

> Les basonuclines 1 et 2 sont des protéines nucléaires à doigts de zinc présentes chez les vertébrés. Ce sont les orthologues des protéines DISCO des insectes. Ces différentes protéines ont un rôle essentiel au cours du développement embryonnaire. Il est probable qu'elles soient des facteurs de transcription possédant des cibles géniques multiples transcrites par les ADN polymérases I et II. Il reste à déterminer quelles cibles sont communes aux deux basonuclines, voire aux protéines DISCO, et pourquoi certains types cellulaires ne synthétisent que l'une ou l'autre des basonuclines, alors que d'autres types cellulaires expriment les deux. L'implication des basonuclines dans plusieurs maladies humaines ajoute à l'intérêt de ces protéines. <

### Découverte des protéines DISCO et des basonuclines : un bref historique

Les protéines DISCO des insectes et les basonuclines 1 et 2 (BNC1 et BNC2) des vertébrés constituent une famille de protéines nucléaires à doigts de zinc importante pour le développement embryonnaire et en pathologie humaine. Ces protéines sont apparentées essentiellement par la ressemblance de leurs doigts de zinc (*Figure 1A*) et par la similitude de leurs fonctions dans le développement des mammifères et des insectes, ce qui est inhabituel [1, 2].

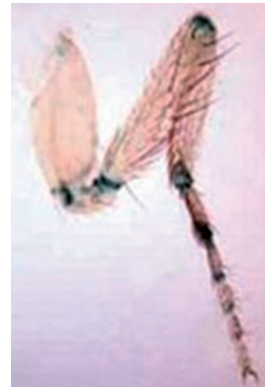
L'histoire de ces protéines commence en 1987 par la découverte de la mutation *disco* chez la drosophile. Celle-ci entraîne une cécité résultant de l'incapacité des axones des photorécepteurs à innover les lobes optiques embryonnaires, probablement parce que ces axones ne reconnaissent pas les neurones optiques [3]. Le clonage du gène *disco* révéla qu'il codait une protéine nucléaire à doigts de zinc et non une protéine d'adhésion, comme on aurait pu s'y attendre [4, 5].

BNC1 fut découverte par hasard en 1992 au cours d'une recherche de facteurs régulant la différenciation des kératinocytes humains. Elle fut nommée ainsi en raison

## Basonuclines et protéines DISCO

### Des régulateurs du développement des vertébrés et des insectes

Françoise Hervé, Amandine Vanhoutteghem, Philippe Djian



Unité de régulation de la transcription et maladies génétiques, CNRS et université Paris Descartes, 45, rue des Saints-Pères, 75006 Paris, France. [philippe.djian@parisdescartes.fr](mailto:philippe.djian@parisdescartes.fr)

de sa localisation nucléaire et de la spécificité de son expression dans les kératinocytes de la couche basale de l'épiderme. Il fut tout de suite remarqué que les trois paires séparées de doigts de zinc de BNC1 ressemblaient fortement à l'unique paire de doigts de zinc de DISCO, mais l'absence d'identité des deux types de protéines en dehors des doigts de zinc et leur distribution tissulaire très différente ne permirent pas de tirer de conclusions fonctionnelles quant à cette ressemblance [6]. En 2001, un deuxième gène *disco* fut découvert chez la drosophile, *disco-r* (*disco-related*), qui possédait deux paires séparées de doigts de zinc. Cette découverte eut lieu lors de la recherche de cofacteurs de la protéine homéotique DFD (*DEFORMED*), une protéine régulant le développement de la tête larvaire. Cette recherche révéla des délétions qui produisaient un phénotype voisin de celui de *Dfd* lorsqu'elles recouvraient deux gènes adjacents : *disco* et *disco-r*. Ainsi la protéine DISCO possède deux fonctions, l'une redondante avec DISCO-R dans le développement du squelette larvaire céphalopharyngé et l'autre unique dans le système visuel [7]. En 2004, la deuxième basonucline (BNC2) fut découverte, et ce simultanément par deux laboratoires, au cours d'analyses bioinformatiques. BNC2 est le seul paralogue de BNC1 [8, 9]. Enfin en 2009, la publication de nouvelles banques nucléotidiques d'insectes permit d'éclaircir les relations entre les basonuclines des vertébrés et les protéines DISCO des insectes [1].

### Les basonuclines sont-elles les équivalents chez les vertébrés des protéines DISCO des insectes ?

Les gènes *disco* sont présents chez les insectes, mais pas chez les vertébrés, alors que c'est l'inverse pour ceux des basonuclines. La question

