

A novel mutation MT-COIII m.9267G>C and MT-COI m.5913G>A mutation in mitochondrial genes in a Tunisian family with maternally inherited diabetes and deafness (MIDD) associated with sever nephropathy

Mouna Tabebi¹, Emna Mkaouer-Rebai¹, Mouna Mnif², Fakhri Kallabi¹, Afif Ben Mahmoud¹, Wafa Ben Saad², Nadia Charfi²,

Leila Keskes-Ammar¹, Hassen Kamoun¹, Mohamed Abid², Faiza Fakhfakh¹

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

2. Service d'endocrinologie, C.H.U. Habib Bourguiba de Sfax, Tunisia



Introduction

Le diabète mitochondrial constitue une entité clinique de connaissance récente caractérisée par une transmission maternelle et une atteinte multiorgane associée aux troubles de l'audition, altérations de l'épithélium pigmentaire rétinien et même des troubles neurologiques. Les diabètes mitochondriaux sont causés génétiquement par des mutations et des délétions touchant aussi bien l'ADN mitochondrial que nucléaire. Dans la majorité des cas, le diabète mitochondrial est associé à la mutation A3243G dans le gène mitochondrial ARNt-Leu; en plus d'autres mutations dans l'ADN mitochondrial ont également été impliqués. Ces mutations sont situées dans différents gènes mitochondriaux tels que l'ARNt-Glu, l'ARNr 16S, le 12S ARNr et les gènes ND.

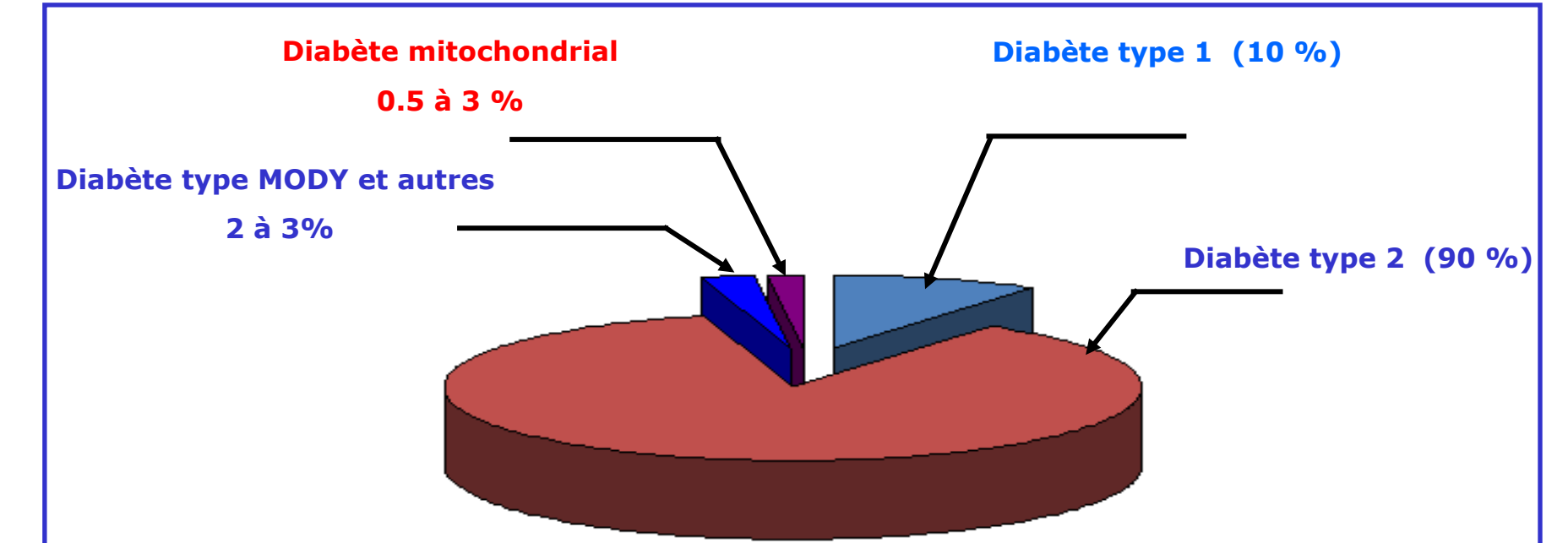


Figure1: Répartition des différents types de diabète dans le monde.

