Biologie Aujourd'hui, 206 (3), 205-218 (2012)
© Société de Biologie, 2012
DOI: 10.1051/jbio/2012023

Contrôle transcriptionnel de la ciliogenèse au cours du développement animal*

Julie Jerber, Joëlle Thomas et Bénédicte Durand

Centre de Génétique et de Physiologie Moléculaire et Cellulaire, CNRS UMR 5534, Université Lyon 1, Villeurbanne, 69622 Lyon, France

Auteur correspondant : Bénédicte Durand, durand-b@univ-lyon1.fr

Reçu le 18 juillet 2012

Résumé – Les cils et les flagelles sont des organelles cellulaires de structure très conservée et aux fonctions essentielles dans de nombreuses espèces, des protozoaires à l'Homme. Chez les animaux, différents types de cils coexistent et leur assemblage est dynamique au cours du développement. Chez l'Homme, toute perturbation de l'assemblage ou de la fonction des cils est responsable de nombreux syndromes désormais connus sous le terme de ciliopathies. Comprendre comment est régulé l'assemblage dynamique des cils au cours du développement et dans les différents tissus représente une question importante en biologie. Il apparaît que deux familles de facteurs de transcription, FOXJ1 (*Forkhead Box J1*) et RFX (*Regulatory Factor X*) sont d'importants acteurs du contrôle de l'expression des gènes ciliaires. FOXJ1 est essentiel à l'assemblage des cils motiles chez les vertébrés en régulant les gènes impliqués dans la motilité ciliaire ou dans le transport apical du corps basal, alors que les protéines RFX sont nécessaires à l'assemblage des cils primaires et motiles et régulent notamment les protéines du transport intraflagellaire. Récemment, de nouveaux acteurs jouant des rôles plus spécifiques dans la biogenèse des cils ont été décrits. Tous ces acteurs sont sujets à une régulation complexe permettant d'assurer le contrôle spécifique et dynamique de la ciliogenèse chez les métazoaires.

Mots clés : Corps basal / cils / FOXJ1 / RFX / facteurs de transcription

Abstract – Transcriptional control of ciliogenesis in animal development.

Cilia and flagella are eukaryotic organelles with a conserved structure and function from unicellular organisms to human. In animals, different types of cilia can be found and cilia assembly during development is a highly dynamic process. Ciliary defects in human lead to a wide spectrum of diseases called ciliopathies. Understanding the molecular mechanisms that govern dynamic cilia assembly during development and in different tissues in metazoans is an important biological challenge. The FOXJ1 (Forkhead Box J1) and RFX (Regulatory Factor X) family of transcription factors have been shown to be important factors in ciliogenesis control. FOXJ1 proteins are required for motile ciliogenesis in vertebrates. By contrast, RFX proteins are essential to assemble both primary and motile cilia through the regulation of specific sets of genes such as those encoding intraflagellar transport components. Recently, new actors with more specific roles in cilia biogenesis and physiology have also been discovered. All these factors are subject to complex regulation, allowing for the dynamic and specific regulation of ciliogenesis in metazoans.

Key words: Basal body / ciliogenesis / cilium / FOXJ1 / RFX / transcription factors

* Pour les autres articles sur le cil, voir Biol. Auj. 2011, 205, 1.

Article publié par EDP Sciences

Introduction

Les cils et les flagelles sont des structures conservées au cours de l'évolution, et que l'on retrouve des protozoaires aux mammifères. Ils émergent dans le milieu extracellulaire et possèdent de nombreuses fonctions. Ainsi, chez les protozoaires, les flagelles jouent un rôle fondamental dans la motilité cellulaire mais sont également nécessaires aux comportements sensoriels et de reproduction. Chez les animaux, les cils ont un rôle sensoriel majeur puisque la plupart de nos sens, à l'exception du goût, dépendent de cellules sensorielles ciliées. Par ailleurs, la plupart des cellules développent un cil non motile, dit primaire, dont l'importance chez les vertébrés a été révélée au cours de ces dix dernières années. Ainsi le cil primaire constitue le principal organe de réception et de transduction des signaux de communication cellulaires comme ceux de la voie Sonic Hedgehog (SHH) (pour revues, voir Eggenschwiler & Anderson, 2007 ; Wong & Reiter, 2008). Chez l'Homme, l'absence de cils ou un dérèglement de leurs fonctions sont à l'origine de nombreuses maladies humaines définies sous le terme de ciliopathies (Baker & Beales, 2009 ; Cardenas-Rodriguez & Badano, 2009).

Les cils sont composés d'un squelette de microtubules appelé axonème, nucléé à partir du corps basal qui correspond à un centriole modifié. On distingue deux types de cils en fonction de leur architecture microtubulaire : les axonèmes en 9+2 présentent 9 doublets de microtubules périphériques associés à une paire centrale. La plupart sont motiles et cette catégorie regroupe tous les types de flagelles ; les axonèmes en 9+0, généralement appelés cils primaires, ne possèdent pas la paire centrale de microtubules et sont en majorité non motiles.

Les cils et les flagelles forment un compartiment cellulaire séparé du compartiment cytoplasmique par une structure complexe à la jonction du corps basal et de la membrane plasmique que l'on appelle la zone de transition (Czarnecki & Shah, 2012). Cette zone de transition crée une barrière de diffusion entre le compartiment ciliaire et le cytoplasme. Les composants ciliaires doivent donc être acheminés depuis le cytoplasme à travers cette zone de transition jusqu'à l'extrémité distale du cil. L'assemblage des cils et des flagelles repose ainsi, dans la grande majorité des espèces, sur un transport intraflagellaire spécialisé nommé IFT (*IntraFlagellar Transport*) qui permet d'acheminer des complexes protéiques le long des microtubules axonémaux du cytosol vers l'extrémité distale du cil et inversement (Ishikawa & Marshall, 2011).

Les cils et les flagelles sont des structures dynamiques qui peuvent croître et se résorber dans différentes conditions physiologiques, au cours du cycle cellulaire et tout au long du développement. Par exemple, chez l'algue verte *Chlamydomona*s, les flagelles se résorbent après l'accouplement et avant la division pour se reformer ensuite. Il en est de même chez les vertébrés où les cils disparaissent en mitose et s'assemblent de nouveau pendant les phases G_0/G_1. La croissance ciliaire est également très dynamique dans de nombreux tissus, notamment au niveau des cellules multiciliées des ventricules cérébraux et des épithéliums des voies respiratoires aériennes (Sorokin, 1968 ; Spassky *et al.*, 2005 ; Jain *et al.*, 2010). En effet, dans un premier temps, les cellules épithéliales de ces tissus forment un cil primaire avant d'amorcer la croissance de cils multiples grâce à des programmes développementaux précis. Les flagelles des spermatozoïdes sont eux aussi assemblés à un moment précis de leur développement. Quant aux cils primaires, ils sont très différents entre les cellules d'un même organisme bien qu'ils présentent une ultrastructure similaire. L'ensemble de ces observations suggère que les organismes ont dû développer des mécanismes de régulation complexe de la ciliogenèse au cours du développement.

Si historiquement plusieurs arguments expérimentaux suggèrent que l'assemblage des cils requiert la mise en route de gènes spécifiques, la découverte des différents acteurs impliqués dans cette régulation n'a été faite qu'au cours de la dernière décennie. En particulier, des études génétiques indépendantes, menées dans différents organismes, ont mis en évidence plusieurs des acteurs clés contrôlant la transcription des gènes ciliaires. Deux grandes familles de facteurs de transcription émergent de ces études : la famille FOXJ1 (*Forkhead Box J1*) et la famille RFX (*Regulatory Factor X*).

Les facteurs de transcription de type FOXJ1 et le programme de ciliogenèse motile.

FOXJ1 appartient à la famille des facteurs de transcription *forkhead/winged-helix*. Des orthologues de FOXJ1 ont été identifiés chez les vertébrés ainsi que chez de nombreux invertébrés. Aucun orthologue de FOXJ1 n'a été identifié chez les ecdysozoaires tels que *Caenorhabditis elegans* et *Drosophila melanogaster* (Mazet *et al.*, 2003).

De nombreux arguments suggèrent que FOXJ1 est nécessaire à la biogenèse des cils motiles. En effet chez les mammifères, *Foxj1* est exprimé dans de nombreux tissus possédant des cils motiles (Hackett *et al.*, 1995 ; Lim *et al.*, 1997 ; Blatt *et al.*, 1999 ; Brody *et al.*, 2000 ; Yu *et al.*, 2008, Jain *et al.*, 2010). Ainsi, l'expression de *Foxj1* dans les poumons est clairement corrélée à la croissance des cils motiles (Blatt *et al.*, 1999) mais pas à celle des cils primaires (Jain *et al.*, 2010). Les souris invalidées pour *Foxj1* présentent

des défauts d'asymétrie droite gauche et de l'hydrocéphalie, deux phénotypes connus comme résultant de défauts des cils motiles. Les souris *Foxj1*$^{-/-}$ sont totalement dépourvues de cils motiles dans les épithéliums multiciliés et les corps basaux, bien que présents en nombre important, n'arrivent pas à s'ancrer au niveau de la membrane apicale des cellules, ce qui explique l'absence de cils (Chen *et al.*, 1998 ; Brody *et al.*, 2000 ; Huang *et al.*, 2003). En revanche, aucun défaut ultrastructural des cils du nœud embryonnaire n'a été identifié chez ces souris, suggérant que seule leur motilité est affectée puisque des défauts d'asymétrie droite gauche sont observés dans les mutants *Foxj1*$^{-/-}$ (Brody *et al.*, 2000). De même, aucun défaut ultrastructural n'a été observé dans les cils primaires olfactifs de ces souris (Brody *et al.*, 2000). FOXJ1 apparaît donc comme un facteur de transcription spécifique de la biogenèse des cils motiles.

Des données récentes confirment cette conclusion et démontrent que FOXJ1 est un régulateur majeur du programme de ciliogenèse motile chez le poisson zèbre et le xénope. D'une part, la réduction de l'expression de *foxj1a* ou *b* chez le poisson conduisent à des défauts de ciliogenèse motile dans les territoires où ils s'expriment respectivement (Yu *et al.*, 2008, 2011). D'autre part, l'expression ectopique de *foxj1* dans plusieurs tissus chez le poisson zèbre et dans l'épiderme du xénope est suffisante pour induire la croissance des cils motiles (Stubbs *et al.*, 2008 ; Yu *et al.*, 2008).

