



HAL
open science

**A journey into the world of transposable elements.
Activation, circular extrachromosomal DNA forms and
impact on the genome: new avenues for understanding the
mechanisms of plant evolution and adaptation.**

Marie Mirouze

► **To cite this version:**

Marie Mirouze. A journey into the world of transposable elements. Activation, circular extrachromosomal DNA forms and impact on the genome: new avenues for understanding the mechanisms of plant evolution and adaptation.. Botanique. Université de Perpignan Via Domitia, 2023. <tel-04873383>

HAL Id: tel-04873383

<https://hal.science/tel-04873383v1>

Submitted on 8 Jan 2025

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.



Distributed under a Creative Commons CC BY-NC-ND 4.0 - Attribution - Non-commercial use - No Derivative Works - International License

L'HABILITATION A DIRIGER DES RECHERCHES

Ecole Doctorale 305

Par Marie Mirouze

Chargée de Recherche
Institut de Recherche pour le Développement

**Voyage dans le monde des éléments transposables.
*Activation, formes extrachromosomiques circulaires et impact sur le
génomome: De nouvelles pistes pour comprendre les mécanismes de
l'évolution et l'adaptation des plantes***

Soutenue le 29 Septembre 2023

Composition du jury :

Dr Pascale LESAGE, DR INSERM, Paris	Rapporteuse
Dr Laurence MARQUÈS, MCF HDR Université de Montpellier	Rapporteuse
Dr Romain GUYOT, DR IRD, Montpellier	Rapporteur
Dr Nathalie PICAULT, MCF HDR Université de Perpignan	Examinatrice
Dr Vincent PARISSI, DR CNRS, Bordeaux	Examineur
Dr Thierry LAGRANGE, DR CNRS, Perpignan	Examineur

UMR5096 CNRS/UPVD Laboratoire Génome et Développement des Plantes

EMR269 MANGO IRD/CNRS/UPVD

Sommaire

Remerciements	p.4
Résumé	p.6
<i>Curriculum vitae</i> détaillé	p.7
<u>I. Synthèse des travaux effectués</u>	p.11
A. Cursus et post-doctorat (2005-2010)	p.12
B. Projets de recherche à l'IRD (2010-2022)	p.17
C. Publications et autres productions scientifiques	p.24
D. Valorisation économique et sociétale	p.25
E. Direction	p.26
E.1. Direction de l'équipe puis de l'EMR269 MANGO	
E.2. Travail en équipe, encadrement et collaborations	
E.3. Capacité de financement	
F. Enseignements et responsabilités administratives	p.28
F.1. Enseignements	
F.2. Participation à l'évaluation et à l'animation scientifique	
<u>II. Projet de recherche et formation</u>	p.30
A. Contexte du projet	p.30
A.1. Historique et définition de l'ADNecc	p.30
A.2. Méthodes de détection des ADNecc	p.31
A.2.1. Méthodes moléculaires de détection des ADNecc	
A.2.2. Méthodes de séquençage des ADNecc	
A.2.3. Méthodes bioinformatiques de détection des ADNecc	
A.3. Origines génomiques des ADNecc	p.34
A.3.1. Séquences des organites qui génèrent des ADNecc	

A.3.2. ADNecc provenant de régions génomiques répétées en tandem	
A.3.3. ADNecc provenant d'éléments transposables	
A.3.4. ADNecc provenant de séquences géniques	
A.4. Devenir et impact des ADNecc	p.37
A.4.1. Héritabilité des ADNecc	
A.4.2. ADNecc et intégration dans le génome	
A.4.3. ADNecc et amplification de gènes	
A.4.4. ADNecc et régulation épigénétique	
A.4.5. ADNecc et réponse au stress	
B. Projet de recherche sur l'impact des ADNecc au laboratoire	p.40
B.1. L'ADNecc comme support de l'amplification génique:	
Un rôle dans l'adaptation rapide aux changements environnementaux?	p.40
B.2. Résultats préliminaires	p.42
C. Projet de recherche sur l'impact des ADNecc <i>in natura</i>	p.45
C.1. Impact des ADNecc dans un agro-système rizicole	p.45
C.2. Impact des ADNecc dans une forêt préservée	p.46
D. Projet de formation	p.48
<u>III. Perspectives</u>	p.49
<u>IV. Liste de publications et communications</u>	p.50
<u>V. Bibliographie</u>	p.56
<u>VI. Annexes</u>	p.61

Remerciements

Je remercie tous les membres de l'équipe MANGO et en particulier Christel Llauro, Marie-Christine Carpentier et Assane Mbodj sans qui ce travail n'aurait pas été possible et les doctorantes talentueuses et motivées avec qui j'ai eu la chance de travailler: Sophie Lanciano, Panpan Zhang et Abirami Soundiramourtty. Merci à tous les membres du LGDP présents et passés qui m'ont accueillie depuis une dizaine d'années dans une ambiance de travail toujours agréable et constructive. Malgré la taille du laboratoire je ne peux les citer tous. Un grand merci notamment à l'équipe administrative Elisabeth Goetschy, Joëlle Vigier et Delphine Lignon pour leur aide précieuse dans les méandres administratifs et spécifiques de nos chères tutelles. Merci également à tous nos visiteurs de quelques semaines ou quelques mois qui nous ont apporté leur vision du monde et leurs modèles d'études au cours de ces années et grâce à qui nous ne sommes jamais isolés: Salvatore Esposito, Bianca Simonassi Raso de Paiva, Olufisayo Kolade, Thais Raquel Hagemann, Maria Estefania Lopez Ortiz, Bhumika Dubay, Alicja Macko-Podgórní, Bence Gaspar, Mamadou Sow, Anne-Laure Le Gac, Adrián Contreras-Garrido.

Je remercie mes collègues de bureau et amis Mathieu Ingouff (à l'IRD) puis Fred Pontvianne (au LGDP) pour des heures de discussion scientifique à bâtons rompus et accessoirement des publications et projets en commun.

Je remercie Christophe Belin et à nouveau Christel Llauro pour leur travail remarquable sur la plateforme Bio-Environnement et le service de séquençage Nanopore, une technologie qui a changé ma façon de voir le génome et les eccDNAs.

Je remercie mes collègues de Genève pour des années mémorables de science et de partage: Jon Reinders, Mireille Tittel-Elmer, Taisuke Nishimura, Etienne Nicolet, Larissa Broger, Natsuko Kinoshita et bien d'autres. Je remercie Paco Cardenas, Etienne Bucher, Philippe Gallusci, Pauline Julien et Angélique Déléris, pour leur collaboration et leur amitié et pour leur passion communicative de la science.

Je remercie mes mentors Michel Lebrun et Jurek Paskowski qui m'ont initiée à la recherche scientifique.

Je remercie le GDR EpiPlant et notamment Guillaume Moissiard ainsi que le GDR Mobil'ET pour les discussions enflammées qu'il provoque autour des éléments transposables et pour faire vivre ce que je crois être la plus grande communauté nationale au monde autour de ces attracteurs étranges.

Je remercie Cristina Vieira, Hadi Quesneville, Laurence Marquès, Nathalie Picault, Pascale Lesage, Vincent Parissi, Romain Guyot et Thierry Lagrange pour avoir accepté de consacrer du temps à lire les travaux relatifs à cette HDR.

Je remercie mes parents, grands-parents, soeur et frère qui m'ont permis d'avoir une enfance heureuse où je me voyais détective privée passionnée de nature, deux centres d'intérêt parfaitement réunis dans le métier de chercheuse.

Enfin je remercie Olivier et Nina (« Regarde maman, une narabidopsis! »).

« I am a firm believer that without speculation there is no good and original observation »

Charles Darwin, Lettre à Wallace, 1857, cité dans « Alfred Russel Wallace, plus darwiniste que Darwin mais moins politiquement correct » par Jean Reisse

« Ce serait vraiment un immense progrès que de diversifier les sujets d'études pour ceux dont l'esprit est d'une autre nature. »

Charles Darwin, Origines - Lettres choisies, 1828-1859

Résumé

Depuis l'époque de Charles Darwin les scientifiques s'intéressent à la mutabilité des espèces c'est à dire leur capacité à évoluer et à s'adapter aux conditions de vie. Avec l'avènement de la recherche en biologie moléculaire et de la génomique plus récemment, les déterminants moléculaires de cette diversité des espèces commencent à être appréciés, sinon compris. Si Darwin ne connaissait pas l'ADN, il aurait certainement été fasciné par la complexité des mécanismes moléculaires à l'origine de cette diversité. Parmi ces mécanismes les plus étudiés ont d'abord été les changements ponctuels de séquence d'ADN ou SNP (*single nucleotide polymorphism*) que le grand public associe aux mutations et aux maladies. Il existe néanmoins une grande diversité de façons de générer de la diversité au niveau génomique: les variations de nombre de copies de gènes, les régulations épigénétiques, les crossing-overs et les mouvements d'éléments transposables sont d'autres façons de générer de la diversité. Dans la boîte à outil de l'évolution, les éléments transposables ont cependant une place à part. Véritables entités génétiques à l'intérieur des génomes, ils sont capables de mouvement, possèdent parfois leur propre machinerie moléculaire et forment une biodiversité intragénomique. Sans intention bénéfique ou maléfique, ils provoquent, par leur mouvement, une fluidité génomique qui est soumise à la sélection naturelle. Cependant les mécanismes contrôlant ces éléments ainsi que leur différentes formes de vie sont encore mal connues.

Au cours de mon post-doctorat je me suis intéressée au contrôle épigénétique de deux de ces éléments transposables : *Evadé* et *Onsen*, rétrotransposons qui sont proches des rétrovirus et existent dans le génome de la plante modèle *Arabidopsis thaliana*. J'ai été tout de suite intriguée par leur forme extrachromosomiques circulaires, cassant le dogme selon lequel la forme d'ADN circulaire était majoritairement liée aux génomes procaryotes. Lors de mon recrutement à l'IRD j'ai bénéficié d'une ANR Jeune Chercheuse qui nous a permis, au sein de l'équipe de recherche, de développer une méthode de séquençage de ces formes circulaires dites eccDNA (*extrachromosomal circular DNA*). Nous avons pu appliquer cette technique à de nombreuses espèces avec succès lors de la thèse du Dr Sophie Lanciano afin de comprendre leur genèse, notamment lors de stress environnementaux et lors du développement chez le riz. Grâce à un financement européen (MCSA) d'une part et à la plateforme Nanopore de l'UPVD d'autre part nous sommes ensuite intéressés à l'impact de ces formes eccDNA sur le génome d'*Arabidopsis thaliana* lors de la thèse du Dr Panpan Zhang. Nous avons fait l'hypothèse que l'activité des éléments transposables perturbait la voie de réparation du génome donnant lieu à des remaniements de type duplication. Enfin plus récemment grâce à une bourse de thèse et un projet BQR de l'UPVD nous avons mis en évidence la présence des eccDNA dans des plantes à longue durée de vie que sont les hêtres, ce qui fait l'objet de la thèse de Mlle Abirami Soundiramourthy. Le projet de recherche conduit au sein de l'équipe MANGO, qui s'intéresse aux mécanismes génomiques de l'adaptation des plantes, propose d'explorer le lien entre la présence des eccDNA et les variations du nombre de copies de gènes. Nous faisons l'hypothèse que l'environnement, lors d'un stress intense qui stimule l'expression des gènes, peut conduire à les fragiliser au niveau génomique et à provoquer leur duplication, par le biais des eccDNA.

Plus de 150 ans après Darwin, la « mutabilité » non pas seulement des espèces mais des génomes, continue de nous fasciner. L'impact des formes libres et circulaires d'ADN sur la diversité du génome reste à explorer mais ouvre des pistes de recherche passionnantes.

MIROUZE Marie

née le 17 Mai 1977 à Toulouse (45 ans), nationalité française, célibataire, un enfant (29.11.2016)

ACTIVITES DE RECHERCHE

- 2022-actuel **Chargée de Recherche IRD, Directrice EMR269 MANGO (Mécanismes d'Adaptation et Génomique)**
Laboratoire Génome et Développement des Plantes (LGDP), Perpignan
- 2020-2022 **Chargée de Recherche IRD, Responsable équipe MANGO**
LGDP, Perpignan
- 2010-2020 **Chargée de Recherche IRD, UMR DIADE**
Equipe Génome du Riz (2014-2020), Responsable Dr. L. Albar
Equipe Régulations Epigénétiques et Développement du Grain (2010-2014),
Responsable Dr. O. Leblanc
- 2006-2010 **Post-doctorat, Université de Genève**
Laboratoire de Génétique Végétale, Pr. J. Paszkowski
- 2004-2005 **A.T.E.R., Université de Montpellier**
Laboratoire de Biochimie & Physiologie Moléculaire des Plantes
- 2001-2004 **Doctorat, Université de Montpellier** (Directeur de thèse Pr. M. Lebrun)
Laboratoire de Biochimie & Physiologie Moléculaire des Plantes

ACTIVITES D'ENSEIGNEMENT

- 2021-actuel **Cours magistraux et TP en Génomique (Master2 EUR TULIP, 6h/an)**, UPVD
- 2019-actuel **Cours magistraux en Epigénétique (Master2, 6h/an)**, Université de Montpellier
- 2012-2018 **Co-responsable du module Master2 « Epigénétique de la Plante »**
Université de Montpellier
- 2006-2010 **Assistante-professeur** (16h/an) Université de Genève
- 2004-2005 **A.T.E.R. en Physiologie Végétale** (96h/an) Université de Montpellier
- 2001-2004 **Monitrice en Physiologie Végétale** (64h/an) Université de Montpellier

FORMATION

- 2005 **Doctorat de Biologie Intégrative** (mention très honorable)
Allocataire Moniteur de Recherche Université de Montpellier
- 2001 **DEA Développement et Adaptation des Plantes** (major) Univ. de Montpellier
- 2000 **Maîtrise de Biologie Cellulaire et Physiologie**
Mention Physiologie végétale (major) Université Paul Sabatier, Toulouse
- 1999 **Licence de Biologie Cellulaire et Physiologie** Univ. Paul Sabatier, Toulouse

ENCADREMENT

- ◆ **Encadrement de doctorants** (en co-supervision)
- 2021-2024: **Abirami Soundiramourthy** (bourse Ecole Doctorale UPVD ED305) Directeur de thèse Olivier Panaud
 - 2018-2022: **Panpan Zhang** (bourse UE H2020 ITN) Directeur de thèse Alain Ghesquière (actuellement en post-doctorat à l'University de Cornell, USA, laboratoire de Cédric Feschotte)
 - 2014-2017: **Sophie Lanciano** (bourse ANR JCJC) Directeur de thèse Alain Ghesquière (actuellement en post-doctorat à l'INSERM, Nice, laboratoire de Gaël Cristofari)

◆ Formation d'étudiants et chercheurs étrangers

- Olufisayo Koalade, post-doctorante nigérienne, IITA Ibadan, en accueil pour 3 mois (2016 et 2017) dans le cadre d'une bourse « AWARD »
- Thais Raquel Hagemann, doctorante brésilienne, en accueil pour 1 an (2014)
- Maria Estefania Lopez Ortiz, doctorante équatorienne du programme MCSA ITN « *EpiDiverse* », en accueil pour 1 mois (2019)
- Bhumika Dubay, doctorante indienne du programme MCSA ITN « *EpiDiverse* » en accueil pour 5 semaines (2020)
- Assane MBODJ, étudiant sénégalais en accueil pour un stage de M2 de 6 mois (2021), puis IE (2022-)

◆ Encadrement d'étudiants (* en co-supervision)

EUR TULIP: tutrice d'un « Junior Lab » en 2021-2022 Axelle COsta, Jade HARGOUS, Aurore Sureau, Fabio Croce (avec Fred Pontvianne CNRS LGPD, Thierry Noguer, UPVD)

Master: Nicolas Arnaud (M1, 2003), Jane Devos (M1, 2012), Sophie Lanciano (M2, 2014) ;

Licence: Maximilian Becker (L3, 2007), Amaury Jacquier* (L3, 2004), Laurie Vuillet* (L3, 2003)

Technicien: Romain Gilodi* (6 mois, 2009)

BTS: Cédric Pasquette* (5 mois, 2014, 2015)

◆ Jurys de thèse (examinatrice)

1) **Moaine Elbaidouri**, Université de Perpignan via Domitia/LGDP (7 Décembre 2012)

Les éléments transposables chez les plantes : impact sur la dynamique et l'évolution des génomes (Directeur de thèse Pr Olivier Panaud)

2) **Alice Lunardon**, Université de Padoue, Italie (9 avril 2014)

Examining the influence of the endogenous small RNAs on gene expression and genome stability in the maize leaf (Directeur de thèse Pr Serena Varotto)

3) **Paulina Martinez Palacios** Université de Paris-Sud (28 Mars 2014)

*Réponse des composants non codants du génome -éléments transposables et petits ARNs- à un événement allopolyploïde : le génome du colza (*Brassica napus*) comme modèle d'étude.* (Directeur de thèse Dr Karine Alix)

4) **Mélanie Rigal**, Université de Clermont-Ferrand/GRED (10 Octobre 2014)

*Etude de la stabilité de la méthylation ADN chez *Arabidopsis thaliana* et impact sur la transcription* (Directeur de thèse Dr Olivier Mathieu)

5) **David Roquis**, Université de Perpignan via Domitia/2EI (8 Décembre 2015)

*Contribution de l'épigénétique dans les Dauermodifikationen et l'évolution adaptative chez le paprasite humain *Schistosoma mansoni* et le corail tropical *Pocillopora damicornis*.* (Directeur de thèse Pr Christoph Grunau)

6) **Junhua Kong**, Université de Bordeaux (25 Juin 2019) *Analyse des variations du méthylome et rôle au cours du mûrissement du raisin* (Directeur de thèse Pr Philippe Gallusci)

7) **Martin Leduc**, Université d'Angers (5 Décembre 2022) *Étude de l'évolution des gènes dupliqués chez les Rosaceae* (Directeur de thèse Pr Claudine Landès)

8) **Thales Robeiro**, Universidade Federal de Lavras, Brésil (30 Janvier 2023) *Gene regulatory networks: co-expression modules of protein coding genes and small RNAs governing essential biological processes in *Coffea arabica* L.* (Directeur de thèse Dr Antonio Chalfun)

◆ Comités de suivi de thèse

1) **Elaine Dias**, Sao Paulo State University, IRD (2012, 2014)

2) **Maxime Auzon-Cape**, Université de Clermont-Ferrand, GRED (2014, 2015, 2016)

3) **Mathilde Dupeyron**, Université de Montpellier, IRD (2015)

4) **Ruie Liu**, Université de Bordeaux/INRA (2015)

5) **Marianne Barouk** Université de Montpellier/IGH (2015)

6) **Kay Gully** Université d'Angers/IGH (2016)

7) **Sébastien De La Forest Dimonne**, Université de Montpellier (2022)

◆ Jurys de Master

Master Biologie Fonctionnelle des Plantes, Université de Montpellier, 2012 et 2014 (*rapporteur M1*)

◆ Participation aux journées des doctorants

Ecole Doctorale UPVD, présentation des activités de l'IRD (2015)

Ecole Doctorale de Nice, conférence invitée par les doctorants (2015)

PRODUCTION SCIENTIFIQUE

◆ 33 publications dont 28 articles dans des revues à comité de lecture (Publons: h index 19 ; 2799 citations, \$ auteur correspondant):

2021: **Methods Mol Biol.** 2250:87-93 Lanciano S, Zhang P, Llauro C, **Mirouze M\$**.

2019: **Nature Genetics** 51(5):877-884 Bertoli DJ, .. **Mirouze M**, et al. (259 citations)

2018: **Adv. Bot. Research** 88:361-386 Oltehua-Lopez O,..**Mirouze M**, Arteaga-Vazquez M.,

2017: **PLoS Genetics**, 13 (2), e1006630 (2017) Lanciano S, .., **Mirouze M\$** (90 citations)

2012: **Proc Natl Acad Sci U S A**, 109:5880-5 **Mirouze M**, et al. (179 citations)

2011: **Nature**, 472:115-9 Ito H, Gaubert H, Bucher E, **Mirouze M**, et al. (552 citations)

2009: **Nature** 461:427-30 **Mirouze M**, et al., (322 citations)

◆ Co-édition: 1 livre avec Dr E. Bucher et Pr Ph. Gallusci « *Plant Epigenetics Coming of Age for Breeding Applications* » in *Advances in Botanical Research*, Vol 88 (2018)

◆ Articles en co-auteur avec les doctorantes encadrées:

4 articles avec Panpan Zhang (2018-2022)

1) **Zhang P**, Assane Mbodj, Abirami Soundiramourty, Christel Llauro, Alain Ghesquière, Mathieu Ingouff, R. Keith Slotkin, Frédéric Pontvianne, Marco Catoni, **Mirouze M**. *Extrachromosomal circular DNA and structural variants highlight genome instability in Arabidopsis epigenetic mutants.* **Nature Communications (sous presse)**

2) Nunn A, Rodríguez-Arévalo I, Tandukar Z, Frels K, Contreras-Garrido A, Carbonell-Bejerano P, **Zhang P**, Ramos Cruz D, Jandrasits K, Lanz C, Brusa A, **Mirouze M**, Dorn K, Galbraith DW, Jarvis BA, Sedbrook JC, Wyse DL, Otto C, Langenberger D, Stadler PF, Weigel D, Marks MD, Anderson JA, Becker C, Chopra R. (2022) *Chromosome-level *Thlaspi arvense* genome provides new tools for translational research and for a newly domesticated cash cover crop of the cooler climates.* **Plant Biotechnology Journal** 20(5):944-963. <https://doi.org/10.1111/pbi.13775>

3) **Zhang P**, Haoran P, Llauro C, Bucher E, **Mirouze M** (2021) *Ecc_finder: a robust and accurate tool for detecting extrachromosomal circular DNA (eccDNA) from sequencing data.* **Frontiers in Plant Science** 12:743742. <http://doi.org/10.3389/fpls.2021.743742>

4) Picart-Piccolo A, Grob S, Picault N, Franek M, Llauro C, Halter T, Maier TR, Jobet E, Descombin J, **Zhang P**, Paramasivan V, Baum T, Navarro L, Dvořáčková M, **Mirouze M**, Pontvianne F. (2020) *Large tandem duplications affect gene expression, 3D organization, and plant-pathogen response.* **Genome Research** 30(11):1583-1592. <https://doi.org/10.1101/gr.261586.120>

8 articles avec Sophie Lanciano (2017-2021)

1) Sow MD, Le Gac AL, Fichot R, **Lanciano S**, Delaunay A, Le Jan I, Lesage-Descauses MC, Citerne S, Caius J, Brunaud V, Soubigou-Taconnat L, Cochard H, Segura V, Chaparro C, Grunau C, Daviaud C, Tost J, Brignolas F, Strauss SH, **Mirouze M**, Maury S. (2021) *RNAi suppression of DNA methylation affects the drought stress response and genome integrity in transgenic poplar.* **New Phytologist** 232:80-97. <https://doi.org/10.1111/nph.17555>

2) **Lanciano S**, Zhang P, Llauro C, **Mirouze M**. (2021) *Identification of Extrachromosomal Circular Forms of Active Transposable Elements Using Mobilome-Seq.* **Methods Molecular Biology** 2250:87-93. https://doi.org/10.1007/978-1-0716-1134-0_7

3) Bertoli DJ, .., **Lanciano S**, .. **Mirouze M**,... Schmutz J. (2019) *The genome sequence of segmental allotetraploid peanut *Arachis hypogaea*.* **Nature Genetics** 51(5):877-884. <https://doi.org/10.1038/s41588-019-0405-z>

- 4) **Lanciano S, Mirouze M.** (2018) *Transposable elements: all mobile, all different, some stress responsive, some adaptive?* **Current Opinion in Genetics and Development**. 49:106-114 (REVUE) <https://doi.org/10.1016/j.gde.2018.04.002>
- 5) Poirier EZ, Goic B, Tomé-Poderti L, Frangeul L, Boussier J, Gausson V, Blanc H, Vallet T, Loyd H, Levi LI, **Lanciano S**, Baron C, Merklings SH, Lambrechts L, **Mirouze M**, Carpenter S, Vignuzzi M, Saleh MC. (2018) Dicer-2-Dependent Generation of Viral DNA from Defective Genomes of RNA Viruses Modulates Antiviral Immunity in Insects. **Cell Host Microbe**. 23(3):353-365.e8. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2018.02.001>
- 6) Thieme M, **Lanciano S**, Balzergue S, Daccord N, **Mirouze M**, Bucher E. (2017) *Inhibition of RNA polymerase II allows controlled mobilisation of retrotransposons for plant breeding.* **Genome Biology**. 18(1):134 <https://doi.org/10.1186/s13059-017-1265-4>
- 7) **Lanciano S, Mirouze M.** (2017) *DNA methylation in rice and relevance for breeding.* **Epigenomes** 1(2),10 (REVUE) <https://doi.org/10.3390/epigenomes1020010>
- 8) **Lanciano S**, Carpentier MC, Llauro C, Jobet E, Robakowska-Hyzorek D, Lasserre E, Ghesquière A, Panaud O, **Mirouze M.** (2017) *Sequencing the extrachromosomal circular mobilome reveals retrotransposon activity in plants.* **PLoS Genetics**. 13(2):e1006630. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1006630>