Méthodologie

1- Extraction d'ADN génomique

2- Séquençage automatique: tour du génome mitochondrial (ADNmt=16.5Kb)

Tableau1: Signes cliniques et les mutations mitochondriales caractéristiques détectées chez les membres de la famille étudiée

patients	Sexe	Age (ans)	Signes Cliniques				m.3243A>G	m.14706T>C	m.9267G>C	m.5913G>A
			DM	Surdité	HBP	Néphropathie				
I.1	F	57	+	+	+	-	-	+	+	
II.1	F	21	+	+	+	-	-	+	+	
II.3	F	27	+	+	+	-	-	+	+	
III.1	M	2	-	-	-	-	-	-	+	

3- Prédiction bioinformatique

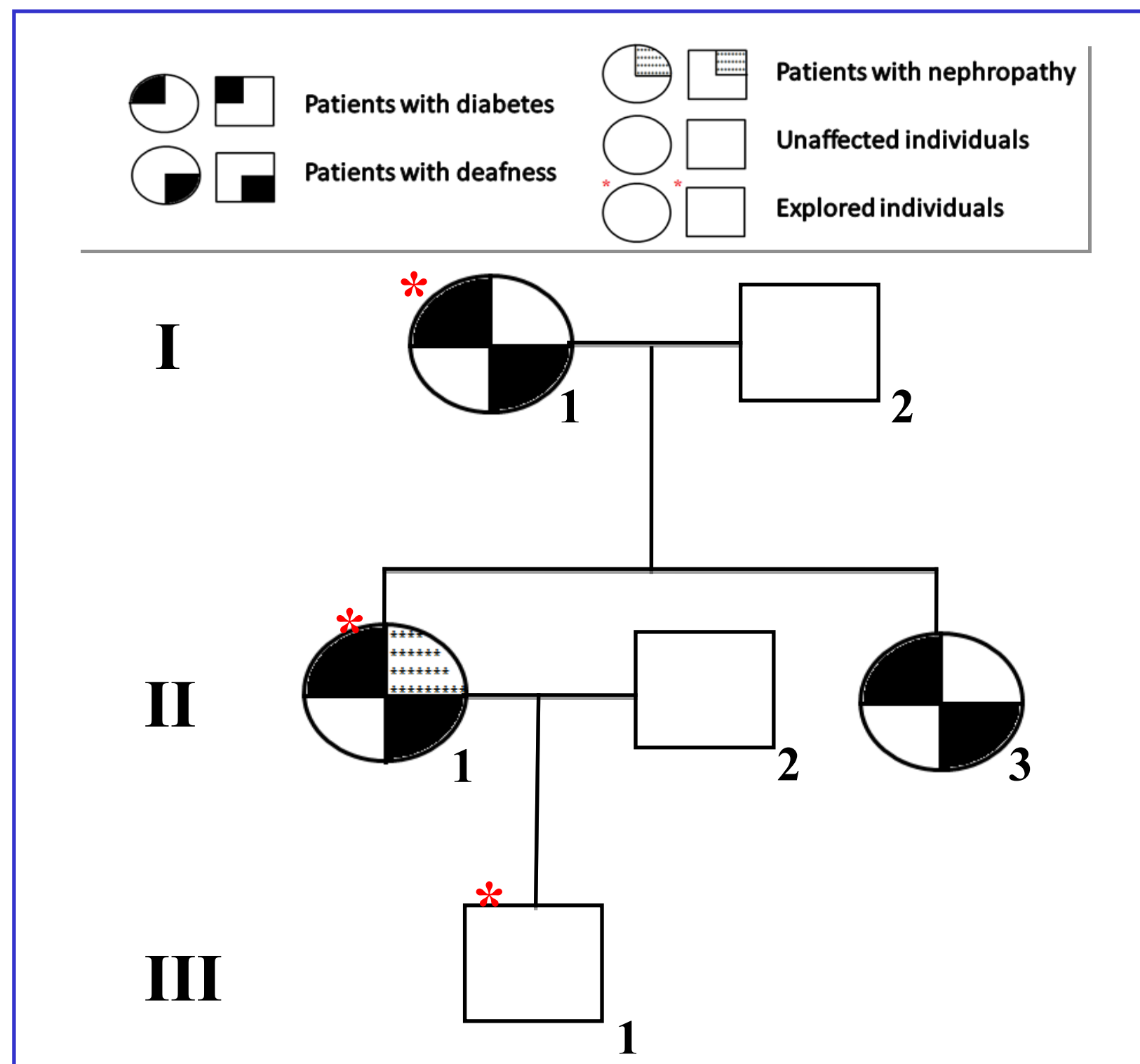


Figure2: Arbre généalogique de la famille étudiée avec le MIDD.

Etude moléculaire

1- Une nouvelle mutation mitochondriale située au niveau de la sous unité 3 du complexe IV (COX) de la chaîne respiratoire détectées chez 3 patients atteints de diabète mitochondrial appartenant à la même famille (Figure3).

2- La mutation MT-COIII m.9267G>C change l'acide aminé Ala à la position 21 en Pro, qui n'est pas conservé entre les espèces (Figures 4B) → Réduction de l'hydrophobicité de la protéine de 1.89 à 1.80 (UA).

3- La prédiction par le PolyPhen2 montre qu'il s'agit d'une mutation non sens délétère et peut détruire la structure protéique de la protéine COX3 (Figure 5).