Cependant, plusieurs arguments suggèrent que des facteurs additionnels à FOXJ1 sont nécessaires pour compléter le programme de biogenèse des cils motiles. Par exemple, la surexpression de *Foxj1* n'est pas suffisante pour induire la croissance des cils motiles dans des cultures de cellules murines (You *et al.*, 2004) bien qu'elle conduise à une expression ectopique de la tubuline β-IV dans des cellules de bronchioles pendant le développement des poumons (Tichelaar *et al.*, 1999). L'expression de niveaux élevés de *foxj1* dans des embryons de xénope n'est pas suffisante pour induire la formation ectopique de cils dans toutes les cellules (Stubbs *et al.*, 2008). Parmi les facteurs additionnels, il a été suggéré que le niveau de CP110, une protéine centriolaire qui bloque le programme de ciliogenèse, soit important pour permettre à FOXJ1 d'induire la biogenèse des cils motiles (Stubbs *et al.*, 2008). D'autres candidats incluant la famille des facteurs de transcription RFX ont été proposés. En effet, RFX3 est nécessaire à la biogenèse des cils motiles de cellules épendymaires *in vitro* (El Zein *et al.*, 2009). De plus RFX3 et FOXJ1 possèdent des cibles directes communes, suggérant que ces deux types de facteurs de transcription coopèrent pour gouverner un programme de ciliogenèse motile spécifique (Stubbs *et al.*, 2008 ; Yu *et al.*, 2008 ; El Zein *et al.*, 2009).

De nombreux gènes cibles des protéines FOXJ1 ont été décrits. Chez la souris, *Dnahc11* (*dynein axonemal heavy chain 11*) qui code une dynéine axonémale essentielle à la motilité ciliaire, est le premier gène pour lequel une diminution de l'expression a été décrite dans des poumons déficients pour *Foxj1* (Chen *et al.*, 1998). L'expression du gène de la calpastatine est également diminuée dans ces poumons (Gomperts *et al.*, 2004) mais il reste à démontrer que ces deux protéines sont des cibles directes de FOXJ1. Récemment, de nombreux autres gènes cibles de FOXJ1 ont été identifiés chez le xénope, le poisson zèbre et la souris (Stubbs *et al.*, 2008 ; Jacquet *et al.*, 2009) parmi lesquels beaucoup sont impliqués dans la motilité ciliaire. À l'heure actuelle, l'expression d'environ 100 gènes est augmentée plus de 10 fois lorsque *foxj1* est surexprimé dans l'épiderme du xénope et un tiers d'entre eux sont présents dans les banques de données des protéines ciliaires (Gherman *et al.*, 2006 ; Inglis *et al.*, 2006 ; Arnaiz *et al.*, 2009). Beaucoup d'entre eux codent des protéines exclusivement retrouvées dans les structures axonémales motiles telles que les sous-unités des dynéines axonémales [DNAH9 (*dynein axonemal heavy chain 9*), DNAH8 et DNAIC1 (*dynein axonemal intermediate chain 1*)], WDR16 (*WD repeat domain 16*) (Hirschner *et al.*, 2007), un composant de la paire centrale [SPAG6 (*sperm-associated antigen 6*)] et de nombreuses protéines appartenant aux ponts radiaires [RSHL2 (*radial spoke-head-like 2*), RSHL3 et RSPH1 (*radial spoke head 1*)]. Chez le poisson zèbre, cinq gènes, tous impliqués dans la ciliogenèse, sont décrits comme régulés par *foxj1a* (un des deux orthologues de *Foxj1*) : *dnah9*, *centrin2*, *tektin1*, *wdr78* et *efhc1* [*EF-hand-domain-(C-terminal)-containing1*]. De plus des expériences de ChIP (*chromatin immunoprecipitation*) chez le poisson zèbre montrent que Foxj1a se lie au promoteur des gènes *dnah9* et *wdr78 in vivo,* indiquant que ces gènes sont des cibles directes de FOXJ1 (Yu *et al.*, 2008). L'analyse de puces réalisées sur des ARNs extraits de la zone ventriculaire de cerveau de souris montre que l'expression d'environ 200 gènes est diminuée 1,5 fois dans les échantillons *Foxj*1$^{-/-}$ (Jacquet *et al.*, 2009). Parmi ceux-ci, 55 sont connus pour avoir une fonction dans la zone ventriculaire du cerveau et presque la moitié d'entre eux code des protéines ciliaires ou des moteurs moléculaires associés au cytosquelette. De manière intéressante, 16 des cibles identifiées dans les cellules épendymaires de cerveau de souris *Foxj1*$^{-/-}$ sont également des cibles de Foxj1 chez le xénope telles que *dnah9*, *spag6*, *efhc1* et *dnaic1*. Seules trois d'entre elles n'ont pour le moment pas été associées à la ciliogenèse.

L'ensemble de ces observations démontre que les protéines FOXJ1 sont des actrices importantes de la régulation des gènes nécessaires à la fonction motile

des cils chez les vertébrés. Il est intéressant de noter qu'à l'heure actuelle aucun gène codant des protéines impliquées dans le transport intraflagellaire n'a été identifié comme cible de FOXJ1.

Comme mentionné précédemment, il n'existe aucun orthologue de FOXJ1 chez *C. elegans* ou chez la drosophile. Or *C. elegans* est dépourvu de cils motiles, ce qui confirme l'idée d'une implication de FOXJ1 dans la biogenèse des cils motiles. Cependant, chez la drosophile, les flagelles des spermatozoïdes sont motiles et les cils des organes chordotonaux possèdent des bras de dynéines externes, qui sont des caractéristiques des cils motiles (Lee *et al.*, 2008). De plus, plusieurs analyses fonctionnelles suggèrent que les cils des organes chordotonaux sont motiles, malgré l'absence de paire centrale (Gopfert & Robert, 2003 ; Gopfert *et al.*, 2005 ; Lee *et al.*, 2008). Ainsi la motilité ciliaire chez la drosophile n'est pas dépendante de FOXJ1 et d'autres facteurs doivent intervenir pour réguler la biogenèse des cils motiles dans cet organisme. Les protéines RFX font partie des candidats possibles pour assurer cette fonction (voir ci-dessous). D'autres protéines de la famille *forkhead* peuvent également avoir évolué pour jouer un tel rôle chez la drosophile. Par exemple, il a été démontré que le facteur de transcription Fd3F, qui est un autre membre de la famille des facteurs de transcription de type *forkhead*, est exprimé uniquement dans les neurones chordotonaux. Il est sous le contrôle du facteur proneuronal Atonal et est nécessaire à la spécialisation fonctionnelle des cils de ces neurones (Cachero *et al.*, 2011 ; Newton *et al.*, 2012).

Compte tenu du rôle de FOXJ1 dans le programme de transcription qui conduit à la biogenèse des cils motiles, plusieurs observations intrigantes découlent de l'étude de ce gène. Ainsi, *Foxj1* est exprimé dans le plancher du tube neural chez la souris. Ces cellules possèdent un monocil, plus long que celui des cellules neurales adjacentes au plancher, mais qui n'a pas encore été démontré comme motile (Cruz *et al.*, 2010). Si FOXJ1 ne semble pas requis pour la croissance des cils du plancher du tube neural, il est cependant nécessaire pour moduler la réponse de ces cellules à SHH, ce qui suggère, malgré tout, de possibles défauts de la fonction des cils du plancher en absence de FOXJ1. De plus, l'expression ectopique de FOXJ1 dans la partie latérale du tube neural est suffisante pour induire la croissance de cils longs qui ressemblent aux cils du plancher du tube neural. Ces observations suggèrent que les cils du plancher du tube neural pourraient s'apparenter aux cils du nœud embryonnaire.

D'autre part, la fonction de FOXJ1 ne semble pas restreinte à la ciliogenèse car, chez la souris, FOXJ1 semble également jouer un rôle dans les cellules dépourvues de cils (lymphocytes circulants) ou de cils motiles (astrocytes) (Lin *et al.*, 2004, 2005 ; Jacquet *et al.*, 2009). Ces observations soulèvent donc la question des mécanismes qui gouvernent la spécificité des gènes cibles de FOXJ1 dans ces différents systèmes. L'action combinée de plusieurs facteurs de transcription pourrait expliquer la spécificité d'action de FOXJ1 comme cela a été suggéré pour FOXJ1 et PITX2 dans la morphogénèse orofaciale de la souris (Venugopalan *et al.*, 2008).

La famille des facteurs de transcription RFX

La deuxième classe de facteurs de transcription identifiés comme acteurs clés de la ciliogenèse au sein de nombreuses espèces comprend la famille des protéines RFX. Elles ont d'abord été découvertes grâce à leur capacité à lier un motif appelé boîte-X, présent dans le promoteur des gènes du Complexe Majeur d'Histocompatibilité (CMH) de classe II (Reith *et al.*, 1990). Ces protéines possèdent un domaine de liaison à l'ADN très conservé appartenant à la famille des facteurs de transcription *winged-helix* (Gajiwala *et al.*, 2000). Sept membres de la famille ont été identifiés chez les mammifères et un seul chez la levure et *C. elegans* (Emery *et al.*, 1996a ; Aftab *et al.*, 2008) (figure 1A). Deux sous-groupes peuvent être distingués sur la base de leurs caractéristiques structurales : le premier groupe inclut la protéine SAK1 chez la levure, DAF-19 *(abnormal dauer formation 19)* chez *C. elegans*, RFX chez la drosophile et RFX1-4 et RFX6 chez les vertébrés. Le second groupe est composé du deuxième gène *Rfx* de drosophile (CG9727) ainsi que de RFX5 et RFX7 chez les vertébrés. Tous les membres du premier groupe possèdent un domaine de dimérisation permettant l'homodimérisation et/ou l'hétérodimérisation, ce qui n'est pas le cas pour les membres du second groupe (figure 1B). Ces derniers diffèrent également par leur spécificité de liaison à l'ADN. En effet, RFX5 assure uniquement la régulation des gènes du CMH de classe II chez l'Homme et la souris (Steimle *et al.*, 1995 ; Clausen *et al.*, 1998) et sa liaison dans les promoteurs de ces gènes nécessite des facteurs additionnels. De plus, la boîte-X reconnue par RFX5 est différente de celle reconnue par RFX1-3 (Steimle *et al.*, 1995 ; Emery *et al.*, 1996a, 1996b ; Durand *et al.*, 1997 ; Masternak *et al.*, 1998).

