

EMPREINTE GÉNOMIQUE PARENTALE

PARENTAL GENOMIC IMPRINTING

Par Jean-Louis GUÉNET⁽¹⁾
(Mémoire présenté le 4 décembre 2009)

RÉSUMÉ

Chez les mammifères placentaires, certains gènes font l'objet d'une empreinte parentale qui se caractérise par une différence d'expression selon qu'ils proviennent du père ou de la mère. Cette asymétrie fonctionnelle, qui se traduit par l'expression d'un seul allèle sur les deux, n'est pas la conséquence d'une modification de la structure primaire des séquences d'ADN, mais résulte au contraire de modifications épigénétiques réversibles de la structure de la chromatine, qui ont une influence sur la transcription. L'empreinte génomique parentale ne concerne qu'une faible proportion des gènes, mais elle a une grande importance pendant le développement embryonnaire et son dérèglement peut conduire à des maladies graves. Sa finalité n'est pas totalement élucidée et fait encore l'objet de spéculations.

Mots-clés: empreinte génomique parentale, empreinte génétique parentale, asymétrie fonctionnelle.

SUMMARY

In placental mammals, certain genes are expressed dependent on whether they are maternally or paternally inherited. This functional asymmetry, leading to monoallelic expression, is not due to a change in the primary structure of the encoding DNA but, on the contrary, is caused by reversible epigenetic changes in chromatin structure influencing the transcription. Genomic imprinting concerns only a small proportion of genes but it plays a major role during embryonic development and its dysregulation can lead to serious diseases. Its purpose is not yet fully established and is still the subject of speculation.

Key words: genetic imprinting, genomic imprinting, epigenetics, functional asymmetry.

(1) Institut Pasteur, 25 rue du Docteur Roux, Paris, F75015 France.

INTRODUCTION

Chaque cellule d'un organisme diploïde possède un double jeu de chromosomes et, par conséquent, deux copies de chaque gène. Dans les gamètes, après la méiose, le nombre de chromosomes est réduit à un seul exemplaire de chaque paire et le nombre de gènes à une seule copie et, si l'on considère que l'assortiment des chromosomes dans les gamètes se fait au hasard, on découvre alors les deux principaux avantages de la reproduction sexuée :

- elle permet un brassage constant de la diversité génétique pour engendrer, à chaque génération, une grande variété d'individus parmi lesquels certains pourront s'adapter mieux que d'autres aux conditions de l'environnement ;
- elle protège, au moins dans le court terme, contre les effets éventuellement désavantageux des allèles mutants d'apparition récente et permet une véritable « mise à l'essai » de ces nouveaux allèles sans faire prendre de risque à l'espèce.

Chez les mammifères, le statut « diploïde » est un peu compliqué par l'existence d'un mécanisme destiné à compenser la différence quantitative qui existe entre le caryotype du mâle (XY) et celui de la femelle (XX). Ce mécanisme, découvert au début des années 1960, consiste en l'inactivation précoce, quasi complète et aléatoire d'un chromosome X sur les deux, de sorte que l'organisme des femelles de mammifères est fait d'un mélange plus ou moins homogène de deux types de cellules génétiquement différentes et, à ce titre, elles peuvent être considérées comme de véritables mosaïques naturelles. Le chromosome Y ne porte, quant à lui, qu'un petit nombre de gènes dont le rôle est pratiquement limité à l'induction du sexe masculin.

À partir du milieu des années 1970, la situation s'est encore compliquée lorsqu'on s'est rendu compte que certains gènes s'exprimaient d'une manière différente chez l'embryon et parfois même chez l'adulte, selon qu'ils étaient transmis par le père ou par la mère. Pour les gènes en question, tout se passe en effet comme s'ils étaient marqués d'une empreinte parentale épigénétique qui décidait, au moins pour la phase diploïde du cycle à venir, de leur expression ou de leur non-expression.

Dans ce mémoire, nous allons présenter un bilan de ce qui est connu à propos de l'empreinte génomique⁽²⁾ parentale et qui se caractérise par une véritable asymétrie fonctionnelle entre les génomes mâle et femelle. Mais on peut dire, dès à présent, que si les faits sont désormais bien établis, les mécanismes moléculaires qui régissent l'empreinte parentale sont, eux, moins bien connus et, dans certains cas, les généticiens n'en sont encore qu'au stade des hypothèses.

DES OBSERVATIONS TROUBLANTES : LES LOIS DE MENDEL DOIVENT-ELLES ÊTRE RÉVISÉES ?

La notion d'empreinte génomique parentale, comme c'est souvent le cas, ne s'est pas imposée de manière évidente au terme d'une découverte décisive. Au contraire, elle a émergé progressivement à partir d'observations convergentes, faites dans des conditions différentes et accumulées avec le temps. Nous allons en rapporter trois, choisies pour leur valeur didactique, mais il en existe un grand nombre.

Le cas de l'allèle *hairpin tail* T^{Hp}

La mutation *brachyury* (T) de la souris est une des plus anciennes mutations connues. Il s'agit d'une mutation dominante qui se caractérise par un raccourcissement plus ou moins marqué de la queue (le tissu cible de la mutation est la notochorde) et pour laquelle il existe une bonne quarantaine d'allèles. Lorsqu'on croise une souris hétérozygote $T/+$ à queue courte avec une souris normale ($+/+$) on obtient, aux écarts statistiques près, 50 % de descendants à queue courte ($T/+$) et 50 % de descendants normaux ($+/+$) : autrement dit, un ratio mendélien normal pour une mutation dominante. Par contre, lorsqu'on croise des souris hétérozygotes pour l'allèle *hairpin tail* (symbolisé T^{Hp}) la situation est différente : si le mâle est $T^{Hp}/+$ et la femelle $+/+$, on obtient 50 % de descendants $T^{Hp}/+$ à queue courte et 50 % de descendants $+/+$, comme précédemment. Par contre, si la femelle est $T^{Hp}/+$ et le mâle $+/+$, le croisement produit uniquement des descendants à queue normale ($+/+$) et de petites portées. Les femelles ne transmettent pas l'allèle T^{Hp} car les embryons $T^{Hp}/+$ meurent *in utero* (Johnston 1974 ; Johnston 1975). Encore plus curieux, le croisement $T^{Hp}/+ \times T^{Hp}/+$ produit des descendants $T^{Hp}/+$ mais en nombre réduit et l'on peut montrer, dans ce cas, que l'allèle T^{Hp} transmis aux nouveau-nés viables provient toujours du père ; celui qui est transmis par la mère entraîne la mort des hétérozygotes *in utero*, à un stade tardif, comme dans le cas précédent. Ce phénomène, connu de tous les généticiens de souris comme une exception presque anecdotique aux lois de Mendel, a d'abord été interprété comme un « effet maternel » dû à une « substance » présente (ou absente ?) dans le cytoplasme de l'ovocyte. On sait aujourd'hui que le biais de transmission est dû à une petite délétion portée par le chromosome 17, qui empêche un allèle maternel de s'exprimer et rend le fœtus incapable de survivre *ab utero* (Wutz *et al.* 2001). La transplantation d'embryons $T^{Hp}/+$ dans l'utérus d'une femelle normale ne change rien : la constitution $T^{Hp}/+$ est létale lorsque l'allèle T^{Hp} est transmis par la mère.

(2) Empreinte *génomique* ou empreinte *génétique* parentale : les deux expressions sont couramment utilisées. Ici, nous utiliserons empreinte *génomique* parentale.

Les embryons reconstitués par association de pronucléus ne se développent que dans certaines conditions

Pendant très longtemps la culture d'embryons de souris *in vitro*, à partir du stade une cellule et jusqu'au stade morula/blastocyste, s'est révélée très difficile, voire impossible, pour des raisons inhérentes, à la fois, à la lignée donneuse et aux conditions de culture (une situation que les spécialistes désignaient par les termes de « 2-cell block »). Au début des années 1980, le problème a été en grande partie résolu et l'idée est alors venue d'essayer de reconstituer *in vitro* des embryons de souris diploïdes ($2n$) soit de type androgénote à partir de deux pronucléus mâles ($n_p + n_p$), soit de type gynogénote (ou parthénogénote) à partir de deux pronucléus femelles ($n_m + n_m$). L'expérience consistait à mettre dans un même cytoplasme, à un stade très précoce (c'est-à-dire avant la fusion des pronucléus) et à l'aide d'une pipette de verre effilée, deux pronucléus femelles ou deux pronucléus mâles (figure 1). Les embryons ainsi reconstitués étaient ensuite placés dans l'utérus d'une mère porteuse afin d'étudier leurs potentialités de développement. Deux laboratoires, celui d'Azim Surani à Cambridge et celui de Davor Solter au Wistar Institute, ont réalisé plusieurs expériences de ce type pour aboutir, ensemble, à la même conclusion : les contributions maternelles et paternelles à la constitution du génome d'un embryon de mammifères ne sont pas équivalentes et un génome, même diploïde, mais dérivant d'un seul parent ($n_p + n_p$) ou ($n_m +$

n_m), ne permet pas le développement jusqu'à terme (McGrath & Solter, 1984; Surani *et al.* 1984). Ces très belles expériences montraient aussi que l'avortement des embryons parthénogénétiques à un stade précoce n'était pas dû, comme on le pensait jusqu'alors, à un facteur cytoplasmique ou à la présence de mutations récessives létales mais bel et bien à une empreinte génomique concernant le gamète femelle. Surani, un peu plus tard, démontra même que l'empreinte génomique paternelle, pour aussi nécessaire qu'elle soit, n'avait pas la même importance pour le développement des tissus embryonnaires proprement dit et celui des annexes embryonnaires et du trophoblaste (Barton *et al.* 1984).

