

Le phénomène callipyge : effets en *cis*, en *trans* et surdominance polaire.

DAVIS E., GEORGES M., CHARLIER C.

Service de Génomique animale, Faculté de Médecine vétérinaire, Université de Liège, 20 Boulevard de Colonster, 4000-Liège, Belgique.

Correspondance : Michel Georges, e-mail : michel.georges@ulg.ac.be

RESUME : Le phénotype callipyge correspond à une hypertrophie musculaire postnatale décrite chez le mouton. La caractéristique principale de ce phénotype est son mode de transmission, non-Mendélien, appelé « surdominance polaire ». Seuls les animaux hétérozygotes ayant reçu la mutation de leur père expriment le phénotype. Le locus callipyge (CLPG) correspond au locus DLK1-GTL2 soumis à l’empreinte et la mutation causale est un polymorphisme de nucléotide unique (SNP). Nous faisons l’hypothèse que ce SNP perturbe un élément de contrôle à longue distance, spécifique des muscles squelettiques. Dans cet article, nous résumons la compréhension actuelle des mécanismes moléculaires à la base de la surdominance polaire. Nous mettons en évidence que ce phénomène génétique est le résultat d’une interaction de l’effet en *cis* de la mutation callipyge avec l’interaction en *trans* entre produits de gènes soumis à une empreinte posée.

Initialement observé aux Etats-Unis au début des années ’80, le phénotype callipyge (de *καλι* « belles » et *πιγγε* « fesses ») est une hypertrophie musculaire généralisée décrite chez le mouton. Ce phénotype se manifeste approximativement 2 à 4 semaines après la naissance, présente un gradient rostro-caudal (développement musculaire plus prononcé au niveau des membres postérieurs), et est caractérisé par une augmentation du diamètre et de la proportion des fibres musculaires de type rapide (figure 1). Convoités initialement pour leur potentiel économique, les animaux callipyges ont perdu de leur intérêt agronomique à cause de la tendreté moindre de leur viande. C’est principalement à son mode de transmission non mendélien unique que le phénotype callipyge doit maintenant l’intérêt que lui porte la communauté scientifique (Cockett *et al.*, 2001 ; Georges *et al.*, 2003 ; 2004 ; Cockett *et al.*, 2005).

Callipyge est caractérisé par un mode de transmission non mendélien appelé « surdominance polaire » dont la

spécificité est que seuls les animaux hétérozygotes ayant reçu la mutation de leur père expriment le phénotype. L’hypertrophie musculaire fut observée pour la première fois chez ~15 %

des descendants d’un bélier Dorset, baptisé de façon prémonitoire *Solid Gold*. Croisés à des brebis normales, les béliers callipyges descendant de *Solid Gold* transmettaient le phénotype

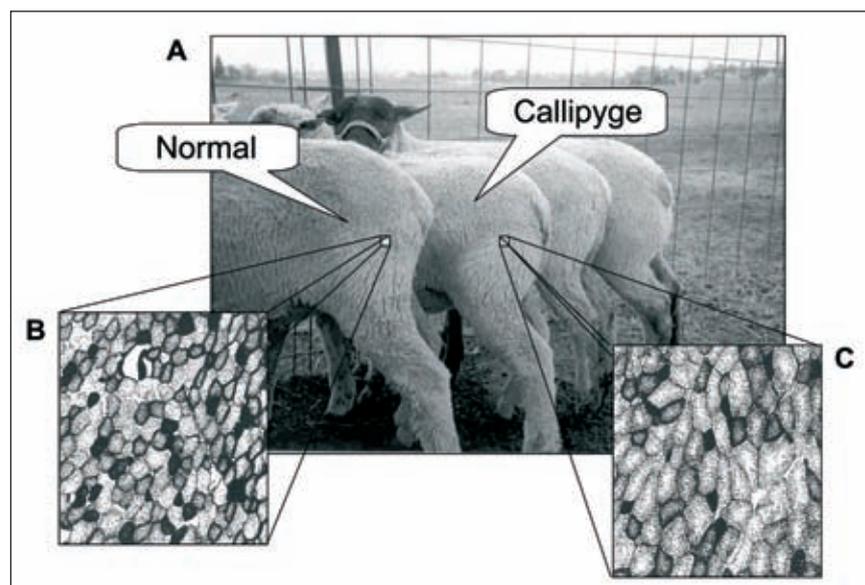


Figure 1 : le phénotype callipyge

A. Hypertrophie musculaire d’un mouton callipyge (à droite) par rapport à un mouton sauvage contemporain (à gauche). Coupe transversale du muscle longissimus d’un agneau normal (B) et callipyge (C) montrant une augmentation de la taille et de la proportion des fibres musculaires de type rapide, en gris clair et foncé dans l’image.

