



HAL
open science

Régulation de l'homéostasie du glucose et de la sécrétion d'inuline par le cofacteur transcriptionnel KAT2B - implication dans le développement du diabète de type II: rôle de KAT2B dans la cellule β pancréatique

Nabil Rabhi

► To cite this version:

Nabil Rabhi. Régulation de l'homéostasie du glucose et de la sécrétion d'inuline par le cofacteur transcriptionnel KAT2B - implication dans le développement du diabète de type II: rôle de KAT2B dans la cellule β pancréatique. Médecine humaine et pathologie. Université du Droit et de la Santé - Lille II, 2016. Français. NNT : 2016LIL2S058 . tel-03172174

HAL Id: tel-03172174

<https://theses.hal.science/tel-03172174>

Submitted on 17 Mar 2021

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.

UNIVERSITE DE LILLE 2 DROIT ET SANTE

Ecole Doctorale Biologie Sante de Lille

THESE

Pour l'obtention du grade de

DOCTEUR DE L'UNIVERSITE DE LILLE 2

Discipline : Aspects physiologie, physiopathologie, biologie systémique médicale

Spécialité : physiologie

Présentée et soutenue publiquement par

Nabil RABHI

Le 19 février 2016

**Régulation de l'homéostasie du glucose et de la sécrétion d'inuline
par le cofacteur transcriptionnel KAT2B - implication dans
le développement du diabète de type II
Role de KAT2B dans la cellule β pancréatique**

Membres du Jury :

Président.

Pr Bart STAELS

Rapporteurs.

Dr Miriam CNOP

Dr Raphael SCHARFMANN

Examineurs.

Dr Patrick COLLOMBAT

Directeur de thèse.

Dr Jean Sébastien ANNICOTTE

Composition du jury

Pr Miriam CNOP, *Professeur des Universités.*

ULB Center for Diabetes Research, Université Libre de Bruxelles

Division of Endocrinology, Erasmus Hospital

Route de Lennik 808, CP-618, 1070 Brussels, Belgium

Tel. + 33 2 2 555 63 05

Fax. + 33 2 2 555 62 39

mcnop@ulb.ac.be

Dr Raphael Scharfmann, *Directeur de Recherche INSERM.*

U1016 INSERM-Institut Cochin

Groupe Hospitalier Cochin-Port-Royal, Bâtiment Cassini

123, boulevard de Port-Royal

75014 Paris France

Tel. + 33 1 76 53 55 68

raphael.scharfmann@inserm.fr

Dr Patrick Collombat, *Directeur de Recherche INSERM.*

UMR INSERM 1091/ CNRS 7277 / UNS

Diabetes Genetics Team - Equipe Génétique du Diabète

Université Nice Sophia Antipolis (UNS)

Institut de Biologie Valrose, Centre de Biochimie

28, Avenue de Valrose, F-06108 Nice cedex 2, France

Tel. + 33 4 92 07 64 16

Fax. + 33 4 92 07 64 42

Patrick.COLLOMBAT@unice.fr

Pr Bart STAELS, *Professeur de Biologie cellulaire à la Faculté des Sciences Pharmaceutiques de Lille.*

Membre de l'institut Universitaire de France

UDSL, Université Lille Nord de France, Inserm UMR1011

Directeur du Laboratoire "Récepteurs Nucléaires, Maladies Cardiovasculaires et Diabète"

Institut Pasteur de Lille, 1 rue du professeur Calmette

BP245, 59019 LILLE – France

Tel. + 33 3 20 87 73 88

Fax. +33 3 20 87 73 60

Bart.Staels@pasteur-lille.fr

Remerciements

Je tiens à remercier l'ensemble des membres du jury d'avoir accepté de juger mon travail de thèse. Merci à mes rapporteurs, le Dr Miriam CNOP et le Dr Raphael SCHARFMANN, merci d'avoir accepté d'évaluer mon travail, d'avoir consacré du temps à la lecture de mon manuscrit. Je tiens également à remercier le Dr Patrick COLLOMBAT d'avoir accepté le rôle de d'examineur et le Pr Bart STAELS celui de président.

Liste des Abréviations

Abcc8 : ATP-binding cassette transporter sub-family C member 8	ERK : Extracellular signal-regulated kinases
AdGFP : Adenovirus Containing Green Fluorescent Protein	EZH2 : catalytic subunit of the Polycomb repressive complex 2
ADN : acide désoxyribonucléique	FoxO1 : Forkhead Box Protein O1
ADP : adénosine diphosphate	GABA : Acide γ -aminobutyrique
Akt : serine/threonine-specific protein kinase A	GAD65 : Glutamate decarboxylase
AMPC : Adénosine monophosphate cyclique	GCN5 : histone acetyltransferase
AP2 : Activating Protein 2	GIP : Gastric inhibitory polypeptide
ARN : Acide ribonucléique	GIPR : gastric inhibitory polypeptide receptor
Atf4 : Activating transcription factor 4	GK : Glucokinase
Atf6 : Activating transcription factor 6	GKRP : Glucokinase regulatory protein
ATP : adénosine triphosphate	GLI1 : protein originally isolated in human glioblastoma
BETA2 : microglobuline bêta 2	GLP1 : Glucagon-like peptide-1
CBP : CREB-binding protein	GLP1R : Le récepteur du glucagon-like peptide-1
CCK : Cholécystokinine	GLUT1 : Glucose transporter 1
CCL3 : Chemokine (C-C motif) ligand 3	GLUT3 : Glucose transporter 3
CDK2 : Cyclin-Dependent Kinase 2	GNAT : Gcn5-related N-acetyltransferases
CGRP : calcitonine	GPCR : G-protein-coupled receptors
ChIP : Chromatin immunoprecipitation	GSIS : glucose-stimulated insulin secretion
CIITA : class II, major histocompatibility complex, transactivator	GWAS : Genome Wide Association Study
ChgA : Chromogranin A	H2O2 : Peroxyde d'hydrogène
Cpe : carboxypeptidase E	H3K9 : Histone H3 lysine 9
CPA : carboxypeptidase A	HAT : histone acétyltransférase
CRE : cAMP response element	HbA1c : hémoglobine glyquée
Cre-loxP : site-specific recombinase technology	HDAC : histone désacétylase
CREB : cAMP-Responsive Element Binding Protein	HFD : régime riche en graisses
Creb1 : CAMP responsive element binding protein 1	HIF α : Hypoxia-inducible factor α
CXCL1 : stromal cell-derived factor 1	P2X : purinoreceptor
CXCL8 : interleukin- 8	PACAP : Pituitary adenylate cyclase-activating peptide
Ddit3 : DNA-Damage-Inducible Transcript 3	PAX4 : paired-box-containing gene 4
DNA : deoxyribose nucleic acid	PCNA : proliferating cell nuclear antigen
DT1 : Diabète Type 1	PCSK : proprotéine convertase subtilisine/kexine
DT2 : Diabète Type 2	Pdx1 : pancreatic and duodenal homeobox 1
E2F1 : E2 promoter binding Factor	PERK : Eukaryotic translation initiation factor 2-alpha kinase 3
Elf2 α : facteur d'initiation eucaryotique 2 α	

EPAC2 : exchange protein activated by AMPc 2
HLA : complexe majeur d'histocompatibilité
HNF1 : hepatocyte nuclear factor 1 homeobox A
Hspa5 : heat shock protein family A (Hsp70) member 5
Ins2 : Insulin-2 gene precursor
ipGTT : Intraperitoneal glucose tolerance test
ipITT : Intraperitoneal insulin tolerance test
IRE1 : Human protein kinase
ISL1 : marker for cardiac progenitors
K⁺ATP : ATP-sensitive K⁺
KAT : Lysine acetyltransferase
Kcnj11 : Potassium Channel
KDAC : Lysine deacetylase
LADA : Latent Autoimmune Diabetes in Adults
LDH : Lactate Deshydrogénase
MafA : V-Maf Musculoaponeurotic Fibrosarcoma Oncogene Homolog A
MCT : Monocarboxylate transporter
MgADT : magnesium complex of ADP
MIF : Macrophage migration inhibitory factor
Min6 : mouse Pancreatic beta cell line
MODY : Maturity onset diabetes of the young
mRNA : Acide ribonucléique messenger
MyoD : myogenic differentiation 1
NAD⁺ : forme oxydée du nicotinamide adénine dinucléotide
NCoA : Nuclear receptor coactivator
NeuroD1 : neurogenic differentiation 1
NF- κ B : nuclear factor-kappa B
NLS : nuclear localization sequence
NO : monoxyde d'azote
NPY : neuropeptide Y
O₂ : Oxygène
TCA : Citric acid cycle
TG : thapsigargine
TSS : transcription start site
TUDCA : Tauroursodeoxycholic acid

PGC1 α : Peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator 1-alpha
PKA : cAMP-dependent protein kinase A
PP1 : Protein phosphatase 1
PPAR γ : peroxisome proliferator-activated receptor γ
proIAPP : pro- islet amyloid polypeptide
PTEN : Phosphatase and tensin homolog
PTM : post translational modification
PYY : Peptide YY
qPCR : PCR quantitative
RE : réticulum endoplasmique
ROS : Reactive oxygen species
Rpd3 : Histone deacetylase Rpd3
Sir2 : NAD-dependent histone deacetylase 2
SLC30A8 : Solute carrier family 30 (zinc transporter), member 8
SOX13 : SRY-related HMG-box transcription factor 13
STAT3 : Signal transducer and activator of transcription 3
UPR : unfolded protein response :
USF1 : upstream transcription factor 1
VIP : Vasoactive Intestinal Peptide
XBP1 : X-box binding protein 1

Index des tableaux

Tableau 1 : Distribution des cellules endocrines dans les ilots de souris et les ilots humain.....	8
Tableau 2 : Classification des hat, leurs localisations, activite et quelques cibles.....	29
Tableau 3 : Classification des hdac, leur localisation, activite et quelques cibles.....	30
Tableau 4 : Interactome de kat2b dans la lignee min6.....	94

Table des illustration et des figures

Figure 1: Localisation du pancreas chez les vertebres et composition de l'ilot de langerhans.....	6
Figure 2: Abondance et distribution des cellules endocrines dans un ilot de souris et un ilot humain....	8
Figure 3: Diagramme representatif des sequences d'acides amines de la preproinsuline humaine....	12
Figure 4: Granule d'insuline.....	13
Figure 5: Activation synergique et coordonnee de l'expression du gene de l'insuline.....	14
Figure 6: Le glucose controle la traduction de l'insuline.....	15
Figure 7: Mecanisme de secretion d'insuline par la cellule β en reponse au glucose.....	17
Figure 8: Vue d'ensemble des voies de signalisation canoniques qui regulent la secretion d'insuline dans la cellule β pancreatique.....	18
Figure 9: Histoire naturelle de l'adaptation de la cellule β a l'obesite et au.....	20
Figure 10: Dysfonctionnement de la cellule β dans le DT2.....	21
Figure 11: Dedifferentiation de la cellule β au cours du DT2.....	22
Figure 12: Le depot des plaques d'iapp sur les ilots pancreatiques contribue a la mort de la cellule β 23	
Figure 13: L'inflammation participe au dysfonctionnement de la cellule β dans	23
Figure 14: Schema representatif de l'accessibilite de l'ADN à la machinerie transcriptionnel et les differentes modifications de l'ADN associees.....	26
Figure 15: Les HAT et les HDAC.....	27
Figure 16: Motifs des sequences des proteines acetylees.....	28
Figure 17: Regulation de la transcription par les HATet les HDAC.....	31
Figure 18: Structure de Kat2b.....	34
Figure 19: Kat2b controle la secretion de l'insuline et l'upr dans les ilots humain.....	70
Figure 20: L'inhibition des HDAC augmente la secretion de l'insuline en reponse au glucose.....	83
Figure 21: Le SPV106 est un agoniste specifique de Kat2b qui module la secretion de l'insuline.....	85
Figure 22: Le SPV106 ameliore le profile glycemique des souris sous regime riche en graisse.....	87
Figure 23: Kat2b regule la voie PKA-Creb.....	88
Figure 24: Gel de nitrate d'argent après une immunoprecipitation Kat2b.....	92
Figure 25: La diminution de Kat2b diminue la methylation en m _e A des ADN.....	97
Figure 26: Schema general des differentes voies regule par Kat2b dans la cellule β pancreatiques.	102

Table des matières

I. GENERALITES	1
1. LE DIABETE	1
1.1. Le diabète de type 1	3
1.2. Le diabète de type 2	3
1.3. Le diabète gestationnel.....	5
1.4. Le diabète monogénique	5
2. LE PANCREAS.....	6
2.1 Le pancréas exocrine	6
2.2 Le pancréas endocrine	7
2.2.1 Les cellules α	9
2.2.2 Les cellules β	9
2.2.3 Les cellules δ	10
2.2.4 Les cellules ϵ	10
2.2.5 Les cellules pp.....	10
3. PHYSIOLOGIE DE LA CELLULE B ET DYSFONCTIONNEMENT DANS LE DT2.....	11
3.1. Physiologie de la cellule β	11
3.1.1. Biosynthèse de l'insuline	11
3.1.2. Régulation transcriptionnelle de l'insuline.....	13
3.1.3. Régulation traductionnelle de l'insuline	14
3.1.4. Régulation de la sécrétion d'insuline	15
4. DYSFONCTIONNEMENT DE LA CELLULE B DANS LE DT2	19
4.1 Dédifférenciation de la cellule β	21
4.2 Dépôt des plaques d'amyloïde	22
4.3 L'inflammation.....	23
4.4 Le stress oxydatif.....	24
4.5 Le stress du réticulum endoplasmique	24
5. LES HAT ET LES HDAC	25
5.1 Les HAT.....	27
5.2 Les HDAC.....	29
5.3 Régulations épigénétiques par les HAT et HDAC	30
5.4 Les HAT et les HDAC régulent les protéines non-histones.....	31
5.5 Régulation de la fonction de la cellule β par les hat et les hdac	32
6. STRUCTURE ET FONCTIONS DE L'ACETYLE TRANSFERASE KAT2B.....	33
6.1 Les cibles de <i>kat2b</i>	34
6.1.1. <i>Kat2b</i> acétyle les histones	35
6.1.2. <i>Kat2b</i> acétyle des protéines non-histones.....	35
6.1.3. <i>Kat2b</i> dans la cellule β	36
II. OBJECTIFS ET PRESENTATION DU PROJET DE RECHERCHE	37
III. RESULTATS : ROLE DE KAT2B DANS LA CELLULE β PANCRETIQUE	39
1 ARTICLE : KAT2B CONTROLE LA REPONSE AU STRESS DU RE DANS LA CELLULE β PANCRETIQUE	39
2 CONCLUSIONS	69

3	ARTICLE 2 REVUE : ROLE OF THE UNFOLDED PROTEIN RESPONSE IN B CELL COMPENSATION AND FAILURE DURING DIABETES.	71
4	RESULTATS NON PUBLIES.....	82
	4.1. <i>L'inhibitor des hdac augmente la sécrétion d'insuline ne réponse au glucose</i>	82
	4.2. <i>Effet de l'activation pharmacologique de Kat2b sur la sécrétion d'insuline</i>	84
	4.2.1. <i>Le SPV106, agoniste spécifique de Kat2b, module la sécrétion d'insuline</i>	84
	4.2.2. <i>Le SPV106 améliore le profil glycémique des souris soumises à un régime riche en graisse</i>	86
	4.2.3. <i>Kat2b agit sur la voie PKA-Creb</i>	87
	4.2.4. <i>Discussions, perspectives et conclusion</i>	89
	4.3. <i>Kat2b interagit avec des protéines cytoplasmiques</i>	91
	4.4. <i>Régulation de la méthylation en m6a des arn par kat2b</i>	96
IV.	CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES.....	99
V.	REFERENCES.....	103
VI.	ANNEXES.....	122
1	SUPPLEMENTARY TABLE 1 : DNA-RESPONSIVE ELEMENT BOUND BY KAT2B IN ISOLATED ISLETS.	122
2	SUPPLEMENTARY TABLE 2 : GENE ONTOLOGY ANALYSIS OF CHIP-SEQ DATA.	125
3	SUPPLEMENTARY TABLE 3 : LIST OF KAT2B TARGET GENES INVOLVED IN UPRER OBTAINED AFTER FUNCTIONAL ENRICHMENT ANALYSIS OF CHIP-SEQ DATA USING G:PROFILER.	143

I. Généralités

L'homéostasie énergétique résulte de la balance entre les apports et les dépenses énergétiques dans l'organisme. Cette balance est finement régulée par l'action conjointe du système nerveux et hormonal. Chez l'homme, l'apport énergétique est principalement assuré par le glucose. Le maintien de la concentration du glucose sanguin (glycémie) est essentiel afin de garantir l'approvisionnement énergétique et le bon fonctionnement des différents organes. Ainsi, des variations fines de glycémie sont rapidement détectées par l'organisme, afin d'apporter une réponse physiologique adaptée. En effet, lors d'une hypoglycémie, la sécrétion du glucagon par les cellules pancréatiques α des îlots de Langerhans favorise la libération du glucose dans le sang, via l'activation de la glycolyse et la néoglucogenèse hépatique. A l'inverse, l'augmentation de la glycémie (hyperglycémie) est détectée par les cellules β du pancréas qui vont sécréter de l'insuline. L'insuline favorise la capture et/ou stockage du glucose par les tissus insulino-sensibles comme le foie, les muscles et le tissu adipeux. Ces mécanismes sont finement régulés par divers systèmes et leur dysfonctionnement est à la base de pathologies métaboliques graves. De plus, le changement de style de vie chez l'Homme moderne, caractérisé par une consommation de plus en plus inappropriée de nutriments et une augmentation de la sédentarité, résulte en une hausse des maladies métaboliques chroniques telles que le diabète.

1. Le Diabète

Le diabète est la maladie métabolique la plus répandue, caractérisé par une hyperglycémie chronique due à un défaut primaire de sécrétion d'insuline et/ ou de l'action de l'insuline. Le diabète mellitus atteint des seuils pandémiques avec plus de 347 millions de malades diagnostiqués dans le monde et représente aujourd'hui un véritable problème de santé publique (American Diabetes, 2015). La prévalence des décès dus au diabète est estimée à 50% dans la prochaine décennie, avec la prédiction que le diabète sera la 7ème cause de décès dans le monde en 2030(Mathers and Loncar, 2006).

Plusieurs processus physiopathologiques sont impliqués dans le développement du diabète. Ces derniers vont de la destruction auto-immune des cellules β du pancréas, avec des conséquences sur la sécrétion de l'insuline, à des anomalies liées à l'insulino-résistance. De plus, le défaut de sécrétion et/ ou d'action de l'insuline est généralement associé au défaut d'action d'autres hormones (telles que la leptine, le Glp1...) et résulte en un dysfonctionnement dans le métabolisme des carbohydrates, des acides gras et des protéines. Cependant, à l'heure actuelle, l'anomalie responsable de la première cause du développement de l'hyperglycémie chronique chez les patients diabétiques n'est pas encore connue.

En effet, l'hyperglycémie est à l'origine des complications du diabète mellitus. Elle est associée à des symptômes cliniques tels que la polyurie, la polydipsie, la perte de poids, parfois une polyphagie excessive et des perturbations de la vision. La persistance de l'hyperglycémie conduit également à des complications de type microangiopathies et/ou microangiopathies plus handicapantes incluant des rétinopathies pouvant aller jusqu'à la perte de vision, des néphropathies pouvant aller jusqu'à la perte complète du fonctionnement des reins; des neuropathies périphériques avec un risque d'ulcères du pied et d'amputations, et des neuropathies autonomes à l'origine de complications gastro-intestinales, génito-urinaires et cardiovasculaires (Forbes and Cooper, 2013). Le diabète augmente aussi l'incidence des maladies cardiovasculaires, de l'athérosclérose et des maladies cérébrovasculaires. L'hypertension artérielle et la dyslipidémie sont aussi retrouvées chez les diabétiques.

Différentes formes de diabète existent, classées selon leurs étiologies et par conséquence soumises à différents traitements et diagnostics. La majorité des diabétiques sont classés dans deux catégories de diabètes : le diabète de type 1 (DT1) qui est la conséquence d'une déficience complète en insuline due à la destruction complète des cellules β du pancréas et le diabète de type 2 (DT2), qui est caractérisé par une insulino-résistance et une absence de compensation en sécrétion d'insuline par ces cellules β pancréatiques. Le diabète gestationnel peut également se développer chez la femme lors de la grossesse, et peut évoluer en un DT2 après l'accouchement chez certaines femmes. Enfin, il existe d'autres types de diabètes plus rares, qui sont la conséquence de mutations génétiques, comme les

MODY (Maturity Onset Diabetes of the Young), d'infections virales, d'exposition à des toxines ou des médicaments, d'endocrinopathies et des maladies du pancréas exocrines.

1.1. Le diabète de type 1

Le DT1 se manifeste généralement avant l'âge de 30 ans. Les patients sont dépendants de l'injection d'insuline. Cette forme de diabète est diagnostiquée chez 5 à 10% des patients diabétiques. Le DT1 est dû à une destruction auto-immune des cellules β pancréatiques. Cette destruction intervient sur un terrain génétique de susceptibilité et est associée à la présence d'anticorps dirigés contre la cellule β . Un ou plusieurs anticorps sont retrouvés au diagnostic de 90% des patients (Pihoker et al., 2005) (Bingley, 2010). De nombreux anticorps ont été identifiés tel que les auto-anticorps anti-cellulaires de l'îlot (ICA69) (Pietropaolo et al., 1993), les auto-anticorps de l'antidécaryboxylase de l'acide glutamique (GAD65) (Baekkeskov et al., 1990), les auto-anticorps anti-insuline (IAA) (Palmer et al., 1983), les auto-anticorps dirigés contre l'antigène ICA512/IA-2 (Bonifacio et al., 1995), les auto-anticorps dirigés contre l'enzyme carboxypeptidase-H (Castano et al., 1991), les auto-anticorps dirigés contre la GM-gangliosides (Nayak et al., 1985), les auto-anticorps dirigés contre l'antigène p38 (Arden et al., 1996), les auto-anticorps dirigés contre la protéine SOX13 (Kasimiotis et al., 2000), et les auto-anticorps dirigés contre le transporteur de zinc 8A (ZnT8A ou SLC30A8) (Wenzlau et al., 2007). Sur le terrain génétique, le DT1 possède une forte association avec l'équilibre de liaison des molécules du complexe majeur d'histocompatibilité (HLA), HLA DR et HLA DQ.

Il existe aussi une forme de DT1 qui se déclare tardivement chez l'adulte nommée LADA (Latent Autoimmune Diabetes in Adults), où les patients adultes sont positifs pour les auto-anticorps et deviennent très insulino-dépendants (Chatzianagnostou et al., 2015).

1.2. Le diabète de type 2

Le DT2 est la forme de diabète la plus fréquente, son incidence représente entre 90-95% des diabètes. Il est caractérisé par une insulino-résistance périphérique associée à une déficience relative de la sécrétion d'insuline. Souvent, une

hypersécrétion d'insuline compensatoire de l'insulino-résistance précède le déclin de la fonction sécrétoire des îlots (American Diabetes, 2015).

Ce sont les organes qui utilisent préférentiellement le glucose comme le muscle squelettique, le foie et le tissu adipeux qui présentent un défaut d'insulino-résistance. Cependant, c'est bien le défaut de la fonction des cellules β pancréatiques et leur incapacité à s'adapter à la demande croissante en insuline des tissus périphériques qui sont à l'origine de l'apparition symptomatique du diabète. En effet, la diminution de la fonction de la cellule β est déjà observable chez les personnes qui présentent un risque important de développement du diabète et les pré-diabétiques (Cnop et al., 2007). De nombreux facteurs de risque sont associés au DT2 tels que l'obésité, la distribution de la graisse abdominale et viscérale ainsi que l'âge. De plus, l'étiologie de ce type de diabète repose sur une prédisposition génétique aggravée par des facteurs environnementaux.

Le caractère héréditaire du DT2 est estimé entre 30-70% grâce à des études réalisées chez des jumeaux ou des personnes de la même famille. Ces études suggèrent un rôle plus important de la composante génétique dans les premières phases du développement du DT2 et une plus haute contribution de la composante environnementale dans le développement du DT2 chez les patients âgés (Almgren et al., 2011) (Poulsen et al., 1999). Les études d'association de gènes et les études de déséquilibre de liaison entre les marqueurs génétiques et le DT2 (GWAS : genome-wide association studies) ont permis l'identification de 92 gènes et loci fortement associés au DT2. Un grand nombre de ces loci est associé à un dysfonctionnement de la cellule β pancréatique (Bonfond and Froguel, 2015). Cependant, la génétique ne permet d'expliquer que 5 % de l'héritabilité du DT2 car chaque locus a un faible effet (Herder and Roden, 2011). Cette faible héritabilité peut être due à des variants avec une fréquence allélique inférieure à 0.5%, difficile à identifier avec les technologies actuelles ou/et à des phénomènes épigénétiques.

Le changement de style de vie, avec l'augmentation des apports énergétiques et la diminution de la dépense énergétique, contribuent de façon indiscutable à l'augmentation pandémique du DT2. La discordance de la régulation épigénétique pour les générations nées dans un cadre de vie traditionnel avec un faible apport énergétique et lors de la transition à une vie urbaine avec des apports énergétiques

plus importants place cette dernière dans des conditions de haut risque pour le développement du DT2 (Hochberg et al., 2011). La déficience en vitamine D et en vitamine B12 est impliquée dans le développement du DT2 (Calvo-Romero and Ramiro-Lozano, 2015), (Yajnik et al., 2008). De plus, des évidences impliquent l'exposition aux polluants organiques (pesticides, plastifiants). Ces derniers affectent le système endocrinien et contribuent à la pathologie du DT2 (Casals-Casas and Desvergne, 2011). Le microbiote intestinal qui peut être influencé par la composition de la nourriture et les antibiotiques, peut aussi augmenter le risque de DT2 (Barlow et al., 2015). Enfin, la privation et l'apnée du sommeil sont deux autres facteurs fortement associés au développement du DT2 (Spiegel et al., 2009).

1.3. Le diabète gestationnel

Le diabète gestationnel (Robertson et al.) est défini par une intolérance au glucose diagnostiquée pour la première fois pendant la grossesse. Chez la plus part des femmes, le DG survient à partir du deuxième trimestre de grossesse. La prévalence du DG est de 8-9% des grossesses, bien que ce seuil puisse doubler dans les populations à haut risque pour le DT2 (American Diabetes, 2015). Au cours de la grossesse, une augmentation du besoin en insuline fait suite à l'installation d'une insulino-pénie relative et une insulino-résistance chez la femme. Ceci conduit à une augmentation de l'afflux de glucose vers le fœtus et une hyper-insulinémie réactionnelle de ce dernier (Marques et al., 2015) (Hay, 2012). Les complications du DG touchent donc la mère et le fœtus. Chez le nouveau né, cela peut aller de la prématurité à la détresse respiratoire, à l'hypocalcémie à court terme, à l'obésité et à l'intolérance au glucose au long terme. Les complications maternelles sont l'hypertension artérielle, la pré-éclampsie, la césarienne à court terme et le DT2 à long terme.

1.4. Le diabète monogénique

Le diabète monogénique est considéré comme une forme rare du diabète, il représente 5 % de DT2 (Bonfond and Froguel, 2015). Il est classé selon l'âge du début de la maladie en Diabète néonatale (lorsque le diabète se déclare avant l'âge de 6 mois) ou en diabète MODY « maturity onset diabetes of the young » lorsque le diabète se déclare avant l'âge de 25ans (Schwitzgebel, 2014). Le diabète

monogénique est dû à une mutation d'un seul gène conduisant à un défaut de la fonction des cellules β pancréatiques ou de leur nombre (Schwitzgebel, 2014).

2. Le pancréas

Le pancréas est une glande mixte logée dans l'abdomen. Chez les vertébrés, il est situé à l'arrière de l'estomac entre la rate et le duodénum. Anatomiquement, le pancréas est divisé en trois parties, « la tête », « le corps » et « la queue » du pancréas. Il est constitué de deux types cellulaires fonctionnellement et morphologiquement différents, les cellules exocrines et les cellules endocrines (Slack, 1995) (figure1).

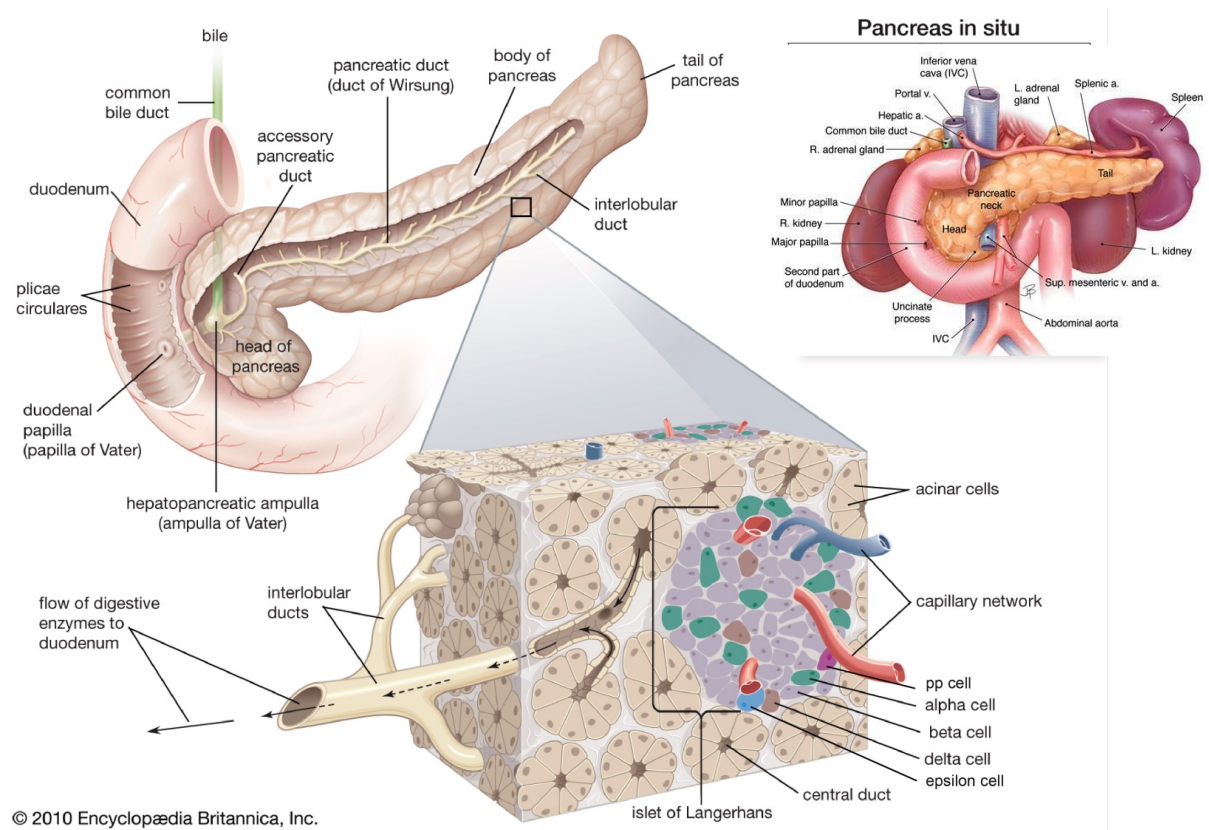


Figure 1: Localisation du pancréas chez les vertébrés et composition de l'îlot de Langerhans.
(adapté de l'encyclopédie Britannica)

2.1 Le pancréas exocrine

Le compartiment exocrine du pancréas représente 98% de la masse totale de l'organe. Il est organisé en cluster appelé acini, ce dernier est composé essentiellement des cellules acinaires. Le rôle de ces cellules est la synthèse et sécrétion des enzymes digestives telles que l' α -amylase, la glycoside hydrolase, la

trypsin(ogen), la carboxypeptidase A (CPA), et l'élastase ainsi que les ribonucléases, les lipases et les phospholipases (Rutter et al., 1968), (Jorgensen et al., 2007). Après un repas, les cellules acinaires secrètent les enzymes digestives dans le canal pancréatique qui les relie au duodénum. Les cellules qui relient les acinis au canal pancréatique sont appelées les cellules centroacinaires. Ces cellules présentent une morphologie différente des cellules acinaires. Leur taille est de 10 microns et présente un très grand noyau. Cependant, leur fonction reste encore mal connue (figure 1). Des études récentes montrent que ces cellules pourraient être une réserve de cellules pluripotentes progénitrices dans le pancréas adulte (Cleveland et al., 2012). Les cellules du canal pancréatique ou cellules ductales ont une fonction physiologique critique pour la sécrétion des enzymes digestives. En effet, ces cellules secrètent le bicarbonate, essentiel pour diluer et tamponner le pH des enzymes secrétées par les cellules acinaires (Cleveland et al., 2012). Ces enzymes digestives sont essentielles pour la génération des carbohydrates, des protéines et des lipides à partir des nutriments, car elles facilitent leurs absorptions par l'intestin. Leur sécrétion est régulée par des médiateurs neuronaux et hormonaux. Les neuropeptides et les hormones qui stimulent la sécrétion des cellules acinaires sont l'adénylate cyclase-activating peptide (PACAP) secrétée par la glande pituitaire ; l'oxyde nitrique (NO), le vasoactive intestinal peptide (VIP), l'angiotensine II et l'insuline. Les facteurs inhibiteurs de la sécrétion du pancréas exocrine sont la somatostatine, le polypeptide pancréatique, la ghreline, la pancreastatine, l'adenomeduline, la galanine, la calcitonine (CGRP), le neuropeptide Y (NPY) le peptide YY (PYY), la cholecystokinine (CCK), l'acétylcholine et le glucagon (Pandiri, 2014).

2.2 Le pancréas endocrine

Le compartiment endocrine représente entre 1 et 2% de la masse totale du pancréas. Ce micro-organe, dispersé tout au long du pancréas dans des clusters de 100-200 μm appelés îlots de Langerhans, est composé de 5 types cellulaires différents, tous producteurs d'hormones. Chaque îlot est composé de cellules α sécrétrices de glucagon, de cellules β sécrétrices d'insuline, des cellules δ sécrétrices de somatostatine, des cellules ϵ sécrétrices de ghrelin et des cellules PP

sécrétrices du polypeptide pancréatique. Ces agrégats cellulaires sont entremêlés avec les vaisseaux sanguins et les neurones, permettant ainsi la libération des hormones pour une régulation fine de l'homéostasie glucidique (Adrian et al., 1978), (Cao and Wang, 2014), (Brereton et al., 2015), (figure1). Ce réseau permet une réponse rapide aux fluctuations du glucose sanguin, aux signaux intra-îlots (via les jonctions gap ou des signaux paracrines) et aux impulsions nerveuses extrinsèques. L'architecture et l'arrangement spatial des cellules de l'îlot jouent un rôle important pour les communications entre ces derniers. L'architecture diffère entre espèces. Ces différences sont surtout liées au besoin fonctionnel spécifique à l'espèce et la nécessité de sécrétion des autres facteurs intrinsèque (comme le l'ATP, le GABA, ou le zinc) pour la fonction de l'îlot (Steiner et al., 2010), (Tableau1, figure2).

Tableau 1: Distribution des cellules endocrines dans les îlots de souris et les îlots humain

Îlots	Cellules α	Cellules β	Cellules δ	Cellules ϵ	Cellules PP
Souris	15%	87%	5%	Rare	Rare
Humain	36%	54%	10%	<1%	<5%

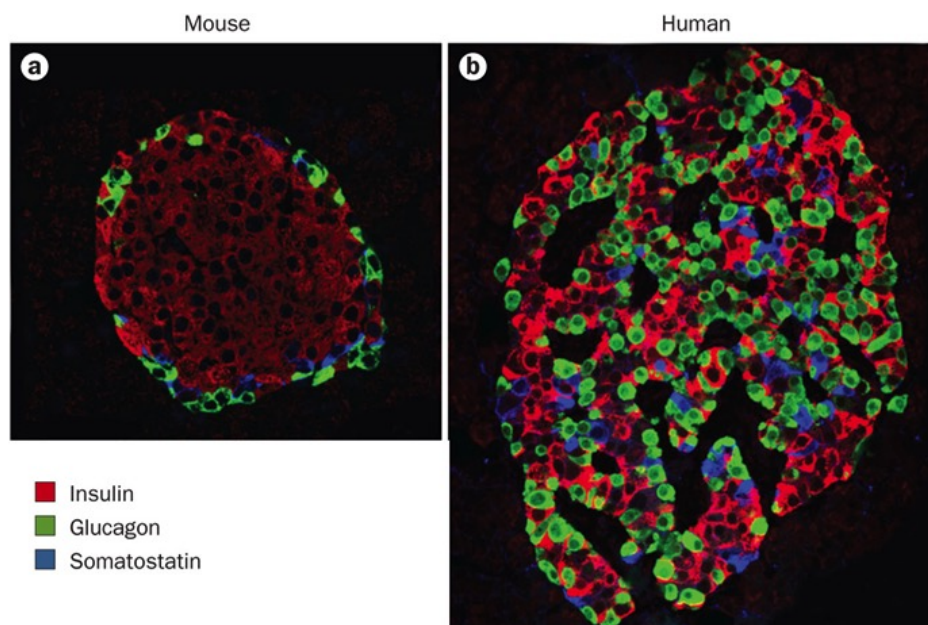


Figure 2: Abondance et distribution des cellules endocrines dans un îlot de souris et un îlot humain. Imuno-marquage d'insuline (rouge), de glucagon (vert) et de somatostatine (bleu) dans **a**) un îlot de souris **b**) un îlot humain. Chez la souris les cellules δ et les cellules α sont arrangées dans un « manteau » autour des cellules β et très peu de cellules β sont au contact des autres types cellulaires. A l'inverse chez l'homme, les cellules endocrines sont distribuées aléatoirement dans l'ensemble de l'îlot et la plupart des cellules β sont au contact des autres types cellulaires (Wang et al., 2015).

2.2.1 Les cellules α

Les cellules α représentent entre 30 à 50% des cellules endocrines du pancréas chez l'Homme et aux alentours de 15% de l'îlot chez la souris. Ces cellules sont responsables de la synthèse et la sécrétion du glucagon. Cette hormone est essentielle pour le maintien de l'homéostasie glucidique, car elle active la néoglucogenèse et la glycogénolyse hépatique. Elle contrôle la mobilisation du glucose périphérique pour prévenir l'hypoglycémie et contrebalance ainsi l'action de l'insuline. En plus du glucose, la sécrétion du glucagon est régulée par de nombreux signaux paracrines et endocrines comme l'insuline, la somatostatine, le glutamate et le GLP1 (glucagon-like peptide-1) (Gromada et al., 2007). De plus, des études récentes suggèrent un rôle pour les cellules α comme progéniteurs précurseurs des cellules β . En effet, ces études montrent que les cellules α adjacentes aux cellules β sont capables de se transdifférencier en cellules β en cas de dommage ou de déplétion des cellules β (Gromada et al., 2007). Chez les diabétiques, les cellules α secrètent plus de glucagon, et présentent une diminution de leur réponse à l'hypoglycémie et une incapacité à stopper la sécrétion de glucagon dans les conditions hyperglycémique (Youos, 2011).

2.2.2 Les cellules β

Les cellules β sont la population la plus représentée dans l'îlot même si leur nombre varie entre les espèces (60 à 80%) (Cabrerera et al., 2006). La fonction première de ces cellules est le stockage d'insuline et son relargage suite à la prise alimentaire afin de maintenir la glycémie sanguine. En plus de l'insuline, la cellule β co-sécrète de façon équimolaire le peptide C, qui est un produit du clivage de la pro-insuline en insuline. Le peptide C augmente l'action de l'insuline en favorisant la désagrégation de l'insuline et en réduisant l'apoptose des cellules β (Shafqat et al., 2006), (Bugliani et al., 2007). Il participe aussi à amélioration de la fonction du rein, du système nerveux et du système vasculaire (Ido et al., 1997), (Samnegard et al., 2005).

De plus, la cellule β sécrète d'autre peptide comme l'amyline avec un ratio de $\sim 1 : 3$ par rapport à l'insuline. Cette hormone inhibe la sécrétion du glucagon et influence la sécrétion de l'insuline selon sa concentration. A basse concentration,

celle-ci augmente la sécrétion de l'insuline alors que des hautes concentrations l'inhibent (Akesson et al., 2003). La cellule β sécrète aussi l'IGF2 et l'FGF1 qui favorisent la prolifération de la cellule β , ainsi que le MIF (Macrophage migration Inhibitory Factor) et le PACAP (Pituitary Adenylate Cyclase Activating Polypeptide) qui augmentent la sécrétion de l'insuline (Cornu et al., 2009), (Li et al., 2016), (Waeber et al., 1997), (Portela-Gomes et al., 2003). En plus de l'insuline et des peptides, la cellule β sécrète des neurotransmetteurs comme le GABA. Il est retrouvé dans 15% des granules d'insuline et son relargage inhibe la sécrétion du glucagon par les cellules α (Bailey et al., 2007).

La physiologie de la cellule β , sa sécrétion d'insuline et son dysfonctionnement au cours du DT2 seront discutés dans le chapitre suivant.

2.2.3 Les cellules δ

Cellules δ représentent moins de 5% des populations endocrines du pancréas. Elles sont responsables de la sécrétion de la somatostatine. Cette hormone contrôle la fonction de l'îlot en inhibant la sécrétion d'insuline par les cellules β et la sécrétion de glucagon par les cellules α , permettant une régulation fine de la glycémie (Hauge-Evans et al., 2009).

2.2.4 Les cellules ϵ

Très peu de cellules ϵ sont observées dans le pancréas. L'Homme est la seule espèce connue pour avoir un nombre substantiel de ces cellules endocrines à l'âge adulte (1% des cellules de l'îlot). Elles sont responsables de la sécrétion de la Ghrelin. Cette hormone agit localement en inhibant la sécrétion de l'insuline (Wierup et al., 2014).

2.2.5 Les cellules PP

Les cellules PP ou cellules F sont minoritaires dans l'îlot. Elles représentent moins de 1% des cellules endocrines du pancréas. Leur rôle est de produire et de sécréter le peptide pancréatique. Contrairement aux autres types cellulaires de l'îlot dont les hormones sécrétées agissent en paracrine sur les cellules endocrines, le polypeptide pancréatique agit sur les deux composantes en inhibant la sécrétion des cellules

exocrines ainsi que la sécrétion endocrine de la somatostatine (Lonovics et al., 1981), (Kim et al., 2014).

3. Physiologie de la cellule β et dysfonctionnement dans le DT2

L'insuline induit un signal hormonal majeur pour la réduction du taux sanguin de glucose circulant et le stockage d'énergie après un repas. Dans des conditions physiologiques, chez l'adulte, la cellule β est la seule cellule de l'organisme capable de sécréter de l'insuline. Toutefois, quelques exceptions ont été décrites récemment, incluant certaines cellules spécialisées du thymus qui synthétisent l'insuline pour leurs propres tolérances auto-immunes (Fan et al., 2009). L'insuline est aussi sécrétée par le cerveau au cours du développement (Deltour et al., 1993) (Devaskar et al., 1994). De plus, il a été montré que la synthèse de l'insuline peut être induite dans les cellules de la moelle, du foie, du tissu adipeux et de la rate, dans des conditions de stress métaboliques chez des modèles murins de diabète (Kojima et al., 2004).

En dépit de ces quelques exceptions, l'insuline circulante chez un adulte sain provient uniquement de la cellule β . Cette cellule très spécialisée utilise plus de 50% de la machinerie cellulaire pour la synthèse et le stock l'insuline dans des granules. Une cellule β moyenne contient ~ 10.000 granules d'insuline correspondant à $\sim 20\%$ du volume totale de la cellule. Chaque granule peut stocker ~ 200.000 molécules d'insuline, ce qui correspond à environ 2 milliards de molécules par cellules (Straub et al., 2004).

3.1. Physiologie de la cellule β

3.1.1. Biosynthèse de l'insuline

L'insuline sécrétée est constituée de 51 acides aminés et présente un poids moléculaire de 5.8kDa. Cependant le gène de l'insuline code pour un précurseur de 110 acides aminés appelé la pré-pro-insuline (figure3). L'interaction de cette dernière avec les riboprotéines cytoplasmiques SRP (Signal Recognition Protein) facilitent sa translocation dans le réticulum endoplasmique (RE) où elle va être clivée par les peptidases en pro-insuline (Chan et al., 1976), (Patzelt et al., 1978). La pro-insuline est ensuite prise en charge par des protéines chaperonnes qui vont favoriser son

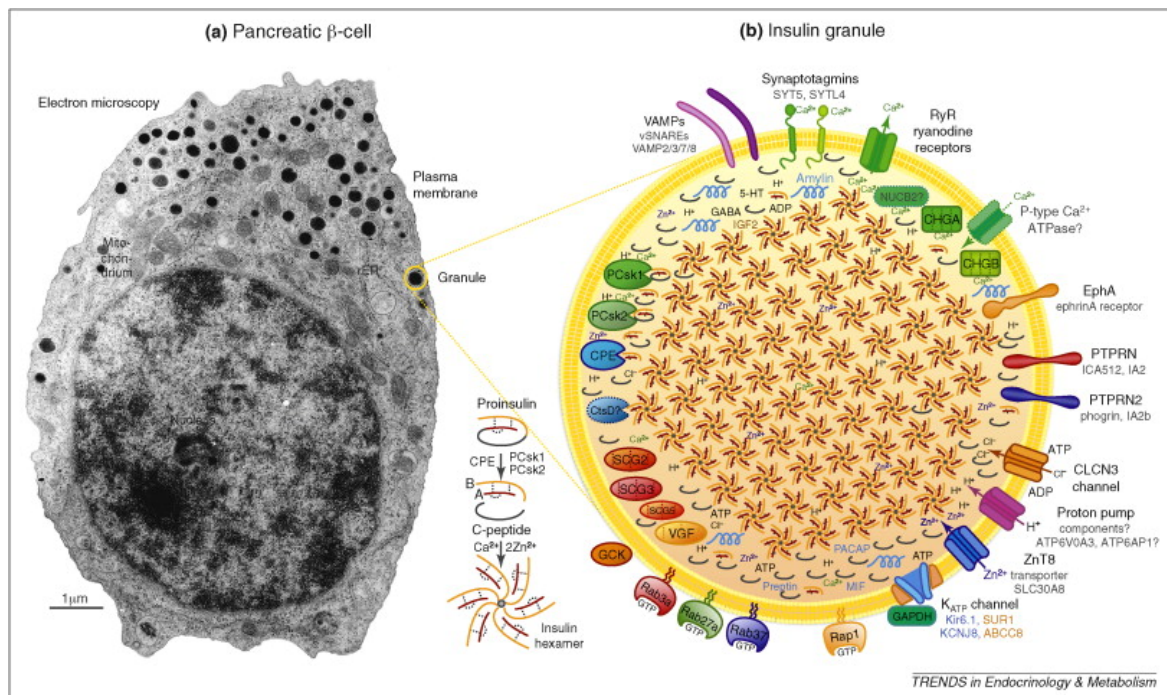


Figure 4: Granule d'insuline. a) Image d'une cellule β prise par microscopie électronique **b)** Protéines présentes dans une granule d'insuline (Suckale and Solimena, 2010).

Malgré le fait que la biosynthèse de l'insuline soit régulée par de nombreux facteurs, l'augmentation des concentrations de glucose et de ses métabolites représente l'évènement physiologique le plus important régulant la transcription et la traduction de l'insuline (Poitout et al., 2006). De plus, des hautes concentrations de glucose augmentent la stabilité de l'ARN messager de l'insuline (Welsh et al., 1985).

3.1.2. Régulation transcriptionnelle de l'insuline

Chez la plupart des espèces, le gène de l'insuline est représenté par une seule copie. Cependant, les rongeurs disposent de deux copies non allélique (insuline 1 et insuline 2). Elles diffèrent par leur nombre d'introns et leurs localisation chromosomique (Soares et al., 1985). L'expression spécifique par la cellule β du gène de l'insuline chez les mammifères est assurée par une région conservée située à -350 bp du site d'initiation de la transcription ou TSS (transcription start site). Ainsi, la régulation de la transcription de l'insuline s'effectue spécifiquement dans cette région (Hay and Docherty, 2006). Cette région promotrice contient des éléments de réponse permettant la fixation des facteurs de transcription qui régule l'expression du gène de l'insuline (figure5).

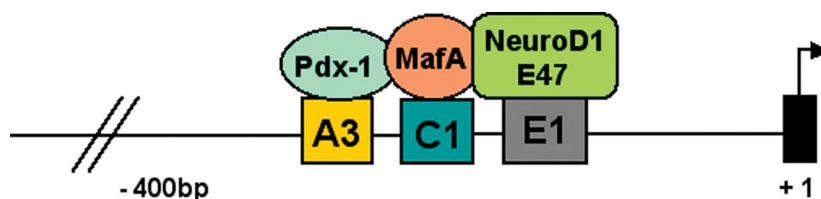


Figure 5 :Activation synergique et coordonnée de l'expression du gène de l'insuline par PDX1, NeuroD1 et MafA.

Les facteurs de transcription Pdx1, NeuroD1 et MafA sont les régulateurs majeurs de la transcription du gène de l'insuline. Ces facteurs coordonnent de façon synergique l'expression du gène de l'insuline. Bien que le glucose régule la fonction des trois facteurs, le mécanisme de régulation de chacun est complètement différent. En effet, pour PDX1, le glucose contrôle son interaction avec des complexes répresseurs et/ou activateurs du gène de l'insuline (Francis et al., 2005), (Mosley and Ozcan, 2003). La régulation de NeuroD par le glucose contrôle sa localisation cellulaire. En effet, NeuroD1 est essentiellement cytoplasmique en bas glucose. L'exposition à des hautes concentrations de glucose conduit à sa phosphorylation et à sa O-glucNAcylation favorisant sa translocation dans le noyau, où il va activer la transcription de l'insuline (Khoo et al., 2003), (Andrali et al., 2007). Enfin, l'expression de MafA est-elle même induite par de hautes concentrations en glucose (Zhao et al., 2005).

D'autres facteurs de transcription contribuent à la régulation de la transcription du gène de l'insuline tels que les facteurs se liant à l'élément CRE (CREB/ATF). En effet, le promoteur de l'insuline humaine présente quatre éléments de réponse pour ces facteurs de transcription (Hay et al., 2005). L'élément A du promoteur contient aussi des sites de fixation du facteur nucléaire hépatocytaire 1 (HNF1) et le facteur de transcription Isl1 (Emens et al., 1992), (Peng et al., 2005). La fixation de ces derniers stimule la transcription de l'insuline.

3.1.3. Régulation traductionnelle de l'insuline

En réponse à l'augmentation de la glycémie après le repas, la cellule β augmente la vitesse de la traduction de l'insuline. Cette augmentation de la traduction est assurée par la déphosphorylation du facteur d'initiation eucaryotique 2 α (eIF2 α) par la protéine phosphatase (PP1) (Vander Mierde et al., 2007). Cette déphosphorylation favorise la formation du complexe traductionnelle ternaire eIF2-GTP·Met-tRNA_i qui

interagit avec la sous unité S40 du ribosome et permet sa stabilisation, augmentant ainsi sa traduction (Gomez et al., 2004), (figure6).

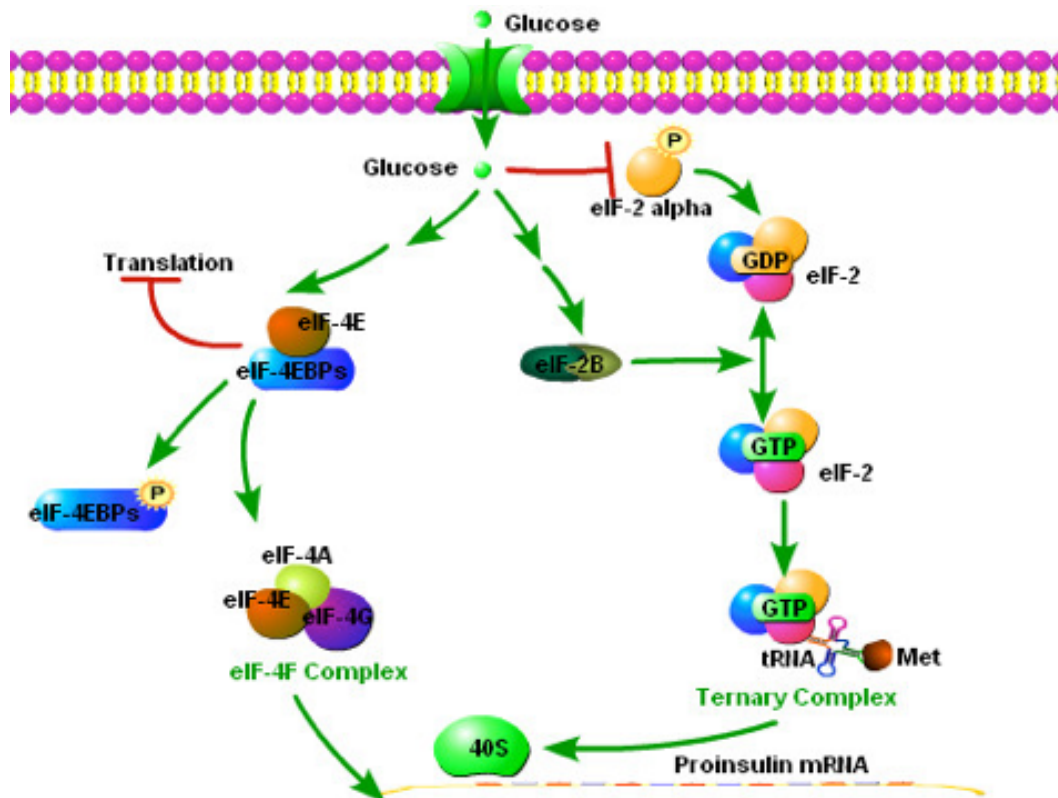


Figure 6: Le glucose contrôle la traduction de l'insuline. Le glucose stimule la synthèse de l'insuline en augmentant la traduction (1) le glucose favorise la phosphorylation de eIF-4EBP et la formation du complexe eIF4-F (eIF-4E, eIF-4F, eIF-4A, eIF-4G) qui va reconnaître le ARNm de la preproinsuline et recruter la sous unité 40S du ribosome (2) la déphosphorylation de eIF2 α favorise la formation du complexe traductionnelle ternaire eIF2-GTP·Met-tRNA_i et le stabilise.

3.1.4. Régulation de la sécrétion d'insuline:

Le glucose est le principal secretagogue de la cellule β . Contrairement aux autres cellules de l'organisme où le métabolisme du glucose répond aux stimuli hormonaux et neuronaux, le métabolisme glucidique dans la cellule β est dépendant de la disponibilité du glucose (Matschinsky, 1996). Ceci est dû : (1) au transport du glucose, qui dans la cellule β est illimité grâce à l'expression du récepteur GLUT2 chez les rongeurs et des récepteurs GLUT1 et GLUT3 chez l'homme (2) à la glycolyse dans la cellule β , qui est assurée par la glucokinase, une hexokinase avec une faible affinité pour le glucose (McCulloch et al., 2011), (Thorens and Mueckler, 2010), (Schuit et al., 2012). De plus, la cellule β exprime un niveau très bas de la lactate déshydrogénase (LDH) et du transporteur monocarboxylate (MCT), ce qui minimise le flux du glucose dans la mitochondrie et permet d'éviter l'induction de la

sécrétion d'insuline par le pyruvate et le lactate circulants libérés par les muscles lors d'un exercice (Schuit et al., 2012).

➤ **Sécrétion de l'insuline induite par le glucose**

La sécrétion de l'insuline est détectable à partir d'une concentration sanguine de glucose de 3mM chez l'homme (Henquin et al., 2006) et de 6mM chez la souris (Hedeskov, 1980), avec un maximum atteint aux alentours de 16mM et 20mM chez l'homme et la souris, respectivement. Des études sur des îlots isolés ont montré l'existence d'un pic initial de sécrétion dans les 3-10 min après une stimulation au glucose suivi par une seconde phase (phase d'amplification) de sécrétion plus lente (Curry, 1986). Ces deux phases se ressemblent fortement en terme de signalisation. Des études récentes de l'équipe du Pr Henquin ont montré que la seconde phase est le résultat de répétition de la première phase. En effet, cette équipe montre que le calcium (Ca^{2+}) est essentiel mais peu efficace en absence de glucose pour l'activation des voies de signalisation qui amplifie l'action du Ca^{2+} (Henquin, 2009). Cependant, dans des conditions physiologiques *in vivo*, cette sécrétion biphasique est très difficilement vérifiable et est probablement absente à cause d'une lente augmentation du glucose sanguin après un repas.

D'un point de vue mécanistique, le glucose capté par le récepteur au glucose est rapidement phosphorylé par la GCK puis converti en pyruvate. Ce dernier est utilisé comme substrat pour le cycle acide citrique (TCA), augmentant ainsi le métabolisme oxydatif du glucose (Pralong et al., 1990). Ceci a pour conséquence une augmentation du ratio ATP/ADP ainsi que du MgADT dans la cellule β , conduisant à la dépolarisation de la membrane plasmique en induisant la fermeture des canaux potassiques ATP dépendants (K^+ ATP) et l'entrée du calcium via les canaux Ca^{2+} voltages dépendants de type L. La dépolarisation de la membrane conduit finalement à la sécrétion de l'insuline (Henquin, 2009) (figure7).

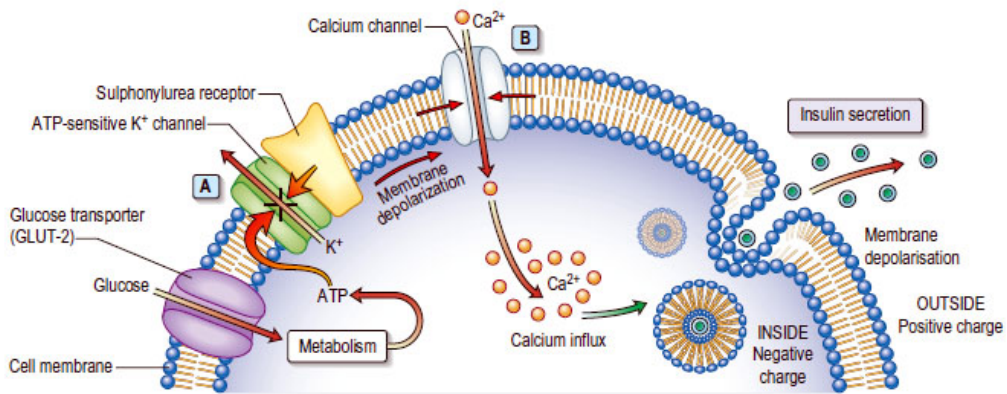


Figure 7: Mécanisme de sécrétion d'insuline par la cellule β en réponse au glucose.

➤ Sécrétion de l'insuline induite par les autres sécrétagogues

En plus du glucose, la sécrétion de l'insuline peut être induite par d'autres sécrétagogues comme les acides aminés (ex : la leucine et le α -ketoacid ketoisocaproate) qui activent en partie les mêmes voies métaboliques activées par le glucose. Les acides aminés sont des sécrétagogues physiologiques et jouent un rôle de potentialisateur de la sécrétion d'insuline. Ces derniers augmentent la sécrétion d'insuline dans des conditions d'activation par le glucose supérieure à 6mM. Cependant, un seul acide aminé dans des concentrations physiologiques ne peut pas augmenter la sécrétion de l'insuline. En effet, c'est la combinaison de certains acides aminés à une concentration physiologique qui peut augmenter la sécrétion de l'insuline (Sener and Malaisse, 1980). Un dernier groupe de sécrétagogue physiologique sont les hormones incrétines comme le GLP1 (glucagon like hormone), le GIP (glucose dependent insulintropic peptide), la cholestykinine (CCK), le peptide YY (PYY) et l'oxyntomoduline, sécrété par l'intestin après un repas (Campbell and Drucker, 2013). Les incrétines agissent via des récepteurs couplés aux protéines G (GPCR, ex : GLPAR, GIPR) présents à la surface de la cellule β en augmentant la concentration de l'AMPc, en activant la protéine kinase A (PKA) ainsi que EPAC2 (exchange protein activated by AMPc 2) (Campbell and Drucker, 2013), (Seino and Shibasaki, 2005), (Holz, 2004) et d'autres voies de signalisation (via la β -arrestine et MAPK) (Dalle et al., 2011). Les acides gras peuvent aussi augmenter la sécrétion d'insuline (via GPR40/FFAR1), (Itoh et al., 2003) ainsi que l'acetyl-choline via l'activation des récepteurs muscariniques M3 et l'ATP en activant les récepteurs

ionotropes P2X et P2Y (Hillaire-Buys et al., 1994). Les acides gras favorisent la sécrétion d'insuline en augmentant le Ca^{2+} cytosolique, alors que le VIP, le PYY et oxyntomoduline augmentent l'AMPc (figure8).