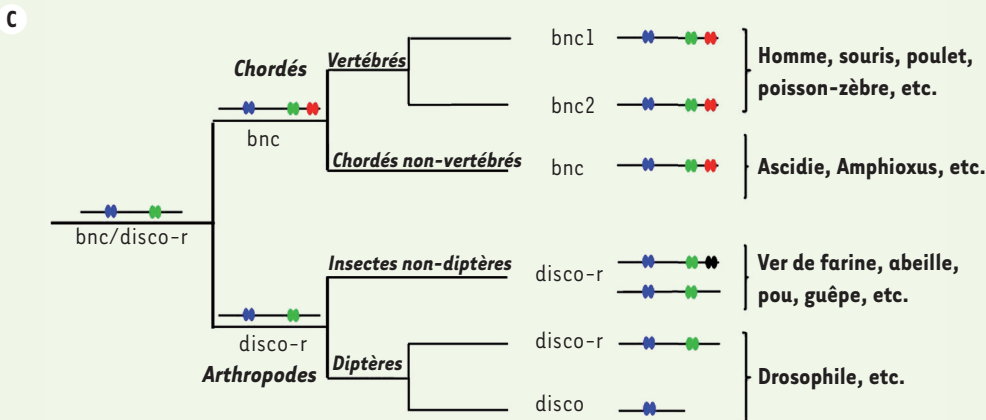
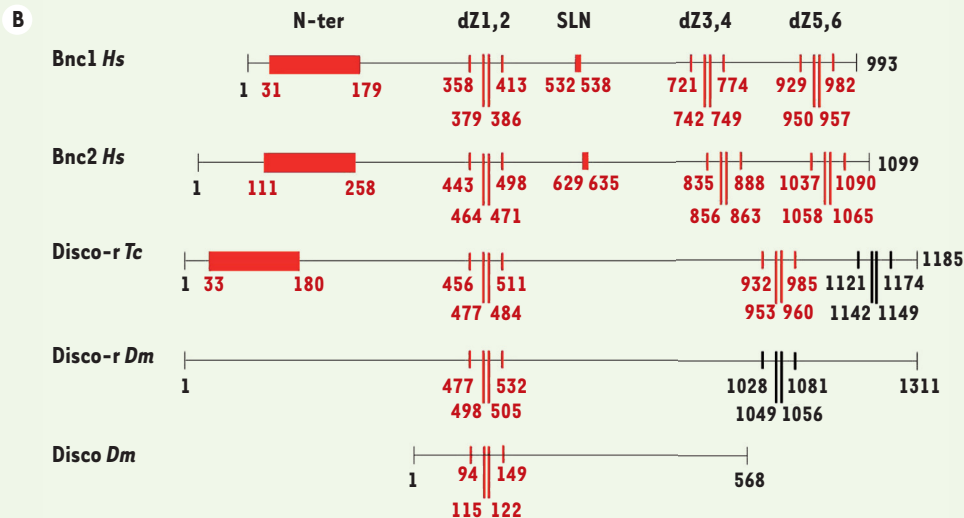
**Figure 1. Relations entre les basonuclines et les protéines DISCO.** A. Alignement des séquences en acides aminés des doigts de zinc (dZ) de la basonucline 1 (BNC1) et la basonucline 2 (BNC2) humaines (*Hs*, *Homo sapiens*), de la protéine DISCO-R du ver de farine (*Tc*, *Tribolium castaneum*) et des protéines DISCO et DISCO-R de la drosophile (*Dm*, *Drosophila melanogaster*).

**A**

**Bnc1 dZ1,2 *Hs*** C TACEKTFYD KGT L K I H Y N A V H L K I K H K C T I E G C N M V F S S L R S R N R H S A N P N P R L H -413  
**Bnc2 dZ1,2 *Hs*** C N A C G K T F Y D K G T L K I H Y N A V H L K I K H R C T I E G C N M V F S S L R S R N R H S A N P N P R L H -498  
**Disco-r dZ1,2 *Tc*** C N V C L K T F C D K G A L K I H F S A V H L R E M H K C T V E G C N M M F S S R R S R N R H S A N P N P K L H -511  
**Disco dZ1,2 *Dm*** C N V C L K T F C D K G A L K I H F S A V H L R E M H K C T V D G C S M M F S S R R S R N R H S A N P N P K L H -532  
**Disco dZ1,2 *Dm*** C S I C F K T F C D K G A L K I H F S A V H L R E M H K C T V E G C N M V F S S R R S R N R H S A N P N P K L H -149

**Bnc1 dZ3,4 *Hs*** C D I C K K T F K N A C S V K I H H K N M H V K E M H T C T V E G C N A T F P S R R S R D R H S S N L N L H -774  
**Bnc2 dZ3,4 *Hs*** C Y V C K S F K S S Y S V K L H Y R N V H L K E M H V C T V A G C N A A F P S R R S R D R H S A N I N L H -888  
**Disco-r dZ3,4 *Tc*** C T A C G K I F Q N H F G V K T H Y Q N V H L K L M H K C N V D G C N A A F P S K R S R D R H S A N L N L H -985  
**Disco-r dZ3,4 *Dm*** C T A C G E I F Q N H F H L K T H H Q S V H L K L H H K C N I D G C N A A F P S K R S R D R H S S N L N L H -1081

**Bnc1 dZ5,6 *Hs*** C H L C Q K T Y S N K G T F R A H Y K T V H L R Q L H K C K V P G C N T M F S S V R S R N R H S Q N P N L H -982  
**Bnc2 dZ5,6 *Hs*** C N I C H K M Y S N K G T L R V H Y K T V H L R E M H K C K V P G C N M M F S S V R S R N R H S Q N P N L H -1090  
**Disco-r dZ5,6 *Tc*** C R L C K T P F P T S S Q L K E H C E S N H L S E M F K C T V M G C N K V F M S R T R R L H A E N E S L H -1174



Les cystéines et les histidines des doigts de zinc sont indiquées en rouge, et les acides aminés faisant contact avec les bases nucléotidiques en bleu. Les séquences déduites de BNC1 ont été publiées par Tseng et Green [6], et celles de BNC2 par Vanhoutteghem et Djian [8]. Les séquences des doigts de zinc de DISCO et DISCO-R proviennent de banques génomiques. B. Représentation schématique des structures primaires des basonuclines 1 et 2 humaines (BNC1 et BNC2, *Hs*), de la protéine DISCO-R du ver de farine (*Tc*) et des protéines DISCO et DISCO-R de la drosophile (*Dm*). Les régions présentes à la fois dans les basonuclines

et les protéines DISCO (identité supérieure à 65 %) sont indiquées en rouge. Les positions des acides aminés situés au début et à la fin de chaque élément structural sont indiquées. Les doigts de zinc (dZ) commencent à la première cystéine et se terminent à la deuxième histidine. Les premières paires de doigts de zinc des basonuclines et des protéines DISCO sont pratiquement identiques. Cette similitude est également observée, quoiqu'à un moindre degré, entre les deuxièmes paires de BNC1, BNC2 et DISCO-R du ver de farine. Une identité importante mais moindre existe entre les troisièmes paires de BNC1 et BNC2. Les signaux de localisation nucléaire (SLN) de BNC1 et BNC2 sont identiques à un acide aminé près. Les SLN de DISCO et DISCO-R n'ont pas été identifiés. Une séquence d'environ 150 acides aminés présente dans les régions amino-terminales des deux basonuclines est retrouvée dans la protéine DISCO-R du ver de farine. Le reste des protéines est moins conservé. C. Analyse phylogénique des basonuclines et des protéines DISCO. La première paire de doigts de zinc est en bleu, la deuxième en vert et la troisième en rouge. La troisième paire de DISCO-R de *Tribolium* est indiquée en noir car elle ne ressemble pas à la troisième paire des basonuclines.

