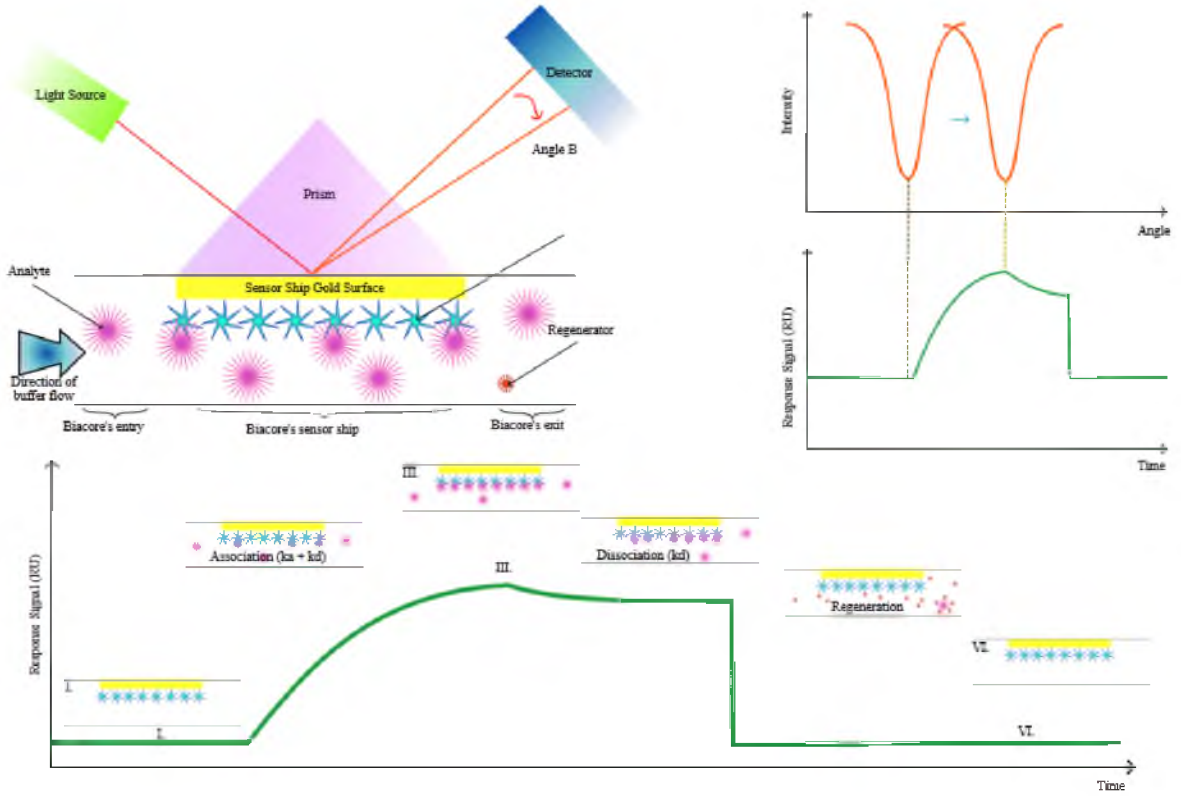
permet aux électrons libres et aux photons de rentrer en résonance. Ce phénomène est appelé résonance plasmonique de surface (SPR). Une des caractéristiques de la SPR est qu'elle dégage de l'énergie visible dans le faisceau réfléchi qui peut être transduite par des barrettes de diode. Ainsi la chute d'intensité du faisceau réfléchi peut être mesurée à travers l'enregistrement de variations d'angle de résonance. Cet angle est d'intensité minimum. Il est appelé angle de résonance.



Dans les conditions de réflexion totale, l'angle de résonance est étroitement lié à la densité du milieu. En effet, les changements dans la densité changent directement l'indice de réfraction du milieu du champ évanescent qui fait varier à son tour l'angle de résonance. En conséquence, l'enregistrement des variations de l'angle de résonance permet de visualiser les interactions en temps réel et sans marquage.

Une fine couche de métal (Or) riche en électrons, est déposée sur l'interface. Les photons de l'onde évanescente vont entrer en résonance avec les nuages électroniques du métal (plasmon). Le faisceau réfléchi va présenter une chute d'intensité avec un angle défini, l'angle de résonance. Les interactions moléculaires entre un ligand retenu sur la surface et un analyte en solution vont entraîner un changement de masse qui va modifier l'indice de réfraction du milieu et décaler la position de l'angle de résonance. La variation de l'angle de résonance est proportionnelle à la quantité d'analyte fixée sur le ligand immobilisé.

