

La duplication de la région *MECP2* est une cause fréquente de retardement mental grave et de symptômes neurologiques progressifs dans les mâles

Hilde Van Esch,^{1,*} Marijke Bauters,^{2,*} Jaakko Ignatius,³ Mieke Jansen,² Martine Raynaud,⁴ Karen Hollanders,² Dorien Lugtenberg,⁵ Thierry Bienvenu,⁶ Lars Riff Jensen,⁷ Jozef Gecz,^{8,9} Claude Moraine,⁴ Peter Marynen,² Jean-Pierre Fryns,¹ et Guy Froyen²

¹centre pour la génétique humaine, université de l'hôpital Gasthuisberg, et le laboratoire de génome ^{de} 2 humains, centre pour la génétique humaine, institut de la Flandre Interuniversity pour la biotechnologie, Leuven, Belgique; ³département de la génétique clinique, d'hôpital d'université d'Oulu et d'université d'Oulu, Oulu, Finlande; ⁴centre Hospitalier Universitaire de Tours, Service de Génétique, excursions, France; ⁵département de la génétique humaine, centre médical d'université, Nimègue, les Pays Bas; ⁶Université Paris-Descartes, Faculté de Médecine, INSERM, Centre National de la Recherche Scientifique, Institut Cochin, Paris; ⁷institut ^{de} 7 maximum Planck pour la génétique moléculaire, Berlin; et ⁸département de médecine génétique, hôpital des femmes et des enfants, et ⁹département de la pédiatrie, université d'Adelaïde, Adelaïde, Australie

Reçu 3 juin 2005; admis pour la publication 5 juillet 2005; électroniquement édité juillet 29, 2005.

Des mutations de Perte-de-fonctions du gène *MECP2* à Xq28 sont associées au syndrome de Rett chez les femelles et aux formes syndromic et nonsyndromic de retardement mental (RM.) chez les mâles. Par l'hybridation genomique comparative de rangée (array-CGH), nous avons identifié une petite duplication à Xq28 dans une famille nombreuse avec une forme grave de RM liée à une spasticité progressive. Le criblage quantitatif en temps réel de 17 patients additionnels avec RM qui ont les phénotypes semblables a indiqué trois duplications supplémentaires. Les duplications dans les quatre patients changent dans la taille de 0.4 à 0.8 mb et hébergent plusieurs gènes, qui, pour chaque duplication, incluent les gènes *LICAM* et *MECP2* M.-connexes. Les paliers proximaux sont situés dans une région 250-kb centromère de *LICAM*, tandis que les paliers distaux sont situés dans un intervalle 300-kb telomérique de *MECP2*. La taille et l'endroit précis de chaque duplication sont différents chez les quatre patients. Des espèces séparées de duplications avec la maladie chez les familles, et les femelles asymptomatiques de porteur montrent le travers complet de l'inactivation de X. La comparaison des dispositifs cliniques chez ces patients et dans un patient précédemment rapporté permet l'amélioration de la corrélation de génotype-phénotype et suggère fortement ce plus grand dosage des résultats *MECP2* chez les RM. phénotype. Nos résultats démontrent que, chez l'homme, non seulement altérés ou la fonction supprimée de gène mais le dosage *MeCP2* également accru cause un phénotype distinct. D'ailleurs, la duplication de la région *MECP2* se produit fréquemment dans les patients masculins présentant une forme grave de RM., qui justifie le criblage quantitatif de *MECP2* chez ce groupe de patients.

* Ces deux auteurs ont contribué également à cet article.

Adresse pour la correspondance et les réimpressions : DR. Fourgon Esch, centre pour la génétique humaine, hôpital Gasthuisberg, Herestraat 49, B-3000 Leuven, Belgique de Hilde d'université. E-mail : Hilde.VanEsch@med.kuleuven.ac.be

Introduction

Des mutations et les remises en ordre brutes du gène *MECP2* (MIM [300005](#)) sont associées au syndrome de Rett (MIM [312750](#)), un désordre neurodegenerative progressif qui affecte presque exclusivement des femelles, avec une prédominance estimée~ ^{de} 1 dans 10.000—15.000 femmes. Rett classique est caractérisé par la perte progressive de fonctionnement intellectuel, habiletés motrices fines et brutes, et capacités communicatives; progressif microcephaly; et l'aspect des mouvements stéréotypés de main, après une période du développement normal (Hagberg et autres. [1983](#)). Additionnel comporte, y compris des saisies, ataxie, hyperventilation, scoliose, et le retardement de croissance sont souvent vus. Les mutations et les grandes suppressions dans le gène *MECP2* sont responsables jusqu'à de 80% des cas classiques de Rett parmi des filles; les grandes suppressions ont fait la pièce quantitative d'analyse du workup diagnostique dans les filles avec le syndrome de Rett (Schollen et autres. [2003](#);

Ravn et autres. [2005](#)). Différentes études de corrélation de génotype-phénotype ont été récemment éditées (Amir et autres. [1999](#); Amir et Zoghbi [2000](#); Kammoun et autres. [2004](#)). Au commencement, le syndrome de Rett a été considéré comme un état X-dominant mortel dans les mâles hemizygous (Zoghbi [1988](#)). Cependant, depuis la première description d'un patient masculin présentant une mutation *MECP2*, plusieurs patients additionnels ont été identifiés (Meloni et autres. [2000](#); Orrico et autres. [2000](#)). Les phénotypes ont présenté par la couverture de ces mâles un grand éventail des désordres neurodevelopmental. Le syndrome classique de Rett dans les patients masculins est vu dans ceux avec l'aneuploidie du chromosome de X et dans tels qui sont mosaïque pour une mutation *MECP2*. L'encéphalopathie néonatale mortelle a été rapportée dans les mâles nés aux mères asymptomatiques ou modérément affectées de porteur qui ont hérité de la mutation qui cause normalement le phénotype de Rett dans les femelles (Zeev et autres. [2002](#)). Des cas plus doux sont associés aux mutations qui n'ont pas comme conséquence Rett classique dans des porteurs féminins (Meloni et autres. [2000](#); Couvert

Table 1

Primer Sequences Used for qPCR Analysis, with Their Approximate Positions on the X Chromosome

PRIMER ID	PRIMER SEQUENCE (5'→3')		APPROXIMATE POSITION ON X CHROMOSOME
	Forward	Reverse	
NXF5	gca cac aaa atg toc acg aaa	acc agg atg gag gtg aag tca	100,900,000
66N11	gag ggf gac ggg aat atc ct	tgg tgg ctg agc gga aa	152,396,750
SLC6A8	gct ggf cag att tgt gct tca g	cca gac ccc aaa ctg cat tc	152,472,000
ABCD1	gaa ggc agc ctt gga aaa ga	ggg caa tag tga agg ctt ctg t	152,522,450
314B3	tgg tgg atg gaa gaa cat tca c	cgg caa ggg ctt cct ctt a	152,618,350
L1CAM	ttc gtt cat tgg cca gta cag t	tgg ccc ctg agc tgt ca	152,649,000
MECP2a	tgc tgg atg aat aac cac aac ac	gaa ggf ctc cag cca tca gaa g	152,826,100
MECP2-5'	tcg cag ctg aga gtc cat ctg	cac gtc ttc tca acc taa tgg aat t	152,924,150
Z49258	gga tgg gac gct gct aca ga	gga cat ggf atc agg tgg act ca	153,058,500
EDMD	cat gca cgc tac cag cag cag tc	gaa tga tgt gcc aga gac cgc	153,131,000
GDH	cct gca acg aca tca aag aca	ttt ggc ctt cat gtt ctc aa g	153,191,850
G6PD	acg gac gtc atc tga gtt ggf	cac cta ctg cag atg ctg tgt ct	153,325,650
115M6	cca aat gcc gtg cct ctt t	tgg acc acg ttg ggt att ca	153,537,800

et autres. [2001](#)). Bien que les mutations *MECP2* aient été au commencement rapportées comme cause fréquente de retardement mental (RM.) dans les mâles, les grandes études de cohorte ont prouvé que ces mutations dans les mâles sont plus rares bien qu'ont au commencement pensé et que l'évaluation soigneuse de la pathogénicité de chaque mutation identifiée de missense est exigée (Bourdon et autres. [2003](#)).

