

# Exploration de la cause génétique des myopathies mitochondriales par l'étude moléculaire des gènes candidats mitochondriaux



Raouia Ghorbel\*1, Rania Ghorbel1, Chahnez Triki2, Monjia Hachicha3, Leila Ammar-Keskes1, Faiza Fakhfakh1.

1 : Laboratoire de Génétique Moléculaire Humaine, Faculté de Médecine de Sfax, Université de Sfax, Tunisia.

2 : Service de Neuropédiatrie CHU Hédi Chaker, Sfax, Tunisia.

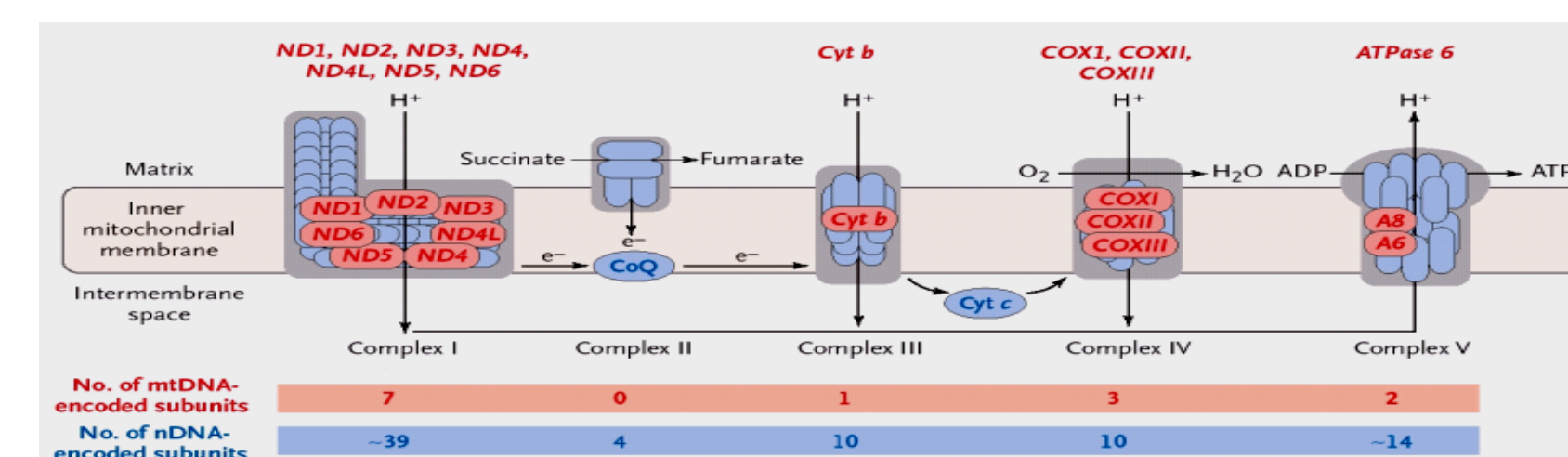
3 : Service de Pédiatrie CHU Hédi Chaker, Sfax, Tunisia.

## INTRODUCTION

Les myopathies mitochondriales résultent d'un dysfonctionnement du métabolisme énergétique mitochondrial touchant en particulier les complexes de la chaîne respiratoire mitochondriale.

La chaîne respiratoire mitochondriale est composée de 5 complexes enzymatiques multi protéiques d'origine nucléaire et mitochondriale dont les sous unités peuvent être codées par des gènes mitochondriaux et/ou nucléaires. En effet, on distingue 37 gènes mitochondriaux dont 22 gènes codant pour les ARNt nécessaires à l'expression de l'ADN mit, 2 gènes codant pour les ARNr (12S et 16S) et 13 gènes codant pour les polypeptides mitochondriaux (NADH déshydrogénase, cytochrome c oxydase, ATP synthase, cytochrome b) essentiels pour la phosphorylation oxydative.

Le double origine génétique mitochondriale et nucléaire des protéines de la chaîne respiratoire renforcent l'hétérogénéité de ce groupe d'affections. En effet, des mutations dans des gènes mitochondriaux ou dans des gènes nucléaires qui codent des protéines mitochondriales ont été associées aux maladies mitochondriales.