Ces expériences de fusion de pronucléus ont montré de manière péremptoire qu'il existe une asymétrie fonctionnelle entre les gamètes et l'on sait aujourd'hui que l'ADN des pronucléus mâle et femelle, bien qu'il ne soit pas modifié dans sa séquence et par conséquent porte le même message dans les deux sexes, est conditionné de manière différente, ce qui modifie sa transcription au moins dans certaines régions. Nous reviendrons sur ce point ultérieurement, à propos des mécanismes de l'empreinte génomique, mais les expériences citées ci-dessus démontrent que l'observation anecdotique d'un biais de transmission chez les souris hétérozygotes *hairpin tail* $T^{Hp}/+$, en fait, une valeur générale. Il existe bel et bien une asymétrie fonctionnelle de nature épigénétique entre les génomes haploïdes des gamètes : n_p n'est pas équivalent à n_m et vice-versa !

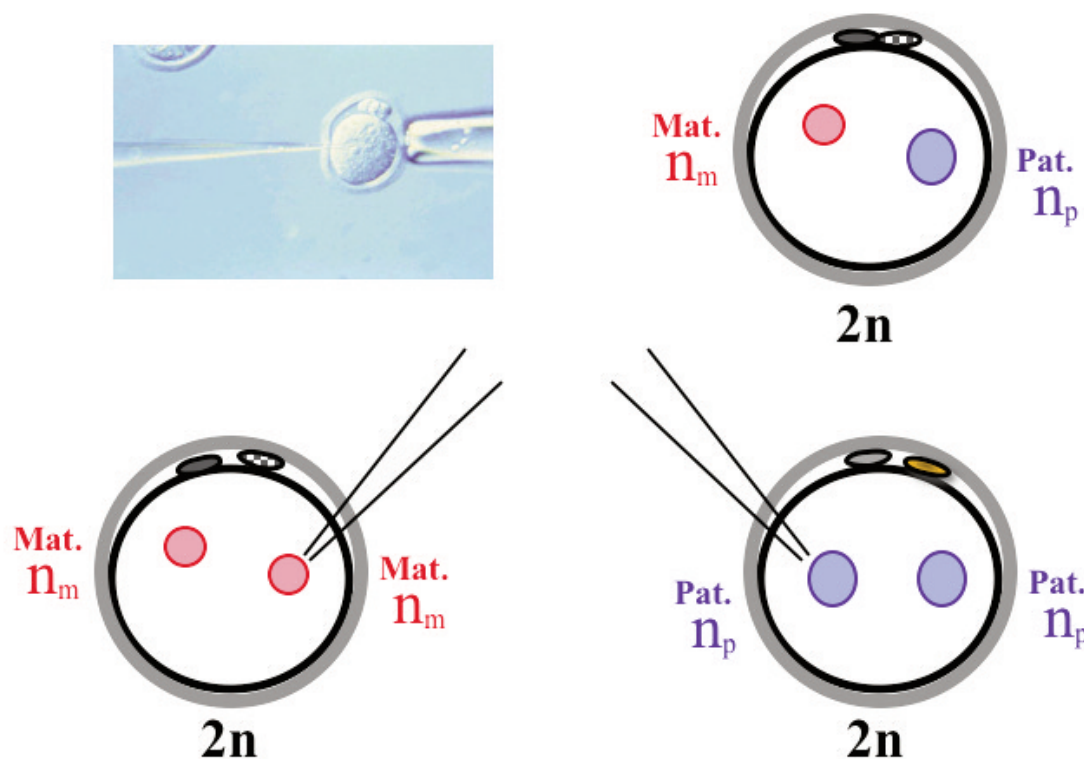


Figure 1 : En remplaçant, par une action mécanique (une pipette en verre effilée), l'un des pronucléus par un pronucléus de sexe opposé, on obtient un embryon diploïde gynogénote (d'origine entièrement femelle) ou androgénote (d'origine entièrement mâle). Ces embryons ne se développent pas au-delà de J+4.

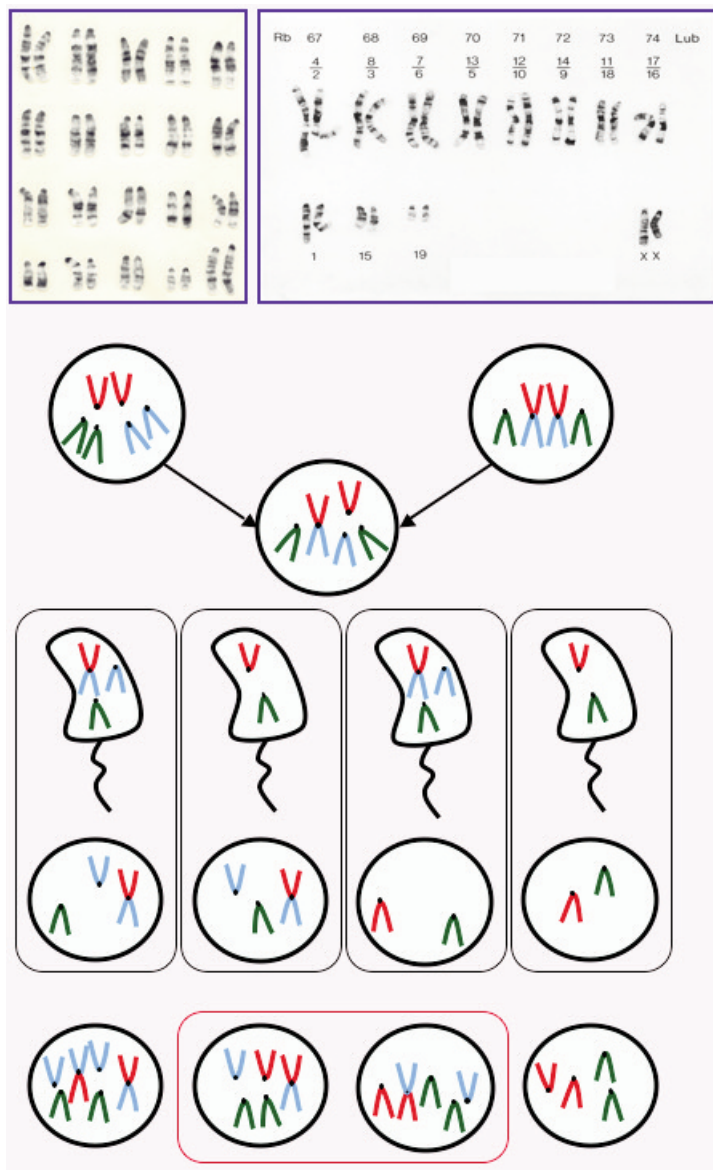


Figure 2 : Les chromosomes normaux de la souris de laboratoire sont acrocentriques, ce qui veut dire que leur centromère est sub-terminal (en haut à gauche), mais il existe dans la nature des souris dont les chromosomes acrocentriques sont fusionnés deux à deux par leur centromère (en haut à droite), on parle alors de fusions centriques ou robertsoniennes. Ces souris sont normales et fertiles avec les souris de laboratoire : on peut donc faire des croisements qui amènent, dans un même génome, un chromosome métacentrique et deux chromosomes acrocentriques indépendants. Ces hybrides sont eux aussi normaux et fertiles, mais leur méiose se fait avec beaucoup d'erreurs de ségrégation, de sorte que l'on peut avoir dans un même gamète, le chromosome métacentrique et un chromosome acrocentrique supplémentaire ou au contraire aucun chromosome métacentrique. Ces gamètes, non balancés génétiquement, conduisent à des descendants aneuploïdes, avec un nombre de chromosomes différent du nombre $2n$ caractéristique de l'espèce sauf dans les cas, rares, où des gamètes non balancés complémentaires se rencontrent. On obtient alors un individu diploïde eusomique chez lequel deux chromosomes de la même paire proviennent d'un seul parent. De telles ségrégations portent le nom de disomies uni ou monoparentales. Leur fréquence varie avec le type de croisement et le chromosome concerné mais peut atteindre 30 %.

Le cas des souris porteuses de disomies uniparentales

Il existe chez la souris une très grande variété de remaniements chromosomiques et il est possible d'en produire presque à volonté, soit à l'aide d'agents mutagènes (les rayonnements par exemple), soit par ingénierie génétique. Certains de ces remaniements sont parfaitement viables et se rencontrent même dans la nature : c'est le cas des translocations dites robertsoniennes ou fusions centriques, communes chez les souris sauvages des vallées alpines de Suisse ou d'Italie. Il s'agit de remaniements assez simples qui résultent de la fusion de deux paires de chromosomes normalement acrocentriques en une seule paire dite métacentrique (**figure 2**). Avec ces chromosomes d'un nouveau type, dont il existe toute une variété, on peut réaliser des expériences très intéressantes comme, par exemple, produire à volonté des génomes trisomiques ($2n+1$) ou monosomiques ($2n-1$). On peut aussi produire des souriceaux dont le génome est eusomique (c'est-à-dire normal = $2n$), mais qui ont hérité les deux chromosomes d'une paire donnée, du même parent et rien de l'autre (**figure 2**)⁽³⁾. Grâce à ce genre d'expériences réalisées de manière systématique, le généticien anglais Bruce Cattanach, du MRC à Harwell, s'est rendu compte que les souriceaux porteurs de telles disomies uniparentales n'étaient viables que lorsque la disomie concernait certaines paires de chromosomes, alors que dans d'autres cas, il fallait absolument qu'un chromosome au moins provienne du père ou, au contraire, de la mère pour produire un embryon viable allant à terme (Cattanach & Kirk, 1985). Cattanach a même montré que, pour certains chromosomes, il fallait absolument une contribution du père et de la mère. À travers cette expérience, on retrouve la notion d'inégalité des contributions parentales mais on découvre, en plus, qu'elle n'est pas absolue et que seuls certains chromosomes sont concernés.