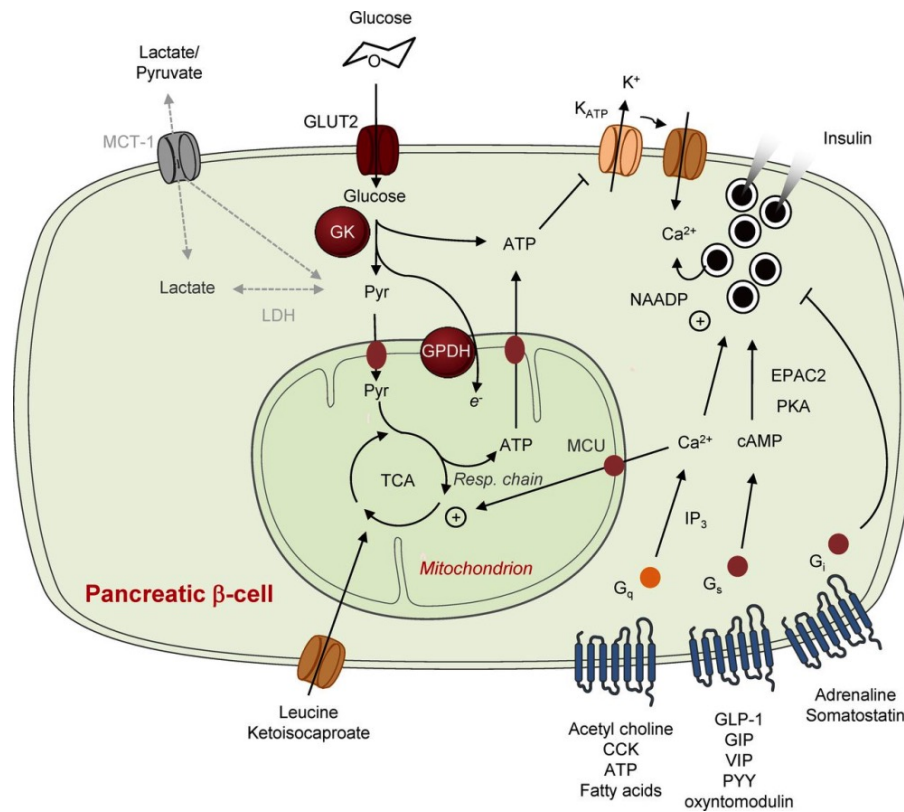


Figure 8 : Vue d'ensemble des voies de signalisation canoniques qui régulent la sécrétion d'insuline dans la cellule β pancréatique (Rutter et al., 2015).

4. Dysfonctionnement de la cellule β dans le DT2

Dans des conditions d'insulino-résistance, la cellule β répond en augmentant la sécrétion d'insuline pour maintenir une glycémie normale, un processus appelé la compensation. Les mécanismes impliqués ne sont pas encore bien compris. Cependant, des études chez les rongeurs ont montré que l'expansion de la masse des cellules β et l'augmentation de leur fonction sont deux processus importants pour contrer l'hyperglycémie (Steil et al., 2001), (Liu et al., 2002). L'incapacité de cellule β à compenser l'insulino-résistance marque l'entrée franche dans le DT2. Généralement, le diagnostic du DT2 est associé avec ~50% de réduction de la fonction des cellules β se manifestant entre 10 à 12 ans avant le diagnostic et s'aggravant avec l'augmentation progressive de glycémie à jeun (Holman, 1998). En effet, des études sur des îlots isolés ont montré que la première phase de sécrétion d'insuline est préférentiellement réduite dans le DT2 (Nesher and Cerasi, 2002). De plus, le caractère pulsatile et oscillatoire de ces îlots est perdu (O'Rahilly et al., 1988). Les patients obèses présentent une augmentation de la masse de cellule β , alors que les patients diabétiques obèses ou non présentent une diminution de 40% de la masse. Cette diminution de masse est due à une augmentation de l'apoptose et une perte d'identité de la cellule β (Butler et al., 2003), (Talchai et al., 2012) (figure9). Le statut diabétique conduit à une diminution de la synthèse et de la traduction de l'insuline se traduisant par une dégranulation des cellules β (Bonner-Weir et al., 1981). De plus, le ratio insuline/proinsuline sanguin est augmenté chez les patients diabétiques. Ce changement proportionnel est dû à la déplétion des granules matures conduisant une augmentation de la sécrétion d'insuline immature (Alarcon et al., 1995).

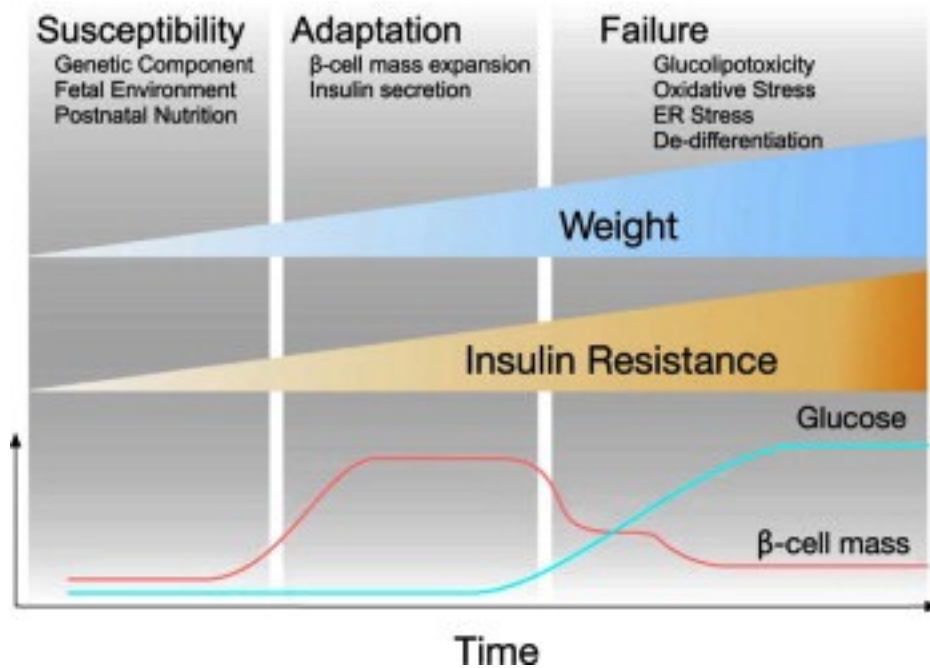


Figure 9 : Histoire naturelle de l'adaptation de la cellule β à l'obésité et au DT2.

La perte de réponse de la cellule β à l'excès de nutriment et au stress a été traditionnellement associée à une augmentation de l'apoptose de la cellule β . Bien que la finalité de l'historique du DT2 soit probablement l'apoptose de la cellule β , des études récentes indiquent des situations plus complexes dans lesquelles la cellule β peut initier plusieurs réponses alternatives afin d'éviter une perte irréversible. De nombreux facteurs physiologiques du stress retrouvés chez les patients diabétiques impactent la fonction de cellule β . Alors que la cellule β répond dans un premier temps par l'activation de voies compensatoires, elle active d'autres programmes pathologiques qui agissent en synergie pour favoriser le dysfonctionnement de la cellule β et sa mort (figure10).

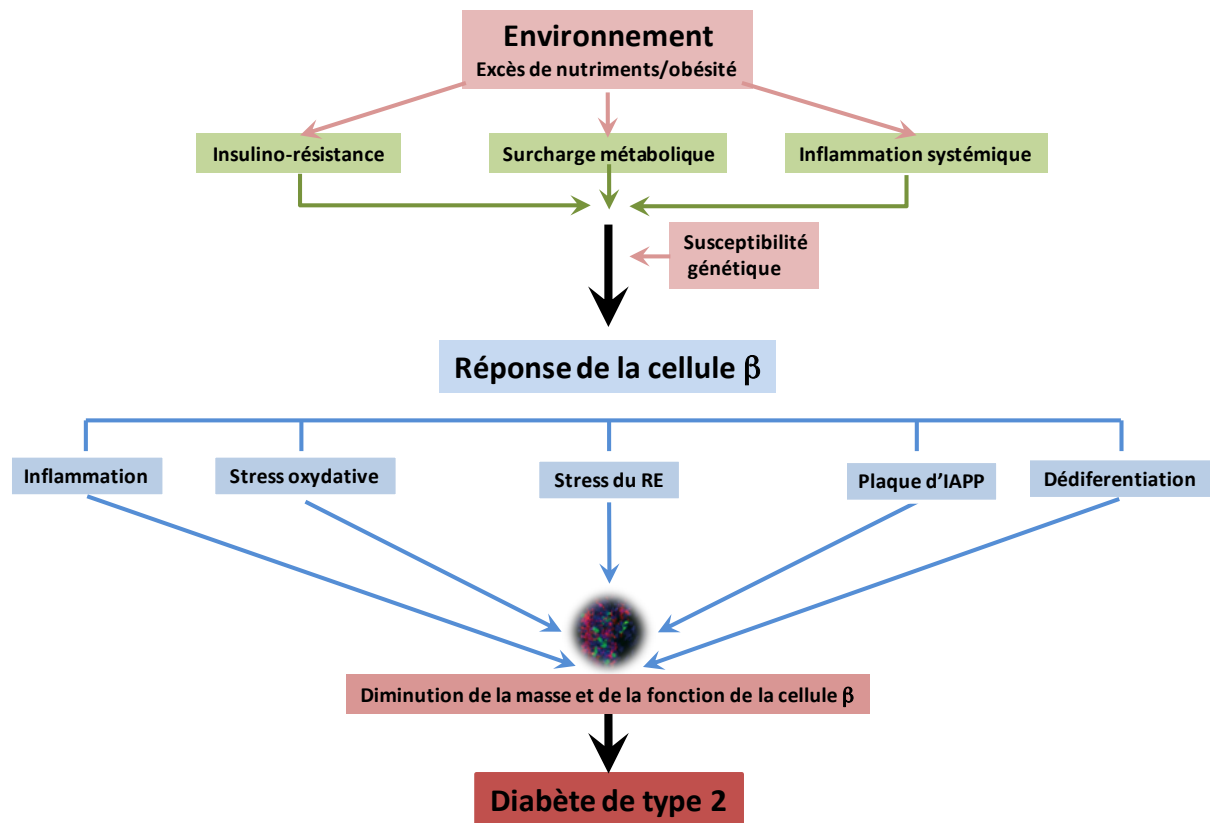


Figure 10 : Dysfonctionnement de la cellule β dans le DT2.

4.1 Dédifférenciation de la cellule β

La dédifférenciation de la cellule β est un concept émergent qui a fait l'objet de nombreuses études récentes. Il est basé sur des nouvelles évidences de la plasticité des cellules β . Des études de modèles murins de diabète déficients pour le facteur de transcription *Foxo1* ont montré que le dysfonctionnement de la cellule β est associé avec une dédifférenciation de la cellule β en cellule α (Talchai et al., 2012). De plus, la perte du facteur de transcription PDX1 dans les cellules β matures conduit à une transdifférenciation rapide en cellules α (Gao et al., 2014). Ces résultats démontrent qu'une reprogrammation des cellules β avec un shift du programme transcriptionnel (avec une dérégulation des facteurs de transcription essentiels pour le maintien de la cellule β) peut se produire dans des conditions de stress comme lors du DT2 (figure 11). De plus, il a été montré que le traitement avec l'insuline peut rétablir ce programme transcriptionnel en induisant une redifférenciation des cellules dédifférenciées en cellules β . De façon très

intéressante, il a récemment été montré que les cellules β se dédifférencient en cellules α et cellules δ -like chez les patients atteints du DT2 (Cinti et al., 2015).

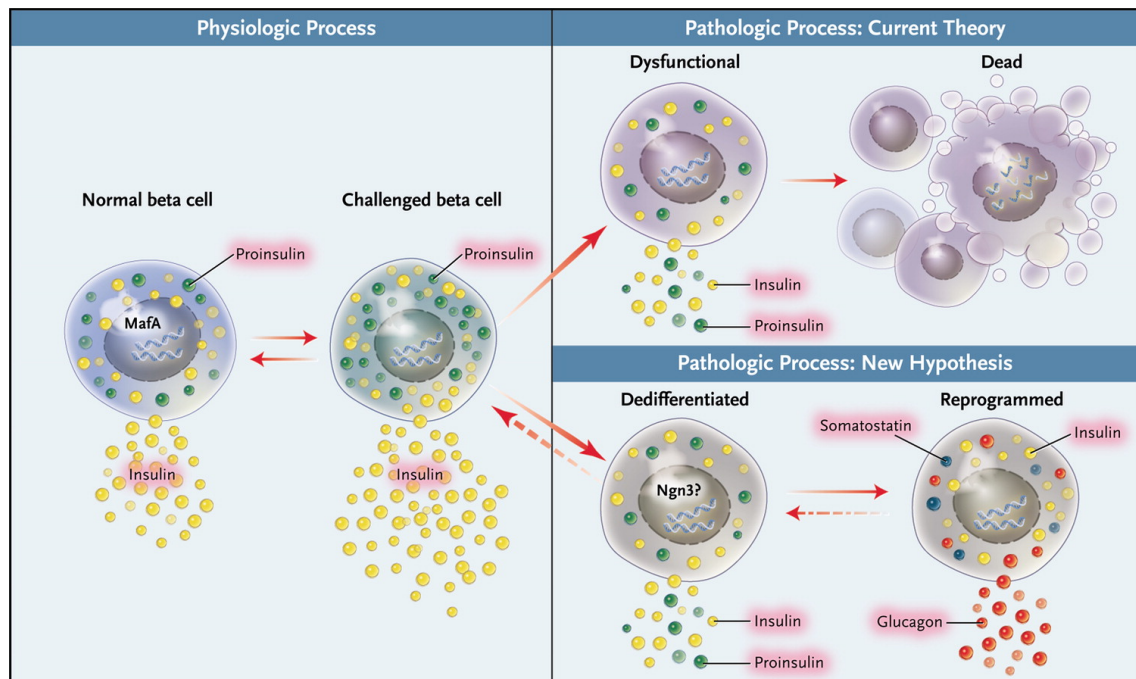


Figure 11: Dédifférenciation de la cellule β au cours du DT2. Nouvelle hypothèse du devenir des cellules β au cours du développement du DT2 (plus de détails dans le texte).

4.2 Dépôt des plaques d'amyloïde

L'accumulation des dépôts d'IAPP contribue au dysfonctionnement de la cellule β . L'augmentation de la sécrétion d'insuline lors des phases de compensation s'accompagne par une augmentation de la synthèse et de la sécrétion d'IAPP favorisant la formation d'oligomères toxiques d'IAPP. Des agrégats de ces oligomères sont retrouvés chez la plus part des patients diabétiques (Montane et al., 2012), (figure12). Les mécanismes qui contrôlent la formation des oligomères dans le DT2 ne sont pas clairs. Certaines études suggèrent un défaut de conversion de proIAPP en IAPP (Jeong and An, 2015). Les oligomères d'IAPP induisent la sécrétion de l'IL1- β , qui va favoriser le recrutement des macrophages et augmenter ainsi l'inflammation locale dans l'îlot (Masters et al., 2010).

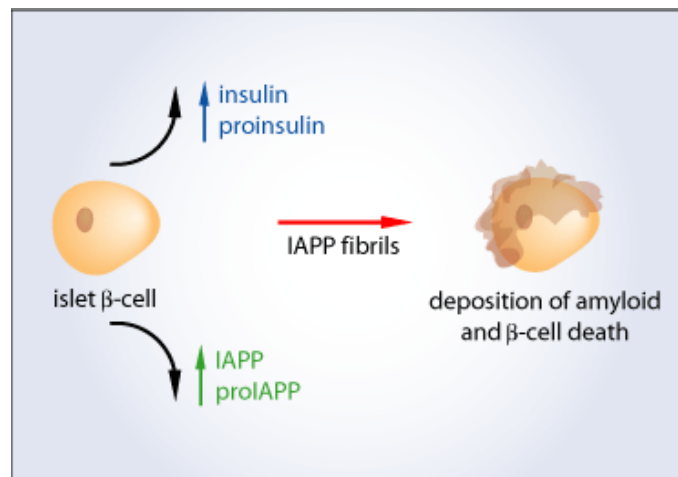


Figure 12 :Le dépôt des plaques d'IAPP sur les îlots pancréatiques contribue à la mort de la cellule β (SCQ.ca)

4.3 L'inflammation

L'hyperglycémie chronique et l'augmentation des acides gras circulant ainsi que l'IAPP favorisent la production de l'IL1- β par la cellule β . Ce dernier agit en paracrine et induit la production des agents chimiotractants (CXCL8 et CCL3 chez l'homme et CXCL1 chez la souris) qui vont favoriser le recrutement des macrophages aux niveaux de l'îlot (figure13). Le rôle de ces agents et des macrophages dans la perte de fonction de la cellule β reste flou. Cependant, il est établi que la thérapie anti-inflammatoire (antagoniste de l'IL1- β) peut préserver la fonction et la masse de la cellule β (Donath and Shoelson, 2011).

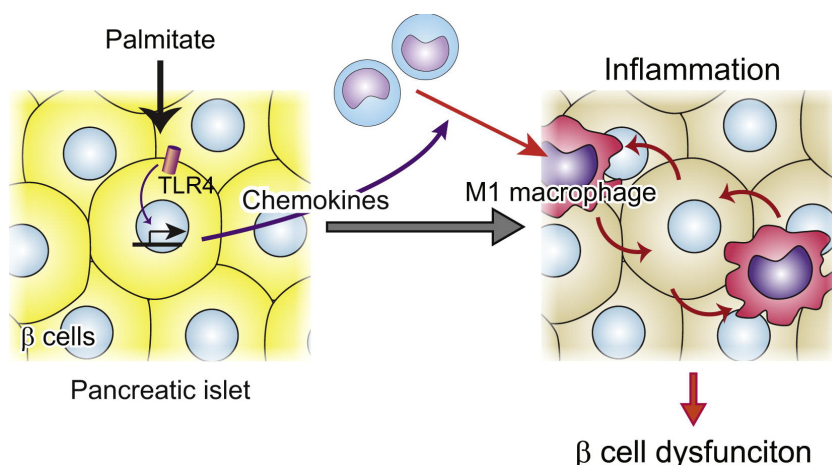


Figure 13 :L'inflammation participe au dysfonctionnement de la cellule β dans T2D. Les acides gras (ex: palmitate) activent la sécrétion des chimiokines par les cellules β . Ces derniers vont favoriser le recrutement des macrophages pro-inflammatoires M1 (Eguchi et al., 2012).

4.4 Le stress oxydatif

L'augmentation de la glycolyse lors de l'hyperglycémie conduit à la génération d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) telles que le l'oxyde nitrique (NO°), le superoxyde (O₂⁻), l'hydroxyle (OH°) et le peroxyde de l'hydrogène (H₂O₂). Lorsque l'hyperglycémie perdure, la cellule β n'arrive plus à éliminer les ROS, notamment à cause des très faibles niveaux d'expression des enzymes antioxydantes. En effet, le niveau des ROS dans les îlots corrèle positivement avec la concentration en glucose (Tanaka et al., 2002). L'accumulation de ROS induit des dommages à l'ADN ayant pour conséquence la dérégulation de l'expression des gènes, participant ainsi au dysfonctionnement de la cellule β (Wajchenberg, 2007).

4.5 Le stress du réticulum endoplasmique

Cette partie est décrite dans la revue jointe publiée dans « *Journal of Diabetes Research* » en 2014.

5. Les HAT et les HDAC

Comme discuté dans les chapitres précédant, malgré des études approfondies d'association de gènes, la contribution génétique n'est capable d'expliquer que 10% du DT2. Ainsi, les changements génétiques ne peuvent pas expliquer la complexité de la maladie. Des études récentes pointent le doigt sur une troisième composante, l'épigénétique, qui pourrait être un élément déterminant pour la prédisposition au DT2 (Keating and El-Osta, 2013). L'épigénétique correspond à l'étude des changements dans l'activité des gènes, n'impliquant pas de modification de la séquence d'ADN et pouvant être transmis lors des divisions cellulaires ou entre les générations. Contrairement aux mutations qui affectent la séquence d'ADN, les modifications épigénétiques sont réversibles (De Jesus and Kulkarni, 2014). Les changements épigénétiques jouent un rôle central dans de nombreux processus biologiques en modifiant la structure et l'organisation de la chromatine. Dans le noyau, l'ADN est empaqueté en des structures appelées nucléosomes. Ces derniers sont composés d'histones autour desquelles l'ADN est enroulé. L'accès à l'ADN par différentes machineries cellulaires est garanti par une série de modification épigénétiques qui vont induire des changements de la structure de la chromatine. Ces modifications entraînent souvent des modifications chimiques de l'ADN ou des histones. Ces modifications chimiques incluent la méthylation, l'acétylation, la phosphorylation, l'ubiquitination et la sumoylation (Liyanage et al., 2014) (figure 14).

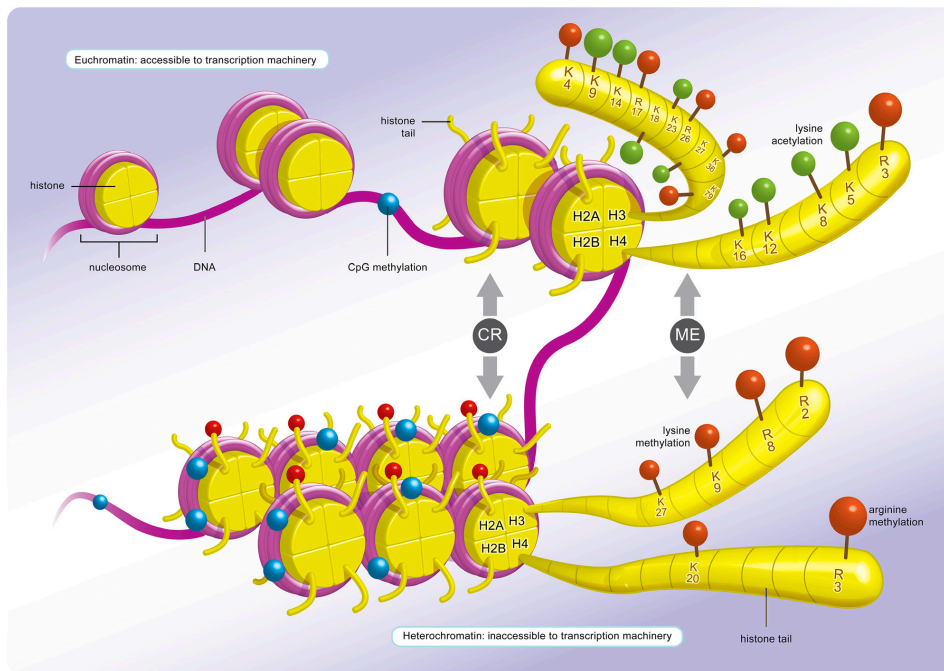


Figure 14 :Schéma représentatif de l'accessibilité de l'ADN à la machinerie transcriptionnel et les différentes modifications de l'ADN associées.

Dans ce manuscrit, nous allons nous concentrer sur l'acétylation et les enzymes responsables de cette modification.

L'acétylation sur lysine des protéines est une modification post-traductionnelles (PTM) qui consiste en l'addition d'un groupement fonctionnel acétyle au groupement ϵ -amine d'une lysine. Elle a tout d'abord été décrite comme contribuant à la régulation directe de la structure de la chromatine en modifiant les histones. Cependant, des études récentes ont montré que cette modification concernait aussi plus de 80 facteurs de transcription et un très grand nombre de protéines cytoplasmiques (Kim et al., 2006), (Zhao et al., 2010b), (Glozak et al., 2005). Ainsi, cette PTM régule de nombreuses fonctions cellulaires, de la transcription et la traduction des protéines jusqu'à la signalisation et le métabolisme (figure15). Les enzymes responsables de l'acétylation sont appelées lysines acetyltransferases (KAT, ou histone acetyltransferases HAT). A l'inverse, les enzymes responsables de la déacétylation des protéines et histones sont appelées les lysines deacetylases (KDAC, ou les histones deacetylases HDAC).

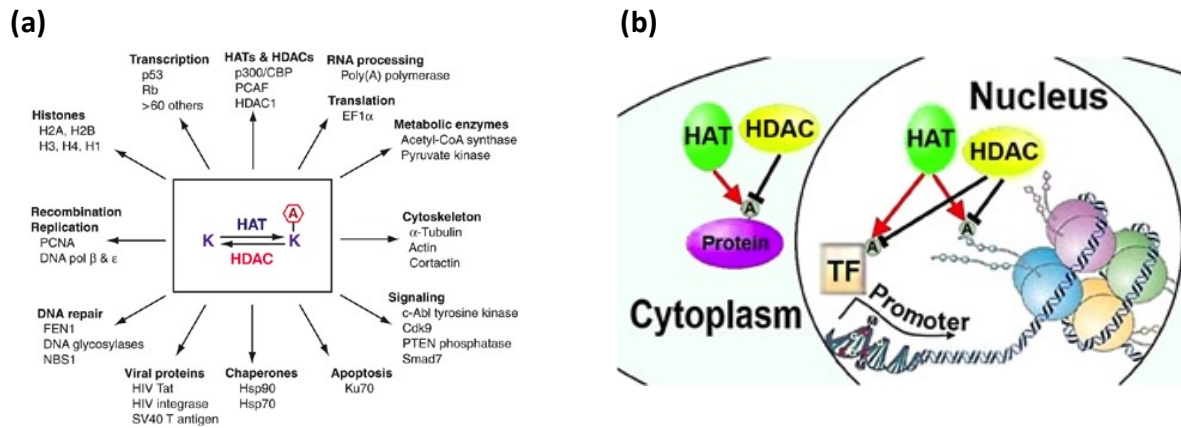


Figure 15: Les HAT et les HDAC interviennent dans **a)** de nombreux processus biologique en régulant **b)** la transcription des gènes en modulant le remodelage de chromatine. Ces enzymes régulent également la fonction des facteurs de transcription et des protéines cytoplasmique (Trakhtenberg and Goldberg, 2012), (Yang and Seto, 2007).

5.1 Les HAT

Les HAT sont classées selon leurs mécanismes de catalyse et leurs localisations cellulaires en deux superfamilles, HAT A et HAT B. Les membres de la superfamille HAT A regroupent les HAT capables de catalyser le transfert du groupement acétyl de l'acétyl-CoA au groupement ϵ -NH₂ après l'assemblage du nucléosome. A l'inverse, les membres de la superfamille HAT B catalyse le transfert du groupement acétyle de l'acétyl-CoA au groupement ϵ -NH₂ des histones libres (Richman et al., 1988). Les HAT sont aussi classées selon l'homologie structurale et fonctionnelle de leurs domaines catalytiques. De nos jours, il existe 30 enzymes avec une activité acétyle transférase connue qui sont regroupées dans 5 familles (tableau 2). Les GNATs (Gcn5-related N-acetyltransferases), qui regroupent les HAT présentant une forte homologie de séquence de leur domaine HAT avec GCN5, présentent soit un bromodomaine ou un chromodomaine qui permettent, respectivement, l'interaction avec les lysines acétylés ou les lysines méthylés (Neuwald and Landsman, 1997). La famille MYST des HAT est caractérisée par la présence d'un domaine MYST qui contient un site de fixation de l'acétyle-CoA et un doigt de zinc (Avvakumov and Cote, 2007).

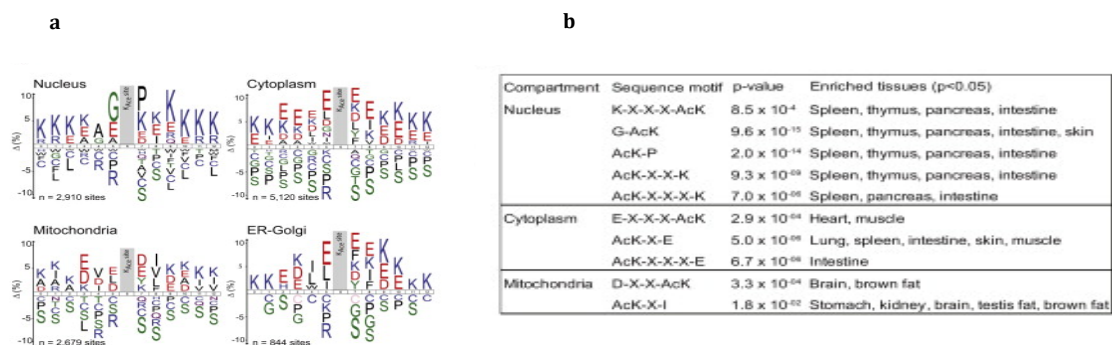


Figure 16: Motifs des séquences des protéines acétylées selon (a) le compartiment cellulaire et (b) le tissu.

La famille des HAT p300/CBP est caractérisée par la présence d'un domaine TAF250. Enfin, il existe la famille des co-activateurs des récepteurs aux stéroïdes (SRC) et les récepteurs nucléaires (NCoA) (Torchia et al., 1998). Des études de cristallographie ont permis d'identifier un motif de reconnaissance pour les HAT où une glycine est suivie par une lysine acétylable (GKxxP) (Bannister et al., 2000), (Rojas et al., 1999). Cependant, la prédiction des sites d'acétylation hors histone à l'aide de ce motif est très limitée. Cette limitation est liée au fait que les protéines cytoplasmiques ne présentent pas un motif consensus d'acétylation (Kim et al., 2006). En effet, le motif d'acétylation des protéines par les HAT est dépendant de leurs localisations cellulaires. De plus, ces motifs semblent différents selon le tissu cible (Lundby et al., 2012), (figure 16).

Tableau 2: Classification des HAT, leurs localisations, activité et quelques cibles. A, lysines acétyltransferases, Ub, ubiquitine ligase.

Famille	HAT	Localisation	Activité	Quelques cibles
GNAT	ti	N	A,	H3, H4, PGC-1 α , α -tubulin
	Kat2b	N, C	A, Ub	H3, H4, ERR α , ACL, MYOD1, PGC-1 α
	HAT1	C, N	A	Histones cytoplasmiques nouvellement synthétisées
	ATF2	N, M	A	H2B, H4
p300/ CBP	p300	N, C	A, Ub	H2A, H2B, H3, H4, FXR, PPAR- γ , PEPCK-C, PLAG1, SIRT2, p53, HDAC1, BCL6, MYOD1
	CBP	N, C	A	H2A, H2B, H3, H4, PPAR- γ , MYOD1
MYST	KAT5	N, C	A	H2A, H4, (H3)
	KAT6A	N	A	H3, H4, p53
	KAT6B	N	A	H3, H4
	KAT7	N	A	H3, H4
SRCs	NCoA-1	N, C	A	H3, H4
	NCoA-2	N, C	A	H3, H4
	NCoA-3	C, N	A	H3, H4
Others	TAFII250	N	A, Ub	H3, H4, (H2A), p53
	GTF3C- α	N	A	H2A, H3, H4
	CLOCK	N, C	A	H3, H4, GR, ARNTL1

5.2 Les HDAC

Les HDAC sont des enzymes qui ont pour fonction de déacétyler les histones et les protéines cytoplasmiques. Les HDAC sont regroupés en deux familles distinctes. Les HDAC classiques ont une activité dépendante du zinc et présentent une structure homologue à la protéine de levure Hda1/Rpd3 (de Ruijter et al., 2003). La seconde famille est composée des déacétylases dont l'activité est dépendante du NAD⁺ et présentent une structure homologue à la protéine de levure Sir2 (Haigis and Guarente, 2006). Les HDAC sont aussi regroupées en 4 classes selon leurs conservations phylogénétiques (Tableau 3).

Tableau 3: Classification des HDAC, leur localisation, activité et quelques cibles. D, déacétylation DA, déacétylases, DC, décrotonylation; DM, démalonylation; DS, désuccinylation; DG, déglutaryation, ADPR, ADP-ribosylation; B, biotinylation

Famille	HDAC	Localisation	Activité	Quelques cibles
I	HDAC1	N,C	DA	H2A, H2B, H3, H4, AR, SHP, p53, MYOD1, E2F1, STAT3
	HDAC2	N	DA	H2A, H2B, H3, H4, GR, YY1, BCL-6, STAT3
	HDAC3	N	DA	H2A, H2B, H3, H4, SHP, YY1, Eryf1, p65, STAT3, MEF2D
	HDAC8	N, C	DA	H2A, H2B, H3, H4, SMC-3, ERR α
IIa	HDAC4	N, C	DA	H2A, H2B, H3, H4, GCM1, Eryf1, HP1- β
	HDAC5	N, C, G	DA	H2A, H2B, H3, H4, GCM1, SMAD7, HP1- β
	HDAC7	N, C, M	DA	H2A, H2B, H3, H4, PLAG1
IIb	HDAC9	N, C	DA	H2A, H2B, H3, H4
	HDAC6	C, N	DA	H2A, H2B, H3, H4, α -tubulin, HSP90, SHP, SMAD7
III	HDAC10	C	DA	H2A, H2B, H3, H4
	SIRT1	N, C	DA, DC	H2A, H3, H4, PGC-1- α , PPAR- γ , FOXO1, FOXO3, CRTC2, AceCS, p53, NOTCH1, p65, HIF-1 α , LXR β , FXR
	SIRT2	C	DA, DC	H3, H4, ACL, α -tubulin, PEPCK-C, FOXO1, p65
	SIRT3	M	DA, DC	LCAD, HMGCS2, GDH1, SOD, IDH-2, OXPHOS, AceCS2
	SIRT4	M	ADPR, L, B	GDH1, MCD, PDC
	SIRT5	M, C, N	DA, DM, DS, DG	CPS1
	SIRT6	N	DA, ADPR, D	H3, IGF-1, HIF-1 α , KAT2A, p65
	SIRT7	N	DA	H3, GABPB-1, p53, SMAD6
IV	HDAC11	N, C	DA	H2A, H2B, H3, H4

5.3 Régulations épigénétiques par les HAT et HDAC

L'acétylation et la déacétylation des histones jouent un rôle central dans la régulation de l'expression génique. Le modèle général de la transcription est basé sur l'interaction de l'ARN polymérase II, les facteurs de transcription et les cofacteurs (coactivateurs et corépresseurs). Le complexe de coactivateurs et de corépresseurs contient une variété d'enzymes capables de modifier la chromatine en agissant sur les histones telles que les HAT et les HDAC (Nakajima et al., 1988). Ces modifications d'histones définissent l'hypothèse du "code histone" et permettent une réponse adaptée des cellules aux différents signaux environnementaux selon le tissu cible (Rando, 2012). Ces marques épigénétiques sont reconnues spécifiquement par les effecteurs de la transcription. Dans le cas de l'acétylation, les lysines modifiées représentent un site spécifique pour la fixation des protéines qui contiennent un bromodomaine (Fischle et al., 2003). L'acétylation des histones est souvent associée à la relaxation de la chromatine, plus accessible à la machinerie transcriptionnelle et activant ainsi la transcription. A l'inverse, la déacétylation des histones est associée

à la compaction de la chromatine et à l'arrêt de la transcription (figure17) (Whittle and Singewald, 2014).

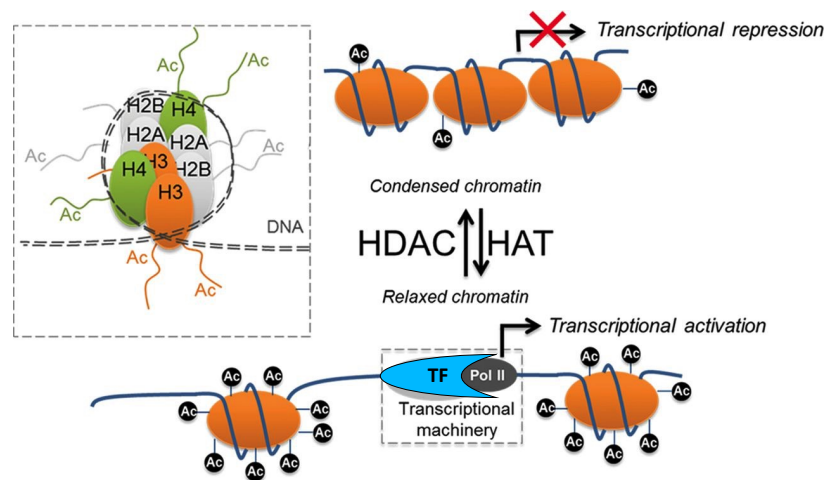


Figure 17: Régulation de la transcription par les HAT et les HDAC (Whittle and Singewald, 2014).

Plusieurs mécanismes permettant d'expliquer la régulation de l'expression génique par l'acétylation et la déacétylation des histones ont été proposés. De nombreuses évidences montrent que les HAT ou les HDAC sont recrutées par ordre chronologique à un locus spécifique par différents facteurs de transcription. Par exemple, des études *in vivo* ont montré l'existence d'une cinétique de recrutement des composantes du remodelage chromatinien SWI/SNF et des HAT à la chromatine condensée (Memedula and Belmont, 2003). D'autres études suggèrent que les HAT et HDAC sont présents simultanément sur la région régulatrice des gènes cibles. L'activation ou la répression de la transcription dans ce modèle dépendrait des différentes voies de signalisation activées et/ou de l'enzyme qui permet de stabiliser cette interaction (Simone et al., 2004). Il est probable que les deux modèles co-existent, cependant, les différences entre les loci régulés par l'un des mécanismes ou l'autre ne sont pas connues.

5.4 Les HAT et les HDAC régulent les protéines non-histones.

L'acétylation des protéines joue un rôle fondamental dans la régulation de nombreux processus physiologiques. En effet, des études protéomiques *in vitro* et *in vivo* ont permis d'identifier plus de 4541 protéines acétylées. Ces protéines sont retrouvées dans de nombreux compartiments tels que le noyau, le cytoplasme mais aussi la mitochondrie, le RE et golgi. Les fonctions cellulaires associées à ces

protéines sont nombreuses et incluent le remodelage de la chromatine, le cycle cellulaire, l'épissage alternatif, le transport nucléaire, la fonction de la mitochondrie et le métabolisme énergétique. De plus, la balance acétylation/déacétylation semble répondre au statut nutritionnel, suggérant un rôle central des HAT et HDAC pour l'adaptation de la réponse cellulaire à son environnement (Kim et al., 2006), (Zhao et al., 2010b), (Glozak et al., 2005), (Choudhary et al., 2009). L'interaction physique entre les HAT et HDAC joue un rôle important pour le contrôle de l'activité de leurs cibles. L'exemple le plus documenté dans la littérature est P300, capable d'acétyler plusieurs HDAC (Sirt2, HDAC1, HDAC6) et conduisant à la diminution de leur activité déacétylase (Han et al., 2008), (Han et al., 2009).

5.5 Régulation de la fonction de la cellule β par les HAT et les HDAC

La découverte du rôle protecteur des inhibiteurs des HDAC a provoqué un intérêt croissant pour la compréhension du rôle de l'acétylation dans la régulation la fonction de la cellule β . En effet, il a été montré que l'inhibition de la classe IIa des HDAC augmente le pool de la cellule β lors de la différenciation en augmentant l'expression de facteur de transcription PAX4 (Lenoir et al., 2011). De plus, l'inhibition de la class I des HDAC protège la cellule β contre l'apoptose induit par le palmitate (Plaisance et al., 2014). Cet effet protecteur semble relié à l'inhibition de la HDAC3. L'administration *in vivo* d'un inhibiteur spécifique de la HDAC3 dans des modèles de souris pour le DT2 diminue l'hyperglycémie et augmente la sécrétion de l'insuline (Lundh et al., 2015). Paradoxalement, l'expression de SIRT3, membre de la class III des HDAC, est diminuée dans les îlots des patients diabétiques. La diminution de l'expression de SIRT3 participe au dysfonctionnement de la cellule β en augmentant la production des ROS et la synthèse de l'IL1 β (Caton et al., 2013). Les mécanismes d'action des HDAC sont souvent reliés à leurs rôles transcriptionnels *via* la déacétylation des histones. Les HDAC régulent aussi l'expression du gène de l'insuline en réponse au glucose. Dans des conditions de bas glucose, HDAC 1 et HDAC2 interagissent avec PDX1, conduisant à la déacétylation de l'histone H4 et la diminution de l'expression du gène de l'insuline (Mosley and Ozcan, 2004). A l'inverse, en haut glucose, PDX1 recrute P300, CBP, GCN5 et Kat2b sur le promoteur de l'insuline favorisant l'acétylation de l'histone H4 et l'augmentant

l'expression du gène de l'insuline (Sampley and Ozcan, 2012), (Mosley et al., 2004). De plus, Kat2b/PCAF et USF1 sont recrutés au promoteur de PDX1 et favorisent sa transcription (Pinney et al., 2011). Les HAT sont aussi capable de réguler directement l'activité des facteurs de transcriptions essentielle pour la fonction de la cellule β . En effet, il a été montré que P300 acétyle BETA2, augmentant son action sur la transcription du gène de l'insuline (Qiu et al., 2004). De plus, la balance HAT/HDAC joue un rôle dans les effets bénéfiques du Glp1 et du GIP en favorisant l'internalisation du récepteur au potassium. Enfin, des études récentes ont montré que la balance HAT/HDAC permet la régulation de la glycolyse *via* la modulation de l'activité de la GK. En effet, l'acétylation de la GKRP (glucokinase regulatory protein) par P300 augmente son interaction avec la GK, augmentant ainsi sa rétention dans le noyau et diminuant la glycolyse. A l'inverse, la déacétylation de la GKRP par Sirt2 favorise sa dégradation et libère la GK, augmentant ainsi la glycolyse (Park et al., 2015).

6. Structure et fonctions de l'acétyl transférase Kat2b

La protéine Kat2b (appelée également PCAF pour p300/CBP-associated factor) est une lysine acétyltransférase (KAT) de la famille des GNAT, qui présente 73% d'homologie de séquence avec GCN5 (figure 18a) (Nagy and Tora, 2007). Il est codé par le chromosome 3 chez l'homme et le chromosome 17 chez la souris. La séquence de Kat2b est hautement conservée entre l'homme et la souris et donne naissance à une protéine composée de 832 acides aminés chez l'homme et 813 acides aminés chez la souris (Xu et al., 1998).

La structure de Kat2b comporte deux domaines conservés, le domaine KAT acétyltransférase et le bromodomaine, et un domaine moins conservé qui porte l'activité E3 ubiquitine ligase. La partie centrale du domaine KAT, en plus de porter l'activité catalytique de Kat2b, est impliquée dans la liaison à l'acétyl-CoA (figure 18b). Les régions voisines du domaine KAT semblent déterminer la spécificité de liaison aux histones. Le bromodomaine semble être responsable de la reconnaissance de l'histone H4 acétylée en lysine 8 et de l'histone H3 acétylée en lysine 14 (Dhalluin et al., 1999).

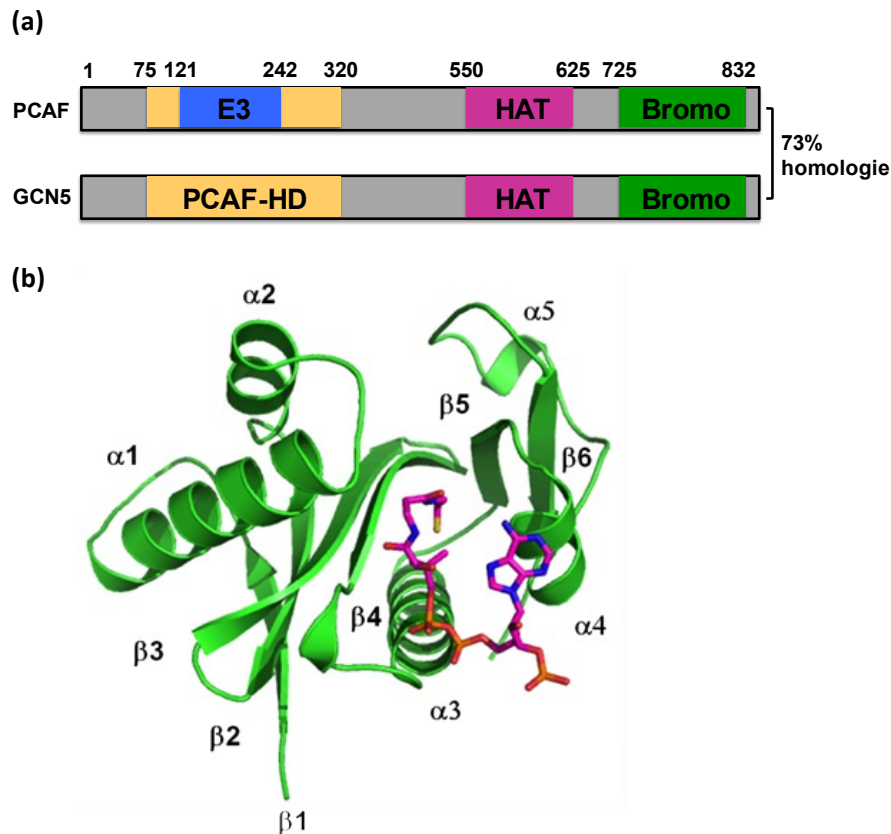


Figure 18: Structure de Kat2b a) homologie de séquence avec GCN5 b) structure cristallographique de Kat2b en interaction avec l'acetyl-CoA. E3 : le domaine E3 ubiquitine ligase; HAT: domaine acétyltransférase ; Bromo : bromodomaine ; PCAF-HD : domaine d'homologie avec Kat2b, l'homologie entre Kat2b et GCN5 est exprimé en % (Nagy and Tora, 2007).

La régulation de Kat2b par des modifications post-traductionnelles est encore mal connue. Il a été cependant montré qu'il peut être régulé par acétylation. Kat2b peut être acétylé par lui-même ou par P300. Les signaux induisant cette acétylation ne sont pas connus, mais il semblerait que cette auto-acétylation intervienne sur une séquence NLS (nuclear localisation signal), conduisant à sa translocation dans le noyau et à une augmentation de son activité histone acétyltransférase (Santos-Rosa et al., 2003).

6.1 Les Cibles de Kat2b

Comme la plupart des HAT, Kat2b acétyle les histones, mais également les facteurs de transcription et les protéines cytoplasmiques.

6.1.1. *Kat2b* acétyle les histones

Kat2b est impliqué dans de nombreux processus biologiques en modulant l'expression génique par le remodelage de la chromatine en acétylant spécifiquement les histones H3 en lysine 9 et H4 en lysine 14. En effet, Kat2b est recruté dans des complexes activateurs. Cette régulation est impliquée notamment dans la progression dans le cycle cellulaire en régulant l'expression de nombreux acteurs impliqués dans la transition G2/M (cycline D1, cycline D2, E2F1, PCNA...), dans l'adipogenèse du tissu adipeux brun en régulant PPAR γ et AP2, dans le rythme circadien en activant la transcription de NPAS2, dans l'inflammation en augmentant l'expression de protéines qui répondent à l'interferon et interférant ainsi avec l'activité de la polymérase II (Gatta and Mantovani, 2010), (Jin et al., 2014), (Masumi et al., 1999), (Sandoval et al., 2010), (Zhu et al., 2007), (Curtis et al., 2004).

6.1.2. *Kat2b* acétyle des protéines non-histones

Kat2b acétyle également des facteurs de transcription et module leur activité transcriptionnelle. Cette acétylation est généralement associée avec une augmentation de leur affinité pour leurs gènes cible qui intervient dans plusieurs processus biologiques. Kat2b acétyle aussi des protéines cytoplasmiques, modifiant leur activité et/ou leur capacité à interagir avec d'autres protéines. Ainsi, Kat2b intervient dans le cycle cellulaire à plusieurs niveaux, tout d'abord en acétylant E2F1 lors de la transition de la phase G1/S, et ensuite en acétylant la CDK2 lors de la transition G2/M (Taubert et al., 2004), (Mateo et al., 2009). De plus, Kat2b régule la différenciation musculaire, en acétylant le facteur de transcription MyoD (Sartorelli et al., 1999). Il intervient dans le métabolisme des acides aminés en interagissant avec ATF4, ainsi que le stress du réticulum endoplasmique en interagissant avec XBP1s (Cherasse et al., 2007), (Lew et al., 2011). Kat2b acétyle également le facteur de transcription CIITA sur la séquence NLS, conduisant à son accumulation dans le noyau et augmentant l'expression des gènes inductibles du complexe d'histocompatibilité de classe II. Il interagit avec de nombreuses autres protéines et facteur de transcription tels que PTEN, Akt, FoxO1, HIF1 α , P53, STAT3, EZH2, PGC1 α (Okumura et al., 2006), (Zhang et al., 2015), (Yoshimochi et al., 2010), (Xenaki et al., 2008), (Cai et al., 2014), (Rajendran et al., 2013), (Wan et al., 2015),

(Sun et al., 2014). L'acétylation de facteurs de transcription par Kat2b peut également diminuer leur activité transcriptionnelle. Le seul exemple connu est l'acétylation de la sous unité P65 du facteur de transcription NF- κ B. L'acétylation de P65 conduit à la diminution de la capacité de NF- κ B de se fixer avec l'ADN et atténue son activité transcriptionnelle.

Kat2b possède également une activité E3 ubiquitine ligase qui contrôle notamment le niveau d'expression de la protéine HDM2, responsable de la dégradation de P53 (Linares et al., 2007). De façon intéressante, il a été récemment montré que Kat2b pouvait exercer ces deux activités HAT et E3 ligase sur la voie de signalisation GLI1. D'un côté, Kat2b augmente la transcription des gènes cibles du facteur de transcription GLI1 en acétylant H3K9 dans ces promoteurs cibles. Kat2b est donc un co-activateur transcriptionnel de GLI1 et favorise la croissance cellulaire (Malatesta et al., 2013). D'un autre côté, Kat2b interagit physiquement avec GLI1 et favorise son ubiquitination et sa dégradation *via* son activité E3 ligase, diminuant ainsi les fonctions du facteur de transcription et ses propriétés oncogéniques (Mazza et al., 2013).

6.1.3. Kat2b dans la cellule β

Le rôle de Kat2b dans la fonction de la cellule β est encore mal connu. Il a été montré *in vitro* que Kat2b était présent dans le complexe activateur de la transcription du gène de l'insuline (Sampley and Ozcan, 2012). Kat2b acétyle également des facteurs de transcription de la cellule β tels que NeuroD1, HNF1a conduisant à une augmentation de leurs activités transcriptionnelles (Qiu et al., 2004), (Soutoglou et al., 2001). De plus, Kat2b acétyle MafA, cette acétylation favorise sa stabilisation et le protège contre l'ubiquitination et la dégradation (Rocques et al., 2007). Cependant, toutes ces études ont été réalisées *in vitro*, et le rôle physiologique de Kat2b reste à être identifié.

II. Objectifs et présentation du projet de recherche

L'expression génique est dynamiquement régulée au niveau de la chromatine par des modifications épigénétiques. Comme discuté dans l'introduction, les HAT et HDAC participent activement à cette dynamique. En effet, les HAT acétylent les histones, facilitant l'accessibilité des facteurs de transcription à la chromatine et l'initiation de la transcription. A l'inverse, les HDAC en déacétylant les histones favorisent l'arrêt de la transcription. L'acétyltransférase Kat2b, de par son activité HAT, est considérée comme un acteur positif activant la transcription de ces gènes cible. De plus, de par ces deux activités HAT et E3 ligase, Kat2b est acétyle ou ubiquitine des protéines non-histones, contribuant ainsi à modulation de la fonction et de l'activité de ces protéines.

Lors de mon arrivé au laboratoire, l'équipe du Dr. Jean Sébastien Annicotte avait observé que les souris déficientes pour Kat2b étaient gluco-intolérante et secrétaient moins d'insuline en réponse au glucose. Ces résultats préliminaires suggéraient un rôle de Kat2b dans la fonction de la cellule β pancréatique. Mes objectifs étaient alors de comprendre 1) quelle était la fonction de Kat2b dans le dysfonctionnement de la cellule β pancréatique et la sécrétion d'insuline, 2) la relevance avec le développement du DT2 et enfin 3) les mécanismes moléculaires impliqués.

Pour ce faire, nous avons caractérisé métaboliquement trois modèles de souris génétiquement invalidées pour Kat2b dont 2 modèles de souris knockout totale pour Kat2b de fond génétiques différents et une modèle de souris spécifiquement invalidée pour Kat2b dans la cellule β pancréatique en utilisant la technologie Cre-loxP. Nous avons ensuite utilisé différentes approches dans des îlots humains. Enfin, afin d'identifier les mécanismes moléculaires impliquées, nous avons utilisée des approches globales : 1) au niveau de la chromatine à l'aide d'une approche de séquençage à haut débit (CHIP-Seq) sur des îlots isolés et 2) l'identification des différents interactants en utilisant une approche protéomique (LC-MS-MS) réalisé après surexpression de la protéine Kat2b-Flag.

La première partie de ce travail fait l'objet d'un article actuellement en révision dans le journal « Cell Reports ». Concernant la deuxième partie, des résultats préliminaires seront présentés.

III. Résultats : Rôle de Kat2b dans la cellule β pancréatique

1 Article : Kat2b contrôle la réponse au stress du RE dans la cellule β pancréatique

Résumé

Les voies de signalisation activées par la réponse induite au mauvais repliement des protéines dans le réticulum endoplasmique (UPR^{er}) jouent un rôle important dans l'adaptation de la cellule β pancréatique à son environnement. Le dysfonctionnement de ces voies déclenche une augmentation de l'expression des marqueurs du stress du RE, conduisant à la défaillance de la cellule β , à un défaut de sécrétion d'inuline et peut-être au développement du DT2. Alors que de nombreuses études ont montré une altération de l'expression de ces marqueurs dans les îlots de souris diabétiques ou les îlots de patients diabétiques, les mécanismes moléculaires impliqués restent mal connus. Dans ce manuscrit, nous montrons que les souris invalidées totalement ou spécifiquement pour le gène de la lysine acétyltransférase Kat2b présentent un défaut de sécrétion d'insuline et une gluco-intolérance marquée. Une analyse de l'ensemble des gènes régulés par Kat2b a révélé un rôle critique de ce cofacteur dans le maintien l'expression des gènes de l'UPR, ainsi que la fonction de la cellule β lors d'un stress métabolique. Nous observons que l'expression de Kat2b est diminuée dans les îlots de souris db/db et les îlots de patients diabétiques. De plus, l'expression de Kat2b est positivement corrélée avec l'expression de gènes de l'UPR dans les îlots humains. En conclusion, Kat2b est un régulateur transcriptionnel crucial pour la fonction et l'adaptation de la cellule β durant un stress métabolique en contrôlant l'UPR. Nous pensons que Kat2b représente une cible thérapeutique prometteuse pour le traitement du DT2.

Kat2b is required for pancreatic beta cell adaptation to metabolic stress by controlling the unfolded protein response signaling

Nabil Rabhi^{1,2,3}, Pierre-Damien Denechaud⁴, Xavier Gromada^{1,2,3}, Elisabet Salas^{1,2,3}, Sarah Anissa Hannou^{1,2,3}, Hongbo Zhang⁵, Emmanuelle Durand^{1,2,3}, Olivier Sand^{1,2,3}, Amélie Bonnefond^{1,2,3}, Loic Yengo^{1,2,3}, Carine Chavey⁶, Caroline Bonner^{2,3,7}, Julie Kerr-Conte^{2,3,7}, Amar Abderrahmani^{1,2,3}, Johan Auwerx⁵, Lluis Fajas⁴, Philippe Froguel^{1,2,3,8*} and Jean-Sébastien Annicotte^{1,2,3,*}

¹ CNRS UMR 8199, Pasteur Institute of Lille, F-59000, France

² Lille University, Lille, F-59000, France

³ European Genomic Institute for Diabetes (Bonnefond and Froguel), Lille, F-59000, France

⁴ Lausanne University, Department of Physiology, 1005 Lausanne, Switzerland

⁵ Laboratory for Integrative and Systems Physiology, Swiss Federal Institute of Technology, 1015 Lausanne, Switzerland

⁶ Molecular Genetic Institute of Montpellier, CNRS UMR 5535; Montpellier, F-34298, France

⁷ INSERM UMR 1190, Lille, F-59045, France

⁸ Departments of Genomics of Common Disease, School of Public Health, Imperial College London, Hammersmith Hospital, London W12 0NN, UK

*Correspondence to J.-S. A. (jean-sebastien.annicotte@inserm.fr) and P. F. (p.froguel@imperial.ac.uk)

Running title: Kat2b and insulin secretion

Summary

The Endoplasmic Reticulum (ER) unfolded protein response (UPR^{er}) pathway plays an important role for pancreatic β cells to adapt their cellular responses to environmental cues and metabolic stress. Although altered UPR^{er} gene expression appears in rodent and human type 2 diabetic (T2D) islets, the underlying molecular mechanisms remain unknown. We show here that germ-line and β -cell specific disruption of the lysine acetyltransferase 2B (*Kat2b*) gene in mice leads to impaired insulin secretion and glucose intolerance. Genome wide analysis of *Kat2b*-regulated genes and functional assays revealed a critical role for KAT2B in maintaining UPR^{er} gene expression and subsequent β -cell function. Importantly, *Kat2b* expression was decreased in *db/db* and in human T2D islets and correlated with UPR^{er} genes in normal human islets. In conclusion, KAT2B is a crucial transcriptional regulator for adaptive β -cell function during metabolic stress by controlling UPR^{er} and represents a promising target for T2D prevention and treatment.

Introduction

The Endoplasmic Reticulum (ER) is a crucial organelle necessary to maintain protein folding and secretory capacity. Defective ER functions or prolonged ER stress impair glucose homeostasis and are associated with the development of peripheral insulin resistance and impaired β -cell function, two major contributors to the development of diabetes (Walter and Ron, 2011; Wang and Kaufman, 2012). Several lines of genetic evidence suggest that the transition between an obese, insulin-resistant state to type 2 diabetes (T2D) is triggered by β -cell failure, due to both a partial loss of β -cell mass and an impaired β -cell function (Muio and Newgard, 2008). Interestingly, obese patients maintaining β -cell compensation are protected from T2D, suggesting that the mechanisms controlling this particular stage of diabetes progression is crucial for evolution to diabetes (Weir and Bonner-Weir, 2004).

Pancreatic β -cells adapt their secretory capacity to metabolic challenges by activating the ER unfolded protein response (UPR^{er}), particularly during diet-induced obesity (Eizirik and Cnop, 2010). The UPR orchestrates complex signaling pathways in specialized secretory cells undergoing ER stress (Hetz, 2012). Typically UPR^{er} is composed by three transmembrane ER stress sensors, ATF6, IRE1 and PERK, that will transduce signaling pathways and, finally, will modify the expression of key genes leading to adaptive responses and recovery from ER stress (Back and Kaufman, 2012). A growing body of evidence suggests that

alteration in the expression of UPR genes may lead to β -cell failure and contribute to diabetes development (Cnop et al., 2012; Rabhi et al., 2014). Recent studies in mouse and human diabetic islets implicate altered expression of these markers (Chan et al., 2013; Engin et al., 2014; Kennedy et al., 2010; Laybutt et al., 2007). However, the upstream regulators responsible for UPR^{er} gene expression modulation are currently unknown.

Gene expression relies on the epigenetic status of histones, transcription factors and their coregulators allowing cell adaptation to metabolic change (Kelly and Scarpulla, 2004; Mouchiroud et al., 2014). Adapted responses to different environmental metabolic cues are controlled through the balance between acetylation and deacetylation of specific histone marks and transcription factors (Jeninga et al., 2010; Mihaylova and Shaw, 2013; Zhao et al., 2010a). This process involves the antagonistic activity of the chromatin-modifying enzymes lysine/Histone deacetylases (KDAC) and Lysine/histone acetyl transferases (KAT) enzymes. Accumulating evidence suggests important roles for KDAC in the control of glucose homeostasis (Mihaylova and Shaw, 2013), notably by regulating endocrine pancreatic development (Haumaitre et al., 2008; Lenoir et al., 2011), β -cell function and survival (Lundh et al., 2012; Plaisance et al., 2014). So far, little is known about the metabolic role of KAT, in particular KAT2B. In this study, we investigated the effect of germ-line and β -cell specific *Kat2b* deficiency on glucose homeostasis and insulin secretion. We find that loss of *Kat2b* causes insulin secretion defects and glucose intolerance. We further establish a direct link between *Kat2b*, UPR^{er} gene expression and insulin secretion. We also demonstrate that *KAT2B* expression is defective in T2D islets, providing a new and unsuspected crucial role for this acetyltransferase in UPR signaling, ER stress response and β -cell function during metabolic stress.

Results and discussion

Germ-line and β -cell specific *Kat2b* deficiency impairs glucose tolerance and insulin secretion in mice

To elucidate the role of KAT2B in glucose homeostasis, we first investigated the metabolic phenotype of *Kat2b*-deficient mice (*Kat2b* *-/-*) (Maurice et al., 2008; Yamauchi et al., 2000). Body weight and size of *Kat2b* *-/-* mice under a chow diet was reduced when compared to controls (see Figures S1A and S1B in the Supplemental data). The reduced body size was not due to decreased *Igf-1* expression in the liver nor its secretion (Figures S1C and S1D). The reduced body mass was associated with an elevation of glucose values (Figure 1A) and with a decrease in plasma insulin levels (Figure 1B). However, *Kat2b* *-/-* mice tended to

respond to intraperitoneal glucose tolerance tests (ipGTT, Figures 1C and 1D, $p=0.06$), despite decreased insulin secretion in response to glucose (Figure 1E), and to insulin (ipITT, Figure 1F). In contrast *Kat2b*^{-/-} mice fed a high fat diet (HFD) showed severe hyperglycemia and glucose intolerance with low circulating insulin levels in the fed state and after a glucose tolerance test despite moderate weight gain (Figures 1G to 1K and Figure S1E, $p<0.01$). Insulin resistance was, however, not affected in *Kat2b*^{-/-} mice on a HFD (Figure 1L).

