

Inactivation du chromosome X

Comment une cellule sait compter jusqu'à deux X

Sandrine Augui, Edith Heard

Dynamique nucléaire et plasticité du génome,
UMR 218 CNRS, Institut Curie,
26, rue d'Ulm, 75248 Paris Cedex 05, France.
Sandrine.Augui@curie.fr

> Chez les mammifères, deux chromosomes sexuels de type X et Y sont responsables des différences entre mâles et femelles. Alors que les femelles portent deux chromosomes X, les mâles n'en ont qu'un seul auquel est associé un chromosome Y, beaucoup plus petit et plus pauvre en gènes. Il en résulte donc un déséquilibre entre les deux sexes quant à la quantité de gènes, donc de produits géniques (ARN et protéines), que leurs cellules contiennent. Ce déséquilibre est compensé très tôt au cours de l'embryogenèse *via* l'inactivation d'un des deux chromosomes X chez la femelle. En d'autres termes, dans chaque cellule de l'embryon, la quasi-totalité des gènes portés par l'un des deux chromosomes X va être transcriptionnellement éteinte. Le X à inactiver étant choisi aléatoirement et indépendamment dans chaque cellule de l'embryon, l'inactivation conduit à la formation d'individus femelles mosaïques dont toutes les cellules n'expriment pas le même chromosome X [1, 2].

Détecter, compter et choisir : les étapes de l'inactivation aléatoire d'un des deux X

Cet aspect aléatoire de l'inactivation implique plusieurs contraintes pour la cellule. Celle-ci doit tout d'abord déterminer le nombre de chromosomes X qu'elle contient afin de n'initier l'inactivation qu'en présence de plusieurs X (étape dite de *sensing*). Elle doit également compter le *ratio* X : autosome afin de ne conserver qu'un

X actif par lot diploïde d'autosomes (comptage) et choisir lequel des deux chromosomes X sera inactivé (choix). Toutes ces étapes, comme l'initiation de l'inactivation en elle-même, sont contrôlées par un locus unique du chromosome X appelé centre d'inactivation (ou *Xic*).

Si les limites du *Xic* et les différents éléments fonctionnels qu'il contient n'ont pas encore été totalement définis, il est établi que ce locus est nécessaire et suffisant à la mise en place de l'inactivation (pour revue, voir [3]). Le *Xic* contient entre autres le gène clé de l'inactivation, *Xist*, dont l'ARN non codant recouvre le chromosome X qui lui a donné naissance, et induit son extinction. Dans les cellules de l'embryon précoce, comme dans les cellules souches embryonnaires (cellules ES) qui en sont issues, *Xist* est exprimé à un faible niveau à partir de ses deux allèles. Au cours de la différenciation cellulaire, ces deux allèles vont être régulés différemment : l'un, choisi aléatoirement, est surexprimé pour induire l'inactivation du chromosome qui le porte, tandis que l'autre, au niveau du X restant actif, est progressivement éteint (Figure 1).

Comment compter jusqu'à deux : un nouvel élément du *Xic*

La mise en place de cette régulation différentielle des deux allèles de *Xist* ainsi que les mécanismes qui la contrôlent soulèvent de nombreuses questions. L'une d'elles consiste à comprendre comment la cellule est capable de déterminer le nombre de chromo-

somes X qu'elle contient afin d'induire ou non cette surexpression monoallélique de *Xist*. S'il est établi que c'est le nombre de *Xic* présents dans le noyau que la cellule recense, l'introduction d'un transgène contenant *Xist* et son unité régulatrice *Tsix/Xite* en une copie dans une lignée mâle ne permet pas d'induire l'inactivation, indiquant que ceux-ci ne sont pas reconnus par la cellule comme un *Xic* surnuméraire [4]. En outre, dans une lignée femelle dont l'un des X a été délété de *Xist*, *Tsix* et *Xite*, l'inactivation est normalement mise en place au niveau du chromosome X intact, indiquant que cette délétion ne perturbe pas l'étape de *sensing* [5]. Il existe donc au sein du *Xic* des éléments fonctionnels nécessaires à l'étape de *sensing*, localisés en dehors de la région *Xist/Tsix/Xite*, qui restent à identifier [6].