2 articles avec Salvatore Esposito (en accueil dans l'équipe pour un an (2017-2018))

- 1) **Esposito S**, Barteri F, Casacuberta J, **Mirouze M**, Carputo D, Aversano R. (2019) *LTR-TEs abundance, timing and mobility in Solanum commersonii and S. tuberosum genomes following cold-stress conditions.* **Planta**. 250(5):1781-1787. <https://doi.org/10.1007/s00425-019-03283-3>
- 2) **Esposito S**, Aversano R, D'Amelia V, Villano C, Alioto D, **Mirouze M**, Carputo D. *Dicer-like and RNA-dependent RNA polymerase gene family identification and annotation in the cultivated Solanum tuberosum and its wild relative S. commersonii.* **Planta**. 248(3):729-743 <https://doi.org/10.1007/s00425-018-2937-3>

EXPERTISE SCIENTIFIQUE ET RESPONSABILITES

- ◆ **Comité d'Evaluation Scientifique de l'ANR CE20 «Biologie des animaux, organismes photosynthétiques et micro-organismes»**: présidente (2022)
- ◆ **Comité d'Evaluation Scientifique de l'ANR CE02 «Terre Vivante»**: membre (2019) et vice-présidente (2020, 2021)
- ◆ **Plateforme UPVD « Bio-Environnement »**: Responsable scientifique du service de séquençage en lectures longues (2020-)
- ◆ **Comité scientifique du projet DATASHARE** (SFB, Région Occitanie): membre depuis 2022
- ◆ **Comité de Pilotage du projet « Défi-clé » de la région Occitanie BIODIVOC**: membre depuis 2020
- ◆ **Conseil Scientifique du Labex TULIP Toulouse**: membre nommée depuis 2020
- ◆ **Expertise pour des projets de recherche** depuis 2014 (**ANR, NSF, FNS, DFG**, etc)
- ◆ **Expertise pour 22 journaux** depuis 2006 (*Science, Nature, Nature Communications, PNAS, Genes and Dev., The Plant Cell, Trends in Plant Science, Current Opinion Plant Biology*, etc..)
- ◆ **Co-organisation de congrès**: New Phytologist Symposium, «**Epigenetics in Ecology**», Vienne, Autriche 2017
- ◆ **Comité scientifique: Congrès international EpiPlant** (GDR Epigénétique végétale), Banyuls Juin 2022; Congrès international de Génomique Fonctionnelle du Riz **ISRFG2016**, Montpellier; Congrès National **GDR Eléments transposables**, Montpellier, 2013, Journées DIADE 2011

FINANCEMENTS

2023-2025	IRD bourse AARTS (36 mois, projet France/Mali, 100k€), porteuse
2022-2025	ANR PRCI « CropCircle » (48 mois, 354 k€, projet France/Suisse), porteuse
2020-2021	Campus France ORCHID avec Taiwan (24 mois, 10 k€), porteuse de projet
2017-2021	H2020-MSCA-ITN « EpiDiverse » (48 mois, 3.8M€), partenaire (262 k€)
2014-2017	ANR JCJC « ExtraChrom » (48 mois, 220 k€), porteuse de projet
2013-2014	Fondation Agropolis « RetroCrop » (18 mois, 21 k€), porteuse de projet

2006-2014 Participation aux projets européens (partenaire): AENEAS *Acquired Environmental Epigenetics Advances: from Arabidopsis to maize* (FP7-226477), RECBREED *Recombination an old and new tool for plant breeding* (FP7-227190), TAGIP *Targeted Gene Integration in Plants* (FP6-018785)

2001-2004 Bourse de thèse du ministère et monitorat

COMMUNICATION ET SCIENCE PARTICIPATIVE

- ◊ **Animation d'une soirée Ciné-Débat UPVD/Méga-Castillet** (Décembre 2022) autour du film « Mission Régénération » sur les sols et le changement climatique (avec M. Aubert et C. Bertrand, UPVD)
- ◊ **Animation d'une soirée Café-Conférence UPVDoc** (2018) Café de la Paix, Perpignan : « *Peut-on changer notre ADN ? CRISPR/CAS : histoire et enjeux éthiques d'une découverte révolutionnaire* »
- ◊ « **Science au lycée** »: projet chaque année monté avec une classe du lycée Arago (Perpignan, Mme MALLOL, environ 10h/an), avec le soutien technique de Christel LLAURO (AI CNRS, LGDP)
- ◊ Mise en place d'un **atelier à la Fête de la Science** (UPVD) autour de « l'ADN dans tous ses états » (préparé avec Fred Pontvianne, CNRS, LGDP) 2016-2021
- ◊ **Interviews pour les médias:** (1) Pour la revue « *Epsilon* »: une interview en 2021 pour un article consacré à la génomique des arbres et qui met en lumière un article dont je suis co-auteur sur la régulation épigénétique chez le peuplier en condition de stress hydrique (Sow et al., *New Phytol*, 2021, <https://doi.org/10.1111/nph.17555>) associé à une courte vidéo, et un article en 2022 consacré aux éléments transposables (« *De l'importance des éléments transposables dans l'Evolution* ») <https://www.epsilon.com/>; (2) Pour la revue « *The Scientist* » interview pour un article sur les éléments transposables (Janvier 2022, Issue 2, *Adapting with a Little Help from Jumping Genes*, https://www.the-scientist.com/features/adapting-with-a-little-help-from-jumping-genes-69566?_ga=2.20356088.1716991105.1658918700-1404026565.1657144203).

CONFERENCES INVITEES DANS DES CONGRES INTERNATIONAUX

- 2022 **Colloque international du programme PhD** au Gregor Mendel Institute, Vienne, Autriche
- 2021 Colloque international du programme COST « Epi-Catch » "*EPIgenetic mechanisms of Crop Adaptation To Climate change*". <https://www.epicatch.eu/conference/>
- 2015 **Keystone Symposium, RNA silencing in Plants**, Colorado, USA
- 2ème congrès **Plant Genome Dynamics**, Barcelone, Espagne
- 2014 Workshop Collegium Helveticum **Collège de France**, Rome, Italie
- 13ème congrès de la **Fédération italienne des Sciences de la Vie**, Pise, Italie
- 2013 Society for Experimental Biology's Meeting, Valence, Espagne
- 2011 CNRS Conference Jacques Monod, Roscoff, France
- 2010 19th Plant Molecular and Cell Biology Conference, Les Diablerets, Suisse

LANGUES

Anglais: courant; Espagnol: notions

I. Synthèse des travaux effectués

◊ A - Cours et post-doctorat (2005-2010)

Mon parcours a débuté de façon classique avec une thèse soutenue en 2005 à l'Université de Montpellier, en Biologie Intégrative et portant sur la caractérisation moléculaire des déterminants de la tolérance aux métaux chez la plante hyperaccumulatrice de zinc *Arabidopsis halleri*. Ce travail a été effectué au Laboratoire de Biochimie et Physiologie Moléculaire des Plantes, sous la direction du Pr. Michel Lebrun. Mes résultats ont permis d'identifier un nouveau rôle des défensines de plantes et ont été publiés dans la revue **Plant Journal**. Cet article est toujours cité (Mirouze et al 2006) et a ouvert une nouvelle piste de recherche dans l'équipe, toujours en cours à ce jour.

Suite à mon doctorat j'ai ensuite choisi de m'orienter vers l'épigénétique, une discipline qui émergeait tout juste à l'époque. J'ai réalisé mon post-doctorat dans le laboratoire d'épigénétique végétale du Pr. Paszkowski à l'Université de Genève, pendant 4 années. Cette étape importante de mon parcours m'a permis d'être immergée dans la recherche internationale et de participer à plusieurs projets européens. Le projet européen par lequel j'étais financée consistait à mieux comprendre le *gene targeting* ou insertion ciblée de séquence dans un génome végétal par une approche de transgénèse. C'était avant la révolution CRISPR, et le sujet occupait de nombreux laboratoires dans le monde. J'ai proposé d'étudier le rôle de la méthylation de l'ADN (voir **Figure 1** pour un modèle de méthylation de l'ADN chez les plantes) dans le *gene targeting*. En parallèle de ce projet j'ai participé à la caractérisation du méthylome de trois lignées d'une population de plantes d'*Arabidopsis thaliana* appelées epiRILs pour « *epigenetics recipiant inbred lines* » développées par mon collègue Jon Reinders. Ces lignées étaient issues d'un croisement entre une plante sauvage et une plante ayant un méthylome altéré car mutante pour l'enzyme assurant le maintien de la méthylation de l'ADN au cours de la réplication de l'ADN (enzyme MET1 pour METHYLTRANSFERASE 1). L'allèle mutant nul *met1-3* utilisé pour établir la population d'epiRILs avait d'ailleurs été identifié précédemment dans le

laboratoire par un doctorant (Hidetoshi Saze) lors d'un crible génétique (Saze, Scheid & Paszkowski 2003). L'hypothèse derrière l'étude des epiRILs était alors que ces lignées,

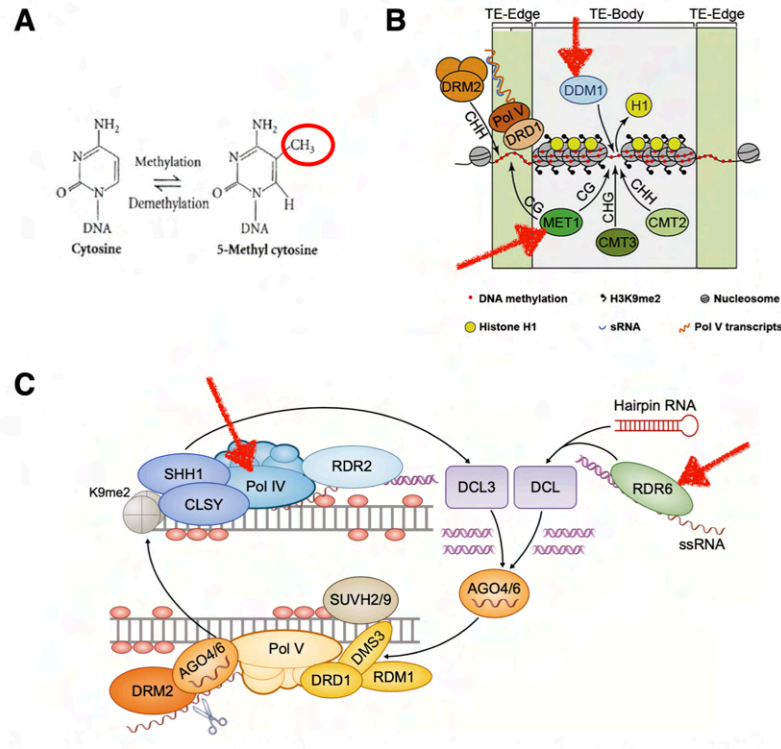


Figure 1. Modèle de méthylation de l'ADN chez les plantes. A. La méthylation de l'ADN consiste en un ajout de groupement méthyle sur les cytosines en position 5. **B.** Des remodeleurs de nucléosomes de la famille DDM1/Lsh sont nécessaires à la méthylation de l'ADN des éléments transposables, par le biais de la déposition d'histones H2AW. DDM1 permettrait aux méthyltransférases à ADN d'accéder à l'hétérochromatine pour permettre une inactivation stable des éléments transposables en coopération avec la voie RdDM. Modifié d'après Zemach et al., Cell 2013. **C.** La voie canonique de méthylation de l'ADN dirigée par l'ARN (RdDM). Les transcrits de l'ARN polymérase IV (Pol IV) sont convertis en ARN double brin par l'ARN POLYMÉRASE 2 DÉPENDANTE DE L'ARN (RDR2) et coupés en ARN interférents courts de 24 nt (siRNA) par DICER-LIKE 3 (DCL3). Ces siARN sont incorporés dans ARGONAUTE 4 (AGO4) et AGO6, qui interagissent avec Pol V et déclenchent le recrutement de l'ADN méthyltransférase DOMAINS REARRANGED METHYLTRANSFERASE 2 (DRM2). Le lecteur d'histone SAWADEE HOMEODOMAIN HOMOLOG 1 (SHH1) et les remodeleurs putatifs de chromatine CLASSY (CLSY) sont nécessaires pour l'association de Pol IV à la chromatine. Les lecteurs de méthylation SU(VAR) 3-9 homologues 2 (SUVH2) et SUVH9, ainsi que le complexe DDR – DEFECTIVE IN MERISTEM SILENCING 3 (DMS3), DEFECTIVE IN RdDM (DRD1) et RNA-DIRECTED DNA METHYLATION 1 (RDM1) – sont nécessaires au recrutement de Pol V à la chromatine. Les ARN d'origines différentes, comme les virus et les transcrits dépendants de Pol II, peuvent servir de points d'entrée pour la génération de petits ARN destinés à alimenter le RdDM non canonique. Les exemples représentent des ARN en épingle à cheveux, ainsi que des ARN simple brin convertis en double brin par RDR6. Ces ARN sont coupés par différentes protéines DCL en petits ARN de 21 à 24 nt qui peuvent être pris en charge par AGO4/AGO6. Les ciseaux indiquent le découpage de l'ARN par les protéines AGO. Les ovales rouges représentent les cytosines méthylées. Modifié d'après Gallego-Bartolomé, New Phytologist, 2020. Les flèches rouges indiquent les voies qui seront importantes pour notre étude, dans la suite du manuscrit.

après auto-fécondation et en présence du gène sauvage pour MET1, auraient des méthylomes mosaïque, avec certains blocs méthylés comme le parent sauvage et d'autres

hypométhylés comme le parent mutant (**Figure 2**). L'objectif final était d'identifier des épiallèles, ou allèles n'ayant pour variation qu'un changement de méthylation (et non un changement de séquence). Grâce à ce projet je touchais pour la première fois la génomique, alors balbutiante (technique de *tiling array* à partir d'ADN traité au bisulfite et permettant de déduire le méthylome). Les analyses de ces méthylomes mosaïque ont permis de montrer que la méthylation de l'ADN était héritée non seulement en « *cis* » (par

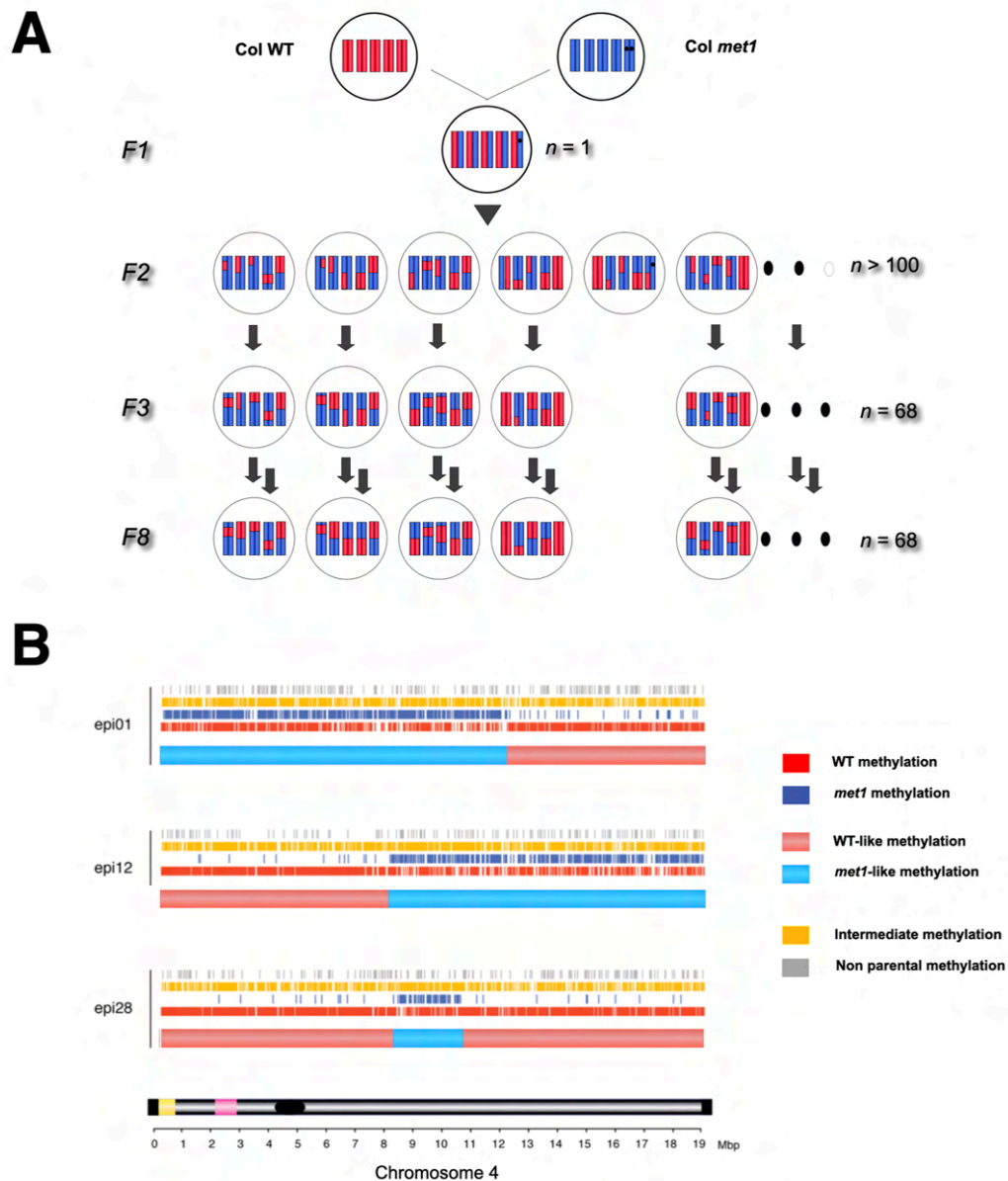


Figure 2. Population de lignées recombinantes épigénétiques epiRILs à partir du mutant *met1* d'*Arabidopsis thaliana*. A. Construction de la population epiRIL, illustrée par une paire de chromosomes. Les chromosomes parentaux et leurs segments sont marqués de type sauvage (rouge) et *met1-3* (bleu). Huit générations de consanguinité (verticales) sont marquées de F2 à F8. B. Cartographie épigénomique des polymorphismes de méthylation de l'ADN. Distribution des signaux le long du chromosome 4 pour chacun des trois epiRIL et une carte simplifiée du chromosome 4 indiquant le centromère (noir), le knob hétérochromatique (rose) et la région organisatrice du nucléole (jaune) (distances en Mbp indiquées au bas). Les signaux d'hybridation sont codés par couleur comme indiqué à droite. D'après Reinders et al, Genome Res. 2009.

copie de l'information de méthylation lors de la réplication de l'ADN) mais aussi en « *trans* » par le biais de la voie de la méthylation guidée par les petits ARNs ou RdDM (*RNA directed DNA methylation*). Ces résultats ont donné lieu à une publication dans la revue **Genes and Development** (Reinders et al 2008) qui a eu un impact assez important. Des résultats semblables ont été obtenus par l'étude d'une population d'epiRILs établie de façon indépendante dans le laboratoire de Vincent Colot (ENS, Paris), en utilisant un autre mutant source d'hypométhylation (le mutant *ddm1*, nous y reviendrons).

Mes expériences sur le *gene targeting* n'ont pas permis d'établir un rôle de la méthylation dans ce processus, et n'ont jamais été publiées, malgré l'obtention et l'analyse de près de 3 millions de plantes transgéniques. Lors de cette étude de grande ampleur, j'ai néanmoins remarqué qu'environ 6% des plantes d'une même lignée epiRIL (epi12) présentaient un phénotype développemental marqué: absence de pétale et stérilité mâle (**Figure 3**).

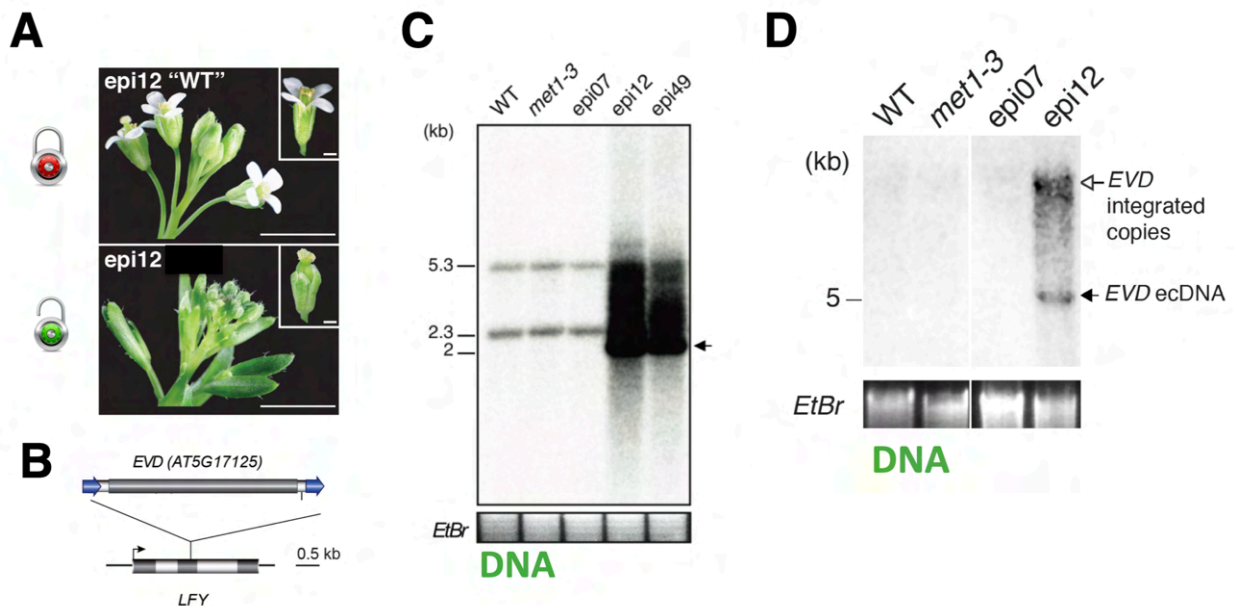


Figure 3. Evadé, un exemple de rétrotransposon à LTR chez *Arabidopsis thaliana* contrôlé par la méthylation de l'ADN. **A.** Phénotype '*superwoman*' dans epi12. Les inflorescences epi12 WT (en haut) et *superwoman* (en bas) et les fleurs agrandies sont présentées. **B.** La structures des loci *LFY* et *EVD* sont représentées comme suit: cases grises, blanches et flèches bleues pour les exons, les introns, et les LTR, respectivement. **C.** Analyse par Southern blot sur ADN génomique digéré et hybridé avec la sonde *EVD*. Epi07, epi12 et epi49 (génération F8) sont comparés aux parents WT et *met1-3*. La flèche indique respectivement les fragments extrachromosomiques. Le gel coloré au bromure d'éthidium (EtBr) est présenté comme contrôle de chargement. **D.** Analyse par Southern blot sur ADN génomique non digéré avec la sonde *EVD*. Epi07 et epi12 sont comparés aux parents WT et *met1-3* (adapté d'après Mirouze, Reinders et al. Nature 2009).

Ces plantes mutantes appelées « *superwoman* » avec mon collègue Jon Reinders ont été rétro-croisées avec le parent sauvage et le caractère monocus et récessif de la mutation a pu être établi. Grâce à mon collègue Taisuke Nishimura, expert en développement floral, des gènes candidats ont été examinés et Jon et moi avons trouvé une insertion d'un rétrotransposon à LTR (*long terminal repeat*) dans le gène *LEAFY*, à l'origine du phénotype « *superwoman* ». L'analyse d'autres lignées epiRILs a confirmé que ce rétrotransposon était actif et à l'origine de nouvelles insertions, après plusieurs générations d'auto-fécondation des epiRILs, mais uniquement lorsque son locus était méthylé. Nous avons nommé ce rétrotransposon « *Evadé* » car il avait échappé au contrôle épigénétique dans cette population.

Indépendamment, le laboratoire du Pr Tetsuji Kakutani avait mis en évidence des variations du nombre de copies d'éléments transposables dans des lignées de mutants *ddm1*, eux aussi hypométhylés. Le Pr Kakutani avait lui-même contribué à identifier, des années auparavant, le mutant *ddm1* (*decrease DNA methylation 1*) lors d'un crible génétique pour la perte de méthylation au niveau des centromères d'*Arabidopsis thaliana* (crible effectué par Southern blot) (Vongs et al 1993). Il avait également observé que des phénotypes développementaux apparaissaient dans les mutants *ddm1* ainsi que dans des lignées issues de croisement entre *ddm1* et des plantes sauvages, au cours des générations. Ces phénotypes pouvaient être attribués à des épiallèles ou à des néo-insertions d'éléments transposables. Le Pr Kakutani avait d'ailleurs montré dès 2001 qu'un élément transposable de type II (transposon à ADN) et nommé *CACTA* était actif dans *ddm1* et avait conduit au phénotype « *clm* » pour *clam* (Miura et al 2001). Cependant l'activité des rétrotransposons dans les mutants hypométhylés n'était pas encore connue. En échangeant nos résultats non publiés avec le Pr Kakutani, il est apparu que le rétrotransposon le plus actif à la fois dans nos epiRILs et dans son mutant *ddm1* était bien *Evadé*. J'ai contribué, avec le Pr Kakutani, à coordonner l'avancée de nos deux manuscrits avant publication. Notre découverte du contrôle épigénétique d'*Evadé* a été publiée dans la revue **Nature** (Mirouze et al 2009), conjointement avec l'article du Pr Kakutani. Cet intérêt pour les éléments transposables ne m'a, dès lors, pas quittée.

