

Etude génétique du syndrome de Rett dans la population Tunisienne : Identification de trois mutations hotspot dans le gène *MECP2*



Rania Ghorbel^{1/2*}, Raouia Ghorbel^{1/2}, Aida Rouissi³, Chahnez Triki⁴, Leila Keskes Ammar¹, Faiza Fakhfakh²

¹Laboratoire de Génétique Moléculaire Humaine, Faculté de Médecine de Sfax, Université de Sfax, Tunisia ;
²Laboratoire de Génétique Moléculaire et Fonctionnelle, Faculté des Sciences de Sfax, Université de Sfax, Tunisia ;
³Service de neurologie de l'enfant et de l'adolescent, institut national de neurologie, 1007 La Rabta, Tunis, Tunisia ;
⁴Service de Neuropédiatrie CHU Hédi Chaker, Sfax, Tunisia.

INTRODUCTION

- Le syndrome de Rett est une atteinte neurologique, décrite pour la première fois en 1966 par Andreas Rett d'où son nom. Elle affecte presque exclusivement les filles avec une prévalence d'environ 1/10 000 à 1/15 000.

- Cette maladie apparaît entre l'âge de 6 à 18 mois de la fille. Les signes les plus distinctifs sont la déficience intellectuelle et motrice avec l'apparition des mouvements stéréotypés des mains.

- Cette maladie génétique est due à des mutations dans le gène *MECP2* (Methyl-CpG-Binding Protein 2), localisé sur le chromosome X, codant pour la protéine MeCP2 qui joue le rôle d'un facteur transcriptionnel.



OBJECTIFS

- L'objectif de ce travail est la recherche de mutations et/ou polymorphismes au niveau du gène *MECP2* chez trois patientes atteintes du syndrome de Rett dans la population tunisienne.

PATIENTS ET METHODES

➤ **Patients:** Notre étude a porté sur trois patientes (P1, P2 et P3) non apparentées atteintes du syndrome de Rett.

➤ **Méthodes:** - L'étude moléculaire a été effectuée sur l'ADN génomique total extrait à partir du sang selon la méthode classique au phénol-chloroforme.

- La recherche de mutations et/ou polymorphismes dans le gène *MECP2* a été réalisée par PCR/séquençage automatique par: BigDye terminator Cycle Sequencing Ready Reaction Kit (ABI PRISM/Biosystems).