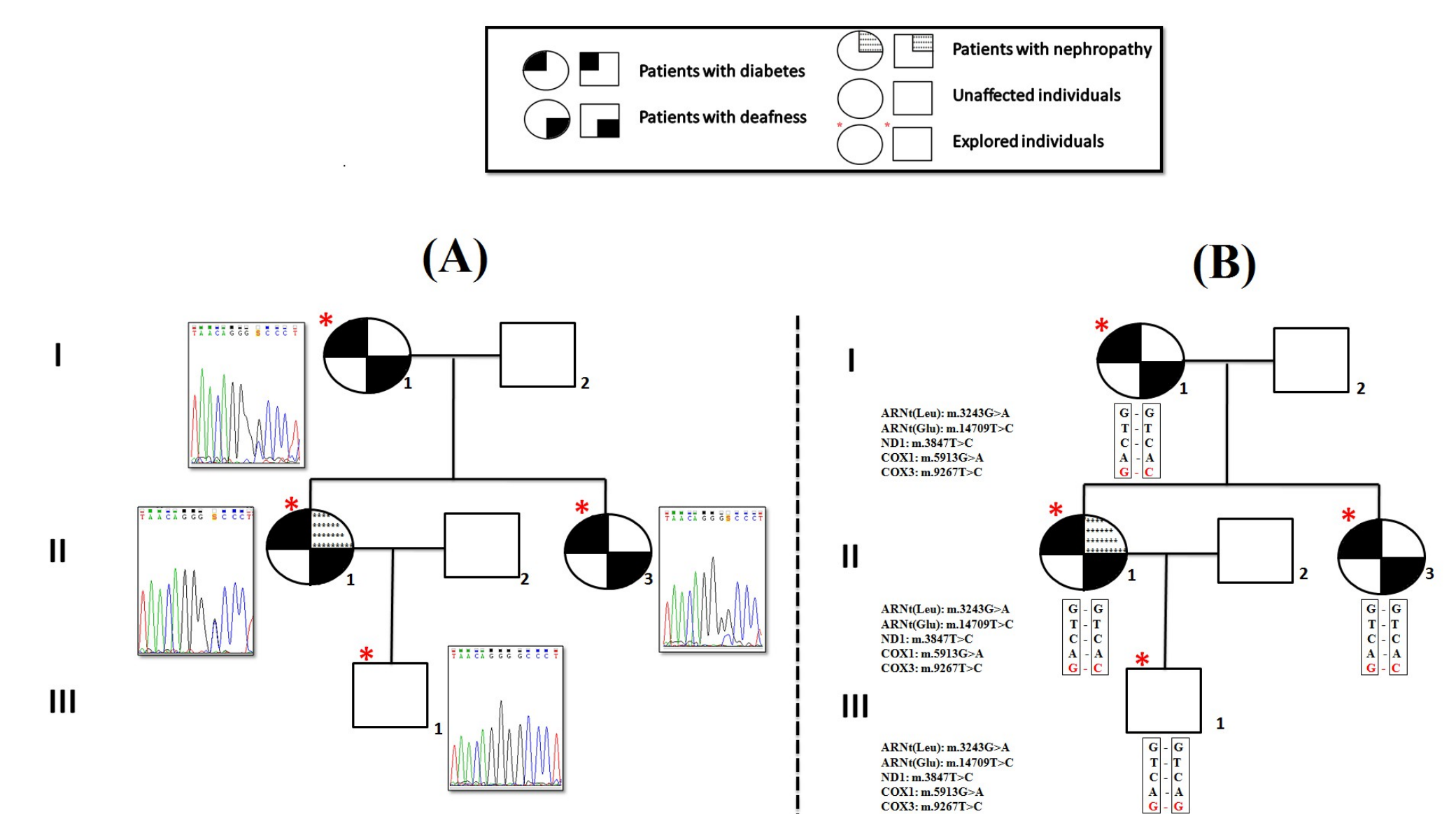


Figure3: (A) Arbre généalogique de la famille étudiée avec le MIDD présentant la nouvelle mutation MT-COIII m.9267G>C. (B) Arbre généalogique de la famille étudiée montrant la ségrégation d'un haplotype caractéristique et de la mutation m.9267G>C chez les membres atteints: I.1, II.1 et II.3.