Deux autres articles issus de mon travail de post-doctorat ont été valorisés après mon recrutement à l'IRD: un article dans la revue **Nature** (Ito et al 2011) sur un autre élément transposable appelé *Onsen* et activé par la chaleur (**Figure 4**), pour lequel j'ai développé des tests d'activation spécifiques (*transposon display*) et des tests permettant l'analyse d'ADN extrachromosomique circulaire (voir projet).

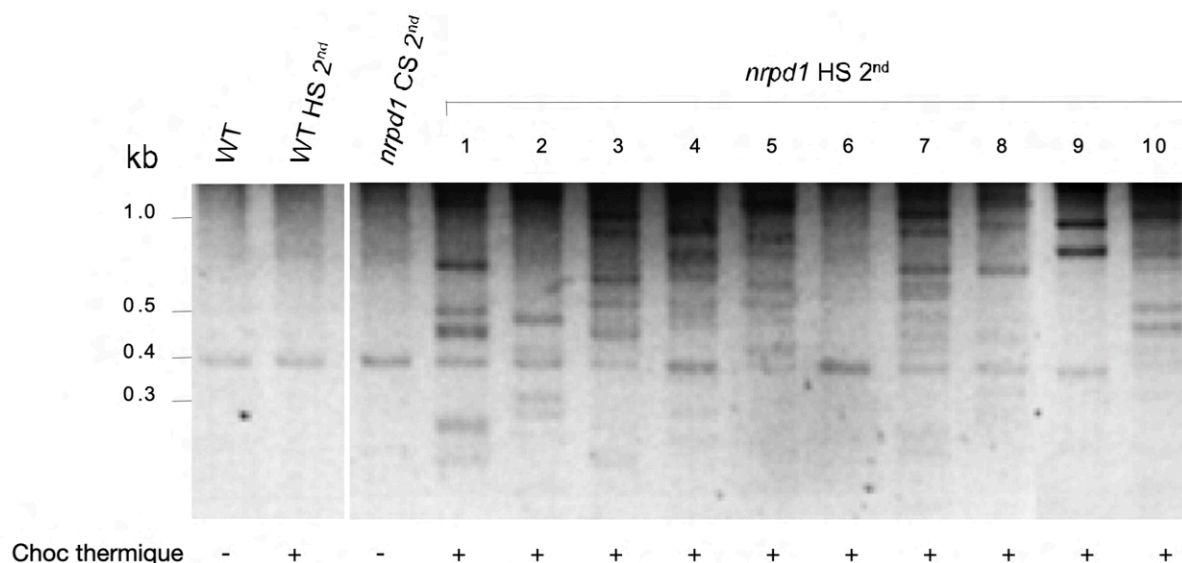


Figure 4. *Onsen*, un exemple de rétrotransposon à LTR chez *Arabidopsis thaliana* contrôlé par la voie RdDM et la chaleur. Transposon display montrant la mobilisation de Onset dans des plantules mutantes pour la voie RdDM (*nrpd1* ou mutant *pollV*) et soumises à un choc thermique (HS) ou non (CS) comparée à des plantules WT ayant subi les mêmes traitements. La présence de bandes supplémentaires indique une activité de rétrotransposition. (adapté d'après Ito et al., Nature, 2012).

Enfin lors d'un deuxième projet européen finançant la deuxième partie de mon post-doctorat, j'ai étudié l'impact de la méthylation de l'ADN cette fois sur la recombinaison méiotique, en effectuant des croisements entre plantes sauvages d'un écotype Landsberg et plantes sauvages ou epiRILs de l'écotype Columbia-0. La variabilité naturelle entre ces deux écotypes m'a permis de dessiner des marqueurs génétiques pour analyser la fréquence de recombinaison et donc la distance génétique, en comparant les plantes issues de parents méthylés ou altérés dans leur méthylome (epiRILs). Cette étude a été finalisée par ma collègue Michal Liebermann, co-première auteure. Nous avons pu montrer que l'effet de la perte de méthylation était différent selon la position dans le chromosome (proche de l'hétérochromatine du centromere ou non), démontrant un système complexe de régulation. Ces résultats ont été publiés dans la revue **Proceedings National Academy of Science** (Mirouze et al 2012).

◆ B - Projets de recherche à l'IRD (2010-2022)

J'ai été recrutée à l'IRD fin 2010 en tant que Chargée de Recherche 2ème classe, afin de mener une recherche fondamentale sur les régulations épigénétiques et le contrôle des éléments transposables chez les plantes. Mes modèles d'étude ont évolué

L'ADN extrachromosomique, un compartiment méconnu du génome eucaryote

La présence d'ADN circulaire extrachromosomique (ADNecc ou eccDNA en anglais) est connue depuis des décennies dans les cellules eucaryotes, notamment chez la levure, la drosophile, les nématodes, les plantes et les mammifères. Cependant, ce n'est que récemment que cette fraction du matériel génétique cellulaire a retenu l'attention grâce au développement d'approches spécifiques de séquençage permettant sa caractérisation. L'ADNecc est ubiquitaire dans les cellules eucaryotes où il est issu de la recombinaison homologue entre copies en tandem (par exemple ADN ribosomal ou ADN télomérique) ou entre séquences présentant des micro-homologies. L'ADNecc peut également être formé à partir de la circularisation de l'ADN linéaire extrachromosomique issu d'éléments transposables actifs, par recombinaison homologue (*Homologous Recombination*, HR) ou par jonction d'extrémités non homologues (*Non Homologous End Joining*, NHEJ). Les ADNecc sont associés à l'apoptose dans les cellules de mammifères. Dans les cellules cancéreuses, les ADNecc sont abondants et peuvent provenir de la chromothripsis, un événement massif et catastrophique de réarrangement du génome. Dans ces cellules, ils sont associés à l'amplification génique et contribuent à l'évolution tumorale (Turner et al., 2017). Le rôle adaptatif de l'ADNecc a également été démontré chez les plantes où les gènes sous forme d'ADNecc peuvent contribuer à la résistance aux herbicides chez plusieurs espèces de plantes adventives (Koo et al., 2018). Malgré la littérature croissante sur l'ADNecc, son impact sur le génome est peu documenté. En effet, le faible nombre d'ADNecc bien documentés à ce jour n'a pas encore permis une analyse approfondie de l'impact de l'ADNecc sur les variants structuraux à l'échelle du génome. Le projet de recherche proposé pour l'Habilitation à Diriger les Recherches propose d'adresser ces questions chez les plantes.

depuis *Arabidopsis thaliana* (plante modèle sans intérêt agronomique mais sur laquelle j'avais fait mon post-doctorat) vers le maïs puis le riz. Plus récemment j'ai ancré mes activités de recherche au niveau local en travaillant notamment sur une forêt locale témoin de la biodiversité, la forêt de la Massane (voir projet). J'ai également fait évoluer mes compétences, de la biologie moléculaire et la génétique classique vers la génomique et la bioinformatique. Dans ces différents projets, le fil conducteur reste la compréhension des sources génomiques de la variation naturelle qui permet l'adaptation rapide des plantes au changement climatique.

Les éléments transposables (ET) sont des éléments génétiques capables de changer de position dans le génome en particulier suite à des stress (Lanciano & Cristofari 2020, Mhiri, Borges & Grandbastien 2022, Venner, Feschotte & Biemont 2009). Ils sont parfois appelés « gènes sauteurs » et la conséquence de leur mouvement peut être double en fonction de leur site d'insertion: mutation (par insertion dans la partie codante

d'un gène) ou modification de la régulation des gènes (par insertion dans le promoteur d'un gène par exemple). Les ET constituent la majeure partie de la plupart des génomes eucaryotes, ils composent notamment 40% du génome du riz et 85% de celui du maïs. En conditions normales les ET sont contrôlés par des mécanismes épigénétiques qui les maintiennent silencieux (Liu et al 2022). Cependant ils sont réactivés au cours du

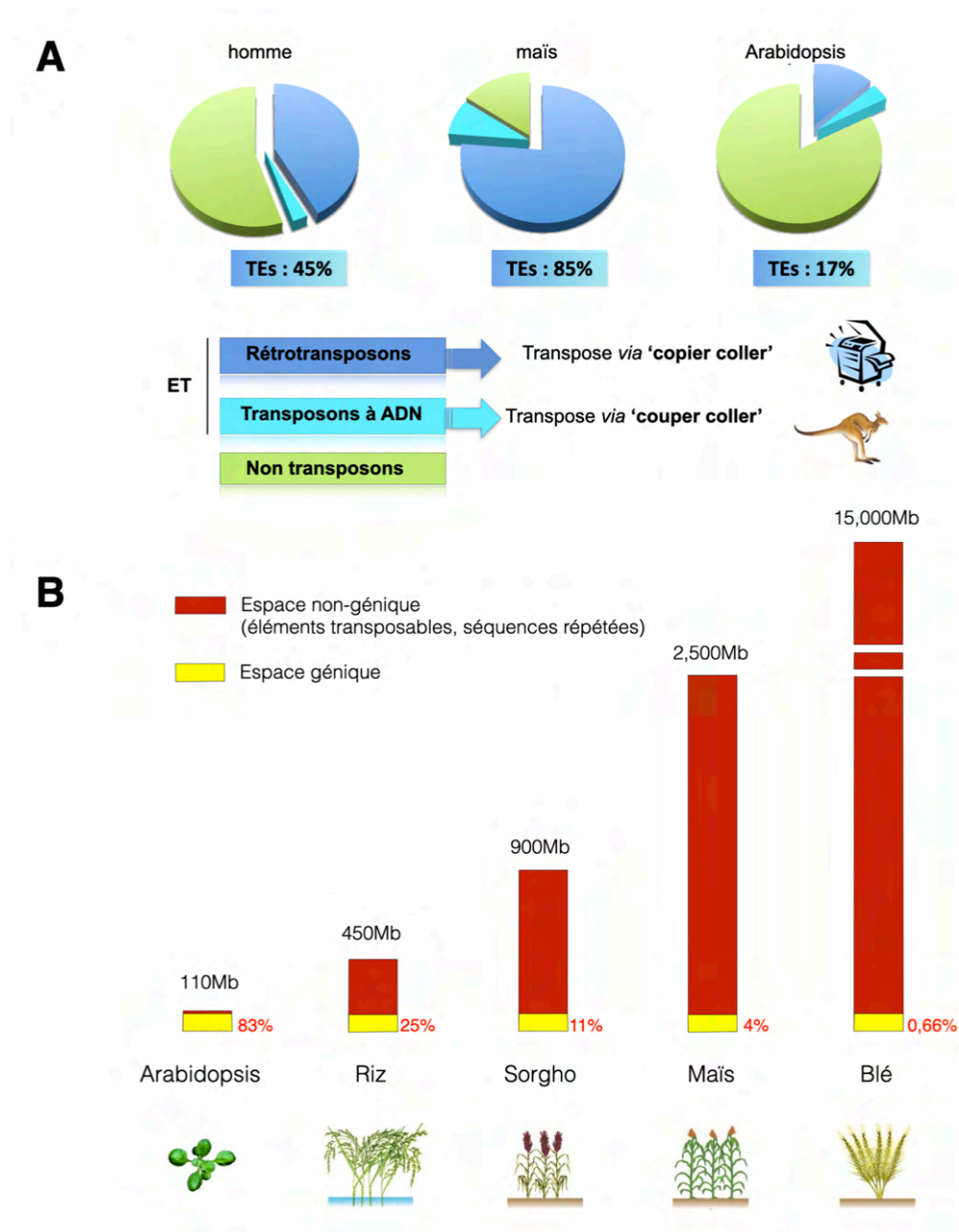


Figure 5. Présence des éléments transposables (ET) dans les génomes. A. Composition en ET dans les génomes humains, du maïs et d'Arabidopsis. D'après Buisine *et al.*, 2008; Schnable *et al.*, 2009; Cordaux *et Batzer*, 2009. **B.** La prépondérance des ET dans les génomes est corrélée à la taille des génomes.

développement ou en conditions de stress (**Figure 5**). Ceci peut se produire lors de stress environnementaux ou lors d'un choc génomique tel que l'hybridation. De par leur

abondance dans les génomes et leur mobilité, les ET sont considérés comme des acteurs majeurs de l'évolution des génomes (Fedoroff 2012, Feschotte 2008, Senft & Macfarlan 2021). Cependant, leur prolifération rapide à l'échelle d'une population ou d'un individu peut conduire à une instabilité phénotypique. Malgré l'abondance des ET dans les génomes de plantes, seuls certains d'entre eux sont capables d'accomplir leur cycle de vie en cas de réactivation dans leur « hôte ». Néanmoins, en 2010, il n'existait pas de méthode permettant d'identifier quels étaient les ET effectivement capables de se ré-insérer dans le génome.

Dans la continuité des compétences acquises en post-doctorat, le projet que j'ai proposé de mener à l'IRD concernait le contrôle épigénétique des ET chez les plantes en conditions de stress environnemental. Ce projet, fondamental par essence, portait sur deux modèles végétaux: *Arabidopsis thaliana* qui permet un accès rapide aux ressources génétiques et génomiques, et le maïs, plante cultivée d'importance notamment pour les pays du Sud. J'ai été recrutée dans l'équipe d'Olivier Leblanc « Régulations épigénétiques et Développement de la Graine » fin 2010. Souhaitant acquérir un financement pour mener mes recherches, j'ai déposé un projet d'ANR Jeune Chercheuse proposant de développer une méthode innovante d'identification des formes circulaires extrachromosomiques (ADNecc, voir encadré) des ET afin de traquer leur mobilité en conditions de stress environnemental, ou lors du développement (**Figure 6**).

J'ai tout d'abord obtenu un financement de la Fondation Agropolis (« *RetroCrop* », 2013-2014, 21k€) qui m'a permis de réaliser les expériences préliminaires pour le montage du projet ANR. Il est alors apparu que les analyses génomiques étaient difficiles à réaliser sur le maïs, qui possède un génome de grande taille (3 milliards de bases, semblable au génome humain). J'ai alors proposé d'utiliser le riz comme modèle d'étude. Le riz est la plante de la sécurité alimentaire au niveau mondial, et un modèle de choix pour l'IRD. De plus son petit génome (dix fois plus petit que celui du maïs) permettait d'envisager des expériences de séquençage de génome entier et d'ADNecc, ce qui en faisait un modèle plus adapté au niveau financier et méthodologique. Ce changement de modèle m'a amenée, en concertation avec Olivier Leblanc qui était alors mon chef d'équipe, à rejoindre l'équipe « Génome du riz » afin d'y développer mon projet. Le projet ANR JCJC, dont j'étais porteuse, a été financé sur le modèle riz (« *ExtraChrom* », 2014-2017, 220k€). Ce travail a permis de développer une méthode originale et innovante de séquençage de l'ADN extrachromosomique appelée mobilome-seq, comme marqueur ou diagnostic de l'activité des éléments transposables. Les résultats obtenus sur le riz ont

été publiés dans la revue **PLoS Genetics**, dans un article dont je suis dernière auteure et auteure correspondante (Lanciano et al 2017).

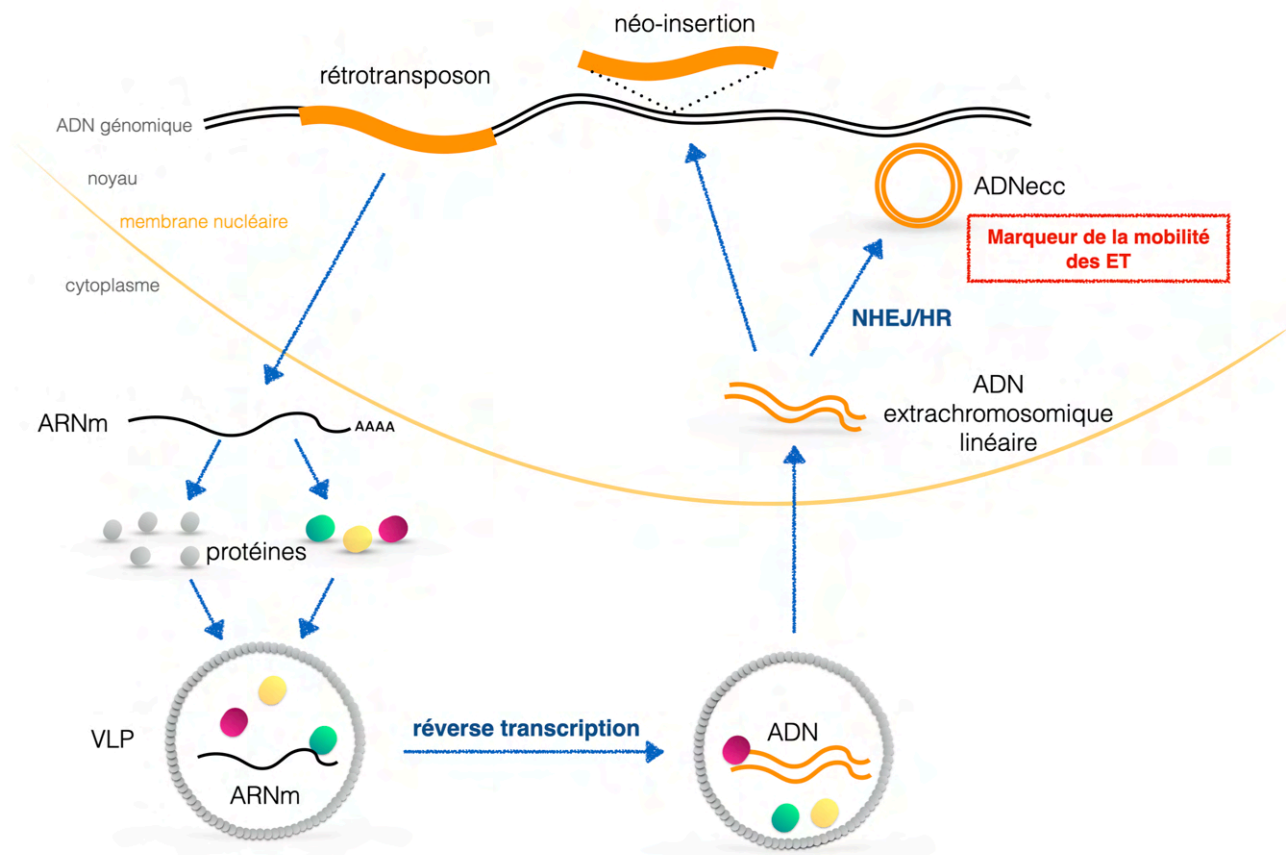


Figure 6. Exemple de cycle de vie d'un élément transposable et formation de l'ADN extrachromosomique circulaire (ADNecc). Les ET (ici un rétrotransposon) sont présents dans le génome. S'ils sont réactivés (par un stress par exemple) ils peuvent être transcrits en ARNm, puis traduits en protéines. Les ARNm et protéines sont encapsidés dans une structure appelée VLP (*virus-like particle*) dans laquelle a lieu la réverse transcription. L'ADN produit retourne dans le noyau sous forme d'ADN extrachromosomique linéaire. Celui-ci peut être intégré dans le génome créant une nouvelle insertion, ou être circularisé par des mécanismes de recombinaison homologue (HR) ou non-homologous end joining (NHEJ) pour former l'ADN extrachromosomique circulaire (ADNecc). Mon projet a consisté à proposer ces formes circulaires comme marqueurs de la mobilité des ET.

La méthode du mobilome-seq (**Figure 7**) a permis d'aborder une question fondamentale (le rôle de l'ADNecc) dans une multitude de modèles non seulement végétaux mais aussi animaux, dont certains sont en lien direct avec la sécurité alimentaire (riz, maïs). La prise de risque initiale a été importante mais le projet s'est avéré fructueux. Les financements successifs (ANR JCJC, H20202 ITN MCSA, ANR PRCI) ont permis de sécuriser le financement de ce projet jusqu'en 2026. La question biologique me semble originale car le compartiment de l'ADNecc est peu exploré, or son rôle dans l'adaptation rapide commence à émerger, notamment grâce à la recherche sur le cancer. Le caractère

transdisciplinaire de cette recherche réside dans la combinaison entre génomique structurale et fonctionnelle, physiologie végétale et génomique quantitative (*Genome Wide Association Study*, GWAS).

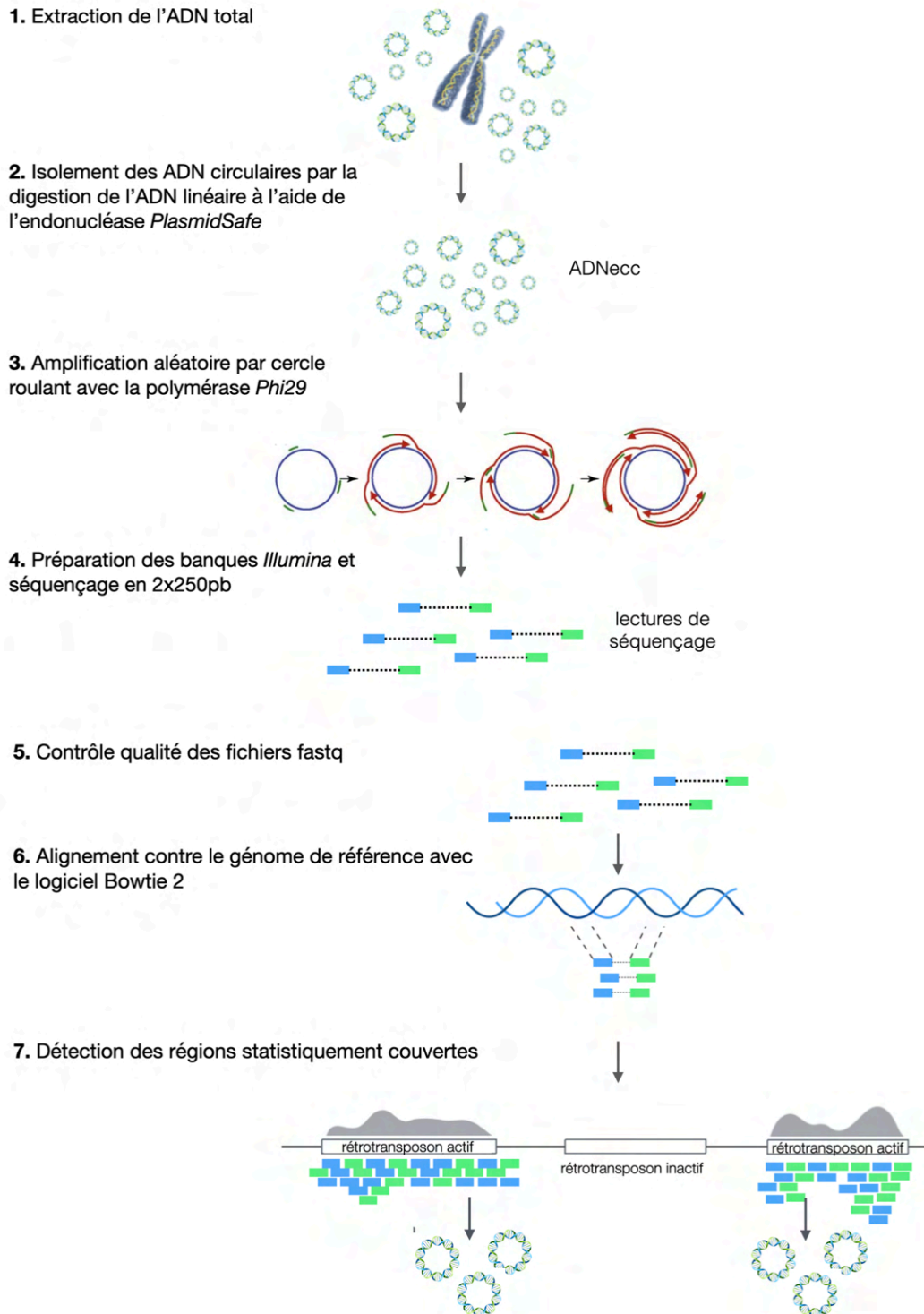


Figure 7. Principe du mobilome-seq ou séquençage ciblé de l'ADNecc. D'après la thèse de Sophie Lanciano.