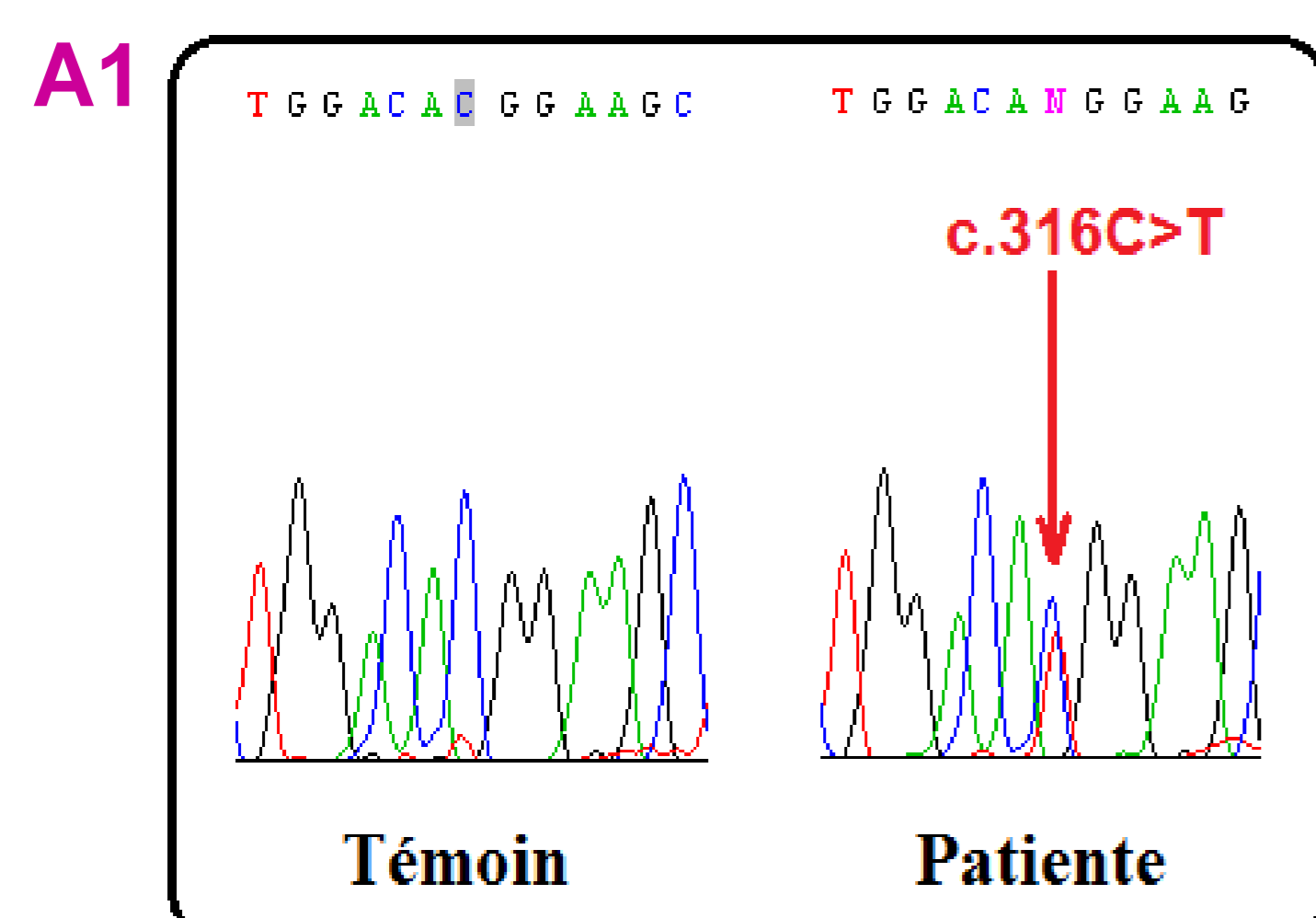
➤ **Les outils bioinformatiques :**

- Polyphen-2 et SIFT (La prédiction de l'effet des substitutions des acides aminés sur la structure et la fonction de la protéine).
- ClustalW2 (L'alignement multiple des séquences).

RESULTATS ET DISCUSSION

Etude moléculaire du gène *MECP2*:

- Les résultats de l'analyse par séquençage automatique du gène *MECP2* ont montré la présence de trois mutations ponctuelles hotspot, (c.316 C>t ; p.R106W), (c.502 C>T ; p.R168X) et (c.763 C>T ; p.R255X), identifiées chez trois patientes tunisiennes.



B1

	E	G	W	T	R	K	L	K	Q
Patient	E	G	W	T	R	K	L	K	Q
Human	E	G	W	T	R	K	L	K	Q
Guinea	E	G	W	T	R	K	L	K	Q
Dog	E	G	W	T	R	K	L	K	Q
Rabbit	E	G	W	T	R	K	L	K	Q
Gorilla	E	G	W	T	R	K	L	K	Q
Coar	E	G	W	T	R	K	L	K	Q
Chimpanzee	E	G	W	T	R	K	L	K	Q
Zebrafish	Q	G	W	T	R	K	L	K	Q
Opossum	E	G	W	T	R	K	L	K	Q
Armadillo	E	G	W	T	R	K	L	K	Q

C1

User Input	ENSP	Pos	Ref	Subst	Prediction	SIFT Score	Median Information Content	# Segs
ENSP00000301948.R106W	ENSP00000301948	106	R	W	DAMAGING	0	2.89	38