(source : http://www.ifr83.idf.inserm.fr/page.asp?page=3763#paragraphe-55304)



Concrètement, le ligand est fixé covalemment à la surface d'or (CortoCD, HP1CD et PC-CD dans notre étude). L'analyte en solution est injecté par la machine (différents peptides RPL12, ainsi que des peptides contrôles H3K9me3, H3K27me3, H3non méthylé…). Lors de l'injection, on observe la courbe ascendante, correspondant à l'association. En haut du pic, l'injection est terminée, le tampon d'injection sans analyte passe dans la puce et les interactions non spécifiques se dissocient, c'est l'étape de dissociation. La pente de la courbe correspond ici à la vitesse de dissociation, elle est inversement proportionnelle à l'affinité du ligand pour l'analyte. La puce est ensuite régénérée en glycine 2M pour éliminer les analytes associés au ligand et peut être réutilisée pour un autre cycle d'analyse.

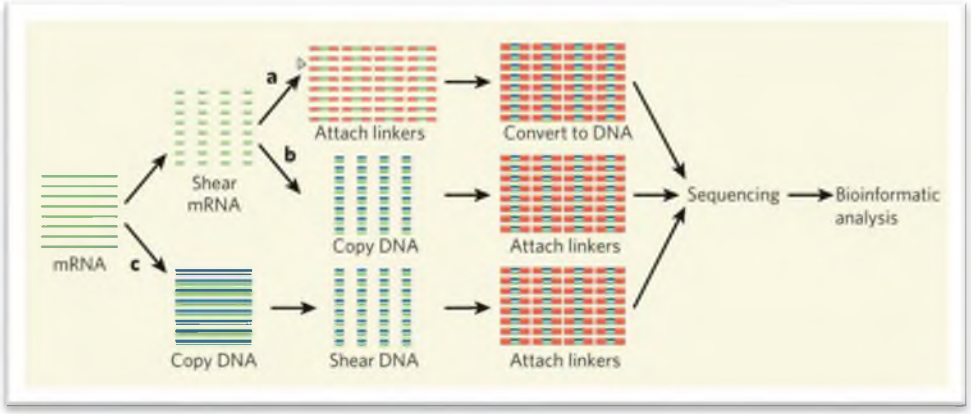


Figure 1 : préparation des librairies Tiré de Graveley et al., 2008

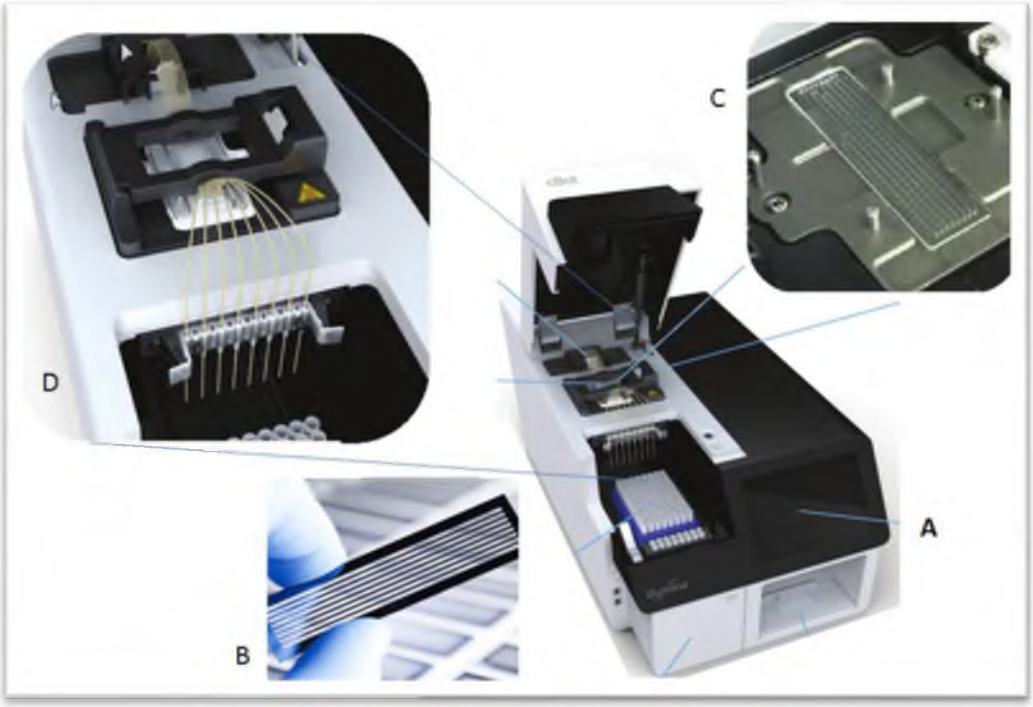


Figure 2 : c-Bot Illumina

(A) Le robot cBot permet la génération des clusters sur la lame (flowcell)
(B) La lame est insérée dans la chambre thermostatée
(C) puis les librairies vont être injectées sur la lame par le système d'injection
(D) La génération de clusters à partir d'une seule molécule d'ADN est réalisée dans ce robot, elle implique l'immobilisation de la molécule et son extension vers l'extrémité 3'

