

région, englobant le gène *NIPBL*, et ayant des manifestations cliniques particulièrement sévères corrobore cette hypothèse. Sur la cinquantaine de cas étudiés, 50% environ sont porteurs d'une mutation. Il est encore trop tôt pour dire s'il existe une hétérogénéité génétique ou si certaines mutations dans le gène *NIPBL* n'ont pu être mises en évidence. Comme il existe une ressemblance clinique entre le syndrome de Roberts¹ (OMIM 268300) et le CdLS, les auteurs [2] ont eu l'idée de rechercher dans les cellules des patients atteints de CdLS une séparation prématurée des chromatides sœurs¹ (SCP): l'examen des mitoses en bandes C s'est révélé négatif. Toutefois, on pouvait peut-être s'y attendre. Le syndrome de Roberts est récessif, et il faudrait donc plutôt étudier un modèle

animal avec invalidation du gène à l'état homozygote pour voir si la perte des deux copies de *Nipbl* entraîne une SCP. Que le gène *NIPBL* soit en cause dans le CdLS, maladie multisystémique, apparaît parfaitement logique. D'autres gènes impliqués dans la voie Notch [5] sont responsables de maladies humaines, comme *JAG1* dans le syndrome d'Alagille¹ (→) ou *DLL3* dans la dysostose spondylocostale¹ (→). Cette découverte, bien que tardive, devrait permettre de comprendre le rôle de la delangine au cours du développement embryonnaire et d'enrichir les connaissances de la voie de signalisation Notch chez l'homme. ♦

Cornelia de Lange syndrome

(→) m/s
1997, n° 2,
p. 1481

(→) m/s
2000, n° 8-9,
p. 1000

RÉFÉRENCES

1. Opitz JM. The Brachmann-de Lange syndrome. *Am J Med Genet* 1985; 22: 89-102.
2. Tonkin ET, Wang TJ, Lisgo S, et al. *NIPBL*, encoding a homolog of fungal *Scs2*-type sister chromatid cohesion proteins and fly *Nipped-B* is mutated in Cornelia de Lange syndrome. *Nat Genet* 2004; 36: 631-5.
3. Krantz ID, McCallum J, DeScipio C, et al. Cornelia de Lange syndrome is caused by mutations in *NIPBL*, the human homolog of *Drosophila melanogaster* *Nipped-B*. *Nat Genet* 2004; 36: 636-41.
4. Rollins RA, Korom M, Aulner N, et al. *Drosophila* *Nipped-B* protein supports sister chromatid cohesion and opposes the stromalin/*Scs3* cohesion factor to facilitate long-range activation of the cut gene *Mol Cell Biol* 2004; 24: 3100-11.
5. Schweisguth F. Fonctions et régulation de l'activité de signalisation du récepteur Notch. *Med Sci (Paris)* 2000; 16: 186-91.
6. Lindsell CE, Shawber CJ, Boulter J, Weinmaster G. Jagged: a mammalian ligand that activates Notch1. *Cell* 1995; 80: 909-17.

NOUVELLE

Une nouvelle cause de maladie génétique : l'inactivation d'un gène par un transcrit d'ARN antisens

Dominique Labie

> Parce que les globules rouges étaient facilement accessibles, les désordres génétiques de l'hémoglobine ont été souvent les modèles exemplaires de mutations, retrouvées ultérieurement dans d'autres gènes. On a ainsi décrit différents types de mutations au niveau des régions codantes ou de leur environnement immédiat, moins fréquemment des délétions impliquant des zones régulatrices majeures situées à distance des gènes qu'elles contrôlent. Quelques cas sont, cependant, toujours restés inexpliqués pour lesquels était formulée l'hypothèse d'un effet de position, l'expression d'un gène pouvant être profondément modifiée par son déplacement dans une configuration chromatiniennne «défavo-

nable» [1, 2]. L'existence de séquences modifiées en *cis*, potentiellement à l'origine de modifications épigénétiques (localisation nucléaire, temps de réplication, profil de méthylation de l'ADN...), et donc de l'inactivation d'un gène, n'avait jusqu'à présent pas été démontrée. L'équipe d'hématologie moléculaire de D.R. Higgs (*John Radcliffe Hospital*, Oxford, Royaume-Uni) a présenté en 2000 un cas d' α -thalassémie qui ne s'expliquait pas complètement par les mécanismes connus [3]. Chez un sujet d'origine polonaise, les auteurs avaient identifié une délétion d'environ 18 kb, englobant, au niveau du locus α , le gène $\alpha 1$ (*HBA1*) et le gène θ (*HBQ1*), mais