We also found that KAT2B protein co-localizes with insulin in healthy rodent islets (Figure 1M and Figures S1F and S1G). We then investigated glucose-stimulated insulin secretion (GSIS) in isolated pancreatic islets from *Kat2b*^{-/-} mice and found a 56% reduction of GSIS (Figure 1N). This deleterious effect on GSIS was not due to effects on insulin content (Figure S1H) and was further confirmed in Min6 cells in which *Kat2b* expression was silenced using interfering RNAs (Figures S1I and S1J). Islets histology (Figure S1K), cell number and surface area (Figure 1O) were normal in chow fed *Kat2b*^{-/-} mice. However, in *Kat2b*^{-/-} mice on HFD, islet size was significantly reduced when compared to control mice (Figure 1O, $p<0.001$ and Figure S1K), with an increased proportion of small islets (Figure S1L). The ratio of α and β cells, the number of α and β cells per islet and circulating glucagon levels were similar in both diets (data not shown and Figures S1M, S1N, S1O and S1P). Under HFD only, a significant decrease in β -cell area was observed in *Kat2b*^{-/-} pancreata compared to controls (Figure 1P, $p<0.001$, and Figure S1M), suggesting that *Kat2b* is required for β -cell compensation in obesity and associated insulin resistance.

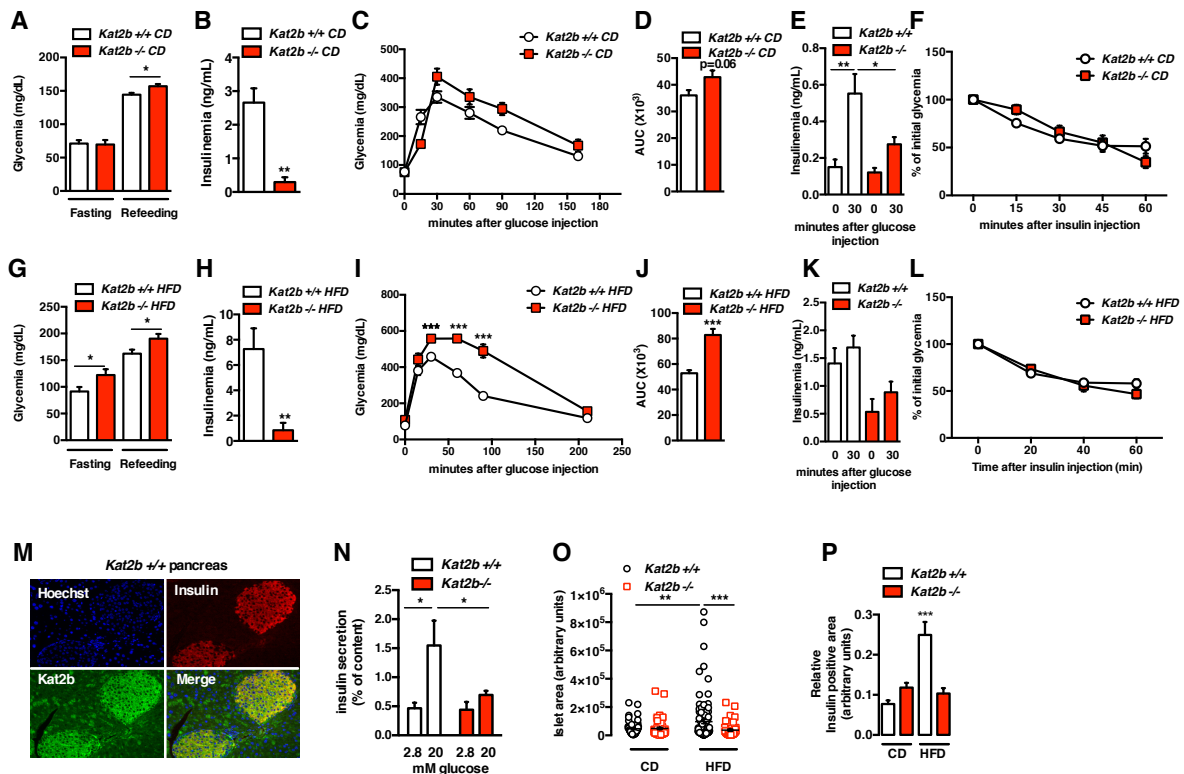


Figure 1. Loss of *Kat2b* in mice causes glucose intolerance and insulinopenia. (A) 16 hours fasting and refeed blood glucose levels and (B) refeed serum insulin levels of 12 weeks old control (*Kat2b*^{+/+}) and mutant (*Kat2b*^{-/-}) mice (*n* = 4-7). (C) ipGTT, (D) area under the curve (Yamauchi et al.) of ipGTT, (E) serum insulin levels at the indicated times after intraperitoneal injection of glucose and (F) ipITT measuring levels of glucose at the indicated times after intraperitoneal injection of insulin in mice fed normal chow (*n* = 6). (G) Fasting (overnight) and refeed blood glucose levels and (H) refeed serum insulin levels of *Kat2b*^{+/+} and *-/-* mice fed a HFD for 13 weeks (*n* = 7-10). Blood glucose levels during (I) ipGTT, (J) AUC of ipGTT under HFD, (K) serum insulin levels at the indicated times after intraperitoneal injection of glucose and (L) ipITT in mice fed a HFD (*n* = 7-10). (M) Immunofluorescence analysis of pancreatic sections showing co-expression of *Kat2b* (Gomez et al.) and insulin (red) in mouse pancreatic islets. Nuclei are stained with Hoechst reagent. (N) Insulin secretion from islets isolated from *Kat2b*^{+/+} (grey bars) and *-/-* (red bars) mice in the presence of 2.8 mM and 20 mM glucose. Results were normalized to total insulin content (*n* = 3). (O) Quantification of islet area in *Kat2b*^{+/+} and *-/-* pancreata fed normal chow or HFD (*n* = 5 animals/condition). All individual values are plotted on the graph. (P) Quantification of relative insulin positive area from *Kat2b*^{+/+} and *-/-* mice pancreatic sections fed chow and high fat diet. All values are expressed as means ± SEM; **p*<0.05, ***p*<0.01 and ****p*<0.001.

To further demonstrate the cell-autonomous function of *Kat2b* on insulin secretion, we generated β -cell specific *Kat2b* knockout mice by crossing *Kat2b*^{Lox/Lox} with RIP-Cre mice (Herrera, 2000) (hereafter referred as *Kat2b* ^{β -/-}, Figure S2A). *Kat2b* gene expression analysis on isolated islets demonstrated an efficient recombination upon β -cell specific Cre recombinase expression at the *Kat2b* locus (Figure 2A), but not in other metabolic organs including hypothalamus, liver or adipose tissues (Figure S2B). Body weight and fasting glucose levels were similar between all genotypes (Figures 2B and 2C, respectively). As

observed in the germ-line *Kat2b*^{-/-} mice, the β -cell specific deletion of *Kat2b* resulted in glucose intolerance (Figures 2D and 2E). The *Kat2b* ^{β -/-} mice had blunted insulin release 30 minutes after intra-peritoneal glucose administration (Figure 2F) but their systemic insulin sensitivity was preserved (Figure 2G). Challenging *Kat2b* ^{β -/-} mice with a high fat diet resulted in moderate body weight gain (Figure 2H) and normal fasting glucose levels (Figure 2I). However, *Kat2b* ^{β -/-} fed a HFD were glucose intolerant (Figures 2J and 2K), with defective insulin secretion after intra-peritoneal glucose administration (Figure 2L) but normal insulin sensitivity (Figure 2M). These results suggest that *Kat2b* modulates insulin secretion in a cell-autonomous manner and may contribute to β -cell compensation during metabolic stress.

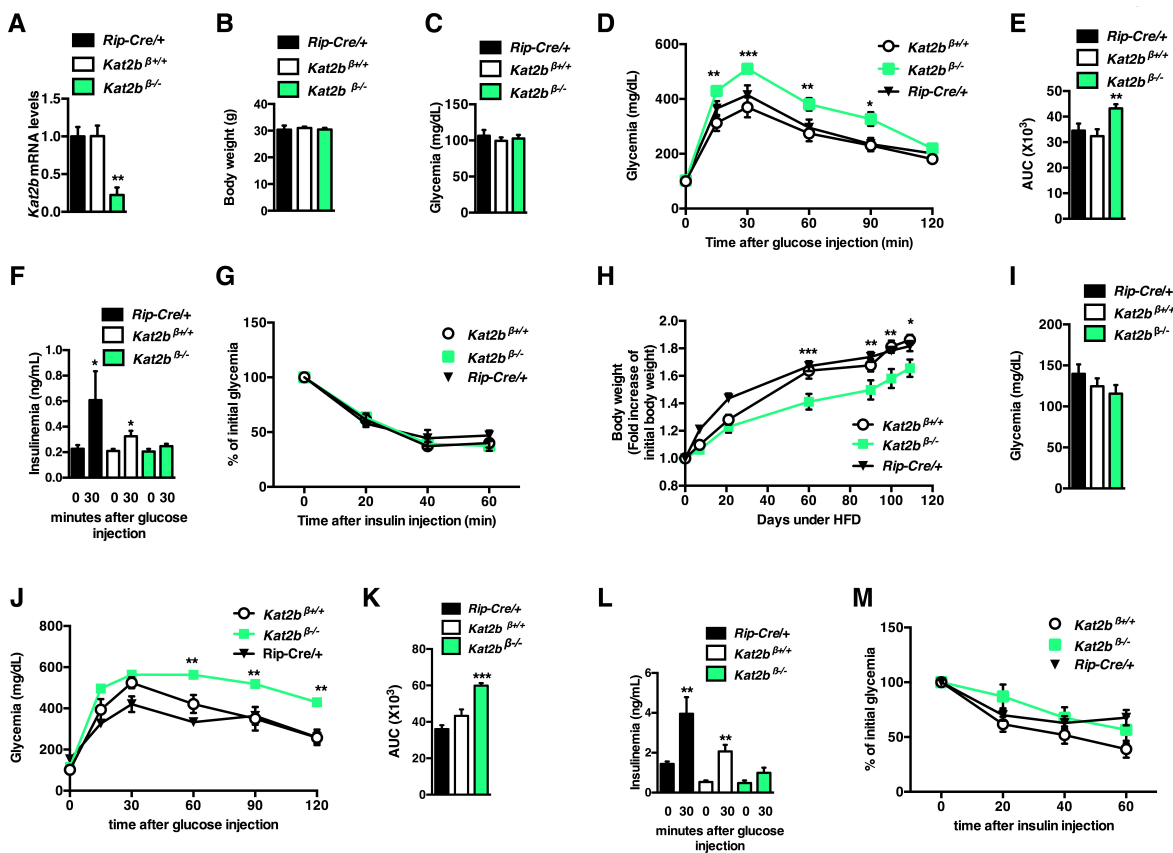


Figure 2. Impaired glucose tolerance in mice with a β -cell specific knockout of *Kat2b*. (A) Quantitative RT-PCR to measure *Kat2b* mRNA levels in islets isolated from control (*Rip-Cre/+* and *Kat2b* ^{β +/+}) and β -cell specific mutant (*Kat2b* ^{β -/-}) mice. (B, C) Body weight (B, $n=9-14$) and 16 hours fasting blood glucose levels (C, $n=11$) in *Rip-Cre/+*, *Kat2b* ^{β +/+} and *Kat2b* ^{β -/-} mice. (D-F) (D) ipGTT measuring the levels of glucose, (E) the corresponding AUC and (F) insulin at the indicated times after intraperitoneal injection of glucose in 5 months old *Rip-Cre/+* (black triangles and bars, $n=11$), *Kat2b* ^{β +/+} (white circles and bars, $n=11$) and *Kat2b* ^{β -/-} (green squares, and bars $n = 11$). (G) ipITT measuring levels of glucose at the indicated times after intraperitoneal injection of insulin in mice fed normal chow ($n = 11$). (H) Body weight gain under high fat diet feeding of *Rip-Cre/+* ($n=8$), *Kat2b* ^{β +/+} ($n=6$) and *Kat2b* ^{β -/-} ($n = 10$). (I) 16 hours fasting blood glucose levels in *Rip-Cre/+* ($n=4$), *Kat2b* ^{β +/+} ($n=10$) and *Kat2b* ^{β -/-} ($n=11$) mice fed a HFD for 16 weeks. (J-M) (J) ipGTT measuring the levels of glucose, (K) the corresponding AUC and (L) serum insulin at the indicated times after intraperitoneal

injection of glucose in *Rip-Cre/+* (black triangles and bars, $n=11$), *Kat2b* ^{β +/+} (white circles and bars, $n=11$) and *Kat2b* ^{β -/-} (green squares and bars, $n = 11$) mice fed a HFD for 16 weeks. **(M)** ipITT measuring levels of glucose at the indicated times after intraperitoneal injection of insulin in mice fed a HFD ($n = 6-11$). All values are expressed as mean \pm SEM. * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$ and *** $p < 0.001$.

Kat2b directly regulates an UPR^{er} gene program necessary for proper insulin secretion

KAT2B directly regulates insulin gene expression in response to glucose through the acetylation of histone H4 (Sampley and Ozcan, 2012). However, isolated islets from *Kat2b*^{+/+} and *-/-* mice showed no difference in mRNA levels of key genes involved in insulin synthesis (*Ins1*, *Ins2*, *Pdx1*, *Mafa*), maturation (*Pcsk1*, *Pcsk2*, *Cpe*) or secretion (*Slc30a8*, *Kcnj11*, *Abcc8*, *ChgA*, Figure S3A). As *Kat2b* is a transcriptional coregulator (Nagy and Tora, 2007) we performed chromatin immunoprecipitation sequencing (ChIP-seq) in murine isolated islets and showed that DNA motifs present in regions bound by *Kat2b* were those recognized by several transcription factors including Pax4, Creb1, Atf4, Atf6, Ddit3 (Chop) and Xbp1 (Table S1). Gene ontology (GO) analysis revealed an enrichment of sequences bound by *Kat2b* involved in cellular process, biological regulation, signaling or cellular response to stimulus, as expected for a transcriptional coregulator (Table S2). Interestingly GO analysis also revealed that several *Kat2b* target genes were involved in ER functions ($p=6.4 \times 10^{-13}$), ER stress response ($p=0.0027$) and UPR^{er} signaling ($p=0.039$, Table S2). Since altered expression of these genes impairs insulin secretion and β -cell function (Back and Kaufman, 2012), we focussed our analysis on UPR^{er} pathways. Consistently, *Kat2b* occupies the promoters of several genes controlling UPR^{er} activity, including *Xbp1*, *Hspa5* (*BiP*), *Atf4* and *Atf6* (Table S3 and Figure S3B).

As ER homeostasis is critical for maintaining β -cell function (Fonseca et al., 2011), we investigated how impaired UPR^{er} regulation in *Kat2b*^{-/-} islets led to defective insulin secretion. It was shown previously that treatments with chemical chaperones, such as taurine-conjugated ursodeoxycholic acid (TUDCA) and 4-phenyl butyric acid (4-PBA), alleviate ER stress and prevent glucose-induced β -cell dysfunction (Tang et al., 2012). Treatment with both TUDCA and 4-PBA partially rescued GSIS in isolated pancreatic *Kat2b*^{-/-} islets (Figure 3A), suggesting that UPR dysfunction could be responsible for insulin secretion defects. In *Kat2b* silenced Min6 cells, treatment with both molecules also restored GSIS (Figure 3B). In accordance with ChIP-seq data, the expression of UPR^{er} genes was decreased in isolated *Kat2b*^{-/-} islets (Figure 3C). This effect was further observed in *Kat2b*^{-/-} mice fed with HFD (Figure 3D), concomitantly with associated decreased expression of key β -cell genes such as *Mafa*, *Ins2* and *Cpe* (Figure S3C). Decreased expression of several

UPR^{er} genes was confirmed in *Kat2b*^{β-/-} islets (Figure 3E). *Kat2b* silencing in Min6 cells further showed UPR^{er} pathway impairment (Figure S3D) and decreased expression of β-cell genes (Figure S3E). Therefore, these findings suggest that *Kat2b* is an upstream transcriptional regulator of UPR^{er} markers in murine pancreatic islets and Min6 insulinoma cells.

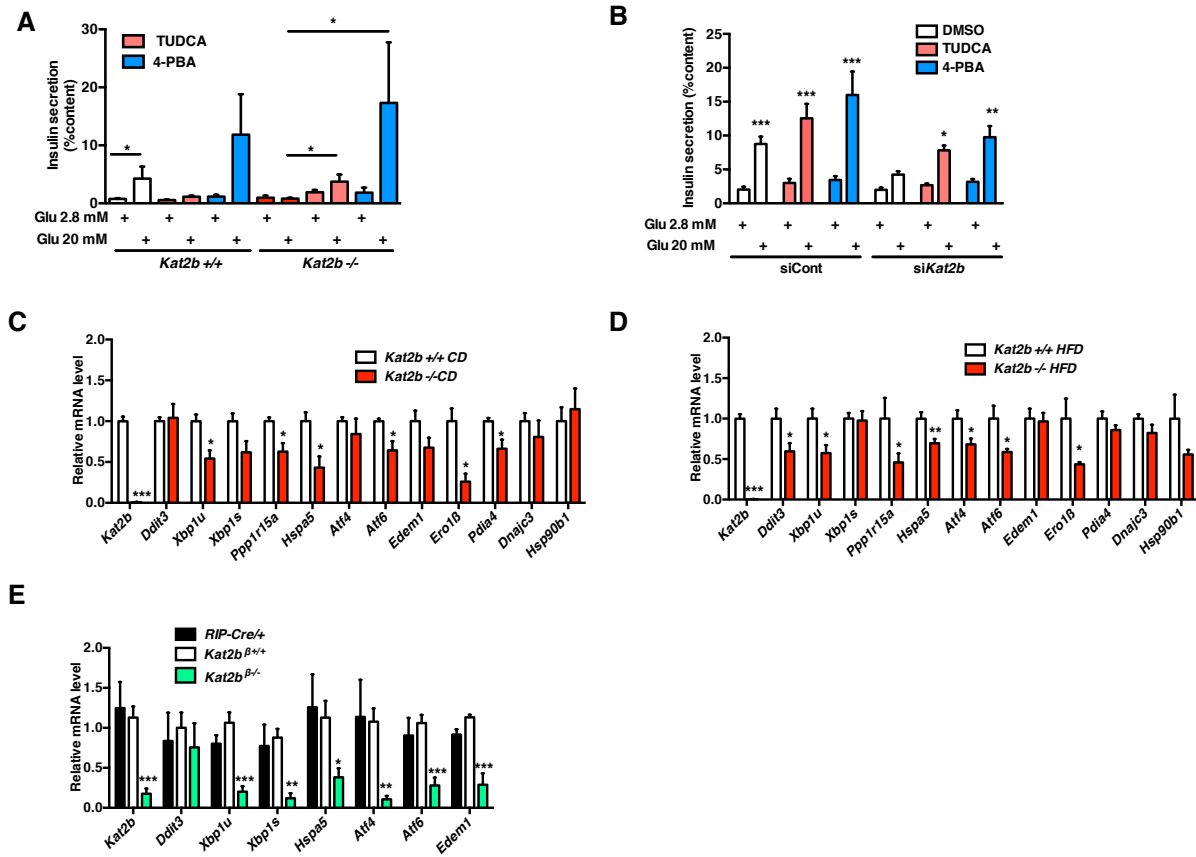


Figure 3: Modulation of UPR^{er} signaling in murine *Kat2b*^{-/-} β cells is required for insulin secretion. (A) Effects of TUDCA and 4-PBA treatments on glucose-stimulated insulin secretion from *Kat2b*^{+/+} and *-/-* isolated islets (n=3). (B) Effects of TUDCA and 4-PBA treatments on glucose-stimulated insulin secretion from control (siCont) and *Kat2b* silencing (si*Kat2b*) in Min6 cells. (C-D) mRNA levels of UPR^{er} genes in islets isolated from *Kat2b*^{+/+} and *-/-* mice fed (C) chow or (D) high fat diet (n = 4-5). (E) mRNA levels of UPR^{er} genes in islets isolated from *Rip-Cre*^{+/+}, *Kat2b*^{β+/+} and *Kat2b*^{β-/-} mice fed chow (n=3).

Germ-line or β-cell specific *Atf6*-deficient (*Atf6*^{β-/-}) mice have decreased insulin secretion (Engin et al., 2014; Usui et al., 2012). The striking similarity between the *Kat2b*^{-/-} mice and the *Atf6*-deficient mice prompted us to focus on the regulation of the *Atf6* gene by *Kat2b*. In agreement with our ChIP-seq and qPCR data, *Atf6* protein levels were decreased in *Kat2b*^{-/-} isolated islets (Figures 4A to 4D). Luciferase-based reporter studies confirmed that KAT2B potentiates the promoter activity of the *Atf6* gene construct in Min6 cells (Figure 4E). This transcriptional effect was dependent on the *Kat2b* acetyltransferase activity, as

demonstrated by the use of a KAT2B construct with a deleted HAT domain (Figure 4E). Importantly, rescue of *Atf6* expression in *Kat2b*^{-/-} islets (Figures 4F and S4A) and in *Kat2b* silenced Min6 cells (Figures 4G and S4B) restored glucose-stimulated insulin secretion in these cells, demonstrating that *Atf6* mediated the observed effects of *Kat2b* on insulin secretion. To evaluate the contribution of *Kat2b* in ER stress response, we treated Min6 cells with the ER stress inducer thapsigargin. This treatment had no effect on *Kat2b* mRNA levels (Figure 4H), but rapidly increased *Kat2b* protein levels in Min6 treated-cells (Figures 4I and 4J), suggesting a post-translational effect. This effect was further confirmed by using lower doses of TG (Figure S4C) or with the lipotoxic agent palmitate (Figure S4D). In contrast to *Kat2b*, thapsigargin increased *Atf6* mRNA levels (Figure 4K). This induction was lowered upon *Kat2b* silencing, suggesting that *Kat2b* may contribute to *Atf6* regulation under stress conditions (Figure 4K). ChIP-qPCR in Min6 cells confirmed *Kat2b* binding on the *Atf6* promoter (Figure 4L). Moreover, recruitment of *Kat2b* on the *Atf6* promoter was increased in the presence of thapsigargin (Figure 4L). To further explore the contribution of *Kat2b* in UPR^{er} signaling, *Kat2b* silenced Min6 cells were treated with TG and activation of this pathway was explored. Silencing of *Kat2b* in Min6 cells decreased protein levels of total PERK, phosphorylated PERK, Hspa5, phosphorylated IRE1a and its target spliced Xbp1 and *Atf6* upon TG treatment (Figure 4M). Altogether, these data suggest that *Kat2b* is a transcriptional cofactor controlling several branches of UPR^{er} pathway, including *Atf6* expression, under both basal and stress conditions.

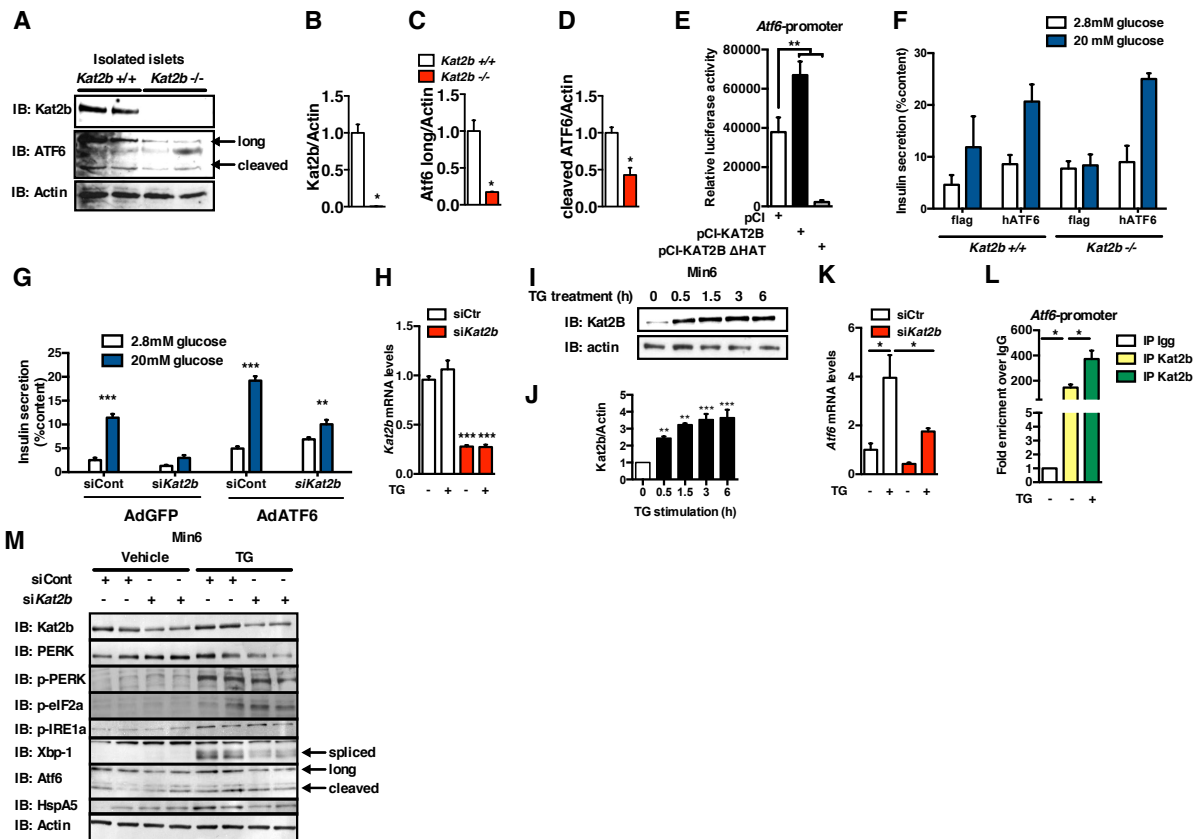


Figure 4: Kat2b controls several branches of the UPR^{er} signaling in insulin producing cells. (A-D) Western blot assay (A) and quantification (B-D) showing Kat2b, Atf6 and Actin expression in *Kat2b*^{+/+} and *-/-* isolated islets. (E) Min6 cells were transiently co-transfected with the Atf6 promoter luciferase construct in the absence (pCI) or presence of Kat2b (pCI-Kat2b) and catalytically-inactive KAT mutant (pCI-Kat2b_DHAT). Results were normalized to β -galactosidase activity. (F) Insulin secretion from *Kat2b*^{+/+} and *-/-* isolated islets transfected with pCDNA3-Flag (Flag) or pCDNA3-hATF6-Flag (hATF6). Results were normalized to insulin content. (G) Glucose-stimulated insulin secretion from control (*siCont*) and *Kat2b* silencing (*siKat2b*) in Min6 cells transduced with a control adenovirus (AdGFP) or encoding human ATF6 (AdATF6). (H) mRNA levels of *Kat2b* in Min6 cells transfected with control (*siCont*) or *Kat2b* siRNA (*siKat2b*) and treated with vehicle (-) or thapsigargin (TG). (I-J) Western blot assay (I) and quantification (J) showing increased Kat2b protein levels after TG at different time points. Actin was used as a loading control. Quantification was performed using ImageJ software. (K) mRNA levels of *Atf6* in Min6 cells transfected with control (*siCont*) or *Kat2b* siRNA (*siKat2b*) and treated with vehicle (-) or thapsigargin (TG). (L) ChIP-qPCR demonstrating binding of Kat2b to the *Atf6* promoter in Min6 cells under basal and ER stress (TG) conditions. (M) Western blot assay showing protein levels of several UPR^{er} markers in control (*siCont*) or *Kat2b* silenced (*siKat2b*) Min6 cells treated or not with TG. Data are shown as mean \pm SEM. **p* < 0.05; ** *p* < 0.01 and *** *p* < 0.001.

Decreased Kat2b expression in rodent and human T2D islets

We then quantified Kat2b expression in rodents and human diabetic islets. Kat2b expression was strongly reduced in 20 weeks old *db/db* pancreatic islets compared to non-diabetic *db/+* mice (Figures 5A and 5B). Immunofluorescence assays on formalin-fixed human pancreatic sections showed that insulin producing β cells and non- β cells expressed

KAT2B (Figure 5C). Islet transcriptomics analysis in T2D subjects from two independent datasets demonstrated a significant decrease of *KAT2B* mRNA levels compared to normal glycemic controls (GSE20966 (Marselli et al., 2010) and GSE38642 (Taneera et al., 2012), Figure 5D and 5E, respectively). Moreover, *KAT2B* expression in human islets was inversely correlated with the long term glucose control marker glycated hemoglobin A1c (HbA1c; Figure 5F). Analyzing fresh human islets isolated from four T2D donors and four normoglycemic subjects (table S4 for donor information), we confirmed that *KAT2B* expression was decreased in T2D (Figure 5G). Some UPR^{er} pathways are defective in human T2D islets (Engin et al., 2014; Kennedy et al., 2010). In this respect, both *KAT2B* expression, *ABCC8*, *SLC30A8*, *CPE* and *PDX1*, and UPR^{er} genes *DDIT3* (*CHOP*), *HERPUD2*, *HSP90B1* (*GRP94*), *EDEM1*, *DNAJC3* (*p58IPK*) were concomitantly decreased in T2D islets (Figure 5H). In human islets, *KAT2B* and the expression of genes controlling UPR^{er} and β -cell functions were positively correlated (Figure 5I). Moreover, *KAT2B*, UPR^{er} and β -cell function genes are part of the same gene cluster (Figure 5J). Interestingly, analysis of ChIP-seq data from ENCODE (<http://genome.ucsc.edu/ENCODE/>) showed that *KAT2B* binds to numerous UPR^{er} genes in human cell lines including *ATF6*, *XBP1*, *ATF4*, *HSPA5*, *DDIT3* and *HERPUD2* (Figures S5 to S7). FAIRE- (Giresi et al., 2007) and DNase-seq (Crawford et al., 2006) data further revealed that these UPR^{er} chromatin regions were associated with regulatory activities in pancreatic human islets (Figures S5 to S7). In combination, these results strongly support the existence of a link between *KAT2B* and UPR^{er} gene expression in human islets and correlate defective *KAT2B* expression to T2D status in human pancreatic islets.

Our results suggest that *KAT2B* is likely to be a new and important mediator of insulin secretion and β -cell adaptation during metabolic stress. Indeed, both germ-line and β -cell specific deletion of *Kat2b* in the mouse induces glucose intolerance and defective insulin secretion. Our data from rodent models suggest that *Kat2b* directly regulates UPR^{er} gene expression. In human islets, there is a robust association between the expression of this lysine acetyltransferase and crucial genes involved in insulin secretion and in β -cell adaptive responses. By regulating UPR^{er} signaling pathways, *KAT2B* can be considered as a critical transcriptional regulator of β -cell function, especially after metabolic stress (Figure 5K). The decrease of *KAT2B* expression in T2D islets and the inverse correlation with HbA1C levels, further suggests a potential role for *KAT2B* during the onset of T2D.

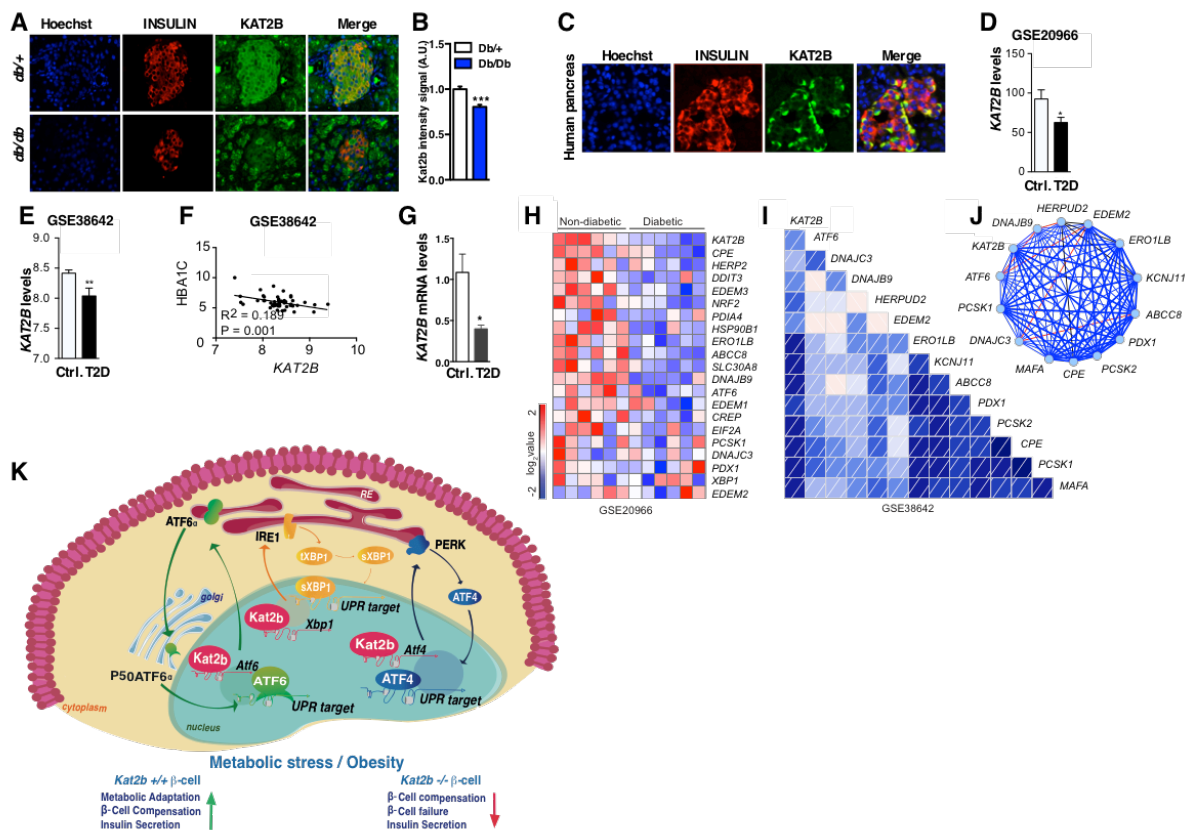


Figure 5. *Kat2b* expression is decreased in *db/db* and human T2D islets. (A-B) Immunofluorescence microscopy analysis (A) and quantification (B) of pancreatic sections from 20 weeks old control (*db/+*) and obese diabetic (*db/db*) mice showing expression of Insulin and *Kat2b*. Analysis was performed on 5 animals of each genotype and representative images are shown. (C) Immunostaining of pancreas sections demonstrating *Kat2b* expression in normal human b-cells (insulin, red) and non b-cells. (D-E) Correlation between *Kat2b* and T2D in humans. *Kat2b* expression is down regulated in pancreatic islets isolated from T2D patients. Analyses in (D) are based on human dataset GSE20966. The decreased expression of *Kat2b* in diabetic patients is confirmed in another independent human dataset (E, GSE38642). (F) The expression levels of *Kat2b* are negatively correlated with Hba1C, a marker of T2D. Analyses are based on human dataset GSE38642. (G) *Kat2b* mRNA levels in control and T2D human islets ($n = 4$). (H) Custom gene-set analysis showing enrichment of ER stress and insulin production related transcripts down regulation in diabetic patients in human data set GSE20966. (I-J) To evaluate a possible link between *Kat2b* expression and key ER stress regulators and factors regulating insulin production, a correlation analysis with gene expression data from human pancreatic islets was performed using Pearson correlation coefficient. The positive correlation coefficient obtained allows us to establish a correlation matrix (I) and interaction network (J) showing correlations between *Kat2b* and genes involved in ER stress and insulin production. Positive and statistically significant Pearson’s correlation coefficients are represented by blue edges, while negative coefficients are represented by red ($r = 0.5–1.0$). (K) A schematic model summarizing the role of *Kat2b* in b cell during obesity and metabolic stress and its role on UPR^{er} regulation. Values in (B), (D), (E) and (G) are expressed as means \pm SEM ; * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ and *** $p < 0.001$.

During obesity, β cells need to adapt their insulin secretory capacity in response to nutrient over-load by progressively expanding their islet cell mass (Weir and Bonner-Weir, 2004). Under diabetogenic conditions *Kat2b* $-/-$ mice are unable to compensate (Fig. 1).

However, *ob/ob* mice and the hyperglycemic *db/db* mice display differential regulation to the adaptive UPR^{er} (Chan et al., 2013). These observations that Kat2b levels are decreased in the β cells of *Db/Db* mice suggest a novel molecular mechanism linking defective glucose homeostasis and UPR^{er} in these mice.

In conclusion, our study suggests that Kat2b contributes to maintain efficient UPR^{er} expression in β cells to ensure an efficient adaptive response to stressful conditions, such as obesity and metabolic stress. Therefore, it is our expectation that the evidence presented here will guide the rationale design of future therapeutic strategies by incorporating KAT2B targeted drugs against T2D and related disorders such as obesity.

Experimental Procedures

Materials and Oligonucleotides. Chemicals, unless stated otherwise, were purchased from Sigma-Aldrich. Anti-INS (ab7842), anti-ATF6 (ab11909), anti-KAT2B (ab96510 for immunofluorescence, ab12188 for ChIP), Igg (ab37415 ChIP grade) antibodies were from Abcam, anti-KAT2B (sc-13124 for western blot), anti-actin antibodies, anti-Xbp-1 were from Santa Cruz Biotechnologies, anti-glucagon was from Sigma-Aldrich. Anti-PERK, phospho-PERK, phospho-eIF2a, phospho-IRE1a, anti-Hspa5 were from Cell Signaling. The oligonucleotides sequences used for various experiments are listed in Table S5. Plasmids with *Kat2b* cDNA were kindly provided by Drs L.K Linares and C. Gongora, ATF6-pGL3 construct was kindly provided by Pr Yoshida. Adenovirus encoding human ATF-6 were described elsewhere (Sharma et al., 2015).

Animals Experiments. Mice were maintained according to European Union guidelines for use of laboratory animals. *In vivo* experiments were performed in compliance with the French ethical guidelines for studies on experimental animal (Animal house agreement no. A 59-35015, Authorization for Animal Experimentation no.59-350294, project approval by our local ethical comity no. CEEA 482012). Germ-line *Kat2b* deficient-mice were previously described (Duclot et al., 2010) and experiments were performed on CD1 strains. All experiments were performed with male mice. Mice were housed under a 12hr light-dark cycle and given a regular chow (A04;Safe). For HFD studies, 5 week-old mice were placed on D12492 diet (60% cal/fat; Research Diet Inc.) for 13 weeks. Metabolic phenotyping experiments were performed according to the EMPRESS protocols. Intraperitoneal glucose and insulin tolerance tests were performed as previously described (Annicotte et al., 2009) on 16-hr-fasted animals for IPGTT and 5-hr-fasted animals for ITT. Glycemia was measured using the Accu-Check Performa (Roche Diagnostics). Circulating insulin levels were measured using the Ultrasensitive Insulin Elisa kit (Mercodia). Circulating Igf-1 levels were measured on fed animals using the Igf-1 Elisa kit (Sigma-Aldrich).

Kat2b floxed (*Kat2b*^{L2/L2}) mice were generated by homologous recombination in 129Sv embryonic stem (ES) cells according to standard procedures (Argmann et al., 2005). The karyotype was verified and several correctly targeted ES cell clones were injected into blastocysts from C57BL/6J mice. These blastocysts were transferred into pseudopregnant females, resulting in chimeric offspring that were mated to female C57BL/6J mice that express the *Flp* recombinase under the control of the ubiquitous cytomegalovirus promoter (Rodriguez et al., 2000). Offspring that transmitted the mutated allele, in which the selection

marker was excised, and that lost the *Flp* transgene (*Kat2b*^{L2/WT} mice) were selected and backcrossed for over 10 generations with C57BL/6J mice. The congenic mice carrying the floxed *Kat2b* allele were thereafter mated with rat insulin II promoter (RIP)-Cre mice (Herrera, 2000), and then further intercrossed to generate pure mutant *RIPcre*^{Tg/0}/*Kat2b*^{L2/L2} mice. A PCR genotyping strategy was subsequently used to identify *RIPcre*^{Tg/0}/*Kat2b*^{+/+}, *RIPcre*^{Tg/0}/*Kat2b*^{L2/L2} and *RIPcre*^{0/0}/*Kat2b*^{L2/L2} mice. For HFD studies, 5 week-old mice were placed on D12492 diet (60% cal/fat; Research Diet Inc.) for 16 weeks.

Immunofluorescence (IF), Immunohistochemistry (IHC) and Morphometry. IF and IHC were performed exactly as described previously (Annicotte et al., 2009; Blanchet et al., 2011). Pancreatic tissues were fixed in 10% formalin, embedded in paraffin and sectioned at 5µm. H&E staining was performed using classical protocols. For immunofluorescence microscopy analyses, after antigen retrieval using citrate buffer, 5-µm formalin-fixed pancreatic sections were incubated with the indicated antibodies. Immunofluorescence stainings were revealed using a FITC-conjugated anti-rabbit (for *Kat2b*; Life Technologies) or anti-guinea pig (for insulin co-staining with glucagon), alexa-conjugated anti-mouse (for glucagon) or anti-guinea pig (for insulin co-staining with *Kat2b*) secondary antibodies. Nuclei were stained with Hoechst. For morphometric analysis, 3 to 10 animals from each genotype were analyzed and images were processed and quantified using ImageJ software by an observer blinded to experimental groups. Human pancreatic sections were obtained from Biochain.

Pancreatic Islet Studies. Human pancreatic tissue was harvested from brain-dead non diabetic and T2D adult human donors (Table S4). Isolation and islet culture were performed as described (Kerr-Conte et al., 2010). For mouse islet studies, pancreata were digested by type V collagenase (C9263, 1.5mg.ml⁻¹) for 20 minutes at 37°C as described previously (Annicotte et al., 2009). Briefly, after digestion and separation in a density gradient medium, islets were purified by handpicking under a microscope. For insulin secretion tests, approximately 10 islets were exposed to either 2.8mM or 20mM glucose in Krebs-Ringer bicarbonate Hepes buffer containing 0.5% free fatty acid free BSA. Insulin released in the medium was measured 1hr later using the Ultrasensitive Insulin Elisa kit. Data are expressed as a ratio of total insulin content. For mRNA and protein quantification, islets were isolated as described above and snap-frozen for further processing. For ATF-6 rescue experiments, isolated islets were transfected as described previously (Annicotte et al., 2009).

Cell Culture, Transfections, Adenoviral Transduction and Treatments. Min6 cells were cultured in DMEM (GIBCO) with 15% FBS, 100 µg/ml penicillin-streptomycin and 55 µM

beta-mercaptoethanol. Cells were transfected with siRNA targeting mouse *Kat2b* ON-TARGETplus™ SMARTpool (Thermoscientific) and mouse non-targeting negative controls using Dharmafect1 (GE Dharmacon). Mouse islets and Min6 cells were treated as described previously (Wali et al., 2014) with TUDCA (0.5mM) and 4-PBA (2.5 mM) for 48 hours and were subjected to GSIS. Min6 cells were treated with thapsigargin (0.5 to 2.5 μ M, Sigma) to induce ER stress and with BSA-conjugated palmitate (1.5mM) for 24 hours. Transient transfection was performed using Lipofectamine 2000® (Life Technologies) following manufacturer's instructions. Luciferase assays were performed 48 hours post transfection and normalized to β Galactosidase activity. For rescue experiments using adenoviral infection, Min6 cells were transduced at a multiplicity of infection of 50 for 4 hours, cells were then washed and cultured for 48 hours before GSIS tests. Experimental data as presented are means of at least 3 independent experimental experiments.

ChIP and ChIP-sequencing. ChIP-qPCR assays were performed as described previously (Annicotte et al., 2009). Briefly, proteins from Min6 cells were formaldehyde crosslinked to DNA. After homogenization, lysis and DNA sonication, proteins were then immunoprecipitated using purified IgG or anti-KAT2B antibodies. After washing, DNA-protein complexes were eluted and crosslinking was reversed by heating the samples at 65 °C for 16 h. DNA was then purified using Macherey-Nagel NucleoSpin® Gel and PCR purification kit and ChIP-qPCR were performed using promoter-specific primers. All ChIPs and qPCRs were repeated three times.

ChIP assays were performed in triplicates on approximately 600 mouse isolated islets using True MicroChIP kit (Diagenode) following manufacturer's protocol. ChIP-seq libraries were prepared using NEBNext-Ultra kits (New England Biolabs) following manufacturer's instructions. DNA libraries were quantified by Qubit (Invitrogen) and were sequenced using a HiSeq1500 instrument in single end 50pb reads (illumina).

ChIP-seq data analysis. ChIP-seq was performed in triplicate. Short DNA reads were aligned against the mouse mm9 reference genome using Bowtie 2 (Langmead and Salzberg, 2012). Only unique aligned reads were analysed. The mapped replicates were merged and chromatin binding sites were identified using model-based analysis of ChIP-seq (MACS) (Zhang et al., 2008). Input DNA was used as a control and parameters recommended for analysis of ChIP-seq data were applied (Feng et al., 2011). ChIP-seq experiments were visualized with the UCSC Genome browser as described elsewhere (Robertson et al., 2007). Peaks summits were annotated to gene products by identifying the nearest RefSeq TSS using Peak2gene. Public functional genomics data used in this study were downloaded from

the Gene Expression Omnibus (GEO) and are listed in Table S6. Human ChIP-seq data were obtained from ENCODE and were visualized using the UCSC Genome browser as described above.

RNA extraction, Measurements and Profiling. Total RNA was extracted from cells and tissues using trizol reagent (Life Technologies) as described previously (Annicotte et al., 2009; Blanchet et al., 2012). mRNA expression was measured after reverse transcription by quantitative real-time PCR (qRT-PCR) with FastStart SYBR Green master mix (Roche) according to the manufacturer's recommendations and gene-specific oligonucleotides. Mouse qRT-PCR results were normalized to endogenous cyclophilin reference mRNA levels, and human results were normalized to TATA box binding protein (*TBP*). The results are expressed as the relative mRNA level of a specific gene expression using the formula $2^{-\Delta Ct}$.

Protein extracts and immunoblot analysis. Immunoblot was performed as described previously (Blanchet et al., 2012). Briefly Cells were washed using cold PBS and lysis was performed by using 50 mM Tris-HCl pH 8, 137 mM NaCl, 10% glycerol, 1% NP-40 and phosphatase, protease, deacetylase inhibitors (Sigma-Aldrich) on ice. Western blotting were performed using 30 μ g of proteins loaded on SDS-PAGE precast gel (Biorad). After electrotransfer the membrane was blocked for 1 h at room temperature with 5% nonfat milk in 0.1% Tween-Tris-buffered saline (TTBS) buffer. Membranes were then incubated overnight at 4°C with primary antibodies as indicated in blocking buffer containing 5% nonfat milk at the dilution specified by the manufacturers. Membranes were then incubated with the secondary antibody conjugated with the enzyme horseradish peroxidase. The visualization of immunoreactive bands was performed using the enhanced chemiluminescence plus Western blotting detection system (GE Healthcare). Quantification of protein signal intensity were performed by volume densitometry using the ImageJ 1.47t software (National Institutes of Health).

Human islet expression data and correlation studies. To identify transcriptomic data sets from human pancreatic islets, Gene Expression Omnibus (GEO) analysis from NCBI was performed using "human islet T2D" as keywords and filtered with "Datasets". Three data sets were obtained and two were selected based on the highest number of samples (GSE38642, (Taneera et al., 2012) and GSE20966, (Marselli et al., 2010)). Data sets were downloaded from the GEO and were analyzed with Gene Set Enrichment Analysis (GSEA, <http://www.broadinstitute.org/gsea>) as described previously (Ryu et al., 2014). Correlation studies were based on Pearson's correlation coefficient and represented using R.

Statistical Analysis. Data are presented as mean \pm SEM. Statistical analyses were performed using unpaired two-tailed Student's t-test, one-way ANOVA with last significant difference Bonferroni post hoc test or two-way ANOVA with Bonferroni post hoc tests as appropriate using GraphPad Prism software. Differences were considered statistically significant at $p < 0.05$ (* $p < 0.05$; ** $p < 0.01$ and *** $p < 0.001$).

Author Contributions

N.R. performed most of the experiments. P-P.D., X.G., E.S., S.A.H., E.D., A.B., C.C. and C.B. contributed to the in vivo and genomic experiments. N.R., H.Z. and O.S. performed bioinformatical analysis. L.Y. supervised statistical analyses. J.K.C. performed human islet isolation from control and T2D donors. A.A., J.A., L.F. and P.F. contributed to study design, provided reagents and data, discussed and interpreted the results from the study. J.A. and L.F. edited the manuscript. J-S.A. designed the study, supervised the project and contributed to experiments. N.R., A.A., P.F and J-S.A. wrote the manuscript.

Acknowledgments

We thank Dr. Céline Gongora for providing us with the *Kat2b* $-/-$ mice and Pr. Pedro Herrera for the Rip-Cre mice. We acknowledge Pr. Laurie H. Glimcher, Pr. Kenichi Yoshida and Pr. Hiderou Yoshida for sharing UPR^{er} plasmids. We thank Dr. Laura C. Alonso for providing us with the hATF-6 adenovirus. We thank members of UMR 8199 for technical assistance, in particular Carine de Bettignies, Laure Rolland, Audrey Leloire and Emmanuel Vaillant for excellent technical assistance. We acknowledge Pr. François Pattou for critical reading of the manuscript. The authors thank the High Technology animal facility of IMPRT-IFR 114, especially Yann Lepage, Ludovic Mercier, Kelly Timmerman, Mélanie Besegher and Delphine Taillieu for animal care. We acknowledge Dr. Emilie Caron for helpful discussions. We thank the Department of Histology from the Lille Medicine Faculty, in particular M.H. Gevaert and R.M. Siminski, for histological preparations. We are indebted to the RHEM network (Réseau d'Histologie Expérimentale de Montpellier, IFR122, France) for histology and, in particular, for tissue and slide preparations. This work was supported by grants from « European Genomic Institute for Diabetes » (E.G.I.D, ANR-10-LABX-46 to A.A., P.F. and J-S. A.), European Commission, European Research Council (GEPIDIAB 294785 to P.F.), INSERM, CNRS, Association pour la Recherche sur le Diabète (to J-S.A.), Lille2 University (to N.R., X.G., E.S. and J-S.A.), Conseil Régional Nord-Pas de Calais and Métropole Européenne de Lille (to N.R., X.G. and J-S.A.), F.E.D.E.R. (Fonds Européen de Développement Régional, to N.R., P.F., J-S.A.) and Société Francophone du Diabète/Servier

(to S.A.H. and J-S.A), the Ecole Polytechnique Fédérale de Lausanne (to J.A.), the National Institutes of Health (R01AG043930 to J.A.), Krebsforschung Schweiz (KFS-3082-02-2013 to J.A.), Systems X (SySX.ch 2013/153 to J.A.) and SNSF (31003A-140780 to J.A.). H.Z. is supported by a fellowship of Carigest and J.A. is the Nestlé Chair in Energy Metabolism

The authors declare that there is no conflict of interests regarding the publication of this article.

References

- Annicotte, J.S., Blanchet, E., Chavey, C., Iankova, I., Costes, S., Assou, S., Teyssier, J., Dalle, S., Sardet, C., and Fajas, L. (2009). The CDK4-pRB-E2F1 pathway controls insulin secretion. *Nat Cell Biol* *11*, 1017-1023.
- Argmann, C.A., Chambon, P., and Auwerx, J. (2005). Mouse phenogenomics: the fast track to "systems metabolism". *Cell Metab* *2*, 349-360.
- Back, S.H., and Kaufman, R.J. (2012). Endoplasmic reticulum stress and type 2 diabetes. *Annu Rev Biochem* *81*, 767-793.
- Blanchet, E., Annicotte, J.-S., Lagarrigue, S., Aguilar, V., Clapé, C., Chavey, C., Fritz, V., Casas, F., Apparailly, F., Auwerx, J., et al. (2011). E2F transcription factor-1 regulates oxidative metabolism. *Nature cell biology* *13*, 1146-1152.
- Blanchet, E., Annicotte, J.S., Pradelli, L.A., Hugon, G., Matecki, S., Mornet, D., Rivier, F., and Fajas, L. (2012). E2F transcription factor-1 deficiency reduces pathophysiology in the mouse model of Duchenne muscular dystrophy through increased muscle oxidative metabolism. *Hum Mol Genet* *21*, 3910-3917.
- Chan, J.Y., Luzuriaga, J., Bensellam, M., Biden, T.J., and Laybutt, D.R. (2013). Failure of the adaptive unfolded protein response in islets of obese mice is linked with abnormalities in beta-cell gene expression and progression to diabetes. *Diabetes* *62*, 1557-1568.
- Cnop, M., Fougère, F., and Velloso, L.A. (2012). Endoplasmic reticulum stress, obesity and diabetes. *Trends Mol Med* *18*, 59-68.
- Crawford, G.E., Holt, I.E., Whittle, J., Webb, B.D., Tai, D., Davis, S., Margulies, E.H., Chen, Y., Bernat, J.A., Ginsburg, D., et al. (2006). Genome-wide mapping of DNase hypersensitive sites using massively parallel signature sequencing (MPSS). *Genome Res* *16*, 123-131.
- Duclot, F., Meffre, J., Jacquet, C., Gongora, C., and Maurice, T. (2010). Mice knock out for the histone acetyltransferase p300/CREB binding protein-associated factor develop a resistance to amyloid toxicity. *Neuroscience* *167*, 850-863.
- Eizirik, D.L., and Cnop, M. (2010). ER stress in pancreatic beta cells: the thin red line between adaptation and failure. *Science signaling* *3*, pe7.
- Engin, F., Nguyen, T., Yermalovich, A., and Hotamisligil, G.S. (2014). Aberrant islet unfolded protein response in type 2 diabetes. *Sci Rep* *4*, 4054.

- Feng, J., Liu, T., and Zhang, Y. (2011). Using MACS to identify peaks from CHIP-Seq data. *Current protocols in bioinformatics / editorial board, Andreas D. Baxevanis ... [et al.] Chapter 2, Unit 2 14.*
- Fonseca, S.G., Gromada, J., and Urano, F. (2011). Endoplasmic reticulum stress and pancreatic beta-cell death. *Trends Endocrinol Metab* 22, 266-274.
- Giresi, P.G., Kim, J., McDaniel, R.M., Iyer, V.R., and Lieb, J.D. (2007). FAIRE (Formaldehyde-Assisted Isolation of Regulatory Elements) isolates active regulatory elements from human chromatin. *Genome Res* 17, 877-885.
- Haumaitre, C., Lenoir, O., and Scharfmann, R. (2008). Histone deacetylase inhibitors modify pancreatic cell fate determination and amplify endocrine progenitors. *Mol Cell Biol* 28, 6373-6383.
- Herrera, P.L. (2000). Adult insulin- and glucagon-producing cells differentiate from two independent cell lineages. *Development* 127, 2317-2322.
- Hetz, C. (2012). The unfolded protein response: controlling cell fate decisions under ER stress and beyond. *Nat Rev Mol Cell Biol* 13, 89-102.
- Jeninga, E.H., Schoonjans, K., and Auwerx, J. (2010). Reversible acetylation of PGC-1: connecting energy sensors and effectors to guarantee metabolic flexibility. *Oncogene* 29, 4617-4624.
- Kelly, D.P., and Scarpulla, R.C. (2004). Transcriptional regulatory circuits controlling mitochondrial biogenesis and function. *Genes Dev* 18, 357-368.
- Kennedy, J., Katsuta, H., Jung, M.H., Marselli, L., Goldfine, A.B., Balis, U.J., Sgroi, D., Bonner-Weir, S., and Weir, G.C. (2010). Protective unfolded protein response in human pancreatic beta cells transplanted into mice. *PLoS One* 5, e11211.
- Kerr-Conte, J., Vandewalle, B., Moerman, E., Lukowiak, B., Gmyr, V., Arnalsteen, L., Caiazzo, R., Sterkers, A., Hubert, T., Vantyghem, M.C., et al. (2010). Upgrading pretransplant human islet culture technology requires human serum combined with media renewal. *Transplantation* 89, 1154-1160.
- Langmead, B., and Salzberg, S.L. (2012). Fast gapped-read alignment with Bowtie 2. *Nature methods* 9, 357-359.
- Laybutt, D.R., Preston, A.M., Akerfeldt, M.C., Kench, J.G., Busch, A.K., Biankin, A.V., and Biden, T.J. (2007). Endoplasmic reticulum stress contributes to beta cell apoptosis in type 2 diabetes. *Diabetologia* 50, 752-763.
- Lenoir, O., Flosseau, K., Ma, F.X., Blondeau, B., Mai, A., Bassel-Duby, R., Ravassard, P., Olson, E.N., Haumaitre, C., and Scharfmann, R. (2011). Specific

control of pancreatic endocrine beta- and delta-cell mass by class IIa histone deacetylases HDAC4, HDAC5, and HDAC9. *Diabetes* 60, 2861-2871.

Lundh, M., Christensen, D.P., Damgaard Nielsen, M., Richardson, S.J., Dahllof, M.S., Skovgaard, T., Berthelsen, J., Dinarello, C.A., Stevenazzi, A., Mascagni, P., et al. (2012). Histone deacetylases 1 and 3 but not 2 mediate cytokine-induced beta cell apoptosis in INS-1 cells and dispersed primary islets from rats and are differentially regulated in the islets of type 1 diabetic children. *Diabetologia* 55, 2421-2431.

Marselli, L., Thorne, J., Dahiya, S., Sgroi, D.C., Sharma, A., Bonner-Weir, S., Marchetti, P., and Weir, G.C. (2010). Gene expression profiles of Beta-cell enriched tissue obtained by laser capture microdissection from subjects with type 2 diabetes. *PLoS One* 5, e11499.

Maurice, T., Duclot, F., Meunier, J., Naert, G., Givalois, L., Meffre, J., Celerier, A., Jacquet, C., Copois, V., Mechti, N., et al. (2008). Altered memory capacities and response to stress in p300/CBP-associated factor (PCAF) histone acetylase knockout mice. *Neuropsychopharmacology* 33, 1584-1602.

Mihaylova, M.M., and Shaw, R.J. (2013). Metabolic reprogramming by class I and II histone deacetylases. *Trends Endocrinol Metab* 24, 48-57.

Mouchiroud, L., Eichner, L.J., Shaw, R.J., and Auwerx, J. (2014). Transcriptional coregulators: fine-tuning metabolism. *Cell Metab* 20, 26-40.

Muoio, D.M., and Newgard, C.B. (2008). Mechanisms of disease: Molecular and metabolic mechanisms of insulin resistance and beta-cell failure in type 2 diabetes. *Nat Rev Mol Cell Biol* 9, 193-205.

Nagy, Z., and Tora, L. (2007). Distinct GCN5/PCAF-containing complexes function as co-activators and are involved in transcription factor and global histone acetylation. *Oncogene* 26, 5341-5357.

Plaisance, V., Rolland, L., Gmyr, V., Annicotte, J.S., Kerr-Conte, J., Pattou, F., and Abderrahmani, A. (2014). The class I histone deacetylase inhibitor MS-275 prevents pancreatic beta cell death induced by palmitate. *Journal of diabetes research* 2014, 195739.

Rabhi, N., Salas, E., Froguel, P., and Annicotte, J.S. (2014). Role of the unfolded protein response in beta cell compensation and failure during diabetes. *Journal of diabetes research* 2014, 795171.

Robertson, G., Hirst, M., Bainbridge, M., Bilenky, M., Zhao, Y., Zeng, T., Euskirchen, G., Bernier, B., Varhol, R., Delaney, A., et al. (2007). Genome-wide profiles of STAT1

DNA association using chromatin immunoprecipitation and massively parallel sequencing. *Nature methods* 4, 651-657.

Rodriguez, C.I., Buchholz, F., Galloway, J., Sequerra, R., Kasper, J., Ayala, R., Stewart, A.F., and Dymecki, S.M. (2000). High-efficiency deleter mice show that FLPe is an alternative to Cre-loxP. *Nat Genet* 25, 139-140.

Ryu, D., Jo, Y.S., Lo Sasso, G., Stein, S., Zhang, H., Perino, A., Lee, J.U., Zeviani, M., Romand, R., Hottiger, M.O., et al. (2014). A SIRT7-dependent acetylation switch of GABPbeta1 controls mitochondrial function. *Cell Metab* 20, 856-869.

Sampley, M.L., and Ozcan, S. (2012). Regulation of insulin gene transcription by multiple histone acetyltransferases. *DNA Cell Biol* 31, 8-14.

Sharma, R.B., O'Donnell, A.C., Stamateris, R.E., Ha, B., McCloskey, K.M., Reynolds, P.R., Arvan, P., and Alonso, L.C. (2015). Insulin demand regulates beta cell number via the unfolded protein response. *J Clin Invest* 125, 3831-3846.

Taneera, J., Lang, S., Sharma, A., Fadista, J., Zhou, Y., Ahlqvist, E., Jonsson, A., Lyssenko, V., Vikman, P., Hansson, O., et al. (2012). A systems genetics approach identifies genes and pathways for type 2 diabetes in human islets. *Cell metabolism* 16, 122-134.

