

Biologie du développement

Éléments chromosomiques contrôlant l'empreinte parentale des gènes

Depuis la découverte des gènes soumis à l'empreinte parentale un effort considérable est consacré à l'identification du mécanisme moléculaire responsable du marquage différentiel des deux allèles parentaux [1, 2]. Il est clair que les gènes soumis à l'empreinte sont différents des autres gènes « ordinaires » dans le génome, puisque seul un des deux allèles est exprimé. On attribue cette différence à la présence dans les régions flanquantes des gènes imprimés d'une séquence nucléotidique régulatrice hypothétique le plus souvent appelée « boîte d'empreinte ». Cette séquence serait la cible d'une modification dans la lignée germinale qui introduirait un marquage épigénétique (l'empreinte) spécifique qui distinguerait les gamètes mâles et femelles. C'est ce marquage qui conduirait à l'expression monoallélique de ces gènes en fonction de leur origine parentale.

Il faut distinguer deux étapes: *a*) le processus du marquage, qui se passe probablement dans les cellules de la lignée germinale; *b*) la lecture de ce marquage dans les cellules somatiques, qui peut être différente selon les tissus. Plusieurs exemples sont connus où l'expression monoallélique d'un gène est limitée à un tissu spécifique ou à un stade déterminé du développement. Le meilleur exemple est probablement le gène *Ins2* de la souris (*m/s* n° 2, vol. 10, p. 216; n° 10, vol. 11, p. 1483) [3]. Seul l'allèle paternel de ce gène est exprimé dans le sac vitellin du fœtus pendant la deuxième moitié de la gestation. En revanche, l'expression d'*Ins2* est biallélique dans ce tissu pendant la première moitié de la gestation et dans les autres sites à tous

les stades du développement. Ainsi, le signal qui permet à la cellule de distinguer ses chromosomes parentaux n'est pas impliqué directement dans le contrôle de l'expression des gènes et peut être pris en compte ou ignoré en fonction des tissus.

La nature moléculaire exacte du marquage épigénétique reste à identifier. La méthylation de l'ADN reste une hypothèse plausible (*m/s* n° 2, vol. 10, p. 216).

• Tous les gènes soumis à l'empreinte examinés jusqu'à maintenant ont une méthylation différentielle des deux allèles parentaux [4]. Malheureusement, à deux exceptions près, ces différences sont absentes dans les cellules germinales mâles et femelles et s'installent tardivement au cours du développement embryonnaire, et on voit difficilement comment elles pourraient servir d'empreinte initiale.

Depuis l'identification en 1991 des premiers gènes soumis à l'empreinte, la vérification de l'hypothèse d'une boîte d'empreinte est devenue envisageable. On pensait qu'il suffirait de rechercher les séquences régulatrices en *cis* de ces gènes en utilisant les techniques classiques de la génétique moléculaire pour pouvoir identifier celles qui portent des modifications épigénétiques spécifiques d'un allèle parental. Les différences de méthylation, par exemple, pourraient servir de repères.

Mais la réalité s'est avérée encore une fois plus compliquée et, à l'heure actuelle, personne ne sait encore de quoi il s'agit. Des boîtes d'empreinte pourraient coïncider avec des séquences stimulatrices de la transcription de gènes individuels et leur modification épigénétique pen-

dant la gamétogenèse les rendre inaptes à participer à des complexes de transcription. Une autre organisation apparaît possible. Les boîtes d'empreinte coïncideraient avec des LCR (*locus control regions*) ou avec des séquences d'attachement à la matrice nucléaire. Elles contrôleraient alors la modification épigénétique de l'haplotype d'origine paternelle ou celui d'origine maternelle, leur empreinte déterminant ainsi l'état actif ou inactif d'un domaine entier de chromatine contenant plusieurs gènes dont les produits peuvent ne pas avoir de relations fonctionnelles. Des travaux publiés récemment [5, 6] montrent que les premiers pas vers l'identification de boîtes d'empreinte sont accomplis mais le mode de fonctionnement de celles-ci est encore loin d'être compris.

