

Fonctions non catalytiques de la lysine acétyltransférase DmMOZ dans le contrôle de l'homéostasie hématopoïétique chez Drosophila melanogaster

Delhia Gigan

► To cite this version:

Delhia Gigan. Fonctions non catalytiques de la lysine acétyltransférase DmMOZ dans le contrôle de l'homéostasie hématopoïétique chez Drosophila melanogaster. Médecine humaine et pathologie. Université Paul Sabatier - Toulouse III, 2023. Français. NNT: 2023TOU30146. tel-04353869

HAL Id: tel-04353869 https://theses.hal.science/tel-04353869v1

Submitted on 19 Dec 2023

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.





En vue de l'obtention du DOCTORAT DE L'UNIVERSITÉ DE TOULOUSE

Délivré par l'Université Toulouse 3 - Paul Sabatier

Présentée et soutenue par Delhia GIGAN

Le 7 juillet 2023

Fonctions non catalytiques de la lysine acétyltransférase DmMOZ dans le contrôle de l'homéostasie hématopoïétique chez Drosophila melanogaster.

Ecole doctorale : BSB - Biologie, Santé, Biotechnologies

Spécialité : GENETIQUE MOLECULAIRE

Unité de recherche : MCD - Molecular, Cellular and Developmental Biology Unit

> Thèse dirigée par Marc HAENLIN et Vanessa GOBERT

> > Jury

Mme Frédérique PERONNET, Rapporteure M. Cédric MAURANGE, Rapporteur M. Emmanuel TAILLEBOURG, Rapporteur M. Marc HAENLIN, Directeur de thèse Mme Vanessa GOBERT, Co-directrice de thèse Mme Pascale DUFOURCQ, Présidente

Remerciements

La thèse aura été pour moi une expérience unique en tout point. Elle m'a apporté de la joie, de la frustration, de la fierté, mais elle m'a en même temps appris tellement sur la scientifique que je veux être, sur ce que je veux transmettre aux autres et sur les valeurs que je veux défendre. J'ai eu la chance d'avoir pu réaliser ma thèse aux côtés de femmes et d'hommes brillants, d'abord au CBD puis au CBI, et je tiens à les remercier chaleureusement.

En premier lieu, je tiens à remercier mes rapporteurs, **Frédérique Peronnet**, **Cédric Maurange** et **Emmanuel Taillebourg**, de m'avoir fait l'honneur d'accepter d'évaluer mon travail, et je remercie également **Pascale Dufourcq** d'avoir accepté de faire partie ce jury. Un grand merci également à **Magali Suzanne** et à **Georges Lacaud**, d'avoir fait partie de mon comité de thèse et pour leurs conseils précieux.

Merci à mes directeurs de thèse, **Marc Haenlin** et **Vanessa Gobert**, de m'avoir donné l'opportunité de me lancer dans cette aventure et d'avoir partagé ce beau projet avec moi pendant ces 4 années.

À toute mon équipe : merci pour votre patience et votre bienveillance. Merci à **Michèle Crozatier**, **Nathalie Vanzo**, **Gaëlle Lebreton** et **Caroline Monod**, d'avoir pris le temps de me transmettre tout le savoir et l'expertise dont j'avais besoin pour mener à bien mon projet.

Un grand merci à **Benoît Augé-Duboé**. Merci pour ton aide au laboratoire, pour tes conseils avisés, ta bonne humeur et (surtout) tes blagues. Ça a été un plaisir de partager le bureau avec toi, et de pouvoir échanger ces moments. Je remercie également **Yushun Tian, Xiaohui Liu** et **Douaa Moussalem**. Votre bonne humeur et votre détermination sont contagieuses, et je suis ravie d'avoir partagé ces années de thèse avec vous.

Merci à tous mes collègues du CBI pour leur soutien et leurs conseils tout au long de ma thèse. Un grand merci à **Brice Roncin** et **Stéphanie Bosch** de la plateforme de microscopie pour leur patience et leur aide et également à **Julien Favier** et **Amélie Destenabes** de la plateforme Drosophile qui nous permettent de réaliser nos projets au quotidien grâce à leurs efforts continus. Je tiens particulièrement à remercier mes chers collègues Drosophilistes du 2^{ème} étage : **Jennifer Zanet**, **Cédric Polesello**, **Hélène Chanut**, **Simon Marques** et **Philippe Valenti**. Merci pour votre aide et votre écoute, et surtout de m'avoir accueilli si souvent dans votre équipe avec le sourire.

À mes très chers amis, que ce soit ceux que j'ai rencontré pendant la thèse, ou ceux présents bien avant : quelques lignes ne suffiront certainement pas pour exprimer toute ma gratitude, mais je vous remercie du fond du cœur.

Merci à **Thomas Genais**. Merci d'avoir eu confiance en moi, de m'avoir formé en master alors que tu étais toi-même en fin de thèse, et d'avoir été mon mentor et avant tout mon ami. Merci de m'avoir encouragé lorsque je n'avais plus aucune confiance en ma capacité à être une bonne

scientifique ou dans n'importe quel autre de mes moments de faiblesse, aussi nombreux furent-ils. Tu as été un modèle, et tu continues de l'être encore aujourd'hui.

À mes fabuleuses amies, mes nanas du CBD, Adeline Payet, Aurore Pelletier, Alexia Rivero et Marie Zilliox : merci, vraiment. Merci pour votre soutien intarissable. J'ai de la chance d'avoir pu travailler aux côtés de femmes aussi brillantes. Un grand merci également à Clément Immarigeon et Ismael Morin-Poulard, d'avoir été là si souvent pour moi et d'avoir été des amis en or.

Je remercie également toutes les belles personnes que j'ai pu rencontrer pendant mon séjour au CBI : David Ohayon, Clair Chaigne, Damien Markus, Vincente De Sousa Xavier, Sulov Saha et Hadi Boukhatmi. Vos rires et votre compagnie vont me manquer et je sais que votre ténacité vous emmènera loin. Et comment ne pas mentionner Muriel Boube, Jean-Louis Frendo et Laurence Dubois, des personnes extraordinaires qui nous manquent terriblement au CBI. Merci pour vos conseils, votre bonne humeur, et surtout votre sagesse.

Je n'oublie pas ma chère **Anna Sampoil** qui m'encourage depuis le tout début. 10 000km depuis notre Réunion natale et 10 ans plus tard, tu es toujours là pour moi. Je suis incroyablement fière de toi, et je suis fière de nous.

Enfin, je remercie **Simon Montagné**. Tu as été tout ce dont j'avais besoin. Je suis reconnaissante d'avoir pu vivre cette aventure en t'ayant à mes côtés.

INTRO	INTRODUCTION					
١.	L	'hématopoïèse chez les mammifères	4			
	Α.	Les cellules sanguines chez les mammifères	4			
	а	. Le lignage myéloïde	4			
	Ł	. Le lignage lymphoïde	6			
E	B.	L'hématopoïèse mammifère au cours du développement	7			
	а	. L'hématopoïèse primitive	7			
	k	. L'hématopoïèse pro-définitive et la transition endothélio-hématopoïétique	7			
	c	. L'hématopoïèse définitive : formation des CSHs	8			
П.	L	'hématopoïèse chez la Drosophile	9			
	Α.	Les différentes populations d'hémocytes chez la Drosophile	10			
	а	. Les plasmatocytes	10			
	k	. Les cellules à cristaux	11			
	c	. Les lamellocytes	11			
E	B.	L'hématopoïèse au cours du développement chez la Drosophile	12			
	а	. L'hématopoïèse embryonnaire	12			
	Ł	. L'hématopoïèse larvaire la glande lymphatique	13			
III.	r	Aécanismes de régulation de l'hématopoïèse	15			
/	Α.	Régulation de l'hématopoïèse chez les mammifères	15			
	а	. Régulation de l'hématopoïèse par le microenvironnement	15			
	Ł	. Régulation transcriptionnelle de l'hématopoïèse	17			
E	B.	Régulation de l'hématopoïèse chez la Drosophile	20			
	а	. Les niches hématopoïétiques de la glande lymphatique	20			
	t C	Les différentes voies de signalisations et acteurs moléculaires qui régulent l'hématopoïèse larvaire chez la prosophile	22			
(C.	L'épigénétique comme mode de régulation de l'hématopoïèse	24			
	а	. Régulations épigénétique dans l'hématopoïèse mammifère	25			
	k	. Régulation épigénétique dans la glande lymphatique de Drosophile	25			
IV.	L	acétylation des résidus d'histones	27			
/	Α.	La famille de lysine acétyltransférases MYST	27			
E	В.	Généralités sur MOZ/MORF	27			
(C.	Les rôles de MOZ/MORF	28			
	а	. Les rôles de MOZ/MORF au cours de l'hématopoïèse pathologique	29			
	b	. Les rôles de MOZ/MORF dans l'hématopoïèse normale	30			
ſ	D.	MOZ est la sous-unité catalytique du complexe d'acétylation ING5	31			
	а	. Le facteur Bromodomain PHD Finger Protein 1 (BRPF1)	31			
	b	Le facteur Inhibitor of Growth 5 (ING5)	32			
	c	. Le facteur human Esa Associated Factor 6 (hEAF6)	32			
E	E.	enoki mushroom, l'orthologue de MOZ/MORF chez la Drosophile	34			
	а	. Les différentes fonctions d'enoki mushroom chez la Drosophile	34			
	Ł	. Enok dans l'hématopoïèse Drosophile	36			

RÉSL	JLT	ATS	37
١.		Effets de la perte de fonction d'enok sur la glande lymphatique	. 39
	A.	enok contrôle l'homéostasie hématopoïétique dans la glande lymphatique	39
	В.	L'activité acétyltransférase d'Enok n'est pas requise dans la glande lymphatique	42
	C.	enok est exprimé et requis dans la glande lymphatique pour contrôler l'hématopoïèse larvaire	43
	D. dai	Enok exerce une fonction indépendante de son activité KAT dans le PSC pour prévenir la formation de lamellocyt ns la glande lymphatique	es 47
	E.	enok est requis dans la zone médullaire pour assurer le maintien des progéniteurs core	49
١١.		Établissement du répertoire de gènes régulés par Enok dans les progéniteurs	. 51
	A.	Analyse fonctionnelle de mael dans la glande lymphatique	55
	В.	Analyse fonctionnelle de pnr dans la glande lymphatique	57
III Iy	mp	Identification de partenaire potentiels d'Enok pour le contrôle de l'homéostasie de la glande hatique	61
-	A.	Le facteur Br140	61
	В.	Le remodeleur chromatinien <i>trithorax</i>	62
IV	<i>'</i> .	Conclusion	62
DISC	เบร	SION	63
I.		Les fonctions d' <i>enok</i> dans le contrôle de l'homéostasie hématopoïétique	64
	Α.	Fonctions développementales et de réponse à l'infection	
	в.	Fonction moléculaire	65
		a. Établissement du répertoire de gènes régulés par Enok : RNA-Seq	65
		b. Identification des gènes fixés par Enok : ChIP-Seg	66
١١.		Régulation de l'expression de <i>pnr</i>	67
ш	_	Identification des partenaires d'Enok dans la glande lymphatique	68
•	TÉD		70
IVIAI	Éla	LE LI METHODES.	.70
	Édi	vage de Drosophiles, croisements et regimes de temperature	70
	Eiv	ation et immuno-marquages des échantillons	/ 1
	sm	iFISH et hybridation <i>in situ</i> sur glandes lymphatiques	73
	Im	agerie photonique confocale et quantification des immunomarquages	74
	RN	A-Sea dans les progéniteurs de la glande lymphatique.	75
	Tra	aitement par ARNi et gPCR sur cellules S2	75
RÉFE	ÉRF	NCFS	79
		FC	102
AIVIN	^~		104
	AU V~	nexe 1 : Liste des génes unierentiennent regules	112
	۸n	nexe 2 . Liste des genes regules de laçon similaire dans r ovaire et la giande lymphatique	Z
	loz	enge independently of its histone-acetyl transferase activity	113

INTRODUCTION



Figure 1 : Cellules hématopoïétiques chez les mammifères

Les Cellules Souches Hématopoïétiques (CSHs) sont des cellules pluripotentes, qui peuvent former tous les types de cellules hématopoïétiques matures. Grâce à des divisions asymétriques, les CSHs forment les progéniteurs des deux lignées : les progéniteurs lymphoïdes communs, à l'origine de la lignée lymphoïde et les progéniteurs myéloïdes communs, à l'origine de la lignée myéloïde. Ces progéniteurs se différencient par la suite en progéniteurs plus engagés, qui donneront à leur tour des cellules différenciées. Les cellules lymphoïdes différenciées sont les lymphocytes T, les lymphocytes B et les cellules NK. Les cellules différenciées myéloïdes sont les érythrocytes, les mégacaryocytes, les cellules dendritiques, les macrophages, les basophiles, les neutrophiles et les éosinophiles.

I. L'hématopoïèse chez les mammifères

L'hématopoïèse est le processus de formation et de maturation des cellules sanguines qui circulent à travers le corps entier et joue des rôles essentiels, tels que le transport d'oxygène, la veille immunitaire, ou encore le transport de déchets. La majorité de ces cellules a besoin d'être constamment renouvelée au cours de la vie adulte, mais ne possède pas de capacité de renouvellement, ce qui confère au processus hématopoïétique son rôle essentiel. Les dérégulations de l'hématopoïèse conduisant à un déficit ou un excès de production des cellules sanguines sont à l'origine de nombreuses pathologies, telles que l'anémie ou les leucémies. L'étude de l'hématopoïèse et de sa régulation est donc essentielle à la compréhension et au traitement de ces diverses pathologies.

A. Les cellules sanguines chez les mammifères

Au cours du processus hématopoïétique, des Cellules Souches Hématopoïétiques (CSHs), vont progressivement se différencier en une large variété de types cellulaires et de sous-types cellulaires (*Becker et al., 1963, Till and McCulloch, 1961*). Il existe deux catégories de cellules sanguines produites à partir des CSHs, les cellules de la lignée myéloïde et les celles de la lignée lymphoïde, chacune ayant des rôles bien définis (Figure 1).

a. Le lignage myéloïde

Les cellules de la lignée myéloïde ont la charge de l'immunité innée, qui confère à l'organisme une capacité à répondre rapidement aux infections ou aux blessures. Les cellules de cette lignée dérivent d'un progéniteur myéloïde commun, qui va lui-même donner deux types de progéniteurs : les progéniteurs érythroïdes et mégacaryocytaires et les progéniteurs granulocytaires et macrophagiques. Les progéniteurs myéloïdes communs permettent ainsi la formation de 4 catégories fonctionnelles de cellules, correspondant à 7 types cellulaires différenciés.

- Les progéniteurs érythroïdes et mégacaryocytaires se différencient en érythrocytes et en mégacaryocytes :
- Les mégacaryocytes, sont responsables de la production des plaquettes (*Noetzli et al., 2020*). Ces plaquettes résultent de la fragmentation du cytoplasme des mégacaryocytes et favorisent la coagulation lors de blessures, afin de limiter la perte de sang.
- Les érythrocytes, plus communément appelés globules rouges, sont les cellules les plus abondantes. Elles n'ont pas de rôle direct dans la réponse immunitaire, mais sont responsables du transport d'oxygène. Les globules rouges adultes sont des cellules rondes biconcaves et ne possèdent ni noyau, ni organites/organelles (*Wadhwa et al., 2019*), ce qui limite leur capacité métabolique et leur durée de vie. Elles doivent donc être renouvelées depuis la moelle osseuse, environ tous les 120 jours.
 - (ii) Les progéniteurs granulocytaires et macrophagiques se différencient en granulocytes et en monocytes :
- Les granulocytes sont répartis en 3 sous-catégories de cellules, qui ont été définies en fonction de leur capacité à absorber des colorants basiques, neutres ou acides : les basophiles, les neutrophiles et les éosinophiles. Les basophiles sont les granulocytes les moins nombreux. Ils contiennent de l'histamine, nécessaires aux réactions allergiques (*Min et al.,2012*). Les neutrophiles sont les granulocytes les plus abondants. Ils combattent les infections microbiennes en phagocytant les corps étrangers, en libérant des granules cytotoxiques ou en libérant un réseau de fibres appelés NETs (Neutrophil Extracellular Traps) composése d'ADN, d'histones et de granules antimicrobiennes (*Rosales, 2018*). Enfin, les éosinophiles sont requis pour l'élimination de parasites et de certaines bactéries intracellulaires en promouvant l'inflammation et sont également impliqués dans les réactions allergiques (*Wen and Rothenberg, 2016*).
- Les monocytes se différencient en macrophages, qui sont présents dans tous les tissus. Ils ont pour fonction principale la phagocytose, que ce soit de cellules apoptotiques, de cellules cancéreuses ou de microorganismes. Ils sont également capables de sécréter des cytokines, des molécules de signalisation, tels que l'interleukine 1 ou 6 (IL-1, IL-6) et participent au recrutement d'autres cellules immunitaires (*Davies et al., 2013*). Les monocytes se différencient également en cellules dendritiques, qui ont pour fonction

principale la présentation d'antigènes aux lymphocytes, étape nécessaire à la mise en place de l'immunité adaptative (*Song et al., 2018*).

b. Le lignage lymphoïde

Les cellules de la lignée lymphoïde sont issues de la différenciation de progéniteurs communs lymphoïdes et sont responsables de l'immunité adaptative, une immunité plus efficace mais plus longue à mettre en place que l'immunité innée et qui n'existe que chez les vertébrés. Il existe 3 types de cellules lymphoïdes :

- Les lymphocytes T, qui subissent une étape de maturation dans le thymus, sont divisés en deux sous-groupes : les lymphocytes T régulateurs (CD4⁺) qui sont capables de reconnaître les antigènes présentés par le complexe majeur d'histocompatibilité (CMH) et qui vont en réponse activer les lymphocytes B et lymphocytes T cytotoxiques (CD8⁺). Ces derniers, qui peuvent également être directement activé en reconnaissant des antigènes via le CMH vont alors sécréter des molécules cytotoxiques (cytokines, interféron) afin d'éliminer les pathogènes ou les cellules tumorales. Enfin, une partie des lymphocytes déjà activés par la reconnaissance d'un antigène perdure dans l'organisme. Ils sont alors appelés « lymphocyte mémoire » et permettent une réponse plus rapide en cas de nouvelle présentation du même antigène par le CMH (*Kumar et al., 2018*).
- Les lymphocytes B peuvent être activés par les lymphocytes T ou directement par la reconnaissance d'antigènes. Ils ont comme fonction principale de produire des anticorps spécifiquement dirigés contre les pathogènes. Tout comme pour les lymphocytes T, une partie des lymphocytes B deviendra des lymphocytes B mémoire, permettant de développer une réponse immunitaire plus rapide en cas de réinfection par le même pathogène (*LeBien et Tedder, 2008*).
- Enfin, les cellules NK (de l'anglais « Natural Killer »), une sorte de lymphocytes granuleux, sont capables de tuer les cellules tumorales et les cellules infectées. Elles sécrètent des cytokines pro-inflammatoires et favorisent l'activation des cellules dendritiques et des lymphocytes T (*Narni-Mancinelli et al., 2013*).



Figure 2 : Formation des cellules sanguines au cours du développement chez les mammifères

Au cours de la vague primitive, des cellules hématopoïétiques primitives émergent des îlots sanguins du sac vitellin, avant de migrer dans l'embryon et de se différencier en érythrocytes, en mégacaryocytes et en macrophages. Ensuite, au cours de la vague pro-définitive, les progéniteurs érythromyéloïdes/myéloïdes (PEM) émergent. Ces cellules sont issues de la transition endothélio-hématopoïétique des cellules endothéliales hématogènes. Les PEM migrent alors vers le foie fœtal pour amplification et différenciation. La vague définitive permet la formation des cellules souches hématopoïétique (CSHs), qui émergent de l'endothélium hémogénique des artères de l'embryon, notamment de l'aorte dorsale. Les pré-CSHs formées migrent vers le foie fœtal pour expansion et différenciation. À la fin de l'embryogenèse, les CSHs migrent vers la moelle osseuse.

B. L'hématopoïèse mammifère au cours du développement

Chez les mammifères, les CSHs, ainsi que différentes cellules des lignées myéloïdes et lymphoïdes, sont formées au cours de l'embryogenèse lors de trois vagues hématopoïétiques successives : une vague primitive, vague pro-définitive et une vague définitive, qui se poursuivra tout au long de la vie l'adulte (Figure 2). L'hématopoïèse adulte a lieu principalement dans la moelle osseuse, qui héberge les CSHs formées pendant l'embryogenèse au cours de la vague définitive.

a. L'hématopoïèse primitive

L'hématopoïèse débute dès le début de la vie embryonnaire (autour du 7^{ème} jour de l'embryogenèse chez la souris, et du 16^{ème} jour chez l'Homme). La première vague hématopoïétique, dite primitive, a lieu dans le sac vitellin dans lequel se forment des îlots sanguins. Cette vague permet la production de cellules myéloïdes primitives dont des érythrocytes nucléés qui vont assurer un apport en oxygène à travers l'embryon, des macrophages et des mégacaryocytes qui migrent par la suite à travers tout l'embryon et participent à la réponse contre d'éventuels pathogènes.

Les érythrocytes sont issus de la différenciation de progéniteurs formés dans le sac vitellin, puis passés dans la circulation sanguine pour finalement se différencier en érythrocytes primitifs (*Wong et al., 1986 ; Bethkenfalvay and Block, 1970 ; Kinglsey et al., 2004, 2006 ; Qiu et al., 2008*). Les mégacaryocytes sont formés à partir de progéniteurs bipotents mégacaryocytaires/érythroïdes (Xu et al., 2001). Cette première vague est transitoire ; en effet, les cellules produites ne possèdent pas de capacité d'auto-renouvellement et ne subsistent pas jusqu'à l'âge adulte.

b. L'hématopoïèse pro-définitive et la transition endothélio-hématopoïétique

L'hématopoïèse pro-définitive permet la formation des premières cellules sanguines définitives : il s'agit des progéniteurs érythromyéloïdes. Ils ont pour origine des cellules endothéliales du sac vitellin appelées cellules endothéliales hématogènes. Ces cellules subissent une transition dite endothélio-hématopoïétique (TEH) puis migrent via le nouveau système circulatoire (*Palis, 1999*) vers le foie fœtal, où elles vont proliférer et se différencier en

macrophages, en mégacaryocytes et en érythrocytes. Cette vague est appelée prodéfinitive puisque seule une partie des cellules produites persistera jusque chez l'adulte, comme certains macrophages résidents dans les divers organes (*Schulz et al., 2012 ; Gomez Perdiguero et al., 2015*).

c. L'hématopoïèse définitive : formation des CSHs

La troisième et dernière vague embryonnaire permet la formation des CSHs. Des pré-CSHs émergent principalement à partir des cellules endothéliales hématogènes de l'aorte dorsale (*Medvinsky et Dzierzak, 1996 ; De Bruijn et al., 2000 ; Tavian et Peault, 2005*), mais peuvent également émerger à partir des cellules endothéliales hématogènes du sac vitellin, des artères ombilicales et vitellines et du placenta (*Bruijn et al., 2000 ; Gekas et al., 2005 ; Chen et al., 2009*). À l'instar des progéniteurs érythromyéloïdes/myéloïdes de la vague pro-définitive, les pré-CSHs passent ensuite en circulation pour coloniser le foie fœtal, où elles se multiplient et maturent pour acquérir leurs propriétés d'auto-renouvellement (*Kieusseian et Cumano., 2008*) et donner naissance aux progéniteurs myéloïdes et lymphoïdes, eux-mêmes capables de former la totalité du système hématopoïétique (*Mikkola et Orkin, 2006*). Peu après la naissance, les CSHs colonisent la moelle osseuse, où leurs propriétés seront contrôlées tout au long de la vie adulte par leur microenvironnement (voir section III.A), assurant ainsi la production continue de cellules sanguines dans les proportions requises (*Akunuru et Geiger, 2016*).



Figure 3 : L'hématopoïèse au cours du développement chez la Drosophile

Le cycle de vie de la drosophile est composé de 4 stades : le stade embryonnaire, 3 stades larvaires successifs, le stade pupal et le stade adulte (A). Au début de l'embryogenèse, les précurseurs des hémocytes émergent du mésoderme procéphalique, et les précurseurs de la glande lymphatique émergent des segments T2-T3 du mésoderme. A la fin de l'embryogenèse, les hémocytes embryonnaires se différencient en plasmatocytes (en bleu) et en cellules à cristaux (en rose). Les précurseurs de la glande lymphatique se positionnent au niveau de la partie antérieur du futur tube cardiaque. Pendant les stades larvaires, les hémocytes formés au cours de l'embryogenèse circulent dans l'hémolymphe et s'agrègent dans les poches hématopoïétiques. En parallèle, la glande lymphatique se développe et les progéniteurs de la glande se différencient en plasmatocytes et en cellules à cristaux. Au stade pupal, les cellules localisées dans les poches hématopoïétiques et dans la glande lymphatique sont relâchées en circulation. (B) Schéma représentant les progéniteurs hématopoïétiques et les 3 types de cellules différenciées chez la Drosophile. Les plasmatocytes, qui participent à la phagocytose ; les cellules à cristaux, impliquées dans la cicatrisation. Le troisième type cellulaire, les lamellocytes, sont des hémocytes formés en cas de stress immunitaire participent à l'encapsulation de parasites pour induire leur mort.

II. L'hématopoïèse chez la Drosophile

La Drosophile, *Drosophila melanogaster*, également appelée « mouche du vinaigre » est un insecte utilisé comme modèle animal depuis de nombreuses années. Ce modèle s'est imposé comme un outil génétique puissant en biologie du développement du fait de ses nombreux avantages, lui valant ainsi d'être associé à 6 prix Nobels en physiologie (*Das, 2017*), le premier ayant été obtenu par Thomas Morgan en 1933. En effet, la Drosophile ne possède que 4 paires de chromosomes dont une paire de chromosomes sexuels. De plus, il a été montré que plus de la moitié des gènes de la Drosophile a un homologue chez les mammifères et que plus de 70% des gènes impliqués dans les pathologies chez ces derniers ont des séquences similaires chez la Drosophile (*Reiter et al., 2001*).

La Drosophile présente aussi des avantages au niveau de l'élevage : les femelles peuvent pondre des centaines d'œufs, et le cycle de reproduction est seulement d'une dizaine de jours à 25°C. Ainsi, tous les stades développementaux sont accessibles rapidement, ce qui facilite les expériences *in vivo*. Le cycle de vie de la Drosophile est divisé en plusieurs stades : (i) le stade embryonnaire, qui dure 24h à 25°C, (ii) 3 stades larvaires successifs appelés L1, L2 et L3 et qui durent environ 5 jours au total à 25°C, (iii) le stade pupal, qui dure 4 jours à 25°C, et pendant lequel les tissus larvaires sont histolysés et remplacés par les tissus adultes, et enfin (iv) le stade adulte.

Enfin, la conservation de nombreux processus développementaux fait de la Drosophile un modèle de choix (*Roberts, 2006*; *Jennings, 2011*). Ici je présenterai le processus hématopoïétique chez la Drosophile, qui a lieu principalement à deux stades : pendant l'embryogénèse et pendant les stades larvaires (pour revue, voir *Banerjee et al., 2019*) (Figure 3A). Les cellules sanguines, appelées hémocytes, générées pendant ces différentes vagues subsisteront ensuite jusqu'au stade adulte.

A. Les différentes populations d'hémocytes chez la Drosophile

Les hémocytes sont générés à partir de progéniteurs hématopoïétiques multipotents (les prohémocytes) et sont responsables de la réponse immunitaire de la Drosophile. Ils partagent de nombreuses similarités avec le lignage myéloïde des mammifères. Cependant, la complexité de ce lignage n'est pas retrouvée chez la Drosophile, puisque seulement 3 types d'hémocytes différenciées ont été identifiés : les plasmatocytes, les cellules à cristaux et les lamellocytes (Figure 3B). Plus récemment, et de façon intéressante, de nombreuses études se basant sur des études transcriptomiques sur cellules uniques (scRNA-seq) (*Tattikota et al., 2020 ; Cattnoz et al., 2020 ; Fu et al., 2020 ; Cho et al., 2020*) ont identifié plusieurs sous-populations à l'intérieur de ces différents types cellulaires, suggérant qu'il existe une plus grande hétérogénéité cellulaire qu'initialement caractérisée.

a. Les plasmatocytes

Les plasmatocytes représentent la quasi-totalité de la population d'hémocytes, soit plus de 90% des cellules sanguines de la Drosophile et sont présents de l'embryon à l'adulte. Ils sont apparentés aux macrophages des mammifères et présentent de nombreuses homologies fonctionnelles avec ces derniers. Les plasmatocytes sont responsables de l'élimination de cellules infectées par des virus (*Nainu et al., 2015*) ou encore de la phagocytose de bactéries (*Charroux et Royet, 2009 ; Defaye et al., 2009 ; Nehme et al., 2011*) notamment grâce à l'abondance de lysosomes dans leur cytoplasme. Dans le cas d'une infection bactérienne les plasmatocytes sécrètent également des peptides antimicrobiens (*Evans et al., 2003 ; Shia et al., 2009 ; Irving et al., 2005*).

De plus, les plasmatocytes jouent un rôle essentiel au cours du développement. Ils participent à l'élimination des corps apoptotiques au cours de l'embryogénèse et pendant la métamorphose au stade pupal (*Fogarty et al., 2016, Defaye et al., 2009 ; Wood et Martin, 2017 ; Lanot et al., 2001 ; Regan et al., 2013*), sont impliqués dans la régulation du métabolisme du glucose (*Woodcock et al., 2015*), et sécrètent des protéines de la matrice extracellulaire, tels que la Laminine ou le collagène IV, nécessaires à la morphogénèse des tissus (*Murray et al., 1995 ; Bunt et al 2010 ; Van de bor et al., 2015*).

b. Les cellules à cristaux

Les cellules à cristaux, qui représentent seulement 5% des hémocytes, doivent leur nom à des inclusions cristallines au sein de leur cytoplasme. Ces inclusions contiennent des prophénoloxydases (PPO), des enzymes impliquées dans le processus de mélanisation et qui participent à la cicatrisation des tissus après une blessure. Cette fonction des cellules à cristaux fait d'elles les homologues fonctionnels des mégacaryocytes chez les mammifères. Lors de la rupture des cellules à cristaux, les PPOs sont relarguées et clivées en phenoloxidase (PO) (*Bidla et al., 2007 ; Nam et al., 2012 ; Dudzic et al., 2015*). La PO est alors capable d'induire l'oxydation des phénols en quinones, qui polymérisent pour former la mélanine et libérer des espèces réactives de l'oxygène (ROS), qui contribuent ensemble au processus de cicatrisation et à la réponse immunitaire face aux infections bactériennes chez la Drosophile.

c. Les lamellocytes

Les lamellocytes sont des cellules larges plates et adhérentes. Elles sont généralement absentes en conditions normalesn mais sont massivement produites en cas de stress immunitaire et leur rôle principal est d'encapsuler les corps étrangers trop gros pour être phagocytés par les plasmatocytes (*Rizki 1957 ; Rizki et Rizki, 1992*).

L'un des évènements pouvant induire la formation de lamellocytes est le parasitisme de la larve de Drosophile par une guêpe parasitoïde (*Leptopilina boulardi*) qui pond ses œufs à l'intérieur de la larve de Drosophile (*Lanot et al., 2001 ; Krezmien et al., 2010 ; Luo et al., 2020*). Les lamellocytes sont alors produits de deux façons : par transdifférenciation des plasmatocytes présents en circulation d'une part (*Avet-Rochex et al., 2010 ; Anderl et al., 2016 ; Stofanko et al., 2010*) et grâce à la différenciation des progéniteurs de la glande lymphatique, l'organe hématopoïétique larvaire d'autre part (*Markùs et al., 2009 ; Oyallon et al., 2016*). Les lamellocytes produits se disposent en plusieurs couches autour de l'œuf de guêpe pour former une capsule hermétique, aboutissant à la mort de l'œuf de guêpe par asphyxie (*Rizki et Rizki, 1992*).

Il est à noter que même si les lamellocytes sont formés dans la plupart des cas en réponse à un stress immun, ils peuvent être formés dans certains contextes génétiques, à la fois par la glande lymphatique et par les cellules en circulation (*Avet-Rochex et al., 2010*).



Figure 4 : Hémocytes d'origine embryonnaire chez la Drosophile

Les hémocytes embryonnaires émergent du mésoderme procéphalique dès le stade 5 de l'embryogenèse. Ils prolifèrent et se différentient ensuite en plasmatocytes et en cellules à cristaux et colonisent l'embryon. Au stade larvaire, des hémocytes s'agglutinent sous la cuticule et forment des poches hématopoïétiques dans chaque segment de la larve. Les hémocytes présents dans ces poches peuvent passer de ces compartiments à la circulation lymphatique et inversement. Les poches hématopoïétiques se forment autour des oenocytes et au contact de neurones du Système Nerveux Périphérique impliqués dans l'attraction des hémocytes (*Makhijani et al., 2017*). Dans ces poches, les plasmatocytes prolifèrent et se transdifférencient en cellules à cristaux (*Leitao et Sucena, 2015*).

B. L'hématopoïèse au cours du développement chez la Drosophile

Chez la Drosophile, l'hématopoïèse débute dès les premiers stades embryonnaires et permet la formation d'hémocytes qui vont persister pendant les stades larvaires. Une seconde émergence d'hémocytes a lieu pendant les stades larvaires dans la glande lymphatique, l'organe hématopoïétique larvaire. Les cellules produites au cours de ces deux vagues persisteront par la suite jusqu'au stade adulte (Figure 3A). L'hématopoïèse chez l'adulte fait pour le moment l'objet d'un débat, et deux études se contredisent quant à l'existence de cellules capables de générer des hémocytes chez l'adulte. (*Gosh et al. 2015 ; Sanchez-Bosch et al., 2019*).

a. L'hématopoïèse embryonnaire

Formation pendant l'embryogenèse

Dans l'embryon, les premiers hémocytes sont formés à partir de progéniteurs bipotents qui émergent dans la région du mésoderme procéphalique. Ces progéniteurs se différencient en plasmatocytes et en cellules à cristaux qui colonisent ensuite tout l'embryon (*Tepass et Hartenstein, 1994 ; Lebestky et al., 2000 ; Wood et al., 2006 ; Bataillé et al., 2005*) (Figure 4). Le choix du destin cellulaire se fait grâce à une combinatoire de facteurs de transcription qui contrôle l'identité. Tous les hémocytes expriment le facteur de transcription de la famille GATA Serpent (Srp) et son interaction avec d'autres facteurs de transcription ou cofacteurs transcriptionnels détermine l'identité plasmatocyte (s'il interagit avec son cofacteur *U-shaped (Ush)*, de la famille Friend of GATA (FOG)) ou cellule à cristaux (s'il interagit avec le facteur de transcription de type RUNX *Lozenge (Lz)*). (*Rehorn et al., 1996 ; Bernardoni et al., 1997 ; Bataillé et al., 2005 ; Waltzer et al., 2010*)

Persistance des hémocytes d'origine embryonnaire pendant les stades larvaires

À l'issue de l'embryogenèse, environ 700 plasmatocytes et 30 cellules à cristaux ont été formés et persistent en circulation chez la larve. La Drosophile possède un système circulatoire ouvert et au stade larvaire la structure aorte/cœur, qui va de la partie antérieure à la partie postérieure de la larve, permet de générer un flux d'hémolymphe (le liquide contenant les cellules sanguines et qui remplit la cavité de la larve) dans toute la larve. Une partie des plasmatocytes en circulation s'accumule en clusters le long de la cuticule et forme des poches hématopoïétiques.

Ces poches sont en contact avec les neurones du système nerveux périphérique (SNP), qui les attirent et leur fournissent le microenvironnement nécessaire à leur prolifération (*Makhijani et al., 2017*), permettant ainsi l'expansion du pool d'hémocytes circulants (Figure 4).

La balance entre hémocytes attirés et hémocytes relargués des poches hématopoïétiques est constamment régulée (*Babcock et al., 2008 ; Banerjee et al., 2019*). Les plasmatocytes sont attirés vers les poches hématopoïétiques grâces à des signaux chémoattractants du SNP, notamment par de l'activine B, un ligand de la famille TGF-β qui est produit par les neurones du SNP. Les hémocytes sont relâchés sous l'influence de l'expression de Rac1 ou de l'ecdysone et de son récepteur EcR (*Zetterval et al. ; 2004, Williams et al., 2006 ; Regan et al., 2013*). À l'intérieur de ces poches, les plasmatocytes peuvent proliférer mais aussi se différencier en cellules à cristaux grâce à l'activation de la voix de signalisation Notch (*Leitao et Sucena, 2015*) ou en lamellocytes (*Honti et al., 2010 ; Markùs et al., 2009, Avet-Rochex et al., 2010, Stofanko et al., 2010*). Il est à noter que cette transdifférenciation des plasmatocytes est la seule façon de générer plus de cellules à cristaux en circulation étant donné que ce type cellulaire n'est pas capable de proliférer. Enfin, l'intégrité de la structure des poches hématopoïétiques requiert l'expression du récepteur transmembranaire Eater (*Bretscher et al., 2005*), qui permet l'adhésion des plasmatocytes, et est nécessaire à l'interaction des cellules au sein des poches.

b. L'hématopoïèse larvaire la glande lymphatique

• Structure de la glande lymphatique

La glande lymphatique, l'organe hématopoïétique larvaire de la Drosophile, est formé dès l'embryogénèse : elle dérive des segments T2-T3 du mésoderme thoracique et migre le long du vaisseau dorsal. À ce stade, les précurseurs expriment Collier/Knot (Col, Kn), l'orthologue chez la Drosophile du facteur de transcription Early B cell Factor (EBF) (*Hagman et al., 1993 ; Crozatier et al., 1996, 2004*). Plusieurs groupes de progéniteur Collier⁺ vont alors s'agréger et former une paire de lobes, les futurs lobes antérieurs (ou lobes primaires). À la fin du développement embryonnaire, chaque lobe antérieur est composé d'environ 30 cellules. Pendant le développement larvaire, les hémocytes composant les lobes primaires prolifèrent, et des lobes postérieurs (ou lobes secondaires) plus petits se forment le long du tube cardiaque (Figure 5A).



Figure 5 : Formation et organisation de la glande lymphatique de Drosophile

La glande lymphatique dérive des segments T2-T3 du mésoderme thoracique de l'embryon. Pendant les stades larvaires, la glande lymphatique repose de part et d'autre de la partie antérieure du tube cardiaque, en antérieur de la larve. Au 3^{ème} stade larvaire, elle est composée d'une paire de lobes antérieurs et de plusieurs paires de lobes postérieurs. Chaque lobe antérieur comprend une zone médullaire qui contient les progéniteurs, une zone corticale qui comprend les cellules différenciées, une zone intermédiaire qui comprend des progéniteurs en cours de maturation qui expriment à la fois des marqueurs de progéniteurs et des marqueurs de différenciation, et le Centre de Signalisation Postérieur (PSC).

Au troisième stade larvaire, la glande est composée d'une paire de lobes antérieurs et d'au moins deux paires de lobes postérieurs. Chaque lobe antérieur est subdivisé en plusieurs zones : la Zone Médullaire (ZM), la Zone Corticale (ZC), la Zone Intermédiaire (ZI) et le Centre de Signalisation Postérieur (de l'anglais « Posterior Signaling Center », ou PSC) (*Jung et al., 2005 ; Letourneau et al., 2016*). (Figure 5B)

- La Zone Médullaire (ZM), apposée au tube cardiaque, est composée de progéniteurs. Il existe au moins deux catégories de progéniteurs dans la ZM : les progéniteurs core, qui expriment les marqueurs *collier* (*col*) et *thioester protein 4* (*tep4*) (*Oyallon et al., 2016*) et les progéniteurs distaux, qui n'expriment pas ces deux marqueurs. L'ensemble de ces progéniteurs exprime le récepteur de la voix JAK/STAT : *domeless*.
- La Zone Corticale (ZC) est située à la périphérie du lobe et est composée d'hémocytes matures, les cellules à cristaux et les plasmatocytes, qui se différencient massivement au cours du troisième stade larvaire.
- La Zone Intermédiaire (ZI) est localisée à la frontière entre la ZM et la ZC. Elle est composée de cellules en cours de différenciation et qui expriment à la fois des marqueurs de progéniteurs et des marqueurs de différenciation (*Krezmien et al., 2010; Oyallon et al., 2016; Cho et al., 2020*).
- Le PSC, ou Centre de Signalisation Postérieur est localisé en postérieur de chaque lobe primaire. Au 3^{ème} stade larvaire, le PSC est composé d'environ 30 cellules. Il est important de noter que les cellules qui composent le PSC ne se différencient jamais en hémocytes. Le PSC joue le rôle de microenvironnement et est notamment requis en cas de parasitisme pour induire la différenciation des lamellocytes (*Benmimoun et al., 2015 ; Oyallon et al., 2016*). En cas de parasitisme par la guêpe *Leptopilina boulardi*, la production massive de lamellocytes entraine la rupture prématurée de la glande lymphatique, ce qui libère les lamellocytes en circulation, pour s'agglomérer autour de l'œuf de guêpe. En condition normale, la glande lymphatique conserve son intégrité jusqu'à fin du troisième stade larvaire (*Rizki and Rizki, 1992 ; Lanot et al., 2001*). Ce ne sera qu'après un pic d'ecdysone (*Sorrentino et al., 2002*), qui induit la dégradation de la matrice extracellulaire entourant les lobes, que les hémocytes de la glande lymphatique seront relâchés en circulation (*Grigorian et al., 2013*).



Figure 6 : Les niches hématopoïétiques chez les mammifères

Chez les mammifères, la moelle osseuse constitue un microenvironnement appelé niche hématopoïétique, qui régule la prolifération, la différenciation et l'auto-renouvellement des CSHs. Deux niches peuvent être distinguées : la niche vasculaire, associée aux artérioles qui assurent la vascularisation de la moelle osseuse et la niche endostéale, au contact de l'os. De nombreux types cellulaires interviennent dans la régulation des CSHs : les ostéoblastes et les ostéoclastes, cellules endothéliales, les macrophages, cellules souches mésenchymateuses, ou encore les neurones du système nerveux périphérique.

III. Mécanismes de régulation de l'hématopoïèse

L'hématopoïèse est un processus complexe, qui se doit d'être finalement régulé, tant dans le temps que dans l'espace, au risque de mener au dysfonctionnement du système immunitaire, ou au développement de pathologies, telles que les anémies ou les cancers. De nombreuses études ont mis en avant les différents types de régulation de l'hématopoïèse, via le microenvironnement, les voies de signalisations ou encore des facteurs de transcriptions spécifiques, et une partie de ces études a pu montrer la conservation de certains de ces modes de régulation entre la Drosophile et les mammifères (*Evans et al., 2003 ; Banerjee et al., 2019*). Dans ce chapitre, je décrirai de façon non exhaustive quelques régulations mises en œuvre dans la régulation de l'hématopoïèse chez les mammifères et chez la Drosophile.

A. Régulation de l'hématopoïèse chez les mammifères

a. Régulation de l'hématopoïèse par le microenvironnement

Chez les mammifères adultes, les CSHs sont localisées dans la moelle osseuse. Elles sont au contact d'un microenvironnement appelé niche hématopoïétique (*Schofield, 1978*), qui régule leur quiescence, leur prolifération et leur différenciation à la fois en condition normale et en condition de stress immun. Deux niches sont liées à la moelle osseuse : la niche endostéale et la niche vasculaire (Figure 6). Ces niches sont composées de plusieurs types cellulaires impliqués dans le contrôle de l'hématopoïèse adulte dont le nombre ne fait qu'augmenter au vu des récentes études (*Morrison et Scadden, 2014 ; Asada et al., 2017 ; Severe et al., 2019 ; Baccin et al., 2019 ; Baryawno et al., 2019 ; Tikhonova et al., 2019 ; Wolock et al., 2019 ; Al-Sabah et al., 2020 ; Xie et al., 2022*).

• La niche endostéale

La niche endostéale, au contact de l'os, est composée principalement d'ostéoblastes, mais contient aussi des adipocytes, des fibroblastes et des ostéoclastes.

Les ostéoblastes ont initialement été associés à la formation de la lignée myéloïde, et plus précisément à la formation des granulocytes (*Zhu et al., 2007*). En effet, les ostéoblastes produisent une combinaison de facteurs de croissance et de cytokines, dont le G-CSF (Granulocyte colony stimulating factor) qui est requis pour la différenciation terminale des granulocytes (*Taichman et*

Emerson, 1994). Par la suite, des expériences ont montré que les ostéoblastes sont aussi impliqués dans le contrôle de la formation des lymphocytes B (*Visnjic et al., 2004*). Enfin, les ostéoblastes contrôlent les propriétés des CSHs : ils expriment de la N-cadherine et de l'angiopoietin-1, qui promeuvent tous les deux la quiescence des CSHs. Les ostéoblastes peuvent également produire de l'ostéopontine, qui inhibe la prolifération des CSHs. De plus, il a été montré qu'une augmentation du nombre d'ostéoblastes entrainait une augmentation du nombre de CSHs (*Calvi et al., 2003*) et qu'au contraire, une ablation des ostéoblastes induisait une diminution du nombre de CSHs (*Visnjic et al., 2004 ; Zhu et al., 2007*). Les ostéoblastes contrôlent donc la formation et les propriétés de nombreuses cellules hématopoïétiques et en particulier des CSHs.

Une autre population de la niche endostéale, les ostéoclastes, semblent également participer au maintien des CSPHs. En effet, on observe une augmentation du nombre de progéniteurs hématopoïétiques qui s'engagent en différenciation aux dépens du maintien des CSHs lorsque l'on inhibe la fonction des ostéoclastes (*Kollet et al., 2006 ; Lymperi et al., 2011*).

• La niche vasculaire

La moelle osseuse est irriguée par de nombreux vaisseaux sanguins, qui sont divisés en deux catégories : les vaisseaux sinusoïdes et les artérioles, qui sont formés de cellules endothéliales et de cellules périvasculaires (*Asada et al., 2017b ; Pinho et Frenette, 2019*). Cet ensemble de cellules forme la niche vasculaire.

Il a été montré que la différence de perméabilité au plasma (qui contient des ROS) de ces deux types de vaisseaux sanguin avait un impact sur les propriétés des CSHs. Les cellules endothéliales des artérioles, qui sont peu perméables, maintiennent un niveau de ROS suffisamment bas pour permettre de garder les CSPHs dans un état de quiescence. Au contraire, les cellules endothéliales des sinusoïdes, qui sont hautement perméables au plasma, induisent une augmentation de la quantité de ROS autour des CSHs, entrainant leur différenciation et leur migration (*Itkin et al., 2016*).

Des molécules produites par les cellules endothéliales, telles que le Vascular Endothelial Growth Factor Receptor-2, la Vascular endothelial cadherin (VE-Cadherin), Cxcl-12 et Scf, sont nécessaires au maintien des CSHs (*Butler et al., 2010 ; Ding et al., 2012, Ding et Morrison, 2013*). De plus, d'autres composants des cellules endothéliales promeuvent la prolifération des CSHs. C'est le cas de la E-selectine, dont la déplétion induit l'entrée en quiescence des CSHs (*Winkler et al., 2012*).

En somme, les niches hématopoïétiques, que ce soit la niche endostéale ou la niche vasculaire, fournissent un microenvironnement capable de réguler chacune des propriétés des cellules souches et des progéniteurs hématopoïétiques.

Les autres types de microenvironnement

Outre les cellules endothéliales, plusieurs types de cellules hématopoïétiques et non hématopoïétiques fonctionnent également comme microenvironnement pour contrôler l'homéostasie (c'est-à-dire la balance entre maintien en quiescence et différenciation) des CSHs. C'est par exemple le cas des cellules du système nerveux parasympathique, qui régulent la quiescence des CSHs via l'expression du facteur de croissance TGF- β (Transforming Growth Factor- β) (*Yamazaki et al., 2011*) et des cellules sanguines elles-mêmes. En effet, de nombreuses études ont montré que les macrophages, les neutrophiles ou encore les lymphocytes T agissent sur les propriétés des CSHs (Figure 6).

b. Régulation transcriptionnelle de l'hématopoïèse

En plus d'être régulées par différents microenvironnements, de nombreux facteurs sont requis au sein même des cellules hématopoïétiques, que ce soit pour leur formation ou leur différenciation. Ainsi, la régulation de l'expression génique dans chaque type cellulaire par ces différents facteurs (qu'il s'agisse de facteurs de transcription ou de récepteurs activant une cascade de régulation) est cruciale pour garantir le bon déroulement de l'hématopoïèse.

RUNX1

La famille de facteurs de transcription RUNX est très conservée au cours de l'évolution (*Rennert et al., 2003*) et le membre fondateur de cette famille a d'abord été identifié chez la Drosophile. Chez l'Homme, il existe 3 facteurs RUNX : RUNX1, RUNX2 et RUNX3. RUNX1 est la cible de très nombreuses translocations chromosomiques ou mutations ponctuelles associées au développement de leucémie aiguë myéloïde (LAM), (*Miyoshi et Ohki, 1991 ; Erickson et Gao, 1992, Haferlach et al., 2014*). De ce fait, de multiples études se sont intéressées aux fonctions de ces différents facteurs RUNX.

Au cours du développement hématopoïétique, RUNX1 est requis pour l'émergence des progéniteurs érythromyéloïdes/myéloïdes, d'une part et pour celle des CSHs au cours de la

transition endothélio-hématopoïétique d'autre part (*Chen et al., 2009*; *North et al., 2002*; *Yzaguirre et al., 2018*; *Liakhovitskaia et al., 2014*). En revanche, RUNX1 n'est pas indispensable pour la vague primitive. Il y a peu d'informations sur le rôle de RUNX1 dans le maintien des CSHs, mais on sait qu'il est exprimé dans la moelle osseuse où résident les CSHs (*Ng et al., 2010*; *Nottingham et al., 2007*). Chez l'adulte, RUNX1 est requis pour le développement de la lignée lymphoïde (*Taniuchi et al., 2002*; *Woolf et al., 2003*; *Li et al., 2012*; *Chi et al., 2018*), mais également de la lignée myéloïde et en particulier pour la différenciation des mégacaryocytes, au cours de laquelle il interagit physiquement et fonctionnellement avec le facteur de transcription GATA1 (*Chang et al., 2002*; *Iwasaki et al., 2003*; *Elagib, 2003*; *Goldfarb, 2009*; *Pencovich et al. 2011*; *Tijssen et al., 2011*; *Draper et al., 2016*).

• GATA

Les facteurs GATA appartiennent à une famille de facteur de transcription très conservée au cours de l'évolution. Ce sont des acteurs majeurs de l'hématopoïèse. Chez les mammifères, il existe 6 facteurs GATA, et 3 d'entre eux (GATA1, GATA2, GATA3) sont requis au cours de l'hématopoïèse.

GATA1 est requis pour la formation des érythrocytes (*Pevny et al., 1991, 1995 ; Fujiwara et al. 1996, McDevitt et al., 1997 ; Takahashi et al., 1998*) à partir de progéniteurs érythroïdes produits dans le sac vitellin. En effet, la perte de fonction de GATA1 entraine un défaut de l'érythropoïèse dans le sac vitellin et une augmentation du nombre de cellules bloquées au stade de proérythroblastes, qui finissent par mourir par apoptose.

GATA2 est requis pour l'émergence et le maintien des CSHs au cours de l'embryogénèse (*Tsai et al., 1994 ; Ling et al., 2004 ; Pater et al., 2013*). Lorsqu'il est exprimé dans les progéniteurs de mégacaryocytes/érythrocytes, GATA2 pousse les progéniteurs à se différencier en mégacaryocytes, aux dépens des érythrocytes (*Tsai et Orkin, 1997*).

GATA3 joue un rôle dans l'émergence des CSHs pendant l'embryogenèse (*Zaidan et Ottersback, 2018*), il participe à leur maintien au stade adulte, et régule leur capacité d'autorenouvellement et de prolifération (*Ku et al., 2012 ; Frelin et al., 2013*). Il est également exprimé dans les progéniteurs lymphoïdes et est requis pour la formation des lymphocytes T (*Rothenberg, 2013 ; Lee et al., 2001 ; Ho et al., 2009*).