En utilisant une autre catégorie de translocations (les translocations réciproques) et une très grande variété de croisements, tous plus astucieux les uns que les autres, et possibles uniquement chez la souris, l'équipe de Cattanach, notamment Colin Beechey, a montré que l'empreinte génomique ne concernait que certains segments bien délimités du génome. Ces expériences ont permis de dresser une véritable carte des régions soumises à l'empreinte parentale. Cette carte, constamment raffinée, est toujours valable (**figure 3**) (Cattanach & Beechey, 1990).

(3) De telles disomies uniparentales (ou homoparentales) surviennent spontanément dans toutes les espèces y compris l'espèce humaine. Ce sont des événements extrêmement rares mais leur caractérisation ne pose aucune difficulté.

Comme épilogue aux observations faites par Johnson, Surani, Solter, Cattanach et bien d'autres collègues, on peut donc dire que les contributions gamétiques mâle et femelle à la formation d'un nouvel embryon de mammifère ne sont pas équivalentes du point de vue fonctionnel mais que cette différence ne concerne que certaines régions chromosomiques. On pourrait aussi remarquer que si, par hasard, Mendel avait fait ses expériences avec des souris ou des cobayes (comme il avait l'intention de le faire avant que son supérieur ne l'en empêche) et si, toujours par hasard, il avait choisi des allèles polymorphes dans des régions soumises à l'empreinte génomique parentale, il aurait sans doute eu du mal à interpréter ses résultats...

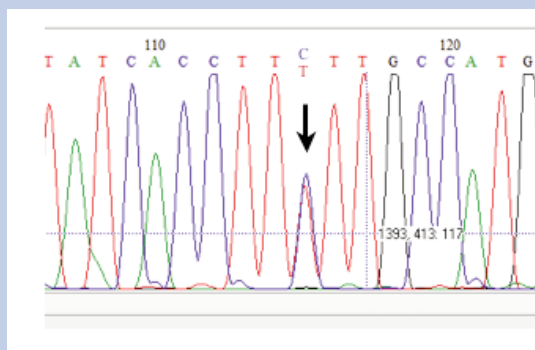
QUELQUES EXEMPLES DE GÈNES SOUMIS A UNE EMPREINTE GÉNOMIQUE PARENTALE

En multipliant et en raffinant les expériences de type Cattanach/Beechey, les généticiens de la souris sont parve-

Encart 1

Comment identifier la nature de l'allèle transcrit pour un gène déterminé ?

Pour démontrer qu'un seul des deux allèles d'un gène est transcrit et identifier son origine parentale, il faut avoir la possibilité de distinguer, par un moyen quelconque, les deux transcrits de ce gène. Une technique relativement fiable consiste à analyser les embryons de souris qui proviennent de croisements entre des lignées préalablement sélectionnées parce qu'elles présentent un polymorphisme non traduit au niveau d'un exon. La figure ci-dessous montre la séquence des transcrits du gène codant l'hémoglobine bêta (Hbb), au niveau de l'exon 2, obtenue à partir de cellules de moelle osseuse d'une souris hétérozygote pour un polymorphisme nucléotidique (un SNP) non traduit. On constate que les deux allèles sont effectivement transcrits puisqu'on reconnaît, dans la séquence, le profil du SNP C/T (flèche). Si le gène de l'hémoglobine faisait partie des gènes subissant l'empreinte, ce qui n'est pas le cas, on n'aurait retrouvé qu'un seul transcrit (allèle C ou T) en fonction du sens du croisement.



nus à délimiter de manière assez précise les régions du génome soumises à l'empreinte génomique. En rapprochant ces données relatives à la localisation chromosomique des gènes soumis à l'empreinte des informations relatives à la fonction connue de ces mêmes gènes, ils ont pu identifier certaines « candidatures ». L'un des tout premiers gènes ayant attiré l'attention est celui qui code l'*Insulin-like growth factor 2* (symbole : *Igf2*). Les *insulin-like growth factors* (IGFs) sont des polypeptides dont la séquence est proche de celle de l'insuline et qui font partie d'une famille de molécules agissant comme des facteurs de croissance cellulaire. Ces polypeptides s'associent à des récepteurs cellulaires (les *Insulin-like growth factor receptors* ou IGFs) pour transmettre un signal fonctionnel. Il en existe au moins deux types chez la souris, avec des homologues chez l'homme et chez la plupart des autres mammifères. Or Cattanach avait mis en évidence une différence de taille appréciable entre les nouveau-nés provenant de certains croisements produisant une haute fréquence de disomies homoparentales et constaté aussi que certaines de ces disomies, notamment celles du chromosome 7 où se trouve justement le locus *Igf2*, étaient létales (Cattanach 1986). Dans ce contexte, les chercheurs de la Columbia University avaient de bonnes raisons de penser que le gène *Igf2* pouvait être soumis à l'empreinte génomique. Ils eurent alors l'idée de produire un allèle inactif ou nul (un « knock out »), par recombinaison homologue *in vitro* dans des cellules embryonnaires totipotentes (ES cells), afin d'étudier les effets de cet allèle sur le développement et la croissance embryonnaire (DeChiara *et al.* 1991) ; ils observèrent que les embryons se développaient mal et restaient de petite taille pendant toute leur vie (60 % de la taille normale) lorsque l'allèle *Igf2* inactivé (symbolisé *Igf2⁻*) venait du père. Au contraire, lorsque l'allèle inactif *Igf2⁻* provenait de la mère, aucun effet n'était décelable chez les descendants, exactement

Encart 2

Comment inventorier l'ensemble des gènes soumis à l'empreinte parentale dans une espèce donnée ?

Les premiers gènes soumis à l'empreinte parentale ont été caractérisés au terme d'une démarche intuitive. Nous avons vu, d'autre part, que la production d'un allèle inactif par ingénierie génétique avait permis de confirmer que le gène *Igf2* était bien marqué de l'empreinte génomique parentale en le faisant contribuer à la formation d'un embryon soit via le spermatozoïde, soit via l'ovocyte pour montrer que le sens du croisement était déterminant pour la survie du fœtus. Cette même démarche a été utilisée pour quelques autres gènes, en particulier H19. A l'heure actuelle, on peut utiliser des « chips » pour cribler les cADN transcrits pendant la vie embryonnaire et accélérer considérablement l'identification des gènes soumis à l'empreinte. Pour cela et, comme précédemment, il faut pouvoir distinguer les deux types de transcrits au niveau de leur séquence ADN.

Liste des principales unités transcriptionnelles soumises à l'empreinte maternelle à la fois chez l'homme et chez la souris				
Zinc finger protein	<i>PLAGL1</i> (6)	<i>Plagl1</i> (10)	P	
Growth factor receptor bound protein	<i>GRB10</i> (7)	<i>Grb10</i> (11)	P/M	#
Sarcoglycan epsilon	<i>SGCE</i> (7)	<i>Sgce</i> (7)	P	
Retroviral gag-pol homologue	<i>PEG10</i> (7)	<i>Peg10</i> (7)	P	
Protein phosphatase inhibitor	<i>PPP1R9A</i> (7)	<i>Ppp1r9a</i> (6)	M	
Alpha/Beta hydrolase fold family	<i>MEST</i> (7)	<i>Mest</i> (6)	P	
RNA non codant	<i>COPG2IT1</i> (7)	<i>Copgas2</i> (6)	P	
RNA	<i>H19</i> (11)	<i>H19</i> (7)	M	
Insulin-like growth factor 2	<i>IGF2</i> (11)	<i>Igf2</i> (7)	P	
RNA non codant	<i>IGF2AS</i> (11)	<i>Igf2as</i> (7)	P	
Insulin 1	<i>INS</i> (11)	<i>Ins2</i> (7)	P	
Voltage gated potassium channel	<i>KCNQ1</i> (11)	<i>Kcnq1</i> (7)	M	
RNA non codant	<i>KCNQ1OT1</i> (11)	<i>Kcnq1ot1</i> (7)	P	
Cyclin independent kinase inhibitor	<i>CDKN1C</i> (11)	<i>Cdkn1c</i> (7)	M	
Organic cation transporter	<i>SLC22A18</i> (11)	<i>Slc22a18</i> (7)	M	
Pleckstrin homology-like domain	<i>PHLDA2</i> (11)	<i>Phlda2</i> (7)	M	
Oxysterol-binding protein like	<i>OSBPL5</i> (11)	<i>Osbp15</i> (7)	M	
Delta like 1 homologue	<i>DLK1</i> (14)	<i>Dlk1</i> (12)	P	*
RNA de fonction inconnue	<i>MEG3</i> (14)	<i>Gtl2</i> (12)	M	
Makrin, ring finger protein	<i>MKRN3</i> (15)	<i>Mkrn3</i> (7)	P	
MAGE-like protein	<i>MAGEL2</i> (15)	<i>Magel2</i> (7)	P	
Necdin, neuronal growth suppressor	<i>NDN</i> (15)	<i>Ndn</i> (7)	P	
Ubiquitin protein ligase	<i>UBE3A</i> (15)	<i>Ube3a</i> (7)	M	
Zinc finger protein	<i>PEG3</i> (19)	<i>Peg3</i> (7)	P	
Neuronatin	<i>NNAT</i> (20)	<i>Nnat</i> (2)	P	
Neuroendocrin secretory protein 55	<i>GNAS</i> (20)	<i>Gnas</i> (2)	M	

Le sens de l'empreinte dépend, dans ce cas, de l'isoforme transcrite.