Tang, C., Koulajian, K., Schuiki, I., Zhang, L., Desai, T., Ivovic, A., Wang, P., Robson-Doucette, C., Wheeler, M.B., Minassian, B., et al. (2012). Glucose-induced beta cell dysfunction in vivo in rats: link between oxidative stress and endoplasmic reticulum stress. *Diabetologia* 55, 1366-1379.

Usui, M., Yamaguchi, S., Tanji, Y., Tominaga, R., Ishigaki, Y., Fukumoto, M., Katagiri, H., Mori, K., Oka, Y., and Ishihara, H. (2012). Atf6alpha-null mice are glucose intolerant due to pancreatic beta-cell failure on a high-fat diet but partially resistant to diet-induced insulin resistance. *Metabolism* 61, 1118-1128.

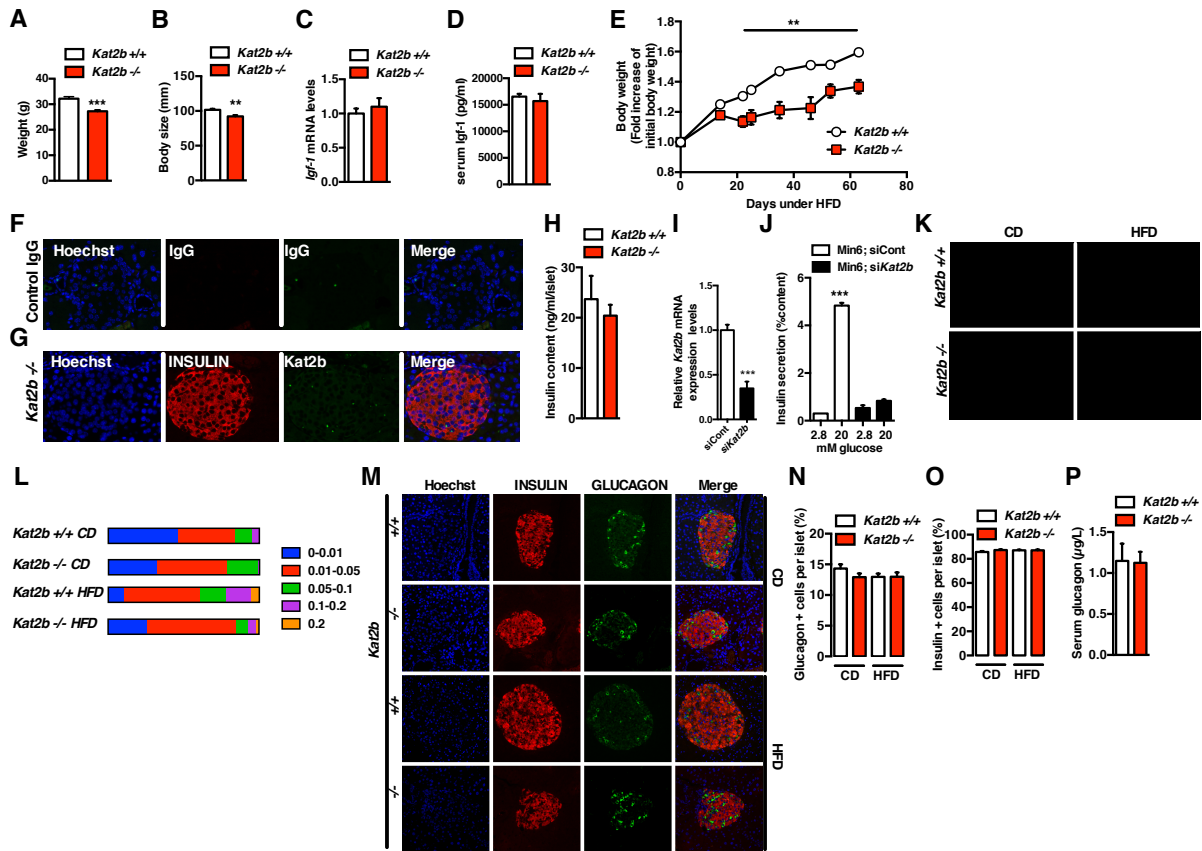
Wali, J.A., Rondas, D., McKenzie, M.D., Zhao, Y., Elkerbout, L., Fynch, S., Gurzov, E.N., Akira, S., Mathieu, C., Kay, T.W., et al. (2014). The proapoptotic BH3-only proteins Bim and Puma are downstream of endoplasmic reticulum and mitochondrial oxidative stress in pancreatic islets in response to glucotoxicity. *Cell Death Dis* 5, e1124.

Walter, P., and Ron, D. (2011). The unfolded protein response: from stress pathway to homeostatic regulation. *Science* 334, 1081-1086.

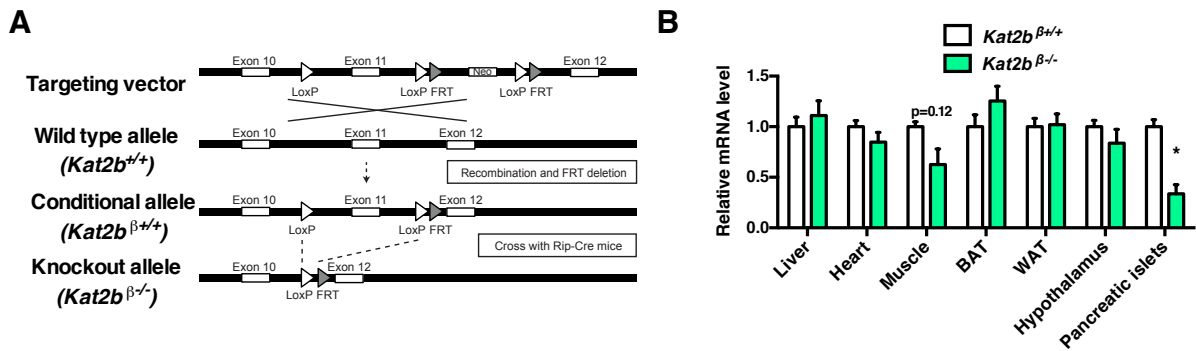
Wang, S., and Kaufman, R.J. (2012). The impact of the unfolded protein response on human disease. *J Cell Biol* 197, 857-867.

- Weir, G.C., and Bonner-Weir, S. (2004). Five stages of evolving beta-cell dysfunction during progression to diabetes. *Diabetes* 53 *Suppl* 3, S16-21.
- Yamauchi, T., Yamauchi, J., Kuwata, T., Tamura, T., Yamashita, T., Bae, N., Westphal, H., Ozato, K., and Nakatani, Y. (2000). Distinct but overlapping roles of histone acetylase PCAF and of the closely related PCAF-B/GCN5 in mouse embryogenesis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 97, 11303-11306.
- Zhang, Y., Liu, T., Meyer, C.A., Eeckhoute, J., Johnson, D.S., Bernstein, B.E., Nusbaum, C., Myers, R.M., Brown, M., Li, W., et al. (2008). Model-based analysis of ChIP-Seq (MACS). *Genome Biol* 9, R137.
- Zhao, S., Xu, W., Jiang, W., Yu, W., Lin, Y., Zhang, T., Yao, J., Zhou, L., Zeng, Y., Li, H., et al. (2010). Regulation of cellular metabolism by protein lysine acetylation. *Science (New York, N.Y.)* 327, 1000-1004.

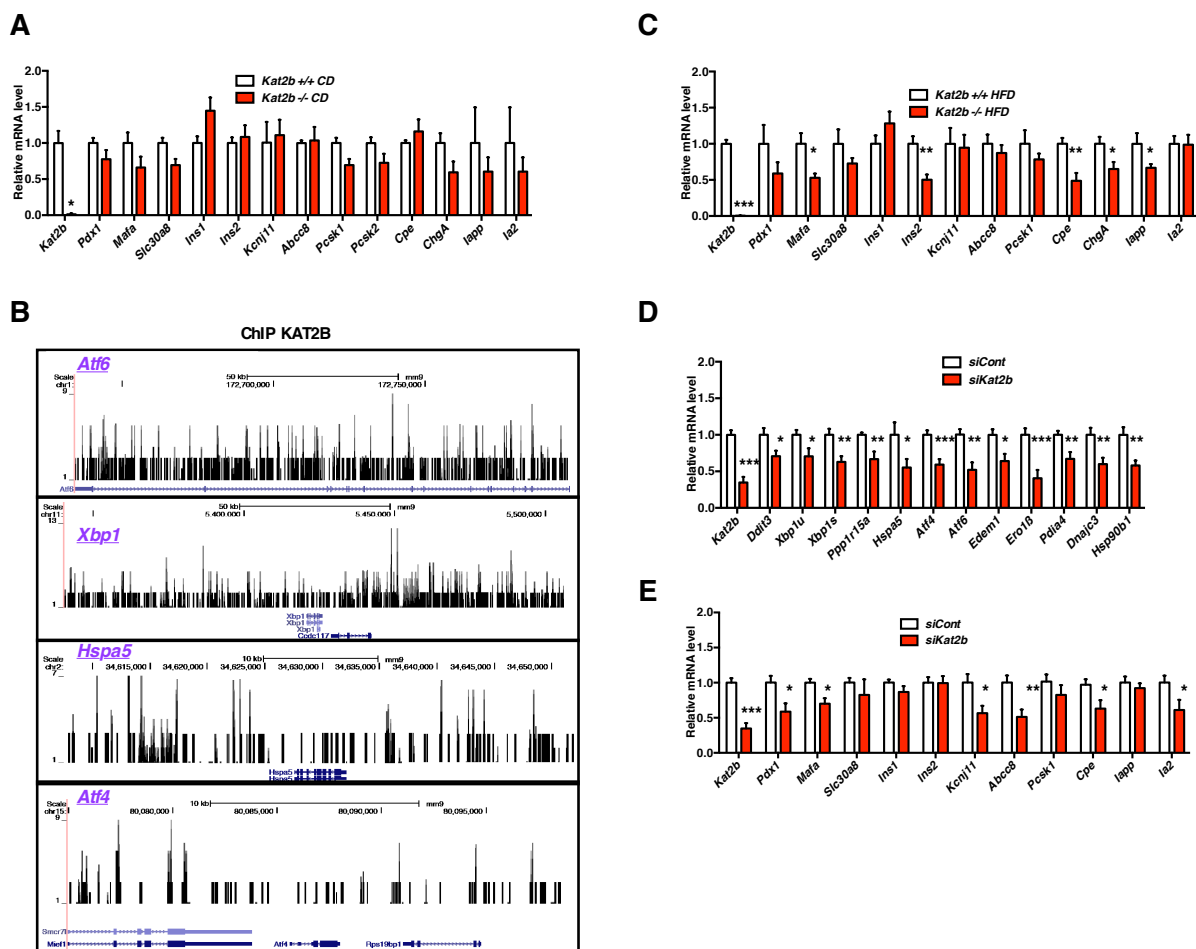
Supplemental informations



Supplemental Figure S1. (A-B) Body weight (A) and size (B) of *Kat2b* ^{+/+} and ^{-/-} mice under chow. (C-D) Liver mRNA (C) and circulating Igf-1 (D) levels in *Kat2b* ^{+/+} and ^{-/-} mice. (E) body weight gain under high fat diet feeding of *Kat2b* ^{+/+} and ^{-/-} mice. (F-G) Immunofluorescent experiments on pancreatic sections from *Kat2b* ^{+/+} and ^{-/-} mice. (F) IgGs and (G) *Kat2b* ^{-/-} sections were used as negative controls for *Kat2b* antibody validation. (H) Insulin content of *Kat2b* ^{+/+} and ^{-/-} isolated islets. (I) mRNA levels of *Kat2b* expression after silencing of *Kat2b* by siRNA in Min6 cells. (J) Glucose stimulated insulin secretion assay on *Kat2b* silenced Min6 cells. (K) Representative haematoxylin and eosin stainings on pancreatic sections of mice fed normal chow or HFD. (L) Islet areas were normalized to total pancreatic areas and were distributed following their frequency from mice fed chow or HFD as indicated. (M) Immunostaining of pancreas sections showing nuclei labeling (Hoechst), insulin positive β cells and glucagon positive α cells on *Kat2b* ^{+/+} and ^{-/-} mice fed chow and HFD and (Moussaieff et al.) Quantification of (N) glucagon and (O) insulin positive cells per islet. (P) Circulating glucagon levels in *Kat2b* ^{+/+} and ^{-/-} mice fed chow. Data are shown as mean ± SEM. ** $p < 0.01$ and *** $p < 0.001$.

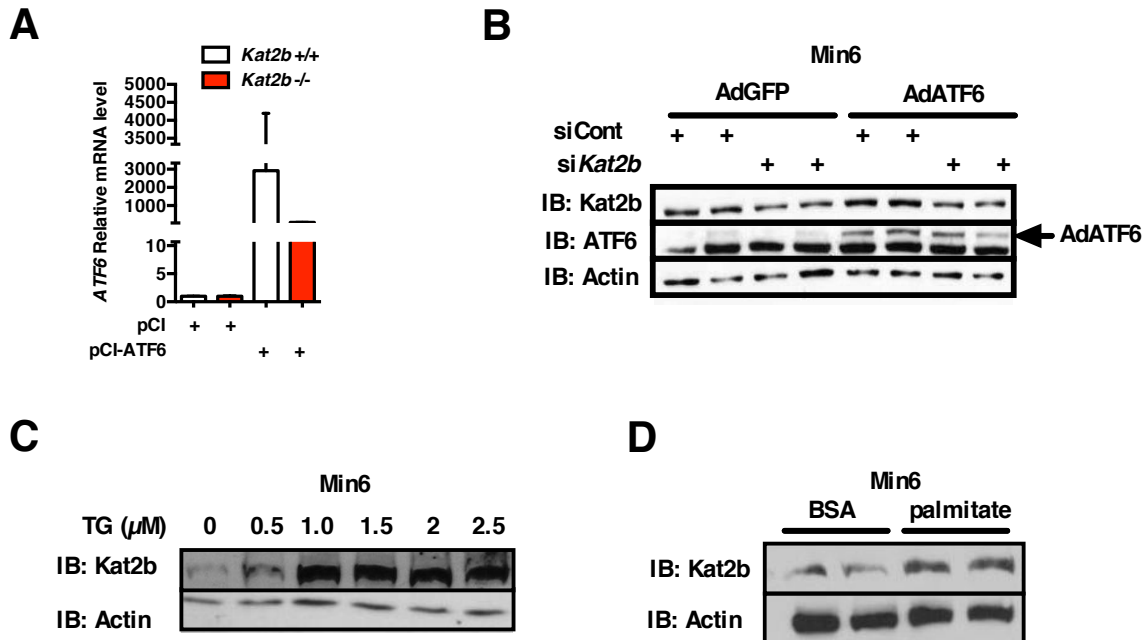


Supplemental Figure S2. (A) Gene targeting and conditional deletion of exon 11 of the *Kat2b* gene. Maps of the *Kat2b* genomic locus (*Kat2b*^{+/+}), the floxed allele with (+neo, target allele) or without the neomycin cassette (-neo, *Kat2b*^{β+/+}), and after Cre recombination (*Kat2b*^{β-/-}) are represented. **(B)** Relative expression of *Kat2b* gene in different tissues obtained from *Kat2b*^{β+/+} and *Kat2b*^{β-/-} mice. All values represent mean ± SEM. * p<0.05.

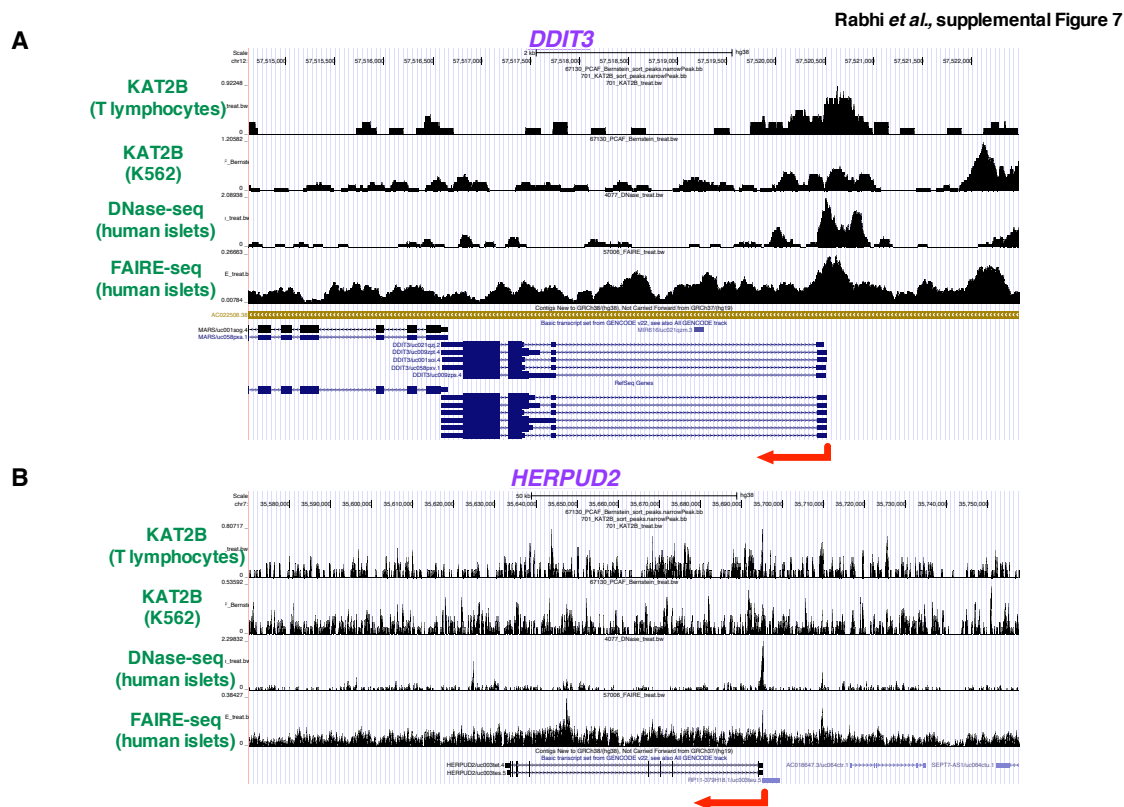


Supplemental Figure S3. (A) Relative expression of relevant β-cell enriched gene in islets isolated from *Kat2b*^{+/+} and *-/-* mice fed a chow diet. **(B)** ChIP-seq analysis in mouse islets identifies chromatin binding of Kat2b to its target genes *Xbp1*, *Hspa5* (*BiP*), *Atf4* and *Atf6* involved in the UPR^{er}, as described in the Experimental Procedures section. Briefly, after sequencing, reads were aligned to a reference genome, peaks were visualized using UCSC

Genome browser to identify *Kat2b* bound genes. **(C)** Relative expression of relevant β -cell enriched gene in islets isolated from *Kat2b* *+/+* and *-/-* mice fed HFD. **(E-F)** Relative expression of relevant **(D)** UPR^{er} and **(E)** β -cell function genes in control (siCont) or *Kat2b* silenced (si*Kat2b*) Min6 cells. All values represent mean \pm SEM. * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$ and *** $p < 0.001$.



Supplementary Figure S4. **(A)** Relative expression of the human *ATF6* gene in islets isolated from *Kat2b* *+/+* and *-/-* mice transiently transfected with an empty vector (pCI) or an expression vector expressing human *ATF6* (pCI-ATF6). **(B)** Western blot assay showing the protein levels of *Kat2b*, *ATF6* and actin from control (siCont) and *Kat2b* silencing (si*Kat2b*) in Min6 cells transduced with an control adenovirus (AdGFP) or encoding human *ATF6* (AdATF6). **(C-D)** Western blot assay showing increased *Kat2b* protein levels after **(C)** TG at different concentrations or **(D)** 1.5mM palmitate treatment for 24 hours. Actin was used as a loading control.



Supplementary Figure S5 to S7. (A-B) ChIP-seq analysis from ENCODE data showing Kat2b binding and open chromatin regions associated with regulatory activity (DNase1 (Crawford *et al.*, 2006) and FAIRE-seq (Giresi *et al.*, 2007)) on human (**S5A**) *ATF6*, (**S5B**) *XBP1*, (**S6A**) *ATF4*, (**S6B**) *HSPA5*, (**S7A**) *DDIT3* and (**S7D**) *HERPUD2* genes. Kat2b chip-seq peaks were obtained from GSM393947 (T lymphocytes) and GSM831007 (K562 cell line). DNase1-seq (GSM586891) and FAIRE-seq (GSM1026917) ChIP-seq data were obtained from human pancreatic islets. Red arrows indicate the direction of transcription. Encode data were visualized using the UCSC Genome browser to identify peak profiles and their corresponding genes.

Supplemental Table S1 : DNA-responsive element bound by Kat2b in isolated islets.

Supplemental Table S2 : Gene ontology analysis of ChIP-seq data.

Supplemental Table S3 : List of Kat2b target genes involved in UPR^{er} obtained after functional enrichment analysis of ChIP-seq data using g:profiler.

Supplemental Table S4 : Donor informations

Supplemental Table S5 : List of oligonucleotides used in qRT-PCR and ChIP-qPCR analyses.

Supplemental Table S6 : List of data sets used in bioinformatical analyses.

Les tableaux supplémentaires sont joints en annexe.

2 Conclusions

L'ensemble de ces résultats montrent que *Kat2b* est un médiateur majeur de la sécrétion d'insuline et de l'adaptation de la cellule β durant un stress métabolique. En effet, comme présenté dans le papier, les souris invalidées totalement ou spécifiquement pour *Kat2b* sont gluco-intolérantes et présentent un défaut de sécrétion d'insuline. Les résultats obtenus dans ces modèles murins montrent que *Kat2b* régule directement l'expression des gènes de l'UPR. De façon intéressante, nous avons observé une diminution de l'expression de *Kat2b* dans les îlots de patients diabétiques et une corrélation inversée de son expression avec la HbA1C. Ces résultats observés chez l'humain sont cependant corrélatifs, et ne confirment pas si les effets de *Kat2b* sur l'UPR dans les îlots murins sont également observés chez l'Homme.

Pour tenter de répondre à cette question et d'aller plus loin, nous avons diminué l'expression de *Kat2b* dans des îlots humains par la technologie siRNA (figure 19). La diminution de l'expression de *Kat2b* dans des îlots humains par siRNA conduit également à une diminution de la sécrétion d'insuline en réponse à une stimulation au glucose (figure 19A, 19B), qui ne nous observons aucun effet sur l'expression du gène de l'insuline. Cependant, comme dans les modèles animaux, l'extinction de l'expression de *Kat2b* conduit à une diminution des gènes de l'UPR (figure 19C). L'analyse des SNPs fréquents dans la population de la cohorte DIAGRAM a révélé l'existence d'un SNP sur le promoteur pour *Kat2b* (rs12639078) présentant une association avec le DT2 ($p=0,004$, figure 19D). L'ensemble de ces résultats suggèrent que *Kat2b* est un acteur clé dans la régulation de la sécrétion de l'insuline *via* la régulation de l'UPR.

En conclusion, nos résultats montrent que *Kat2b* contribue au maintien de l'expression des gènes de l'UPR dans la cellule β , garantissant une réponse adaptative appropriée lors d'un stress métabolique. Ainsi *Kat2b*, constitue une nouvelle cible thérapeutique, et l'utilisation d'un agoniste permettrait probablement d'augmenter la sécrétion et la masse de la cellule β .

3 Article 2 REVUE : Role of the unfolded protein response in β cell compensation and failure during diabetes.

Hindawi Publishing Corporation
Journal of Diabetes Research
Volume 2014, Article ID 795171, 11 pages
<http://dx.doi.org/10.1155/2014/795171>



Review Article

Role of the Unfolded Protein Response in β Cell Compensation and Failure during Diabetes

Nabil Rabhi,¹ Elisabet Salas,¹ Philippe Froguel,^{1,2} and Jean-Sébastien Annicotte^{1,3}

¹ European Genomic Institute for Diabetes (EGID), CNRS UMR 8199, Lille 2 University of Health and Law, 59000 Lille, France

² Departments of Genomics of Common Disease, Hammersmith Hospital, Imperial College London, London, UK

³ Laboratoire Bases Moléculaires et Modélisation du Diabète et de l'Obésité, Faculté de Médecine, Pôle Recherche, 59045 Lille, France

Correspondence should be addressed to Jean-Sébastien Annicotte; jean-sebastien.annicotte@inserm.fr

Received 15 January 2014; Revised 12 March 2014; Accepted 13 March 2014; Published 9 April 2014

Academic Editor: Romano Regazzi

Copyright © 2014 Nabil Rabhi et al. This is an open access article distributed under the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

Pancreatic β cell failure leads to diabetes development. During disease progression, β cells adapt their secretory capacity to compensate the elevated glycaemia and the peripheral insulin resistance. This compensatory mechanism involves a fine-tuned regulation to modulate the endoplasmic reticulum (ER) capacity and quality control to prevent unfolded proinsulin accumulation, a major protein synthesized within the β cell. These signalling pathways are collectively termed unfolded protein response (UPR). The UPR machinery is required to preserve ER homeostasis and β cell integrity. Moreover, UPR actors play a key role by regulating ER folding capacity, increasing the degradation of misfolded proteins, and limiting the mRNA translation rate. Recent genetic and biochemical studies on mouse models and human UPR sensor mutations demonstrate a clear requirement of the UPR machinery to prevent β cell failure and increase β cell mass and adaptation throughout the progression of diabetes. In this review we will highlight the specific role of UPR actors in β cell compensation and failure during diabetes.

1. Introduction

Type 2 diabetes (T2D) mellitus is a chronic metabolic disease with “epidemic” proportions. Its global prevalence was estimated to be 6.4% worldwide (285 million adults in 2010) and is predicted to rise to approximately 7.7% (439 million) by 2030 [1]. T2D is a multifactorial disorder resulting from an interaction between genetic and environmental conditions (sedentary lifestyle and Western diet) and characterized by a peripheral insulin resistance, hyperglycaemia, and pancreatic β cell dysfunctions. Two defects have been reported during diabetes development, a gradual deterioration of β cell functions and a reduction in pancreatic β cells mass. β cell failure is not limited to T2D but is rather a common feature of all forms of diabetes, including the autoimmune type 1 diabetes (T1D), autosomal dominant onset diabetes of young (MODY), Wolfram syndrome, and Wolcott-Rallison syndrome (WRS).

In the early stage of diabetes development, the response of pancreatic islets challenged by nutrients and/or insulin resistance is a hypersecretion of insulin to maintain normoglycaemia. To this end, an adaptive and compensatory response of β cells is required. The process of β cell compensation is a combination of β cell mass expansion and an increase of acute glucose-stimulated insulin secretion. Postmortem analyses of pancreas of nondiabetic obese patients show an increase of β cell volume, implying postnatal plasticity of β cell mass. Moreover the β cell compensation process is associated with an improved capacity of the secretory machinery to support increased insulin production. Subsequently, the production of large amounts of insulin by compensating islet β cells places a continuous demand on the ER for proper protein synthesis, folding, trafficking, and secretion. When the folding capacity of the ER is exceeded, misfolded or unfolded proteins accumulate in the ER lumen, resulting in ER stress.

The cytoprotective response to ER stress is the unfolded protein response (UPR). Paradoxically, UPR signalling activation leads to opposite cell fates, that is, adaptation/survival versus death. Increasing evidence links the endoplasmic reticulum (ER) stress to β cell deterioration and apoptosis [2, 3]. Recent experiments performed in db/db mice and ob/ob mice models at different times of disease progression revealed that the maintenance (or suppression) of adaptive UPR is associated with β cell compensation (or failure) in obese mice [4]. Moreover, Engin et al. recently showed a progressive loss of UPR mediator expression before the onset of diabetes in NOD mice [5]. The administration of the chemical chaperone tauroursodeoxycholic acid to rescue the deleterious ER stress response improved pathophysiological signs of diabetes with a recovery of β cell survival and adaptation to stress [5]. In addition, the authors showed a decline of the UPR mediator in both experimental models and T2D human islets, suggesting that decreased expression of β cell UPR actors can play a central role in β cell compensation and subsequently T2D occurrence [6].

2. The UPR Pathway

Three canonical ER resident molecules mediate UPR response, namely, protein kinase R-like ER kinase (PERK), inositol-requiring enzyme 1 (IRE1), and activating transcription factor 6 (ATF6), which are maintained inactive by their association with the immunoglobulin heavy chain-binding protein (BiP, GRP78) in normal conditions (Figure 1(a)). The accumulation of unfolded proteins in the ER leads to the release of PERK, IRE, and ATF6 and their subsequent activation [7, 8]. The downstream signalling effectors from these pathways converge to the nucleus and activate UPR target genes, finally reducing the ER input (Figure 1(a)). Their action is bipartite, with an acute programme that attenuates the ER workload and a latent transcriptional one that builds ER capacity.

PERK is a type 1 ER transmembrane kinase with a stress sensing luminal N-terminal domain. During ER stress PERK phosphorylates the α -subunit of eIF2- α on serine 51 leading to a delivery inhibition of the initiator methionyl-tRNA_i to the ribosome and ultimately resulting in global protein translation attenuation [9] (Figure 1(a)). This phosphorylation event directly contributes to the reduction of ER stress and protects cells from ER stress-mediated apoptosis [10]. Intriguingly, the mRNA transcription of UPR target genes is selectively activated by eIF2 α phosphorylation, as these polycistronic mRNAs have inhibitory upstream open reading frames (uPRFs) and are thus preferentially translated by the ribosome. These include the bZip transcription factor 4 (ATF4) that acts as a regulator of UPR target genes such as C/EBP-homologous protein (CHOP) and growth arrest and DNA damage inducible gene 34 (GADD34), as well as genes involved in the redox balance and amino acid synthesis [11]. GADD34 interacts with the catalytic subunit of protein phosphatase (PP1c) and controls the level of eIF2- α phosphorylation by a negative feedback loop [12], allowing the restoration of an UPR basal state once ER stress is resolved.

IRE1 is a central regulator of UPR. Like PERK, IRE1 is also a type 1 transmembrane kinase with an N-terminal luminal domain that senses ER stress signalling. Two homologues of IRE1 have been described, IRE1 α and IRE1 β . IRE1 α is expressed ubiquitously, showing high expression levels in the pancreas and placenta [13], whereas IRE1 β is only expressed in the intestinal epithelium and lung [14]. IRE1 possesses kinase as well as endoribonuclease activities. Once the ER stress is triggered, IRE1 activates its RNase domain through its dimerization and transautophosphorylation and causes an unconventional splicing by the removal of 26-nucleotide intron from the X-box binding protein 1 (XBP1) mRNA (Figure 1(a)). The subsequent spliced XBP1 (XBP1s) mRNA encodes a leucine zipper transcription factor with a high transcriptional activity that upregulates genes encoding ER protein chaperones, ER associated protein degradation (ERAD), and lipid biosynthetic enzymes [15, 16]. IRE1 has also a non-specific RNase activity that degrades mRNAs localized near the ER membrane, thereby reducing protein import into the ER lumen [17]. High levels of ER stress also activate the kinase activity of IRE1 and initiate a signalling cascade of apoptosis signal-regulating kinase 1 (ASK1)/cJun amino terminal kinase (JNK), which can participate in the apoptotic cell fate [18].

ATF6 is an ER located type 2 transmembrane protein with a basic leucine zipper DNA binding domain (Figure 1(a)). Two ubiquitously expressed isoforms of ATF6 have been described, ATF6 α and ATF6 β [19]. Under ER stress conditions, ATF6 α translocates from the ER to the Golgi apparatus, where it is cleaved by Site-1 protease and Site-2 protease (S1P/S2P). The newly generated cytosolic fragment migrates to the nucleus and activates UPR gene transcription [20, 21]. The exclusive or the combined action of cleaved ATF6 α and XBP1s is able to activate all three ER stress response elements: ERSE, UPRE, and ERSE2 [22]. ATF6 β was first described as a repressor of ATF6 α [23]. However, mouse embryonic fibroblasts generated from ATF6 β null mice did not show altered UPR gene induction, suggesting a minor role for ATF6 β in ER stress response [24]. In contrast, ATF6 α null mice have a significant alteration in their UPR gene expression profile, suggesting a central role for ATF6 α in ER protein quality control and protection against ER stress [24]. As the double ATF6 α/β knockdown is lethal, the authors suggested that ATF6 α and ATF6 β provide a complementary function during early development [24]. Moreover ATF6 activity is regulated by the Wolfram syndrome 1 (WFS1) protein, which targets ATF6 to the E3 ubiquitin ligase HRD1, consequently resulting in its ubiquitination and proteasomal degradation [25]. A number of other ER stress transducers that share a high sequence homology with ATF6 have been identified, such as Luman, OASIS, BBF2H7, CREBH, and CREB4 (reviewed in [26]). However, despite their structural similarities, each ATF6 homolog seems to have specific functions in UPR regulated processes in specific organs and tissues [26].

2.1. β Cells Compensation and UPR Actors. β cell is a highly specialized secretory cell which responds to elevated postprandial glycaemia by increasing mRNA proinsulin translation and insulin secretion [27]. The periodic waves of proinsulin mRNA translation generate biosynthetic loads that

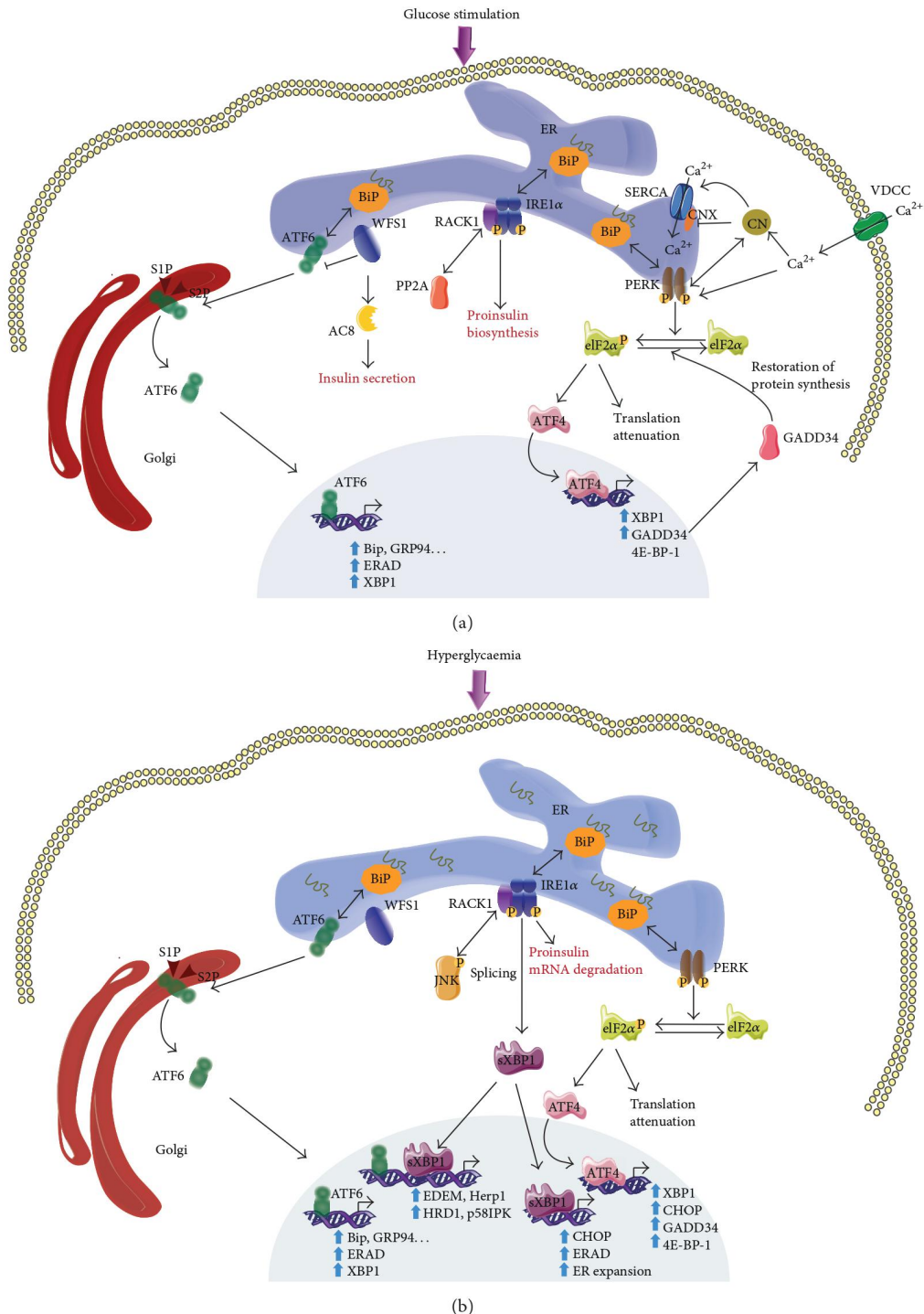


FIGURE 1: Physiological and physiopathological UPR activated pathways in β cells. (a) Under physiological conditions, increased proinsulin synthesis in response to postprandial glucose activates UPR to reduce ER stress and to promote β cell adaptation. The UPR triggers transcription of folding protein (BiP, GRP94,...), protein quality control (ERAD), UPR retrocontrol protein (GADD34), and attenuates protein translation (eIF2 α). Additionally, the UPR regulates calcium homeostasis via PERK, promotes proinsulin synthesis via IRE1 α , and increases insulin secretion via a WFS1-AC8 pathway. (b) Under physiopathological conditions, the UPR is hyperactivated leading to IRE1 α hyperphosphorylation, which in turn induces proinsulin mRNA degradation, JNK pathway activation, and XBP1 mRNA splicing. XBP1s alone or in synergy with ATF6 lead to expression of ER chaperon (Herp1, EDEM, HRD1, p58IPK, and ERAD) and subsequent ER expansion. Both ATF4 and sXBP1 increase CHOP mRNA expression. Under these conditions the UPR feedback is deregulated.

induce UPR. To manage this burden imposed by proinsulin synthesis, β cells increase their ER size, as exemplified during diabetes development. In the prediabetic state, β cell must adapt its ER machinery to the new hyperglycaemic environment, promoting β cell compensation. The use of genetically modified mouse models and genetic studies from human diabetic patients demonstrated that UPR actors support this adaptation as well as β cell compensatory mechanism [4, 28].

2.2. Insulin Mutants and β Cells Compensation. Misfolding of proinsulin is associated with ER stress and severe dysfunctions leading to a massive destruction of β cells. *In vivo* evidences were observed in both Akita and Munich mice carrying cysteine residues mutations that interfere with disulphide bond formation [29, 30]. Interestingly, inactivation of the UPR induced proapoptotic Chop gene delayed the onset of diabetes in heterozygous Akita mice, suggesting a key role for CHOP in ER stress-mediated β cell apoptosis [30]. Diabetes of youth (MIDY) is a syndrome caused by a heterozygous mutation of the coding sequence of proinsulin leading to an autosomal-dominant and insulin-deficient diabetes [31]. This mutation has been shown to be the second most common cause of permanent neonatal diabetes related to ER stress [32, 33]. In line with these observations, inducible expression of the human analogue proinsulin C96Y mutation of Akita mice in rat insulinoma-1 (INS-1) caused ER stress and cell apoptosis. However, upregulation of UPR and ERAD seems to have a protective effect [34]. *In vivo* expression of the same proinsulin mutant driven by the weak *Ins1* promoter induced both ER stress and pancreatic compensation [35]. Altogether these data demonstrate a clear link between misfolding of proinsulin and ER stress induction.

2.3. PERK-eIF2 α -ATF4 Pathway in β Cells Compensation. Loss of function mutation in the EIF2AK3 gene-encoding PERK was associated with WRS, which has been confirmed by the functional characterisation of *Perk* knockout mice [36]. Embryonic development of these mice is normal but they exhibit a postnatal growth retardation, skeletal dysplasia, and progressive loss of β cells, associated with defects in ER secretory machinery and proinsulin folding [37, 38]. However, generation of β cell specific *Perk* knockout mice revealed that β cell death was not increased, but rather β cell proliferation and differentiation were repressed during the embryonic and postnatal state [39]. Other studies on these mice models demonstrated an impaired ER to Golgi anterograde trafficking, retrotranslocation out of the ER, and proteasomal degradation, showing requirement of PERK for ER and Golgi integrity and processing of ATF6 [40]. In contrast to the first report, specific β cell inducible *Perk* deletion in mice showed a rapid progression of insulin dependent diabetes regardless of mice age [41]. The authors showed, on the one hand, that this phenotype was due to an increased β cell proliferation after the induction of PERK deletion due to the increased activation cyclin D-dependent kinase activity. On the other hand, they showed a significant increase in β cell death, associated with an activation of other UPR actors and a disturbance in calcium homeostasis [41]. Moreover, a recent work

demonstrated that PERK, in concert with calcineurin, regulates ER calcium reuptake through calnexin interaction and a negative regulation of the sarcoplasmic endoplasmic reticulum calcium ATPase pump (SERCA) [42] (Figure 1(a)). PERK thus appears to sense glucose by direct sensing of ER calcium levels, raising the possibility that the primary function of PERK in β cell is to modulate proinsulin quality control and trafficking.

Within the β cell, phosphorylation of eIF2 α is mostly PERK dependent in ER stress conditions (Figure 1(b)). Mice harbouring a homozygote knock-in mutation at the PERK-mediated phosphorylation site (Ser51Ala) of eIF2 α display a severe β cell deficiency detectable in late stage embryos and die within 18 h after birth as a consequence of hyperglycaemia associated with defective neoglucogenesis [43]. Heterozygote mice development is normal; however, when challenged with a high fat diet, they develop severe obesity, glucose intolerance, and impaired insulin release. In this genetic context reduced insulin content, fewer granules, ER distension, and a prolonged association of proinsulin with BiP have been observed. Thus, eIF2 α phosphorylation is required for UPR to prevent β cell failure when insulin demand is increased. These findings demonstrate a central role of eIF2 α phosphorylation in β cell adaptation during compensation [44]. The generation of conditional homozygote ser51Ala eIF2 α mutation in β cell confirmed this observation. These mice exhibit a high rate of β cell apoptosis, likely caused by hypoinsulinemia, severe glucose intolerance, and hyperglycaemia. Furthermore, the authors showed ER distension and mitochondrial damage associated with a lower basal expression of the majority of UPR genes and β cell antioxidant responsive genes. Altogether these data indicate that the correct UPR and antioxidant response controlled by PERK-eIF2 α signalling are required for β cell adaptation and survival [45].

Phosphorylation of eIF2 α leads to attenuate global translation of most mRNA although translation of ATF4 is selectively stimulated in this context [11] (Figure 1(b)). The role of ATF4 in insulin secretion and β cell survival is controversial. Pioneer studies showed that *Atf4* knockout mice on a 129SV genetic background are lean, hypoglycaemic, and resistant to diet-induced obesity, probably as a result of increased energy expenditure. However, no effect was observed on plasma insulin level when mice were fed with normal diet, whereas insulin levels were shown to be lower in *Atf4* null mice compared to wild-type mice when fed with a high fat diet [46, 47]. Paradoxically, other studies using *Atf4* KO mice on C57BL6/J genetic background demonstrated that these mice are hypoglycaemic and hyperinsulinemic with an increased β cell mass and function. The phenotype of these mice could be secondary to an overexpression of osteocalcin in osteoblasts, a bone derived secreted molecule promoting insulin secretion and insulin sensitivity [48]. The genetic background may explain the differences observed in these *Atf4* null mice models. The role of ATF4 in insulin synthesis and β cell adaptation to ER stress remains unclear, and further studies using a β cell specific *Atf4* KO mouse model may be useful to answer this question.

ATF4 activation by eIF2 α also leads to the transcription of eIF4-E binding protein (4E-BP-1), a well-documented gene

involved in β cells adaptation to stress [49]. In fact, translation attenuation by eIF2 α phosphorylation is transient, subsequently leading to the feedback dephosphorylation by GADD34, whereas 4E-BP1 suppresses prolonged translation by the inhibition of cap-dependent translation [49, 50]. β cell specific 4e-bp1 KO mice are normal without any metabolic disorder when fed normal diet but are insulin resistant and show β cell defects under high fat diet due to induced ER stress [49, 51, 52]. Moreover, the inactivation of 4e-bp1 gene in Min6 cell line results in sensitization to ER stress and increased β cell loss and hyperglycaemia in diabetic mouse models [49]. These findings suggest a central role of 4E-BP1 in β cell adaptation to ER stress. In contrast, other groups indicated that suppression of 4E-BP1 expression is involved in beneficial effects of high-density lipoproteins on β cells survival [53], suggesting that the role of ATF4 in β cell compensation might depend on several cellular interactions.

2.4. IRE1 α -XBP1 Pathways in β Cells Compensation. IRE1 α is the major isoform expressed in the pancreas and plays a central role in β cell adaptation to ER stress (Figure 1(b)). IRE1 α is required for embryonic development as demonstrated by the embryonic lethality of global IRE1 α KO mice. IRE1 α plays a crucial role in insulin biosynthesis. The generation of IRE1 α conditional KO mice revealed that IRE1 α deletion caused mild hyperinsulinemia and hyperglycaemia and a lower body mass under normal diet [54]. Physiological activation of UPR by glucose results in IRE1 α phosphorylation, without increasing XBP1 mRNA splicing. Moreover, knockdown of IRE1 α in INS-1 insulinoma cell line resulted in decreased proinsulin biosynthesis or insulin content without impacting global protein synthesis or insulin secretion, suggesting a beneficial effect of IRE1 α activation by transit exposure to glucose in β cells [55]. However, chronic exposure to high glucose leads to hyperphosphorylation of IRE1 α , which in turn results in selective degradation of proinsulin mRNA [56]. This may be part of the β cell protective mechanism from apoptosis under chronic hyperglycaemia induced ER stress. This adaptative mechanism combined to UPR activation may explain the reduced insulin secretion in type 2 diabetic patients in the absence of β cell death. IRE1 α dephosphorylation is mediated by proteins phosphatase A2 (PP2A) through ternary complex containing the scaffold protein RACK1 (receptor for activated C kinase 1). Under glucose stimulation or ER stress, RACK1 mediates IRE1 α , RACK1, and PP2A complex formation and promotes IRE1 α dephosphorylation by PP2A, thereby inhibiting IRE1 α activation and attenuating IRE1 α -dependent increase in insulin production. Moreover, IRE1 α activation is increased and RACK1 abundance is decreased in db/db mice [57]. The endoplasmic activity of IRE1 α is also involved in the activation of a key metabolic enzyme, AMP-activated kinase (AMPK), in response to nitric oxide (NO) and ER stress in β cells [58]. AMPK is a holoenzyme activated by changes in AMP/ATP ratio, shifting from glucose to the use of lipids as an energy source in order to respond to cellular demand [59]. Activated AMPK by GTPase dynamin related protein 1 (DRP1) phosphorylation prevents ER and mitochondrial alteration in stressed β cells [60]. In addition IRE1 α

modulates nuclear factor κ light chain enhancer (NF- κ B) target gene expression and IL-1 β activation under mild ER stress, which could contribute to chemokine-induced β cell death [61].

Upon UPR mediating IRE1 α activation, XBP1 splicing is the major event. Several reports indicated that XBP1s target genes and its downstream effect are cell specific and might be dependent on the activating pathways. Like IRE1 α , XBP1 deficient mice died between 10.5 and 14.5 day after birth because of cardiac myocyte defects [62]. Heterozygous Xbp1 mice exhibited significant increase in body mass associated with a progressive hyperinsulinemia and glucose intolerance when fed with a high fat diet [63]. These mice showed increased ER stress and decreased insulin receptor expression in the liver. The β cell-specific deletion of XBP1 in mice resulted in a modest hyperglycaemia and glucose intolerance caused by decreased insulin secretion [64]. The loss of XBP1 markedly decreased the number of insulin granules and impaired proinsulin processing. Further analysis revealed that XBP1 deficiency not only participated in the ER stress in β cells but also caused constitutive hyperactivation of its upstream activator, IRE1 α , which could degrade a subset of mRNAs encoding proinsulin-processing enzymes [64]. In summary, β cell defects in XBP1 mutant mice result from a combined effect of XBP1 suppression on canonical UPR and its negative feedback activation of IRE1 α . Altogether these findings suggest a dual and opposite role for IRE1 α in β cells. A precise regulated feedback circuit involving IRE1 α and its product XBP1s is required to achieve optimal insulin secretion and glucose control. In contrast, sustain production of XBP1s leads to inhibition of PDX1 and MAFA expressions, promoting β cells dysfunction and apoptosis [54].

2.5. ATF6 Pathways in β Cell Compensation. Both ATF6 isoforms are required for positive regulation of UPR. However, the transcriptional activity of ATF6 β is lower than that of ATF6 α . The double knockdown of the two isoforms caused an embryonic lethality demonstrating overlapping functions of ATF6 α and ATF6 β , which are essential for embryonic development [24]. ATF6 α KO mice demonstrated a severe hypoglycaemia suggesting that suppression of ATF6 α increased insulin sensitivity [65]. Treatment of these mice with a pharmacological ER stress inducer leads to liver dysfunction and steatosis [66]. Furthermore, when fed with a high fat diet, ATF6 α null mice developed insulin resistance associated with impaired insulin secretion and lower insulin content, reinforcing the idea of a key role of ATF6 α in β cells adaptation and insulin resistance [65]. Recently, a basal expression of active ATF6 α was demonstrated to be essential for β cell survival even under unstressed conditions. Interestingly, specific functions of ATF6 α have been revealed depending on its interaction with XBP1. When ATF6 α is acting alone, it induces the expression of a cluster of genes involved in protein folding such as BiP and GRP94. When it heterodimerizes with XBP-1 they are modulating the expression of specific class of target genes, such as genes involved in protein degradation (EDE1, Herpud1, HRD1, and p58IPK) [24]. In contrast, a deleterious effect of active ATF6 α overexpression on

β cell function and expression of insulin, PDX1, and MAFA in INS-1 cells was shown [67]. Interestingly, some reports demonstrated that some ATF6 variants are associated with type 2 diabetes and new onset diabetes after transplantation (NODAT), suggesting potential links between ATF6 α and human diabetes pathophysiology [68, 69]. It is important to note that, from the myriad of ATF6 homolog described until now, only old astrocyte specifically induced substance (OASIS) was identified in β cell [70]. However, microarray analysis of INS-1 β cell line overexpressing the active form of OASIS showed its implication in extracellular matrix production and protein transport but not in the classical ER stress response [70].

A great interest has been focused on the ATF6 α negative regulator WFS1 because of its association with the Wolfram syndrome, a rare genetic disorder [71, 72]. Loss of function mutation in the *wfs1* gene encoding wolframin protein caused neurodegenerative disorders characterised by juvenile onset diabetes mellitus, optic atrophy, and hearing impairment [73, 74]. WFS1 KO mice exhibit an activated ER stress especially in β cells, leading to β cell loss through impaired cell cycle progression and increased apoptosis [75]. Conditional WFS1 knockdown in β cell induced diabetes as a result of enhanced ER stress and apoptosis [76]. Moreover WFS1 is essential for glucose and glucagon-like peptide 1 (GLP1) stimulated AMP production and regulation of insulin biosynthesis and secretion [77]. Under glucose stimulation, WFS1 translocates from the ER to plasma membrane, where it stimulates cyclic adenosine monophosphate [73] synthesis through an interaction with adenylyl cyclase 8 (AC8), which subsequently promoted insulin secretion [77] (Figure 1(a)). A recent report using induced pluripotent stem (iPS) cells to create β cells from individuals with Wolfram syndrome confirmed these observations. In this study, WFS1 deficient β cells showed increased levels of UPR genes and decreased insulin content, leading to β cell dysfunctions as previously described in mouse models [78].

2.6. The UPR/ER Stress Induction of β Cell Apoptosis. As discussed above, the UPR regulates both survival and death effectors. It is now clear that the three unfolded protein sensors—IRE1 α , PERK, and ATF6—influence the life-death decision. The inability of UPR outputs to restore homeostasis may generate continuous signalling from these sensors, tipping the balance in favour of apoptosis. The ER might actually serve as a site where apoptotic signals are generated and integrated to elicit the death response. ER stress leads to apoptosis by activating both mitochondrial dependent and independent pathways. Several stimuli have been linked to ER stress-induced apoptosis including hyperglycaemia, exposure to long-chain free fatty acids (e.g., palmitate) [79–81], hyperinsulinemia occurring in the prediabetic stage [82], glucose deprivation [83], islet amyloid polypeptide (IAPP) expression [84], and exposure to inflammatory cytokine [85]. Players involved in the cell death response include PERK/eIF2 α -dependent transcriptional induction of proapoptotic transcription factor CHOP which represses Bcl-2 [86], IRE1-mediated activation of ASK1/JNK [18], and cleavage and activation of procaspase 12 (caspase 4 in humans) [87, 88].

CHOP has retained a special attention as a central mediator of apoptosis. Its expression is low under physiological condition but is strongly induced upon ER stress [89]. The induction of CHOP is regulated by ATF4 [11, 90] and ATF6 [91–93] and its role in ER stress-induced apoptosis was demonstrated both *in vitro* and *in vivo* [94]. Mice lacking CHOP are protected from renal toxicity of the ER stressor tunicamycin, an inhibitor of glycosylation [94]. CHOP deletion promotes β cells survival in both genetic and diet-induced insulin resistant mice models [30, 92]. Pancreatic β cells are also sensitive to oxidative stress, but β cells from CHOP knockout mice are protected and maintain insulin secretion under oxidative stress [92, 95]. Moreover, islets from these mice showed resistance to NO, a chemical agent implicated in β cells disruption in type 1 diabetes [96]. In contrast, CHOP deficiency in a genetic background of nonobese diabetic mice (NOD-Chop $^{-/-}$) did not affect the development of insulinitis, diabetes, and β cells apoptosis [97]. Interestingly, CHOP knockout mice on a C57BL/6 background showed a different phenotype, with abdominal obesity and hepatic steatosis, while preserving normal glucose tolerance and insulin sensitivity [98].

Under ER stress CHOP positively regulates the expression of genes involved in apoptosis including GADD34 [50, 99], the ER oxidoreductin 1 α (ERO1 α) [100], death receptor 5 (DR5) [101], and the pseudokinase tribbles related 3 (TRB3) [102]. As shown for CHOP deletion, genetic inactivation of these genes protected against β cell ER stress-induced apoptosis [100, 103–105]. Additionally, CHOP represses the expression of the antiapoptotic gene Bcl2 and enhances oxidant injury [106]. Finally, deletion of CHOP was reported to prevent the cytokine-mediated cleavage of caspase 9 and caspase 3 and subsequent β cells apoptosis by reducing cytokine-induced NF- κ B activity and the expression of key NF- κ B target genes involved in apoptosis and inflammation [107].

ER stress-mediated apoptosis can also be signalled through IRE1 α dependent activation of JNK pathway [18]. IRE1 α interacts with TBF receptor associated factor 2 (TRAF2) and ASK1 mediating JNK phosphorylation [18, 108]. The analysis of ASK1 deficient mice showed that ASK1 loss of function attenuated insulin resistance, cardiac inflammation and fibrosis, vascular endothelial dysfunction, and remodelling induced by diet-induced obesity [109]. Moreover, deletion of ASK1 in homozygous Akita mice protected β cells from ER induced apoptosis and delayed the onset of diabetes [110]. The IRE1 α /TRAF2 complexes also contributes to ER stress-induced apoptosis by promoting the clustering of procaspase-12 and its activation by cleavage in response to ER stress [111]. In addition, the IRE1 α /TRAF2 complex interacts with IKK, an inhibitor of NF- κ B, mediating its activation and promoting cell apoptosis in response to ER stress [112, 113]. Finally, members of Bcl2 family including BAX, BAK, BIM, and PUMA have been reported to directly interact with IRE1 α demonstrating a physical link between members of the core apoptotic pathway and the UPR [114, 115]. In contrast, IRE1 α forms a stable protein complex with Bax inhibitor-1 (BI-1) protein, suppressing cell death [116]. The IRE1 α /BI-1 association decreased the ribonuclease activity of IRE1 α and seemed to be required for early adaptive responses against ER

stress-induced apoptosis [116]. The control of IRE1 α activity appears to be central in the mechanism protecting β cells from ER stress-induced apoptosis. Further studies are needed to understand the various aspect of IRE1 α regulation and the contribution of the others actors of UPR in the ER stress-induced apoptosis.

2.7. The UPR in Human Diabetes. Clear evidence of the existence of ER stress in human β cells has been reported in the last decade [2, 3, 6, 117]. First analysis of islets from human T2D patients showed an ER extension but modest signs of ER stress marker in human pancreatic samples and isolated islets. However, glucose stimulation induced increased UPR in T2D islets cells [3]. Some markers of ER stress are increased in T1D human islets with partial ER stress [117, 118]. A recent report shows an alteration in the expression of specific branches of UPR mediators in T2D β cells [6]. These findings support the hypothesis of a decline in β cell adaptation/compensation during the progression of diabetes in human.

3. Conclusion

The β cell has a marked capacity to adapt to environment changes by increasing its mass and function. Diabetic signs occur when this adaptative mechanism fails to compensate for the increasing insulin demand. Activation of UPR actors is triggered in the early stage of the compensatory mechanism and may play a central role in β cell adaptation and subsequent functions. Further studies are required to understand the physiological significance and the direct implication of ER stress and UPR in the early stage of diabetes pathophysiology. Moreover, the relationships among UPR actors, their activation, and β cell fate (adaptation/survival versus β cell dysfunction/apoptosis) remain to be fully clarified. Theoretically, the size of β cell mass is controlled by a balance between proliferation and apoptosis. Either increase of β cell apoptosis or decrease in β cell adaptation and compensation could, therefore, reduce the β cell mass in T2D patients. Studies carried out during diabetes development are required to better understand the mechanism of compensatory capacity and subsequent β cell loss in humans. This is of particular interest, since it could have beneficial impact for the treatment of metabolic diseases such as diabetes.

It is important to note that most UPR molecules have an adaptive function in β cells. Their role in the switch from survival to apoptosis is clearly demonstrated *in vitro* and in animal models but it remains unclear whether the same mechanisms occur in human β cell. Isolating and culturing primary β cells may be very stressful and do not perfectly reflect the *in vivo* context. Therefore the use of alternative method such as immunohistochemistry is powerful to determine the role of each branch of UPR in diabetes.

Conflict of Interests

The authors declare that there is no conflict of interests regarding the publication of this paper.

Acknowledgments

The authors apologize to all their colleagues whose work could not be cited due to space limitations. We thank members of the Annicotte's lab and Froguel's lab for discussions. The author's research is supported by the French Agence Nationale de la Recherche (ANR-10-LABX-46), Association pour la Recherche sur le Diabète, Lille2 University, Conseil Régional Nord-Pas de Calais and Lille Métropole Communauté Urbaine, Société Francophone du Diabète-Laboratoires SERVIER.

References

- [1] J. E. Shaw, R. A. Sicree, and P. Z. Zimmet, "Global estimates of the prevalence of diabetes for 2010 and 2030," *Diabetes Research and Clinical Practice*, vol. 87, no. 1, pp. 4–14, 2010.
- [2] S. G. Fonseca, M. Burcin, J. Gromada, and F. Urano, "Endoplasmic reticulum stress in β -cells and development of diabetes," *Current Opinion in Pharmacology*, vol. 9, no. 6, pp. 763–770, 2009.
- [3] P. Marchetti, M. Bugliani, R. Lupi et al., "The endoplasmic reticulum in pancreatic beta cells of type 2 diabetes patients," *Diabetologia*, vol. 50, no. 12, pp. 2486–2494, 2007.
- [4] J. Y. Chan, J. Luzuriaga, M. Bensellam, T. J. Biden, and D. R. Laybutt, "Failure of the adaptive unfolded protein response in islets of obese mice is linked with abnormalities in beta-cell gene expression and progression to diabetes," *Diabetes*, vol. 62, no. 5, pp. 1557–1568, 2013.
- [5] F. Engin, A. Yermalovich, T. Ngyuen et al., "Restoration of the unfolded protein response in pancreatic beta cells protects mice against type 1 diabetes," *Science Translational Medicine*, vol. 5, no. 211, Article ID 211ra156, 2013.
- [6] F. Engin, T. Nguyen, A. Yermalovich, and G. S. Hotamisligil, "Aberrant islet unfolded protein response in type 2 diabetes," *Scientific Reports*, vol. 4, article 4054, 2014.
- [7] A. Bertolotti, Y. Zhang, L. M. Hendershot, H. P. Harding, and D. Ron, "Dynamic interaction of BiP and ER stress transducers in the unfolded-protein response," *Nature Cell Biology*, vol. 2, no. 6, pp. 326–332, 2000.
- [8] S. Nadanaka, H. Yoshida, and K. Mori, "Reduction of disulfide bridges in the luminal domain of ATF6 in response to glucose starvation," *Cell Structure and Function*, vol. 31, no. 2, pp. 127–134, 2006.
- [9] H. P. Harding, Y. Zhang, and D. Ron, "Protein translation and folding are coupled by an endoplasmic-reticulum-resident kinase," *Nature*, vol. 397, no. 6716, pp. 271–274, 1999.
- [10] H. P. Harding, Y. Zhang, A. Bertolotti, H. Zeng, and D. Ron, "Perk is essential for translational regulation and cell survival during the unfolded protein response," *Molecular Cell*, vol. 5, no. 5, pp. 897–904, 2000.
- [11] H. P. Harding, I. Novoa, Y. Zhang et al., "Regulated translation initiation controls stress-induced gene expression in mammalian cells," *Molecular Cell*, vol. 6, no. 5, pp. 1099–1108, 2000.
- [12] Y.-Y. Lee, R. C. Cevallos, and E. Jan, "An upstream open reading frame regulates translation of GADD34 during cellular stresses that induce eIF2 α phosphorylation," *The Journal of Biological Chemistry*, vol. 284, no. 11, pp. 6661–6673, 2009.