L'implication dans la ciliogenèse du premier sous-groupe de protéines RFX a été mise en évidence chez *C. elegans* (Swoboda *et al.*, 2000). *daf-19*, le seul gène *Rfx* du nématode, est nécessaire à l'assemblage des cils sensoriels et les premières cibles directes de *daf-19*, toutes impliquées dans la ciliogenèse, ont pu être identifiées. Ce travail a ouvert la voie à de nombreuses études, basées sur la recherche d'une boîte-X dans le promoteur des gènes. Elles ont

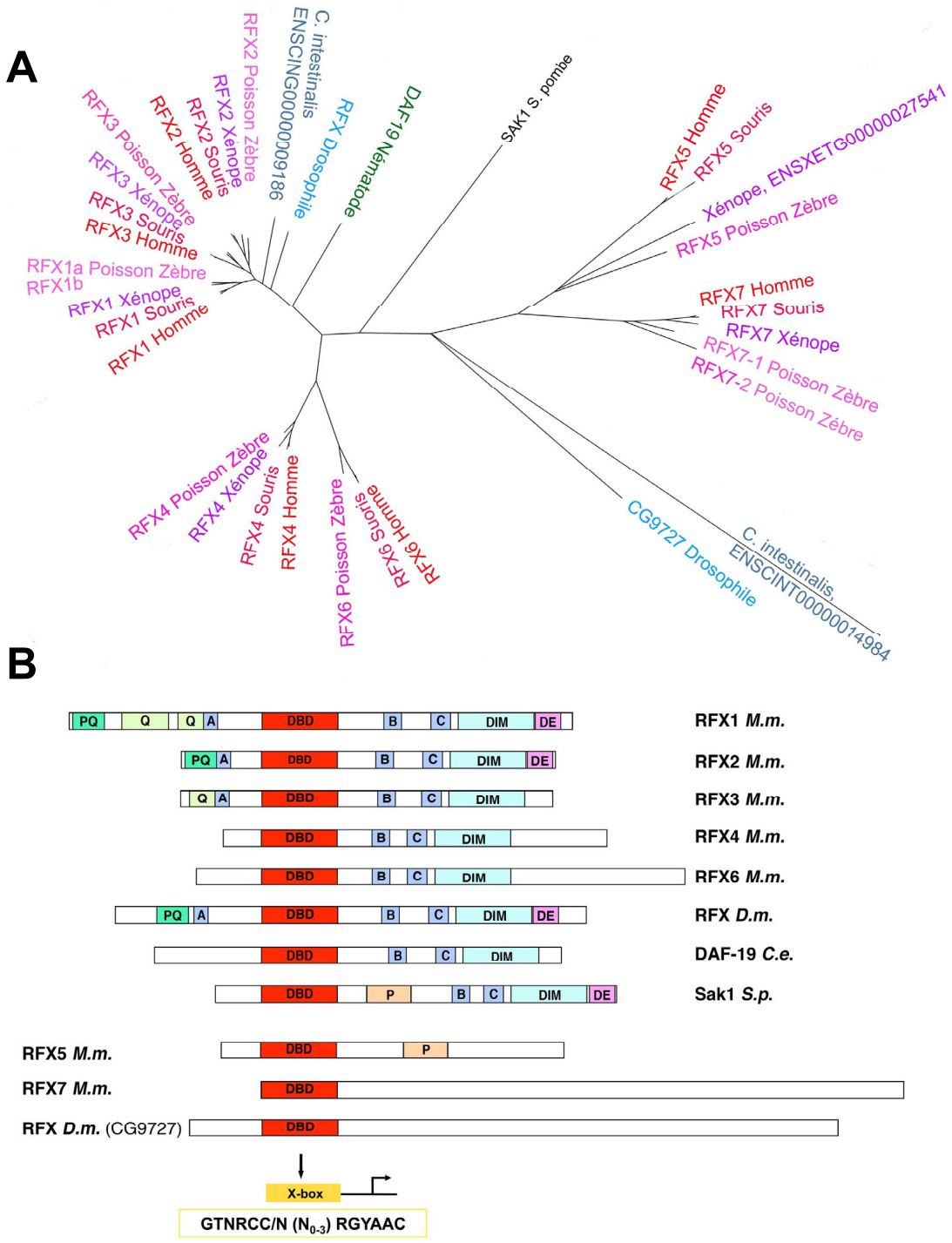

Fig. 1. Phylogénie et structure des facteurs de transcription RFX. (A) Arbre phylogénétique de la famille des facteurs de transcription RFX. Deux sous-groupes peuvent êtres distingués. Le premier regroupe l'unique gène *Rfx*, chez *C. elegans* et chez la levure, un gène *Rfx* chez la drosophile et 5 gènes *Rfx* (*Rfx1-Rfx4, Rfx6*) chez les vertébrés. Le second est composé du deuxième gène chez la drosophile (*CG9227*) et de deux gènes chez les vertébrés. (B) Structure des différentes protéines RFX depuis la levure jusqu'aux mammifères. Le motif X-BOX a été caractérisé chez les mammifères pour RFX1 (Emery *et al.*, 1996b). A, B et C sont des domaines conservés aux fonctions inconnues ; DBD, domaine de liaison à l'ADN (*DNA-binding domain*) ; DE, domaine riche en résidus aminés acides ; DIM, domaine de dimérisation ; P, région riche en proline ; Q, région riche en glutamine.

conduit à l'identification de nouveaux gènes ciliaires dans plusieurs espèces (Haycraft *et al.*, 2001, 2003 ; Schafer *et al.*, 2003 ; Avidor-Reiss *et al.*, 2004 ; Li *et al.*, 2004 ; Blacque *et al.*, 2005 ; Winkelbauer *et al.*, 2005 ; Chen *et al.*, 2006 ; Laurençon *et al.*, 2007). De plus, la comparaison du transcriptome entre nématodes déficients pour *daf19* et nématodes témoins a permis la génération d'une liste de protéines potentiellement ciliaires (Blacque *et al.*, 2005 ; Efimenko *et al.*, 2005 ; Chen *et al.*, 2006).

Plusieurs membres du premier sous-groupe possèdent également une fonction conservée pour la ciliogenèse chez d'autres métazoaires. Chez la drosophile par exemple, *Rfx* est indispensable à la formation du cil des neurones sensoriels (Dubruille *et al.*, 2002). Chez la souris, *Rfx3* est nécessaire à la croissance des cils primaires dans le nœud embryonnaire et dans le pancréas endocrine (Bonnafe *et al.*, 2004 ; Ait-Lounis *et al.*, 2007) ainsi qu'au déroulement correct du programme de ciliogenèse motile (El Zein *et al.*, 2009). Toujours chez la souris, *Rfx4* est exprimé dynamiquement pendant le développement du cerveau et gouverne la croissance du cil primaire dans les territoires du cerveau où il est présent (Ashique *et al.*, 2009). Chez le poisson zèbre, *rfx2* est impliqué dans le programme de ciliogenèse motile (Liu *et al.*, 2007 ; Bisgrove *et al.*, 2011). *Rfx2* est également requis pour la croissance des cils primaires chez le xénope (Chung *et al.*, 2011). Chez la souris et contrairement à ce qui a été observé chez les invertébrés, l'absence d'une protéine RFX ne conduit pas à la perte totale des cils dans les tissus examinés. Ceci peut s'expliquer par une fonction redondante des protéines RFX. Cette hypothèse est renforcée par le fait qu'aucune différence dans la spécificité de liaison n'a encore été décrite entre RFX1, RFX2 et RFX3. De plus, les données obtenues chez la souris montrent par exemple que RFX3 et RFX4 pourraient jouer un rôle synergique dans le cerveau où ils sont tous deux requis pour le développement de l'organe sous-commissural, une structure essentielle pour l'homéostasie du liquide céphalorachidien (Blackshear *et al.*, 2003 ; Baas *et al.*, 2006). Il en serait de même pour RFX3 et RFX6, pour qui les mutants murins présentent des défauts développementaux similaires dans le pancréas (Ait-Lounis *et al.*, 2007 ; Smith *et al.*, 2010).

Les gènes cibles de RFX ont majoritairement été identifiés chez *C. elegans* et chez la drosophile (figure 2). De manière intéressante, chez la drosophile et le nématode, RFX contrôle l'expression de toutes les protéines associées au complexe B de l'IFT ainsi que toutes les protéines du BBS (*Bardet-Biedl Syndrome*) qui coordonnent le transport de l'IFT. Les protéines RFX régulent également la protéine motrice Dync2li1 (*dynein cytoplasmic light intermediate chain 1*) associée au transport rétrograde de l'IFT ainsi qu'une protéine impliquée dans la régulation de la glutamylation de la tubuline chez *C. elegans* (DYF-1) et le poisson zèbre (*fleer*). Ce processus est connu pour jouer un rôle important dans l'intégrité axonémale et dans le transport de l'IFT (Ou *et al.*, 2005 ; Redeker *et al.*, 2005 ; Pathak *et al.*, 2007). Concernant les composants des complexes A, IFT122 (*daf-10*) est sous le contrôle de DAF-19 chez *C. elegans* (Efimenko *et al.*, 2005). En revanche, chez la drosophile, l'expression des composants du complexe A de l'IFT ou des moteurs moléculaires qui y sont associés n'est pas modifiée en contexte mutant pour *Rfx* (Laurençon *et al.*, 2007). Cependant, plusieurs des gènes codant des composants du complexe A ont dans leur promoteur un motif de type boîte-X qui est conservé entre la drosophile, le nématode et les mammifères (Blacque *et al.*, 2005 ; Piasecki *et al.*, 2010). Ceci suggère que si les protéines RFX peuvent se lier aux promoteurs des gènes codant les composants du complexe IFTA, elles ne sont pas indispensables chez la drosophile pour l'expression de ces gènes.

De façon générale, les protéines RFX assurent le contrôle du transport de l'IFT en régulant les membres du complexe B, les BBS et les moteurs rétrogrades. Elles interviennent également dans le contrôle de l'expression des protéines associées au corps basal et à la zone de transition tels que les gènes à domaine B9 impliqués dans le syndrome humain de Meckel Gruber (Bialas *et al.*, 2009). Chez *C. elegans*, DAF-19 régule NPHP-1 (*nephronophthisis 1*) et NPHP-4, des protéines associées à la zone de transition (Winkelbauer *et al.*, 2005) et dont les orthologues sont impliquées dans les néphronophtises chez l'Homme, une autre ciliopathie. DAF-19 régule également *DYF-17*, une protéine localisée à la zone de transition et nécessaire à l'assemblage du cil ainsi que *DYF-18* qui influence le devenir des protéines de l'IFT (Phirke *et al.*, 2011). La figure 2 résume les gènes cibles de RFX ayant été confirmés chez la souris, la drosophile ou *C. elegans*.