* Ce gène n'est pas soumis à empreinte chez les marsupiaux

Liste des principales unités transcriptionnelles soumises à l'empreinte maternelle de manière différente chez la souris et chez l'homme				
Copper metabolism gene	<i>COMMD1</i> (2)	<i>Commd1</i> (11)	M	§
Insulin-like growth factor receptor 2	<i>IGF2R</i> (6)	<i>Igf2r</i> (17)	M	§
Tetraspanin superfamily	<i>PHEMX</i> (11)	<i>Phemx</i> (7)	M	§
Transmembrane 4 superfamily	<i>CD81</i> (11)	<i>Cd81</i> (7)	M	§
Tumor suppressing candidate	<i>TSSC4</i> (11)	<i>Tssc4</i> (7)	M	§
Imprinted and ancient	<i>IMPACT</i> (1)	<i>Impact</i> (18)	P	§
Homeobox containing gene	<i>DLX5</i> (7)	<i>Dlx5</i> (6)	M	⊗

§ Unité transcriptionnelle soumise à l'empreinte uniquement chez l'homme

⊗ Unité transcriptionnelle soumise à l'empreinte uniquement chez la souris

Tableau 1 : Liste des principales unités transcriptionnelles soumises à l'empreinte à la fois chez l'homme et la souris (d'après Morison et al., 2005). Les chiffres entre parenthèses indiquent le numéro du chromosome porteur du gène chez l'homme (colonne 2) et chez la souris (colonne 3).

comme si, dans ce cas, les effets de l'allèle *Igf2⁻* étaient totalement contrebalancés par la présence de l'allèle hérité du père. En d'autres termes, l'inactivation n'a d'effets perceptibles que dans le cas où elle porte sur la copie supposée active du gène ; dans le cas contraire, celui où de toute façon le gène est inactivé par les effets de l'empreinte génomique, peu importe que ce soit un allèle normal ou un knock out.

Des expériences de même nature ont été répétées avec la même méthodologie mais avec d'autres gènes. De nos jours, le repérage des gènes soumis à l'empreinte génomique est réalisé avec des techniques plus modernes, plus rapides et surtout plus efficaces (**Encarts 1 et 2**). Le bilan, sans doute provisoire, est le suivant :

- les gènes marqués de l'empreinte génomique sont nombreux. Chez la souris, espèce dans laquelle l'inventaire est le plus facile à faire et par conséquent le plus précis, 91 gènes ont été identifiés comme probablement soumis à l'empreinte génomique contre 41 seulement chez l'homme (Morison *et al.* 2005) (**tableau 1**). Ces gènes sont souvent rassemblés en petits groupes (clusters), plus ou moins dispersés sur l'ensemble du génome ;
- les gènes soumis à l'empreinte dans une espèce de mammifère, la souris par exemple, sont souvent pareillement soumis à l'empreinte génomique dans d'autres espèces telles que l'homme ou le rat. Ainsi, sur l'ensemble des 91 gènes soumis à l'empreinte génomique chez la souris, 29 au moins sont aussi soumis à l'empreinte génomique chez l'homme. Néanmoins de nombreuses exceptions sont observées : *Igf2* par exemple, est soumis à l'empreinte génomique chez la souris, le rat et l'homme, mais le gène qui code le récepteur au produit de ce gène, *Igf2r*, n'est soumis à l'empreinte génomique que chez le rat et la souris mais pas chez l'homme (Haig & Graham, 1991 ; Killian *et al.* 2000 ; Weidman *et al.* 2006). Il est également remarquable que le degré d'homologie interspécifique dans l'empreinte génomique est d'autant plus élevé que les espèces sont proches phylogénétiquement. Cela n'est pas surprenant mais souligne bien qu'il s'agit d'un acquis de l'évolution.
- l'ensemble des gènes soumis à l'empreinte dans une espèce de mammifère donnée ne semblent pas présenter, entre eux, une relation fonctionnelle évidente et n'appartiennent pas à une catégorie facilement « étiquetable ». Par contre, si on établit un bilan inter-espèces, en ne retenant que les gènes soumis à l'empreinte dans toutes les espèces considérées, une grande majorité d'entre eux codent des facteurs de croissance exprimés pendant la vie embryonnaire, soit dans les tissus soit dans les annexes fœtales ;
- l'inactivation des gènes soumis à l'empreinte se produit essentiellement pendant la vie embryonnaire et se prolonge

plus ou moins longtemps après la naissance et parfois même toute la vie. Mais les gènes inactivés par effet d'empreinte génomique ne restent pas tous définitivement inactifs.

Nous verrons plus loin que toutes les observations que nous venons de rapporter trouvent une explication logique lorsqu'on les rapproche de ce qui est actuellement connu sur les aspects fonctionnels et moléculaires de l'empreinte génomique parentale. Certaines observations, très anciennes, trouvent aujourd'hui une explication lorsqu'on les replace dans le cadre de l'empreinte génomique parentale. À titre d'exemple, on peut citer le cas de certains hybrides inter-spécifiques entre équidés ou entre félidés, dont la taille et la corpulence adulte sont très fortement influencées par le sens du croisement (**figure 4**). Le mulot (hybride entre un âne et une jument) est toujours plus fort et plus grand que le bardot (hybride entre une ânesse et un étalon) et le reste toute sa vie sans que rien ne justifie cette différence du point de vue génétique, puisque les génomes de ces deux hybrides sont strictement équivalents, en particulier lorsqu'ils sont aussi du même sexe femelle. De même le « Ligre » (*Liger* en anglais), l'hybride entre un lion *Panthera leo* et une tigresse *Panthera tigris*, est un félidé de taille énorme (certains spécimens ont été pesés à plus de 450 Kg et ont mesuré jusqu'à 3,5 mètres) lorsqu'on le compare, à la fois, à ses parents et à l'hybride réciproque le « Tigon » ou « Tigron », qui est plus léger (180 Kg) et moins viable⁽⁴⁾. C'est aussi le cas des moutons porteurs de la mutation *callipyge* (symbole *Clpg*), dont les gigots sont à la fois volumineux (*callipyge* signifie « belles fesses » en grec !) et constitués d'une viande très maigre mais pas très tendre⁽⁵⁾. Le phénotype *callipyge* ne s'observe que si, et seulement si l'allèle *Clpg* est hérité du bélier (Charlier *et al.* 2001 ; Winstead 2001)

QUEL(S) CHANGEMENT(S) CARACTÉRISE(NT) L'EMPREINTE GÉNOMIQUE PARENTALE A L'ÉCHELON MOLÉCULAIRE ?

Plusieurs mécanismes sont invoqués pour rendre compte de l'asymétrie fonctionnelle qui accompagne l'empreinte génomique parentale, mais une condition doit absolument être satisfaite *a priori* : la modification causale doit être réversible. En effet, si les allèles inactivés par l'empreinte étaient altérés au point d'être définitivement hors d'état de fonctionner, ils pourraient se retrouver à l'état « homozygote » non fonctionnel, par le simple jeu de la reproduction sexuée. Il en résulterait alors la mort de l'embryon ou un développement anormal et par conséquent, l'élimination à terme de ces allèles. L'expérience montre que cette logique est bien respectée et, à chaque génération, à chaque fois que les cellules

(4) Observations d'Étienne Geoffroy Saint-Hilaire, confirmées et illustrées par Carl Hagenbeck à partir de croisements réalisés au zoo de Hambourg en 1897

(5) Voir illustrations à l'URL : http://www.genomenewsnetwork.org/articles/05_01/Callipyge_sheep_imprinting.shtml.



Figure 4 : Quelques hybrides interspécifiques remarquables. Les hybrides réciproques tels que le mulet et le bardot, même lorsqu'ils sont du même sexe femelle, sont relativement différents l'un de l'autre, alors que rien ne justifie ces différences puisque leur génome est strictement équivalent. Le ligre (issu du croisement d'une tigresse avec un lion – en haut à droite) peut atteindre des dimensions impressionnantes, alors que l'hybride inverse est plus chétif. Les hybrides réciproques entre zèbre et âne montrent, eux aussi, des différences phénotypiques sans doute dues à une empreinte génomique différente. Chez la souris, espèce dans laquelle on peut produire, presque à volonté, des hybrides interspécifiques, on observe parfois des descendants d'une taille impressionnante. (Les clichés du mulet et des hybrides âne x zèbre proviennent du site http://en.wikipedia.org/wiki/Hybrid_%28biology%29#Interspecific_hybrids; celui du ligre, du site http://www.lifeinthefastlane.ca/wp-content/uploads/2007/10/ligre_3sfw.jpg; le cliché du bardot a été aimablement communiqué par le Dr F. Desbrosse).