Département de génétique, développement et pathologie moléculaire, Institut Cochin, 24, rue du Faubourg Saint Jacques, 75014 Paris, France. labie@cochin.inserm.fr

respectant le gène $\alpha 2$ (*HBA2*) et la zone régulatrice majeure située en amont, délétion qu'ils ont intitulée (α -^{ZF}) d'après les initiales du patient (*Figure 1*). Le phénotype hématologique $\alpha\alpha/\alpha$ -^{ZF} était cependant nette-

ment plus sévère que ce qu'on attendait d'un sujet exprimant trois gènes α sur quatre. Le chromosome porteur de la délétion a été isolé et analysé en cellules lymphoblastoïdes après hybridation interspécifique avec un chromosome murin. On a alors constaté l'absence complète d'expression d'ARNm humain. Le gène *HBA2* intact - dont les séquences régulatrices étaient présentes - n'était pas exprimé. La question posée était donc le mode par lequel la délétion inactivait ce deuxième gène α . On n'a pu mettre en évidence ni la délétion d'un élément de régulation positive, ni en



aval un élément de régulation négative qui se trouverait juxtaposé au gène *HBA2*.

Formulant l'hypothèse d'un effet de position, les auteurs ont étudié différents aspects de la régulation chromatinienne. Ils ont constaté une méthylation des îlots CpG du gène éteint, méthylation qui ne diffusait pas au niveau des autres gènes du locus α . Dans cette même région promotrice du gène *HBA2*, on observait une sensibilité réduite aux endonucléases. L'exploration de la région centromérique située en aval de la délétion la montrait riche en séquences Alu, mais, surtout, identifiait la présence d'un gène fortement exprimé, le gène *LUC7L*. Ce gène, «hétérochromatique», pourrait coder pour une protéine de liaison à l'ARN [4]. Il est transcrit dans la direction opposée à celle du locus α . Les auteurs ont alors formulé l'hypothèse selon laquelle le transcrit de ce gène, anormalement étendu du fait de la délétion, pouvait être responsable de la méthylation de la région promotrice de *HBA2* et de l'extinction subséquente du gène.

L'expression d'un transcrit antisens a été observée comme impliquée dans la méthylation des îlots CpG et l'extinction de l'expression génique au cours de l'empreinte parentale [5, 6]. C'est aussi

un phénomène classique au cours de l'inactivation de l'X [7]. Il n'avait, cependant, jamais été décrit dans un locus autosomique non soumis à l'empreinte. La même équipe de D.R. Higgs a donc poussé l'exploration de sa première publication afin de confirmer le diagnostic [8]. En précisant les limites de la délétion, on constate qu'elle ampute l'extrémité 3' du gène *LUC7L*, dont les trois derniers exons et la zone de polyadénylation sont délévés (Figure 1). Quand le chromosome α -ZF est exprimé en lymphocytes transformés par le virus EBV, l'analyse par RT-PCR montre que le transcrit de ce gène tronqué n'est pas normalement interrompu et s'étend jusqu'aux îlots CpG du gène *HBA2*. Les auteurs ont aussi reproduit chez la souris transgénique les données de la délétion humaine. Selon que le gène *LUC7L* tronqué s'exprime dans le sens opposé ou dans le même sens que le gène *HBA2*, on observe ou non, tôt dans le développement, une méthylation des îlots CpG et une disparition des sites HS. Le modèle a aussi été reproduit au cours de la différenciation de cellules embryonnaires ES. Deux observations ont finalement contribué à valider le rôle essentiel de l'ARNm antisens dans l'ensemble des phénomènes observés: (1) l'extinction de *HBA2* obtenue