Le rôle des éléments actifs en *cis* dans l'empreinte des gènes individuels est démontré par une étude récente [5] sur les souris transgéniques porteuses d'un transgène *RSVlgmyc* (le gène *c-Myc* est placé sous le contrôle des séquences régulatrices du gène de la chaîne lourde d'IgA). Dans les six lignées de souris obtenues, l'allèle maternel du transgène était très fortement méthylé et silencieux, contrairement à l'allèle paternel, qui est resté non méthylé et actif. Cela suggère que le transgène doit porter toute l'information nécessaire pour sa propre empreinte. Les auteurs ont essayé d'identifier cette séquence en fabriquant des lignées transgéniques avec des constructions portant des délétions partielles de la séquence d'origine. Les résultats montrent que le signal nécessaire pour l'empreinte du transgène est porté par un fragment de 1,7 kb appelé Ca, provenant

du gène *IGA*. Quand ce fragment est délété de la construction, le transgène n'est plus soumis à l'empreinte. Le comportement du fragment Ca est donc celui d'une boîte d'empreinte qui contrôlerait l'expression d'un seul gène. Toutefois, le contexte chromosomique semble important, puisque le gène endogène codant pour la chaîne lourde d'IgA n'est pas soumis à l'empreinte parentale.

Trois autres études soulignent l'importance du contexte chromosomique et suggèrent que la boîte d'empreinte agirait au niveau de domaines de la chromatine [6-8]. Elles concernent la région du chromosome 15q13, responsable des syndromes de Prader-Willi et d'Angelman – les deux exemples classiques de l'empreinte parentale chez l'homme (*m/s n° 9, vol. 7, p. 974*).

Les malades atteints du syndrome de Prader-Willi sont caractérisés, soit par une disomie maternelle de la région chromosomique 15q13, soit par une délétion de la même région sur le chromosome paternel. Dans les deux cas, la copie paternelle de cette région est absente, ce qui suggère que le (ou les) gène(s) maternel(s) ne peut (vent) pas remplacer le(s) gène(s) paternel(s) de cette région. En revanche, les malades atteints par le syndrome d'Angelman sont caractérisés par l'absence de contribution maternelle, mais il s'agit de la région immédiatement adjacente à la région responsable du syndrome de Prader-Willi. Aucun gène candidat caractérisé par l'expression préférentielle de l'allèle maternel et lié au syndrome d'Angelman n'a été encore identifié [9].

Plusieurs gènes candidats pour le syndrome de Prader-Willi ont été clonés. Les gènes *SNRPN*, *PAR1*, *PAR5* et *ZNF127* sont soumis à l'empreinte parentale et caractérisés par une expression monoallélique paternelle. Ils sont séparés les uns des autres par quelques dizaines à quelques centaines de kilobases (kb) constituant ainsi un très grand domaine soumis à l'empreinte, dont les marqueurs extrêmes sont distants de plus de 1 mégabase (Mb) (*figure 1A*). Plusieurs séquences caractérisées par une méthylation différentielle sur le chromosome paternel et maternel

ont été identifiées à l'intérieur de ce domaine [10]. Les clones génomiques correspondants sont couramment utilisés comme outils moléculaires dans le diagnostic. Ils permettent, d'une part, de détecter tous les changements du profil de méthylation et, d'autre part, de faire la cartographie physique des chromosomes mutés.