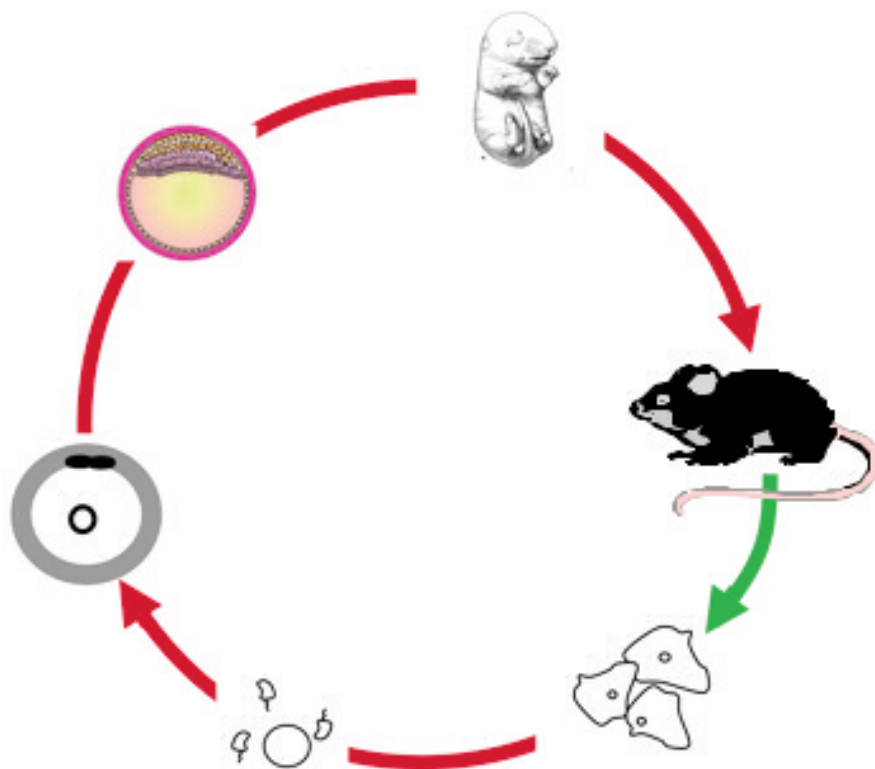


Figure 5 : L'empreinte génomique doit absolument être réversible à un stade donné du développement des mammifères, faute de quoi elle conduirait à la mort de certains individus et serait donc purement et simplement contre sélectionnée. L'annulation de l'empreinte se fait au tout début de la formation des cellules germinales primitives. Ensuite, elle s'établit, dans un sens ou dans l'autre en fonction du sexe, pendant la gamétogénèse, et persiste pendant tout le développement intra-utérin et parfois même bien après selon les tissus.

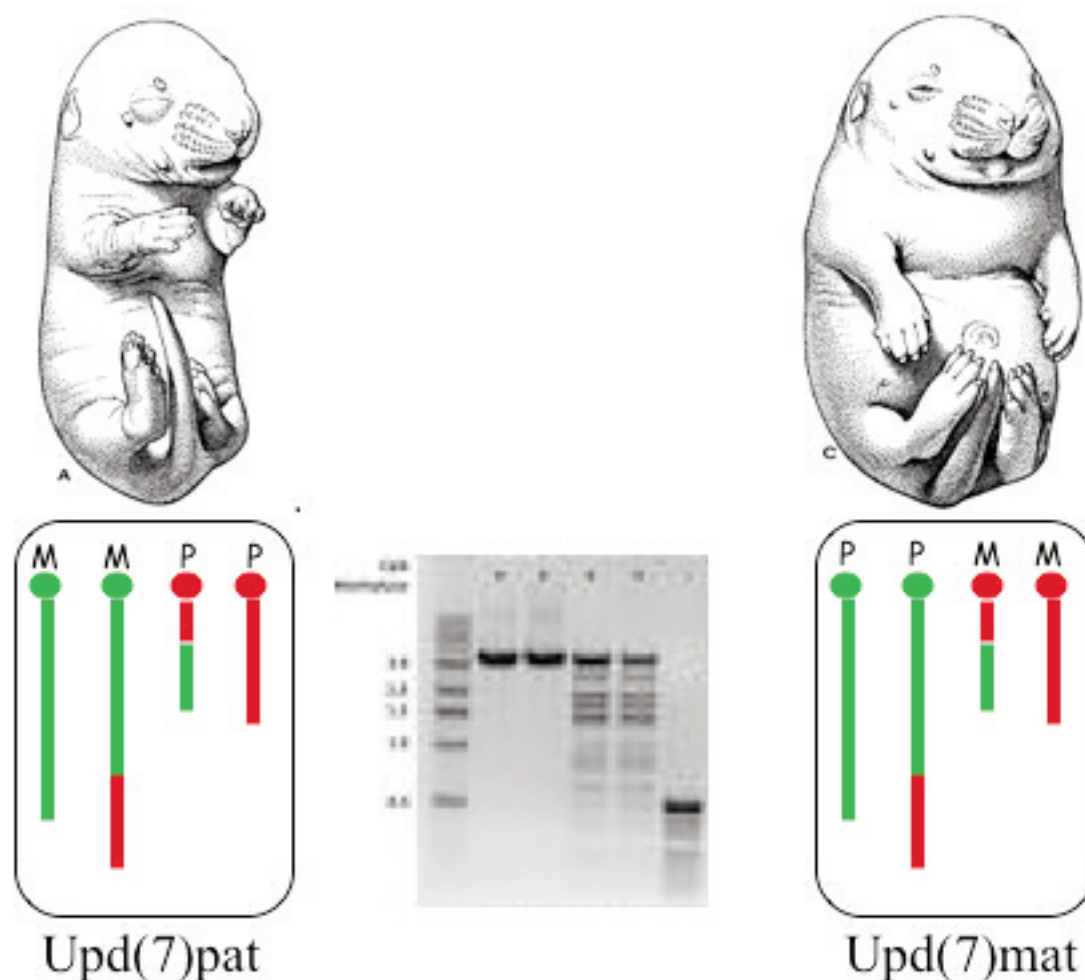


Figure 6 : L'empreinte génomique se caractérise par la méthylation de certaines régions de l'ADN, une modification épigénétique qui empêche la transcription. En comparant l'ADN d'embryons porteurs de disomies uniparentales partielles (Upd pour Uniparental disomy) complémentaires, on peut mettre en évidence cette différence de méthylation en montrant que l'enzyme de restriction Hpa2 n'a pas la même activité selon l'origine de l'ADN embryonnaire. Dans le cas représenté sur le schéma, les embryons ont exactement la même constitution génomique mais, pour l'embryon de gauche, les gènes contenus dans les deux segments centromériques du chromosome 7 (en vert marqués M) viennent de la mère et sont inactivés par effet de l'empreinte, alors que chez l'embryon de droite, les gènes des deux mêmes segments (marqués P) sont actifs, ce qui se traduit par une augmentation de taille du fœtus. On notera aussi que l'ADN de l'embryon de gauche, méthylié, ne se laisse pas couper par l'enzyme de restriction Hpa2, tandis que l'ADN de l'embryon de droite est coupé plusieurs fois.

sexuelles primordiales se forment chez l'embryon précoce, l'empreinte est relaxée, le « compteur est remis à zéro », et une nouvelle empreinte se fait dans le gamète en fonction du sexe de l'embryon (Swales & Spears, 2005; Weaver *et al.* 2009) (**figure 5**). Nous reviendrons ultérieurement sur l'analyse de cette alternance, mais pour l'instant, attachons-nous à la description des mécanismes moléculaires qui régissent l'empreinte génomique.

En analysant le cas du locus *H19*⁽⁶⁾, très voisin du locus *Igf2* sur le même chromosome 7 de la souris, et soumis comme lui à l'empreinte parentale, les chercheurs de Cambridge et

d'Harwell (Ferguson-Smith *et al.* 1993) ont étudié des embryons ayant une duplication du segment maternel soumis à l'empreinte et une délétion du segment paternel homologue ou, réciproquement, une duplication du segment paternel et une délétion du segment maternel homologue⁽⁷⁾. Ils ont montré que les embryons, bien que génétiquement équivalents, présentaient différents degrés de méthylation de leur ADN selon l'origine parentale de la disomie partielle. Lorsque les deux segments soumis à l'empreinte provenaient du père, l'ADN *H19* était fortement méthylié et les embryons de petite taille. Au contraire, lorsque les deux segments chromosomiques portant le locus *H19* étaient tous les deux héri-

(6) *H19* pour *H19* fetal liver mRNA n'est pas un antigène de transplantation contrairement à ce que son symbole pourrait laisser penser.

(7) De tels embryons sont donc génétiquement normaux mais porteurs de disomies uniparentales partielles complémentaires. Ce genre d'expérience n'était possible que chez la souris, si l'on considère la très faible fréquence d'apparition de cette constitution génétique exceptionnelle.

tés de la mère, l'ADN n'était pas ou très peu méthylé et les embryons de relativement grande taille (**encart 3, figure 6**). On sait aujourd'hui que cette modification de l'ADN est responsable de l'empreinte parentale dans un grand nombre de cas étudiés en détail. La méthylation, en particulier du promoteur du gène, entraîne la compaction de l'ADN, qui entraîne à son tour la répression de la transcription de l'allèle *H19* hérité du père. Les auteurs des observations mentionnées ci-dessus ont également démontré que le locus *H19* n'était pas méthylé dans les spermatozoïdes et que la méthylation s'installait après la fécondation. Ces observations ont, depuis, été largement confirmées : elles démontrent que la méthylation de l'ADN est certainement un des mécanismes qui accompagnent l'empreinte parentale. Mais les questions sont alors déplacées en amont et n'ont pas encore de réponse : où, quand et comment se prend la décision de méthyler ou non un allèle, ou plutôt, un segment d'ADN ?