Notre équipe vient de mettre en évidence pour la première fois l'un de ces éléments potentiels. Localisé dans la partie proximale du *Xic*, ce locus nommé *Xpr* (*X-pairing region*) est capable, dans les cellules ES femelles, d'interagir en *trans* avec son homologue porté par le second chromosome X [7]. Nos données suggèrent que cette interaction, qui a lieu avant la mise en place de l'inactivation, permettrait aux deux chromosomes X de se prévenir mutuellement de leur présence et de rapprocher les deux allèles de *Xist* afin de mettre en place leur régulation différentielle. L'analyse de lignées ES femelles porteuses d'un transgène *Xpr* simple copie montre que celui-ci est capable d'aller à la rencontre du

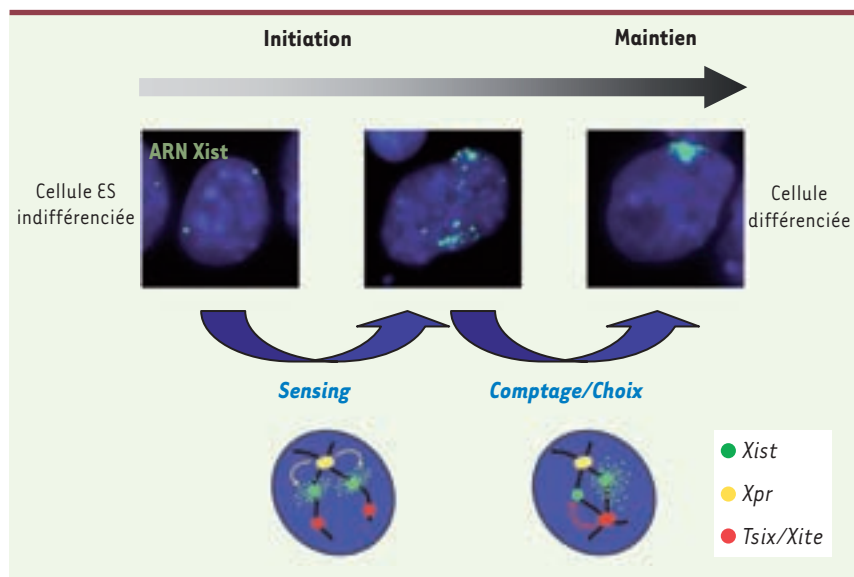


Figure 1. Appariement homologue des Xic et mise en place de l'inactivation. Dans les cellules ES indifférenciées, *Xist* est exprimé à un faible niveau à partir de ses deux allèles. L'ARN *Xist* (en vert) est alors visualisable par ARN FISH (hybridation *in situ* en fluorescence) sous la forme de deux points ponctuels. Au tout début de la différenciation, les deux locus *Xpr* (représentés en rouge) s'apparient transitoirement, permettant ainsi à la cellule de détecter la présence de ses deux chromosomes X (étape de *sensing*) [7]. Le gène *Xist* est alors activé, induisant un début d'accumulation biallélique de l'ARN en *cis*. Une fois *Xist* activé, une seconde phase d'appariement homologue des Xic permet de rendre son expression monoallélique (éta-

pes de comptage/choix). Cette seconde phase d'appariement concerne non seulement la région *Xpr* mais également la région *Tsix/Xite*, impliquée dans la régulation négative de *Xist* [7, 10, 11]. Une fois initiée, l'inactivation est stable et maintenue au cours des divisions cellulaires.

locus endogène, indiquant la capacité intrinsèque et unique de cette région à engendrer l'interaction. En outre, le nombre de cellules accumulant l'ARN *Xist* après différenciation est accru dans ces lignées femelles transgéniques, comparé à une lignée sauvage, suggérant un rôle de l'interaction homologue *Xpr-Xpr* dans la surexpression de *Xist* et donc dans l'initiation de l'inactivation (Figure 1).