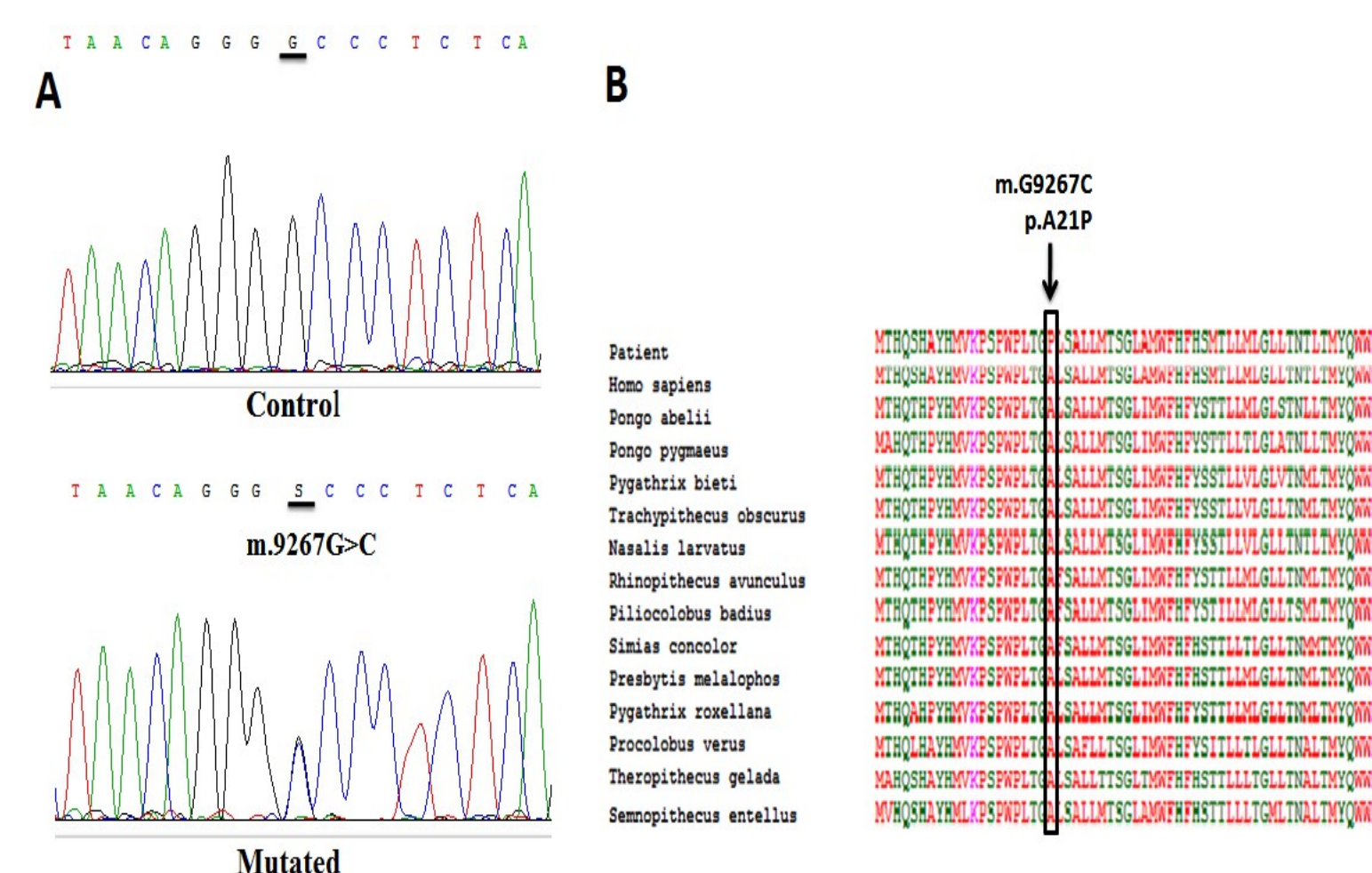


Figure4: (A) Le chromatogramme de la transversion hétéroplasmique m.9267G>C dans le gène MT-CO3 chez un patient comparée à un témoin. (B) L'alignement de la séquence de la protéine COXIII chez différentes espèces par le programme Clustal W montrant la conservation du résidu alanine en position 21.