Les facteurs de transcription RFX sont donc des régulateurs d'un groupe particulier de protéines ciliaires impliquées dans le transport intraflagellaire, processus primordial à l'assemblage et au fonctionnement des cils. Les protéines RFX régulent également un ensemble spécifique de protéines impliquées dans l'ancrage du corps basal au cytosquelette (*rootletine*) (Yang *et al.*, 2002, Bahe *et al.*, 2005 ; Yang *et al.*, 2006) ou à la membrane apicale (protéines de la zone de transition) (Czarnecki & Shah, 2012). Aucune de ces protéines ne semblent être régulée par FOXJ1. En revanche, une autre classe de gènes incluant *Dnah9* est à la fois régulée par RFX et FOXJ1.

Comme mentionné précédemment, toutes les protéines RFX ne sont pas impliquées dans la ciliogenèse.

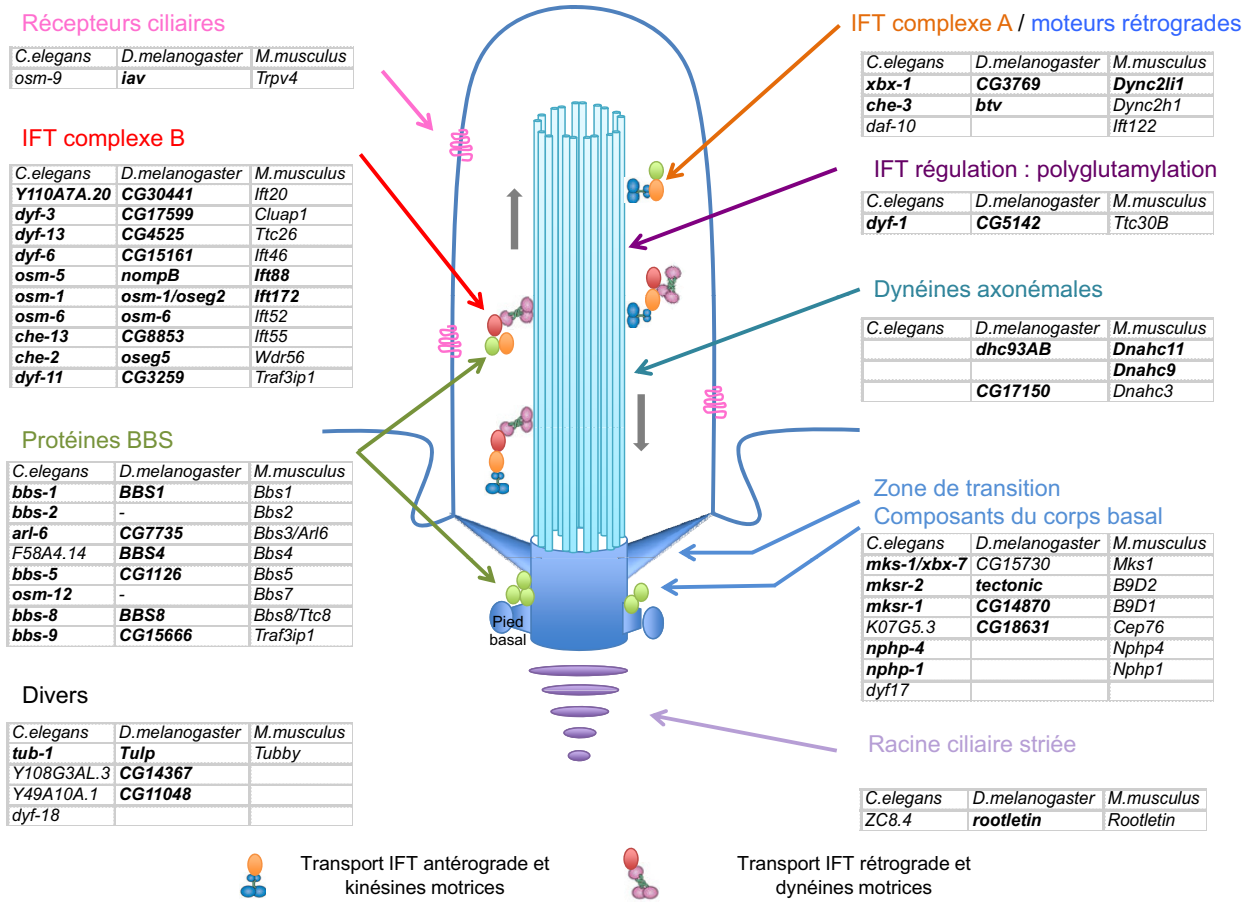

Fig. 2. Les cibles de RFX connues pour leur implication dans la ciliogenèse. Schéma simplifié d'un cil primaire et de son corps basal. Le corps basal est dérivé du centriole père et possède des structures spécialisées telles que le pied basal. Le corps basal est ancré à la membrane plasmique *via* les fibres de transition. La région située entre l'axonème et le corps basal s'appelle la zone de transition (Marshall, 2008 ; Seeley & Nachury, 2010). La motilité des cils est assurée par des bras de dynéines dites axonémales. Chez la drosophile et *C. elegans*, les protéines RFX contrôlent tous les gènes codant les composants du complexe B de l'IFT et les orthologues des protéines BBS (*Bardet-Biedl Syndrome*). Elles contrôlent également la dynéine, moteur rétrograde, ainsi que les gènes impliqués dans le contrôle de la polyglutamylation de la tubuline nécessaire au transport de l'IFT chez le poisson zèbre et *C. elegans*. Finalement, les protéines RFX régulent de nombreux gènes codant des protéines de la zone de transition nécessaires à l'ancrage du corps basal à la membrane plasmique. Les protéines RFX contrôlent également l'expression des gènes codant des protéines composant certains canaux localisés dans la membrane du cil et plusieurs protéines impliquées dans la fonction des cils selon un mécanisme encore inconnu. Par exemple, la famille de protéines Tubby est requise pour la fonction ciliaire mais leur mode d'action reste à définir. En gras, les gènes pour lesquels il a été montré qu'ils sont régulés par les RFX. En grisé, leurs orthologues dans d'autres espèces, mais dont la régulation par RFX n'est pas formellement démontrée.

C'est le cas de RFX5 qui régule les gènes du complexe majeur d'histocompatibilité de classe II et de RFX6 qui est impliqué dans le développement du pancréas (Huang *et al.*, 1998). D'autre part, tous les gènes identifiés comme cible de RFX sur la base de la présence d'une boîte-X, ne sont pas tous impliqués dans la ciliogenèse. Ainsi, les défauts observés chez les souris déficientes pour *Rfx3* et *Rfx6* peuvent résulter d'une combinaison de défauts ciliaires et non ciliaires. Enfin, il existe chez *C. elegans* différentes isoformes de DAF-19 (Senti & Swoboda, 2008). Parmi ces isoformes, une seule est nécessaire à la genèse de tous les cils sensoriels du nématode, les autres sont requises pour la stabilité synaptique des neurones sensoriels non ciliés ou dans le contrôle de la spécialisation des cils sensoriels (Wang *et al.*, 2010). Les isoformes non spécifiques de la ciliogenèse ne peuvent sauver le phénotype des mutants de la forme ciliogénique, ce qui suggère qu'il existe des cibles spécifiques en fonction des isoformes et ce, bien qu'ils

partagent le même domaine de liaison à l'ADN. Chez les mammifères, il est donc tout à fait envisageable que des isoformes spécifiques des protéines RFX jouent des rôles différents comme c'est le cas chez *C. elegans*.

Relations fonctionnelles entre les facteurs de transcription RFX et FOXJ1

Il a été montré chez la souris que RFX régule des gènes codant des dynéines axonémales, tels que *Dnah9*, qui est également une cible de FOXJ1. Ainsi, chez la souris, les protéines RFX et FOXJ1 semblent coopérer pour contrôler l'expression des gènes requis pour la motilité des cils. Outre le partage commun de gènes cibles, plusieurs observations suggèrent également qu'il existe une régulation croisée entre les facteurs de transcription RFX et FOXJ1 chez les vertébrés. RFX3 module l'expression de *Foxj1* dans des cultures de cellules épendymaires (El Zein *et al.*, 2009). Inversement, chez le poisson zèbre, *rfx2* est en partie régulé par Foxj1, l'opposé n'étant pas constaté (Yu *et al.*, 2008). Au niveau du nœud embryonnaire des souris, FOXJ1 est en amont de RFX3 et est requis pour l'expression de *Rfx3* (Alten *et al.,* 2012). Cependant, FOXJ1 ne semble pas réguler l'expression de *Rfx3* dans le plancher du tube neural chez la souris (Cruz *et al.,* 2010). Ces observations suggèrent des relations complexes entre les facteurs RFX et FOXJ1, qui varient d'un tissu et d'un organisme à l'autre et qui doivent encore être précisées.

Les autres acteurs

En plus des facteurs de transcription RFX et FOXJ1, plusieurs autres acteurs ont été identifiés dans le contrôle des gènes impliqués dans l'assemblage ou le fonctionnement des cils. Dans cette section, seuls ceux pour lesquels un rôle direct dans le contrôle de l'expression des gènes ciliaires a été décrit seront présentés.

Le facteur de transcription HNF1β (*hepatocyte nuclear factor 1β*) qui joue un rôle majeur dans l'homéostasie du foie, du pancréas et du rein est l'un d'entre eux. En effet, de manière intéressante, les souris déficientes pour *Hnf1β* développent de graves polykystoses rénales qui sont des caractéristiques associées à de nombreuses ciliopathies chez l'Homme (Gresh *et al.*, 2004). Des approches par ChIP ont permis d'identifier de nombreuses cibles directes de HNF1β impliquées dans la ciliogenèse telles que *Pkhd1* (*polycystic kidney and hepatic disease 1*), *Pkd2* (*polycystic kidney disease 2*), *Ift88* et la collectrine, suggérant ainsi un rôle ciliogénique pour HNF1β dans le rein (Gresh *et al.*, 2004 ; Hiesberger *et al.*, 2005). Aucune donnée ne permet de dire si HNF1β est impliqué dans la ciliogenèse d'autres tissus, bien que des résultats obtenus chez les souris déficientes pour *Hnf6* révèlent que HNF1β est un régulateur potentiel des gènes ciliaires du pancréas. En effet, dans les souris *Hnf6*$^{-/-}$, l'expression de *Hnf1β* est altérée, celle de *Pkhd1* est absente et les souris développent des kystes rénaux et pancréatiques (Pierreux *et al.*, 2006). Ainsi, HNF1β est important pour le programme génétique qui régule l'assemblage et la fonction des cils dans les tubules rénaux et probablement dans le pancréas.