Cette hypothèse est corroborée par les observations faites dans des lignées ES mâles où l'introduction stable d'un transgène *Xpr* est fortement contre-sélectionnée. Sachant que la surexpression de *Xist* dans une lignée mâle est létale puisqu'elle induit l'inactivation de l'unique chromosome X, cette contre-sélection pourrait être due à l'activation anormale du gène *Xist* endogène via l'interaction ectopique des *Xpr* transgénique et endogène. En l'occurrence, l'unique clone mâle porteur d'un transgène *Xpr* obtenu s'est avéré instable et montre à l'état indifférencié des accumulations aberrantes de l'ARN *Xist*, situation qui n'est jamais observée dans des cellules mâles sauvages.

Un nouveau mode de régulation monoallélique ?

Au-delà de sa capacité à faire interagir les deux centres d'inactivation, le locus *Xpr* pourrait donc avoir un effet *trans*-activateur sur le gène *Xist*. Cet effet pourrait matérialiser l'étape de *sensing* en n'autorisant l'activation de *Xist*, et donc l'inactivation d'un X, qu'en présence d'au moins deux *Xpr*, donc de deux chromosomes X. Ce mode de recensement génique *via* des interactions homologues associées à une activation des gènes par effet en *trans* offre de très nombreuses perspectives quant à la compréhension générale des mécanismes impliqués dans la régulation monoallélique aléatoire¹. Les gènes du chromosome X ne sont en effet pas les seuls à être soumis à ce type de régulation qui concerne près de 10 % du génome humain comme l'a montré une étude récente [8]. La découverte du locus *Xpr* et de son mode d'action dans la mise en place de l'inactivation du chromosome X ouvre donc un nouveau champ de recherche dans le domaine. ♦

¹ À ne pas confondre avec la régulation monoallélique soumise à empreinte parentale (pour revue, voir [9]).

Cells know how to count two X

RÉFÉRENCES

1. Heard E, Distech CM. Dosage compensation in mammals: fine-tuning the expression of the X chromosome. *Genes Dev* 2006 ; 20 : 1848-67.
2. Gilgenkrantz S. Insubordination et sollicitude du chromosome X humain. *Med Sci (Paris)* 2005 ; 21 : 573-7.
3. Avner P, Heard E. X-chromosome inactivation : counting, choice and initiation. *Nat Rev Genet* 2001 ; 2 : 59-67.
4. Heard E, Mongelard F, Arnaud D, Avner P. Xist yeast artificial chromosome transgenes function as X-inactivation centers only in multicopy arrays and not as single copies. *Mol Cell Biol* 1999 ; 19 : 3156-66.
5. Monkhorst K, Jonkers I, Rentmeester E, et al. X inactivation counting and choice is a stochastic process : evidence for involvement of an X-linked activator. *Cell* 2008 ; 132 : 410-21.
6. Augui S, Heard E. Le rendez-vous des chromosomes X. *Med Sci (Paris)* 2006 ; 22 : 910-1.
7. Augui S, Filion GJ, Huart S, et al. Sensing X chromosome pairs before X inactivation via a novel X-pairing region of the Xic. *Science* 2007 ; 318 : 1632-6.
8. Gimelbrant A, Hutchinson JN, Thompson BR, Chess A. Widespread monoallelic expression on human autosomes. *Science* 2007 ; 318 : 1136-40.
9. Gabory A, Dandolo L. Épigénétique et développement : l'empreinte parentale. *Med Sci (Paris)* 2005 ; 21 : 390-5.
10. Bacher CP, Guggiari M, Brors B, et al. Transient colocalization of X-inactivation centres accompanies the initiation of X inactivation. *Nat Cell Biol* 2006 ; 8 : 293-9.
11. Xu N, Tsai CL, Lee JT. Transient homologous chromosome pairing marks the onset of X inactivation. *Science* 2006 ; 311 : 1149-52.