se pose donc de la relation évolutive entre les gènes *disco* et ceux des basonuclines : sont-ils orthologues, c'est-à-dire issus d'un gène ancestral commun ? La réponse est clairement oui, mais paradoxalement, elle n'a été donnée qu'en 2009. Les doigts de zinc des basonuclines et ceux de la protéine DISCO de drosophile sont indiscutablement homologues (Figure 1A). Outre une identité de séquence qui dépasse 75 % entre les protéines humaines et de drosophile, les doigts de zinc ont des particularités communes : paires séparées, de type C<sub>2</sub>H<sub>2</sub>, avec un espacement inhabituel des deux histidines du deuxième doigt de zinc de chaque paire [10]. Cependant une question demeurait : pourquoi n'y avait-il aucune ressemblance en dehors des doigts de zinc ? C'est le séquençage du génome de plusieurs espèces non diptériennes d'insectes qui a permis de répondre à cette question [1, 2]. Les insectes non diptériens sont très éloignés des diptères qui incluent les moustiques et les mouches comme la drosophile. L'analyse du génome de ces insectes a permis de reconstituer la structure exonique de leurs gènes *disco* et d'en déduire la séquence protéique. Les protéines DISCO des insectes non diptériens ressemblent beaucoup plus aux basonuclines que celles de la drosophile. Il existe en particulier une région d'environ 150 acides aminés dans la région amino-terminale des basonuclines qui est présente dans les protéines DISCO non diptériennes. Cette région, que ce soit dans les basonuclines ou dans les protéines DISCO, est codée par trois exons qui sont interrompus par des introns localisés au même endroit (Figure 1B). Outre ces ressemblances de structure génique, nous verrons que la fonction de BNC2 dans le développement et sa distribution tissulaire suggèrent que cette protéine est l'orthologue fonctionnel vertébré des protéines DISCO des insectes.

L'analyse des séquences permet de retracer la généalogie des gènes *disco* et des gènes des basonuclines à partir d'un gène ancestral commun qui codait probablement deux paires de doigts de zinc, résultant elles-mêmes de la duplication d'une paire ancestrale (Figure 1C). Après sa divergence d'avec les arthropodes, un ancêtre commun aux chordés a ajouté une troisième paire de doigts de zinc, encore une fois par duplication d'une paire préexistante, et a ainsi engendré le gène primordial des basonuclines. Celui-ci a ensuite été dupliqué en *bnc1* et *bnc2* chez un ancêtre des vertébrés, de sorte que tous les vertébrés possèdent deux basonuclines alors que les protochordés n'en possèdent qu'une. L'évolution a été similaire chez les insectes, mais elle s'y est produite indépendamment de celle des vertébrés : il y a eu duplication d'un gène *disco* ancestral pour produire *disco* et *disco-r*. Une troisième paire de doigts de zinc a été ajoutée par duplication chez certains insectes comme le ver de farine (*Tribolium*). Il faut noter que DISCO de la drosophile ne possède que la première paire de doigts de zinc, probablement parce qu'elle a perdu la seconde.

Les particularités de l'évolution des protéines DISCO et des basonuclines suscitent un certain nombre de questions : BNC2, qui est très conservée au cours de l'évolution, a-t-elle conservé chez les vertébrés la fonction de DISCO et de l'unique basonucline des protochordés ? La duplication en *bnc1* et *bnc2* était-elle nécessaire afin de conserver la fonction essentielle de BNC2, BNC1 aurait ainsi été libre d'évoluer vers de nouvelles fonctions ? DISCO et DISCO-R ont des fonctions redondantes dans le développement céphalopharyngien, mais DISCO