• Notch

Le récepteur Notch1 régule l'expression de GATA2, qui est lui-même requis pendant l'émergence des CSHs (Robert-Moreno, 2005 ; de Pater et al., 2013) et participe à l'expression de RUNX1 (*Nakagawa et al. 2006*), toujours pendant la formation des CSHs. Il est à noter que même si Notch1 est requis pour l'émergence des CSHs, la régulation de la transition endothéliohématopoïétique par RUNX1 est indépendante de Notch1 (*Hadland, 2004 ; Bertrand et al., 2010*). Enfin, Notch1 est nécessaire à l'engagement des cellules dans la lignée des lymphocytes T et participe à la spécification des mégacaryocytes (*Oh et al., 2013 ; Mercher et al., 2008 ; Varnum-Finney et al., 2011*).

L'émergence de la glande lymphatique dans l'embryon de Drosophile est remarquablement similaire à celle des mammifères : en effet, les cellules hématopoïétiques sont issues de dérivés de cellules endothéliales au cours de l'embryogenèse dans les deux modèles, la régulation de ce processus est en partie conservée au cours de l'évolution. Dans la prochaine partie, je décrirai les différentes voies de signalisations et facteurs qui participent à la régulation de l'hématopoïèse chez la Drosophile dans la glande lymphatique.


Figure 7 : Représentation schématique des différentes voies de signalisation régulant l'hématopoïèse dans la glande lymphatique

(A) En conditions normales, différentes voies de signalisations et facteurs sont requis dans les progéniteurs pour assurer leur maintien. Le contrôle de la taille du PSC, important pour le maintien de l'homéostasie, se fait également grâce à différentes voies de signalisation. (B) Schéma récapitulatif de la régulation de l'hématopoïèse dans le PSC en cas de parasitisme qui permettent la formation de lamellocytes et l'encapsulation de l'œuf de guêpe.

B. Régulation de l'hématopoïèse chez la Drosophile

a. Les niches hématopoïétiques de la glande lymphatique

Il existe deux niches qui contrôlent les propriétés de la glande lymphatique : le tube cardiaque et le PSC. Bien que localisé dans le lobe antérieur, le PSC est composé uniquement de cellules non-hématopoïétiques. Il est requis tant en condition normale qu'en condition de stress immun, notamment pour la formation des lamellocytes.

Le PSC est requis pour le maintien de l'homéostasie de la glande lymphatique

Le PSC est requis pour la régulation de la différenciation, mais pas dans le maintien des progéniteurs core. En effet, réduire le nombre de cellules du PSC n'affecte pas le maintien des progéniteurs core (*Oyallon et al., 2016*). De la même façon, une ablation du PSC n'affecte pas les progéniteurs core (Collier⁺/Tep4⁺), mais induit une légère augmentation de la différenciation des cellules à cristaux (*Benmimoun et al., 2015*). Bien que les progéniteurs core ne soient pas une cible du PSC, celui-ci contrôle le maintien des progéniteurs distaux (Odd⁺, E-Cadherin⁺, DomeMESO⁺) via la signalisation Hh (Hedgehog), signalisation qui n'affecte pas les progéniteurs « core » (*Mandal et al., 2007 ; Baldeosingh et al., 2018*). Plus récemment, Cho *et al.* ont mis en évidence une population de progéniteurs à proximité du PSC, qu'ils ont nommée PH1, et qui n'exprime pas les marqueurs de progéniteurs core. Cette population disparait en cas d'ablation du PSC, suggérant que le PSC est requis pour leur maintien (*Cho et al., 2020*).

Un contrôle du nombre de cellules du PSC est requis pour maintenir l'homéostasie de la glande lymphatique. En effet, une augmentation du nombre de cellules du PSC induit une expansion de la zone médullaire aux dépens de la différenciation (*Krzemien et al., 2007 ; Sinenko et al., 2009 ; Mondal et al., 2011 ; Benmimoun et al., 2012 ; Pennetier et al., 2012 ; Tokusumi et al., 2012 ; Hao and Jin, 2017*). Ce contrôle passe par de nombreuses voix de signalisation et facteurs de transcription (Figure 7A). C'est par exemple le cas de la voix de signalisation BMP/Dpp (*Decapentaplegic*), qui régule l'expression du proto-oncogène *dMyc*, et par conséquence la prolifération des cellules du PSC (*Pennetier et al., 2012*). En parallèle, la voix de signalisation Wnt, et son ligand *Frizzled* (*DFz2*) jouent également un rôle. En effet, l'augmentation du ligand Frizzled entraine une augmentation de la taille du PSC, alors que sa perte de fonction entraine une

réduction du nombre de cellules du PSC (*Sinenko et al., 2009 ; Pennetier et al., 2012*). Enfin, de nombreux facteurs sont requis pour le contrôle du nombre de cellules du PSC, comme le facteur de transcription Jumeau (Jumu), le régulateur transcriptionnel *Bag of Marbles (Bam)* ou encore la voix de signalisation Insulin Receptor/Target of Rapamycin (InR/TOR) (*Hao and Jin, 2017 ; Mandal et al., 2007 ; Benmimoun et al., 2012 ; Pennetier et al., 2012 ; Tokusumi et al., 2012 ; Lam et al., 2014*) (Figure 7A).

En somme, le PSC joue le rôle de niche en condition normale, et le contrôle du nombre de cellules qui le compose par différentes voies de signalisation est importante pour le maintien de l'homéostasie de la glande lymphatique. Dans la prochaine partie, je décrirai le rôle du PSC dans la réponse au parasitisme par la guêpe *Leptopilina Boulardi*, qui est le contexte de stress immun le plus étudié (*Carton and Nappi, 2001 ; Russo et al., 2001 ; Letourneau et al., 2016*).

• Le PSC dans la réponse au parasitisme

Lors du parasitisme, la guêpe dépose un œuf au sein de la larve de Drosophile. L'oeuf est reconnu par les plasmatocytes en circulation et ces derniers se déposent sur l'œuf de guêpe (*Russo et al., 1996*). À ces plasmatocytes viennent s'ajouter des lamellocytes, qui vont créer une capsule hermétique autour de l'œuf, et enfin des cellules à cristaux. Les lamellocytes et les cellules à cristaux participent à la réaction de mélanisation. Cette réaction permet la production de radicaux libres cytotoxiques, responsables de la mort de l'œuf par asphyxie (*Russo et al., 1996 ; Dubuffet et al., 2008 ; Nam et al., 2008 ; Binggeli et al., 2014 ; Dudzic et al., 2015*).

Le PSC joue un rôle clé dans cette réponse immunitaire. En effet, des glandes lymphatiques dépourvues de PSC ne sont pas capables d'induire la production de lamellocytes (*Krezmien et al, 2007 ; Benmimoun et al, 2015*), démontrant un rôle important du PSC dans la production de ces cellules. En réponse au parasitisme, un haut niveau de ROS est détecté dans le PSC, ce qui conduit à la sécrétion par les cellules du PSC de Spitz, le ligand de la voie Epidermal Growth Factor Receptor (EGFR) (Sinenko et al., 2012). Spitz, active la voie EGFR dans les progéniteurs hématopoïétiques de la zone médullaire de la glande lymphatique, les poussant à se différencier en lamellocytes (*Louradour et al., 2017*). L'augmentation des niveaux de ROS dans le PSC conduit également à l'activation de la voie TOII/NF-**k**B dans le PSC (une voie de régulation des CSHs chez les

mammifères), qui au travers de son effecteur Dif (Dorsal-related immunity factor) dans le PSC pousse les progéniteurs à se différencier en lamellocytes (*Louradour et al., 2017*) (Figure 7B).

Le tube cardiaque dans le maintien des progéniteurs

La deuxième niche hématopoïétique est le tube cardiaque. Elle s'apparente au système vasculaire chez les mammifères et régule notamment le maintien des progéniteurs au travers de la voie de signalisation « Fibroblast Growth Factor » (FGF) (*Letourneau et al., 2021*). Les cellules cardiaques sécrètent le ligand Branchless (Bnl), qui active la voie FGF dans les progéniteurs et régule ainsi le niveau de calcium intracellulaire des progéniteurs, permettant leur maintien.

Les différentes voies de signalisations et acteurs moléculaires qui régulent l'hématopoïèse larvaire chez la Drosophile

En plus de la régulation par les niches, le maintien des progéniteurs et leur différenciation sont également régulés de manière intrinsèque, au sein même de la zone médullaire et/ou de la zone corticale. Ici, je décrirai quelques exemples de voies de signalisation et de régulateurs décrits dans le maintien des progéniteurs de la glande lymphatique et dans la régulation de la différenciation.

• Maintien des progéniteurs

De nombreuses voies de signalisation sont impliquées dans le maintien des progéniteurs de la glande lymphatique. Ensemble, elles permettent l'expression de gènes spécifiques qui participent au maintien de l'identité progéniteur. C'est par exemple de cas de la voie Wnt, qui lorsqu'elle est activée dans les progéniteurs permet l'expression de *Shotgun* (l'orthologue chez la Drosophile de la E-Cadhérine) requis pour inhiber la différenciation (*Gao et al., 2013*). La voie JAK/STAT est également requise pour le maintien des progéniteurs : en effet, elle régule l'expression du facteur FOG Ush, requis pour le maintien des progéniteurs (*Sorrentino et al., 2007 ; Gao et al., 2009 ; Tokusumi et al., 2010*).

De plus, certains composant du cytosquelette jouent un rôle dans le maintien des progéniteurs. C'est le cas de l'actomyosine, et de deux de ses composants Zipper (*Zip*) et Squash (*Sqh*), dont l'expression est requise pour le maintien des progéniteurs (*Sharma et al., 2019*). Enfin, l'expression du facteur de transcription Collier est cruciale pour le maintien des progéniteurs. En

effet, une diminution de l'expression de *collier* dans les progéniteurs entraine leur différenciation (*Oyallon et al., 2016 ; Benmimoun et al., 2015b*).

• Régulation de la différenciation

De façon similaire, une régulation fine de nombreux gènes est nécessaire pour contrôler la différenciation dans la glande lymphatique.

Comme chez les mammifères, les facteurs GATA de Drosophile sont des régulateurs clés de l'hématopoïèse : il existe 5 facteurs GATA chez la Drosophile : *srp*, *pnr*, *GATAe*, *GATAd* et *Grain*. Pnr est requis pour la maturation des plasmatocytes (*Minakhina et al., 2011*). Srp est également requis pour la différenciation des hémocytes. En effet, l'interaction entre le facteur GATA Srp et son co-facteur FOG Ush est requise pour la différenciation des plasmatocytes et l'interaction entre Srp et Lz (de la famille RUNX) est requis pour la différenciation des cellules à cristaux (*Fossett et al., 2003 ; Waltzer et al., 2002, 2003a ; Bataillé et al., 2005*). Srp partage ainsi des similitudes fonctionnelles avec les facteurs GATA1 et GATA2 des mammifères, requis tous les 2 pour l'émergence et la différenciation des progéniteurs.

Chez la Drosophile, le facteur de transcription RUNX Lozenge (Lz), est requis au cours du processus hématopoïétique, bien qu'il ait été d'abord décrit au travers de son rôle dans le disque imaginal d'œil (*Daga et al., 1996*). En effet, il est requis pour la différenciation des cellules à cristaux au travers son interaction avec Srp (*Waltzer, 2003a ; Ferjoux et al., 2007*).

Il apparaît de plus en plus clairement que les stratégies mises en œuvre dans le contrôle de l'expression génique au cours de l'hématopoïèse sont remarquablement conservées des mammifères à la Drosophile, que ce soit au niveau de l'organisation du tissu hématopoïétique et de la communication entre ses différents composants (niches, progéniteurs) ou des acteurs moléculaires impliqués (voies de signalisation et facteurs de transcription).

Dans la partie suivante, je m'attacherai à décrire un troisième mode de régulation de l'hématopoïèse chez les mammifères et la Drosophile : le contrôle de l'état chromatinien qui permet de contrôler de façon coordonnée l'expression d'un large éventail de gènes.



Figure 8 : Modifications post-traductionnelles des histones

Le nucléosome correspond à environ 146 paires de bases d'ADN double brin enroulées autour d'un octamère de protéines histones. 4 modifications post-traductionnelles des résidus des queues d'histones sont possibles (A) : l'acétylation, la méthylation, la phosphorylation ou l'ubiquitinylation. Il existe 3 types de protéines qui participent à ces modifications les « writers », qui peuvent ajouter des modifications, les « erasers », qui peuvent en retirer et les « readers », qui jouent un rôle dans la reconnaissance de ces marques, principalement pour y réguler la fixation d'autres protéines. Dans le cas de l'acétylation, le processus consiste en le transfert d'un groupement acétyl provenant d'un acétyl-CoA à un résidu lysine d'histone. Cette action est réalisée par une classe d'enzyme appelée histone acétyltransférases (HATs), récemment rebaptisée lysines acétyltransférases (KATs).

C. L'épigénétique comme mode de régulation de l'hématopoïèse

Le nucléosome est la sous-unité de base de la chromatine et correspond à environ 146 paires de bases d'ADN double brin enroulées autour d'un octamère de protéines histones. Étant donné que les nucléosomes sont intrinsèquement inhibiteurs de la transcription, leur modification ou leur déplacement est nécessaire pour permettre l'expression correcte des gènes (*Knezetic et Luse, 1986 ; Almouzni et Wolffe, 1993*).

L'état chromatinien est de ce fait en première ligne pour réguler le répertoire transcriptionnel et en conséquence le destin cellulaire. Récemment, de multiples études ont mis en évidence des rôles prédominants de facteurs épigénétiques, au cours de l'hématopoïèse normale autant que pathologique (*Cruz-Rodriguez et al., 2018*). De plus, récemment, une nouvelle catégorie de mutation a émergé et correspond aux mutations affectant les régulateurs épigénétiques, qui sont impliqués à la fois dans la prolifération et la différenciation des cellules sanguines. Depuis, de nombreuses études se sont focalisées sur les différents rôles de ces facteurs épigénétiques.

Ici, je me concentrerai sur les modifications post-traductionnelles des résidus d'histones. Les relations entre ces modifications d'histone et les cancers hématologiques ont largement été étudiées (Cheng et al., 2019). Dans le cas des modifications d'histones, 4 modifications sont possibles : il s'agit de l'acétylation, la méthylation, la phosphorylation ou l'ubiquitinylation des résidus des queues d'histones (*Berger, 2002, Spencer et Davie 1999 ; Strahl et Allis, 2000 ; Jason et al., 2002 ; Kouzarides et al., 2007*). Les protéines participant aux modifications posttraductionnelles des histones peuvent être divisés en 3 catégories : les « writers », capables d'ajouter des modifications d'histones, les « erasers », qui sont chargés de retirer ces modifications et les « readers », qui jouent un rôle dans la reconnaissance de ces marques, principalement pour y réguler la fixation d'autres protéines (Figure 8A). Il est à noter que beaucoup de « writers » et d'«erasers » portent également des domaines « readers », leur permettant de reconnaitre certaines modifications spécifiques et contribuant ainsi à la définition de leur répertoire cible.

a. Régulations épigénétique dans l'hématopoïèse mammifère

Chez les mammifères, de nombreuses études se sont penché sur les rôles des facteurs épigénétiques dans l'hématopoïèse. Ici, je décrirai deux des plus importants d'entre eux : CBP et Tip60.

CBP (CREB Binding Protein) et son paralogue p300 sont des co-activateurs transcriptionnels qui participent à de nombreux processus biologiques. Ce sont des lysines acétyltransférases (KAT) (*Bannister et Kouzarides, 1996 ; Ogryzko et al., 1996*) qui sont également capables d'acétyler des substrats non-histones tels que p53 et GATA1 (*Gu et Roeder, 1997 ; Blobel et al., 1998*). CBP est requis au cours du développement hématopoïétique embryonnaire (*Oike et al., 1999*). En effet, une perte de fonction de CBP entraine un défaut de la vague primitive hématopoïétique chez la souris (*Chan et al., 2011*). CBP régule également les propriétés des CSHs : la perte de CBP chez la souris entraine une augmentation de la quiescence et de l'apoptose des CSHs, accompagnée d'une augmentation de la différenciation, résultant en l'épuisement du pool de CSHs (*Chan et al., 2011*). Enfin, CBP est requis pour le développement des lymphocytes B et T (*Kasper et al., 2006 ; Xu et al., 2006*). De façon remarquable, CBP est la cible de nombreuses translocations chromosomiques associées au développement de LAM (*Crowley et al., 2005 ; Taki et al., 1997*), ce qui illustre son rôle de régulateur majeur de l'hématopoïèse chez l'Homme.

Une étude récente a montré que la fonction KAT de Tip60, une histone acétyltransférase de la famille MYST (décrite dans la section IV), est requise dans le maintien des CSHs chez les mammifères (*Numata et al., 2020*). En effet, l'acétylation de l'histone H2A.Z par Tip60 permet l'activation de la transcription des gènes cibles du proto-oncogène Myc. Ces gènes cibles sont impliqués dans le cycle cellulaire, le maintien des CSHs ou encore dans la réparation des cassures de l'ADN, des fonctions nécessaires au maintien d'un pool de CSHs fonctionnelles chez l'adulte.

b. Régulation épigénétique dans la glande lymphatique de Drosophile

Chez la Drosophile, quelques régulateurs épigénétiques ont été associés à la régulation de l'hématopoïèse. Ainsi, l'histone méthyltransférase SETBD1, responsable de la méthylation de la lysine 9 de l'histone H3 (H3K9), contrôle la différenciation des cellules à cristaux. En effet, une perte de fonction de SETDB1 entraine une diminution du nombre de cellules à cristaux, qui est accompagnée d'une augmentation de la différenciation des lamellocytes (*Paddibhatla et al., 2019*).

En parallèle, un groupe a montré que la perte de fonction de membre du complexe d'acétylation de Tip60, notamment *Enhancer of Polycomb* (*E*(*Pc*)), dont l'interaction physique avec Tip60 est cruciale à l'activité acétyltransférase de cette dernière (*Searle et al., 2017 ; Xu et al., 2016*), entraine une formation anormale de lamellocytes, leur agrégation menant à la formation de tumeurs mélanotiques (*Bailetti et al., 2019*).



Figure 9 : Les d'acétyltransférases de la famille MYST

Représentation schématique des membres de la famille d MYST chez l'Homme (A) et chez la Drosophile (B). Chez l'Homme, les members de la famille MYST sont : MOZ (Monocytic Leukemia Zinc Finger Protein, KAT6A), MORF (MOZ Related Factor, KAT6B), HBO1 (Human acetylase Binding to ORC1, KAT7), Tip60 (HIV Tat Interacting Protein of 60kD, KAT5), et MOF (Male absent on the First, KAT8). Leurs orthologues chez la Drosophile sont : Enoki mushroom (Enok, l'orthologue de MOZ/MORF), Chameau (dHBO1), dTIP60 et MOF respectivement. Les domaines représentés sont les suivants : Plant Homeodomain (PHD) ; domaine N-terminal d'Enok, MOZ ou MORF (NEMM) ; régions enrichies en sérine/méthionine (SM) ou proline, glutamine (P) ; région riche en résidus acides (Acidic) ; domaine structural MYST partagé par tous les membres de la famille et porteur de l'activité acétyltransférase (MYST) et domaine CH2C en doigt de zinc ; motif riche en cystéine/histidine (CH) ; domaine d'interaction avec la chromatine (Chromo) ; domaine riche en sérine (Ser). (C) Représentation des protéines de fusion MOZ-CBP (*Borrow et al., 1996*) et MOZ-TIF2 (*Carapeti et al., 1998*). Les domaines structuraux propres à CBP et TIF2 sont les suivants : Bromodomaine (Br) ; module d'interaction phospho-CREB (Kix) ; domaine héliceboucle-hélice (bHLH) ; domaine riche en glutamine (Q) ; domaine d'interaction avec le récepteur nucléaire (NID).

IV. L'acétylation des résidus d'histones

Dans le cas de l'acétylation, la première modification d'histone décrite (*Grant, 2001 ; Goll, 2002*), le processus consiste en le transfert d'un groupement acétyl provenant d'un acétyl-CoA à un résidu lysine d'histone (Figure 8B). Cette action est réalisée par une classe d'enzyme appelée histone acétyltransférases, récemment rebaptisée lysine acétyltransférases (KATs). Il existe 5 familles de KAT chez les mammifères : GNAT, MYST, CBP/p300, SRC et TAF1 (*Arrowsmith et al., 2012*). L'une des familles de KAT la plus importante et conservée chez les eucaryotes est la famille MYST. Elle tient son nom de ses 4 membres fondateurs : <u>MOZ, Yfb2, Sas2 et Tip60</u>.

A. La famille de lysine acétyltransférases MYST

Chez les mammifères, il en existe 5 membres : Tip60 (HIV Tat Interacting Protein of 60kD, KAT5), MOZ (Monocytic Leukemia Zinc Finger Protein, KAT6A), MORF (MOZ Related Factor, KAT6B), HBO1 (Human acetylase Binding to ORC1, KAT7) et MOF (Male absent on the First, KAT8), qui sont tous caractérisés par leur domaine conservé MYST (près de 95% de similarité de composition en acide aminés), qui porte l'activité acétyltransférase (*Avvaumov et Cote, 2007*; *Thomas et al., 2007*) (Figure 9A). Cette activité leur permet d'acétyler des résidus lysines d'histones d'une part, et des substrats non-histone d'autre part. C'est par exemple le cas de Tip60 et de MOF, qui acétylent tous les deux le suppresseur de tumeur p53 (*Tang et al., 2006*; *Rokudai et al., 2013*), ou de MOZ qui acétyle le facteur de transcription RUNX1. Ces KATs sont exprimés dans une grande variété de tissus chez les mammifères, du système nerveux aux système reproductif, suggérant qu'elles exercent des fonctions dans de nombreux types cellulaires et de nombreux processus. En effet, une multitude d'études a permis d'associer différentes KAT, à la fois chez les mammifères et chez d'autres organismes modèles, à de nombreux processus, tant en condition normale que pathologique (*Sun et al., 2015*). Dans la suite de ce manuscrit, je me concentrerai sur MOZ/MORF, et sur leurs rôles au cours de l'hématopoïèse.

B. Généralités sur MOZ/MORF

MOZ a été identifiée pour la première fois en 1996 comme étant la cible d'un réarrangement chromosomique conduisant à sa fusion avec le coactivateur transcriptionnel CBP,

cette fusion étant associée au développement de Leucémie Aiguë Myéloïde (LAM). Depuis, MOZ a été retrouvée dans d'autres translocations chromosomiques à l'origine de leucémie ou d'autres pathologies.

Le domaine MYST de MOZ comprend un site catalytique, qui contient des résidus responsables de la liaison avec l'acétyl-CoA, permettant ainsi son activité acétyltransférase, et un domaine en doigt de zinc C2HC du côté N-terminal capable de lier l'ADN (Holbert et al., 2007). Le domaine MYST est également capable de lier BRPF1, un des partenaires de MOZ (voir section IV.D). Du côté C-terminal, MOZ contient un domaine SM (Serine-Methionine rich) impliqué dans l'activation transcriptionnelle (Pelletier et al., 2002) et capable de se lier au facteur de transcription p53 (Rokudai et al., 2009; S. Rokudai et al., 2013; Tham et al., 2015), ainsi qu'une région AD (Acidic Region) associée aux transformations leucémiques et aux pathologies affectant le développement (Arboleda et al., 2015, Tham et al., 2015, Gannon et al., 2015, Campeau et al., 2012). Du côté Cterminal, MOZ possède un double domaine PHD (Plant Homeodomain), qui reconnait les résidus lysines 9 et 14 de l'histone H3 acétylés, et qui joue un rôle dans l'association de MOZ au niveau de chromatine déjà enrichie en acétylation (Ali et al., 2012). L'étude de Qui et al. a en particulier montré que l'activation de certains gènes Hox nécessite la reconnaissance par MOZ des résidus H3K14ac (Qiu et al., 2012). Enfin, dans la région la plus N-terminale de MOZ se trouve un domaine NEMM (N-terminal of Enok, MOZ and MORF), qui possède des similarités de séquences avec les domaines globulaires des histones H1 et H5, qui sont important pour la localisation nucléaire de MOZ in vitro (Kitabayashi et al., 2001b).

C. Les rôles de MOZ/MORF

En plus de ses rôles dans l'hématopoïèse normale et pathologique, que je développerai dans la prochaine section, MOZ a été associée au contrôle de la prolifération des cellules souches neurales et au développement du squelette au travers de la régulation des gènes Hox (*Miller et al., 2004 ; Crump et al., 2006 ; Voss et al., 2009 ; Sheikh et al., 2015*). Sa dérégulation est également associée à de nombreuses pathologies, dont certaines déficiences intellectuelles (*Tham et al., 2015*), des cancers colorectaux (*Mohammadi et al., 2018*), des médulloblastomes (*Wu et al., 2012*) ou encore des adénocarcinomes (*Dulak et al., 2013*).

a. Les rôles de MOZ/MORF au cours de l'hématopoïèse pathologique

MOZ a d'abord été identifié comme partenaire de fusion avec CBP (CREB binding protein) suite à la translocation t(8;16)(p11;p13), qui est associée au développement de la leucémie aiguë myéloïde (LAM) (Figure 9C). CBP est une autre histone acétyltransférase, capable d'acétyler à la fois des résidus histones et non-histones, et qui est impliqué dans de nombreux processus développementaux (Bannister et Kouzarides, 1996). La protéine de fusion générée contient la partie N-terminale de MOZ, incluant son domaine MYST, et la quasi-totalité de la protéine CBP (Borrow et al., 1996), ce qui entraine une acétylation aberrante du répertoire d'acétylation de MOZ, ainsi que de celui de CBP, ce qui participerait à la leucémogénèse (Borrow et al., 1996). De plus, MOZ-CBP agit comme répresseur de l'activité de RUNX1, dont MOZ et CBP individuellement sont normalement les coactivateurs transcriptionnels. (Miyoshi et Ohki, 1991 ; Erickson et Gao, 1992 ; Haferlach et al., 2014). De façon intéressante, le facteur MORF, le paralogue de MOZ identifié par Champagne et al., qui présente une grande similarité de séquence avec MOZ, est également sujet à des translocations chromosomiques avec CBP qui sont associées au développement de LAM (Champagne et al., 1999 ; Panagopoulos et al., 2001). Depuis, d'autres translocations chromosomiques affectant MOZ ont été décrites, comme la translocation t(8;22)(p11;q13) qui génère une protéine de fusion entre MOZ et l'histone acétyltransférase p300, l'homologue de CBP (Kitabayashi et al., 2001b). À l'instar de la fusion avec CBP, la protéine issue la fusion avec p300 contient toujours le domaine MYST de MOZ, ce qui entrainerait une acétylation aberrante du répertoire d'acétylation de MOZ et contribuerait à la leucémogénèse et au développement de LAM.

Il existe également une protéine de fusion MOZ-TIF2 (Transcriptional Intermediary binding Factor 2) (*Carapeti et al., 1998*) (Figure 9C). De plus, MOZ-TIF2 est capable de recruter CBP via le domaine CID de TIF2. Ce recrutement a pour effet d'inhiber CBP, et donc son activité transcriptionnelle, qui est nécessaire pour l'expression de gènes tel que le suppresseur de tumeur p53 (*Deguchi et al., 2003 ; Kindle et al., 2005, Collins et al., 2006*). De plus, le laboratoire de Georges Lacaud a montré que MOZ-TIF2 réprime la sénescence dans les cellules souches leucémiques, causant leur prolifération (*Largeot et al. 2016*). MOZ-TIF2 confère des propriétés de cellules souches à des progéniteurs hématopoïétiques déjà engagés, notamment en modulant leurs propriétés d'auto-renouvellement induisant le développement et la progression de la LAM (*Deguchi et al., 2003, Huntly et al., 2004*).

Enfin, une fusion entre MOZ et le facteur de transcription NcoA3 (Nuclear receptor co-Activator 3) a également été observé dans un cas de LAM (*Esteyries et al., 2008*).

b. Les rôles de MOZ/MORF dans l'hématopoïèse normale

Le fait que la présence de ces protéines chimériques dans le domaine d'expression endogène de MOZ conduise au développement de pathologies affectant le compartiment sanguin, suggèrait que MOZ joue un rôle au cours de l'hématopoïèse normale des mammifères. De nombreuses équipes ont par la suite confirmé cette hypothèse et ont mis en lumière les différents rôles de MOZ au cours du développement hématopoïétique, notamment dans la production et le maintien des CSHs (pour revue, voir *Perez-Campo et al, 2013*).

Ainsi, des analyses de perte de fonction de MOZ et de transplantations successives de CSHs MOZ^{-/-} ont montré que MOZ est essentielle à leur maintien et leur renouvellement. En effet, la perte de fonction de MOZ dans l'embryon entraine une absence de progéniteurs hématopoïétiques et de CSHs dans le foie d'embryons de souris (*Thomas et al., 2006 ; Katsumoto et al., 2006*). De plus, la perte de MOZ dans la moelle osseuse chez l'adulte entraine une perte rapide de CSHs (*Sheikh et al., 2016*), démontrant son rôle dans leur maintien. Ce même groupe a par la suite montré que MOZ, en collaboration avec BMI1, une protéine du groupe Polycomb, est responsable de la quiescence des CSHs, favorisant ainsi leur maintien (*Sheikh et al., 2017*).

Enfin, Perez-Campos *et al.* ont montré grâce à une mutation ponctuelle qui affecte l'activité KAT de MOZ que cette activité KAT est nécessaire pour assurer la prolifération des progéniteurs hématopoïétiques (*Perez-Campo et al., 2009*) et pour prévenir l'entrée en sénescence des CSHs, promouvant ainsi leur capacité d'auto-renouvellement et donc leur maintien (*Perez-Campo et al., 2014*).

Enfin, MOZ possède également un rôle dans la régulation de la formation des macrophages et des lymphocytes B (*Jiang et al., 2019*; *Sheikh et al., 2015*) en plus de son rôle dans la coactivation de RUNX1 en culture de cellules S2, un facteur essentiel à l'hématopoïèse (*Kitabayashi et al., 2001a*; *Bristow and Shore., 2003*).

De façon remarquable, il existe des différences de phénotypes entre des souris complètement dépourvues de MOZ (*Katsumoto et al., 2006*) et celles dont l'activité KAT de MOZ a été spécifiquement abolie (*Perez-Campo et al. 2009*). La perte des deux allèles de MOZ (MOZ^{-/-})



Figure 10 : Le complexe d'acétylation ING5 est conservé entre les mammifères et la Drosophile

(A) Représentation schématique de l'assemblage du complexe d'acétylation ING5, composé de MOZ et des sousunités régulatrices BRPF1 (Bromodomain PHD Finger Protein 1), ING5 (Inhibitor of Growth 5) et hEAF6 (human Esa1 associated factor 6 homolog) (Ullah et al., 2008). Une petite portion du domaine MYST de MOZ (représenté par le carré rouge) se lie au domaine N-terminal de BRPF1. La région M de BRPF1 se lie aux domaines structuraux d'ING5 et de hEAF6 pour former un complexe trimérique. MOZ se lie à ce complexe trimérique pour former le complexe d'acétylation. Les domaines représentés sont les suivants : Plant homeo-domaine (PHD) ; Domaine Nterminal d'Enok, MOZ ou MORF (NEMM) ; Région enrichie en sérine/méthionine (SM) ; proline, glutamine (P) ; Région acidique (Acidic) ; domaine structural MYST partagé par tous les membres de la famille et porteur de l'activité acétyltransférase (MYST); motif riche en cystéine/histidine (CH); domaine d'interaction avec le chromodomaine (Chromo); domaine riche en sérine (Ser), région N-terminale conservée de BRPF1/2/3 (BN1/BN2); N-terminal du domaine d'homologie Epc (I); C-terminal du domaine d'homologie Epc (M); domaine en doigt de zinc (Zn); bromodomaine (Bromo); domaine structural contenant un motif proline-tryptophanetryptophane-proline (PWWP); domaine N-terminal ING (ING) ; glicière à leucine (LZ, leucine zipper). (B) Architecture du complexe d'acétylation ING5 chez l'Homme, composé des sous-unité ING5, BRPF1 et hEAF6 et de la sous-unité catalytique MOZ, capable d'acétyler les lysine 9, 14 et 23 de l'histone H3 (H3K9ac, H3K14ac, H3K23ac) (Voss et al. 2009 ; Lv et al., 2017). Le double domaine PHD de MOZ joue le rôle de reader épigénétique et permettent la reconnaissance des résidus acétylés H3K9 et H3K14. Les domaines PHD de BRPF1 reconnaissant les résidus d'histone non modifiés ; le domaine PHD d'ING5 reconnait les marques de triméthylations de la lysine 4 de l'histone H3 (H3K14me3). (C) Architecture du complexe d'acétylation Ing5 chez la Drosophile, composés de Br140, ing5, Eaf5 et Enok, les orthologues de BRPF1, ING5, hEAF6 et MOZ respectivement. Comme MOZ, Enok acétyle la lysine 23 de l'histone H3 (H3K23).

entraine une létalité embryonnaire et la perte d'un seul des deux allèles (MOZ^{-/+}) entraine un défaut de maintien des CSHs. De façon surprenante, la perte de l'activité catalytique de MOZ entraine seulement une réduction de la prolifération des progéniteurs, et n'affecte ni le maintien des CSHs, ni la différenciation des lignées myéloïdes et lymphoïdes. Ces observations soutiennent fortement l'hypothèse que MOZ aurait d'autres fonctions indépendantes de son activité KAT au cours du développement hématopoïétique. Ceci rappelle le cas de l'histone méthyltransférase MLL, qui est requis au cours de l'hématopoïèse et de la leucémogénèse, indépendamment de son activité méthyltransférase (*Mishra et al., 2014*)

D. MOZ est la sous-unité catalytique du complexe d'acétylation ING5

MOZ exerce son activité catalytique au sein du complexe d'acétylation ING5, un complexe tétramérique qui contient également les sous-unités régulatrices BRPF1 (Bromodomain PHD Finger Protein 1), ING5 (Inhibitor of Growth 5) et hEAF6 (human Esa1 associated factor 6 homolog) (*Ullah et al., 2008*) (Figure10A,B). *In vitro*, MOZ seul est capable d'acétyler H3, H4, H2A et H2B (*Champagne et al., 2001 ; Holbert et al., 2007 ; Kitabayashi et al., 2001a ; Laue et al., 2008 ; Ullah et al., 2008 ; Voss et al., 2009*). Toutefois son interaction avec les sous-unités régulatrices du complexe d'acétylation ING5 restreint son activité à certains résidus (*Champagne et al., 2001 ; Carlson and Glass., 2014*). Ainsi, MOZ est capable d'acétyler in vivo les résidus lysines 9, 14 et 23 des histones H3 (H3K9, H3K14, H3K23) (*Voss et al.2009 ; Lv et al., 2017*), suggérant un rôle essentiel des autres sous-unités du complexe ING5 dans la définition du répertoire d'acétylation de MOZ *in vivo*. Finalement, chaque sous-unité contient un domaine « reader » qui reconnait des modifications spécifiques au niveau des histones. MOZ, du fait de sa capacité à acétyler est un « writer » épigénétique, et possède en plus des domaines « readers », alors que BRPF1, ING5 et EAF6 sont tous trois des « readers », qui possèdes des domaines spécialisés dans cette fonction.

a. Le facteur Bromodomain PHD Finger Protein 1 (BRPF1)

La formation de ce complexe tétramérique se fait au travers de BRPF1, qui agit comme plateforme d'assemblage pour recruter MOZ, ING5 et hEAF6 (*Saksouk et al., 2009*) (Figure 10A). En effet, le domaine BN2 de BRPF1 se lie à une partie du domaine MYST de MOZ, et son domaine structural M se lie à ING5 et hEAF6 (*Ullah et al., 2008*). BRPF1 contient de multiples domaines

« readers », dont un domaine PZP (double PHD and zinc finger assembly) qui reconnait les résidus d'histone H3 non modifiés et qui peut se lier à l'ADN (*Qin et al., 2011 ; Liu et al., 2012*), un bromodomaine qui reconnait des résidus H3 et H4 modifiés tel que H3K14ac (un substrat acétylé par MOZ) ou H4K5ac (*Poplawski et al., 2013*) et un domaine PWWP (proline-tryptophane-tryptophane-proline), nécessaire pour la liaison à la chromatine condensée et qui reconnait des marques de triméthylations de la lysine 26 de l'histone H3 (H3K26me3) (*Laue et al., 2008; Vezzoli et al., 2010*). En conséquence, BRPF1 participe vraisemblablement grâce à ses domaines « readers » à l'établissement du répertoire d'acétylation de MOZ.

En cohérence avec leur appartenance commune au complexe ING5, BRPF1 et MOZ partagent des fonctions communes. En effet, des études sur des souris mutantes déficientes pour BRPF1 ont montré qu'à l'instar de la perte de fonction MOZ, la perte de fonction de BRPF1 entraine une létalité chez les embryons de souris, accompagnée d'un déficit sévère en CSPHs dans la moelle osseuse et le foie fœtal (*You et al., 2016*), démontrant ainsi le rôle de BRPF1 dans la formation et le maintien des CSPHs. De plus, comme MOZ, BRPF1 participe à l'expression des gènes Hox chez le poisson-zèbre (*Miller et al., 2004 ; Hibiya et al., 2009 ; Laue et al., 2010*) et chez les mammifères (*You et al., 2016*). Miller *et al.* ont également montré que BRPF1 est requis pour l'acétylation de nombreux résidus de l'histone H3, dont H3K9, H3K14 et H3K23.

b. Le facteur Inhibitor of Growth 5 (ING5)

ING5 est également nécessaire à l'activité KAT de MOZ, et sa présence dans le complexe tétramérique résulte en l'acétylation préférentielle de résidus d'histones déjà porteurs de marque de triméthylation H3K4 (H3K4me3). En effet, BRPF1 possède un domaine PHD C-terminal capable de reconnaitre et de se lier à H3K4me3 (*Champagne et al., 2008 ; Ullah et al., 2008*). ING5 se lie à BRPF1 via son domaine structural N-terminal et Ullah *et al.* ont montré que la liaison d'ING5 à BRPF1 facilitait la liaison de ce dernier à hEAF6.

c. Le facteur human Esa Associated Factor 6 (hEAF6)

hEAF6 est la sous-unité la moins caractérisée du complexe ING5. Au niveau structural, son seul domaine reconnaissable est un domaine LZ (leucine zipper) N-terminal. La seule fonction décrite pour hEAF6 est de promouvoir la localisation nucléaire de BRPF1 (*Su et al., 2021*).

Différentes études ont permis de montrer que l'activité de MOZ était régulée par la présence, et/ou l'absence de diverses modifications d'histones, reconnues par MOZ lui-même ou par les différents membres du complexe ING5. Par exemple, le recrutement de MOZ a été associé à la présence de H3K4me3 et H3K36me3, deux marques de gènes actifs transcriptionnellement. Au contraire, son recrutement est antagonisé par la présence de H3R2me2 (*Qiu et al., 2012*). Comme les fusions de MOZ avec CBP, p300 ou TIF2 n'empêchent pas l'interaction de MOZ avec son partenaire BRPF1 ou avec le complexe ING5, il est possible que la reconnaissance des marques épigénétiques par BRPF1 et ING5 contribue à l'acétylation aberrante du répertoire de MOZ et participe ainsi à la transformation leucémique (*Yang and Ullah, 2007, Su et al., 2021*).

La famille MYST est remarquablement conservée au cours de l'évolution. Chez la Drosophile, on retrouve les membres : Enok, Chameau, MOF et dTIP60, les orthologues de MOZ/MORF, HBO1, MOF et TIP60 respectivement (Figure 9B) et on peut facilement noter la forte conservation structurale entre les deux espèces. De plus, le complexe d'acétylation ING5 est également remarquablement conservé et on retrouve chez la Drosophile des orthologues de chacun des membres de ce complexe (Enok, Br140, Ing5 et Eaf6) (Figure 10C). Dans le prochain chapitre, je décrirai en particulier l'orthologue de MOZ/MORF chez la Drosophile et ses fonctions décrites.

E. enoki mushroom, l'orthologue de MOZ/MORF chez la Drosophile

a. Les différentes fonctions d'enoki mushroom chez la Drosophile

enoki mushroom (Enok) est l'homologue chez la Drosophile de MOZ/MORF. Comme MOZ, Enok contient un domaine MYST, un double domaine PHD et un domaine NEMM (N-terminal Enok, MOZ and MORF) (Figure 9B), mais la fonction de ces domaines chez la Drosophile n'a pas été caractérisée.

• Enok est requis pour la prolifération des progéniteurs neuraux

enok a été identifié pour la première fois en 2001 par Scott *et al.* au cours d'une mutagenèse EMS (Ethyl Methane Sulfonate) qui a permis d'isoler deux allèles mutants : *enok*¹ et *enok*². *enok*¹ correspond à la transformation d'un codon tryptophane en codon stop au tout début du domaine MYST et conduit à la formation d'une protéine tronquée, tandis qu'*enok*² correspond au à une mutation ponctuelle d'une cystéine conservée du doigt de zinc C2HC situé en N-terminal du domaine MYST. À l'état homozygote, ces deux allèles induisent un retard de développement pendant les stades larvaires qui s'accompagne d'une létalité pupale (*Scott et al., 2001*).

La caractérisation de ces mutations ponctuelles au niveau du domaine MYST d'Enok a montré qu'Enok est requis pour la prolifération des progéniteurs neuraux dans les corps pédonculés, les centres de la mémoire olfactive chez la Drosophile (*Scott et al., 2001*). La morphologie de ces structures chez les mutants *enok* rappelle la forme des champignons Enoki (enoki mushroom en anglais), ce qui lui a valu son nom. Cette fonction dans les progéniteurs neuraux s'apparente à celle de MOZ décrite par Perez-Campo *et al.* en 2014 dans la régulation de la prolifération des progéniteurs neuraux chez la souris. Scott *et al.* suggèrent en outre un rôle d'Enok dans la lignée germinale ; cette hypothèse s'appuie sur l'observation de la diminution progressive du nombre d'œufs déposés par des femelles dont la lignée germinale et mutante pour *enok* (clones germinaux). Ainsi, Enok jouerait un rôle dans la division des cellules de la lignée germinale. Les auteurs notent cependant que ce phénotype est moins drastique que celui induit dans les progéniteurs neuraux.

Enok a une fonction dans le maintien des cellules souches germinales

Par la suite, une fonction d'Enok dans le maintien des cellules souches germinales **a** été décrite (*Xin et al., 2013*). Grâce à des pertes de fonction spécifiques d'Enok par interférence à l'ARN (ARNi), les auteurs ont montré qu'Enok assure le maintien de la lignée souche germinale de manière autonome cellulaire en régulant négativement l'expression du facteur Bruno. En effet, la surexpression de Bruno résultant de la perte de fonction d'Enok favorise la différenciation des cellules souches germinales. En parallèle, en affectant l'expression d'*enok* spécifiquement dans les cellules de la niche, les auteurs ont montré qu'Enok exerce une fonction cellulaire non-autonome de régulation de la voie de signalisation Notch au niveau du microenvironnement des cellules germinales, ce qui permet l'envoi d'un signal de type BMP aux cellules souches germinales afin de les maintenir à l'état indifférencié.

Enok acétyle H3K23 in vitro et in vivo

Le lien direct entre Enok et l'acétylation a été établi par Huang *et al.* en 2014. Les auteurs ont d'abord montré qu'*enok* est requis pour l'acétylation H2K23 en culture de cellules S2, mais aussi *in vivo*. En effet, la perte de fonction d'*enok* dans des embryons mutants ou dans des clones de cellules mutantes au sein de la membrane péripodiale de disque d'œil induit une diminution quasi-totale du signal H3K23 acétylé (H3K23ac), montrant qu'*enok* est requis pour l'acétylation de ce résidu d'histone (*Huang et al., 2014*), à l'instar de MOZ, qui acétyle ce même résidu dans les cellules de glioblastome (*Lv et al., 2017*). De plus, les auteurs montrent dans cette étude qu'Enok est suffisant pour acétyler H3K23 *in vitro*. De plus, les auteurs mettent en évidence qu'*enok* est requis pour l'expression de *spir* et *mael*, deux gènes impliqués dans la polarisation de l'oocyte, et qu'Enok est fixé sur les promoteurs de ces deux gènes. Enfin ils observent que l'acétylation du résidu H3K23 au niveau de ces promoteurs est perdue lorsqu'*enok* est downrégulé.

L'acétylation par Enok dépend de la présence du complexe ING5

Une seconde étude par Huang *et al.* en 2016 en culture cellulaire montre qu'Enok favorise la transition G1/S en se liant au facteur Elg1, facilitant ainsi le positionnement de PCNA (Proliferating Cell Nuclear Antigen), une protéine qui favorise la processivité des polymérases sur la chromatine (*Huang et al., 2016*). Cette liaison avec Elg1 promeut donc l'avancée dans le cycle cellulaire et, de ce fait, la prolifération.

Cette étude a également permis de mettre en avant l'interaction physique et fonctionnelle d'Enok avec ses partenaires Br140, Ing5 et Eaf6, les homologues respectifs de BRPF1, ING5 et hEAF6 (Figure 10C). De plus, la baisse de l'expression de chacun des membres de ce complexe d'acétylation par interférence à l'ARN en culture de cellule S2 induit une diminution de l'acétylation de H3K23, démontrant l'importance du complexe d'acétylation ING5 pour l'activité catalytique d'Enok.

Enok interagit avec d'autres remodeleurs chromatiniens

En plus d'interagir avec les membres du complexe ING5, Enok interagit physiquement avec le remodeleur chromatinien Polycomb (Pc), ainsi que le révèle une analyse en spectrométrie de masse après immunoprécipitation de Pc (*Strübbe et al., 2011*). De façon intéressante Br140 est également co-immunoprécipité avec Pc. Plus récemment, une étude a mis en évidence qu'Enok et Br140 colocalisent avec Pc sur la chromatine et que cette colocalisation est conservée chez l'Homme (*Kang et al., 2017*). Les auteurs proposent qu'un « méga-complexe » MOZ/BRPF/Pc contribuerait à réguler l'expression d'un sous-ensemble de gènes cibles de Pc, tant positivement que négativement, en fonction des partenaires qu'il recruterait en réponse à différents signaux développementaux. Remarquablement, le sous-répertoire commun à Enok/Br140 et Pc dans cette étude ne présente pas d'enrichissement particulier de l'acétylation du résidu H3K23, seul substrat connu pour être acétylé par Enok chez la Drosophile (*Huang et al., 2014, 2016*). Finalement, une autre étude montre qu'*enok* interagit avec *trithorax* (*trx*) pour promouvoir la transcription, en antagonisant la fixation de Pc sur certains gènes-cibles corégulés par Enok et Trx, comme les gènes *pannier (pnr)* ou *pointed (pnt)* (*Umer et al., 2019*).

b. Enok dans l'hématopoïèse Drosophile

Des travaux récents dans l'équipe suggèrent qu'Enok se lie à une région cis-régulatrice du gène *lozenge* afin d'en promouvoir l'expression dans les précurseurs de cellules à cristaux en circulation chez la larve de Drosophile. Cette fonction d'Enok requiert son partenaire Br140, mais, de façon remarquable, est indépendante de sa propre activité acétyltransférase ainsi que des sousunités Eaf6 et Ing5 du complexe d'acétylation ING5 (*Genais et al., bioRxiv 2020*).

Je me suis attachée au cours de ma thèse à caractériser les fonctions et modes d'action d'Enok dans l'hématopoïèse de la glande lymphatique.

RÉSULTATS



Figure 11: *enok* contrôle l'homéostasie hématopoïétique de la glande lymphatique. (A) Quantification du pourcentage de lobes antérieurs rompus au stade L3. (B,D) Vues en microscopie confocale (stacks en Z) de lobes antérieurs de glandes lymphatiques au stade L2. Les noyaux sont marqués au DAPI (en bleu). (B) Immunomarquage de Collier en vert (panel du haut) et en blanc (panel du bas). (C) Quantification de la proportion de progéniteurs core au stade L2. (D) Immunomarquages Hnt en Vert (panel du haut, cellules à cristaux), P1 en vert (panel du milieu, plasmatocytes), et de la β -Intégrine en rouge (panel du bas) qui est exprimée dans les lamellocytes. (E) Quantification de la proportion de cellules à cristaux au stade L2. (F) Quantification de la proportion de plasmatocytes au stade L2. Les étoiles indiquent la valeur statistique associée à chaque échantillon en comparaison de la situation contrôle ; * : $p \le 0,0500 / *** : p \le 0,0010 / **** : p \le 0,0001$.

I. Effets de la perte de fonction d'enok sur la glande lymphatique

A. enok contrôle l'homéostasie hématopoïétique dans la glande lymphatique

Dans un premier temps, j'ai entrepris de caractériser l'effet de la perte de fonction d'*enok* sur l'homéostasie de la glande lymphatique. Pour cela, j'ai utilisé deux allèles mutants d'*enok* : *enok¹ et enok^{Q253}*, qui donnent naissance à des protéines tronquées dépourvues de la quasi-totalité de leur domaine MYST et de toute la partie C-terminale de la protéine, ainsi que d'une déficience (*Df(2R)BSC*₁₅₅) qui découvre le locus *enok* (*Scott et al., 2001 ; Berger et al., 2008 ; Cook et al., 2012*). J'ai analysé la condition hémizygote *enok*¹/*Df*(*2R*)*BSC*₁₅₅ et la combinaison allélique *enok*¹/*enok*^{Q253}. À l'instar de ce qui avait été décrit par Scott *et al.* en 2001, j'ai observé que dans ces deux contextes génétiques, les larves mutantes pour *enok* présentent un retard de développement de près de 24h pour atteindre le 3^{ème} stade larvaire L3, ainsi qu'une létalité au stade pupal.

J'ai ensuite analysé les glandes lymphatiques de larves contrôles et mutantes pour *enok*. Dès le début du stade L3, près de 70% des glandes lymphatiques de larves mutantes *enok*¹/*Df*(2*R*)*BSC*₁₅₅ ou *enok*¹/*enok*^{Q253} ont éclaté, contre 5% seulement pour la condition contrôle (Figure 11A). Les glandes lymphatiques ne sont supposées éclater qu'à la fin du stade L3, après le pic d'ecdysone (*Sorrentino et al., 2002*) ou suite à la production massive de lamellocytes en réponse à un stress immun (*Krezmien et al, 2007 ; Benmimoun et al, 2015*). La rupture des glandes lymphatiques observée prévenant leur analyse au stade L3, j'ai analysé des glandes lymphatiques de larves plus jeunes, soit à la fin du 2^{ème} stade larvaire L2.

J'ai tout d'abord réalisé des immuno-marquages révélant l'expression du marqueur de progéniteurs et de cellules du PSC Collier (Col). Dans une larve contrôle de stade L2, on détecte une expression forte de Col dans les cellules PSC et plus faible dans les progéniteurs core de la zone médullaire (Figure 11B,C). Si le PSC ne semble pas affecté dans les deux conditions perte de fonction d'*enok*, le marquage Col des lobes antérieurs est en revanche fortement réduit. (Figure 11B,C). Nous avons également réalisé des expériences d'hybridation *in situ* avec une sonde dirigée contre un second marqueur de progéniteurs, *tep4*, et avons montré la diminution du marquage tep4 en condition perte de fonction d'*enok* (V. Gobert, communication personnelle). Ainsi, *enok* est requis pour assurer le maintien des progéniteurs core.

J'ai ensuite réalisé des immuno-marquages révélant l'expression des protéines Hindsight (Hnt) et P1, marqueurs de cellules à cristaux et de plasmatocytes différenciés, respectivement. Ces marquages révèlent la présence de cellules à cristaux et de plasmatocytes dans les deux contextes perte de fonction d'*enok* en comparaison de la condition contrôle (Figure 11D-F). Ces cellules différenciées n'apparaissent normalement qu'à partir du milieu du stade L3 en condition normale. Ainsi, *enok* est requis pour prévenir la différenciation prématurée des hémocytes dans la glande lymphatique de Drosophile.

Finalement, j'ai réalisé un immuno-marquage révélant l'expression de la β -Intégrine, dont l'expression est fortement augmentée dans les lamellocytes, le troisième type d'hémocytes différenciés de la Drosophile. Alors qu'on ne détecte pas d'expression de la β -Intégrine en condition contrôle, elle est très fortement exprimée dans des cellules ayant une morphologie typique de lamellocytes chez les mutants perte de fonction d'*enok* (Figure 11D). Ceci montre donc qu'*enok* est requis pour prévenir la formation inappropriée de lamellocytes dans la glande lymphatique.

