

# Etude moléculaire des sous unités des complexes I et III de la chaîne respiratoire mitochondriale dans la myopathie mitochondriale.

**Raouia Ghorbel\*1-2, Rania Ghorbel1-2, Chahnez Triki3, Monjia Hachicha4, Leila Ammar-Keskes1, Faiza Fakhfakh2.**

**1 :** Laboratoire de Génétique Moléculaire Humaine, Faculté de Médecine de Sfax, Université de Sfax, Tunisia.  
**2 :** Laboratoire de Génétique Moléculaire et Fonctionnelle, Faculté des Sciences de Sfax, Université de Sfax, Tunisia  
**3:** Service de Neuropédiatrie CHU Hédi Chaker, Sfax, Tunisia.  
**4 :** 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.

## MATERIELS ET METHODES

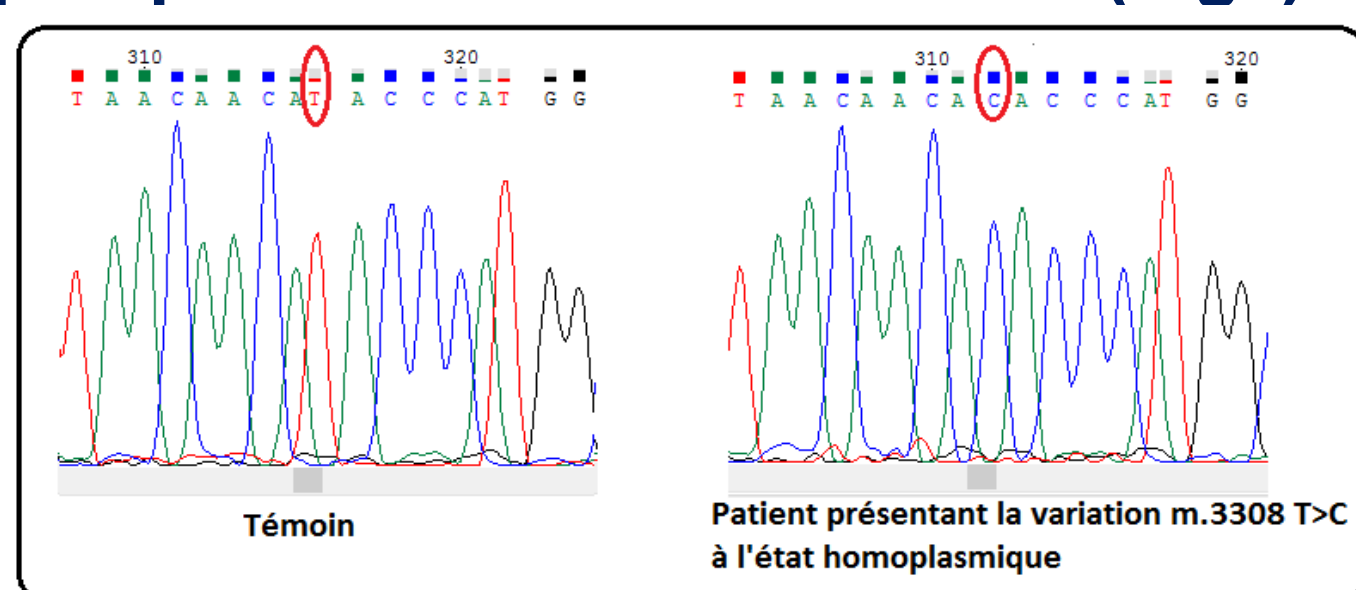
- Extraction de l'ADN génomique
- Séquençage automatique des gènes mitochondriaux *MT-ND1* et *MT-CYB*
- Prédiction bioinformatique