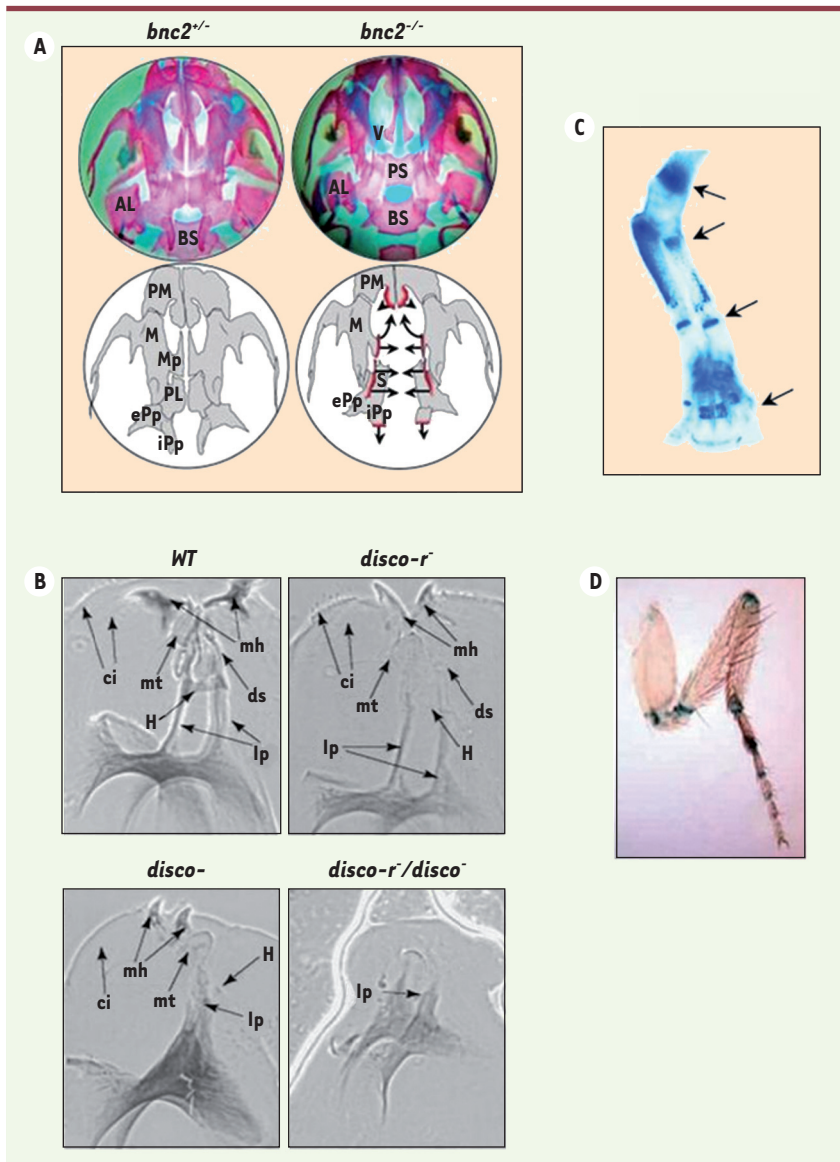
a de plus une fonction spécifique dans le lobe optique. BNC1 et BNC2 ont-elles de même des fonctions redondantes et des fonctions spécifiques ? Des éléments de réponse ont été apportés par l'analyse des distributions tissulaires de ces protéines et l'étude d'animaux mutants.

### Fonctions communes et spécifiques des protéines DISCO et des basonuclines : importance pour le développement

#### Fonctions de BNC1 et BNC2 chez les mammifères

L'expression du gène *bnc1* est limitée aux kératinocytes des épithéliums stratifiés squameux, aux cellules de l'épithélium cornéen [6] et aux cellules germinales mâles et femelles [11, 12]. Le seul phénotype clair décrit concerne les cellules germinales femelles. La phénocopie de *bnc1* par des ARN interférents (*knock-down*) dans des ovocytes de souris entraîne une diminution de la fertilité et une altération des follicules ovariens [13]. Quelques ovocytes appauvris en BNC1 atteignent leur maturité mais, après insémination, la plupart des œufs fécondés ne dépassent pas le stade deux cellules : *bnc1* est un donc gène à effet maternel qui joue un rôle essentiel dans l'ovogenèse et le développement embryonnaire précoce. Une mutation nulle a été réalisée chez la souris [14]. En dehors de la stérilité des souris femelles, le seul phénotype observé concerne la cornée dont les cellules épithéliales ont un potentiel prolifératif réduit. Il faut noter que la cornée de ce mutant se développe normalement et qu'aucun phénotype épidermique n'est décrit.

Le gène *bnc2* a une expression tissulaire plus large que le gène *bnc1*. BNC2 coexiste avec BNC1 dans les cellules germinales et les kératinocytes, mais est également présente dans des tissus qui n'expriment pas le gène *bnc1* comme le mésenchyme du palais, les gaines conjonctives, le péricondre et certaines cellules somatiques des gonades [1, 15]. L'inactivation de *bnc2* chez la souris entraîne une létalité néonatale due à la présence d'une fente palatine. Les mutants *bnc2*<sup>-/-</sup> présentent également des anomalies osseuses craniofaciales avec une réduction en taille, voire une absence de certains os de la base crânienne (Figure 2A). BNC2 joue donc un rôle essentiel dans les cellules mésenchymateuses au cours de l'embryogenèse [1]. Il est possible que la létalité de la mutation masque d'autres phénotypes, affectant par exemple les cellules germinales mâles et femelles dans lesquelles BNC2 est très abondante (non publié). Une greffe des gonades *bnc2*<sup>-/-</sup> chez des souris immunodéficientes