On remarque par ailleurs que tous les phénotypes décrits semblent légèrement moins prononcés dans la combinaison allélique $enok^{1}/enok^{Q253}$ que dans la condition hémizygote $enok^{1}/Df(2R)BSC_{155}$, ce qui suggère que l'allèle $enok^{Q253}$ est hypomorphe.

En conclusion, la perte de fonction d'*enok* induit un défaut de maintien des progéniteurs hématopoïétiques concomitant avec une différenciation précoce et l'apparition de nombreux lamellocytes. Ce défaut se manifeste dès le stade L2 et culmine au stade L3 avec la rupture prématurée de la glande lymphatique. Dans leur ensemble, mes résultats démontrent qu'*enok* est requis pour réguler l'homéostasie hématopoïétique dans la glande lymphatique.



Figure 12 : La fonction KAT d'Enok n'est pas requise pour le maintien des progéniteurs et l'inhibition de la différenciation des hémocytes. (A) Quantification de l'intensité du marquage H3K23ac sur des cellules en circulation au stade L3. (B) Quantification du pourcentage de lobes antérieurs rompus au stade L3. (C,E) Vues en microscopie confocale (stacks en Z) de lobes antérieurs de glandes lymphatiques au stade L3. Les noyaux sont marqués au DAPI (en bleu). (C) Immunomarquage de Collier en vert (panel du haut) et en blanc (panel du bas). (D) Quantification de la proportion de progéniteurs core au stade L3. (E) Immunomarquage Hnt (en rouge, cellules à cristaux). (F) Quantification de la proportion de cellules à cristaux au stade L3. (G) Pourcentage de lobes antérieurs contenant au moins un lamellocyte (marqué avec la β -intégrine) au stade L3. Les étoiles indiquent la valeur statistique associée à chaque échantillon en comparaison du contexte $Df(2R)BSC_{155}/+$; ns : non significatif / *** ; p≤0,0010 / **** : p≤0,0001.

B. L'activité acétyltransférase d'Enok n'est pas requise dans la glande lymphatique

Enok est une lysine acétyltransférase (KAT) et contient un domaine catalytique MYST capable d'acétyler la lysine H3K23 *in vivo*. J'ai cherché à savoir si les fonctions d'Enok dans la glande lymphatique sont dépendantes ou non de son activité KAT. J'ai donc utilisé l'allèle *enok*^{KAT} généré dans l'équipe par la technique CRISPR-Cas9 (*Genais et al., bioRxiv 2020*), dans lequel une lysine essentielle à l'activité catalytique est substituée par une arginine, ce qui abolit l'activité KAT d'Enok (Figure 12A). De façon remarquable, contrairement aux mutants *enok*¹/*Df*(*2R*)*BSC*₁₅₅ ou *enok*¹/*enok*^{Q253}, les mutants enok^{KAT}/*Df*(*2R*)*BSC*₁₅₅ ne présentent ni retard de développement, ni létalité pupale, et les individus formés ont une morphologie normale. En revanche, mâles et femelles présentent une stérilité au stade adulte.

Contrairement aux conditions mutantes analysées précédemment qui abolissent toutes les fonctions d'Enok, les glandes lymphatiques de mutants spécifiquement dépourvus d'activité KAT, *enok^{KAT}/Df*, ne rompent pas de façon prématurée (Figure 12B). Ainsi, au stade L3, les lobes antérieurs sont présents et peuvent être analysés. Le marquage immunofluorescent de la protéine Col montre qu'enlever une copie d'*enok* (+/*Df*(2*R*)*BSC*₁₅₅) affecte très légèrement le maintien des progéniteurs core en comparaison de la condition contrôle (*w*), mais le fait d'abolir sa fonction KAT (*enok^{KAT}/Df*(2*R*)*BSC*₁₅₅) n'aggrave pas cet effet (Figure 12C,D). Des résultats similaires sont obtenus lorsque l'on examine la différenciation des cellules à cristaux Hnt⁺ : on observe une différenciation accrue par rapport au contrôle en condition +/*Df*(2*R*)*BSC*₁₅₅, mais pas d'aggravation phénotypique lorsque l'activité catalytique d'Enok est abolie (*enok^{KAT}/Df*(2*R*)*BSC*₁₅₅ (Figure 12E,F). Finalement, l'analyse d'un marquage immunofluorescent de la β-intégrine révèle une apparition modeste de lamellocytes dans la condition +/*Df*(2*R*)*BSC*₁₅₅ en comparaison de la condition contrôle (*w*), mais sans aggravation phénotypique par la perte de la fonction KAT (*enok^{KAT}/Df*(2*R*)*BSC*₁₅₅) (Figure 12E,F). (Figure 12C,D).

Mon analyse révèle donc que la dose d'Enok est importante pour contrôler l'homéostasie de la glande lymphatique, puisque le maintien des progéniteurs core, la différenciation des cellules à cristaux, ainsi que la formation de lamellocytes en absence de parasitisme sont affectés en condition *+/Df*. Toutefois, et de façon remarquable, sa fonction dans le contrôle de l'homéostasie de la glande lymphatique est indépendante de son activité KAT.

C. *enok* est exprimé et requis dans la glande lymphatique pour contrôler l'hématopoïèse larvaire

Étant donnés les phénotypes induits dans la glande lymphatique par la perte de fonction d'*enok*, je me suis demandée s'il était requis directement dans la glande lymphatique. J'ai donc dans un premier temps établi le patron d'expression d'*enok* et vérifié qu'il était exprimé dans la glande lymphatique, avant d'y induire spécifiquement sa perte de fonction par interférence à l'ARN (ARNi) grâce au système d'expression conditionnelle UAS/Gal4 (*Brandt et Perrimon, 1993*).

• Établissement du patron d'expression d'enok.

J'ai généré une lignée de Drosophile permettant l'expression d'une protéine Enok étiquetée en N-terminal par le tag 3HA : j'ai introduit trois répétitions de la séquence codant le peptide HA (hémagglutinine) à la place du codon initiateur de la traduction de la protéine endogène, grâce à la technique d'édition du génome CRISPR-Cas9. Les Drosophiles de cette lignée sont viables, fertiles et ne présentent aucun défaut morphologique ou hématopoïétique à l'état homozygote. Un immuno-marquage à l'aide d'un anticorps reconnaissant le peptide HA montre un marquage nucléaire uniforme dans tous les tissus testés, c'est à dire les disques imaginaux d'aile, le corps gras, les hémocytes en circulation, ainsi que dans les lobes antérieurs et postérieurs de la glande lymphatique (Figure 13A-E).

J'ai ensuite dirigé l'expression d'un ARNi ciblant *enok* spécifiquement dans les cellules de la glande lymphatique grâce à la lignée *domeMeso-Gal4, UAS-2EYFP*. L'expression pilotée par *domeMeso-Gal4* est mosaïque dans les lobes postérieurs de la glande lymphatique, comme le montre l'expression de la YFP (Figure 13E), et les cellules exprimant la YFP expriment également les différents ARNi utilisés. Un marquage immunofluorescent du peptide HA montre que, lorsque la lignée *domeMeso-Gal4, UAS-2EYFP* pilote l'expression d'un ARNi dirigé contre *enok*, le marquage HA est fortement réduit dans les cellules YFP⁺ en comparaison des cellules YFP⁻ des lobes postérieurs de la glande lymphatique (Figure 13E).



Figure 13 : Patron d'expression d'*enok.* (A-D) Immunomarquage HA qui révèle l'expression de la protéine tagguée 3HA-Enok au stade L3 dans les lobes antérieurs et postérieurs de la glande lymphatique (A), le disque d'aile (B), le corps gras (C), les hémocytes circulants (D). (E) La lignée pilote *domeMeso-Gal4* permet l'expression d'un transgène *UAS-2EYFP* et de l'*ARNi-enok* de façon mosaïque dans les lobes secondaires de la glande lymphatique. Le marquage HA est spécifiquement aboli dans les cellules YFP⁺ (lignes pointillées) dans lesquelles la lignée *domeMeso-Gal4* dirige l'expression de la YFP et d'un *ARNi-enok* simultanément.



Figure 14 : *enok* est requis dans la glande lymphatique pour en contrôler l'homéostasie. (A) Vues en microscopie confocale (stacks en Z) de lobes antérieurs de glandes lymphatiques au stade L3. Les noyaux sont marqués au DAPI (en bleu). Immunomarquage de Collier en rouge (panel du haut) et en blanc (panel du bas). La GFP (en vert) est exprimée dans le domaine *domeMeso-Gal4*. (B) Pourcentage de lobes antérieurs contenant au moins un lamellocyte (identifié par immuno-marquage avec αPS4) au stade L3.

En revanche l'intensité du marquage HA est identique dans les cellules YFP⁺ ou YFP⁻ si l'ARNi utilisé cible la Luciférase, un gène de luciole qui n'est pas exprimé chez la Drosophile (Figure 13E). Le marquage HA est donc spécifique de la protéine 3HA-Enok et l'ARNi dirigé contre *enok* réduit efficacement l'expression de cette dernière.

• Effet de la perte de fonction d'enok dans la glande lymphatique

J'ai par la suite analysé les phénotypes associés à la perte de fonction d'*enok* restreinte à la glande lymphatique grâce à la lignée pilote *domeMeso-Gal4* et à une approche ARNi. Les individus *domeMeso-Gal4, UAS-2EGFP ; UAS-ARNi-enok1* présentent un phénotype similaire à celui des mutants *enok*¹/*Df*(*2R*)*BSC*₁₅₅ et *enok*¹/*enok*^{Q253}, c'est-à-dire un défaut de maintien des progéniteurs Col⁺ d'une part (Figure 14A), et une différenciation anormale de lamellocytes révélée par un immuno-marquage α PS4, un second marqueur très fortement augmenté dans ce type cellulaire, d'autre part (Figure 14B). On remarque toutefois que ce dernier phénotype (apparition de lamellocytes) est moins affirmé dans le contexte ARNi que dans les contextes mutants. Cette différence d'intensité de phénotype peut s'expliquer par le fait que la perte de fonction engendrée par l'*ARNi-enok* est moins prononcée que celle causée par les allèles mutants d'*enok*, ou alors au fait que le traitement à l'ARNi ne permet une perte de fonction d'*enok* que localisée et seulement à partir du milieu du premier stade larvaire L1, alors que le mutant est dépourvu de protéine Enok fonctionnelle dès le début de l'embryogenèse et dans tout l'organisme.

Dans leur ensemble, mes résultats montrent que la glande lymphatique est un site d'expression d'*enok* au sein duquel la fonction d'*enok* est requise afin d'assurer le maintien de l'homéostasie hématopoïétique. La lignée pilote *domeMeso-Gal4* permet de diriger la perte de fonction d'*enok* à la fois dans les progéniteurs au cours des stades L2 et L3 et de façon transitoire dans près d'un tiers des cellules du PSC au stade L2 (N. Vanzo, M. Crozatier, communication personnelle). J'ai donc cherché à établir si la fonction d'*enok* était requise dans l'un, dans l'autre ou dans les deux territoires de la glande lymphatique. A cette fin, j'ai conduit une analyse différentielle des phénotypes induits par la perte de fonction d'*enok* spécifiquement dans les cellules du PSC ou dans la zone médullaire.


Figure 15 : *enok* est requis dans les cellules du PSC pour prévenir la formation aberrante de lamellocytes dans la glande lymphatique. (A,C) Vues en microscopie confocale (stacks en Z) de lobes antérieurs de glandes lymphatiques au stade L3. Les noyaux sont marqués au DAPI (en bleu). La GFP (en vert) est exprimée dans le domaine *pCol85-Gal4* (PSC). (A) Immunomarquage de Collier en rouge (panel du haut) et en blanc (panel du bas). (B) Quantification de la proportion de progéniteurs core au stade L3. (C) Immunomarquage α PS4 (en rouge, lamellocytes). Les flèches blanches indiquent les lamellocytes. (D) Pourcentage de lobes antérieurs contenant au moins un lamellocyte (marqué avec α PS4) au stade L3. ns : non significatif.

D. Enok exerce une fonction indépendante de son activité KAT dans le PSC pour prévenir la formation de lamellocytes dans la glande lymphatique

La lignée *pCol85-Gal4* permet de diriger l'expression dans les cellules du PSC (*Crozatier et al., 2004*), mais pas dans les progéniteurs core exprimant faiblement Col endogène dans la zone médullaire. J'ai donc tiré parti de cette lignée pilote pour interférer avec l'expression d'*enok* spécifiquement dans les cellules du PSC. Dans ce contexte, la proportion de progéniteurs core Col⁺ ne varie pas par rapport au contrôle (Figure 15A,B), indiquant que le maintien des progéniteurs core ne requiert pas la fonction d'*enok* dans les cellules du PSC. Ce résultat est par ailleurs en accord avec l'observation que l'ablation des cellules du PSC, grâce à l'expression du gène proapoptotique *reaper* dans ces dernières, n'affecte pas de façon drastique le maintien des progéniteurs core (*Benmimoun et al., 2015a ; Oyallon et al., 2016*).

Si la perte de fonction d'*enok* dans les cellules du PSC n'affecte pas sensiblement le maintien des progéniteurs Col⁺, elle s'accompagne toutefois d'une formation de lamellocytes α PS4⁺ en absence de parasitisme qui n'est pas observée en condition contrôle (Figure 15C,D) et ce, dans des proportions similaires à celle observée avec la lignée pilote *domeMeso-Gal4* (Figures 14B et 15D). Ce phénotype est en accord avec la fonction décrite pour les cellules du PSC dans la réponse au parasitisme, au cours de laquelle le PSC est requis pour la différenciation des lamellocytes (*Krezmien et al, 2007 ; Benmimoun et al, 2015*). J'ai par ailleurs observé que la majeure partie des lamellocytes formés dans ce contexte est localisée à proximité du PSC (Figure 15C). Il est tentant de spéculer que c'est la population de progéniteurs PH1 décrite par Cho *et al.*, dépendante des cellules du PSC pour assurer leur maintien, qui serait instruite à se différencier en lamellocytes. Toutefois cette hypothèse ne pourra être testée qu'en examinant le comportement du rapporteur *Stat92E::edGFP*, marqueur de la population PH1 (*Cho et al., 2020*) lorsque la perte de fonction d'*enok* est pilotée par la lignée *pCol85-Gal4*. Aussi, les cellules du PSC, dépourvues de la fonction d'*enok* pourraient instruire de façon inappropriée les progéniteurs venant à peine d'initier le processus de différenciation dans la zone intermédiaire à acquérir une identité lamellocyte.

Ces observations, ainsi que mes observations précédentes (analyse des mutants dépourvus d'activité KAT uniquement), montrent qu'Enok exerce dans les cellules du PSC une fonction indépendante de son activité KAT afin d'empêcher la formation inappropriée de lamellocytes.



Figure 16 : *enok* est requis dans les progéniteurs de la glande lymphatique pour assurer leur maintien. (A,B,G,H) Vues en microscopie confocale (stacks en Z) de lobes antérieurs de glandes lymphatiques au stade L3. Les noyaux sont marqués au DAPI (en bleu). La GFP (en vert) est exprimée dans le domaine $dome^{PG125}$ -Gal4. (A,G) Immunomarquage de Collier en rouge (panel du haut) et en blanc (panel du bas). (C,I) Quantifications de la proportion de progéniteurs core au stade L3. (D) Quantification de la proportion de progéniteurs GFP⁺ au stade L3. (B) Immunomarquage Hnt en rouge (panel du haut, cellules à cristaux) et P1 en rouge (panel du bas, plasmatocytes). (H) Immunomarquage Hnt en rouge (cellules à cristaux). (E,J) Quantifications de la proportion de cellules à cristaux au stade L3. (F) Quantification de la proportion de plasmatocytes au stade L3. (K) Pourcentage de lobes antérieurs contenant au moins un lamellocyte (marqué avec la β -intégrine) au stade L3. Les étoiles indiquent la valeur statistique associée à chaque échantillon en comparaison de la situation contrôle ; ** : p≤0,0100 / **** : p≤0,0001 / **** : p≤0,0001.

E. enok est requis dans la zone médullaire pour assurer le maintien des progéniteurs core

En parallèle, la lignée dome^{PG125}-Gal4 ; UAS-mCD8-GFP (Bourbon et al., 2002) m'a permis de diriger l'expression de la GFP et de deux ARNi ciblant enok spécifiquement dans les progéniteurs de la zone médullaire (qui expriment aussi la GFP). Cette condition entraine une diminution drastique de la proportion de progéniteurs core Col⁺ (Figure 14A,C,G,I) et de la proportion de cellules GFP⁺ (Figure 16A,B,D,G,H). Cette perte des progéniteurs s'accompagne d'une augmentation de la différenciation de cellules à cristaux Hnt⁺ (Figure 16B,E,H,J) et de plasmatocytes P1⁺ (Figure 16B,F). On remarque l'apparition de quelques rares lamellocytes en condition perte de fonction d'enok dans les progéniteurs (Figure 16K). Toutefois, la proportion de lobes affectés est bien moindre que lorsque la perte de fonction d'enok est dirigée dans le PSC par les lignées dome Meso-Gal4 ou pCol85-Gal4, et le nombre de la mellocytes observés par lobe affecté est faible. Ceci pourrait refléter le fait que la perte de l'identité progéniteur permet aux cellules de la zone médullaire de s'engager dans l'un des trois destins cellulaires différenciés, y compris et de façon stochastique dans le destin lamellocyte, ce qui ne peut se produire dans un contexte contrôle ou l'identité progéniteur est maintenue (dome^{PG125}-Gal4 ; ARNi-Ctrl). Pour tester cette hypothèse, on pourrait comparer les pertes de fonction d'enok et de collier dans le domaine dome^{PG125}-Gal4, puisque ces deux conditions conduisent à la perte de l'identité progéniteur.

En résumé, mes résultats montrent *qu'enok* est requis de façon autonome cellulaire dans les progéniteurs pour prévenir leur différenciation prématurée. J'ai précédemment montré qu'abolir spécifiquement l'activité KAT d'Enok n'affecte pas l'homéostasie de la glande lymphatique, aussi, Enok exerce une fonction indépendante de son activité KAT dans les progéniteurs pour en garantir leur maintien. J'ai ensuite cherché à identifier les gènes dont l'expression dans les progéniteurs est régulée par Enok et qui pourraient participer à leur maintien.



Figure 17 : Analyse par RNA-Seq du contenu transcriptionnel de progéniteurs hématopoïétiques purifiés en présence ou en absence d'Enok. (A) Représentation schématique des étapes de préparation des échantillons pour le RNA-Seq. (B) Distribution des cellules triées en FACS en fonction l'intensité de GFP exprimée. En rouge : cellules des échantillons contrôles *dome*^{PG125}>ARN-luciférase ; en bleu : cellules des échantillons-test *dome*^{PG125}>ARNi-enok. Les cellules exprimant fortement la GFP ont été sélectionnées pour le séquençage (rectangle vert). (C) Gènes différentiellement exprimés, avec en rouge les gènes down-régulés, en vert les gènes up-régulés, et en gris les gènes dont l'expression ne varie pas significativement. (D) Heat-map représentant les 25 gènes les plus fortement down-régulés (moitié supérieure) et up-régulés (moitié inférieure). *enok* est indiqué en rouge. Les 3 premières colonnes représentent le triplicat d'échantillons exprimant *l'ARNi-luciférase* et les 3 dernières colonnes le triplicat exprimant *l'ARNi-enok*. (E,F,G) Expression différentielle des marqueurs de progéniteurs, *col* (E), *tep4* (F), *bam* (G). Les étoiles indiquent la valeur statistique associée à chaque échantillon en comparaison de la situation contrôle ; * : p≤0,0500 / **** : p≤0,0001 / **** : p≤0,0001.

II. Établissement du répertoire de gènes régulés par Enok dans les progéniteurs

En vue d'établir le répertoire de gènes dont l'expression est régulée par Enok dans les progéniteurs hématopoïétiques de la glande lymphatique, j'ai comparé les profils transcriptionnels des progéniteurs en présence et en absence d'Enok (profils établis par séquençage d'ARN, RNA-Seq). Pour celà, des glandes lymphatiques de larves contrôles (dome PG125-Gal4; UAS-GFP; ARNiluc) et de larves dont la fonction d'enok a été invalidée dans la zone médullaire (dome^{PG125}-Gal4 ; UAS-GFP / ARNi-Enok) ont été disséquées. Après dissociation des cellules des lobes antérieurs, les progéniteurs GFP⁺ ont été purifiés par tri cellulaire (FACS) (Figure 17A,B) et leur transcriptome établi par RNA-Seq. Pour l'analyse de ces transcriptomes nous avons retenu l'ensemble des gènes dont l'expression varie, positivement ou négativement, d'un facteur de 0,40 avec une valeur statistique p-ajustée inférieure ou égale à 0,0100. Ces critères mettent en évidence l'expression différentielle de 543 gènes, dont 260 et 283 ont une expression diminuée ou augmentée, respectivement, en absence d'Enok (Figure 17C). On remarque qu'en ce qui concerne les 50 gènes les plus différentiellement régulés, les triplicats donnent des résultats comparables, montrant la reproductibilité des échantillons (Figure 17D) et qu'enok fait partie des 15 gènes dont l'expression est la plus diminuée, démontrant l'efficacité du traitement à l'ARNi (Figure 17D, en rouge). De plus, le niveau d'expression de marqueurs connus de progéniteurs hématopoïétiques tels que les gènes collier ou tep4 est fortement réduit en absence d'Enok (Figure 17E,F), ce qui est en accord avec la perte des progéniteurs précédemment observée. C'est également le cas pour le marqueur de progéniteurs bam (Tokusumi et al., 2011) (Figure 17G), bien que celui-ci ne soit pas retenu dans notre liste principale, sa valeur statistique p-ajustée étant de 0,0104. La liste des gènes différentiellement exprimés est disponible en Annexe 1.

Une analyse par Gene Ontology a mis en évidences deux processus principaux affectés par la perte d'Enok dans les progéniteurs (Figure 18A). D'une part, plus d'une vingtaine de gènes impliqués dans le cytosquelette ou la matrice extracellulaire voient leur expression modifiée (Figure 18B). Ceci est cohérent avec le fait que le maintien des progéniteurs est en parti régulé par des composants du cytosquelette, comme par exemple l'actomyosine (*Sharma et al., 2019*). D'autre part, on observe l'uprégulation de dix gènes codant des Gluthatione-S-transferases (Gst) (Figure 18B, Annexe 1).



Figure 18 : Analyse Gene Ontology

Analyse Gene Ontology des processus biologiques affectés par la perte de fonction d'*enok* dans les progéniteurs de la glande lymphatique.

Deux gènes *Gst* supplémentaires (*GstE9* et *GstO1*) sont également régulés positivement, mais n'ont pas été retenus en liste principale, leurs valeurs statistiques p-ajustées étant de 0,0194 et de 0,0283 respectivement. Il a été montré dans la littérature que les GSTs sont impliquées dans le contrôle du niveau de ROS et il a été montré qu'un niveau basal de ROS était requis dans les progéniteurs pour en assurer le maintien (*Owusu-Ansah et al., 2009*). Cependant, il n'est pas possible pour le moment de savoir si les *Gst* sont directement réprimés par Enok et si l'augmentation de leur expression due à la perte de fonction d'*enok* est la cause de l'entrée en différenciation des progéniteurs ou si elle est la conséquence de la modification de l'état des progéniteurs.

De façon intéressante, 34 gènes régulés par Enok dans les progéniteurs sont également régulés par Enok dans l'ovaire (*Huang et al., 2014*), et l'expression de 23 d'entre eux varie dans le même sens dans les deux systèmes (majoritairement négativement) (Annexe 2). Parmi eux, on retrouve notamment le gène *maelstrom (mael)*, qui est connu pour être directement fixé par Enok (*Huang et al., 2014*), ainsi que les gènes *Arc1, corto* et *Cht2*, qui font tous les trois partie des 25 gènes les plus significativement régulés dans les progéniteurs hématopoïétiques (Figure 17D).

Enok agit au moins au sein d'un complexe protéique (le complexe ING5) et contient un double domaine PHD connu pour reconnaître les résidus acétylés H3K9 et H3K14 chez les mammifères (*Ali et al., 2012*). Ainsi, Enok se fixerait sur un ensemble de gènes cibles, et participerait à la régulation de leur expression. J'ai donc sélectionné deux gènes candidats qui sont déjà connus pour être fixés et régulés par Enok et dont l'expression est affectée suite à la perte de fonction d'*enok* dans les progéniteurs : *maelstrom (mael*) et *pannier (pnr)* (Figure 19B, 21A).



Figure 19 : La perte de fonction de *mael* dans les progéniteurs n'affecte pas l'homéostasie hématopoïétique de la glande lymphatique. (B) Expression différentielle de *mael* dans les progéniteurs au stade L3. (A,D) Vues en microscopie confocale (stacks en Z) de lobes antérieurs de glandes lymphatiques au stade L3. Les noyaux sont marqués au DAPI (en bleu). La GFP (en vert) est exprimée dans le domaine $dome^{PG125}$ -Gal4 (dome) (A) Immunomarquage de Collier en rouge (panel du haut) et en blanc (panel du bas). (C) Quantification de la proportion de progéniteurs core au stade L3. (D) Immunomarquage Hnt en Rouge (cellules à cristaux). (E) Quantification de la proportion de cellules à cristaux au stade L3. Les étoiles indiquent la valeur statistique associée à chaque échantillon en comparaison de la situation contrôle ; ns : non significatif ; * : p≤0,0100 / *** : p≤0,0010.

A. Analyse fonctionnelle de *mael* dans la glande lymphatique

Le premier candidat que j'ai sélectionné était *mael*, dont il a été montré dans l'ovaire de Drosophile et dans la lignée cellulaire S2, que son promoteur est fixé par Enok et que son expression est dépendante d'*enok* (*Huang et al., 2014*). De façon intéressante des données obtenues par immunoprécipitation de la chromatine liée par le reader épigénétique Br140, le partenaire d'Enok, montrent que les régions régulatrices de *mael* sont également fixées par Br140 dans l'embryon de Drosophile (*Kang et al., 2017*). Enfin, notre analyse du RNA-Seq révèle une forte diminution de l'expression de *mael* dans les progéniteurs hématopoïétiques dépourvus d'Enok (Figure 17B). J'ai donc testé une éventuelle fonction de ce gène dans les progéniteurs en y induisant une perte de fonction par deux ARNi différents grâce à la lignée pilote *dome^{P125}-Gal4*.

Mes résultats montrent que la proportion de progéniteurs exprimant Col n'est pas affectée par la perte de fonction de *mael* dans les progéniteurs (Figure 19A,C). De plus, on n'observe pas non plus de différenciation précoce des cellules à cristaux Hnt⁺ (Figure 19D,E). Dans l'ensemble, les conditions génétiques que j'ai utilisées ne me permettent pas de révéler une éventuelle fonction de *mael* dans le maintien des progéniteurs. Il est possible que l'invalidation de *mael* par ces constructions ARNi ne soit pas assez efficace ; alternativement, la perte de fonction de *mael* seule n'est peut-être pas suffisante pour induire la différenciation des progéniteurs et *mael* pourrait exercer sa fonction de façon concertée (ou redondante) avec d'autres gènes dont l'expression serait régulée par Enok. J'ai donc décidé de ne pas poursuivre l'étude de la fonction de *mael* dans la glande lymphatique.



Figure 20 : pnr est requis dans les progéniteurs pour contrôler l'homéostasie de la glande lymphatique. (A,C) Vues en microscopie confocale (stacks en Z) de lobes antérieurs de glandes lymphatiques. Les noyaux sont marqués au DAPI (en bleu). La GFP (en vert) est exprimée dans le domaine $dome^{PG125}$ -Gal4 (dome) (A) Immunomarquage de Collier en rouge (panel du haut) et en blanc (panel du bas). (B) Quantification de la proportion de progéniteurs core au stade L3. (C) Immunomarquage Hnt en Rouge (panel du haut, cellules à cristaux) et P1 en rouge (panel du bas, plasmatocytes). (D) Quantification de la proportion de cellules à cristaux au stade L3. (F) Quantification de la proportion de plasmatocytes au stade L3. Les étoiles indiquent la valeur statistique associée à chaque échantillon en comparaison de la situation contrôle ; ** : p≤0,0100 / **** : p≤0,0001.

B. Analyse fonctionnelle de pnr dans la glande lymphatique

Je me suis ensuite intéressée au facteur de transcription GATA pannier (*pnr*), qui est régulé par Enok dans les progéniteurs de la glande lymphatique (Figure 20B). A l'instar de *mael*, *pnr* est fixé et régulé par Enok dans la lignée cellulaire S2 de Drosophile (*Umer et al., 2019*) Par ailleurs, les facteurs de transcription GATA sont des acteurs notoires de l'hématopoïèse mammifère (voir introduction) et des fonctions de *pnr* ont déjà été décrites au cours de la différenciation des plasmatocytes dans la glande lymphatique (*Minakhina et al. 2011*).

• Effets de la perte de fonction de *pnr* dans les progéniteurs de la glande lymphatique

J'ai analysé des glandes lymphatiques dans lesquelles j'ai dirigé la perte de fonction de *pnr* dans les progéniteurs de la zone médullaire à l'aide de la lignée *dome^{PG125}-Gal4* et de deux constructions ARNi différentes. Contrairement à la perte de fonction de *mael*, la perte de fonction de *pnr* induit des phénotypes similaires à ceux d'*enok* dans les progéniteurs, soit une diminution de la proportion de progéniteurs core Col⁺ par rapport au contrôle (Figure 20A,B), ainsi qu'une augmentation de la proportion de cellules à cristaux Hnt⁺ (Figure 20C,D) et de plasmatocytes P1⁺ (Figure 20C,E). On peut noter que l'effet sur les progéniteurs core causé par la perte de fonction de *pnr* est légèrement moins important que celui causé par la perte de fonction d'Enok. Ces résultats ne sont pas surprenants si on considère que *pnr* n'est que l'une des cibles parmi l'ensemble de gènes régulés par Enok dans les progéniteurs. Ainsi, l'ensemble de mes résultats montre que *pnr* participe au maintien des progéniteurs de la glande lymphatique.

• Régulation de l'expression de *pnr* par Enok

Par la suite, je me suis intéressée à la régulation de l'expression de *pnr* par Enok. Nous avons d'abord invalidé l'expression d'*enok* dans la lignée cellulaire S2 par ARNi et confirmé par RT-qPCR que l'expression de *pnr* est dépendante d'*enok* dans ces cellules (Figure 21B) comme décrit par Umer *et al.* J'ai ensuite cherché à transposer cette analyse dans la glande lymphatique grâce à des expériences de smiFISH et d'hybridation *in situ*, afin de tester si de la perte de fonction d'*enok* dans les progéniteurs entraîne la diminution de l'expression de *pnr.* J'ai d'abord vérifié que l'invalidation de la fonction de *pnr* lui-même dans les progéniteurs de la zone médullaire, grâce à la lignée pilote *dome*^{PG125}-Gal4,</sup> permet de détecter la diminution du transcrit *pnr*, à la fois en hybridation *in situ* (Figure 21C) et en smiFISH (Figure 21D). De façon surprenante, la diminution du transcrit *pnr* est uniforme dans tout le lobe antérieur et non régionalisée selon le domaine d'expression de la lignée



Figure 21: *enok* régule l'expression de pnr et *enok* et *pnr* interagissent génétiquement. (A) Expression différentielle de *pnr* dans les progéniteurs au stade L3. (B) Quantification de l'expression de *pnr* en cellules S2. (C) Détection du transcrit *pnr* par hybridation *in situ* sur des glandes lymphatiques au stade L3 (D) Détection du transcrit *pnr* par smiFISH au stade L3 (E) Quantification de la proportion de cellules à cristaux Hnt⁺ au stade L3. Les étoiles indiquent la valeur statistique associée à chaque échantillon en comparaison de la situation contrôle ; ns : non significatif ; *** : $p \le 0,0010$ / **** : $p \le 0,0001$.

dome^{*PG125}-<i>Gal4* à *ce* stade. Dans la mesure où toutes les cellules des lobes antérieurs ont été à l'état progéniteur au cours du stade L2 et ont donc exprimé l'ARNi dirigé contre *pnr*, ceci suggère soit (i) que l'expression de *pnr* n'est pas réinitiée lorsque les progéniteurs entrent en différenciation et que le transcrit détecté dans les cellules de la zone corticale est une persistance de celui produit dans ces cellules avant leur différenciation, soit (ii) que *pnr* est requis, directement ou indirectement, pour le maintien de sa propre expression dans les cellules de la zone corticale. En parallèle, l'invalidation de l'expression d'*enok* dans les progéniteurs de la zone médullaire conduit à une diminution du transcrit *pnr*, quoique plus modérée (Figure 21 C,D), ce qui est cohérent avec le niveau de régulation de *pnr* relativement modeste quantifié en RNA-Seq.</sup>

• Interaction génétique entre *enok* et *pnr*

Finalement, j'ai cherché à établir si les gènes *pnr* et *enok* étaient fonctionnellement liés en réalisant des expériences d'interaction génétique. J'ai, pour ce faire, employé différentes combinaisons des allèles amorphes *pnr*^{VX6}, et *enok*¹, ainsi que de l'allèle mutant affectant spécifiquement l'activité KAT d'Enok, *enok*^{KAT}, et j'ai observé leur impact sur la différenciation des cellules à cristaux Hnt⁺ (Figure 21E). Les glandes lymphatiques de mutants hétérozygotes *pnr*^{VX6}/+, *enok*¹/+ et *enok*^{KAT}/+ montrent une proportion de cellules à cristaux similaire à celle d'un contexte contrôle, *w*. En revanche, la condition double-hétérozygote *enok*¹/+; *pnr*^{VX6}/+, révèle une forte augmentation de la différenciation des cellules à cristaux par rapport aux simples hétérozygotes *pnr*^{VX6}/+, et *enok*¹/+, indiquant que ces deux gènes collaborent dans le contrôle de l'homéostasie hématopoïétique. De façon attendue, cette interaction génétique n'est pas observée dans la condition double-hétérozygote *enok*^{KAT}/+, ce qui est cohérent avec le fait que la fonction KAT d'Enok n'est pas requise dans ce processus.

En conclusion, j'ai montré qu'Enok contrôle l'expression du facteur GATA Pnr dans les progéniteurs hématopoïétiques larvaires et que *pnr* est requis pour contrôler l'homéostasie de la glande lymphatique.



Figure 22 : *trx* et *br140* sont requis pour le maintien de l'homéostasie hématopoïétique de la GL. (A,C,E,G) Vues en microscopie confocale (stacks en Z) de lobes antérieurs de glandes lymphatiques. Les noyaux sont marqués au DAPI (en bleu). La GFP (en vert) est exprimée dans le domaine *dome*^{PG125}-*Gal4 (dome)* (A,E) Immunomarquage de Collier en rouge (panel du haut) et en blanc (panel du bas). (B,F) Quantification de la proportion de progéniteurs core au stade L3. (C,G) Immunomarquage Hnt en rouge (cellules à cristaux). (D,H) Quantification de la proportion de cellules à cristaux au stade L3. (I,J) Quantification de l'expression de *pnr* en cellules S2.

III. Identification de partenaire potentiels d'Enok pour le contrôle de l'homéostasie de la glande lymphatique

Il est décrit qu'Enok fonctionne de concert avec divers partenaires protéiques. J'ai donc ici testé deux partenaires connus d'Enok dans le maintien des progéniteurs de la glande lymphatique.

A. Le facteur Br140

Chez les mammifères, le facteur BRPF1 interagit physiquement avec MOZ et se fixe sur la chromatine (Ullah et al., 2008). De façon similaire, chez la Drosophile, son orthologue Br140 interagit physiquement avec Enok (Huang et al., 2016) et est capable de se fixer sur la chromatine (Kang et al., 2017). On peut alors imaginer que Br140 formerait avec Enok un complexe se fixant sur un répertoire de gènes-cibles dont il contrôlerait l'expression dans les progéniteurs hématopoïétiques indépendamment de la fonction KAT d'Enok. Cette hypothèse est en accord avec l'observation que nous avons faite au cours d'une précédente étude dans l'équipe que les mutants perte de fonction Br140^{-/-} présentent, dans les hémocytes circulants d'origine embryonnaire, les mêmes défauts que ceux induits par la perte de l'activité KAT-indépendante d'Enok (Genais et al., bioRxiv 2020). J'ai donc cherché à établir si br140 participe, comme enok, au maintien des progéniteurs hématopoïétiques dans la glande lymphatique. A cette fin, j'ai invalidé l'expression de br140 spécifiquement dans la zone médullaire (lignée pilote dome^{PG125}-Gal4) à l'aide de deux ARNi différents. De façon similaire à la perte de fonction d'enok et de pnr dans les progéniteurs, on observe, suite à la perte de fonction de *br140*, une diminution de la proportion de progéniteurs core Col⁺ (Figure 22A,B) et une différenciation accrue de cellules à cristaux Hnt⁺ (Figure 22C,D). De façon surprenante, une des deux lignées ARNi utilisées (ARNi-br140-2) induit non pas une augmentation mais une diminution de la proportion de cellules à cristaux (Figure 22D). Il est possible que cette lignée possède des cibles off-targets, il sera donc nécessaire de reproduire ces analyses avec une troisième lignée ARNi. Ainsi, tout comme enok, br140 est requis dans les progéniteurs pour en assurer le maintien. Nous avons également établi, par des expériences de RT-qPCR, que *br140* participe à la régulation de l'expression de *pnr* dans la lignée cellulaire S2 (Figure 22I). Il faudra par la suite vérifier si l'expression de pnr dans la glande lymphatique est également régulée par Br140 grâce à des expériences de smiFISH et d'hybridation in situ.

B. Le remodeleur chromatinien trithorax

Une étude récente a montré qu'*enok* et le gène *trithorax* (*trx*) interagissent génétiquement chez la Drosophile et que *trx* contrôle l'expression de *pnr* dans la lignée cellulaire S2 (*Umer et al., 2019*). Nous avons confirmé par des expériences de RT-qPCR que l'expression de *pnr* est dépendante de *trx* dans la lignée cellulaire S2 de Drosophile (Figure 22J) et cherché à établir si *trx* participait au contrôle de l'homéostasie hématopoïétique larvaire. L'examen par immuno-marquages des différentes populations d'hémocytes dans la glande lymphatique révèle une diminution de la proportion de progéniteurs core Col⁺ (Figure 22E,F) qui s'accompagne d'une différenciation accrue des cellules à cristaux Hnt⁺ (Figure 22G,H). On peut noter que l'effet de la perte de fonction de *trx* dans les progéniteurs semble plus prononcé que dans les conditions de perte de fonction de *br140*, d'*enok* ou de *pnr*.

En résumé, j'ai identifié Br140 et Trx, deux facteurs connus pour interagir physiquement et/ou fonctionnellement avec Enok, dont la fonction est requise dans la zone médullaire pour assurer le maintien des progéniteurs hématopoïétiques et qui participent au moins en culture de cellules S2 à la régulation de l'expression de *pnr*, un gène-cible d'Enok dans les progéniteurs.

IV. Conclusion

J'ai montré qu'*enok* est requis pour l'homéostasie hématopoïétique de la glande lymphatique. Plus précisément, j'ai montré qu'il était requis dans le PSC pour inhiber la formation aberrante de lamellocytes, et dans les progéniteurs de la glande lymphatique pour assurer leur maintien. De plus, j'ai montré que sa fonction dans ses deux processus est indépendante de de sa fonction KAT. Une analyse transcriptomique différentielle m'a permis d'identifier un gène-cible d'Enok dans les progéniteurs de la glande lymphatique, le gène *pnr*, qui participe au maintien des progéniteurs, ainsi que deux partenaires potentiels d'*enok* pour le maintien de l'homéostasie, Br140 et Trx, requis tous les deux pour le maintien de l'homéostasie de la glande lymphatique.

DISCUSSION

I. Les fonctions d'enok dans le contrôle de l'homéostasie hématopoïétique

A. Fonctions développementales et de réponse à l'infection

J'ai montré que la perte de fonction d'*enok* dirigée dans les progéniteurs entraine un défaut de maintien des progéniteurs et une différenciation prématurée des hémocytes. Or, la différenciation des progéniteurs en hémocytes matures se produit naturellement dans la glande lymphatique au cours du développement larvaire. On peut donc se demander si cette bascule entre les deux états cellulaires corrèle avec la régulation de la fonction d'Enok. Un premier élément de réponse nous vient des données de scRNA-Seq de Cho *et al.*, qui ont comparé des glandes lymphatiques à différents stades au cours du développement. Leurs données montrent qu'entre 72h et 96h de développement l'expression d'*enok* diminue dans deux sous-populations de progéniteurs (nommées PH1 et GST-rich) (*Cho et al., 2020*). Ainsi, l'extinction d'*enok* dirigée dans la zone médullaire pourrait mimer de façon anticipée le processus normal de différenciation. Il serait intéressant de tester si la surexpression d'*enok* dans le domaine d'expression de *domeless* (*dome*^{PG125}-Gal4) entraine le blocage des cellules de la zone médullaire à l'état progéniteur.

Par ailleurs, la perte de fonction d'*enok* dirigée dans les cellules du PSC induit la formation de lamellocytes, un type cellulaire normalement formé en réponse au parasitisme. Il a été montré que le PSC est requis pour permettre la formation des lamellocytes en réponse au parasitisme, en particulier en émettant des signaux à destination des progéniteurs. Ce parallèle soulève deux questions : (i) la nature des signaux inducteurs de lamellocytes est-elle identique dans les deux conditions (perte de fonction d'*enok* et parasitisme), et (ii) la réponse au parasitisme implique-telle la régulation des fonctions d'Enok ? Au cours de la réponses immunitaire, il a été montré que les cellules du PSC activent la voie Toll/NF-κB et sécrètent Spitz, le ligand EGF de Drosophile, afin promouvoir la différenciation des lamellocytes. On pourrait donc tester si l'activation de la voie Toll/NF-κB ou la sécrétion de Spitz sont impliquées dans la formation des lamellocytes induite par la perte de fonction d'*enok* dans les cellules du PSC (*pcol85-Gal4*; *ARNi-enok*; *ARNi-Dif* ou *ARNi-spitz*). Finalement, les données de scRNA-Seq de Cho *et al.* montrent une diminution de l'expression d'*enok* en condition de parasitisme, et on peut se demander si la surexpression d'*enok* dans les cellules du PSC serait suffisante pour diminuer, voire bloquer, la formation des lamellocytes en condition de parasitisme.

B. Fonction moléculaire

Toutes les études menées sur les rôles de MOZ, MORF ou Enok jusqu'à présent ont établi le lien entre leurs fonctions biologiques et leur activité KAT. Or, nous avons montré qu'Enok exerce une fonction indépendante de son activité KAT à la fois dans la différenciation des cellules à cristaux en circulation, et dans le contrôle de l'homéostasie hématopoïétique de la glande lymphatique. Chez les mammifères également, MOZ semble exercer certaines fonctions indépendamment de son activité KAT (Introduction IV.C.b). Ces observations posent la question du mode d'action non-KAT d'Enok.

Enok contient des domaines « readers » (*Yang et al., 2004*) et est capable de lier l'ADN (*Huang et al., 2014 ; Umer et al., 2019*), à l'instar de MOZ chez les mammifères (*Holbert et al., 2007, Ullah et al., 2008*). De plus, Enok interagit avec des protéines qui possèdent elles-mêmes des domaines « readers » (Br140 et Ing5) et capables de lier l'ADN (Br140, *Kang et al., 2017*) On peut donc imaginer qu'Enok se fixe sur la chromatine, au sein d'un ou de plusieurs complexes, afin de réguler l'expression génique indépendamment de son activité KAT.

Afin de pouvoir investiguer ce mode d'action, il est nécessaire d'établir le répertoire des gènes cibles d'Enok, c'est-à-dire l'ensemble des gènes à la fois fixés et régulés par Enok. Ce répertoire pourrait être obtenu en combinant deux approches : un ChIP-Seq et un RNA-Seq.

a. Établissement du répertoire de gènes régulés par Enok : RNA-Seq

J'ai réalisé une analyse différentielle par RNA-Seq sur l'ensemble des progéniteurs exprimant ou non un ARNi-*enok (dome^{PG125}-Gal4 ; ARNi-luciférase* ou *ARNi-enok).* Récemment, plusieurs études ont réalisé des analyses transcriptionnelles sur cellule unique (scRNA-Seq). Une étude en particulier a ainsi mis en évidence qu'il existe différentes sous-populations de progéniteurs, notamment les progéniteurs PH1 et les progéniteurs Gst-rich (*Cho et al., 2020*), cette deuxième population étant caractérisée par l'expression de nombreux gènes impliqués dans le métabolisme du glutathion, les *Gst.* On peut noter que suite à la baisse d'expression d'*enok,* cette même catégorie de gènes est fortement régulée positivement dans mes données RNA-Seq. On peut ainsi se demander si l'augmentation de la quantité de transcrits *Gst* observée dans mes données est le résultat de leur augmentation homogène dans toutes les cellules ou si elle reflète

l'augmentation de la proportion de cellules dans l'état Gst-rich dans mes échantillons. On peut également se demander si au contraire, nous ne sommes pas en mesure de détecter la variation d'expression de certains gènes, qui seraient modulés, même significativement, mais dans une population cellulaire faiblement représentée.

Enfin, nous avons choisi de réaliser notre analyse transcriptionnelle au moment où les différents phénotypes (perte des progéniteurs core, augmentation de la différenciation) étaient déjà visibles, c'est-à-dire potentiellement bien après la régulation transcriptionnelle des gènes cibles d'Enok. Il est donc possible que nous n'ayons pas uniquement détecté les gènes cibles primaires affectés par la perte de fonction d'*enok*, mais également des transcrits dont la régulation par Enok est indirecte. Ce RNA-Seq fournit toutefois des informations pertinentes quant à la biologie de la glande lymphatique et aux processus dérégulés par la perte de fonction d'*enok*.

b. Identification des gènes fixés par Enok : ChIP-Seq

En parallèle de cette approche par RNA-Seq, la réalisation d'un ChIP-Seq dans les progéniteurs permettrait d'établir le répertoire complet de gènes fixés par Enok. Cependant, la réalisation d'un ChIP-Seq *in vivo* est difficile à mettre en œuvre compte-tenu du faible nombre de progéniteurs dans une glande lymphatique au stade L3 (environ 3000).

Pour pallier ce problème, nous avons entrepris dans l'équipe de réaliser des expériences d'immunoprécipitation de la chromatine (ChIP) dans la lignée cellulaire S2 dans laquelle nous avons exprimé un UAS-3HA-Enok (B. Augé, communication personnelle). Ainsi, grâce à un anticorps anti-HA, nous avons d'abord cherché à reproduire les données de littérature qui ont montré la fixation d'Enok au promoteur de *pnr (Umer et al., 2019)*. Avec ces outils, nous n'avons pas été en mesure de montrer de façon reproductible la fixation d'Enok à ce locus, ni aux promoteurs des autres gènes sur lesquels Enok est connu pour se fixer, comme *mael* et *spir (Huang et al., 2014)* ou *pnt (Umer et al., 2019)*. Il est possible que la surexpression de la version étiquetée d'Enok soit incompatible avec cette approche. Il existe des lignées cellulaires stables qui expriment de façon inductible une version taguée FLAG d'Enok (FLAG-Enok) (Umer et al., 2019). Il serait donc intéressant de répéter ces expériences de ChIP en utilisant plutôt cette version étiquetée d'Enok ou directement avec un anticorps dirigé contre Enok.

La comparaison des données transcriptionnelle de Huang *et al.* et de notre propre RNA-Seq révèle plus d'une vingtaine de gènes dont l'expression varie de façon similaire en réponse à la perte de fonction d'*enok*, dans deux systèmes aussi différents que les progéniteurs hématopoïétiques et l'ovaire. Bien que la fixation d'Enok sur ces gènes n'ait pas été établie, cette similitude de régulation nous amène à penser qu'ils pourraient être des gènes-cibles directs d'Enok et il serait intéressant de tester leur éventuelle fonction dans le contrôle de l'homéostasie de la glande lymphatique. En absence de données de ChIP-Seq et donc de répertoire de gènes fixés par Enok dans ces différents tissus, nous avons choisis de nous focaliser sur des gènes, qui sont à la fois régulés dans les progéniteurs (RNA-Seq) et connus pour être fixés et régulés par Enok (*Huang et al., 2014*; *Umer et al., 2019*), *mael* et *pnr*.

II. Régulation de l'expression de pnr

Mes données de RNA-Seq montrent que la régulation de *pnr* par *enok* est modeste dans les progéniteurs de la glande lymphatique : en effet, 70% du transcrit est toujours présent. En parallèle, j'ai montré que dans le mutant hétérozygote *pnr^{VX6}/+*, la réduction du transcrit *pnr* (dont on peut supposer qu'elle est de 50%) ne provoque pas la différenciation prématurée des cellules à cristaux dans la glande lymphatique (Figure 21E). Il est donc probable qu'il soit nécessaire d'induire une plus forte diminution de l'expression de *pnr* pour induire l'apparition des phénotypes décrits en Figure 20 (perte des progéniteurs et différenciation prématurée).

Ainsi, la régulation de l'expression de *pnr* observée dans le RNA-Seq suite à la perte de fonction d'*enok* (soit une diminution de seulement 30% de son expression) n'explique probablement pas à elle seule le phénotype causé par la perte de fonction d'*enok*. On peut aussi se demander dans quelle mesure cette baisse est homogène dans toutes les cellules testées ou si elle est plus forte dans une sous-population particulière. Alternativement, cela peut aussi être l'effet de la régulation de l'ensemble du répertoire d'Enok. En conséquence, l'observation de la perte de fonction KAT d'Enok, qui n'affecte pas l'homéostasie de la glande lymphatique, n'implique pas nécessairement que l'expression de *pnr* n'est pas également régulée dans ce contexte. Il est donc essentiel de réaliser une analyse plus fine par hybridation *in situ* ou smiFISH du niveau d'expression de *pnr* dans un contexte dépourvu d'activité KAT d'Enok, afin d'établir si *pnr* est ciblé par l'activité KAT d'Enok ou non.

De la même manière, nous avons observé que la perte de fonction de *br140* et de *trx* dans les progéniteurs de la glande lymphatique entraine des phénotypes similaires à ceux de la perte de fonction d'*enok* et de *pnr* et que la perte de fonction de *br140* et de *trx* affecte l'expression de *pnr* en culture de cellules S2. En revanche, nous n'avons pas établi si *br140* et *trx* affectent l'expression de *pnr in vivo*, ni établi de lien fonctionnel entre *br140*, *trx* et *pnr*. Il sera donc nécessaire de réaliser des expériences de smiFISH ou d'hybridation *in situ* et des expériences d'interactions génétiques afin d'investiguer ces points et de nous permettre de proposer une hypothèse mécanistique quant à la régulation de l'expression de *pnr* indépendante de la fonction KAT d'Enok.

III. Identification des partenaires d'Enok dans la glande lymphatique

Étant donné que dans les progéniteurs, Enok assure des fonctions indépendantes de son activité acétyltransférase on peut se demander si les deux autres sous-unités du complexe d'acétylation ING5, Ing5 et Eaf6, sont également requises pour contrôler l'homéostasie de la glande lymphatique. En effet, j'ai montré que Br140, également membre du complexe ING5, est requis dans ce processus. Des expériences de perte de fonction ciblée d'*eaf6* et *ing5* dans la zone médullaire devraient permettre de répondre à cette question. Si leur perte de fonction entraine un phénotype de perte des progéniteurs et de différenciation prématurée, il sera également intéressant d'analyser leur impact sur l'expression de *pnr* dans les progéniteurs. De précédents travaux dans l'équipe ont montré que qu'Enok et Br140 sont requis pour la différenciation des cellules à cristaux circulantes et que cette fonction ne requiert pas l'activité KAT d'Enok (*Genais et al., bioRxiv 2020*). Cependant, nous avons montré qu'*eaf6* et *ing5* sont quant à eux dispensables au cours de ce processus. On pourrait donc envisager que, comme au cours de la différenciation des cellules à cristaux circulantes, le contrôle de l'homéostasie de la glande lymphatique ne fasse intervenir que la paire Enok/Br140 et non Eaf6 et Ing5.