à 50 % de leur progéniture, suggérant dès lors l'existence d'une mutation autosomale non récessive. Cependant, lorsque le croisement inverse fut réalisé, aucun descendant callipyge ne fut observé. Cette non-équivalence des croisements réciproques suggéra l'implication d'un domaine soumis à l'empreinte parentale (voir encadré 1 : empreinte parentale). Cependant, le croisement entre des mâles et des femelles callipyges donnait 25 %, au lieu des 50 % de descendants callipyges attendus sous l'hypothèse de l'implication d'un locus soumis à l'empreinte parentale. Étrangement, les homozygotes mutants ne présentaient pas l'hypertrophie musculaire caractéristique et ce malgré la présence de la mutation sur leur chromosome paternel (Cockett *et al.*, 1996). Un projet de clonage positionnel, initié pour identifier la mutation callipyge, révéla que le locus callipyge (*CLPG*) se situe en partie distale du chromosome 18. Des études de liaison confinèrent ce locus à un fragment chromosomique de 400 kb. Celui-ci fut ensuite couvert par cinq clones de BAC et deux longs fragments de PCR. Un segment de 200 kb fut complètement séquencé, annoté et se trouva être l'orthologue du domaine soumis à l'empreinte *DLK1-GTL2* localisé sur le chromosome 14 humain et le chromosome 12 murin. Ce locus comprend (i) une série de gènes codant pour des protéines à expression paternelle incluant *BEGAIN* (*Brain-enriched guanylate-kinase associated protein*), *DLK1* (*Delta-like 1*), *PEG11* (*Paternally expressed gene 11* aussi connu comme *Rtl1*, *Retrotransposon-like 1*), et *DIO3* (*Iodothyronine deiodinase- type 3*), et (ii) de nombreux ARNs non-codants à expression maternelle nommés *GTL2* (*Gene trap locus 2*, aussi connu sous le nom de *MEG3*, *Maternally expressed gene 3*), *MEG8* (*Maternally expressed gene 8*) et *MIRG* (*microRNA containing gene*), ainsi qu'une abondance de petits ARNs non-codants à expression maternelle incluant les petits ARNs nucléolaires (C/D snoRNAs) et les microARNs (miRNAs) (voir encadré 2 : les microARNs) (Georges *et al.*, 2003 ; 2004). Enfin, un élément de contrôle (ICE, *Imprinting Control*

Element) appelé IG-DMR (pour *intergenic differentially methylated region*) est requis pour inhiber — sur le chromosome d'origine maternelle — l'expression des gènes codant pour les protéines et maintenir l'expression des ARNs non-codants (Lin *et al.*, 2003) (figure 2).

Même avant son identification, les scientifiques postulaient que la mutation callipyge affectait un élément de régulation à longue distance, agissant en *cis*. En effet, le profil d'expression d'un panel de transcrits (*DLK1*, *PEG11*, *GTL2*, *MEG8*, antisense *PEG11*, C/D snoRNAs et *MIRG*) dans les fibres de muscles squelettiques d'animaux âgés de 8 semaines des quatre génotypes possibles révéla que la mutation augmente le niveau d'expression des gènes localisés en *cis* sans affecter leur statut d'empreinte (Charlier *et al.*, 2001 ; Charlier et Caiment, données non publiées). L'étendue de cet effet de contrôle à longue distance fut définie par les gènes mentionnés ci-dessus, étant donné que l'expression des gènes *BEGAIN* et *DIO3* n'est pas affectée par le génotype *CLPG* (Smit, 2004). La mutation *CLPG* fut découverte indépendamment par deux groupes grâce au reséquençage d'un allèle

mutant et un allèle sauvage phylogénétiquement proche (Freking *et al.*, 2002 ; Smit *et al.*, 2003). Il s'agit d'une transition d'un nucléotide A (normal) en G (callipyge) dans un motif conservé de 12 pb dans la région intergénique entre *DLK1* et *GTL2*. La causalité de ce SNP est soutenue par la parfaite conservation de ce dodécamère dans 13 espèces de mammifères différentes, la présence exclusive de l'allèle « G » dans la descendance de *Solid Gold*, et la démonstration que le bélier fondateur, *Solid Gold*, était mosaïque pour ce SNP (Smit *et al.*, 2003). Malgré l'identification de la mutation *CLPG*, le mode de fonctionnement de cet élément régulateur perturbé reste peu compris et est l'objet d'études plus poussées. De plus, la caractérisation de la région intergénique comportant la mutation *CLPG* est en cours, avec l'espoir de lever le voile sur des différences d'architecture de la chromatine entre les chromosomes normaux et mutants. Une approche classique de ciblage génétique est actuellement en cours en vue de créer un modèle murin reproduisant le phénomène.

