



**HAL**  
open science

## Caractérisation fonctionnelle de sept variations faux-sens dans le gène du récepteur sensible au calcium (CASR)

Andreea Apetrei, Nicolas Richard, J. Bachetta, Stéphane Allouche, Sandrine Lemoine, Laurence Dubourg, Mathilde Mauras, Danaé Dudognon, Caroline Bourjault, Paul Fontaine, et al.

### ► To cite this version:

Andreea Apetrei, Nicolas Richard, J. Bachetta, Stéphane Allouche, Sandrine Lemoine, et al.. Caractérisation fonctionnelle de sept variations faux-sens dans le gène du récepteur sensible au calcium (CASR). 11e édition des Assises de Génétique Humaine et Médicale, Feb 2022, Rennes, France. hal-03705480

**HAL Id: hal-03705480**

**<https://hal.science/hal-03705480>**

Submitted on 27 Jun 2022

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



# Caractérisation fonctionnelle de sept variations faux-sens dans le gène du récepteur sensible au calcium (CASR)

Apetrei A<sup>1</sup>, Richard N<sup>1</sup>, Bachetta J<sup>2</sup>, Allouche S<sup>3</sup>, Lemoine S<sup>4</sup>, Dubourg L<sup>4</sup>, Mauras M<sup>2</sup>, Dudognon D<sup>5</sup>, Bourjault C<sup>6</sup>, Fontaine P<sup>1</sup>, Resbret A<sup>1</sup>, Grosio A<sup>1</sup>, Nicolas G<sup>1</sup>, Molin A<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Génétique, CHU Caen, EA7450 BioTARGen; <sup>2</sup> Néphrologie pédiatrique, HCL; <sup>3</sup> Biochimie, CHU Caen; <sup>4</sup> Néphrologie, HCL; <sup>5</sup> Pédiatrie, CH Aulnay sur Bois; <sup>6</sup> Pédiatrie GH Bretagne Sud, Lorient

## Introduction

Le récepteur sensible au calcium (CaSR) est un RCPG qui régule l'homéostasie du calcium extracellulaire (Ca<sup>2+</sup>e), codé par le gène CASR. Cette régulation se fait par la mobilisation du calcium intracellulaire (Ca<sup>2+</sup>i) et la voie de signalisation MAPK. Les mutations du gène CASR entraînant une perte ou un gain de fonction mènent à l'hypercalcémie hypocalcémique familiale de type 1 (HHF1) ou à l'hypocalcémie autosomique dominante (HAD), respectivement.

## Matériel et méthodes

Étude fonctionnelle des variants faux-sens du gène CASR d'interprétation difficile identifiés chez des patients. Des cellules HEK293 ont été transfectées avec un plasmide CaSR sauvage, variant (mutagénèse dirigée) ou cotransfecté (les deux vecteurs). Les deux voies de signalisation principales du CaSR ont été étudiées en utilisant des plasmides rapporteurs :

- la mobilisation de Ca<sup>2+</sup>i : plasmide rapporteur NFAT
- activité de la voie MAPK : plasmide rapporteur SRE en réponse à la variation de la concentration de Ca<sup>2+</sup>e.

## Résultats

Analyse des sept variants identifiés dans sept familles avec présentation clinique variable (Tableau 1). La localisation des variants est dans le domaine extracellulaire, les derniers domaines transmembranaires et le domaine intracellulaire (Figure 1). Les études de l'effet des variants sur la fonction protéique montrent (Figure 2) :

- K29E : gain de fonction (\*variant déjà décrit)
- Y161C, C571Y, I826M, Y868D, N877D : perte de fonction
- A45E : absence d'effet.

Co-transfections : absence d'effet dominant négatif.

Famille (personnes atteintes)	Phénotype	Variant	
		Nucléotide	Protéine
A (2)	HAD	c.85A>G HTZ	p.(Lys29Glu) (K29E)
B (1)	Néphrolithiase	c.134C>A HTZ	p.(Ala45Glu) (A45E)
C (1)	HHF1	c.482A>G HTZ	p.(Tyr161Cys) (Y161C)
D (1)	HHF1	c.1712G>A HTZ	p.(Cys571Tyr) (C571Y)
E (3)	HHF1	c.2478C>G HTZ	p.(Ile826M) (I826M)
F (1)	HHF1	c.2602T>G HTZ	p.(Tyr868Asp) (Y868D)
G (1)	HHF1	c.2629A>G HTZ	p.(Asn877Asp) (N877D)

Tableau 1. Données cliniques et génétiques des familles étudiées. HAD = hypocalcémie autosomique dominante; HHF1 = hypercalcémie hypocalcémique familiale de type 1; HTZ = hétérozygote.