Il serait intéressant d'avoir recours à une approche non biaisée afin d'identifier les différents partenaires d'Enok dans les progéniteurs de la glande lymphatique. En effet, des analyses en spectrométrie de masse après immunoprécipitation d'Enok dans les progéniteurs permettraient d'avoir accès à l'ensemble des interacteurs d'Enok dans les progéniteurs et permettrait de mettre en évidences différents éventuels complexes, qui pourrait être formés en fonction de la cible ou du contexte.

Le fait de découvrir que l'activité KAT d'Enok n'est pas nécessaire ouvre des possibilités supplémentaires quant à ses modes d'actions, qui passeraient par différents répertoires et différents complexes. Ainsi, 'investigation plus poussée des modes d'action d'Enok pourrait ainsi apporter de nouvelles informations sur les fonctions de MOZ dans le développement des mammifères, au cours duquel il a été principalement étudié compte tenu de son activité catalytique. Plus particulièrement, elle pourrait conduire à une meilleure compréhension du mode d'action de MOZ dans l'hématopoïèse normale et pathologique chez les mammifères

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Élevage de Drosophiles, croisements et régimes de température

Les stocks de Drosophiles ont été maintenus sur milieu standard contenant de la levure, du sucre, de l'agar, de la farine de maïs et de l'antifongique (moldex). La liste complète des stocks utilisés est fournie en Table 1. Les croisements destinés aux expériences sont réalisés de façon à contrôler la densité larvaire de la progéniture : en moyenne 12 femelles ont été fertilisées par 4 mâles et mises à pondre dans un tube de milieu frais, à 25°C, pour une durée de 12h.

Pour les analyses de glandes lymphatiques des différents contextes mutants, les larves se sont développées à 25°C jusqu'au stade désiré pour leur fixation. Pour les analyses de glandes lymphatiques après interférence à l'ARN, les embryons pondus se sont développés à 22°C pendant 24h, puis les tubes ont été transférés à 29°C jusqu'à la fixation des larves, soit 48h pour les immunomarquages Col et HA et les expériences d'hybridation *in situ*, et 54h pour les immuno-marquages Hnt, P1, α -PS4 et β -intégrine.

Pour l'analyse des cellules circulantes des différents contextes mutants, les larves se sont développées à 25°C pendant 96h et j'ai sélectionné des larves errantes avant éversion des spiracles postérieurs afin de collecter et fixer les cellules circulantes.

Édition génomique : introduction d'un tag -3HA au locus endogène *enok* grâce au système CRISPR-Cas9

Le design de l'ARN guide (ARNg) a été réalisé l'aide du logiciel Geneious (Biomatters Ltd) et les oligonucléotides nécessaires à la construction de son vecteur d'expression ont été synthétisés par la compagnie Integrated DNA Technologies. Le clonage de l'ARNg dans le vecteur d'expression pCFD3 (*Port et al, 2014*) a été réalisé selon le protocole disponible à l'adresse suivante : http://www.crisprflydesign.org/wp-content/uploads/2014/05/Cloning-with-pCFD3.pdf.

La matrice de réparation utilisée (pGEM-3HA-EnokRepair) contient trois répétitions de la séquence codant le tag hémagglutinine (3HA) entourées de deux bras d'homologie d'une taille de 1kb chacun, correspondant à la région 5'UTR du gène *enok* du coté 5' (bras d'homologie gauche, HAL) et au début de la séquence codante d'*enok*, privée de son codon initiateur, du côté 3' (bras d'homologie droit, HAR). Le bras d'homologie 5' HAL a été amplifié par PCR sur ADN génomique de Drosophile de la lignée *Vasa-Cas9* (*Port et al., 2014*). La fusion du tag 3HA et du début de la séquence codante d'*enok* (3HA-HAR) a été amplifiée sur la base d'un plasmide pUAST-3HA-Enok déjà disponible dans l'équipe (*Genais et al., BioRxiv 2020*). Ces deux fragments se recouvrent sur

une région de 30 nucléotides afin de permettre leur hybridation. Après purification sur gel d'agarose, ces deux fragments ont été hybridés et allongés par une polymérase, afin d'obtenir un double brin continu correspondant à la matrice de réparation (HAL-3HA-HAR). Ce fragment a ensuite été amplifié par PCR grâce à des amorces externes et cloné en pGEM (pGEM T-Easy Vector Systems).

Les constructions (pCFD3-ARNg et pGEM-3HA-EnokRepair) ont été vérifiées par séquençage puis injectées au pôle postérieur d'embryons de Drosophiles *Vasa-Cas9* âgés d'une demi-heure (à une concentration de 100 ng/µL pour le pCFD3-ARNg et de 250 ng/µL pour le pGEM-3HA-EnokRepair). Les embryons se sont ensuite développés à une température de 25°C jusqu'à l'émergence des adultes (appelés fondateurs ou F₀). Les adultes F₀ ont alors été croisés individuellement et pour chaque fondateur, 10 à 15 mâles progéniture (appelés F₁) ont été croisés individuellement. Après 4-5 jours de croisement, chaque mâle F₁ a été récupéré et son ADN extrait et criblé par PCR pour rechercher la présence de la modification souhaitée. Le crible est basé sur une PCR à trois amorces : deux amorces externes amplifient l'ADN dans les événements d'édition positifs et négatifs, tandis qu'une amorce interne amplifie spécifiquement l'ADN en cas de présence de la mutation souhaitée, ici, l'insertion du tag HA. Pour chaque évènement positif, un stock de Drosophile a été établi, puis l'événement d'édition génomique a été confirmé par séquençage. La liste des amorces utilisées est fournie en Table 1.

Fixation et immuno-marquages des échantillons

Pour les analyses de glandes lymphatiques, les larves sont retournées puis fixées en PBS 1X contenant 4% de para-formaldéhyde pendant 25 minutes à température ambiante. Les échantillons sont ensuite rincés rapidement 4 fois dans 1 mL de méthanol et stockés en méthanol à -20°C, pour une durée minimum d'une nuit. Lors de l'immuno-marquage, les échantillons sont d'abord réhydratés par 5 lavages successifs de 10 minutes chacun en PBS 1X contenant 0,3% de TritonX-100 (Sigma) (PBT). Le blocage a lieu par incubation d'au moins une heure à température ambiante dans 1 mL de PBS 1X, 1% de Triton X-100 et 1% de BSA (PAT). Les échantillons sont incubés à 4°C pendant une nuit avec les anticorps primaires à la dilution appropriée dans du PAT (liste des anticorps et dilutions utilisés en Table 1). Après 5 lavages longs au PBT, les échantillons sont incubés une nuit à 4°C avec les anticorps secondaires (Alexa Fluor, Molecular Probes) et le DAPI (Sigma- Aldrich). Les échantillons sont ensuite lavés 5 fois en PBT, disséqués en PBS 1X et
montés entre lame et lamelle dans du Vectashield (Vector laboratories) pour observation en microscopie confocale.

Pour les analyses de cellules circulantes, 5 larves ont été saignées sur lamelle afin de collecter leur hémolymphe. 3 lamelles sont générées par génotype testé (soient trois lots de 5 larves traités en parallèle). Les échantillons sont fixés en PBS 1X contenant 4% de paraformaldéhyde pendant 20 minutes à température ambiante, puis lavés 2 fois en PBS 1X et perméabilisés en PBT pendant 30 minutes. Le blocage est réalisé en PBS 1X, contenant 0,3% de Triton X-100 et 0,1% de BSA pendant 30 minutes à température ambiante. Les lamelles sont ensuite incubées avec l'anticorps primaire en PBS 1X / Triton 0,3% / BSA 0,1% pendant une nuit à 4°C. Après 3 lavages en PBS 1X / Triton 0,3% / BSA 0,1%, les lamelles sont incubées avec l'anticorps secondaire en PBS 1X / Triton 0,3% / BSA 0,1% pendant 1h à température ambiante, lavées 2 fois au PBT, 2 fois au PBS 1X, et sont finalement incubées avec une solution de DAPI pendant 12 minutes. Après 3 lavages au PBS 1X, les lamelles sont retournées sur 5 µL de Vectashield déposés sur une lame et observées en microscopie confocale.

smiFISH et hybridation in situ sur glandes lymphatiques

Les expériences de smiFISH permettant la détection du transcrits *pnr* ont été réalisées sur les glandes lymphatiques selon le protocole de *Trcek et al., 2016*. La liste des sondes utilisées est fournie en Table 1. Les sondes ont été générées à partir de la séquence codante du transcrit D de *pannier* (NM_001275692), et couplées à une séquence FLAP-X. Après dissection et montage entre lame et lamelle en Vectashield, les lames ont été observées en microscopie confocale.

Pour les expériences d'hybridation *in situ* révélées en NBT-BCIP, les échantillons ont été fixés en PBS 1X contenant 4% de para-formaldéhyde pendant 20 minutes à température ambiante, rincés rapidement 4 fois dans 1 mL de méthanol et stockés en méthanol à -20°C, pour une durée minimum d'une nuit. Les échantillons fixés ont été lavés plusieurs fois en PBS 1X contenant 0,1% de TweenTM 20 (PBSTw), puis incubés 1h à 65°C dans le tampon d'hybridation (50% Formamide déionisée, SSC2X, ARN de Torula 1mg/mL, Héparine 0,05mg/mL, Roche Blocking Reagent 2%, CHAPS 10%, EDTA 5mM, Tween20 0,1%). L'hybridation de la sonde a été réalisée pendant une nuit à 65°C dans tampon d'hybridation contenant la sonde *pnr*. La sonde ARN anti-sens *pnr* a été synthétisées à partir d'un plasmide contenant l'ADNc linéarisé de l'isoforme Pnr α (*Haenlin et al., 1997*) en présence de NTP et de Dig-UTP (Roche Diagnostics). La sonde ARN a ensuite été précipitée

73

en présence de LiCl et d'ARNt puis reprise dans du tampon d'hybridation. Le lendemain, les échantillons ont été incubés pendant une heure à 65°C dans le tampon d'hybridation, puis 20 minutes dans une solution volume-à-volume de tampon d'hybridation / PBSTw. Les échantillons ont ensuite été lavés 3 fois au PBSTw à température ambiante et incubés en PBSTw contenant 1% de sérum de veau fœtal (PBSTw-FCS) pendant 30 minutes. Les larves ont ensuite été incubées pendant 2h à température ambiante dans du PBSTw-FCS contenant des anticorps α-Dig conjugués à de la phosphatase alcaline (Roche). Ensuite, après 5 lavages successifs de 10 minutes en PBSTw, les échantillons ont été incubés 10 minutes avec le tampon de coloration (MgCl2 50mM, NaCl 100mM, Tris-HCl PH 9,5 100mM et du TweenTM 20 0,1%), puis révélés au NBT/BCIP (Promega). Après dissection et montage entre lame et lamelle en Vectashield, les images ont été acquises par le microscope Nikon Eclipse 80i (logiciel NIS-Element).

Imagerie photonique confocale et quantification des immunomarquages

Les échantillons ont été imagés grâce aux microscopes confocaux inversés Leica SP8 et Zeiss 710 disponibles sur la plateforme LITC/Génotoul. Le système d'optimisation des logiciels associés aux confocaux (Leica LAS-X Life Science et Zen Software) a été utilisé pour imager le bon nombre d'images en Z. Pour la génération de figures, des projections d'intensité maximale de chaque Zstack ont été réalisées grâce au logiciel d'analyse d'image Fiji.

Les cellules à cristaux ont été marquées avec un anticorps α -Hindsight (Hnt), les plasmatocytes avec l'anticorps α -P1 et les progéniteurs core avec l'anticorps α -Collier (Col). Les noyaux ont été marqués au DAPI. Les quantifications du nombre ou du volume (en µm3) des différents types cellulaires par lobe antérieur ont été réalisées grâce au plug-in 3DSuite de Fiji. L'index de cellules à cristaux a été calculé comme suit : [(Nombre de cellules à cristaux)/(Volume du lobe)] x100. L'index de progéniteurs core et de plasmatocytes a été calculé comme suit : [(Volume de Plasmatocytes ou de Progéniteurs/Volume du lobe)x100]. Pour toutes les quantifications, des analyses statistiques ont été réalisées grâce au logiciel GraphPad Prism. Les tests suivants ont été utilisés : Mann-Whitney pour les expériences comparant deux conditions et une analyse d'ANOVA suivie d'un test de Dunnett pour les expériences à trois conditions ou plus.

74

RNA-Seq dans les progéniteurs de la glande lymphatique

Comme pour toutes les analyses de glandes lymphatiques après interférence à l'ARN, les embryons pondus se sont développés à 22°C pendant 24h, puis les tubes ont été transférés à 29°C. Après 48h d'interférence à l'ARN, les lobes antérieurs des glandes lymphatiques ont été disséqués en milieu Schneider (Gibco), supplémenté en sérum de veau fœtal 10% (Schneider/FCS), préalablement refroidi, sans étape de fixation préalable. Un round de dissection a duré au maximum 30 min, après lesquelles les lobes ont été transférés dans 50 µL de PBS 1X contenant 0.1 mM d'EDTA. Puis, 200 µL de Trypsine-LE 10X ont immédiatement été ajoutés à chaque échantillon. Les échantillons ont alors été incubés à 37°C pendant 9 min afin de dissocier les cellules. La dissociation a été arrêtée par ajout de 750 µL de milieu Schneider/FCS froid. Les cellules dissociées ont été filtrées sur un filtre de 40 µm, puis resuspendues dans du milieu Schneider/FCS froid et triées par FACS (FACS ARIAIII - Logiciel FACS Diva) sur la base d'une expression forte de GFP (exprimée spécifiquement dans les progéniteurs). Les cellules sélectionnées ont été récupérées dans 200 µL de Trizol (Invitrogen™) et envoyées à la société Genwiz/Azenta pour extraction d'ARN et séquençage. Ces séquences générées ont été alignées sur le génome « Dm6 » avec le logiciel Star en utilisant les paramètres par défaut (Dobin et al., 2013). Les transcrits exprimés ont été quantifiés par HTSeqCount (Anders et al., 2015) sur la base des exons présents dans l'annotation R6.18 de Flybase. La normalisation et l'analyse différentielle des résultats ont été réalisées avec le package DESeq2 sur R (R Core Team, 2021).

Traitement par ARNi et qPCR sur cellules S2

Les conditions de culture de la lignée cellulaire S2, des traitements par différents ARNi, la méthode de production et de purification des ARNi ainsi que les conditions de Reverse Transcription/qPCR ont été précédemment décrites (*Gobert et al., 2010*). La liste des amorces spécifiquement utilisées dans cette étude est fournie en Table 1.

AnticorpsremarquesCollierDon de M. CrozatierKrzemien et al., 2007 dilution 1/100*meHntDevelopmental Studies Hybridoma Bankdilution 1/100*meP1Don de I. AndoKruze et al., 2007 dilution 1/10*mear.P54Don de M. CrozatierKrzemien et al., 2007 dilution 1/10*meBintégrineDevelopmental Studies Hybridoma Bankdilution 1/100*meHABiolegenddilution 1/100*meHABiolegenddilution 1/100*meHABiolegenddilution 1/500*meHABiolegenddilution 1/500*meAlexa Fluor-555Molecular Probedilution 1/500*meDAPISigma-Aldrich1 µg/mlUignées de DrosophilesScott et al., 2001w ⁿ¹¹⁸ BL605Scott et al., 2001enok ^{VAT.} Généré dans l'équipeCook et al., 2002Df(2R)BSC155BL9691Cook et al., 2002domeMeso-Gal4Don de M. CrozatierLouradour et al., 2002pcol85-Gal4Don de M. CrozatierBourbon et al., 2002JF01355 ARNI- enok2BL42941Scott et al., 2002HMS02063 ARNI- enok2BL42941Scott et al., 2002HMS0263 ARNI- enok2BL3703Li3703HMS0202 ARNI- pnr1BL3697HistopaHMS02082 ARNI- pnr1BL3697HistopaHMS01082 ARNI- pnr2BL3744Scott et al., 2014	Réactif / outil	Source	Référence /
AnticorpsKrzemien et al., 2007 dilution 1/100 tmsCollierDon de M. CrozatierKrzemien et al., 2007 dilution 1/100 tmsP1Don de I. AndoKurucz et al., 2007 dilution 1/100 tmsaPS4Don de M. CrozatierKrzemien et al., 2007 Dilution 1/100 tmsβ-intégrineDevelopmental Studies Hybridoma Bankdilution 1/100 tmsHABiolegenddilution 1/100 tmsHABiolegenddilution 1/100 tmsHABiolegenddilution 1/100 tmsAlexa Fluor-488Molecular Probedilution 1/500 tmsAlexa Fluor-555Molecular Probedilution 1/500 tmsDAPISigma-Aldrich1 µg/mLLignées de enok ¹ Difficon 1/500 tmsdilution 1/500 tmsDrosophilesNorestantGenis et al., 2001w ¹¹³⁸ BL3605Scott et al., 2001enok ⁴⁰²⁵³ DGRC109887Berger et al., 2008enok ⁴⁰⁴⁷⁴ Généré dans l'équipeZo20Dri2R)BSC155BL9691Cook et al., 2012dome ⁴⁰³⁷⁵ -Gal4Don de M. CrozatierZo207pcol85-Gal4Don de M. CrozatierBourbon et al., 2004HMS02053 ARNi- enok1BL42941Hims0263 ARNi- enok2HMS0263 ARNi- enok2BL31003Liaton3HMS02657 ARNi- trx1BL31092Liaton3HMS020570 ARNi- pn1BL3202Hims0102 ARNi- mael1HMS02082 ARNi- pn1BL3202Hims0102 ARNi- mael1HMS02082 ARNi- pn1BL3503Hims0102 ARNi- mael1HMS0			remarques
CollierDon de M. CrozatierKrzenier et al., 2007 dilution 1/So ^{me} HntDevelopmental Studies Hybridoma Bankdilution 1/So ^{me} P1Don de I. AndoKurucz et al., 2007 dilution 1/30 ^{me} aPS4Don de M. CrozatierDilution 1/30 ^{me} j-intégrineDevelopmental Studies Hybridoma Bankdilution 1/30 ^{me} HABiolegenddilution 1/100 ^{eme} HABiolegenddilution 1/500 ^{eme} Alexa Fluor-488Molecular Probedilution 1/500 ^{eme} Alexa Fluor-55Molecular Probedilution 1/500 ^{eme} DAPISigma-Aldrich1 µg/mlLignées de DrosophilesScott et al., 2001enok ¹ BL6284Scott et al., 2001enok ¹ BL6284Scott et al., 2001enok ¹ Befare et al., 2007Cock et al., 2001pol85-Gal4Don de M. CrozatierCock et al., 2002pol85-Gal4Don de M. CrozatierCock et al., 2002pol85-Gal4Don de M. CrozatierBaurbon et al., 2002I/Cal555 ARNI- luciferaseBL3603Scott et al., 2002I/Cal557 ARNI- br140-1BL42331Scott et al., 2002I/MS00263 ARNI- lenok2BL42331Scott et al., 2004HMS00267 ARNI- br140-2BL3703Scott et al., 2004HMS00202 ARNI- pnr1BL3502Scott et al., 2004HMS00202 ARNI- pnr1BL3503Scott et al., 2014HMS00202 ARNI- pnr2BL3744Scott et al., 2014	Anticorps		
HitDevelopmental Studies Hybridoma Bankdilution 1/100 fmmP1Don de I. AndoKurucz et al., 2007 dilution 1/30kmau-P54Don de M. CrozatierKrzenien et al., 2007 Dilution 1/100kmaβ-intégrineDevelopmental Studies Hybridoma Bankdilution 1/100kmaHAX23acMerck Millipore (07-355)Dilution 1/100kmaHABiolegenddilution 1/1500 ^{rma} Alexa Fluor-488Molecular Probedilution 1/500 ^{rma} Alexa Fluor-555Molecular Probedilution 1/500 ^{rma} DAPISigma-Aldrich1 µg/ml.Lignées de DrosophilesDicko 1/500 ^{stma} w ¹¹¹⁸ BL3605Eerger et al., 2001 2020enok ¹²⁴³ DCRC109887Berger et al., 2008 2020enok ¹²⁴⁵ BL6284Cook et al., 2012 2020domeMeso-Gal4Don de M. CrozatierZ020 2020f0/128/BSC155BL9691Cook et al., 2012 2020domeMeso-Gal4Don de M. CrozatierZ017 2021pc085-Gal4Don de M. CrozatierBourbon et al., 2002HMS02634 ARNi- enok2BL4231Hiton 4/1002 HMS02634 ARNi- BL4231HMS002634 ARNi- enok2BL42502Hiton et al., 2002HMS00570 ARNi- huftor2 ARNi- mael1BL3603Hiton et al., 2002HMS00570 ARNi- mael1BL3703Hiton et al., 2002HMS00570 ARNi- mael1BL3697Hiton et al., 2014HMS00102 ARNi- pur2BL3374Yeas-CaseHMS01082 ARNi- pur2BL3373Port et al., 2014 <td>Collier</td> <td>Don de M. Crozatier</td> <td>Krzemien et al., 2007</td>	Collier	Don de M. Crozatier	Krzemien et al., 2007
Hnt Developmental studies Hybridoma Bank diution 1/100 ^{-ms} P1 Don de I. Ando Kurucz et al., 2007 α-P54 Don de M. Crozatier Krzemien et al., 2007 β-Intégrine Developmental Studies Hybridoma Bank dilution 1/100 ^{eme} H3K23ac Merck Millipore (07-355) Dilution 1/100 ^{eme} H4 Biolegend dilution 1/500 ^{eme} Alexa Fluor-488 Molecular Probe dilution 1/500 ^{eme} Alexa Fluor-555 Molecular Probe dilution 1/500 ^{eme} DAPI Sigma- Aldrich 1 µg/ml. Lignées de prosophiles w ¹³¹⁸ BL605 Geneix et al., 2008 enok ⁴³³ DGRC109887 Berger et al., 2008 enok ⁴³⁴¹ Généré dans l'équipe Cook et al., 2012 domeMeso-Gal4 Don de M. Crozatier Z007 pf(2R)BSC155 BL9691 Cook et al., 2012 lucferase Bl31603 Bl31603 lucferase Bl31603 Lisferase HMX02028 ARNi- enok1 BL42941 HMX02027 ARNi- br		Developmental Chudica Unkridence Develo	dilution 1/50 ^{eme}
P1 Don de I. Ando NUMERAL α-P54 Don de M. Crozatier Krzenien et al., 2007 β-intégrine Developmental Studies Hybridoma Bank dilution 1/100 ^{cme} H3K23ac Merck Millipore (07-355) Dilution 1/400 ^{cme} HA Biolegend dilution 1/500 ^{cme} Alexa Fluor-488 Molecular Probe dilution 1/500 ^{cme} DAPI Sigma- Aldrich 1 µg/ml. Lignées de probe dilution 1/500 ^{cme} Orsophiles w ¹¹¹⁸ BL605 enok ⁴ enok ⁴⁰⁷³ DGRC109887 Berger et al., 2001 enok ⁴⁰⁷³ DGRC109887 Berger et al., 2003 enok ⁴⁰⁷⁴ Généré dans l'équipe Cook et al., 2012 domeMeso-Gal4 Don de M. Crozatier Cook et al., 2022 1071355 ARNI- BL4231 Elso34 HMS02634 ARNi- enok2 BL31603 enok1. HMS02634 ARNi- enok2 BL42502 problemet al., 2004 HMS02634 ARNi- enok2 BL31092 problemet al., 2002 HMS02634 ARNi- enok2 BL33703 problemet al. <	Hnt	Developmental Studies Hybridoma Bank	dilution 1/100 cmc
a-P54Don de M. CrozatierKrzenien et al., 2007 Dilution 1/100èmeβ-intégrineDevelopmental Studies Hybridoma Bankdilution 1/100èmeH3K23acMerck Millipore (07-355)Dilution 1/400 ^{sme} HABiolegenddilution 1/500 ^{sme} Alexa Fluor-488Molecular Probedilution 1/500 ^{sme} Alexa Fluor-555Molecular Probedilution 1/500 ^{sme} DAPISigma- Aldrich1 µg/mLLignées deprosophilesW ¹¹³⁸ Bi.6605enok ⁴ Bi.6284Scott et al., 2001enok ⁴²³³ DGRC109887Berger et al., 2001enok ⁴²³⁴ Généré dans l'équipeGenais et al., bioRviv 2020bf(2R)BSC155Bi.9691Cook et al., 2012domeMeso-Gal4Don de M. CrozatierLouradour et al., 2017pcol85-Gal4Don de M. CrozatierBorbon et al., 2002HMS02634 ARNi- enok2Bi.42941HMS02634 ARNi- enok2Bi.42941HMS02634 ARNi- br140-1Bi.42502HMS02634 ARNi- br140-2Bi.42502HMS02637 ARNi- br140-2Bi.31092HMS02637 ARNi- br140-2Bi.33703HMS00370 ARNi- mael1Bi.33703HMS00370 ARNi- mael1Bi.33744HMS0182 ARNi- por2Bi.33744HMS0182 ARNi- por2Bi.33744HMS0182 ARNi- por2Bi.33744HMS0182 ARNi- por2Bi.33744 <tr <tr="">HMS0182 ARNi- por2</tr>	P1	Don de I. Ando	dilution 1/30 ^{ème}
β-intégrineDevelopmental Studies Hybridoma Bankdilution 1/100 ^{eme} H3K23acMerck Millipore (07-355)Dilution 1/4400 ^{eme} HABiolegenddilution 1/500 ^{eme} Alexa Fluor-488Molecular Probedilution 1/500 ^{eme} Alexa Fluor-555Molecular Probedilution 1/500 ^{eme} DAPISigma- Aldrich1 µg/mLLignées deDrosophilesw ¹¹¹⁸ BL3605enok ¹ BL6284Scott et al., 2001enok ¹²³³ DGRC109887Berger et al., 2008enok ^{1447.} Généré dans l'équipeGenois et al., bioRviv 2020Df(2R)BSC155BL9691Cook et al., 2012domeMeso-Gal4Don de M. CrozatierLouradour et al., 2017pcol85-Gal4Don de M. CrozatierBourbon et al., 2002JF01355 ARNI- enok1BL42941HMS020634 ARNi- enok2BL42331HMS020634 ARNi- enok2BL42502HMS02067 ARNI- br140-2BL3703HMS00102 ARNI- mael1BL34793BL3703L34793HMS00102 ARNI- mael2BL33744HMS01082 ARNI- mael2BL3374Vasa-Cas9BL51323Port et al., 2014	α-PS4	Don de M. Crozatier	<i>Krzemien et al., 2007</i> Dilution 1/100ème
H3K23acMerck Millipore (07-355)Dilution 1/4400 ^{kme} HABiolegenddilution 1/500 ^{kme} Alexa Fluor-488Molecular Probedilution 1/500 ^{kme} Alexa Fluor-555Molecular Probedilution 1/500 ^{kme} DAPISigma-Aldrich1 µg/mLLignées deprosophilesw ¹¹³⁸ BL3605enok ¹³ DGRC109887Berger et al., 2001enok ¹⁴ Généré dans l'équipeGenois et al., bioRviv 2020Df(2)BSC155BL9691Cook et al., 2011dome%eo-Gal4Don de M. CrozatierCoox et al., 2002JF01355 ARNi- luciferaseBL31603HMX02048 ARNi- enok2BL42941HMX02043 ARNi- 	β-intégrine	Developmental Studies Hybridoma Bank	dilution 1/100 ^{ème}
HABiolegenddilution 1/500 ^{bme} Alexa Fluor-488Molecular Probedilution 1/500 ^{bme} Alexa Fluor-555Molecular Probedilution 1/500 ^{bme} DAPISigma-Aldrich1 µg/mLLignées deDrosophilesw1118BL3005enok ¹ BL6284Scott et al., 2001enok ¹²⁵³ DGRC109887Berger et al., 2002enok ^{KAT:} Généré dans l'équipeCook et al., 2012domeMeso-Gal4Don de M. CrozatierLouradour et al., 2017domeMeso-Gal4Don de M. CrozatierCrozotier et al., 2004dome ^{PC125} -Gal4Don de M. CrozatierBourbon et al., 2002JF01355 ARNI- luciferaseBL42941HMS02634 ARNi- enok2BL42502HMC04342 ARNi- br140-1BL42502JF01557 ARNI- br140-2BL31092HMS00102 ARNi- mael1BL3703HMS00102 ARNi- mael2BL33703HMS00102 ARNi- mael2BL33744HMS01082 ARNi- mael2BL3323Port et al., 2014	H3K23ac	Merck Millipore (07-355)	Dilution 1/4400 ^{ème}
Alexa Fluor-488Molecular Probedilution 1/500 ^{kme} Alexa Fluor-555Molecular Probedilution 1/500 ^{kme} DAPISigma-Aldrich1 µg/mLLignées de Drosophiles1w ¹¹¹⁸ BL3605enok1BL6284Scott et al., 2001enok233DGRC109887Berger et al., 2008enok4BL6284Scott et al., 2001enok4Bl6991Cook et al., 2012domeMeso-Gal4Don de M. CrozatierLouradour et al., 2017pcol85-Gal4Don de M. CrozatierBourbon et al., 2002luciferaseBL31603HMS02048 ARNi- enok1BL42941enok1BL42941HMS02043 ARNi- enok1BL4202JF01355 ARNi- luciferaseBL3092HMS02043 ARNi- enok1BL4202HMS02043 ARNi- enok1BL42941HMS02043 ARNi- enok2BL31003HMS02043 ARNi- enok2BL31092HMS02043 ARNi- enok2BL33703HMS02043 ARNi- mael1BL3703HMS00102 ARNi- mael2BL3374HMS00108 ARNi- mael2BL3374HMS01082 ARNi- pnr2BL3373HMS01082 ARNi- pnr2BL3373HMS01082 ARNi- pnr2BL3374HMS01082 ARNi- pnr2BL3323HMS01082 ARNi- pnr2BL3323HMS01082 ARNi- pnr2BL3323HMS01082 ARNi- pnr2BL3374HMS01082 ARNi- pnr2BL3202HMS01082 ARNi- pnr2BL3204HMS01082 ARNi-	HA	Biolegend	dilution 1/500 ^{ème}
Alexa Fluor-555Molecular Probedilution 1/500 ^{eme} DAPISigma-Aldrich1 µg/mLLignées de Drosophiles1w118BL3605enok ¹³ BCRC109887Berger et al., 2008enok ²³³ DGRC109887Berger et al., 2008enok ⁴³⁴⁺ Généré dans l'équipeGenais et al., bioRviv 2020Df(2R)BSC155BL9691Cook et al., 2012domeMeso-Gal4Don de M. CrozatierLouradour et al., 2004dome ^{SC132,} Gal4Don de M. CrozatierBourdour et al., 2002JF01355 ARNi- enok2BL31603BL42941HMS02048 ARNi- enok2BL42331El42941HMC04342 ARNi- br140-2BL56034StatogenHMS02067 ARNi- br140-2BL31092IJF01557 ARNi- trx2BL3092IBL3703BL3703IHMS00102 ARNi- mael1BL3607IHMS00102 ARNi- mael2BL3697IHMS01082 ARNi- mael2BL3374IHMS01082 ARNi- pnr2BL51323Port et al. 2014	Alexa Fluor-488	Molecular Probe	dilution 1/500 ^{ème}
DAPISigma-Aldrich1 μg/mLLignées de Drosophiles	Alexa Fluor-555	Molecular Probe	dilution 1/500 ^{ème}
Lignées de DrosophilesImage: Construct of the system of t	DAPI	Sigma- Aldrich	1 μg/mL
Drosophilesw1138BL3605enok1BL6284enok233DGRC109887Berger et al., 2001enok247Généré dans l'équipeGénéré dans l'équipeGenais et al., bioRviv 2020Df(2R)BSC155BL9691Cook et al., 2012domeMeso-Gal4Don de M. CrozatierCoratier et al., 2004dome ^{Meso-Gal4} Don de M. CrozatierCrozatier et al., 2004dome ^{Ma125} -Gal4Don de M. CrozatierBourbon et al., 2002JF01355 ARNI- luciferaseBl.31603Bl42941HMS02634 ARNI- enok2Bl42941EleventHMS02048 ARNI- enok2Bl42931Bl42941HMS02667 ARNI- enok2Bl42502StateJF01557 ARNI- trx1Bl3092StateHMS00102 ARNI- mael1BL33703StateGL00077 ARNI- mael2Bl33697Bl33744HMS01082 ARNI- pnr2Bl3374Port et al., 2014	Lignées de		
w ¹¹¹⁸ BL3605 enok ¹ BL6284 Scott et al., 2001 enok ²³³ DGRC109887 Berger et al., 2008 enok ^{KAT.} Généré dans l'équipe Genais et al., bioRviv 2020 Df(2R)BSC155 BL9691 Cook et al., 2012 domeMeso-Gal4 Don de M. Crozatier 2017 pcol85-Gal4 Don de M. Crozatier Bourbon et al., 2002 JF01355 ARNi- luciferase BL31603 BL31603 HMS02043 ARNi- enok2 BL42941 BL42941 HMS02048 ARNi- enok2 BL42941 BL4231 HMC03424 ARNi- br140-1 BL56034 BL42502 JF01557 ARNi- trx1 BL31092 I HMS00580 ARNi- trx2 BL3703 I HMS00570 ARNi- mael1 BL3703 I GL00077 ARNi- mael2 BL33697 I HMS01082 ARNi- pnr1 BL33697 I HMS01082 ARNi- pnr2 BL3374 Port et al 2014	Drosophiles		
enok1 BL6284 Scott et al., 2001 enok4253 DGRC109887 Berger et al., 2008 enokK4T* Généré dans l'équipe Genais et al., bioNviv 2020 Df(2R)BSC155 BL9691 Cook et al., 2012 domeMeso-Gal4 Don de M. Crozatier Louradour et al., 2017 pcol85-Gal4 Don de M. Crozatier Crozatier et al., 2004 dome*Gi125-Gal4 Don de M. Crozatier Bourbon et al., 2002 JF01355 ARNI- luciferase BL31603 BL42941 HMS02034 ARNI- enok1 BL42941 BL42941 HMS02048 ARNI- enok2 BL42331 BL42331 HMC04342 ARNI- br140-2 BL42502 Listona JF01557 ARNI- br140-2 BL42502 Listona JF01557 ARNI- trx1 BL31092 Listona HMS00102 ARNI- mael1 BL3703 Listona HMS00570 ARNI- pnr1 BL33697 Listona HMS00052 ARNI- pnr2 BL33744 Port et al 2014	w ¹¹¹⁸	BL3605	
enokQ253DGRC109887Berger et al., 2008enokKAT-Généré dans l'équipeGenois et al., bioRviv 2020Df(2R)BSC155BL9691Cook et al., 2012domeMeso-Gal4Don de M. CrozatierLouradour et al., 2017pcol85-Gal4Don de M. CrozatierCrozatier et al., 2004dome ^{Fe125} -Gal4Don de M. CrozatierBourbon et al., 2002JF01355 ARNi- luciferaseBL31603BL42941HMS02634 ARNi- enok1BL42331BL42341HMS02048 ARNi- enok2BL42502BL42502JF01557 ARNi- br140-2BL42502BL31092JF01557 ARNi- trx1BL31092LHMS00580 ARNi- mael1BL34793BL34793GL0077 ARNi- mael2BL32502LHMS0102 ARNi- mael2BL3697LHMS01082 ARNi- pnr1BL33744Port et al., 2014	enok ¹	BL6284	Scott et al., 2001
enokGénáré dans l'équipeGenais et al., bioRviv 2020Df(2R)BSC155BL9691Cook et al., 2012domeMeso-Gal4Don de M. CrozatierLouradour et al., 2017pcol85-Gal4Don de M. CrozatierCrozatier et al., 2004dome ^{FG125} -Gal4Don de M. CrozatierBourbon et al., 2002JF01355 ARNi- luciferaseBL31603BL42941HMS02634 ARNi- enok1BL42941ElHMS02048 ARNi- enok2BL42331ElHMC04342 ARNi- enok2BL42502JF01355HMS0207 ARNi- br140-1BL42502JF01357HMS00580 ARNi- trx1BL31092HIHMS00102 ARNi- mael1BL35202BL33697HMS01082 ARNi- pnr1BL33704Port et al., 2014	enok ^{Q253}	DGRC109887	Berger et al., 2008
Df(2R)BSC155BL9691Cook et al., 2012domeMeso-Gal4Don de M. CrozatierLouradour et al., 2017pcol85-Gal4Don de M. CrozatierCrozatier et al., 2004dome ^{Pc125} -Gal4Don de M. CrozatierBourbon et al., 2002JF01355 ARNi- luciferaseBL31603Bl42941HMS02634 ARNi- enok1BL42331BL42331HMC02048 ARNi- 	enok ^{KAT-}	Généré dans l'équipe	Genais et al., bioRviv 2020
domeMeso-Gal4Don de M. CrozatierLouradour et al., 2017pcol85-Gal4Don de M. CrozatierCrozatier et al., 2004domePG125-Gal4Don de M. CrozatierBourbon et al., 2002JF01355 ARNi- luciferaseBL31603Bl42941HMS02634 ARNi- enok1BL42331BL42331HMS02048 ARNi- 	Df(2R)BSC155	BL9691	Cook et al., 2012
pcol85-Gal4Don de M. CrozatierCrozatier et al., 2004domePG125-Gal4Don de M. CrozatierBourbon et al., 2002JF01355 ARNi- luciferaseBL31603BL31603HMS02634 ARNi- enok1BL42941Image: Constant of the second	domeMeso-Gal4	Don de M. Crozatier	Louradour et al., 2017
dome ^{P6125} -Gal4 Don de M. Crozatier Bourbon et al., 2002 JF01355 ARNi- luciferase BL31603 BL31603 HMS02634 ARNi- enok1 BL42941	pcol85-Gal4	Don de M. Crozatier	Crozatier et al., 2004
JF01355 ARNi- luciferase BL31603 HMS02634 ARNi- enok1 BL42941 HMS02048 ARNi- enok2 BL42331 HMC04342 ARNi- br140-1 BL56034 HMI202067 ARNi- br140-2 BL42502 JF01557 ARNi- trx1 BL31092 HMS00580 ARNi- trx2 BL33703 HMS00102 ARNi- mael1 BL34793 GL00077 ARNi- mael2 BL3202 HMS00570 ARNi- pnr1 BL33697 HMS01082 ARNi- pnr2 BL33744 Vasa-Cas9 BL51323	dome ^{PG125} -Gal4	Don de M. Crozatier	Bourbon et al., 2002
IuciferaseBL31603HMS02634 ARNi- enok1BL42941HMS02048 ARNi- enok2BL42331HMC04342 ARNi- br140-1BL56034HMI02067 ARNi- br140-2BL42502JF01557 ARNi- trx1BL31092HMS00580 ARNi- trx2BL33703HMS00102 ARNi- mael1BL34793GL00077 ARNi- mael2BL35202HMS00570 ARNi- mael2BL33703HMS00580 ARNi- trx2BL34793GL00077 ARNi- mael2BL34793HMS00580 ARNi- trx2BL33703HMS00580 ARNi- mael1BL34793GL00077 ARNi- mael2BL33704HMS01082 ARNi- pnr1BL33744HMS01082 ARNi- pnr2BL3373Port et al. 2014	JF01355 ARNi-	DI 24 CO2	
HMS02634 ARNi- enok1 BL42941 HMS02048 ARNi- enok2 BL42331 HMC04342 ARNi- br140-1 BL56034 HMJ02067 ARNi- br140-2 BL42502 JF01557 ARNi- trx1 BL31092 HMS00580 ARNi- trx2 BL33703 HMS00102 ARNi- mael1 BL34793 GL00077 ARNi- mael2 BL35202 HMS00570 ARNi- pnr1 BL33697 HMS01082 ARNi- pnr2 BL33744 Vasa-Cas9 BL51323	luciferase	BL31603	
enok1 B42941 HMS02048 ARNi- enok2 BL42331 HMC04342 ARNi- br140-1 BL56034 HMJ02067 ARNi- br140-2 BL42502 JF01557 ARNi- trx1 BL31092 HMS00580 ARNi- trx2 BL33703 HMS00102 ARNi- mael1 BL34793 GL00077 ARNi- mael2 BL35202 HMS00570 ARNi- pnr1 BL33697 HMS01082 ARNi- pnr2 BL33744 Vasa-Cas9 BL51323	HMS02634 ARNi-	DI 42041	
HMS02048 ARNi- enok2 BL42331 HMC04342 ARNi- br140-1 BL56034 HMJ02067 ARNi- br140-2 BL42502 JF01557 ARNi- trx1 BL31092 HMS00580 ARNi- trx2 BL33703 HMS00102 ARNi- mael1 BL34793 GL00077 ARNi- mael2 BL35202 HMS00570 ARNi- pnr1 BL33697 HMS01082 ARNi- pnr2 BL33744 Vasa-Cas9 BL51323	enok1	DL42341	
HMC04342 ARNi- br140-1 BL56034 HMJ02067 ARNi- br140-2 BL42502 JF01557 ARNi- trx1 BL31092 HMS00580 ARNi- trx2 BL33703 HMS00102 ARNi- mael1 BL34793 GL00077 ARNi- mael2 BL35202 HMS00570 ARNi- pnr1 BL33697 HMS01082 ARNi- pnr2 BL33744 Vasa-Cas9 BL51323	HMS02048 ARNi- enok2	BL42331	
HMJ02067 ARNi- br140-2 BL42502 JF01557 ARNi- trx1 BL31092 HMS00580 ARNi- trx2 BL33703 HMS00102 ARNi- mael1 BL34793 GL00077 ARNi- mael2 BL35202 HMS00570 ARNi- pnr1 BL33697 HMS01082 ARNi- pnr2 BL33744	HMC04342 ARNi- br140-1	BL56034	
JF01557 ARNi- trx1 BL31092 HMS00580 ARNi- trx2 BL33703 HMS00102 ARNi- mael1 BL34793 GL00077 ARNi- mael2 BL35202 HMS00570 ARNi- pnr1 BL33697 HMS01082 ARNi- pnr2 BL33744 Vasa-Cas9 BL51323	HMJ02067 ARNi- br140-2	BL42502	
HMS00580 ARNi- trx2 BL33703 HMS00102 ARNi- mael1 BL34793 GL00077 ARNi- mael2 BL35202 HMS00570 ARNi- pnr1 BL33697 HMS01082 ARNi- pnr2 BL33744 Vasa-Cas9 BL51323	JF01557 ARNi- trx1	BL31092	
HMS00102 ARNi- mael1 BL34793 GL00077 ARNi- mael2 BL35202 HMS00570 ARNi- pnr1 BL33697 HMS01082 ARNi- pnr2 BL33744 Vasa-Cas9 BL51323	HMS00580 ARNi- trx2	BL33703	
GL00077 ARNi- mael2 BL35202 HMS00570 ARNi- pnr1 BL33697 HMS01082 ARNi- pnr2 BL33744 Vasa-Cas9 BL51323	HMS00102 ARNi-	BL34793	
HMS00570 ARNi- pnr1 BL33697 HMS01082 ARNi- pnr2 BL33744 Vasa-Cas9 BL51323	GL00077 ARNi- mael2	BL35202	
HMS01082 ARNi- pnr2 BL33744 Vasa-Cas9 BL51323	HMS00570 ARNi-	BL33697	
Vasa-Cas9 BL51323 Port et al 2014	HMS01082 ARNi-	BL33744	
	Vasa-Cas9	BL51323	Port et al., 2014

Table 1: Liste des réactifs et outils utilisés dans cette étude

pnr ^{vx6}	BL6334	Lee et Treisman.,		
+ryE2	PI 24160	2001		
	BL24100			
Amorces PCR				
Guide 3HA Enok	GTCGATGCGCCGATTCCCTCATCA			
Sens				
Guide 3HA Enok	AAACTGATGAGGGAATCGGCGCAT			
Seq pCFD3 3				
Sey perus 5				
3HA enok HAL F				
3HA enok HAL R				
3HA ENOK HAR F				
3HA enok HAR R				
Crible 3HA-Enok ext F	GGCCGGGGACTACTCATTTT			
Crible 3HA-Enok	TATCOCCTCCACCATCCACT			
ext R				
Crible 3HA-Enok	TCCATCTCCACCCCCTC			
int F	IGGATCICCACCGCGGTG			
ARNi ctrl F	taatacgactcactatagggACCCTCGTGACCACCCTGACCTAC	Cible la GFP		
ARNi ctrl R	taatacgactcactatagggGACCATGTGATCGCGCTTCTCGT	Cible la GFP		
ARNi enok 1 F	taatacgactcactatagggCGATAACCACGGCGAATAGT			
ARNi enok 1 R	taatacgactcactatagggGGTGTTCCGACTCGTGTTTT			
ARNi enok 2 F				
ARNi enok 2 R				
ARNi br140 1 F				
ARNi br140 1 R				
ARNi br1/0 2 F				
ARNI DI 140 Z R				
QPCR RP49 F				
QPCR RP49 R		Umor at al 2010		
qPCR pnr_E2F		Umer et al., 2019		
qPCR pnr_E3R		Umer et al., 2019		
Sondes pour				
smiFISH				
Pnr_1	AACGGCGCTACTGTGGTACA			
Pnr_2	ACGTAAACGGGAGCGTTTAC			
Pnr_3	GTTGTACTGTCGGTTGGATG			
Pnr_4	CAGCGCTTCCAAAATGAGCG			
Pnr_5	GTTTGGCGAGTAGAACTGTG			
Pnr_6	TAGGGCGAGGATCTTTGGAA			
Pnr_7	AAACTGGAAGTCCATAGCGC			
Pnr_8	CAACGGAGTCGATATGGCAC			
Pnr_9	CAGGCGTTGCACAGATAGTG			
Pnr_10	ATTCCGTTCATCTTATGGTA			
Pnr_11	CTTGCTAGGCTTGATCAGCG			
Pnr 12	AAAGTGTGGTGGTCCGAGTG			
Pnr_13	CGTGCAACTTGTAGTACAGT			

Pnr_14	ATGGCCAGTGGTCTGTTAAC
Pnr_15	TTCGTTTCCTGGTCTGAATG
Pnr_16	AACCACTTCCCGTTTTCTTG
Pnr_17	TGATGGCCTCCAAAGTGGAG
Pnr_18	AGCGAGGGTTTGAGATCATG
Pnr_19	TGCAGCTTACTGAGGCTATG
Pnr_20	CATCAAGGTGCTACTACTGC
Pnr_21	GAAAGCATTGTTGGTGTGCC
Pnr_22	GTCGTCGTCTGTCCGTAAAG
Pnr_23	AGAGGATGATGTCATGCTGT
Pnr_24	TGTGCGATGTGTAGGCAGAC
Pnr_25	GTAATGGGGCGAGGGAGTTC
Pnr_26	TGGAAATGATGATGTGCCGC
Pnr_27	TAGTCGTAGTTGGTGGCACT
Pnr_28	CCCAAAGTAGCAGTTGTTCA
Pnr_29	ATGACGTTGTGCTGGTGATG
Pnr_30	TACGAGGTGGCCATCAGTTT
FLAP-X	CCTCCTAAGTTTCGAGCTGGACTCAGTG

RÉFÉRENCES

- Akunuru, Shailaja, et Hartmut Geiger. « Aging, Clonality, and Rejuvenation of Hematopoietic Stem Cells ». *Trends in Molecular Medicine* 22, n° 8 (août 2016): 701-12. https://doi.org/10.1016/j.molmed.2016.06.003.
- Ali, Muzaffar, Kezhi Yan, Marie-Eve Lalonde, Cindy Degerny, Scott B. Rothbart, Brian D. Strahl, Jacques Côté, Xiang-Jiao Yang, et Tatiana G. Kutateladze. « Tandem PHD Fingers of MORF/MOZ Acetyltransferases Display Selectivity for Acetylated Histone H3 and Are Required for the Association with Chromatin ». *Journal of Molecular Biology* 424, nº 5 (14 décembre 2012): 328-38. https://doi.org/10.1016/j.jmb.2012.10.004.
- Almouzni, Geneviève, et Alan P. Wolffe. « Nuclear Assembly, Structure, and Function: The Use of Xenopus in Vitro Systems ». *Experimental Cell Research* 205, nº 1 (1 mars 1993): 1-15. https://doi.org/10.1006/excr.1993.1051.
- Al-Sabah, Jude, Chiara Baccin, et Simon Haas. « Single-Cell and Spatial Transcriptomics Approaches of the Bone Marrow Microenvironment ». *Current Opinion in Oncology* 32, n° 2 (mars 2020): 146-53. https://doi.org/10.1097/CCO.000000000000602.
- Anderl, Ines, Laura Vesala, Teemu O. Ihalainen, Leena-Maija Vanha-Aho, István Andó, Mika Rämet, et Dan Hultmark. « Transdifferentiation and Proliferation in Two Distinct Hemocyte Lineages in Drosophila Melanogaster Larvae after Wasp Infection ». *PLoS Pathogens* 12, nº 7 (juillet 2016): e1005746.

https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1005746.

- Anders, Simon, Paul Theodor Pyl, et Wolfgang Huber. « HTSeq--a Python Framework to Work with High-Throughput Sequencing Data ». *Bioinformatics (Oxford, England)* 31, n° 2 (15 janvier 2015): 166-69. https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btu638.
- Arboleda, Valerie A., Hane Lee, Naghmeh Dorrani, Neda Zadeh, Mary Willis, Colleen Forsyth Macmurdo, Melanie A. Manning, et al. « De Novo Nonsense Mutations in KAT6A, a Lysine Acetyl-Transferase Gene, Cause a Syndrome Including Microcephaly and Global Developmental Delay ». *American Journal of Human Genetics* 96, n° 3 (5 mars 2015): 498-506. https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2015.01.017.
- Arrowsmith, Cheryl H., Chas Bountra, Paul V. Fish, Kevin Lee, et Matthieu Schapira. « Epigenetic Protein Families: A New Frontier for Drug Discovery ». *Nature Reviews. Drug Discovery* 11, nº 5 (13 avril 2012): 384-400. https://doi.org/10.1038/nrd3674.
- Asada, Noboru, Yuya Kunisaki, Halley Pierce, Zichen Wang, Nicolas F. Fernandez, Alexander Birbrair, Avi Ma'ayan, et Paul S. Frenette. « Differential Cytokine Contributions of Perivascular Haematopoietic Stem Cell Niches ». *Nature Cell Biology* 19, n° 3 (mars 2017): 214-23. https://doi.org/10.1038/ncb3475.
- Asada, Noboru, Shoichiro Takeishi, et Paul S. Frenette. « Complexity of Bone Marrow Hematopoietic Stem Cell Niche ». *International Journal of Hematology* 106, n° 1 (juillet 2017): 45-54. https://doi.org/10.1007/s12185-017-2262-9.
- Avet-Rochex, Amélie, Karène Boyer, Cédric Polesello, Vanessa Gobert, Dani Osman, Fernando Roch, Benoit Augé, Jennifer Zanet, Marc Haenlin, et Lucas Waltzer. « An in vivo RNA interference screen identifies gene networks controlling Drosophila melanogasterblood cell homeostasis ». *BMC Developmental Biology* 10, nº 1 (11 juin 2010): 65. https://doi.org/10.1186/1471-213X-10-65.
- Avvakumov, N., et J. Côté. « The MYST Family of Histone Acetyltransferases and Their Intimate Links to Cancer ». *Oncogene* 26, n° 37 (13 août 2007): 5395-5407. https://doi.org/10.1038/sj.onc.1210608.
- Babcock, Daniel T., Amanda R. Brock, Greg S. Fish, Yan Wang, Laurent Perrin, Mark A. Krasnow, et Michael J. Galko. « Circulating Blood Cells Function as a Surveillance System for Damaged Tissue in Drosophila Larvae ». *Proceedings of the National Academy of Sciences of the*

United States of America 105, n° 29 (22 juillet 2008): 10017-22. https://doi.org/10.1073/pnas.0709951105.