soit par suppression de la zone régulatrice majeure HS-40, soit par mutation des séquences CCAAT ou TATA, ne s'accompagne pas de méthylation; (2) le phénomène a été reproduit dans une construction remplaçant le fragment de *LUC7L* par un fragment équivalent d'ubiquitine (*UBC*) transcrit antisens. Il s'agit donc non d'un cas isolé, mais d'un mécanisme général qui a pu être reproduit dans des constructions relativement simples. Il démontre que l'inactivation d'un gène structurellement normal peut être le résultat d'une modification épigénétique dont le mécanisme est la transcription antisens d'un ARN. Le même mécanisme pourrait être retrouvé dans d'autres maladies génétiques, localisées surtout dans les régions où la densité des gènes est élevée, comme c'est le cas à l'extrémité télomérique 16p. Quel est également le rôle possible de ce mécanisme dans les dérèglements acquis? Le transcrit d'un ARN aberrant (séquence LINE, SINE ou séquence rétrovirale) pourrait-il modifier l'expression d'un oncogène ou d'un gène suppresseur de tumeur? Quels sont l'ordre et la hiérarchie des événements épigénétiques au cours du développement? ♦

A novel mechanism for genetic diseases: transcription of antisense RNA may silence a gene

RÉFÉRENCES

1. Bedell MA, Jenkins NA, Copeland NG. Good genes in bad neighbourhoods. *Nat Genet* 1996; 12: 229-32.
2. Kleinjan DJ, Van Heyningen V. Position effect in human genetic disease. *Hum Mol Genet* 1998; 7: 1611-8.
3. Barbour VM, Tufarelli C, Sharpe JA, et al. α -Thalassemia resulting from a negative chromosomal position effect. *Blood* 2000; 96: 800-7.
4. Tufarelli C, Frischau AM, Hardison R, et al. Characterization of a widely expressed gene (*LUC7-LIKE*, *LUC7L*) defining the centromeric boundary of the human α -globin domain. *Genomics* 2001; 71: 307-14.
5. Wutz A, Smrzka OW, Schweifert N, et al. Imprinted expression of the *Igf2r* gene depends on an intronic CpG island. *Nature* 1997; 389: 745-9.
6. Hayward BE, Bonthon DT. An imprinted antisense transcript at the human *GNAS1* locus. *Hum Mol Genet* 2000; 9: 835-41.
7. Lee JT, Davidow LS, Warshawsky D. Tsix, a gene antisense to Xist at the X-inactivation centre. *Nat Genet* 1999; 21: 400-4.
8. Tufarelli C, Sloane Stanley JA, Garrick D, et al. Transcription of antisense RNA leading to gene silencing and methylation as a novel cause of human genetic disease. *Nat Genet* 2003; 34: 157-65.

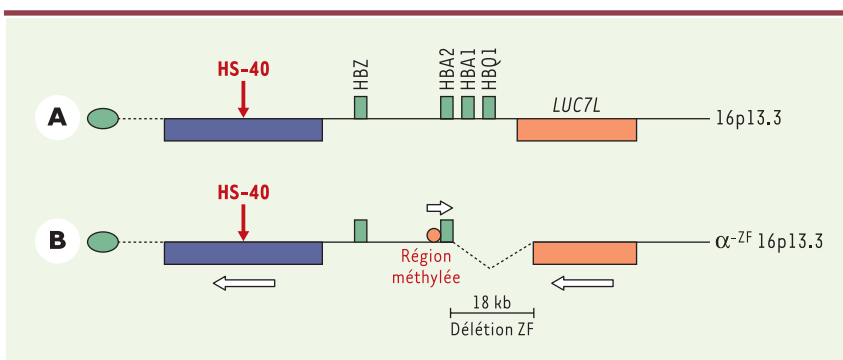


Figure 1. Région télomérique 16p où est localisé le locus α -globine. A. Chromosome normal. B. Chromosome ZF où a été observée la délétion. Le locus α , dont la transcription est orientée du télomère vers le centromère, comporte quatre gènes : *HBZ*, *HBA2*, *HBA1*, *HBQ1*. Il est situé dans une région dense, entre deux gènes dont la transcription est orientée du centromère vers le télomère. L'élément régulateur majeur du locus α , HS-40, est situé dans un intron d'un gène plus télomérique. Le gène *LUC7L* est situé du côté centromérique. Du fait de la délétion ZF, ce gène est tronqué, la transcription n'est pas interrompue par un signal polyA, et s'étend jusqu'au gène *HBA2* et sa région promotrice. L'effet en est une méthylation des îlots CpG et une inactivation du gène.