La présence d'un tel programme cellulaire spécifique et nécessaire à la construction d'un sous-type de cils est particulièrement bien illustrée chez *C. elegans.* Dans cet organisme, les neurones olfactifs AWB (*Amphid Wing B*) possèdent un cil qui est composé de deux branches de tailles différentes. Dans ces neurones, FKH2, un autre membre de la famille des facteurs de transcription *forkhead*, est spécifiquement requis pour la morphogenèse de ce type particulier de cils sensoriels (Mukhopadhyay *et al.*, 2007) et il régule le transport de l'IFT en contrôlant le niveau d'expression de KAP-1 (*kinesin associated protein*) spécifiquement dans ces neurones. Ainsi, alors que DAF-19 gouverne la formation des cils dans toutes les cellules ciliées, FKH2 est uniquement nécessaire à la spécification d'un sous-type de cils particuliers chez *C. elegans*.

Plus récemment, il a été démontré chez la drosophile que le facteur pro-neuronal Atonal, qui est spécifique d'un lignage de cellules sensorielles ciliées que sont les organes chordotonaux, est capable d'activer directement des gènes impliqués dans l'assemblage des cils comme le gène *dilatory* (Cachero *et al.,* 2011). Dans ces neurones, la protéine *Dilatory* est localisée au corps basal et les mutants pour le gène *dila* présentent des défauts d'assemblage de l'axonème (Ma & Jarman, 2011). D'autre part, Atonal est également capable d'activer des facteurs de transcription spécifiques d'un sous-type de neurones ciliés comme le facteur Fd3F, celui-ci agissant de concert avec RFX, pour la spécialisation fonctionnelle des cils chordotonaux chez la drosophile (Newton *et al.*, 2012). De plus il a été démontré chez le poisson zèbre que Atoh1b est nécessaire au programme de différenciation des kinocils régulés par Foxj1b (Yu *et al.*, 2011). Ainsi, Atonal, initialement connu pour son rôle dans la détermination des précurseurs des sous-types neuronaux, apparaît comme un nouveau candidat à la spécification d'un sous-type de cils.

Par ailleurs, des analyses de ChIP réalisées sur des cellules épithéliales bronchiques humaines ont permis de révéler que le facteur de transcription S-SOX5 se lie directement sur le promoteur du gène *SPAG6* (*sperm-associated antigen 6*) qui code une protéine de la paire centrale de l'axonème. De plus, il a été démontré que la régulation de ce gène se fait en association

avec FOXJ1 qui exerce un rôle dominant vis-à-vis de S-SOX5 (Kiselak *et al.*, 2010).

Ainsi, de nouveaux facteurs de transcription impliqués dans la spécification d'un sous-type ciliaire particulier commencent à être décrits et il ne fait aucun doute que d'autres facteurs restent à découvrir.

Contrôle développemental des régulateurs

Tous les facteurs de transcription décrits jusqu'à présent sont exprimés de manière dynamique et dans des tissus spécifiques impliquant des mécanismes complexes de régulations. Quelques-uns de ces régulateurs ont été identifiés. On distingue notamment le gène homeobox *Noto* qui est exprimé dans le nœud embryonnaire de souris et qui contrôle la ciliogenèse. Dans les souris déficientes pour *Noto*, l'expression de *Foxj1* et de *Rfx3* est perdue dans le nœud embryonnaire, ce qui suggère que NOTO agit en amont de ces deux gènes (Beckers *et al.*, 2007). La réexpression de *Foxj1* dans un mutant *Noto* suffit à rétablir l'expression de *Rfx3* au niveau du noeud embryonnaire (Alten *et al.*, 2012). Dans les poissons médaka, l'expression du gène *floating head*, orthologue de *Noto*, est dépendante de la protéine Oleed (EED chez la souris) et les défauts des morphants Oleed peuvent être supprimés par l'expression de *floating head* (Arai *et al.*, 2009). Ces données suggèrent qu'il existe une cascade de régulation Oleed → Noto → Foxj1→Rfx3. Tous ces acteurs étant eux-mêmes régulés par les voies de signalisation qui interviennent au cours du développement.

C'est le cas de la voie SHH, qui régule l'expression de *foxj1a* dans le tube neural ventral du poisson zèbre mais pas dans les tubules rénaux ou dans la vésicule de Kupffer (KV) (Yu *et al.*, 2008). De plus, deux études réalisées chez le poisson zèbre ont permis de mettre en évidence l'importance de la signalisation FGF (*fibroblast growth factor*) dans la cascade de ciliogenèse au cours du développement. La première a permis d'identifier des gènes dont l'expression est augmentée en réponse à la signalisation FGF. Parmi ces gènes, *ier2* (*immediate early response 2*) code une protéine nucléaire et joue un rôle important dans la croissance des cils motiles de la KV. Les analyses fonctionnelles réalisées sur cette protéine ou sur son interacteur Fibp1 (*FGF-interacting binding protein 1)* révèlent un rôle dans la mise en place de l'asymétrie droite gauche et dans la croissance des cils de la KV (Hong & Dawid, 2009). La seconde étude a permis de démontrer qu'une altération de la signalisation médiée par Fgf8/Fgf24-Fgfr1 (*FGF receptor 1*) chez le poisson zèbre conduit à la diminution de la taille des cils dans la KV. De plus, l'expression des deux facteurs de transcription Foxj1a et Rfx2 est diminuée dans les morphants Fgfr1, ce qui suggère un contrôle de la ciliogenèse, via Foxj1 et Rfx2 par FGF au cours du développement (Neugebauer *et al.*, 2009).

De manière intéressante, la voie Notch est connue de longue date pour jouer un rôle dans les mécanismes d'inhibition latérale au cours du développement. Dans ce sens, elle joue un rôle important pour la spécification des cellules multiciliées dans l'épiderme du xénope ou dans les voies respiratoires humaines (Deblandre *et al.*, 1999 ; Tsao *et al.*, 2009). Par suite de la répression de la voie Notch, les cellules épithéliales acquièrent une destinée multiciliée dans ces deux tissus. Il a été montré récemment que la voie Notch réprime l'expression d'une protéine, la multiciline, requise pour que les cellules développent des cils motiles (Stubbs *et al.*, 2012). La multiciline est une petite protéine nucléaire, à domaine de type *coiled-coil*, qui contrôle la sortie du cycle cellulaire et l'amplification des corps basaux. Elle régule l'expression de *Foxj1* et de plusieurs protéines ciliaires. Ainsi, la répression de la voie Notch dans certaines cellules épithéliales permet l'expression de la multiciline et par conséquent le programme de ciliogenèse (figure 3). Récemment, il a été démontré que les micros ARNs jouent un rôle important dans la régulation de la voie Notch au cours du développement des épithéliums multiciliés. Parmi eux, la famille des microARNs miR-449 inhibent directement la voie Notch en se liant aux ARNs des gènes *Notch* et/ou de *Dll1* et contribuent ainsi à la différenciation terminale des cellules multiciliées de l'épithélium respiratoire humain et de l'épiderme de xénope (Marcet *et al.*, 2011).

La figure 3 rassemble les différents acteurs impliqués dans le contrôle de l'expression des gènes nécessaire à l'assemblage ou à la fonction ciliaire.

Conclusion

Chez les métazoaires, l'expression des gènes ciliaires est donc régulée par quelques facteurs de transcription clés qui agissent en synergie et possèdent des fonctions complémentaires dans la spécification des différents types ciliaires. Il apparaît que les facteurs de transcription RFX et FOXJ1 régulent ainsi des gènes impliqués dans des fonctions spécifiques de la biogenèse et de la physiologie des cils en régulant différents groupes de protéines : FOXJ1 régule essentiellement les gènes impliqués dans la motilité ciliaire et dans le transport apical des corps basaux, alors que les protéines RFX régulent les gènes codant des protéines de l'IFT et celles requises pour l'ancrage du corps basal. FOXJ1 et RFX partagent cependant quelques cibles communes impliquées dans la motilité ciliaire. Cependant, de nombreux aspects concernant les interactions fonctionnelles entre ces deux facteurs de transcription restent à comprendre, de même que les mécanismes

