

Mechanisms of Rare Diseases

(from genome structural alterations to functional consequences)

Stefan Dimitrov

Institute of Molecular Biology, Sofia/Institute of Advanced Biosciences, Grenoble

Rare diseases are said to be rare when they affect one person in 2,000, i.e. more than 3 million French people and at least 30 millions Europeans. There are 7-8,000 rare diseases identified to date and the vast majority is from unknown origin. More than 90% of rare diseases are without treatment. Rare diseases are a major threat for human health and understanding of the molecular etiology of rare diseases is of primary need.

Here, I will initially present shortly some of our data on the mechanism of Rett Syndrome (RS), a very severe neuro-developmental rare disease. The genetic cause of the disease was defined as loss of function of *methyl CpG binding protein 2* (MeCP2). Nevertheless, the precise mechanism of how loss of function of this protein causes this devastating disease was not very clear. In contrast to the existing dogma claiming that MeCP2 binds to CpG containing sequences, we observed that MeCP2 specifically recognizes and binds both *in vitro* and *in vivo* hydroxymethylated CA repeats. Moreover, we demonstrated a new function of MeCP2 as a long-range chromosome organiser, especially in chromatin domains associated with the nuclear lamina (LAD) which is the area at the inner face of the nuclear membrane. Therefore, MeCP2, previously described as transcriptional repressor, also organizes 3D chromatin architecture, and Rett Syndrome is, indeed, an epigenetic disease.

Next, I will describe a novel work flow for deciphering the molecular etiology of rare diseases and the application of this workflow on analyzing the Rahman Syndrome (RMNS) molecular origin. RMNS is a recently described developmental disorder caused by frameshift mutations in linker histone H1.4, that produce a truncated C-terminal domain (CTD) with reduced positive charge. We found that the mutation induces nucleosome arrays to adopt a more extended, flexible conformation exhibiting phase separation behavior similar to those lacking H1.4. Molecular dynamics simulations supported by FRET analysis indicate that the mutated CTD recognizes a shorter length of linker DNA, resulting in a more open nucleosome conformation. Correspondingly, the mutation substantially increases H1.4 mobility within cell nuclei. The combined data suggest that RS mutations alter gene expression during development by promoting a relaxed chromatin state. This suggestion was further supported by a series of experiments at genome-wide level by using a cohort of "omics" approaches including ATAC-seq, RNA-seq and ChIP.

Finally, I will briefly summarize the objectives and preliminary data on a new project focused on Very Early Onset of Inflammatory Bowel Diseases (VEO-IBD). The data point out to the identification of new variants operating in VEO-IBD.

References

1. Boopathi, R. et al, *submitted*
2. Ibrahim A. et al., *Science* 2021, Jun 25;372(6549) :eabd5581.
3. Garcia-Saez I. et al., *Mol. Cell*, 2018 Dec 6;72(5):902-915.e7.
4. Bednar J. et al. , *Mol Cell*, 2017, May 4;66(3):384-397.e8.

Механизми на редките болести

(от структурни промени в генома до функционални последици)

Проф. Стефан Димитров

Институт по молекулярна биология, София/Institute of Advanced Biosciences, Grenoble

Редките заболявания се считат за редки, когато засягат един човек на 2000, т.е. повече от 3 милиона Французи и поне 30 милиона европейци. Към днешна дата са идентифицирани 7-8 000 редки заболявания и огромното мнозинство е от неизвестен произход. Повече от 90% от редките заболявания са без лечение. Редките болести са основна заплаха за човешкото здраве и разбирането на молекулната етиология на редките заболявания е от първа необходимост.

Тук първоначално ще представя накратко някои от нашите данни за механизма на Синдрома на Рет (RS), много тежко рядко неврологично заболяване. Генетичната причина за заболяването се определя като загуба на функция на метил CpG свързващ протеин 2 (MeCP2). Независимо от това, точният механизъм за това как загубата на функция на този протеин причинява това опустошително заболяване не беше много ясен. За разлика от съществуващата догма, която твърди, че MeCP2 се свързва с CpG съдържащи последователности, ние наблюдавахме, че MeCP2 специфично разпознава и свързва както *in vitro*, така и *in vivo* хидроксиметилирани CA повтори. Освен това, ние демонстрирахме нова функция на MeCP2 като хромозомен организатор на дълги разстояния, особено в хроматиновите домейни, свързани с ядрената ламина (LAD), която е областта на вътрешната повърхност на ядрената мембрана. Следователно MeCP2, описан по-рано като транскрипционен репресор, също организира 3D хроматинова архитектура и синдромът на Rett наистина е епигенетично заболяване.

След това ще опиша нов работен подход за дешифриране на молекулярната етиология на редките заболявания и приложението на този работен процес при анализиране на молекулярния произход на синдрома на Рахман (RMNS). RMNS е наскоро описано нарушение на развитието, причинено от мутации на изместване на рамката в линкер хистон H1.4, които произвеждат пресечен C-терминален домен (CTD) с намален положителен заряд. Открихме, че мутацията индуцира нуклеозомните масиви да приемат по-разширена, гъвкава конформация, проявяваща поведение на разделяне на фазите, подобно на тези, при които липсва H1.4. Симулациите на молекулярната динамика, подкрепени от FRET анализ, показват, че мутиралата CTD разпознава по-къса дължина на линкерна ДНК, което води до по-отворена нуклеозомна конформация. Съответно, мутацията значително увеличава мобилността на H1.4 в клетъчните ядра. Комбинираните данни предполагат, че RS мутациите променят генната експресия по време на развитието чрез насърчаване на релаксирано състояние на хроматин. Това предположение беше допълнително подкрепено от серия от експерименти на ниво геном чрез използване на кохорта от "omics" подходи, включително ATAC-seq, RNA-seq и CHIP.

И накрая, ще обобща накратко целите и предварителните данни за нов проект, фокусиран върху много ранното начало на възпалителни заболявания на червата (VEO-IBD). Данните сочат към идентифицирането на нови варианти, работещи във VEO-IBD.

References

1. Voopathi, R. et al, submitted
2. Ibrahim A. et al., Science 2021, Jun 25;372(6549) :eabd5581.
3. Garcia-Saez I. et al., Mol. Cell, 2018 Dec 6;72(5):902-915.e7.
4. Bednar J. et al. , Mol Cell., 2017, May 4;66(3):384-397.e8.