## RESULTATS ET DISCUSSION

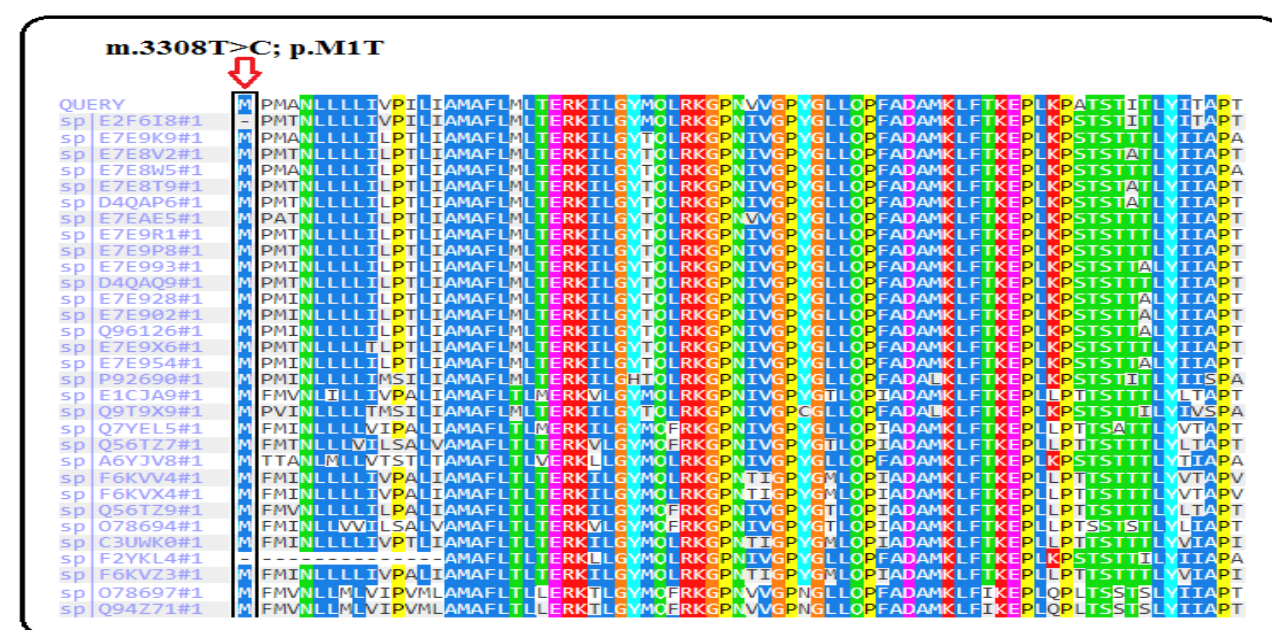
### I- Identification de la mutation T3308C au niveau du gène *MT-ND1*

-Le séquençage du gène *MT-ND1* a révélé la transition connue T3308C à l'état homoplasmique chez le patient étudié, entraînant la substitution de la Méthionine en Thréonine en position 1 de la protéine ND1 : la sous-unité 1 du complexe I de la chaîne respiratoire mitochondriale (Fig1).

-L'alignement des séquences peptidiques de ND1 chez différentes espèces a montré que la Méthionine en position 1 est hautement conservée. Ce résidu appartient au domaine hydrophobe assurant l'ancrage de ND1 dans la membrane lipidique interne mitochondriale (Fig2).



