

A mouse model for polar overdominance?

Pirottin D., Takeda H., Georges M., Charlier C.

The callipyge mutation (CLPG) is responsible of a muscular hypertrophy phenotype in sheep. The particularity of this phenotype is its mode of inheritance, called polar overdominance, where only heterozygous individuals having received a paternal mutation exhibit the muscular hypertrophy.

The CLPG mutation has been mapped to a large imprinted domain, the DLK1-GTL2 domain. This one Megabase domain corresponds to the following orthologous regions: telomeric part of ovine chromosome 18 and murine chromosome 12 and human 14q32 chromosomal segment. The CLPG mutation is a point mutation, A to G transition, in an intergenic region, 32kb 5' from the *GTL2* gene. It is part of a 12 base pair (bp) motif, conserved between Eutherian mammals.

Expression studies performed on skeletal muscle from sheep of the four CLPG genotypes at different developmental stages, allowed us to propose this hypothesis: the mutation invalidates a regulatory element, in cis, this element is shared by genes belonging to the central part of the domain. This element is muscle-specific and is supposed to be requested for the post-natal repression of those genes. The muscular hypertrophy phenotype is due to the lack of repression of paternally expressed genes (DLK1 and/or PEG11) in this tissue. We recently demonstrated that the observed polar overdominance phenomenon is the result of a *trans*-inhibition of the paternally expressed genes mediated by the maternally expressed non-coding RNAs.

A mouse model, recapitulating this polar overdominance phenomenon is essential for the detailed analysis of its molecular basis. For that purpose, two transgenic lines have been produced by homologous recombination in ES cells. The first line corresponds to a knock-in of the point mutation (A to G) and the second is harbouring a deletion of the conserved 12 bp motif ( $\Delta$ 12).

A detailed spatio-temporal expression profile of the genes orthologous to the ones affected by the CLPG mutation in sheep is underway. Mice from the four genotypes at the mutated locus are analysed, for both transgenic lines (G and  $\Delta$ 12). Semi-quantitative RT-PCR and Northern blot's results will be presented.

Un modèle murin de la surdominance polaire?  
Pirottin D., Takeda H., Georges M., Charlier C.

La mutation callipyge (CLPG) est responsable d'un phénotype d'hypertrophie musculaire chez le mouton. La particularité de ce phénotype est qu'il ne s'exprime que chez les individus hétérozygotes ayant reçu une mutation paternelle, ce mode de transmission a été nommé surdominance polaire.

La mutation CLPG est localisée au sein d'un large domaine soumis à l'empreinte génomique parentale, le domaine *DLK1-GTL2*. Ce domaine, d'environ une Mégabase, correspond aux régions chromosomiques orthologues suivantes : l'extrémité télomérique du chromosome 18 ovin et du chromosome 12 murin, et le segment chromosomique 14q32 humain.

La mutation CLPG est une mutation ponctuelle, transition de A vers G, située dans une région intergénique, à 32 kb en 5' du gène *GTL2*. Elle fait partie d'un motif de 12 paires de bases (pb), conservé entre mammifères euthériens.

Des études d'expression, réalisées à partir de muscle squelettique de moutons des quatre génotypes CLPG, à différents stades de développement, nous ont amené à émettre l'hypothèse suivante: la mutation affecterait un élément régulateur *en cis*, commun aux gènes de la partie centrale du domaine. Cet élément serait un élément muscle spécifique, nécessaire à la répression post-natale des gènes sus-mentionnés. Le phénotype d'hypertrophie musculaire s'explique par la non-répression des gènes à expression paternelle (*DLK1* et *PEG11*) dans ce tissu. Nous avons aussi récemment démontré que la surdominance polaire observée résulte d'une répression *en trans* des gènes à expression paternelle, médiée par les ARN non-codants maternellement exprimés.

Un modèle murin récapitulant ce phénomène de surdominance polaire est essentiel à l'étude plus détaillée des mécanismes moléculaires sous-jacents. Pour ce faire, deux lignées de souris transgéniques ont été produites, par des méthodes classiques de recombinaison homologue en cellules ES. La première lignée correspond à un « knock-in » de la mutation ponctuelle (G), la seconde est porteuse d'une délétion du motif de 12pb conservé, incluant la mutation ( $\Delta 12$ ). Un profil d'expression spatio-temporel détaillé des gènes correspondant à ceux soumis à l'effet de la mutation CLPG chez le mouton est en cours de réalisation, pour chacune des deux lignées transgéniques (G et  $\Delta 12$ ), à partir de souris des quatre génotypes au locus muté. Les résultats obtenus par RT-PCR semi-quantitative et Northern blot seront présentés.