- [13] W. Tirasophon, A. A. Welihinda, and R. J. Kaufman, "A stress response pathway from the endoplasmic reticulum to the nucleus requires a novel bifunctional protein kinase/endoribonuclease (Ire1p) in mammalian cells," *Genes & Development*, vol. 12, no. 12, pp. 1812–1824, 1998.
- [14] A. Bertolotti, X. Wang, I. Novoa et al., "Increased sensitivity to dextran sodium sulfate colitis in IRE1 β -deficient mice," *The Journal of Clinical Investigation*, vol. 107, no. 5, pp. 585–593, 2001.
- [15] A.-H. Lee, E. F. Scapa, D. E. Cohen, and L. H. Glimcher, "Regulation of hepatic lipogenesis by the transcription factor XBP1," *Science*, vol. 320, no. 5882, pp. 1492–1496, 2008.
- [16] H. Yoshida, T. Matsui, A. Yamamoto, T. Okada, and K. Mori, "XBP1 mRNA is induced by ATF6 and spliced by IRE1 in response to ER stress to produce a highly active transcription factor," *Cell*, vol. 107, no. 7, pp. 881–891, 2001.
- [17] J. Hollien and J. S. Weissman, "Decay of endoplasmic reticulum-localized mRNAs during the unfolded protein response," *Science*, vol. 313, no. 5783, pp. 104–107, 2006.
- [18] F. Urano, X. Wang, A. Bertolotti et al., "Coupling of stress in the ER to activation of JNK protein kinases by transmembrane protein kinase IRE1," *Science*, vol. 287, no. 5453, pp. 664–666, 2000.
- [19] K. Haze, T. Okada, H. Yoshida et al., "Identification of the G13 (cAMP-response-element-binding protein-related protein) gene product related to activating transcription factor 6 as a transcriptional activator of the mammalian unfolded protein response," *Biochemical Journal*, vol. 355, part 1, pp. 19–28, 2001.
- [20] K. Haze, H. Yoshida, H. Yanagi, T. Yura, and K. Mori, "Mammalian transcription factor ATF6 is synthesized as a transmembrane protein and activated by proteolysis in response to endoplasmic reticulum stress," *Molecular Biology of the Cell*, vol. 10, no. 11, pp. 3787–3799, 1999.
- [21] M. Hong, S. Luo, P. Baumeister et al., "Underglycosylation of ATF6 as a novel sensing mechanism for activation of the unfolded protein response," *The Journal of Biological Chemistry*, vol. 279, no. 12, pp. 11354–11363, 2004.
- [22] K. Yamamoto, H. Yoshida, K. Kokame, R. J. Kaufman, and K. Mori, "Differential contributions of ATF6 and XBP1 to the activation of endoplasmic reticulum stress-responsive cis-acting elements ERSE, UPRE and ERSE-II," *Journal of Biochemistry*, vol. 136, no. 3, pp. 343–350, 2004.
- [23] D. J. Thuerauf, L. Morrison, and C. C. Glembotski, "Opposing roles for ATF6 α and ATF6 β in endoplasmic reticulum stress response gene induction," *The Journal of Biological Chemistry*, vol. 279, no. 20, pp. 21078–21084, 2004.
- [24] K. Yamamoto, T. Sato, T. Matsui et al., "Transcriptional induction of mammalian ER quality control proteins is mediated by single or combined action of ATF6 α and XBP1," *Developmental Cell*, vol. 13, no. 3, pp. 365–376, 2007.
- [25] S. G. Fonseca, S. Ishigaki, C. M. Osowski et al., "Wolfram syndrome 1 gene negatively regulates ER stress signaling in rodent and human cells," *The Journal of Clinical Investigation*, vol. 120, no. 3, pp. 744–755, 2010.
- [26] R. Asada, S. Kanemoto, S. Kondo, A. Saito, and K. Imaizumi, "The signalling from endoplasmic reticulum-resident bZIP transcription factors involved in diverse cellular physiology," *Journal of Biochemistry*, vol. 149, no. 5, pp. 507–518, 2011.
- [27] N. Itoh and H. Okamoto, "Translational control of proinsulin synthesis by glucose," *Nature*, vol. 283, no. 5742, pp. 100–102, 1980.
- [28] O. Omikorede, C. Qi, T. Gorman et al., "ER stress in rodent islets of Langerhans is concomitant with obesity and beta-cell compensation but not with beta-cell dysfunction and diabetes," *Nutrition & Diabetes*, vol. 3, article e93, 2013.
- [29] N. Herbach, B. Rathkolb, E. Kemter et al., "Dominant-negative effects of a novel mutated Ins2 allele causes early-onset diabetes and severe β -cell loss in Munich Ins2C95S mutant mice," *Diabetes*, vol. 56, no. 5, pp. 1268–1276, 2007.
- [30] S. Oyadomari, A. Koizumi, K. Takeda et al., "Targeted disruption of the Chop gene delays endoplasmic reticulum stress-mediated diabetes," *The Journal of Clinical Investigation*, vol. 109, no. 4, pp. 525–532, 2002.
- [31] J. Støy, E. L. Edghill, S. E. Flanagan et al., "Insulin gene mutations as a cause of permanent neonatal diabetes," *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, vol. 104, no. 38, pp. 15040–15044, 2007.
- [32] E. L. Edghill, S. E. Flanagan, A.-M. Patch et al., "Insulin mutation screening in 1,044 patients with diabetes mutations in the INS gene are a common cause of neonatal diabetes but a rare cause of diabetes diagnosed in childhood or adulthood," *Diabetes*, vol. 57, no. 4, pp. 1034–1042, 2008.
- [33] M. Liu, I. Hodish, L. Haataja et al., "Proinsulin misfolding and diabetes: mutant INS gene-induced diabetes of youth," *Trends in Endocrinology and Metabolism*, vol. 21, no. 11, pp. 652–659, 2010.
- [34] T. Hartley, M. Siva, E. Lai, T. Teodoro, L. Zhang, and A. Volchuk, "Endoplasmic reticulum stress response in an INS-1 pancreatic β -cell line with inducible expression of a folding-deficient proinsulin," *BMC Cell Biology*, vol. 11, article 59, 2010.
- [35] I. Hodish, A. Absood, L. Liu et al., "In vivo misfolding of proinsulin below the threshold of frank diabetes," *Diabetes*, vol. 60, no. 8, pp. 2092–2101, 2011.
- [36] M. Delépine, M. Nicolino, T. Barrett, M. Golamaully, G. Mark Lathrop, and C. Julier, "EIF2AK3, encoding translation initiation factor 2- α kinase 3, is mutated in patients with Wolcott-Rallison syndrome," *Nature Genetics*, vol. 25, no. 4, pp. 406–409, 2000.
- [37] P. Zhang, B. McGrath, S. Li et al., "The PERK eukaryotic initiation factor 2 α kinase is required for the development of the skeletal system, postnatal growth, and the function and viability of the pancreas," *Molecular and Cellular Biology*, vol. 22, no. 11, pp. 3864–3874, 2002.
- [38] H. P. Harding, H. Zeng, Y. Zhang et al., "Diabetes mellitus and exocrine pancreatic dysfunction in *Perk*^{-/-} mice reveals a role for translational control in secretory cell survival," *Molecular Cell*, vol. 7, no. 6, pp. 1153–1163, 2001.
- [39] W. Zhang, D. Feng, Y. Li, K. Iida, B. McGrath, and D. R. Cavener, "PERK EIF2AK3 control of pancreatic β cell differentiation and proliferation is required for postnatal glucose homeostasis," *Cell Metabolism*, vol. 4, no. 6, pp. 491–497, 2006.
- [40] S. Gupta, B. McGrath, and D. R. Cavener, "PERK (EIF2AK3) regulates proinsulin trafficking and quality control in the secretory pathway," *Diabetes*, vol. 59, no. 8, pp. 1937–1947, 2010.
- [41] Y. Gao, D. J. Sartori, C. Li et al., "PERK is required in the adult pancreas and is essential for maintenance of glucose homeostasis," *Molecular and Cellular Biology*, vol. 32, no. 24, pp. 5129–5139, 2012.
- [42] R. Wang, B. C. McGrath, R. F. Kopp et al., "Insulin secretion and Ca²⁺ dynamics in beta-cells are regulated by PERK (EIF2AK3) in concert with calcineurin," *The Journal of Biological Chemistry*, vol. 288, no. 47, pp. 33824–33836, 2013.

- [43] D. Scheuner, B. Song, E. McEwen et al., “Translational control is required for the unfolded protein response and in vivo glucose homeostasis,” *Molecular Cell*, vol. 7, no. 6, pp. 1165–1176, 2001.
- [44] D. Scheuner, D. Vander Mierde, B. Song et al., “Control of mRNA translation preserves endoplasmic reticulum function in beta cells and maintains glucose homeostasis,” *Nature Medicine*, vol. 11, no. 7, pp. 757–764, 2005.
- [45] S. H. Back, D. Scheuner, J. Han et al., “Translation attenuation through eIF2 α phosphorylation prevents oxidative stress and maintains the differentiated state in beta cells,” *Cell Metabolism*, vol. 10, no. 1, pp. 13–26, 2009.
- [46] J. Seo, E. S. Fortuno III, J. M. Suh et al., “Atf4 regulates obesity, glucose homeostasis, and energy expenditure,” *Diabetes*, vol. 58, no. 11, pp. 2565–2573, 2009.
- [47] C. Wang, Z. Huang, Y. Du, Y. Cheng, S. Chen, and F. Guo, “ATF4 regulates lipid metabolism and thermogenesis,” *Cell Research*, vol. 20, no. 2, pp. 174–184, 2010.
- [48] T. Yoshizawa, E. Hinoi, Y. J. Dae et al., “The transcription factor ATF4 regulates glucose metabolism in mice through its expression in osteoblasts,” *The Journal of Clinical Investigation*, vol. 119, no. 9, pp. 2807–2817, 2009.
- [49] S. Yamaguchi, H. Ishihara, T. Yamada et al., “ATF4-mediated induction of 4E-BP1 contributes to pancreatic β cell survival under endoplasmic reticulum stress,” *Cell Metabolism*, vol. 7, no. 3, pp. 269–276, 2008.
- [50] I. Novoa, H. Zeng, H. P. Harding, and D. Ron, “Feedback inhibition of the unfolded protein response by GADD34-mediated dephosphorylation of eIF2 α ,” *Journal of Cell Biology*, vol. 153, no. 5, pp. 1011–1021, 2001.
- [51] O. le Bacquer, E. Petroulakis, S. Pagliarunga et al., “Elevated sensitivity to diet-induced obesity and insulin resistance in mice lacking 4E-BP1 and 4E-BP2,” *The Journal of Clinical Investigation*, vol. 117, no. 2, pp. 387–396, 2007.
- [52] K. Tsukiyama-Kohara, F. Poulin, M. Kohara et al., “Adipose tissue reduction in mice lacking the translational inhibitor 4E-BP1,” *Nature Medicine*, vol. 7, no. 10, pp. 1128–1132, 2001.
- [53] J. Pétremand, N. Bulat, A.-C. Butty et al., “Involvement of 4E-BP1 in the protection induced by HDLs on pancreatic β -cells,” *Molecular Endocrinology*, vol. 23, no. 10, pp. 1572–1586, 2009.
- [54] T. Iwakaki, R. Akai, and K. Kohno, “IRE1 α disruption causes histological abnormality of exocrine tissues, increase of blood glucose level, and decrease of serum immunoglobulin level,” *PLoS ONE*, vol. 5, no. 9, Article ID e13052, 2010.
- [55] K. L. Lipson, S. G. Fonseca, S. Ishigaki et al., “Regulation of insulin biosynthesis in pancreatic beta cells by an endoplasmic reticulum-resident protein kinase IRE1,” *Cell Metabolism*, vol. 4, no. 3, pp. 245–254, 2006.
- [56] K. L. Lipson, R. Ghosh, and F. Urano, “The role of IRE1 α in the degradation of insulin mRNA in pancreatic β -cells,” *PLoS ONE*, vol. 3, no. 2, Article ID e1648, 2008.
- [57] Y. Qiu, T. Mao, Y. Zhang et al., “A crucial role for RACK1 in the regulation of glucose-stimulated IRE1 α activation in pancreatic β cells,” *Science Signaling*, vol. 3, no. 106, article ra7, 2010.
- [58] G. P. Meares, K. J. Hughes, A. Naatz et al., “IRE1-dependent activation of AMPK in response to nitric oxide,” *Molecular and Cellular Biology*, vol. 31, no. 21, pp. 4286–4297, 2011.
- [59] N. B. Ruderman, D. Carling, M. Prentki, and J. M. Cacicedo, “AMPK, insulin resistance, and the metabolic syndrome,” *The Journal of Clinical Investigation*, vol. 123, no. 7, pp. 2764–2772, 2013.
- [60] J. D. Wikstrom, T. Israeli, E. Bachar-Wikstrom et al., “AMPK regulates ER morphology and function in stressed pancreatic beta-cells via phosphorylation of DRP1,” *Molecular Endocrinology*, vol. 27, no. 10, pp. 1706–1723, 2013.
- [61] M. Miani, M. L. Colli, L. Ladriere, M. Cnop, and D. L. Eizirik, “Mild endoplasmic reticulum stress augments the proinflammatory effect of IL-1 β in pancreatic rat beta-cells via the IRE1 α /XBPs pathway,” *Endocrinology*, vol. 153, no. 7, pp. 3017–3028, 2012.
- [62] T. Masaki, M. Yoshida, and S. Noguchi, “Targeted disruption of CRE-Binding factor TREB5 gene leads to cellular necrosis in cardiac myocytes at the embryonic stage,” *Biochemical and Biophysical Research Communications*, vol. 261, no. 2, pp. 350–356, 1999.
- [63] U. Özcan, Q. Cao, E. Yilmaz et al., “Endoplasmic reticulum stress links obesity, insulin action, and type 2 diabetes,” *Science*, vol. 306, no. 5695, pp. 457–461, 2004.
- [64] A.-H. Lee, K. Heidtman, G. S. Hotamisligil, and L. H. Glimcher, “Dual and opposing roles of the unfolded protein response regulated by IRE1 α and XBPI in proinsulin processing and insulin secretion,” *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, vol. 108, no. 21, pp. 8885–8890, 2011.
- [65] M. Usui, S. Yamaguchi, Y. Tanji et al., “Atf6 α -null mice are glucose intolerant due to pancreatic β -cell failure on a high-fat diet but partially resistant to diet-induced insulin resistance,” *Metabolism*, vol. 61, no. 8, pp. 1118–1128, 2012.
- [66] K. Yamamoto, K. Takahara, S. Oyadomari et al., “Induction of liver steatosis and lipid droplet formation in ATF6 α -knockout mice burdened with pharmacological endoplasmic reticulum stress,” *Molecular Biology of the Cell*, vol. 21, no. 17, pp. 2975–2986, 2010.
- [67] H.-Y. Seo, D. K. Yong, K.-M. Lee et al., “Endoplasmic reticulum stress-induced activation of activating transcription factor 6 decreases insulin gene expression via up-regulation of orphan nuclear receptor small heterodimer partner,” *Endocrinology*, vol. 149, no. 8, pp. 3832–3841, 2008.
- [68] F. Thameem, V. S. Farook, C. Bogardus, and M. Prochazka, “Association of amino acid variants in the activating transcription factor 6 gene (ATF6) on 1q21-q23 with type 2 diabetes in Pima Indians,” *Diabetes*, vol. 55, no. 3, pp. 839–842, 2006.
- [69] S. Fougeray, M.-A. Lorient, V. Nicaud, C. Legendre, E. Thervet, and N. Pallet, “Increased body mass index after kidney transplantation in activating transcription factor 6 single polymorphism gene carriers,” *Transplantation Proceedings*, vol. 43, no. 9, pp. 3418–3422, 2011.
- [70] R. N. Vellanki, L. Zhang, M. A. Guney, J. V. Rocheleau, M. Gannon, and A. Volchuk, “OASIS/CREB3L1 induces expression of genes involved in extracellular matrix production but not classical endoplasmic reticulum stress response genes in pancreatic β -cells,” *Endocrinology*, vol. 151, no. 9, pp. 4146–4157, 2010.
- [71] G. Boutzios, S. Livadas, E. Marinakis, N. Opie, F. Economou, and E. Diamanti-Kandarakis, “Endocrine and metabolic aspects of the Wolfram syndrome,” *Endocrine*, vol. 40, no. 1, pp. 10–13, 2011.
- [72] T. G. Barrett, S. E. Bunday, A. R. Fielder, and P. A. Good, “Optic atrophy in Wolfram (DIDMOAD) syndrome,” *Eye*, vol. 11, no. 6, pp. 882–888, 1997.

- [73] K. Cryns, T. A. Sivakumaran, J. M. W. van den Ouweland et al., "Mutational spectrum of the WFS1 gene in Wolfram syndrome, nonsyndromic hearing impairment, diabetes mellitus, and psychiatric disease," *Human Mutation*, vol. 22, no. 4, pp. 275–287, 2003.
- [74] F. Khanim, J. Kirk, F. Latif, and T. G. Barrett, "WFS1/wolframin mutations, wolfram syndrome, and associated diseases," *Human Mutation*, vol. 17, no. 5, pp. 357–367, 2001.
- [75] T. Yamada, H. Ishihara, A. Tamura et al., "WFS1-deficiency increases endoplasmic reticulum stress, impairs cell cycle progression and triggers the apoptotic pathway specifically in pancreatic β -cells," *Human Molecular Genetics*, vol. 15, no. 10, pp. 1600–1609, 2006.
- [76] A. C. Riggs, E. Bernal-Mizrachi, M. Ohsugi et al., "Mice conditionally lacking the Wolfram gene in pancreatic islet beta cells exhibit diabetes as a result of enhanced endoplasmic reticulum stress and apoptosis," *Diabetologia*, vol. 48, no. 11, pp. 2313–2321, 2005.
- [77] S. G. Fonseca, F. Urano, G. C. Weir, J. Gromada, and M. Burcin, "Wolfram syndrome 1 and adenylyl cyclase 8 interact at the plasma membrane to regulate insulin production and secretion," *Nature Cell Biology*, vol. 14, no. 10, pp. 1105–1112, 2012.
- [78] L. Shang, H. Hua, K. Foo et al., " β -cell dysfunction due to increased ER stress in a stem cell model of Wolfram syndrome," *Diabetes*, vol. 63, no. 3, pp. 923–933, 2014.
- [79] E. Karaskov, C. Scott, L. Zhang, T. Teodoro, M. Ravazzola, and A. Volchuk, "Chronic palmitate but not oleate exposure induces endoplasmic reticulum stress, which may contribute to INS-1 pancreatic β -cell apoptosis," *Endocrinology*, vol. 147, no. 7, pp. 3398–3407, 2006.
- [80] D. A. Cunha, P. Hekerman, L. Ladrière et al., "Initiation and execution of lipotoxic ER stress in pancreatic β -cells," *Journal of Cell Science*, vol. 121, no. 14, pp. 2308–2318, 2008.
- [81] M. Cnop, B. Abdulkarim, G. Bottu et al., "RNA-sequencing identifies dysregulation of the human pancreatic islet transcriptome by the saturated fatty acid palmitate," *Diabetes*, 2013.
- [82] H. Wang, G. Kouri, and C. B. Wollheim, "ER stress and SREBP-1 activation are implicated in B-cell glucolipotoxicity," *Journal of Cell Science*, vol. 118, no. 17, pp. 3905–3915, 2005.
- [83] S. G. Carlson, T. W. Fawcett, J. D. Bartlett, M. Bernier, and N. J. Holbrook, "Regulation of the C/EBP-related gene gadd153 by glucose deprivation," *Molecular and Cellular Biology*, vol. 13, no. 8, pp. 4736–4744, 1993.
- [84] C.-J. Huang, C.-Y. Lin, L. Haataja et al., "High expression rates of human islet amyloid polypeptide induce endoplasmic reticulum stress-mediated β -cell apoptosis, a characteristic of humans with type 2 but not type 1 diabetes," *Diabetes*, vol. 56, no. 8, pp. 2016–2027, 2007.
- [85] A. K. Cardozo, F. Ortis, J. Stirling et al., "Cytokines downregulate the sarcoendoplasmic reticulum pump Ca^{2+} ATPase 2b and deplete endoplasmic reticulum Ca^{2+} , leading to induction of endoplasmic reticulum stress in pancreatic β -cells," *Diabetes*, vol. 54, no. 2, pp. 452–461, 2005.
- [86] A. L. Anding, J. S. Chapman, D. W. Barnett, R. W. Curley Jr., and M. Claggett-Dame, "The unhydrolyzable fenretinide analogue 4-hydroxybenzylretinone induces the proapoptotic genes GADD153 (CHOP) and Bcl-2-binding component 3 (PUMA) and apoptosis that is caspase-dependent and independent of the retinoic acid receptor," *Cancer Research*, vol. 67, no. 13, pp. 6270–6277, 2007.
- [87] R. V. Rao, E. Hermel, S. Castro-Obregon et al., "Coupling endoplasmic reticulum stress to the cell death program. Mechanism of caspase activation," *The Journal of Biological Chemistry*, vol. 276, no. 36, pp. 33869–33874, 2001.
- [88] J. Hitomi, T. Katayama, Y. Eguchi et al., "Involvement of caspase-4 in endoplasmic reticulum stress-induced apoptosis and $\text{A}\beta$ -induced cell death," *Journal of Cell Biology*, vol. 165, no. 3, pp. 347–356, 2004.
- [89] X.-Z. Wang, B. Lawson, J. W. Brewer et al., "Signals from the stressed endoplasmic reticulum induce C/EBP-homologous protein (CHOP/GADD153)," *Molecular and Cellular Biology*, vol. 16, no. 8, pp. 4273–4280, 1996.
- [90] Y. Ma, J. W. Brewer, J. A. Diehl, and L. M. Hendershot, "Two distinct stress signaling pathways converge upon the CHOP promoter during the mammalian unfolded protein response," *Journal of Molecular Biology*, vol. 318, no. 5, pp. 1351–1365, 2002.
- [91] Y. Adachi, K. Yamamoto, T. Okada, H. Yoshida, A. Harada, and K. Mori, "ATF6 is a transcription factor specializing in the regulation of quality control proteins in the endoplasmic reticulum," *Cell Structure and Function*, vol. 33, no. 1, pp. 75–89, 2008.
- [92] B. Song, D. Scheuner, D. Ron, S. Pennathur, and R. J. Kaufman, "Chop deletion reduces oxidative stress, improves β cell function, and promotes cell survival in multiple mouse models of diabetes," *The Journal of Clinical Investigation*, vol. 118, no. 10, pp. 3378–3389, 2008.
- [93] T. Okada, H. Yoshida, R. Akazawa, M. Negishi, and K. Mori, "Distinct roles of activating transcription factor 6 (ATF6) and double-stranded RNA-activated protein kinase-like endoplasmic reticulum kinase (PERK) in transcription during the mammalian unfolded protein response," *Biochemical Journal*, vol. 366, part 2, pp. 585–594, 2002.
- [94] H. Zinszner, M. Kuroda, X. Wang et al., "CHOP is implicated in programmed cell death in response to impaired function of the endoplasmic reticulum," *Genes & Development*, vol. 12, no. 7, pp. 982–995, 1998.
- [95] Y. Ariyama, Y. Tanaka, H. Shimizu et al., "The role of CHOP messenger RNA expression in the link between oxidative stress and apoptosis," *Metabolism*, vol. 57, no. 12, pp. 1625–1635, 2008.
- [96] S. Oyadomari, K. Takeda, M. Takiguchi et al., "Nitric oxide-induced apoptosis in pancreatic β cells is mediated by the endoplasmic reticulum stress pathway," *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, vol. 98, no. 19, pp. 10845–10850, 2001.
- [97] T. Satoh, N. Abiru, M. Kobayashi et al., "CHOP deletion does not impact the development of diabetes but suppresses the early production of insulin autoantibody in the NOD mouse," *Apoptosis*, vol. 16, no. 4, pp. 438–448, 2011.
- [98] M. Maris, L. Overbergh, C. Gysemans et al., "Deletion of C/EBP homologous protein (Chop) in C57Bl/6 mice dissociates obesity from insulin resistance," *Diabetologia*, vol. 55, no. 4, pp. 1167–1178, 2012.
- [99] E. Kojima, A. Takeuchi, M. Haneda et al., "The function of GADD34 is a recovery from a shutoff of protein synthesis induced by ER stress: elucidation by GADD34-deficient mice," *The FASEB Journal*, vol. 17, no. 11, pp. 1573–1575, 2003.
- [100] S. J. Marciniak, C. Y. Yun, S. Oyadomari et al., "CHOP induces death by promoting protein synthesis and oxidation in the stressed endoplasmic reticulum," *Genes & Development*, vol. 18, no. 24, pp. 3066–3077, 2004.

- [101] H. Yamaguchi and H.-G. Wang, "CHOP is involved in endoplasmic reticulum stress-induced apoptosis by enhancing DR5 expression in human carcinoma cells," *The Journal of Biological Chemistry*, vol. 279, no. 44, pp. 45495–45502, 2004.
- [102] N. Ohoka, S. Yoshii, T. Hattori, K. Onozaki, and H. Hayashi, "TRB3, a novel ER stress-inducible gene, is induced via ATF4-CHOP pathway and is involved in cell death," *The EMBO Journal*, vol. 24, no. 6, pp. 1243–1255, 2005.
- [103] D. A. Cunha, M. Igoillo-Esteve, E. N. Gurzov et al., "Death protein 5 and p53-upregulated modulator of apoptosis mediate the endoplasmic reticulum stress-mitochondrial dialog triggering lipotoxic rodent and human beta-cell apoptosis," *Diabetes*, vol. 61, no. 11, pp. 2763–2775, 2012.
- [104] Y. Y. Jang, N. K. Kim, M. K. Kim et al., "The effect of tribbles-related protein 3 on ER stress-suppressed insulin gene expression in INS-1 cells," *Korean Diabetes Journal*, vol. 34, no. 5, pp. 312–319, 2010.
- [105] C. W. Liew, J. Bochenski, D. Kawamori et al., "The pseudokinase tribbles homolog 3 interacts with ATF4 to negatively regulate insulin exocytosis in human and mouse β cells," *The Journal of Clinical Investigation*, vol. 120, no. 8, pp. 2876–2888, 2010.
- [106] K. D. McCullough, J. L. Martindale, L.-O. Klotz, T.-Y. Aw, and N. J. Holbrook, "Gadd153 sensitizes cells to endoplasmic reticulum stress by down-regulating Bcl2 and perturbing the cellular redox state," *Molecular and Cellular Biology*, vol. 21, no. 4, pp. 1249–1259, 2001.
- [107] F. Allagnat, M. Fukaya, T. C. Nogueira et al., "C/EBP homologous protein contributes to cytokine-induced pro-inflammatory responses and apoptosis in beta-cells," *Cell Death & Differentiation*, vol. 19, no. 11, pp. 1836–1846, 2012.
- [108] H. Nishitoh, A. Matsuzawa, K. Tobiume et al., "ASK1 is essential for endoplasmic reticulum stress-induced neuronal cell death triggered by expanded polyglutamine repeats," *Genes & Development*, vol. 16, no. 11, pp. 1345–1355, 2002.
- [109] E. Yamamoto, Y.-F. Dong, K. Kataoka et al., "Olmesartan prevents cardiovascular injury and hepatic steatosis in obesity and diabetes, accompanied by apoptosis signal regulating Kinase-1 inhibition," *Hypertension*, vol. 52, no. 3, pp. 573–580, 2008.
- [110] K. Yamaguchi, K. Takeda, H. Kadowaki et al., "Involvement of ASK1-p38 pathway in the pathogenesis of diabetes triggered by pancreatic β cell exhaustion," *Biochimica et Biophysica Acta*, vol. 1830, no. 6, pp. 3656–3663, 2013.
- [111] T. Yoneda, K. Imaizumi, K. Oono et al., "Activation of caspase-12, an endoplasmic reticulum (ER) resident caspase, through tumor necrosis factor receptor-associated factor 2-dependent mechanism in response to the ER stress," *The Journal of Biological Chemistry*, vol. 276, no. 17, pp. 13935–13940, 2001.
- [112] P. Hu, Z. Han, A. D. Couvillon, R. J. Kaufman, and J. H. Exton, "Autocrine tumor necrosis factor alpha links endoplasmic reticulum stress to the membrane death receptor pathway through IRE1 α -mediated NF- κ B activation and down-regulation of TRAF2 expression," *Molecular and Cellular Biology*, vol. 26, no. 8, pp. 3071–3084, 2006.
- [113] M. F. Tonnesen, L. G. Grunnet, J. Friberg et al., "Inhibition of nuclear factor- κ B or Bax prevents endoplasmic reticulum stress- but not nitric oxide-mediated apoptosis in INS-1E cells," *Endocrinology*, vol. 150, no. 9, pp. 4094–4103, 2009.
- [114] C. Hetz, P. Bernasconi, J. Fisher et al., "Proapoptotic BAX and BAK modulate the unfolded protein response by a direct interaction with IRE1 α ," *Science*, vol. 312, no. 5773, pp. 572–576, 2006.
- [115] D. A. Rodriguez, S. Zamorano, F. Lisbona et al., "BH3-only proteins are part of a regulatory network that control the sustained signalling of the unfolded protein response sensor IRE1 α ," *The EMBO Journal*, vol. 31, no. 10, pp. 2322–2335, 2012.
- [116] F. Lisbona, D. Rojas-Rivera, P. Thielen et al., "BAX Inhibitor-1 is a negative regulator of the ER stress sensor IRE1 α ," *Molecular Cell*, vol. 33, no. 6, pp. 679–691, 2009.
- [117] I. Marhfour, X. M. Lopez, D. Lefkaditis et al., "Expression of endoplasmic reticulum stress markers in the islets of patients with type 1 diabetes," *Diabetologia*, vol. 55, no. 9, pp. 2417–2420, 2012.
- [118] M. G. Hartman, D. Lu, M.-L. Kim et al., "Role for activating transcription factor 3 in stress-induced β -cell apoptosis," *Molecular and Cellular Biology*, vol. 24, no. 13, pp. 5721–5732, 2004.

4 Résultats non publiés

Sur la base des résultats obtenus nous avons mis en place deux approches pharmacologiques afin d'augmenter la sécrétion d'insuline et la masse de la cellule β . La première est basée sur l'inhibition des HDACs afin d'augmenter indirectement l'activité des HAT dont Kat2b. La deuxième consistait à augmenter l'activité de Kat2b directement n utilisant un agoniste.

4.1. L'inhibition des HDAC augmente la sécrétion d'insuline ne réponse au glucose

L'inhibition des HDAC est connue pour induire une augmentation de l'activité des HAT. Nous avons donc utilisé deux inhibiteurs, la Trichostatin A (TSA), un inhibiteur de la classe I et II des HDAC, et le MS275, inhibiteur de la HDAC 1 et 3 (Marks et al., 2004). L'utilisation des deux inhibiteurs *in vitro*, sur la lignée cellulaire Min6, conduit à une augmentation de l'acétylation globale (figure 20A). Comme attendu, le traitement avec ces inhibiteurs augmente la sécrétion de l'insuline en réponse au glucose (figure 20B). Cependant, au niveau génique, l'effet sur l'expression des gènes de l'UPR est moins cohérent avec nos observations précédentes concernant l'inactivation de Kat2b dans les îlots des différents modèles animaux et l'homme. Nous observons une augmentation de l'expression des gènes de l'insuline (Ins1 et Ins2) et de Pdx1 avec les deux inhibiteurs ainsi que quelques marqueurs de l'UPR tels que ATF6, HSPA5 et Ero1 β . Cependant, pour ATF4, HSP90b1, XBPu et XBP1s soit nous n'observons pas d'effet, soit nous observons une diminution selon l'inhibiteur utilisé (figure 20C).

La différence observée est reliée à une biologie différente entre HDAC et les HAT. L'augmentation de la sécrétion d'insuline est probablement reliée à l'inhibition de la HDAC3. En effet, il a été montré récemment que l'inhibition de cette dernière à l'aide d'un inhibiteur spécifique augmente la sécrétion d'insuline (Lundh et al., 2015), alors que l'effet sur les marqueurs de UPR semble, lui dépendant de la HDAC 1 et 3 (Lundh et al., 2012). L'effet sur la masse et la compensation de la cellule β n'a jamais été étudié avec les inhibiteurs de HDAC. Néanmoins, il a été montré que l'inhibition des HDAC 4, 5 et 9 favorise la différenciation des cellules β (Lenoir et al., 2011), il serait donc intéressant d'étudier dans ce contexte les marqueurs de l'UPR.

L'ensemble de ces résultats suggère l'existence de différents complexes répresseurs selon la cible, contrairement au complexe activateurs qui sont dépendant de l'activité HAT de Kat2b seul. Il serait aussi intéressant de réaliser des tests de sécrétion d'insuline après l'inhibition des HDAC suite a un siRNA Kat2b dans la lignée Min6 ou dans les îlots de souris Kat2b^{-/-}. Cela permettra de déterminer si les effets positifs de l'inhibition de HDAC sur la sécrétion de l'insuline sont reliés à une activation de Kat2b.

En conclusion, bien que l'inhibition des HDAC ait un effet positif sur la sécrétion de l'insuline, les effets sur les marqueurs de l'UPR sont moins clairs suggérant que les effets des HDAC et des HAT ne sont sans doute pas des effets miroir.

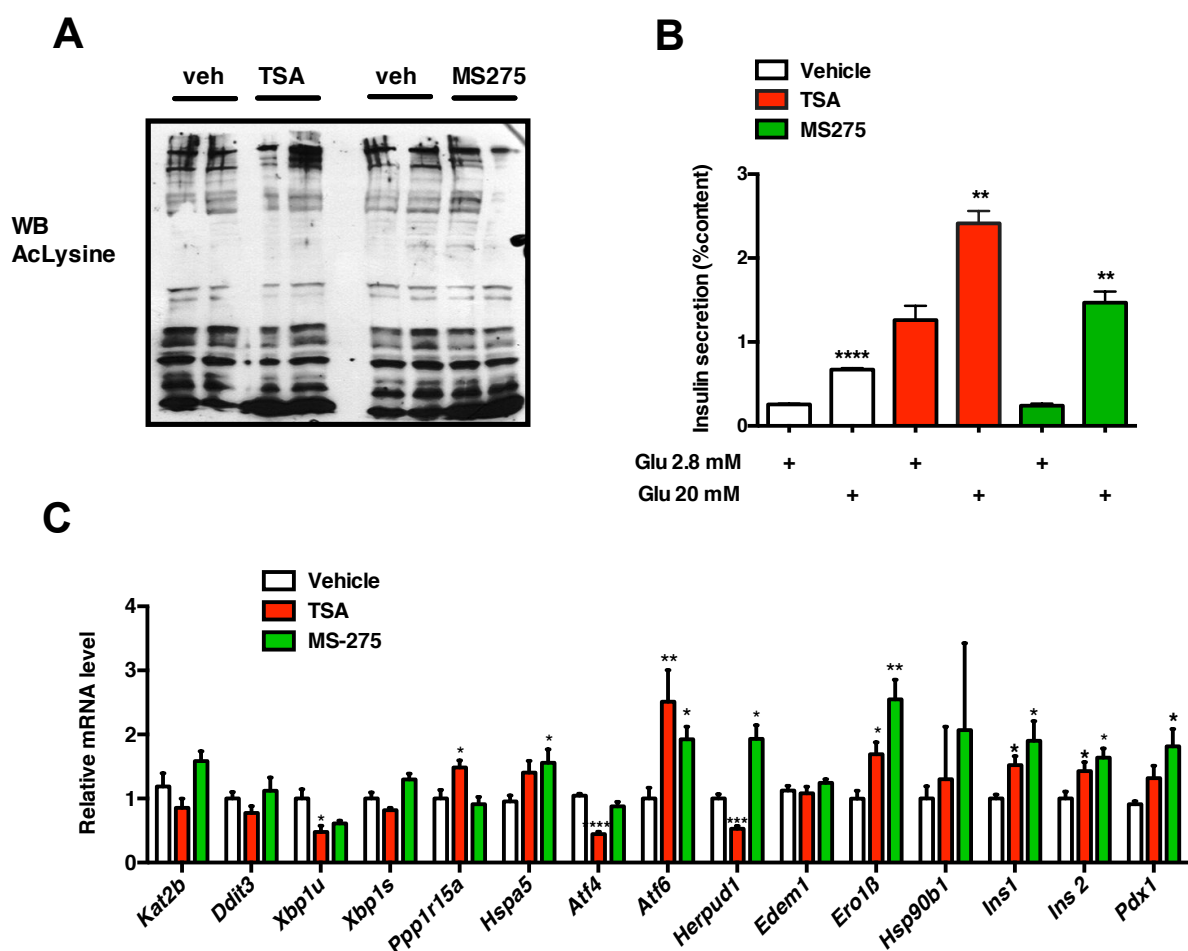


Figure 20: L'inhibition des HDAC augmente la sécrétion de l'insuline en réponse au glucose. (A) western blot anti-acétyl-lysine après un traitement de 16 heures par le véhicule, la TSA ou le MS275 (B) test de sécrétion d'insuline induite par le glucose (GSIS) après un traitement de 16 heures par le véhicule, la TSA ou le MS275 (C) expression génique dans la lignée Min6 après un traitement de 16 heures par le véhicule, la TSA ou le MS275. Toutes les valeurs sont exprimées en moyenne ± SEM ; * p<0.05, ** p<0.01 et *** p<0.001.

4.2. Effet de l'activation pharmacologique de Kat2b sur la sécrétion d'insuline

Basé sur les résultats obtenus chez la souris et l'homme, nous avons entrepris une approche pharmacologique afin d'étudier l'effet de l'activation de Kat2b sur la sécrétion d'insuline. De façon intéressante, l'agoniste de Kat2b, le SPV106, est capable d'augmenter *in vitro* et *in vivo* son activité (Colussi et al., 2011), (Wei et al., 2012). De plus, une étude récente a montré que le traitement de cellules cardiaques mésenchymateuses de patients diabétiques avec les SPV106 améliore leur fonction (Vecellio et al., 2014). Nous avons donc utilisé ce composé *in vitro* et *in vivo* afin de tester l'hypothèse de l'activation pharmacologique de Kat2b comme nouvelle stratégie pour le traitement du DT2.

4.2.1. Le SPV106, agoniste spécifique de Kat2b, module la sécrétion d'insuline

Nous avons tout d'abord confirmé que le traitement avec 25 μ M de SPV106 dans la lignée Min6 augmente bien l'acétylation sur la lysine 9 de l'histone H3 (figure 21A-B). Afin de tester la spécificité du SPV106, nous avons utilisé des siRNA contre Kat2b dans les Min6 et des îlots de souris Kat2b^{-/-}. L'efficacité du siRNA a été confirmée en analysant l'expression de l'ARNm (figure 21C) et de la protéine (figure 21D) Kat2b. La diminution de l'expression de Kat2b conduit à la diminution de la sécrétion d'insuline en réponse au glucose (figure 21E). Le traitement des cellules avec le SPV106 augmente la sécrétion d'insuline en réponse au glucose, suggérant que l'activation de Kat2b augmente la sécrétion de l'insuline. Cet effet est perdu lorsque nous diminuons l'expression de Kat2b, confirmant que l'augmentation de la sécrétion de l'insuline par le SPV106 est due à l'activation de Kat2b (figure 21F). La même expérience a été réalisée avec les îlots de souris Kat2b^{-/-} (figure 21G-H). Le traitement avec le SPV106 augmente la sécrétion d'insuline en réponse au glucose dans les îlots de souris Kat2b^{+/+} comparé au traitement DMSO, alors que cet effet est perdu dans les îlots de souris Kat2b^{-/-} (figure 21I), suggérant que la SPV106 agit spécifiquement sur Kat2b afin d'augmenter la sécrétion de l'insuline. Enfin, le traitement d'îlots humains avec l'agoniste de Kat2b augmente la sécrétion d'insuline en réponse au glucose (figure 21J). L'ensemble de ces résultats montre que

l'activation de Kat2b par son agoniste le SPV106 augmente la sécrétion d'insuline en réponse au glucose.

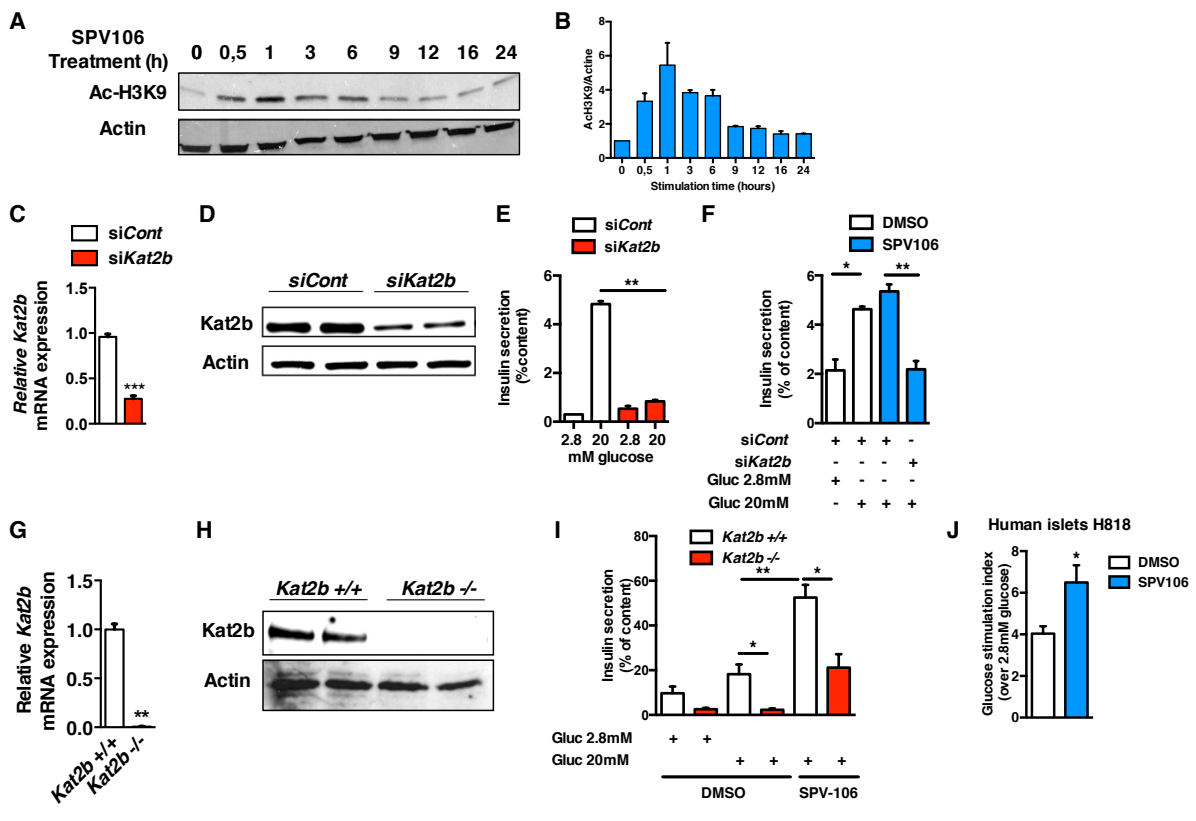


Figure 21 :Le SPV106 est un agoniste spécifique de Kat2b qui module la sécrétion de l'insuline. (A-B) Western blot (A) et quantification (B) de l'acétylation de lysine 9 de l'histone H3 après un traitement avec 25 μM de SPV106 dans la lignée cellulaire Min6 au temps indiqué dans la Figure. L'actine a été utilisée comme contrôle et la quantification a été réalisée à l'aide du logiciel ImageJ. (C) expression génique de Kat2b dans la lignée cellulaire Min6 après une transfection avec le siRNA contrôle (siCont) ou le siRNA Kat2b (siKat2b) (D) Western blot montrant la diminution de l'expression de la protéine Kat2b dans la lignée cellulaire Min6 après un siRNA Kat2b. L'actine a été utilisée comme contrôle (E) test de sécrétion d'insuline induite par le glucose (GSIS) après une diminution de l'expression de Kat2b dans la lignée cellulaire Min6. (F) GSIS sur le contrôle et le siRNA Kat2b réalisée dans la lignée cellulaire Min6 après un traitement avec le véhicule (DMSO) ou 25 μM de SPV106 (G-H) l'expression (G) du mRNA (H) et de la protéine Kat2b dans les îlots isolés de souris Kat2b^{+/+} et Kat2b^{-/-} nourries avec un régime standard (n=4-5) (I) GSIS sur les îlots isolés de souris Kat2b^{+/+} et Kat2b^{-/-} traités avec le DMSO ou le SPV106. Les résultats sont normalisés au contenu en insuline (J) GSIS sur des îlots humains traités 16 heures avec le DMSO ou le SPV106. L'index de stimulation de glucose est calculé en ratio de l'insuline stimulée par rapport au basal, normalisé sur le contenu en insuline. Toute les valeurs sont exprimées en moyenne ± SEM ; * p<0.05, ** p<0.01 et *** p<0.001.

4.2.2. Le SPV106 améliore le profil glycémique des souris soumises à un régime riche en graisse.

Nous avons ensuite voulu savoir si le SPV106 pouvait avoir des effets *in vivo*. Nous avons tout d'abord traité pendant 15 jours des souris maintenues sous régime standard avec le SPV106. Ce dernier n'a aucun effet sur la tolérance au glucose (figure 22A et 2B), la sécrétion d'insuline (figure 22C) et la prise alimentaire (figure 22D). De façon très intéressante, le traitement pendant 15 jours des souris mises sous régime riche en graisse (HFD) améliore la tolérance au glucose (figure 22E et 22F) et la sécrétion d'insuline (figure 22G). De plus, le traitement avec le SPV106 améliore la sensibilité à l'insuline (figure 22H et 22I) sans modifier la prise alimentaire (figure 22J). L'ensemble de ces résultats montre que l'activation de Kat2b *in vivo* par son agoniste le SPV106 améliore le profil glycémique des souris diabétiques en favorisant la sécrétion et la sensibilité de l'insuline.

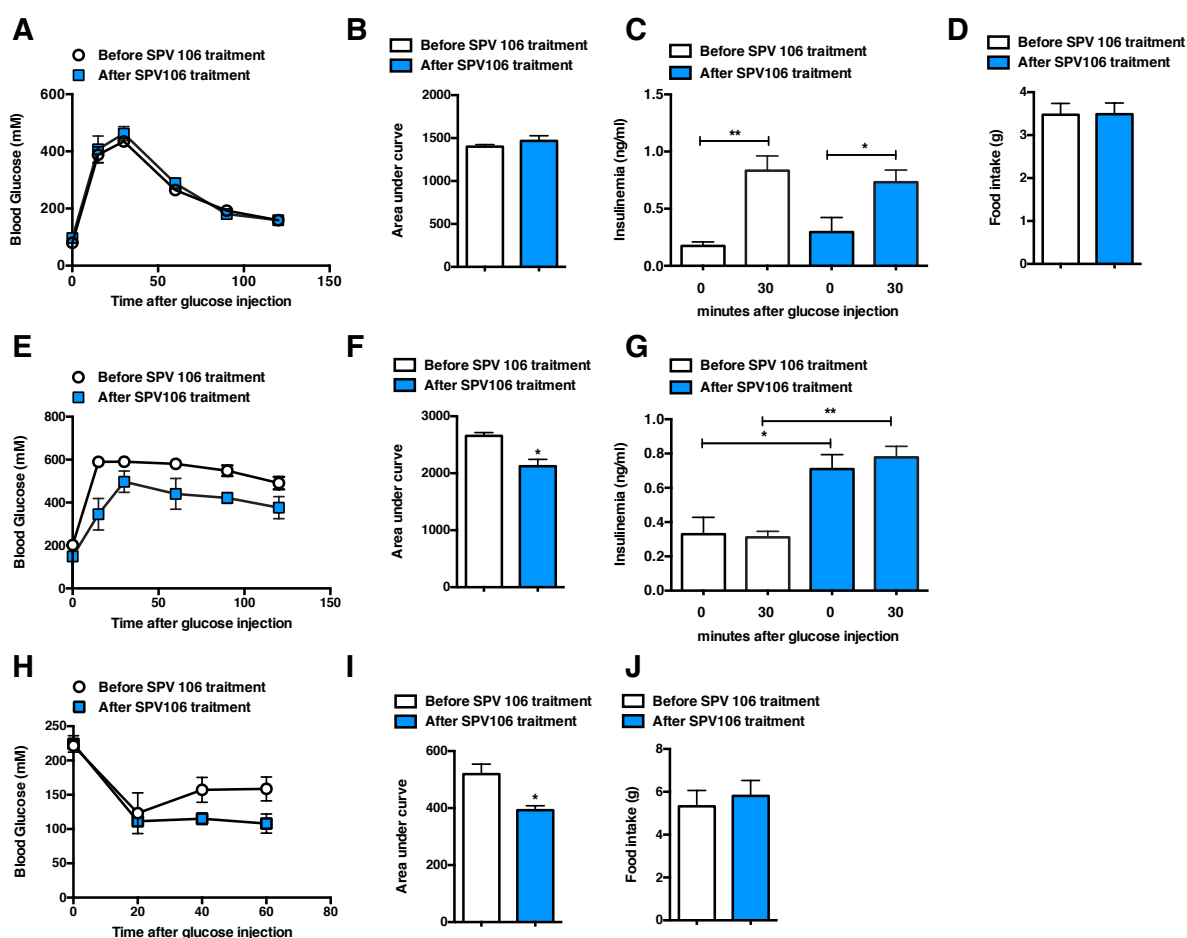


Figure 22 :Le SPV106 améliore le profile glycémique des souris sous régime riche en graisse. (A) Après 16 heures de jeûne, des souris nourries avec un régime standard (n=5) sont soumises à un test de tolérance au glucose (ipGTT), puis traitées pendant 15 jours avec 25mg/kg de SPV106, (1 injection par jour) elles sont ensuite mises à jeun 16 heures et soumises à un ipGTT (B) aire sous la courbe des ipGTT avant et après traitement avec le SPV106 (C) mesure de l'insuline plasmatique au cours de l'ipGTT avant et après traitement avec le SPV106 (D) suivi de la prise de nourriture (g/souris) pendant 15 jours avant et après l'injection du SPV106 (E) ipGTT après 16 heures de jeun chez des souris soumises à un régime riche en graisse (HFD) pendant 12 semaines ; avant et après 15 jours de traitement avec le SPV106, une injection par jour (F) aire sous la courbe de l'ipGTT chez les souris sous HFD avant et après traitement avec le SPV106 (G) mesure de l'insuline plasmatique au cours de l'ipGTT chez les souris sous HFD avant et après traitement avec le SPV106 (H) après un jeun de 6 heures un test de tolérance à l'insuline (ITT) a été réalisé chez les souris sous HFD avant et après 9 jours de traitement avec le SPV106 (I) aire sous la courbe de l'ITT chez les souris sous HFD avant et après 9 jours de traitement avec le SPV106 (J) suivi de la prise de nourriture (g/souris) pendant 15 jours avant et après l'injection du SPV106 chez les souris sous HFD. Toute les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM ; * p<0.05, ** p<0.01 et *** p<0.001.

4.2.3. *Kat2b agit sur la voie PKA-Creb*

Les analyses préliminaires des îlots de souris traitées avec le SPV106 montrent que l'effet du traitement n'est pas lié à l'activation des gènes de l'UPR (résultats non présentés). Cela est du probablement au fait que ces voies sont déjà très activées lors d'un régime HFD. En effet, les 14 premières semaines d'un régime HFD sont marquées par une augmentation de l'expression des marqueurs de l'UPR participant à la compensation de la cellule β . L'expression de ces marqueurs commence à diminuer à partir de la 16^{ème} semaine du régime (Chan et al., 2013). Les effets bénéfiques du SPV106 sont probablement dus à l'activation des voies de compensation de la cellule β . Cette hypothèse est confortée par le fait que nous avons observé que *Kat2b* est capable d'interagir avec la PKA, favorisant probablement l'activation du facteur de transcription *Creb* (figure 23A). De plus, avec les siRNA dirigés contre *Kat2b* dans les îlots humains, nous avons observé une diminution des cibles de *Creb* tels que *Bcl2* et *IRS2* (figure 23B). En effet, l'activation de la PKA spécifiquement dans la cellule β augmente la sécrétion gluco-dépendante de l'insuline (Kaihara et al., 2013). Nous observons que le traitement avec l'exendine 4, un activateur de la voie PKA, augmente la phosphorylation de *Creb* sur le site d'action de la PKA. L'augmentation de l'activité de la PKA est associée avec une augmentation de stabilité de *Kat2b* (figure 23C).

L'ensemble de ces résultats montre que *Kat2b* interagit avec la PKA dans les Min6. Cette interaction conduit probablement à l'acétylation de la PKA et à l'augmentation de son activité. Ces résultats sont en concordance avec les résultats

récemment publiés et qui montrent que Kat2b interagit avec la PKA dans la levure. Cette équipe montre que cette interaction conduit à l'acétylation de la PKA sur un résidu qui semble être conservé entre les espèces, la lysine K313. La mutation de ce dernier conduit à une forme mutée non acétylable de la PKA qui répond moins au glucose (Filteau et al., 2015) suggérant que le même mécanisme peut être retrouvé dans la cellule β . Ainsi, le SPV106 serait capable d'augmenter cette interaction et de favoriser, par ce mécanisme, la sécrétion d'insuline en réponse au glucose.

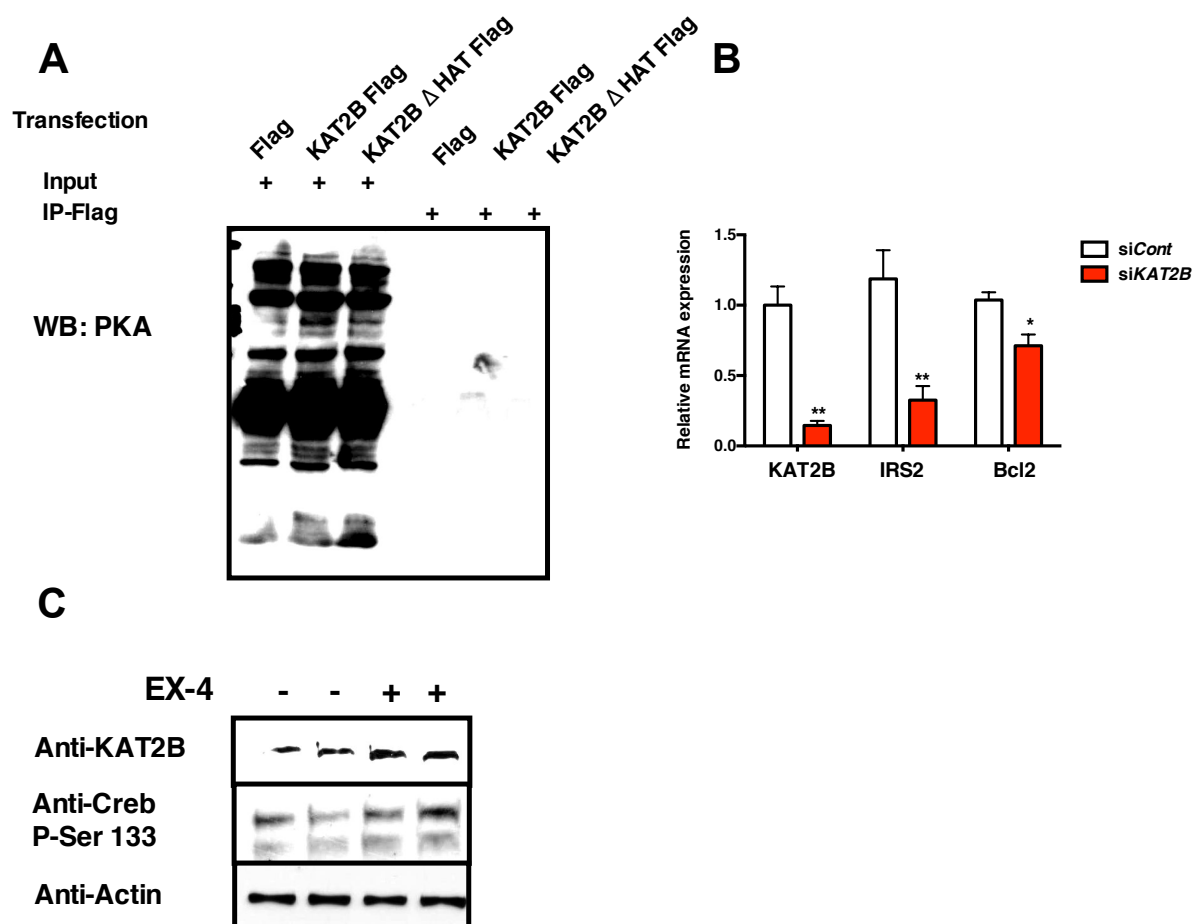


Figure 23: Kat2b régule la voie PKA-Creb. (A) Immunoprécipitation à l'aide de billes Flag dans les Min6, après 48 heures de transfection soit du plasmide Flag seul, soit du plasmide Kat2b-Flag, soit du plasmide Kat2b Δ HAT-Flag (B) expression génique dans les îlots humains suite au siRNA Kat2b (n=3) (C) western blot anti-Kat2b, Anti-Creb phospho serine 133 après un traitement avec le véhicule (DMSO) ou 50 nM d'exendine-4 (EX-4) pendant 4 heures. L'actine a été utilisée comme contrôle. Toutes les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM ; * p<0.05, ** p<0.01 et *** p<0.001.

4.2.4. Discussions, perspectives et conclusion

Nos résultats montrent que l'activation de Kat2b augmente la sécrétion d'insuline dans les îlots murins et humains. De façon intéressante, le traitement de souris diabétiques avec le SPV106 améliore leur profil glycémique. Cet effet n'est pas seulement dû à une augmentation de la sécrétion d'insuline mais aussi à une amélioration de la sensibilité à l'insuline, suggérant un effet périphérique du SPV106. Des travaux récents ont montrés que l'injection du SPV106 augmente la glycémie via l'augmentation de la néoglucogénèse. Les auteurs comparent dans leurs résultats l'effet du SPV106 à l'effet d'un antagoniste de Kat2b (l'acide anacardique) et concluent que l'activation de Kat2b augmente la néoglucogénèse (Ravnskjaer et al., 2013). Nous avons analysé le foie des souris Kat2b^{-/-} et nous n'observons pas d'altération de la voie néoglucogénique. De plus, une autre étude montre que Kat2b interagit avec PGC1 α , favorisant sa dégradation via le protéasome et diminuant ainsi la néoglucogénèse. Dans notre étude, nous n'observons pas d'augmentation de la glycémie à jeun, ni aucune dérégulation de la néoglucogénèse suite à l'injection du SPV106. Il serait cependant intéressant d'étudier plus en détail l'effet du SPV106 sur le foie.

Les effets bénéfiques du SPV106 que nous observons dans la cellule β sont probablement dus à l'activation de la voie PKA. De nombreuses études impliquent la voie PKA-Creb dans régulation de la masse de la cellule β via l'expression du récepteur à l'insuline IRS2 (Jhala et al., 2003), (Park et al., 2008). Dans les souris Kat2b^{-/-}, nous avons montré une perte de la compensation durant un HFD. Il serait donc très intéressant d'analyser l'effet de l'agoniste de Kat2b sur la masse de la cellule β . Il serait aussi judicieux de tester l'effet du SPV106 sur d'autres modèles de DT2 tels que les souris db/db.

Ces résultats révèlent également que l'activation de la voie Glp1, à l'aide de son agoniste exendin-4, stabilise et/ou augmente la traduction de Kat2b. Il serait donc intéressant d'étudier l'effet des agonistes du Glp1 dans un contexte Kat2b^{-/-} et de comprendre si les effets bénéfiques du Glp1 sont médiés par Kat2b. En effet, le Glp1 a un double rôle dans la cellule β , un rôle de sécretagogue et un rôle protecteur de la cellule β favorisant la prolifération et la survie de cette dernière (Xie et al., 2014),

(Stoffers, 2004). De plus, des études du laboratoire du Dr Drucker montrent que l'activation de la voie Glp1 par l'Ex-4, favorise l'activation de la voie ATF4-eIF2a, une des voies régulée par Kat2b (Yusta et al., 2006). Cette étude nous permettrait peut-être de mettre en lien les effets transcriptionnels et non-transcriptionnels de Kat2b.

En conclusion, l'activation de Kat2b par le SPV106 a des effets bénéfiques en améliorant le profil glycémique des souris diabétiques. Nous montrons que le SPV106 pourrait constituer un nouvel anti-diabétique. Des études complémentaires permettraient de mieux comprendre les mécanismes d'action de cet agoniste, notamment sur la sensibilité à l'insuline.