**Fig1:** Electrophorégrammes montrant la variation T3308C identifiée dans le gène mitochondrial *MT-ND1*.

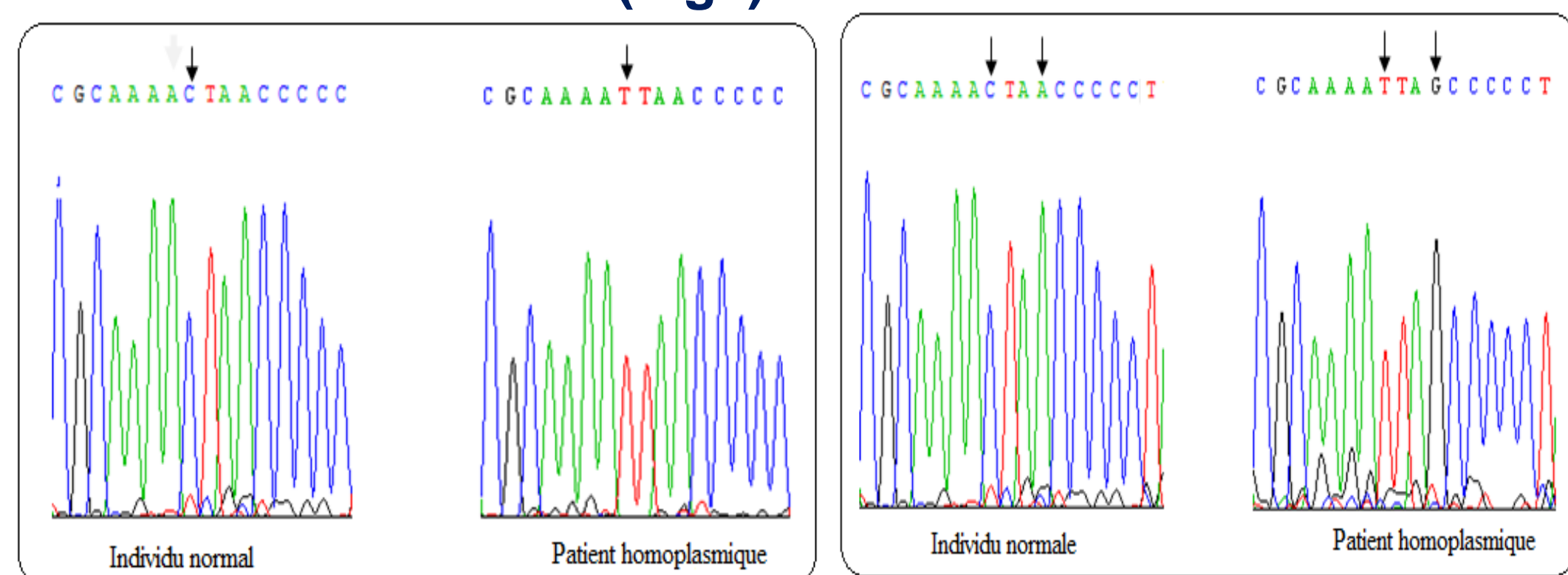


**Fig2:** Alignement multiple de la séquence en acides aminés de la protéine ND1 chez plusieurs espèces.

-La prédiction de l'effet de la variation en acide aminé (p.M1T) sur la structure secondaire de la sous unité ND1 via le logiciel "Protter" a montré que cette substitution n'entraîne pas de changement au niveau de la structure secondaire de la protéine ND1 (Fig5).

### II- Identification de deux polymorphismes au niveau du gène *MT-CYB*

-Deux transitions connues C14766T et A14769G ont été identifiées dans le gène *MT-CYB*, codant pour le cytochrome b (MTCYB) qui constitue la seule sous-unité mitochondriale du complexe III de la chaîne respiratoire, à l'état homoplasmique.  
-C14766T entraîne la substitution du résidu Thréonine en Isoleucine en position 7 (p.T7I) et A14769G engendre la substitution de l'Asparagine en Sérine en position 8 de MTCYB (p.N8S) (Fig7). L'alignement des séquences peptidiques de MTCYB chez différentes espèces a montré que la Thréonine en position 7 et l'Asparagine en position 8 sont assez conservées (Fig8).