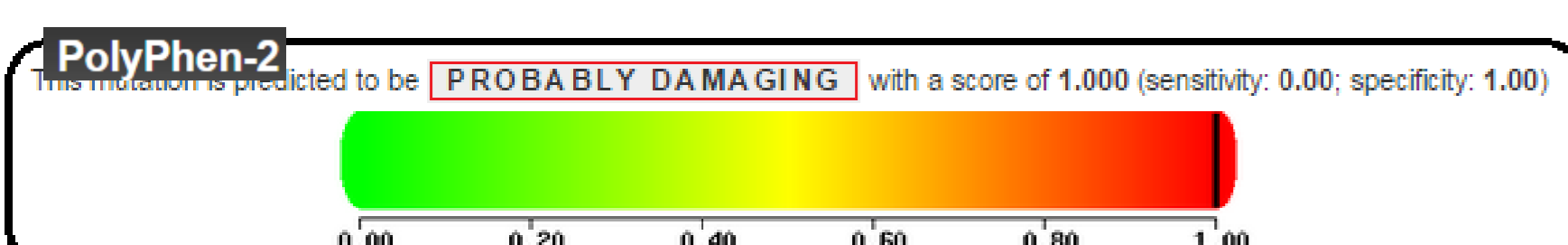
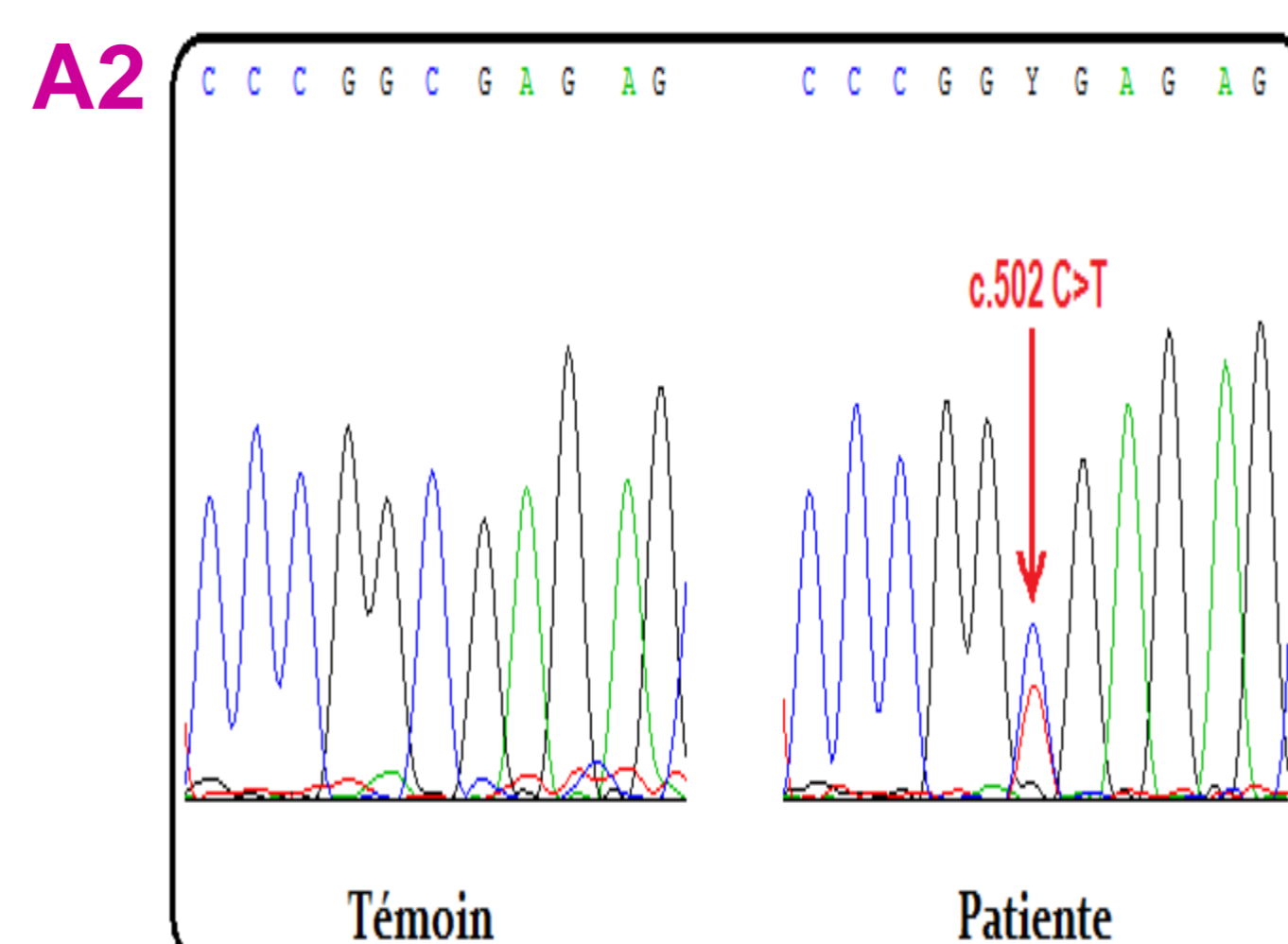