Ces résultats montrent qu'en plus de la régulation de la transcription, Kat2b est capable d'interagir et de réguler des protéines cytoplasmiques.

4.3. Kat2b interagit avec des protéines cytoplasmiques

Il est bien connu que les HAT sont capables de réguler les protéines histones et non-histones. Dans les premiers résultats de ce manuscrit, nous avons montré que Kat2b régule la sécrétion d'insuline *via* la modulation de la transcription des gènes de l'UPR (Article 1). Nous avons ensuite montré que Kat2b interagissait avec la PKA, une protéine cytoplasmique (activation de Kat2b). Nous avons voulu étudier l'interactome global de Kat2b dans la cellule β pancréatique. Pour ce faire, nous avons réalisé des expériences de protéomique en utilisant la technologie LC-MS-MS sur des Min6 transfectées avec une construction Kat2b-Flag. Avant de réaliser l'immunoprécipitation, nous avons traité les cellules avec 2,8 ou 20 mM de glucose et/ou du SPV106. Le profil en nitrate d'argent du gel montre que Kat2b est capable d'interagir avec de nombreuses protéines (figure 24). De plus, cette interaction est modulée avec les traitements. Enfin, nous observons que le traitement avec le SPV106 induit le même profil que le traitement avec 20mM de glucose. Nous avons cependant été confronté au problème de la limitation de sensibilité de la technique. En effet, nous avons été contraints de regrouper les bandes selon leur poids moléculaire, afin de pouvoir détecter un signal. Cette stratégie a cependant permis d'identifier un certains nombres d'interactants de Kat2b (Tableau 4). Nous avons perdu certaines informations sur les interactions différentielles dues aux différents traitements. De plus, nous n'avons pas pu identifier toutes les interactions. En effet, les bandes les moins représentées n'étaient pas identifiables.

Dans l'ensemble des protéines identifiées, nous retrouvons des protéines déjà connues pour interagir avec Kat2b, tel que la Pyruvate kinase isozymes M1/M2 et d'autres protéines que nous avons déjà identifiées telles que la PKA. L'identification de certaines protéines connues pour interagir avec Kat2b valide que la stratégie que nous avons utilisée (LC-MS-MS) est efficace.

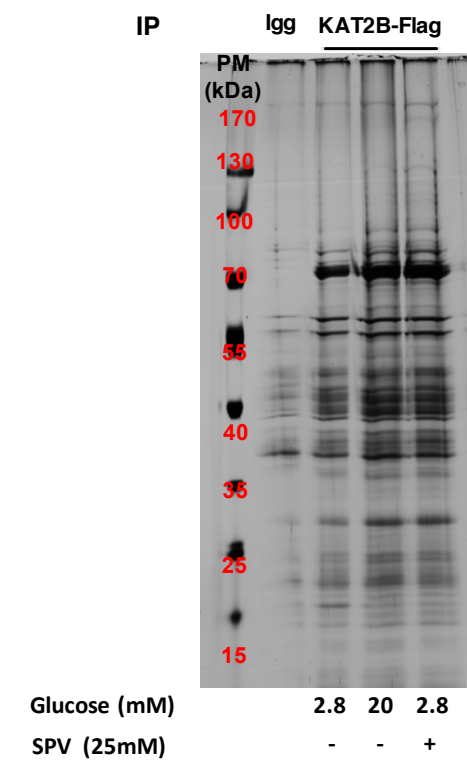


Figure 24 :Gel de nitrate d'argent d'une immunoprécipitation Kat2b. réalisé après une immunoprécipitation du Flag à l'aide des billes Flag sur des extraits protéiques de Min6 transfecté avec le plasmide flag ou le plasmide Kat2b-Flag traité soit avec 2,8 mM glucose, 20mM glucose ou le SPV106 en 2,8 mM glucose.

Nous observons que Kat2b interagit avec de nombreuses protéines chaperonnes telles que HSPA5 (Bip/Grp78), HSP8, HSP60, PDI, HSP90. Nous avons confirmé l'interaction de Kat2b avec HSPA5 (résultats non présentés). Ces résultats suggèrent que Kat2b pourrait réguler l'activité de ces protéines par acétylation et/ou par ubiquitinylation. En effet, l'acétylation de la HSP90 module son activité et détermine sa capacité à interagir avec d'autres protéines (Scroggins et al., 2007). Récemment, il a été montré que HSPA5 est également acétylée dans la lumière du RE (Garcia et al., 1998). Cette acétylation est impliquée dans son interaction avec PERK, régulant ainsi l'UPR (Rao et al., 2010). Nous avons observé que la diminution de l'expression de Kat2b dans les Min6 conduisait à une diminution de l'activation de voie PERK-eIF2 α . L'ensemble de ces résultats suggère que, en plus de réguler la transcription des gènes de l'UPR, Kat2b régulerait également l'activation de la voie PERK-eIF2 α et probablement les autres voies canoniques de l'UPR *via* l'acétylation de HSPA5 dans le RE. En effet, par des études de microscopie électronique, en utilisant un anticorps dirigé contre Kat2b et marqué à l'or (technique d'immunogold), nous avons

observé que cette protéine est aussi localisée au niveau de RE. Dans la cellule β , HSPA5 joue un rôle central dans la régulation de la sécrétion d'insuline. En effet, il a été montré que la surexpression de HSPA5 protège la cellule β contre les effets d'une exposition prolongée au glucose et restaure la sécrétion d'insuline en réponse au glucose (Zhang et al., 2009). Il serait donc intéressant d'étudier l'effet de l'acétylation de HSPA5 par Kat2b dans un contexte de glucotoxicité.

Kat2b interagit également avec la protéine disulfide-isomérase (PDI), responsable de la rétention de la pro-insuline dans le RE et de la catalyse des ponts disulfures, notamment ceux de la l'insuline (Rajpal et al., 2012). Nous avons observé, par microscopie électronique à transmission, dans les îlots des souris Kat2b^{-/-}, une accumulation de bâtonnets d'insuline. Il serait intéressant de savoir si cette accumulation n'est pas liée à une diminution de l'activité de la PDI en absence de Kat2b.

Les résultats de la spectrométrie de masse montrent également que Kat2b interagit avec un certains nombres de kinases, notamment la PKA, mais également la Serine/threonine-protein kinase P38 et la Serine/arginine-rich protein-specific kinase (SRPK). La P38 est impliquée dans la régulation du récepteur à l'insuline IRS2 et la prolifération de la cellule β (Zhou et al., 2014). De plus, le traitement *in vivo* des rats rendus diabétiques (par injection à la streptozotocine) avec inhibiteur global des HDAC (Sodium butyrate), améliore l'homéostasie glucidique en augmentant la prolifération et la fonction des cellules β par la modulation de la voie P38 (Khan and Jena, 2014). Ces données de la littérature suggèrent que l'augmentation de l'activité HAT, notamment celle de Kat2b, est bénéfique pour la survie et la fonction de la cellule β *via* cette voie. Ainsi, l'interaction de Kat2b avec la P38 serait probablement bénéfique pour la cellule β et participerait aux effets observés par les auteurs. Il serait intéressant d'étudier l'impact de cette acétylation dans les modèles de souris Kat2b^{-/-} ainsi que l'effet de l'activation de Kat2b par le SPV106 sur la voie P38/MAPK.

La SRPK est également une kinase importante dans la régulation des protéines SR. Ces protéines sont impliquées dans la régulation constitutive et alternative de l'épissage de l'ARN. Leur phosphorylation par les kinases SRPK augmente leur

activité et régule ainsi leurs fonctions. Des études récentes ont montré que la balance acétylation/déacétylation a été impliquée dans la régulation de la translocation nucléaire des SRPK. Les auteurs montrent que l'acétylation est une modification post-traductionnelle importante pour la régulation de l'activité et du niveau d'expression des protéines SR en réponse à un stress génotoxique (Edmond et al., 2011). Il serait intéressant d'étudier le rôle de Kat2b dans la régulation de ces protéines et l'impact de cette interaction sur l'épissage des ARN dans un contexte métabolique dans la cellule β pancréatique.

Enfin, Kat2b interagit avec de nombreuses autres protéines citées dans le tableau 4, notamment des phospholipases, des protéines du cytosquelette, des protéines régulant la traduction et l'élongation ainsi que des ATPases, démontrant que cette HAT est impliquée dans de nombreux processus biologiques de la cellule β .

Tableau 4 : Interactome de Kat2b dans la lignée Min6

Mascot protein accession number	Protein name
Gi 7852148	p300/CBP associated factor
Gi 55217	Murine valosin containing protein
Gi 148691718	P300/CBP associated factor, isoform CRA_a
Gi 7852145	GCN5 histone acetyltransferase
Gi 49457863	nck-associated protein 5-like
Gi 27696584	MICAL-like 2
Gi 33943105	Grb10 interacting GYF protein 1
Gi 2723282	Serine/arginine-rich protein-specific kinase
Gi 14714615	Heat shock protein 90, beta (Grp94), member 1
Gi 6755863	Endoplasmic precursor
Gi 4928654	m6a methyltransferase
Gi 2598562	Glucose-regulated Protein (GRP78/BIP)
Gi 18339677	60 kDa heat shock protein, mitochondrial

Gi 42542422	Heat shock protein 8
Gi 6730310	Chain A, Crystal Structure Of The Arf-Gap Domain And Ankyrin Repeats Of Pappbeta
Gi 147907212	arf-GAP with SH3 domain, ANK repeat and PH domain-containing protein 2 isoform
Gi 148223355	arf-GAP with SH3 domain, ANK repeat and PH domain-containing protein 2
Gi 148702082	Development and differentiation enhancing factor 2
Gi 42415475	Protein disulfide-isomerase precursor
Gi 202210	Alpha-tubulin isotype M-alpha-2
Gi 6678469	Tubulin alpha-1C chain
Gi 6755901	Tubulin alpha-1A chain
Gi 34740335	Tubulin alpha-1B chain
Gi 51455	Heat shock protein 65
Gi 200397	Phospholipase C-alpha
Gi 112293254	Protein disulfide-isomerase A3 precursor
Gi 359807367	Pyruvate kinase isozymes M1/M2 isoform 2
Gi 6753324	T-complex protein 1 subunit zeta
Gi 452528	Magnesium dependent protein phosphatase beta-2
Gi 20072134	Map3k7ip1 protein or TAK1 binding protein 1
Gi 13384620	Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein K
Gi 6753322	T-complex protein 1 subunit delta
Gi 460317	Chaperonin
Gi 110625624	T-complex protein 1 subunit alpha
Gi 201725	T-complex polypeptide 1
Gi 6671702	T-complex protein 1 subunit epsilon
Gi 2623222	ATP synthase beta-subunit
Gi 19527344	Serine/threonine-protein kinase 38
Gi 16506251	Elongation factor-like protein
Gi 556301	Elongation factor Tu

Gi 1196528	ATPase
Gi 8546862	cAMP-dependent protein kinase regulatory subunit R1alpha
Gi 6679937	glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase

4.4. Régulation de la méthylation en m₆A des ARN par Kat2b

Une des cibles des Kat2b est la méthyltransférase m₆A. Cette méthyltransférase est responsable d'une méthylation particulière réalisée sur les ARNm en position cis de adénosines (N6-méthyladenosine, m₆A). Durant ces trois dernières années, la N6-méthyladenosine, m₆A, a été décrite comme la modification post-traductionnelle la plus abondante de l'ARNm. Concrètement, la N6-méthyladenosine, m₆A des ARNm est réalisée *via* deux enzymes, la METTL3 et la METTL14, alors que la déméthylation est réalisée par la protéine FTO (figure 25A). La régulation de cette méthylation de l'ARNm n'est pas encore claire dans la littérature. Il a néanmoins été montré que la modification en N6-méthyladenosine, m₆A des ARNm permet la régulation de l'export nucléaire, de l'épissage alternatif, de la stabilité et de l'interaction avec des protéines des ARNm (Fu et al., 2014), (Niu et al., 2013). De façon intéressante, des travaux récents ont montré que différents types de stress augmentent la N6-méthyladenosine, m₆A de certains ARNm dans la région 5' UPR, favorisant la traduction cap-non dépendante des ARNm modifiés en protéines (figure 25B), (Meyer et al., 2015).

Afin de déterminer si l'absence de Kat2b impacte la méthylation des ARNm dans les îlots, nous avons réalisé un dosage des ARNm portant cette modification. Nous observons que l'absence de Kat2b conduit à une diminution globale de cette marque sur les ARNm (figure 25C, 25D). De façon intéressante, nous observons qu'un régime HFD conduit à la diminution de cette modification (figure 25D). De plus, cette diminution, sous régime HFD, est exacerbée en absence de Kat2b (figure 25D). Les mêmes effets sont observés dans les îlots humains. En effet, la diminution de l'expression de Kat2b dans les îlots humains conduit à la diminution globale de cette modification (figure 25E, 25F). L'ensemble de ces résultats suggère que Kat2b régule positivement les enzymes responsables de la méthylation des ARN.

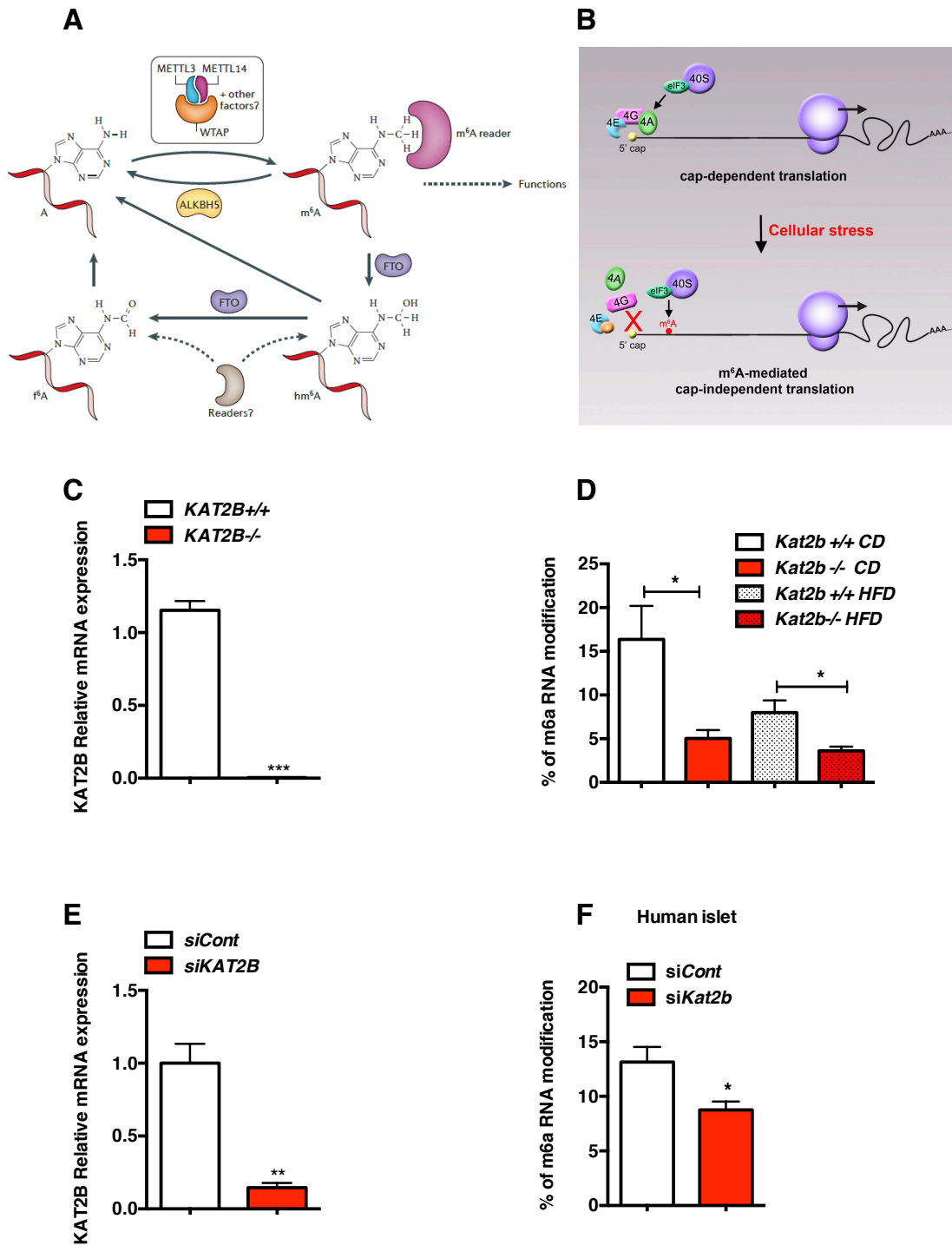


Figure 25 :La diminution de Kat2b diminue la méthylation en m6A des ARN.(A) représentation schématique des enzymes intervenant dans la méthylation en m6A des ARN (B) représentation schématique de la traduction non dépendante des protéines cap des ARNm méthylés en m6A (C) expression génique de Kat2b dans les îlots de *Kat2b*^{+/+} et les îlots *Kat2b*^{-/-} (n=6) (D) Dosage des ARNm modifiés en m6A dans les îlots de *Kat2b*^{+/+} et les îlots *Kat2b*^{-/-} nourris avec un régime standard ou régime riche en graisse pendant 13 semaines (n=6) (E) expression génique de Kat2b dans des îlots humain après une transfection avec le siRNA control ou le siRNA Kat2b (F) Dosage des ARNm modifiés en m6A dans les îlots humain après une transfection avec le siRNA control ou le siRNA Kat2b. Toute les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM ; * p<0.05, ** p<0.01 et *** p<0.001.

L'implication physiologique de cette modification dans la fonction de la cellule β n'est pas encore connue. Cependant, des travaux récents ont montré que la traduction cap-non dépendante des ARNm modifiés en m6A est réalisée par le complexe traductionnelle ternaire eIF2-GTP-Met-tRNAⁱ (Meyer et al., 2015). Ce même complexe est responsable de la traduction de l'insuline en réponse au glucose. Nous émettons l'hypothèse que Kat2b, en interagissant avec la méthyltrasférase m6A, conduirait à une augmentation de la méthylation de l'ARNm de la proinsuline. Cette modification faciliterait ensuite le recrutement de complexe traductionnelle ternaire et augmenterait ainsi la traduction de l'insuline. Il serait donc intéressant d'étudier ce mécanisme et d'identifier l'ensemble des ARNm régulés par cette modification dans la cellule β . Il serait également intéressant de connaître l'implication de cette modification dans la traduction globale et dans la fonction de la cellule β , ainsi que les conséquences de sa diminution dans le développement du DT2.

IV. Conclusion générale et perspectives

L'ensemble des résultats présentés dans ce manuscrit de thèse démontre que Kat2b est un régulateur clés de la fonction de la cellule β . En effet, nous montrons que Kat2b est essentiel pour la régulation de la sécrétion d'insuline et l'adaptation de la cellule β à un stress métabolique comme l'obésité. Nous montrons qu'il est capable de réguler au niveau transcriptionnel l'expression des gènes de l'UPR^{er}, mais aussi au niveau protéique en régulant le statut d'acétylation de la protéine HSPA5 (Bip/Grp78). Nous montrons également que Kat2b interagit avec deux kinases clés dans la survie et la prolifération de la cellule β , la PKA et la P38. Kat2b interagit également avec une autre kinase, la SRPK, suggérant un probable rôle dans la régulation du spliceosome. De plus, Kat2b interagit avec la m6A méthyle transférase capable de modifier les ARN en modifiant ainsi la traduction en réponse à un stress.

Bien que nous montrions un rôle transcriptionnel et un rôle non transcriptionnel de Kat2b dans la régulation de la cellule β , notre travail s'est focalisé essentiellement sur l'activité HAT de Kat2b. Dans ce travail, nous n'avons pas étudié l'activité E3 ligase de Kat2b. Il serait donc intéressant de décortiquer l'activité E3 ligase de Kat2b, d'étudier la balance entre activité HAT et E3 ligase et les signaux responsables favorisant l'une ou l'autre des voies et les cibles de chacune. D'autre part, quelle est l'implication de chacune de ces activités dans le dysfonctionnement de la cellule β et le développement du DT2. Une façon de répondre à ces questions serait la génération de souris transgéniques qui exprimeraient spécifiquement une des activités.

Nos montrons également que l'activation de Kat2b avec le SPV106 améliore le phénotype diabétique de souris nourris avec un régime riche en graisse. Les mécanismes d'action du SPV106 sont probablement multiples et ne seraient pas restreints à la cellule β . Ainsi, comprendre le rôle de Kat2b dans d'autres tissus métaboliques, comme le foie ou le tissu adipeux, permettrait de mieux appréhender le mode d'action de cet agoniste. D'autre part, compte tenu du rôle de Kat2b dans la régulation de l'UPR^{er}, il serait également intéressant d'étudier son rôle dans

différents tissus. En effet, le rôle de l'UPR^{er} dans le développement de l'insulino-résistance hépatique est largement décrit. L'étude du rôle de Kat2b dans ce tissu apporterait donc de nouvelles informations sur les effets insulino-sensibilisateurs du SPV106.

Les travaux réalisés par deux groupes indépendants montrent des résultats contradictoires sur le rôle de Kat2b dans la régulation de la néoglucogenèse (Ravnskjaer et al., 2013), (Sun et al., 2014). Nos résultats préliminaires dans le foie de souris déficientes totalement pour Kat2b ne montrent pas ou peu d'effets sur la néoglucogenèse. Cependant, nous observons des effets majeurs sur la lipolyse et une diminution du récepteur au LDL, suggérant un rôle de Kat2b dans la régulation de SREBP-1C et -2 et de la voie de la lipolyse ainsi que le captage du cholestérol par le foie. Il serait intéressant de comprendre comment Kat2b régule ces voies. Pour cela, l'utilisation de souris déficientes pour Kat2b spécifiquement dans le foie permettrait de répondre à ces questions. L'observation que l'expression de Kat2b est diminuée dans le foie de souris diabétiques suggère une implication de cette protéine dans les complications hépatiques des maladies métaboliques (Sun et al., 2014).

De plus, Kat2b joue un rôle majeur dans le cerveau. Il serait donc intéressant d'étudier son rôle dans l'hypothalamus et les effets sur la prise alimentaire (Wei et al., 2012). Nos résultats préliminaires semblent montrer que KAT2b régule la voie STAT3, une voie importante dans la régulation de l'activité de certains noyaux hypothalamiques contrôlant la prise alimentaire.

Ces résultats suggèrent que Kat2b joue un rôle majeur dans différentes voies métaboliques. Cependant, un point majeur pour lequel nous n'apportons pas de réponse au cours de cette étude concerne la régulation de Kat2b lui-même. Dans la cellule β , nous montrons que l'expression protéique mais pas génique de Kat2b est augmentée par un stress du RE, ainsi que par une stimulation du récepteur au Glp1. Nos résultats préliminaires montrent que cette augmentation protéique de Kat2b est due à une augmentation de sa traduction. De plus, les résultats de LC-MS-MS ont permis de conclure que Kat2b est probablement phosphorylé (après stimulation au glucose). Des études complémentaires sont nécessaires afin de comprendre comment Kat2b est lui-même régulé dans des conditions physiologiques. L'analyse

bioinformatique des régions 5'-UTR de Kat2b a révélé l'existence de plusieurs uORF (upstream ORF, régions de cadre de lecture ouverte alternative), suggérant une régulation différentielle de Kat2b dans les différents tissus où il est exprimé.

L'ensemble des nos résultats converge également vers un rôle majeur de Kat2b dans l'adaptation cellulaire. Dans notre étude focalisée sur le rôle de Kat2b dans la cellule β pancréatique, nous montrons que ce dernier est nécessaire à l'augmentation de la masse de la cellule en réponse à un stress métabolique comme l'obésité (Weir and Bonner-Weir, 2004). Lors des premières phases du diabète, l'augmentation de la demande en insuline par l'organisme nécessite une adaptation de la capacité sécrétoire de la cellule β par une expansion progressive de la masse de cette dernière (Chan et al., 2013). L'augmentation de la réponse UPR^{er} dans la cellule β permet le maintien d'une quantité suffisante d'insuline. Les produits de la glycolyse sont des acteurs clés pour les mécanismes d'intégration du signal glucidique. Ceci ne nécessite non seulement l'activation de la glycoquinase (GK) mais aussi la génération d'acétyl-CoA (Weir et al., 2001), (Matschinsky, 1996). En effet, l'acétyl-CoA généré par l'apport en glucose est un puissant second messenger, régulant de par son abondance les fonctions métaboliques des cellules telles que la prolifération et la survie cellulaire (Moussaieff et al., 2015), (Pietrocola et al., 2015). Dans notre étude, nous montrons que l'absence de Kat2b dans la cellule β conduit non seulement à une diminution de la sécrétion d'insuline mais aussi à une perte dramatique de l'activation des mécanismes de compensation. Nous proposons Kat2b comme senseur métabolique de l'acétyl-CoA dans la cellule β . L'augmentation de la glycolyse générerait de l'acétyl-CoA qui serait détecté par Kat2b et lui permettrait d'agir au niveau transcriptionnel et sur des protéines cytoplasmiques afin d'apporter une réponse adaptative appropriée de la cellule au changement environnementaux. De plus, Kat2b est capable d'augmenter la quantité cellulaire d'acétyl-CoA en agissant directement sur la l'ATP citrate lyase (ACL, (Chypre, 2012 #241)), suggérant une nouvelle fois un rôle potentiel de senseur métabolique.

En conclusion, Kat2b est un acteur clés dans de nombreux processus biologiques. De part son rôle de senseur métabolique, il permettrait à la cellule d'adapter sa réponse à l'environnement extra-cellulaire. Ainsi, l'activation de Kat2b constitue une

piste intéressante pour le développement de nouvelles approches thérapeutiques contre les maladies métaboliques telles que le diabète et l'obésité.

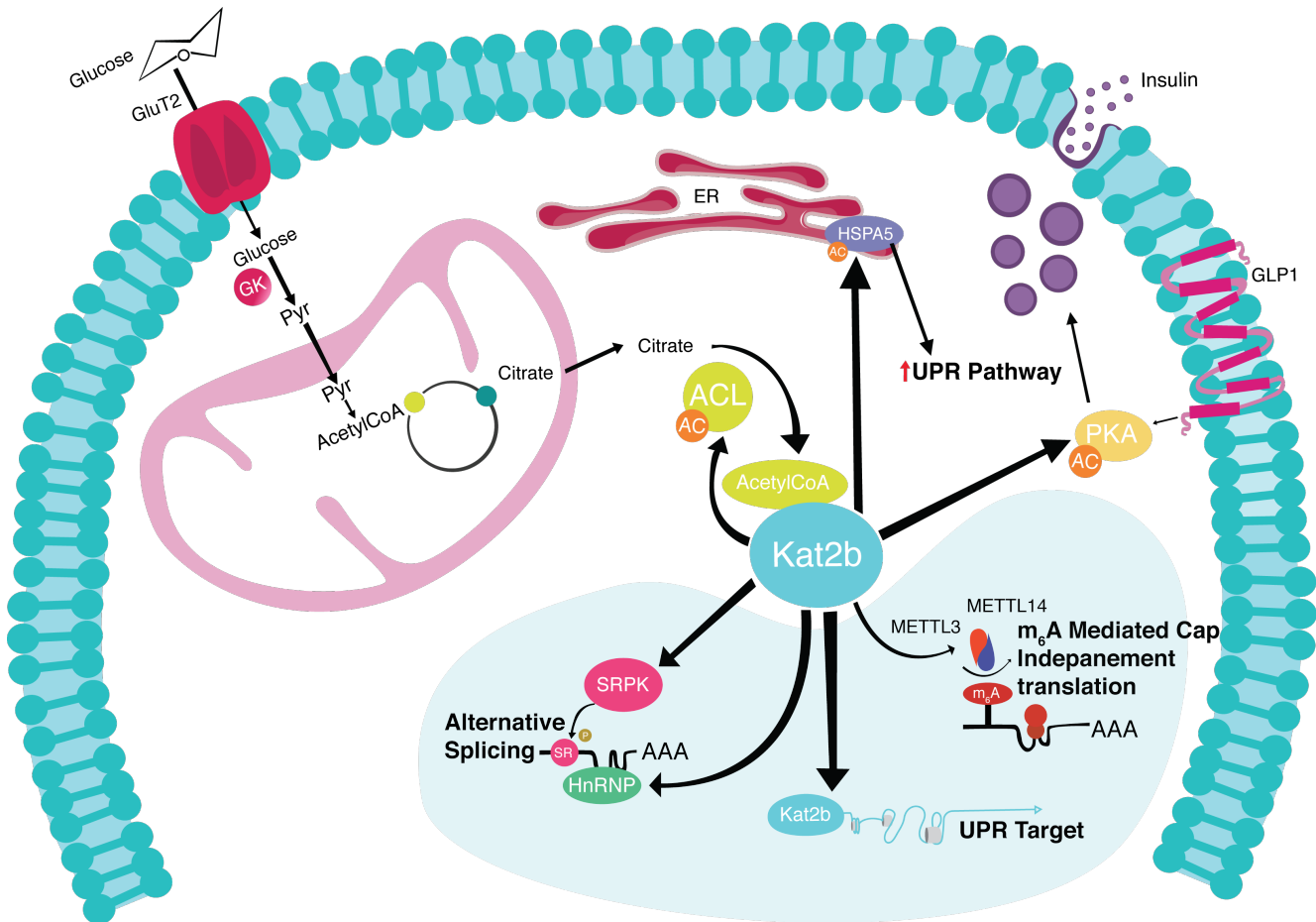


Figure 26 : Schéma général des différentes voies régulées par Kat2b dans la cellule β pancréatiques.

V. Références

- Adrian, T.E., Bloom, S.R., Hermansen, K., and Iversen, J. (1978). Pancreatic polypeptide, glucagon and insulin secretion from the isolated perfused canine pancreas. *Diabetologia* *14*, 413-417.
- Akesson, B., Panagiotidis, G., Westermark, P., and Lundquist, I. (2003). Islet amyloid polypeptide inhibits glucagon release and exerts a dual action on insulin release from isolated islets. *Regulatory peptides* *111*, 55-60.
- Alarcon, C., Leahy, J.L., Schuppin, G.T., and Rhodes, C.J. (1995). Increased secretory demand rather than a defect in the proinsulin conversion mechanism causes hyperproinsulinemia in a glucose-infusion rat model of non-insulin-dependent diabetes mellitus. *The Journal of clinical investigation* *95*, 1032-1039.
- Almgren, P., Lehtovirta, M., Isomaa, B., Sarelin, L., Taskinen, M.R., Lyssenko, V., Tuomi, T., Groop, L., and Botnia Study, G. (2011). Heritability and familiarity of type 2 diabetes and related quantitative traits in the Botnia Study. *Diabetologia* *54*, 2811-2819.
- American Diabetes, A. (2015). (2) Classification and diagnosis of diabetes. *Diabetes care* *38 Suppl*, S8-S16.
- Andrali, S.S., Qian, Q., and Ozcan, S. (2007). Glucose mediates the translocation of NeuroD1 by O-linked glycosylation. *The Journal of biological chemistry* *282*, 15589-15596.
- Annicotte, J.S., Blanchet, E., Chavey, C., Iankova, I., Costes, S., Assou, S., Teyssier, J., Dalle, S., Sardet, C., and Fajas, L. (2009). The CDK4-pRB-E2F1 pathway controls insulin secretion. *Nat Cell Biol* *11*, 1017-1023.
- Arden, S.D., Roep, B.O., Neophytou, P.I., Usac, E.F., Duinkerken, G., de Vries, R.R., and Hutton, J.C. (1996). Imogen 38: a novel 38-kD islet mitochondrial autoantigen recognized by T cells from a newly diagnosed type 1 diabetic patient. *The Journal of clinical investigation* *97*, 551-561.
- Argmann, C.A., Chambon, P., and Auwerx, J. (2005). Mouse phenogenomics: the fast track to "systems metabolism". *Cell Metab* *2*, 349-360.
- Avvakumov, N., and Cote, J. (2007). The MYST family of histone acetyltransferases and their intimate links to cancer. *Oncogene* *26*, 5395-5407.
- Back, S.H., and Kaufman, R.J. (2012). Endoplasmic reticulum stress and type 2 diabetes. *Annu Rev Biochem* *81*, 767-793.
- Baekkeskov, S., Aanstoot, H.J., Christgau, S., Reetz, A., Solimena, M., Cascalho, M., Folli, F., Richter-Olesen, H., and De Camilli, P. (1990). Identification of the 64K autoantigen in insulin-dependent diabetes as the GABA-synthesizing enzyme glutamic acid decarboxylase. *Nature* *347*, 151-156.
- Bailey, S.J., Ravier, M.A., and Rutter, G.A. (2007). Glucose-dependent regulation of gamma-aminobutyric acid (GABA A) receptor expression in mouse pancreatic islet alpha-cells. *Diabetes* *56*, 320-327.

- Bannister, A.J., Miska, E.A., Gorlich, D., and Kouzarides, T. (2000). Acetylation of importin- α nuclear import factors by CBP/p300. *Current biology : CB* 10, 467-470.
- Barlow, G.M., Yu, A., and Mathur, R. (2015). Role of the Gut Microbiome in Obesity and Diabetes Mellitus. *Nutrition in clinical practice : official publication of the American Society for Parenteral and Enteral Nutrition* 30, 787-797.
- Bingley, P.J. (2010). Clinical applications of diabetes antibody testing. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism* 95, 25-33.
- Blanchet, E., Annicotte, J.-S., Lagarrigue, S., Aguilar, V., Clapé, C., Chavey, C., Fritz, V., Casas, F., Apparailly, F., Auwerx, J., et al. (2011). E2F transcription factor-1 regulates oxidative metabolism. *Nature cell biology* 13, 1146-1152.
- Blanchet, E., Annicotte, J.S., Pradelli, L.A., Hugon, G., Matecki, S., Mornet, D., Rivier, F., and Fajas, L. (2012). E2F transcription factor-1 deficiency reduces pathophysiology in the mouse model of Duchenne muscular dystrophy through increased muscle oxidative metabolism. *Hum Mol Genet* 21, 3910-3917.
- Bonifacio, E., Lampasona, V., Genovese, S., Ferrari, M., and Bosi, E. (1995). Identification of protein tyrosine phosphatase-like IA2 (islet cell antigen 512) as the insulin-dependent diabetes-related 37/40K autoantigen and a target of islet-cell antibodies. *Journal of immunology* 155, 5419-5426.
- Bonnefond, A., and Froguel, P. (2015). Rare and common genetic events in type 2 diabetes: what should biologists know? *Cell metabolism* 21, 357-368.
- Bonner-Weir, S., Trent, D.F., Zmachinski, C.J., Clore, E.T., and Weir, G.C. (1981). Limited B cell regeneration in a B cell deficient rat model: studies with dexamethasone. *Metabolism: clinical and experimental* 30, 914-918.
- Brereton, M.F., Vergari, E., Zhang, Q., and Clark, A. (2015). Alpha-, Delta- and PP-cells: Are They the Architectural Cornerstones of Islet Structure and Co-ordination? *The journal of histochemistry and cytochemistry : official journal of the Histochemistry Society* 63, 575-591.
- Bugliani, M., Torri, S., Lupi, R., Del Guerra, S., Grupillo, M., Del Chiaro, M., Mosca, F., Boggi, U., Del Prato, S., and Marchetti, P. (2007). Effects of C-peptide on isolated human pancreatic islet cells. *Diabetes/metabolism research and reviews* 23, 215-219.
- Butler, A.E., Janson, J., Bonner-Weir, S., Ritzel, R., Rizza, R.A., and Butler, P.C. (2003). Beta-cell deficit and increased beta-cell apoptosis in humans with type 2 diabetes. *Diabetes* 52, 102-110.
- Cabrera, O., Berman, D.M., Kenyon, N.S., Ricordi, C., Berggren, P.O., and Caicedo, A. (2006). The unique cytoarchitecture of human pancreatic islets has implications for islet cell function. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 103, 2334-2339.
- Cai, K., Wan, Y., Wang, Z., Wang, Y., Zhao, X., and Bao, X. (2014). C5a promotes the proliferation of human nasopharyngeal carcinoma cells through PCAF-mediated STAT3 acetylation. *Oncology reports* 32, 2260-2266.

- Calvo-Romero, J.M., and Ramiro-Lozano, J.M. (2015). Vitamin D Levels in Patients With Type 2 Diabetes Mellitus. *Journal of investigative medicine : the official publication of the American Federation for Clinical Research* *63*, 921-923.
- Campbell, J.E., and Drucker, D.J. (2013). Pharmacology, physiology, and mechanisms of incretin hormone action. *Cell metabolism* *17*, 819-837.
- Cao, Z., and Wang, X. (2014). The endocrine role between beta cells and intra-islet endothelial cells. *Endocrine journal* *61*, 647-654.
- Casals-Casas, C., and Desvergne, B. (2011). Endocrine disruptors: from endocrine to metabolic disruption. *Annual review of physiology* *73*, 135-162.
- Castano, L., Russo, E., Zhou, L., Lipes, M.A., and Eisenbarth, G.S. (1991). Identification and cloning of a granule autoantigen (carboxypeptidase-H) associated with type I diabetes. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism* *73*, 1197-1201.
- Caton, P.W., Richardson, S.J., Kieswich, J., Bugliani, M., Holland, M.L., Marchetti, P., Morgan, N.G., Yaqoob, M.M., Holness, M.J., and Sugden, M.C. (2013). Sirtuin 3 regulates mouse pancreatic beta cell function and is suppressed in pancreatic islets isolated from human type 2 diabetic patients. *Diabetologia* *56*, 1068-1077.
- Chan, J.Y., Luzuriaga, J., Bensellam, M., Biden, T.J., and Laybutt, D.R. (2013). Failure of the adaptive unfolded protein response in islets of obese mice is linked with abnormalities in beta-cell gene expression and progression to diabetes. *Diabetes* *62*, 1557-1568.
- Chan, S.J., Keim, P., and Steiner, D.F. (1976). Cell-free synthesis of rat preproinsulins: characterization and partial amino acid sequence determination. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* *73*, 1964-1968.
- Chatzianagnostou, K., Iervasi, G., and Vassalle, C. (2015). Challenges of LADA Diagnosis and Treatment: Lessons From 2 Case Reports. *American journal of therapeutics*.
- Cherasse, Y., Maurin, A.C., Chaveroux, C., Jousse, C., Carraro, V., Parry, L., Deval, C., Chambon, C., Fafournoux, P., and Bruhat, A. (2007). The p300/CBP-associated factor (PCAF) is a cofactor of ATF4 for amino acid-regulated transcription of CHOP. *Nucleic acids research* *35*, 5954-5965.
- Choudhary, C., Kumar, C., Gnad, F., Nielsen, M.L., Rehman, M., Walther, T.C., Olsen, J.V., and Mann, M. (2009). Lysine acetylation targets protein complexes and co-regulates major cellular functions. *Science* *325*, 834-840.
- Cinti, F., Bouchi, R., Kim-Muller, J.Y., Ohmura, Y., Rodrigo Sandoval, P., Masini, M., Marselli, L., Suleiman, M., Ratner, L.E., Marchetti, P., et al. (2015). Evidence of beta-cell Dedifferentiation in Human Type 2 Diabetes. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*, jc20152860.
- Cleveland, M.H., Sawyer, J.M., Afelik, S., Jensen, J., and Leach, S.D. (2012). Exocrine ontogenies: on the development of pancreatic acinar, ductal and centroacinar cells. *Seminars in cell & developmental biology* *23*, 711-719.
- Cnop, M., Fougelle, F., and Velloso, L.A. (2012). Endoplasmic reticulum stress, obesity and diabetes. *Trends Mol Med* *18*, 59-68.

- Cnop, M., Vidal, J., Hull, R.L., Utzschneider, K.M., Carr, D.B., Schraw, T., Scherer, P.E., Boyko, E.J., Fujimoto, W.Y., and Kahn, S.E. (2007). Progressive loss of beta-cell function leads to worsening glucose tolerance in first-degree relatives of subjects with type 2 diabetes. *Diabetes care* *30*, 677-682.
- Colussi, C., Rosati, J., Straino, S., Spallotta, F., Berni, R., Stilli, D., Rossi, S., Musso, E., Macchi, E., Mai, A., et al. (2011). Nepsilon-lysine acetylation determines dissociation from GAP junctions and lateralization of connexin 43 in normal and dystrophic heart. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* *108*, 2795-2800.
- Cornu, M., Yang, J.Y., Jaccard, E., Poussin, C., Widmann, C., and Thorens, B. (2009). Glucagon-like peptide-1 protects beta-cells against apoptosis by increasing the activity of an IGF-2/IGF-1 receptor autocrine loop. *Diabetes* *58*, 1816-1825.
- Crawford, G.E., Holt, I.E., Whittle, J., Webb, B.D., Tai, D., Davis, S., Margulies, E.H., Chen, Y., Bernat, J.A., Ginsburg, D., et al. (2006). Genome-wide mapping of DNase hypersensitive sites using massively parallel signature sequencing (MPSS). *Genome Res* *16*, 123-131.
- Curry, D.L. (1986). Insulin content and insulinogenesis by the perfused rat pancreas: effects of long term glucose stimulation. *Endocrinology* *118*, 170-175.
- Curtis, A.M., Seo, S.B., Westgate, E.J., Rudic, R.D., Smyth, E.M., Chakravarti, D., FitzGerald, G.A., and McNamara, P. (2004). Histone acetyltransferase-dependent chromatin remodeling and the vascular clock. *The Journal of biological chemistry* *279*, 7091-7097.
- Dalle, S., Ravier, M.A., and Bertrand, G. (2011). Emerging roles for beta-arrestin-1 in the control of the pancreatic beta-cell function and mass: new therapeutic strategies and consequences for drug screening. *Cellular signalling* *23*, 522-528.
- De Jesus, D.F., and Kulkarni, R.N. (2014). Epigenetic modifiers of islet function and mass. *Trends in endocrinology and metabolism: TEM* *25*, 628-636.
- de Ruijter, A.J., van Gennip, A.H., Caron, H.N., Kemp, S., and van Kuilenburg, A.B. (2003). Histone deacetylases (HDACs): characterization of the classical HDAC family. *The Biochemical journal* *370*, 737-749.
- Deltour, L., Leduque, P., Blume, N., Madsen, O., Dubois, P., Jami, J., and Bucchini, D. (1993). Differential expression of the two nonallelic proinsulin genes in the developing mouse embryo. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* *90*, 527-531.
- Devaskar, S.U., Giddings, S.J., Rajakumar, P.A., Carnaghi, L.R., Menon, R.K., and Zahm, D.S. (1994). Insulin gene expression and insulin synthesis in mammalian neuronal cells. *The Journal of biological chemistry* *269*, 8445-8454.
- 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.
- Donath, M.Y., and Shoelson, S.E. (2011). Type 2 diabetes as an inflammatory disease. *Nature reviews. Immunology* *11*, 98-107.
- Duclot, F., Meffre, J., Jacquet, C., Gongora, C., and Maurice, T. (2010). Mice knock out for the histone acetyltransferase p300/CREB binding protein-associated factor develop a resistance to amyloid toxicity. *Neuroscience* *167*, 850-863.

- Edmond, V., Moysan, E., Khochbin, S., Matthias, P., Brambilla, C., Brambilla, E., Gazzeri, S., and Eymin, B. (2011). Acetylation and phosphorylation of SRSF2 control cell fate decision in response to cisplatin. *The EMBO journal* *30*, 510-523.
- Eguchi, K., Manabe, I., Oishi-Tanaka, Y., Ohsugi, M., Kono, N., Ogata, F., Yagi, N., Ohto, U., Kimoto, M., Miyake, K., et al. (2012). Saturated fatty acid and TLR signaling link beta cell dysfunction and islet inflammation. *Cell metabolism* *15*, 518-533.
- Eizirik, D.L., and Cnop, M. (2010). ER stress in pancreatic beta cells: the thin red line between adaptation and failure. *Science signaling* *3*, pe7.
- Emens, L.A., Landers, D.W., and Moss, L.G. (1992). Hepatocyte nuclear factor 1 alpha is expressed in a hamster insulinoma line and transactivates the rat insulin I gene. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* *89*, 7300-7304.
- Engin, F., Nguyen, T., Yermalovich, A., and Hotamisligil, G.S. (2014). Aberrant islet unfolded protein response in type 2 diabetes. *Sci Rep* *4*, 4054.
- Fan, Y., Rudert, W.A., Grupillo, M., He, J., Sisino, G., and Trucco, M. (2009). Thymus-specific deletion of insulin induces autoimmune diabetes. *The EMBO journal* *28*, 2812-2824.
- Feng, J., Liu, T., and Zhang, Y. (2011). Using MACS to identify peaks from ChIP-Seq data. *Current protocols in bioinformatics / editorial board, Andreas D. Baxevanis ... [et al.] Chapter 2, Unit 2 14.*
- Filteau, M., Diss, G., Torres-Quiroz, F., Dube, A.K., Schraffl, A., Bachmann, V.A., Gagnon-Arsenault, I., Chretien, A.E., Steunou, A.L., Dionne, U., et al. (2015). Systematic identification of signal integration by protein kinase A. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* *112*, 4501-4506.
- Fischle, W., Wang, Y., and Allis, C.D. (2003). Histone and chromatin cross-talk. *Current opinion in cell biology* *15*, 172-183.
- Fonseca, S.G., Gromada, J., and Urano, F. (2011). Endoplasmic reticulum stress and pancreatic beta-cell death. *Trends Endocrinol Metab* *22*, 266-274.
- Forbes, J.M., and Cooper, M.E. (2013). Mechanisms of diabetic complications. *Physiological reviews* *93*, 137-188.
- Francis, J., Chakrabarti, S.K., Garmey, J.C., and Mirmira, R.G. (2005). Pdx-1 links histone H3-Lys-4 methylation to RNA polymerase II elongation during activation of insulin transcription. *The Journal of biological chemistry* *280*, 36244-36253.
- Fu, Y., Dominissini, D., Rechavi, G., and He, C. (2014). Gene expression regulation mediated through reversible m(6)A RNA methylation. *Nature reviews. Genetics* *15*, 293-306.
- Gao, T., McKenna, B., Li, C., Reichert, M., Nguyen, J., Singh, T., Yang, C., Pannikar, A., Doliba, N., Zhang, T., et al. (2014). Pdx1 maintains beta cell identity and function by repressing an alpha cell program. *Cell metabolism* *19*, 259-271.
- Garcia, S., Martini, F., De Micco, C., Andrac, L., Sappa, P., Hardwigsen, J., Lavaut, M.N., Le Treut, Y.P., and Charpin, C. (1998). [Prognostic value of E-cadherin expression in hepatocellular carcinoma]. *Annales de pathologie* *18*, 98-102.

- Gatta, R., and Mantovani, R. (2010). Single nucleosome ChIPs identify an extensive switch of acetyl marks on cell cycle promoters. *Cell cycle* 9, 2149-2159.
- Giresi, P.G., Kim, J., McDaniell, R.M., Iyer, V.R., and Lieb, J.D. (2007). FAIRE (Formaldehyde-Assisted Isolation of Regulatory Elements) isolates active regulatory elements from human chromatin. *Genome Res* 17, 877-885.
- Glozak, M.A., Sengupta, N., Zhang, X., and Seto, E. (2005). Acetylation and deacetylation of non-histone proteins. *Gene* 363, 15-23.
- Gomez, E., Powell, M.L., Greenman, I.C., and Herbert, T.P. (2004). Glucose-stimulated protein synthesis in pancreatic beta-cells parallels an increase in the availability of the translational ternary complex (eIF2-GTP.Met-tRNAi) and the dephosphorylation of eIF2 alpha. *The Journal of biological chemistry* 279, 53937-53946.
- Gromada, J., Franklin, I., and Wollheim, C.B. (2007). Alpha-cells of the endocrine pancreas: 35 years of research but the enigma remains. *Endocrine reviews* 28, 84-116.
- Haigis, M.C., and Guarente, L.P. (2006). Mammalian sirtuins--emerging roles in physiology, aging, and calorie restriction. *Genes & development* 20, 2913-2921.
- Han, Y., Jeong, H.M., Jin, Y.H., Kim, Y.J., Jeong, H.G., Yeo, C.Y., and Lee, K.Y. (2009). Acetylation of histone deacetylase 6 by p300 attenuates its deacetylase activity. *Biochemical and biophysical research communications* 383, 88-92.
- Han, Y., Jin, Y.H., Kim, Y.J., Kang, B.Y., Choi, H.J., Kim, D.W., Yeo, C.Y., and Lee, K.Y. (2008). Acetylation of Sirt2 by p300 attenuates its deacetylase activity. *Biochemical and biophysical research communications* 375, 576-580.
- Hauge-Evans, A.C., King, A.J., Carmignac, D., Richardson, C.C., Robinson, I.C., Low, M.J., Christie, M.R., Persaud, S.J., and Jones, P.M. (2009). Somatostatin secreted by islet delta-cells fulfills multiple roles as a paracrine regulator of islet function. *Diabetes* 58, 403-411.
- Haumaitre, C., Lenoir, O., and Scharfmann, R. (2008). Histone deacetylase inhibitors modify pancreatic cell fate determination and amplify endocrine progenitors. *Mol Cell Biol* 28, 6373-6383.
- Hay, C.W., and Docherty, K. (2006). Comparative analysis of insulin gene promoters: implications for diabetes research. *Diabetes* 55, 3201-3213.
- Hay, C.W., Sinclair, E.M., Bermano, G., Durward, E., Tadayyon, M., and Docherty, K. (2005). Glucagon-like peptide-1 stimulates human insulin promoter activity in part through cAMP-responsive elements that lie upstream and downstream of the transcription start site. *The Journal of endocrinology* 186, 353-365.
- Hay, W.W., Jr. (2012). Care of the infant of the diabetic mother. *Current diabetes reports* 12, 4-15.
- Hedekov, C.J. (1980). Mechanism of glucose-induced insulin secretion. *Physiological reviews* 60, 442-509.
- Henquin, J.C. (2009). Regulation of insulin secretion: a matter of phase control and amplitude modulation. *Diabetologia* 52, 739-751.

- Henquin, J.C., Dufrane, D., and Nenquin, M. (2006). Nutrient control of insulin secretion in isolated normal human islets. *Diabetes* *55*, 3470-3477.
- Herder, C., and Roden, M. (2011). Genetics of type 2 diabetes: pathophysiologic and clinical relevance. *European journal of clinical investigation* *41*, 679-692.
- Herrera, P.L. (2000). Adult insulin- and glucagon-producing cells differentiate from two independent cell lineages. *Development* *127*, 2317-2322.
- Hetz, C. (2012). The unfolded protein response: controlling cell fate decisions under ER stress and beyond. *Nat Rev Mol Cell Biol* *13*, 89-102.
- Hillaire-Buys, D., Chapal, J., Bertrand, G., Petit, P., and Loubatieres-Mariani, M.M. (1994). Purinergic receptors on insulin-secreting cells. *Fundamental & clinical pharmacology* *8*, 117-127.
- Hochberg, Z., Feil, R., Constancia, M., Fraga, M., Junien, C., Carel, J.C., Boileau, P., Le Bouc, Y., Deal, C.L., Lillycrop, K., et al. (2011). Child health, developmental plasticity, and epigenetic programming. *Endocrine reviews* *32*, 159-224.
- Holman, R.R. (1998). Assessing the potential for alpha-glucosidase inhibitors in prediabetic states. *Diabetes research and clinical practice* *40 Suppl*, S21-25.
- Holz, G.G. (2004). Epac: A new cAMP-binding protein in support of glucagon-like peptide-1 receptor-mediated signal transduction in the pancreatic beta-cell. *Diabetes* *53*, 5-13.
- Huang, X.F., and Arvan, P. (1995). Intracellular transport of proinsulin in pancreatic beta-cells. Structural maturation probed by disulfide accessibility. *The Journal of biological chemistry* *270*, 20417-20423.
- Ido, Y., Vindigni, A., Chang, K., Stramm, L., Chance, R., Heath, W.F., DiMarchi, R.D., Di Cera, E., and Williamson, J.R. (1997). Prevention of vascular and neural dysfunction in diabetic rats by C-peptide. *Science* *277*, 563-566.
- Itoh, Y., Kawamata, Y., Harada, M., Kobayashi, M., Fujii, R., Fukusumi, S., Ogi, K., Hosoya, M., Tanaka, Y., Uejima, H., et al. (2003). Free fatty acids regulate insulin secretion from pancreatic beta cells through GPR40. *Nature* *422*, 173-176.
- Jeninga, E.H., Schoonjans, K., and Auwerx, J. (2010). Reversible acetylation of PGC-1: connecting energy sensors and effectors to guarantee metabolic flexibility. *Oncogene* *29*, 4617-4624.
- Jeong, H.R., and An, S.S. (2015). Causative factors for formation of toxic islet amyloid polypeptide oligomer in type 2 diabetes mellitus. *Clinical interventions in aging* *10*, 1873-1879.
- Jhala, U.S., Canettieri, G., Screaton, R.A., Kulkarni, R.N., Krajewski, S., Reed, J., Walker, J., Lin, X., White, M., and Montminy, M. (2003). cAMP promotes pancreatic beta-cell survival via CREB-mediated induction of IRS2. *Genes & development* *17*, 1575-1580.
- Jin, Q., Wang, C., Kuang, X., Feng, X., Sartorelli, V., Ying, H., Ge, K., and Dent, S.Y. (2014). Gcn5 and PCAF regulate PPARgamma and Prdm16 expression to facilitate brown adipogenesis. *Molecular and cellular biology* *34*, 3746-3753.

- Jorgensen, M.C., Ahnfelt-Ronne, J., Hald, J., Madsen, O.D., Serup, P., and Hecksher-Sorensen, J. (2007). An illustrated review of early pancreas development in the mouse. *Endocrine reviews* 28, 685-705.
- Kaihara, K.A., Dickson, L.M., Jacobson, D.A., Tamarina, N., Roe, M.W., Philipson, L.H., and Wicksteed, B. (2013). beta-Cell-specific protein kinase A activation enhances the efficiency of glucose control by increasing acute-phase insulin secretion. *Diabetes* 62, 1527-1536.
- Kasimiotis, H., Myers, M.A., Argentaro, A., Mertin, S., Fida, S., Ferraro, T., Olsson, J., Rowley, M.J., and Harley, V.R. (2000). Sex-determining region Y-related protein SOX13 is a diabetes autoantigen expressed in pancreatic islets. *Diabetes* 49, 555-561.
- Keating, S.T., and El-Osta, A. (2013). Epigenetic changes in diabetes. *Clinical genetics* 84, 1-10.
- Kelly, D.P., and Scarpulla, R.C. (2004). Transcriptional regulatory circuits controlling mitochondrial biogenesis and function. *Genes Dev* 18, 357-368.
- Kennedy, J., Katsuta, H., Jung, M.H., Marselli, L., Goldfine, A.B., Balis, U.J., Sgroi, D., Bonner-Weir, S., and Weir, G.C. (2010). Protective unfolded protein response in human pancreatic beta cells transplanted into mice. *PLoS One* 5, e11211.
- Kerr-Conte, J., Vandewalle, B., Moerman, E., Lukowiak, B., Gmyr, V., Arnalsteen, L., Caiazzo, R., Sterkers, A., Hubert, T., Vantyghem, M.C., et al. (2010). Upgrading pretransplant human islet culture technology requires human serum combined with media renewal. *Transplantation* 89, 1154-1160.
- Khan, S., and Jena, G.B. (2014). Protective role of sodium butyrate, a HDAC inhibitor on beta-cell proliferation, function and glucose homeostasis through modulation of p38/ERK MAPK and apoptotic pathways: study in juvenile diabetic rat. *Chemico-biological interactions* 213, 1-12.
- Khoo, S., Griffen, S.C., Xia, Y., Baer, R.J., German, M.S., and Cobb, M.H. (2003). Regulation of insulin gene transcription by ERK1 and ERK2 in pancreatic beta cells. *The Journal of biological chemistry* 278, 32969-32977.
- Kim, S.C., Sprung, R., Chen, Y., Xu, Y., Ball, H., Pei, J., Cheng, T., Kho, Y., Xiao, H., Xiao, L., et al. (2006). Substrate and functional diversity of lysine acetylation revealed by a proteomics survey. *Molecular cell* 23, 607-618.
- Kim, W., Fiori, J.L., Shin, Y.K., Okun, E., Kim, J.S., Rapp, P.R., and Egan, J.M. (2014). Pancreatic polypeptide inhibits somatostatin secretion. *FEBS letters* 588, 3233-3239.
- Kojima, H., Fujimiya, M., Matsumura, K., Nakahara, T., Hara, M., and Chan, L. (2004). Extrapancreatic insulin-producing cells in multiple organs in diabetes. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 101, 2458-2463.
- Langmead, B., and Salzberg, S.L. (2012). Fast gapped-read alignment with Bowtie 2. *Nature methods* 9, 357-359.
- Laybutt, D.R., Preston, A.M., Akerfeldt, M.C., Kench, J.G., Busch, A.K., Biankin, A.V., and Biden, T.J. (2007). Endoplasmic reticulum stress contributes to beta cell apoptosis in type 2 diabetes. *Diabetologia* 50, 752-763.

- Lenoir, O., Flosseau, K., Ma, F.X., Blondeau, B., Mai, A., Bassel-Duby, R., Ravassard, P., Olson, E.N., Haumaitre, C., and Scharfmann, R. (2011). Specific control of pancreatic endocrine beta- and delta-cell mass by class IIa histone deacetylases HDAC4, HDAC5, and HDAC9. *Diabetes* 60, 2861-2871.
- Lew, Q.J., Chu, K.L., Lee, J., Koh, P.L., Rajasegaran, V., Teo, J.Y., and Chao, S.H. (2011). PCAF interacts with XBP-1S and mediates XBP-1S-dependent transcription. *Nucleic acids research* 39, 429-439.
- Li, M., Page-McCaw, P., and Chen, W. (2016). FGF1 Mediates Overnutrition-Induced Compensatory beta-Cell Differentiation. *Diabetes* 65, 96-109.
- Linares, L.K., Kiernan, R., Triboulet, R., Chable-Bessia, C., Latreille, D., Cuvier, O., Lacroix, M., Le Cam, L., Coux, O., and Benkirane, M. (2007). Intrinsic ubiquitination activity of PCAF controls the stability of the oncoprotein Hdm2. *Nature cell biology* 9, 331-338.
- Liu, Y.Q., Jetton, T.L., and Leahy, J.L. (2002). beta-Cell adaptation to insulin resistance. Increased pyruvate carboxylase and malate-pyruvate shuttle activity in islets of nondiabetic Zucker fatty rats. *The Journal of biological chemistry* 277, 39163-39168.
- Liyanage, V.R., Jarmasz, J.S., Murugesan, N., Del Bigio, M.R., Rastegar, M., and Davie, J.R. (2014). DNA modifications: function and applications in normal and disease States. *Biology* 3, 670-723.
- Lonovics, J., Guzman, S., Devitt, P.G., Hejtmancik, K.E., Suddith, R.L., Rayford, P.L., and Thompson, J.C. (1981). Action of pancreatic polypeptide on exocrine pancreas and on release of cholecystokinin and secretin. *Endocrinology* 108, 1925-1930.
- Lundby, A., Lage, K., Weinert, B.T., Bekker-Jensen, D.B., Secher, A., Skovgaard, T., Kelstrup, C.D., Dmytriiev, A., Choudhary, C., Lundby, C., et al. (2012). Proteomic analysis of lysine acetylation sites in rat tissues reveals organ specificity and subcellular patterns. *Cell reports* 2, 419-431.
- Lundh, M., Christensen, D.P., Damgaard Nielsen, M., Richardson, S.J., Dahllof, M.S., Skovgaard, T., Berthelsen, J., Dinarello, C.A., Stevenazzi, A., Mascagni, P., et al. (2012). Histone deacetylases 1 and 3 but not 2 mediate cytokine-induced beta cell apoptosis in INS-1 cells and dispersed primary islets from rats and are differentially regulated in the islets of type 1 diabetic children. *Diabetologia* 55, 2421-2431.
- Lundh, M., Galbo, T., Poulsen, S.S., and Mandrup-Poulsen, T. (2015). Histone deacetylase 3 inhibition improves glycaemia and insulin secretion in obese diabetic rats. *Diabetes, obesity & metabolism* 17, 703-707.
- Malatesta, M., Steinhauer, C., Mohammad, F., Pandey, D.P., Squatrito, M., and Helin, K. (2013). Histone acetyltransferase PCAF is required for Hedgehog-Gli-dependent transcription and cancer cell proliferation. *Cancer research* 73, 6323-6333.
- Marks, P.A., Richon, V.M., Miller, T., and Kelly, W.K. (2004). Histone deacetylase inhibitors. *Advances in cancer research* 91, 137-168.
- Marques, P., Gunawardana, K., and Grossman, A. (2015). Transient diabetes insipidus in pregnancy. *Endocrinology, diabetes & metabolism case reports* 2015, 150078.