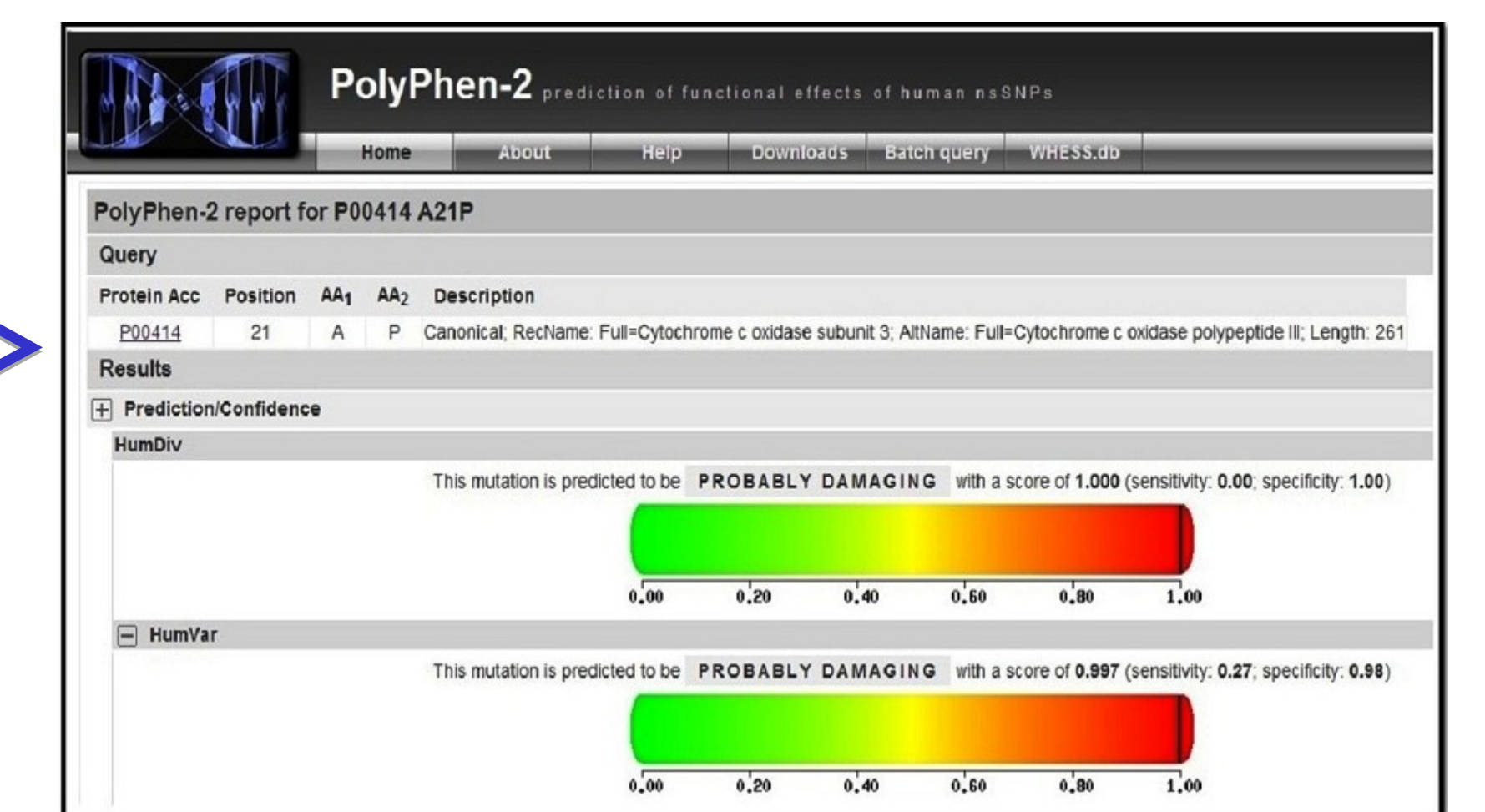


Figure5: L'impact possible de la substitution de A21P sur la structure de la protéine MT-COIII trois dimensions par le logiciel de prédiction PolyPhen.

6- Le séquençage direct a révélé la présence de 26 substitutions connues déjà rapportées dans la base de données mitochondriale, en particulier la mutation MT-COXI m.5913G>A (responsable de l'augmentation de la pression artérielle):

-L'association entre m.5913G>A et m.9267G>C affecte l'interaction entre les deux sous unités COXI et COXIII qui peut altérer l'assemblage des sous unités du complexe COX et éventuellement le transport des électrons.

-Par la suite, une modification dans l'expression et dans la génération de l'enzyme et donc l'activité du complexe correspondant

7- En se basant sur les données cliniques, nous suggérons que la nouvelle mutation m.9267G>C (p.A21P) a un impact majeur sur le phénotype observé chez cette famille (diabète mitochondrial et surdité « MIDD »).

-Cependant, cette mutation touchant la sous unité COXIII peut être en association avec l'insuffisance rénale chronique sévère observé seulement chez la patiente (II.1) et on peut expliquer la présence de ce nouveau phénotype par l'augmentation du taux d'hétéroplasmie par rapport aux autres patients atteints seulement de MIDD.