Chez le riz, lors de la thèse de Sophie Lanciano, nous avons réalisé des banques de mobilome-seq sur différents tissus (feuilles, cals, pollen, grains, albumen) afin de tester le modèle selon lequel les ET seraient soumis à un « relâchement » de leur contrôle épigénétique lors du développement, en particulier au niveau des gamètes. Notre contrôle positif était *Tos17*, un rétrotransposon actif dans les cals de riz. Le mobilome-seq nous a permis d'identifier *Tos17* comme attendu mais également un rétrotransposon à LTR, que nous avons nommé *PopRice*, et qui est présent sous forme ADNecc uniquement dans l'albumen de riz (**Figure 8**). Un séquençage profond de l'albumen a confirmé les nouvelles

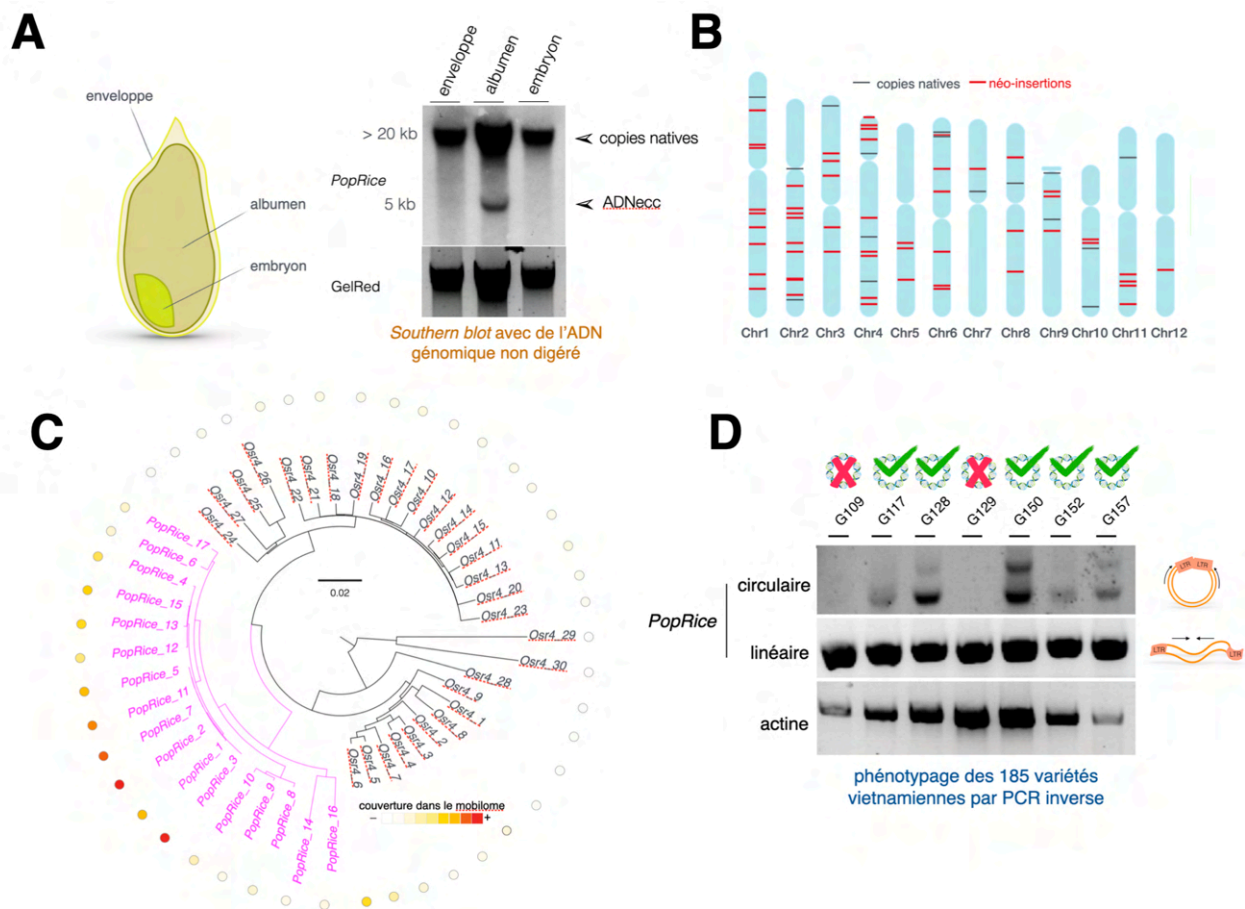


Figure 8. *PopRice* est un rétrotransposon actif dans l'albumen de riz. **A.** Southern blot sur de l'ADN génomique non digéré avec une sonde spécifique de *PopRice* dans 3 tissus du grain de riz. **B.** Néo-insertions de *PopRice* identifiées par séquençage de grande profondeur (100X) de l'albumen de riz. **C.** *PopRice* est une sous-famille de *Osr4*. **D.** Variabilité naturelle de l'activité de *PopRice* dans des variétés traditionnelles de riz du Vietnam (coll. LMI Rice). D'après la thèse de Sophie Lanciano.

insertions de *PopRice* dans ce tissu qui n'intervient pas dans la génération suivante. *PopRice* constitue une sous-famille de la famille *Osr4*, son activation dans l'albumen présente des variations dans une collection de riz vietnamienne. Nous n'avons pas pu

identifier, par GWAS, de candidat contrôlant l'activation de *PopRice* dans cette collection de 150 variétés environ. *PopRice* possède, dans son promoteur, des séquences également retrouvées dans les gènes de glutélines, protéines qui s'accumulent spécifiquement dans l'albumen. Nous avons proposé que ces séquences *cis*-régulatrices soient à l'origine de la spécificité d'expression de *PopRice*. Récemment, l'équipe de Jungnam Cho a suggéré que les formes d'ADNecc de *PopRice* pourrait servir « d'éponge » au facteur de transcription ABI5 lors de la germination du grain (Chu, Wang & Cho 2023). Le rôle exact (s'il en est un) de ces cercles reste à démontrer mais les travaux de Cho ouvrent des pistes intéressantes. Cet axe de recherche n'est actuellement pas développé dans l'équipe, cependant PoRice sert de contrôle positif dans l'ANR CropCircle (voir projet).

◊ C – Publications et autres productions scientifiques

J'ai pu publier des articles en dernier auteure dans des journaux à comité de lecture (quatre en dernier auteure: **Nature Communications**, **PLoS Genetics**, **Methods In Molecular Biology**, **Frontiers in Plant Science**) et 3 revues (**Current Opinion in Plant Biology**, **Current Opinion in Genetics and Development**, and **Epigenomes**) en auteure correspondante, dont deux en dernière auteure. Mon travail a été cité 3244 fois (source: Web of Science). Les articles les plus importants sont un article en dernière auteure dans la revue **PLoS Genetics** en 2017 qui présente la méthode de mobilome-seq et un article en tant que collaboratrice (expérience de mobilome-seq sur la cacahuète) dans la revue **Nature Genetics** en 2019 (Bertioli et al 2019). La plupart de ces articles provient également de collaborations avec différents laboratoires qui ont pu être établies grâce à la technique de mobilome-seq que j'ai contribué à appliquer sur la **carotte** (Kwolek et al 2022), le **peuplier** (Sow et al 2021), la **pomme de terre** (Esposito et al 2019), la **drosophile** (Barckmann et al 2018, Poirier et al 2018), le **riz** (Thieme et al 2017). J'ai également eu l'opportunité de co-éditer un livre sur l'épigénétique avec mes collègues E. Bucher et Ph. Gallusci. Dans cet ouvrage je suis également co-auteure d'un chapitre sur les régulations épigénétiques chez les céréales.

Parmi mes 33 publications, 11 sont en co-publication avec les trois doctorantes que j'ai co-encadrées (Sophie Lanciano, Panpan Zhang, Abirami Soundiramourthy).

◊ D – Valorisation économique et sociétale

La **valorisation économique** de mon travail porte essentiellement sur trois volets:

- (1) partenariat avec le privé: dans le cadre de l'**EUR TULIP** (Master international) j'ai co-encadré pour l'année universitaire 2021-2022 un groupe de 4 étudiants de Master autour d'un projet de pédagogie innovante (apprentissage par projet). Ce projet portait sur un bio-pesticide issu de l'inule visqueuse, une plante de sols en friche, endémique du bassin méditerranéen. Suite aux résultats obtenus dans ce projet pilote, nous avons obtenu, avec le Dr Fred Pontvianne (CR CNRS) un financement du Labex TULIP, en **partenariat avec la société privée AKINAO**, pour séquencer en 2023 le génome de cette plante. Je participerai à l'annotation du génome dans ce projet.
- (2) production d'outils bioinformatiques: dans le cadre de la thèse de Panpan Zhang, nous avons développé plusieurs **logiciels bioinformatiques** qui ont été déposés sur la plateforme GitHub (https://github.com/njaupan/CIGAR_SV, https://github.com/njaupan/ecc_finder).
- (3) activité de service commun de plateforme: depuis janvier 2020 je suis **responsable scientifique de la plateforme de séquençage en lecture longues « Bio-Environnement »** de l'Université de Perpignan avec ma collègue Christel Llauro, assistante ingénieure (CNRS, LGDP) qui est experte de cette technologie et est à l'origine du développement de la plateforme. Cette plateforme « Nanopore » est ouverte aux usagers extérieurs, publics et privés.

La **valorisation sociétale** de mon travail s'est faite notamment sur plusieurs supports:

- (1) une conférence grand public à Perpignan où j'animais une soirée autour de la technologie « CRISPR » en 2018: « Café-conférences de l'UPVDoc », Café de la Paix, Perpignan : *Peut-on changer notre ADN ? CRISPR/CAS : histoire et enjeux éthiques d'une découverte révolutionnaire.*
- (2) des interviews avec des journalistes: pour le nouveau journal scientifique grand public **Epsilon** à deux reprises en 2021 et 2022 sur la génomique des arbres et sur les éléments transposables et le journal anglais « **The Scientist** » en 2022 sur les éléments transposables.

- (3) une expérience de science participative menée depuis 2020 au lycée Arago de Perpignan, avec la professeure Isabelle Maillol. Ce projet consiste chaque année à guider les élèves dans la construction d'une expérience scientifique utilisant le séquençage en lectures longues Nanopore, et réalisée par les élèves eux-mêmes, au lycée et au laboratoire.
- (4) la mise en place d'un atelier à la Fête de la Science (UPVD) autour de « *l'ADN dans tous ses états* » (préparé avec F Pontvianne, CNRS) 2016-2021

◆ E - Direction

E.1. Directrice de l'équipe MANGO puis de l'EMR269 MANGO

Depuis janvier 2020 j'ai pris la direction de l'**équipe MANGO** au Laboratoire Génome et Développement des Plantes de Perpignan. Au 1er Mai 2023 l'équipe est composée de 16 membres:

- huit membres permanents: Joris BERTRAND (MCF UPVD), Moaine ELBAIDOURI (CRCN CNRS), Valérie HINOUX (MCF UPVD), Eric LASSERRE (MCF UPVD), Olivier PANAUD (PR UPVD), Marie-Christine CARPENTIER (IE CNRS), Christel LLAURO (AI CNRS) et moi-même
- trois doctorants: Pascaline SALVADO (doctorante ANR), Abirami SOUNDIRAMOURTTY (doctorante UPVD), Lee MARIAULT (doctorant ANR)
- deux CDD: Assane MBODJ (IE, CDD ANR), Anaïs GIBERT (IE, CDD ANR)
- trois étudiants de Master: Lauren CLEMENT (M2, UPVD), Fabio CROCE (M2 EUR TULIP), Lucas VANDENBEELE (M2, UM).

Je suis la supérieure hiérarchique pour le CNRS de Marie-Christine CARPENTIER (IE, CNRS) et de Christel LLAURO (AI, CNRS) et je réalise les entretiens annuels et rédige les rapports pour leurs dossiers de carrière.

Fin 2021 j'ai fait une demande de labellisation de l'équipe par l'IRD. La **création de l'EMR MANGO** (IRD, Université de Perpignan, CNRS) a été effective au 1er janvier 2022, pour une durée de 5 ans.

E.2. Travail en équipe, encadrement et collaborations

J'ai eu la chance de travailler, depuis mon arrivée au LGDP, avec Christel Llauro, qui réalise, en tant qu'assistante ingénieure, la majorité des manipulations de biologie

moléculaire de l'équipe et de mes projets, de la culture des plantes jusqu'au séquençage Nanopore. Elle a également assuré la formation de nombreux étudiants et visiteurs au cours des années. Par ailleurs j'ai été initiée à la bio-informatique par Marie-Christine Carpentier, ingénieure d'études. Grâce à son soutien et à sa formation, j'ai pu acquérir les bases qui me permettent d'utiliser des outils en ligne de commande et de comprendre les scripts dans les grandes lignes. Ceci a été crucial pour le recrutement des deux doctorantes Panpan Zhang et Abirami Soundiramourtty, toutes deux de formation bio-informatique.

Depuis mon arrivée à l'IRD j'ai **co-encadré trois étudiantes en thèse**: Sophie Lanciano puis Panpan Zhang en co-encadrement avec Alain Ghesquière (IRD, Montpellier) et Abirami Soundiramourtty, en co-encadrement avec Olivier Panaud (UPVD). J'ai pu financer les deux premières thèses sur les projets de recherche (ANR JCJC et H2020-MCSA), la dernière thèse en cours étant financée par une bourse de l'école doctorale (ED305) de l'UPVD. J'ai également contribué à encadrer Salvatore Esposito, un doctorat italien en accueil dans l'équipe (2016-2017).

En dehors de l'équipe j'ai la chance de collaborer avec Mathieu Ingouff et Fred Pontvianne, experts notamment en microscopie et avec qui je développe des outils de visualisation des ET. Pour le mobilome-seq et l'analyse des insertions des ET par séquençage Nanopore je collabore avec Angélique Délérès et Philippe Gallusci. A l'internationale j'ai établi des partenariats avec Etienne Bucher en Suisse, Keith Slotkin aux Etats-Unis, Ousmane Koïta au Mali et Robert Pogue au Brésil.

E.3. Capacité de financement

Depuis 2013 j'ai rédigé et obtenu plusieurs financements:

- un projet de la **Fondation Agropolis** « *RetroCrop* » (2013-2014, 18 mois, 21 k€) pour lequel j'étais porteuse et qui m'a permis d'obtenir les résultats préliminaires pour une demande d'ANR JCJC,
- un projet **ANR JCJC** (Jeune Chercheur Jeune Chercheuse) « *ExtraChrom* » (2014-2017, 48 mois, 220 k€) pour lequel j'étais porteuse et qui m'a permis de développer la méthode de mobilome-seq de séquençage d'ADN extrachromosomique,
- un projet **européen Marie Curie International Training Network H2020-MSCA-ITN** « *EpiDiverse* » (48 mois, 3.8M€) pour lequel j'étais partenaire (262 k€). Ce projet a été monté à la suite d'une invitation que j'avais reçue à rejoindre un groupe de travail financé par « iDiv » un réseau de recherche allemand, autour de l'épigénétique et l'écologie. Ce projet a regroupé une quinzaine de laboratoires européens et a consisté à

créer un réseau de 15 doctorantes et doctorants. Dans ce projet je représentais le partenaire français (IRD) et j'étais responsable d'un «*Workpackage*» sur les mécanismes moléculaires et membre du comité d'éthique et de parité.

- un projet « **Campus France** » du programme **ORCHID avec Taïwan** (20220-2022, 24 mois, 10 k€) qui a permis d'établir une collaboration avec une équipe de recherche de l'Academia Sinica à Taiwan, et pour lequel j'étais porteuse française (avec Dr Pao-Yang Chen porteur taiwanais),
- un projet **ANR PRCI** (projet de recherche collaboratif international) « *CropCircle* » (2022-2025, 48 mois, 354 k€, projet France/Suisse) pour lequel je suis porteuse et qui a pour but de valoriser la méthode de mobilome-seq en explorant les formes d'ADN extrachromosomique de plantes soumises à des stress intenses (avec Dr Etienne Bucher porteur suisse),
- une **bourse AARTS** de l'IRD (bourse de thèse en co-tutelle France/Mali, 2023-2026), dans le cadre des recherches que je mène en partenariat avec les pays du Sud, qui permettra d'encadrer une thèse avec mon collègue du LMI Dyn-Pathos de Bamako le Pr. Ousmane Koïta dans le cadre d'un programme de recherche que nous avons co-construit autour de la dynamique du génome et les variants structuraux chez le riz et ses pathogènes.
- un **projet « Bonus Qualité Recherche »** « Bien-Hêtre » de l'UPVD (2023, 12 mois, 16 k€) pour lequel je suis porteuse et qui permet de générer des données de séquençage pour la thèse d'Abirami Soundiramourty.

◆ F - Enseignements et responsabilités administratives

F.1. Enseignements

Depuis le monitorat lors de ma thèse puis un demi-poste d'ATER à l'Université de Montpellier (UM), j'ai toujours souhaité compléter mes activités de recherche par des activités d'enseignement. En 2012 j'ai monté avec mon collègue Mathieu Ingouff (MCF, UM) un module de Master consacré à l'épigénétique chez la plante. La co-responsabilité de ce module pendant quelques années m'a permis de mieux cerner les attentes et besoins des étudiants. J'interviens toujours dans ce module pour 6h de cours par an. Pour élargir mes compétences au rôle de l'épigénétique en Ecologie et Evolution j'ai fait partie d'un groupe de travail intitulé « Epigénétique et Evolution » qui regroupe des chercheurs français. J'ai participé à l'animation d'une école thématique de ce réseau en 2015, portée par le Prof. Christof Grunau (UPVD). J'ai également été invitée

à participer à un workshop « *Epigenetics in Ecology and Evolution* » en Allemagne au mois de mars 2015 qui a servi à rédiger une lettre d'intention et un projet UE-H2020-ITN-MCSA qui a été financé.

En juillet 2019 j'ai été invitée par le Dr Pauline Jullien à participer à une école d'été organisée par la Conférence universitaire de Suisse Occidentale pour le programme doctoral de biologie moléculaire des plantes. Depuis Septembre 2021 je participe au nouveau Master International du LABEX TULIP (<https://www.labex-tulip.fr/La-Graduate-School/Le-Master-TULIP-GS>) pour une intervention en Master 1 de 3h de cours magistral et 3h de TP sur les variations structurales et le séquençage Nanopore. Ces activités d'enseignement sont enrichissantes et stimulantes, elles me permettent de toujours remettre en question la façon d'enseigner (fond et forme).

F.2. Participation à l'évaluation et à l'animation scientifique

Pendant 3 années, j'ai été membre du comité ANR « CE02: Terre Vivante » (2019) puis j'en ai été la vice-présidente (2020, 2021) <https://anr.fr/fileadmin/comites/2020/CE-AAPG-2020.pdf>. Cela m'a permis de rencontrer un large panel de chercheurs étrangers (le comité comprend peu de français) et de mieux connaître l'ensemble de la communauté française dont les thèmes de recherche se rattachent à ce comité (écologie, biodiversité). Dans ce comité j'ai apporté mon expertise en génomique. Pour l'édition 2022-2023 j'ai été présidente du comité CE20 « Biologie des animaux, des organismes photosynthétiques et des micro-organismes » qui compte 30 membres experts.

Par ailleurs je suis membre de différents conseils tel le conseil scientifique du Labex TULIP (Toulouse) ou le comité de pilotage de BioDivOc (région Occitanie). Ces différentes activités m'ont permis de mieux connaître la communauté scientifique locale. Selon mon expérience, l'implication de collègues femmes est encore nécessaire dans les différentes instances afin de s'assurer (et parfois de rappeler l'importance) du respect de la parité. C'est ce qui motive mon implication dans différents conseils ou comités, que ce soit pour l'accès aux financements (dans le cadre du comité ANR ou du Labex TULIP) ou pour l'équilibre des genres dans les congrès. De nouvelles solutions sont également à réfléchir pour stimuler le dépôt de projets de recherche par les collègues femmes, pour lever des verrous qui existent encore parfois pour déposer un projet de recherche.

J'ai participé en 2021 et 2022 au comité scientifique du congrès international « EpiPlant » (<https://epiplant2022.sciencesconf.org/>), et en 2023 à celui du Congrès National sur les Eléments Transposables (CNET).

II. Projet de recherche et formation

Préambule: Les plantes doivent s'adapter à des conditions environnementales en évolution rapide et cela est particulièrement crucial dans le contexte du changement climatique accéléré. Des preuves récentes issues d'expériences évolutives sur des levures (Gresham et al 2010) et de plantes acquérant une tolérance aux herbicides (Koo et al., 2018) ont montré que l'ADN extrachromosomique circulaire (ADNecc) pouvait entraîner des adaptations à un environnement stressant. Ces études pionnières ont conduit à un nouveau paradigme dans le domaine de la biologie de l'ADNecc. Je reprends ci-dessous, en me basant sur une revue récente écrite avec mes collaborateurs (Peng, Mirouze & Bucher 2022), l'état de l'art concernant l'ADN extrachromosomique, objet principal de mon projet et seulement évoqué succinctement dans l'encadré de la partie relative aux travaux antérieurs. Je présente ensuite les grandes lignes du projet de recherche scientifique et du projet de formation.

◉ A. Contexte du projet

A.1. Historique et définition de l'ADNecc

Dans les cellules eucaryotes, la majorité de l'ADN cellulaire est organisée en chromosomes et associée à des protéines histones à l'intérieur du noyau. Néanmoins, une partie de l'ADN cellulaire n'est pas incluse dans ces chromosomes et existe sous forme d'ADN extrachromosomique circulaire (ADNecc). L'ADN extrachromosomique est défini comme des molécules d'ADN dont la taille varie de quelques centaines de paires de bases à quelques mégabases et qui font partie du matériel génétique d'une cellule mais ne sont pas situées dans les chromosomes. Des ADNecc ont été observés chez de nombreux eucaryotes comme la levure (où 23% du génome est représenté sous forme d'ADNecc jusqu'à 38 kilobases) ou l'humain. L'ADNecc a été initialement identifié dans l'ADN de sperme de verrat en 1965 puis dans des cals de blé et les feuilles de tabac (Hotta & Bassel 1965, Kinoshita et al 1985). Une classification récente décrit l'ADNecc comme tout l'ADN circulaire d'une cellule, y compris, mais sans s'y limiter, les petits ADN

circulaires polydispersés, les cercles télomériques extrachromosomiques, les microADN, et les chromosomes dits doubles minutes (Liao et al 2020) (**Figure 9**).

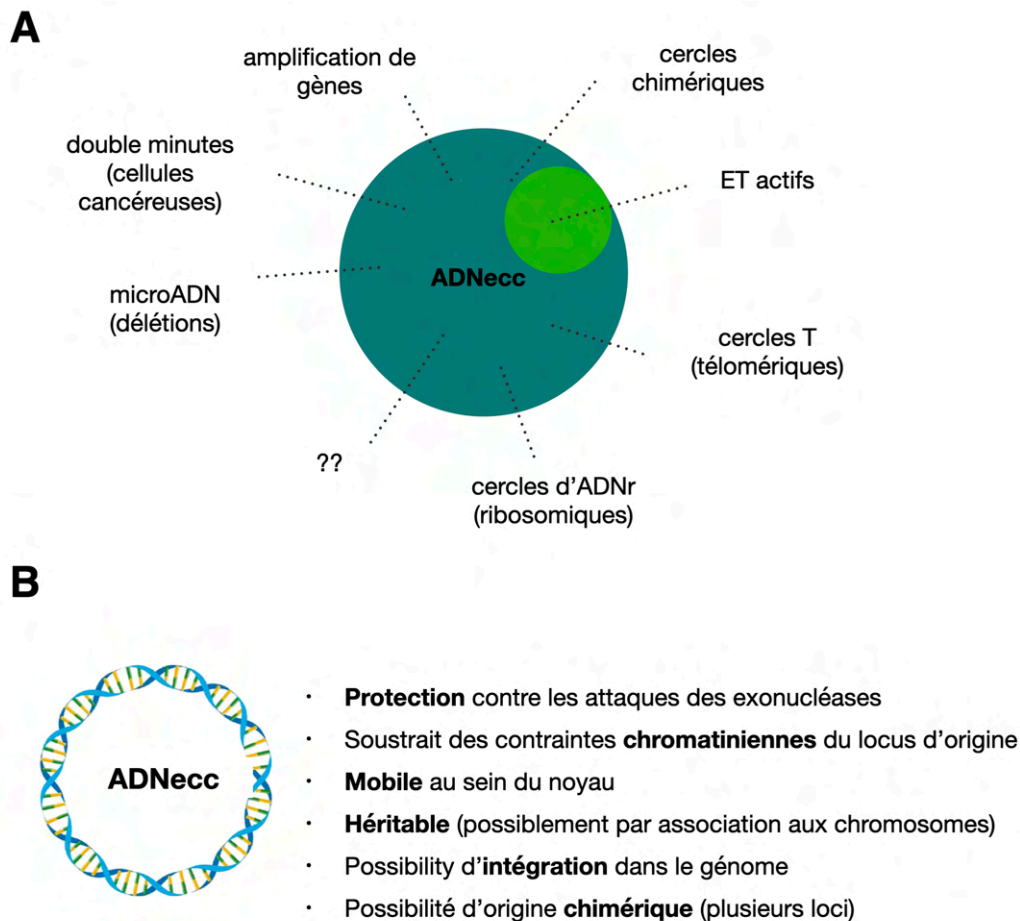


Figure 9. Le compartiment ADNecc. A. Répertoire du compartiment de l'ADNecc (adapté d'après la thèse de Sophie Lanciano, 2017). **B.** Propriétés connus des ADNecc. Adapté d'après (Gu et al 2020).