- Marselli, L., Thorne, J., Dahiya, S., Sgroi, D.C., Sharma, A., Bonner-Weir, S., Marchetti, P., and Weir, G.C. (2010). Gene expression profiles of Beta-cell enriched tissue obtained by laser capture microdissection from subjects with type 2 diabetes. *PLoS One* *5*, e11499.
- Masters, S.L., Dunne, A., Subramanian, S.L., Hull, R.L., Tannahill, G.M., Sharp, F.A., Becker, C., Franchi, L., Yoshihara, E., Chen, Z., et al. (2010). Activation of the NLRP3 inflammasome by islet amyloid polypeptide provides a mechanism for enhanced IL-1beta in type 2 diabetes. *Nature immunology* *11*, 897-904.
- Masumi, A., Wang, I.M., Lefebvre, B., Yang, X.J., Nakatani, Y., and Ozato, K. (1999). The histone acetylase PCAF is a phorbol-ester-inducible coactivator of the IRF family that confers enhanced interferon responsiveness. *Molecular and cellular biology* *19*, 1810-1820.
- Mateo, F., Vidal-Laliena, M., Canela, N., Zecchin, A., Martinez-Balbas, M., Agell, N., Giacca, M., Pujol, M.J., and Bachs, O. (2009). The transcriptional co-activator PCAF regulates cdk2 activity. *Nucleic acids research* *37*, 7072-7084.
- Mathers, C.D., and Loncar, D. (2006). Projections of global mortality and burden of disease from 2002 to 2030. *PLoS medicine* *3*, e442.
- Matschinsky, F.M. (1996). Banting Lecture 1995. A lesson in metabolic regulation inspired by the glucokinase glucose sensor paradigm. *Diabetes* *45*, 223-241.
- Maurice, T., Duclot, F., Meunier, J., Naert, G., Givalois, L., Meffre, J., Celerier, A., Jacquet, C., Copois, V., Mechti, N., et al. (2008). Altered memory capacities and response to stress in p300/CBP-associated factor (PCAF) histone acetylase knockout mice. *Neuropsychopharmacology* *33*, 1584-1602.
- Mazza, D., Infante, P., Colicchia, V., Greco, A., Alfonsi, R., Siler, M., Antonucci, L., Po, A., De Smaele, E., Ferretti, E., et al. (2013). PCAF ubiquitin ligase activity inhibits Hedgehog/Gli1 signaling in p53-dependent response to genotoxic stress. *Cell death and differentiation* *20*, 1688-1697.
- McCulloch, L.J., van de Bunt, M., Braun, M., Frayn, K.N., Clark, A., and Gloyn, A.L. (2011). GLUT2 (SLC2A2) is not the principal glucose transporter in human pancreatic beta cells: implications for understanding genetic association signals at this locus. *Molecular genetics and metabolism* *104*, 648-653.
- Memedula, S., and Belmont, A.S. (2003). Sequential recruitment of HAT and SWI/SNF components to condensed chromatin by VP16. *Current biology : CB* *13*, 241-246.
- Meyer, K.D., Patil, D.P., Zhou, J., Zinoviev, A., Skabkin, M.A., Elemento, O., Pestova, T.V., Qian, S.B., and Jaffrey, S.R. (2015). 5' UTR m(6)A Promotes Cap-Independent Translation. *Cell* *163*, 999-1010.
- Mihaylova, M.M., and Shaw, R.J. (2013). Metabolic reprogramming by class I and II histone deacetylases. *Trends Endocrinol Metab* *24*, 48-57.
- Montane, J., Klimek-Abercrombie, A., Potter, K.J., Westwell-Roper, C., and Bruce Verchere, C. (2012). Metabolic stress, IAPP and islet amyloid. *Diabetes, obesity & metabolism* *14 Suppl 3*, 68-77.

- Mosley, A.L., Corbett, J.A., and Ozcan, S. (2004). Glucose regulation of insulin gene expression requires the recruitment of p300 by the beta-cell-specific transcription factor Pdx-1. *Molecular endocrinology* *18*, 2279-2290.
- Mosley, A.L., and Ozcan, S. (2003). Glucose regulates insulin gene transcription by hyperacetylation of histone h4. *The Journal of biological chemistry* *278*, 19660-19666.
- Mosley, A.L., and Ozcan, S. (2004). The pancreatic duodenal homeobox-1 protein (Pdx-1) interacts with histone deacetylases Hdac-1 and Hdac-2 on low levels of glucose. *The Journal of biological chemistry* *279*, 54241-54247.
- Mouchiroud, L., Eichner, L.J., Shaw, R.J., and Auwerx, J. (2014). Transcriptional coregulators: fine-tuning metabolism. *Cell Metab* *20*, 26-40.
- Moussaieff, A., Rouleau, M., Kitsberg, D., Cohen, M., Levy, G., Barasch, D., Nemirovski, A., Shen-Orr, S., Laevsky, I., Amit, M., et al. (2015). Glycolysis-mediated changes in acetyl-CoA and histone acetylation control the early differentiation of embryonic stem cells. *Cell metabolism* *21*, 392-402.
- Muoio, D.M., and Newgard, C.B. (2008). Mechanisms of disease: Molecular and metabolic mechanisms of insulin resistance and beta-cell failure in type 2 diabetes. *Nat Rev Mol Cell Biol* *9*, 193-205.
- Nagy, Z., and Tora, L. (2007). Distinct GCN5/PCAF-containing complexes function as co-activators and are involved in transcription factor and global histone acetylation. *Oncogene* *26*, 5341-5357.
- Nakajima, N., Horikoshi, M., and Roeder, R.G. (1988). Factors involved in specific transcription by mammalian RNA polymerase II: purification, genetic specificity, and TATA box-promoter interactions of TFIID. *Molecular and cellular biology* *8*, 4028-4040.
- Nayak, R.C., Omar, M.A., Rabizadeh, A., Srikanta, S., and Eisenbarth, G.S. (1985). "Cytoplasmic" islet cell antibodies. Evidence that the target antigen is a sialoglycoconjugate. *Diabetes* *34*, 617-619.
- Nesher, R., and Cerasi, E. (2002). Modeling phasic insulin release: immediate and time-dependent effects of glucose. *Diabetes* *51 Suppl 1*, S53-59.
- Neuwald, A.F., and Landsman, D. (1997). GCN5-related histone N-acetyltransferases belong to a diverse superfamily that includes the yeast SPT10 protein. *Trends in biochemical sciences* *22*, 154-155.
- Niu, Y., Zhao, X., Wu, Y.S., Li, M.M., Wang, X.J., and Yang, Y.G. (2013). N6-methyladenosine (m6A) in RNA: an old modification with a novel epigenetic function. *Genomics, proteomics & bioinformatics* *11*, 8-17.
- O'Rahilly, S., Turner, R.C., and Matthews, D.R. (1988). Impaired pulsatile secretion of insulin in relatives of patients with non-insulin-dependent diabetes. *The New England journal of medicine* *318*, 1225-1230.
- Okumura, K., Mendoza, M., Bachoo, R.M., DePinho, R.A., Cavenee, W.K., and Furnari, F.B. (2006). PCAF modulates PTEN activity. *The Journal of biological chemistry* *281*, 26562-26568.

- Palmer, J.P., Asplin, C.M., Clemons, P., Lyen, K., Tatpati, O., Raghu, P.K., and Paquette, T.L. (1983). Insulin antibodies in insulin-dependent diabetics before insulin treatment. *Science* *222*, 1337-1339.
- Pandiri, A.R. (2014). Overview of exocrine pancreatic pathobiology. *Toxicologic pathology* *42*, 207-216.
- Park, J.M., Kim, T.H., Jo, S.H., Kim, M.Y., and Ahn, Y.H. (2015). Acetylation of glucokinase regulatory protein decreases glucose metabolism by suppressing glucokinase activity. *Scientific reports* *5*, 17395.
- Park, S., Hong, S.M., and Sung, S.R. (2008). Exendin-4 and exercise promotes beta-cell function and mass through IRS2 induction in islets of diabetic rats. *Life sciences* *82*, 503-511.
- Patzelt, C., Labrecque, A.D., Duguid, J.R., Carroll, R.J., Keim, P.S., Heinrikson, R.L., and Steiner, D.F. (1978). Detection and kinetic behavior of preproinsulin in pancreatic islets. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* *75*, 1260-1264.
- Peng, S.Y., Wang, W.P., Meng, J., Li, T., Zhang, H., Li, Y.M., Chen, P., Ma, K.T., and Zhou, C.Y. (2005). ISL1 physically interacts with BETA2 to promote insulin gene transcriptional synergy in non-beta cells. *Biochimica et biophysica acta* *1731*, 154-159.
- Pietrocola, F., Galluzzi, L., Bravo-San Pedro, J.M., Madeo, F., and Kroemer, G. (2015). Acetyl coenzyme A: a central metabolite and second messenger. *Cell metabolism* *21*, 805-821.
- Pietro Paolo, M., Castano, L., Babu, S., Buelow, R., Kuo, Y.L., Martin, S., Martin, A., Powers, A.C., Prochazka, M., Naggert, J., et al. (1993). Islet cell autoantigen 69 kD (ICA69). Molecular cloning and characterization of a novel diabetes-associated autoantigen. *The Journal of clinical investigation* *92*, 359-371.
- Pihoker, C., Gilliam, L.K., Hampe, C.S., and Lernmark, A. (2005). Autoantibodies in diabetes. *Diabetes* *54 Suppl 2*, S52-61.
- Pinney, S.E., Jaeckle Santos, L.J., Han, Y., Stoffers, D.A., and Simmons, R.A. (2011). Exendin-4 increases histone acetylase activity and reverses epigenetic modifications that silence Pdx1 in the intrauterine growth retarded rat. *Diabetologia* *54*, 2606-2614.
- Plaisance, V., Rolland, L., Gmyr, V., Annicotte, J.S., Kerr-Conte, J., Pattou, F., and Abderrahmani, A. (2014). The class I histone deacetylase inhibitor MS-275 prevents pancreatic beta cell death induced by palmitate. *Journal of diabetes research* *2014*, 195739.
- Poitout, V., Hagman, D., Stein, R., Artner, I., Robertson, R.P., and Harmon, J.S. (2006). Regulation of the insulin gene by glucose and fatty acids. *The Journal of nutrition* *136*, 873-876.
- Portela-Gomes, G.M., Lukinius, A., Ljungberg, O., Efendic, S., Ahren, B., and Abdel-Halim, S.M. (2003). PACAP is expressed in secretory granules of insulin and glucagon cells in human and rodent pancreas. Evidence for generation of cAMP compartments uncoupled from hormone release in diabetic islets. *Regulatory peptides* *113*, 31-39.

- Poulsen, P., Kyvik, K.O., Vaag, A., and Beck-Nielsen, H. (1999). Heritability of type II (non-insulin-dependent) diabetes mellitus and abnormal glucose tolerance--a population-based twin study. *Diabetologia* 42, 139-145.
- Pralong, W.F., Bartley, C., and Wollheim, C.B. (1990). Single islet beta-cell stimulation by nutrients: relationship between pyridine nucleotides, cytosolic Ca²⁺ and secretion. *The EMBO journal* 9, 53-60.
- Qiu, Y., Guo, M., Huang, S., and Stein, R. (2004). Acetylation of the BETA2 transcription factor by p300-associated factor is important in insulin gene expression. *The Journal of biological chemistry* 279, 9796-9802.
- Rabhi, N., Salas, E., Froguel, P., and Annicotte, J.S. (2014). Role of the unfolded protein response in beta cell compensation and failure during diabetes. *Journal of diabetes research* 2014, 795171.
- Rajendran, R., Garva, R., Ashour, H., Leung, T., Stratford, I., Krstic-Demonacos, M., and Demonacos, C. (2013). Acetylation mediated by the p300/CBP-associated factor determines cellular energy metabolic pathways in cancer. *International journal of oncology* 42, 1961-1972.
- Rajpal, G., Schuiki, I., Liu, M., Volchuk, A., and Arvan, P. (2012). Action of protein disulfide isomerase on proinsulin exit from endoplasmic reticulum of pancreatic beta-cells. *The Journal of biological chemistry* 287, 43-47.
- Rando, O.J. (2012). Combinatorial complexity in chromatin structure and function: revisiting the histone code. *Current opinion in genetics & development* 22, 148-155.
- Rao, R., Nalluri, S., Kolhe, R., Yang, Y., Fiskus, W., Chen, J., Ha, K., Buckley, K.M., Balusu, R., Coothankandaswamy, V., et al. (2010). Treatment with panobinostat induces glucose-regulated protein 78 acetylation and endoplasmic reticulum stress in breast cancer cells. *Molecular cancer therapeutics* 9, 942-952.
- Ravnskjaer, K., Hogan, M.F., Lackey, D., Tora, L., Dent, S.Y., Olefsky, J., and Montminy, M. (2013). Glucagon regulates gluconeogenesis through KAT2B- and WDR5-mediated epigenetic effects. *The Journal of clinical investigation* 123, 4318-4328.
- Richman, R., Chicoine, L.G., Collini, M.P., Cook, R.G., and Allis, C.D. (1988). Micronuclei and the cytoplasm of growing *Tetrahymena* contain a histone acetylase activity which is highly specific for free histone H4. *The Journal of cell biology* 106, 1017-1026.
- Robertson, G., Hirst, M., Bainbridge, M., Bilenky, M., Zhao, Y., Zeng, T., Euskirchen, G., Bernier, B., Varhol, R., Delaney, A., et al. (2007). Genome-wide profiles of STAT1 DNA association using chromatin immunoprecipitation and massively parallel sequencing. *Nature methods* 4, 651-657.
- Rocques, N., Abou Zeid, N., Sii-Felice, K., Lecoin, L., Felder-Schmittbuhl, M.P., Eychene, A., and Pouponnot, C. (2007). GSK-3-mediated phosphorylation enhances Maf-transforming activity. *Molecular cell* 28, 584-597.
- Rodriguez, C.I., Buchholz, F., Galloway, J., Sequerra, R., Kasper, J., Ayala, R., Stewart, A.F., and Dymecki, S.M. (2000). High-efficiency deleter mice show that FLP_e is an alternative to Cre-loxP. *Nat Genet* 25, 139-140.

- Rojas, J.R., Trievel, R.C., Zhou, J., Mo, Y., Li, X., Berger, S.L., Allis, C.D., and Marmorstein, R. (1999). Structure of Tetrahymena GCN5 bound to coenzyme A and a histone H3 peptide. *Nature* *401*, 93-98.
- Rutter, G.A., Pullen, T.J., Hodson, D.J., and Martinez-Sanchez, A. (2015). Pancreatic beta-cell identity, glucose sensing and the control of insulin secretion. *The Biochemical journal* *466*, 203-218.
- Rutter, W.J., Kemp, J.D., Bradshaw, W.S., Clark, W.R., Ronzio, R.A., and Sanders, T.G. (1968). Regulation of specific protein synthesis in cytodifferentiation. *Journal of cellular physiology* *72*, Suppl 1:1-18.
- Ryu, D., Jo, Y.S., Lo Sasso, G., Stein, S., Zhang, H., Perino, A., Lee, J.U., Zeviani, M., Romand, R., Hottiger, M.O., et al. (2014). A SIRT7-dependent acetylation switch of GABPbeta1 controls mitochondrial function. *Cell Metab* *20*, 856-869.
- Samnegard, B., Jacobson, S.H., Jaremko, G., Johansson, B.L., Ekberg, K., Isaksson, B., Eriksson, L., Wahren, J., and Sjoquist, M. (2005). C-peptide prevents glomerular hypertrophy and mesangial matrix expansion in diabetic rats. *Nephrology, dialysis, transplantation : official publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association* *20*, 532-538.
- Sampley, M.L., and Ozcan, S. (2012). Regulation of insulin gene transcription by multiple histone acetyltransferases. *DNA and cell biology* *31*, 8-14.
- Sandoval, J., Pereda, J., Rodriguez, J.L., Escobar, J., Hidalgo, J., Joosten, L.A., Franco, L., Sastre, J., and Lopez-Rodas, G. (2010). Ordered transcriptional factor recruitment and epigenetic regulation of tnf-alpha in necrotizing acute pancreatitis. *Cellular and molecular life sciences : CMLS* *67*, 1687-1697.
- Santos-Rosa, H., Valls, E., Kouzarides, T., and Martinez-Balbas, M. (2003). Mechanisms of P/CAF auto-acetylation. *Nucleic acids research* *31*, 4285-4292.
- Sartorelli, V., Puri, P.L., Hamamori, Y., Ogryzko, V., Chung, G., Nakatani, Y., Wang, J.Y., and Kedes, L. (1999). Acetylation of MyoD directed by PCAF is necessary for the execution of the muscle program. *Molecular cell* *4*, 725-734.
- Schuit, F., Van Lommel, L., Granvik, M., Goyvaerts, L., de Faudeur, G., Schraenen, A., and Lemaire, K. (2012). beta-cell-specific gene repression: a mechanism to protect against inappropriate or maladjusted insulin secretion? *Diabetes* *61*, 969-975.
- Schwitzgebel, V.M. (2014). Many faces of monogenic diabetes. *Journal of diabetes investigation* *5*, 121-133.
- Scroggins, B.T., Robzyk, K., Wang, D., Marcu, M.G., Tsutsumi, S., Beebe, K., Cotter, R.J., Felts, S., Toft, D., Karnitz, L., et al. (2007). An acetylation site in the middle domain of Hsp90 regulates chaperone function. *Molecular cell* *25*, 151-159.
- Seino, S., and Shibasaki, T. (2005). PKA-dependent and PKA-independent pathways for cAMP-regulated exocytosis. *Physiological reviews* *85*, 1303-1342.
- Sener, A., and Malaisse, W.J. (1980). L-leucine and a nonmetabolized analogue activate pancreatic islet glutamate dehydrogenase. *Nature* *288*, 187-189.

- Shafqat, J., Melles, E., Sigmundsson, K., Johansson, B.L., Ekberg, K., Alvelius, G., Henriksson, M., Johansson, J., Wahren, J., and Jornvall, H. (2006). Proinsulin C-peptide elicits disaggregation of insulin resulting in enhanced physiological insulin effects. *Cellular and molecular life sciences : CMLS* *63*, 1805-1811.
- Sharma, R.B., O'Donnell, A.C., Stamateris, R.E., Ha, B., McCloskey, K.M., Reynolds, P.R., Arvan, P., and Alonso, L.C. (2015). Insulin demand regulates beta cell number via the unfolded protein response. *J Clin Invest* *125*, 3831-3846.
- Simone, C., Stiegler, P., Forcales, S.V., Bagella, L., De Luca, A., Sartorelli, V., Giordano, A., and Puri, P.L. (2004). Deacetylase recruitment by the C/H3 domain of the acetyltransferase p300. *Oncogene* *23*, 2177-2187.
- Slack, J.M. (1995). Developmental biology of the pancreas. *Development* *121*, 1569-1580.
- Soares, M.B., Schon, E., Henderson, A., Karathanasis, S.K., Cate, R., Zeitlin, S., Chirgwin, J., and Efstratiadis, A. (1985). RNA-mediated gene duplication: the rat preproinsulin I gene is a functional retroposon. *Molecular and cellular biology* *5*, 2090-2103.
- Soutoglou, E., Viollet, B., Vaxillaire, M., Yaniv, M., Pontoglio, M., and Talianidis, I. (2001). Transcription factor-dependent regulation of CBP and P/CAF histone acetyltransferase activity. *The EMBO journal* *20*, 1984-1992.
- Spiegel, K., Tasali, E., Leproult, R., and Van Cauter, E. (2009). Effects of poor and short sleep on glucose metabolism and obesity risk. *Nature reviews. Endocrinology* *5*, 253-261.
- Steil, G.M., Trivedi, N., Jonas, J.C., Hasenkamp, W.M., Sharma, A., Bonner-Weir, S., and Weir, G.C. (2001). Adaptation of beta-cell mass to substrate oversupply: enhanced function with normal gene expression. *American journal of physiology. Endocrinology and metabolism* *280*, E788-796.
- Steiner, D.F., Park, S.Y., Stoy, J., Philipson, L.H., and Bell, G.I. (2009). A brief perspective on insulin production. *Diabetes, obesity & metabolism* *11 Suppl 4*, 189-196.
- Steiner, D.J., Kim, A., Miller, K., and Hara, M. (2010). Pancreatic islet plasticity: interspecies comparison of islet architecture and composition. *Islets* *2*, 135-145.
- Stoffers, D.A. (2004). The development of beta-cell mass: recent progress and potential role of GLP-1. *Hormone and metabolic research = Hormon- und Stoffwechselforschung = Hormones et métabolisme* *36*, 811-821.
- Straub, S.G., Shanmugam, G., and Sharp, G.W. (2004). Stimulation of insulin release by glucose is associated with an increase in the number of docked granules in the beta-cells of rat pancreatic islets. *Diabetes* *53*, 3179-3183.
- Suckale, J., and Solimena, M. (2010). The insulin secretory granule as a signaling hub. *Trends in endocrinology and metabolism: TEM* *21*, 599-609.
- Sun, C., Wang, M., Liu, X., Luo, L., Li, K., Zhang, S., Wang, Y., Yang, Y., Ding, F., and Gu, X. (2014). P/CAF improves glucose homeostasis by suppressing the gluconeogenic activity of PGC-1alpha. *Cell reports* *9*, 2250-2262.
- Talchai, C., Xuan, S., Lin, H.V., Sussel, L., and Accili, D. (2012). Pancreatic beta cell dedifferentiation as a mechanism of diabetic beta cell failure. *Cell* *150*, 1223-1234.

- Tanaka, Y., Tran, P.O., Harmon, J., and Robertson, R.P. (2002). A role for glutathione peroxidase in protecting pancreatic beta cells against oxidative stress in a model of glucose toxicity. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* *99*, 12363-12368.
- Taneera, J., Lang, S., Sharma, A., Fadista, J., Zhou, Y., Ahlqvist, E., Jonsson, A., Lyssenko, V., Vikman, P., Hansson, O., et al. (2012). A systems genetics approach identifies genes and pathways for type 2 diabetes in human islets. *Cell metabolism* *16*, 122-134.
- Tang, C., Koulajian, K., Schuiki, I., Zhang, L., Desai, T., Ivovic, A., Wang, P., Robson-Doucette, C., Wheeler, M.B., Minassian, B., et al. (2012). Glucose-induced beta cell dysfunction in vivo in rats: link between oxidative stress and endoplasmic reticulum stress. *Diabetologia* *55*, 1366-1379.
- Taubert, S., Gorrini, C., Frank, S.R., Parisi, T., Fuchs, M., Chan, H.M., Livingston, D.M., and Amati, B. (2004). E2F-dependent histone acetylation and recruitment of the Tip60 acetyltransferase complex to chromatin in late G1. *Molecular and cellular biology* *24*, 4546-4556.
- Thorens, B., and Mueckler, M. (2010). Glucose transporters in the 21st Century. *American journal of physiology. Endocrinology and metabolism* *298*, E141-145.
- Torchia, J., Glass, C., and Rosenfeld, M.G. (1998). Co-activators and co-repressors in the integration of transcriptional responses. *Current opinion in cell biology* *10*, 373-383.
- Trakhtenberg, E.F., and Goldberg, J.L. (2012). Epigenetic regulation of axon and dendrite growth. *Frontiers in molecular neuroscience* *5*, 24.
- Usui, M., Yamaguchi, S., Tanji, Y., Tominaga, R., Ishigaki, Y., Fukumoto, M., Katagiri, H., Mori, K., Oka, Y., and Ishihara, H. (2012). Atf6alpha-null mice are glucose intolerant due to pancreatic beta-cell failure on a high-fat diet but partially resistant to diet-induced insulin resistance. *Metabolism* *61*, 1118-1128.
- Vander Mierde, D., Scheuner, D., Quintens, R., Patel, R., Song, B., Tsukamoto, K., Beullens, M., Kaufman, R.J., Bollen, M., and Schuit, F.C. (2007). Glucose activates a protein phosphatase-1-mediated signaling pathway to enhance overall translation in pancreatic beta-cells. *Endocrinology* *148*, 609-617.
- Vecellio, M., Spallotta, F., Nanni, S., Colussi, C., Cencioni, C., Derlet, A., Bassetti, B., Tilenni, M., Carena, M.C., Farsetti, A., et al. (2014). The histone acetylase activator pentadecylidenemalonate 1b rescues proliferation and differentiation in the human cardiac mesenchymal cells of type 2 diabetic patients. *Diabetes* *63*, 2132-2147.
- Waeber, G., Calandra, T., Roduit, R., Haefliger, J.A., Bonny, C., Thompson, N., Thorens, B., Temler, E., Meinhardt, A., Bacher, M., et al. (1997). Insulin secretion is regulated by the glucose-dependent production of islet beta cell macrophage migration inhibitory factor. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* *94*, 4782-4787.
- Wajchenberg, B.L. (2007). beta-cell failure in diabetes and preservation by clinical treatment. *Endocrine reviews* *28*, 187-218.

- Wali, J.A., Rondas, D., McKenzie, M.D., Zhao, Y., Elkerbout, L., Fynch, S., Gurzov, E.N., Akira, S., Mathieu, C., Kay, T.W., et al. (2014). The proapoptotic BH3-only proteins Bim and Puma are downstream of endoplasmic reticulum and mitochondrial oxidative stress in pancreatic islets in response to glucotoxicity. *Cell Death Dis* 5, e1124.
- Walter, P., and Ron, D. (2011). The unfolded protein response: from stress pathway to homeostatic regulation. *Science* 334, 1081-1086.
- Wan, J., Zhan, J., Li, S., Ma, J., Xu, W., Liu, C., Xue, X., Xie, Y., Fang, W., Chin, Y.E., et al. (2015). PCAF-primed EZH2 acetylation regulates its stability and promotes lung adenocarcinoma progression. *Nucleic acids research* 43, 3591-3604.
- Wang, P., Fiaschi-Taesch, N.M., Vasavada, R.C., Scott, D.K., Garcia-Ocana, A., and Stewart, A.F. (2015). Diabetes mellitus--advances and challenges in human beta-cell proliferation. *Nature reviews. Endocrinology* 11, 201-212.
- Wang, S., and Kaufman, R.J. (2012). The impact of the unfolded protein response on human disease. *J Cell Biol* 197, 857-867.
- Wei, W., Coelho, C.M., Li, X., Marek, R., Yan, S., Anderson, S., Meyers, D., Mukherjee, C., Sbardella, G., Castellano, S., et al. (2012). p300/CBP-associated factor selectively regulates the extinction of conditioned fear. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience* 32, 11930-11941.
- Weir, G.C., and Bonner-Weir, S. (2004). Five stages of evolving beta-cell dysfunction during progression to diabetes. *Diabetes* 53 Suppl 3, S16-21.
- Weir, G.C., Laybutt, D.R., Kaneto, H., Bonner-Weir, S., and Sharma, A. (2001). Beta-cell adaptation and decompensation during the progression of diabetes. *Diabetes* 50 Suppl 1, S154-159.
- Welsh, M., Nielsen, D.A., MacKrell, A.J., and Steiner, D.F. (1985). Control of insulin gene expression in pancreatic beta-cells and in an insulin-producing cell line, RIN-5F cells. II. Regulation of insulin mRNA stability. *The Journal of biological chemistry* 260, 13590-13594.
- Wenzlau, J.M., Juhl, K., Yu, L., Moua, O., Sarkar, S.A., Gottlieb, P., Rewers, M., Eisenbarth, G.S., Jensen, J., Davidson, H.W., et al. (2007). The cation efflux transporter ZnT8 (Slc30A8) is a major autoantigen in human type 1 diabetes. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 104, 17040-17045.
- Whittle, N., and Singewald, N. (2014). HDAC inhibitors as cognitive enhancers in fear, anxiety and trauma therapy: where do we stand? *Biochemical Society transactions* 42, 569-581.
- Wierup, N., Sundler, F., and Heller, R.S. (2014). The islet ghrelin cell. *Journal of molecular endocrinology* 52, R35-49.
- Xenaki, G., Ontikatzte, T., Rajendran, R., Stratford, I.J., Dive, C., Krstic-Demonacos, M., and Demonacos, C. (2008). PCAF is an HIF-1alpha cofactor that regulates p53 transcriptional activity in hypoxia. *Oncogene* 27, 5785-5796.
- Xie, J., El Sayed, N.M., Qi, C., Zhao, X., Moore, C.E., and Herbert, T.P. (2014). Exendin-4 stimulates islet cell replication via the IGF1 receptor activation of mTORC1/S6K1. *Journal of molecular endocrinology* 53, 105-115.

- Xu, W., Edmondson, D.G., and Roth, S.Y. (1998). Mammalian GCN5 and P/CAF acetyltransferases have homologous amino-terminal domains important for recognition of nucleosomal substrates. *Molecular and cellular biology* *18*, 5659-5669.
- Yajnik, C.S., Deshpande, S.S., Jackson, A.A., Refsum, H., Rao, S., Fisher, D.J., Bhat, D.S., Naik, S.S., Coyaji, K.J., Joglekar, C.V., et al. (2008). Vitamin B12 and folate concentrations during pregnancy and insulin resistance in the offspring: the Pune Maternal Nutrition Study. *Diabetologia* *51*, 29-38.
- Yamauchi, T., Yamauchi, J., Kuwata, T., Tamura, T., Yamashita, T., Bae, N., Westphal, H., Ozato, K., and Nakatani, Y. (2000). Distinct but overlapping roles of histone acetylase PCAF and of the closely related PCAF-B/GCN5 in mouse embryogenesis. *Proc Natl Acad Sci U S A* *97*, 11303-11306.
- Yang, X.J., and Seto, E. (2007). HATs and HDACs: from structure, function and regulation to novel strategies for therapy and prevention. *Oncogene* *26*, 5310-5318.
- Yoshimochi, K., Daitoku, H., and Fukamizu, A. (2010). PCAF represses transactivation function of FOXO1 in an acetyltransferase-independent manner. *Journal of receptor and signal transduction research* *30*, 43-49.
- Youos, J.G. (2011). The role of alpha-, delta- and F cells in insulin secretion and action. *Diabetes research and clinical practice* *93 Suppl 1*, S25-26.
- Yusta, B., Baggio, L.L., Estall, J.L., Koehler, J.A., Holland, D.P., Li, H., Pipeleers, D., Ling, Z., and Drucker, D.J. (2006). GLP-1 receptor activation improves beta cell function and survival following induction of endoplasmic reticulum stress. *Cell metabolism* *4*, 391-406.
- Zhang, L., Lai, E., Teodoro, T., and Volchuk, A. (2009). GRP78, but Not Protein-disulfide Isomerase, Partially Reverses Hyperglycemia-induced Inhibition of Insulin Synthesis and Secretion in Pancreatic {beta}-Cells. *The Journal of biological chemistry* *284*, 5289-5298.
- Zhang, S., Sun, G., Wang, Z., Wan, Y., Guo, J., and Shi, L. (2015). PCAF-mediated Akt1 acetylation enhances the proliferation of human glioblastoma cells. *Tumour biology : the journal of the International Society for Oncodevelopmental Biology and Medicine* *36*, 1455-1462.
- Zhang, Y., Liu, T., Meyer, C.A., Eeckhoute, J., Johnson, D.S., Bernstein, B.E., Nusbaum, C., Myers, R.M., Brown, M., Li, W., et al. (2008). Model-based analysis of ChIP-Seq (MACS). *Genome Biol* *9*, R137.
- Zhao, L., Guo, M., Matsuoka, T.A., Hagman, D.K., Parazzoli, S.D., Poitout, V., and Stein, R. (2005). The islet beta cell-enriched MafA activator is a key regulator of insulin gene transcription. *The Journal of biological chemistry* *280*, 11887-11894.
- Zhao, S., Xu, W., Jiang, W., Yu, W., Lin, Y., Zhang, T., Yao, J., Zhou, L., Zeng, Y., Li, H., et al. (2010a). Regulation of cellular metabolism by protein lysine acetylation. *Science (New York, N.Y.)* *327*, 1000-1004.
- Zhao, S., Xu, W., Jiang, W., Yu, W., Lin, Y., Zhang, T., Yao, J., Zhou, L., Zeng, Y., Li, H., et al. (2010b). Regulation of cellular metabolism by protein lysine acetylation. *Science* *327*, 1000-1004.

Zhou, L., Cai, X., Han, X., and Ji, L. (2014). P38 plays an important role in glucolipotoxicity-induced apoptosis in INS-1 cells. *Journal of diabetes research* 2014, 834528.

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. *Molecular cell* 27, 609-621.

VI. Annexes

1 Supplementary Table 1 : DNA-responsive element bound by Kat2b in isolated islets.

Supplementary Table 1 : DNA-responsive element bound by Kat2b in isolated islets.

Geneset.Type	Geneset.ID	Description	P.value	FDR	Effect	Odds.Ratio	Status	N.Geneset.Genes	N.Geneset.Peak.Genes
Transcriptior	207 AP4_01	2.50102005972331e-09	6.027458343	1.003043152	2.726566573	enriched	250	148	
Transcriptior	169 PAX5_02	2.03427736111956e-05	0.002451304	0.653638865	1.922523922	enriched	261	146	
Transcriptior	94 AREB6_03	7.46976290057373e-05	0.004792682	0.617206897	1.853743105	enriched	246	137	
Transcriptior	60 MYOD_01	8.51462216575027e-05	0.004792682	0.698526521	2.010787671	enriched	209	109	
Transcriptior	49 OLF1_01	9.94332474718566e-05	0.004792682	0.611501385	1.843196678	enriched	263	132	
Transcriptior	219 ROAZ_01	0.000149467842048247	0.005850182	0.518536005	1.679566972	enriched	314	164	
Transcriptior	71 E47_01	0.000188846552833303	0.005850182	0.705833031	2.025533315	enriched	183	101	
Transcriptior	202 MYOGNF1_0	0.000194196922625537	0.005850182	0.60533110E	1.831858648	enriched	232	125	
Transcriptior	136 PPARG_02	0.00027444345061523	0.007348985	0.514559571	1.672901545	enriched	308	156	
Transcriptior	168 MZF1_02	0.000422725208950442	0.010187677	0.51916073E	1.680616582	enriched	282	146	
Transcriptior	34 GCNF_01	0.00075984826662416	0.016647584	0.42781402E	1.533900787	enriched	372	186	
Transcriptior	196 HMX1_01	0.00091088256834624	0.01802304E	0.405750177	1.500427664	enriched	398	197	
Transcriptior	4 TAL1BETA4	0.000972197524179917	0.01802304E	0.766965737	2.153222888	enriched	119	66	
Transcriptior	224 ER_Q6	0.00112324905245768	0.01933593C	0.425599081	1.530507043	enriched	321	171	
Transcriptior	57 HEN1_Q2	0.00122227046060963	0.019637812	0.56983522E	1.76797571E	enriched	208	105	
Transcriptior	195 SEF1_C	0.00136089448180956	0.019998541	0.48405940E	1.622648032	enriched	244	132	
Transcriptior	161 AP2_Q6	0.00141068551345062	0.019998541	0.63936911E	1.895284803	enriched	152	86	
Transcriptior	199 NFKB_C	0.00199739758532451	0.026742934	0.48307080E	1.621044681	enriched	240	125	
Transcriptior	109 PAX4_Q4	0.00217555261654533	0.027595167	0.57710642E	1.780877861	enriched	175	94	
Transcriptior	201 ZID_01	0.0025057768399337	0.03019461C	0.459770043	1.58370975E	enriched	254	128	
Transcriptior	124 USF_C	0.00306678790873939	0.033152893	0.578060983	1.78257862E	enriched	166	85	
Transcriptior	242 EGR3_01	0.00316396911597412	0.033152893	0.44921879E	1.567087483	enriched	243	133	
Transcriptior	79 HNF4_01	0.00366698605747367	0.036822651	0.831762923	2.29736525E	enriched	76	44	
Transcriptior	206 PAX5_01	0.00410124577748631	0.03756311C	0.469159473	1.59864991E	enriched	226	115	
Transcriptior	237 TATA_01	0.00420831528763908	0.03756311C	0.54407756E	1.723018284	enriched	164	85	
Transcriptior	39 NYKAPPAB_C	0.00526887229334252	0.04378614E	0.470380121	1.600602501	enriched	216	106	
Transcriptior	179 ZIC1_01	0.00565855860032677	0.045457087	0.48105674E	1.61778307E	enriched	218	97	
Transcriptior	28 HEN1_Q1	0.00734279595545302	0.055706182	0.44800120E	1.565180573	enriched	190	102	
Transcriptior	162 NFE2_Q1	0.0077158839946884	0.055706182	0.45931976E	1.58299680E	enriched	208	101	
Transcriptior	160 RFX1_Q2	0.00778736123521382	0.055706182	0.32166664E	1.379424867	enriched	399	188	
Transcriptior	227 MYCMA_X01	0.00875896348117592	0.055706182	0.371119724	1.44935658E	enriched	293	145	
Transcriptior	72 SREBP1_Q2	0.00815911285878652	0.05618131E	0.396567811	1.486713251	enriched	245	122	
Transcriptior	26 COUP_01	0.00856862893212851	0.05736221C	0.37646969E	1.457131387	enriched	273	135	
Transcriptior	45 ARP1_01	0.00919218014773539	0.05924744E	0.365533761	1.441283104	enriched	281	138	
Transcriptior	25 P53_Q1	0.00976522684297638	0.05924744E	0.354731177	1.42579731E	enriched	300	148	
Transcriptior	149 CREL_Q1	0.00982092151707041	0.05924744E	0.369873494	1.44755148E	enriched	270	139	
Transcriptior	102 NF1_Q6	0.00983360134274931	0.05924744E	1.002399961	2.724813433	enriched	46	28	
Transcriptior	85 RREB1_Q1	0.0108944184043952	0.064037922	0.40051616E	1.49259492E	enriched	234	116	
Transcriptior	158 AREB6_01	0.0129381400200924	0.07424027E	0.48328847E	1.62139756E	enriched	153	78	
Transcriptior	165 NMYC_Q1	0.0137407039621432	0.07701185E	0.335171927	1.39818074E	enriched	321	151	
Transcriptior	67 PPARG_Q3	0.0156157805752582	0.08553188E	0.39442369E	1.48352898E	enriched	207	108	
Transcriptior	1 HNF4_Q1_B	0.0162048990418152	0.086786237	0.83524560E	2.305380194	enriched	58	30	
Transcriptior	203 HTF_Q1	0.0170041926377015	0.08908183E	0.333004077	1.39515298E	enriched	294	147	
Transcriptior	106 CDPCR3HD_C	0.0177588575905911	0.09106137E	0.37775200E	1.45900106E	enriched	227	113	
Transcriptior	61 ATF6_Q1	0.0183322922842128	0.09204338E	0.38604320E	1.47114823E	enriched	225	111	
Transcriptior	31 COMP1_Q1	0.0197339872690256	0.09705899E	0.332761807	1.394815024	enriched	280	136	
Transcriptior	3 AHR_Q1	0.0206784551617842	0.097974137	0.367656377	1.444345643	enriched	229	116	
Transcriptior	5 EGR2_Q1	0.0211396479834109	0.097974137	0.34219655E	1.40803702E	enriched	247	132	
Transcriptior	120 PPARG_Q1	0.0225701965504067	0.10067042E	0.31303657E	1.36757155E	enriched	296	148	
Transcriptior	76 ZIC2_Q1	0.0229887239037411	0.10067042E	0.40218903E	1.495093924	enriched	193	91	
Transcriptior	11 ATF_Q1	0.0231812730716726	0.10067042E	0.274488521	1.31585746E	enriched	368	189	
Transcriptior	183 AP1_Q1	0.023392298922501	0.10067042E	0.343393394	1.40972323E	enriched	230	120	
Transcriptior	51 SP21_Q1	0.0246340260745683	0.100674597	0.52015288E	1.68228481E	enriched	111	59	
Transcriptior	116 ZIC3_Q1	0.0246464782835716	0.100674597	0.394780091	1.48405779E	enriched	187	91	
Transcriptior	66 EGR1_Q1	0.0285118633605016	0.114522651	0.301117472	1.351368081	enriched	279	146	
Transcriptior	171 MYCMA_X03	0.033740513531082	0.129753034	0.22457249E	1.25178745E	enriched	500	236	
Transcriptior	153 PAX4_Q1	0.0339188430948344	0.129753034	0.36769496E	1.44440137E	enriched	187	95	
Transcriptior	197 MIF1_Q1	0.036211019274286	0.13635711E	0.30941296E	1.36262497E	enriched	258	127	
Transcriptior	222 AP4_Q6	0.0374353714866242	0.13879883E	0.433400477	1.54249383E	enriched	125	66	
Transcriptior	138 HAND1E47_C	0.0411121519987915	0.14713044E	0.38264412E	1.46615616E	enriched	157	82	
Transcriptior	17 CDPCR1_Q1	0.0421244844273861	0.14713044E	0.25955140E	1.29634841E	enriched	351	169	
Transcriptior	154 YY1_Q2	0.0504295751194169	0.168798994	0.27217400E	1.31281542E	enriched	292	136	
Transcriptior	24 USF_Q6	0.052806189543475	0.17433276E	0.27503560E	1.31657754E	enriched	270	134	
Transcriptior	113 BACH2_Q1	0.0542812380458609	0.17678078E	0.2749380E	1.31323532E	enriched	269	135	
Transcriptior	107 CMYB_Q1	0.0554232133524234	0.17809325E	0.270385044	1.31046894E	enriched	297	133	
Transcriptior	75 MYCMA_X02	0.0576525070819452	0.182819134	0.363730127	1.43868590E	enriched	154	80	
Transcriptior	243 PAX2_Q1	0.0646723743419268	0.19847553E	0.22967330E	1.25818889E	enriched	356	170	
Transcriptior	146 XBP1_Q1	0.0657587745657591	0.19847553E	0.21157873E	1.23562724E	enriched	416	197	
Transcriptior	6 ELK1_Q1	0.0658839965873738	0.19847553E	0.29002966E	1.33646713E	enriched	239	106	
Transcriptior	91 TALLALPHAE	0.0727965243073635	0.21359014E	0.32258208E	1.38068821E	enriched	187	87	
Transcriptior	131 CHOP_Q1	0.073466550206512	0.21359014E	0.26453213E	1.30282128E	enriched	247	124	
Transcriptior	103 NFY_Q6	0.073578346702506	0.21359014E	0.76657639E	2.15238471E	enriched	36	19	
Transcriptior	87 TAXCREB_Q2	0.0750898180461078	0.21359014E	0.25792607E	1.29424314E	enriched	257	126	
Transcriptior	73 AHRARNT_Q1	0.0754232482892342	0.21359014E	0.24511511E	1.27776839E	enriched	313	144	
Transcriptior	93 NRSF_Q1	0.084932292578316	0.23527221E	0.201493954	1.22322884E	enriched	422	193	
Transcriptior	214 NGFIC_Q1	0.0880895337917276	0.24124520E	0.24880809E	1.28249588E	enriched	242	126	
Transcriptior	239 TCF11_Q1	0.10212692276427	0.26903284E	0.34545090E	1.41262673E	enriched	301	63	
Transcriptior	208 BACH1_Q1	0.102701335515025	0.26903284E	0.219666914	1.24566174E	enriched	125	146	
Transcriptior	70 LYF1_Q1	0.114931966602849	0.28581127E	0.39691467E	1.487229034	enriched	93	48	

Transcriptior	56	GATA1_01	0.115502701466727	0.2858112720.393980205	1.482871201	enriched	87	45
Transcriptior	144	TAL1BETA1F	0.11572936772043	0.2858112720.26283327C	1.300609851	enriched	212	96
Transcriptior	84	NKX25_01	0.120225881538913	0.2897443740.18693177C	1.205545028	enriched	372	191
Transcriptior	52	AREB6_02	0.132534486538416	0.3141563680.50535971C	1.657581663	enriched	49	27
Transcriptior	217	GR_Q6	0.13408233628796	0.3141563680.276473931	1.318472581	enriched	167	80
Transcriptior	97	MEF2_02	0.134429202353553	0.3141563680.345353201	1.412488724	enriched	111	59
Transcriptior	22	FOXO4_01	0.136873106718349	0.3141563680.492983972	1.63719428C	enriched	53	29
Transcriptior	186	CP2_01	0.147074222846977	0.3307096510.27877961E	1.321516071	enriched	149	74
Transcriptior	174	HNFI_C	0.16019290267555	0.34502440C0.270750052	1.310947361	enriched	152	79
Transcriptior	35	ARNT_01	0.18692411004455	0.3951641270.185723081	1.204088775	enriched	295	126
Transcriptior	225	IK1_01	0.195061629338667	0.40803151E0.23416747C	1.263856132	enriched	172	81
Transcriptior	140	RORA2_01	0.203673857337988	0.41807288E0.214307522	1.239003617	enriched	193	99
Transcriptior	163	GFII_01	0.204699588653807	0.41807288E0.228183805	1.256316222	enriched	172	86
Transcriptior	42	MAZR_01	0.207895247787493	0.4210315520.40359472C	1.49719704C	enriched	55	27
Transcriptior	122	P300_01	0.235160199212512	0.45837531E0.177125723	1.193781165	enriched	267	119
Transcriptior	244	LUN1_01	0.237012396685834	0.45837531E0.162501774	1.17645040E	enriched	284	134
Transcriptior	59	AHRARNT_0	0.237746533626854	0.45837531E0.169545474	1.184766222	enriched	293	126
Transcriptior	155	MEF2_01	0.240824688157554	0.46062499E0.192070261	1.211755653	enriched	215	103
Transcriptior	175	HNFI_01	0.247903095773482	0.46811037E0.23894334E	1.269906591	enriched	148	68
Transcriptior	111	P53_02	0.253071199168076	0.47279193C0.391981737	1.479910683	enriched	50	24
Transcriptior	65	AP1_C	0.273980080692695	0.49716281C0.32005486C	1.377203315	enriched	64	33
Transcriptior	192	CEBP_C	0.283634238086919	0.5101182930.14892042C	1.16058062E	enriched	284	132
Transcriptior	100	GATA1_04	0.303623467566674	0.54202411E0.240971595	1.272484895	enriched	98	50
Transcriptior	181	RFX1_01	0.310455290560286	0.5461293750.14700344C	1.158357947	enriched	280	122
Transcriptior	117	GRE_C	0.321504094448288	0.55791462E0.170836947	1.186297304	enriched	180	86
Transcriptior	228	NFKB_Q6	0.321784784337228	0.55791462E0.389177431	1.475766375	enriched	33	18
Transcriptior	83	RP58_01	0.343160804658956	0.5905187010.14330376E	1.154080322	enriched	238	115
Transcriptior	14	E2F_02	0.345490194579477	0.5905187010.124246135	1.132294534	enriched	324	147
Transcriptior	69	AP4_Q5	0.35882475727445	0.6046096440.76868538E	1.156928865	enriched	11	6
Transcriptior	152	PAX3_01	0.361260534695942	0.6046096440.130416902	1.139303262	enriched	264	126
Transcriptior	32	MEIS1_01	0.382367113318584	0.6286349850.208008261	1.231223341	enriched	101	47
Transcriptior	240	LMO2COM	0.389279754832264	0.6338947350.21799053E	1.243575295	enriched	89	40
Transcriptior	37	NRF2_01	0.39696557950497	0.6377913640.094668372	1.09929423E	enriched	432	188
Transcriptior	63	CDP_02	0.408302246571644	0.6431427540.15559361E	1.16835131C	enriched	167	82
Transcriptior	86	CREB_02	0.419078668402678	0.6558309030.16927090E	1.184440971	enriched	127	55
Transcriptior	30	TAXCREB_01	0.436483999245026	0.6756696570.114010827	1.12076425E	enriched	255	118
Transcriptior	78	EV1_02	0.437362931617166	0.6756696570.190924771	1.210368394	enriched	94	44
Transcriptior	13	CREB_Q4	0.441298096906109	0.6774066320.345346475	1.412479224	enriched	27	14
Transcriptior	221	ISRE_01	0.459788013272616	0.7013222220.108818941	1.11496045E	enriched	257	118
Transcriptior	21	E4BP4_01	0.466371928951005	0.70689078E0.110565821	1.116909862	enriched	249	120
Transcriptior	101	GATA3_01	0.474098388107539	0.70967574E0.273951307	1.315150763	enriched	35	18
Transcriptior	137	HFH3_01	0.487319990190452	0.71555231E0.186093254	1.204534583	enriched	76	39
Transcriptior	40	TST1_01	0.501572458789124	0.71703397E0.09993354E	1.105097481	enriched	251	119
Transcriptior	98	CREB_01	0.50356319635014	0.71703397E0.097592151	1.102513035	enriched	271	116
Transcriptior	180	GATA2_01	0.505791602762268	0.71703397E0.25232203E	1.287010434	enriched	36	18
Transcriptior	159	STAT5A_02	0.553449742489492	0.7621793550.08569814E	1.08947741E	enriched	254	117
Transcriptior	125	IRF1_01	0.562279397876723	0.76566066E0.092515877	1.09693055E	enriched	238	103
Transcriptior	112	RORA1_01	0.568320429618929	0.7694675470.103943252	1.10953748E	enriched	162	78
Transcriptior	157	FREAC4_01	0.589361452281784	0.79210426E0.091818743	1.09616611E	enriched	183	89
Transcriptior	187	STAT5B_01	0.591613144763052	0.79210426E0.154632297	1.16722868E	enriched	71	33
Transcriptior	128	AREB6_Q4	0.609522427966099	0.80105594C0.32250130E	1.380576697	enriched	19	7
Transcriptior	193	NFY_01	0.611594576619358	0.80105594C0.292822181	1.340204455	enriched	21	8
Transcriptior	141	SRF_Q6	0.617346951199191	0.8042195410.097182281	1.102061241	enriched	135	63
Transcriptior	190	NFKAPPAB5C	0.622282856859127	0.80629122E0.12944079E	1.138191727	enriched	85	34
Transcriptior	245	STAT1_01	0.638751243467937	0.82004898E0.075472412	1.07839347E	enriched	211	93
Transcriptior	216	MEF2_Q4	0.669886960290443	0.8408476940.087900097	1.091879034	enriched	129	63
Transcriptior	235	USF_01	0.673470528297787	0.84096578E0.09006510C	1.094245517	enriched	113	52
Transcriptior	241	E2F_Q3	0.693072715953544	0.8603446640.11163118E	1.118100415	enriched	66	30
Transcriptior	164	PPARA_01	0.69856890834492	0.8603446640.054029345	1.05551557E	enriched	275	122
Transcriptior	148	IK3_01	0.723628464799898	0.8807801010.05949248E	1.06129778E	enriched	201	83
Transcriptior	212	CEBPB_01	0.731953710928674	0.88097130E0.073341554	1.07609802C	enriched	131	55
Transcriptior	226	MYB_Q6	0.749665962643155	0.88097130E0.049541571	1.050789274	enriched	215	100
Transcriptior	223	E47_Q2	0.754317022874575	0.88097130E0.083654693	1.087253393	enriched	75	35
Transcriptior	210	SP1_Q6	0.759927980566396	0.88097130E0.111612001	1.118078963	enriched	39	18
Transcriptior	220	GATA1_Q3	0.761560172063607	0.88097130E0.04583168E	1.046898192	enriched	242	109
Transcriptior	229	ARNT_Q2	0.764991806724403	0.88097130E0.03986129E	1.04066642C	enriched	305	133
Transcriptior	119	CETS1P54_0	0.772778000889049	0.88097130E0.07276457C	1.075477307	enriched	84	36
Transcriptior	12	CREB_Q2	0.784860482558583	0.8803463C0.104868081	1.11056409E	enriched	34	17
Transcriptior	108	CREBP1_01	0.796981524611706	0.89753526E0.084847623	1.088551183	enriched	50	24
Transcriptior	204	FREAC7_01	0.805995217237663	0.90088689E0.065825854	1.06804070E	enriched	83	37
Transcriptior	232	SREBP1_01	0.807433901877558	0.90088689E0.03129935E	1.031794334	enriched	328	143
Transcriptior	62	RSRFC4_01	0.818361543518124	0.9088715750.035772235	1.03641976C	enriched	231	105
Transcriptior	127	PAX4_Q3	0.823270051971234	0.91012881E0.040300863	1.041123963	enriched	168	74
Transcriptior	194	PAX4_Q2	0.851415609726763	0.9219480440.042295952	1.043203171	enriched	118	52
Transcriptior	172	CREBP1_Q2	0.85784168885899	0.9219480440.022957295	1.023222842	enriched	336	145
Transcriptior	238	GATA1_Q2	0.902893379059469	0.9513479150.022241757	1.022490945	enriched	151	70
Transcriptior	133	YY1_01	0.916102194125778	0.9599157770.01758723E	1.017742802	enriched	191	82
Transcriptior	142	STAT_01	0.925564340544571	0.96563206C0.016295051	1.01642853E	enriched	176	76
Transcriptior	80	HOX13_01	0.945217365774524	0.97767118C0.011766314	1.01183581C	enriched	170	75
Transcriptior	19	LMO2COM	0.953254758182118	0.9791981050.00924488E	1.00928775E	enriched	209	94
Transcriptior	82	EV1_03	0.955222578078884	0.9791981050.018234607	1.018401873	enriched	61	25
Transcriptior	16	AP1F_Q2	0.958882791846232	0.9791981050.01773447E	1.017892667	enriched	46	19
Transcriptior	58	HOKA3_01	0.985278465852696	0.9923534420.003204977	1.003210115	enriched	175	80

Transcriptior	77	CEBPA_01	0.992353442965168	0.9923534420.002357682.1.002360463	enriched	84	40	
Transcriptior	114	POU3F2_01	0.00290893777501195	0.033152893-0.53544412	0.585409235	depleted	166	60
Transcriptior	230	NKX61_01	0.00389919336724145	0.03756311C-0.54642049	0.579018704	depleted	153	54
Transcriptior	209	POU3F2_02	0.00503410991105705	0.043329303-0.47612050	0.621188624	depleted	190	69
Transcriptior	50	LHX3_01	0.0209976542806671	0.097974137-0.61971665	0.538096882	depleted	72	26
Transcriptior	145	PBX1_02	0.0239515353825449	0.100674597-0.43271649	0.648744384	depleted	149	53
Transcriptior	156	BRN2_01	0.0311421860056166	0.123037161-0.33964760	0.712021185	depleted	226	84
Transcriptior	53	HNF3B_01	0.039320089660034	0.143577904-0.40274379	0.668483345	depleted	133	55
Transcriptior	173	PAX6_01	0.041735053376074	0.147130445-0.28347304	0.753163423	depleted	291	109
Transcriptior	134	CDP_01	0.0448896811837493	0.154548755-0.36649513	0.693159511	depleted	163	62
Transcriptior	44	NKX2_02	0.0499841266809692	0.168798994-0.34625666	0.707330918	depleted	167	71
Transcriptior	139	FREAC3_01	0.0646027250221234	0.198475535-0.28771323	0.749976625	depleted	213	89
Transcriptior	55	FOXJ2_02	0.0762188893119706	0.213590143-0.32152104	0.725045373	depleted	162	67
Transcriptior	81	OCT1_05	0.0923168364099222	0.249981545-0.56428459	0.568766901	depleted	43	17
Transcriptior	99	FOXJ2_01	0.102590026718294	0.269032846-0.43995155	0.64406762C	depleted	72	28
Transcriptior	29	OCT_C	0.109343828307535	0.283353361-0.22991702	0.794599528	depleted	261	107
Transcriptior	36	OCT1_01	0.116043578292272	0.285811272-0.41958011	0.65732276C	depleted	73	29
Transcriptior	90	TATA_C	0.116222011259435	0.285811272-0.29332799	0.745777485	depleted	149	59
Transcriptior	96	NKX3A_01	0.118443967458168	0.288333294-0.29051048	0.747881684	depleted	160	62
Transcriptior	167	GATA1_05	0.136671978904648	0.314156368-0.24921154	0.779415073	depleted	188	76
Transcriptior	121	FOXO1_02	0.143760194464638	0.326851008-0.21508355	0.80647405C	depleted	257	99
Transcriptior	182	MEIS1BHOX	0.148201835531029	0.330708651-0.21399290	0.80735411f	depleted	239	106
Transcriptior	27	TAT1_01	0.150990459312836	0.33384129C-0.23205291	0.79290416f	depleted	200	87
Transcriptior	205	START3_01	0.156089054292682	0.341976928-0.22663905	0.797208481	depleted	210	82
Transcriptior	38	EV11_06	0.160343290027915	0.34502440C-0.30895882	0.73419117f	depleted	108	45
Transcriptior	189	CDCS_01	0.180793246845604	0.385585597-0.23515159	0.79045101C	depleted	172	73
Transcriptior	18	HFH1_01	0.196396912536626	0.40803151f-0.22015448	0.802394825	depleted	175	78
Transcriptior	143	MEIS1AHOX	0.210361132763259	0.422475274-0.19211507	0.825211905	depleted	234	94
Transcriptior	46	NKX2_01	0.225549073251215	0.449234104-0.18917985	0.827637641	depleted	221	93
Transcriptior	130	NFAT_06	0.236966501376034	0.45837531f-0.40785600	0.66507464C	depleted	95	17
Transcriptior	33	S8_01	0.248622938698904	0.46811037f-0.26739191	0.76537305C	depleted	51	41
Transcriptior	170	CEBP_Q2	0.258057465542231	0.478398835-0.27323299	0.760915475	depleted	93	37
Transcriptior	213	SOX5_01	0.261820008829659	0.481668871-0.25335947	0.776188807	depleted	107	43
Transcriptior	200	TGIF_01	0.274367858038298	0.49716281C-0.16758926	0.845701122	depleted	216	93
Transcriptior	166	POU6F1_01	0.308412592735303	0.546129375-0.19904582	0.819512337	depleted	148	59
Transcriptior	110	CREBP1CJUN	0.349534201943033	0.593223535-0.13916930	0.870080705	depleted	261	101
Transcriptior	177	E2F_01	0.381582789508095	0.628634985-0.13069032	0.877489467	depleted	249	100
Transcriptior	184	FOXO4_02	0.383441256864382	0.628634985-0.13109382	0.877135473	depleted	245	106
Transcriptior	129	HSF2_01	0.396927001999089	0.637791364-0.15149321	0.859423705	depleted	161	69
Transcriptior	2	OCT1_07	0.401729607857474	0.637808617-0.17411690	0.840198665	depleted	118	54
Transcriptior	104	HIF_01	0.40226933538788	0.637808617-0.12887406	0.879084665	depleted	229	103
Transcriptior	151	MEF2_03	0.472712419458685	0.70967522f-0.17629112	0.838373872	depleted	97	39
Transcriptior	20	CEBP_01	0.480311213712722	0.714537052-0.16394670	0.848782753	depleted	108	39
Transcriptior	178	MRF2_01	0.49043658027505	0.715552315-0.10900732	0.89672385C	depleted	211	91
Transcriptior	15	CDPCR3_01	0.492644413537972	0.715552315-0.08693120	0.916740162	depleted	328	144
Transcriptior	135	FAC1_01	0.492870062548845	0.715552315-0.11030633	0.895559752	depleted	206	87
Transcriptior	68	EV11_04	0.502949963908851	0.71703397f-0.14917403	0.861419181	depleted	111	46
Transcriptior	43	NFY_C	0.5295429565267	0.746330907-0.15480288	0.856584004	depleted	81	35
Transcriptior	88	OCT1_02	0.539241289361621	0.747821705-0.10605513	0.899375057	depleted	194	81
Transcriptior	10	OCT1_06	0.539541998757929	0.747821705-0.18663621	0.829745525	depleted	62	24
Transcriptior	54	STAT5A_01	0.539921065126292	0.747821705-0.16794727	0.845398407	depleted	67	28
Transcriptior	191	MAX_01	0.562331692829521	0.76566066f-0.10237508	0.902690905	depleted	163	71
Transcriptior	132	SOX9_B1	0.596726179231997	0.794535962-0.09251056	0.911639581	depleted	186	76
Transcriptior	188	FOXO3_01	0.611154513476674	0.80105594C-0.08147878	0.92175226f	depleted	209	95
Transcriptior	215	OCT1_03	0.640205480752393	0.820048985-0.10914136	0.896603657	depleted	96	42
Transcriptior	9	BRACH_01	0.64361532097797	0.820048985-0.06457184	0.937468754	depleted	274	118
Transcriptior	7	ELK1_02	0.646511651538084	0.820048985-0.07448683	0.928219695	depleted	193	78
Transcriptior	89	CEBPB_02	0.653925399647686	0.825111005f-0.07699352	0.925895847	depleted	188	79
Transcriptior	231	IRF2_01	0.702802625644638	0.860344664-0.05801834	0.943632637	depleted	245	102
Transcriptior	48	SRF_C	0.703269290105587	0.860344664-0.06832348	0.933958301	depleted	161	68
Transcriptior	115	EV11_05	0.730235030014676	0.88097130f-0.09251086	0.911639305	depleted	83	32
Transcriptior	41	SRY_02	0.737016894546196	0.88097130f-0.07618408	0.92664561C	depleted	111	48
Transcriptior	234	EV11_01	0.747776172425445	0.88097130f-0.06389636	0.938102214	depleted	141	61
Transcriptior	211	PBX1_01	0.763582420045972	0.88097130f-0.10654336	0.89893606f	depleted	39	18
Transcriptior	23	OCT1_04	0.769572899024737	0.88097130f-0.08871663	0.915104845	depleted	57	26
Transcriptior	64	HSF1_01	0.770578755810281	0.88097130f-0.05404477	0.947389682	depleted	161	68
Transcriptior	105	NFKAPPAB6	0.774962312525175	0.88097130f-0.06876589	0.933545203	depleted	88	40
Transcriptior	185	TCF11MAFG	0.847673341168145	0.921948044-0.02830104	0.972095674	depleted	245	108
Transcriptior	176	FREAC2_01	0.851146723302441	0.921948044-0.02877575	0.971634328	depleted	226	104
Transcriptior	126	IRF7_01	0.855366155731971	0.921948044-0.03027910	0.970174718	depleted	201	85
Transcriptior	236	IK2_01	0.861240831121456	0.921948044-0.07243746	0.93012390f	depleted	30	13
Transcriptior	233	OCT1_06	0.86201131034554	0.921948044-0.02849172	0.971910335	depleted	199	88
Transcriptior	150	CHX10_01	0.866015274389963	0.921948044-0.02719080	0.973175541	depleted	227	97
Transcriptior	74	FOXO3_01	0.86839089702797	0.921948044-0.04390627	0.957043651	depleted	83	37
Transcriptior	8	GATA_C	0.903977898758316	0.951347915-0.02164847	0.97858417f	depleted	163	73
Transcriptior	95	MSX1_01	0.941006728229123	0.977511295-0.01157219	0.988494502	depleted	222	99
Transcriptior	218	SP1_01	0.968249474814352	0.98459123f-0.01243463	0.987642354	depleted	51	23
Transcriptior	47	SRF_01	0.984244435101012	0.992353442-0.00300409	0.997000414	depleted	224	102
Transcriptior	123	NCX_01	0.988471919100549	0.992353442-0.00171392	0.998287541	depleted	378	173