Principe et méthode du RNAseq

Diverses techniques sont envisageables pour préparer les échantillons afin de les analyser par RNAseq. L'ARN total est purifié par des techniques sans solvants (qui risqueraient d'interférer avec la suite du protocole et d'en réduire le rendement), puis les ARN ribosomiques sont éliminés, soit par déplétion (kit ribominus sur principe de sondes LNA), soit par enrichissement des ARNm (purification à l'aide de billes oligo d(T) dont le rendement est moins bon mais le coût largement moins élevé). Les ARNm peuvent alors être traités de différentes manières (Figure 1), je ne développe ici que celle que nous avons suivie (b) :

Les ARN sont fragmentés par sonication ou par nébulisation. Les ARNm sont rétrotranscrits en cDNA en utilisant des random primers (b), puis les extrémités sont réparées et les adaptateurs (*linkers*) sont ajoutés. Les adaptateurs permettent l'ancrage des fragments d'ADN à séquencer sur la lame (*flowcell*) et l'identification de la librairie construite après séquençage en cas d'indexation (multiplexing) des échantillons ainsi que les primers de séquençage. Après ligation des adaptateurs, quatre cycles de PCR sont réalisés pour enrichir la librairie.

Après purification et vérification de la qualité des échantillons au Bioanalyseur (Agilent), les librairies sont déposées sur la lame à l'aide d'un robot (Figure 2).

La lame est composée de huit lignes recouvertes de paires d'oligos (Figure 3A). Les librairies sont hybridées sur la lame grace aux adaptateurs, puis le brin complémentaire est synthétisé par une polymérase(Figure 3B). Le fragment double brin est dénaturé puis un lavage élimine le fragment d'origine et le brin néo-synthétisé est fixé covalemment à la lame (Figure 3C). L'extrémité libre du brin s'hybride à un primer adjacent sur la lame en formant un pont, puis un autre cycle de polymérisation est appliqué avant dénaturation du pont(Figure 3D). Plusieurs cycles d'amplification sont répétés jusqu'à couverture de la lame (Figure 3E). Les brins complémentaires sont clivés et éliminés par lavages successifs (Figure 3F). On génère ainsi entre 750 000 et 800 000 clusters par mm^2. La lame est ensuite prête à être séquencée.

