

## Empreinte génomique parentale et inactivation de l'X : l'antisens a-t-il un sens ?

Le processus d'inactivation de l'X est contrôlé par le centre d'inactivation de l'X (Xic), dont la fonction requiert *Xist* (*m/s* 1996, n° 3, p. 409-10 ; 1997, n° 5, p. 723 ; 1998, n° 10, p. 1142), mais également par Xce (*X controlling element*) distinct de *Xist*. L'histoire se poursuit par la publication récente dans *Nature Genetics* d'un article montrant l'existence d'un ARN synthétisé par le brin opposé à celui permettant la transcription de *Xist*, et situé dans le Xic. Cet ARN « antisens » a été appelé *Tsix*. *Tsix* couvre une région de 40 kb, incluant la région *Xist* [1]. Les auteurs ont alors étudié la transcription des deux gènes *Tsix* et *Xist* dans des cellules ES (*embryonic stem cells*) XX, au cours de la mise en place de l'inactivation d'un des chromosomes X. Dans les cellules indifférenciées, *Xist* et *Tsix* sont exprimés de manière biallélique dans chaque cellule ES, mais l'expression est faible et les transcrits instables. Au moment de la mise en place de l'inactivation lors de la différenciation des cellules, l'expression de *Xist* augmente et celle de *Tsix* diminue. En effet, *Xist* n'est exprimé qu'à partir de l'allèle portant le chromosome X inactif et *Tsix* à partir de l'allèle portant le chromosome X actif. *Tsix* n'est plus exprimé dans les stades plus tardifs de l'embryogenèse ou chez l'adulte et ne semble jouer un rôle que dans les phases précoces du mécanisme d'inactivation, n'intervenant pas dans son maintien chez l'adulte. A ce stade précoce, *Tsix* entrerait en compétition avec l'expression de *Xist*. Plusieurs mécanismes sont envisagés : (1) les deux transcrits, lorsqu'ils sont co-exprimés, formeraient un ARN double brin, instable ; (2) la trans-

cription de *Tsix* modifierait la structure chromatinienne de la région *Xist*, interférant avec la transcription de *Xist* ; (3) il y aurait une compétition entre les régions régulatrices de *Tsix* et *Xist* pour la fixation de facteurs transcriptionnels aux sites régulateurs communs aux deux gènes (*enhancers*, par exemple). Les auteurs proposent un rôle potentiel dans le comptage des chromosomes X, et posent la question : *Tsix* correspondrait-il au locus Xce, distinct du centre d'inactivation Xic ?

Ce nouveau couple sens/antisens augmente la collection de transcrits synthétisés à partir de brins d'ADN complémentaires, dont l'expression s'exclue mutuellement. L'existence de tels couples n'avait été démontrée que dans le phénomène d'empreinte génomique parentale et plus précisément dans deux régions des génomes humains et murins soumises à ce phénomène d'empreinte. La première concerne le locus *Igfr2*, à partir duquel le gène du récepteur de type 2 de l'IGF (*insulin growth factor*) est transcrit, et cela uniquement à partir de l'allèle maternel (*m/s* 1998, n° 3, p. 344-7). D. Barlow *et al.*, ont montré qu'un antisens est synthétisé de l'allèle paternel, à partir d'un îlot CpG, situé à en aval du gène *Igfr2* [2]. Des expériences de transgénèse, utilisant des YAC (*yeast artificial chromosome*) couvrant la région, ont montré qu'en l'absence d'expression de l'antisens, l'expression d'*Igfr2* est biallélique. L'antisens n'est exprimé que si l'îlot CpG est présent dans le transgène, ce qui suggère un rôle de promoteur/*enhancer* pour cette région. Le second exemple concerne la région du chromosome 15 humain impliquée dans le syndrome d'Angelman, dont nous avons montré, avec

le groupe de M. Lalande, qu'elle permet également la transcription d'un ARN antisens, uniquement synthétisé de l'allèle paternel [3] (*m/s* 1997, n° 12, p. 1485). Cet ARN couvre complètement la région du brin complémentaire de celui duquel deux gènes sont exprimés : le gène *UBE3A* et un nouveau gène, issu d'un crible double hybride utilisant le gène *XNP/ATR*. Ces deux gènes ne sont exprimés que de l'allèle maternel.