**a) C14766T (p.T7I)**

**b) A14769G (p.N8S)**

**Fig7:** Électrophorégrammes montrant les 2 polymorphismes connus C14766T.(a), A14769G (b).

Patient  
Homo sapiens  
Pongo abei  
Gorilla gorilla  
Canis familiaris  
Bos taurus  
Danio rerio  
Mus musculus  
Macaca mulatta  
Saccharomyces cerevisiae  
Drosophila melanogaster

MTFMRKISPLMKLINHSF  
MTFMRKINPLMKLINHSF  
MTSTRKTNPLMKLINHSF  
MTPIRKTNPLMKLINHSF  
MTNIRKTHPLKIVNHSF  
MTNIRKSHPLMKIVNNAF  
MTSLRKTHPLVKIAN--  
MTNMRKTHPLFKIINHSF  
MTFMRKSNPLKMINRSF  
--PKQR--NPFSLKLN--  
---KTNECLLKLIRH--

p.T7I p.N8S

**Fig8:** Alignement multiple de la séquence peptidique de MTCYB chez plusieurs espèces révèle la conservation des deux acides aminés T7 et N8.

## CONCLUSION

Les variations identifiées p.M1T, au niveau du gène *MT-ND1*, p.T7I et p.N8S, dans le gène *MT-CYB*, pourraient altérer la flexibilité des structures des protéines ND1 et MTCYB, ce qui pourrait engendrer une myopathie mitochondriale.

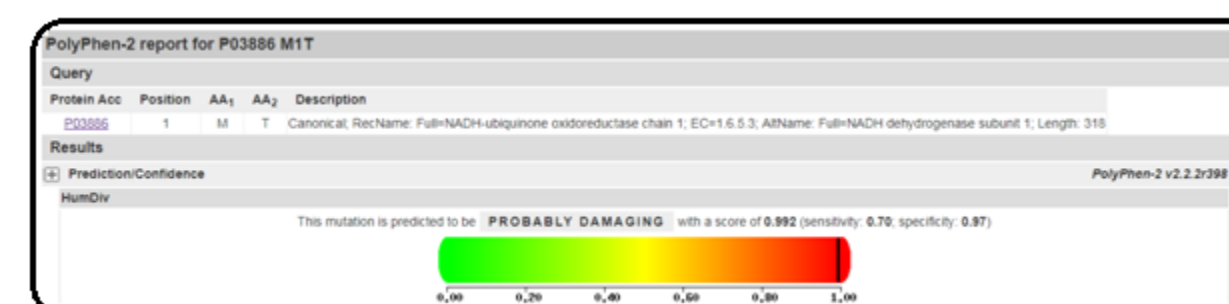
On distingue 37 gènes mitochondriaux dont 22 gènes codant pour les ARNt nécessaires à l'expression de l'ADNmt, 2 gènes codant pour les ARNr (12S et 16S) et 13 gènes codant pour les polypeptides mitochondriaux ([NADH déshydrogénase](#), [cytochrome c oxydase](#), [ATP synthase](#), [cytochrome b](#)) essentiels pour la phosphorylation oxydative.

La double origine génétique mitochondriale et nucléaire des protéines de la chaîne respiratoire renforcent l'hétérogénéité de ce groupe d'affections. Des mutations dans des gènes mitochondriaux ou nucléaires codant des protéines mitochondriales ont été associées aux maladies mitochondriales.

## OBJECTIFS

Etude moléculaire des gènes mitochondriaux *MT-ND1* et *MT-CYB* chez un patient atteint de myopathie mitochondriale issu de la population tunisienne.