**Figure 2. Anomalies de la tête des souris nouveau-nés *bnc2*<sup>-/-</sup> et des embryons de drosophile *disco*<sup>-</sup> et *disco-r*<sup>-</sup>, et expression de *bnc2* et de *disco* au niveau des pattes chez ces deux espèces.** **A.** Vue ventrale de la base du crâne chez des souris nouveau-nés après ablation de la mandibule ; les os sont colorés par le rouge Alizarine et les cartilages par le bleu Alcian. Une représentation schématique est donnée en grisé. Comparées aux souris *bnc2*<sup>-/-</sup>, les souris *bnc2*<sup>-/-</sup> présentent une réduction globale de la surface du plancher du crâne, due à la réduction de taille de la plupart des os (os palatins, maxillaires, ptérygoides et alisphénoïdes [AL]). La fente palatine expose le vomer (v) et le présphénoïde (PS) chez le mutant homozygote. BS : basisphénoïde ; PM : prémaxillaire ; M : maxillaire ; Mp : processus palatin du maxillaire ; PL : palatin ; ePp : processus ptérygoïde externe ; iPp : processus interne ; et S : sphénoïde. (D'après [1] avec autorisation de reproduction de *United States National Academy of Sciences*.) **B.** Cuticules au stade terminal montrant les structures céphalo-pharyngiennes chez des embryons de drosophile *disco*<sup>-</sup>, *disco-r*<sup>-</sup> et *disco*<sup>-</sup>/*disco-r*<sup>-</sup>. Comparé au type sauvage (WT), les structures céphalo-pharyngiennes des embryons hémizygotés *disco*<sup>-</sup> et *disco-r*<sup>-</sup> présentent des anomalies modérées qui sont, cependant, un peu plus prononcées chez *disco*<sup>-</sup> que chez *disco-r*<sup>-</sup>. Par comparaison, les anomalies chez les double mutants *disco*<sup>-</sup>/*disco-r*<sup>-</sup> sont beaucoup plus sévères, indiquant que les effets des mutations *disco*<sup>-</sup> et *disco-r*<sup>-</sup> sont partiellement redondants. mh : base du crochet buccal ; mt : dent médiane ; ds : sclérite dentaire ; ci : structures ressemblant à des cirrhes ; lp : processus latéraux ; et H : pièce H. (D'après [7] avec autorisation de reproduction de *Genetics Society of America*.) **C.** Coloration β-galactosidase de la patte antérieure d'un embryon de souris *bnc2*<sup>-/-</sup> à E16,5. Les flèches indiquent une forte expression du gène *bnc2-lacZ* au niveau des articulations. **D.** Coloration β-galactosidase d'une patte de drosophile adulte montrant l'expression d'un *enhancer-trap* inséré dans le gène *disco*. Comme pour *bnc2* chez la souris (C), il existe une forte expression du gène *disco* au niveau des articulations (coloration bleu-vert). (D'après [18] avec autorisation de reproduction de *The Company of Biologists*.)

permettrait de déterminer si la maturation des cellules germinales est inhibée en l'absence de BNC2. L'hypothèse d'une fonction de BNC2 dans la reproduction est renforcée par la découverte récente d'un poisson zèbre *bnc2*<sup>-/-</sup> (phénotype bonaparte), isolé au cours d'une recherche de mutations pigmentaires induites par la nitroso-urée [15]. Les mutants adultes ont une taille réduite et aucune rayure pigmentée sur le corps. Les femelles *bnc2*<sup>-/-</sup> sont stériles et leurs ovaires présentent d'importantes anomalies somatiques. BNC2 possède également une fonction dans la fermeture de la gouttière urétrale. Un patient chez lequel un hypospadias était associé

à des anomalies de la croissance osseuse a été décrit récemment [16]. La symptomatologie résulte d'une translocation dont le point de cassure, situé dans le gène *BNC2*, entraîne la synthèse d'une protéine sans doigts de zinc, donc non fonctionnelle. Le patient est hétérozygote et sa symptomatologie résulte probablement d'une haploinsuffisance. Cette hypothèse est confirmée par l'étude des souris transgéniques : *bnc2* est fortement exprimé dans les cellules mésenchymateuses péri-urétrales et les nouveau-nés *bnc2*<sup>-/-</sup> et

*bnc2*<sup>-/-</sup> présentent des anomalies de fermeture de la gouttière urétrale analogues à celles du patient cité précédemment (Figure 3).

### Fonctions de DISCO et DISCO-R

DISCO possède une fonction non partagée avec DISCO-R dans la connectivité des axones du système visuel de la drosophile ; c'est cette fonction qui lui a valu son nom : *disco* étant une apocope pour *disconnected* [3]. En outre, DISCO et DISCO-R possèdent des fonctions communes dans le développement du squelette céphalopharyngien de la larve de drosophile [7]. Cette dernière fonction semble s'appliquer aux insectes en général, puisqu'on la retrouve chez le coléoptère *Tribolium* [17]. Une double délétion des gènes *disco* et *disco-r* chez la drosophile est létale au stade embryonnaire. Les embryons de drosophile *disco*<sup>-</sup> et *disco-r*<sup>-</sup> présentent d'importantes anomalies de la tête avec une réduction en taille, voire une absence totale de la plupart des structures composant le squelette céphalopharyngien (Figure 2B). Ce phénotype rappelle celui des souris *bnc2*<sup>-/-</sup> (Figure 2A). De plus, certains lieux d'expression de *disco* sont identiques à ceux de *bnc2* : cellules mésodermiques entourant l'estomac [5, 18] et articulations des pattes (Figures 2C et 2D).

### Orthologie fonctionnelle entre BNC2 et DISCO ?

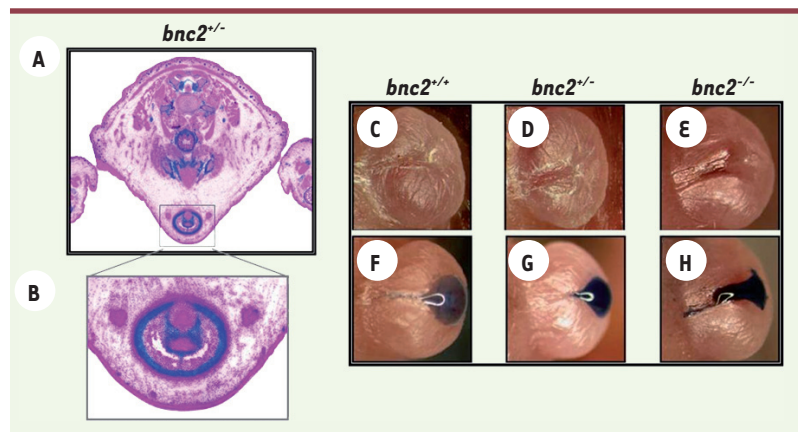
Au total, à la fois par sa structure primaire, sa distribution et sa fonction dans le développement de la tête, BNC2 semble représenter

l'orthologue structural et fonctionnel vertébré des protéines DISCO. Une preuve irréfutable de cette orthologie fonctionnelle serait une restauration du phénotype sauvage chez les mutants grâce à la séquence de la protéine orthologue. D'où la question : existe-t-il un mécanisme d'action commun à BNC2 et aux protéines DISCO dans le développement céphalique des mammifères et des insectes ? Comme l'absence des protéines DISCO produit un phénotype très similaire à celui dû à l'absence de la protéine homéotique DFD, il a été émis l'hypothèse selon laquelle les protéines DISCO étaient des cofacteurs transcriptionnels de DFD. La protéine la plus voisine de DFD chez les mammifères est HOXA4, une protéine de la famille HOX [19] : BNC2 est-elle un cofacteur de HOXA4 ?