L'effet en *cis* de la mutation callipyge résulte en un profil d'expression génique musculaire unique chez les ani-

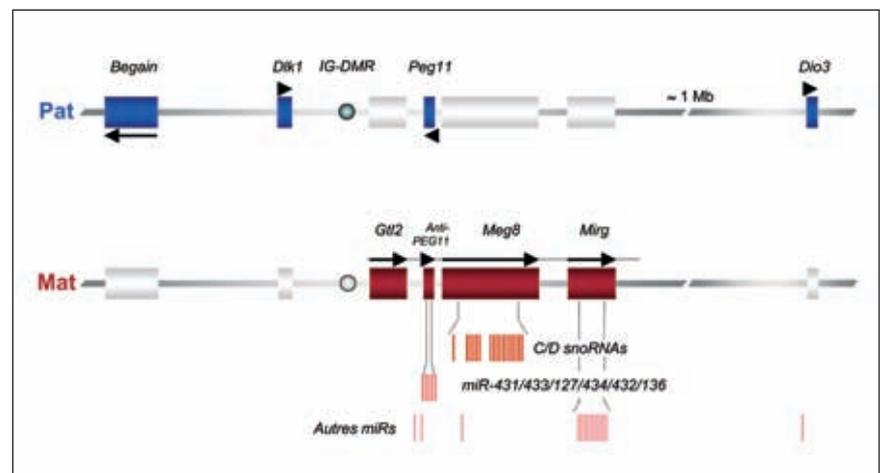


Figure 2 : le domaine chromosomique soumis à l'empreinte *Dlk1-Gtl2*

Représentation schématique du locus correspondant à la partie distale du chromosome ovin 18 et ses homologues murin et humain (*MMUdist12* et *HSA14q32*). Les gènes codants pour des protéines, exprimés à partir du chromosome paternel (*Pat*), sont indiqués en bleu et les ARNs non codants exprimés maternellement (*Mat*) en rouge. Les flèches indiquent l'orientation de la transcription. Les C/D snoRNAs et les miRNAs sont représentés sous leur transcrit hôte *MEG8*, anti-*PEG11* et *MIRG* respectivement. Tous les gènes sont conservés chez le mouton, l'humain et la souris à l'exception de *miR434* exclusivement présent chez les rongeurs et *miR432* seulement présent chez les non rongeurs. La région dite IG-DMR est un élément de contrôle à longue distance inactif car méthylé sur le chromosome paternel et actif car non méthylé sur le chromosome maternel, requis pour l'expression des gènes à ARN non-codant et l'inhibition des gènes codant pour des protéines à partir du chromosome maternel (adaptée de Georges *et al.*, 2004).

maux $+^{Mat}/CLPG^{Pat}$: une abondance post-natale anormale des transcrits codant pour les protéines *DLK1* et *PEG11* à expression paternelle en l'absence d'ARN non codants à expression maternelle (contrairement aux individus de génotypes $CLPG^{Mat}/CLPG^{Pat}$ chez qui les transcrits non-codants sont également abondants) (figure 3). Comment une telle combinaison peut-elle entraîner une expression phénotypique exclusive chez les $+^{Mat}/CLPG^{Pat}$? De façon inattendue, l'examen du gène *DLK1* au niveau protéique plutôt que messager, a démontré que celle-ci est uniquement détectable dans les muscles hypertrophiés des individus $+^{Mat}/CLPG^{Pat}$. De plus, l'expression ectopique de *DLK1* ovin dans les muscles squelettiques d'une souris transgénique génère une hypertrophie musculaire, indiquant ainsi que *DLK1* est responsable, au moins en partie, de l'hypertrophie musculaire callipyge (Davis *et al.*, 2004). *DLK1* est un membre de la famille des protéines Notch/Delta/Serrate, médiateurs de communications intercellulaires (Laborda, 2000). Cependant, les événements moléculaires précis par lesquels *DLK1* pourrait causer une hypertrophie de fibres musculaires restent à élucider. La même démarche transgénique est actuellement suivie pour étudier la contribution éventuelle d'une expression ectopique de *PEG11* dans l'établissement du phénotype callipyge.

Pourquoi la protéine *DLK1* n'est-elle pas détectée dans le muscle squelettique des animaux $CLPG^{Mat}/CLPG^{Pat}$ et ce malgré la présence de messenger *DLK1* en quantité comparable à celle des individus callipyges $+^{Mat}/CLPG^{Pat}$? En d'autres termes, quel est le secret de la surdominance polaire ? L'explication la plus simple est une inhibition en *trans*, médiée par les ARN non-codants qui — chez les animaux $CLPG^{Mat}/CLPG^{Pat}$ — sont produits à partir du chromosome d'origine maternelle. Les nombreux miRNA à expression maternelle qui ont été détectés au sein du locus sont bien entendu les « suspects numéro un » étant donné leur rôle connu dans la dégradation d'ARNm cible et — de façon plus pertinente dans le cas de *DLK1* — dans l'inhibition de la