- Baccin, Chiara, Jude Al-Sabah, Lars Velten, Patrick M. Helbling, Florian Grünschläger, Pablo Hernández-Malmierca, César Nombela-Arrieta, Lars M. Steinmetz, Andreas Trumpp, et Simon Haas. « Combined Single-Cell and Spatial Transcriptomics Reveal the Molecular, Cellular and Spatial Bone Marrow Niche Organization ». *Nature Cell Biology* 22, n° 1 (janvier 2020): 38-48. https://doi.org/10.1038/s41556-019-0439-6.
- Bailetti, Alessandro A., Lenny J. Negrón-Piñeiro, Vishal Dhruva, Sneh Harsh, Sean Lu, Aisha Bosula, et Erika A. Bach. « Enhancer of Polycomb and the Tip60 Complex Repress Hematological Tumor Initiation by Negatively Regulating JAK/STAT Pathway Activity ». *Disease Models & Mechanisms* 12, n° 5 (30 mai 2019): dmm038679. https://doi.org/10.1242/dmm.038679.
- Banerjee, Utpal, Juliet R. Girard, Lauren M. Goins, et Carrie M. Spratford. « Drosophila as a Genetic Model for Hematopoiesis ». *Genetics* 211, nº 2 (février 2019): 367-417. https://doi.org/10.1534/genetics.118.300223.
- Bannister, A. J., et T. Kouzarides. « The CBP Co-Activator Is a Histone Acetyltransferase ». *Nature* 384, n° 6610 (19 décembre 1996): 641-43. https://doi.org/10.1038/384641a0.
- Baryawno, Ninib, Dariusz Przybylski, Monika S. Kowalczyk, Youmna Kfoury, Nicolas Severe, Karin Gustafsson, Konstantinos D. Kokkaliaris, et al. « A Cellular Taxonomy of the Bone Marrow Stroma in Homeostasis and Leukemia ». *Cell* 177, nº 7 (13 juin 2019): 1915-1932.e16. https://doi.org/10.1016/j.cell.2019.04.040.
- Bataillé, Laetitia, Benoit Augé, Géraldine Ferjoux, Marc Haenlin, et Lucas Waltzer. « Resolving Embryonic Blood Cell Fate Choice in Drosophila: Interplay of GCM and RUNX Factors ». Development (Cambridge, England) 132, nº 20 (octobre 2005): 4635-44. https://doi.org/10.1242/dev.02034.
- Becker, A. J., E. A. McCULLOCH, et J. E. Till. « Cytological Demonstration of the Clonal Nature of Spleen Colonies Derived from Transplanted Mouse Marrow Cells ». *Nature* 197 (2 février 1963): 452-54. https://doi.org/10.1038/197452a0.
- Benmimoun, Billel, Marc Haenlin, et Lucas Waltzer. « Blood Cell Progenitor Maintenance: Collier Barks out of the Niche ». *Fly* 9, n° 4 (2015): 160-64. https://doi.org/10.1080/19336934.2016.1151130.
- Benmimoun, Billel, Cédric Polesello, Marc Haenlin, et Lucas Waltzer. « The EBF Transcription Factor Collier Directly Promotes Drosophila Blood Cell Progenitor Maintenance Independently of the Niche ». *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 112, n° 29 (21 juillet 2015): 9052-57. https://doi.org/10.1073/pnas.1423967112.
- Benmimoun, Billel, Cédric Polesello, Lucas Waltzer, et Marc Haenlin. « Dual Role for Insulin/TOR Signaling in the Control of Hematopoietic Progenitor Maintenance in Drosophila ». Development (Cambridge, England) 139, nº 10 (mai 2012): 1713-17. https://doi.org/10.1242/dev.080259.
- Berger, Jürg, Kirsten-André Senti, Gabriele Senti, Timothy P. Newsome, Bengt Åsling, Barry J.
 Dickson, et Takashi Suzuki. « Systematic Identification of Genes that Regulate Neuronal
 Wiring in the Drosophila Visual System ». *PLoS Genetics* 4, nº 5 (30 mai 2008): e1000085.
 https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1000085.
- Berger, Shelley L. « Histone Modifications in Transcriptional Regulation ». *Current Opinion in Genetics & Development* 12, n° 2 (avril 2002): 142-48. https://doi.org/10.1016/s0959-437x(02)00279-4.

- Bernardoni, R., V. Vivancos, et A. Giangrande. « Glide/Gcm Is Expressed and Required in the Scavenger Cell Lineage ». *Developmental Biology* 191, n° 1 (1 novembre 1997): 118-30. https://doi.org/10.1006/dbio.1997.8702.
- Bertrand, Julien Y., Jennifer L. Cisson, David L. Stachura, et David Traver. « Notch Signaling Distinguishes 2 Waves of Definitive Hematopoiesis in the Zebrafish Embryo ». *Blood* 115, n° 14 (8 avril 2010): 2777-83. https://doi.org/10.1182/blood-2009-09-244590.
- Bethlenfalvay, N. C., et M. Block. « Fetal Erythropoiesis. Maturation in Megaloblastic (Yolk Sac) Erythropoiesis in the C 57 B1-6J Mouse ». *Acta Haematologica* 44, n° 4 (1970): 240-45. https://doi.org/10.1159/000208685.
- Bidla, Gawa, Mitchell S. Dushay, et Ulrich Theopold. « Crystal Cell Rupture after Injury in Drosophila Requires the JNK Pathway, Small GTPases and the TNF Homolog Eiger ». Journal of Cell Science 120, n° Pt 7 (1 avril 2007): 1209-15. https://doi.org/10.1242/jcs.03420.
- Binggeli, Olivier, Claudine Neyen, Mickael Poidevin, et Bruno Lemaitre. « Prophenoloxidase Activation Is Required for Survival to Microbial Infections in Drosophila ». *PLoS Pathogens* 10, n° 5 (mai 2014): e1004067. https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1004067.
- Blobel, G. A., T. Nakajima, R. Eckner, M. Montminy, et S. H. Orkin. « CREB-Binding Protein Cooperates with Transcription Factor GATA-1 and Is Required for Erythroid Differentiation ». *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 95, n° 5 (3 mars 1998): 2061-66. https://doi.org/10.1073/pnas.95.5.2061.
- Borrow, J., V. P. Stanton, J. M. Andresen, R. Becher, F. G. Behm, R. S. Chaganti, C. I. Civin, et al. « The Translocation t(8;16)(P11;P13) of Acute Myeloid Leukaemia Fuses a Putative Acetyltransferase to the CREB-Binding Protein ». *Nature Genetics* 14, n° 1 (septembre 1996): 33-41. https://doi.org/10.1038/ng0996-33.
- Bourbon, Henri-Marc, Geneviève Gonzy-Treboul, Frédérique Peronnet, Marie-Francoise Alin, Claude Ardourel, Corinne Benassayag, David Cribbs, et al. « A P-Insertion Screen Identifying Novel X-Linked Essential Genes in Drosophila ». *Mechanisms of Development* 110, n° 1-2 (janvier 2002): 71-83. https://doi.org/10.1016/s0925-4773(01)00566-4.
- Brand, A. H., et N. Perrimon. « Targeted Gene Expression as a Means of Altering Cell Fates and Generating Dominant Phenotypes ». *Development (Cambridge, England)* 118, n° 2 (juin 1993): 401-15. https://doi.org/10.1242/dev.118.2.401.
- Bretscher, Andrew J., Viktor Honti, Olivier Binggeli, Olivier Burri, Mickael Poidevin, Éva Kurucz, János Zsámboki, István Andó, et Bruno Lemaitre. « The Nimrod transmembrane receptor Eater is required for hemocyte attachment to the sessile compartment in Drosophila melanogaster ». *Biology Open* 4, n° 3 (13 février 2015): 355-63. https://doi.org/10.1242/bio.201410595.
- Bristow, Claire A. P., et Paul Shore. « Transcriptional Regulation of the Human MIP-1alpha Promoter by RUNX1 and MOZ ». *Nucleic Acids Research* 31, n° 11 (1 juin 2003): 2735-44. https://doi.org/10.1093/nar/gkg401.
- Bruijn, M. F. de, N. A. Speck, M. C. Peeters, et E. Dzierzak. « Definitive Hematopoietic Stem Cells First Develop within the Major Arterial Regions of the Mouse Embryo ». *The EMBO Journal* 19, n° 11 (1 juin 2000): 2465-74. https://doi.org/10.1093/emboj/19.11.2465.
- Bunt, Stephanie, Clare Hooley, Nan Hu, Catherine Scahill, Helen Weavers, et Helen Skaer.
 « Hemocyte-Secreted Type IV Collagen Enhances BMP Signaling to Guide Renal Tubule Morphogenesis in Drosophila ». *Developmental Cell* 19, n° 2 (17 août 2010): 296-306. https://doi.org/10.1016/j.devcel.2010.07.019.

- Butler, Jason M., Hideki Kobayashi, et Shahin Rafii. « Instructive Role of the Vascular Niche in Promoting Tumour Growth and Tissue Repair by Angiocrine Factors ». *Nature Reviews. Cancer* 10, n° 2 (février 2010): 138-46. https://doi.org/10.1038/nrc2791.
- Calvi, L. M., G. B. Adams, K. W. Weibrecht, J. M. Weber, D. P. Olson, M. C. Knight, R. P. Martin, et al. « Osteoblastic Cells Regulate the Haematopoietic Stem Cell Niche ». *Nature* 425, n° 6960 (23 octobre 2003): 841-46. https://doi.org/10.1038/nature02040.
- Campeau, Philippe M., Jaeseung C. Kim, James T. Lu, Jeremy A. Schwartzentruber, Omar A.
 Abdul-Rahman, Silke Schlaubitz, David M. Murdock, et al. « Mutations in KAT6B, Encoding a Histone Acetyltransferase, Cause Genitopatellar Syndrome ». *American Journal of Human Genetics* 90, n° 2 (10 février 2012): 282-89. https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2011.11.023.
- Carapeti, M., R. C. Aguiar, J. M. Goldman, et N. C. Cross. « A Novel Fusion between MOZ and the Nuclear Receptor Coactivator TIF2 in Acute Myeloid Leukemia ». *Blood* 91, n° 9 (1 mai 1998): 3127-33.
- Carlson, Samuel, et Karen C. Glass. « The MOZ Histone Acetyltransferase in Epigenetic Signaling and Disease ». *Journal of Cellular Physiology* 229, n° 11 (2014): 1571-74. https://doi.org/10.1002/jcp.24617.
- Carton, Y., et A. J. Nappi. « Immunogenetic Aspects of the Cellular Immune Response of Drosophilia against Parasitoids ». *Immunogenetics* 52, n° 3-4 (2001): 157-64. https://doi.org/10.1007/s002510000272.
- Champagne, N., N. Pelletier, et X. J. Yang. « The Monocytic Leukemia Zinc Finger Protein MOZ Is a Histone Acetyltransferase ». *Oncogene* 20, n° 3 (18 janvier 2001): 404-9. https://doi.org/10.1038/sj.onc.1204114.
- Champagne, Nathalie, Nadine Pelletier, et Xiang-Jiao Yang. « The Monocytic Leukemia Zinc Finger Protein MOZ Is a Histone Acetyltransferase ». *Oncogene* 20, n° 3 (janvier 2001): 404-9. https://doi.org/10.1038/sj.onc.1204114.
- Chan, Wai-In, Rebecca L. Hannah, Mark A. Dawson, Clare Pridans, Donna Foster, Anagha Joshi, Berthold Göttgens, Jan M. Van Deursen, et Brian J. P. Huntly. « The Transcriptional Coactivator Cbp Regulates Self-Renewal and Differentiation in Adult Hematopoietic Stem Cells ». *Molecular and Cellular Biology* 31, nº 24 (décembre 2011): 5046-60. https://doi.org/10.1128/MCB.05830-11.
- Chang, Aaron N., Alan B. Cantor, Yuko Fujiwara, Maya B. Lodish, Steven Droho, John D. Crispino, et Stuart H. Orkin. « GATA-factor dependence of the multitype zinc-finger protein FOG-1 for its essential role in megakaryopoiesis ». *Proceedings of the National Academy of Sciences* 99, nº 14 (9 juillet 2002): 9237-42. https://doi.org/10.1073/pnas.142302099.
- Charroux, Bernard, et Julien Royet. « Elimination of Plasmatocytes by Targeted Apoptosis Reveals Their Role in Multiple Aspects of the Drosophila Immune Response ». *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 106, n° 24 (16 juin 2009): 9797-9802. https://doi.org/10.1073/pnas.0903971106.
- Chen, Jianglei, Yi Lin, et Zhongjie Sun. « Deficiency in the Anti-Aging Gene Klotho Promotes Aortic Valve Fibrosis through AMPKα-Mediated Activation of RUNX2 ». *Aging Cell* 15, n° 5 (2016): 853-60. https://doi.org/10.1111/acel.12494.
- Cheng, Yuan, Cai He, Manni Wang, Xuelei Ma, Fei Mo, Shengyong Yang, Junhong Han, et Xiawei Wei. « Targeting Epigenetic Regulators for Cancer Therapy: Mechanisms and Advances in Clinical Trials ». Signal Transduction and Targeted Therapy 4 (2019): 62. https://doi.org/10.1038/s41392-019-0095-0.
- Chi, Yali, Zhibin Huang, Qi Chen, Xiaojie Xiong, Kemin Chen, Jin Xu, Yiyue Zhang, et Wenqing Zhang. « Loss of runx1 function results in B cell immunodeficiency but not T cell in adult

zebrafish ». *Open Biology* 8, n° 7 (25 juillet 2018): 180043. https://doi.org/10.1098/rsob.180043.

- Cho, Bumsik, Sang-Ho Yoon, Daewon Lee, Ferdinand Koranteng, Sudhir Gopal Tattikota, Nuri Cha, Mingyu Shin, et al. « Single-Cell Transcriptome Maps of Myeloid Blood Cell Lineages in Drosophila ». *Nature Communications* 11, n° 1 (8 septembre 2020): 4483. https://doi.org/10.1038/s41467-020-18135-y.
- Collins, Hilary M., Karin B. Kindle, Sachiko Matsuda, Colm Ryan, Philip J. F. Troke, Eric Kalkhoven, et David M. Heery. « MOZ-TIF2 Alters Cofactor Recruitment and Histone Modification at the RARβ2 Promoter: DIFFERENTIAL EFFECTS OF MOZ FUSION PROTEINS ON CBP- AND MOZ-DEPENDENT ACTIVATORS * ». *Journal of Biological Chemistry* 281, n° 25 (23 juin 2006): 17124-33. https://doi.org/10.1074/jbc.M602633200.
- Cook, R. Kimberley, Stacey J. Christensen, Jennifer A. Deal, Rachel A. Coburn, Megan E. Deal, Jill M. Gresens, Thomas C. Kaufman, et Kevin R. Cook. « The Generation of Chromosomal Deletions to Provide Extensive Coverage and Subdivision of the Drosophila Melanogaster Genome ». *Genome Biology* 13, n° 3 (22 mars 2012): R21. https://doi.org/10.1186/gb-2012-13-3-r21.
- Crowley, J. A., Y. Wang, A. P. Rapoport, et Y. Ning. « Detection of MOZ-CBP Fusion in Acute Myeloid Leukemia with 8;16 Translocation ». *Leukemia* 19, n° 12 (décembre 2005): 2344-45. https://doi.org/10.1038/sj.leu.2403971.
- Crozatier, Michèle, Jean-Michel Ubeda, Alain Vincent, et Marie Meister. « Cellular Immune Response to Parasitization in Drosophila Requires the EBF Orthologue Collier ». *PLOS Biology* 2, nº 8 (17 août 2004): e196. https://doi.org/10.1371/journal.pbio.0020196.
- Crozatier, Michèle, Denise Valle, Laurence Dubois, Saad Ibnsouda, et Alain Vincent. « Collier, a Novel Regulator of Drosophila Head Development, Is Expressed in a Single Mitotic Domain ». *Current Biology* 6, n° 6 (1 juin 1996): 707-18. https://doi.org/10.1016/S0960-9822(09)00452-7.
- Crump, Justin Gage, Mary E. Swartz, Johann K. Eberhart, et Charles B. Kimmel. « Moz-Dependent Hox Expression Controls Segment-Specific Fate Maps of Skeletal Precursors in the Face ». *Development (Cambridge, England)* 133, n° 14 (juillet 2006): 2661-69. https://doi.org/10.1242/dev.02435.
- Cruz-Rodriguez, Nataly, Alba L. Combita, et Jovanny Zabaleta. « Epigenetics in Hematological Malignancies ». *Methods in Molecular Biology (Clifton, N.J.)* 1856 (2018): 87-101. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-8751-1_5.
- Daga, A., C. A. Karlovich, K. Dumstrei, et U. Banerjee. « Patterning of Cells in the Drosophila Eye by Lozenge, Which Shares Homologous Domains with AML1 ». *Genes & Development* 10, n° 10 (15 mai 1996): 1194-1205. https://doi.org/10.1101/gad.10.10.1194.
- Das, Soumi. « Nobel prize for the fruit fly ». *Journal of the Practice of Cardiovascular Sciences* 3 (1 janvier 2017): 68. https://doi.org/10.4103/jpcs.jpcs_42_17.
- Davies, Luke C., Stephen J. Jenkins, Judith E. Allen, et Philip R. Taylor. « Tissue-Resident Macrophages ». *Nature Immunology* 14, n° 10 (octobre 2013): 986-95. https://doi.org/10.1038/ni.2705.
- Defaye, Arnaud, Iwan Evans, Michèle Crozatier, Will Wood, Bruno Lemaitre, et François Leulier. « Genetic Ablation of Drosophila Phagocytes Reveals Their Contribution to Both Development and Resistance to Bacterial Infection ». *Journal of Innate Immunity* 1, n° 4 (2009): 322-34. https://doi.org/10.1159/000210264.
- Deguchi, Kenji, Paul M. Ayton, Melina Carapeti, Jeffery L. Kutok, Cynthia S. Snyder, Ifor R. Williams, Nicholas C. P. Cross, Christopher K. Glass, Michael L. Cleary, et D. Gary Gilliland. « MOZ-TIF2-Induced Acute Myeloid Leukemia Requires the MOZ Nucleosome Binding

Motif and TIF2-Mediated Recruitment of CBP ». *Cancer Cell* 3, n° 3 (mars 2003): 259-71. https://doi.org/10.1016/s1535-6108(03)00051-5.

- Ding, Lei, et Sean J. Morrison. « Haematopoietic Stem Cells and Early Lymphoid Progenitors Occupy Distinct Bone Marrow Niches ». *Nature* 495, n° 7440 (14 mars 2013): 231-35. https://doi.org/10.1038/nature11885.
- Ding, Lei, Thomas L. Saunders, Grigori Enikolopov, et Sean J. Morrison. « Endothelial and Perivascular Cells Maintain Haematopoietic Stem Cells ». *Nature* 481, n° 7382 (25 janvier 2012): 457-62. https://doi.org/10.1038/nature10783.
- Dobin, Alexander, Carrie A. Davis, Felix Schlesinger, Jorg Drenkow, Chris Zaleski, Sonali Jha, Philippe Batut, Mark Chaisson, et Thomas R. Gingeras. « STAR: Ultrafast Universal RNA-Seq Aligner ». *Bioinformatics (Oxford, England)* 29, nº 1 (1 janvier 2013): 15-21. https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bts635.
- Draper, Julia E., Patrycja Sroczynska, Hui Sun Leong, Muhammad Z. H. Fadlullah, Crispin Miller, Valerie Kouskoff, et Georges Lacaud. « Mouse RUNX1C Regulates Premegakaryocytic/Erythroid Output and Maintains Survival of Megakaryocyte Progenitors ». *Blood* 130, n° 3 (20 juillet 2017): 271-84. https://doi.org/10.1182/blood-2016-06-723635.
- Dubuffet, Aurore, Géraldine Doury, Carole Labrousse, Jean-Michel Drezen, Yves Carton, et Marylène Poirié. « Variation of Success of Leptopilina Boulardi in Drosophila Yakuba: The Mechanisms Explored ». *Developmental and Comparative Immunology* 32, n° 6 (2008): 597-602. https://doi.org/10.1016/j.dci.2007.10.009.
- Dudzic, Jan P., Shu Kondo, Ryu Ueda, Casey M. Bergman, et Bruno Lemaitre. « Drosophila Innate Immunity: Regional and Functional Specialization of Prophenoloxidases ». *BMC Biology* 13 (1 octobre 2015): 81. https://doi.org/10.1186/s12915-015-0193-6.
- Dulak, Austin M., Petar Stojanov, Shouyong Peng, Michael S. Lawrence, Cameron Fox, Chip Stewart, Santhoshi Bandla, et al. « Exome and Whole-Genome Sequencing of Esophageal Adenocarcinoma Identifies Recurrent Driver Events and Mutational Complexity ». *Nature Genetics* 45, n° 5 (mai 2013): 478-86. https://doi.org/10.1038/ng.2591.
- Elagib, Kamaleldin E., Frederick K. Racke, Michael Mogass, Rina Khetawat, Lorrie L. Delehanty, et Adam N. Goldfarb. « RUNX1 and GATA-1 Coexpression and Cooperation in Megakaryocytic Differentiation ». *Blood* 101, n° 11 (1 juin 2003): 4333-41. https://doi.org/10.1182/blood-2002-09-2708.
- Erickson, P., J. Gao, K. S. Chang, T. Look, E. Whisenant, S. Raimondi, R. Lasher, J. Trujillo, J.
 Rowley, et H. Drabkin. « Identification of Breakpoints in t(8;21) Acute Myelogenous
 Leukemia and Isolation of a Fusion Transcript, AML1/ETO, with Similarity to Drosophila
 Segmentation Gene, Runt ». *Blood* 80, n° 7 (1 octobre 1992): 1825-31.
- Esteyries, S., C. Perot, J. Adelaide, M. Imbert, A. Lagarde, C. Pautas, S. Olschwang, D. Birnbaum,
 M. Chaffanet, et M.-J. Mozziconacci. « NCOA3, a New Fusion Partner for MOZ/MYST3 in
 M5 Acute Myeloid Leukemia ». *Leukemia* 22, nº 3 (mars 2008): 663-65.
 https://doi.org/10.1038/sj.leu.2404930.
- Evans, Cory J., Volker Hartenstein, et Utpal Banerjee. « Thicker than Blood: Conserved Mechanisms in Drosophila and Vertebrate Hematopoiesis ». *Developmental Cell* 5, n° 5 (novembre 2003): 673-90. https://doi.org/10.1016/s1534-5807(03)00335-6.
- Ferjoux, Géraldine, Benoit Augé, Karène Boyer, Marc Haenlin, et Lucas Waltzer. « A GATA/RUNX Cis-Regulatory Module Couples Drosophila Blood Cell Commitment and Differentiation into Crystal Cells ». *Developmental Biology* 305, n° 2 (15 mai 2007): 726-34. https://doi.org/10.1016/j.ydbio.2007.03.010.

- Fogarty, Caitlin E., Neha Diwanji, Jillian L. Lindblad, Meghana Tare, Alla Amcheslavsky, Kalpana Makhijani, Katja Brückner, Yun Fan, et Andreas Bergmann. « Extracellular Reactive Oxygen Species Drive Apoptosis-Induced Proliferation via Drosophila Macrophages ». *Current Biology: CB* 26, n° 5 (7 mars 2016): 575-84. https://doi.org/10.1016/j.cub.2015.12.064.
- Fossett, Nancy, Kristy Hyman, Kathleen Gajewski, Stuart H. Orkin, et Robert A. Schulz.
 « Combinatorial Interactions of Serpent, Lozenge, and U-Shaped Regulate Crystal Cell Lineage Commitment during Drosophila Hematopoiesis ». *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 100, n° 20 (30 septembre 2003): 11451-56. https://doi.org/10.1073/pnas.1635050100.
- Frelin, Catherine, Robert Herrington, Salima Janmohamed, Mary Barbara, Gary Tran, Christopher J. Paige, Patricia Benveniste, et al. « GATA-3 Regulates the Self-Renewal of Long-Term Hematopoietic Stem Cells ». *Nature Immunology* 14, nº 10 (octobre 2013): 1037-44. https://doi.org/10.1038/ni.2692.
- Fu, Yulong, Xiaohu Huang, Peng Zhang, Joyce van de Leemput, et Zhe Han. « Single-Cell RNA Sequencing Identifies Novel Cell Types in Drosophila Blood ». *Journal of Genetics and Genomics* 47, nº 4 (20 avril 2020): 175-86. https://doi.org/10.1016/j.jgg.2020.02.004.
- Fujiwara, Y., C. P. Browne, K. Cunniff, S. C. Goff, et S. H. Orkin. « Arrested Development of Embryonic Red Cell Precursors in Mouse Embryos Lacking Transcription Factor GATA-1 ».
 Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 93, n° 22 (29 octobre 1996): 12355-58. https://doi.org/10.1073/pnas.93.22.12355.
- Gannon, Tamsin, Rahat Perveen, Hélene Schlecht, Simon Ramsden, Beverley Anderson, Bronwyn Kerr, Ruth Day, et al. « Further Delineation of the KAT6B Molecular and Phenotypic Spectrum ». *European Journal of Human Genetics* 23, n° 9 (septembre 2015): 1165-70. https://doi.org/10.1038/ejhg.2014.248.
- Gao, Yanhong, Enyi Huang, Hongmei Zhang, Jinhua Wang, Ningning Wu, Xian Chen, Ning Wang, et al. « Crosstalk between Wnt/β-Catenin and Estrogen Receptor Signaling Synergistically Promotes Osteogenic Differentiation of Mesenchymal Progenitor Cells ». *PloS One* 8, n° 12 (2013): e82436. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0082436.
- Gekas, Christos, Francoise Dieterlen-Lièvre, Stuart H. Orkin, et Hanna K. A. Mikkola. « The Placenta Is a Niche for Hematopoietic Stem Cells ». *Developmental Cell* 8, n° 3 (mars 2005): 365-75. https://doi.org/10.1016/j.devcel.2004.12.016.
- Genais, Thomas, Delhia Gigan, Benoit Augé, Douaa Moussalem, Lucas Waltzer, Marc Haenlin, et Vanessa Gobert. « The Drosophila MOZ Homolog Enok Controls Notch-Dependent Induction of the RUNX Gene Lozenge Independently of Its Histone-Acetyl Transferase Activity ». bioRxiv, 28 juillet 2020. https://doi.org/10.1101/2020.07.27.222620.
- Ghosh, Saikat, Arashdeep Singh, Sudip Mandal, et Lolitika Mandal. « Active Hematopoietic Hubs in Drosophila Adults Generate Hemocytes and Contribute to Immune Response ». *Developmental Cell* 33, nº 4 (26 mai 2015): 478-88. https://doi.org/10.1016/j.devcel.2015.03.014.
- Gobert, Vanessa, Dani Osman, Stéphanie Bras, Benoit Augé, Muriel Boube, Henri-Marc Bourbon, Thomas Horn, Michael Boutros, Marc Haenlin, et Lucas Waltzer. « A Genome-Wide RNA Interference Screen Identifies a Differential Role of the Mediator CDK8 Module Subunits for GATA/ RUNX-Activated Transcription in Drosophila ». *Molecular and Cellular Biology* 30, n° 11 (juin 2010): 2837-48. https://doi.org/10.1128/MCB.01625-09.
- Goldfarb, Adam N. « Megakaryocytic Programming by a Transcriptional Regulatory Loop: A Circle Connecting RUNX1, GATA-1, and P-TEFb ». *Journal of Cellular Biochemistry* 107, n° 3 (2009): 377-82. https://doi.org/10.1002/jcb.22142.

- Goll, Mary Grace, et Timothy H. Bestor. « Histone Modification and Replacement in Chromatin Activation ». *Genes & Development* 16, n° 14 (15 juillet 2002): 1739-42. https://doi.org/10.1101/gad.1013902.
- Gomez Perdiguero, Elisa, Kay Klapproth, Christian Schulz, Katrin Busch, Emanuele Azzoni, Lucile Crozet, Hannah Garner, et al. « Tissue-Resident Macrophages Originate from Yolk-Sac-Derived Erythro-Myeloid Progenitors ». *Nature* 518, nº 7540 (26 février 2015): 547-51. https://doi.org/10.1038/nature13989.
- Grant, Patrick A. « A tale of histone modifications ». *Genome Biology* 2, n° 4 (5 avril 2001): reviews0003.1. https://doi.org/10.1186/gb-2001-2-4-reviews0003.
- Grigorian, Melina, Ting Liu, Utpal Banerjee, et Volker Hartenstein. « The Proteoglycan Trol Controls the Architecture of the Extracellular Matrix and Balances Proliferation and Differentiation of Blood Progenitors in the Drosophila Lymph Gland ». *Developmental Biology* 384, nº 2 (15 décembre 2013): 301-12. https://doi.org/10.1016/j.ydbio.2013.03.007.
- Gu, W., et R. G. Roeder. « Activation of P53 Sequence-Specific DNA Binding by Acetylation of the P53 C-Terminal Domain ». *Cell* 90, n° 4 (22 août 1997): 595-606. https://doi.org/10.1016/s0092-8674(00)80521-8.
- Hadland, Brandon K., Stacey S. Huppert, Jyotshnabala Kanungo, Yingzi Xue, Rulang Jiang, Thomas Gridley, Ronald A. Conlon, Alec M. Cheng, Raphael Kopan, et Gregory D. Longmore. « A Requirement for Notch1 Distinguishes 2 Phases of Definitive Hematopoiesis during Development ». *Blood* 104, n° 10 (15 novembre 2004): 3097-3105. https://doi.org/10.1182/blood-2004-03-1224.
- Haenlin, M., Y. Cubadda, F. Blondeau, P. Heitzler, Y. Lutz, P. Simpson, et P. Ramain.
 « Transcriptional Activity of Pannier Is Regulated Negatively by Heterodimerization of the GATA DNA-Binding Domain with a Cofactor Encoded by the u-Shaped Gene of Drosophila ». *Genes & Development* 11, nº 22 (15 novembre 1997): 3096-3108. https://doi.org/10.1101/gad.11.22.3096.
- Haferlach, T., Y. Nagata, V. Grossmann, Y. Okuno, U. Bacher, G. Nagae, S. Schnittger, et al.
 « Landscape of Genetic Lesions in 944 Patients with Myelodysplastic Syndromes ».
 Leukemia 28, nº 2 (février 2014): 241-47. https://doi.org/10.1038/leu.2013.336.
- Hagman, J., C. Belanger, A. Travis, C. W. Turck, et R. Grosschedl. « Cloning and Functional Characterization of Early B-Cell Factor, a Regulator of Lymphocyte-Specific Gene Expression. » Genes & Development 7, nº 5 (5 janvier 1993): 760-73. https://doi.org/10.1101/gad.7.5.760.
- Hao, Yangguang, et Li Hua Jin. « Dual role for Jumu in the control of hematopoietic progenitors in the Drosophila lymph gland ». Édité par Utpal Banerjee. *eLife* 6 (28 mars 2017): e25094. https://doi.org/10.7554/eLife.25094.
- Hibiya, Kenta, Takuo Katsumoto, Takashi Kondo, Issay Kitabayashi, et Akira Kudo. « Brpf1, a Subunit of the MOZ Histone Acetyl Transferase Complex, Maintains Expression of Anterior and Posterior Hox Genes for Proper Patterning of Craniofacial and Caudal Skeletons ». *Developmental Biology* 329, n° 2 (15 mai 2009): 176-90. https://doi.org/10.1016/j.ydbio.2009.02.021.
- Ho, I.-Cheng, Tzong-Shyuan Tai, et Sung-Yun Pai. « GATA3 and the T-Cell Lineage: Essential Functions before and after T-Helper-2-Cell Differentiation ». *Nature Reviews. Immunology* 9, nº 2 (février 2009): 125-35. https://doi.org/10.1038/nri2476.
- Holbert, Marc A., Timothy Sikorski, Juliana Carten, Danielle Snowflack, Santosh Hodawadekar, et Ronen Marmorstein. « The Human Monocytic Leukemia Zinc Finger Histone Acetyltransferase Domain Contains DNA-Binding Activity Implicated in Chromatin

Targeting ». *The Journal of Biological Chemistry* 282, n° 50 (14 décembre 2007): 36603-13. https://doi.org/10.1074/jbc.M705812200.

- Honti, Viktor, Gábor Csordás, Róbert Márkus, Eva Kurucz, Ferenc Jankovics, et István Andó. « Cell Lineage Tracing Reveals the Plasticity of the Hemocyte Lineages and of the Hematopoietic Compartments in Drosophila Melanogaster ». *Molecular Immunology* 47, nº 11-12 (juillet 2010): 1997-2004. https://doi.org/10.1016/j.molimm.2010.04.017.
- Huang, Fu, Ariel Paulson, Arnob Dutta, Swaminathan Venkatesh, Michaela Smolle, Susan M.
 Abmayr, et Jerry L. Workman. « Histone Acetyltransferase Enok Regulates Oocyte
 Polarization by Promoting Expression of the Actin Nucleation Factor Spire ». *Genes & Development* 28, n° 24 (15 décembre 2014): 2750-63.
 https://doi.org/10.1101/gad.249730.114.
- Huang, Fu, Anita Saraf, Laurence Florens, Thomas Kusch, Selene K. Swanson, Leanne T. Szerszen, Ge Li, et al. « The Enok Acetyltransferase Complex Interacts with Elg1 and Negatively Regulates PCNA Unloading to Promote the G1/S Transition ». *Genes & Development* 30, n° 10 (15 mai 2016): 1198-1210. https://doi.org/10.1101/gad.271429.115.
- Huntly, Brian J. P., Hirokazu Shigematsu, Kenji Deguchi, Benjamin H. Lee, Shinichi Mizuno, Nicky Duclos, Rebecca Rowan, et al. « MOZ-TIF2, but Not BCR-ABL, Confers Properties of Leukemic Stem Cells to Committed Murine Hematopoietic Progenitors ». *Cancer Cell* 6, n° 6 (décembre 2004): 587-96. https://doi.org/10.1016/j.ccr.2004.10.015.
- Irving, Phil, Jean-Michel Ubeda, Daniel Doucet, Laurent Troxler, Marie Lagueux, Daniel Zachary, Jules A. Hoffmann, Charles Hetru, et Marie Meister. « New Insights into Drosophila Larval Haemocyte Functions through Genome-Wide Analysis ». *Cellular Microbiology* 7, n° 3 (mars 2005): 335-50. https://doi.org/10.1111/j.1462-5822.2004.00462.x.
- Itkin, Tomer, Shiri Gur-Cohen, Joel A. Spencer, Amir Schajnovitz, Saravana K. Ramasamy, Anjali P. Kusumbe, Guy Ledergor, et al. « Distinct bone marrow blood vessels differentially regulate hematopoiesis ». *Nature* 532, n° 7599 (21 avril 2016): 323-28. https://doi.org/10.1038/nature17624.
- Iwasaki, Hiromi, Shin-ichi Mizuno, Richard A. Wells, Alan B. Cantor, Sumiko Watanabe, et Koichi Akashi. « GATA-1 Converts Lymphoid and Myelomonocytic Progenitors into the Megakaryocyte/Erythrocyte Lineages ». *Immunity* 19, n° 3 (septembre 2003): 451-62. https://doi.org/10.1016/s1074-7613(03)00242-5.
- Jason, Laure J. M., Susan C. Moore, John D. Lewis, George Lindsey, et Juan Ausió. « Histone Ubiquitination: A Tagging Tail Unfolds? » *BioEssays: News and Reviews in Molecular, Cellular and Developmental Biology* 24, n° 2 (février 2002): 166-74. https://doi.org/10.1002/bies.10038.
- Jennings, Barbara H. « Drosophila a Versatile Model in Biology & Medicine ». *Materials Today* 14, n° 5 (1 mai 2011): 190-95. https://doi.org/10.1016/S1369-7021(11)70113-4.
- Jiang, Ming, Ju Zhang, Lili Qian, Yuhui Miao, Weiguo Song, Hanyuan Liu, et Rui Li. « MOZ Forms an Autoregulatory Feedback Loop with miR-223 in AML and Monocyte/Macrophage Development ». *iScience* 11 (21 décembre 2018): 189-204. https://doi.org/10.1016/j.isci.2018.12.016.
- Jung, Seung-Hye, Cory J. Evans, Christine Uemura, et Utpal Banerjee. « The Drosophila Lymph Gland as a Developmental Model of Hematopoiesis ». *Development (Cambridge, England)* 132, n° 11 (juin 2005): 2521-33. https://doi.org/10.1242/dev.01837.
- Kang, Hyuckjoon, Youngsook L. Jung, Kyle A. McElroy, Barry M. Zee, Heather A. Wallace, Jessica L. Woolnough, Peter J. Park, et Mitzi I. Kuroda. « Bivalent Complexes of PRC1 with Orthologs of BRD4 and MOZ/MORF Target Developmental Genes in Drosophila ». *Genes &*

Development 31, n° 19 (1 octobre 2017): 1988-2002. https://doi.org/10.1101/gad.305987.117.

- Kasper, Lawryn H., Tomofusa Fukuyama, Michelle A. Biesen, Fayçal Boussouar, Caili Tong, Antoine de Pauw, Peter J. Murray, Jan M. A. van Deursen, et Paul K. Brindle. « Conditional Knockout Mice Reveal Distinct Functions for the Global Transcriptional Coactivators CBP and P300 in T-Cell Development ». *Molecular and Cellular Biology* 26, n° 3 (février 2006): 789-809. https://doi.org/10.1128/MCB.26.3.789-809.2006.
- Katsumoto, Takuo, Yukiko Aikawa, Atsushi Iwama, Shinobu Ueda, Hitoshi Ichikawa, Takahiro Ochiya, et Issay Kitabayashi. « MOZ Is Essential for Maintenance of Hematopoietic Stem Cells ». *Genes & Development* 20, n° 10 (15 mai 2006): 1321-30. https://doi.org/10.1101/gad.1393106.
- Kieusseian, Aurelie, et Ana Cumano. « Are Hematopoietic Stem Cells Generated in the Placenta? » Cell Stem Cell 2, nº 3 (6 mars 2008): 197-98. https://doi.org/10.1016/j.stem.2008.02.013.
- Kindle, Karin B., Philip J. F. Troke, Hilary M. Collins, Sachiko Matsuda, Daniela Bossi, Cristian Bellodi, Eric Kalkhoven, et al. « MOZ-TIF2 Inhibits Transcription by Nuclear Receptors and P53 by Impairment of CBP Function ». *Molecular and Cellular Biology* 25, n° 3 (février 2005): 988-1002. https://doi.org/10.1128/MCB.25.3.988-1002.2005.
- Kingsley, Paul D., Jeffrey Malik, Katherine A. Fantauzzo, et James Palis. « Yolk Sac-Derived Primitive Erythroblasts Enucleate during Mammalian Embryogenesis ». *Blood* 104, n° 1 (1 juillet 2004): 19-25. https://doi.org/10.1182/blood-2003-12-4162.
- Kitabayashi, I., Y. Aikawa, L. A. Nguyen, A. Yokoyama, et M. Ohki. « Activation of AML1-Mediated Transcription by MOZ and Inhibition by the MOZ-CBP Fusion Protein ». *The EMBO Journal* 20, n° 24 (17 décembre 2001): 7184-96. https://doi.org/10.1093/emboj/20.24.7184.
- Kitabayashi, I., Y. Aikawa, A. Yokoyama, F. Hosoda, M. Nagai, N. Kakazu, T. Abe, et M. Ohki.
 « Fusion of MOZ and P300 Histone Acetyltransferases in Acute Monocytic Leukemia with a t(8;22)(P11;Q13) Chromosome Translocation ». *Leukemia* 15, n° 1 (janvier 2001): 89-94. https://doi.org/10.1038/sj.leu.2401983.
- Knezetic, J. A., et D. S. Luse. « The Presence of Nucleosomes on a DNA Template Prevents Initiation by RNA Polymerase II in Vitro ». *Cell* 45, n° 1 (11 avril 1986): 95-104. https://doi.org/10.1016/0092-8674(86)90541-6.
- Kollet, Orit, Ayelet Dar, Shoham Shivtiel, Alexander Kalinkovich, Kfir Lapid, Yejezkel Sztainberg, Melania Tesio, et al. « Osteoclasts Degrade Endosteal Components and Promote Mobilization of Hematopoietic Progenitor Cells ». *Nature Medicine* 12, n° 6 (juin 2006): 657-64. https://doi.org/10.1038/nm1417.
- Kouzarides, Tony. « Chromatin Modifications and Their Function ». *Cell* 128, n° 4 (23 février 2007): 693-705. https://doi.org/10.1016/j.cell.2007.02.005.
- Krzemien, Joanna, Justine Oyallon, Michèle Crozatier, et Alain Vincent. « Hematopoietic
 Progenitors and Hemocyte Lineages in the Drosophila Lymph Gland ». *Developmental Biology* 346, nº 2 (15 octobre 2010): 310-19. https://doi.org/10.1016/j.ydbio.2010.08.003.
- Ku, Chia-Jui, Tomonori Hosoya, Ivan Maillard, et James Douglas Engel. « GATA-3 Regulates Hematopoietic Stem Cell Maintenance and Cell-Cycle Entry ». *Blood* 119, n° 10 (8 mars 2012): 2242-51. https://doi.org/10.1182/blood-2011-07-366070.
- Kumar, Brahma V., Thomas Connors, et Donna L. Farber. « Human T cell development, localization, and function throughout life ». *Immunity* 48, n° 2 (20 février 2018): 202-13. https://doi.org/10.1016/j.immuni.2018.01.007.
- Lam, Victoria, Tsuyoshi Tokusumi, Yumiko Tokusumi, et Robert A. Schulz. « Bantam MiRNA Is Important for Drosophila Blood Cell Homeostasis and a Regulator of Proliferation in the

Hematopoietic Progenitor Niche ». *Biochemical and Biophysical Research Communications* 453, n° 3 (24 octobre 2014): 467-72. https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2014.09.109.

- Lanot, R., D. Zachary, F. Holder, et M. Meister. « Postembryonic Hematopoiesis in Drosophila ». *Developmental Biology* 230, n° 2 (15 février 2001): 243-57. https://doi.org/10.1006/dbio.2000.0123.
- Largeot, Anne, Flor Maria Perez-Campo, Elli Marinopoulou, Michael Lie-a-Ling, Valerie Kouskoff, et Georges Lacaud. « Expression of the MOZ-TIF2 Oncoprotein in Mice Represses Senescence ». *Experimental Hematology* 44, n° 4 (avril 2016): 231-237.e4. https://doi.org/10.1016/j.exphem.2015.12.006.
- Laue, Kathrin, Sylvain Daujat, Justin Gage Crump, Nikki Plaster, Henry H. Roehl, Charles B.
 Kimmel, Robert Schneider, et Matthias Hammerschmidt. « The multidomain protein Brpf1 binds histones and is required for Hox gene expression and segmental identity ».
 Development (Cambridge, England) 135, nº 11 (juin 2008): 1935-46.
 https://doi.org/10.1242/dev.017160.
- Laue, Kathrin, Sylvain Daujat, Justin Gage Crump, Nikki Plaster, Henry H. Roehl, Tübingen 2000
 Screen Consortium, Charles B. Kimmel, Robert Schneider, et Matthias Hammerschmidt.
 « The Multidomain Protein Brpf1 Binds Histones and Is Required for Hox Gene Expression and Segmental Identity ». *Development (Cambridge, England)* 135, nº 11 (juin 2008): 1935-46. https://doi.org/10.1242/dev.017160.
- Lebestky, Tim, Ting Chang, Volker Hartenstein, et Utpal Banerjee. « Specification of Drosophila Hematopoietic Lineage by Conserved Transcription Factors ». *Science* 288, n° 5463 (7 avril 2000): 146-49. https://doi.org/10.1126/science.288.5463.146.
- LeBien, Tucker W., et Thomas F. Tedder. « B lymphocytes: how they develop and function ». Blood 112, n° 5 (1 septembre 2008): 1570-80. https://doi.org/10.1182/blood-2008-02-078071.
- Lee, G. R., P. E. Fields, et R. A. Flavell. « Regulation of IL-4 Gene Expression by Distal Regulatory Elements and GATA-3 at the Chromatin Level ». *Immunity* 14, n° 4 (avril 2001): 447-59. https://doi.org/10.1016/s1074-7613(01)00125-x.
- Lee, Jeffrey D., et Jessica E. Treisman. « The role of Wingless signaling in establishing the anteroposterior and dorsoventral axes of the eye disc ». *Development* 128, n° 9 (1 mai 2001): 1519-29. https://doi.org/10.1242/dev.128.9.1519.
- Leitão, Alexandre B., et Élio Sucena. « Drosophila Sessile Hemocyte Clusters Are True Hematopoietic Tissues That Regulate Larval Blood Cell Differentiation ». *ELife* 4 (4 février 2015): e06166. https://doi.org/10.7554/eLife.06166.
- Letourneau, Manon, Francois Lapraz, Anurag Sharma, Nathalie Vanzo, Lucas Waltzer, et Michèle Crozatier. « Drosophila Hematopoiesis under Normal Conditions and in Response to Immune Stress ». *FEBS Letters* 590, n° 22 (2016): 4034-51. https://doi.org/10.1002/1873-3468.12327.
- Li, Weiping, Shujuan Xu, Shuang Lin, et Wei Zhao. « Overexpression of Runt-Related Transcription Factor-2 Is Associated with Advanced Tumor Progression and Poor Prognosis in Epithelial Ovarian Cancer ». *BioMed Research International* 2012 (4 octobre 2012): e456534. https://doi.org/10.1155/2012/456534.
- Liakhovitskaia, Anna, Stanislav Rybtsov, Tom Smith, Antoniana Batsivari, Natalia Rybtsova, Christina Rode, Marella de Bruijn, et al. « Runx1 Is Required for Progression of CD41+ Embryonic Precursors into HSCs but Not Prior to This ». *Development (Cambridge, England)* 141, n° 17 (septembre 2014): 3319. https://doi.org/10.1242/dev.110841.
- Ling, Kam-Wing, Katrin Ottersbach, Jan Piet van Hamburg, Aneta Oziemlak, Fong-Ying Tsai, Stuart H. Orkin, Rob Ploemacher, Rudi W. Hendriks, et Elaine Dzierzak. « GATA-2 Plays Two

Functionally Distinct Roles during the Ontogeny of Hematopoietic Stem Cells ». *The Journal of Experimental Medicine* 200, n° 7 (4 octobre 2004): 871-82. https://doi.org/10.1084/jem.20031556.

- Liu, Xin-Li, Jin Meng, Xu-Tao Zhang, Xiao-Hua Liang, Feng Zhang, Guan-Ren Zhao, et Tao Zhang. « ING5 inhibits lung cancer invasion and epithelial–mesenchymal transition by inhibiting the WNT/β-catenin pathway ». *Thoracic Cancer* 10, n° 4 (avril 2019): 848-55. https://doi.org/10.1111/1759-7714.13013.
- Louradour, Isabelle, Anurag Sharma, Ismael Morin-Poulard, Manon Letourneau, Alain Vincent, Michèle Crozatier, et Nathalie Vanzo. « Reactive Oxygen Species-Dependent Toll/NF-KB Activation in the Drosophila Hematopoietic Niche Confers Resistance to Wasp Parasitism ». *ELife* 6 (1 novembre 2017): e25496. https://doi.org/10.7554/eLife.25496.
- Luo, Fangzhou, Shichao Yu, et Li Hua Jin. « The Posterior Signaling Center Is an Important Microenvironment for Homeostasis of the Drosophila Lymph Gland ». *Frontiers in Cell and Developmental Biology* 8 (2020).

https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fcell.2020.00382.

- Lv, Deguan, Feng Jia, Yanli Hou, Youzhou Sang, Angel A. Alvarez, Weiwei Zhang, Wei-Qiang Gao, et al. « Histone acetyltransferase KAT6A upregulates PI3K/AKT signaling through TRIM24 binding ». *Cancer research* 77, n° 22 (15 novembre 2017): 6190-6201. https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-17-1388.
- Lymperi, Stefania, Adel Ersek, Francesca Ferraro, Francesco Dazzi, et Nicole J. Horwood. « Inhibition of Osteoclast Function Reduces Hematopoietic Stem Cell Numbers in Vivo ». *Blood* 117, n° 5 (3 février 2011): 1540-49. https://doi.org/10.1182/blood-2010-05-282855.
- Makhijani, Kalpana, Brandy Alexander, Deepti Rao, Sophia Petraki, Leire Herboso, Katelyn Kukar, Itrat Batool, et al. « Regulation of Drosophila Hematopoietic Sites by Activin-β from Active Sensory Neurons ». *Nature Communications* 8 (27 juillet 2017): 15990. https://doi.org/10.1038/ncomms15990.
- Mandal, Lolitika, Julian A. Martinez-Agosto, Cory J. Evans, Volker Hartenstein, et Utpal Banerjee. « A Hedgehog- and Antennapedia-dependent niche maintains Drosophila haematopoietic precursors ». *Nature* 446, n° 7133 (15 mars 2007): 320-24. https://doi.org/10.1038/nature05585.
- Márkus, Róbert, Barbara Laurinyecz, Éva Kurucz, Viktor Honti, Izabella Bajusz, Botond Sipos, Kálmán Somogyi, Jesper Kronhamn, Dan Hultmark, et István Andó. « Sessile hemocytes as a hematopoietic compartment in Drosophila melanogaster ». *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 106, nº 12 (24 mars 2009): 4805-9. https://doi.org/10.1073/pnas.0801766106.
- McDevitt, M. A., Y. Fujiwara, R. A. Shivdasani, et S. H. Orkin. « An Upstream, DNase I Hypersensitive Region of the Hematopoietic-Expressed Transcription Factor GATA-1 Gene Confers Developmental Specificity in Transgenic Mice ». *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 94, nº 15 (22 juillet 1997): 7976-81. https://doi.org/10.1073/pnas.94.15.7976.
- Medvinsky, A., et E. Dzierzak. « Definitive Hematopoiesis Is Autonomously Initiated by the AGM Region ». *Cell* 86, n° 6 (20 septembre 1996): 897-906. https://doi.org/10.1016/s0092-8674(00)80165-8.
- Mercher, Thomas, Melanie G. Cornejo, Christopher Sears, Thomas Kindler, Sandra A. Moore, Ivan Maillard, Warren S. Pear, Jon C. Aster, et D. Gary Gilliland. « Notch Signaling Specifies Megakaryocyte Development from Hematopoietic Stem Cells ». *Cell Stem Cell* 3, n° 3 (11 septembre 2008): 314-26. https://doi.org/10.1016/j.stem.2008.07.010.