Ce sont justement des études de cartographie qui ont permis l'identification de quelques malades atteints de syndrome de Prader-Willi ou d'Angelman, provenant de plusieurs familles différentes, porteurs de mutations très rares. Il s'agit de microdélétions dont la taille ne dépasse pas 40-50 kb [6-8]. Toutes ces délétions concernent la région 5' du gène *SNRPN* (*figure 1B*). Il n'est pas surprenant que les malades qui ont reçu le chromosome muté de leur père soient atteints du syndrome de Prader-Willi. En revanche, ce qui est parfaitement inattendu, c'est que ces microdélétions inhibent l'expression de tous les gènes soumis à l'empreinte situés dans la région, malgré les distances physiques considérables qui les séparent du site muté. De plus, la délétion modifie le profil de méthylation de marqueurs aussi éloignés que *D15S9*, qui se trouve à 1,5 Mb de la séquence délétée. Ainsi, toute la région perd le caractère « paternel » de l'empreinte. Fait remarquable, d'autres malades ayant hérité de la microdélétion de leur mère sont atteints du syndrome d'Angelman, alors que les gènes responsables de ce syndrome sont probablement à plusieurs centaines de kilobases du gène *SNRPN*. Ici aussi le profil de méthylation a changé.

Ces observations ont conduit à la seule conclusion logique: les délétions repérées affectent des éléments génétiques qui règlent l'empreinte de toute la région chromosomique 15q13 [8]. Elles ne permettent toutefois pas d'affirmer que les éléments génétiques détectés constituent eux-mêmes la boîte d'empreinte qui contrôlerait l'expression haplotypique exclusive de gènes situés dans le domaine chromosomique.

Deux autres observations orientent aussi, bien que de façon plus indirecte, vers la notion d'un contrôle épi-

génétique de domaines entiers de la chromatine. Plusieurs laboratoires ont montré que des domaines chromosomiques alléliques contenant des gènes soumis à l'empreinte parentale ont une réplication mitotique asynchrone, l'allèle paternel se répliquant toujours le premier [11, 12]. D'autre part, ces mêmes régions chromosomiques sont le siège de recombinaisons méiotiques considérablement plus fréquentes lors de la gaméto-genèse mâle que femelle [13, 14].

Toutes ces observations suggèrent que la présence des gènes soumis à l'empreinte parentale dans une région chromosomique est liée à une structure particulière de la chromatine, différente sur les deux chromosomes parentaux. La perturbation de cette structure – une délétion par exemple – conduirait également à une perturbation de l'empreinte ■

**Andras Páldi
Jacques Jami**

Inserm U. 257, ICGM, 24, rue du Faubourg-Saint-Jacques, 75014 Paris Cedex, France.

TIRÉS À PART

A. Páldi.

RÉFÉRENCES

1. Babinet C. L'empreinte génomique parentale. *médecine/sciences* 1992; 8: 65-70.
2. Dreyfus J. Un point sur les « empreintes génomiques ». *médecine/sciences* 1994; 10: 1006-10.
3. Deltour L, Montagutelli X, Guenet JL, Jami J, Páldi A. Tissue – and developmental stage – specific imprinting of the mouse proinsulin gene, *Ins2*. *Dev Biol* 1995; 168: 686-8.
4. Reik W, Allen N. Imprinting with and without methylation. *Curr Biol* 1994; 4: 145-7.
5. Chaillet JR, Bader DS, Leder P. Regulation of genomic imprinting by gametic and embryonic processes. *Genes Dev* 1995; 9: 1177-87.