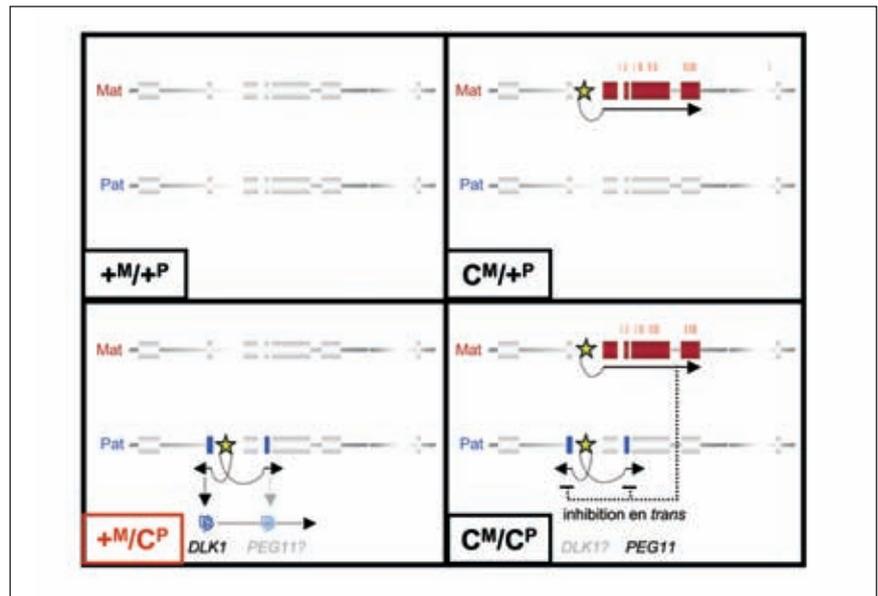


Figure 3 : modèle actuel de la surdominance polaire

Le profil d'expression des gènes du domaine *DLK1-GTL2* dans le muscle squelettique d'un mouton de 8 semaines pour les quatre génotypes callipyges possibles : $+^M/+^P$, $C^M/+^P$, $+^M/C^P$, et C^M/C^P . L'origine allélique maternelle ou paternelle du chromosome est mentionnée respectivement par 'M' et 'P'. Seuls les animaux $+^M/C^P$ (en rouge) expriment le phénotype. La surdominance polaire a été attribuée à la combinaison de trois éléments essentiels : (1) la mutation callipyge (étoile jaune) qui augmente l'expression des gènes codant pour les protéines *DLK1* et *PEG11* (indiqué en bleu) et des gènes non codants *GTL2*, *anti-PEG11*, *MEG8*, *MIRG*, *C/D snoRNAs*, *miRNAs* (indiqué en rouge) en *cis* sans affecter le statut d'empreinte, (2) l'effecteur de l'hypertrophie musculaire chez les animaux $+^M/C^P$: *DLK1* (et peut-être *PEG11*), et (3) un effet en *trans* entre les produits des gènes réciproquement soumis à l'empreinte résultant dans l'absence d'une protéine effectrice et un phénotype normal des animaux C^M/C^P . L'ARNm *PEG11* est dégradé par les miRNAs hébergés par un transcrit antisens de *PEG11*. Le régulateur en *trans* de *DLK1*, encore inconnu, pourrait être un miRNA maternellement exprimé ou un long ARN non codant agissant soit au niveau transcriptionnel, post-transcriptionnel, traductionnel ou post-traductionnel (adaptée de Georges *et al.*, 2004).

traduction. Des expériences sont en cours afin de tester cette hypothèse. A ce stade, la *trans*-inhibition (dégradation d'ARNm) médiée par des miRNA a été démontrée formellement pour le gène *PEG11*, soutenant donc notre hypothèse de travail (Davis *et al.*, 2005). En outre la *trans*-inhibition d'un promoteur de croissance fœtale d'expression paternelle par des miRNA à expression maternelle — analogue à l'inhibition d'*Igf2* par *Igf2r* (Reik *et al.*, 2003) — s'inscrit parfaitement dans le cadre de l'hypothèse du conflit énoncée pour expliquer l'apparition du phénomène d'empreinte parentale (Wilkins et Haig, 2003). A ce stade, un éventuel rôle régulateur des longs ARNs non codants *GTL2* et *MEG8* ne peut pas être écarté. Un long ARN non codant pourrait par exemple réguler *DLK1* par l'intermédiaire de la liaison en *trans* d'un autre facteur qui influencerait sa localisation cellulaire ou sa traduction simultanée. Un tel mécanisme, médié par la protéine IMP, a été

proposé pour expliquer une interaction en *trans* entre le transcrit à expression maternelle *H19* et certains isoformes d'*Igf2* (Runge *et al.*, 2000). En résumé, le modèle actuel de la surdominance polaire comporte trois composants essentiels : i) une mutation d'un seul nucléotide à l'intérieur d'un élément de régulateur à longue distance agissant en *cis* et affectant l'expression d'un sous-ensemble de gènes à expression maternelle et paternelle du locus soumis à l'empreinte *DLK1-GTL2*, ii) un gène à expression paternelle, *DLK1*, agissant comme un effecteur de l'hypertrophie musculaire et, iii) un *trans*-inhibiteur correspondant à un ou plusieurs ARN non-codants à expression maternelle (figure 3).