Toutes les espèces végétales testées jusqu'à présent contiennent de l'ADNecc montrant une diversité d'origines génomiques, de taille et de structures (Cohen, Houben & Segal 2008, Navratilova, Koblizkova & Macas 2008). Cependant, en raison de la difficulté de détection de ces formes particulières de l'ADN, il est probable que seule encore une petite partie de ces molécules ait été décrite à ce jour. Ces dernières années, les approches génomiques et les nouveaux pipelines bioinformatiques ont néanmoins conduit à un renouveau des recherches sur l'ADNecc, ouvrant de nouvelles voies de recherche.

A.2. Méthodes de détection des ADNecc

A.2.1. Méthodes de détection moléculaire des ADNecc

La microscope électronique à balayage et le microscope électronique à transmission combinés à des techniques de localisation moléculaire comme la

fluorescence et l'hybridation *in situ* (FISH), permettent le suivi d'ADNecc spécifiques (Koo et al 2018). Chez les plantes, la visualisation *in vivo* de l'ADNecc n'a jusqu'à présent pas été établie et fera l'objet d'une partie du projet de recherche présenté ci-après. L'électrophorèse bidimensionnelle (2D) a également été utilisée pour séparer les ADNecc des molécules linéaires sur la base de modèles de migration aboutissant à des arcs distincts, permettant de distinguer différentes formes structurelles d'ADNecc: les cercles super-enroulés et cercles ouverts. Ainsi de nombreux ADNecc provenant d'un large éventail d'espèces végétales (Fabaceae, Poaceae et Brassicaceae) ont-ils été décrits, suggérant l'ubiquité de ces molécules circulaires dans les cellules végétales (Cohen, Houben & Segal 2008). Ces approches présentent cependant des limites car elles dépendent de l'hybridation avec des sondes spécifiques. Plus récemment, le développement rapide des nouvelles générations de séquençage à haut débit (NGS) et des pipelines bioinformatiques a permis une description sans a priori des ADNecc, chez plusieurs espèces végétales: Arabidopsis (Lanciano et al 2017, Mehta et al 2020, Roquis et al 2021), le blé (Zhang et al 2021), la betterave (Mann et al 2022), le riz (Lanciano et al 2017, Thieme et al 2017), l'arachide (Bertioli et al 2019), la pomme de terre (Esposito et al 2019), le peuplier (Sow et al 2021) et la carotte (Kwolek et al 2022).

A.2.2. Méthodes de séquençage des ADNecc

Les méthodes employées pour le séquençage de l'ADNecc consistent en un enrichissement puis une amplification des ADNecc. Bien qu'il existe des différences entre les protocoles, les procédures sont similaires. Généralement, l'ADN génomique linéaire est digéré par l'exonucléase V et l'ADN circulaire est amplifié par amplification en cercle roulant (*Rolling circle amplification* -RCA) en utilisant l'enzyme de phage Phi29 et des amorces aléatoires (**Figure 10**). Cette approche permet l'amplification d'ADNecc même peu abondant, et a ainsi une bonne sensibilité. L'ADN amplifié est ensuite parfois déramifié pour éliminer les structures complexes de l'ADN produites par la Phi29. Les ADNecc amplifiés sont utilisés pour la préparation de banque pour un séquençage en lectures courtes (Illumina) ou longues (par exemple Oxford Nanopore ou PacBio). Le RCA est une amplification linéaire et une quantification est donc possible. Cependant, ce processus peut induire un biais d'amplification dépendant de la longueur, de sorte que la quantification absolue de cercles d'ADN de tailles très différentes peut être affectée (Joffroy et al 2018). Un protocole sans RCA mais utilisant une centrifugation dans des gradients de chlorure de césium et de bromure d'éthidium après digestion de l'ADN linéaire par l'exonucléase V a été développé (circulome-seq) mais non encore testé chez

les plantes (Shoura et al 2017). Enfin, une publication récente décrit l'enrichissement de l'ADNecc par électrophorèse en champ pulsé, une technique nommée CRISPR-CATCH,

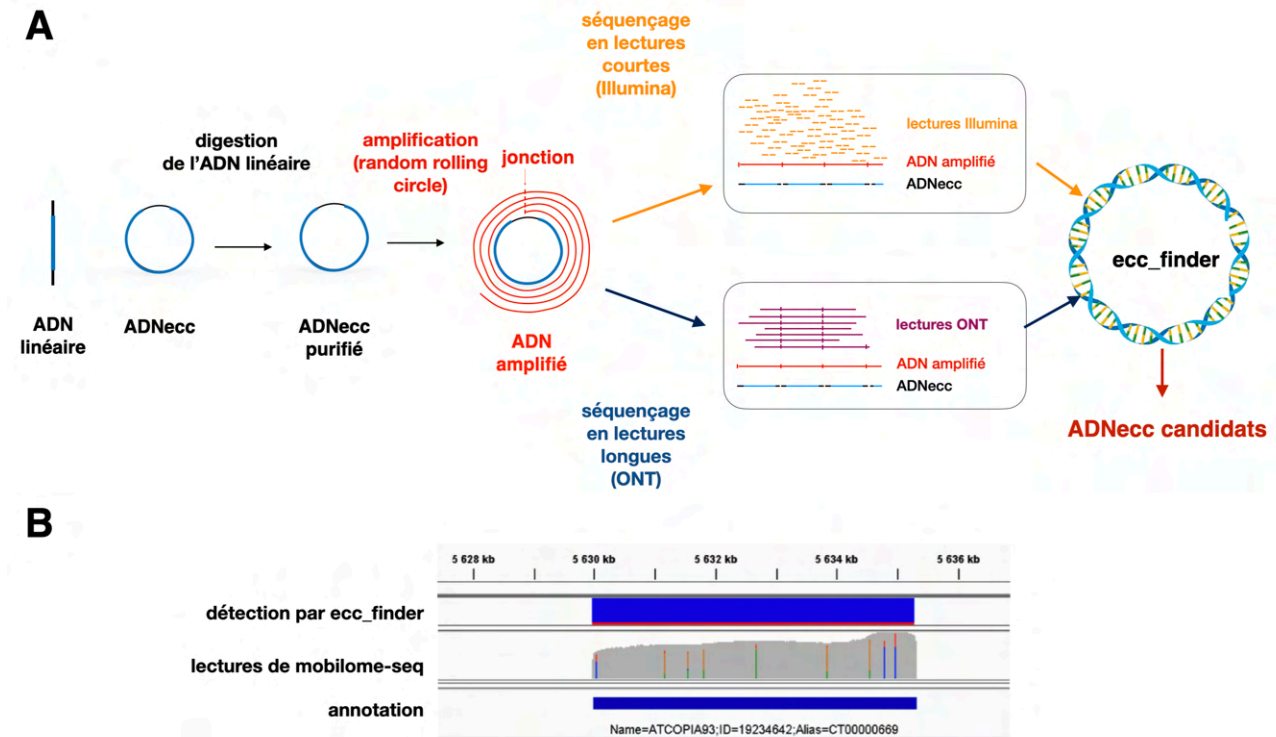


Figure 10. Méthode du mobilome-seq pour séquencer spécifiquement les ADNecc après amplification (adapté d'après Lanciano et al., 2017; Zhang et al., 2021). **A.** Afin d'identifier l'ADNecc, une préparation classique d'ADN génomique est réalisée, puis l'ADN linéaire (fragments de chromosomes) est digéré par une enzyme spécifique (PlasmidSafe), enfin l'ADN circulaire est amplifié de façon aléatoire en utilisant l'enzyme issue de phage Phi29. Cet ADN amplifié sert à la préparation de banques de séquençage en lectures courtes (Illumina, Miseq) ou longues (Nanopore, MinION). Toutes les étapes sont réalisées au laboratoire qui est équipé de séquenceurs (plateforme Bio-Environnement, UPVD). **B.** Un exemple de détection d'ADNecc est montré. Sur cette image de IGV (*Integrated Genome Viewer*) nous voyons l'annotation qui correspond à un élément transposable (*EVD/ATCOPIA93*), au dessus (en gris, les mutations étant montrées en couleur) les lectures issues du mobilome-seq d'un échantillon dans lequel cet élément transposable forme des ADNecc, et enfin au dessus la détection automatique de régions produisant des ADNecc qui est réalisée par notre outil ecc_finder (Zhang et al., 2021).

rendue possible par la linéarisation guidée par CRISPR de l'ADNecc et la migration rapide ultérieure sur le gel. Cette technique nécessite cependant la conception d'un ARN guide correspondant à une séquence spécifique de l'ADNecc (Hung et al 2022). Au laboratoire nous développons de nouvelles stratégies visant à séquencer l'ADNecc en lectures longues sans étape d'amplification préalable, pour les ADNecc très abondants.

A.2.2. Méthodes de détection bioinformatiques des ADNecc

À ce jour, plusieurs pipelines bioinformatiques ont été développés pour l'identification des ADNecc d'espèces végétales, essentiellement à partir de lectures courtes Illumina (Joubert & Krasileva 2022, Mann et al 2022, Mehta et al 2020, Zhang et al

2021). Pour identifier les lectures dérivées de l'ADN circulaire par stratégie de cartographie, ces pipelines recherchent des lectures dérivées de sites de jonction résultant de la circularisation de l'ADNecc. Tout d'abord, les lectures sont cartographiées sur le génome de référence, puis les lectures discordantes et les lectures fractionnées (*split reads*) sont identifiées. En combinant ces différentes sources d'information et la couverture globale des lectures sur les régions génomiques, il est possible d'identifier les régions formant des ADNecc. La qualité du génome de référence permet d'augmenter la qualité de détection des ADNecc. Si le génome de référence n'est pas disponible, une approche alternative consiste à réaliser un assemblage de séquence *de novo*. Au cours de la thèse de Panpan Zhang, nous avons développé un pipeline nommé *ecc_finder* grâce auquel les lectures brutes peuvent d'abord être assemblées en contigs, puis regroupées en ADNecc candidats (Zhang et al 2021). Un autre logiciel, *ECCexplorer*, permet de réduire le bruit de fond provenant de l'ADN génomique non circulaire résiduel lorsque des données de contrôle sont fournies (Mann et al 2022). Cependant, si les régions génomiques à partir desquelles les ADNecc sont dérivés contiennent des séquences répétées en tandem les résultats peuvent être difficiles à interpréter, pour les deux logiciels. Dans le but de gagner en précision nous avons développé le séquençage en lectures longues (**Figure 10**). Celui-ci présente un avantage car une seule lecture peut couvrir un cercle plusieurs fois. Cette lecture unique peut ensuite être divisée en monomères individuels, permettant la génération de la séquence consensus circulaire. Sur la base de données en lecture longue, environ 20 % des ADNecc se sont révélés chimériques dans la lignée germinale humaine, ce qui suggère une complexité non anticipée par les approches de séquençage en lectures courtes (Henriksen et al 2022).

A.3. Origines génomiques des ADNecc

Généralement, chez les plantes, les ADNecc sont de taille hétérogène, allant de centaines de paires de bases à plusieurs centaines de milliers de paires de bases. Cependant la plupart d'entre eux semblent être inférieurs à 20 kb (Mehta et al 2020) alors que dans les cellules cancéreuses les ADNecc peuvent atteindre plusieurs mégabases. Chez *Arabidopsis thaliana*, la distribution de taille des ADNecc montre un enrichissement dans la gamme de taille de 2-4 kb (Lanciano et al 2017). Le répertoire des ADNecc peut varier entre différents tissus ou types de cellules de la même espèce. Par exemple, des différences dans les accumulations d'ADNecc ont été observées dans les graines, les feuilles et les cals de riz (Lanciano et al 2017, Thieme et al 2017). Le répertoire de l'ADNecc est donc dynamique tout au long du développement de la plante.

A.3.1. Séquences des organites qui génèrent des ADNecc

Les protocoles conçus pour enrichir l'ADN circulaire conduisent également à une accumulation d'ADNecc dérivés d'organites dotés de génomes et de sous-génomes circulaires. Il est donc inévitable que cet ADN soit également inclus dans les données de séquençage. En effet, environ 1% à 10% des lectures contiennent des séquences dérivées de mitochondries et de chloroplastes chez *Arabidopsis* (Mehta et al 2020, Zhang et al 2023). L'ADN mitochondrial et plastidique peut également être trouvé dans le génome nucléaire, ce qui peut compliquer l'identification des véritables origines de ces cercles. Chez le blé, des séquences chloroplastiques circulaires de plus de 20 kb ont été détectées (Zhang et al 2021). Cependant, il reste à déterminer si ces ADNecc proviennent d'organites ou du génome nucléaire.

A.3.2. ADNecc provenant de régions génomiques répétées en tandem

Les premiers ADNecc détectés provenaient de séquences génomiques répétitives, notamment dérivées de l'ADN ribosomal (ADNr), organisé en larges cluster de répétitions en tandem. Dans le blé, l'ADNr 18S peut former de grands cercles de 40 kb de longueur (Zhang et al 2021). Les centromères des plantes sont également souvent composés de séquences d'ADN répétées en tandem, appelées satellites centromériques. Les satellites flanqués de répétitions directes engendrent des ADNecc chez *Arabidopsis* et la canne à sucre (Huang et al 2021). Les télomères sont également un type de séquences courtes très répétitives présentes aux extrémités de molécules d'ADN linéaires qui peuvent engendrer des ADNecc aussi appelés cercles en T (Cohen, Houben & Segal 2008). Il est intéressant de noter que le complexe de réparation de l'ADN KU70/KU80 inhibe spécifiquement la formation des cercles T mais n'a aucun effet sur les ADNecc centromériques et dérivés de l'ADNr. En effet, les plantes défectueuses pour ce complexe accumulent un nombre accru de cercles en T, suggérant que ce complexe de réparation régule spécifiquement la recombinaison homologue (HR) au niveau des télomères d'*Arabidopsis* (Zellinger et al 2007).

Ces observations chez les plantes suggèrent que les répétitions en tandem sont susceptibles de former des cercles extrachromosomiques, un processus également rapporté dans le règne animal, notamment chez les levures et les humains (Cohen, Yacobi & Segal 2003, Moller et al 2018).

A.3.3. ADNecc provenant d'éléments transposables

À côté des répétitions en tandem, une autre classe de répétitions pouvant engendrer des ADNecc sont les éléments transposables (ET). Différentes classes d'ET ont leur propre façon de contribuer au pool d'ADNecc, qu'ils soient rétrotransposons (classe 1) qui transposent par copier/coller ou transposons ADN (classe 2) qui transposent par couper/coller. Au cours du cycle de vie des rétrotransposons à longue répétition terminale (*LTR-long terminal repeat*), la transcriptase réverse produit de l'ADN linéaire extrachromosomique qui peut conduire à la formation d'ADNecc. Selon le modèle actuel ces ADNecc peuvent résulter de (i) une auto-ligature via une jonction d'extrémités non homologues (NHEJ- *non homologous end-joining*), aboutissant à des cercles à double LTR; (ii) une recombinaison homologue entre les répétitions terminales de l'ADNecc produisant des cercles à 1 LTR; ou (iii) des phénomènes d'auto-intégration (Garfinkel et al 2006). De façon plus surprenante, une étude récente a présenté des résultats qui proposent une nouvelle hypothèse (Yang et al 2023). En étudiant le rétrotransposon *HMS Beagle* chez la drosophile, les auteurs ont montré que la quantité d'ADNecc était diminuée dans des mutants affectés dans la voie d'ALT-EJ ou aNHEJ (pour voie alternative au *non homologous end joining*), une voie de réparation de l'ADN (Hacker et al 2022). Ceci suggère que la voie est nécessaire au cycle de vie de ce rétrotransposon et met en lumière l'importance des ADNecc dans la vie des rétrotransposons.

Chez les plantes, nous avons contribué à montrer que la mobilisation de différentes familles de rétrotransposon à LTR conduit à l'accumulation d'ADNecc: chez *Arabidopsis* les rétrotransposons *Evadé (EVD/ATCOPIA93)* et *ONSEN (ATCOPIA78)* (Zhang et al 2023), chez le riz *Tos17*, *Tos5/Osr13/Houba* et *Osr4/PopRice* (Lanciano et al 2017, Thieme et al 2017). D'autres exemples ont été décrits dans la littérature comme *Rider* chez la tomate (Benoit et al 2019), *Tto1* chez le tabac (Hirochika & Otsuki 1995) et *Gagarin* chez le tournesol (Kirov et al 2020).

Peu d'exemples d'ADNecc ont été décrits pour les transposons de classe 2: Mu chez le maïs (Sundaresan & Freeling 1987) et Mu4 chez l'arachide (Bertioli et al 2019). Nous avons identifié des ADNecc correspondant à *VANDAL21* chez *Arabidopsis* (Zhang et al 2023). Les héliçons, quant à eux, transposent par formation d'un intermédiaire d'ADNecc et se copient *via* une réplication en cercle roulant (Grabundzija, Hickman & Dyda 2018). Néanmoins leurs intermédiaires circulaires n'ont pas encore été isolés par les techniques de séquençage d'ADNecc.

Dans la plupart des cas, les formes d'ADNecc sont considérées comme n'étant pas capables de se réintégrer dans le génome. Leur détection constitue néanmoins un

diagnostic de leur activité. Les fonctions de ces ADNecc dérivés d'éléments transposables sont actuellement largement inconnues et soulèvent différentes questions: comment contribuent-ils à la vie d'un élément transposable? Ont-ils un impact sur la stabilité du génome de la cellule?

A.3.4. ADNecc provenant de séquences géniques

Contrairement aux cellules humaines, peu d'ADNecc provenant de régions géniques ont été décrits chez les plantes. Une exception notable est un ADNecc de près de 400 kb hébergeant 59 gènes et découvert chez *Amaranthus palmeri*, une amarante résistante au glyphosate (Koo et al 2018). L'un de ces gènes code pour une 5-énolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase (EPSPS) qui confère une résistance au glyphosate (**Figure 11**). Par ailleurs 41 des gènes codés dans cet ADNecc sont transcrits lors du traitement au glyphosate.

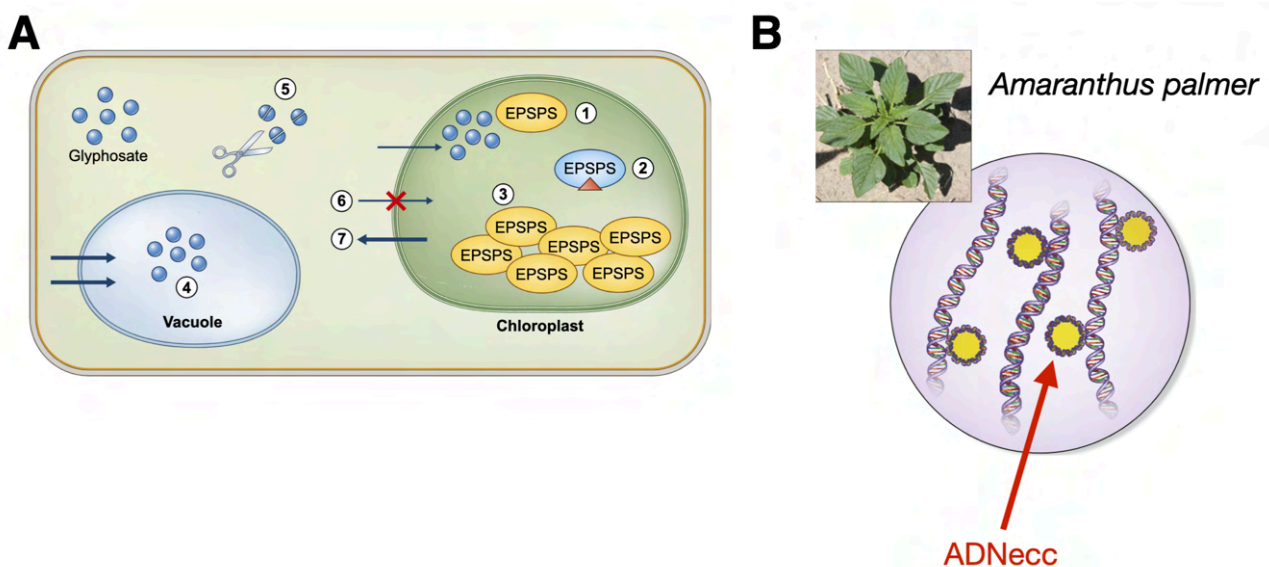


Figure 11. Exemple du rôle des ADNecc dans la résistance de l'amarante au glyphosate. **A.** Chez les plantes résistantes, le glyphosate (cercles bleus) pénètre dans le cytoplasme et est transporté dans le chloroplaste vers l'enzyme cible, l'EPSPS (1). Les mutations modifiant un ou deux acides aminés dans l'EPSPS peuvent conférer une résistance (2). Des copies supplémentaires du gène EPSPS peuvent produire des EPSPS supplémentaires, nécessitant proportionnellement plus de glyphosate pour provoquer une inhibition complète (3). Le glyphosate peut être transporté et séquestré dans la vacuole (4). D'autres mécanismes possibles n'ont pas été observés à ce jour. (5, 6, 7). **B.** La duplication du gène EPSPS chez *Amaranthus palmeri* se produit sous la forme d'un ADNecc de 300 kpb. L'origine de cet ADNecc est inconnue et le nombre de copies peut varier somatiquement d'une cellule à l'autre. Adapté d'après (Gaines, Patterson & Neve 2019).

A.4. Devenir et impact des ADNecc

A.4.1. Héritabilité des ADNecc

Nous disposons de peu de données sur l'héritabilité des ADNecc. Chez l'amarante résistante au glyphosate, les grosses molécules d'ADNecc peuvent être héritées d'une

génération à l'autre. Le mécanisme, encore inconnu, pourrait passer par le biais d'un attachement des cercles aux chromosomes, comme cela a été proposé chez la levure (Molin et al 2020). Dans les cellules cancéreuses, les ADNecc contenant des oncogènes ségrègent de manière inégale en cellules filles, contribuant à la dynamique de l'évolution de la maladie (deCarvalho et al 2018, Turner et al 2017). En raison de l'absence de centromères, la ségrégation de l'ADNecc peut être hétérogène, ce qui donne lieu à des cellules descendantes contenant différents nombres de copies d'ADNecc. Les cellules filles recevant une proportion élevée de ces ADNecc peuvent avoir un avantage sélectif et peuvent ainsi être plus adaptables à certains environnements.

A.4.2. ADNecc et intégration dans le génome

Les ADNecc sont associés à la sénescence chez la levure (bien que ce soit remis en question récemment - (Zylstra et al 2023) et à l'apoptose dans les cellules de mammifères. Chez la levure, la liaison de la protéine de réplication Fob1 à la séquence d'espacement intergénique de l'ADNr peut induire des cassures double brin et une circularisation de l'ADN (Kobayashi et al 1998). En outre la perte de copie d'ADNr génomique est concomitante à une augmentation de l'ADNecc (Sinclair & Guarente 1997), ce qui laisse penser que l'ADNecc pourrait être intégré pour augmenter le nombre de copies d'ADNr (Mansidor et al 2018). Pour ce qui concerne les télomères, une étude sur les cellules humaines a montré une forte corrélation entre leur raccourcissement et la formation d'ADNecc (Pickett et al 2009). Il reste à tester si des mécanismes similaires existent chez les plantes.

A.4.3. ADNecc et amplification de gènes

La chromothripsis décrit la cassure chromosomique induite par des stress génomiques pouvant conduire à la formation de grands cercles. Chez les mammifères, la chromothripsis est courante dans les cellules cancéreuses et il existe une littérature croissante décrivant le rôle de l'eccDNA dans la pathogenèse des tumeurs (Pecorino et al 2022). Dans ces cellules, les ADNecc, notamment en raison de leurs différents régulations états chromatiniens, contribuent à l'amplification des gènes, à la résistance aux médicaments et accélèrent la tumorigenèse (**Figure 12**). Dans le neuroblastome, les ADNecc sont en outre considérés comme une source majeure de réarrangement somatique du génome (Koche et al 2020). Le domaine bio-médical a vécu un véritable engouement pour les ADNecc ces dernières années et des essais thérapeutiques sont

envisagés pour bloquer les ADNecc de cellules cancéreuses grâce à la technologie ciblée de CRISPR (Yi et al 2022).

Chez les bovins, l'ADNecc a probablement induit une variation du nombre de copies au locus KIT, donnant lieu à différents phénotypes de couleur chez les vaches (Durkin et al 2012). Chez les plantes, de tels effets de l'ADNecc n'ont pas encore été observés, et il reste à déterminer si de tels événements se produisent également en conditions naturelles.