La chaîne respiratoire mitochondriale

## OBJECTIFS

L'objectif de ce travail est de chercher des mutations et/ou des polymorphismes au niveau des deux gènes candidats mitochondriaux codant les *ARNt<sup>Glu</sup>* et *ARNt<sup>Leu</sup>* chez cinq patients atteints de myopathies mitochondriales dans la population tunisienne.

## PATIENTS ET METHODES

### ➤ Patients

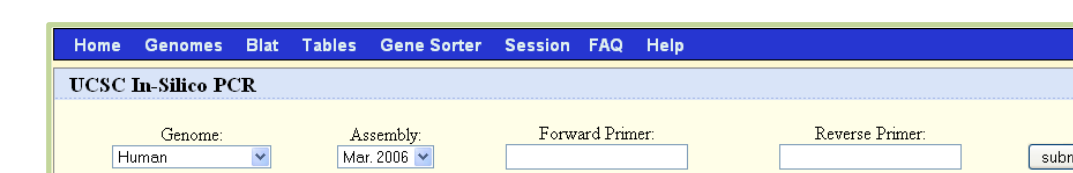
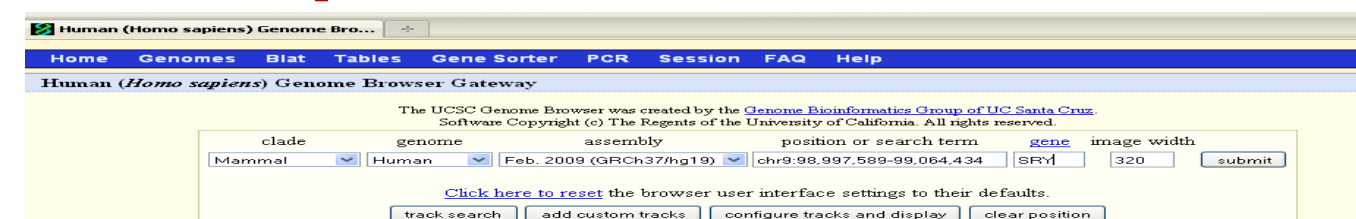
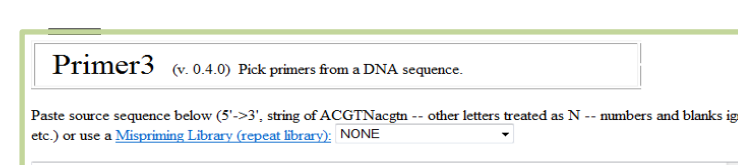
Notre étude de recherche des mutations et/ou polymorphismes a porté sur cinq patients atteints de myopathies mitochondriales.

### ➤ Méthodes

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

### ➤ Outils bioinformatiques

#### Choix des amorces :



Séquençage automatique : BigDye terminator Cycle Sequencing Ready Reaction Kit (ABI PRISM/Biosystems).

Alignements et comparaison des séquences : ClustelW

## RESULTATS ET DISCUSSION

### I- Identification des polymorphismes au niveau du gène *MT-CYB*

- Le séquençage du gène codant l'*ARNt<sup>Glu</sup>* avec les séquences flanquantes couvrant une région du gène du cytochrome b (*MT-CYB*) et une autre du gène *ND6* ont montré la présence d'une transition connue C14766T (m.14766 C>T) au niveau du gène *MT-CYB* chez cinq patients. Cette transition entraîne une substitution de l'acide aminé Thréonine en Isoleucine au niveau de la position 7 (p.T7I) de la protéine cytochrome b (Fig1, a)).

- De plus, une transition connue A14769G (m.14769 A>G) a été détectée au niveau du gène *MT-CYB* chez le patient 3. Ce polymorphisme entraîne la substitution de l'acide aminé Asparagine en Sérine au niveau de la position 8 de la protéine cytochrome b (p.N8S) (Fig1, b)).

- Aussi, un autre polymorphisme connu T14783C (m.14783 T>C) a été révélé dans le gène *MT-CYB* chez les deux patients 2 et 4. Cette transition ne provoque pas un changement au niveau de la séquence des acides aminés à la position 13 de la protéine (p.L13L)(Fig1, c)).

- L'alignement de la séquence en acide aminée de la protéine cytochrome b chez plusieurs espèces a montré que les deux transitions p.T7I et p.N8S sont situées dans une région assez conservée (Fig2).