L'empreinte parentale

Forme de régulation génique dépendante de l'origine parentale, l'empreinte résulte en l'expression monoallélique de certains gènes nucléaires. Elle fut découverte il y a plus de 20 ans, principalement suite à deux expériences de manipulations d'embryons de souris. Le développement anormal d'embryons andro- et gynogénètes produits par transferts pronucléaires démontra la non-équivalence fonctionnelle des pronuclei mâles et femelles suggérant la non-équivalence de leur génome respectif. Le développement anormal d'individus disomiques uniparentaux pour des régions génomiques bien particulières (obtenus par croisement d'hétérozygotes pour des translocations réciproques) suggérait très fortement la non-équivalence fonctionnelle des copies paternelles et maternelles des régions génomiques correspondantes. Plus tard, il fut démontré que ces régions génomiques comportaient des gènes « soumis à l'empreinte parentale », c'est-à-dire des gènes dont soit seule la copie d'origine paternelle (par exemple *Igf2*), soit seul la copie d'origine maternelle (par exemple *Igf2r*) est transcriptionnellement active, l'autre étant inactivée (Reik et Walter, 2001). Aujourd'hui, deux décennies plus tard, plus de 80 unités de transcription soumises à l'empreinte ont été répertoriées chez les mammifères placentaires. L'état d'empreinte de ces gènes est généralement conservé même si des spécificités d'espèce sont monnaie courante (voir <http://www.mgu.har.mrc.ac.uk/research/imprinting/> et www.otago.ac.nz/IGC) (Morison *et al.*, 2005). Les gènes soumis à l'empreinte sont disséminés à travers tout le génome et possèdent plusieurs caractéristiques distinctives. Ils sont tout d'abord typiquement regroupés en « grappe » définissant des domaines génomique soumis à l'empreinte au sein desquels les gènes « imprimés » sont soumis à des éléments régulateurs communs appelés ICE (*Imprinting Control Element*). Outre des gènes codant pour des protéines, ces domaines contiennent systématiquement des gènes produisant des ARN non codants (ncRNA) comprenant de long ncRNA, des transcrit antisens mais également de petits ARNs nucléolaires (snoRNAs) et des microARNs (miRNAs) (encadré 2 : les microRNAs). Les allèles paternels et maternels portent des marques épigénétiques distinctives (les « empreintes » à proprement parlé) incluant en particulier la méthylation différentielle de dinucléotides CpG au niveau des ICE imprimées dans la lignée germinale. Cette empreinte primordiale peut ensuite se propager et être accentuée par des modifications allèle-spécifiques additionnelles au niveau de la chromatine. (Reik et Walter, 2001 ; Da Rocha et Ferguson-Smith, 2004 ; Delaval et Feil, 2004).

Au cours du développement, les empreintes épigénétiques subissent un cycle d'effacement et d'établissement (voir figure E1). Les cellules germinales primordiales subissent d'abord une déméthylation des loci soumis à l'empreinte vers le treizième jour du développement embryonnaire (chez la souris). La méthylation est

ensuite re-établie de novo lors de la gamétogenèse mâle et femelle par les DNAs méthyltransférases (Dnmts) Dnmt1, Dnmt3a et Dnmt3b. Les marques épigénétiques sont ensuite maintenues, à chaque cycle de réplication de l'ADN par Dnmt1 aussi bien dans les cellules germinales que dans les tissus somatiques (Reik et Walter, 2001 ; Li, 2002).

L'évolution et le maintien de l'empreinte génétique chez les mammifères placentaires indiquent qu'un avantage sélectif doit être lié à l'expression monoallélique de ce sous-groupe de gènes impliqués dans le développement. De nombreuses hypothèses ont été proposées pour expliquer ce sacrifice de l'expression bi-allélique augmentant la vulnérabilité aux mutations délétères. La théorie du conflit tente d'expliquer ce paradoxe en prenant en compte les intérêts génétiques parfois conflictuels de la mère et du père dans des espèces polygames (la majorité des mammifères). Cette théorie repose sur l'idée que pour propager ses gènes le plus efficacement possible, un mâle transmet à sa descendance des gènes qui vont favoriser la croissance fœtale même au dépend de l'avenir reproductif de la mère. Le mâle pourra en effet choisir une autre partenaire ultérieurement. La mère au contraire — pour avoir de nombreux descendants — doit économiser les ressources qu'elle consacre à sa progéniture afin de produire de nombreuses nichées. La théorie du conflit est certainement en accord avec l'observation que la majorité des gènes soumis à l'empreinte interviennent dans des mécanismes de transfert de ressources maternelles à la descendance, transferts favorisés par les gènes à expression paternelle et inhibés par les gènes à expression maternelle. D'autres hypothèses ont également été formulées dont celles de la « bombe ovarienne » ou encore d'« augmentation de la capacité évolutive » (Wilkins et Haig, 2003 ; Morison *et al.*, 2005).