Comme pour DISCO et DISCO-R, le problème de la redondance possible des fonctions de BNC1 et BNC2 se pose dans les cellules où elles coexistent (ovocytes et kératinocytes). Dans les ovocytes, BNC2 ne compense pas le manque de BNC1 : les deux protéines y exercent donc des fonctions différentes [13]. En revanche, aucun phénotype affectant les kératinocytes n'a été décrit ni pour BNC1 ni pour BNC2 : les deux protéines ont-elles la même fonction dans les kératinocytes ? Une double invalidation serait alors nécessaire pour mettre en évidence ce phénotype.

### Rôle des protéines DISCO et des basonuclines dans la prolifération cellulaire : implication dans certaines tumeurs

Il existe une corrélation entre la présence de BNC1 dans les kératinocytes et le potentiel prolifératif de ces cellules : BNC1 est spécifique des régions contenant les cellules souches (couche basale de l'épiderme et follicules pileux) [20]. En outre, l'ARNm de *bnc1* est présent dans les holoclones, qui correspondent aux cellules souches épidermiques, et absent des méroclones et paraclones, qui représentent la descendance à faible capacité proliférative des holoclones [21]. Il n'a cependant jamais été démontré de manière directe que BNC1 contrôlait le potentiel prolifératif des cellules souches kératinocytaires. L'inactivation de *bnc2* a révélé la fonction essentielle de BNC2 dans la multiplication de certaines cellules mésenchymateuses au cours de l'embryogenèse tardive. Des études sur l'organisme entier ne peuvent pas distinguer si cette fonction s'exerce de façon directe ou



**Figure 3. Anomalies de fermeture de la gouttière urétrale chez des souris nouveau-nées *bnc2*<sup>+/-</sup> et *bnc2*<sup>-/-</sup>.** **A.** Coupe transversale de souris mâles nouveau-nés *bnc2*<sup>+/-</sup> au niveau de l'abdomen inférieur. **B.** Agrandissement de la région pelvienne encadrée dans **A**. La coloration β-galactosidase (en bleu) montre une forte expression du gène de fusion *bnc2-lacZ* dans les tissus péri-urétraux. **C-H.** Organes génitaux externes de souris mâles nouveau-nés sauvages (**C**), *bnc2*<sup>+/-</sup> (**D**) et *bnc2*<sup>-/-</sup> (**E**) avant injection d'un colorant dans la vessie, et après injection (**F-H**). Comparées aux souris *bnc2*<sup>+/+</sup> (**C et F**), les souris hétérozygotes (**D et G**) montrent des anomalies au niveau de la gouttière urogénitale, dues à une fermeture incomplète de la lame urétrale. Ce phénotype est encore plus prononcé chez les mutants homozygotes (**E et H**). Ces mutants montrent un hypospadias : un sillon pénien plus large et plus profond que chez les hétérozygotes, ainsi qu'une dépression dans sa partie terminale. L'injection d'un colorant dans la vessie des souris rend encore plus évidentes les anomalies du méat urétral des souris *bnc2*<sup>-/-</sup>. (D'après [16] avec autorisation de reproduction de Nature Publishing Group.)

indirecte, mais le fait que chez les souris sauvages, le gène soit fortement exprimé dans les cellules qui sont affectées chez les mutants est un argument en faveur d'une action directe [1]. La démonstration formelle que BNC2 contrôle la multiplication des cellules doit venir des cultures cellulaires : démonstration d'un défaut de prolifération des cellules *bnc2*<sup>-/-</sup> en culture et de sa correction par expression de l'ADNc *bnc2* dans les cellules *bnc2*<sup>-/-</sup>.

Dans le cas de DISCO, il n'existe que peu d'arguments quant à son rôle dans la multiplication cellulaire. La réduction de taille de certaines structures buccales des drosophiles *disco*<sup>-</sup> a fait émettre l'hypothèse d'un défaut de prolifération cellulaire [7]. En résumé, il est possible que les basonuclines et les protéines DISCO partagent une fonction dans la multiplication cellulaire, peut-être en activant des cibles géniques identiques par la fixation de leur première paire de doigts de zinc, mais une telle fonction n'est pas formellement démontrée.

Une fonction de BNC1 et BNC2 dans la prolifération cellulaire cadrerait bien avec le rôle présumé de ces protéines dans la multiplication des cellules cancéreuses. BNC1 et BNC2 sont très abondantes dans les épithéliomas basocellulaires [22, 23]. BNC2 a été impliquée dans l'évolution vers un adénocarcinome d'une métaplasie glandulaire du bas œsophage (maladie de Barrett)<sup>1</sup> [24]. Des études récentes montrent une relation entre BNC2 et cancers de l'ovaire [25]. Une recherche de SNP (*single nucleotide polymorphism*) associés à une prédisposition aux cancers de l'ovaire a été réalisée dans la totalité du génome de plus de 15 000 patientes. Les onze SNP significatifs sont groupés dans la région 9p22.2, dont le seul gène est *BCN2*. *BCN2* pourrait être considéré comme un gène de prédisposition au cancer de l'ovaire, au même titre que *BRCA1* et *BRCA2*. La plupart des cancers ovariens ont pour origine la transformation des cellules somatiques de l'ovaire. La forte expression du gène *BNC2* dans l'épithélium ovarien et la thèque folliculaire (P. Djian, *résultats non publiés*) est en accord avec un rôle de BNC2 dans la cancérogenèse ovarienne.