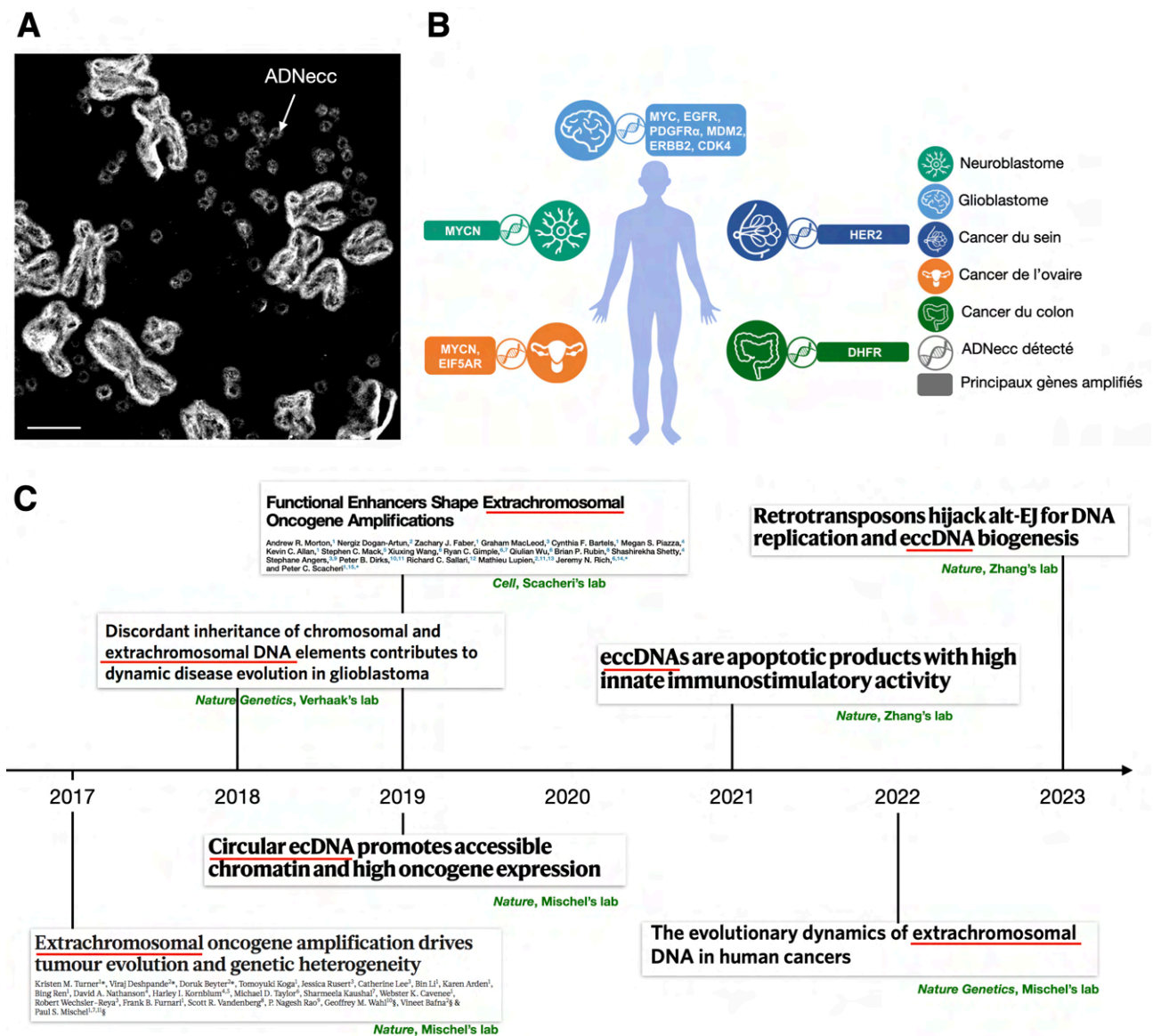


Figure 12. ADNecc et cancer. **A.** Observation d'ADN extrachromosomique circulaire. Image obtenue par microscopie électronique à partir de cellule de cancer colorectal (adapté d'après Wu et al, Nature, 2019, laboratoire de Paul Mischel). Echelle 2 μ m. **B.** Impact des ADNecc dans l'amplification de gènes impliqués dans différents types de cancer. (adapté d'après Gu et al. 2020). **C.** Exemples de titres d'articles montrant l'engouement pour l'étude des ADNecc dans le domaine médical depuis 2017.

A.4.4. ADNecc et régulation épigénétique

Les ADNecc pourraient jouer un nouveau rôle dans les régulations épigénétiques. Les plantes peuvent être très sensibles aux changements du nombre de copies de gènes, ce qui entraîne souvent un silencing efficace (Kim & Zilberman 2014). Les ADNecc pourraient également être une source de petits ARN interférents qui cibleraient les ARNm pour leur dégradation ou favoriseraient la méthylation de l'ADN au niveau de séquences homologues. Concernant le statut épigénétique des ADNecc eux-mêmes, il existe peu de données chez les plantes. Des preuves indirectes, grâce à un Southern blot sensible à la méthylation, suggèrent un déficit de méthylation de l'ADNecc de *ONSEN* induit par la chaleur chez *Arabidopsis* (Pecinka et al 2010). Dans les cellules cancéreuses, des études d'ATAC-seq indiquent que l'accessibilité de la chromatine de l'ADNecc est la plus élevée dans la cellule, notamment au niveau des oncogènes, ce qui conforte le fait que les ADNecc favorisent l'expression des oncogènes dans ces cellules (Kumar et al 2020). Des études complémentaires sont nécessaires pour élucider l'accessibilité de la chromatine au niveau des ADNecc chez les plantes.

A.4.5. ADNecc et réponse au stress

Les ADNecc sont présents dans les organismes non stressés, mais ils sont plus abondants dans les organismes stressés tels que la levure cultivée en carence en nutriments ou les cellules cancéreuses où jusqu'à 60% des ADNecc peuvent contenir un oncogène (Turner et al., 2017; deCarvalho et al., 2018). Chez les plantes, le stress thermique favorise la production d'ADNecc dérivé du rétrotransposon *ONSEN* sensible au stress thermique chez *Arabidopsis* (Lanciano & Mirouze 2018, Thieme et al 2017), le stress dû à la sécheresse augmente l'ADNecc *Rider* chez la tomate (Benoit et al 2019), et le stress froid réprime la formation d'ADNecc *Nightshade* chez la pomme de terre (Esposito et al 2019). D'autres études de mobilome-seq chez des plantes soumises à des stress permettraient de mieux comprendre ces phénomènes.

B. Projet de recherche sur l'impact des ADNecc au laboratoire

B.1. L'ADNecc comme support de l'amplification génique? Un rôle dans l'adaptation rapide aux changements environnementaux?

Des études récentes montrent que la présence d'ADNecc augmente le nombre de copies d'oncogènes et l'hétérogénéité intra-tumorale plus efficacement que l'amplification chromosomique, ce qui suggère que les ADNecc contribuent à une évolution accélérée du cancer et à un mauvais pronostic (Shoshani et al 2021, Turner et al 2017). Soumises à un

stress intense, les plantes tolérantes aux herbicides peuvent également présenter des ADNecc. Enfin nous avons montré que les mutants épigénétiques accumulent les ADNecc (**Figure 13**).

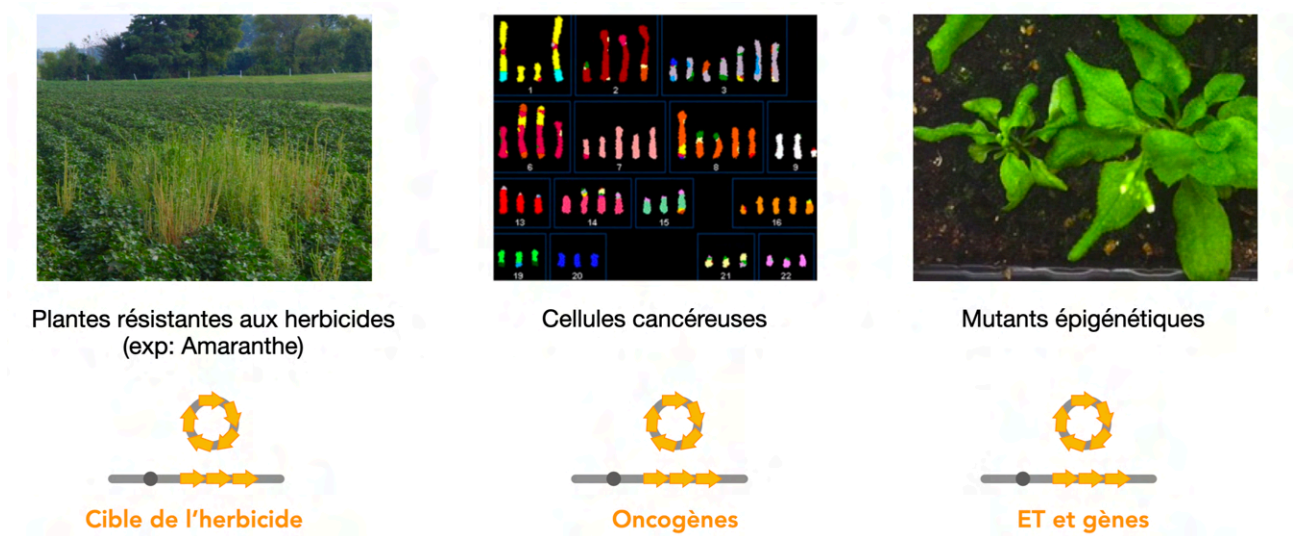


Figure 13. Présence d'ADNecc et de variants structuraux dans trois systèmes biologiques. Certaines plantes résistantes au glyphosate, les cellules cancéreuses et les mutants épigénétiques ont en commun la présence abondante d'ADNecc correspondant à la cible du glyphosate, aux oncogènes et aux ET, respectivement. Des amplifications de gènes sont aussi documentées dans les trois cas sans que le lien entre ADNecc et variants structuraux du génome soit clairement établi.

Même si nous savons depuis un certain temps que les ADNecc sont présents dans les cellules végétales, ce n'est que récemment que nous commençons à disposer d'un répertoire plus complet de régions génomiques qui produisent des ADNecc. De nombreuses questions restent donc ouvertes sur la biogenèse et la fonction de l'ADNecc: quels sont les régulateurs positifs et négatifs de la biogenèse de l'ADNecc? Les ADNecc jouent-ils un rôle dans l'amplification de gènes comme c'est le cas avec les oncogènes dans les cellules cancéreuses? Existe-t-il des boucles de rétroaction qui empêchent la suraccumulation de ces ADNecc? Si oui, comment une plante peut-elle détecter une quantité spécifique d'ADNecc? Pour répondre à ces questions, je conduis un projet de recherche, financé par une ANR PRCI, en collaboration avec mon collègue le Dr Etienne Bucher (Agroscope, Suisse) afin de réaliser des criblages de mutants génétiques pour l'accumulation d'ADNecc chez *Arabidopsis* (**Figure 14**). En parallèle nous menons des approches de gènes candidats axées sur la réparation de l'ADN.

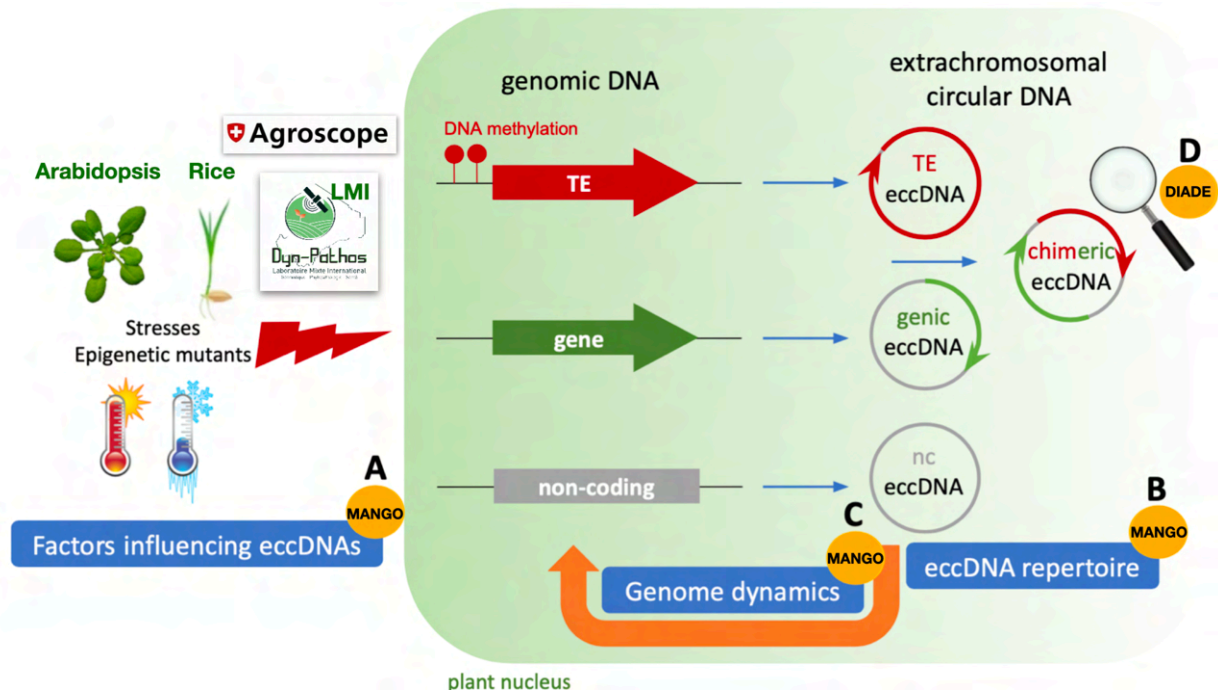


Figure 14. Impact des stress environnementaux sur la formation d'ADNecc et la dynamique du génome. Nos résultats antérieurs ont montré que les ADNecc pouvaient être produits à partir d'éléments transposables (en rouge), mais aussi de gènes (en vert) et de séquences non codantes (en gris). Des ADNecc chimériques ont également été observés. Le projet *CropCircle* aborde les questions suivantes: quels sont les facteurs qui influencent la formation d'ADNecc? (A), quel est le répertoire d'ADNecc dans les plantes stressées? (B), quel est l'impact sur le génome de ces ADNecc? (C), comment visualiser les ADNecc? (D). Deux modèles végétaux sont utilisés: *Arabidopsis thaliana* et le riz. Pour les parties A et B les facteurs étudiés seront les stress environnementaux (chaleur, froid, pathogènes) ainsi que des drogues génotoxiques et des mutants affectés dans les voies de contrôle épigénétique. Dans chaque cas le mobilome-seq est réalisé. Pour la partie C seules les plantes avec une répertoire abondant d'ADNecc sont testées, et leur génome entier est séquencé pour caractériser les variants structuraux induits par le stress et/ou par les ADNecc. Les parties A, B et C sont réalisées par l'équipe MANGO en partenariat avec le Pr Ousmane Koïta du LMI Dyn_Pathos au Mali (bourse IRD ARTS) et le Dr Etienne Bucher de l'Agroscope (Suisse). La partie D est réalisée en collaboration avec le Dr Mathieu Ingouff (DIADe, Montpellier) et le Dr Fred Pontvianne (LGDP, Perpignan) et consiste à développer un outil innovant d'imagerie pour la visualisation *in vivo* des ADNecc.

B.2. Résultats préliminaires

Dans le projet *CropCircle*, nous faisons l'hypothèse que l'ADNecc contribue à la plasticité et à la dynamique du génome en conditions de stress. Nous cherchons ainsi à découvrir les mécanismes moléculaires qui régulent l'accumulation et la diversité de l'ADNecc, l'impact de l'ADNecc sur le génome et son héritabilité aux générations suivantes.

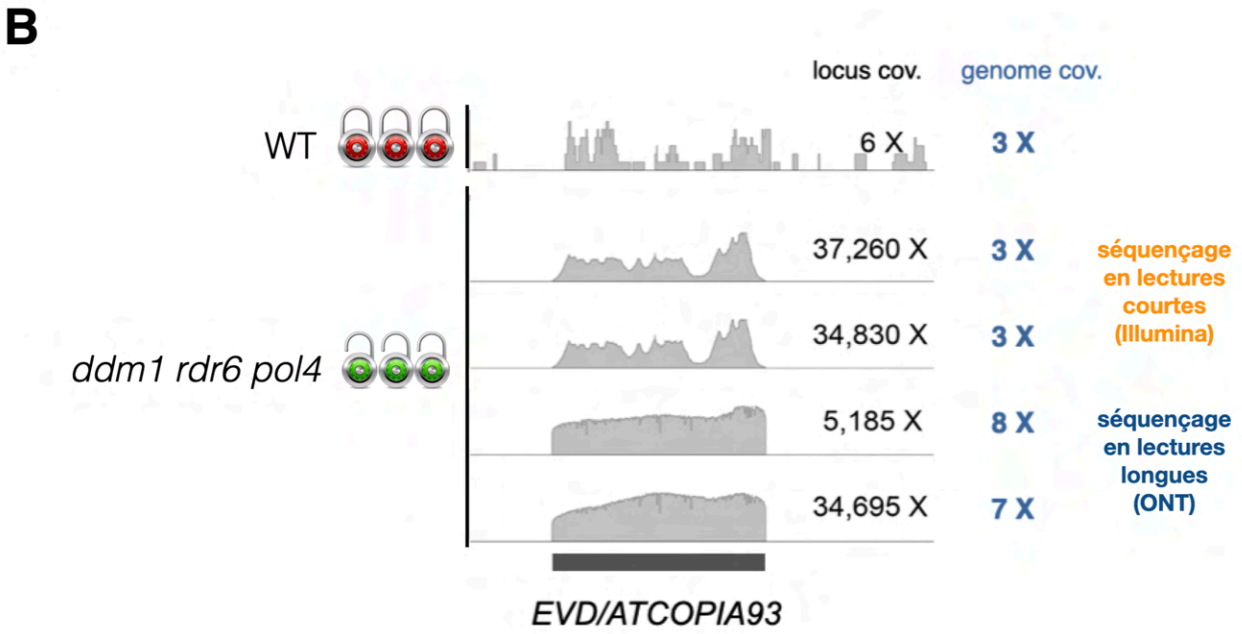
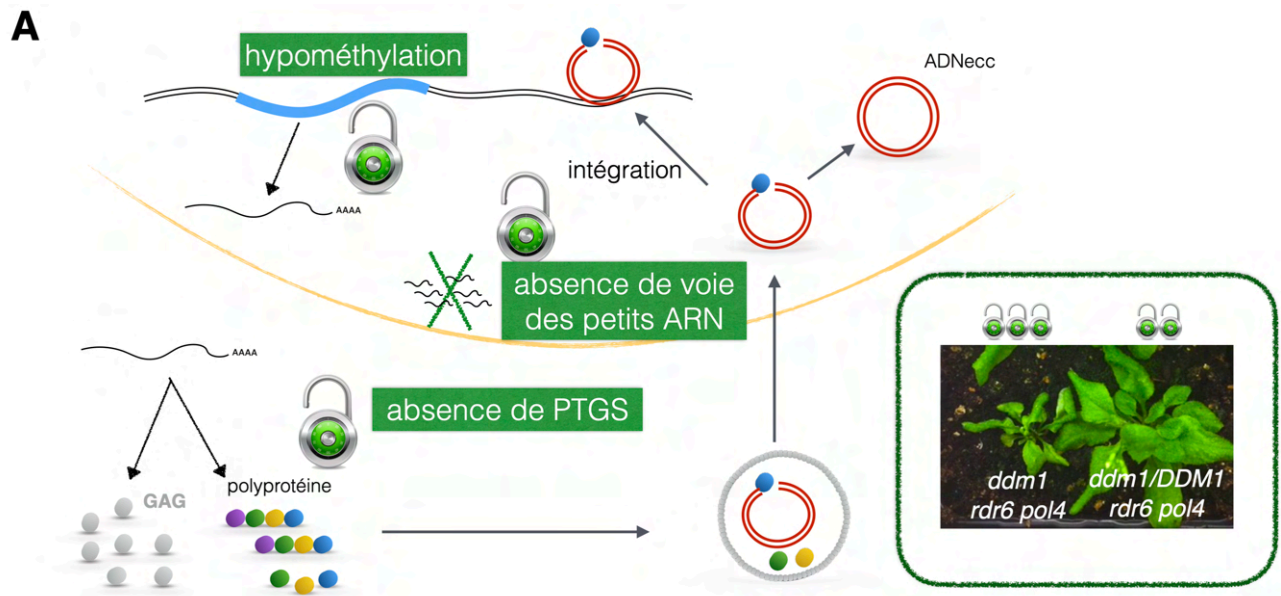


Figure 15. Effet de la levée des verrous sur le cycle de vie d'un rétrotransposon à LTR. A Les trois voies majeures de contrôle des rétrotransposons ont été mutées dans le triple mutant *ddm1 rdr6 pol4*. **B** Résultats du séquençage mobilome-seq dans le triple mutant *ddm1 rdr6 pol4*. Sont indiquées les couvertures moyennes à l'échelle du génome et pour le seul locus d'*EVD*. L'enrichissement spectaculaire est dû pour une partie à l'abondance des ADNecc dans ces plantes mutantes et à l'amplification par RCA. Le signal est incontestablement amélioré par le séquençage en lectures longues. D'après Zhang et al, 2023.

Des données récentes ont étayé cette hypothèse sur l'impact des ADNecc sur le génome. En effet, lors de l'étude des données ADNecc obtenues à partir de plantes d'*Arabidopsis thaliana* défectueuses dans trois voies de silencing clés (DDM1 un remodeleur de la chromatine impliqué dans le maintien de la méthylation de l'ADN, RDR6 une ARN polymérase dépendante de l'ARN et NRPD1 une ARN polymérase spécifique de plante impliquée dans la méthylation *de novo* de l'ADN) des résultats inattendus ont été obtenus : 1) grâce au mobilome-seq nous avons trouvé une forte accumulation d'ADNecc dans ces plantes mutées (**Figure 15**) avec environ 40% de ces ADNecc de nature tronquée (**Figure 16**), 2) grâce au reséquençage de génome en lectures longues (technologie Nanopore), nous avons observé des **variations structurales du génome (Figure 17)**.

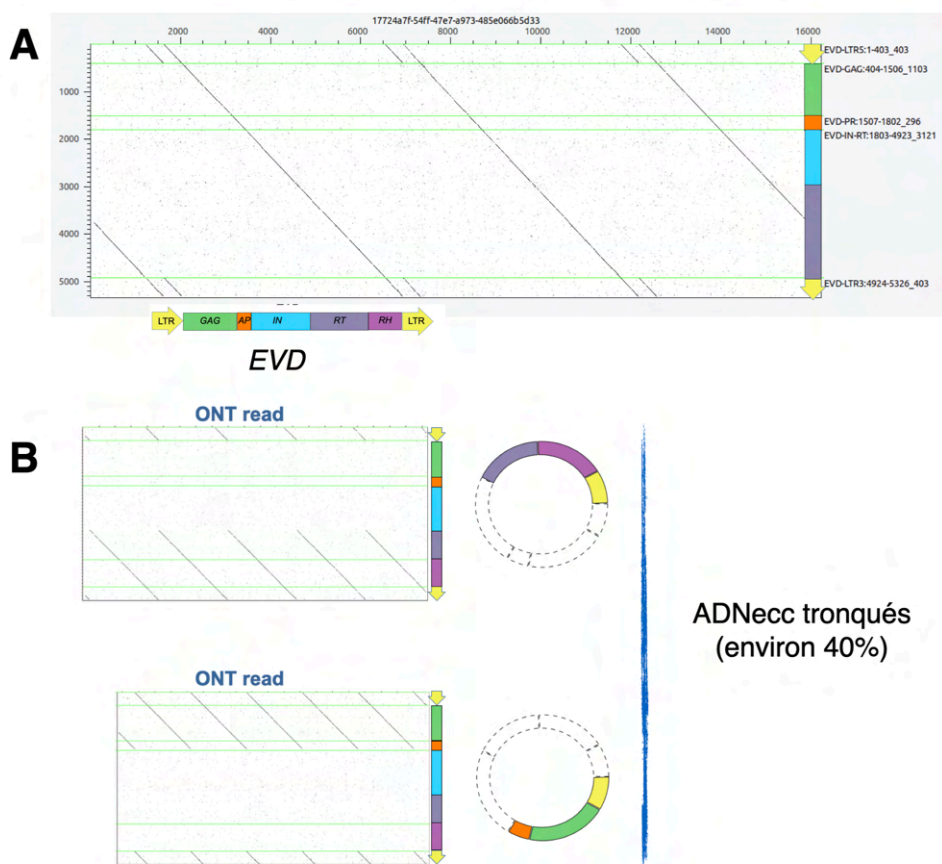
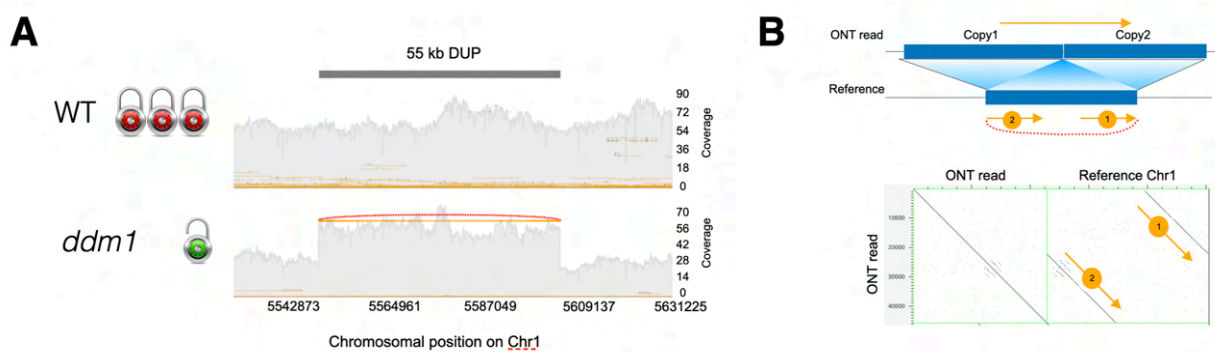


Figure 16. Présence d'ADNecc pleine longueur (A) et tronqués (B) correspondant à *EVD* dans les plantes triple mutantes *ddm1 rdr6 pol4*, révélée par le mobilome-seq en lectures longues. Des dots correspondants à l'alignement entre une lecture et la référence sont montrés dans chaque cas. D'après Zhang et al, 2023.