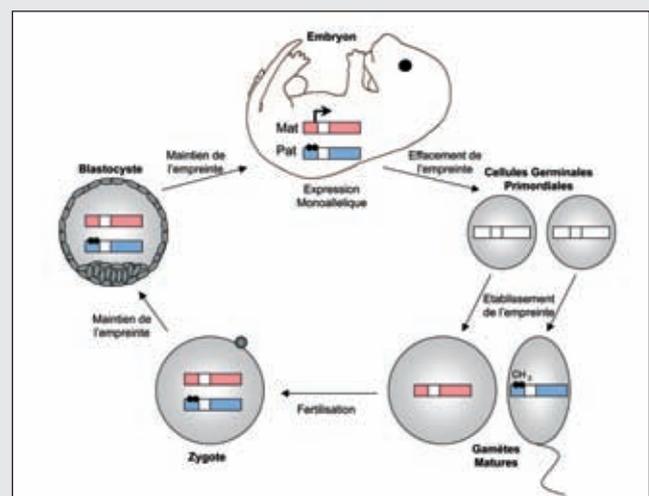


Figure E1 : l'effacement et l'établissement des empreintes épigénétiques (adaptée de Reik et Walter, 2001).

Les microARNs

Les microARNs sont des ARNs non codants endogènes d'une taille de ~20-23 nucléotides (nt) récemment découverts et intervenant dans la régulation post-transcriptionnelle et traductionnelle de gènes cibles chez les plantes et les animaux. Ils sont impliqués dans une multitude de fonctions biologiques y compris le développement, la prolifération cellulaire et l'apoptose, la réponse au stress et la tumorigénèse (Croce et Calin, 2005). A l'heure actuelle, MirBase dénombre 321 miRNAs humains connus (<http://microrna.sanger.ac.uk/cgi-bin/sequences/browse.pl>), et de récentes prédictions estiment que ce nombre ne représente que la moitié des miRNAs totaux de l'homme. Si ces estimations sont exactes, les miRNAs représenteraient 2 à 3 % du nombre total de gènes chez l'homme. L'importance de ces petits régulateurs est démontrée par des études qui suggèrent que 20 % des gènes humains sont des cibles potentielles de miRNAs et qu'un seul miRNA est capable de cibler jusqu'à 200 ARNs messagers. Les miRNAs sont hautement conservés entre espèces ; ces nombres s'appliquent donc également aux autres mammifères (Sontheimer et Carthew, 2005). La biogenèse des miRNAs implique une série d'étapes aboutissant à un miRNA mature (voir figure E2). Premièrement, les gènes de miRNA sont transcrits par l'ARN polymérase II. Il en résulte un transcrite miRNA primaire (pri-miRNA) contenant une structure en épingle à cheveux qui est ensuite clivée proche de sa base par le complexe Drosha/DGCR8, libérant un précurseur d'environ 60 à 70 nt (pre-miRNA). Après transport dans le cytoplasme par l'Exportin-5, le pre-miRNA est processé par Dicer, formant ainsi un duplexe miRNA:miRNA* de 20-23 nt. Malgré quelques exceptions, le miRNA* est dégradé et seul le miRNA est chargé dans le complexe miRISC (*miRNA-containing RNA-induced silencing complex*). Une fois associé au miRISC, le miRNA mature peut cibler un gène de deux façons différentes. Les miRNAs parfaitement complémentaires (ou quasi-parfaitement) à leurs cibles peuvent diriger la dégradation des ARNm. Alternativement, et dans le cas de complémentarité imparfaite, les miRNAs peuvent inhiber la traduction d'un ARNm en se liant à leur région 3' UTR (*3' untranslated region*) (Bartel, 2004 ; He et Hannon, 2004 ; Kim, 2005). Des études récentes ont montré que la perte de la régulation médiée par les miRNAs n'est pas totalement catastrophique, ce qui a conduit à diverses spéculations quant à leur impor-