### Fonctions moléculaires des protéines DISCO et des basonuclines

Les doigts de zinc constituent souvent des domaines de liaison à l'ADN, ce qui a conduit à suggérer que BNC1 pourrait agir comme régulateur de la transcription et à rechercher ses gènes cibles. Il a ainsi été démontré que BNC1 jouait un rôle dans la régulation de la transcription par l'ADN polymérase I via l'interaction de sa première paire de doigts de zinc avec le promoteur des gènes codant pour les ARN ribosomiaux (ADNr) [26, 27]. BNC1 pourrait également réguler l'expression de gènes transcrits par l'ADN polymérase II (Pol II) comme le suggère sa localisation nucléoplasmique diffuse. Une vingtaine de gènes transcrits par Pol II et dont les promoteurs possèdent une séquence identique à celle qui lie BNC1 dans l'ADNr ont été identifiés, mais aucun effet biologique de BNC1 sur ces gènes n'a été démontré [28].

<sup>1</sup> On parle de métaplasie de Barrett lorsque l'épithélium malpighien normal constituant la muqueuse du bas œsophage est remplacé par un épithélium glandulaire de type intestinal, susceptible de dégénérer en un adénocarcinome.

Le gène *bnc2* subit un épissage alternatif important [29]. Grâce à des anticorps spécifiques, deux formes de la protéine pouvant être des isoformes d'épissage ont été observées. L'une a une localisation nucléoplasmique diffuse, comme BNC1, et pourrait agir comme facteur de transcription (P. Djian, *résultats non publiés*) ; l'autre est associée aux *speckles* (granules) où sont concentrés les facteurs d'épissage, et pourrait être impliquée dans la maturation des ARN pré-messagers [30]. La première paire de doigts de zinc de BNC2 est quasiment identique à celle de BNC1, et les résidus faisant contact avec l'ADN sont les mêmes (*Figure 1A*). La liaison de BNC2 au promoteur des gènes des ARNr a été démontrée *in vitro*, mais, contrairement à BNC1, l'induction de la transcription de l'ADNr n'a pas été étudiée et reste donc à démontrer [9]. Au total, il semble que les doigts de zinc de BNC2 pourraient se lier à des cibles ADN ou ARN, et que la liaison dépende d'éléments de séquence situés en dehors des doigts de zinc et dont la présence ou l'absence résulterait de l'épissage alternatif du gène. DISCO est nucléaire comme les basonuclines [5], mais aucun gène cible de DISCO n'a été identifié.

### Conclusion

Les basonuclines et les protéines DISCO constituent un groupe intéressant de protéines régulatrices du développement des mammifères et des insectes. Elles ont la particularité de posséder des paires séparées de doigts de zinc. Il faut maintenant déterminer les cibles géniques des différentes paires et comprendre ainsi les mécanismes d'action moléculaire de ces protéines au cours du développement et de la cancérogenèse humaine. ♦

### CONFLIT D'INTÉRÊTS

Les auteurs déclarent n'avoir aucun conflit d'intérêts concernant les données publiées dans cet article.

### REMERCIEMENTS

Nous remercions C. Bouche pour les Figures 2A et 2C, B. Delhomme pour les Figures 3A et 3B, et F. Daubigney pour l'élevage des souris. Ce travail a été soutenu par le Centre national de la recherche scientifique, l'université Paris Descartes et par des contrats de l'Association pour la recherche sur le cancer et de la Ligue contre le cancer.

### SUMMARY

#### Basonuclins and DISCO proteins:

#### regulators of development in vertebrates and insects

Basonuclins 1 and 2 are nuclear proteins specific to vertebrates. They have recently been shown to be the



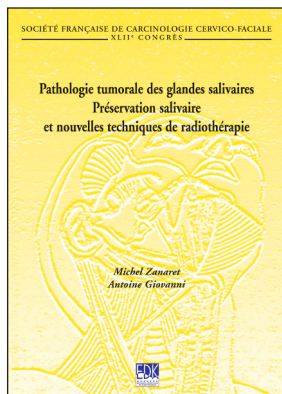
orthologs of the DISCO proteins of insects. All of these proteins have an essential function in embryonic development. It is likely that they are transcription factors with multiple gene targets, some of which are transcribed by DNA polymerase I, and others by polymerase II. It remains to be found which targets are common to the two basonuclins and even to the DISCO proteins, and why certain cell types possess either basonuclin 1 or basonuclin 2, while others possess both. The implication of the basonuclins in several human diseases adds to their interest as regulatory proteins. ♦

