

## Le gène *Xist* est indispensable au processus d'inactivation

Le mécanisme d'inactivation de l'un des deux chromosomes X de toute cellule de mammifère femelle est connu depuis 1961 [1]. Il fallut attendre une vingtaine d'années avant que n'émerge la notion de centre d'inactivation du chromosome X (XIC), locus indispensable au processus qui se propage ensuite dans les deux directions le long des bras court et long du chromosome [2]. Ce centre d'inactivation est également impliqué dans le choix du chromosome X actif et dans un mécanisme de comptage qui maintient un seul X actif pour deux jeux d'autosomes. Dix années supplémentaires furent nécessaires à la mise en évidence du gène *XIST* qui présente la caractéristique singulière de n'être exprimé qu'à partir de l'X inactif ([3] et *m/s* n° 4, vol. 7, p. 375). Le gène *XIST*, initialement isolé chez l'homme, fut rapidement cloné chez la souris (gène *Xist*). Chez cet animal, un facteur supplémentaire, appelé *Xce* (*X-controlling element*), qui présente plusieurs allèles, affecte le choix du chromosome X inactivé et des études de liaison génétique ont placé *Xce* en aval du gène *Xist*, dans l'intervalle qui avait été déterminé pour le centre d'inactivation. Dans les cellules ES de caryotype XX maintenues dans un état différencié, les deux chromosomes X sont actifs et le gène *Xist* est exprimé à un très bas niveau. Après différenciation, l'inactivation a lieu et l'expression de *Xist* est considérablement augmentée. Tout amenait donc à penser que le gène *Xist* possédait les propriétés requises pour être le XIC mais, cependant, aucune preuve définitive n'en avait encore été apportée. C'est à nouveau l'équipe de Brockdorff [4]

qui vient de franchir le pas en utilisant l'outil de l'inactivation génique par recombinaison homologue. Les auteurs ont tout d'abord établi une lignée de cellules ES portant deux chromosomes X, génétiquement distincts, issus de deux lignées murines différentes, PGK et 129. Des dérivés clonaux de cette lignée cellulaire montrent que les deux allèles des gènes *Xist* et *Pgk* sont exprimés en proportion compatible avec une inactivation au hasard sous l'effet attendu des allèles *Xce*. Une délétion de 7 kilobases interrompant le gène *Xist* dès le premier exon a été établie sur un des deux chromosomes X de cette lignée de cellules ES. Un clone ayant subi cet événement de recombinaison homologue a été obtenu sur 2588 clones testés. Après différenciation *in vitro*, les cellules cibles présentent une inactivation d'un des chromosomes X dans la grande majorité des clones étudiés, comme en témoigne l'observation d'un asynchronisme de réplication d'un des deux X. L'origine génétique différente des deux chromosomes X permet de constater que cette inactivation n'est cependant pas aléatoire ; elle porte au contraire systématiquement sur le chromosome n'ayant pas subi la mutation nulle aussi bien *in vitro* en culture cellulaire qu'*in vivo* après agrégation des cellules de la lignée ES avec des morula hôtes. De plus, *in vitro*, un certain nombre de cellules différenciées expriment les deux allèles 129 et PGK. Ces résultats indiquent donc que le mécanisme de comptage est toujours capable de reconnaître le chromosome X possédant l'allèle *Xist* muté, et que le gène *Xist* est nécessaire en *cis* à l'inactivation du chromosome X. Les auteurs

proposent deux mécanismes pour expliquer cette inactivation non aléatoire dans les cellules ES recombinées : il peut, en effet, s'agir, soit d'un mécanisme primaire dans lequel l'inactivation du gène *Xist* empêche le choix du chromosome actif, soit d'un mécanisme secondaire dans lequel le comptage des chromosomes X et le choix du chromosome actif ne sont pas affectés par la mutation nulle du gène *Xist*, ce choix dépendant alors des différents allèles *Xce*. Dans ce dernier cas, si l'X normal est « sélectionné » pour être actif, l'X muté ne parviendra pas à s'inactiver et la cellule aura deux X actifs. Cependant, ces cellules à deux X actifs seraient légèrement sous-représentées *in vitro* et totalement éliminées *in vivo* par un processus de sélection somatique. Si les résultats obtenus ne permettent que d'orienter en faveur de cette deuxième hypothèse, ils permettent en tout cas d'affirmer que le gène *Xist* est indispensable à la propagation du processus d'inactivation sur le chromosome qui le transcrit et qu'en revanche cette transcription n'est pas suffisante *a priori* pour expliquer le phénomène de comptage.

Le mécanisme de propagation de l'inactivation reste cependant toujours mystérieux. Les résultats obtenus récemment ne permettent pas en effet d'orienter vers une des deux hypothèses formulées antérieurement (*m/s* n° 1, vol. 9, p. 95) selon lesquelles le transcrit *XIST* est soit un ARN fonctionnel interagissant directement avec la chromatine du chromosome dont il est issu, soit n'est que le témoin de la transcription du gène *XIST*, qui est le mécanisme responsable de l'inactivation en entraî-

nant une modification locale de la chromatine qui permettra, par l'intervention secondaire d'autres facteurs, de propager le processus d'inactivation tout le long du chromosome correspondant.

**S.G.**

1. Lyon MF. Gene action in the X chromosome of the mouse. *Nature* 1961 ; 190 : 372-3.
2. Rastan S, Kaufman MH, Handyside AH, Lyon MF. X chromosome inactivation in extra-embryonic membranes of diploid parthenogenetic mouse embryos demonstrated by differential staining. *Nature* 1980 ; 288 : 172-3.
3. Brown CJ, Lafrenière RG, Powers VE, *et al.* Localization of the X inactivation center of the human X chromosome in Xq13. *Nature* 1991 ; 349 : 82-3.
4. Penny GD, Kay GF, Sheardown SA *et al.* Requirement for Xist in X chromosome inactivation. *Nature* 1996 ; 379 : 131-7.