L'hybridation genomique comparative de rangée (array-CGH) est devenue la méthode de choix pour la détection des microdeletions et des microduplications à la haute résolution, fournissant des informations directes sur la position genomique de l'aberration. Nous avons développé une rangée de X-chromosome avec une résolution de 80 KBS d'interviewer des patients présentant le retardement mental X-lié suspecté (XLMR) pour des aberrations X-chromosomiques (Van Esch et autres. [2005](#); Bauters et autres, [en cours d'impression](#)). De cette façon, nous avons identifié une petite duplication à Xq28, comportant les gènes *L1CAM* (MIM308840) et *MECP2*, dans une famille nombreuse avec XLMR grave lié à une spasticité. Après, nous avons exécuté l'analyse quantitative de PCR (qPCR) pour le gène *MECP2* dans 17 patients masculins avec un phénotype comparable, 2 de qui sont des familles avec la tringlerie indicative à Xq28. De cette façon, nous avons identifié trois patients additionnels présentant une petite duplication à Xq28. la corrélation de Génotype-phénotype étudie le point à la duplication *de MECP2* comme cause fondamentale de RM sévère, ajoutant un nouveau mécanisme pour la mutation M.-associée *de MECP2* en particulier et des gènes de XLMR en général.

Méthodes

Consentement

Le protocole d'étude a été approuvé par le comité d'examen institutionnel approprié de l'hôpital d'université de Leuven, Belgique, et le consentement informé a été obtenu à partir des parents des patients affectés et de leurs membres en bonne santé de famille.

Préparation de l'ADN

L'ADN de Genomic des patients aussi bien que des commandes saines a été isolée dans le sang périphérique par des procédures standard. L'ADN a été dissoute dans l'amortisseur de TE à une concentration de 0.33 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ et a été stockée à 4°C.

X-Chromosome Array-CGH de Plein-Assurance

La production de la rangée de X, la préparation de sonde, et l'hybridation sur la rangée ont été effectuées essentiellement comme décrit ailleurs (Van Esch et autres. [2005](#); Bauters et autres, [en cours d'impression](#)). Ces protocoles ont été principalement basés sur ceux développés au centre de Sanger (Fiegler et autres. [2003](#)). Pour chaque hybridation, 3 μg chacun des sondes de Cy5- et de Cy3-labeled avec une activité spécifique de 40 ont été mélangés ainsi que 100 μg ADN de g Cot-1 (Invitrogen) et ont été hybridés pour 40 h à 37°C dans les chambres humides. Des rangées ont été balayées avec le système d'Agilent G2565BA MicroArrayScanner (Agilent), et les images acquises ont été analysées en utilisant le logiciel d'ArrayVision (recherche de formation image). Des intensités de tache ont été corrigées pour le fond local, et seulement ces taches avec les intensités du signal Cy5 et Cy3 au moins 1.7-fold au-dessus du fond local ont été encore analysées. La normalisation de données a été effectuée contre le moyen des rapports de tache de toute copie. Copie avec des rapports anormaux opposés dans couleur-renversent des expériences étaient ordre vérifié (Bauters et autres, [en cours d'impression](#)).

Quantitation en temps réel du nombre de copy d'ADN

Nous avons employé la méthode comparative de ddCt (bulletin 2 [biosystèmes appliqués] de système) de détection d'ordre avec SYBR-vert pour la confirmation de nos données d'array-CGH. Des amorces ont été conçues avec le logiciel de PrimerExpress (biosystèmes appliqués) et peuvent être trouvées dans [le tableau 1](#). Nous avons validé la première fois si l'efficacité de l'amplification des ensembles mieux habillés choisis était égale à celle du normalisateur. Une amorce réglée pour le lieu *NXF5* à Xq22

(juin et autres. 2001) a été employé pour la normalisation. Les expériences de validation ont été exécutées sur des dilutions quadruples de l'ADN genomic, commençant par 100 NG dans la première dilution. Pour la quantitation relative, les mélanges de la réaction se sont composés du plus de qPCR Mastermix pour le vert I (Eurogentec) de SYBR, avec 500 nM de chaque amorce et d'ADN de 10 NG en volume total de 25 μ l. Après une première étape de dénaturation pendant 10 minutes à 95°C, les conditions de cycle thermiques étaient 15 s à 95°C et à 1 minute à 60°C pour 40 cycles. En conclusion, les courbes de dissociation pour chaque réaction ont été déterminées. Tous les échantillons ont été courus deux fois sur un instrument du PRISME 7000 d'ABI, et deux courses indépendantes ont été exécutées pour tous les échantillons.

X Inactivation

L'ADN genomic de lymphocyte des sujets femelles a été soumise à l'analyse de méthylation de gène d'androgène-récepteur pour l'évaluation du statut de méthylation, comme décrit par Allen et autres (1992). Un marqueur genotyping ROX-marqué 100-500 (biosystèmes appliqués) a été ajouté, et les échantillons ont été séparés sur un compteur séquentiel automatisé d'ADN du PRISME 3100 d'ABI (biosystèmes appliqués) et ont été analysés avec le logiciel d'analyse de GeneScan (biosystèmes appliqués) pour des calculs maximaux d'intensité de position et de secteur. Ces données ont été encore traitées avec l'utilisation de excel.

Expression du mRNA MECP2

L'ARN total de 10^7 lymphocytes périphériques transformés de sang du virus- d'Epstein-Barr (EBV) (PBLs) a été extrait au moyen 1 ml TRIzol (Invitrogen) selon les instructions du fabricant. Un total de 1 μ g était inverse transcrit avec l'indice supérieur II (Invitrogen), et l'ADN genomic a été éliminée par traitement de DNaseI (Roche) pendant 30 minutes à la température ambiante. La quantitation en temps réel par la méthode SYBR-verte a été exécutée sur la 1/20th de l'ADN avec les amorces *MECP2* (*MECP2*cDNA-for : 5'-GCTCCAACAGGATTCCATGGT-3'; *MECP2*-DNA-rev : 5'-GAGGTCCTGGTCTTCTGACTTTTC-3'), comme décrit ci-dessus. Le gène de ménage β -actine (*bACT*-for : 5'-CACCCTGAAGTACCCCATCG-3'; *bACT*-rev : 5'-TGCCAGATTTTCTCCATGTCG-3') a été employé pour la normalisation. Une expérience de validation a été exécutée sur des dilutions périodiques d'ADN.