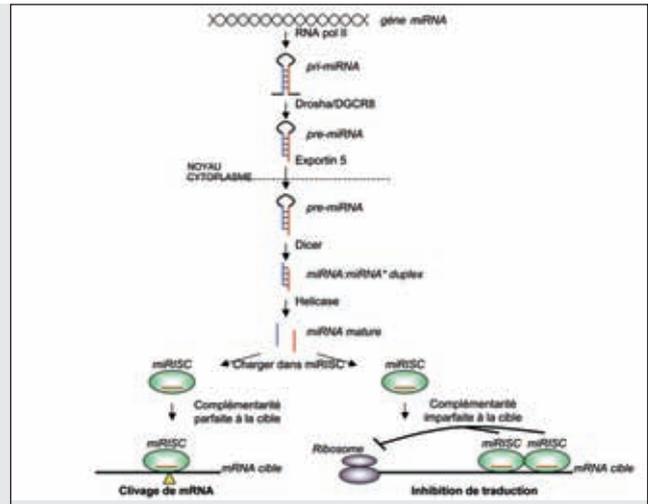


Figure E2 : la biogenèse des microARNs

tance biologique réelle. La neutralisation des fonctions imparties aux miRNA fut par exemple obtenue chez le poisson zèbre par invalidation de Dicer, une enzyme intervenant dans leur maturation. Bien que celle-ci fut létale, les mutants maintenaient la capacité d'établir des axes, d'initier de la différenciation cellulaire, mais présentaient des anomalies de la morphogénèse résultant en un développement anormal. Ces résultats suggèrent que les miRNAs agissent plutôt comme « micromanagers » assumant individuellement ou par équipe une régulation spatio-temporelle fine des gènes cibles à la manière de rhéostats (Bartel et Chen, 2004 ; Lai, 2005). Différents types de petits ARNs existent et les miRNAs ne doivent pas être confondus avec les siRNAs (*small interfering RNAs*). Les siRNAs sont définis comme des ARNs non-codants de 21-28 nt, processés à partir de longues molécules d'ARN double brin (dsRNA) par l'enzyme Dicer. Ils peuvent être introduits artificiellement dans des cellules en tant qu'outil expérimental pour l'invalidation (« knock-down ») de gènes cibles, avoir une origine exogène tels les virus, ou être d'origine endogène. En induisant la formation d'hétérochromatine par un processus de RNA interférence nucléaire, des siRNA endogènes peuvent participer dans la régulation de la transcription. Ce phénomène est décrit chez la levure *Schizosaccharomyces pombe*, les plantes et même certains animaux. Cependant, ces mécanismes sont encore très peu compris chez les mammifères (Sontheimer et Carthew, 2005).

REMERCIEMENTS

Ce travail a été soutenu par les financements : (i) FRFC (n° 2.4525.96), (ii) Crédit aux Chercheurs (n° 1.5.134.00) du FNRS, (iii) Crédit à la Recherche de l'ULg, (iv) SSTC

(n° 0135), (v) Union Européenne (projet Callimir); (vi) Utah Center of Excellence Program, (vii) USDA/NRICGP Grants #94-04358, #96-35205 et #98-03455), (viii) Utah Agricultural Experiment Station,

USU. Erica Davis est boursière de la Fondation Belge Américaine d'Education (BAEF). Carole Charlier est Chercheur Qualifié du FNRS.

SUMMARY

The callipyge phenomenon : cis effects, trans effects, and polar overdominance

The callipyge phenotype is a postnatal muscular hypertrophy characterized in sheep. Callipyge follows an unusual, non-Mendelian mode of inheritance, referred to as “polar

overdominance” in which only heterozygous animals having received the mutation from their sire display the phenotype. The callipyge (CLPG) locus maps to the DLK1-GTL2 imprinted domain and the causal mutation is a single nucleotide polymorphism (SNP) which we postulate to disrupt the binding site of a skeletal muscle specific, long-

range regulatory element. Here, we overview our current understanding of the molecular mechanisms underlying polar overdominance and provide evidence that this genetic phenomenon is the result of a combination of the cis effect of the callipyge mutation with the trans interaction of reciprocally imprinted gene products.