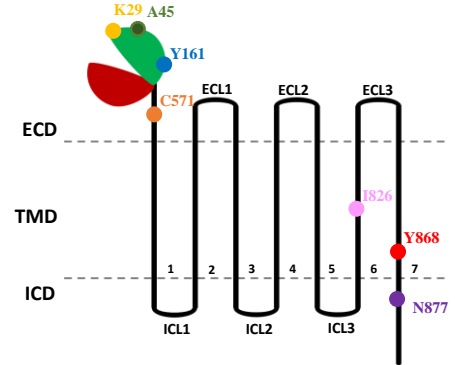
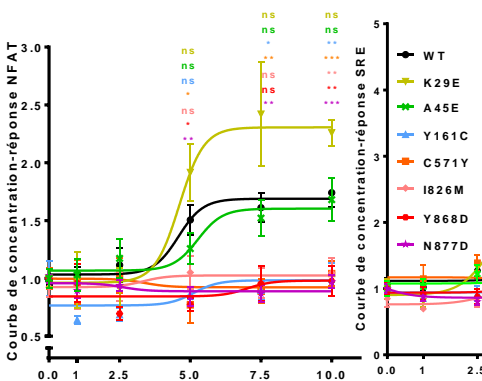


Figure 1. Schéma du monomère CaSR et localisation des variants. Présence du domaine extracellulaire (ECD), 7 hélices transmembranaires (TMD, 1-7), avec trois boucles extracellulaires (ECL1-3) et trois intracellulaires (ICL 1-3) et le domaine intracellulaire (ICD). La localisation des 7 résidus testés (K29, A45, Y161, C571, I826 et N877) est indiquée en jaune, vert, bleu, orange, rose, rouge et violet.

## Voie Ca<sup>2+</sup>i



## Voie MAPK

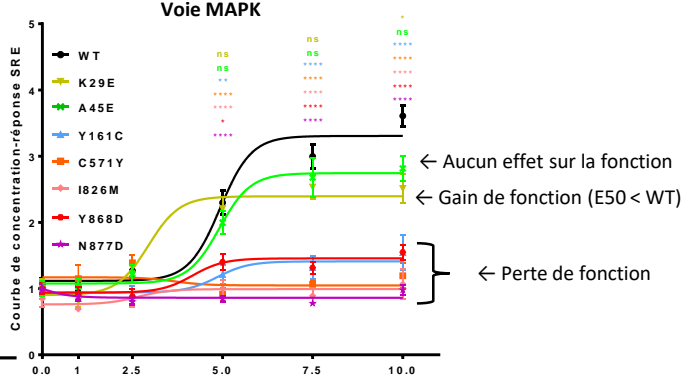


Figure 2. Effets des 7 variants sur la signalisation Ca<sup>2+</sup>i et MAPK. Courbe de concentration-réponse de la réponse du rapporteur NFAT-luciférase induite par Ca<sup>2+</sup>e. Analyses statistiques comparant CASR sauvage (WT = wild-type, vert) au variants K29E (jaune), A45E (vert), Y161C (bleu), C571Y (orange), I826M (rose), Y868D (rouge) et N877D (violet). Les réponses sont exprimées relatif à la réponse du WT avec la moyenne +/- l'écart-type de la moyenne des 3-12 répliques.

## Discussion et Conclusion

- Étude de 7 familles avec des situations cliniques variées.
- Protocole efficace pour détecter les mutations gain de fonction, perte de fonction et les polymorphismes.
- Importance des études fonctionnelles pour l'interprétation : 6/7 variants reclassés (Le variant K29E est connu pathogène, déjà étudié sur le plan fonctionnel, Hu et al, JBMR, 2004)
- Impact clinique : choix du traitement et du suivi, conseil génétique