Résultats

Descriptions cliniques des patients

Famille L36

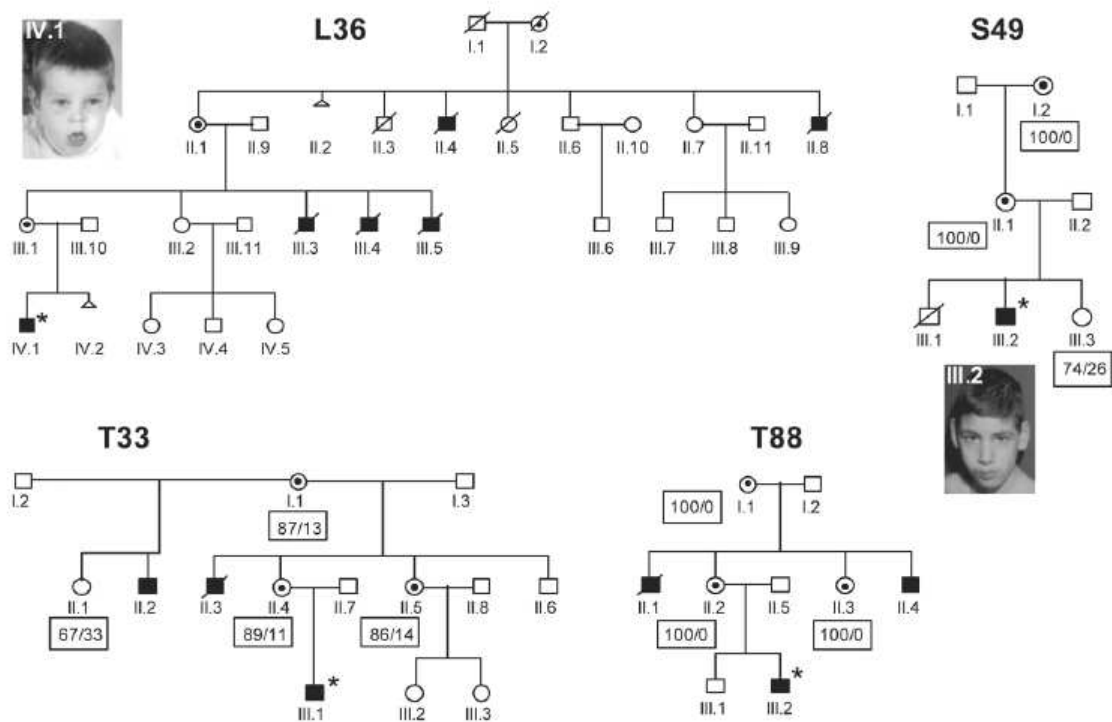
Cette famille est d'origine finlandaise et se compose de six mâles affectés dans trois générations (fig.1). Les mâles

affectés sont brièvement décrits ci-dessous, et des résultats sont récapitulés dans le tableau 2.

Le patient d'index, IV.1, le mâle affecté seul en vie, a été soutenu après une grossesse calme, des parents en bonne santé, avec des paramètres de naissance dans la gamme normale (poids 4.305 g [quatre-vingt-dixième percentile] ; taille 53 centimètre [soixante-quinzième percentile] ; circonférence occipital-frontale (OFC) 36 centimètres [quatre-vingt-dixième percentile]). Sa mère avait eu une perte 2 ans de plus tôt. Quand il a été la première fois examiné à l'âge pendant 6 MOIS, un retard dans le développement psychomoteur a été noté, avec la présence d'une tonalité périphérique accrue de muscle et d'une hypotonie axial. À 10 MOIS, on a observé l'asymétrie postérieure du crâne, aussi bien que l'inactivité et l'hypotonie généralisés. Depuis l'âge de 2 ans des saisies d'absence avaient été suspectées, mais les examens répétés de l'électroencephalogram (EEG) n'ont indiqué aucune pathologie significative. Un balayage de IRM fut exécuté au même âge n'a montré aucune anomalie structurale évidente mais a légèrement retardé le myélination. La réévaluation à l'âge 14 ans a prouvé que le patient a eu RM profond et n'a pas marché. Il a eu l'absence de la parole et des réflexes accrus et très vifs de profond tendons dans les membres supérieurs et inférieurs. Il a eu les oreilles en avant, le pont nasal plat, et l'asymétrie postérieure du crâne, avec une langue saillante et une tendance de souffrir de ventilation exagérée quand il était nerveux (fig.1). Sa vision et audition étaient normales, aussi bien que sa croissance, mais il a eu une microcéphalie relative (écart-type -1). Un nouvel IRM était normale. Les examens étiologiques étendus, y compris l'analyse métabolique de criblage, de caryotype, de mutation *FMRI* et *MECP2*, et biopsies de peau et de muscle, étaient normaux.

L'individu III.3 a été né après une grossesse et un terme calme. Très tôt, un retard dans le développement psychomoteur a été noté. Il a tenu assis, rampant et pouvait marcher quelques étapes avec l'appui à l'âge 8 ans, mais il ne s'est jamais tenu ou a marché indépendamment. Il n'a développé aucun discours et a montré un faciès hypotonique, y compris une bouche ouverte, radoter, et une langue saillante. Sa croissance a été considérée normale, mais, à l'âge 9 ans, sa circonférence principale était de 51 centimètres (10ème percentile). Il a également eu l'asymétrie occipital du crâne et désire ardemment les doigts minces avec des ongles habimés. Depuis l'âge de 10 ans, il avait reçu le traitement pour des accès épileptiques, et EEG a montré qu'intermittent transitoire-ondulez les décharges. Il a eu des infections respiratoires récurrentes et meurt de la pneumonie à l'âge 12 ans.

Son plus jeune frère, individu III.4, a montré un cours clinique semblable. Son développement a été sévèrement retardé, et il ne pouvait pas marcher ou parler. Il a eu fréquent et des infections respiratoires graves, et, à 24 ans, lui on été donnés le diagnostic de la tuberculose de poumon. Des dispositifs cliniques semblables aux autres membres de famille ont été notés, et sa croissance a été



Le schéma 1 pedigrees des quatre familles (L36, S49, T33, et T88) dans lesquelles des duplications à Xq28 ont été identifiées. Les places noircies indiquent les mâles affectés, et un astérisque (*) indique le patient d'index de chaque famille. Des images cliniques des patients IV.1 (famille L36) d'index à l'âge 1.5 an et III.2 (famille S49) à l'âge 12 ans sont montrées. Des données des études de X-inactivation sont encadré et sont montrées au-dessous de chaque femme à partir de laquelle nous pourrions obtenir un échantillon d'ADN.

considérée relativement normale. Il a progressivement développé une spasticité dans les membres inférieurs. À l'âge 24 ans, des saisies tonique-cloniques généralisées répétées ont été notés, avec la réponse faible au traitement antiépileptique. Il est mort à l'âge 35 ans de causes inconnues.

Le troisième frère, individu III.5, a montré un phénotype neurologique et clinique semblable, avec RM profond et l'absence de la parole. À l'âge 10 ans, un méningiome inopérable a été diagnostiqué, et le garçon a été mort à l'âge de 13 ans dû à un hernie cérébral provoqué par la tumeur croissante. Neuropathology du cerveau a indiqué, en plus du grand méningiome, le gliosis diffus de la matière blanche, la perte neuronale diffuse du cortex, et un certain degré de stratification dérangée du cortex.