Dans ce cas, nous retrouvons encore une expression mutuellement exclusive d'ARN sens et antisens, qui aboutit à une expression monoallélique. Il faut noter que, dans le cas de la région impliquée dans le syndrome d'Angelman, ce phénomène n'intervient que dans le cerveau, l'expression des deux gènes étant biallélique dans les autres tissus. Dans les trois cas cités, aucun cadre de lecture ouvert n'a été détecté dans les ARN antisens. Il semble donc que leur fonction ne soit pas de synthétiser une protéine.

Ces observations posent plusieurs questions. On peut se demander si la mise en place d'une « empreinte » spécifique d'un organe (cerveau dans le cas du syndrome d'Angelman) ou d'un tissu, n'est pas due à l'existence d'un promoteur fort (spécifique de l'organe ou du tissu considéré), permettant la synthèse, uniquement dans cet organe, d'un antisens qui va interférer avec la transcription des gènes situés sur l'autre brin de l'ADN. Cette région promotrice aurait pu apparaître au cours de l'évolution, et il serait intéressant de rechercher l'existence potentielle d'un ARN antisens dans la région *Ube3A* (le gène est bien conservé au cours de l'évolution)

dans d'autres espèces que l'homme et la souris. Le mécanisme le plus simple à envisager dans ce cas, est probablement la compétition pour des facteurs entre ces deux unités transcriptionnelles. En est-il de même pour le locus *Igfr2*? La dépendance du phénomène d'empreinte lié à la synthèse d'un antisens, elle-même dépendante de la présence d'une structure génomique particulière (un îlot CpG) est en faveur de cette hypothèse. Simplement le promoteur de cet antisens serait spatio-temporellement ubiquitaire, et n'aurait pas de spécificité d'organe. La mise en évidence de ce couple sens/antisens fait que l'on ne peut considérer l'expression dans ces locus comme strictement monoallélique, puisque les deux brins sont transcrits, même si la transcription de l'un exclut l'autre. On se rapproche probablement, dans ce cas, des phénomènes d'exclusion allélique, qui ne mettent pas en jeu un allèle particulier. On peut alors se demander si l'empreinte génomique et l'inactivation de l'X n'impliquent qu'un mécanisme moléculaire unique, ou si deux mécanismes différents interviennent. Le premier serait un phénomène d'empreinte

classique, impliquant la formation de structure particulière de la chromatine, liée à l'existence d'un centre d'empreinte, qui pourrait fonctionner comme un *polycomb response element*. Le second serait la présence dans tout ou partie de la région soumise à l'empreinte, de régions susceptibles de diriger la synthèse d'un ARN antisens, entrant en compétition avec celle des ARN des gènes sens. Ces deux mécanismes pourraient se retrouver aussi bien dans les phénomènes d'empreinte génomique parentale que dans l'inactivation de l'X.

Quoi qu'il en soit, ces données ne répondent pas directement à la question fondamentale: quel est le mécanisme qui fait qu'un seul des deux allèles, sens ou antisens, est exclusivement exprimé? Il n'existe pas de réponses satisfaisantes à l'heure actuelle, mais on peut se poser la question de l'«identité» parfaite des deux génomes paternels et maternels.

En effet, si elle est globalement vraie concernant la séquence primaire de l'ADN, elle ne l'est pas ni en ce qui concerne la structure de la chromatine des gamètes mâles et femelles, ni en ce qui concerne l'organisation tri-

dimensionnelle des génomes paternels et maternels lors des premières divisions de zygote, ni dans un certain nombre de phénomènes (réplication, transcription...). Ne devrait-on pas rechercher l'origine de l'«empreinte» dans ces différences entre le génome maternel et paternel? (pour revue, voir [4, 5]).