Patient	MTPMRKISPLMKLINHSF
Homo sapiens	MTPMRKTNPLMKLINHSF
Pongo abeii	MTSTRKTNPLMKLINHS-
Gorilla gorilla	MTPIRKTNPLAKLINHSF
Canis familiaris	MTNIRKTHPLAKIVNNSF
Bos taurus	MTNIRKSHPLMKIVNNAF
Danio rerio	MTSLRKTHPLVKIAN---
Mus musculus	MTNMRKTHPLFKIINHSF
Macaca mulatta	MTPMRKSNPILKMINRSF
Saccharomyces cerevisiae	--PKQR-NPF SKLLN---
drosophila melanogaster	---KTNEPCLLKLIRH---

p.T7I p.N8S

Fig2: Alignement multiple de la séquence en aa du cytochrome b chez plusieurs espèces révèle la conservation des deux acides aminés T7 et N8.

Tableau récapitulatif des changements nucléotidiques identifiés dans le gène *MT-CYB* chez les 5 patients étudiés (+ :présence ; - : absence)

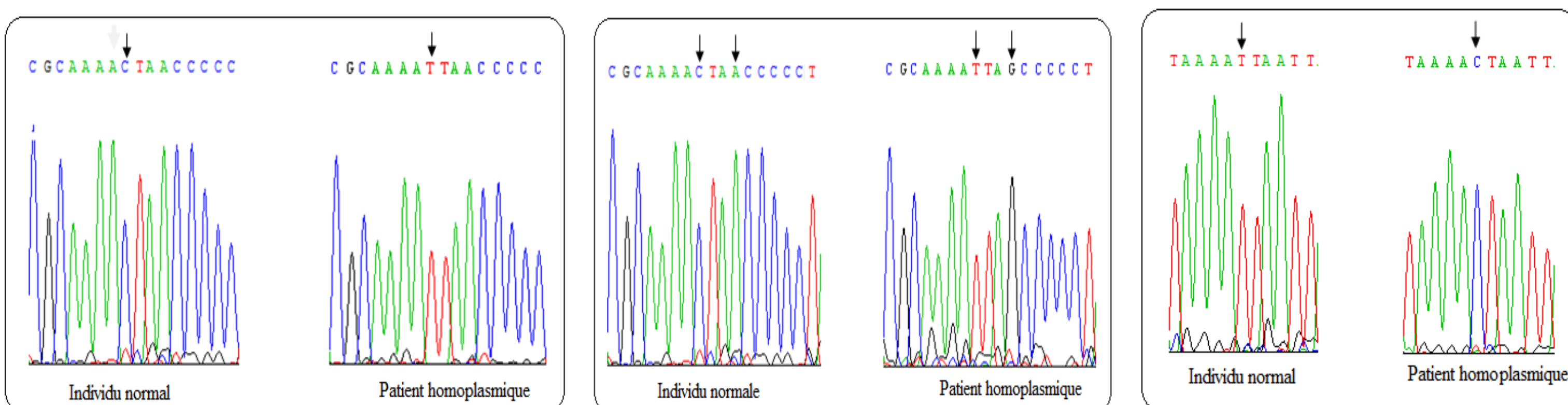
	Patient 1	Patient 2	Patient 3	Patient 4	Patient 5
m.14766 T>C	+	+	+	+	+
m.14769A>G	-	-	+	-	-
m.14783 T>C	-	+	-	+	-

### II-Recherche de mutations et/ou polymorphismes dans les gènes codant l'*ARNt<sup>Glu</sup>* et l'*ARNt<sup>Leu</sup>*

- Le séquençage du gène codant l'*ARNt<sup>Leu</sup>* avec les séquences couvrant une partie du gène de l'*ARNr16s* et une autre du gène *ND1* ainsi que le gène codant l'*ARNt<sup>Glu</sup>* n'a montré aucun changement nucléotidique chez les patients étudiés.

## CONCLUSION

Cette étude a permis d'identifier trois changements nucléotidiques décrits au niveau du gène mitochondrial *MT-CYB* chez cinq patients tunisiens atteints de myopathies mitochondriales.



a) C14766T (p.T7I)

b) A14769G (p.N8S)

c) T14783C (p.L13L)

Fig1: Électrophorégrammes montrant les 3 polymorphismes connus C14766T.(a), A14769G (b), T14783C (c)