Les données cliniques pour les individus II.4 et II.8 sont claires, mais, pour tous les deux, on a dit que le développement psychomoteur est semblable à celui de différent III.5, avec RM profond et l'absence de la parole. Ils tous les deux sont morts dans la petite enfance tôt, probablement des infections pulmonaires. Tous les niveaux cognitifs des femelles de porteur et des mâles non affectés dans cette famille sont dans la marge normale.

Analyse de tringlerie a exécuté précédemment sur l'ADN des membres vivants disponibles de famille, au moyen d'un ensemble standard de marqueurs polymorphes de microsatellite a réparti le chromosome de X entier, assigné le lieu de la maladie à la région Xq28-Xqter, avec des points maximaux de LOD de 1.23 au marqueur *DXS52* & $\theta =$

à 0.0, avec les marqueurs de flanquement *DXS1190* et *Xqter*. L'analyse suivante de mutation de *MECP2*, résidant dans cet intervalle génomique, n'a indiqué aucune mutation dans ce gène.

Patient S49

Le patient S49 est né en bonne santé de parents indépendants après une grossesse normale, avec des paramètres de naissance dans la marge normale. Il a une plus jeune soeur en bonne santé et un frère plus âgé atteint d'une trisomie 21 (fig.1). En les premières années de la vie, il s'est présenté avec des problèmes d'alimentation et des infections récurrentes des voies aériennes supérieures. Il était en mesure de marcher indépendamment à l'âge 18 MOIS, mais sa démarche était très instable et atactique. Pendant l'enfance, il a eu deux ajustements épileptiques, et il est allé à une école spéciale. Les investigations approfondies, y compris des potentiels évoqués et la formation image réitérée de cerveau, étaient toutes normales. L'examen à l'âge 12 ans a montré un garçon alerte avec des paramètres normaux de croissance et la circonférence principale mais avec RM grave et l'absence de la parole (fig.1). Son examen neurologique était distinct, avec une hypotonie axiale et le diplegia spastique. Son comportement était chaotique mais social. Le karyotype et l'analyse *FMRI* à haute résolution étaient normaux.

Famille T33

Cette famille est d'origine française, et trois mâles de deux générations ont été affectés (fig.1). Le patient indexé,

Table 2

Summary of Clinical Data for the Four Families with an Xq28 Duplication

CHARACTERISTIC	CLINICAL DATA FOR FAMILY				TOTAL (%)
	L36	S49	T33	T88 ^a	
No. of affected men	6	1	3	3	13
Severe MR	6/6	1/1	3/3	2/2	12/12 (100)
OFC <3rd percentile	1/4	0/1	1/2	0/3	2/10 (20)
Facial hypotonia ^b	4/4	1/1	3/3	3/3	11/11 (100)
Absent speech	6/6	1/1	2/3	1/2	10/12 (83)
Limited speech	0/6	0/1	1/3	1/2	2/12 (17)
Never walked	5/6	0/1	2/3	0/2	7/12 (58)
Limited walking with support	1/6	1/1	1/3	2/2	5/12 (42)
Spasticity (LL > UL)	4/4	1/1	2/2	2/2	9/9 (100)
Seizures	3/4	0/1	0/2	1/2	4/9 (44)
Severe infections	3/6	NA	1/1	1/2	5/9 (56)
Death before age 25 years	4/6	...	1/3	1/2	6/11 (55)

NOTE.—Data are no. of individuals with characteristic/no. of individuals analyzed, unless indicated otherwise. NA = data not available; LL = lower limbs; UL = upper limbs

^a Individual III.2 was only 13 mo of age at evaluation.

^b Facial phenotype for the deceased affected men was scored on the basis of clinical pictures.

individu III.1, était premier vu à l'âge 4 ans par un généticien clinique. Il avait pu marcher pour quelques étapes jusqu'à l'âge 3 ans et avait développé le discours limité. L'examen clinique a montré un garçon avec le développement sévèrement retardé avec la taille et le poids normal et une circonférence principale relativement petite (écart-type -1). Il a eu une surdité et une spasticité bilatérale dans les membres inférieurs avec le déficit de prolongation des deux genoux, ainsi qu'une hypotonie axial et facial. Il a eu un front étroit, faciès plat, et relativement grand, les oreilles basses. Il a éprouvé des infections respiratoires récurrentes. IRM à l'âge 1 an n'a montré aucune anomalie excepté un kyste du pellucidum de septum et de l'atrophie corticale douce. Sa mère a eu deux frères avec RM profonds, les individus II.2 et III.3. Le plus jeune frère (II.3) est mort dans la petite enfance tôt à l'âge 3 ans. Il a été profondément retardé, avec l'absence de la parole et du développement de moteur. Le demi-frère plus âgé, l'individu II.2, n'a jamais appris à parler ou à marcher. L'examen à l'âge 24 ans a montré un homme avec RM profond, la stature relativement petite (156 centimètres ; < 3ème percentile), et une circonférence principale de 55 centimètres (cinquantième percentile). Il a progressivement développé une spasticité, qui davantage a été prononcée dans les membres inférieurs, avec les réflexes vifs de tendon et le signe positif de Babinski. Tous les niveaux cognitifs des femelles de porteur et des mâles non affectés dans cette famille sont dans la marge normale. L'exclusion traçant, avec un ensemble de 10-M- a espacé des marqueurs de X-chromosome, qui a été précédemment exécuté sur l'ADN de la famille des cinq membres disponibles ont exclu la majorité du chromosome de X excepté la région de Xq27.2 à Xqter.

Famille T88

Cette famille est d'origine française et comporte trois mâles affectés de deux générations (fig.1). Le patient indexé, individu III.2, a été vu à l'âge que 13 MOIS en raison d'un retard de développement avec une hypotonie axial et facial prononcé. Ses paramètres de croissance étaient tous dans la

marge normale. Un balayage de CT du cerveau a montré l'agrandissement doux des ventricules. Sa mère a eu deux frères avec RM sévère. Le frère le plus âgé, individu II.1, a eu un RM profond, des saisies, l'absence de la parole, et des habiletés motrices limitées avec une spasticité, qui davantage a été prononcée dans les membres inférieurs. Il est mort à l'âge 24 ans de dû à la méningo-encéphalite. Le plus jeune frère, l'individu II.4, appris à marcher à l'âge 2 ans et a développé un langage limité. Il a le comportement très timide et une spasticité limitée dans les membres inférieurs. Tous les niveaux cognitifs des femelles de porteur et des mâles non affectés dans cette famille sont dans la marge normale. Comme avec la famille T33, tracer précédemment effectué d'exclusion a exclu la majorité du chromosome de X excepté la région de Xq27.2-Xqter.