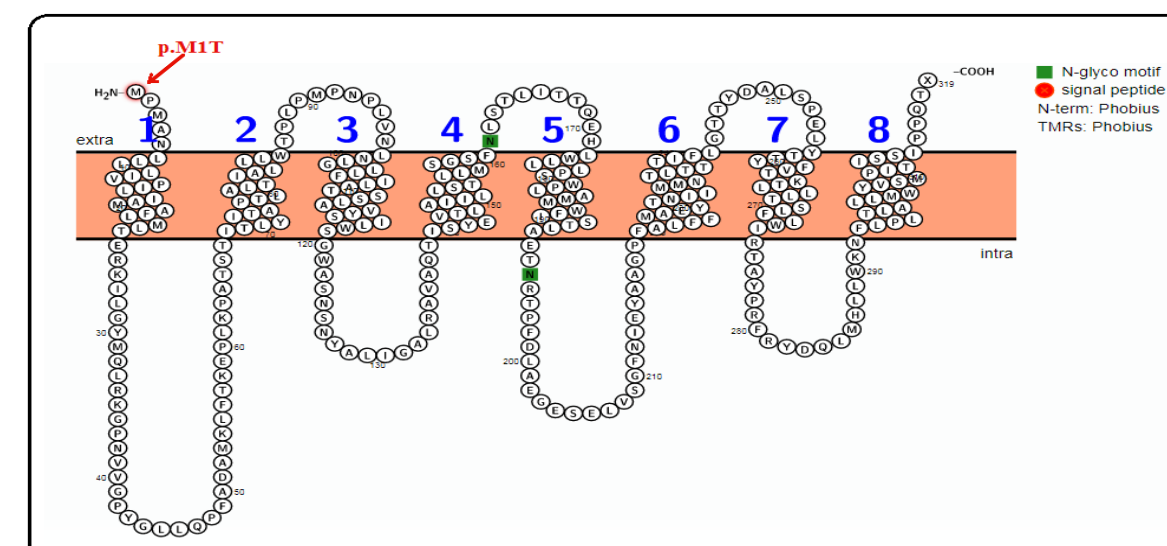
-La prédiction bioinformatique de l'effet fonctionnel de la variation T3308C (p.M1T) sur la protéine ND1 moyennant le logiciel PolyPhen-2 a montré que p.M1T altère probablement la protéine ND1 avec un score très significatif de 1 (Fig3). Cette estimation de l'effet fonctionnel de la variation p.M1T a été confirmée par le programme PANTHER (Fig4).



substitution	preservation time	Message
M1T	4200	probably damaging

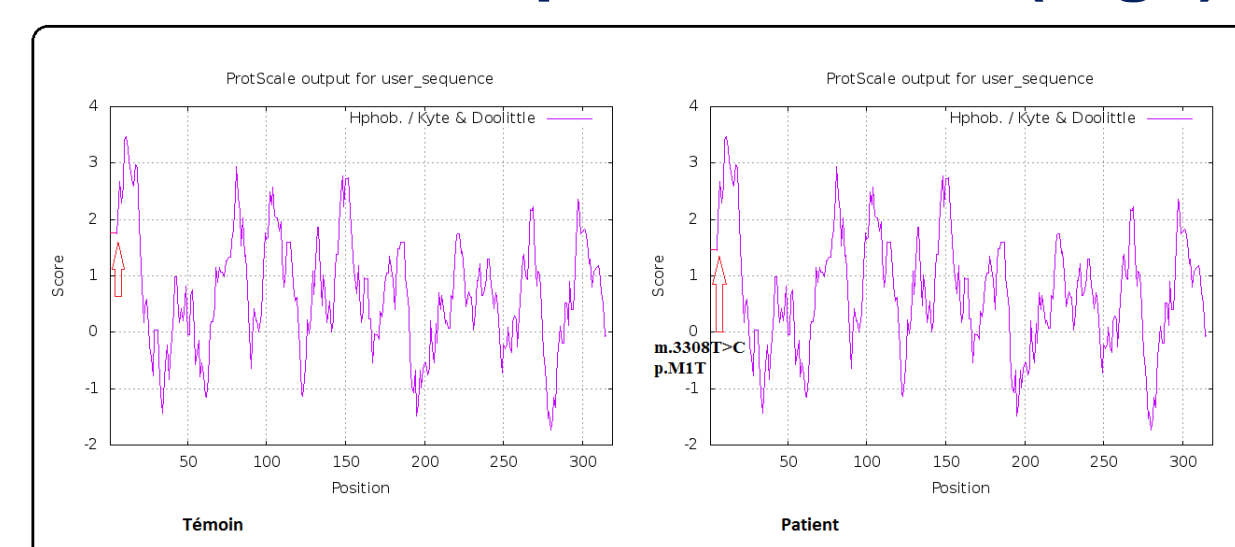
**Fig3:** Prédiction de l'effet fonctionnel de la variation T3308C (p.M1T) sur la protéine ND1 via le logiciel PolyPhen-2