- Mikkola, Hanna K. A., et Stuart H. Orkin. « The Journey of Developing Hematopoietic Stem Cells ». *Development (Cambridge, England)* 133, nº 19 (octobre 2006): 3733-44. https://doi.org/10.1242/dev.02568.
- Miller, Craig T., Lisa Maves, et Charles B. Kimmel. « *Moz* Regulates Hox Expression and Pharyngeal Segmental Identity in Zebrafish ». *Development* 131, n° 10 (15 mai 2004): 2443-61. https://doi.org/10.1242/dev.01134.
- Minakhina, Svetlana, William Tan, et Ruth Steward. « JAK/STAT and the GATA Factor Pannier Control Hemocyte Maturation and Differentiation in Drosophila ». *Developmental Biology* 352, n° 2 (15 avril 2011): 308-16. https://doi.org/10.1016/j.ydbio.2011.01.035.
- Mishra, Bibhu P., Kristin M. Zaffuto, Erika L. Artinger, Tonis Org, Hanna K. A. Mikkola, Chao Cheng, Malek Djabali, et Patricia Ernst. « The Histone Methyltransferase Activity of MLL1 Is Dispensable for Hematopoiesis and Leukemogenesis ». *Cell Reports* 7, n° 4 (22 mai 2014): 1239-47. https://doi.org/10.1016/j.celrep.2014.04.015.
- Miyoshi, H., K. Shimizu, T. Kozu, N. Maseki, Y. Kaneko, et M. Ohki. « T(8;21) Breakpoints on Chromosome 21 in Acute Myeloid Leukemia Are Clustered within a Limited Region of a Single Gene, AML1 ». Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 88, n° 23 (1 décembre 1991): 10431-34. https://doi.org/10.1073/pnas.88.23.10431.
- Mondal, Bama Charan, Tina Mukherjee, Lolitika Mandal, Cory J. Evans, Sergey A. Sinenko, Julian A. Martinez-Agosto, et Utpal Banerjee. « Interaction between Differentiating Cell- and Niche-Derived Signals in Hematopoietic Progenitor Maintenance ». *Cell* 147, n° 7 (23 décembre 2011): 1589-1600. https://doi.org/10.1016/j.cell.2011.11.041.
- Morrison, Sean J., et David T. Scadden. « The Bone Marrow Niche for Haematopoietic Stem Cells ». *Nature* 505, n° 7483 (16 janvier 2014): 327-34. https://doi.org/10.1038/nature12984.
- Nainu, Firzan, Yumiko Tanaka, Akiko Shiratsuchi, et Yoshinobu Nakanishi. « Protection of Insects against Viral Infection by Apoptosis-Dependent Phagocytosis ». *Journal of Immunology (Baltimore, Md.: 1950)* 195, n° 12 (15 décembre 2015): 5696-5706. https://doi.org/10.4049/jimmunol.1500613.
- Nakagawa, Masahiro, Motoshi Ichikawa, Keiki Kumano, Susumu Goyama, Masahito Kawazu, Takashi Asai, Seishi Ogawa, Mineo Kurokawa, et Shigeru Chiba. « AML1/Runx1 Rescues Notch1-Null Mutation-Induced Deficiency of Para-Aortic Splanchnopleural Hematopoiesis ». *Blood* 108, n° 10 (15 novembre 2006): 3329-34. https://doi.org/10.1182/blood-2006-04-019570.
- Nam, Hyuck-Jin, In-Hwan Jang, Tsunaki Asano, et Won-Jae Lee. « Involvement of Pro-Phenoloxidase 3 in Lamellocyte-Mediated Spontaneous Melanization in Drosophila ». *Molecules and Cells* 26, n° 6 (31 décembre 2008): 606-10.
- Nam, Hyuck-Jin, In-Hwan Jang, Hyejin You, Kyung-Ah Lee, et Won-Jae Lee. « Genetic Evidence of a Redox-Dependent Systemic Wound Response via Hayan Protease-Phenoloxidase System in Drosophila ». *The EMBO Journal* 31, n° 5 (7 mars 2012): 1253-65. https://doi.org/10.1038/emboj.2011.476.
- Narni-Mancinelli, Émilie, Sophie Ugolini, et Éric Vivier. « Les cellules natural killer Adaptation et mémoire dans le système immunitaire inné ». *médecine/sciences* 29, n° 4 (1 avril 2013): 389-95. https://doi.org/10.1051/medsci/2013294012.
- Nehme, Nadine T., Jessica Quintin, Ju Hyun Cho, Janice Lee, Marie-Céline Lafarge, Christine Kocks, et Dominique Ferrandon. « Relative Roles of the Cellular and Humoral Responses in the Drosophila Host Defense against Three Gram-Positive Bacterial Infections ». *PloS One* 6, n° 3 (3 mars 2011): e14743. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0014743.

- Ng, Cherry Ee Lin, Tomomasa Yokomizo, Namiko Yamashita, Branko Cirovic, Hao Jin, Zilong Wen, Yoshiaki Ito, et Motomi Osato. « A Runx1 Intronic Enhancer Marks Hemogenic Endothelial Cells and Hematopoietic Stem Cells ». *Stem Cells (Dayton, Ohio)* 28, n° 10 (octobre 2010): 1869-81. https://doi.org/10.1002/stem.507.
- Noetzli, Leila J., Shauna L. French, et Kellie R. Machlus. « New Insights Into the Differentiation of Megakaryocytes From Hematopoietic Progenitors ». *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology* 39, n° 7 (juillet 2019): 1288-1300. https://doi.org/10.1161/ATVBAHA.119.312129.
- North, Trista E., Marella F. T. R. de Bruijn, Terryl Stacy, Laleh Talebian, Evan Lind, Catherine Robin, Michael Binder, Elaine Dzierzak, et Nancy A. Speck. « Runx1 Expression Marks Long-Term Repopulating Hematopoietic Stem Cells in the Midgestation Mouse Embryo ». *Immunity* 16, n° 5 (mai 2002): 661-72. https://doi.org/10.1016/s1074-7613(02)00296-0.
- Nottingham, Wade T., Andrew Jarratt, Matthew Burgess, Caroline L. Speck, Jan-Fang Cheng, Shyam Prabhakar, Eddy M. Rubin, et al. « Runx1-Mediated Hematopoietic Stem-Cell Emergence Is Controlled by a Gata/Ets/SCL-Regulated Enhancer ». *Blood* 110, n° 13 (15 décembre 2007): 4188-97. https://doi.org/10.1182/blood-2007-07-100883.
- Numata, Akihiko, Hui Si Kwok, Qi-Ling Zhou, Jia Li, Roberto Tirado-Magallanes, Vladimir Espinosa Angarica, Rebecca Hannah, et al. « Lysine acetyltransferase Tip60 is required for hematopoietic stem cell maintenance ». *Blood* 136, n° 15 (8 octobre 2020): 1735-47. https://doi.org/10.1182/blood.2019001279.
- Ogryzko, V. V., R. L. Schiltz, V. Russanova, B. H. Howard, et Y. Nakatani. « The Transcriptional Coactivators P300 and CBP Are Histone Acetyltransferases ». *Cell* 87, n° 5 (29 novembre 1996): 953-59. https://doi.org/10.1016/s0092-8674(00)82001-2.
- Oh, Philmo, Camille Lobry, Jie Gao, Anastasia Tikhonova, Evangelia Loizou, Jan Manet, Ben van Handel, et al. « In vivo Mapping of Notch Pathway Activity in Normal and Stress Hematopoiesis ». *Cell stem cell* 13, n° 2 (1 août 2013): 190-204. https://doi.org/10.1016/j.stem.2013.05.015.
- Oike, Y., A. Hata, T. Mamiya, T. Kaname, Y. Noda, M. Suzuki, H. Yasue, T. Nabeshima, K. Araki, et K. Yamamura. « Truncated CBP Protein Leads to Classical Rubinstein-Taybi Syndrome Phenotypes in Mice: Implications for a Dominant-Negative Mechanism ». *Human Molecular Genetics* 8, n° 3 (mars 1999): 387-96. https://doi.org/10.1093/hmg/8.3.387.
- Owusu-Ansah, Edward, et Utpal Banerjee. « Reactive Oxygen Species Prime Drosophila Haematopoietic Progenitors for Differentiation ». *Nature* 461, n° 7263 (24 septembre 2009): 537-41. https://doi.org/10.1038/nature08313.
- Oyallon, Justine, Nathalie Vanzo, Joanna Krzemień, Ismaël Morin-Poulard, Alain Vincent, et Michèle Crozatier. « Two Independent Functions of Collier/Early B Cell Factor in the Control of Drosophila Blood Cell Homeostasis ». *PLOS ONE* 11, n° 2 (11 février 2016): e0148978. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0148978.
- Paddibhatla, Indira, Dushyant K. Gautam, et Rakesh K. Mishra. « SETDB1 Modulates the Differentiation of Both the Crystal Cells and the Lamellocytes in Drosophila ». Developmental Biology 456, n° 1 (1 décembre 2019): 74-85. https://doi.org/10.1016/j.ydbio.2019.08.008.
- Palis, J., S. Robertson, M. Kennedy, C. Wall, et G. Keller. « Development of Erythroid and Myeloid Progenitors in the Yolk Sac and Embryo Proper of the Mouse ». *Development (Cambridge, England)* 126, n° 22 (novembre 1999): 5073-84. https://doi.org/10.1242/dev.126.22.5073.
- Panagopoulos, I., T. Fioretos, M. Isaksson, U. Samuelsson, R. Billström, B. Strömbeck, F. Mitelman, et B. Johansson. « Fusion of the MORF and CBP Genes in Acute Myeloid

Leukemia with the t(10;16)(Q22;P13) ». *Human Molecular Genetics* 10, n° 4 (15 février 2001): 395-404. https://doi.org/10.1093/hmg/10.4.395.

- Pater, Emma de, Polynikis Kaimakis, Chris S. Vink, Tomomasa Yokomizo, Tomoko Yamada-Inagawa, Reinier van der Linden, Parham Solaimani Kartalaei, Sally A. Camper, Nancy Speck, et Elaine Dzierzak. « Gata2 Is Required for HSC Generation and Survival ». The Journal of Experimental Medicine 210, nº 13 (16 décembre 2013): 2843-50. https://doi.org/10.1084/jem.20130751.
- Pelletier, Nadine, Nathalie Champagne, Stefano Stifani, et Xiang-Jiao Yang. « MOZ and MORF Histone Acetyltransferases Interact with the Runt-Domain Transcription Factor Runx2 ». Oncogene 21, n° 17 (18 avril 2002): 2729-40. https://doi.org/10.1038/sj.onc.1205367.
- Pencovich, Niv, Ram Jaschek, Amos Tanay, et Yoram Groner. « Dynamic Combinatorial Interactions of RUNX1 and Cooperating Partners Regulates Megakaryocytic Differentiation in Cell Line Models ». *Blood* 117, nº 1 (6 janvier 2011): e1-14. https://doi.org/10.1182/blood-2010-07-295113.
- Pennetier, Delphine, Justine Oyallon, Ismaël Morin-Poulard, Sébastien Dejean, Alain Vincent, et Michèle Crozatier. « Size Control of the Drosophila Hematopoietic Niche by Bone Morphogenetic Protein Signaling Reveals Parallels with Mammals ». *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 109, n° 9 (28 février 2012): 3389-94. https://doi.org/10.1073/pnas.1109407109.
- Perez-Campo, Flor M., Julian Borrow, Valerie Kouskoff, et Georges Lacaud. « The Histone Acetyl Transferase Activity of Monocytic Leukemia Zinc Finger Is Critical for the Proliferation of Hematopoietic Precursors ». *Blood* 113, n° 20 (14 mai 2009): 4866-74. https://doi.org/10.1182/blood-2008-04-152017.
- Perez-Campo, Flor M., Guilherme Costa, Michael Lie-a-Ling, Valerie Kouskoff, et Georges Lacaud.
 « The MYSTerious MOZ, a Histone Acetyltransferase with a Key Role in Haematopoiesis ».
 Immunology 139, nº 2 (juin 2013): 161-65. https://doi.org/10.1111/imm.12072.
- Perez-Campo, Flor M., Guilherme Costa, Michael Lie-A-Ling, Stefano Stifani, Valerie Kouskoff, et Georges Lacaud. « MOZ-Mediated Repression of P16(INK) (4) (a) Is Critical for the Self-Renewal of Neural and Hematopoietic Stem Cells ». *Stem Cells (Dayton, Ohio)* 32, n° 6 (juin 2014): 1591-1601. https://doi.org/10.1002/stem.1606.
- Pevny, L., C. S. Lin, V. D'Agati, M. C. Simon, S. H. Orkin, et F. Costantini. « Development of Hematopoietic Cells Lacking Transcription Factor GATA-1 ». *Development (Cambridge, England)* 121, n° 1 (janvier 1995): 163-72. https://doi.org/10.1242/dev.121.1.163.
- Pevny, Larysa, M. Celeste Simon, Elizabeth Robertson, William H. Klein, Shih-Feng Tsai, Vivette D'Agati, Stuart H. Orkin, et Frank Costantini. « Erythroid Differentiation in Chimaeric Mice Blocked by a Targeted Mutation in the Gene for Transcription Factor GATA-1 ». *Nature* 349, n° 6306 (janvier 1991): 257-60. https://doi.org/10.1038/349257a0.
- Pinho, Sandra, et Paul S. Frenette. « Haematopoietic Stem Cell Activity and Interactions with the Niche ». *Nature Reviews. Molecular Cell Biology* 20, n° 5 (mai 2019): 303-20. https://doi.org/10.1038/s41580-019-0103-9.
- Poplawski, Amanda, Kaifeng Hu, Woonghee Lee, Senthil Natesan, Danni Peng, Samuel Carlson, Xiaobing Shi, Stefan Balaz, John L. Markley, et Karen C. Glass. « Molecular Insights into the Recognition of N-Terminal Histone Modifications by the BRPF1 Bromodomain ». *Journal of Molecular Biology* 426, n° 8 (17 avril 2014): 1661-76. https://doi.org/10.1016/j.jmb.2013.12.007.
- Port, Fillip, Hui-Min Chen, Tzumin Lee, et Simon L. Bullock. « Optimized CRISPR/Cas tools for efficient germline and somatic genome engineering in Drosophila ». *Proceedings of the*

National Academy of Sciences 111, n° 29 (22 juillet 2014): E2967-76. https://doi.org/10.1073/pnas.1405500111.

- Qin, Su, Lei Jin, Jiahai Zhang, Lei Liu, Peng Ji, Mian Wu, Jihui Wu, et Yunyu Shi. « Recognition of Unmodified Histone H3 by the First PHD Finger of Bromodomain-PHD Finger Protein 2 Provides Insights into the Regulation of Histone Acetyltransferases Monocytic Leukemic Zinc-Finger Protein (MOZ) and MOZ-Related Factor (MORF) ». *The Journal of Biological Chemistry* 286, n° 42 (21 octobre 2011): 36944-55. https://doi.org/10.1074/jbc.M111.244400.
- Qiu, Caihong, Emmanuel N. Olivier, Michelle Velho, et Eric E. Bouhassira. « Globin switches in yolk sac–like primitive and fetal-like definitive red blood cells produced from human embryonic stem cells ». *Blood* 111, n° 4 (15 février 2008): 2400-2408. https://doi.org/10.1182/blood-2007-07-102087.
- Qiu, Yu, Lei Liu, Chen Zhao, Chuanchun Han, Fudong Li, Jiahai Zhang, Yan Wang, et al. « Combinatorial Readout of Unmodified H3R2 and Acetylated H3K14 by the Tandem PHD Finger of MOZ Reveals a Regulatory Mechanism for HOXA9 Transcription ». *Genes & Development* 26, n° 12 (15 juin 2012): 1376-91. https://doi.org/10.1101/gad.188359.112.
- Regan, Jennifer C., Ana S. Brandão, Alexandre B. Leitão, Angela Raquel Mantas Dias, Elio Sucena, António Jacinto, et Anna Zaidman-Rémy. « Steroid Hormone Signaling Is Essential to Regulate Innate Immune Cells and Fight Bacterial Infection in Drosophila ». *PLoS Pathogens* 9, nº 10 (octobre 2013): e1003720. https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1003720.
- Rehorn, Klaus-Peter, Heidi Thelen, Alan M. Michelson, et Rolf Reuter. « A molecular aspect of hematopoiesis and endoderm development common to vertebrates and Drosophila ». *Development* 122, nº 12 (1 décembre 1996): 4023-31. https://doi.org/10.1242/dev.122.12.4023.
- Rennert, Jessica, James A. Coffman, Arcady R. Mushegian, et Anthony J. Robertson. « The Evolution of Runx Genes I. A Comparative Study of Sequences from Phylogenetically Diverse Model Organisms ». BMC Evolutionary Biology 3 (24 mars 2003): 4. https://doi.org/10.1186/1471-2148-3-4.
- Rizki, T. M., et R. M. Rizki. « Lamellocyte Differentiation in Drosophila Larvae Parasitized by Leptopilina ». *Developmental and Comparative Immunology* 16, n° 2-3 (1992): 103-10. https://doi.org/10.1016/0145-305x(92)90011-z.
- Robert-Moreno, Alex, Lluís Espinosa, José Luis de la Pompa, et Anna Bigas. « RBPjkappa-Dependent Notch Function Regulates Gata2 and Is Essential for the Formation of Intra-Embryonic Hematopoietic Cells ». *Development (Cambridge, England)* 132, n° 5 (mars 2005): 1117-26. https://doi.org/10.1242/dev.01660.
- Roberts, David B. « Drosophila Melanogaster: The Model Organism ». *Entomologia Experimentalis et Applicata* 121, nº 2 (2006): 93-103. https://doi.org/10.1111/j.1570-8703.2006.00474.x.
- Rokudai, Susumu, Yukiko Aikawa, Yusuke Tagata, Nobuo Tsuchida, Yoichi Taya, et Issay Kitabayashi. « Monocytic Leukemia Zinc Finger (MOZ) Interacts with P53 to Induce P21 Expression and Cell-Cycle Arrest ». *The Journal of Biological Chemistry* 284, n° 1 (2 janvier 2009): 237-44. https://doi.org/10.1074/jbc.M805101200.
- Rokudai, Susumu, Oleg Laptenko, Suzzette M. Arnal, Yoichi Taya, Issay Kitabayashi, et Carol Prives. « MOZ Increases P53 Acetylation and Premature Senescence through Its Complex Formation with PML ». *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 110, n° 10 (5 mars 2013): 3895-3900. https://doi.org/10.1073/pnas.1300490110.

Rosales, Carlos. « Neutrophil: A Cell with Many Roles in Inflammation or Several Cell Types? » Frontiers in Physiology 9 (2018).

https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fphys.2018.00113.

- Rothenberg, Ellen V. « GATA-3 Locks the Door to the B-Cell Option ». *Blood* 121, n° 10 (7 mars 2013): 1673-74. https://doi.org/10.1182/blood-2013-01-477737.
- Russo, J., M. Brehélin, et Y. Carton. « Haemocyte Changes in Resistant and Susceptible Strains of D. Melanogaster Caused by Virulent and Avirulent Strains of the Parasitic Wasp Leptopilina Boulardi ». *Journal of Insect Physiology* 47, n° 2 (1 février 2001): 167-72. https://doi.org/10.1016/s0022-1910(00)00102-5.
- Russo, J., S. Dupas, F. Frey, Y. Carton, et M. Brehelin. « Insect Immunity: Early Events in the Encapsulation Process of Parasitoid (Leptopilina Boulardi) Eggs in Resistant and Susceptible Strains of Drosophila ». *Parasitology* 112 (Pt 1) (janvier 1996): 135-42. https://doi.org/10.1017/s0031182000065173.
- Saksouk, N., N. Avvakumov, et J. Côté. « (De)MYSTification and INGenuity of Tumor Suppressors ». *Cellular and Molecular Life Sciences: CMLS* 65, n° 7-8 (avril 2008): 1013-18. https://doi.org/10.1007/s00018-008-7459-x.
- Sanchez Bosch, Pablo, Kalpana Makhijani, Leire Herboso, Katrina S. Gold, Rowan Baginsky, Katie J.
 Woodcock, Brandy Alexander, et al. « Adult Drosophila Lack Hematopoiesis but Rely on a Blood Cell Reservoir at the Respiratory Epithelia to Relay Infection Signals to Surrounding Tissues ». *Developmental Cell* 51, nº 6 (16 décembre 2019): 787-803.e5.
 https://doi.org/10.1016/j.devcel.2019.10.017.
- Schofield, R. « The Relationship between the Spleen Colony-Forming Cell and the Haemopoietic Stem Cell ». *Blood Cells* 4, n° 1-2 (1978): 7-25.
- Schulz, Christian, Elisa Gomez Perdiguero, Laurent Chorro, Heather Szabo-Rogers, Nicolas Cagnard, Katrin Kierdorf, Marco Prinz, et al. « A Lineage of Myeloid Cells Independent of Myb and Hematopoietic Stem Cells ». *Science (New York, N.Y.)* 336, n° 6077 (6 avril 2012): 86-90. https://doi.org/10.1126/science.1219179.
- Scott, E. K., T. Lee, et L. Luo. « Enok Encodes a Drosophila Putative Histone Acetyltransferase Required for Mushroom Body Neuroblast Proliferation ». *Current Biology: CB* 11, n° 2 (23 janvier 2001): 99-104. https://doi.org/10.1016/s0960-9822(01)00020-3.
- Searle, Naomi E., Ana Lilia Torres-Machorro, et Lorraine Pillus. « Chromatin Regulation by the NuA4 Acetyltransferase Complex Is Mediated by Essential Interactions Between Enhancer of Polycomb (Epl1) and Esa1 ». *Genetics* 205, n° 3 (mars 2017): 1125-37. https://doi.org/10.1534/genetics.116.197830.
- Severe, Nicolas, Nezihi Murat Karabacak, Karin Gustafsson, Ninib Baryawno, Gabriel Courties, Youmna Kfoury, Konstantinos D. Kokkaliaris, et al. « Stress-Induced Changes in Bone Marrow Stromal Cell Populations Revealed through Single-Cell Protein Expression Mapping ». *Cell Stem Cell* 25, nº 4 (3 octobre 2019): 570-583.e7. https://doi.org/10.1016/j.stem.2019.06.003.
- Sharma, Shiv Kumar, Saikat Ghosh, Aarathy RavisundarJose Geetha, Sudip Mandal, et Lolitika Mandal. « Cell Adhesion-Mediated Actomyosin Assembly Regulates the Activity of Cubitus Interruptus for Hematopoietic Progenitor Maintenance in Drosophila ». *Genetics* 212, n° 4 (août 2019): 1279-1300. https://doi.org/10.1534/genetics.119.302209.
- Sheikh, B. N., B. Phipson, F. El-Saafin, H. K. Vanyai, N. L. Downer, M. J. Bird, A. J. Kueh, et al.
 « MOZ (MYST3, KAT6A) Inhibits Senescence via the INK4A-ARF Pathway ». Oncogene 34, nº 47 (19 novembre 2015): 5807-20. https://doi.org/10.1038/onc.2015.33.

- Sheikh, Bilal N., Donald Metcalf, Anne K. Voss, et Tim Thomas. « MOZ and BMI1 Act Synergistically to Maintain Hematopoietic Stem Cells ». *Experimental Hematology* 47 (mars 2017): 83-97.e8. https://doi.org/10.1016/j.exphem.2016.10.006.
- Sheikh, Bilal N., Yuqing Yang, Jaring Schreuder, Susan K. Nilsson, Rebecca Bilardi, Sebastian Carotta, Helen M. McRae, Donald Metcalf, Anne K. Voss, et Tim Thomas. « MOZ (KAT6A) Is Essential for the Maintenance of Classically Defined Adult Hematopoietic Stem Cells ». Blood 128, n° 19 (10 novembre 2016): 2307-18. https://doi.org/10.1182/blood-2015-10-676072.
- Shia, Alice K. H., Marcus Glittenberg, Gavin Thompson, Alexander N. Weber, Jean-Marc
 Reichhart, et Petros Ligoxygakis. « Toll-Dependent Antimicrobial Responses in Drosophila
 Larval Fat Body Require Spätzle Secreted by Haemocytes ». *Journal of Cell Science* 122, n°
 Pt 24 (15 décembre 2009): 4505-15. https://doi.org/10.1242/jcs.049155.
- Sinenko, Sergey A., Lolitika Mandal, Julian A. Martinez-Agosto, et Utpal Banerjee. « Dual Role of Wingless Signaling in Stem-like Hematopoietic Precursor Maintenance in Drosophila ». Developmental Cell 16, n° 5 (mai 2009): 756-63. https://doi.org/10.1016/j.devcel.2009.03.003.
- Sinenko, Sergey A, Jiwon Shim, et Utpal Banerjee. « Oxidative stress in the haematopoietic niche regulates the cellular immune response in Drosophila ». *EMBO Reports* 13, n° 1 (janvier 2012): 83-89. https://doi.org/10.1038/embor.2011.223.
- Song, L., G. Dong, L. Guo, et D. T. Graves. « The Function of Dendritic Cells in Modulating the Host Response ». *Molecular Oral Microbiology* 33, n° 1 (février 2018): 13-21. https://doi.org/10.1111/omi.12195.
- Sorrentino, Richard Paul, Yves Carton, et Shubha Govind. « Cellular Immune Response to Parasite Infection in the Drosophila Lymph Gland Is Developmentally Regulated ». *Developmental Biology* 243, n° 1 (1 mars 2002): 65-80. https://doi.org/10.1006/dbio.2001.0542.
- Sorrentino, Richard Paul, Tsuyoshi Tokusumi, et Robert A. Schulz. « The Friend of GATA Protein U-Shaped Functions as a Hematopoietic Tumor Suppressor in Drosophila ». *Developmental Biology* 311, n° 2 (15 novembre 2007): 311-23. https://doi.org/10.1016/j.ydbio.2007.08.011.
- Spencer, V. A., et J. R. Davie. « Role of Covalent Modifications of Histones in Regulating Gene Expression ». *Gene* 240, n° 1 (15 novembre 1999): 1-12. https://doi.org/10.1016/s0378-1119(99)00405-9.
- Stofanko, Martin, So Yeon Kwon, et Paul Badenhorst. « Lineage Tracing of Lamellocytes Demonstrates Drosophila Macrophage Plasticity ». *PloS One* 5, n° 11 (19 novembre 2010): e14051. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0014051.
- Strahl, B. D., et C. D. Allis. « The Language of Covalent Histone Modifications ». *Nature* 403, n° 6765 (6 janvier 2000): 41-45. https://doi.org/10.1038/47412.
- Strübbe, Gero, Christian Popp, Alexander Schmidt, Andrea Pauli, Leonie Ringrose, Christian Beisel, et Renato Paro. « Polycomb purification by in vivo biotinylation tagging reveals cohesin and Trithorax group proteins as interaction partners ». Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 108, n° 14 (5 avril 2011): 5572-77. https://doi.org/10.1073/pnas.1007916108.
- Su, Jingtian, Xuan Wang, Yuwei Bai, Moran Sun, Yongfang Yao, et Yongtao Duan. « The Role of MOZ/KAT6A in Hematological Malignancies and Advances in MOZ/KAT6A Inhibitors ». *Pharmacological Research* 174 (1 décembre 2021): 105930. https://doi.org/10.1016/j.phrs.2021.105930.

- Sun, Xiao-Jian, Na Man, Yurong Tan, Stephen D. Nimer, et Lan Wang. « The Role of Histone Acetyltransferases in Normal and Malignant Hematopoiesis ». *Frontiers in Oncology* 5 (2015). https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fonc.2015.00108.
- Taichman, R. S., et S. G. Emerson. « Human Osteoblasts Support Hematopoiesis through the Production of Granulocyte Colony-Stimulating Factor ». *The Journal of Experimental Medicine* 179, n° 5 (1 mai 1994): 1677-82. https://doi.org/10.1084/jem.179.5.1677.
- Takahashi, S., T. Komeno, N. Suwabe, K. Yoh, O. Nakajima, S. Nishimura, T. Kuroha, T. Nagasawa, et M. Yamamoto. « Role of GATA-1 in Proliferation and Differentiation of Definitive Erythroid and Megakaryocytic Cells in Vivo ». *Blood* 92, n^o 2 (15 juillet 1998): 434-42.
- Taki, T., M. Sako, M. Tsuchida, et Y. Hayashi. « The t(11;16)(Q23;P13) Translocation in Myelodysplastic Syndrome Fuses the MLL Gene to the CBP Gene ». *Blood* 89, n° 11 (1 juin 1997): 3945-50.
- Tang, Yi, Jianyuan Luo, Wenzhu Zhang, et Wei Gu. « Tip60-Dependent Acetylation of P53 Modulates the Decision between Cell-Cycle Arrest and Apoptosis ». *Molecular Cell* 24, n° 6 (28 décembre 2006): 827-39. https://doi.org/10.1016/j.molcel.2006.11.021.
- Taniuchi, Ichiro, Motomi Osato, Takeshi Egawa, Mary Jean Sunshine, Suk Chul Bae, Toshihisa Komori, Yoshiaki Ito, et Dan R. Littman. « Differential Requirements for Runx Proteins in CD4 Repression and Epigenetic Silencing during T Lymphocyte Development ». *Cell* 111, n° 5 (27 novembre 2002): 621-33. https://doi.org/10.1016/s0092-8674(02)01111-x.
- Tattikota, Sudhir Gopal, Bumsik Cho, Yifang Liu, Yanhui Hu, Victor Barrera, Michael J. Steinbaugh, Sang-Ho Yoon, et al. « A Single-Cell Survey of Drosophila Blood ». *ELife* 9 (12 mai 2020): e54818. https://doi.org/10.7554/eLife.54818.
- Tavian, Manuela, et Bruno Péault. « Embryonic Development of the Human Hematopoietic System ». *The International Journal of Developmental Biology* 49, n° 2-3 (2005): 243-50. https://doi.org/10.1387/ijdb.041957mt.
- Tepass, U., et V. Hartenstein. « Epithelium Formation in the Drosophila Midgut Depends on the Interaction of Endoderm and Mesoderm ». *Development (Cambridge, England)* 120, n° 3 (mars 1994): 579-90. https://doi.org/10.1242/dev.120.3.579.
- Tham, Emma, Anna Lindstrand, Avni Santani, Helena Malmgren, Addie Nesbitt, Holly A. Dubbs, Elaine H. Zackai, et al. « Dominant Mutations in KAT6A Cause Intellectual Disability with Recognizable Syndromic Features ». American Journal of Human Genetics 96, nº 3 (5 mars 2015): 507-13. https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2015.01.016.
- Thomas, Tim, Lynn M. Corcoran, Raffi Gugasyan, Mathew P. Dixon, Thomas Brodnicki, Stephen L. Nutt, Donald Metcalf, et Anne K. Voss. « Monocytic leukemia zinc finger protein is essential for the development of long-term reconstituting hematopoietic stem cells ». *Genes & Development* 20, nº 9 (1 mai 2006): 1175-86. https://doi.org/10.1101/gad.1382606.
- Thomas, Tim, Kate L. Loveland, et Anne K. Voss. « The Genes Coding for the MYST Family Histone Acetyltransferases, Tip60 and Mof, Are Expressed at High Levels during Sperm Development ». *Gene Expression Patterns: GEP* 7, n° 6 (juin 2007): 657-65. https://doi.org/10.1016/j.modgep.2007.03.005.
- Tijssen, Marloes R., Ana Cvejic, Anagha Joshi, Rebecca L. Hannah, Rita Ferreira, Ariel Forrai, Dana C. Bellissimo, et al. « Genome-Wide Analysis of Simultaneous GATA1/2, RUNX1, FLI1, and SCL Binding in Megakaryocytes Identifies Hematopoietic Regulators ». *Developmental Cell* 20, nº 5 (17 mai 2011): 597-609. https://doi.org/10.1016/j.devcel.2011.04.008.
- Tikhonova, Anastasia N., Igor Dolgalev, Hai Hu, Kishor K. Sivaraj, Edlira Hoxha, Álvaro Cuesta-Domínguez, Sandra Pinho, et al. « The Bone Marrow Microenvironment at Single-Cell

Resolution ». *Nature* 569, n° 7755 (mai 2019): 222-28. https://doi.org/10.1038/s41586-019-1104-8.

- Till, J. E., et E. A. McCULLOCH. « A Direct Measurement of the Radiation Sensitivity of Normal Mouse Bone Marrow Cells ». *Radiation Research* 14 (février 1961): 213-22.
- Tokusumi, Tsuyoshi, Yumiko Tokusumi, Dawn W. Hopkins, Douglas A. Shoue, Lauren Corona, et Robert A. Schulz. « Germ Line Differentiation Factor Bag of Marbles Is a Regulator of Hematopoietic Progenitor Maintenance during Drosophila Hematopoiesis ». *Development* (*Cambridge, England*) 138, n° 18 (septembre 2011): 3879-84. https://doi.org/10.1242/dev.069336.
- Tokusumi, Yumiko, Tsuyoshi Tokusumi, Douglas A. Shoue, et Robert A. Schulz. « Gene Regulatory Networks Controlling Hematopoietic Progenitor Niche Cell Production and Differentiation in the Drosophila Lymph Gland ». *PloS One* 7, nº 7 (2012): e41604. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0041604.
- Tokusumi, Yumiko, Tsuyoshi Tokusumi, Jessica Stoller-Conrad, et Robert A. Schulz. « Serpent, Suppressor of Hairless and U-Shaped Are Crucial Regulators of Hedgehog Niche Expression and Prohemocyte Maintenance during Drosophila Larval Hematopoiesis ». *Development (Cambridge, England)* 137, nº 21 (novembre 2010): 3561-68. https://doi.org/10.1242/dev.053728.
- Trcek, Tatjana, Timothée Lionnet, Hari Shroff, et Ruth Lehmann. « MRNA Quantification Using Single-Molecule FISH in Drosophila Embryos ». *Nature Protocols* 12, nº 7 (juillet 2017): 1326-48. https://doi.org/10.1038/nprot.2017.030.
- Tsai, F. Y., G. Keller, F. C. Kuo, M. Weiss, J. Chen, M. Rosenblatt, F. W. Alt, et S. H. Orkin. « An Early Haematopoietic Defect in Mice Lacking the Transcription Factor GATA-2 ». *Nature* 371, n° 6494 (15 septembre 1994): 221-26. https://doi.org/10.1038/371221a0.
- Tsai, F. Y., et S. H. Orkin. « Transcription Factor GATA-2 Is Required for Proliferation/Survival of Early Hematopoietic Cells and Mast Cell Formation, but Not for Erythroid and Myeloid Terminal Differentiation ». *Blood* 89, n° 10 (15 mai 1997): 3636-43.
- Ullah, Mukta, Nadine Pelletier, Lin Xiao, Song Ping Zhao, Kainan Wang, Cindy Degerny, Soroush Tahmasebi, et al. « Molecular Architecture of Quartet MOZ/MORF Histone Acetyltransferase Complexes ». *Molecular and Cellular Biology* 28, n° 22 (novembre 2008): 6828-43. https://doi.org/10.1128/MCB.01297-08.
- Umer, Zain, Jawad Akhtar, Muhammad Haider Farooq Khan, Najma Shaheen, Muhammad Abdul Haseeb, Khalida Mazhar, Aziz Mithani, Saima Anwar, et Muhammad Tariq. « Genome-Wide RNAi Screen in Drosophila Reveals Enok as a Novel Trithorax Group Regulator ». *Epigenetics & Chromatin* 12, n° 1 (23 septembre 2019): 55. https://doi.org/10.1186/s13072-019-0301-x.
- Van De Bor, Véronique, Geordie Zimniak, Lise Papone, Delphine Cerezo, Marilyne Malbouyres, Thomas Juan, Florence Ruggiero, et Stéphane Noselli. « Companion Blood Cells Control Ovarian Stem Cell Niche Microenvironment and Homeostasis ». *Cell Reports* 13, nº 3 (20 octobre 2015): 546-60. https://doi.org/10.1016/j.celrep.2015.09.008.
- Varnum-Finney, Barbara, Lia M. Halasz, Mingyi Sun, Thomas Gridley, Freddy Radtke, et Irwin D. Bernstein. « Notch2 Governs the Rate of Generation of Mouse Long- and Short-Term Repopulating Stem Cells ». *The Journal of Clinical Investigation* 121, n° 3 (mars 2011): 1207-16. https://doi.org/10.1172/JCI43868.
- Vezzoli, Alessandro, Nicolas Bonadies, Mark D. Allen, Stefan M. V. Freund, Clara M. Santiveri, Brynn T. Kvinlaug, Brian J. P. Huntly, Berthold Göttgens, et Mark Bycroft. « Molecular Basis of Histone H3K36me3 Recognition by the PWWP Domain of Brpf1 ». *Nature*

Structural & Molecular Biology 17, n° 5 (mai 2010): 617-19. https://doi.org/10.1038/nsmb.1797.

- Visnjic, Dora, Zana Kalajzic, David W. Rowe, Vedran Katavic, Joseph Lorenzo, et Hector L. Aguila. « Hematopoiesis Is Severely Altered in Mice with an Induced Osteoblast Deficiency ». *Blood* 103, n° 9 (1 mai 2004): 3258-64. https://doi.org/10.1182/blood-2003-11-4011.
- Voss, Anne K., Caitlin Collin, Mathew P. Dixon, et Tim Thomas. « Moz and Retinoic Acid Coordinately Regulate H3K9 Acetylation, Hox Gene Expression, and Segment Identity ». *Developmental Cell* 17, nº 5 (novembre 2009): 674-86. https://doi.org/10.1016/j.devcel.2009.10.006.
- Wadhwa, Aman, Yanjun Chen, Anna Holmqvist, Jessica Wu, Emily Ness, Mariel Parman, Michelle Kung, et al. « Late Mortality after Allogeneic Blood or Marrow Transplantation for Inborn Errors of Metabolism: A Report from the Blood or Marrow Transplant Survivor Study-2 (BMTSS-2) ». Biology of Blood and Marrow Transplantation: Journal of the American Society for Blood and Marrow Transplantation 25, nº 2 (février 2019): 328-34. https://doi.org/10.1016/j.bbmt.2018.09.035.
- Waltzer, Lucas, Laetitia Bataillé, Sandrine Peyrefitte, et Marc Haenlin. « Two Isoforms of Serpent Containing Either One or Two GATA Zinc Fingers Have Different Roles in Drosophila Haematopoiesis ». *The EMBO Journal* 21, n° 20 (15 octobre 2002): 5477-86. https://doi.org/10.1093/emboj/cdf545.
- Waltzer, Lucas, Géraldine Ferjoux, Laetitia Bataillé, et Marc Haenlin. « Cooperation between the GATA and RUNX Factors Serpent and Lozenge during Drosophila Hematopoiesis ». *The EMBO Journal* 22, n° 24 (15 décembre 2003): 6516-25. https://doi.org/10.1093/emboj/cdg622.
- Waltzer, Lucas, Vanessa Gobert, Dani Osman, et Marc Haenlin. « Transcription Factor Interplay during Drosophila Haematopoiesis ». *The International Journal of Developmental Biology* 54, n° 6-7 (2010): 1107-15. https://doi.org/10.1387/ijdb.093054lw.
- Wen, Ting, et Marc E. Rothenberg. « The Regulatory Function of Eosinophils ». Microbiology spectrum 4, n° 5 (octobre 2016): 10.1128/microbiolspec.MCHD-0020-2015. https://doi.org/10.1128/microbiolspec.MCHD-0020-2015.
- Williams, Darren W., Shu Kondo, Agnieszka Krzyzanowska, Yasushi Hiromi, et James W. Truman.
 « Local Caspase Activity Directs Engulfment of Dendrites during Pruning ». *Nature Neuroscience* 9, nº 10 (octobre 2006): 1234-36. https://doi.org/10.1038/nn1774.
- Winkler, Ingrid G., Valérie Barbier, Bianca Nowlan, Rebecca N. Jacobsen, Catherine E. Forristal, John T. Patton, John L. Magnani, et Jean-Pierre Lévesque. « Vascular Niche E-Selectin Regulates Hematopoietic Stem Cell Dormancy, Self Renewal and Chemoresistance ». Nature Medicine 18, nº 11 (novembre 2012): 1651-57. https://doi.org/10.1038/nm.2969.
- Wolock, Samuel L., Indira Krishnan, Danielle E. Tenen, Victoria Matkins, Virginia Camacho, Sweta Patel, Puneet Agarwal, et al. « Mapping Distinct Bone Marrow Niche Populations and Their Differentiation Paths ». *Cell Reports* 28, n° 2 (9 juillet 2019): 302-311.e5. https://doi.org/10.1016/j.celrep.2019.06.031.
- Wong, P. M., S. W. Chung, S. M. Reicheld, et D. H. Chui. « Hemoglobin Switching during Murine Embryonic Development: Evidence for Two Populations of Embryonic Erythropoietic Progenitor Cells ». *Blood* 67, n° 3 (mars 1986): 716-21.
- Wood, Will, Celia Faria, et Antonio Jacinto. « Distinct Mechanisms Regulate Hemocyte Chemotaxis during Development and Wound Healing in Drosophila Melanogaster ». *The Journal of Cell Biology* 173, n° 3 (8 mai 2006): 405-16. https://doi.org/10.1083/jcb.200508161.

- Wood, Will, et Paul Martin. « Macrophage Functions in Tissue Patterning and Disease: New Insights from the Fly ». *Developmental Cell* 40, n° 3 (6 février 2017): 221-33. https://doi.org/10.1016/j.devcel.2017.01.001.
- Woodcock, Katie J., Katrin Kierdorf, Clara A. Pouchelon, Valérie Vivancos, Marc S. Dionne, et Frédéric Geissmann. « Macrophage-Derived Upd3 Cytokine Causes Impaired Glucose Homeostasis and Reduced Lifespan in Drosophila Fed a Lipid-Rich Diet ». *Immunity* 42, n° 1 (20 janvier 2015): 133-44. https://doi.org/10.1016/j.immuni.2014.12.023.
- Woolf, Eilon, Cuiying Xiao, Ofer Fainaru, Joseph Lotem, Dalia Rosen, Varda Negreanu, Yael
 Bernstein, et al. « Runx3 and Runx1 Are Required for CD8 T Cell Development during
 Thymopoiesis ». Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of
 America 100, n° 13 (24 juin 2003): 7731-36. https://doi.org/10.1073/pnas.1232420100.
- Wu, Xiaochong, Paul A. Northcott, Adrian Dubuc, Adam J. Dupuy, David J. H. Shih, Hendrik Witt, Sidney Croul, et al. « Clonal Selection Drives Genetic Divergence of Metastatic Medulloblastoma ». *Nature* 482, nº 7386 (15 février 2012): 529-33. https://doi.org/10.1038/nature10825.
- Xie, Zhongyu, Wenhui Yu, Guiwen Ye, Jinteng Li, Guan Zheng, Wenjie Liu, Jiajie Lin, et al. « Single-Cell RNA Sequencing Analysis of Human Bone-Marrow-Derived Mesenchymal Stem Cells and Functional Subpopulation Identification ». *Experimental & Molecular Medicine* 54, n° 4 (avril 2022): 483-92. https://doi.org/10.1038/s12276-022-00749-5.
- Xin, Tianchi, Tao Xuan, Jieqiong Tan, Mengjie Li, Gengchun Zhao, et Mingfa Li. « The Drosophila Putative Histone Acetyltransferase Enok Maintains Female Germline Stem Cells through Regulating Bruno and the Niche ». *Developmental Biology* 384, nº 1 (1 décembre 2013): 1-12. https://doi.org/10.1016/j.ydbio.2013.10.001.
- Xu, Ming-jiang, Sahoko Matsuoka, Feng-Chun Yang, Yasuhiro Ebihara, Atsushi Manabe, Ryuhei Tanaka, Mitsuoki Eguchi, Shigetaka Asano, Tatsutoshi Nakahata, et Kohichiro Tsuji.
 « Evidence for the Presence of Murine Primitive Megakarycytopoiesis in the Early Yolk Sac ». *Blood* 97, n° 7 (1 avril 2001): 2016-22. https://doi.org/10.1182/blood.V97.7.2016.
- Xu, Wu, Tomofusa Fukuyama, Paul A. Ney, Demin Wang, Jerold Rehg, Kelli Boyd, Jan M. A. van Deursen, et Paul K. Brindle. « Global Transcriptional Coactivators CREB-Binding Protein and P300 Are Highly Essential Collectively but Not Individually in Peripheral B Cells ». *Blood* 107, n° 11 (1 juin 2006): 4407-16. https://doi.org/10.1182/blood-2005-08-3263.
- Yamazaki, Satoshi, Hideo Ema, Göran Karlsson, Tomoyuki Yamaguchi, Hiroyuki Miyoshi, Seiji Shioda, Makoto M. Taketo, Stefan Karlsson, Atsushi Iwama, et Hiromitsu Nakauchi.
 « Nonmyelinating Schwann Cells Maintain Hematopoietic Stem Cell Hibernation in the Bone Marrow Niche ». *Cell* 147, nº 5 (23 novembre 2011): 1146-58. https://doi.org/10.1016/j.cell.2011.09.053.
- Yang, Xiang-Jiao. « The diverse superfamily of lysine acetyltransferases and their roles in leukemia and other diseases ». *Nucleic Acids Research* 32, n° 3 (1 février 2004): 959-76. https://doi.org/10.1093/nar/gkh252.
- Yang, X.-J., et M. Ullah. « MOZ and MORF, Two Large MYSTic HATs in Normal and Cancer Stem Cells ». *Oncogene* 26, n° 37 (13 août 2007): 5408-19. https://doi.org/10.1038/sj.onc.1210609.
- You, Linya, Lin Li, Jinfeng Zou, Kezhi Yan, Jad Belle, Anastasia Nijnik, Edwin Wang, et Xiang-Jiao
 Yang. « BRPF1 Is Essential for Development of Fetal Hematopoietic Stem Cells ». *The Journal of Clinical Investigation* 126, nº 9 (1 septembre 2016): 3247-62. https://doi.org/10.1172/JCI80711.

- Yzaguirre, Amanda D., Marella F.T.R de Bruijn, et Nancy A. Speck. « The role of Runx1 in embryonic blood cell formation ». *Advances in experimental medicine and biology* 962 (2017): 47-64. https://doi.org/10.1007/978-981-10-3233-2_4.
- Zettervall, Carl-Johan, Ines Anderl, Michael J. Williams, Ruth Palmer, Eva Kurucz, Istvan Ando, et Dan Hultmark. « A Directed Screen for Genes Involved in Drosophila Blood Cell Activation ». Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 101, n° 39 (28 septembre 2004): 14192-97. https://doi.org/10.1073/pnas.0403789101.
- Zhu, Jiang, Russell Garrett, Younghun Jung, Yi Zhang, Nacksung Kim, Jingcheng Wang, Gerard J. Joe, et al. « Osteoblasts Support B-Lymphocyte Commitment and Differentiation from Hematopoietic Stem Cells ». *Blood* 109, n° 9 (1 mai 2007): 3706-12. https://doi.org/10.1182/blood-2006-08-041384.