Identification et délimitation d'une duplication à Xq28

Par le X-chromosome array-CGH, nous avons identifié une petite duplication à Xq28 dans la famille L36. La duplication était évidente des rapports anormaux de deux adjacents copie (RP11-314B3 et RP11-119A22) au mb—152.5 152.9 à Xq28 (fig. 2A). La notation₂ a normalisé les rapports Cy5/Cy3 obtenus pour ces derniers copie étaient les deux 0.7 quand l'ADN du patient de l'index L36 a été marquée avec Cy5 et étaient les deux -0.9 quand l'échantillon a été marqué avec Cy3 (les données d'array-CGH sont disponibles dans l'annexe en ligne-seulementA). L'analyse de cette région 0.4-Mb apparente avec l'Ensembl et l'université des navigateurs— de génome de la Californie Santa Cruz (UCSC) a indiqué une région gène-dense comprenant les gènes *LICAM* et *MECP2* M.-connexes. D'autres gènes dans cette région sont *AVPR2*, *ARHGAP4*, *ARD1*, *RENBP*, *HCFC1*, et *IRAK1*. X-rangez copie flanquer la duplication, le RP11-66N11 (mb 152.3) et le RP5-865E18 (mb 153.3), montré des rapports normaux. Pour tracer la duplication plus avec précision, la quantitation en temps réel (qPCR) a été exécutée avec des paires mieux habillées aux positions multiples dans et autour de la duplication identifiée (fig. 2B). qPCR avec l'amorce place 314B3, LICAM, et MECP2a, traçant dans la région anormale, a confirmé la duplication ; les différences de pli, relativement aux échantillons d'ADN de commande, étaient 2.2, 2.0, et 1.9, respectivement (fig. 2C). En outre, le SLC6A8 proximally localisé et les ensembles d'une manière distale localisés^f de l'amorce MECP2-5 ont indiqué des différences de pli de 2.2 et de 1.9, respectivement. Les valeurs obtenues pour les ensembles mieux habillés à autres position "test" étaient dans l'intervalle normal (1.12 ± 0.1). Sur la base de ces résultats, nous avons tracé la duplication dans une région 580-kb, avec une taille minimale de 420 KBS (tableau 1). Au palier distal, le faisceau de répétition de gène d'opsin (OPN1) est situé.

Détection de trois patients additionnels présentant les petites duplications Xq28

Dans la prochaine étape, nous avons choisi 17 patients présentant un phénotype semblable à celui du patient indexé de la famille L36. De ces derniers, 15 étaient des patients avec des cas sporadiques et 2 étaient des patients

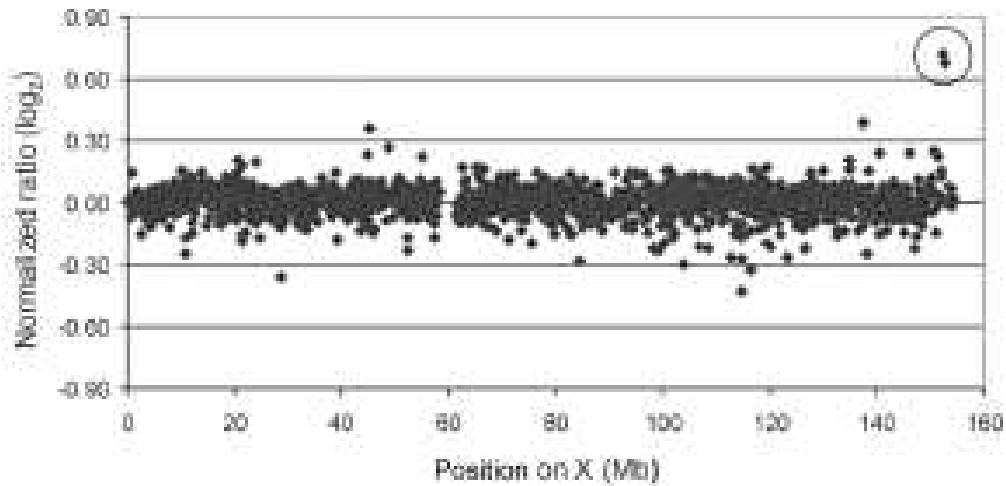
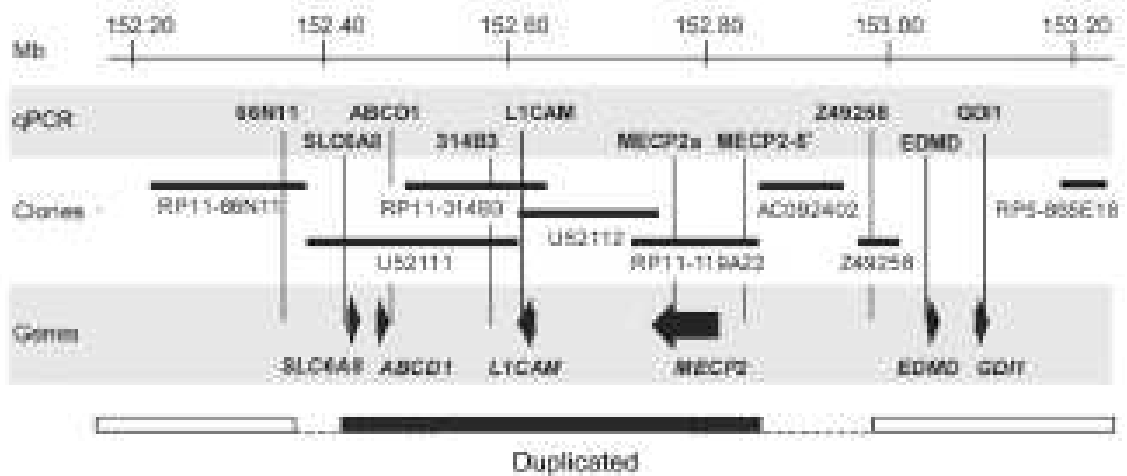
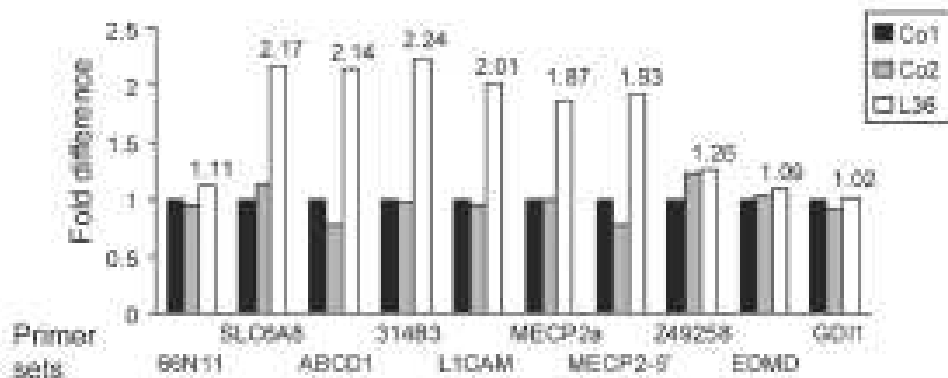
A**B****C**

