

## **Élimination in vivo d'un exon constitutif (exon skipping) induite par une mutation non-sens**

Le gène de la maladie de Marfan a été localisé sur le bras long du chromosome 15 en 15q21-1 ; un gène candidat a été soupçonné puis confirmé, celui de la fibrilline, une glycoprotéine de 350 kDa, composante des microfibrilles extracellulaires et découverte en 1986 (*m/s* n° 10, vol. 6, p. 1018). La maladie de Marfan comporte des manifestations oculaires, squelettiques et cardio-vasculaires. Le gène de la fibrilline est encore incomplètement connu, mais 7 à 10 kb de son ADNc ont été clonés. Deux notions clinico-biologiques ont émergé des premiers travaux [1] : la lésion moléculaire est hétérogène, plusieurs mutations ponctuelles ont été décrites ; une même lésion moléculaire peut avoir des conséquences cliniques variables, et même certains sujets porteurs de la mutation peuvent n'avoir aucun symptôme. Une équipe de Baltimore (MD, USA) [2] a analysé le gène de la fibrilline (FBN1) chez un malade dont un allèle du messenger portait une délétion de 66 bases aboutissant à l'élimination d'un exon entier sans changement du cadre de lecture. Les séquences consensus aux bornes de l'exon étaient intactes, et la seule anomalie trouvée sur l'ADN génomique était une transversion T → G, en position 26 de l'exon éliminé, correspondant au codon 1215 de la fibrilline, normalement une tyrosine ; il en résultait un triplet TAG de terminaison, qui aurait dû conduire à l'interruption de la traduction.

Cette observation incita les auteurs à rechercher d'autres exemples du même type. Ils analysèrent notamment les transcrits provenant de deux malades atteints d'une affection rétinienne, l'atrophie gyriée ; celle-ci est due au déficit en l'enzyme ornithine aminotransférase (OAT), une enzyme mitochondriale codée par le noyau. Ces deux malades présentaient dans leur

ADN une mutation non-sens, différente dans les deux cas. L'examen de leurs transcrits montra qu'ils étaient raccourcis, avec élimination de l'exon 6 pour l'un et de l'exon 8 pour l'autre, et que la synthèse protéique se poursuivait en phase au-delà. Cependant, comme il est habituel lors des mutations non-sens, la quantité du transcrit décelable était très diminuée chez les deux malades.

Ces résultats ont conduit les auteurs à poser la question de l'effet de mutations non-sens sur l'élimination d'un exon. La mutation d'une base dans un exon, à 8 pb de son extrémité 5', peut inhiber l'utilisation du site d'épissage adjacent et aboutir à l'excision d'un exon, mais il ne s'agit pas là de la présence d'un codon stop [3]. La disparition de l'exon 19 a été observée dans le transcrit de la dystrophine (dystrophine Kobé) [4]. Le mécanisme par lequel des mutations non-sens provoquent non la terminaison de la synthèse de la protéine, mais l'élimination d'un exon avec maintien éventuel du cadre de lecture, n'est actuellement qu'hypothétique. Une approche expérimentale récente [5] a pris comme modèle le MVM, un parvovirus de la souris ; il comporte deux transcrits, R1 et R2, ce dernier provenant de l'épissage du premier. L'introduction de codons de terminaison modifie l'épissage, et ce en fonction de la distance des mutations par rapport au site d'initiation. Il existe, par ailleurs, des exemples non pathologiques de régulation d'exons qui contiennent des codons stop. Ces exons subissent des épissages spécifiques de tissus (N-CAM) ou de stades de développement (décarboxylase de l'acide glutamique) [6, 7].

Si nous revenons à la fibrilline, Dietz *et al.* [2] font remarquer que les mutations ponctuelles du type faux-sens ne

provoquent pas d'anomalies d'épissage. Une remarque « anti-finaliste » pour finir : cet épissage provoque le sauvetage d'une partie de la protéine, qui, sans lui, n'aurait pas été viable du fait de sa terminaison prématurée. Ce sauvetage n'est pas bénéfique pour le malade : les molécules présentes, mais épissées anormalement, sont probablement pathogènes, expliquant la dominance de la maladie dans cette mutation apparue *de novo*.

J.-C. D.

1. Dietz HC, Pyeritz RE, Puffenberger EG, Kendzior RJ Jr, Corson GM, Maslen CL, Sakai LY, Francomano CA, Cutting GR. Marfan phenotype variability in a family segregating a missense mutation in the epidermal growth factor-like motif of the fibrillin gene. *J Clin Invest* 1992 ; 88 : 1674-80.
2. Dietz HC, Valle D, Francomano CA, Kendzior RJ, Pyeritz RE, Cutting GR. The skipping of constitutive exons *in vivo* induced by nonsense mutations. *Science* 1993 ; 259 : 680-3.
3. Wakamatsu N, Kobayashi H, Miyatake T, Tsuji S. A novel exon mutation in the  $\beta$ -hexosaminidase  $\beta$  subunit gene affects 3' splice site selection. *J Biol Chem* 1992 ; 267 : 2406-13.
4. Matsuo M, Masumura T, Nishio H, Nakajima T, Kitoh Y, Takumi T, Koga J, Nakamura H. Exon skipping during splicing of dystrophin mRNA precursor due to an intraxon deletion in the dystrophin gene of Duchenne muscular dystrophy Kobe. *J Clin Invest* 1991 ; 87 : 2127-31.
5. Naeger KL, Schoborg RV, Zhao Q, Tullis GE, Pintel DJ. Nonsense mutations inhibit splicing of MVM RNA *in cis* when they interrupt the reading frame of either exon of the final spliced product. *Genes Dev* 1992 ; 6 : 1107-19.
6. Gower HJ, Barton CH, Elsom VL, Thompson J, Moore SE, Dickson G, Walsh FS. Alternative splicing generates a secreted form of N-CAM in muscle and brain. *Cell* 1988 ; 55 : 955-64.
7. Bond RW, Wyborski RJ, Gottlieb DI. Developmentally regulated expression of an exon containing a stop codon in the gene for glutamic acid decarboxylase. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990 ; 87 : 8771-5.

S  
E  
V  
E  
R  
B