De très nombreuses expériences ont été réalisées à la suite des travaux de Cattanach et Surani sur la région *H19-Igf2*. Cette région est soumise à l'empreinte génomique parentale dans toutes les espèces de mammifères où elle a été étudiée homme et marsupiaux compris. Le locus *H19* qui est exprimé chez la femelle et « éteint » dans le gamète mâle, tandis qu'*Igf2* est exprimé chez le mâle et pas chez la femelle. La création par transgénèse de souris porteuses de courts segments

d'ADN prélevés dans la région *H19-Igf2* et associés à un gène rapporteur⁽⁸⁾ a permis de mettre en évidence une région critique qui contient le signal d'empreinte. Elle est appelée *Imprinting Center* (ICR) et sa taille est de 5 kb chez l'homme et 2 kb chez la souris. Cette région critique est essentielle et sa délétion supprime purement et simplement l'empreinte génomique pour les deux gènes *H19* et *Igf2* avec toutes les conséquences associées (Ideraabduallah *et al.* 2008).

La méthylation de l'ADN joue un rôle central dans l'établissement de l'empreinte par son action sur la conformation de la molécule d'ADN. Cependant, il ne s'agit pas d'une action spécifique, mais au contraire d'un mécanisme très ancien, utilisé notamment pour inhiber l'expression des génomes étrangers (viraux ou bactériens) ayant pénétré dans la cellule. Chez les mammifères, ce mécanisme a simplement été adapté au contrôle de l'expression parent-spécifique. La méthylation de l'ADN porte essentiellement sur les cytosines et elle se fait par l'intervention de DNA méthyltransférases. Elle entraîne une modification de la fibre de chromatine et aboutit à une compaction des nucléosomes qui empêche l'accès des facteurs de transcription ou des protéines de liaison à l'ADN ; elle est donc associée à une véritable répression transcriptionnelle.

Même si la méthylation de l'ADN peut être considérée comme un mécanisme fondamental de contrôle et de maintien de l'empreinte parentale, il n'est cependant pas le seul. Ainsi, on a remarqué que certaines séquences d'ADN, voisines et constamment associées à certains gènes marqués de l'empreinte, une fois délétées, par exemple par ingénierie génétique, entraînaient la suppression de l'empreinte et des perturbations non expliquées par des modifications de la méthylation (Ideraabduallah *et al.* 2008). Ces séquences sont aujourd'hui reconnues comme des gènes transcrits en ARNs non-codants (ncRNA, en anglais), lesquels ont une fonction directe sur le contrôle de la transcription des gènes structuraux des alentours. Ces transcrits joueraient un rôle analogue à celui des ARN anti-sens, formant un complexe stable avec le transcrit du gène soumis à l'empreinte et empêchant ainsi son expression (Koerner *et al.* 2009). D'après les mêmes auteurs, le mécanisme de régulation de l'empreinte parentale faisant appel aux ARN non-codants serait même le plus fréquent et le plus universel.

Enfin, et pour être complet, nous devons dire que des protéines de type histone ont également été impliquées dans le mécanisme de régulation de l'empreinte parentale. Ceci n'a rien de surprenant lorsqu'on connaît le rôle de ces protéines dans la protection et la conformation de l'ADN des organismes supérieurs.

Encart 3

Quelles sont les conséquences de la méthylation de l'ADN et comment peut-on la mettre en évidence ?

La méthylation de l'ADN est une modification épigénétique qui porte uniquement sur les doublets CG de certaines régions de l'ADN. Elle entraîne la compaction des nucléosomes et par voie de conséquence, un changement de la structure spatiale de l'ADN (mais pas de la structure primaire). La méthylation empêche la liaison de toute protéine à l'ADN et empêche la transcription. Elle est d'autre part réversible. La méthylation de l'ADN se met en évidence par deux techniques utilisées en routine pour le diagnostic : l'une enzymatique et l'autre biochimique. La technique enzymatique fait appel à l'enzyme de restriction Hpa2, qui coupe l'ADN normal (CG) mais pas l'ADN méthylé (CpG). La technique biochimique nécessite un traitement au bisulfite de sodium, qui entraîne un changement au niveau de la séquence (les Cytosines sont remplacées par des Uraciles dans les RNA transcrits et par des Thymines après synthèse du cDNA par la Taq polymérase (Luedi *et al.* 2005, voir aussi l'URL : http://cvirtuel.cochin.univ-paris5.fr/empreinte/Chapitre_6/Chap06_03.htm).

(8) La méthode qui consiste à associer, dans un transgène, un segment d'ADN supposé avoir un rôle dans le contrôle de l'expression d'un ou plusieurs autres gènes à un gène rapporteur est assez classique. Dans la plupart des cas le gène rapporteur code pour une protéine facile à mettre en évidence par une coloration spécifique.

L'EMPREINTE GÉNOMIQUE PARENTALE ET SA FINALITÉ

L'empreinte génomique a été mise en évidence chez les insectes (notamment les cochenilles - *Homoptera, Coccoidea*) où elle détermine le sexe de l'adulte, chez quelques champignons (genre *Sciara*) et chez les végétaux produisant des fleurs. Chez les vertébrés, l'empreinte génomique parentale n'existe que chez les mammifères placentaires (euthériens et métathériens) mais ne s'observe pas chez les monotrèmes. Elle est donc apparue avec la viviparité (et la placentation), il y a environ 180 millions d'années. Dans ces conditions, savoir si l'empreinte génomique parentale a une finalité ou non revient à établir si elle confère ou non un avantage sélectif à la classe des mammifères placentaires ou, hypothèse alternative, si elle est apparue en même temps que cette classe de vertébrés comme un corollaire indispensable à leur mode de reproduction. Comme pour les mécanismes moléculaires mis en jeu, la situation est loin d'être entièrement élucidée. Plusieurs hypothèses ont été avancées mais, pour l'instant, aucune d'entre elles ne rend compte de manière satisfaisante de tous les faits et observations rapportés.

Une des premières hypothèses relative à une raison d'être de l'empreinte génomique avancée il y a déjà quelques années est que, d'une certaine manière, elle oblige les mammifères à utiliser la voie sexuée pour se reproduire. En effet, comme nous l'avons vu, les embryons parthénogénétiques (ou gynogénètes), issus du seul gamète femelle, ne peuvent pas se développer jusqu'à terme puisque certains de leurs gènes sont inactifs. Il faut donc, obligatoirement, une contribution du mâle pour que la reproduction des mammifères puisse s'accomplir normalement. Cette théorie, assez séduisante *a priori*, s'est trouvée confortée par des observations faites à partir d'embryons génétiquement manipulés, porteurs d'une délétion ou d'une duplication de la région *Igf2/H19* normalement soumise à l'empreinte génomique, et devenus capables, dans certains cas, de produire des embryons parthénogénétiques viables (Kono *et al.* 2004). Malheureusement on ne comprend pas pourquoi le fait d'avoir à utiliser exclusivement la reproduction sexuée puisse être un avantage pour les seuls mammifères, alors que la parthénogenèse est utilisée dans certains cas extrêmes, dans d'autres espèces de vertébrés (reptiles, poissons), comme « issue de secours » pour la survie de l'espèce. Ensuite, l'hypothèse selon laquelle l'empreinte génomique est avantageuse parce qu'elle oblige les mammifères à utiliser la voie sexuée pour se reproduire ne justifie pas qu'autant de gènes (autour d'une centaine chez la souris) soient concernés. Enfin, cette hypothèse ne devrait concerner que les gènes soumis au même type d'empreinte parentale et chez toutes les espèces de mammifères or ceux-ci ne représentent qu'une fraction assez faible des gènes soumis à l'empreinte, identifiés jusqu'à présent. Dans ces conditions : à quoi les autres gènes peuvent-ils bien servir ? Hasard ou nécessité ?

Une hypothèse différente, mais aussi séduisante, consiste à considérer que les régions soumises à l'empreinte sont des

« pièges » moléculaires qui contribuent à « nettoyer » le génome des mutations létales qui pourraient y survenir. Ces régions, en effet, sont virtuellement haploïdes et l'apparition d'une mutation létale dans le segment fonctionnel (c'est-à-dire non affectée par l'empreinte parentale), quelle que soit son origine, entraîne la mort de l'embryon et *ipso facto* l'élimination de la mutation en question. Une variante de cette hypothèse consiste à penser que les régions où agit l'empreinte génomique aboutissent à « éteindre » les gènes ou les ADN d'origine virale insérés dans les régions, l'extinction de la transcription étant contagieuse par proximité.