ANNEXES

Annexe 1 : Liste des gènes différentiellement régulés

		ARNi-Luc	ARNi-Luc	ARNi-Luc	ARNi-Enok	ARNi-Enok	ARNi-Enok	log2	
FLYBASE	SYMBOL	rep1 RPKM	rep2 RPKM	rep3 RPKM	rep1 RPKM	rep2 RPKM	rep3 RPKM	FoldChange	padj
FBgn0036131	CG12522	2130.06	1457.82	1218.05	3.02	7.75	0.00	-8.83	0.0000
FBgn0002939	ninaD	108.55	182.86	98.93	0.00	0.00	0.81	-8.62	0.0000
FBgn0032869	CG17470	15.24	18.29	21.84	0.00	0.00	0.00	-6.76	0.0001
FBgn0267954	CR46234	13,33	9,14	17,99	0,00	0,97	0,00	-5,34	0,0098
FBgn0004034	y	25,71	18,29	20,56	1,01	0,97	0,00	-5,11	0,0016
FBgn0050104	NT5E-2	4626,71	2986,75	2792,02	252,75	90,13	129,73	-4,46	0,0000
FBgn0032405	firl	181,87	104,64	138,77	9,06	6,78	6,49	-4,26	0,0000
FBgn0034411	CG18605	43,80	19,30	43,69	1,01	5,81	0,81	-3,83	0,0002
FBgn0029147	NtR	11021,65	10298,20	10444,69	877,08	777,25	1435,17	-3,36	0,0000
FBgn0030237	CG15209	81,89	49,78	65,53	7,05	4,85	10,54	-3,12	0,0000
FBgn0085234	CG34205	1055,03	911,26	859,58	109,76	62,99	164,60	-3,06	0,0000
FBgn0022702	Cht2	352,31	324,07	339,21	39,27	46,52	47,03	-2,93	0,0000
FBgn0015569	alpha-Est10	168,54	136,13	125,92	10,07	22,29	25,14	-2,89	0,0000
FBgn0052073	CG32073	52,37	30,48	23,13	7,05	6,78	0,81	-2,89	0,0026
FBgn0034975	enok	906,49	809,67	742,65	89,62	127,93	140,27	-2,78	0,0000
FBgn0032613	CG13283	189,49	177,78	195,30	27,19	33,92	25,14	-2,71	0,0000
FBgn0264746	CG44004	22,85	32,51	29,55	3,02	2,91	7,30	-2,65	0,0068
FBgn0038071	Dtg	135,21	60,95	178,60	16,11	22,29	22,70	-2,61	0,0000
FBgn0030510	CG12177	150,45	130,04	125,92	24,17	22,29	24,32	-2,52	0,0000
FBgn0266347	nAChRalpha4	173,30	160,51	186,31	21,15	29,07	39,73	-2,52	0,0000
FBgn0267014	CR45458	39,99	64,00	134,91	14,10	21,32	6,49	-2,52	0,0001
FBgn0026721	fat-spondin	158,06	145,27	110,50	14,10	25,20	33,24	-2,50	0,0000
FBgn0038291	CG3984	51,42	49,78	74,52	19,13	8,72	6,49	-2,37	0,0003
FBgn0032668	CG17681	572,27	613,60	540,93	103,72	122,11	111,08	-2,36	0,0000
FBgn0010313	corto	578,93	430,74	355,91	66,46	130,83	71,35	-2,35	0,0000
FBgn0053926	CG33926	143,78	125,97	218,43	9,06	35,86	50,27	-2,34	0,0000
FBgn0034389	Mctp	32,37	38,60	29,55	8,06	2,91	8,92	-2,33	0,0078
FBgn0037562	CG116/1	89,51	/2,13	1/6,03	13,09	24,23	31,62	-2,28	0,0000
FBgn0024984	CG3457	33,33	40,64	30,84	6,04	6,78	8,92	-2,26	0,0053
FBgn0058006	CG40006	40,94	58,92	28,27	8,06	8,72	10,54	-2,23	0,0028
FBgn0039564	CG5527	251,38	317,98	300,66	47,33	56,21	84,33	-2,20	0,0000
FBgn0038290	CG6912	79,03	57,91	133,63	13,09	17057	33,24	-2,20	0,0002
F Bg110050091	dor17	1252.14	1400.02	1020.46	207.44	170,57	258 20	-2,10	0,0000
F Bg10031301	odd	2002 47	1702.67	1030,40	207,44	202,99	336,35	-2,11	0,0000
FBg10002983	CP/31/8	103 79	1703,07	52.68	18 13	15 51	402,56	-2,07	0,0000
FBgn0260795	NaPi-III	318.99	280.39	251.83	61.43	71 72	80.27	-2,07	0,0001
FBgn0035608	blanks	132.36	74 16	176.03	27.19	35.86	33.24	-1.98	0,0000
FBgn0030796	CG4829	332,30	368 77	416 30	70.49	98.85	115 14	-1,58	0,0000
FBgn0004449	Ten-m	776.04	731.45	643 72	256 78	140 53	167.84	-1.93	0,0000
FBgn0265533	CR44383	88.55	77.21	89.94	16.11	22.29	28.38	-1.93	0.0000
FBgn0033101	CG9436	106.65	110.73	154.18	21.15	31.98	44.60	-1.91	0.0000
FBgn0034031	CG12963	56.18	56.89	32.12	20.14	7.75	11.35	-1.90	0.0098
FBgn0010097	gammaTub37C	149.49	329.15	217.14	58.40	67.84	60.81	-1.90	0.0000
FBgn0264745	CR44003	43,80	64,00	56,53	23,16	13,57	8,11	-1,89	0,0053
FBgn0039811	CG15550	2478,56	2473,72	3695,28	473,28	689,06	1178,95	-1,88	0,0005
FBgn0036927	Gabat	135,21	102,61	59,10	43,30	21,32	20,27	-1,82	0,0007
FBgn0004118	nAChRbeta2	59,04	58,92	51,39	7,05	15,51	25,14	-1,81	0,0078
FBgn0053255	CR33255	135,21	79,24	102,79	24,17	31,01	36,49	-1,79	0,0001
FBgn0085223	CG34194	390,40	337,28	449,70	99,69	141,49	112,71	-1,73	0,0000
FBgn0032943	Tsp39D	292,32	216,39	254,40	110,77	53,30	67,30	-1,73	0,0000
FBgn0038603	PKD	637,97	660,34	493,39	173,20	225,81	145,95	-1,72	0,0000
FBgn0261859	CG42788	421,82	222,48	349,48	91,64	73,65	137,03	-1,71	0,0000
FBgn0000578	ena	1011,23	745,67	862,15	214,49	263,61	321,90	-1,71	0,0000
FBgn0034403	CG18190	66,65	93,46	74,52	30,21	25,20	20,27	-1,64	0,0011
FBgn0036368	CG10738	98,08	67,05	69,38	12,08	21,32	41,35	-1,64	0,0078
FBgn0033926	Arc1	2675,67	2579,37	2794,59	951,60	687,12	963,27	-1,63	0,0000
FBgn0033927	CR10102	763,66	736,53	776,06	280,95	164,75	299,20	-1,61	0,0000
FBgn0262570	CG43110	711,29	476,46	397,02	154,07	235,50	134,60	-1,60	0,0000
FBgn0051549	CG31549	176,16	183,88	146,47	50,35	62,03	55,14	-1,60	0,0000
FBgn0267160	CR45600	75,22	64,00	88,66	24,17	35,86	16,22	-1,58	0,0039
FBgn0003483	spn-E	385,64	281,40	238,99	119,83	86,25	102,98	-1,56	0,0000
FBgn0016034	mael	513,23	505,92	494,67	162,12	153,12	202,71	-1,54	0,0000
FBgn0035090	CG2736	90,46	68,07	83,52	27,19	31,98	25,95	-1,51	0,0017
FBgn0034140	Lst	2320,50	1294,26	1751,27	412,86	656,11	843,26	-1,49	0,0015
FBgn0033928	Arc2	155,21	143,24	260,83	46,32	96,91	60,81	-1,45	0,0003
FBgn0001235	hth	564,65	422,62	271,11	206,43	177,35	80,27	-1,45	0,0001
F Bgn0033979	Cyp6a19	141,88	84,32	152,90	55,38	46,52	38,11	-1,44	0,0007
F BgnU063923	Kaz1-ORFB	91,41	/1,11	138,//	32,22	44,58	35,68	-1,42	0,0033
FBgn0001319	KN	645,59	558,/5	497,24	236,64	183,17	223,/9	-1,40	0,0000
r Bgn0036956	CG13813	209,48	280,39	229,99	72,50	91,10	107,84	-1,40	0,0000
		ARNi-Luc	ARNi-Luc	ARNi-Luc	ARNi-Enok	ARNi-Enok	ARNi-Enok	log2	
---------------	--------------------	-------------------	-------------------	--------------------	-----------	------------------	-------------------	----------------	--------
FLYBASE	SYMBOL	rep1 RPKM	rep2 RPKM	rep3 RPKM	rep1 RPKM	rep2 RPKM	rep3 RPKM	FoldChange	padj
FBgn0029710	CG3568	879,83	849,29	675,84	343,38	284,93	283,79	-1,40	0,0000
FBgn0034117	CG7997	2258,61	2173,01	1978,70	709,92	827,65	889,48	-1,40	0,0000
FBgn0025456	CREG	226,62	184,89	253,12	53,37	94,01	105,41	-1,39	0,0000
FBgn0034251	ND-51L1	445,63	341,34	313,51	141,98	170,57	109,46	-1,39	0,0000
FBgn0267991	CR46258	162,83	103,62	95,08	49,34	54,27	35,08	-1,38	0,0015
FBgn0000346	comt	272 33	259.05	169.60	63.44	100,09	100,11	-1,38	0,0000
FBgn0038833	CG15696	239,95	213,34	138,77	59,41	110,48	66,49	-1,33	0,0004
FBgn0040104	lectin-24A	6955,78	7687,33	8128,07	2764,17	3425,92	2888,18	-1,33	0,0000
FBgn0086613	Ino80	372,31	272,26	255,69	101,71	110,48	149,19	-1,32	0,0000
FBgn0052205	hpRNA:CR32205	209,48	232,64	188,88	67,47	96,91	90,81	-1,31	0,0000
FBgn0040102	lectin-24Db	4128,72	4464,89	4935,18	1854,86	1939,26	1682,47	-1,30	0,0000
FBgn0033724	CG8501	168,54	211,31	358,48	80,56	110,48	107,03	-1,30	0,0002
FBgn0052364	tut	150,92	138,10	137,48	74,52	57,18	47,03	-1,29	0,0003
FBgn0034399	CG15083	244 71	189,94	312 22	96.67	111 45	98 11	-1,25	0,0000
FBgn0000567	Eip74EF	935.06	476.46	637.29	322.23	305.28	222.98	-1.27	0.0000
FBgn0052207	hpRNA:CR32207	853,17	789,36	650,14	330,29	343,08	287,03	-1,26	0,0000
FBgn0262031	CR42842	338,03	308,83	196,58	94,66	123,08	135,41	-1,26	0,0000
FBgn0033978	Cyp6a23	3001,32	3046,69	3377,92	1450,05	1246,32	1268,95	-1,25	0,0000
FBgn0037130	Syn1	159,97	153,40	106,64	56,39	71,72	49,46	-1,25	0,0012
FBgn0040732	CG16926	198,06	204,20	255,69	96,67	99,82	81,89	-1,24	0,0000
FBgn0267252	Ggamma30A	667,49	492,71	510,09	215,49	235,50	259,47	-1,23	0,0000
FBgn0036007	path	536,09	194,04	317,30	105,15	106,61	246.22	-1,23	0,0015
FBgn0283437	PPO1	1071,22	6742.54	033,00 10724 79	3141 79	404,15	4068 74	-1,22	0,0000
FBgn0053503	Cvp12d1-d	253.28	345.41	296.80	146.01	143.43	99.73	-1.21	0.0000
FBgn0033917	SmydA-1	358,03	398,23	459,98	184,28	156,03	191,36	-1,19	0,0000
FBgn0028331	l(1)G0289	2875,63	2548,90	2622,42	1394,67	1168,79	1007,05	-1,17	0,0000
FBgn0038973	Pebp1	152,35	163,56	240,27	43,30	106,61	98,11	-1,16	0,0081
FBgn0010501	Dcp-1	259,95	285,47	249,26	108,75	138,59	111,89	-1,15	0,0000
FBgn0259715	CG42369	239,95	163,56	154,18	78,54	104,67	73,79	-1,12	0,0015
FBgn0037844	CG4570	366,59	434,81	472,83	163,13	214,18	207,57	-1,12	0,0000
FBgn0034709	SWIM CR40190	2134,82	2210,60	2267,79	7/6,38	964,30 442.90	720.83	-1,12	0,0000
FBgn0002868	MtnA	946.48	767.01	1553.41	384.67	603.78	525.42	-1.11	0.0000
FBgn0039006	Cyp6d4	991,23	682,69	684,83	402,79	324,66	368,93	-1,11	0,0000
FBgn0004797	mdy	458,01	477,47	506,24	259,80	208,37	204,33	-1,10	0,0000
FBgn0010194	Wnt5	470,38	380,96	276,25	185,28	188,01	155,68	-1,10	0,0000
FBgn0040091	Ugt58Fa	3866,86	3750,71	3843,04	1658,50	1790,01	1915,99	-1,09	0,0000
FBgn0014417	CG13397	383,73	258,04	318,65	122,85	143,43	184,87	-1,09	0,0001
FBgn0030629	CG9123	392,30	378,93	417,58	146,01	238,41	175,95	-1,08	0,0000
FBgn0263745	LR43670	219,00	280,39	251,83	133,93	91,10	128,92	-1,08	0,0002
FBgn00200874	Panss	2777 55	2245 14	247,50	122046	1118 39	1114.08	-1.08	0,0001
FBgn0031519	Fign	113,31	132,07	143,91	76,53	46,52	62,43	-1,07	0,0086
FBgn0029648	CG3603	609,40	539,44	538,36	288,00	248,10	270,01	-1,07	0,0000
FBgn0034985	CG3328	894,11	876,72	891,70	457,17	418,67	401,36	-1,06	0,0000
FBgn0052177	Ndfip	505,62	564,84	499,81	247,72	262,64	248,11	-1,05	0,0000
FBgn0027594	drpr	658,92	442,93	522,94	240,67	242,29	306,49	-1,04	0,0000
FBgn0052087		148,54	166,61	154,18	90,63	63,96	/4,60	-1,04	0,0027
FBgn0085465	CG34436	270 VS	291,50	217,14	172.20	122.02	127,30	-1,03	0,0012
FBgn0031287	CG4291	392.30	515.06	453.56	234.63	226.78	212.44	-1,05	0,0002
FBgn0013276	Hsp70Ab	42190,80	34921,63	38659,11	18168,99	17540,52	21861,59	-1,01	0,0000
FBgn0001296	kar	232,34	187,94	192,73	124,87	111,45	70,54	-1,00	0,0036
FBgn0035085	CG3770	268,52	200,13	236,42	140,98	97,88	115,14	-1,00	0,0009
FBgn0085736	CG40472	343,74	353,53	537,07	193,34	221,93	206,76	-0,99	0,0001
FBgn0052082	IRSp53	204,72	129,02	190,16	93,65	96,91	79,46	-0,96	0,0081
FBgn0037518	CG2641	796,99	784,28	854,44	461,20	377,97	418,39	-0,95	0,0000
FBgn0040323	GNBP1	396,11	496,78 176 77	339,21 156 75	1/9,24	235,50	222,17	-0,95 _n as	0,0001
FBgn0031327	1(2/41AD (G5397	3430 33	2430.04	2180./5	1480.26	74,02 1353 89	1341 11	-0,95	0,0070
FBgn0052027	CR32027	241.86	269.21	182.45	102.71	131.80	126.49	-0,94	0,0021
FBgn0040752	Prosap	3672,62	3101,55	3237,87	1914,27	1604,90	1695,44	-0,94	0,0000
FBgn0030739	SWIP	4775,26	5356,85	5956,65	3039,07	2545,94	2909,26	-0,92	0,0000
FBgn0038912	CG6656	5020,92	5241,04	5144,61	2656,42	2709,72	2884,12	-0,90	0,0000
FBgn0041180	Tep4	446843,10	391474,74	387284,88	224077,78	223400,12	211054,11	-0,90	0,0000
FBgn0033653	CG13192	945,53	1031,14	1137,11	504,50	554,35	616,23	-0,89	0,0000
FBgn0036891	CG9372	2914,67	3092,41	3205,75	1682,67	1476,97	1823,56	-0,89	0,0000
FBgn0030607	UOD MESS	723,67 2070.07	008,40 1605 12	055,28 18/12 07	355,46	323,22 930 38	394,87 1022.46	-0,88	0,0000
r bgriuUS13U/	111233	2070,07	1003,12	1040,92	1043,23	330,30	1022,40	-0,00	0,0000

		ARNi-Luc	ARNi-Luc	ARNi-Luc	ARNi-Enok	ARNi-Enok	ARNi-Enok	log2	
FLYBASE	SYMBOL	rep1 RPKM	rep2 RPKM	rep3 RPKM	rep1 RPKM	rep2 RPKM	rep3 RPKM	FoldChange	padj
FBgn0036502	CG7841	201,87	291,56	247,98	149,03	111,45	141,90	-0,88	0,0037
FBgn0050018	mthl13	2094,83	1976,95	1444,19	990,87	882,89	1131,92	-0,88	0,0000
FBgn0004859	ci	322,79	231,63	283,96	170,18	184,14	106,22	-0,87	0,0081
FBgn0039118	CG10208	245,67	275,31	246,69	146,01	114,36	159,73	-0,87	0,0018
FBgn0051673	CG31673	1097,88	880,79	1053,59	502,48	596,02	566,77	-0,86	0,0000
FBgn0032955	CG2201	402,78	308,83	299,37	219,52	192,86	150,00	-0,85	0,0019
FBgn0004456	mew	2206,24	1721,95	1660,05	1233,55	838,31	1037,86	-0,85	0,0000
FBg10200370	CR45018 Eafr	1237,83	364 71	388.03	257.70	201 58	363,60 101.36	-0,84	0,0000
FBgn0034253	CG10936	1155.96	918 38	907 12	578.01	554 35	548.93	-0,84	0,0003
FBgn0039764	CG15535	786.51	693.86	945.66	475.30	471.97	420.01	-0.83	0.0000
FBgn0034067	CG8399	209,48	187,94	229,99	133,93	101,76	118,38	-0,82	0,0079
FBgn0033459	CG12744	1234,04	1461,88	1327,27	747,18	779,19	745,96	-0,82	0,0000
FBgn0267736	CR46067	796,03	614,62	701,54	408,83	377,97	408,66	-0,82	0,0000
FBgn0050489	Cyp12d1-p	441,82	542,49	457,41	312,16	285,90	222,17	-0,82	0,0003
FBgn0029813	CG15766	233,29	269,21	292,95	140,98	176,38	134,60	-0,81	0,0037
FBgn0037930	CG14715	7024,34	7044,26	8699,84	3952,41	4491,98	4543,89	-0,81	0,0000
FBgn0052212	CG32212	649,40	637,99	441,99	283,97	334,35	369,74	-0,81	0,0005
FBgn0052816	CG32816	403,73	390,11	379,04 910.75	256,78	216,12	206,76	-0,79	0,0003
FBgn0013903	apt CG6805	328 51	352 52	453 56	192.33	242 29	22,55	-0,79	0,0001
FBgn0039045	CG17119	1180.72	1141.87	989.35	646.48	686.15	595.96	-0.78	0.0000
FBgn0037807	CG6293	1193.10	1151.02	1432.63	860.97	767.56	581.36	-0.77	0.0000
FBgn0266418	wake	1367,35	1317,62	1299,00	829,75	754,96	779,21	-0,75	0,0000
FBgn0267758	CR46089	1412,10	1298,32	989,35	731,07	848,00	642,18	-0,74	0,0001
FBgn0051174	CG31174	494,19	481,54	710,53	296,05	342,11	371,36	-0,74	0,0022
FBgn0035076	Ance-5	1528,27	1517,76	1534,13	811,63	891,61	1053,27	-0,73	0,0000
FBgn0051044	CR31044	2203,38	2199,43	2093,05	1254,70	1337,42	1334,63	-0,73	0,0000
FBgn0025373	Fpps	2389,06	2633,22	2389,85	1436,96	1474,07	1574,63	-0,72	0,0000
FBgn0002413	000	1621,59	720 59	1315,70	872,05	953,64	261 62	-0,72	0,0000
FBgn0037137	Nonn140	4778 11	4090.02	4365.98	2665.48	2523.65	2850 88	-0,72	0,0009
FBgn0002932	neur	1790 13	1468 99	4305,58	1045 25	900 33	933.26	-0,72	0,0000
FBgn0033502	CG12910	817.94	690.81	799.19	432.00	511.71	466.23	-0.71	0.0000
FBgn0038462	CG17556	1019,80	1280,04	1188,50	641,45	782,10	729,75	-0,70	0,0000
FBgn0000109	Aprt	429,44	605,48	587,18	335,33	330,48	335,68	-0,69	0,0018
FBgn0031119	CG1812	484,67	497,79	385,46	251,75	286,87	307,30	-0,69	0,0023
FBgn0037537	CG2767	1172,15	1426,33	1626,64	857,95	927,47	836,78	-0,69	0,0000
FBgn0034436	CG11961	1196,91	1205,88	1214,20	699,85	678,40	868,40	-0,69	0,0000
FBgn0040382	CG5273	385,64	383,00	439,42	253,76	225,81	271,63	-0,68	0,0024
FBgn0027865	I SP96F	2330,97	1/44,30	1/29,43	1573,91	977,87	1084,89	-0,68	0,0024
FBg10062928	ILED20-33	857,95 434.20	370.80	/0/,0/	421,95	248 10	236.76	-0,68	0,0007
FBgn0003423	sløA	3289.83	3254.95	3108 10	2403.67	1853.00	1815.45	-0,67	0,0028
FBgn0032117	FucTB	1298.79	1200.80	1424.92	750.20	790.82	926.78	-0.67	0.0000
FBgn0033686	Hen1	996,95	1062,63	1087,00	675,69	679,37	627,58	-0,67	0,0000
FBgn0029092	ced-6	1506,37	1488,30	1866,91	917,36	1019,54	1127,05	-0,66	0,0000
FBgn0040827	CG13315	564,65	552,65	555,06	399,77	360,52	296,76	-0,66	0,0013
FBgn0025549	unc-119	1017,90	931,58	896,84	631,38	597,96	578,93	-0,66	0,0000
FBgn0035833	CG7565	444,67	495,76	506,24	266,85	277,17	372,98	-0,65	0,0061
FBgn0034312	CG10916	384,69	400,27	409,87	299,07	207,40	255,41	-0,65	0,0094
FBgn0020304	drongo	2047,22	1515,73	1543,13	1034,17	965,27	1264,89	-0,65	0,0006
FBgn0027022	CG11686	416,97	374,87 3346.38	403,84 3640 02	254,//	233,50	313,41 2014 10	-0,04	0,0099
FBgn00299006	Smurf	4084 92	3977 26	3619 47	2972.61	2416 07	2139 78	-0,63	0.0000
FBgn0023000	mth	1182.63	1140.86	1047.17	824.72	708.44	647.85	-0.63	0.0001
FBgn0052099	CG32099	625,59	605,48	705,39	392,72	414,79	444,33	-0,63	0,0007
FBgn0063298	CR31429	783,66	564,84	575,62	460,19	367,31	423,25	-0,62	0,0070
FBgn0051955	CG31955	347,55	394,17	371,33	254,77	224,84	244,06	-0,62	0,0077
FBgn0051344	CG31344	547,51	489,66	501,10	366,54	370,21	278,93	-0,60	0,0082
FBgn0035529	Fdx2	682,72	636,97	719,53	430,99	513,65	400,55	-0,60	0,0022
FBgn0030955	CG6891	2118,63	1598,01	2179,14	1260,74	1381,03	1255,16	-0,60	0,0003
FBgn0034894	sigmar	1095,98	1030,12	1038,17	633,39	668,71	792,99	-0,59	0,0003
FBgn0051194	pst	3893,52	3038,90 1879 40	2000 40	2008,50	200/,U8	3196,29	-0,59	0,0011
FBgn0039381	Spol	3083 21	2786.62	2050,48	2274 77	1721 20	2088 70	-0,59	0,0001
FBgn0037298	CG2604	3923,99	3538,39	3663.16	2195,22	2566.29	2653.03	-0.59	0,0000
FBgn0051363	Jupiter	11918,62	10375,41	10657,98	7704,42	6994,31	7302,33	-0,58	0,0000
FBgn0031360	CG31937	4398,19	3792,36	3880,30	, 2347,28	2863,82	2888,18	-0,58	0,0000
FBgn0267398	Yeti	4019,21	5355,83	5907,82	3362,31	3390,06	3528,73	-0,57	0,0005
FBgn0002525	Lam	11548,22	11913,48	11383,93	7655,08	7186,20	8644,26	-0,57	0,0000
FBgn0034025	GalNAc-T1	1199,77	1019,97	1053,59	702,87	724,92	779,21	-0,57	0,0004

		ARNi-Luc	ARNi-Luc	ARNi-Luc	ARNi-Enok	ARNi-Enok	ARNi-Enok	log2	
FLYBASE	SYMBOL	rep1 RPKM	rep2 RPKM	rep3 RPKM	rep1 RPKM	rep2 RPKM	rep3 RPKM	FoldChange	padj
FBgn0030511	CG11158	1395,92	1550,27	1481,45	996,91	992,40	1011,10	-0,56	0,0000
FBgn0032694	MESR3	1568,26	1541,12	1613,79	1037,19	1012,75	1150,57	-0,56	0,0000
FBgn0036551	CG17029	1368,30	1363,34	1500,73	900,24	960,42	1007,05	-0,56	0,0001
FBgn0263397	lh	1990,09	1719,92	1730,72	1033,16	1225,00	1432,74	-0,56	0,0014
FBgn0038720	CG6231	1466,38	1695,54	1355,54	1092,58	879,98	1097,05	-0,56	0,0014
FBgn0037999	CG4860	1964,38	1942,40	2459,24	1219,46	1556,44	1547,87	-0,56	0,0015
FBgn0027929	CG17754	740 81	777 16	812 04	521.62	4322,38 532.06	4895,79 546 50	-0,55	0,0001
FBgn0037228	CG1092	4838.10	4830.61	5560.91	3695.63	3486.01	3284.67	-0.54	0.0000
FBgn0031059	CG14229	599,88	718,24	654,00	415,88	459,37	480,01	-0,54	0,0060
FBgn0036536	CG12713	510,38	547,57	544,78	344,39	365,37	395,68	-0,53	0,0087
FBgn0260484	HIP	2058,65	2110,03	2350,02	1498,39	1690,19	1314,35	-0,53	0,0006
FBgn0016075	vkg	13781,11	11167,81	10898,25	9869,44	7491,48	7453,96	-0,53	0,0016
FBgn0010909	msn	2456,66	1888,56	1965,85	1371,51	1290,90	1714,09	-0,53	0,0050
FBgn0037354	CG12171	2054,84	2096,82	2394,99	1409,78	1528,34	1607,88	-0,53	0,0002
FBgn0016078	wun	710,34	687,77	664,28	440,05	462,28	533,53	-0,52	0,0066
FBgn0037206	CG12768	981,71	1206.80	1200 04	558,88	602,81 016.91	609,74 1008.67	-0,52	0,0075
FBgn0031224	CG11454 SelG	1100,54	1652.87	1506,94	1015.04	1173.63	1218 68	-0,52	0,0089
FBgn0033395	Cyp4p2	1204.53	1103.27	1256.60	912.33	865.44	731.37	-0.51	0.0033
FBgn0030749	AnxB11	15294,15	17761,01	17524,31	11051,63	11716,94	13068,14	-0,50	0,0001
FBgn0036342	CG11279	1451,14	1821,51	1969,70	1130,84	1234,69	1350,84	-0,49	0,0069
FBgn0036837	CG18135	1511,13	1428,36	1233,47	998,93	1052,49	934,08	-0,48	0,0031
FBgn0050122	CG30122	3187,00	2534,68	2586,44	2108,62	1975,11	1883,56	-0,48	0,0020
FBgn0000229	bsk	1807,27	1824,56	1970,99	1369,50	1294,78	1360,57	-0,48	0,0004
FBgn0052581	CG32581	1669,20	1689,44	2028,81	1176,16	1301,56	1393,82	-0,48	0,0039
FBgn0038974	CG5377	3004,17	3105,61	3041,28	2119,70	2251,32	2220,05	-0,47	0,0001
FBgn0033476	oys Colda1	896,97	934,63	894,27	647,49 16275.96	668,/1 12500.09	648,66 12141.02	-0,47	0,0035
FBgn0026262	bin2	4006 84	3517.05	3449 87	2999.80	2567.26	2370.06	-0,47	0,0037
FBgn0028543	NimB2	2021.51	1744.30	1791.11	1144.94	1416.89	1479.76	-0.46	0.0084
FBgn0031566	CG2818	2456,66	2718,55	2576,16	1912,26	1750,27	2014,10	-0,45	0,0010
FBgn0029167	Hml	80750,88	69078,28	67751,08	62861,89	46179,68	50544,69	-0,45	0,0062
FBgn0030245	CG1637	2041,51	1896,69	1818,09	1375,54	1349,05	1500,03	-0,45	0,0018
FBgn0039958	CG12567	1606,35	1675,22	1872,05	1350,36	1202,71	1232,46	-0,44	0,0037
FBgn0010651	MFS14	3914,47	3126,95	3000,17	2462,07	2515,90	2443,84	-0,44	0,0061
FBgn0260799	p120ctn	2791,84	2732,78	2610,85	2308,00	1900,49	1837,34	-0,43	0,0058
FBgn0030748	Traf-like	5796,96	6511,93	6015,75	4118,56	4403,79	5143,90	-0,42	0,0035
FBgn0035726	CG9953	3720,22	3617,63	3593,/8	2570,83	2854,13	2/39,/9	-0,42	0,0006
FBgn0003117	CG2091	2161,46	2317,27	2442,55	2222 41	2086 57	2263.03	-0,42	0,0034
FBgn0035623	mthl2	14171.51	15203.99	14461.19	11379.91	10316.53	11319.18	-0,41	0.0003
FBgn0024804	Dbp80	2317.64	2361.97	2520.91	1952.54	1700.85	1773.28	-0.41	0.0040
FBgn0267795	Frl	1949,14	1744,30	1816,80	1511,48	1305,44	1350,03	-0,40	0,0092
FBgn0032923	CG9248	3539,31	3418,51	3349,65	2737,99	2489,73	2568,71	-0,40	0,0014
FBgn0002526	LanA	19518,09	20093,52	18985,21	26554,13	26643,69	24151,37	0,40	0,0003
FBgn0035499	Chd64	36682,35	41277,11	40096,87	47727,95	50419,68	57735,13	0,40	0,0025
FBgn0042175	CG18858	1422,58	1320,67	1413,35	1816,60	1834,59	1838,15	0,40	0,0039
FBgn0033241	CG2915	3716,42	3276,28	3476,85	4459,93	4758,49	4616,05	0,40	0,0014
FBgn0020414	Arpc1	46/8,13	44/6,06	4490,61	5527,33	6234,50	6288,80	0,40	0,0012
FBg10020414	Iugio Aldh-III	6513.96	5673 81	5685 51	7889 71	7896 58	12024,89 7921 81	0,41	0,0002
FBgn0034753	CG2852	20004.66	21547.28	22954.16	25428 32	31014 52	29252 30	0.41	0,0005
FBgn0053494	CG33494	9392.45	10451.60	10962.49	14800.63	12413.76	13814.92	0.41	0.0023
FBgn0027552	CG10863	6163,56	6994,48	6725,00	8879,57	8747,49	8874,53	0,41	0,0003
FBgn0038407	CG6126	5845,52	5727,65	5440,13	7018,67	7539,93	8126,14	0,42	0,0008
FBgn0285991	hpRNA:CR18854	3356,49	3483,53	3365,07	4180,99	4431,89	5024,71	0,42	0,0018
FBgn0029709	CHOp24	7460,45	7873,24	8216,73	9859,37	10836,96	10887,01	0,42	0,0003
FBgn0028327	l(1)G0320	4188,70	4422,22	4479,05	5350,10	6217,05	5989,60	0,42	0,0008
FBgn0037913	fabp	4820,01	5541,74	6510,43	7117,35	7919,84	7623,42	0,43	0,0071
FBgn0024405	Hsp83	2420 57	101013,16	99465,48 2210 10	139255,61	135914,59	136838,86	0,43	0,0000
FBgn0265186	CG44251	2438,37	2347,73 912.28	2310,19 955 94	1345 33	3414,29 1217 24	3349,34 1369.49	0,45	0,0025
FBgn0263766	CR43683	2918.48	2776.46	2338.46	3451.94	3466.63	3943.88	0,43	0,0047
FBgn0035438	PHGPx	2342.40	2125.27	2134.17	2748.06	2686.47	3491.43	0,44	0,0095
FBgn0001226	Hsp27	30990,13	29078,16	31052,69	39828,17	42154,82	42065,84	0,45	0,0000
FBgn0024814	Clc	3436,47	3556,67	4098,73	4705,63	5272,14	5147,15	0,45	0,0010
FBgn0264517	CR43916	2652,81	2801,86	2615,99	3700,66	3738,95	3575,76	0,45	0,0001
FBgn0039674	CG1907	1856,78	1624,43	1423,63	2253,63	2114,67	2340,05	0,45	0,0057
FBgn0025866	CalpB	4116,34	4616,26	3794,21	6320,83	5374,87	5437,42	0,45	0,0018
FBgn0052521	CG32521	2656,62	2034,85	2265,22	3094,46	3057,65	3365,75	0,45	0,0039
FBgn0267376	SelR	3559,30	4469,97	4197,66	4838,55	5898,21	5989,60	0,45	0,0048

		ARNi-Luc	ARNi-Luc	ARNi-Luc	ARNi-Enok	ARNi-Enok	ARNi-Enok	log2	
FLYBASE	SYMBOL	rep1 RPKM	rep2 RPKM	rep3 RPKM	rep1 RPKM	rep2 RPKM	rep3 RPKM	FoldChange	padj
FBgn0003231	ref(2)P	2564,26	2805,92	2842,13	3909,11	3674,02	3674,68	0,46	0,0002
FBgn0001225	Hsp26	71329,86	65306,24	83891,59	92467,18	102567,34	107850,08	0,46	0,0013
FBgn0001977	CIAPIN1	937,91	1091,08	993,20	1304,04	1555,47	1324,08	0,47	0,0053
FBgn0028517	CG18478	2866,11	3256,98	2506,78	4271,62	3753,49	3930,09	0,47	0,0020
FBgn0014141	cher	8863,03	8230,84	8134,50	12928,65	10500,67	11532,43	0,47	0,0003
FBgn0020415	Aldh	50425,47 75218.62	43000,51	49430,38 75922.84	91708 92	04504,24 104592.85	104392 70	0,48	0,0000
FBgn0042206	GstD10	1712.05	1425.31	1530.28	2361.37	2145.68	2019.78	0,48	0.0014
FBgn0052479	Usp10	2178,62	1883,48	1629,21	3103,52	2464,53	2395,19	0,48	0,0098
FBgn0263106	DnaJ-1	6574,90	8811,93	7589,71	10917,70	11011,41	10282,13	0,49	0,0007
FBgn0038020	GstD9	2976,56	2857,73	3086,25	4538,47	4147,93	3831,17	0,49	0,0001
FBgn0027598	cindr	1954,86	1674,21	2024,95	2775,24	2491,67	2688,71	0,49	0,0005
FBgn0010397	LamC	1789,17	1738,21	1657,48	2387,56	2255,20	2670,06	0,50	0,0003
FBgn0263121	Prosalpha1	6345,43	7085,92	//15,63	8623,80	11189,73	10110,24	0,50	0,0008
FBgn0030803	CG4880	655 11	718 74	673.27	1049 28	942 98	913.81	0,50	0,0033
FBgn0032161	CG4594	585.60	647.13	589.75	804.58	869.32	936.51	0.52	0.0028
FBgn0034010	CG8157	15246,54	18086,10	16890,87	21387,30	27796,00	23030,81	0,52	0,0002
FBgn0262473	TI	3876,38	4100,18	3640,03	6064,05	5419,45	5230,66	0,52	0,0000
FBgn0003748	Treh	1742,52	1804,24	1520,00	2534,57	2330,79	2438,98	0,53	0,0001
FBgn0028542	NimB4	6381,61	5579,33	5851,29	8148,50	8214,46	9315,62	0,53	0,0000
FBgn0037850	CG14695	1043,61	1053,49	876,28	1329,22	1437,24	1534,90	0,53	0,0009
FBgn0283427	FASN1	3731,65	3823,85	3758,24	5522,29	5702,44	5254,18	0,54	0,0000
FBgn0036772	CG5290	1362,59	2304.07	2103 33	2109,63	2138,90	1840,20	0,55	0,0001
FBgn0035432	7nT63C	1238.81	2304,07 964.09	1148 67	1453.08	1523 49	1928 15	0,55	0,0003
FBgn0259984	kuz	962.67	744.66	743.94	1393.66	1095.13	1123.00	0.56	0.0048
FBgn0038478	cal1	1249,28	1269,88	1129,40	1723,95	1732,83	1921,67	0,56	0,0001
FBgn0053502	CG33502	975,05	911,26	768,35	1051,29	1424,64	1443,28	0,56	0,0051
FBgn0036820	Grx1	399,92	495,76	489,53	646,48	668,71	727,31	0,56	0,0043
FBgn0030311	CG11699	941,72	829,99	1018,90	1225,50	1420,76	1473,28	0,56	0,0006
FBgn0032603	CG17928	1348,31	1413,12	1345,26	2023,03	1939,26	2107,35	0,56	0,0000
FBgn0265140	Meltrin	591,31	642,05	/23,38	1024,10	893,55	977,05	0,57	0,0010
FBgn0263981	CR43730	488 48	2/32,78	2947,49 524.23	753.22	4210,95	5255,91 874.89	0,58	0,0004
FBgn0001149	GstD1	94452,96	93146,01	95549,20	135279,04	150020,47	139521,90	0,59	0,0000
FBgn0034371	SP2637	461,81	511,00	471,55	763,29	640,60	765,42	0,59	0,0015
FBgn0266720	Snap24	425,63	475,44	334,07	636,41	615,41	608,93	0,59	0,0066
FBgn0001224	Hsp23	23006,93	22205,58	26902,56	34492,17	37791,74	36484,90	0,59	0,0000
FBgn0029905	Nf-YC	579,89	578,05	567,91	818,68	939,10	848,13	0,59	0,0002
FBgn0035206	CG9186	486,57	632,91	589,75	797,53	855,75	925,97	0,60	0,0015
FBgn0001291	Jra CC10227	3670,71	3418,51	3548,81	4479,06	5069,59	712 72	0,60	0,0002
FBgn0264953	Piezo	1639.68	450,64	1305 43	2549.68	2097 23	2209 51	0,60	0,0007
FBgn0033982	Cyp317a1	287,56	261,09	282,67	416,89	447,74	397,31	0,60	0,0062
FBgn0030608	Lsd-2	7368,08	8561,01	6513,00	14202,48	, 10239,97	9641,58	0,60	0,0010
FBgn0001967	NimC3	469,43	333,22	420,15	613,25	675,49	570,82	0,60	0,0066
FBgn0031758	Ucp4B	298,04	283,44	263,40	437,03	386,69	463,79	0,61	0,0071
FBgn0003891	tud	1544,46	1358,26	1071,58	2453,01	1833,62	1775,72	0,61	0,0028
FBgn0053461	CG33461	2361,44	2761,22	2621,13	3952,41	3880,45	3979,55	0,61	0,0000
FBgn0036005	CG21075	509.42	17031,99	10280,50	23960,14	6/033	20030,08	0,61	0,0000
FBgn0028424	JhI-26	506.57	603.45	489.53	781.42	852.85	868.40	0.65	0.00022
FBgn0002719	Men	10824,55	9165,47	7943,05	15241,69	12339,13	16210,11	0,65	0,0000
FBgn0003082	phr	1174,06	1197,75	1009,91	1696,77	1885,95	1774,10	0,66	0,0000
FBgn0000256	capu	360,88	270,23	363,62	513,56	448,71	618,66	0,67	0,0062
FBgn0069056	CG33226	334,22	325,09	233,85	469,25	496,20	467,04	0,68	0,0036
FBgn0040942	CG12643	2094,83	2820,14	2021,10	4025,92	3737,02	3386,02	0,68	0,0000
FBgn0033814	CG4670	2210,04	2104,95	1979,98	3341,17	3471,47	3318,73	0,69	0,0000
FBgn0261625	CRAADEE	2051,03	2281,/2 738 54	2100,76 220.02	3202,62	3310,59	3813,33 1207.04	0,69	0,0000
FBgn0260745	mfas	10262.76	10489.19	9622.38	15533.71	16950.32	16617.95	0,69	0,0000
FBgn0000008	a	474,19	365,72	316,08	727,04	596,02	562,72	0,70	0,0027
FBgn0260463	Unc-115b	231,38	187,94	182,45	360,50	285,90	, 338,93	0,71	0,0072
FBgn0263507	CR43496	311,37	344,39	299,37	545,78	501,05	522,17	0,71	0,0002
FBgn0039738	Mgat2	166,63	192,01	178,60	281,96	295,59	304,06	0,72	0,0044
FBgn0028936	NimB5	7819,42	7765,55	9057,03	12958,86	13382,90	14127,90	0,72	0,0000
FBgn0260743	GC1	496,09	577,03	588,47	880,10	982,71	868,40	0,72	0,0000
FBgn0035207	Herc4	981,71	1200,80	994,49	1/53,16	1//9,35	1/03,55	0,72	0,0000
FBgn0003227	CG20029	302.80	312,20 473.41	310 94	626 34	1412,04 588 27	1309,70 589.47	0,72	0,0000
FBgn0027620	Acf	870,31	896,03	881,42	1658,50	1434,33	1302,19	0,73	0,0000

		ARNi-Luc	ARNi-Luc	ARNi-Luc	ARNi-Enok	ARNi-Enok	ARNi-Enok	log2	
FLYBASE	SYMBOL	rep1 RPKM	rep2 RPKM	rep3 RPKM	rep1 RPKM	rep2 RPKM	rep3 RPKM	FoldChange	padj
FBgn0026616	alpha-Man-IIb	876,02	1095,14	813,32	1708,85	1543,85	1375,98	0,73	0,0000
FBgn0052103	CG32103	4715,27	3776,11	3289,26	6900,85	5546,41	7166,92	0,74	0,0000
FBgn0058160	CG40160	561,79 262779 90	366,74	340,49	730,06	644,48	744,34	0,74	0,0023
FBg10013275	CG15784	317.08	222742,56	310 94	415.88	415770,20	409351,20 524.61	0,74	0,0000
FBgn0067102	GlcT-1	505,62	529,28	433,00	958,65	694,88	818,13	0,75	0,0001
FBgn0052687	CG32687	238,05	222,48	268,54	441,06	399,29	385,14	0,75	0,0006
FBgn0025682	scf	7869,89	8622,98	8778,22	13830,90	14951,94	14050,87	0,76	0,0000
FBgn0038400	CG5903	3127,01	3237,68	3620,76	4965,43	6080,40	5917,44	0,77	0,0000
FBgn0042094	Adk3	416,11	437,85	521,66	754,23	872,23	709,48	0,77	0,0000
FBgn0035904	CG6511	422 77	3430,80 496 78	4198,95	933.47	695.84	677.85	0,77	0,0000
FBgn0265137	Spn42Da	761,76	735,51	868,57	1210,39	1193,02	1657,34	0,78	0,0000
FBgn0035287	CG13937	716,05	783,26	674,56	1199,32	1222,09	1325,71	0,78	0,0000
FBgn0036501	CG7272	727,48	909,23	863,43	1468,18	1439,18	1429,49	0,80	0,0000
FBgn0040383	CG5254	1904,39	1711,79	1611,22	2786,32	3025,67	3265,21	0,80	0,0000
FBgn0283462	IMPPP CR44160	458,01	333,22	376,47	649,50	639,63 202.65	750,83	0,80	0,0000
FBgn0015033	Cvp4d8	482.76	496.78	247,98 453.56	1000.94	293,65 820,86	547,51 696,50	0,81	0.00072
FBgn0267336	Glut4EF	433,25	277,34	246,69	604,19	514,62	570,01	0,81	0,0017
FBgn0037974	CG12224	247,57	312,90	259,54	544,78	411,89	510,01	0,84	0,0001
FBgn0037714	CG9396	1135,02	1152,03	1283,58	2031,08	2069,12	2283,30	0,84	0,0000
FBgn0263442	CR43465	237,10	212,32	233,85	399,77	398,32	432,17	0,85	0,0000
FBgn0038037	Cyp9f2	1097,88	781,23	966,22	1919,31	1687,28	1544,63	0,86	0,0000
FBgn0011722	Tig	454,20 5170.42	4246.47	477,97	9739 53	925,55 7714 38	8367 76	0,88	0,0000
FBgn0063499	GstE10	1218,81	1214,00	1104,99	1949,52	2114,67	2526,55	0,90	0,0000
FBgn0038878	CG3301	1168,34	900,09	909,69	1593,05	1835,56	2129,24	0,90	0,0000
FBgn0053459	CG33459	4933,32	5542,76	6448,75	9951,00	10517,14	11209,72	0,90	0,0000
FBgn0263316	Mrp4	996,95	785,29	769,64	1854,86	1208,52	1752,20	0,92	0,0000
FBgn0015600	toc	419,92	242,80	433,00	796,52	622,19	652,72	0,92	0,0002
FBg10034555	CG18278	597.98	525 22	4254,20	1071.43	7815,17 955 58	1050.02	0,92	0,0000
FBgn0263593	Lpin	623.69	472.39	544.78	1059.35	958.48	1105.97	0.93	0.0000
FBgn0028864	CG18477	736,05	734,50	683,55	1448,04	1306,41	1363,82	0,93	0,0000
FBgn0040260	Ugt36Bc	115,22	95,49	82,23	197,37	181,23	188,11	0,95	0,0028
FBgn0053462	CG33462	642,73	644,08	756,79	1279,87	1329,66	1331,38	0,95	0,0000
FBgn0031811	CG13982	175,20	236,71	300,66	465,23	501,05	414,33	0,96	0,0001
FBgn0036359	mtni8 CG14105	123,79	143,24	98,93	205,42	286,87	223,79 187.30	0,96	0,0017
FBgn0261584	CG42694	2745,18	2799,83	2894,81	5178,91	5547,38	5880,14	0,98	0,0000
FBgn0264442	ab	90,46	117,84	79,66	197,37	221,93	151,63	0,98	0,0050
FBgn0030326	CG2444	1161,68	835,07	1008,62	1347,34	1927,63	2669,25	0,98	0,0000
FBgn0036519	CG7650	229,48	250,93	312,22	558,88	466,16	544,07	0,99	0,0000
FBgn0052280	CG32280	78,08	100,57	101,50	157,09	173,48	224,60	0,99	0,0035
FBgn0031913	CG5958	1385.44	1326 77	401,05 1291 29	2573.85	2658 36	2795 74	1,00	0,0000
FBgn0086450	su(r)	526,56	372,84	488,25	755,24	995,31	1050,84	1,01	0,0000
FBgn0010053	Jheh1	882,68	504,90	693,83	1440,99	1370,37	1406,79	1,02	0,0000
FBgn0051824	CR31824	107,60	117,84	68,10	228,59	141,49	230,28	1,03	0,0072
FBgn0015714	Cyp6a17	1744,42	1577,70	1698,60	3141,79	3601,34	3517,38	1,03	0,0000
FBgn0015522	olf186-M	1673,96	2036,88	1721,72	3949,39	3283,46	3897,66	1,03	0,0000
FBgn0035101	n130CAS	209.48	154.42	506,61 89.94	293.03	295 59	363 25	1,06	0,0000
FBgn0033458	CG18446	816.98	854.37	677.13	1817.60	1689.22	1412.47	1.06	0.0000
FBgn0050148	CG30148	2476,66	1696,56	1958,14	4875,81	4132,43	3913,87	1,08	0,0000
FBgn0063492	GstE8	133,31	143,24	132,34	335,33	252,95	274,87	1,08	0,0000
FBgn0039419	CG12290	1357,83	1237,37	1025,32	2814,52	2310,44	2598,71	1,09	0,0000
FBgn0033079	Fmo-2	272,33	268,20	413,73	697,84	647,39	689,21	1,10	0,0000
FBgn0063493	GSTE /	382,78	441,92 84.32	041,15 18.82	840,83	1099,01	167.84	1,11	0,0000
FBgn0038034	Cvp9f3	648.44	592.27	553.78	1493.36	1263.76	1155.43	1,11	0.0000
FBgn0262035	CG42846	331,36	370,80	308,37	684,75	702,63	836,78	1,14	0,0000
FBgn0021764	sdk	143,78	68,07	104,07	268,86	216,12	211,63	1,14	0,0011
FBgn0028916	CG33090	676,06	734,50	637,29	1647,42	1392,66	1501,66	1,15	0,0000
FBgn0035049	Mmp1	267,57	184,89	155,47	347,41	399,29	610,55	1,16	0,0001
FBgn0041192	SPH93	422,77	293,60	404,/3	8255444	/6U,/8	882,99 50720 1 F	1,16	0,0000
FBgn0034718	wdn	240 91	27044,52	20022,43	612 25	561 13	564 34	1,17	0.0000
FBgn0031550	IFT57	63,80	37,59	60,39	102,71	145,37	119,19	1,19	0,0059
FBgn0050287	CG30287	73,32	35,56	53,96	124,87	110,48	135,41	1,19	0,0071
FBgn0030746	CG9981	51,42	74,16	68,10	186,29	111,45	142,71	1,19	0,0026

FLYBASE	SYMBOL	ARNi-Luc	ARNi-Luc	ARNi-Luc	ARNi-Enok	ARNi-Enok	ARNi-Enok	log2	padj
		rep1 RPKM	rep2 RPKM	rep3 RPKM	rep1 RPKM	rep2 RPKM	rep3 RPKM	FoldChange	
FBgn0052594	be	394,21	246,86	389,31	635,41	625,10	1084,89	1,19	0,0000
FBgn0263492	CG6762	54,28	83,30	53,96 122.06	205,42	302 37	289,73	1,20	0,0065
FBgn0259111	Ndae1	339.93	306.80	247.98	687.77	679.37	699.75	1,20	0.0000
FBgn0028490	CG31705	4044,92	3322,00	3611,76	8425,42	8451,90	8558,31	1,21	0,0000
FBgn0001114	Glt	3805,92	3483,53	3593,78	8779,88	8272,61	8414,79	1,23	0,0000
FBgn0028509	CenG1A	102,84	109,72	51,39	231,61	216,12	175,95	1,23	0,0006
FBgn0030040	CG15347	2769,93	3221,42	3278,98	6646,08	7618,44	7559,37	1,24	0,0000
FBgn0031547	CG12262	334,22 475.15	350,58	373,90	054,/9 912 33	933.28	981,91	1,24	0,0000
FBgn0003890	betaTub97EF	2375,73	2120,19	2147,01	4913,07	5071,53	6338,26	1,30	0,0000
FBgn0259110	mmd	113,31	56,89	65,53	184,28	178,32	227,84	1,32	0,0002
FBgn0260866	dnr1	68,56	56,89	57,82	153,06	182,20	124,87	1,32	0,0002
FBgn0035795	CG16998	31,42	42,67	21,84	88,61	77,53	80,27	1,35	0,0089
FBgn0261555	CG42673	38,09	35,56	42,40	83,58	104,67	107,84	1,36	0,0018
FBgn0262689	CR43159	36.18	38.60	33 41	251,75	90.13	81.89	1,50	0,0000
FBgn0263413	CR43459	108.55	98,54	48.82	274.91	167.66	225.41	1,37	0.0002
FBgn0039774	CDase	412,30	347,44	285,24	1031,15	840,25	936,51	1,42	0,0000
FBgn0263780	CG17684	38,09	59,94	56,53	138,96	168,63	115,14	1,46	0,0001
FBgn0000044	Act57B	419,92	329,15	259,54	886,14	918,75	977,86	1,46	0,0000
FBgn0022160	Gpo-1	178,06	180,83	222,28	519,60	550,47	540,01	1,47	0,0000
FBgn0050090	CG30090	3998,27	3784,23	4305,59 2499 07	10708,25	11507,61	11394,59 6554 75	1,48	0,0000
FBgn0001075	(030285 ft	39.99	2347,75 30.48	2499,07	112.78	99.82	54.33	1,49	0.0052
FBgn0034219	mthl4	307,56	405,34	277,53	1089,56	843,15	953,54	1,54	0,0000
FBgn0086708	stv	1123,59	1002,70	782,48	3053,17	2936,50	2696,01	1,58	0,0000
FBgn0030691	Efhc1.1	17,14	22,35	17,99	51,36	61,06	64,87	1,62	0,0058
FBgn0015568	alpha-Est1	497,05	520,14	352,05	1446,03	1476,01	1399,49	1,65	0,0000
FBgn0262808	CG43179	96,17	139,18	138,77	419,91	381,84	372,17	1,65	0,0000
FBgn0032057	CG9287 Prvt2	28 57	41.65	33,41 65.53	136.95	55,24 117.27	175 14	1,66	0,0094
FBgn0029896	CG3168	18,09	28,45	7,71	53,37	72,69	59,19	1,00	0,0001
FBgn0000406	Cyt-b5-r	238,05	197,08	, 134,91	607,21	733,64	591,91	1,75	0,0000
FBgn0039099	GILT2	22,85	25,40	34,69	67,47	88,19	129,73	1,80	0,0002
FBgn0024315	Picot	93,32	100,57	140,05	397,76	377,00	386,77	1,81	0,0000
FBgn0085446	CG34417	45,71	29,46	26,98	157,09	113,39	100,54	1,85	0,0000
FBgn0026415	10g14 CR43081	14,28	20,32	14,13	152.05	85,28	30,00	1,89	0,0057
FBgn0037513	pvd3	175.20	270.23	274.96	880.10	954.61	957.59	1,95	0.0000
FBgn0030310	PGRP-SA	510,38	420,58	612,88	1218,45	1684,37	3118,45	1,96	0,0002
FBgn0033448	hebe	896,02	591,25	756,79	2784,31	3029,54	2969,26	1,97	0,0000
FBgn0000636	Fas3	136,16	126,99	93,80	601,17	499,11	372,98	2,04	0,0000
FBgn0052823	Sdic3	33,33	28,45	23,13	109,76	123,08	123,25	2,06	0,0000
FBgn0040370	CG13375	36,18	26,41	34,69 5 1 <i>4</i>	195,35	131,80	84,33 30,81	2,08	0,0000
FBgn0010043	GstD7	495.14	640.02	524.23	2267.72	2585.67	2192.48	2,08	0.0000
FBgn0033787	CG13321	87,60	90,42	116,92	391,72	428,36	424,87	2,09	0,0000
FBgn0035496	CG14990	127,59	142,23	104,07	476,30	621,22	507,58	2,10	0,0000
FBgn0250757	CG42235	22,85	10,16	5,14	66,46	47,49	55,95	2,12	0,0026
FBgn0260000	CG17570	11,43	9,14	6,42	53,37	54,27	23,51	2,26	0,0041
FBgn0025212	aila CG15820	14,28	12,19	ט,42 188 פפ	30,25	50,40 1035.04	82,/U 910/19	2,35	0,0006
FBgn0015380	drl	14,28	11,17	12,85	78,54	85,28	44,60	2,44	0,0000
FBgn0027108	Inx2	30,47	, 34,54	21,84	245,70	200,61	76,22	2,58	0,0000
FBgn0001311	kkv	5,71	10,16	2,57	51,36	49,43	12,16	2,59	0,0095
FBgn0263493	CR43482	8,57	9,14	3,85	49,34	54,27	31,62	2,62	0,0005
FBgn0034706	CG11275	17,14	7,11	14,13	99,69	99,82	40,54	2,64	0,0000
FBgn00100320	eya GstD2	9,52 44 75	0,1U 42 67	5,14 111 78	52,30 242.68	57,80 555 32	41,35 482 44	2,69	0.0003
FBgn0035311	CR15821	14,28	0,00	6,42	39,27	57,18	42,16	2,73	0,0028
FBgn0038784	CG4362	6,67	19,30	19,27	83,58	112,42	106,22	2,76	0,0000
FBgn0003888	betaTub60D	20,95	13,21	3,85	35,24	46,52	187,30	2,80	0,0003
FBgn0041581	AttB	148,54	121,91	163,18	470,26	568,89	2054,64	2,84	0,0009
FBgn0012042	AttA	36,18	22,35	77,09	158,10	212,24	599,20	2,84	0,0042
FBgn0052185	edin Cor404 c	0,95	8,13	5,14	24,17	23,26	55,14 271 26	2,87	0,0046
FBgn0031760	Tsp26A	13 33	32,31 17.27	20,50	118 82	203,90	102 98	2,92	0.0000
FBgn0003162	Pu	201,87	187,94	132,34	1685,69	1502,17	1621,66	3,19	0,0000
FBgn0261563	wb	1,90	0,00	7,71	27,19	, 31,98	24,32	3,21	0,0056
FBgn0031879	uif	8,57	3,05	7,71	111,78	54,27	19,46	3,26	0,0001
FBgn0261628	CG42711	29,52	13,21	19,27	191,33	200,61	282,17	3,43	0,0000

		ARNi-Luc	ARNi-Luc	ARNi-Luc	ARNi-Enok	ARNi-Enok	ARNi-Enok	log2	
FLYBASE	SYMBOL	rep1 RPKM	rep2 RPKM	rep3 RPKM	rep1 RPKM	rep2 RPKM	rep3 RPKM	FoldChange	padj
FBgn0265274	Inx3	12,38	14,22	6,42	198,38	103,70	64,06	3,45	0,0000
FBgn0085424	nub	0,00	7,11	2,57	46,32	50,40	14,59	3,52	0,0011
FBgn0051821	CG31821	312,32	277,34	298,09	3531,49	3381,34	3634,14	3,57	0,0000
FBgn0000635	Fas2	7,62	7,11	3,85	105,73	79,47	42,16	3,58	0,0000
FBgn0037796	CG12814	0,00	6,10	0,00	35,24	24,23	16,22	3,59	0,0082
FBgn0010238	Lac	6,67	4,06	3,85	98,68	63,96	17,03	3,60	0,0000
FBgn0000179	bi	5,71	2,03	6,42	81,57	59,12	33,24	3,63	0,0000
FBgn0267001	Ten-a	3,81	1,02	7,71	79,55	70,75	15,41	3,77	0,0000
FBgn0027073	CG4302	4,76	21,33	10,28	160,11	230,66	172,71	3,95	0,0000
FBgn0265276	l(3)neo38	1,90	2,03	2,57	39,27	44,58	17,03	3,97	0,0002
FBgn0015766	Msr-110	1,90	0,00	5,14	54,38	48,46	8,11	4,05	0,0006
FBgn0032682	grnd	0,00	5,08	1,28	46,32	49,43	11,35	4,06	0,0005
FBgn0267337	m	2,86	0,00	1,28	37,26	42,64	1,62	4,27	0,0067
FBgn0004646	ogre	5,71	11,17	0,00	153,06	121,14	82,70	4,33	0,0000
FBgn0039051	CG17109	105,69	36,57	65,53	1405,75	1662,08	1749,77	4,53	0,0000
FBgn0260642	Antp	0,95	3,05	0,00	50,35	25,20	23,51	4,56	0,0001
FBgn0030870	CG6398	0,95	7,11	0,00	111,78	89,16	36,49	4,82	0,0000
FBgn0052447	CG32447	0,95	1,02	2,57	28,20	54,27	45,41	4,89	0,0000
FBgn0027528	goe	0,00	2,03	1,28	42,29	33,92	21,89	4,92	0,0001
FBgn0033127	Tsp42Ef	0,95	1,02	0,00	35,24	33,92	0,81	5,06	0,0084
FBgn0035103	Vdup1	1,90	2,03	0,00	81,57	60,09	34,05	5,38	0,0000
FBgn0031571	bark	0,00	2,03	0,00	53,37	26,17	10,54	5,41	0,0008
FBgn0025360	Optix	0,00	0,00	1,28	8,06	31,98	13,78	5,54	0,0046
FBgn0010452	trn	0,95	0,00	2,57	50,35	62,03	41,35	5,56	0,0000
FBgn0004893	bowl	0,00	0,00	5,14	127,89	62,99	44,60	5,62	0,0015
FBgn0028622	qsm	1,90	1,02	0,00	98,68	46,52	12,16	5,64	0,0000
FBgn0036595	CG13046	0,00	0,00	0,00	8,06	10,66	13,78	5,78	0,0082
FBgn0039050	CG17110	0,00	0,00	0,00	11,08	3,88	18,65	5,83	0,0092
FBgn0028371	jbug	0,00	1,02	1,28	56,39	56,21	33,24	6,08	0,0000
FBgn0026320	Tom	0,00	1,02	0,00	12,08	44,58	21,89	6,09	0,0005
FBgn0029003	mab-21	1,90	0,00	0,00	70,49	62,99	9,73	6,09	0,0000
FBgn0027585	CG8740	0,00	0,00	0,00	16,11	26,17	4,05	6,28	0,0018
FBgn0036715	Cad74A	0,00	0,00	0,00	27,19	10,66	17,84	6,55	0,0003
FBgn0051997	CG31997	0,00	1,02	0,00	51,36	46,52	12,16	6,57	0,0001
FBgn0039593	Sid	0,00	0,00	1,28	44,31	23,26	57,57	6,76	0,0000
FBgn0053346	CG33346	0,00	0,00	0,00	42,29	9,69	15,41	6,82	0,0001
FBgn0284247	ds	0,00	1,02	1,28	144,00	94,01	21,89	6,91	0,0000
FBgn0063127	pncr002:3R	0,00	0,00	0,00	12,08	51,36	13,78	7,02	0,0001
FBgn0027341	Gfat1	0,00	1,02	0,00	67,47	67,84	25,14	7,11	0,0000
FBgn0037213	CG12581	0,00	0,00	0,00	39,27	46,52	30,00	7,61	0,0000

Annexe 2 : Liste des gènes régulés de façon similaire dans l'ovaire et la glande lymphatique

FLYBASE	SYMBOL	log2 FoldChange (glande lymph.)	Fold change in enok[1] ovarv	Fold change in enok[2] ovarv
FBgn0015569	alpha-Est10	-2,89	-2,792	-2,527
FBgn0033926	Arc1	-1,63	-2,240	-2,270
FBgn0033928	Arc2	-1,45	-1,304	-1,687
FBgn0014417	CG13397	-1,09	-0,881	-0,809
FBgn0037537	CG2767	-0,69	-0,697	-0,453
FBgn0024984	CG3457	-2,26	-1,769	-1,748
FBgn0058006	CG40006	-2,23	-1,001	-0,857
FBgn0037999	CG4860	-0,56	-1,053	-0,964
FBgn0037807	CG6293	-0,77	-0,806	-1,058
FBgn0034179	CG6805	-0,78	-0,512	-0,624
FBgn0035833	CG7565	-0,65	-2,019	-1,636
FBgn0034067	CG8399	-0,82	-1,193	-0,661
FBgn0030629	CG9123	-1,08	-0,720	-1,077
FBgn0022702	Cht2	-2,93	-2,574	-2,426
FBgn0010313	corto	-2,35	-0,951	-0,944
FBgn0033927	CR10102	-1,61	-2,296	-2,285
FBgn0053503	Cyp12d1-d	-1,21	-3,082	-2,928
FBgn0050489	Cyp12d1-p	-0,82	-3,004	-2,836
FBgn0033979	Cyp6a19	-1,44	-3,509	-2,940
FBgn0034405	Jheh2	0,43	0,675	0,817
FBgn0016034	mael	-1,54	-0,808	-0,729
FBgn0023000	mth	-0,63	-0,870	-0,501
FBgn0035770	pst	-0,59	-0,758	-0,612

Annexe 3: Preprint BioRxiv – The Drosophila MOZ homolog Enok controls Notch-dependent induction of the RUNX gene *lozenge* independently of its histone-acetyl transferase activity.