1. Lee JL, Davidow LS, D, W. Tsix, a gene antisense to Xist at the X-inactivation centre. *Nat Genet* 1999; 21: 400-4.
2. Wutz A, Smrška OW, Schweifer N, et al. Imprinted expression of the *Igf2r* gene depends on an intronic CpG island. *Nature* 1997; 389: 745-9.
3. Rougeulle C, Cardoso C, Fontés M, Colleaux L. An imprinted antisense RNA overlaps *Ube3A* and a second maternally expressed transcript. *Nat Genet* 1998; 19: 15-6.
4. Heard E, Lovell-Badge R, Avner P. Anti-Xistentialism. *Nat Genet* 1999; 21: 343-4.
5. Tilghman SM. The sins of the fathers and mothers: genomic imprinting in mammalian development. *Cell* 1999; 96: 185-93.

#### Michel Fontés

*Inserm U. 491, Génétique médicale et développement, Faculté de médecine de la Timone, 27, boulevard Jean-Moulin, 13358 Marseille Cedex 5, France.*

## ■■■■ BRÈVES ■■■■

■■■■ **SDC-2, un nouvel éclat du ver.** Les mécanismes responsables de la compensation du dosage génique des gonosomes (*m/s* 1997, n° 6/7, p. 912) procèdent de phénomènes très conservés au cours de l'évolution (*m/s* 1999, n° 1, p. 127). Chez les nématodes, les sous-unités d'un grand complexe protéique nécessaire au mécanisme compensateur appartiennent à la famille des protéines SMC (*segregation and mitotic compensation*) et sont analogues à celles qui interviennent dans la ségrégation des chromosomes et dans leur condensation au cours de la mitose [1]. Jusqu'à présent, les éléments-clés de la détermination sexuelle et du mécanisme compensateur restaient inconnus des nématodes, et en particulier pour *Caenorhabditis elegans* (chez lequel les sujets XX sont des hermaphrodites fertiles tandis que les mâles sont XO). Une équipe californienne vient de démontrer que les deux fonctions sont assurées par un des trois gènes

*sdc* (pour *sex and dosage compensation*), le gène *sdc-2*. La protéine SDC-2 détermine l'état hermaphrodite des sujets XX d'une part, et d'autre part, elle induit le mécanisme compensateur avec réduction de 50 % de l'expression des deux X [2]. Après avoir cloné *sdc-2*, l'équipe a réussi, dans une série d'expériences *in vivo*, à prouver que ces deux fonctions étaient indépendantes: (1) la détermination de l'état hermaphrodite des sujets XX s'effectue par la répression transcriptionnelle spécifique du gène *her-1* (pour hermaphrodite), gène autosomique nécessaire à la formation des mâles XO, en interaction avec la protéine SDC3; (2) l'effet compensateur nécessite aussi la présence d'autres protéines régulatrices déjà connues comme DPY-27, DPY-26 (pour *dumpy*), et MIX-1 (pour mitose et X) ainsi que de SDC3. Cette dernière intervient toutefois par des motifs à doigts de zinc qui ne sont pas impliqués dans la répression de *her-1*. La suite a

toute chance d'être passionnante car il reste à comprendre comment la protéine SDC-2 provoque le mécanisme compensateur. S'associe-t-elle avec les chromosomes X pour recruter ensuite d'autres composants, ou coordonne-t-elle d'abord le complexe protéique? On l'ignore encore mais une chose est sûre: elle sait reconnaître les chromosomes X puisque, même en l'absence des complexes de compensation, elle se fixe spécifiquement sur les X. Ainsi, parmi les solutions adoptées au cours de l'évolution pour réguler le dosage génique des gonosomes, SDC-2 vient se situer entre Xist (qui inactive, chez les mammifères), et roX (qui stimule, chez la drosophile) (*m/s* 1997, n° 6/7, p. 912).

[1. Lieb JD, et al. *Cell* 1998; 92: 265-77.]

[2. Dawes HE, et al. *Science* 1999; 284: 1800-4.]