2 Supplementary Table 2 : Gene ontology analysis of ChIP-seq data.

Supplementary Table 2 : Gene ontology analysis of ChIP-seq data.

term ID	t name	p-value
GO:0009987	cellular process	1,9E-296
GO:0044699	single-organism process	1,9E-296
GO:0005623	cell	1,9E-296
GO:0044464	cell part	1,9E-296
GO:0044763	single-organism cellular process	1,3E-290
GO:0016020	membrane	2,5E-251
GO:0005488	binding	3,2E-240
GO:0065007	biological regulation	2,3E-222
GO:0050794	regulation of cellular process	1,5E-209
GO:0050789	regulation of biological process	9,3E-206
GO:0044425	membrane part	8,5E-199
GO:0044700	single organism signaling	1,3E-182
GO:0031224	intrinsic component of membrane	2,4E-182
GO:0023052	signaling	3,2E-182
GO:0007154	cell communication	1,5E-181
GO:0050896	response to stimulus	3,2E-181
GO:0016021	integral component of membrane	5,0E-177
GO:0005622	intracellular	2,9E-172
GO:0007165	signal transduction	7,7E-171
GO:0044707	single-multicellular organism process	8,5E-170
GO:0043226	organelle	1,2E-167
GO:0044424	intracellular part	2,4E-162
GO:0032501	multicellular organismal process	3,1E-161
GO:0060089	molecular transducer activity	8,2E-156
GO:0004872	receptor activity	1,2E-153
GO:0051716	cellular response to stimulus	1,1E-152
GO:0050906	detection of stimulus involved in se	4,4E-151
GO:0050907	detection of chemical stimulus inv	1,0E-150
GO:0007606	sensory perception of chemical stii	2,1E-150
GO:0050911	detection of chemical stimulus in	8,1E-150
GO:0004984	olfactory receptor activity	7,0E-148
GO:0009593	detection of chemical stimulus	7,7E-146
GO:0043227	membrane-bounded organelle	1,0E-145
GO:0004871	signal transducer activity	1,1E-143
GO:0007600	sensory perception	3,5E-143
GO:0003008	system process	3,9E-143
GO:0004888	transmembrane signaling receptor	7,3E-142
GO:0007608	sensory perception of smell	9,3E-142
GO:0038023	signaling receptor activity	2,0E-141
GO:0051606	detection of stimulus	3,2E-140
GO:0007166	cell surface receptor signaling path	1,4E-139
GO:0050877	neurological system process	6,8E-138
GO:0007186	G-protein coupled receptor signalii	7,9E-132
GO:0043229	intracellular organelle	5,3E-131
GO:0005737	cytoplasm	6,7E-128
GO:0071944	cell periphery	2,8E-116
GO:0005886	plasma membrane	1,3E-111
GO:0043231	intracellular membrane-bounded c	3,8E-111
GO:0005515	protein binding	1,0E-103
GO:0042221	response to chemical	1,8E-96

GO:0008152	metabolic process	2,4E-96
GO:0044238	primary metabolic process	4,1E-94
GO:0044237	cellular metabolic process	1,7E-83
GO:0071704	organic substance metabolic process	1,1E-80
GO:0051179	localization	2,0E-77
GO:0044444	cytoplasmic part	4,7E-72
GO:0051234	establishment of localization	4,7E-65
GO:0006810	transport	4,9E-65
GO:0044459	plasma membrane part	1,6E-64
GO:0044422	organelle part	4,7E-64
GO:0071840	cellular component organization or bi	5,9E-64
GO:0016043	cellular component organization	6,9E-62
GO:0004930	G-protein coupled receptor activity	1,0E-61
GO:0044446	intracellular organelle part	2,5E-60
GO:0048518	positive regulation of biological proce	4,7E-59
GO:0043167	ion binding	3,8E-57
GO:0043170	macromolecule metabolic process	9,8E-57
GO:1902578	single-organism localization	5,6E-52
GO:0031226	intrinsic component of plasma mem	1,5E-51
GO:0003824	catalytic activity	2,3E-51
GO:0044260	cellular macromolecule metabolic pr	4,8E-51
GO:0005887	integral component of plasma mem	6,7E-51
KEGG:04740	Olfactory transduction	1,4E-50
GO:0005576	extracellular region	6,2E-50
GO:0005549	odorant binding	2,1E-48
GO:0048522	positive regulation of cellular proces	8,2E-48
REAC:599188	Olfactory Signaling Pathway	8,3E-48
GO:0044765	single-organism transport	1,2E-47
GO:0044710	single-organism metabolic process	2,0E-47
GO:0031982	vesicle	7,8E-46
GO:0044767	single-organism developmental proci	1,0E-45
GO:0032502	developmental process	2,0E-45
GO:0007275	multicellular organismal developmer	5,9E-44
GO:0005634	nucleus	1,1E-43
GO:0043234	protein complex	2,0E-43
GO:0097159	organic cyclic compound binding	6,5E-43
GO:0065008	regulation of biological quality	5,3E-41
GO:1901363	heterocyclic compound binding	6,8E-41
GO:0048856	anatomical structure development	3,0E-40
GO:0032991	macromolecular complex	3,7E-40
GO:0006807	nitrogen compound metabolic proce	4,7E-40
GO:0044421	extracellular region part	5,5E-40
GO:0031988	membrane-bounded vesicle	1,9E-39
GO:0019538	protein metabolic process	2,6E-38
GO:0044249	cellular biosynthetic process	3,2E-38
GO:0048731	system development	3,7E-38
GO:0012505	endomembrane system	2,1E-37
GO:0009058	biosynthetic process	4,9E-37
GO:0034641	cellular nitrogen compound metabo	1,7E-36
GO:0009653	anatomical structure morphogenesis	1,9E-36
GO:1901576	organic substance biosynthetic proci	6,8E-36
GO:0043169	cation binding	1,1E-35
GO:1901360	organic cyclic compound metabolic p	8,4E-35
GO:0048583	regulation of response to stimulus	1,7E-34

GO:0031323	regulation of cellular metabolic proc	4,1E-34
GO:0071702	organic substance transport	4,5E-34
GO:0048869	cellular developmental process	3,4E-33
GO:0046872	metal ion binding	4,2E-33
GO:0033036	macromolecule localization	6,8E-33
GO:0048523	negative regulation of cellular proces	8,6E-33
GO:0030154	cell differentiation	1,4E-32
GO:0006725	cellular aromatic compound metabo	1,6E-32
GO:0046483	heterocycle metabolic process	1,7E-32
GO:0051641	cellular localization	2,1E-32
GO:1903561	extracellular vesicle	2,2E-32
GO:0070062	extracellular exosome	2,2E-32
GO:0043230	extracellular organelle	2,5E-32
GO:0065010	extracellular membrane-bounded o	2,5E-32
GO:0005575	cellular_component	2,9E-32
GO:0032879	regulation of localization	2,9E-32
GO:0080090	regulation of primary metabolic pro	1,2E-31
GO:0009893	positive regulation of metabolic proc	3,8E-31
GO:0006139	nucleobase-containing compound n	5,8E-31
GO:0010646	regulation of cell communication	1,0E-29
GO:0048513	organ development	1,1E-29
GO:0006950	response to stress	2,0E-29
GO:0048519	negative regulation of biological proc	3,0E-29
GO:0023051	regulation of signaling	6,0E-29
GO:0016787	hydrolase activity	7,5E-29
GO:0031325	positive regulation of cellular metab	1,4E-28
GO:0008104	protein localization	1,6E-28
GO:0019222	regulation of metabolic process	1,2E-27
GO:0031326	regulation of cellular biosynthetic p	1,5E-27
GO:0051049	regulation of transport	2,0E-27
GO:0051649	establishment of localization in cell	5,0E-27
GO:0009888	tissue development	6,8E-27
REAC:599146	GPCR downstream signaling	1,5E-26
GO:0009966	regulation of signal transduction	6,1E-26
GO:0034645	cellular macromolecule biosynthetic	6,2E-26
GO:0009059	macromolecule biosynthetic proces	7,2E-26
GO:0016265	death	8,7E-26
GO:0043168	anion binding	1,2E-25
GO:0008219	cell death	1,5E-25
GO:0090304	nucleic acid metabolic process	1,8E-25
GO:0044085	cellular component biogenesis	2,0E-25
GO:0009889	regulation of biosynthetic process	2,5E-25
REAC:599114	Signaling by GPCR	3,0E-25
GO:0012501	programmed cell death	7,5E-25
GO:0051239	regulation of multicellular organism:	8,0E-25
GO:0006915	apoptotic process	9,0E-25
GO:0035556	intracellular signal transduction	1,6E-24
GO:0051171	regulation of nitrogen compound m	3,2E-24
GO:0043228	non-membrane-bounded organelle	3,9E-24
GO:0043232	intracellular non-membrane-bounc	3,9E-24
GO:1901362	organic cyclic compound biosynthet	4,9E-24
GO:0006996	organelle organization	5,8E-24
GO:0016070	RNA metabolic process	8,1E-24
GO:0022607	cellular component assembly	1,0E-23

GO:0019438	aromatic compound biosynthetic pr	1,3E-23
GO:0044271	cellular nitrogen compound biosynt	1,7E-23
GO:0006793	phosphorus metabolic process	3,7E-23
GO:0019219	regulation of nucleobase-containin	5,1E-23
GO:0045184	establishment of protein localizati	5,6E-23
GO:0018130	heterocycle biosynthetic process	7,2E-23
GO:0031090	organelle membrane	7,3E-23
GO:0006796	phosphate-containing compound m	1,2E-22
GO:0044428	nuclear part	1,3E-22
GO:0031974	membrane-enclosed lumen	2,0E-22
GO:2000112	regulation of cellular macromolecu	6,7E-22
GO:0034654	nucleobase-containing compound t	7,8E-22
GO:0010604	positive regulation of macromolecul	8,4E-22
GO:0010556	regulation of macromolecule biosyr	1,0E-21
GO:1902589	single-organism organelle organizat	1,0E-21
GO:0007155	cell adhesion	1,2E-21
GO:0009891	positive regulation of biosynthetic pi	1,7E-21
GO:0044267	cellular protein metabolic process	1,8E-21
GO:0043233	organelle lumen	1,9E-21
GO:0070013	intracellular organelle lumen	2,0E-21
GO:0022610	biological adhesion	2,2E-21
GO:0036094	small molecule binding	2,2E-21
GO:0006811	ion transport	2,5E-21
GO:0031328	positive regulation of cellular biosyr	4,9E-21
GO:0048585	negative regulation of response to st	6,6E-21
GO:0097367	carbohydrate derivative binding	7,5E-21
GO:0051173	positive regulation of nitrogen comp	7,5E-21
GO:0015031	protein transport	1,3E-20
GO:0051128	regulation of cellular component org	1,6E-20
GO:0010941	regulation of cell death	1,8E-20
GO:0048646	anatomical structure formation invol	2,6E-20
GO:0003676	nucleic acid binding	2,7E-20
GO:0048468	cell development	4,9E-20
GO:0048584	positive regulation of response to sti	5,0E-20
GO:0043933	macromolecular complex subunit or	5,4E-20
GO:0065009	regulation of molecular function	8,6E-20
GO:0042802	identical protein binding	1,1E-19
GO:0045935	positive regulation of nucleobase-cc	1,4E-19
GO:0043067	regulation of programmed cell deat	5,3E-19
GO:2001141	regulation of RNA biosynthetic prc	9,3E-19
GO:0032774	RNA biosynthetic process	1,1E-18
GO:0051252	regulation of RNA metabolic proce	1,3E-18
GO:1903506	regulation of nucleic acid-templat	1,6E-18
GO:0042981	regulation of apoptotic process	1,7E-18
GO:0097659	nucleic acid-templated transcripti	1,8E-18
GO:0007399	nervous system development	1,8E-18
GO:0006355	regulation of transcription, DNA-	2,6E-18
GO:0006351	transcription, DNA-templated	2,9E-18
GO:0044093	positive regulation of molecular func	3,5E-18
GO:0050793	regulation of developmental process	3,6E-18
GO:0060255	regulation of macromolecule metab	4,5E-18
GO:0009986	cell surface	6,3E-18
GO:0031981	nuclear lumen	6,9E-18
GO:0051240	positive regulation of multicellular or	9,0E-18

GO:0042127	regulation of cell proliferation	1,6E-17
GO:0042995	cell projection	2,2E-17
GO:0098588	bounding membrane of organelle	4,0E-17
GO:0010467	gene expression	4,5E-17
GO:1901265	nucleoside phosphate binding	5,0E-17
GO:0000166	nucleotide binding	5,0E-17
GO:0016310	phosphorylation	6,2E-17
GO:0046983	protein dimerization activity	6,5E-17
GO:0010557	positive regulation of macromolecu	7,1E-17
GO:2000026	regulation of multicellular organism	1,2E-16
GO:0010647	positive regulation of cell communic	1,6E-16
GO:0010628	positive regulation of gene expressi	2,3E-16
GO:0023056	positive regulation of signaling	2,3E-16
GO:0031410	cytoplasmic vesicle	2,8E-16
GO:0097458	neuron part	3,4E-16
GO:0023057	negative regulation of signaling	4,9E-16
GO:0005215	transporter activity	4,9E-16
GO:0009967	positive regulation of signal transduc	5,4E-16
GO:0042592	homeostatic process	5,7E-16
GO:0051254	positive regulation of RNA metabol	6,7E-16
GO:0071822	protein complex subunit organizatic	7,0E-16
GO:0006812	cation transport	8,1E-16
GO:0005856	cytoskeleton	9,7E-16
GO:0010648	negative regulation of cell communi	1,2E-15
GO:0060341	regulation of cellular localization	1,3E-15
GO:0008283	cell proliferation	1,6E-15
GO:0019899	enzyme binding	2,0E-15
GO:0016192	vesicle-mediated transport	4,0E-15
GO:0030001	metal ion transport	4,7E-15
GO:0050790	regulation of catalytic activity	4,8E-15
GO:0046907	intracellular transport	5,3E-15
GO:0060429	epithelium development	5,6E-15
GO:0022892	substrate-specific transporter activit	8,1E-15
GO:0043412	macromolecule modification	1,0E-14
GO:0022603	regulation of anatomical structure r	1,2E-14
GO:0043085	positive regulation of catalytic activi	1,2E-14
GO:1902680	positive regulation of RNA biosynth	1,3E-14
GO:1903508	positive regulation of nucleic acid-1	1,4E-14
GO:0045893	positive regulation of transcripior	1,4E-14
GO:0072359	circulatory system development	1,5E-14
GO:0072358	cardiovascular system development	1,5E-14
GO:0040011	locomotion	1,5E-14
GO:0006508	proteolysis	2,0E-14
GO:0065003	macromolecular complex assembly	2,1E-14
GO:0005794	Golgi apparatus	2,2E-14
GO:0044281	small molecule metabolic process	3,9E-14
GO:0022008	neurogenesis	4,0E-14
GO:0036211	protein modification process	4,1E-14
GO:0006464	cellular protein modification proces	4,1E-14
GO:0019904	protein domain specific binding	4,2E-14
GO:0051094	positive regulation of developmental	4,7E-14
GO:0048699	generation of neurons	5,3E-14
GO:0009968	negative regulation of signal transdu	5,5E-14
GO:0005654	nucleoplasm	5,8E-14

GO:0034220	ion transmembrane transport	5,8E-14
GO:0030182	neuron differentiation	8,4E-14
GO:0009790	embryo development	1,1E-13
GO:0032553	ribonucleotide binding	1,2E-13
GO:0006928	movement of cell or subcellular com	1,2E-13
GO:0032989	cellular component morphogenesis	1,2E-13
GO:0002376	immune system process	1,5E-13
GO:0006357	regulation of transcription from	1,5E-13
GO:0032555	purine ribonucleotide binding	1,7E-13
GO:0017076	purine nucleotide binding	1,8E-13
GO:1902531	regulation of intracellular signal tra	1,8E-13
GO:0098589	membrane region	1,9E-13
GO:0035639	purine ribonucleoside triphosphate	2,5E-13
GO:0005739	mitochondrion	3,4E-13
GO:0001883	purine nucleoside binding	3,8E-13
GO:0032549	ribonucleoside binding	3,8E-13
GO:0006366	transcription from RNA polymera	3,8E-13
GO:0005102	receptor binding	3,8E-13
GO:0001882	nucleoside binding	3,9E-13
GO:0032550	purine ribonucleoside binding	4,1E-13
GO:0055085	transmembrane transport	5,2E-13
GO:0023014	signal transduction by phosphoryla	5,2E-13
GO:0048666	neuron development	5,5E-13
GO:0030030	cell projection organization	5,5E-13
GO:0005783	endoplasmic reticulum	6,4E-13
GO:0070011	peptidase activity, acting on L-amin	6,9E-13
GO:0009887	organ morphogenesis	7,5E-13
GO:0040007	growth	8,6E-13
GO:0003674	molecular_function	9,4E-13
GO:0008233	peptidase activity	9,4E-13
GO:0080134	regulation of response to stress	1,0E-12
GO:0042803	protein homodimerization activity	1,0E-12
GO:0000902	cell morphogenesis	1,2E-12
GO:0045944	positive regulation of transcriptio	1,3E-12
GO:0009056	catabolic process	1,3E-12
GO:0022857	transmembrane transporter activity	1,4E-12
GO:0044430	cytoskeletal part	1,9E-12
GO:0044711	single-organism biosynthetic proces	2,0E-12
GO:0003677	DNA binding	2,7E-12
GO:0044877	macromolecular complex binding	3,1E-12
GO:0044297	cell body	3,1E-12
GO:0000165	MAPK cascade	3,3E-12
GO:0004175	endopeptidase activity	3,6E-12
GO:0070271	protein complex biogenesis	3,8E-12
GO:0006461	protein complex assembly	4,6E-12
GO:1902582	single-organism intracellular transp	5,1E-12
GO:0022891	substrate-specific transmembrane t	7,1E-12
GO:0032559	adenyl ribonucleotide binding	7,7E-12
GO:0005524	ATP binding	8,3E-12
GO:0036477	somatodendritic compartment	9,5E-12
GO:0030554	adenyl nucleotide binding	1,1E-11
GO:0009611	response to wounding	1,2E-11
GO:0051130	positive regulation of cellular compo	1,5E-11
GO:0043565	sequence-specific DNA binding	1,6E-11

GO:0033554	cellular response to stress	1,9E-11
GO:0030155	regulation of cell adhesion	1,9E-11
GO:0046903	secretion	2,1E-11
GO:0009890	negative regulation of biosynthetic p	2,6E-11
GO:0015075	ion transmembrane transporter act	2,9E-11
GO:0040008	regulation of growth	3,0E-11
GO:0008284	positive regulation of cell proliferati	3,0E-11
GO:0010468	regulation of gene expression	3,3E-11
GO:0097190	apoptotic signaling pathway	3,4E-11
GO:0031327	negative regulation of cellular biosy	3,6E-11
GO:0051174	regulation of phosphorus metabolic	3,8E-11
GO:0045595	regulation of cell differentiation	3,9E-11
GO:0051050	positive regulation of transport	4,0E-11
GO:0098660	inorganic ion transmembrane tran:	5,6E-11
GO:0019220	regulation of phosphate metabolic	5,8E-11
GO:0060548	negative regulation of cell death	6,3E-11
GO:1902533	positive regulation of intracellular si	7,1E-11
GO:0007267	cell-cell signaling	9,1E-11
GO:0051674	localization of cell	1,0E-10
GO:0048870	cell motility	1,0E-10
GO:0030054	cell junction	1,0E-10
GO:0044463	cell projection part	1,4E-10
GO:0043005	neuron projection	1,4E-10
GO:0061024	membrane organization	1,6E-10
GO:0048598	embryonic morphogenesis	1,8E-10
GO:0046914	transition metal ion binding	2,1E-10
GO:0070727	cellular macromolecule localization	2,2E-10
GO:0034613	cellular protein localization	3,1E-10
GO:0043025	neuronal cell body	3,4E-10
GO:2000113	negative regulation of cellular macr	3,7E-10
GO:0010558	negative regulation of macromolecu	3,7E-10
GO:0048729	tissue morphogenesis	4,2E-10
GO:0045597	positive regulation of cell differentia	4,3E-10
GO:1902580	single-organism cellular localization	5,3E-10
GO:0098655	cation transmembrane transport	6,7E-10
GO:0000904	cell morphogenesis involved in diff	8,2E-10
GO:0048514	blood vessel morphogenesis	8,4E-10
GO:0043269	regulation of ion transport	8,8E-10
GO:0051246	regulation of protein metabolic pro	9,2E-10
GO:0051172	negative regulation of nitrogen comj	1,0E-09
GO:0006629	lipid metabolic process	1,6E-09
GO:0045934	negative regulation of nucleobase-c	1,7E-09
REAC:599107	Signal Transduction	1,7E-09
GO:0001568	blood vessel development	1,9E-09
GO:0031324	negative regulation of cellular metal	2,3E-09
GO:0032880	regulation of protein localization	2,3E-09
GO:0043066	negative regulation of apoptotic pri	2,6E-09
GO:0043069	negative regulation of programmed	2,7E-09
GO:0042325	regulation of phosphorylation	2,7E-09
GO:0061061	muscle structure development	2,8E-09
GO:0031975	envelope	3,0E-09
GO:0044802	single-organism membrane organiz	3,2E-09
GO:0031967	organelle envelope	3,2E-09
GO:0098662	inorganic cation transmembrane t	3,2E-09

GO:0006468	protein phosphorylation	3,2E-09
GO:0001944	vasculature development	3,3E-09
GO:0022803	passive transmembrane transporter	3,4E-09
GO:0015267	channel activity	3,4E-09
GO:0006952	defense response	3,5E-09
GO:1901564	organonitrogen compound metaboli	3,6E-09
GO:0016477	cell migration	4,0E-09
GO:0007010	cytoskeleton organization	4,2E-09
GO:0007167	enzyme linked receptor protein sig	4,7E-09
GO:0009605	response to external stimulus	4,7E-09
GO:0098602	single organism cell adhesion	6,4E-09
GO:0022402	cell cycle process	6,5E-09
GO:0051241	negative regulation of multicellular o	6,7E-09
GO:0044248	cellular catabolic process	6,9E-09
GO:0048878	chemical homeostasis	8,2E-09
GO:0032940	secretion by cell	8,5E-09
GO:0048589	developmental growth	8,9E-09
GO:0022838	substrate-specific channel activity	9,2E-09
GO:0006955	immune response	1,4E-08
GO:0005216	ion channel activity	1,4E-08
GO:0007049	cell cycle	1,8E-08
GO:0051259	protein oligomerization	2,0E-08
GO:0005615	extracellular space	2,7E-08
GO:0007507	heart development	3,3E-08
GO:0016023	cytoplasmic membrane-bounded v	3,9E-08
GO:0045892	negative regulation of transcriptio	4,0E-08
GO:1903507	negative regulation of nucleic acid-	4,4E-08
GO:0051260	protein homooligomerization	4,5E-08
GO:0031175	neuron projection development	4,6E-08
GO:0043408	regulation of MAPK cascade	5,1E-08
GO:0010562	positive regulation of phosphorus r	5,3E-08
GO:0045937	positive regulation of phosphate m	5,3E-08
GO:0032844	regulation of homeostatic process	5,5E-08
GO:0051345	positive regulation of hydrolase acti	5,7E-08
GO:0000981	sequence-specific DNA binding RNA	7,3E-08
GO:1902679	negative regulation of RNA biosynt	7,4E-08
GO:1901575	organic substance catabolic process	7,8E-08
GO:0045785	positive regulation of cell adhesion	7,8E-08
GO:0007389	pattern specification process	8,4E-08
GO:0051046	regulation of secretion	8,5E-08
GO:0044429	mitochondrial part	8,7E-08
GO:0016740	transferase activity	9,6E-08
GO:0043410	positive regulation of MAPK casca	1,0E-07
GO:0008324	cation transmembrane transporter	1,1E-07
GO:1901135	carbohydrate derivative metabolic p	1,2E-07
GO:0002009	morphogenesis of an epithelium	1,2E-07
GO:0007169	transmembrane receptor protein i	1,3E-07
GO:0045202	synapse	1,3E-07
GO:0050776	regulation of immune response	1,4E-07
GO:0043405	regulation of MAP kinase activity	1,6E-07
GO:0016337	single organismal cell-cell adhesion	1,8E-07
GO:0003723	RNA binding	2,1E-07
GO:0014706	striated muscle tissue development	2,3E-07
GO:0005730	nucleolus	2,4E-07

GO:0002682	regulation of immune system proces	2,4E-07
GO:0008236	serine-type peptidase activity	2,7E-07
GO:0017171	serine hydrolase activity	2,8E-07
GO:0016482	cytoplasmic transport	2,8E-07
GO:1903530	regulation of secretion by cell	2,8E-07
GO:0060284	regulation of cell development	2,9E-07
GO:0043235	receptor complex	3,2E-07
GO:0005768	endosome	3,3E-07
GO:0030855	epithelial cell differentiation	3,5E-07
GO:1903034	regulation of response to wounding	3,7E-07
GO:0051336	regulation of hydrolase activity	3,7E-07
GO:0015672	monovalent inorganic cation transp	4,1E-07
GO:0007417	central nervous system developmer	4,2E-07
GO:0001525	angiogenesis	4,4E-07
GO:0048568	embryonic organ development	4,9E-07
GO:0098772	molecular function regulator	5,2E-07
GO:0009792	embryo development ending in birt	5,2E-07
GO:0051253	negative regulation of RNA metabo	5,3E-07
GO:0043009	chordate embryonic development	7,3E-07
GO:0071705	nitrogen compound transport	7,3E-07
GO:0008270	zinc ion binding	7,6E-07
GO:0022890	inorganic cation transmembrane t	7,7E-07
GO:0070201	regulation of establishment of prote	7,9E-07
GO:2001233	regulation of apoptotic signaling pa	7,9E-07
GO:0040012	regulation of locomotion	8,1E-07
GO:0051223	regulation of protein transport	8,2E-07
GO:0043065	positive regulation of apoptotic pro	8,4E-07
GO:0022836	gated channel activity	9,2E-07
GO:0043436	oxoacid metabolic process	9,6E-07
GO:0003002	regionalization	1,1E-06
GO:0044822	poly(A) RNA binding	1,1E-06
GO:0006082	organic acid metabolic process	1,2E-06
GO:0016788	hydrolase activity, acting on ester b	1,2E-06
GO:0007423	sensory organ development	1,3E-06
GO:0050801	ion homeostasis	1,3E-06
GO:0060537	muscle tissue development	1,3E-06
GO:0044057	regulation of system process	1,3E-06
GO:0098552	side of membrane	1,4E-06
GO:0003013	circulatory system process	1,4E-06
GO:0051247	positive regulation of protein metal	1,4E-06
GO:0043068	positive regulation of programmed	1,6E-06
GO:0006897	endocytosis	1,6E-06
GO:0051960	regulation of nervous system devel	1,7E-06
GO:0004252	serine-type endopeptidase activity	1,7E-06
GO:0051270	regulation of cellular component mc	1,8E-06
GO:0019900	kinase binding	1,8E-06
GO:0042327	positive regulation of phosphorylat	1,9E-06
GO:0008285	negative regulation of cell proliferati	2,0E-06
GO:0007610	behavior	2,0E-06
GO:0032403	protein complex binding	2,2E-06
GO:0048638	regulation of developmental growth	2,5E-06
GO:0005198	structural molecule activity	2,5E-06
GO:0001763	morphogenesis of a branching struct	2,6E-06
GO:0032268	regulation of cellular protein metal	2,6E-06

GO:0001932	regulation of protein phosphoryla	2,7E-06
GO:0017111	nucleoside-triphosphatase activity	2,8E-06
GO:0008015	blood circulation	3,0E-06
GO:0019901	protein kinase binding	3,0E-06
GO:0032990	cell part morphogenesis	3,1E-06
GO:0001067	regulatory region nucleic acid bindi	3,1E-06
GO:0007005	mitochondrion organization	3,2E-06
GO:0034702	ion channel complex	3,2E-06
GO:1990351	transporter complex	3,5E-06
GO:0010942	positive regulation of cell death	3,6E-06
GO:1902495	transmembrane transporter comple	3,6E-06
GO:0000975	regulatory region DNA binding	3,8E-06
GO:0050673	epithelial cell proliferation	3,9E-06
GO:0016049	cell growth	3,9E-06
GO:0045111	intermediate filament cytoskeletc	4,2E-06
GO:0051093	negative regulation of developmenta	4,3E-06
GO:0042692	muscle cell differentiation	4,6E-06
GO:0034765	regulation of ion transmembrane t	4,7E-06
GO:0046982	protein heterodimerization activity	4,8E-06
GO:0044212	transcription regulatory region DN	4,9E-06
GO:0009952	anterior/posterior pattern specifica	4,9E-06
GO:0034762	regulation of transmembrane trans	5,4E-06
GO:1901137	carbohydrate derivative biosyntheti	5,5E-06
GO:0005829	cytosol	5,8E-06
GO:0098590	plasma membrane region	6,2E-06
GO:0005882	intermediate filament	7,0E-06
GO:0016817	hydrolase activity, acting on acid an	7,0E-06
GO:0005261	cation channel activity	7,2E-06
GO:0051338	regulation of transferase activity	7,6E-06
GO:0016462	pyrophosphatase activity	7,6E-06
GO:0055114	oxidation-reduction process	7,7E-06
GO:0033043	regulation of organelle organization	7,9E-06
GO:0006954	inflammatory response	8,0E-06
GO:0046873	metal ion transmembrane transp	8,1E-06
GO:0048858	cell projection morphogenesis	8,4E-06
GO:0016818	hydrolase activity, acting on acid ar	8,4E-06
GO:0042060	wound healing	8,8E-06
GO:0031012	extracellular matrix	9,6E-06
GO:0019752	carboxylic acid metabolic process	9,7E-06
GO:0001775	cell activation	1,0E-05
GO:0001816	cytokine production	1,0E-05
GO:0055080	cation homeostasis	1,1E-05
GO:0042391	regulation of membrane potential	1,1E-05
GO:0000278	mitotic cell cycle	1,1E-05
GO:0006820	anion transport	1,2E-05
GO:0061138	morphogenesis of a branching epith	1,2E-05
GO:0048562	embryonic organ morphogenesis	1,3E-05
GO:0043549	regulation of kinase activity	1,3E-05
GO:0060322	head development	1,3E-05
GO:0010959	regulation of metal ion transport	1,5E-05
GO:0010769	regulation of cell morphogenesis in	1,5E-05
GO:0000977	RNA polymerase II regulatory reg	1,6E-05
GO:1903047	mitotic cell cycle process	1,7E-05
GO:0022407	regulation of cell-cell adhesion	1,7E-05

GO:0048738	cardiac muscle tissue development	1,7E-05
GO:0071902	positive regulation of protein seri	1,8E-05
GO:0030246	carbohydrate binding	1,8E-05
GO:0009897	external side of plasma membrane	1,8E-05
GO:0045859	regulation of protein kinase activi	1,8E-05
GO:0010033	response to organic substance	1,9E-05
GO:0031399	regulation of protein modification	2,1E-05
GO:0050678	regulation of epithelial cell prolifer:	2,1E-05
GO:0007420	brain development	2,4E-05
GO:0001012	RNA polymerase II regulatory regi	2,4E-05
GO:0055082	cellular chemical homeostasis	2,5E-05
GO:0015077	monovalent inorganic cation tran	2,5E-05
GO:0005975	carbohydrate metabolic process	2,6E-05
GO:0098771	inorganic ion homeostasis	2,7E-05
GO:0015630	microtubule cytoskeleton	2,8E-05
GO:0002684	positive regulation of immune system	2,8E-05
GO:0070838	divalent metal ion transport	3,1E-05
GO:0007517	muscle organ development	3,2E-05
GO:0005740	mitochondrial envelope	3,2E-05
GO:0006886	intracellular protein transport	3,2E-05
GO:0043406	positive regulation of MAP kinase	3,3E-05
GO:0051961	negative regulation of nervous syste	3,4E-05
GO:0007017	microtubule-based process	3,5E-05
GO:0072511	divalent inorganic cation transport	3,6E-05
GO:0061458	reproductive system development	3,8E-05
GO:0022604	regulation of cell morphogenesis	3,9E-05
GO:2000145	regulation of cell motility	3,9E-05
GO:0042578	phosphoric ester hydrolase activity	4,1E-05
GO:0043209	myelin sheath	4,2E-05
GO:0001501	skeletal system development	4,2E-05
GO:0001071	nucleic acid binding transcription fac	4,2E-05
GO:0003700	sequence-specific DNA binding trans	4,2E-05
GO:0022409	positive regulation of cell-cell adhes	4,5E-05
GO:0001817	regulation of cytokine production	4,5E-05
GO:0071363	cellular response to growth factor stir	4,7E-05
GO:0070161	anchoring junction	4,7E-05
GO:0009892	negative regulation of metabolic pro	4,9E-05
GO:0044712	single-organism catabolic process	5,1E-05
GO:0032270	positive regulation of cellular protei	5,1E-05
GO:0045177	apical part of cell	5,4E-05
GO:0060627	regulation of vesicle-mediated trans	5,7E-05
GO:0001228	RNA polymerase II transcription reg	5,8E-05
GO:0071900	regulation of protein serine/threi	5,9E-05
GO:0090066	regulation of anatomical structure si	5,9E-05
GO:0000976	transcription regulatory region se	6,2E-05
GO:0048608	reproductive structure development	6,4E-05
GO:0044456	synapse part	6,6E-05
GO:0048588	developmental cell growth	7,1E-05
GO:0045860	positive regulation of protein kina	7,1E-05
GO:0032386	regulation of intracellular transport	7,8E-05
GO:0006816	calcium ion transport	8,1E-05
GO:0044255	cellular lipid metabolic process	8,2E-05
GO:0031966	mitochondrial membrane	8,2E-05
GO:0019725	cellular homeostasis	8,7E-05

GO:0008610	lipid biosynthetic process	8,9E-05
GO:0070848	response to growth factor	8,9E-05
GO:0005912	adherens junction	9,6E-05
GO:0010564	regulation of cell cycle process	9,6E-05
GO:0019637	organophosphate metabolic proces	1,0E-04
GO:0035239	tube morphogenesis	1,0E-04
GO:0007268	synaptic transmission	1,1E-04
GO:0006873	cellular ion homeostasis	1,1E-04
GO:0051222	positive regulation of protein transp	1,2E-04
GO:0006813	potassium ion transport	1,2E-04
GO:0035295	tube development	1,3E-04
GO:0032101	regulation of response to external s	1,3E-04
GO:0044431	Golgi apparatus part	1,3E-04
GO:0060562	epithelial tube morphogenesis	1,3E-04
GO:0030424	axon	1,4E-04
GO:0031589	cell-substrate adhesion	1,4E-04
GO:0048754	branching morphogenesis of an epit	1,5E-04
GO:0050767	regulation of neurogenesis	1,8E-04
GO:0010721	negative regulation of cell developn	1,9E-04
GO:0010975	regulation of neuron projection dev	2,0E-04
GO:0008643	carbohydrate transport	2,0E-04
GO:0044432	endoplasmic reticulum part	2,1E-04
GO:0097191	extrinsic apoptotic signaling pathw	2,1E-04
GO:0022843	voltage-gated cation channel acti	2,1E-04
GO:0032787	monocarboxylic acid metabolic prc	2,2E-04
GO:0001819	positive regulation of cytokine prod	2,2E-04
GO:0000122	negative regulation of transcriptic	2,3E-04
GO:0005578	proteinaceous extracellular matrix	2,4E-04
MI:mmu-miR	MI:mmu-miR-762	2,5E-04
GO:0030003	cellular cation homeostasis	2,5E-04
GO:0048285	organelle fission	2,6E-04
GO:0045664	regulation of neuron differentiat	2,6E-04
GO:0051146	striated muscle cell differentiation	2,6E-04
GO:0090596	sensory organ morphogenesis	2,7E-04
GO:0031344	regulation of cell projection organ	2,9E-04
HP:0010985	Gonosomal inheritance	2,9E-04
GO:0005516	calmodulin binding	2,9E-04
GO:0010720	positive regulation of cell developm	3,0E-04
HP:0001417	X-linked inheritance	3,1E-04
GO:0033365	protein localization to organelle	3,1E-04
GO:0044723	single-organism carbohydrate metat	3,2E-04
GO:0070925	organelle assembly	3,2E-04
GO:0022414	reproductive process	3,3E-04
GO:0030176	integral component of endoplasmic	3,4E-04
GO:0051347	positive regulation of transferase ac	3,6E-04
GO:0051051	negative regulation of transport	3,7E-04
GO:0010605	negative regulation of macromolecu	3,7E-04
GO:0031347	regulation of defense response	4,2E-04
GO:0033674	positive regulation of kinase activi	4,2E-04
GO:0070887	cellular response to chemical stimuli	4,2E-04
GO:0050768	negative regulation of neurogenesi	4,5E-04
GO:0048667	cell morphogenesis involved in neu	4,6E-04
GO:0097193	intrinsic apoptotic signaling pathw	4,6E-04
GO:0002573	myeloid leukocyte differentiation	4,7E-04

GO:0051301	cell division	4,9E-04
GO:0007264	small GTPase mediated signal tran:	5,1E-04
GO:0050865	regulation of cell activation	5,1E-04
GO:0007067	mitotic nuclear division	5,1E-04
GO:0030334	regulation of cell migration	5,2E-04
GO:0016324	apical plasma membrane	5,2E-04
GO:0032102	negative regulation of response to e	5,8E-04
GO:0031301	integral component of organelle m	5,8E-04
GO:0008092	cytoskeletal protein binding	6,0E-04
GO:0031227	intrinsic component of endoplasmic	6,1E-04
GO:0019866	organelle inner membrane	6,3E-04
GO:0005509	calcium ion binding	6,3E-04
GO:0031300	intrinsic component of organelle me	6,4E-04
GO:0044702	single organism reproductive process	6,5E-04
GO:0060249	anatomical structure homeostasis	6,6E-04
GO:0005539	glycosaminoglycan binding	6,8E-04
GO:0061448	connective tissue development	7,0E-04
GO:0080135	regulation of cellular response to sti	7,0E-04
GO:0045321	leukocyte activation	7,1E-04
GO:0042383	sarcolemma	7,1E-04
GO:0072507	divalent inorganic cation homeost	7,2E-04
GO:0005667	transcription factor complex	7,3E-04
GO:0002694	regulation of leukocyte activation	7,3E-04
GO:0008134	transcription factor binding	7,7E-04
GO:0000280	nuclear division	8,2E-04
GO:0044087	regulation of cellular component bic	8,3E-04
GO:0030425	dendrite	8,8E-04
GO:0010827	regulation of glucose transport	9,2E-04
GO:0072657	protein localization to membrane	9,9E-04
GO:0055065	metal ion homeostasis	1,0E-03
GO:0000226	microtubule cytoskeleton organizat	1,0E-03
GO:0060560	developmental growth involved in r	1,1E-03
GO:0045926	negative regulation of growth	1,1E-03
GO:0008289	lipid binding	1,1E-03
GO:0001654	eye development	1,2E-03
GO:0001704	formation of primary germ layer	1,2E-03
GO:0048732	gland development	1,2E-03
GO:0040013	negative regulation of locomotion	1,2E-03
GO:0051129	negative regulation of cellular comp	1,2E-03
MI:mmu-miF	MI:mmu-miR-184	1,3E-03
GO:0022832	voltage-gated channel activity	1,3E-03
GO:0005244	voltage-gated ion channel activity	1,3E-03
GO:0046578	regulation of Ras protein signal tr	1,3E-03
GO:0051726	regulation of cell cycle	1,4E-03
GO:0035265	organ growth	1,4E-03
GO:0090407	organophosphate biosynthetic proc	1,4E-03
GO:0005789	endoplasmic reticulum membrane	1,4E-03
GO:0015711	organic anion transport	1,5E-03
GO:0007498	mesoderm development	1,7E-03
GO:1901615	organic hydroxy compound metabol	1,7E-03
GO:0007265	Ras protein signal transduction	1,9E-03
GO:0051047	positive regulation of secretion	1,9E-03
GO:0008083	growth factor activity	1,9E-03
GO:0034703	cation channel complex	2,0E-03

GO:0034097	response to cytokine	2,1E-03
GO:0016791	phosphatase activity	2,1E-03
GO:0050730	regulation of peptidyl-tyrosine ph	2,1E-03
GO:0008047	enzyme activator activity	2,2E-03
GO:0016055	Wnt signaling pathway	2,2E-03
GO:0034330	cell junction organization	2,2E-03
GO:0002683	negative regulation of immune syste	2,4E-03
GO:0006875	cellular metal ion homeostasis	2,4E-03
GO:0035023	regulation of Rho protein signal tr	2,4E-03
GO:0048812	neuron projection morphogenesis	2,5E-03
GO:0006974	cellular response to DNA damage st	2,5E-03
GO:0050778	positive regulation of immune respo	2,6E-03
GO:0034976	response to endoplasmic reticulum	2,7E-03
GO:0016491	oxidoreductase activity	2,8E-03
GO:0001934	positive regulation of protein phos	2,9E-03
GO:0001558	regulation of cell growth	2,9E-03
MI:mmu-miF	MI:mmu-miR-298	2,9E-03
GO:0048471	perinuclear region of cytoplasm	3,2E-03
GO:1902532	negative regulation of intracellular s	3,2E-03
GO:0045596	negative regulation of cell differenti	3,3E-03
GO:0016311	dephosphorylation	3,3E-03
GO:0051403	stress-activated MAPK cascade	3,3E-03
GO:0015749	monosaccharide transport	3,4E-03
GO:0072330	monocarboxylic acid biosynthetic pro	3,5E-03
GO:0071804	cellular potassium ion transport	3,7E-03
GO:0071805	potassium ion transmembrane tra	3,7E-03
GO:0048639	positive regulation of developmenta	3,7E-03
GO:0035051	cardiocyte differentiation	3,7E-03
GO:0048864	stem cell development	3,8E-03
GO:0050727	regulation of inflammatory respons	3,8E-03
GO:0033267	axon part	3,8E-03
GO:0051056	regulation of small GTPase mediat	3,9E-03
GO:0032486	Rap protein signal transduction	4,1E-03
GO:0006066	alcohol metabolic process	4,2E-03
GO:2001236	regulation of extrinsic apoptotic sig	4,2E-03
GO:0007369	gastrulation	4,3E-03
GO:0032845	negative regulation of homeostatic p	4,3E-03
GO:0045216	cell-cell junction organization	4,4E-03
GO:1903522	regulation of blood circulation	4,5E-03
GO:2000027	regulation of organ morphogenesis	4,5E-03
GO:0070663	regulation of leukocyte proliferatio	4,5E-03
GO:0002696	positive regulation of leukocyte activ	4,6E-03
GO:0007059	chromosome segregation	4,6E-03
GO:0015758	glucose transport	4,6E-03
GO:0051704	multi-organism process	4,6E-03
GO:1903039	positive regulation of leukocyte cell	4,6E-03
GO:0048863	stem cell differentiation	4,7E-03
GO:0005743	mitochondrial inner membrane	4,8E-03
GO:1901565	organonitrogen compound cataboli	5,0E-03
GO:0035020	regulation of Rac protein signal tr	5,0E-03
GO:0030141	secretory granule	5,2E-03
GO:0001701	in utero embryonic development	5,2E-03
GO:0016601	Rac protein signal transduction	5,3E-03
GO:1901342	regulation of vasculature developm	5,3E-03

GO:0055001	muscle cell development	5,6E-03
GO:0051924	regulation of calcium ion transpor	5,6E-03
GO:1901566	organonitrogen compound biosyntf	5,7E-03
GO:0050909	sensory perception of taste	5,7E-03
GO:0007492	endoderm development	5,7E-03
GO:0007189	adenylate cyclase-activating G-pr	5,7E-03
GO:0023061	signal release	5,8E-03
GO:0007266	Rho protein signal transduction	6,1E-03
GO:0042175	nuclear outer membrane-endoplasr	6,1E-03
GO:0009057	macromolecule catabolic process	6,2E-03
GO:0031098	stress-activated protein kinase sigr	6,2E-03
GO:0051251	positive regulation of lymphocyte ac	6,2E-03
GO:1902494	catalytic complex	6,3E-03
GO:0005874	microtubule	6,3E-03
GO:0055007	cardiac muscle cell differentiation	6,3E-03
GO:0060070	canonical Wnt signaling pathway	6,4E-03
GO:0016746	transferase activity, transferring acy	6,4E-03
GO:0032944	regulation of mononuclear cell pro	6,5E-03
MI:mmu-miF	MI:mmu-miR-214	6,6E-03
GO:0032487	regulation of Rap protein signal tr	6,6E-03
GO:0007188	adenylate cyclase-modulating G-f	6,6E-03
GO:0055074	calcium ion homeostasis	6,7E-03
GO:0045995	regulation of embryonic developme	6,7E-03
GO:0008645	hexose transport	6,7E-03
GO:1903827	regulation of cellular protein localiz	6,7E-03
GO:0043623	cellular protein complex assembly	6,8E-03
GO:0009306	protein secretion	6,8E-03
GO:0050867	positive regulation of cell activation	6,9E-03
GO:0044283	small molecule biosynthetic process	7,0E-03
GO:0043588	skin development	7,0E-03
GO:0006171	cAMP biosynthetic process	7,0E-03
GO:1903649	regulation of cytoplasmic transport	7,1E-03
GO:0018108	peptidyl-tyrosine phosphorylation	7,1E-03
GO:0051249	regulation of lymphocyte activatio	7,2E-03
GO:0034110	regulation of homotypic cell-cell ac	7,2E-03
MI:mmu-miF	MI:mmu-miR-328	7,3E-03
GO:0001890	placenta development	7,6E-03
GO:0005881	cytoplasmic microtubule	7,7E-03
MI:hsa-miR-6	MI:hsa-miR-657	7,8E-03
GO:0061564	axon development	7,8E-03
GO:0005813	centrosome	7,9E-03
GO:0002449	lymphocyte mediated immunity	8,0E-03
GO:0045165	cell fate commitment	8,0E-03
GO:0044092	negative regulation of molecular fun	8,0E-03
GO:0001655	urogenital system development	8,1E-03
GO:0010876	lipid localization	8,3E-03
GO:0097285	cell-type specific apoptotic process	8,4E-03
GO:0050670	regulation of lymphocyte prolifera	8,4E-03
GO:0006839	mitochondrial transport	8,4E-03
GO:0030029	actin filament-based process	8,7E-03
GO:1900371	regulation of purine nucleotide biosy	8,8E-03
GO:0031401	positive regulation of protein modi	8,8E-03
GO:0032482	Rab protein signal transduction	9,0E-03
GO:0007409	axonogenesis	9,5E-03

GO:0031291	Ran protein signal transduction	9,8E-03
GO:0032484	Ral protein signal transduction	9,8E-03
GO:0032011	ARF protein signal transduction	9,8E-03
GO:0032015	regulation of Ran protein signal tr	9,8E-03
GO:0032012	regulation of ARF protein signal tr	9,8E-03
GO:0032483	regulation of Rab protein signal tr	9,8E-03
GO:0032485	regulation of Ral protein signal tra	9,8E-03
GO:0043087	regulation of GTPase activity	9,8E-03
GO:0001570	vasculogenesis	1,1E-02
GO:0007162	negative regulation of cell adhesion	1,1E-02
GO:0000003	reproduction	1,1E-02
GO:0034112	positive regulation of homotypic ce	1,1E-02
GO:0030198	extracellular matrix organization	1,1E-02
GO:1903037	regulation of leukocyte cell-cell adl	1,1E-02
GO:0071345	cellular response to cytokine stimulus	1,1E-02
GO:0003682	chromatin binding	1,1E-02
GO:0005759	mitochondrial matrix	1,2E-02
MI:mmu-miF	MI:mmu-miR-339-5p	1,2E-02
GO:0050913	sensory perception of bitter taste	1,2E-02
GO:0006259	DNA metabolic process	1,2E-02
GO:0098609	cell-cell adhesion	1,3E-02
GO:0043547	positive regulation of GTPase activi	1,3E-02
GO:0045121	membrane raft	1,3E-02
GO:2001235	positive regulation of apoptotic sign	1,3E-02
GO:0050863	regulation of T cell activation	1,3E-02
GO:0010821	regulation of mitochondrion organi	1,3E-02
GO:0005924	cell-substrate adherens junction	1,3E-02
GO:0030031	cell projection assembly	1,3E-02
GO:0003012	muscle system process	1,4E-02
GO:0010976	positive regulation of neuron proje	1,4E-02
GO:0030055	cell-substrate junction	1,4E-02
GO:0060485	mesenchyme development	1,4E-02
GO:0018193	peptidyl-amino acid modification	1,4E-02
GO:0051276	chromosome organization	1,4E-02
GO:0018212	peptidyl-tyrosine modification	1,5E-02
MI:mmu-miF	MI:mmu-miR-761	1,5E-02
GO:0010638	positive regulation of organelle orga	1,5E-02
GO:0009314	response to radiation	1,5E-02
GO:0050870	positive regulation of T cell activati	1,5E-02
GO:0005911	cell-cell junction	1,5E-02
GO:0032488	Cdc42 protein signal transductor	1,5E-02
GO:0032489	regulation of Cdc42 protein signa	1,5E-02
GO:0006869	lipid transport	1,5E-02
GO:0030808	regulation of nucleotide biosynthetic	1,5E-02
GO:0046620	regulation of organ growth	1,6E-02
GO:0030316	osteoclast differentiation	1,6E-02
GO:0006936	muscle contraction	1,6E-02
GO:0031343	positive regulation of cell killing	1,6E-02
GO:0045862	positive regulation of proteolysis	1,6E-02
GO:0050770	regulation of axonogenesis	1,6E-02
GO:0030802	regulation of cyclic nucleotide biosyn	1,6E-02
GO:0008201	heparin binding	1,6E-02
GO:0002443	leukocyte mediated immunity	1,6E-02
GO:0044708	single-organism behavior	1,7E-02

GO:0043062	extracellular structure organization	1,7E-02
GO:0045927	positive regulation of growth	1,7E-02
MI:mmu-miF	MI:mmu-miR-615-5p	1,7E-02
GO:0030234	enzyme regulator activity	1,7E-02
GO:0072503	cellular divalent inorganic cation I	1,8E-02
MI:hsa-miR-7	MI:hsa-miR-769-3p	1,8E-02
GO:0008637	apoptotic mitochondrial changes	1,8E-02
GO:0030817	regulation of cAMP biosynthetic proc	1,8E-02
GO:1903035	negative regulation of response to w	1,9E-02
MI:mmu-miF	MI:mmu-miR-374	1,9E-02
GO:0031341	regulation of cell killing	1,9E-02
GO:0046649	lymphocyte activation	1,9E-02
GO:0001667	ameboidal-type cell migration	1,9E-02
GO:0010256	endomembrane system organizator	1,9E-02
GO:1903532	positive regulation of secretion by c	1,9E-02
GO:0050879	multicellular organismal movement	2,0E-02
GO:0050881	musculoskeletal movement	2,0E-02
GO:0090287	regulation of cellular response to gro	2,0E-02
GO:0030099	myeloid cell differentiation	2,0E-02
GO:0046324	regulation of glucose import	2,1E-02
GO:0010563	negative regulation of phosphorus r	2,1E-02
GO:0045936	negative regulation of phosphate r	2,1E-02
GO:0030902	hindbrain development	2,1E-02
GO:0032872	regulation of stress-activated MAF	2,1E-02
GO:0004721	phosphoprotein phosphatase acti	2,1E-02
GO:0000323	lytic vacuole	2,2E-02
GO:0005764	lysosome	2,2E-02
HP:0001419	X-linked recessive inheritance	2,2E-02
GO:0050679	positive regulation of epithelial cell	2,3E-02
GO:0098742	cell-cell adhesion via plasma-memb	2,3E-02
GO:0050699	WW domain binding	2,3E-02
GO:0070851	growth factor receptor binding	2,3E-02
GO:1901681	sulfur compound binding	2,3E-02
GO:0032874	positive regulation of stress-activa	2,4E-02
GO:0002706	regulation of lymphocyte mediated i	2,4E-02
GO:0015850	organic hydroxy compound transpo	2,5E-02
GO:0045666	positive regulation of neuron differe	2,5E-02
GO:0001159	core promoter proximal region DI	2,5E-02
GO:0021700	developmental maturation	2,5E-02
GO:0010927	cellular component assembly involve	2,6E-02
GO:0090092	regulation of transmembrane recep	2,6E-02
GO:0005815	microtubule organizing center	2,7E-02
GO:0048871	multicellular organismal homeostas	2,7E-02
GO:0005819	spindle	2,7E-02
GO:0000139	Golgi membrane	2,8E-02
GO:0042129	regulation of T cell proliferation	2,8E-02
GO:0008202	steroid metabolic process	2,9E-02
GO:0034109	homotypic cell-cell adhesion	2,9E-02
GO:0050878	regulation of body fluid levels	2,9E-02
GO:0051248	negative regulation of protein meta	2,9E-02
GO:0050953	sensory perception of light stimulu	3,0E-02
GO:0051302	regulation of cell division	3,0E-02
GO:0050708	regulation of protein secretion	3,0E-02
GO:0006949	syncytium formation	3,1E-02

GO:0008544	epidermis development	3,1E-02
GO:0051235	maintenance of location	3,1E-02
GO:0033549	MAP kinase phosphatase activity	3,2E-02
GO:0007157	heterophilic cell-cell adhesion via p	3,3E-02
GO:0009628	response to abiotic stimulus	3,3E-02
GO:0030165	PDZ domain binding	3,3E-02
GO:0006753	nucleoside phosphate metabolic pi	3,3E-02
GO:0030010	establishment of cell polarity	3,4E-02
GO:0000978	RNA polymerase II core promote	3,4E-02
GO:0070302	regulation of stress-activated prote	3,4E-02
GO:0005925	focal adhesion	3,4E-02
GO:0051640	organelle localization	3,5E-02
GO:0005773	vacuole	3,5E-02
GO:2000021	regulation of ion homeostasis	3,6E-02
MI:mmu-miR-149	MI:mmu-miR-149	3,6E-02
GO:0016887	ATPase activity	3,6E-02
GO:0000987	core promoter proximal region se	3,6E-02
GO:0009190	cyclic nucleotide biosynthetic process	3,7E-02
GO:0008217	regulation of blood pressure	3,8E-02
GO:0005085	guanyl-nucleotide exchange factor ac	3,8E-02
GO:0042623	ATPase activity, coupled	3,8E-02
GO:0005635	nuclear envelope	3,9E-02
GO:0030968	endoplasmic reticulum unfolded pr	3,9E-02
GO:0055086	nucleobase-containing small molec	3,9E-02
MI:hsa-miR-593	MI:hsa-miR-593	4,0E-02
MI:hsa-miR-608	MI:hsa-miR-608	4,0E-02
GO:0007187	G-protein coupled receptor signali	4,1E-02
GO:0010952	positive regulation of peptidase activ	4,1E-02
GO:0032869	cellular response to insulin stimulus	4,1E-02
GO:0007601	visual perception	4,1E-02
GO:0002819	regulation of adaptive immune resq	4,1E-02
GO:0032868	response to insulin	4,1E-02
GO:2001234	negative regulation of apoptotic sigi	4,2E-02
GO:0070304	positive regulation of stress-activat	4,2E-02
GO:0007163	establishment or maintenance of cel	4,2E-02
GO:0010008	endosome membrane	4,2E-02
GO:0031225	anchored component of membrane	4,2E-02
GO:0043010	camera-type eye development	4,3E-02
GO:0003018	vascular process in circulatory syste	4,4E-02
MI:hsa-miR-625	MI:hsa-miR-625	4,4E-02
MI:mmu-let-7g	MI:mmu-let-7g	4,5E-02
GO:0030900	forebrain development	4,5E-02
GO:0015079	potassium ion transmembrane tr	4,6E-02
GO:0001666	response to hypoxia	4,6E-02
GO:0003158	endothelium development	4,6E-02
GO:0090130	tissue migration	4,7E-02
GO:0001664	G-protein coupled receptor binding	4,7E-02
GO:1903651	positive regulation of cytoplasmic t	4,8E-02
GO:0052652	cyclic purine nucleotide metabolic prc	4,8E-02
GO:0042098	T cell proliferation	4,9E-02
GO:0044304	main axon	4,9E-02

3 Supplementary Table 3 : List of Kat2b target genes involved in UPReR obtained after functional enrichment analysis of ChIP-seq data using g:profiler.

Supplementary Table 3 : List of Kat2b target genes involved in UPReR obtained after functional enrichment analysis of ChIP-seq data using g:profiler.

# gene	chrom	start	stop	peak	score
Aars	8	113534882	113534984	MACS_peak_72058	72.56
Amfr	8	96492296	96492414	MACS_peak_71535	54.75
Atf3	1	192944961	192945042	MACS_peak_5658	53.07
Atf4	15	80072002	80072475	MACS_peak_27438	199.26
Atf6	1	172624501	172624613	MACS_peak_5039	64.60
Atf6b	17	34754982	34755120	MACS_peak_32030	77.82
Bak1	17	27140646	27140753	MACS_peak_31797	60.11
Bax	7	52728577	52728678	MACS_peak_65634	53.10
Bfar	16	13674200	13674306	MACS_peak_28485	75.80
Casp12	9	5352861	5352977	MACS_peak_72799	62.92
Cond1	7	152155992	152156145	MACS_peak_68634	95.86
Creb3l1	2	91795098	91795259	MACS_peak_40857	92.27
Creb3l2	6	37279477	37279597	MACS_peak_59686	61.30
Creb3l3	10	80559047	80559159	MACS_peak_8071	51.11
CREBRF	17	26832471	26832579	MACS_peak_31789	50.41
Ddit3	10	126765143	126765253	MACS_peak_9462	58.62
Derl1	15	57703000	57703136	MACS_peak_26820	67.12
Derl3	10	75348714	75348822	MACS_peak_7923	66.35
Dnajc3	14	119330505	119330625	MACS_peak_25075	53.61
Eif2ak2	17	79241906	79242036	MACS_peak_33369	65.19
Eif2ak3	6	70788465	70788566	MACS_peak_60750	62.15
Eif2ak4	2	118207375	118207516	MACS_peak_41592	76.56
Ep300	15	81411924	81412048	MACS_peak_27475	59.75
Ern1	11	106263714	106263823	MACS_peak_12615	50.04
Ern2	7	129314808	129314913	MACS_peak_67968	51.54
Ero1l	14	45891706	45891828	MACS_peak_22925	52.90
H47	7	73229273	73229375	MACS_peak_66337	60.75
Herpud1	8	96909128	96909233	MACS_peak_71542	67.72
Hspa5	2	34580993	34581117	MACS_peak_39197	59.75
Irfng	10	117864304	117864403	MACS_peak_9200	67.84
Nck1	9	100388513	100388623	MACS_peak_75579	51.93
Nck2	1	43477679	43477785	MACS_peak_1163	51.16
Nfe2l2	2	75521714	75521834	MACS_peak_40367	61.30
Nkx3-1	14	69803685	69803819	MACS_peak_23665	98.25
Parp16	9	65089706	65089829	MACS_peak_74573	52.55
Ppp1r15a	7	52777778	52777971	MACS_peak_65637	88.62
Ptpn1	2	167740396	167740499	MACS_peak_43023	52.31
Ptpn2	18	67866477	67866585	MACS_peak_35678	58.21
Rnf121	7	109146055	109146137	MACS_peak_67367	60.65
Serp1	3	58328397	58328520	MACS_peak_45138	60.13
Stc2	11	31247176	31247294	MACS_peak_10457	62.10
Stub1	17	25935067	25935178	MACS_peak_31753	54.75
Vapb	2	173578373	173578492	MACS_peak_43203	58.77
Xbp1	11	5448837	5448890	MACS_peak_9641	58.92
Yod1	1	132602734	132602850	MACS_peak_3889	62.92