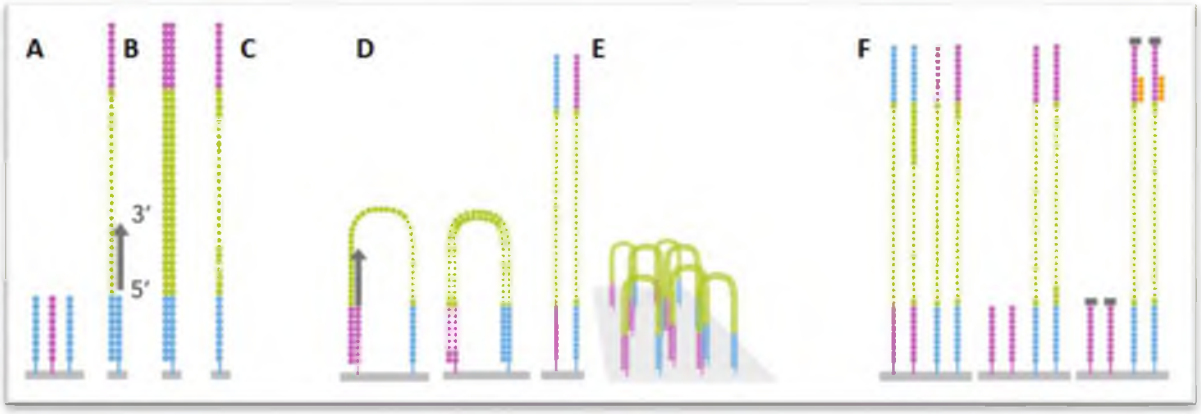


Figure 3 : Génération des clusters sur la lame

Adapté de Wang et al., 2009

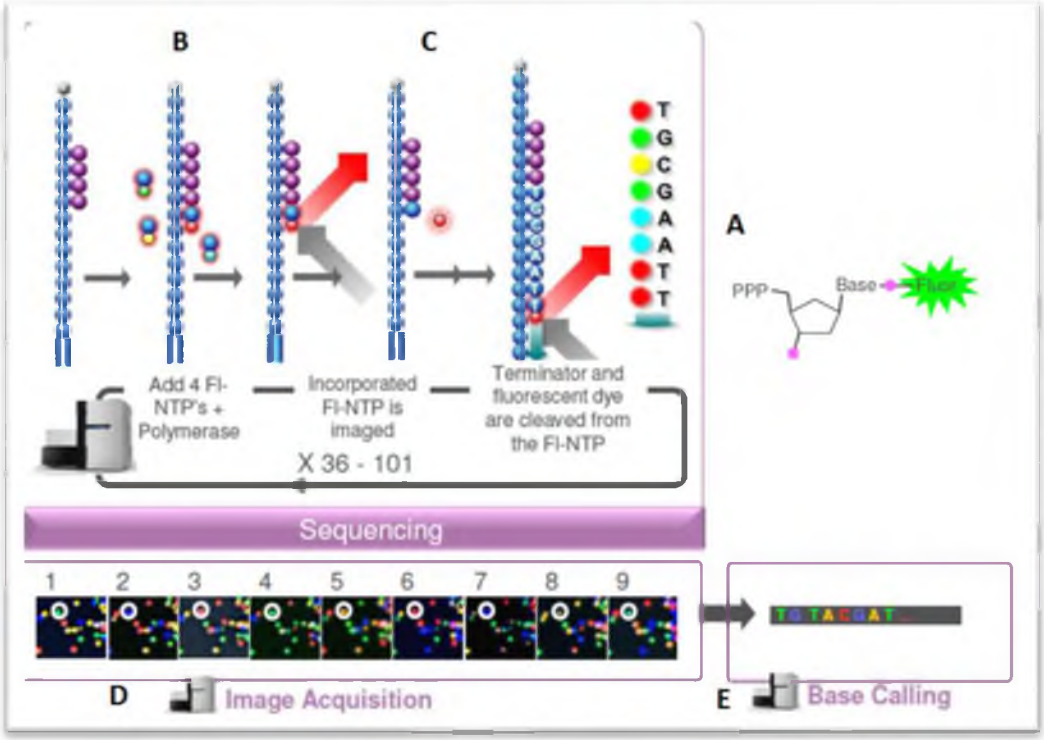


Figure 4 : Séquençage par un Hi-Seq 2000.

Adapté de **http://get.genotoul.fr**

La lame est ensuite insérée dans le HiSeq afin d'y être séquencée. Au premier cycle, les primers de PCR sont injectés afin d'amorcer le séquençage, puis à chaque cycle, les quatre types de nucléotides triphosphate couplés à un fluorophore(Fl-NTP) sont injectés simultanément (Figure 4A). L'incorporation du Fl-NTP à la chaîne nucléotidique néosynthétisée permet l'émission de sa fluorescence qui est mesurée par l'appareil (Figure 4B). Sur le Hi-Seq 2000, le temps d'acquisition de chaque cycle dure 50 minutes. Le dernier nucléotide incorporé est ensuite déprotégé, son résidu fluorescent est clivé (Figure 4C). Un autre cycle peut commencer. Le temps total de lecture est donc totalement dépendant de la taille souhaitée des fragments. Pour notre étude, nous avons séquencé en « *paired end* » sur 50 bp (séquençage des deux brins sur 50 paires de bases à partir d'une extrémité). Après chaque cycle d'acquisition d'image, le « *base calling* » (Figure 4D) permet d'identifier quel nucléotide à été ajouté et à quel endroit. Chaque cluster possède des coordonnées (x, y)sur la lame. Chaque base (A, T, G, C) est couplée à un fluorophore différent. La détection d'une couleur spécifique et donc une base, est reliée à un point de coordonnées précis. La séquence du brin est incrémentée à chaque cycle (Figure 4E).

Après séquençage, les données représentent plusieurs gigabytes. Les fichiers sont validés, démultiplexés, puis alignés sur le génome de référence, et passés au contrôle qualité par différentes méthodes de vérifications bioinformatiques (CASAVA, FastQC, …) avant d'être utilisables par l'utilisateur. Le soutien d'une équipe bioinformatique est extrèmement appréciable pour traiter les données haut débit.

La technique de RNA-Seq permet l'analyse des ARNm mais également des transcrits alternatifs, ce que ne permettent pas les microarrays. L'analyse en paired-end facilite l'alignement des séquences, permet de détecter plus facilement les insertions/délétions et les jonctions entre les exons.