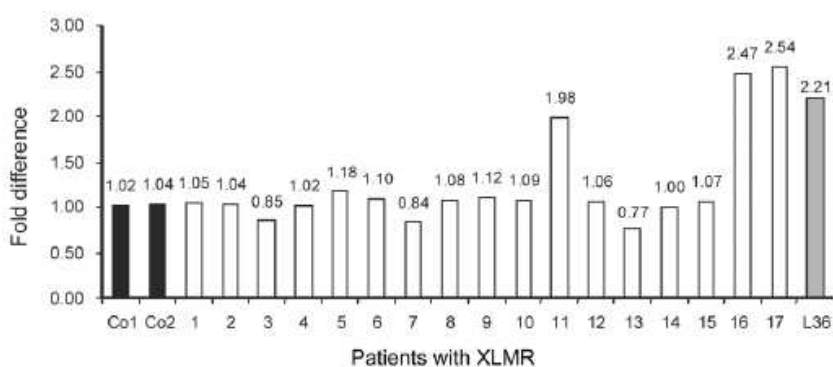
schéma 2 identification d'une duplication à Xq28 dans la famille L36. A, analyse du X-chromosome array-CGH de l'ADN (marquée avec Cy5) du patient IV.1 s'est mélangé à de l'ADN (marquée avec Cy3) d'un mâle de commande. Des rapports normalisés de la notation 2 sont tracés contre la position sur le chromosome de X (dans le mb). Excepté deux polymorphes copie, les rapports pour copie dans des régions genomic inchangées sont dans l'intervalle normal (-0.36 à 0.36), tandis que copie RP11-314B4 et RP11-119A22 à 153 rapports d'exposition de mb > 0.60 (cercle), qui est indicatif d'une duplication. L'"espace" au mb 60 représente la région centromère pour laquelle aucun copie étaient disponibles. B, représentation schématique de la région Xq28 (mb- 152.20 153.20), montrant l'endroit de l'amorce de qPCR place, genomic copie, et des gènes actuels dans cet intervalle pour lequel des amorces de qPCR ont été conçues. La région reproduite, basée sur les résultats d'array-CGH et de qPCR, est montrée ci-dessous. C, données de qPCR sur l'ADN du patient d'index de la famille L36 (unblacked des barres), comme de deux commandes (Co1 et CO2 [barres noircies et barres grises, respectivement]). Les valeurs pour les différences de pli obtenues pour chaque ensemble d'amorce sont indiquées au-dessus des barres pour le patient L36 seulement.

familles chez qui la cartographie a suggéré un lien à la région de Xq28-Xqter. Pour la vérification des duplications additionnelles, nous avons utilisé l'amorce MECP2a réglé de qPCR située dans l'intron 2 du gène *MECP2*. De façon saisissante, nous avons trouvé une duplication à cette région dans 1 des 15 cas sporadiques et dans tous les deux de deux patients avec des cas familiaux. Les différences de pli pour ces trois patients étaient 1.98, 2.47, et 2.54, qui sont indicatifs d'un nombre de copie de deux, tandis que cette valeur était 1.02 ± 0.10 pour tous autres échantillons (fig.3). Plus tard, la position et la taille exactes de chaque aberration ont été vérifiées par qPCR comme décrit ci-dessus. Le schéma 4 présente schématiquement les résultats de cette analyse. L'hospitalisé S49 de duplication, avec une taille minimale et maximale de 270 KBS et de 440 KBS, respectivement, est plus petit que celui dans L36. Dans T88, les limites de taille de duplication sont de 540 KBS et de 660 KBS, tandis que la plus grande duplication est trouvée dans T33, dans lequel une région 0.8-Mb est impliquée. La région critique reproduite dans chacun des quatre chevauchements de patients avec cela présent dans S49 et inclut les gènes de *LICAM* à *MECP2*. M. connu le gène *SLC6A8* est seulement impliqué dans la famille L36, tandis que *GDII* est reproduit dans la famille T33. Pris ensemble, les paliers proximaux des différentes duplications sont présents dans une région 250-kb juste centromère de *LICAM*. Les paliers distaux sont situés dans un intervalle 300-kb juste telomeric de *MECP2* (fig.4).

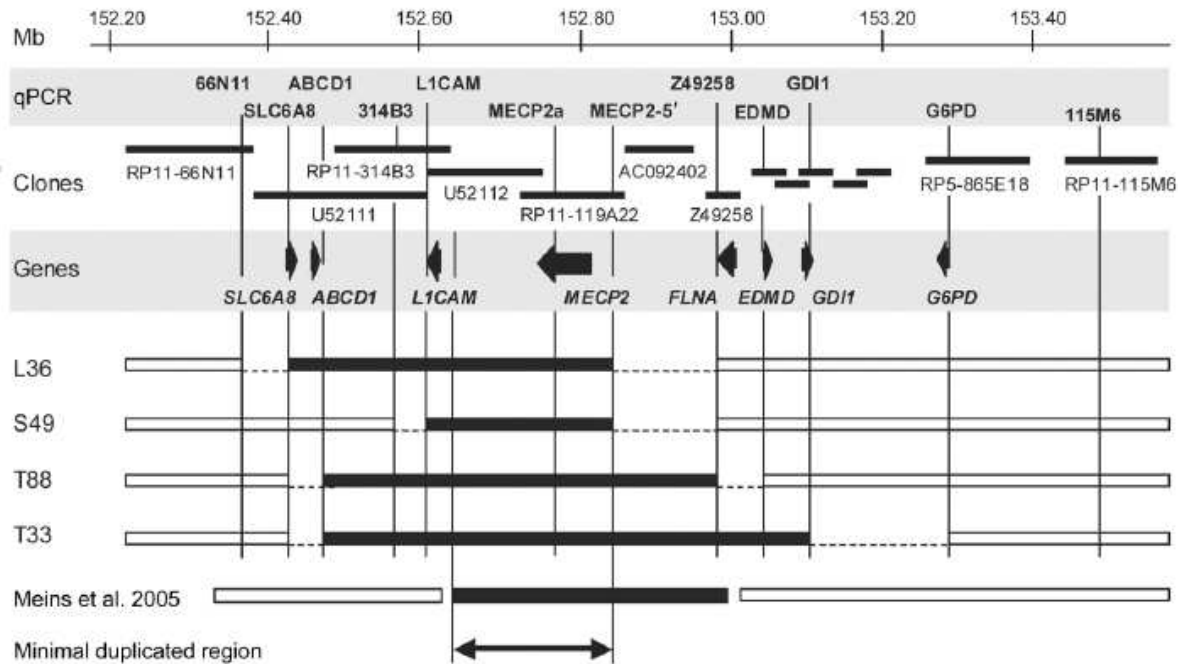
Ségrégation de la duplication avec la maladie

Pour ces membres de famille pour qui nous pourrions obtenir un échantillon d'ADN, nous avons analysé la ségrégation de la duplication Xq28 par qPCR avec l'ensemble d'amorce de MECP2a. La ségrégation de la duplication dans L36 pourrait seulement être examinée sur l'ADN préservée de fibroblaste de l'individu décédé III.4 (fig.1). Il a également porté la duplication, puisque la différence obtenue de pli par qPCR était 2.16 (fig. 5A). Pour le patient S49, la duplication était également présente dans son grand-mère en bonne santé (I.2) et mère (II.1), qui a démontré des différences de pli de 1.57 et de 1.62,

respectivement, qui est indicative de trois copies au lieu des deux normaux (rapport d'allèle dans une femelle de porteur contre une femelle de commande est 3/2). Sa soeur (III.3) n'est pas une porteuse, puisque la valeur obtenue était 1.1 (fig. 5A). Dans les familles T33 et T88, l'aberration a été détectée dans tous les mâles affectés examinés (II.2 et III.1 dans T33 ; II.4 et III.2 dans T88) mais pas dans les mâles examinés non affectés (II.6 dans T33 ; III.1 dans T88). Dans les sujets femelles, toutes porteuses (I.2 et II.1 dans S49 ; I.1 et II.4 dans T33 ; I.1 et II.2 dans) des différences montrées du pli T88 près de la valeur 1.5. D'ailleurs, nous pouvions identifier les nouveaux porteurs dans les deux familles (II.5 dans T33 ; II.3 dans T88). La femelle II.1 dans la famille T33 n'héberge pas la duplication. les études de X-inactivation ont prouvé que tout l'extrême démontré par femelles de porteur (> 85%) ou même accomplissent (100%) travers d'un de leurs chromosomes de X (fig.1). Le statut de X-inactivation dans les femelles avec un dosage Xq28 normal, III.3 dans S49 et II.1 dans T33, étaient 76/24 et 67/33, respectivement. Aucune ADN des membres féminins de la famille L36 n'était disponible pour l'analyse. L'expression du mRNA *MECP2* a été étudiée par quantitation en temps réel dans les lignes EBV-transformées de cellules de PBL des patients d'index des familles L36, T33, et T88. Une expression sensiblement plus élevée a été obtenue en toutes les lignes de cellules dérivées des patients portant la duplication, illustrant clairement une expression plus élevée double dans ces patients que dans les commandes (fig. 5B)