Ainsi il semble que la formation abondante d'ADNecc lors de stress puisse être à l'origine de variations structurales chez la plante, comme cela est décrit dans les cellules

cancéreuses. Nous réalisons donc un crible systématique de stress environnementaux et analysons les ADNec et le génome des plantes ainsi stressées. Deux modèles sont testés: *Arabidopsis thaliana* (pour la facilité des conditions de croissance), et le riz *Oryza sativa*, une plante cultivée majeure pour la sécurité alimentaire globale. Les stress initialement proposés dans « CropCircle » concernent des stress abiotiques (chaleur, froid, carences nutritives). Cependant je me suis aperçue en travaillant sur des populations naturelles d'*Arabidopsis thaliana* que les variations structurales concernaient principalement des gènes impliqués dans les stress biotiques. Il semble que la pression de sélection entraînée par ces stress soit suffisamment forte pour faire émerger des variants dans une population naturelle. La question de l'étude des stress biotiques s'est donc posée.



◉ C. Projet de recherche sur l'impact des ADNec *in natura*, dans un agro-système rizicole et dans une forêt préservée

C.1. Impact des ADNec *in natura*, dans un agro-système rizicole pour l'étude des stress biotiques

Lors de la mise en place de l'EMR MANGO début 2022, j'ai été contactée par le Laboratoire Mixte International (LMI) Dyn-Pathos (Dynamique spatiale des agents pathogènes et risques sur la santé et l'environnement en zone rurale au Mali) à Bamako. Un des axes de recherche du LMI se focalise sur les maladies des plantes qui peuvent conduire à des pertes de rendement et entraîner la famine ou une baisse de revenus des agriculteurs. Le LMI étudie les différents pathogènes du riz, notamment les *Xanthomonas*,

aussi bien en milieu irrigué que dans les bas-fonds. Cependant, la contribution des différentes variétés de riz à la dynamique des pathogènes dans les différents milieux que ce soit irrigué ou dans les bas-fonds présente encore des lacunes. Le Pr Ousmane Koïta est intéressé par un partenariat pour des analyses transcriptomiques de variétés sensibles et résistantes à des pathogènes de riz. Pour tester l'hypothèse de l'importance des ADNecc et des variants structuraux chez le riz en réponse à un pathogène, nous allons réaliser des expériences de mobilome-seq et de séquençage de génome entier pour les variétés les plus intéressantes. La complémentarité de nos approches nous permettra de tester l'hypothèse du projet *CropCircle* sur des stress biotiques.

C.2. Impact des ADNecc *in natura*, dans une forêt préservée

Au cours de la thèse d'Abirami Soundiramourty, la découverte d'un ET produisant des ADNecc dans des arbres de la forêt de Verzy nous a amené à nous intéresser à la dynamique du génome chez cette espèce. Un petit projet financé par l'Université permet d'explorer ce nouvel axe. L'intérêt est de s'ouvrir à des écosystèmes naturels et à la biodiversité, dans le contexte du stress induit par le changement climatique.

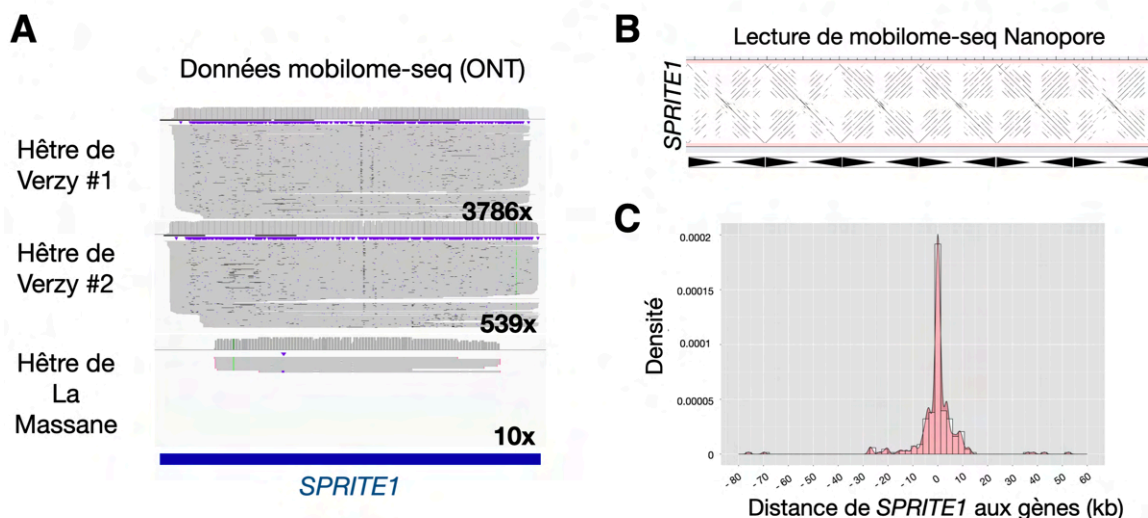


Figure 20. Identification d'un transposon de type MITE (*SPRITE1*) qui produit des ADNecc chez le hêtre. A. Le mobilome de 2 arbres de Verzy et un de la forêt de Massane a été séquençé par Nanopore. Les lectures ont été cartographiées sur le génome de référence du hêtre à l'aide de minimap2. IGV a été utilisé pour visualiser les régions produisant de l'ADNecc. La ligne bleue représente l'annotation de *SPRITE1*. B. Dots d'une lecture Nanopore d'ADNecc contre *SPRITE1*. C. Distribution des membres de la famille *SPRITE1* dans le génome de référence hêtre par leur proximité aux gènes. D'après la thèse d'Abirami Soundiramourty.

Les forêts en Europe ont subi des périodes d'expansion et de contraction au cours des derniers millénaires. Bien que fixées dans le sol, les forêts se déplacent (au cours des générations) et la ligne altitudinale à laquelle poussent certaines essences d'arbres est

dépendante notamment de la température (Gauzere et al 2020). Des projections estiment que cette ligne va être très affectée pour le hêtre (*Fagus sylvatica*), qui constitue une essence majeure des forêts européennes. En France, cette espèce pourrait disparaître, à l'horizon 2100, faute de conditions climatiques qui lui seraient alors favorables (Martinez Del Castillo et al 2022). Bien que les arbres aient des ressources génomiques pour l'adaptation au climat, comme reflété par leur adaptation passée, cette dynamique si rapide du réchauffement climatique ne permettra pas une adaptation, d'après les modèles écologiques (Chuine 2010). Dans le projet « *Bien-Hêtre* » nous souhaitons évaluer les capacités d'adaptation, au niveau génomique, d'une population riche et naturelle de hêtres de la forêt locale de la Massane afin d'identifier les individus les plus à même de s'adapter. A moyen terme le but de cette étude est de participer à un programme de biologie de la conservation et de migration assistée en plantant des individus au phénotype (comportement) et génotype (ADN) naturellement les plus propices à s'adapter. De plus la connaissance de la diversité génomique de cette espèce nous aidera à mieux comprendre les mécanismes principaux en jeu lors de l'évolution du génome chez une espèce à longue durée de vie (duplications de gènes, transposition), ce qui nous éclairera sur des mécanismes plus généraux d'évolution du vivant.

Le point le plus important pour cette analyse reste l'identification des arbres représentant un potentiel intérêt adaptatif. Pour ce faire nous bénéficions du travail colossal mené par l'équipe de la réserve de la Massane qui a collecté depuis 20 ans le phénotype d'une cohorte de 10.000 arbres (dont 150 sont séquencés). Nos données préliminaires (issues du projet BioDivoc « *FagAdapt* ») ont permis d'identifier des phénotypes intéressants tels que des arbres qui débourent plus tôt dans la saison et sont ainsi mieux préparés aux étés chauds, affrontant mieux la sécheresse et produisant plus rapidement des fruits (faines) pour leur cycle de vie. Par ailleurs, les travaux de thèse d'Abirami Soundiramourty ont permis, par des analyses GWAS, d'identifier des différences génomiques entre arbres qui pourraient être associées au phénotype d'intérêt. Nous proposons de tester l'hypothèse selon laquelle les variants structuraux sont à l'origine de phénotypes différents des hêtres de la Massane. A terme les arbres identifiés comme ayant un potentiel adaptatif et pour lesquels nous aurons identifiés des changements au niveau du génome pourront être proposés dans le cadre de projet ultérieurs de conservation.

◉ D. Projet de formation

Pour compléter le projet de recherche, je souhaite développer un projet de formation. L'EMR MANGO est composée de quatre enseignants-chercheurs: 1 professeur et 3 maîtres de conférence de l'Université de Perpignan. Lors de la crise sanitaire de nombreux enseignements ont été proposés en ligne et du matériel pédagogique a été développé dans ce sens. Cette force pédagogique, spécifique à l'équipe, nous a conduit à proposer des enseignements mutualisés avec le LMI Dyn-Pathos. Après plusieurs échanges avec le Professeur Ousmane Koïta et le Dr Marjorie Le Bars, nous avons convenu de contribuer au renforcement d'un Master en Bioinformatique au niveau de l'USSTB (Université des Sciences, des Techniques et des Technologies de Bamako). Au cours de nos échanges, il est en effet apparu un intérêt commun, celui de l'enseignement de modules de bioinformatique au sein de l'USTTB. L'apport de l'équipe MANGO est de pouvoir diversifier le Master au sein du Centre d'Excellence en Bioinformatique, actuellement centré sur les pathogènes humains. Pour cela, l'équipe MANGO va apporter sa formation sur la génomique des végétaux en général et celle du riz en particulier. Dans ce contexte je contribuerai aux enseignements liés aux éléments transposables, à l'épigénomique et aux variations structurales du génome. Je dispose déjà sur ces thèmes de cours de Master que j'ai donnés en 2021 et 2022 (Master de l'Université de Montpellier et Master EUR TULIP).

III. Perspectives

La mutabilité adaptative: un concept à revisiter chez les plantes grâce au séquençage en lecture longue du génome et des ADNcc

Depuis les travaux de Darwin, la question de l'origine de la variabilité ne cesse d'intriguer les scientifiques. L'expérience historique de Luria et Delbrück a suggéré que les mutations chez les bactéries devenant résistantes après exposition aux bactériophages étaient un « fait accompli » c'est à dire provenaient de rares mutations pré-existantes à la sélection. Puis en 1988, J. Cairns et ses collaborateurs ont décrit un système expérimental dans lequel les bactéries semblaient montrer une « mutabilité adaptative » (Cairns, Overbaugh & Miller 1988), définie comme une altération du niveau ou de la spécificité de la mutabilité dans le cadre d'une réponse programmée au stress. Initialement, les résultats ont été interprétés comme suggérant que les bactéries pourraient diriger la mutabilité vers des cibles spécifiques. Cependant des résultats ultérieurs ont suggéré qu'il s'agissait plutôt d'un état hypermutable généralisé induit dans certaines cellules en réponse au stress, un modèle initialement proposé par Hall (Hall 1990). Plus récemment, deux groupes ont montré que la mutabilité induite par le stress existait également chez les cellules cancéreuses, en particulier les cellules du colon (Cipponi et al 2020, Russo et al 2019). La voie MTOR est impliquée dans cette mutabilité. Par ailleurs, en outre cette mutabilité basée sur le taux de mutations de type SNP, Hastings et ses collaborateurs ont montré que l'amplification de gènes était également un processus de mutabilité adaptative chez *E. coli* (Hastings et al 2000). Chez la levure, le laboratoire de Houseley a contribué à montrer que le locus *CUP1* (gène impliqué dans la tolérance au cuivre) était amplifié spécifiquement en réponse à des conditions toxiques de cuivre (Hull & Houseley 2020, Hull et al 2019). De façon très intéressante, la forte transcription du locus à l'origine de l'amplification de gène est un facilitateur de l'amplification (Whale et al 2022). Ces données nous rappellent une conception néo-Lamarckienne de l'évolution dans laquelle les conditions environnementales jouent un rôle sur l'adaptabilité. Cependant il semble que ces concepts soient peu explorés et que ces thèses ne soient pas étayées chez les plantes, à ce jour. Quelques laboratoires s'intéressent néanmoins au sujet. En Allemagne dans le laboratoire de Detlef Weigel, Greg Monroe a récemment publié des travaux assez polémiques sur le caractère non aléatoire des mutations de type SNP (Monroe et al 2022). Enfin les travaux des équipes de Vincent Colot et Léandro Quadrana ont suggéré que l'insertion des ET pourrait être adaptative (Baduel et al 2021, Quadrana et al 2019).

Dans ce contexte, une question majeure du domaine concerne l'existence (ou non) d'une mutabilité adaptative chez les plantes en conditions de stress environnemental aigu. Pour ce qui concerne les amplifications de gènes ou CNV, l'implication de la transcription dans cette mutabilité reste à démontrer. Si c'est le cas cela impliquerait un rôle éventuellement non aléatoire voire ciblé de l'environnement sur les variants structuraux. Il m'apparaît que les progrès technologiques liés au séquençage de génome entier en haute qualité (lectures longues) permettront d'aborder ces sujets dans un futur proche et de répondre ainsi à des questions majeures en biologie. Que les ADNecc jouent un rôle dans cette mutabilité induite par le stress ou pas reste une question ouverte et sera un point de mécanistique particulièrement intéressant dans le cadre de mes recherches.

IV. Publications & Communications

- Numéro Publons: Web of Science ResearcherID [AFL-9387-2022](#)
- Numéro ORCID : <https://orcid.org/0000-0002-0514-1270>
- Numéro ID-Hal : 779529 marie-mirouze

1) Principaux travaux et court résumé

2023. Zhang P, Mbodj A, Soundiramourty A, Llauro C, Ghesquière A, Ingouff M, Slotkin RK, Pontvianne F, Catoni M, **Mirouze M.** *Extrachromosomal circular DNA and structural variants highlight genome instability in Arabidopsis epigenetic mutants.* **Nature Communications (sous presse)** <https://doi.org/10.1038/s41467-023-41023-0>

=> Mise en évidence d'ADNcc tronqués et chimériques et de variants structuraux dans des mutants épigénétiques suggérant un nouveau rôle de l'épigénome dans la stabilité du génome

2017. Lanciano S, Carpentier MC, Llauro C, Jobet E, Robakowska-Hyzorek D, Lasserre E, Ghesquière A, Panaud O, **Mirouze M**[§]. *Sequencing the extrachromosomal circular mobilome reveals retrotransposon activity in plants.* **PLoS Genetics.** 13(2):e1006630. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1006630>

=> Développement de la méthode de mobilome-seq permettant d'étudier les ADNcc

2012. Mirouze M[§], Lieberman-Lazarovich M*, Aversano R, Bucher E, Nicolet J, Reinders J, Paszkowski J. *Loss of DNA methylation affects the recombination landscape in Arabidopsis.* **PNAS**, 109:5880-5 <https://doi.org/10.1073/pnas.1120841109>

=> Etude du rôle de la méthylation de l'ADN sur la recombinaison méiotique

2010. Ito H, Gaubert H, Bucher E, **Mirouze M**, Vaillant I & Paszkowski J. *An siRNA pathway prevents transgenerational retrotransposition in plants subjected to stress* **Nature**, 472:115-9 <https://doi.org/10.1038/nature09861>

=> Identification d'un rétrotransposon actif en réponse à la chaleur chez *Arabidopsis thaliana*

2009. Mirouze M^{*}, Reinders J^{*}, Bucher E, Nishimura T, Schneeberger K, Ossowski S, Cao J, Weigel D, Paszkowski J & Mathieu O. *Selective epigenetic control of retrotransposition in Arabidopsis* **Nature** 461:427-30 <https://doi.org/10.1038/nature08328>

= > Identification d'un rétrotransposon actif dans des plantes hypométhylées d'*Arabidopsis thaliana*

2) Articles scientifiques

Liste complète des articles dans des revues internationales à comité de lecture

2023-2. Zhang P, Mbodj A, Soundiramourty A, Llauro C, Ghesquière A, Ingouff M, Slotkin RK, Pontvianne F, Catoni M, **Mirouze M**
Extrachromosomal circular DNA and structural variants highlight genome instability in Arabidopsis epigenetic mutants
Nature Communications (sous presse) <https://doi.org/10.1038/s41467-023-41023-0>

2023-1. Delorme-Hinoux V, Mbodj A, Brando S, De Bures A, Llauro C, Covato F, Garrigue J, Guisset C,

Borrut J, **Mirouze M**, Reichheld JP, Sáez-Vásquez J
45S rDNA Diversity In Natura as One Step towards Ribosomal Heterogeneity in Arabidopsis thaliana
Plants, 12, 2722. <https://doi.org/10.3390/plants12142722>

2022-1. Peng H, **Mirouze M**, Bucher E.
Extrachromosomal circular DNA: A neglected nucleic acid molecule in plants.
Current Opinion Plant Biology 21;69:102263 (REVIEW)
<https://doi.org/10.1016/j.pbi.2022.102263>

2022-2. Kwolek K, Kędzierska P, Hankiewicz M, **Mirouze M**, Panaud O, Grzebelus D, Macko-Podgórní A.
Diverse and mobile: eccDNA-based identification of carrot low-copy-number LTR retrotransposons active in callus cultures.
Plant Journal 110(6):1811-1828.
<https://doi.org/10.1111/tbj.15773>

2022-3. Nunn A, Rodríguez-Arévalo I, Tandukar Z, Frels K, Contreras-Garrido A, Carbonell-Bejerano P, Zhang P, Ramos Cruz D, Jandrasits K, Lanz C, Brusa A, **Mirouze M**, Dorn K, Galbraith DW, Jarvis BA, Sedbrook JC, Wyse DL, Otto C, Langenberger D, Stadler PF, Weigel D, Marks MD, Anderson JA, Becker C, Chopra R.
*Chromosome-level *Thlaspi arvense* genome provides new tools for translational research and for a newly domesticated cash cover crop of the cooler climates.*
Plant Biotechnology Journal 20(5):944-963.
<https://doi.org/10.1111/pbi.13775>

2021-1. Meschichi A, Ingouff M, Picart C, **Mirouze M**, Desset S, Gallardo F, Bystricky K, Picault N, Rosa S, Pontvianne F.
ANCHOR: A Technical Approach to Monitor Single-Copy Locus Localization in Planta.
Front Plant Science 12:677849.
<https://doi.org/10.3389/fpls.2021.677849>
<https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fpls.2021.677849/full>

2021-2. Sow MD, Le Gac AL, Fichot R, Lanciano S, Delaunay A, Le Jan I, Lesage-Descauses MC, Citerne S, Caius J, Brunaud V, Soubigou-Taconnat L, Cochard H, Segura V, Chaparro C, Grunau C, Daviaud C, Tost J, Brignolas F, Strauss SH, **Mirouze M**, Maury S.
RNAi suppression of DNA methylation affects the drought stress response and genome integrity in transgenic poplar.
New Phytologist 232:80-97.
<https://doi.org/10.1111/nph.17555>
<https://nph.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/nph.17555>

2021-3. Lanciano S, Zhang P, Llauro C, **Mirouze M**.
Identification of Extrachromosomal Circular Forms of Active Transposable Elements Using Mobilome-Seq.
Methods Molecular Biology 2250:87-93.
https://doi.org/10.1007/978-1-0716-1134-0_7
https://experiments.springernature.com/articles/10.1007/978-1-0716-1134-0_7

2021-4. Zhang P, Haoran P, Llauro C, Bucher E, **Mirouze M**
Ecc_finder: a robust and accurate tool for detecting extrachromosomal circular DNA (eccDNA) from sequencing data
Frontiers in Plant Science 12:743742.
<http://doi.org/10.3389/fpls.2021.743742>

2020-1. Picart-Piccolo A, Grob S, Picault N, Franek M, Llauro C, Halter T, Maier TR, Jobet E, Descombin J, Zhang P, Paramasivan V, Baum T, Navarro L, Dvořáčková M, **Mirouze M**, Pontvianne F.
Large tandem duplications affect gene expression, 3D organization, and plant-pathogen response.
Genome Research 30(11):1583-1592.
<https://doi.org/10.1101/gr.261586.120>
<https://genome.cshlp.org/content/early/2020/10/05/gr.261586.120.abstract>

2019-1. Bertioli DJ, ..., Lanciano S, .. **Mirouze M**,... Schmutz J.
*The genome sequence of segmental allotetraploid peanut *Arachis hypogaea*.*
Nature Genetics 51(5):877-884.
<https://doi.org/10.1038/s41588-019-0405-z>
<https://www.nature.com/articles/s41588-019-0405-z>

2019-2. Esposito S, Barteri F, Casacuberta J, **Mirouze M**, Carputo D, Aversano R.

LTR-TEs abundance, timing and mobility in Solanum commersonii and S. tuberosum genomes following cold-stress conditions.

Planta. 250(5):1781-1787.

<https://doi.org/10.1007/s00425-019-03283-3>

<https://link.springer.com/article/10.1007/s00425-019-03283-3>

2018-1. Barckmann B, El-Barouk M, Péliou A, Mugat B, Li B, Franckhauser C, Fiston Lavier AS, **Mirouze M**, Fablet M, Chambeyron S.

The somatic piRNA pathway controls germline transposition over generations.

Nucleic Acids Res. 46(18):9524-9536.

<https://doi.org/10.1093/nar/gky761>

2018-2. Esposito S, Aversano R, D'Amelia V, Villano C, Alioto D, **Mirouze M**, Carputo D.

Dicer-like and RNA-dependent RNA polymerase gene family identification and annotation in the cultivated Solanum tuberosum and its wild relative S. commersonii.

Planta. 248(3):729-743.

<https://doi.org/10.1007/s00425-018-2937-3>

2018-3. Lanciano S, **Mirouze M**.

Transposable elements: all mobile, all different, some stress responsive, some adaptive?

Curr Opin Genet Dev. 49:106-114 (REVIEW)

<https://doi.org/10.1016/j.gde.2018.04.002>

2018-4. Poirier EZ, Goic B, Tomé-Poderti L, Frangeul L, Boussier J, Gausson V, Blanc H, Vallet T, Loyd H, Levi LI, Lanciano S, Baron C, Merklings SH, Lambrechts L, **Mirouze M**, Carpenter S, Vignuzzi M, Saleh MC. *Dicer-2-Dependent Generation of Viral DNA from Defective Genomes of RNA Viruses Modulates Antiviral Immunity in Insects* (2018).

Cell Host Microbe. 23(3):353-365.e8.

<https://doi.org/10.1016/j.chom.2018.02.001>

2017-1. Richards CL, C Alonso, C Becker, O Bossdorf, E Bucher, M Colome-Tatche, W Durka, J Engelhardt, B Gaspar, A Gogol-Doring, I Grosse, T P. van Gorp, K Heer, I Kronholm, C Lampei, V Latzel, **Mirouze M**, L Opgenoorth, O Paun, S Prohaska, S A. Rensing, P Stadler, E Trucchi, K Ullrich, K Verhoeven.

Ecological plant epigenetics: Evidence from model and non-model species, and the way forward

Ecol Lett. (12):1576-1590 (REVIEW)

<https://doi.org/10.1111/ele.12858>

2017-4. Debladis E, Llauro C, Carpentier MC, **Mirouze M**, Panaud O.

Detection of active transposable elements in Arabidopsis thaliana using Oxford Nanopore Sequencing technology

BMC Genomics. 18(1):537

<https://doi.org/10.1186/s12864-017-3753-z>

2017-3. Thieme M, Lanciano S, Balzergue S, Daccord N, **Mirouze M**, Bucher E.

Inhibition of RNA polymerase II allows controlled mobilisation of retrotransposons for plant breeding

Genome Biol. 18(1):134

<https://doi.org/10.1186/s13059-017-1265-4>

2017-2. Lanciano S, **Mirouze M**§.

DNA methylation in rice and relevance for breeding (2017).

Epigenomes 1(2),10 (REVIEW)

<https://doi.org/10.3390/epigenomes1020010>

2017-1. Lanciano S, Carpentier MC, Llauro C, Jobet E, Robakowska-Hyzorek D, Lasserre E, Ghesquière A, Panaud O, **Mirouze M**§.