Une troisième hypothèse semble avoir plus de consistance et est aujourd'hui assez communément acceptée, avec cependant quelques réserves ; cette hypothèse est dite du « conflit parental », le conflit en question opposant les deux sexes. Elle considère que « l'intérêt » de la femelle de mammifères, dans la reproduction sexuée, est d'économiser au maximum ses réserves énergétiques, d'une part en limitant la croissance de son fœtus et d'autre part en s'en débarrassant le plus rapidement possible, dès lors qu'il est viable, afin de ne pas s'épuiser et d'être ainsi plus rapidement disponible pour une nouvelle gestation. L'intérêt du mâle est, au contraire, que les nouveau-nés soient les plus vigoureux possible afin de favoriser, à terme, la dissémination des allèles qu'il leur a légués. Pour aussi naïve qu'elle puisse paraître *a priori*, cette hypothèse du conflit parental concorde néanmoins assez bien avec la réalité. En effet, il est assez logique qu'un mécanisme robuste ait été mis en place par l'évolution pour mettre fin à la gestation, faute de quoi le fœtus des mammifères, dont les ressources nutritives sont virtuellement illimitées grâce au placenta, pourrait rester en phase embryonnaire pendant très longtemps, contrairement à tous les autres fœtus de vertébrés ! L'hypothèse du conflit parental semble également assez logique car on sait que beaucoup de gènes faisant l'objet d'une empreinte parentale sont précisément des gènes impliqués dans la croissance cellulaire (par exemple *Igf2 - Igf2r - H19* etc....) et la manière dont ils sont marqués de l'empreinte génomique accreditte aussi l'hypothèse du conflit parental. Il est assez remarquable de constater que les gènes dont le produit est considéré comme « activateur de croissance » ont, dans la plupart des cas, l'allèle paternel exprimé chez l'embryon et l'allèle maternel réprimé, alors que les gènes « ralentisseurs de la croissance » tendent à avoir, au contraire, leur allèle paternel inactif et leur allèle maternel actif. Enfin, on sait que des mutations résultant de manipulations génétiques induites dans ces gènes ont des conséquences sur la croissance des embryons, qu'elles soient transmises par le père ou par la mère.

D'autres hypothèses ont été formulées pour expliquer la valeur adaptative de l'empreinte génomique dont on pourra trouver une description dans des revues récentes (Reik & Walter, 2001 ; Murphy & Jirtle, 2003 ; Pauler & Barlow, 2006 ; Sha, 2008) mais aucune de ces hypothèses ne rend compte de toutes les observations. L'hypothèse du conflit

parental reste celle qui s'accorde le mieux avec la réalité. C'est également celle qui résiste le mieux à l'accumulation des données expérimentales... Elle est donc à retenir... faute de mieux.

LES ASPECTS PATHOLOGIQUES ASSOCIÉS À L'EMPREINTE GÉNOMIQUE PARENTALE

Si le mécanisme d'empreinte génomique parentale, mis en place chez les mammifères placentaires, semble avoir eu un avantage évolutif depuis près de 200 millions d'années, il présente parfois quelques inconvénients et peut être à l'origine de graves maladies. Ces maladies sont beaucoup mieux caractérisées dans l'espèce humaine que chez les animaux et leur étude en détail a considérablement consolidé nos connaissances de la physiologie et de la biologie moléculaire de l'empreinte génomique parentale. Il est vraisemblable que des pathologies similaires existent aussi chez les animaux mais, pour l'instant, elles n'ont pas été caractérisées, sans doute en raison de leur rareté ou de leur ressemblance avec des pathologies d'une autre nature. Il existe par contre des « modèles » de maladies humaines, plus ou moins fidèles, qui ont été créés par transgénése chez la souris.

Les maladies associées à l'empreinte génomique parentale sont les conséquences directes d'une anomalie dans la programmation de l'asymétrie fonctionnelle ou les conséquences indirectes de l'haploïdie fonctionnelle qui y est associée. Nous ne citerons dans ce mémoire que quelques exemples choisis parmi les mieux connus mais de très nombreuses revues ont été consacrées à ce sujet (Gabory & Dandolo, 2005 ; Wood & Oakey, 2006 ; Henckel & Feil 2008 ; Sha, 2008).

Les syndromes associés de Beckwith-Wiedemann (BWS) et Silver-Russell (SRS)

Le syndrome de Beckwith-Wiedemann (BWS) est une pathologie néonatale rare (fréquence estimée à environ 1 cas sur 15.000 nouveau-nés vivants). Les nouveau-nés atteints de ce syndrome (BWS) ont une taille et un poids élevés et présentent des défauts dus à un développement excessif de certains organes (viscéromégalie). En particulier, on observe fréquemment une hypertrophie de la langue (macroglossie), une hernie ombilicale et des anomalies dans la forme des oreilles. Les jeunes patients ont surtout une prédisposition à développer des tumeurs de type embryonnaire, telles que le néphroblastome de Wilms, et des épisodes hypoglycémiques graves pouvant tous les deux conduire à la mort. Le tableau pathologique s'améliore sensiblement avec l'âge et peu même s'amender presque complètement.

On sait aujourd'hui que le syndrome de Beckwith-Wiedemann est une maladie multigénique secondaire à une dérégulation de l'expression des gènes de la région chromosomique 11p15, soumise à l'empreinte parentale, région qui contient les gènes *IGF2 - H19* et *KCNQ1* précédemment évoqués (ce seg-

ment est homologue d'un segment de chromosome 7 chez la souris). Dans un très grand nombre de cas (environ 50 %), la maladie est sporadique et résulterait uniquement d'une simple anomalie dans la méthylation de la région. Dans d'autres cas, elle est associée à une anomalie structurale, en général, une délétion qui affecte le centre initiateur de la méthylation (ICR). Elle est alors transmissible comme une maladie dominante. Dans un très petit nombre de cas, le syndrome résulte d'une disomie uniparentale, d'origine maternelle.

Le syndrome de Silver-Russell (SRS) est l'opposé du syndrome de BWS. Il se caractérise par un retard de croissance intra-utérin et postnatal dû à l'inactivation fonctionnelle du domaine *IGF2-H19*.

Les syndromes associés de Prader-Willi (PWS) et d'Angelman (AS)

Les syndromes de Prader-Willi et d'Angelman sont d'autres exemples de maladies associées à une empreinte génomique anormale. Ce sont des syndromes rares et le plus souvent sporadiques. Les nouveau-nés atteints du syndrome de Prader-Willi manifestent, dès la naissance, une hypotonie majeure qui entraîne des difficultés de prise alimentaire. Plus tard, ils développent des troubles du comportement alimentaire et une obésité. On constate aussi un retard statural et pubertaire avec hypogonadisme, des difficultés d'apprentissage et divers troubles du comportement. Le syndrome de Prader-Willi est dû à une anomalie de la méthylation dans la région q11-q13 du chromosome 15. La copie paternelle de plusieurs gènes de cette région, qui doit normalement s'exprimer chez les embryons normaux, reste silencieuse chez les sujets atteints pour plusieurs raisons possibles. Dans 70 % des cas, il s'agit d'une délétion segmentaire du chromosome paternel, dans 25 % des cas, d'une disomie uniparentale d'origine maternelle, dans les autres cas d'une translocation ou une altération de la structure du chromosome 15. Des recherches récentes montrent que six gènes sont des candidats potentiels pour expliquer ce syndrome en raison de l'étroite corrélation entre les tissus et organes dans lesquels ces gènes sont exprimés (le système nerveux central et notamment l'hypothalamus) et les symptômes observés dans le SPW.

Le syndrome d'Angelman (prévalence de 1/12 000 naissances) est le symétrique du SPW. Il est caractérisé par une déficience mentale sévère avec retard de développement psychomoteur, ataxie et parfois des tremblements. Les enfants donnent l'impression d'être très gais, ils rient fréquemment et sont hyperactifs. Le syndrome d'Angelman est la conséquence de la perte de fonction de plusieurs gènes situés dans la même région 15q11-q13, comme conséquence d'une délétion maternelle ou d'une disomie uniparentale paternelle. Dans ce syndrome, le gène *UBE3A*, qui code une ubiquitin-proteinase ligase, semble jouer un rôle prépondérant (Moncla *et al.* 1999).

Les lecteurs intéressés par les progrès considérables faits au cours de ces dernières années dans l'étude des aspects fondamentaux de ces syndromes, pourront se reporter aux différents sites internet réalisés et actualisés par le monde médical en association avec les associations de parents d'enfants malades. Ces sites sont très riches en informations et, le plus souvent, présentés sous une forme très didactique et très actuelle.

D'autres maladies résultant d'une anomalie de l'empreinte parentale

À mesure que la recherche avance et que la connaissance des mécanismes qui régissent l'empreinte génomique parentale progresse, de nouvelles pathologies viennent se ranger dans ce cadre. C'est le cas des môles hydatiformes (ou hydatidiformes), qui sont la conséquence d'une prolifération excessive des cellules du trophoblaste. Les môles hydatiformes complètes correspondent à des grossesses sans embryon et l'analyse chromosomique montre aussi que les cellules ont un caryotype diploïde normal mais que tous les chromosomes proviennent du père. L'examen des caryotypes montre aussi que la plupart de ces môles sont XX, ce qui indique qu'elles résultent, au moins dans certains cas, d'une fécondation monospermiq.

Cela souligne la contribution du mâle au développement des membranes fœtales et la conséquence des anomalies de l'empreinte, côté maternel, sur le développement de l'embryon.

Une autre pathologie, fréquemment associée à une anomalie de l'empreinte parentale, est celle qui se traduit par l'apparition de tumeurs cancéreuses. Comme évoqué plus haut, les pédiatres ont remarqué que les enfants atteints du syndrome de Beckwith-Wiedemann sont fréquemment atteints de tumeur de Wilms, une tumeur du blastème métanéphrique (Wecksberg *et al.* 2009). On sait désormais que cette tumeur est due, le plus souvent, à la perte de fonction du gène *CDKN1C* - un gène suppresseur de tumeur. L'allèle paternel de ce gène est normalement inactivé dans l'haploïdotype hérité du père et, lorsqu'un défaut de méthylation l'inactive aussi dans l'haploïdotype maternel, il devient génétiquement non-fonctionnel et permet le développement de tumeurs. D'autres exemples sont attendus dans les années à venir, qui seront la conséquence plus ou moins directe de l'haploïdotype fonctionnelle constitutive à l'extinction d'un segment chromosomique pour raison d'empreinte parentale. Il faut en effet rappeler que la plupart des gènes soumis à l'empreinte codent des facteurs de la croissance cellulaire et que l'analyse de l'ADN de tumeurs cancéreuses du foie, du colon, du poumon ou du sein montre souvent des anomalies de la méthylation. Cela dit, et pour aussi importantes qu'elles puissent être, les anomalies de la méthylation ne pourront évidemment pas être tenues pour responsables « universelles » du développement de tumeurs cancéreuses, tant il est vrai que

le cancer existe aussi dans d'autres classes de vertébrés où l'empreinte ne se produit pas.