The Drosophila MOZ homolog Enok controls Notch-dependent induction of the RUNX

gene lozenge independently of its histone-acetyl transferase activity.

Thomas Genais¹, Delhia Gigan¹, Benoit Augé¹, Douaa Moussalem¹, Lucas Waltzer^{1,2}, Marc Haenlin^{1,*} and Vanessa Gobert^{1,*}

Author affiliations:

¹ CBD, Centre de Biologie Intégrative (CBI), Université de Toulouse, CNRS, UPS, Toulouse 31062, France

² Present address: University of Clermont Auvergne, CNRS, Inserm, GReD, Clermont-Ferrand, France.

*Corresponding authors: vanessa.gobert@univ-tlse3.fr, marc.haenlin@univ-tlse3.fr

Keywords

Enok / DmMOZ, hematopoiesis, H3K23 acetylation, catalytic independent functions, gene regulation.

Catalytic-independent regulation of hematopoiesis by DmMOZ/Enok

Abstract

The human KAT6 lysine acetyltransferase MOZ has been shown to be an essential player in the field of normal and malignant hematopoiesis. It belongs to a highly conserved family of epigenetic factors and remodels chromatin by acetylating histone tails in association with its partners of the ING5 complex. Here, we report that its Drosophila counterpart Enok is required during larval hematopoiesis to control the Notch-dependent induction of circulating crystal cells. In particular *enok* is essential to allow expression of the RUNX factor Lozenge (Lz) that controls the crystal cell specific transcriptional program. We demonstrate that this function involves neither the Eaf6 and Ing5 subunits of the Drosophila ING5 complex, nor Enok own acetyltransferase activity. We identify in *lz* third intron a hematopoietic enhancer, which is both required to promote expression in Notch-activated crystal cell precursors in an *enok*-dependent manner and bound by Enok. The non-catalytic mode of action of Enok is likely conserved in MOZ/KAT6 proteins and might be of high relevance in mammalian hematopoiesis, whether normal or malignant.

Introduction

Hematopoiesis, the highly dynamic process of all blood cell production, is tightly regulated by key transcription and epigenetic factors (Menegatti *et al.* 2019; Fujiwara, 2017; Hu & Shilatifard, 2016). Many of these regulators have been identified through the pathologies induced by their deregulation/mutation. In particular, genetic aberrations such as chromosomal rearrangements have been instrumental, since they allowed immediate

Catalytic-independent regulation of hematopoiesis by DmMOZ/Enok

identification of the targeted loci. As an example, characterization of the leukemogenic translocation t(8;21) led to the discovery of the transcription factor RUNX1 that was further shown to be essential for multiple steps of mammalian hematopoiesis (Lam & Zhang, 2012). Similarly, the gene encoding Monocytic Leukemia Zinc finger protein (MOZ, also known as KAT6A) was originally identified as the target of myeloid leukemia associated rearrangements, which fuse it to Lysine Acetyltransferases (KAT) such as CREB-binding protein (CBP) or p300, or to the coactivator TIF2 (reviewed in (Katsumoto *et al.* 2008)).

MOZ/KAT6A belongs to a family of KATs conserved from yeast to human, the MYST family (named after its founding members MOZ/Ybf2/Sas2/Tip60), and is mainly known for its ability to acetylate histone H3 on lysine-9, lysine-14 and lysine-23 residues (Voss et al. 2009; Qiu et al. 2012; Dreveny et al. 2014; Lv et al. 2017). It is therefore proposed to control transcriptional events by participating in chromatin remodeling via the modification of epigenetic marks. MOZ exerts its acetylation activity in a tetrameric ING5 complex also containing the bromodomain PHD finger protein 1 (BRPF1), the human Esa1-associated factor 6 homolog (hEAF6), and the inhibitor of growth 5 (ING5) subunits (Doyon et al. 2006; Ullah et al. 2008). In mouse, the analysis of a MOZ mutant specifically deprived of its catalytic activity (Perez-Campo et al. 2009) reveals a drastic reduction in hematopoietic stem cell (HSC) and committed precursor populations, directly resulting from their reduced proliferation capacities. These results highlight the essential role of MOZ-driven acetylation in HSCs. However, the phenotypic differences existing between this catalytically inactive MOZ mutant and a loss of the entire MOZ protein (Katsumoto et al. 2006) suggest that MOZ may also ensure non-acetyltransferase functions in vivo, consistent with previous

Catalytic-independent regulation of hematopoiesis by DmMOZ/Enok

observations that MOZ interaction with RUNX1 promotes transcription independently of its catalytic domain in murine cultured cells (Kitabayashi *et al.* 2001).

Enoki mushroom (Enok), Drosophila melanogaster MOZ homolog, was first identified for its role in neuroblast proliferation (Scott et al. 2001). Its loss of function results in atrophied mushroom bodies in the fly brain, earning the gene its name, as well as a developmental delay and lethality at the early pupal stage. *enok* was later shown to be required for visual system wiring (Berger et al. 2008) and for germline stem cell maintenance, a process during which it ensures both cell autonomous and non-autonomous functions (Xin et al. 2013). The first insights into the molecular mechanisms underlying the different roles of Enok came from a study that demonstrated its ability to acetylate histone H3 on lysine-23 (H3K23) (Huang et al. 2014); in addition, the authors showed that enok is required for the expression of oocyte-polarizing genes and proposed that enok-mediated H3K23 acetylation of its targets promotes their transcriptional activation. Finally, a second study by the same group, demonstrated that Drosophila homologs of the mammalian ING5 complex Br140, Eaf6 and Ing5 interact physically and functionally with Enok for H3K23 acetylation, and identified a new role for Enok in cell cycle regulation (Huang *et al.* 2016). Of note, no function for Enok in hematopoiesis has ever been documented.

Drosophila melanogaster is a well-established model to study both normal and pathologic hematopoiesis, since its much simpler hematopoietic system displays a high degree of conservation, whether at the functional or at the molecular level (for an exhaustive review, see (Banerjee *et al.* 2019)). Drosophila blood cells (called hemocytes) are formed in two temporally distinct waves. The embryonic wave gives rise to two

Catalytic-independent regulation of hematopoiesis by DmMOZ/Enok

differentiated cell types: plasmatocytes that mainly ensure phagocytic functions, and crystal cells that are responsible for melanization reactions and therefore contribute to wound healing and immune response. During larval life, a second wave of hematopoiesis in the lymph gland yields a reservoir of plasmatocytes and crystal cells that remain separated from the circulation until they are released at the onset of metamorphosis (under normal conditions) or mobilized in response to a parasitic infestation (Letourneau *et al.* 2016). Cells formed during the embryonic wave persist in circulation throughout larval stages until adulthood (Holz *et al.* 2003). During larval life, a massive expansion of the plasmatocyte population occurs in clusters of cells located beneath the epidermis (Makhijani & Brückner, 2012). Also, recent live-imaging of sessile hemocytes within these clusters shows that, upon Notch signaling pathway activation, some cells start to express the crystal cell lineage-specific RUNX transcription factor Lozenge (Lz), thus ensuring *de novo* larval crystal cell formation (Leitão & Sucena, 2015).

Here we provide the first evidence that like its mammalian counterpart, Enok participates in hematopoiesis, since we show that the development of larval circulating crystal cells is hindered in *enok* mutants. In particular, we demonstrate that the expression of *lz* depends on a cell-autonomous function of Enok in Notch-activated crystal cell precursors. Unexpectedly, we establish that Enok is required independently of its KAT activity and of the ING5 acetylation complex and we provide the prime example of a catalytic-independent function for a MOZ protein *in vivo*. Finally, our results strongly suggest that Enok directly controls *lz* transcription by binding a key enhancer element participating in its expression in crystal cell precursors.

Catalytic-independent regulation of hematopoiesis by DmMOZ/Enok

Results

enok is essential for circulating larval crystal cell formation.

While *enok* functions in various developmental processes were already described (Scott et al. 2001; Xin et al. 2013; Huang et al. 2014, 2016), its possible implication in blood cell formation was not reported. Given the major role played by its homolog MOZ during mammalian hematopoiesis, we decided to examine blood cell formation in various *enok* loss of function mutants. The three different alleles tested (*enok*¹, *enok*² and *enok*⁰²⁵³), placed either in hemizygote conditions (combined to the Df(2R)BSC155 deficiency that uncovers the enok locus) or in allelic combination (enok¹/enok^{Q253}), exhibited a dramatic loss of circulating crystal cells at the larval stage. Functional crystal cells of third instar larvae can be easily visualized, as heat exposition triggers melanization within these cells, which then appear as little black dots. We observed almost no melanized crystal cells in the four *enok* mutant contexts tested as compared to control situations (Fig. 1A), indicating a defect in lineage specification or in precursor cell differentiation. We next examined enok mutant larvae circulating blood cells using a Notch Response Element reporter construct (*NRE-GFP*), whose expression is detected in crystal cell precursors and persists until their terminal differentiation (Leitão & Sucena, 2015; Miller et al. 2017), and an antibody raised against Prophenoloxidase1 (PPO1), a crystal cell terminal differentiation marker. Our results show that Notch-activated hemocytes (NRE-GFP⁺ cells) have lost PPO1 expression in *enok* loss of function contexts (Fig. 1B), confirming the absence of mature crystal cells in the hemolymph of enok loss of function larvae.

enok is required for Notch-dependent Lz expression induction.

Catalytic-independent regulation of hematopoiesis by DmMOZ/Enok

Since the expression of PPO1 depends on the RUNX transcription factor Lz (Waltzer *et al.* 2003; Gajewski *et al.* 2007), we assessed Lz expression in circulating cells and observed that only a small fraction of NRE-GFP⁺ cells retain the ability to express Lz in *enok* loss of function mutants as compared to control larvae (Fig. 1C,D). Interestingly, an increased proportion of Notch-activated hemocytes displays expression of the plasmatocyte specific marker P1 (Supplemental Fig. S1A), which is consistent with the idea that circulating larval crystal cells arise, at least in part, from transdifferentiating plasmatocytes (Leitão & Sucena, 2015). We then evaluated the consequences of *enok* loss of function on other known targets of the Notch signaling pathway (NRE-GFP reporter gene, Su(H)GBE-Gal4,UAS-GFP construct and E(spl)mβ-GFP reporter gene) and did not observe any major deregulation of their expression in *enok* mutant larvae (Supplemental Fig. S1B-D), thus rendering unlikely that the loss of Lz expression results from a generic problem in Notch signaling interpretation. Altogether our results show that *enok* is required downstream of Notch signaling for Lz expression during the formation of circulating larval crystal cells.

enok regulates Lz expression in crystal cell precursors in a cell-autonomous fashion.

We next sought to determine in which cells *enok* is required to promote crystal cell production. Directing expression of a *UAS-3HA-enok* transgene in *enok* mutant larvae, either ubiquitously with the *tubulin-Gal4* driver or with the *Notch*^{*GMR30401}-Gal4* driver (Miller *et al.* 2017), which allows expression in Notch-activated crystal cell precursors (Supplemental Fig. S2A,B), restores crystal cell maturation (Fig 2A), further demonstrating that the loss of crystal cell linage is due to the loss of *enok* function. In addition, our result indicates that *enok* ensures a cell-autonomous function in the Notch-activated precursors. Furthermore, thorough quantification of the proportion of Lz-expressing cells in circulation confirms that</sup>

Catalytic-independent regulation of hematopoiesis by DmMOZ/Enok

re-expressing *enok* specifically in crystal cell precursors of *enok* mutant larvae is sufficient to restore Lz expression completely (Fig. 2B). We thus conclude that *enok* controls the circulating larval crystal cell lineage formation through a cell-autonomous regulation of Lz expression in Notch-activated precursors.

The catalytic activity of Enok and the ING5 complex are dispensable for crystal cell formation.

Since Enok is known to cooperate with its partners in the Drosophila ING5 complex to acetylate H3K23 (Huang et al. 2014, 2016), we surmised that Enok and the whole ING5 complex might control *lz* expression in Notch-activated hemocytes *via* histone acetylation. While a Br140⁵⁷⁸¹ loss of function allele already existed, no mutation for Eaf6 or Ing5 was available. We thus used the CRISPR/Cas9 genome-editing system to excise most of the coding region of these two genes and recovered the $Eaf6^{M26}$ and $Ing5^{ext}$ alleles (see supplemental methods). Also, we introduced in the coding sequence of *enok* a single K807R amino acid substitution that affects a highly conserved Lysine, therefore abrogating its lysine acetyltransferase function (*enok*^{KAT} allele, see supplemental methods). As expected, the level of H3K23 acetylation in circulating hemocytes is strongly reduced in $enok^{1}$ and $Br140^{5781}$ hemizygote contexts and more mildly in $Eaf6^{M26}$ hemizygote or $Inq5^{ex1}$ homozygote mutants (Supplemental Fig. S3). The enok^{KAT} mutation reduces the level of H3K23 acetylation to that observed with the *enok* null mutant context (*enok¹/Df(2R)BSC155*) (Supplemental Fig. S3), suggesting that $enok^{KAT}$ is a genetically null allele for the acetyltransferase function. It is noteworthy however that, while the levels of H3K23 acetylation are drastically affected in the enok^{KAT} context, these mutants do not display the developmental delay and lethality that are associated to the other known enok mutant loss

Catalytic-independent regulation of hematopoiesis by DmMOZ/Enok

of function alleles; the *enok*^{KAT} mutant adults appear morphologically normal except for a sterility of the females. We then observed in melanization assays that, while *Br140* loss of function results in the same hematopoietic phenotype as *enok* loss of function, gene excision of *Eaf6* or *Ing5* did not affect larval crystal cell formation (Fig. 3A). More strikingly, *enok*^{KAT} mutant larvae exhibited seemingly normal crystal cell differentiation (Fig. 3A). Additional quantification of the proportion of NRE-GFP⁺ cells expressing Lz confirms that both *Br140*⁵⁷⁸¹ and *enok*¹ mutations prevent Notch-activated precursors from differentiating further, while *enok*^{KAT} mutation has no effect on this lineage (Fig. 3B). Thus, our results demonstrate that Enok and Br140 regulate Lz through a non-canonic mode of action that is independent of the KAT activity of Enok and of the ING5 complex.

Lz expression precedes that of Yorkie during circulating larval crystal cell formation.

During *de novo* hematopoiesis in the lymph gland, the onset of *lz* expression was reported to be under the control of the Hippo signaling pathway effector, Yorkie (Yki), following Notch signaling activation (Milton *et al.* 2014; Ferguson & Martinez-Agosto, 2014b, 2014a). We reasoned that the same mechanism could be at work in the larval sessile/circulating compartment and that Enok might regulate Yki expression. Our results show that most Notch-activated circulating cells indeed express Yki in a control genetic context and that this expression is lost in *enok* mutant conditions (Fig. 4A,B), indicating that *enok* is also required for Yki expression. Surprisingly however, in control larvae the vast majority of cells expressing both NRE-GFP and Yki also express Lz (Supplemental Fig. S4A), whereas a subset of cells that co-express NRE-GFP and Lz appear negative for Yki staining (Supplemental Fig. S4B, dotted ellipse). The existence of this subpopulation does not fit the model developed for crystal cell differentiation in the lymph gland and raises the possibility

Catalytic-independent regulation of hematopoiesis by DmMOZ/Enok

that the transcriptional cascade controlling circulating larval crystal cell differentiation might be different. Quantification of Yki expression intensity in *Iz^{RI}* null mutant larvae shows that crystal cell precursors deprived of *Iz* do not express Yki, as compared to a control situation (Fig. 4C), indicating that *Iz* is required for Yki expression in these cells. Furthermore, ectopically expressing *Iz* in larval circulating hemocytes with the *hemolectin-gal4* driver is sufficient to induce a significant increase of the Yki expressing cell population (Fig. 4D). In contrast, ectopic expression of Yki or activated-Yki (Yki^{ACT}) does not trigger Lz expression in circulating cells (Fig. 4D). Altogether our results suggest that following Notch signaling pathway activation in circulating cells, *Iz* expression precedes that of *yki*, and is initiated independently of the latter. Therefore, we conclude that the effect of *enok* loss of function on Yki expression is consecutive to the loss of Lz expression in this context. Accordingly, we subsequently focused on the control of Lz expression by *enok*.

Enok binds an intronic region of *Iz*, which is required for its expression in circulating crystal cell progenitors.

We selected a set of transgenic lines containing potential regulatory regions of *lz* placed upstream of the Gal4 coding sequence and tested them for their ability to recapitulate *lz* expression in the NRE-GFP expressing cells (Supplemental Table 1). Among these, the 2 kb regulatory region covered by the Vienna Tile VT059215 (Fig. 5A), either placed upstream of the Gal4 coding sequence (*lz*^{V7059215}-*Gal4*, Supplemental Fig. 5A) or directly fused to the RedStinger reporter gene (*lz*^{V7059215}-*RedStinger*, Supplemental Fig. 5B) is able to drive transcription in a large fraction of the NRE-GFP expressing cells, which overlaps importantly but not exclusively with endogenous Lz expression (Supplemental Fig. 5A,B). This potential regulatory region is embedded in the third intron of the *lz* gene (Fig. 5A). In

Catalytic-independent regulation of hematopoiesis by DmMOZ/Enok

order to establish the role played by this region, we deleted *Iz* third intron (5 kb) using the CRISPR/Cas9 genome editing technique (lz^{int3} allele (Fig. 5A), see supplemental methods). Despite the critical roles of *Iz* during eye development (Daga *et al.* 1996), the excision of *Iz* third intron yields individuals with normal eyes, indicating that in these mutants, lz expression in the eye imaginal disc is not affected and that the Lz protein is functional. However, like *enok* loss of function, lz^{int3} mutation abolishes Lz expression in most Notchactivated hemocytes (Fig. 5B,C), indicating that *Iz* third intron contributes to its expression in circulating crystal cell precursors. In addition, $lz^{V7059215}$ -Gal4 driven re-expression of lz in a Iz^{RI} mutant background is sufficient to restore a wild-type proportion of Lz expressing cells in the NRE-GFP domain (Fig. 5E), as well as crystal cell differentiation (Fig. 5D). Altogether, these results show that *Iz* third intron contains a hematopoietic enhancer both necessary and sufficient for its expression in most crystal cell precursors. We then speculated that Enok might occupy this region to promote Lz expression in Notch-activated hemocytes. Chromatin immunoprecipitation performed in *tub-Gal4/UAS-3HA-Enok* embryos revealed a conspicuous enrichment in HA-Enok binding across regions of *Iz* third intron, corresponding to the identified VT059215 regulatory element (Fig. 5F), and a modest (yet statistically significant) binding of HA-Enok in *Iz* first exon, which was recently reported to be bound by Br140 (Kang et al. 2017), suggesting potential co-occupancy of this region by an Enok/Br140 complex. No obvious enrichment was detected in the upstream intergenic region previously reported to contain some *Iz* regulatory elements (Bataillé *et al.* 2005; Ferjoux *et al.* 2007). These results indicate that the *Iz^{V7059215}* region might be an important site of Enok binding in Iz and prompted us to test whether the expression driven by this enhancer depends on Enok or not. We thus quantified the expression of the lz^{VT059215}-RedStinger reporter gene in Notch-activated circulating cells, in the presence or the absence of Enok, and observed that

Catalytic-independent regulation of hematopoiesis by DmMOZ/Enok

its expression level is indeed reduced in two different *enok* loss of function conditions as compared to control (Fig. 5G). Altogether, our results show that the third intron of *lz* contains a regulatory region that is essential for *its* expression in Notch-activated hemocytes and that is regulated by Enok.

Discussion

In the present study, we characterize the effect of *enok* loss of function on the circulating crystal cell lineage and demonstrate that *enok* is required in a cell-autonomous manner in Notch-activated hemocytes during the formation of circulating larval crystal cells. In particular, we present evidence that Enok acts downstream of the Notch signaling pathway to ensure expression of the crystal cell fate determinant Lz in crystal cell precursors and that it relies on a KAT-independent mechanism to do so. Finally, our findings pinpoint a *cis*-regulatory region critical for *lz* expression in circulating crystal cell precursors, which is both bound and regulated by Enok.

Our most striking result is that the control of Lz expression relies on a catalyticindependent mode of action of Enok likely involving its interactor Br140, but for which Eaf6 and Ing5 appear to be dispensable. The *enok* mutant alleles used in previous studies cause a developmental delay and a general lethality since 50% of mutant animals die before puparium formation and those that pupate never emerge as adult (Scott *et al.* 2001). These phenotypes are not developed by catalytically-dead mutants, indicating that H3K23 acetylation is largely dispensable in these processes. The observed sterility of *enok*^{KAT} mutant adult females is consistent with the idea that H3K23 acetylation by Enok is essential

Catalytic-independent regulation of hematopoiesis by DmMOZ/Enok

for the oocyte polarization (Huang *et al.* 2014) and suggests that its function in the maintenance of germline stem cells (Xin *et al.* 2013) requires its catalytic activity. Catalyticindependent functions of MOZ/KAT6A, the mammalian homolog of Enok, have been speculated based on the phenotypic differences observed between mice either totally deprived of MOZ (Katsumoto *et al.* 2006), or in which its catalytic activity has been abolished by a single amino acid substitution (Perez-Campo *et al.* 2009). However, there is so far no documented study of such KAT-independent functions of MOZ *in vivo*. Our work provides the first defined example of a catalytic-independent contribution of a MOZ/KAT6 protein in an integrated model, therefore bringing the proof of principle that these proteins rely on a dual mode of action (catalytic and non-catalytic) to ensure their various functions. Yet this new operating mode remains to be elucidated at the mechanistic level.

In mammals MOZ has been shown to interact with a variety of transcription factors (such as RUNX1, PU.1, c-JUN, P53, TEL, NF-kB, NRF2, reviewed in (Perez-Campo *et al.* 2013)) to regulate target gene expression and in particular, its role as a transcriptional coactivator of RUNX1 in cell culture (Kitabayashi *et al.* 2001; Bristow & Shore, 2003) was shown not to depend on its catalytic domain (Kitabayashi *et al.* 2001). Thus, like MOZ, Enok could interact with a yet to be identified transcription factor on the VT059215 enhancer to control *lz* expression in Notch-activated circulating hemocytes. The VT059215 regulatory region contains elements that are relevant to the regulation of *lz*, including binding sites for Su(H) (the effector of Notch signaling pathway), for Scalloped (the major partner of Yki), for GATA factors (such as Serpent, a major regulator of blood cells development) and for Lz itself. Since Lz is the homolog of mammalian RUNX1 and is already known to participate in an autoregulatory loop during embryogenesis (Ferjoux *et al.* 2007), an Enok/Lz interaction on

Catalytic-independent regulation of hematopoiesis by DmMOZ/Enok

the VT059215 enhancer could participate in a feed-forward loop allowing *lz* expression maintenance in circulating larval crystal cells. However, neither the MOZ-interacting domain of RUNX1 nor the C-terminal RUNX1-interacting domain of MOZ are conserved in their respective Drosophila counterparts, rendering this hypothesis less likely. Further characterization of the requirement for the different binding sites in the VT059215 regulatory region could allow the identification of the transcription factors regulating *lz* expression *via* this enhancer and whose properties would be regulated by Enok.

Umer et al. demonstrated in a recent study that Enok behaves as a Trithorax group (TrxG) protein; they showed that *enok* loss-of-function suppresses the phenotype induced by the downregulation of Polycomb (Pc), a major epigenetic silencer, and that Enok antagonizes Pc recruitment on chromatin at TrxG target gene loci (Umer et al. 2019). Work by Strübbe *et al.* showed that in Drosophila embryos Enok and Br140 interact physically with Pc (Strübbe et al. 2011), which was further confirmed in another study highlighting the substantial overlap between chromatin occupancies by Br140 and by the Polycomb Repressive Complex 1, PRC1 (Kang et al. 2017) on developmentally regulated bivalent genes. Of note, the authors did not observe any enrichment in the Enok-dependent H3K23ac mark on their set of bivalent genes, which is compatible with a non-catalytic mode of action of Enok. Interestingly, one of the genomic regions co-occupied by Br140 and PRC1 is the l_z locus. Binding of the Enok/Br140 pair on the VT059215 regulatory region could therefore contribute to limit the excessive silencing of the gene, thus allowing its expression in response to developmental cues such as Notch signaling pathway activation. In the absence of Enok or Br140, the locus would subsequently become mostly unresponsive to Notch signaling.

Catalytic-independent regulation of hematopoiesis by DmMOZ/Enok

In conclusion, we have shown that like MOZ in mammals, Enok is an important regulator of hematopoiesis in Drosophila and we demonstrated that its function in physiological hematopoiesis relies on a non-catalytic activity. It seems very important to fully elucidate this KAT-independent mode of action of MOZ/KAT6 proteins, as it might be of high relevance in the development of MOZ-related pathologies as well as during normal hematopoiesis.

Material and methods

Drosophila stocks, genetics and melanization assays.

Stocks and crosses were maintained at 25°C on standard yeast-agar-cornmeal medium. The complete list of stocks used in this study is provided as supplemental material (Supplemental Table 2). Larvae collected for phenotypic analysis were raised in controlled density conditions: in brief, for each cross, 10 females were fertilized by 4 males and left to lay eggs for 16 hours at 25°C. Third instar wandering larvae of the appropriate genotypes were collected 5 days after egg laying. Female larvae were used, unless otherwise specified. For melanization assays, two batches of six larvae were collected in two 1.5 mL eppendorf tubes containing 200 uL of Phosphate Buffered Saline (PBS) each, incubated in a 65°C waterbath for 30 minutes, stored on ice for 30 minutes and imaged on a SMZ18 stereomicroscope (Nikon). Each experiment was reproduced at least three times (minimum of total larvae observed for each phenotype, n=36).

Immunofluorescent staining and Operetta quantifications on circulating cells.

Catalytic-independent regulation of hematopoiesis by DmMOZ/Enok

Four female third instar larvae were bled in 1 ml of PBS in 24-well-plate containing a glass coverslip. Hemocytes were centrifuged for 2 min at 900 g, fixed for 20 minutes with 4% paraformaldehyde in PBS and washed twice in PBS. Cells were then permeabilized in PBS-0.3% Triton (PBST), blocked in PBST-1% Bovine Serum Albumin (BSA) and incubated with primary antibodies at 4°C over night in PBST-BSA. The complete list of primary antibodies used in this study is provided as supplemental material (Supplemental Table 3). Next, cells were washed in PBST, incubated for 2 hours at room temperature with corresponding Alexa Fluor-labeled secondary antibodies (Molecular Probes), washed in PBST and mounted in Vectashield medium (Eurobio-Vector) following incubation with DAPI. Imaging was performed on a Leica SP8 confocal microscope. For fluorescence quantification, single female larvae were bled individually in 96-well-plate and samples were processed as described above; imaging was performed on an Operetta microscope (Perkin-Elmer); for each well 30 fields were captured at 20X magnification. Statistical analyses were performed with GraphPad Prism (GraphPad Software, Inc.); two-tailed Student t-Test were used for comparisons of two samples and one-way ANOVA followed by Dunnett test for comparisons of more than two samples.

Generation of UAS-3HA-Enok and Iz^{VT059215}-Red-Stinger fly strains.

- *cloning of UAS-3HA-Enok*: a three HA-tags encoding sequence was directionally inserted in the pUAStAttB vector (Addgene) polylinker using EcoRI and NotI restriction enzymes, yielding a pUAStAttb-3HA plasmid. A p-BlueScript containing the full-length *enok* cDNA (kind gift from Takashi Suzuki) was then used as a template to PCR-amplify the *enok* coding sequence (Phusion high-fidelity polymerase, Thermofisher scientific). The amplified fragment was cloned in frame with the 3HA sequence, between the NotI and KpnI

Catalytic-independent regulation of hematopoiesis by DmMOZ/Enok

restriction sites of the pUAStAttB-3HA vector, using the In-fusion HD cloning kit (Clontech) according to supplier's instructions.

- *cloning of Iz*^{V7059215}-*Red-Stinger:* this cloning was performed in two steps. We first generated a phiC31-based transformation vector containing a red fluorescent reporter gene compatible with golden gate cloning. Briefly, the pAttB vector (Bischof *et al.* 2013)(kind gift of K. Basler) was modified to remove the existing Bsal restriction sites and we then inserted a polylinker containing Bsal restriction sites on each side of a *lacZ* gene from the pCambia2200 vector (kind gift of Jean-Philippe Combier), the hsp70 promoter and the DsRedT4-NLS coding sequence from the pRed-H-Stinger vector (Barolo *et al.* 2004)(DGRC). In a second step, we cloned the VT059215 sequence into the pAttB-Red-H-Stinger vector with Bsal restriction enzyme following a golden gate cloning protocol.

All constructs were checked by sequencing for polymorphisms/mutations, prior to injection for phiC31-mediated insertion in an AttP2 platform containing fly line. All plasmid sequences and detailed cloning procedures are available on request.

Chromatin Immunoprecipitation on embryos.

Four independent chromatin immunoprecipitation experiments were performed as follows: embryos were collected twice a day for 2-3 days, washed, frozen dry and kept at -80°C. They were then processed as described in (Loubiere *et al.* 2017). The immunoprecipitated chromatin was subsequently used in RealTimePCR using the SsoFast Evagreen chemistry (Biorad) in a CFX96 thermocycler (Biorad). 100 mg of embryos were used for each replicate. The complete list of primers used in this study is provided as supplemental material (SuppTable 4).

Catalytic-independent regulation of hematopoiesis by DmMOZ/Enok

Acknowledgments

We are grateful to Leila Abraham, Camille Calvel, and Maxime Fayel for their participation in mutant fly strain engineering, Amélie Destenabes and Julien Favier at the CBD fly facilities for transgenesis and CRISPR/Cas9 injections, Michèle Crozatier, Nathalie Vanzo and Caroline Monod for critical reading of the manuscript and all our colleagues at the CBD for appreciated comments at various steps of the project. We thank Brice Ronsin, Stéphanie Bosch and Jessie Bourdeaux at the Toulouse RIO imaging platform for assistance with confocal microscopy and Operetta imaging and Benjamin Tritschler for invaluable help with logistics. We are also deeply grateful to Drs Erjun Ling, Takashi Suzuki, Matthew Gibson, Steven Hou, Konrad Basler and Jean-Philippe Combier for sharing resources, and to the Bloomington stock center, the Vienna Drosophila Ressource Center, the Kyoto stock center and the Developmental Studies Hybridoma Bank for providing us with antibodies and fly stocks. TG was supported by a doctoral fellowship from La Ligue Nationale contre le Cancer, and the project benefitted from the support of the Centre National de Recherche Scientifique (CNRS) and the Université Toulouse III - Paul Sabatier (UPS).

References

Banerjee U, Girard JR, Goins LM & Spratford CM (2019) Drosophila as a Genetic Model for Hematopoiesis. *Genetics* **211:** 367–417

Barolo S, Castro B & Posakony JW (2004) New Drosophila transgenic reporters: insulated Pelement vectors expressing fast-maturing RFP. *BioTechniques* **36:** 436–440, 442 Bataillé L, Augé B, Ferjoux G, Haenlin M & Waltzer L (2005) Resolving embryonic blood cell

Catalytic-independent regulation of hematopoiesis by DmMOZ/Enok

fate choice in Drosophila: interplay of GCM and RUNX factors. *Development* **132**: 4635–4644 Berger J, Senti K-A, Senti G, Newsome TP, Asling B, Dickson BJ & Suzuki T (2008) Systematic identification of genes that regulate neuronal wiring in the Drosophila visual system. *PLoS Genet.* **4**: e1000085

Bischof J, Björklund M, Furger E, Schertel C, Taipale J & Basler K (2013) A versatile platform for creating a comprehensive UAS-ORFeome library in Drosophila. *Development* **140**: 2434– 2442

Bristow CAP & Shore P (2003) Transcriptional regulation of the human MIP-1alpha promoter by RUNX1 and MOZ. *Nucleic Acids Res.* **31:** 2735–2744

Daga A, Karlovich CA, Dumstrei K & Banerjee U (1996) Patterning of cells in the Drosophila eye by Lozenge, which shares homologous domains with AML1. *Genes Dev.* **10**: 1194–1205 Doyon Y, Cayrou C, Ullah M, Landry A-J, Côté V, Selleck W, Lane WS, Tan S, Yang X-J & Côté J (2006) ING tumor suppressor proteins are critical regulators of chromatin acetylation required for genome expression and perpetuation. *Mol. Cell* **21**: 51–64

Dreveny I, Deeves SE, Fulton J, Yue B, Messmer M, Bhattacharya A, Collins HM & Heery DM (2014) The double PHD finger domain of MOZ/MYST3 induces α -helical structure of the histone H3 tail to facilitate acetylation and methylation sampling and modification. *Nucleic Acids Res.* **42**: 822–835

Ferguson GB & Martinez-Agosto JA (2014a) Kicking it up a Notch for the best in show: Scalloped leads Yorkie into the haematopoietic arena. *Fly (Austin)* **8**: 206–217

Ferguson GB & Martinez-Agosto JA (2014b) Yorkie and Scalloped signaling regulates Notchdependent lineage specification during Drosophila hematopoiesis. *Curr. Biol.* 24: 2665–2672 Ferjoux G, Augé B, Boyer K, Haenlin M & Waltzer L (2007) A GATA/RUNX cis-regulatory module couples Drosophila blood cell commitment and differentiation into crystal cells. *Dev.*

Catalytic-independent regulation of hematopoiesis by DmMOZ/Enok

Biol. 305: 726-734

Fujiwara T (2017) GATA Transcription Factors: Basic Principles and Related Human Disorders. *Tohoku J. Exp. Med.* **242:** 83–91

Gajewski KM, Sorrentino RP, Lee JH, Zhang Q, Russell M & Schulz RA (2007) Identification of a crystal cell-specific enhancer of the black cells prophenoloxidase gene in Drosophila. *Genesis* **45:** 200–207

Holz A, Bossinger B, Strasser T, Janning W & Klapper R (2003) The two origins of hemocytes in Drosophila. *Development* **130**: 4955–4962

Hu D & Shilatifard A (2016) Epigenetics of hematopoiesis and hematological malignancies. *Genes Dev* **30:** 2021–2041

Huang F, Paulson A, Dutta A, Venkatesh S, Smolle M, Abmayr SM & Workman JL (2014) Histone acetyltransferase Enok regulates oocyte polarization by promoting expression of the actin nucleation factor spire. *Genes Dev.* **28**: 2750–2763

Huang F, Saraf A, Florens L, Kusch T, Swanson SK, Szerszen LT, Li G, Dutta A, Washburn MP, Abmayr SM & Workman JL (2016) The Enok acetyltransferase complex interacts with Elg1 and negatively regulates PCNA unloading to promote the G1/S transition. *Genes Dev.* **30**: 1198–1210

Kang H, Jung YL, McElroy KA, Zee BM, Wallace HA, Woolnough JL, Park PJ & Kuroda MI (2017) Bivalent complexes of PRC1 with orthologs of BRD4 and MOZ/MORF target developmental genes in Drosophila. *Genes Dev.* **31**: 1988–2002

Katsumoto T, Aikawa Y, Iwama A, Ueda S, Ichikawa H, Ochiya T & Kitabayashi I (2006) MOZ is essential for maintenance of hematopoietic stem cells. *Genes Dev.* **20**: 1321–1330 Katsumoto T, Yoshida N & Kitabayashi I (2008) Roles of the histone acetyltransferase monocytic leukemia zinc finger protein in normal and malignant hematopoiesis. *Cancer Sci.*

Catalytic-independent regulation of hematopoiesis by DmMOZ/Enok

99: 1523–1527

Kitabayashi I, Aikawa Y, Nguyen LA, Yokoyama A & Ohki M (2001) Activation of AML1mediated transcription by MOZ and inhibition by the MOZ-CBP fusion protein. *EMBO J.* **20**: 7184–7196

Lam K & Zhang D-E (2012) RUNX1 and RUNX1-ETO: roles in hematopoiesis and leukemogenesis. *Front Biosci (Landmark Ed)* **17:** 1120–1139

Leitão AB & Sucena É (2015) Drosophila sessile hemocyte clusters are true hematopoietic tissues that regulate larval blood cell differentiation. *Elife* **4**:

Letourneau M, Lapraz F, Sharma A, Vanzo N, Waltzer L & Crozatier M (2016) Drosophila hematopoiesis under normal conditions and in response to immune stress. *FEBS Lett.* **590**: 4034–4051

Loubiere V, Delest A, Schuettengruber B, Martinez A-M & Cavalli G (2017) Chromatin Immunoprecipitation Experiments from Whole Drosophila Embryos or Larval Imaginal Discs. *Bio-protocol* **7**: e2327

Lv D, Jia F, Hou Y, Sang Y, Alvarez AA, Zhang W, Gao W-Q, Hu B, Cheng S-Y, Ge J, Li Y & Feng H (2017) Histone acetyltransferase KAT6A upregulates PI3K/AKT signaling through TRIM24 binding. *Cancer Res* **77**: 6190–6201

Makhijani K & Brückner K (2012) Of blood cells and the nervous system: hematopoiesis in the Drosophila larva. *Fly (Austin)* **6:** 254–260

Menegatti S, de Kruijf M, Garcia-Alegria E, Lacaud G & Kouskoff V (2019) Transcriptional control of blood cell emergence. *FEBS Lett*.

Miller M, Chen A, Gobert V, Augé B, Beau M, Burlet-Schiltz O, Haenlin M & Waltzer L (2017) Control of RUNX-induced repression of Notch signaling by MLF and its partner DnaJ-1 during Drosophila hematopoiesis. *PLoS Genet.* **13**: e1006932

Catalytic-independent regulation of hematopoiesis by DmMOZ/Enok

Milton CC, Grusche FA, Degoutin JL, Yu E, Dai Q, Lai EC & Harvey KF (2014) The Hippo Pathway Regulates Hematopoiesis in Drosophila melanogaster. *Curr. Biol.* **24**: 2673–2680 Perez-Campo FM, Borrow J, Kouskoff V & Lacaud G (2009) The histone acetyl transferase activity of monocytic leukemia zinc finger is critical for the proliferation of hematopoietic precursors. *Blood* **113**: 4866–4874

Perez-Campo FM, Costa G, Lie-a-Ling M, Kouskoff V & Lacaud G (2013) The MYSTerious MOZ, a histone acetyltransferase with a key role in haematopoiesis. *Immunology* **139**: 161–165

Qiu Y, Liu L, Zhao C, Han C, Li F, Zhang J, Wang Y, Li G, Mei Y, Wu M, Wu J & Shi Y (2012) Combinatorial readout of unmodified H3R2 and acetylated H3K14 by the tandem PHD finger of MOZ reveals a regulatory mechanism for HOXA9 transcription. *Genes Dev.* **26**: 1376–1391 Scott EK, Lee T & Luo L (2001) enok encodes a Drosophila putative histone acetyltransferase required for mushroom body neuroblast proliferation. *Curr. Biol.* **11**: 99–104

Strübbe G, Popp C, Schmidt A, Pauli A, Ringrose L, Beisel C & Paro R (2011) Polycomb purification by in vivo biotinylation tagging reveals cohesin and Trithorax group proteins as interaction partners. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **108**: 5572–5577

Ullah M, Pelletier N, Xiao L, Zhao SP, Wang K, Degerny C, Tahmasebi S, Cayrou C, Doyon Y, Goh S-L, Champagne N, Côté J & Yang X-J (2008) Molecular architecture of quartet MOZ/MORF histone acetyltransferase complexes. *Mol. Cell. Biol.* **28**: 6828–6843

Umer Z, Akhtar J, Khan MHF, Shaheen N, Haseeb MA, Mazhar K, Mithani A, Anwar S & Tariq M (2019) Genome-wide RNAi screen in Drosophila reveals Enok as a novel trithorax group regulator. *Epigenetics Chromatin* **12**: (1):55

Voss AK, Collin C, Dixon MP & Thomas T (2009) Moz and retinoic acid coordinately regulate H3K9 acetylation, Hox gene expression, and segment identity. *Dev. Cell* **17**: 674–686

Catalytic-independent regulation of hematopoiesis by DmMOZ/Enok

Waltzer L, Ferjoux G, Bataillé L & Haenlin M (2003) Cooperation between the GATA and RUNX factors Serpent and Lozenge during Drosophila hematopoiesis. *EMBO J.* **22**: 6516–6525

Xin T, Xuan T, Tan J, Li M, Zhao G & Li M (2013) The Drosophila putative histone acetyltransferase Enok maintains female germline stem cells through regulating Bruno and the niche. *Dev. Biol.* **384**: 1–12

Figures legends

Figure 1. *enok* is required for circulating larval crystal cell formation. (A) Melanization assay on larvae from different *enok* mutant contexts. Posterior side of larvae is to the right. Melanized crystal cells appear as black dots. (B,C) Immunofluorescent staining on circulating cells from larvae of the indicated genotypes (*Df-B155*: abbreviation for *Df(2R)BSC155*); cells were stained with DAPI and either α -PPO1 (B) or α -Lz (C) antibodies. (D) Quantification of the proportions of circulating NRE-GFP⁺ cells expressing Lz as revealed by an immunofluorescent staining. Each dot represents the proportion observed in an individual larva. Complete genotypes: *NRE-GFP/+* (control) and *enok¹*, *NRE-GFP/Df(2R)BSC155* (enok¹/Df-B155). Statistics: **** indicates a p-value≤0.0001.

Figure 2. Notch^{GMR30401}-Gal4-driven expression UAS-3HA-enok transgene in enok mutants restores crystal cell differentiation. (A) Melanization assay on larvae of the indicated genotypes. Complete genotypes: w^{1118} (control), $enok^1/Df(2R)BSC155$ (enok¹/Df-B155), $enok^1/Df(2R)BSC155$; tubulin-Gal4/UAS-3HA-enok (enok¹/Df-B155; tub>enok) and $enok^1/Df(2R)BSC155$; Notch^{GMR30401}-Gal4/UAS-3HA-enok (enok¹/Df-B155; tub>enok) (enok¹/Df-B155;
bioRxiv preprint doi: https://doi.org/10.1101/2020.07.27.222620; this version posted July 28, 2020. The copyright holder for this preprint (which was not certified by peer review) is the author/funder. All rights reserved. No reuse allowed without permission.

Catalytic-independent regulation of hematopoiesis by DmMOZ/Enok

Notch^{GMR30A01}>enok). (B) Quantification of the relative proportions of Lz positive circulating cells as revealed by immunofluorescent staining (expressed as a percentage of that of the control condition). Each dot represents the proportion of Lz^{+} cells in an individual larva. Statistics: *Notch*^{GMR30A01}-Gal4/+ genotype was used as a reference sample; **** indicates a p-value≤0.0001, ns: not significantly different from reference sample.

Figure 3. *enok* and *Br140* are required independently of the ING5 complex for crystal cell differentiation. (A) Melanization assay on larvae of the indicated genotypes (*Df-B387*: abbreviation for *Df(3L)BSC387*, *Df-B263*: abbreviation for *Df(2R)BSC263*). (B) Quantification of the proportions of NRE-GFP⁺ cells expressing Lz as revealed by immunofluorescent staining. Each dot represents the proportion of Lz⁺ cells in an individual larva. Complete genotypes: *NRE-GFP/+* (control), *enok*¹, *NRE-GFP/Df(2R)BSC155* (enok¹/Df-B155), *Br140*⁵⁷⁸¹, *NRE-GFP/Df(2R)BSC263* (Br140⁵⁷⁸¹/Df-B263) and *enok*^{KAT}, *NRE-GFP/Df(2R)BSC155* (enok¹/Df-B155). Statistics: control genotype was used as a reference sample; **** indicates a p-value≤0.0001, ns: not significantly different from reference sample.

Figure 4. Lz precedes Yki expression during circulating larval crystal cell formation. (A) Immunofluorescent staining on circulating cells from larvae of the indicated genotypes; cells were stained with DAPI and α -Yki. (B) Quantification of the proportions of NRE-GFP⁺ cells expressing Yki as revealed by immunofluorescent staining. Complete genotypes: *NRE-GFP/+* (control) and *enok¹*, *NRE-GFP/Df(2R)BSC155* (enok¹/Df-B155). (C) Fluorescence intensity of Yki staining in NRE-GFP⁺ cells (relative to the mean Yki intensity measured in all NRE-GFP⁺ cells of control larvae) in larvae of the following genotypes: w^{1118}/Y ; *NRE-GFP/+* (control) and *lz^{R1}/Y*; *NRE-GFP/+* (lz^{R1}). (D) Overexpression of *UAS-lz*, *UAS-yki* or *UAS-yki*^{ACT} using the

bioRxiv preprint doi: https://doi.org/10.1101/2020.07.27.222620; this version posted July 28, 2020. The copyright holder for this preprint (which was not certified by peer review) is the author/funder. All rights reserved. No reuse allowed without permission.

Catalytic-independent regulation of hematopoiesis by DmMOZ/Enok

*hml*⁴-*Gal4* driver. Left panel: proportions of total circulating hemocytes expressing Lz. Right panel: proportions of total circulating hemocytes expressing Yki. Complete genotypes are as follows: w/w; *hml*⁴-*Gal4/+* (control), w/UAS-*lz*; *hml*⁴-*Gal4/+* (UAS-Iz), w/w; *hml*⁴-*Gal4/UAS-yki*-*GFP* (UAS-yki) and w/w; *hml*⁴-*Gal4/+*; *UAS-yki*⁵¹⁶⁸⁴-*GFP/+* (UAS-yki^{ACT}). (B,D) Each dot represents the proportion observed in an individual larva. (C) Each dot represents the intensity value attributed to a single cell. (B-D) Statistics: control genotype was used as a reference sample; **** indicates a p-value≤0.0001, *** indicates a p-value≤0.0010, ns: not significantly different from reference sample.

Figure 5. Enok controls a hematopoietic enhancer in I_Z third intron. (A) Schematic representation the *Iz* locus and the different genetic elements or reagents used in this study. (B) Immunofluorescent staining on circulating cells from NRE-GFP/+; lz^{V7059215}-Gal4,UAS-*RedStinger/+* larvae; cells were stained with DAPI and α -Lz antibody. (C) Quantification of the proportion of NRE-GFP⁺ cells expressing Lz in lz^{int3} and *control* male larvae, as revealed by immunofluorescent staining. Each dot represents the proportion of Lz⁺ cells in an individual larva. (D) Melanization assay on larvae of the indicated genotypes. (E) Quantification of the proportion of total hemocytes expressing Lz as revealed by immunofluorescent staining. Each dot represents the proportion of Lz⁺ cells in an individual larva. (F) Chromatin Immunoprecipitation and gPCR performed on tub-Gal4/UAS-3HA (3HA, white) and tub-Gal4/UAS-3HA-enok whole embryos (3HA-Enok, black) using a α -HA antibody. (G) Quantification of the fluorescence intensity of the $lz^{V7059215}$ -Redstinger reporter gene in control and *enok* mutant conditions. Each dot represents the mean fluorescence intensity measured in cells from a single larva. Statistics: (C,G) control genotype was used as a reference sample, (E) w/Y; $lz^{V7059215}$ -Gal4/+ genotype was used as a

25

bioRxiv preprint doi: https://doi.org/10.1101/2020.07.27.222620; this version posted July 28, 2020. The copyright holder for this preprint (which was not certified by peer review) is the author/funder. All rights reserved. No reuse allowed without permission.

Catalytic-independent regulation of hematopoiesis by DmMOZ/Enok

reference sample, (C,E,F,G) **** indicates a p- value ≤ 0.0001 , *** indicates a p-value ≤ 0.0010 , * indicates a p-value ≤ 0.0500 , ns: not significantly different from reference sample.









control	enok ¹ /Df-B155	enok ¹ /Df-B155 ; tub>enok	enok ¹ /Df-B155 ; Notch ^{GMR30101} >enok

A



control enok ¹ /Df-B155		enok KAT/Df-B155
Ing5 ^{ex1}	Eaf6 ^{M26} /Df-B387	Br140 S781/Df-B263
	a (a)	THE DECK

B

A

Proportion of NRE-GFP⁺ cells expressing Lz (%)















D





E