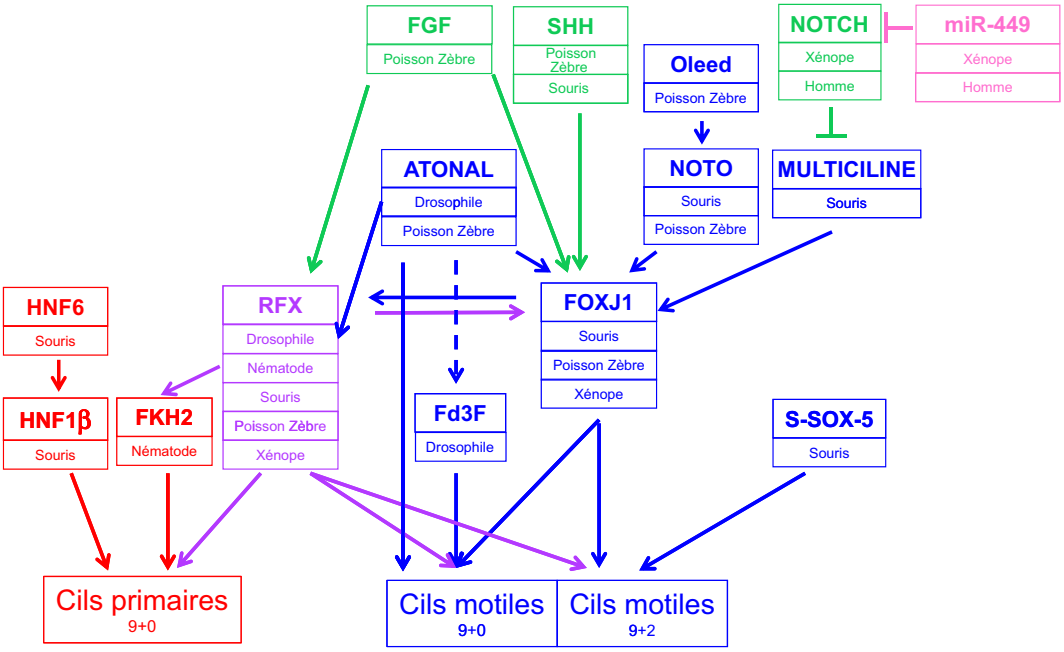

Fig. 3. Synthèse des différents acteurs impliqués dans la régulation des gènes codant des protéines nécessaires à l'assemblage ou à la fonction des cils. FOXJ1 est principalement impliqué dans l'assemblage des cils motiles chez les vertébrés. RFX est nécessaire à l'assemblage des cils aussi bien primaires que motiles. D'autres facteurs de transcription jouent un rôle dans la spécification d'un sous-type ciliaire : HNF1β régule l'expression des gènes ciliaires dans le rein et probablement dans le pancréas de souris. HNF6 régule l'expression de *Hnf1β* dans le pancréas de souris. RFX (DAF-19) chez *C. elegans* régule l'expression de *Fkh2* qui lui même régule l'assemblage d'un sous-type de cils primaires chez le nématode. De même, Atonal chez la drosophile régule directement des gènes ciliaires, mais aussi *Rfx* ainsi que probablement le gène codant le facteur de transcription Fd3F spécifique des organes chordotonaux de la drosophile. Atonal joue aussi un rôle spécifique *via* Foxj1 dans la genèse des kinocils de la vésicule otique du poisson zèbre. S-SOX5 régule directement SPAG6, protéine axonémale de la paire centrale dans des cellules bronchiques humaines. Les facteurs Foxj1 et RFX interagissent fonctionnellement : Foxj1 régule *rfx2* chez le poisson zèbre, à l'inverse RFX3 module l'expression de *Foxj1* dans les cellules épendymaires de souris. L'expression de *Foxj1* et *Rfx3* est contrôlée par le facteur de transcription NOTO dans le nœud embryonnaire chez la souris. La signalisation FGF régule l'expression de *foxj1* et *rfx2* chez le poisson zèbre. La signalisation SHH régule l'expression de *foxj1a* dans le tube neural du poisson zèbre. Le microARN miR-449 inhibe la voie Notch qui elle-même agit sur l'expression de la multiciline et contribue ainsi au programme de ciliogenèse motile chez le xénope et l'Homme.

gouvernant la spécificité des cibles. En revanche, l'identification des gènes cibles de ces protéines dans différents systèmes cellulaires s'est avérée très informative pour la découverte des nouveaux composants ciliaires. D'autre part, les études récentes ont permis de révéler plusieurs des acteurs situés en amont de ces facteurs de transcription comme la protéine NOTO dans le nœud embryonnaire de souris ou la voie microARNs miR-449 => Notch => multiciline pour la spécification des cellules multiciliées. Sur le plan évolutif, il est intéressant de noter que les protéines RFX, bien que présentes de la levure aux mammifères, n'ont été " recrutées " pour la régulation des gènes ciliaires que chez les métazoaires (Piasecki *et al.*, 2010). Il serait donc intéressant de déterminer quels sont les autres facteurs qui jouent ce rôle chez ces animaux et de comprendre comment les protéines FOXJ1 ont été recrutées au cours de l'évolution pour la régulation de la biogenèse des cils motiles.

De nombreuses données suggèrent qu'il existe des mécanismes post-transcriptionnels pour contrôler les niveaux d'expression des gènes ciliaires dans de nombreuses conditions expérimentales et physiologiques. C'est le cas chez *Chlamydomonas* ou chez l'oursin, où les mécanismes post- transcriptionnels sont impliqués dans la régulation des gènes de la tubuline après des expériences de déciliation (Baker *et al.*, 1986). Chez les mammifères, des observations récentes démontrent l'implication des microARNs dans le contrôle de l'expression des gènes ciliaires, d'une part indirectement comme on l'a vu en réprimant directement la voie Notch inhibitrice de la croissance de cils multiples et d'autre part, en agissant directement sur quelques gènes ciliaires. Ainsi le gène *Odf2* (*outer dense fiber*

of sperm tails 2), qui code un composant du corps basal, nécessaire à l'assemblage des cils, est une cible directe du microARN miR-96. Dans les cellules ciliées de l'oreille interne, des mutations du gène codant le microARN miR-96 induisent la perte progressive de l'audition chez l'Homme et la souris (Lewis *et al.*, 2009 ; Mencia *et al.*, 2009 ; Sacheli *et al.*, 2009), ce qui pourrait refléter une fonction ciliogénique du microARN miR-96 dans ces cellules.

L'ensemble de ces données met en avant l'existence d'une régulation extrêmement fine de l'expression des gènes ciliaires par un réseau complexe de différents facteurs et démontre que la régulation des gènes ciliaires est donc une étape clé pour comprendre le développement animal.

Références

Aftab S., Semenec L., Chu J.S., Chen N., Identification and characterization of novel human tissue-specific RFX transcription factors. *BMC Evol Biol*, 2008, 8, 226.

Ait-Lounis A., Baas D., Barras E., Benadiba C., Charollais A., Nlend Nlend R., Liegeois D., Meda P., Durand B., Reith W., Novel function of the ciliogenic transcription factor RFX3 in development of the endocrine pancreas. *Diabetes*, 2007, 56, 950–959.

Alten L., Schuster-Gossler K., Beckers A., Groos S., Ulmer B., Hegermann J., Ochs M., Gossler A., Differential regulation of node formation, nodal ciliogenesis and cilia positioning by Noto and Foxj1. *Development*, 2012, 139, 1276–1284.

Arai D., Hatano A., Higashinakagawa T., Oleed, a medaka Polycomb group gene, regulates ciliogenesis and left-right patterning. *Genes to cells: devoted to molecular & cellular mechanisms*, 2009, 14, 1359–1367.

Arnaiz O., Malinowska A., Klotz C., Sperling L., Dadlez M., Koll F., Cohen J., Cildb: a knowledge base for centrosomes and cilia. *Database (Oxford) 2009*, bap022.

Ashique A.M., Choe Y., Karlen M., May S.R., Phamluong K., Solloway M.J., Ericson J., Peterson A.S., The Rfx4 transcription factor modulates Shh signaling by regional control of ciliogenesis. *Sci Signal*, 2009, 2, ra70.

Avidor-Reiss T., Maer A.M., Koundakjian E., Polyanovsky A., Keil T., Subramaniam S., Zuker C.S., Decoding cilia function: defining specialized genes required for compartmentalized cilia biogenesis. *Cell*, 2004, 117, 527–539.

Baas D., Meiniel A., Benadiba C., Bonnafe E., Meiniel O., Reith W., Durand B., A deficiency in RFX3 causes hydrocephalus associated with abnormal differentiation of ependymal cells. *Eur J Neurosci*, 2006, 24, 1020–1030.

Bahe S., Stierhof Y.D., Wilkinson C.J., Leiss F., Nigg E.A., Rootletin forms centriole-associated filaments and functions in centrosome cohesion. *J Cell Biol*, 2005, 171, 27–33.

Baker E.J., Keller L.R., Schloss J.A., Rosenbaum J.L., Protein synthesis is required for rapid degradation of tubulin mRNA and other deflagellation-induced RNAs in *Chlamydomonas reinhardi*. *Mol Cell Biol*, 1986, 6, 54–61.

Baker K., Beales P.L., Making sense of cilia in disease : the human ciliopathies. *Am J Med Genet*, 2009, 151C, 281–295.

Beckers A., Alten L., Viebahn C., Andre P., Gossler A., The mouse homeobox gene Noto regulates node morphogenesis, notochordal ciliogenesis, and left right patterning. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2007, 104, 15765–15770.

Bialas N.J., Inglis P.N., Li C., Robinson J.F., Parker J.D., Healey M.P., Davis E.E., Inglis C.D., Toivonen T., Cottell D.C., Blacque O.E., Quarmby L.M., Katsanis N., Leroux M.R., Functional interactions between the ciliopathy-associated Meckel syndrome 1 (MKS1) protein and two novel MKS1-related (MKSR) proteins. *J Cell Sci*, 2009, 122, 611–624.

Bisgrove B.W., Makova S., Yost H.J., Brueckner M., RFX2 is essential in the ciliated organ of asymmetry and an RFX2 transgene identifies a population of ciliated cells sufficient for fluid flow. *Dev Biol*, 2011, 363, 166–178.

Blackshear P.J., Graves J.P., Stumpo D.J., Cobos I., Rubenstein J.L., Zeldin D.C., Graded phenotypic response to partial and complete deficiency of a brain-specific transcript variant of the winged helix transcription factor RFX4. *Development*, 2003, 130, 4539–4552.

Blacque O.E., Perens E.A., Boroevich K.A., Inglis P.N., Li C., Warner A., Khattra J., Holt R.A., Ou G., Mah A.K., McKay S.J., Huang P., Swoboda P., Jones S.J., Marra M.A., Baillie D.L., Moerman D.G., Shaham S., Leroux M.R., Functional genomics of the cilium, a sensory organelle. *Curr Biol*, 2005, 15, 935–941.

Blatt E.N., Yan X.H., Wuerffe M.K., Hamilos D.L., Brody S.L., Forkhead transcription factor HFH-4 expression is temporally related to ciliogenesis. *Am J Resp Cell Mol Biol*, 1999, 21, 168–176.

Bonnafe E., Touka M., Ait-Lounis A., Baas D., Barras E., Ucla C., Moreau A., Flamant F., Dubruille R., Couble P., Collignon J., Durand B., Reith W., The transcription factor RFX3 directs nodal cilium development and left-right asymmetry specification. *Mol Cell Biol*, 2004, 24, 4417–4427.

Brody S.L., Yan X.H., Wuerffel M.K., Song S.K., Shapiro S.D., Ciliogenesis and left-right axis defects in forkhead factor HFH-4-null mice. *Am J Resp Cell Mol Biol*, 2000, 23, 45–51.

Cachero S., Simpson T.I., Zur Lage P.I., Ma L., Newton F.G., Holohan E.E., Armstrong J.D., Jarman A.P., The gene regulatory cascade linking proneural specification with differentiation in Drosophila sensory neurons. *PLoS Biol*, 2011, 9, e1000568.