## RÉFÉRENCES

- Vanhoutteghem A, Maciejewski-Duval A, Bouche C, et al. Basonuclin 2 has a function in the multiplication of embryonic craniofacial mesenchymal cells and is orthologous to disco proteins. *Proc Natl Acad Sci USA* 2009; 106 : 14432-7.
- Vanhoutteghem A, Bouche C, Maciejewski-Duval A, et al. Basonuclins and disco: orthologous zinc finger proteins essential for development in vertebrates and arthropods. *Biochimie* 2011; 93 : 127-33.
- Steller H, Fischbach K, Rubin G. Disconnected: a locus required for neuronal pathway formation in the visual system of *Drosophila*. *Cell* 1987; 50 : 1139-53.
- Heilig J, Freeman M, Laverty T, et al. Isolation and characterization of the disconnected gene of *Drosophila melanogaster*. *EMBO J* 1991; 10 : 809-15.
- Lee K, Freeman M, Steller H. Expression of the disconnected gene during development of *Drosophila melanogaster*. *EMBO J* 1991; 10 : 817-26.
- Tseng H, Green H. Basonuclin: a keratinocyte protein with multiple paired zinc fingers. *Proc Natl Acad Sci USA* 1992; 89 : 10311-5.
- Mahaffey J, Griswold C, Cao Q. The *Drosophila* genes disconnected and disco-related are redundant with respect to larval head development and accumulation of mRNAs from deformed target genes. *Genetics* 2001; 157 : 225-36.
- Vanhoutteghem A, Djian P. Basonuclin 2: an extremely conserved homolog of the zinc finger protein basonuclin. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004; 101 : 3468-73.
- Romano R, Li H, Tummala R, et al. Identification of Basonuclin2, a DNA-binding zinc-finger protein expressed in germ tissues and skin keratinocytes. *Genomics* 2004; 83 : 821-33.
- Dion S, Demattéi MV, Renault S. Les domaines à doigts de zinc : vers la modification de la structure et de l'activité des génomes. *Med Sci (Paris)* 2007; 23 : 834-9.
- Yang Z, Gallicano G, Yu Q, Fuchs E. An unexpected localization of basonuclin in the centrosome, mitochondria, and acrosome of developing spermatids. *J Cell Biol* 1997; 137 : 657-69.
- Mahoney M, Tang W, Xiang M, et al. Translocation of the zinc finger protein basonuclin from the mouse germ cell nucleus to the midpiece of the spermatozoon during spermiogenesis. *Biol Reprod* 1998; 59 : 388-94.
- Ma J, Zeng FY, Schultz RM, Tseng H. Basonuclin: a novel mammalian maternal-effect gene. *Development* 2006; 133 : 2053-62.
- Zhang X, Tseng H. Basonuclin-null mutation impairs homeostasis and wound repair in mouse corneal epithelium. *PLoS One* 2007; 2 : e1087.
- Lang M, Patterson L, Gordon T, et al. Basonuclin-2 requirements for zebrafish adult pigment pattern development and female fertility. *PLoS Genet* 2009; 5 : e1000744.
- Bhoj EJ, Ramos P, Baker LA, et al. Human balanced translocation and mouse gene inactivation implicate Basonuclin 2 in distal urethral development. *Eur J Hum Genet* 2011; 19 : 540-6.
- Patel M, Farzana L, Robertson L, et al. The appendage role of insect disco genes and possible implications on the evolution of the maggot larval form. *Dev Biol* 2007; 309 : 56-69.
- Bishop S, Klein T, Arias A, Couso J. Composite signalling from Serrate and Delta establishes leg segments in *Drosophila* through Notch. *Development* 1999; 126 : 2993-3003.
- Jacob F. L'irrésistible ascension des gènes *Hox*. *Med Sci (Paris)* 1994; 10 : 145-8.
- Weiner L, Green H. Basonuclin as a cell marker in the formation and cycling of the murine hair follicle. *Differentiation* 1998; 63 : 263-72.
- Tseng H, Green H. Association of basonuclin with ability of keratinocytes to multiply and with absence of terminal differentiation. *J Cell Biol* 1994; 126 : 495-506.
- Cui C, Elsam T, Tian Q, et al. Gli proteins up-regulate the expression of basonuclin in basal cell carcinoma. *Cancer Res* 2004; 64 : 5651-8.
- O'Driscoll L, McMorrow J, Doolan P, et al. Investigation of the molecular profile of basal cell carcinoma using whole genome microarrays. *Mol Cancer* 2006; 5 : 74.
- Akagi T, Ito T, Kato M, et al. Chromosomal abnormalities and novel disease-related regions in progression from Barrett's esophagus to esophageal adenocarcinoma. *Int J Cancer* 2009; 125 : 2349-59.
- Song H, Ramus S, Tyrer J, et al. A genome-wide association study identifies a new ovarian cancer susceptibility locus on 9p22.2. *Nat Genet* 2009; 41 : 996-1000.
- Iuchi S, Green H. Basonuclin, a zinc finger protein of keratinocytes and reproductive germ cells, binds to the rRNA gene promoter. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999; 96 : 9628-32.
- Tseng H, Biegel J, Brown R. Basonuclin is associated with the ribosomal RNA genes on human keratinocyte mitotic chromosomes. *J Cell Sci* 1999; 18 : 3039-47.
- Wang J, Zhang S, Schultz R, Tseng H. Search for basonuclin target genes. *Biochem Biophys Res Commun* 2006; 348 : 1261-71.
- Vanhoutteghem A, Djian P. The human basonuclin 2 gene has the potential to generate nearly 90,000 mRNA isoforms encoding over 2000 different proteins. *Genomics* 2007; 89 : 44-58.
- Vanhoutteghem A, Djian P. Basonuclins 1 and 2, whose genes share a common origin, are proteins with widely different properties and functions. *Proc Natl Acad Sci USA* 2006; 103 : 12423-8.

## TIRÉS À PART

P. Djian



ISBN : 978-2-8425-4150-7 306 pages

À retourner à EDK, 25, rue Daviel - 75013 Paris

Tél. : 01 58 10 19 05 - Fax : 01 43 29 32 62 - E-mail : edk@edk.fr

NOM : ..... Prénom : .....

Adresse : .....

Code postal : ..... Ville : .....

Pays : .....

Fonction : .....

Je souhaite recevoir l'ouvrage **Pathologie tumorale des glandes salivaires** : 35 € + 3 € de port = **38 € TTC**

en ..... exemplaire, soit un total de ..... €

Par chèque, à l'ordre de **EDK**

Par carte bancaire :  Visa  Eurocard/Mastercard

Carte n° | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |

Signature :

Date d'expiration : | | | | | | | |

N° de contrôle au dos de la carte : | | | | |