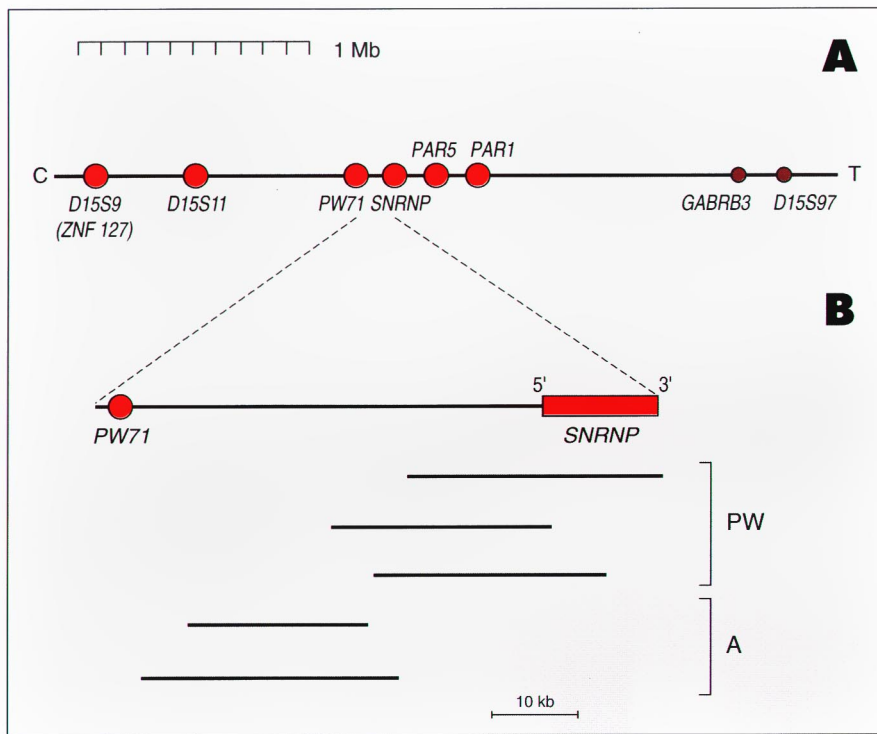


Figure 1. **Carte physique de la région critique pour les maladies de Prader-Willi et d'Angelman sur le chromosome 15q13.** **A.** Les gènes soumis à l'impression (ZNF127, SNRNP, PAR5, PAR1) et les séquences caractérisées par une méthylation différentielle (PW71 et D15S11) sont indiqués par des cercles pleins rouges. Les marqueurs GABRB3 et D15S97 indiquent la limite télomérique de la région soumise à l'impression. **B.** Agrandissement de la région comprise entre PW71 et SNRNP. Les microdélétions qui influencent l'impression sur toute la région et sont en cause dans les syndromes de Prader-Willi (PW) et d'Angelman (A) sont indiquées par des lignes horizontales.

RÉFÉRENCES

6. Sutcliffe J S, Nakao M, Christian S, Örstavik KH, Tommerup N, Lebedetter DH, Beaudet AL. Deletions of a differentially methylated CpG island at the SNRPN gene define a putative imprinting control region. *Nature Genet* 1994; 8: 52-8.
7. Reis A, Dittrich B, Greger V, Buiting K, Lalonde M, Gillissen-Kaesbach G, Anvret M, Horsthemke B. Imprinting mutations suggested by abnormal DNA methylation pattern in familial Angelman and Prader-Willi syndromes. *Am J Hum Genet* 1994; 54: 741-7.
8. Buiting K, Saitoh S, Gross S, Dittrich B, Schwartz S, Nicholls RD, Horsthemke B. Inherited microdeletions in the Angelman and Prader-Willi syndromes define an imprinting centre on human chromosome 15. *Nature Genet* 1995; 9: 395-400.
9. Nicholls R. Genomic imprinting and candidate genes in the Prader-Willi and Angelman syndromes. *Curr Opin Genet Dev* 1993; 3: 445-56.
10. Nicholls R. New insight reveal complex mechanisms involved in genomic imprinting. *Am J Hum Genet* 1994; 54: 733-40.
11. Kitsberg D, Selig S, Brandeis M, Simon I, Keshet I, Driscoll D, Nicholls R, Cedar H. Allele-specific replication timing of imprinted gene regions. *Nature* 1993; 364: 459-63.
12. Knoll J, Cheng S, Lalonde M. Allele specificity of DNA replication timing in the Angelman/Prader-Willi syndrome imprinted chromosomal region. *Nature Genet* 1994; 6: 41-6.
13. Paldi A, Gyapay G, Jami J. Imprinted chromosomal regions of the human genome display sex-specific meiotic recombination frequencies. *Curr Biol* 1995; 5: 1030-5.
14. Robinson WP, Lalonde M. Sex-specific meiotic recombination in the Prader-Willi/Angelman syndrome imprinted region. *Hum Mol Genet* 1995; 4: 801-6.