**Fig4:** Estimation de l'effet fonctionnel de la variation T3308C (p.M1T) sur la protéine ND1 via le logiciel PANTHER.



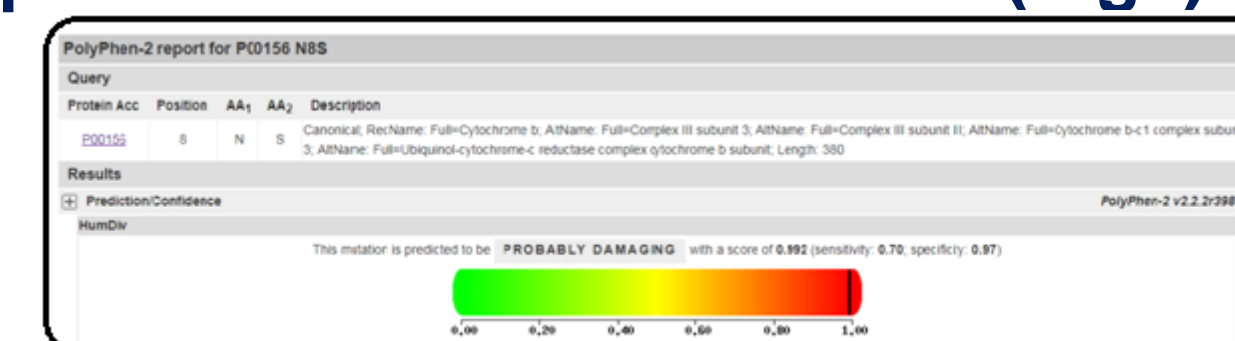
**Fig5:** Prédiction de la structure secondaire de la protéine ND1 en présence de la variation p.M1T par le logiciel Protter.

-La prédiction du taux d'hydrophobicité de la sous unité ND1 en présence de la substitution p.M1T moyennant le logiciel ExPaSy a révélé la diminution du niveau d'hydrophobicité de 1,8 à 1,4, ce qui pourrait altérer la flexibilité de la structure de la protéine ND1 (Fig6).



**Fig6:** Profil d'hydropathie de la protéine ND1 en présence de la variation p.M1T par le logiciel ExPaSy.

-La prédiction de l'effet de la variation p.N8S sur la protéine MTCYB par le logiciel polyphen a révélé que ce changement protéique altère probablement la protéine avec un score de 1 (Fig9)