Sequencing the extrachromosomal circular mobilome reveals retrotransposon activity in plants

PLoS Genetics. 13(2):e1006630.

<https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1006630>

2016-1. Rey O, Danchin E, **Mirouze M**, Loot C, Blanchet S.

Adaptation to Global Change: A Transposable Element-Epigenetics Perspective

Trends Ecol Evol. 31:514-26 (REVIEW)

2015-1. Rubin BP, Brockes J, Galliot B, Grossniklaus U, Lobo D, Mainardi M, **Mirouze M**, Prochiantz A, Steger A.

A dynamic architecture of life

F1000Res. 18:1288 (REVIEW)

<https://doi.org/10.12688/f1000research.7315.1>

2014-1. Mirouze M[§], Vitte C[§].

Transposable elements, a treasure trove to decipher epigenetic variation: insights from Arabidopsis and crop epigenomes

Journal of Experimental Botany, 65: 2801-2812 (REVIEW)

2014-2. El Baidouri M, Carpentier MC, Cooke R, Gao D, Lasserre E, Llauro C, **Mirouze M**, Picault N, Jackson SA, Panaud O.

Widespread and frequent horizontal transfers of transposable elements in plants

Genome Research, 24:831-8

2013-1. Reinders J[§], **Mirouze M**[§], Nicolet J, Paszkowski J.

Parent-of-origin control of transgenerational retrotransposon proliferation in Arabidopsis

EMBO Reports, 14 :823-8

2013-2. Bräutigam K, Vining, KJ, Lafon-Placette C, Fossdal CG, **Mirouze M**, Marcos, José Gutiérrez, Fluch S, Fraga MF, Guevara, MÁ, Abarca D, Johnsen Ø, Maury S, Strauss SH, Campbell M, Rohde A, Díaz-Sala C, Cervera MT.

Epigenetic regulation of adaptive responses of forest tree species to the environment

Ecology and Evolution, 3:399-415 (REVIEW)

2012-1. Mirouze M[§].

The small-RNA-based odyssey of epigenetic information in plants: from cells to species

Journal of DNA and Cell Biology, 12:1650-6 (REVIEW)

2012-2. Bucher E[§], Reinders J, **Mirouze M**[§].

Epigenetic regulation of transposon expression and mobility in Arabidopsis

Current Opinion in Plant Biology 15:503-510 (REVIEW)

2012-3. Mirouze M^{*§}, Lieberman-Lazarovich M^{*}, Aversano R, Bucher E, Nicolet J, Reinders J, Paszkowski J. *Loss of DNA methylation affects the recombination landscape in Arabidopsis*

PNAS, 109:5880-5 <https://doi.org/10.1073/pnas.1120841109>

2011-1. Mirouze M[§] & Paszkowski J.

Epigenetic contribution to stress adaptation in plants

Current Opinion in Plant Biology, 14:267-274 (REVIEW)

2010-1. Ito H, Gaubert H, Bucher E, **Mirouze M**, Vaillant I & Paszkowski J.

An siRNA pathway prevents transgenerational retrotransposition in plants subjected to stress

Nature, 472:115-9 <https://doi.org/10.1038/nature09861>

2009-1. Mirouze M^{*}, Reinders J^{*}, Bucher E, Nishimura T, Schneeberger K, Ossowski S, Cao J, Weigel D, Paszkowski J & Mathieu O.

Selective epigenetic control of retrotransposition in Arabidopsis

Nature 461:427-30 <https://doi.org/10.1038/nature08328>

2009-2. Reinders J, Wulff B, **Mirouze M**, Ordonez AM, Dapp M, Rozhon W, Bucher E, Theiler G, Paszkowski J.

Compromised stability of DNA methylation and transposon immobilization in mosaic Arabidopsis epigenomes

Genes & Development 23(8):939-50

2008-1. Lacombe E, Cossegal M, **Mirouze M**, Adam T, Varoquaux F, Loubet S, Piffanelli P, Lebrun M & Berthomieu P.

Construction and characterisation of a BAC library from Arabidopsis halleri: evaluation of physical mapping based on conserved synteny with Arabidopsis thaliana

Plant Science 194:634-640

2006-1. Mirouze M, Sels J, Richard O, Czernic P, Loubet S, Jacquier A, François I, Cammue B, Lebrun M, Berthomieu P & Marquès L.

A new role for plant defensins: a defensin from the zinc hyperaccumulating plant Arabidopsis halleri confers zinc tolerance

The Plant Journal 47, 329-342

3) Ouvrages scientifiques

◊ Edition scientifique d'ouvrage

2019-1. Mirouze M, Bucher E, Gallusci P. **Advances in Botanical Research**. Editions Elsevier (co-éditrice)



◊ Chapitre d'ouvrage

Aspects of Epigenetic Regulation in Cereals

Oltehua-Lopez O, E.Dorantes-Acosta A, Ingouff M, Lanciano S, Leblanc O, Grimanelli D, Mirouze M, Arteaga-Vazquez M. *Advances in Botanical Research, Volume 88, 2018, Pages 361-386, Plant Epigenetics Coming of Age for Breeding Applications*

4) Congrès et colloques

Conférences sur invitation dans des congrès internationaux

- 2022 Vienna Biology Center (Autriche) « *Pushing Boundaries meeting* » (virtuel)
- 2021 EU COST Epi-Catch *Epigenetic mechanisms of Crop Adaptation to climate change* (virtuel)
- 2016 International Congress on Transposable Elements, Saint Malo, France
- 2015 Keystone Symposium, RNA silencing in Plants, Colorado, USA
- 2015 2nd meeting on Plant Genome Dynamics, Barcelone, Espagne
- 2014 Workshop Collegium Helveticum Collège de France, Rome, Italie
- 2014 International meeting of the Italian Life Science Society, Pise, Italie
- 2013 Society for Experimental Biology's (SEB) Meeting, Valence, Espagne

Conférences sur sélection dans des congrès internationaux

- 2011 CNRS Conference Jacques Monod, Roscoff, France
- 2010 19th Plant Molecular and Cell Biology Conference, Les Diablerets, Suisse

Séminaires sur invitation dans des Universités ou congrès nationaux (depuis 2012)

- 2020 « Omics days » de Montpellier
- 2015 Université de Naples, Italie
- 2014 Université UFRGS de Porto Alegre, Brésil
- 2014 Université de Pelotas, Brésil
- 2014 Université de Georgie, USA
- 2014 CEA Cadarache, France
- 2014 Campus INRA Montpellier, France
- 2012 Université de Lausanne, Suisse

V. Bibliographie

- Baduel P, Leduque B, Ignace A, Gy I, Gil J, et al. 2021. Genetic and environmental modulation of transposition shapes the evolutionary potential of *Arabidopsis thaliana*. *Genome Biol.* 22
- Barckmann B, El-Barouk M, Pelisson A, Mugat B, Li B, et al. 2018. The somatic piRNA pathway controls germline transposition over generations. *Nucleic Acids Res.* 46: 9524-36
- Benoit M, Drost HG, Catoni M, Gouil Q, Lopez-Gomollon S, Baulcombe D, Paszkowski J. 2019. Environmental and epigenetic regulation of Rider retrotransposons in tomato. *PLoS Genet.* 15
- Bertioli DJ, Jenkins J, Clevenger J, Dudchenko O, Gao DY, et al. 2019. The genome sequence of segmental allotetraploid peanut *Arachis hypogaea*. *Nature Genet.* 51: 877-+
- Cairns J, Overbaugh J, Miller S. 1988. The origin of mutants. *Nature* 335: 142-5
- Chu J, Wang L, Cho JN. 2023. PopRice extrachromosomal DNA sponges ABSCISIC ACID-INSENSITIVE 5 in rice seed-to-seedling transition. *Plant Physiol.* 192: 56-59
- Chaine I. 2010. Why does phenology drive species distribution? *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 365: 3149-60
- Cipponi A, Goode DL, Bedo J, McCabe MJ, Pajic M, et al. 2020. mTOR signaling orchestrates stress-induced mutagenesis, facilitating adaptive evolution in cancer. *Science* 368: 1127-31
- Cohen S, Houben A, Segal D. 2008. Extrachromosomal circular DNA derived from tandemly repeated genomic sequences in plants. *Plant J.* 53: 1027-34
- Cohen S, Yacobi K, Segal D. 2003. Extrachromosomal circular DNA of tandemly repeated genomic sequences in *Drosophila*. *Genome Res.* 13: 1133-45
- deCarvalho AC, Kim H, Poisson LM, Winn ME, Mueller C, et al. 2018. Discordant inheritance of chromosomal and extrachromosomal DNA elements contributes to dynamic disease evolution in glioblastoma. *Nature Genet.* 50: 708-+
- Durkin K, Coppieters W, Drogemuller C, Ahariz N, Cambisano N, et al. 2012. Serial translocation by means of circular intermediates underlies colour sidedness in cattle. *Nature* 482: 81-U103
- Esposito S, Barteri F, Casacuberta J, Mirouze M, Carputo D, Aversano R. 2019. LTR-TEs abundance, timing and mobility in *Solanum commersonii* and *S. tuberosum* genomes following cold-stress conditions. *Planta* 250: 1781-87
- Fedoroff NV. 2012. Presidential address. Transposable elements, epigenetics, and genome evolution. *Science* 338: 758-67
- Feschotte C. 2008. Transposable elements and the evolution of regulatory networks. *Nat Rev Genet* 9: 397-405
- Gaines TA, Patterson EL, Neve P. 2019. Molecular mechanisms of adaptive evolution revealed by global selection for glyphosate resistance. *New Phytol.* 223: 1770-75
- Garfinkel DJ, Stefanisko KM, Nyswaner KM, Moore SP, Oh J, Hughes SH. 2006. Retrotransposon suicide: Formation of Ty1 circles and autointegration via a central DNA flap. *J. Virol.* 80: 11920-34
- Gauzere J, Teuf B, Davi H, Chevin LM, Caignard T, et al. 2020. Where is the optimum? Predicting the variation of selection along climatic gradients and the adaptive value of plasticity. A case study on tree phenology. *Evol Lett* 4: 109-23

- Grabundzija I, Hickman AB, Dyda F. 2018. Helraiser intermediates provide insight into the mechanism of eukaryotic replicative transposition. *Nat Commun* 9: 1278
- Gresham D, Usaite R, Germann SM, Lisby M, Botstein D, Regenberg B. 2010. Adaptation to diverse nitrogen-limited environments by deletion or extrachromosomal element formation of the GAP1 locus. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 107: 18551-56
- Gu X, Yu J, Chai PW, Ge SF, Fan XQ. 2020. Novel insights into extrachromosomal DNA: redefining the onco-drivers of tumor progression. *J. Exp. Clin. Cancer Res.* 39: 10
- Hacker L, Dorn A, Enderle J, Puchta H. 2022. The repair of topoisomerase 2 cleavage complexes in Arabidopsis. *Plant Cell* 34: 287-301
- Hall BG. 1990. Spontaneous point mutations that occur more often when advantageous than when neutral. *Genetics* 126: 5-16
- Hastings PJ, Bull HJ, Klump JR, Rosenberg SM. 2000. Adaptive amplification: an inducible chromosomal instability mechanism. *Cell* 103: 723-31
- Henriksen RA, Jenjaroenpun P, Sjostrom IB, Jensen KR, Prada-Luengo I, et al. 2022. Circular DNA in the human germline and its association with recombination. *Mol. Cell* 82: 209-+
- Hirochika H, Otsuki H. 1995. EXTRACHROMOSOMAL CIRCULAR FORMS OF THE TOBACCO RETROTRANSPOSON-TTO1. *Gene* 165: 229-32
- Hotta Y, Bassel A. 1965. MOLECULAR SIZE AND CIRCULARITY OF DNA IN CELLS OF MAMMALS AND HIGHER PLANTS. *Proc Natl Acad Sci U S A* 53: 356-62
- Huang YJ, Ding WJ, Zhang MQ, Han JL, Jing YNF, et al. 2021. The formation and evolution of centromeric satellite repeats in Saccharum species. *Plant J.* 106: 616-29
- Hull RM, Houseley J. 2020. The adaptive potential of circular DNA accumulation in ageing cells. *Curr. Genet.* 66: 889-94
- Hull RM, King M, Pizza G, Krueger F, Vergara X, Houseley J. 2019. Transcription-induced formation of extrachromosomal DNA during yeast ageing. *PLoS. Biol.* 17: 29
- Hung KL, Luebeck J, Dehkordi SR, Colon CI, Li R, et al. 2022. Targeted profiling of human extrachromosomal DNA by CRISPR-CATCH. *Nature Genet.* 54: 1746-+
- Ito H, Gaubert H, Bucher E, Mirouze M, Vaillant I, Paszkowski J. 2011. An siRNA pathway prevents transgenerational retrotransposition in plants subjected to stress. *Nature* 472: 115-U51
- Joffroy B, Uca YO, Presern D, Doye JPK, Schmidt TL. 2018. Rolling circle amplification shows a sinusoidal template length-dependent amplification bias. *Nucleic Acids Res* 46: 538-45
- Joubert PM, Krasileva KV. 2022. The extrachromosomal circular DNAs of the rice blast pathogen *Magnaporthe oryzae* contain a wide variety of LTR retrotransposons, genes, and effectors. *BMC Biol.* 20: 28
- Kim MY, Zilberman D. 2014. DNA methylation as a system of plant genomic immunity. *Trends in Plant Science* 19: 320-26
- Kinoshita Y, Ohnishi N, Yamada Y, Kunisada T, Yamagishi H. 1985. EXTRACHROMOSOMAL CIRCULAR DNA FROM NUCLEAR FRACTION OF HIGHER-PLANTS. *Plant Cell Physiol.* 26: 1401-09
- Kirov I, Omarov M, Merkulov P, Dudnikov M, Gvaramiya S, et al. 2020. Genomic and Transcriptomic Survey Provides New Insight into the Organization and Transposition Activity of

- Highly Expressed LTR Retrotransposons of Sunflower (*Helianthus annuus* L.). *Int. J. Mol. Sci.* 21: 20
- Kobayashi T, Heck DJ, Nomura M, Horiuchi T. 1998. Expansion and contraction of ribosomal DNA repeats in *Saccharomyces cerevisiae*: requirement of replication fork blocking (Fob1) protein and the role of RNA polymerase I. *Genes Dev* 12: 3821-30
- Koche RP, Rodriguez-Fos E, Helmsauer K, Burkert M, MacArthur IC, et al. 2020. Extrachromosomal circular DNA drives oncogenic genome remodeling in neuroblastoma. *Nature Genet.* 52: 29-+
- Koo DH, Molin WT, Saski CA, Jiang J, Putta K, et al. 2018. Extrachromosomal circular DNA-based amplification and transmission of herbicide resistance in crop weed *Amaranthus palmeri*. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 115: 3332-37
- Kumar P, Kiran S, Saha S, Su ZL, Paulsen T, et al. 2020. ATAC-seq identifies thousands of extrachromosomal circular DNA in cancer and cell lines. *Sci. Adv.* 6: 11
- Kwolek K, Kedzierska P, Hankiewicz M, Mirouze M, Panaud O, Grzebelus D, Macko-Podgorni A. 2022. Diverse and mobile: eccDNA-based identification of carrot low-copy-number LTR retrotransposons active in callus cultures. *Plant J.* 110: 1811-28
- Lanciano S, Carpentier MC, Llauro C, Jobet E, Robakowska-Hyzorek D, et al. 2017. Sequencing the extrachromosomal circular mobilome reveals retrotransposon activity in plants. *PLoS Genet.* 13: 20
- Lanciano S, Cristofari G. 2020. Measuring and interpreting transposable element expression. *Nat Rev Genet* 21: 721-36
- Lanciano S, Mirouze M. 2018. Transposable elements: all mobile, all different, some stress responsive, some adaptive? *Curr. Opin. Genet. Dev.* 49: 106-14
- Liao ZY, Jiang W, Ye LY, Li TJ, Yu XJ, Liu L. 2020. Classification of extrachromosomal circular DNA with a focus on the role of extrachromosomal DNA (ecDNA) in tumor heterogeneity and progression. *Biochim. Biophys. Acta-Rev. Cancer* 1874: 8
- Liu P, Cuerda-Gil D, Shahid S, Slotkin RK. 2022. The Epigenetic Control of the Transposable Element Life Cycle in Plant Genomes and Beyond. *Annu Rev Genet* 56: 63-87
- Mann L, Seibt KM, Weber B, Heitkam T. 2022. ECCsplorer: a pipeline to detect extrachromosomal circular DNA (eccDNA) from next-generation sequencing data. *BMC Bioinformatics* 23: 15
- Mansisidor A, Molinar T, Srivastava P, Dartis DD, Delgado AP, et al. 2018. Genomic Copy-Number Loss Is Rescued by Self-Limiting Production of DNA Circles. *Mol. Cell* 72: 583-+
- Martinez Del Castillo E, Zang CS, Buras A, Hackett-Pain A, Esper J, et al. 2022. Climate-change-driven growth decline of European beech forests. *Commun Biol* 5: 163
- Mehta D, Cornet L, Hirsch-Hoffmann M, Zaidi S, Vanderschuren H. 2020. Full-length sequencing of circular DNA viruses and extrachromosomal circular DNA using CIDER-Seq. *Nat. Protoc.* 15: 1673-89
- Mhiri C, Borges F, Grandbastien MA. 2022. Specificities and Dynamics of Transposable Elements in Land Plants. *Biology-Basel* 11
- Mirouze M, Lieberman-Lazarovich M, Aversano R, Bucher E, Nicolet J, Reinders J, Paszkowski J. 2012. Loss of DNA methylation affects the recombination landscape in *Arabidopsis*. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 109: 5880-85

- Mirouze M, Reinders J, Bucher E, Nishimura T, Schneeberger K, et al. 2009. Selective epigenetic control of retrotransposition in *Arabidopsis*. *Nature* 461: 427-U130
- Mirouze M, Sels J, Richard O, Czernic P, Loubet S, et al. 2006. A putative novel role for plant defensins: a defensin from the zinc hyper-accumulating plant, *Arabidopsis halleri*, confers zinc tolerance. *Plant J.* 47: 329-42
- Miura A, Yonebayashi S, Watanabe K, Toyama T, Shimada H, Kakutani T. 2001. Mobilization of transposons by a mutation abolishing full DNA methylation in *Arabidopsis*. *Nature* 411: 212-14
- Molin WT, Yaguchi A, Blenner M, Saski CA. 2020. The EccDNA Replicon: A Heritable, Extranuclear Vehicle That Enables Gene Amplification and Glyphosate Resistance in *Amaranthus palmeri*. *Plant Cell* 32: 2132-40
- Moller HD, Mohiyuddin M, Prada-Luengo I, Sailani MR, Halling JF, et al. 2018. Circular DNA elements of chromosomal origin are common in healthy human somatic tissue. *Nat. Commun.* 9: 12
- Monroe JG, Srikant T, Carbonell-Bejerano P, Becker C, Lensink M, et al. 2022. Mutation bias reflects natural selection in *Arabidopsis thaliana*. *Nature* 602: 101-05
- Navratilova A, Koblizkova A, Macas J. 2008. Survey of extrachromosomal circular DNA derived from plant satellite repeats. *BMC Plant Biol.* 8: 13
- Pecinka A, Dinh HQ, Baubec T, Rosa M, Lettner N, Scheid OM. 2010. Epigenetic Regulation of Repetitive Elements Is Attenuated by Prolonged Heat Stress in *Arabidopsis*. *Plant Cell* 22: 3118-29
- Pecorino LT, Verhaak RGW, Henssen A, Mischel PS. 2022. Extrachromosomal DNA (ecDNA): an origin of tumor heterogeneity, genomic remodeling, and drug resistance. *Biochem. Soc. Trans.:* 10
- Peng HR, Mirouze M, Bucher E. 2022. Extrachromosomal circular DNA: A neglected nucleic acid molecule in plants. *Curr. Opin. Plant Biol.* 69: 9
- Pickett HA, Cesare AJ, Johnston RL, Neumann AA, Reddel RR. 2009. Control of telomere length by a trimming mechanism that involves generation of t-circles. *Embo J.* 28: 799-809
- Poirier EZ, Goic B, Tome-Poderti L, Frangeul L, Boussier J, et al. 2018. Dicer-2-Dependent Generation of Viral DNA from Defective Genomes of RNA Viruses Modulates Antiviral Immunity in Insects. *Cell Host Microbe* 23: 353-+
- Quadrana L, Etcheverry M, Gilly A, Caillieux E, Madoui MA, et al. 2019. Transposition favors the generation of large effect mutations that may facilitate rapid adaptation. *Nat Commun* 10: 3421
- Reinders J, Vivier CD, Theiler G, Chollet D, Descombes P, Paszkowski J. 2008. Genome-wide, high-resolution DNA methylation profiling using bisulfate-mediated cytosine conversion. *Genome Res.* 18: 469-76
- Roquis D, Robertson M, Yu L, Thieme M, Julkowska M, Bucher E. 2021. Genomic impact of stress-induced transposable element mobility in *Arabidopsis*. *Nucleic Acids Res.* 49: 10431-47
- Russo M, Crisafulli G, Sogari A, Reilly NM, Arena S, et al. 2019. Adaptive mutability of colorectal cancers in response to targeted therapies. *Science* 366: 1473-80
- Saze H, Scheid OM, Paszkowski J. 2003. Maintenance of CpG methylation is essential for epigenetic inheritance during plant gametogenesis. *Nature Genet.* 34: 65-69
- Senft AD, Macfarlan TS. 2021. Transposable elements shape the evolution of mammalian development. *Nat Rev Genet* 22: 691-711

- Shoshani O, Brunner SF, Yaeger R, Ly P, Nechemia-Arbely Y, et al. 2021. Chromothripsis drives the evolution of gene amplification in cancer. *Nature* 591: 137-+
- Shoura MJ, Gabdank I, Hansen L, Merker J, Gotlib J, Levene SD, Fire AZ. 2017. Intricate and Cell Type-Specific Populations of Endogenous Circular DNA (eccDNA) in *Caenorhabditis elegans* and *Homo sapiens*. *G3-Genes Genomes Genet.* 7: 3295-303
- Sinclair DA, Guarente L. 1997. Extrachromosomal rDNA circles - A cause of aging in yeast. *Cell* 91: 1033-42
- Sow MD, Le Gac AL, Fichot R, Lanciano S, Delaunay A, et al. 2021. RNAi suppression of DNA methylation affects the drought stress response and genome integrity in transgenic poplar. *New Phytol.* 232: 80-97
- Sundaresan V, Freeling M. 1987. An extrachromosomal form of the Mu transposons of maize. *Proc Natl Acad Sci U S A* 84: 4924-8
- Thieme M, Lanciano S, Balzergue S, Daccord N, Mirouze M, Bucher E. 2017. Inhibition of RNA polymerase II allows controlled mobilisation of retrotransposons for plant breeding. *Genome Biol.* 18
- Turner KM, Deshpande V, Beyter D, Koga T, Rusert J, et al. 2017. Extrachromosomal oncogene amplification drives tumour evolution and genetic heterogeneity. *Nature* 543: 122-+
- Venner S, Feschotte C, Biemont C. 2009. Dynamics of transposable elements: towards a community ecology of the genome. *Trends Genet* 25: 317-23
- Vongs A, Kakutani T, Martienssen RA, Richards EJ. 1993. ARABIDOPSIS-THALIANA DNA METHYLATION MUTANTS. *Science* 260: 1926-28
- Whale AJ, King M, Hull RM, Krueger F, Houseley J. 2022. Stimulation of adaptive gene amplification by origin firing under replication fork constraint. *Nucleic Acids Res* 50: 915-36
- Yang F, Su W, Chung OW, Tracy L, Wang L, Ramsden DA, Zhang ZZZ. 2023. Retrotransposons hijack alt-EJ for DNA replication and eccDNA biogenesis. *Nature*
- Yi E, Gonzalez RC, Henssen AG, Verhaak RGW. 2022. Extrachromosomal DNA amplifications in cancer. *Nat. Rev. Genet.* 23: 760-71
- Zellinger B, Akimcheva S, Puizina J, Schirato M, Riha K. 2007. Ku suppresses formation of telomeric circles and alternative telomere lengthening in *Arabidopsis*. *Mol. Cell* 27: 163-69
- Zhang P, Mbodj A, Soundiramourthy A, Llauro C, Ghesquiere A, et al. 2023. Extrachromosomal circular DNA and structural variants highlight genome instability in *Arabidopsis* epigenetic mutants. *Nat Commun* 14: 5236
- Zhang P, Peng H, Llauro C, Bucher E, Mirouze M. 2021. ecc_finder: A Robust and Accurate Tool for Detecting Extrachromosomal Circular DNA From Sequencing Data. *Front Plant Sci* 12: 743742
- Zylstra A, Hadj-Moussa H, Horkai D, Whale AJ, Piguët B, Houseley J. 2023. Senescence in yeast is associated with amplified linear fragments of chromosome XII rather than ribosomal DNA circle accumulation. *PLoS Biol* 21: e3002250