Cardenas-Rodriguez M., Badano, J.L., Ciliary biology: understanding the cellular and genetic basis of human ciliopathies. *Am J Med Genet*, 2009, 151C, 263–280.

Chen J., Knowles H.J., Hebert J.L., Hackett B.P., Mutation of the mouse hepatocyte nuclear

factor/forkhead homologue 4 gene results in an absence of cilia and random left-right asymmetry. *J Clin Invest*, 1998, 102, 1077–1082.

Chen N., Mah A., Blacque O.E., Chu J., Phgora K., Bakhoum M.W., Newbury C.R., Khattra J., Chan S., Go A., Efimenko E., Johnsen R., Phirke P., Swoboda P., Marra M., Moerman D.G., Leroux M.R., Baillie D.L., Stein L.D., Identification of ciliary and ciliopathy genes in *Caenorhabditis elegans* through comparative genomics. *Genome Biol*, 2006, 7, R126.

Chung M.I., Peyrot S.M., Leboeuf S., Park T.J., McGary K.L., Marcotte E.M., Wallingford J.B., RFX2 is broadly required for ciliogenesis during vertebrate development. *Dev Biol*, 2011, 363, 155–165.

Clausen B.E., Waldburger, J.M., Schwenk F., Barras E., Mach B., Rajewsky K., Forster I., Reith W., Residual MHC class II expression on mature dendritic cells and activated B cells in RFX5-deficient mice. *Immunity*, 1998, 8, 143–155.

Cruz C., Ribes V., Kutejova E., Cayuso J., Lawson V., Norris D., Stevens J., Davey M., Blight K., Bangs F., Mynett A., Hirst E., Chung R., Balaskas, N., Brody S.L., Marti E., Briscoe J., Foxj1 regulates floor plate cilia architecture and modifies the response of cells to sonic hedgehog signalling. *Development*, 2010, 137, 4271–4282.

Czarnecki P.G., Shah J.V., The ciliary transition zone : from morphology and molecules to medicine. *Trends Cell Biol*, 2012, 22, 201–210.

Deblandre G.A., Wettstein D.A., Koyano-Nakagawa N., Kintner C., A two-step mechanism generates the spacing pattern of the ciliated cells in the skin of Xenopus embryos. *Development*, 1999, 126, 4715–4728.

Dubruille R., Laurençon A., Vandaele C., Shishido E., Coulon-Bublex M., Swoboda P., Couble P., Kernan M., Durand B., Drosophila regulatory factor X is necessary for ciliated sensory neuron differentiation. *Development*, 2002, 129, 5487–5498.

Durand B., Sperisen P., Emery P., Barras E., Zufferey M., Mach B., Reith W., RFXAP, a novel subunit of the RFX DNA binding complex is mutated in MHC class II deficiency. *EMBO J*, 1997, 16, 1045–1055.

Efimenko E., Bubb K., Mak H.Y., Holzman T., Leroux, M.R., Ruvkun G., Thomas, J.H., Swoboda P., Analysis of xbx genes in *C. elegans*. *Development*, 2005, 132, 1923–1934.

Eggenschwiler J.T., Anderson K.V., Cilia and developmental signaling. *Ann Rev Cell Dev Biol*, 2007, 23, 345–373.

El Zein L., Ait-Lounis A., Morle L., Thomas J., Chhin B., Spassky N., Reith W., Durand B., RFX3 governs growth and beating efficiency of motile cilia in mouse and controls the expression of genes involved in human ciliopathies. *J Cell Sci*, 2009, 122, 3180–3189.

Emery P., Durand B., Mach B., Reith W., RFX proteins, a novel family of DNA binding proteins conserved in the eukaryotic kingdom. *Nucl Acids Res*, 1996a, 24, 803–807.

Emery P., Strubin M., Hofmann K., Bucher P., Mach B., Reith W., A consensus motif in the RFX DNA binding domain and binding domain mutants with altered specificity. *Mol Cell Biol*, 1996b, 16, 4486–4494.

Gajiwala K.S., Chen H., Cornille F., Roques B.P., Reith W., Mach B., Burley S.K., Structure of the winged-helix protein hRFX1 reveals a new mode of DNA binding. *Nature*, 2000, 403, 916–921.

Gherman A., Davis E.E., Katsanis N., The ciliary proteome database: an integrated community resource for the genetic and functional dissection of cilia. *Nat Genet*, 2006, 38, 961–962.

Gomperts B.N., Gong-Cooper X., Hackett B.P., Foxj1 regulates basal body anchoring to the cytoskeleton of ciliated pulmonary epithelial cells. *J Cell Sci*, 2004, 117, 1329–1337.

Gopfert M.C., Robert D., Motion generation by Drosophila mechanosensory neurons. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2003, 100, 5514–5519.

Gopfert M.C., Humphris, A.D., Albert, J.T., Robert D., Hendrich O., Power gain exhibited by motile mechanosensory neurons in Drosophila ears. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2005, 102, 325–330.

Gresh L., Fischer E., Reimann A., Tanguy M., Garbay S., Shao X., Hiesberger T., Fiette L., Igarashi P., Yaniv M., Pontoglio M., A transcriptional network in polycystic kidney disease. *EMBO J*, 2004, 23, 1657–1668.

Hackett B.P., Brody S.L., Liang M., Zeitz I.D., Bruns L.A., Gitlin J.D., Primary structure of hepatocyte nuclear factor/forkhead homologue 4 and characterization of gene expression in the developing respiratory and reproductive epithelium. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1995, 92, 4249–4253.

Haycraft C.J., Swoboda P., Taulman P.D., Thomas J.H., Yoder B.K., The *C. elegans* homolog of the murine cystic kidney disease gene Tg737 functions in a ciliogenic pathway and is disrupted in osm-5 mutant worms. *Development*, 2001, 128, 1493–1505.

Haycraft C.J., Schafer J.C., Zhang Q., Taulman P.D., Yoder B.K., Identification of CHE-13, a novel intraflagellar transport protein required for cilia formation. *Exp Cell Res*, 2003, 284, 251–263.

Hiesberger T., Shao X., Gourley E., Reimann A., Pontoglio M., Igarashi P., Role of the hepatocyte nuclear factor-1beta (HNF-1beta) C-terminal domain in Pkhd1 (ARPKD) gene transcription and renal cystogenesis. *J Biol Chem*, 2005, 280, 10578–10586.

Hirschner W., Pogoda H.M., Kramer C., Thiess U., Hamprecht B., Wiesmuller K.H., Lautner M., Verleysdonk S., Biosynthesis of Wdr16, a marker protein for kinocilia-bearing cells, starts at the time of kinocilia formation in rat, and wdr16 gene knockdown causes hydrocephalus in zebrafish. *J Neurochem*, 2007, 101, 274–288.

Hong S.K., Dawid I.B., FGF-dependent left-right asymmetry patterning in zebrafish is mediated by Ier2 and Fibp1. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2009, 106, 2230–2235.

Huang M., Zhou Z., Elledge S.J., The DNA replication and damage checkpoint pathways induce transcription by inhibition of the Crt1 repressor. *Cell*, 1998, 94, 595–605.

Huang T., You Y., Spoor M.S., Richer E.J., Kudva V.V., Paige R.C., Seiler M.P., Liebler J.M., Zabner J., Plopper C.G., Brody S.L., Foxj1 is required for apical localization of ezrin in airway epithelial cells. *J Cell Sci*, 2003, 116, 4935–4945.

Inglis P.N., Boroevich K.A., Leroux M.R., Piecing together a ciliome. *Trends Genet*, 2006, 22, 491–500.

Ishikawa H., Marshall W.F., Ciliogenesis: building the cell's antenna. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2011, 12, 222–234.

Jacquet B.V., Salinas-Mondragon R., Liang H., Therit B., Buie J.D., Dykstra M., Campbell K., Ostrowski L.E., Brody S.L., Ghashghaei H.T., FoxJ1-dependent gene expression is required for differentiation of radial glia into ependymal cells and a subset of astrocytes in the postnatal brain. *Development*, 2009, 136, 4021–4031.

Jain R., Pan J., Driscoll J.A., Wisner J.W., Huang T., Gunsten S.P., You Y., Brody S.L., Temporal relationship between primary and motile ciliogenesis in airway epithelial cells. *Am J Resp Cell Mol Biol*, 2010, 43, 731–739.

Kiselak E.A., Shen X., Song J., Gude D.R., Wang J., Brody, S.L., Strauss J.F., 3rd, Zhang Z., Transcriptional regulation of an axonemal central apparatus gene, sperm-associated antigen 6, by a SRY-related high mobility group transcription factor, S-SOX5. *J Biol Chem*, 2010, 285, 30496–30505.

Laurençon A., Dubruille R., Efimenko E., Grenier G., Bissett R., Cortier E., Rolland V., Swoboda P., Durand B., Identification of novel regulatory factor X (RFX) target genes by comparative genomics in Drosophila species. *Genome Biol*, 2007, 8, R195.

Lee E., Sivan-Loukianova E., Eberl D.F., Kernan M.J., An IFT-A protein is required to delimit functionally distinct zones in mechanosensory cilia. *Curr Biol*, 2008, 18, 1899–1906.

Lewis M.A., Quint E., Glazier A.M., Fuchs H., De Angelis M.H., Langford C., van Dongen S., Abreu-Goodger C., Piipari M., Redshaw N., Dalmay T., Moreno-Pelayo M.A., Enright A.J., Steel K.P., An ENU-induced mutation of miR-96 associated with progressive hearing loss in mice. *Nat Genet*, 2009, 41, 614–618.

Li J.B., Gerdes J.M., Haycraft C.J., Fan Y., Teslovich T.M., May-Simera H., Li H., Blacque O.E., Li L., Leitch C.C., Lewis R.A., Green J.S., Parfrey P.S., Leroux M.R., Davidson W.S., Beales P.L., Guay-Woodford L.M., Yoder B.K., Stormo G.D., Katsanis N., Dutcher S.K., Comparative genomics identifies a flagellar and basal body proteome that includes the BBS5 human disease gene. *Cell*, 2004, 117, 541–552.

Lim L., Zhou H., Costa R.H., The winged helix transcription factor HFH-4 is expressed during choroid plexus epithelial development in the mouse embryo. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1997, 94, 3094–3099.

Lin L., Spoor M.S., Gerth A.J., Brody S.L., Peng S.L., Modulation of Th1 activation and inflammation by the NF-kappaB repressor Foxj1. *Science*, 2004, 303, 1017–1020.