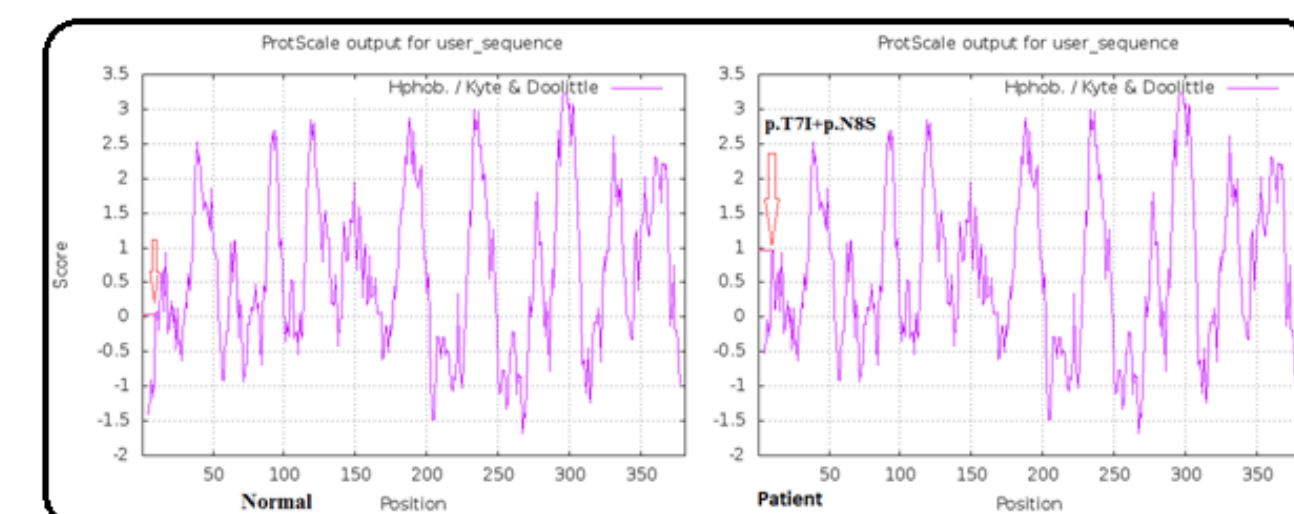
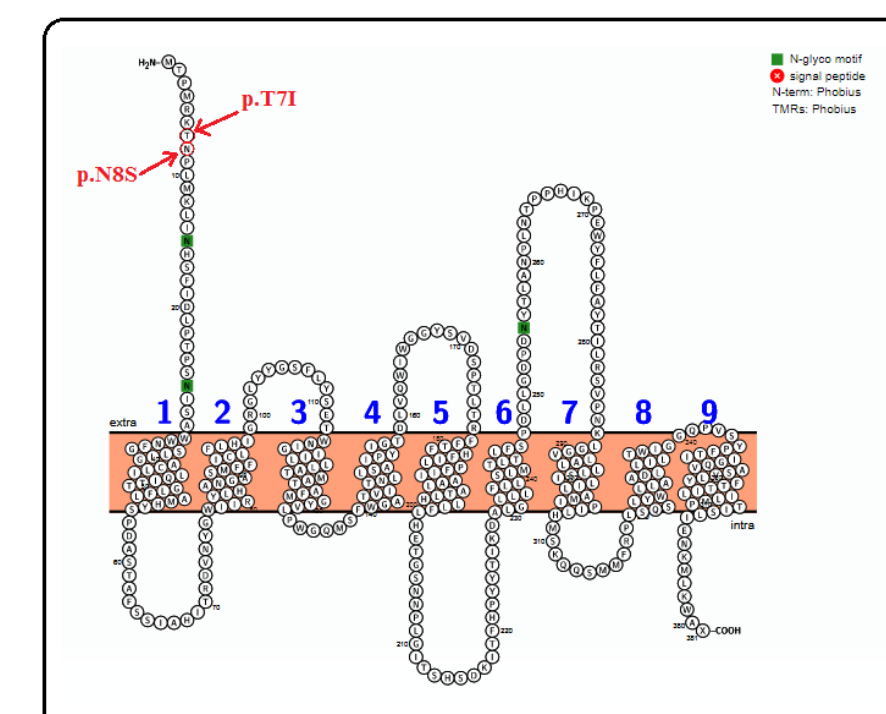


**Fig9:** Prédiction de l'effet fonctionnel de la variation N8S sur la protéine MTCYB par le logiciel PolyPhen-2.

-La prédiction de l'effet des variations p.T7I et p.N8S sur la structure secondaire de MTCYB via le logiciel "Protter" a montré qu'il n'entraînerait pas de changement au niveau de la structure II de MTCYB (Fig10).

-Le logiciel ExPaSy a révélé que la coexistence des deux variations p.T7I et p.N8S engendre une hydrophobicité plus élevée de 0,05 à 0,94 (Fig11).

**Fig10:** Prédiction de la structure II de MTCYB avec la coexistence des variations p.T7I et p.N8S par le logiciel Protter.



**Fig11:** Profil d'hydropathie de la protéine MTCYB avec la coexistence des p.T7I et p.N8S par le logiciel ExPaSy.