Fig.1 A1 : Electrophorégramme de la séquence du gène *MECP2* montrant la présence de la mutation (c.316 C>t ; p.R106W) chez la patiente (P1) et son absence chez un sujet normal. B1 : L'alignement de la protéine MeCP2 chez différentes espèces révèle la conservation de l'acide aminé R106. C1 Prédiction de l'effet de la mutation (c.316C>T ; p.R106W) par les deux logiciels Polyphen2 et SIFT.

- La mutation faux-sens connue (c.316 C>T ; p.R106W) est une transition qui substitue le résidu Arginine conservé 106 (CGG) en un résidu Tryptophane (TGG). Cette mutation est localisée dans le domaine MBD de la protéine MeCP2.

- La prédiction de l'effet de cette substitution sur la structure et la fonction de la protéine par Polyphen-2 et SIFT montre un effet endommageant sur la protéine MeCP2.

- Ces trois variations sont parmi les huit mutations les plus décrites dans le syndrome de Rett.



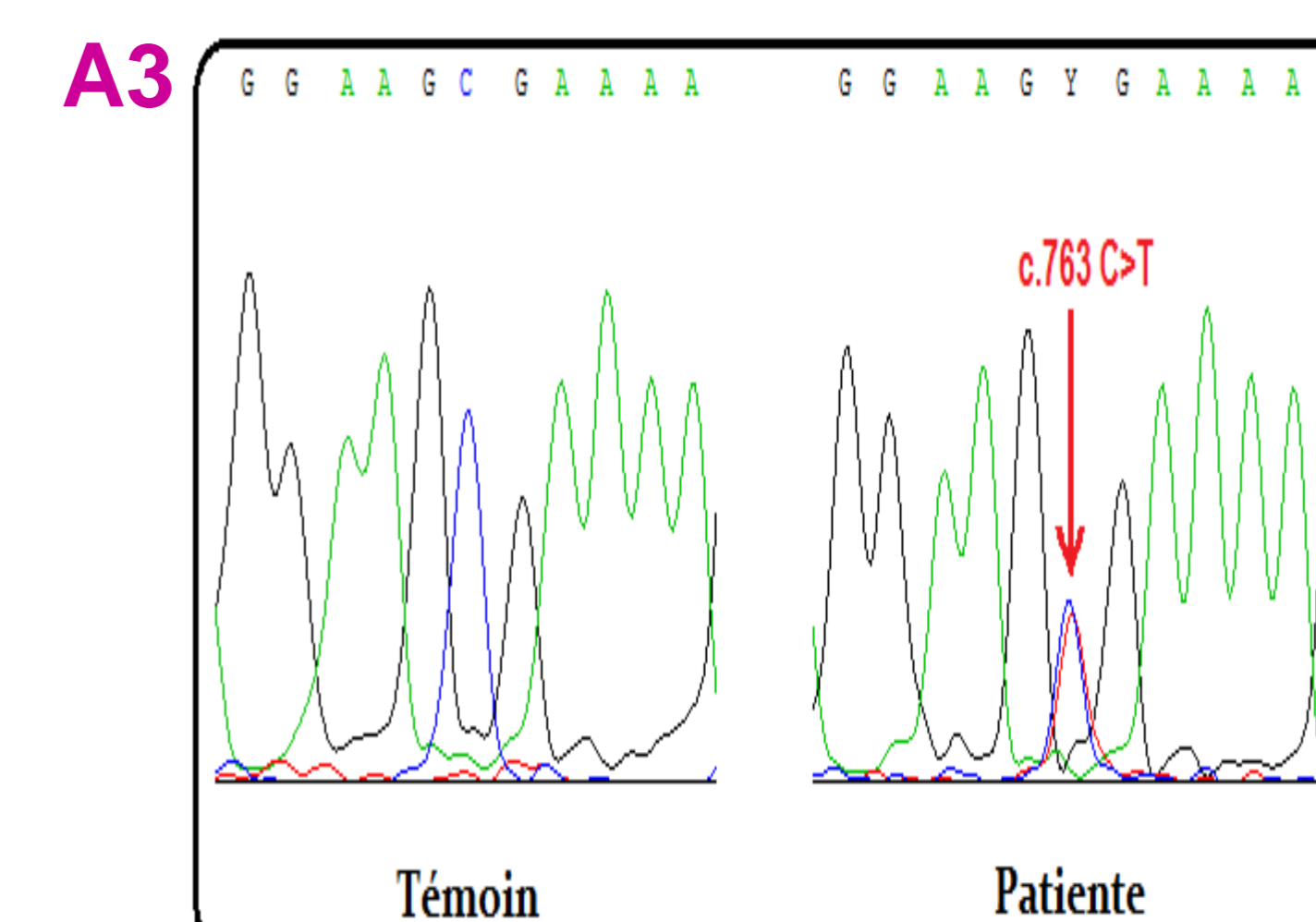
B2

	S	R	X	E
Patient	S	R	X	E
Human	S	R	R	E
Opossum	S	R	R	E
Rabbit	S	R	R	E
Guinea	S	R	R	E
Cow	S	R	R	E
Chimpanzee	S	R	R	E
Armadillo	S	R	R	E

Fig.3 A2 : Electrophorégramme de la séquence du gène *MECP2* montrant l'absence de la mutation (c.502 C>T ; p.R168X) chez un sujet normal et sa présence chez la patiente (P2) atteinte du syndrome de Rett. B2 : L'alignement de la protéine MeCP2 chez différentes espèces révèle la conservation de l'acide aminé R168.