L'empreinte génomique parentale et le clonage des mammifères

Les observations que nous venons de rapporter à propos de l'empreinte parentale expliquent aussi, au moins en partie, les difficultés rencontrées pour cloner les mammifères. La stratégie la plus communément adoptée consiste à transférer le noyau de cellules somatiques dans un ovocyte énucléé (en anglais : *somatic cell nuclear transfer* ou SCNT) pour tenter de le re-programmer en totalité. Or ce noyau est déjà marqué de l'empreinte parentale qui maintient certains de ses gènes dans un état non-fonctionnel empêchant le génome d'assurer toutes ses fonctions pendant le développement d'un nouvel embryon. Il se peut aussi que des régions soient inactivées de manière erratique ou accidentelle, rendant l'embryon cloné incapable de se développer, alors que cette même inactivation n'aura que des conséquences très limitées dans un tissu somatique. En fait, on ne connaît pas très bien les raisons qui rendent le clonage si difficile chez les mammifères mais les pathologies que l'on observe sont, souvent, évocatrices d'une anomalie de l'empreinte parentale (taille des fœtus, dystrophie des enveloppes fœtales, etc.).

CONCLUSION

La notion d'empreinte génomique parentale est d'acquisition récente ; elle date d'environ vingt cinq ans si l'on considère qu'elle s'est imposée après les travaux de Davor Solter et Azim Surani (1984). Elle est à l'origine d'un néologisme devenu commun : l'épigénétique. Elle est aussi d'une grande importance puisqu'elle introduit une composante nouvelle en Génétique : ce que l'on hérite de son père n'est pas fonctionnellement équivalent à ce que l'on hérite de sa mère et ceci, même s'il s'agit des mêmes gènes et des mêmes allèles. On sait désormais que la méthylation de l'ADN joue un rôle central pour établir l'empreinte mais on est encore limité dans notre connaissance, par exemple, des différents mécanismes de la méthylation dans chaque sexe et son maintien dans les cellules somatiques. On sait aussi que la méthylation n'est pas le seul mécanisme capable de rendre compte de l'empreinte parentale et le rôle de certains ARN non codants commence à se dessiner nettement. Enfin, il est curieux de noter que les généticiens ne connaissent pas la fonction de la plupart des gènes soumis à l'empreinte parentale... Tout cela permet d'imaginer que l'épigénétique a de beaux jours devant elle. Avec un peu d'imagination, on peut même se demander si une meilleure connaissance des phénomènes épigénétiques et de la fonction des gènes soumis à l'empreinte parentale sur la croissance et la robustesse des animaux ne pourrait pas conduire, à terme, à des retombées d'intérêt zootechnique ?

BIBLIOGRAPHIE

- Barton, S.C., Surani, M.A.H., Norris, M.L. 1984. Role of paternal and maternal genomes in mouse development. *Nature* 311 : 374–376.
- Cattanach B.M. 1986. Parental origin effects in mice. *J Embryol Exp Morphol.* 97 Suppl: 137–150.
- Cattanach, B.M. & Beechey, C.V. 1990. Autosomal and X-chromosome imprinting. *Dev Suppl.* 1990 : 63–72.
- Cattanach, B.M. & Kirk, M. 1985. Differential activity of maternally and paternally derived chromosome regions in mice. *Nature* 315 : 496–498.
- Charlier, C., Segers, K., Wagenaar, D., Karim, L., Berghmans, S., Jaillon, O., Shay, T., Weissenbach, J., Cockett, N., Gyapay, G., Georges, M. 2001. Human-ovine comparative sequencing of a 250-kb imprinted domain encompassing the callipyge (clpg) locus and identification of six imprinted transcripts: DLK1, DAT, GTL2, PEG11, antiPEG11, and MEG8. *Genome Res.* 11 : 850–862.
- DeChiara, T.M., Robertson, E.J., Efstratiadis, A. 1991. Parental imprinting of the mouse insulin-like growth factor II gene. *Cell* 64 : 849–859.
- Ferguson-Smith, A.C., Sasaki, H., Cattanach, B.M., Surani, M.A. 1993. Parental-origin-specific epigenetic modification of the mouse H19 gene. *Nature* 362 : 751–755.
- Gabory, A. & Dandolo, L. 2005. Epigénétique et développement : l’empreinte parentale. *Med Sci. (Paris)* 21 : 390–395.
- Haig, D., & Graham. C. 1991. Genomic imprinting and the strange case of the insulin-like growth factor II receptor. *Cell* 6:1045–1046.
- Henckel, A. & Feil, R. 2008. Asymétrie des génomes parentaux : Implications en pathologie. *Med Sci. (Paris)* 24 : 747–752.
- Ideraabdullah, F.Y., Vigneau, S., Bartolomei, M.S. 2008. Genomic imprinting mechanisms in mammals. *Mutat Res.* 647 : 77–85.
- Johnston, D.R. 1974. Hairpin-tail: A case of post-reductional gene action in the mouse egg. *Genetics* 76 : 795–805.
- Johnston, D.R. 1975. Further observations on the hairpin-tail (Thp) mutation in the mouse. *Genet Res.* 24 : 207–213.
- Killian, J.K., Byrd, J.C., V. Jirtle, B. L. Munday, M. K. Stoskopf and R. L. Jirtle. 2000. M6P/IGF2R imprinting evolution in mammals. *Molecular Cell* 5 : 707–716.
- Koerner, M.V., Pauler, F.M., Huang, R., Barlow, D.P. 2009. The function of non-coding RNAs in genomic imprinting. *Development* 136 : 1771–1783.
- Kono, T., Obata, Y., Wu, Q., Niwa, K., Ono, Y., Yamamoto, Y., Park, E.S., Seo, J.S., Ogawa, H. 2004. Birth of parthenogenetic mice that can develop to adulthood. *Nature* 428 : 860–864
- Luedi, P. P., A. J. Hartemink and R. L. Jirtle. 2005. Genome-wide prediction of imprinted murine genes. *Genome Research* 15 : 875–884.
- McGrath, J. & Solter, D. 1984. Completion of mouse embryogenesis requires both the maternal and paternal genomes. *Cell* 37 : 179–183.
- Moncla, A., Malzac, P., Livet M.O., Voelckel, M.A., Mancini, J., Delaroziere, J.C., Philip, N. & Mattei, J.F. 1999. Angelman syndrome resulting from UBE3A mutations in 14 patients from eight families: clinical manifestations and genetic counselling. *Journal of Medical Genetics* 36 : 554–560.
- Morison, I.M., Ramsay, J.P., Spencer, H.G. 2005. A census of mammalian imprinting. *Trends Genet.* 21 : 457–65.
- Murphy, S. K., and R. L. Jirtle. 2003. Imprinting evolution and the price of silence. *Bioessays* 25 : 577–588.
- Pauler, F.M. & Barlow, D.P. 2006. Imprinting mechanisms--it only takes two. *Genes Dev.* 20 : 1203–1206.
- Reik, W., and J. Walter. 2001. Evolution of imprinting mechanisms: The battle of the sexes begins in the zygote. *Nature Genetics* 27 : 255–256.
- Sha, K. 2008. A mechanistic view of genomic imprinting. *Annu Rev Genomics Hum Genet.* 9 : 197–216.
- Surani, M. A. H., Barton, S.C. & Norris, M.L. 1984. Development of reconstituted mouse eggs suggests imprinting of the genome during gametogenesis. *Nature* 308 : 548–550.
- Swales, A.K.E. & Spears, N. 2005. Genomic imprinting and reproduction. *Reproduction* 130 : 389–399.
- Weaver, J.R., Susiarjo, M., Bartolomei, M.S. 2009. Imprinting and epigenetic changes in the early embryo. *Mamm Genome.* 2009 Sep 16 (in press).
- Weidman, J. R., D. C. Dolinoy, K. A. Maloney, J. F. Cheng and R. L. Jirtle. 2006. Imprinting of opossum Igf2r in the absence of differential methylation and Air. *Epigenetics* 1 : 49–54.
- Weksberg, R., Shuman, C., and Beckwith, J.B. 2009. Beckwith-Wiedemann syndrome - Practical Genetics *European Journal of Human Genetics* 1–9
- Winstead, E.R. 2001. «The Legacy of Solid Gold». *Genome News Network* (2001–05–07). http://www.genomenewsnetwork.org/articles/05_01/Callipyge_sheep_imprinting.shtml.
- Wood, A.J. & Oakey, R.J. 2006. Genomic imprinting in mammals: emerging themes and established theories. *PLoS Genet.* 2 : e147.
- Wutz, A., Theussl, H.C., Dausman, J., Jaenisch, R., Barlow, D.P., Wagner, E.F. 2001. Non-imprinted Igf2r expression decreases growth and rescues the Tme mutation in mice. *Development* 128 : 1881–1887.