Le schéma 3 données de qPCR obtenues au moyen de l'ensemble d'amorce de MECP2a pour l'ADN de deux commandes (Co1 et CO2 [barres noircies]) comme 17 patients avec XLMR (unblackened des barres) qui a montré un phénotype semblable à celui à présenté par le patient d'index de la famille L36, qui a été employée comme commande positive (barre grise). Les valeurs pour les différences de pli en comparaison des commandes sont indiquées au-dessus des barres. Une duplication a été trouvée dans trois patients additionnels des familles S49 (patient 11), T33 (patient 16), et T88 (patient 17).



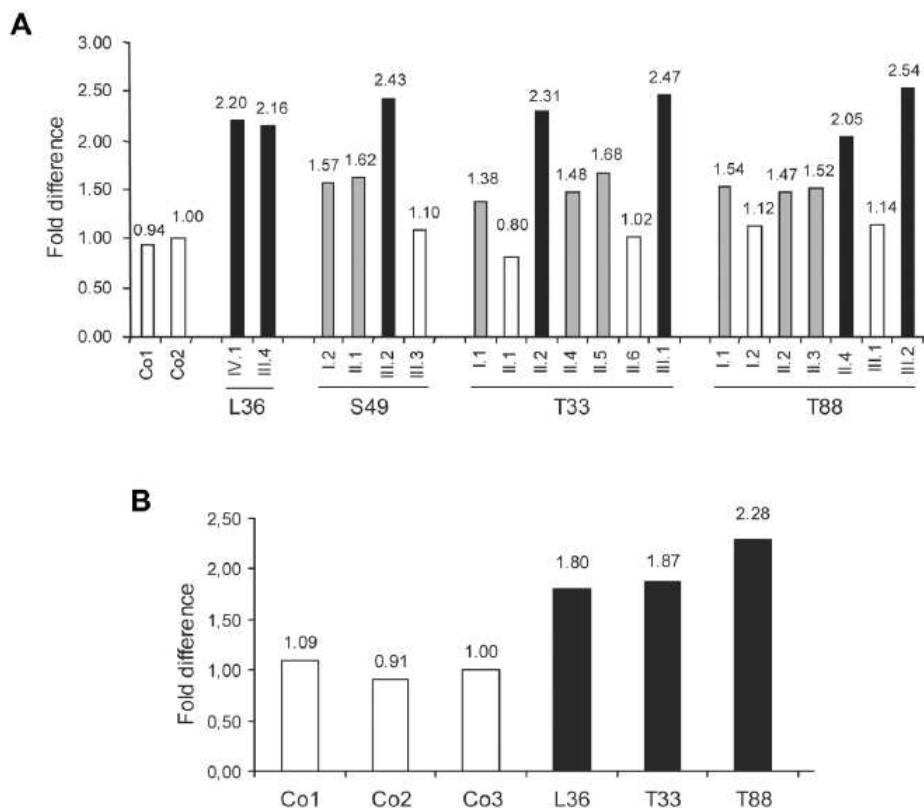
Le schéma 4 représentation schématique des positions et des tailles des duplications à Xq28 dans les quatre familles avec RM grave s'est associé au spasticity. Les endroits de l'amorce de qPCR place, genomic copie, et des gènes actuels dans cet intervalle pour lequel des amorces de qPCR ont été conçues sont donnés. Dans la partie plus inférieure, unblackeden des boîtes représente des régions normales, et des boîtes noircies sont confirmées ont reproduit des régions. Les paliers des duplications sont situés dans les lignes pointillées. La duplication identifiée par Meins et autres (2005) est montrée au fond, de même que la région reproduite minimale commune dans tous les patients.

Discussion

le X-chromosome—array-CGH spécifique est un outil puissant pour identifier des aberrations submicroscopique dans les patients et les familles avec XLMR suspecté (Veltman et autres. 2004; Van Esch et autres. 2005; Bauters et autres, [en cours d'impression](#)). Par cette méthode, nous avons identifié une duplication~ de 0.5 mb à Xq28 dans une famille nombreuse avec M. syndromic qui entoure les gènes *SLC6A8*, *LICAM*, et *MECP2* M.-connexes. Les caractéristiques principales actuelles dans les mâles affectés dans cette famille étaient RM grave-à-profond, avec le début à la naissance ; hypotonia axial et facial ; spasticity progressif, principalement des membres inférieurs ; saisies ; et infections récurrentes, menant à la mort tôt dans quatre d'entre eux. Les mâles affectés ont également partagé quelques dispositifs dysmorphique doux, y compris de grandes oreilles et pont nasal plat. Sur la base de cet aspect clinique, nous avons choisi une cohorte de 17 patients masculins présentant un phénotype semblable— comprenant des patients à partir de deux familles qui ont XLMR avec la tringlerie suggérée à Xq28— pour l'analyse quantitative du gène *MECP2*. Nous avons identifié trois petites et recouvrantes duplications additionnelles à la région Xq28, isolant tout avec la maladie dans les familles respectives.

La région Xq27-q28 chromosomique est fréquemment affectée par des remises en ordre, et au moins 16 mâles différents avec disomy de la partie distale du chromosome Xq ont été rapportés (passé en revue par Sanlaville et autres. [2005]). Dans cinq d'entre eux, le disomy est le résultat de

l'appariement anormal aux régions pseudoautosomal de Xq-Yq (Lahn et autres. 1994; Novelli et autres. 2004; Teek et autres. 2004). Dans huit patients, les disomies étaient dus à une remise en ordre intrachromosomal semblable, dans laquelle un segment reproduit de Xq26.3-qter ou de Xq27-qter a été transféré à la bande Xp22.3 (Vasquez et autres. 1995; Goodman et autres. 1998; Lammer et autres. 2001; Kokalj-Vokac et autres. 2004). Dans les trois patients restants, la duplication est le résultat d'une translocation de de novo X-autosome (Akiyama et autres. 2001; Lachlan et autres. 2004; Sanlaville et autres. 2005). Comparé à nos cas, les régions reproduites dans ces patients rapportés sont beaucoup plus grandes,~ le mb– 5 12, et incluent la région pseudoautosomal de Xq. Bien que les descriptions cliniques des ces patient ne soient pas tout le complètes, elles partagent beaucoup de dispositifs cliniques avec les patients dans cette étude, y compris le hypotonia, RM sévère, le dysmorphisme facial doux, et la propension aux infections (Sanlaville et autres. 2005). Cependant, on n'a pas observé des organes génitaux et le cryptorchidisme hypoplastic dans nos patients. Il est d'intérêt celui, dans nos familles, les phénotypes sont fortement semblable, quoique les tailles de duplication ne soient pas identiques (0.4–0.8 mb). La région commune reproduite dans les quatre familles est de < 450 KBS et porte 10 gènes ou transcriptions prévues (dont *LICAM*, *AVPR2*, *ARHGAP4*, *ARDIA*, *RENBP*, *HCFC1*, *Cxorf12*, *IRAK1*, *MECP2*, et *OPN1MW*), seulement *MECP2* et *LICAM* sont connus pour être associés au développement et à la fonction de CNS. Les codes de *LICAM* pour la molécule de la cellule-adhérence L1 (CAME) et appartient à une grande classe du superfamily