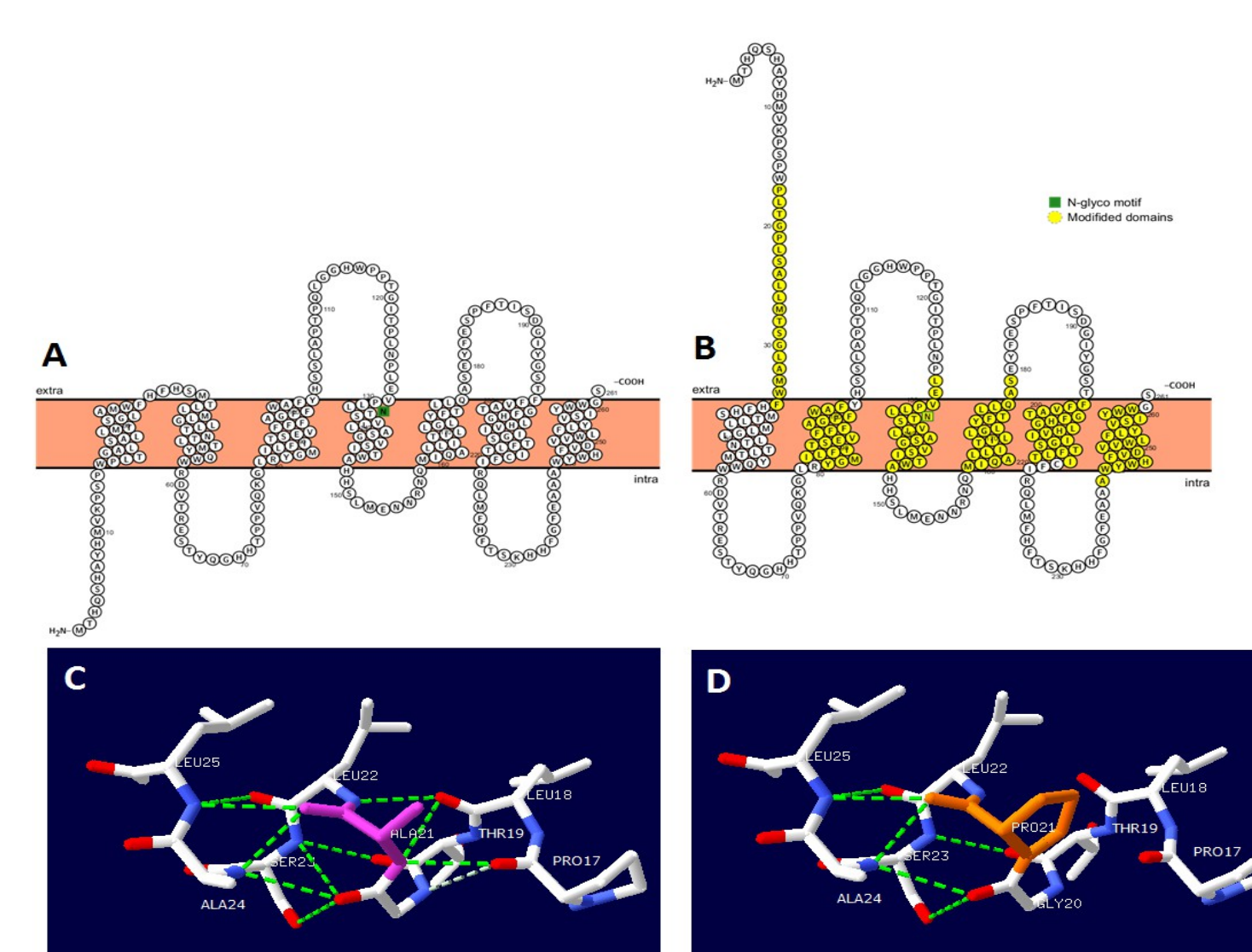


Figure6: prédiction de la structure transmembrannaire de la protéine sauvage MT-COXIII (A) et en présence de la nouvelle mutation m.9267G>C (B) par le programme Protter. Génération du modèle 3D de la protéine COXIII: (C) Modèle sauvage (21A) et (D) modèle muté (21P).

4- La construction de la structure 2D de la protéine montre la réduction de nombre de domaine de 1 (6 domaines au lieu de 7) et la région N terminale est devenue extracellulaire (Figure 6A et 6B). L'indice d'instabilité est réduite de 22.93 à 23.29 et la protéine devient moins stable.

5- La construction la structure 3D (Figures 6C et 6D) montre qu'il s'agit d'une déviation dans la structure de la protéine mutante par rapport à la normale avec une valeur de RMS (2.20 Å). Dans le modèle de la protéine mutante il y a absence de 4 liaisons hydrogènes P17-G20, P17-P21, L18-P21 et L18-L22.

Conclusion

- Notre étude a rapporté une nouvelle mutation hétéroplasmique MT-COIII m.9267G>C (p.A21P) chez une famille Tunisienne avec une histoire familiale de diabète et de surdité (MIDD).
- Cette mutation peut être aussi responsable de la néphropathie sévère détectée chez la patiente (II.1).
- p.A21P touche la structure 2D et 3D de la protéine COXIII., la fonctionnalité et l'activité de la chaîne respiratoire OXPHOS (assemblage des sous unités et le transport des électrons).