- La mutation non-sens connue (c.502 C>T ; p.R168X) est une transition qui substitue le résidu Arginine conservé 168 (CGA) en un codon stop (TGA) qui conduit à une protéine MeCP2 tronquée.

- Cette mutation est localisée dans l'Inter-domain region (ID), situé entre le domaine MBD et TRD, de la protéine MeCP2.



B3

	R	K	X	K	R
Patient	R	K	X	K	R
Human	R	K	R	K	R
Rhesus	R	K	R	K	R
Mouse	R	K	R	K	R
Dog	R	K	R	K	R
Elephant	V	K	R	K	R
Opossum	V	K	R	K	R
Chicken	R	K	R	K	R

Fig.2 A3 : Electrophorégramme de la séquence du gène *MECP2* montrant l'absence de la mutation (c.736 C>T ; p.R255X) chez un sujet normal et sa présence chez la patiente (P3) atteinte du syndrome de Rett. B3 : L'alignement de la protéine MeCP2 chez différentes espèces révèle la conservation de l'acide aminé R255.

- La mutation non-sens connue (c.736 C>T ; p.R255X) est une transition qui substitue le résidu hydrophile Arginine conservé 255 (CGA) en un codon stop (TGA) qui conduit à une protéine MeCP2 tronquée. Cette mutation de p.R255X qui est située dans le domaine TRD-NLS de la protéine MeCP2 affecte la capacité de répression de la transcription de la protéine MeCP2 et diminue le niveau de sa stabilité in vivo.

CONCLUSION

- Cette étude a permis d'identifier trois mutations ponctuelles hotspot au niveau du gène *MECP2* chez trois patientes atteintes du syndrome de Rett dans la population tunisienne.