BIBLIOGRAPHIE

- BARTEL D.P. MicroRNAs : genomics, biogenesis, mechanism, and function. *Cell*, 2004, **116**, 281-297.
- BARTEL D.P., CHEN C.Z. Micromanagers of gene expression: the potentially widespread influence of metazoan microRNAs. *Nat. Rev. Genet.*, 2004, **5**, 396-400.
- CHARLIER C., SEGERS K., KARIM L., SHAY T., GYAPAY G., COCKETT N., GEORGES M. The callipyge mutation enhances the expression of coregulated imprinted genes in cis without affecting their imprinting status. *Nat. Genet.*, 2001, **27**, 367-369.
- COCKETT N.E., JACKSON S.P., SHAY T.L., FARNIR F., BERGHMANS S., SNOWDER G.D., NIELSEN D.M., GEORGES M. Polar overdominance at the ovine callipyge locus. *Science*, 1996, **273**, 236-238.
- COCKETT N.E., SHAY T.L., SMIT M. Analysis of the sheep genome. *Physiol. Genomics*, 2001, **7**, 69-78.
- COCKETT N.E., SMIT M.A., BIDWELL C.A., SEGERS K., HADFIELD T.L., SNOWDER G.D., GEORGES M., CHARLIER C. The callipyge mutation and other genes that affect muscle hypertrophy in sheep. *Genet. Sel. Evol.*, 2005, **37** Suppl 1, S65-81.
- CROCE C.M., CALIN G.A. MiRNAs, Cancer, and Stem Cell Division. *Cell*, 2005, **122**, 6-7.
- DA ROCHA S.T., FERGUSON-SMITH A.C. Genomic imprinting. *Curr. Biol.*, 2004, **14**, R646-649.
- DAVIS E., CAIMENT F., TORDOIR X., CAVAILLE J., FERGUSON-SMITH A., COCKETT N., GEORGES M., CHARLIER C. RNAi-mediated allelic trans-interaction at the imprinted Rtl1/Peg11 locus. *Curr. Biol.*, 2005, **15**, 743-749.
- DAVIS E., JENSEN C.H., SCHRODER H.D., FARNIR F., SHAY-HADFIELD T., KLIEM A., COCKETT N., GEORGES M., CHARLIER C. Ectopic expression of DLK1 protein in skeletal muscle of padumnal heterozygotes causes the callipyge phenotype. *Curr. Biol.*, 2004, **14**, 1858-1862.
- DELAVAL K., FEIL R. Epigenetic regulation of mammalian genomic imprinting. *Curr. Opin. Genet. Dev.*, 2004, **14**, 188-195.
- FREKING B.A., MURPHY S.K., WYLIE A.A., RHODES S.J., KEELE J.W., LEYMASTER K.A., JIRTLE R.L., SMITH T.P. Identification of the single base change causing the callipyge muscle hypertrophy phenotype, the only known example of polar overdominance in mammals. *Genome Res.*, 2002, **12**, 1496-506.
- GEORGES M., CHARLIER C., COCKETT N. The callipyge locus : evidence for the trans interaction of reciprocally imprinted genes. *Trends Genet.*, 2003, **19**, 248-52.
- GEORGES M., CHARLIER C., SMIT M., DAVIS E., SHAY T., TORDOIR X., TAKEDA H., CAIMENT F., COCKETT N. Toward molecular understanding of polar overdominance at the ovine callipyge locus. *Cold Spring Harb. Symp. Quant. Biol.*, 2004, **69**, 477-483.
- HE L., HANNON G.J. MicroRNAs : small RNAs with a big role in gene regulation. *Nat. Rev. Genet.*, 2004, **5**, 522-531.
- KIM V.N. MicroRNA biogenesis: coordinated cropping and dicing. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, 2005, **6**, 376-385.
- LABORDA J. The role of the epidermal growth factor-like protein dlk in cell differentiation. *Histol. Histopathol.*, 2000, **15**, 119-129.
- LAI E.C. miRNAs : whys and wherefores of miRNA-mediated regulation. *Curr. Biol.*, 2005, **15**, R458-460.
- LI E. Chromatin modification and epigenetic reprogramming in mammalian development. *Nat. Rev. Genet.*, 2002, **3**, 662-673.
- LIN S.P., YOUNGSON N., TAKADA S., SEITZ H., REIK W., PAULSEN M., CAVAILLE J., FERGUSON-SMITH A.C. Asymmetric regulation of imprinting on the maternal and paternal chromosomes at the Dlk1-Gtl2 imprinted cluster on mouse chromosome 12. *Nat. Genet.*, 2003, **35**, 97-102.
- MORISON I.M., RAMSAY J.P., SPENCER H.G. A census of mammalian imprinting. *Trends Genet.*, 2005, **21**, 457-465.
- REIK W., CONSTANCIA M., FOWDEN A., ANDERSON N., DEAN W., FERGUSON-SMITH A., TYCKO B., SIBLEY C. Regulation of supply and demand for maternal nutrients in mammals by imprinted genes. *J. Physiol.*, 2003, **547**, 35-44.
- REIK W., WALTER J. Genomic imprinting : parental influence on the genome. *Nat. Rev. Genet.*, 2001, **2**, 21-32.
- RUNGE S., NIELSEN F.C., NIELSEN J., LYKKE-ANDERSEN J., WEWER U.M., CHRISTIANSEN J. H19 RNA

binds four molecules of insulin-like growth factor II mRNA-binding protein. *J. Biol. Chem.*, 2000, **275**, 29562-29569.

SMIT M. Long-range transcriptional regulation at the ovine callipyge imprinted gene cluster. Ph.D. Dissertation. Utah State University : Logan, 2004, 151 p.

SMIT M., SEGERS K., CARRASCOSA L.G., SHAY T., BARALDI F., GYAPAY G., SNOWDER G., GEORGES M., COCKETT N., CHARLIER C. Mosaicism of Solid Gold supports the causality of a noncoding A-to-G transition in the determinism of the callipyge phenotype. *Genetics*, 2003, **163**, 453-456.

SONTHEIMER E.J., CARTHEW R.W. Silence from within: Endogenous siRNAs and miRNAs. *Cell*, 2005, **122**, 9-12.

WILKINS J.F., HAIG D. What good is genomic imprinting : the function of parent-specific gene expression. *Nat. Rev. Genet.*, 2003, **4**, 359-368.