Lin L., Brody S.L., Peng S.L., Restraint of B cell activation by Foxj1-mediated antagonism of NF-kappa B and IL-6. *J Immunol*, 2005, 175, 951–958.

Liu Y., Pathak N., Kramer-Zucker A., Drummond I.A., Notch signaling controls the differentiation of transporting epithelia and multiciliated cells in the zebrafish pronephros. *Development*, 2007, 134, 1111–1122.

Ma L., Jarman, A.P., Dilatory is a Drosophila protein related to AZI1 (CEP131) that is located at the ciliary base and required for cilium formation. *J Cell Sci*, 2011, 124, 2622–2630.

Marcet B., Chevalier B. Luxardi G., Coraux C., Zaragosi L.E., Cibois M., Robbe-Sermesant K., Jolly T., Cardinaud B., Moreilhon C., Giovannini-Chami L, Nawrocki-Raby B., Birembaut P., Waldmann R., Kodjabachian L., Barbry P., Control of vertebrate multiciliogenesis by miR-449 through direct repression of the Delta/Notch pathway. *Nat Cell Biol*, 2011, 13, 693–699.

Marshall W.F., Basal bodies platforms for building cilia. *Curr Top Dev Biol*, 2008, 85, 1–22.

Masternak K., Barras E., Zufferey M., Conrad B., Corthals G., Aebersold R., Sanchez J.C., Hochstrasser D.F., Mach B., Reith W., A gene encoding a novel RFX-associated transactivator is mutated in the majority of MHC class II deficiency patients. *Nat Genet*, 1998, 20, 273–277.

Mazet F., Yu J.K., Liberles D.A., Holland L.Z., Shimeld S.M., Phylogenetic relationships of the Fox (Forkhead) gene family in the Bilateria. *Gene*, 2003, 316, 79–89.

Mencía A., Modamio-Høybjør S., Redshaw N., Morín M., Mayo-Merino F., Olavarrieta L., Aguirre L.A., del Castillo I., Steel K.P., Dalmay T., Moreno F., Moreno-Pelayo M.A., Mutations in the seed region of human miR-96 are responsible for nonsyndromic progressive hearing loss. *Nat Genet*, 2009, 41, 609–613.

Mukhopadhyay S., Lu Y., Qin H., Lanjuin A., Shaham S., Sengupta P., Distinct IFT mechanisms contribute to the generation of ciliary structural diversity in *C. elegans*. *EMBO J*, 2007, 26, 2966–2980.

Neugebauer J.M., Amack J.D., Peterson A.G., Bisgrove B.W., Yost H.J., FGF signalling during embryo development regulates cilia length in diverse epithelia. *Nature*, 2009, 458, 651–654.

Newton F.G., Zur Lage P.I., Karak S., Moore D.J., Gopfert M.C., Jarman A.P., Forkhead transcription factor Fd3F cooperates with Rfx to regulate a gene expression program for mechanosensory cilia specialization. *Dev Cell*, 2012, 22, 1221–1233.

Ou G., Blacque O.E., Snow J.J., Leroux M.R., Scholey J.M., Functional coordination of intraflagellar transport motors. *Nature*, 2005, 436, 583–587.

Pathak N., Obara T., Mangos S., Liu Y., Drummond I.A., The zebrafish fleer gene encodes an essential regulator of cilia tubulin polyglutamylation. *Mol Biol Cell*, 2007, 18, 4353–4364.

Phirke P., Efimenko E., Mohan S., Burghoorn J., Crona F., Bakhoum M.W., Trieb M., Schuske K., Jorgensen E.M., Piasecki B.P., Leroux M.R.,

Swoboda P., Transcriptional profiling of *C. elegans* DAF-19 uncovers a ciliary base-associated protein and a CDK/CCRK/LF2p-related kinase required for intraflagellar transport. *Dev Biol*, 2011 357, 235–247.

Piasecki B.P., Burghoorn J., Swoboda P., Regulatory Factor X (RFX)-mediated transcriptional rewiring of ciliary genes in animals. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2010, 107, 12969–12974.

Pierreux C.E., Poll A.V., Kemp C.R., Clotman F., Maestro M.A., Cordi S., Ferrer J., Leyns L., Rousseau G.G., Lemaigre F.P., The transcription factor hepatocyte nuclear factor-6 controls the development of pancreatic ducts in the mouse. *Gastroenterology*, 2006, 130, 532–541.

Redeker V., Levilliers N., Vinolo E., Rossier J., Jaillard D., Burnette D., Gaertig J., Bre M.H., Mutations of tubulin glycylation sites reveal cross-talk between the C termini of alpha- and beta-tubulin and affect the ciliary matrix in *Tetrahymena*. *J Biol Chem*, 2005, 280, 596–606.

Reith W., Herrero-Sanchez C., Kobr M., Silacci P., Berte C., Barras, E., Fey S., Mach B., MHC class II regulatory factor RFX has a novel DNA-binding domain and a functionally independent dimerization domain. *Genes Dev*, 1990, 4, 1528–1540.

Sacheli R., Nguyen L., Borgs L., Vandenbosch R., Bodson M., Lefebvre P., Malgrange B., Expression patterns of miR-96, miR-182 and miR-183 in the development inner ear. *Gene Expr Patterns*, 2009, 9, 364–370.

Schafer J.C., Haycraft C.J., Thomas J.H., Yoder B.K., Swoboda P., XBX-1 encodes a dynein light intermediate chain required for retrograde intraflagellar transport and cilia assembly in *Caenorhabditis elegans*. *Mol Biol Cell*, 2003, 14, 2057–2070.

Seeley E.S., Nachury M.V., The perennial organelle: assembly and disassembly of the primary cilium. *J Cell Sci*, 2010, 123, 511–518.

Senti G., Swoboda P., Distinct isoforms of the RFX transcription factor DAF-19 regulate ciliogenesis and maintenance of synaptic activity. *Mol Biol Cell*, 2008, 19, 5517–5528.

Smith S.B., Qu H.Q., Taleb N., Kishimoto N.Y., Scheel D.W., Lu Y., Patch A.M., Grabs R., Wang J., Lynn F.C., Miyatsuka T., Mitchell J., Seerke R., Désir J., Eijnden S.V., Abramowicz M., Kacet N., Weill J., Renard M.E., Gentile M., Hansen I., Dewar K., Hattersley A.T., Wang R., Wilson M.E, Johnson J.D., Polychronakos C., German M.S., Rfx6 directs islet formation and insulin production in mice and humans. *Nature*, 2010, 463, 775–780.

Sorokin S.P., Reconstructions of centriole formation and ciliogenesis in mammalian lungs. *J Cell Sci*, 1968, 3, 207–230.

Spassky N., Merkle F.T., Flames N., Tramontin, A.D., Garcia-Verdugo J.M., Alvarez-Buylla A., Adult ependymal cells are postmitotic and are derived from radial glial cells during embryogenesis. *J Neurosci*, 2005, 25, 10–18.

Steimle V., Durand B., Barras E., Zufferey M., Hadam, M.R., Mach B., Reith W., A novel DNA-binding regulatory factor is mutated in primary MHC class II deficiency (bare lymphocyte syndrome). *Genes Dev*, 1995, 9, 1021–1032.

Stubbs J.L., Oishi I., Izpisua Belmonte J.C., Kintner C., The forkhead protein Foxj1 specifies node-like cilia in Xenopus and zebrafish embryos. *Nat Genet*, 2008, 40, 1454–1460.

Stubbs J.L., Vladar E.K., Axelrod J.D., Kintner C., Multicilin promotes centriole assembly and ciliogenesis during multiciliate cell differentiation. *Nat Cell Biol*, 2012, 14, 140–147.

Swoboda P., Adler H.T., Thomas J.H., The RFX-type transcription factor DAF-19 regulates sensory neuron cilium formation in *C. elegans*. *Mol Cell*, 2000, 5, 411–421.

Tichelaar J.W., Lim L., Costa R.H., Whitsett J.A., HNF-3/forkhead homologue-4 influences lung morphogenesis and respiratory epithelial cell differentiation *in vivo*. *Dev Biol*, 1999, 213, 405–417.

Tsao P.N., Vasconcelos M., Izvolsky K.I., Qian J., Lu J., Cardoso W.V., Notch signaling controls the balance of ciliated and secretory cell fates in developing airways. *Development*, 2009, 136, 2297–2307.

Venugopalan S.R., Amen M.A., Wang J., Wong L., Cavender A.C., D'Souza R.N., Akerlund M., Brody S.L., Hjalt T.A., Amendt B.A., Novel expression and transcriptional regulation of FoxJ1 during oro-facial morphogenesis. *Hum Mol Genet*, 2008, 17, 3643–3654.

Wang J., Schwartz, H.T., Barr M.M., Functional specialization of sensory cilia by an RFX transcription factor isoform. *Genetics*, 2010, 186, 1295–1307.

Winkelbauer M.E., Schafer J.C., Haycraft C.J., Swoboda P., Yoder B.K., The *C. elegans* homologs of nephrocystin-1 and nephrocystin-4 are cilia transition zone proteins involved in chemosensory perception. *J Cell Sci*, 2005, 118, 5575–5587.

Wong S.Y., Reiter J.F., The primary cilium at the crossroads of mammalian hedgehog signaling. *Curr Top Dev Biol*, 2008, 85, 225–260.

Yang J., Liu X., Yue G., Adamian M., Bulgakov O., Li T., Rootletin, a novel coiled-coil protein, is a structural component of the ciliary rootlet. *J Cell Biol*, 2002, 159, 431–440.

Yang J., Adamian M., Li T., Rootletin interacts with C-Nap1 and may function as a physical linker between the pair of centrioles/basal bodies in cells. *Mol Biol Cell*, 2006, 17, 1033–1040.

You Y., Huang T., Richer E.J., Schmidt J.E., Zabner J., Borok Z., Brody S.L., Role of f-box factor foxj1 in differentiation of ciliated airway epithelial cells. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2004, 286, L650–657.

Yu X., Ng, C.P., Habacher H., Roy S., Foxj1 transcription factors are master regulators of the motile ciliogenic program. *Nat Genet*, 2008, 40, 1445–1453.

Yu X., Lau D., Ng C.P., Roy S., Cilia-driven fluid flow as an epigenetic cue for otolith biomineralization on sensory hair cells of the inner ear. *Development*, 2011, 138, 487–494.