Le schéma 5 ségrégation de la duplication avec la maladie et l'expression MECP2 accrue. A, ségrégation a été étudié par qPCR exécutée à l'aide de l'amorce de MECP2a réglée sur tous les membres de famille à partir desquels nous pourrions obtenir un échantillon d'ADN. Les valeurs pour les différences de pli en comparaison des commandes sont indiquées au-dessus des barres. Une barre noircie indique un porteur masculin (la différence de pli ≥ 2), et une barre grise indique un porteur femelle (différence 1.5- ≥ 2 de pli). B, expression du mRNA MECP2, au moyen des amorces de qPCR, dans PBLs des patients d'index des familles L36, T33, et T88 (barres noircies), comparé aux commandes (Co1—Co3 [unblackened des barres]). Les valeurs pour les différences de pli en comparaison des commandes sont indiquées au-dessus des barres.

CAMs d'immunoglobuline qui négocient l'adhérence de cellule-à-cellule, avec l'expression la plus élevée dans tout le système nerveux (Kenwrick et autres. 2000). Des mutations dans ce gène sont impliquées dans le hydrocephalus X-lié dû à la sténose de l'aqueduc de Sylvius (HSAS [MIM 307000]) ; M., aphasie, brouillant la démarche, et les pouces déterminés l'adduction (MASA [MIM 303350]) ; et le hypoplasia de callosum de corpus, retardement, a déterminé l'adduction des pouces, du paraplegia spastique, et des syndromes de hydrocephalus (ACCIDENT [MIM312900]). Jusqu'ici, aucune petite duplication qui impliquent seulement *LICAM* n'a été rapportée, et il n'est pas connue si ce gène est associé à un phénotype de la maladie. Overexpression de la protéine de *LICAM* a été rapporté dans différentes tumeurs malignes, où il pourrait être impliqué dans le processus de métastase (Thies et autres. 2002). Dans les patients de cette étude qui ont subi la formation image de cerveau, on n'a observé aucune anomalie de cerveau qui a équipée des phénotypes subis une mutation de *LICAM*.

Récemment, Meins et autres (2005) ont rapporté une duplication \sim de 430 KBS dans Xq28 dans un jeune garçon avec RM sévère et des dispositifs de syndrome de Rett. La frontière proximale de cette duplication a été localisée 5' de *LICAM*, laissant ce gène intact, tandis que la frontière distale a tracé dans le gène de *FLNA*. Combinant leurs résultats et le nôtre, nous pouvons tracer une région

reproduite critique, hébergeant *MECP2* comme seul gène RM-connexé. Par conséquent, nos données suggèrent que le plus grand dosage de gène de *MECP2* soit l'explication le plus susceptible pour RM. sévère phénotype actuel dans nos patients. Nous ne pouvons pas, cependant, exclure un rôle additionnel pour *LICAM* dans le phénotype neurologique, parce que le patient de Meins et autres (2005) n'a pas été décrit en tant qu'ayant le spasticity. D'autre part, le spasticity observé dans nos familles est progressif en nature, et le patient de Meins et autres pourrait avoir été trop jeune pour exhiber ce dispositif. M. le gène *SLC6A8* est reproduit dans la famille L36, tandis que, dans la famille T33, *GDI1* est impliqué dans la duplication. Puisque tous les deux sont connus pour jouer un rôle dans RM. non spécifique, un rôle contributive dans les phénotypes de ces familles ne peut pas être exclu (d'Adamo et autres. 1998; Hahn et autres. 2002).

Intéressant, plusieurs études ont déjà montré l'évidence pour un rôle dosage-sensible pour MeCP2 dans la plasticité et la fonction neuronales. Samaco et autres. (2004) a exécuté une quantitation de haut-sortie de l'expression MeCP2 sur les échantillons frontaux contenant microarray d'un cortex de tissu d'un groupe hétérogène de patients avec des désordres neurodevelopmental et provenant des commandes d'âge comparable. Par cette méthode, elles ont détecté l'expression MeCP2 anormale, diminuée et accrue, dans tous les échantillons dérivés des patients présentant un désordre neurodevelopmental, suggérant le dysregulation de

MeCP2 dans ces désordres. Des niveaux élevés du mRNA *MECP2*, actuels dans nos patients, ont été également détectés en cellules lymphoblastoïdes du patient rapporté par Meins et autres (2005). Récemment, un modèle transgénique de souris que des overexpresses le gène *MECP2* humain sous la commande de son propre instigateur ont été rapportés (Collins et autres. 2004). Les souris ont clairement développé un désordre neurologique progressif, y compris des saisies et le spasticity, et sont mortes prématurément. Intéressant, sans compter que le spasticity progressif, les sous-types d'épilepsie observés chez ces souris sont semblables à l'absence et aux saisies tonique-cloniques diagnostiquées chez certains des hommes affectés. Le phénotype neurologique chez ces animaux a été modulé par les niveaux de MeCP2, du fait des niveaux plus élevés de protéine ont eu comme conséquence des phénotypes plus-graves. Une conclusion semblable a été notée chez les souris du coup de grâce *Mecp2* qui ont été sauvées avec de l'ADN de la souris *Mecp2* (Luikenhuis et autres. 2004). Le plus grand dosage de la protéine à 4–6-fold au-dessus des valeurs normales a eu comme conséquence le dysfonctionnement profond de moteur, y compris le balancement, le tremblement, et l'ataxie verticaux de démarche (Luikenhuis et autres. 2004). Cette sensibilité de dosage reflète la nécessité d'un règlement serré du niveau et de la fonction de la protéine *Mecp2* dans le CNS. Intéressant, Collins et autres (2004) ont déjà présumé que l'overexpression *MECP2* pourrait mener à un phénotype neurologique postnatal chez l'homme. Le soutien additionnel de la pathogénicité de l'aberration identifiée de X-chromosome est donné par le travers confirmé et marqué actuel dans les porteurs femelles asymptomatiques dans ces familles comme dans la famille rapportée par Meins et autres (2005). On a observé de grandes duplications affectant la région Xq28 dans un certain nombre de femelles, les plus de qui étaient phénotypiquement normale en raison de l'activation préférentielle du chromosome normal X, comme suggéré dans la présente étude en vue de les femelles de porteur. Un rapport récent décrit une duplication du gène *MECP2* dans une fille avec la variante de Rett de préserver-discours (Ariani et autres. 2004). Cependant, Ariani et autres n'ont pas étudié si le gène entier a été reproduit dans ce patient féminin.

Tout à fait, point de ces repères à un règlement serré de l'expression MeCP2 dedans fonction postnatale pré et de cerveau. Ceci qui trouve met des contraintes sérieuses sur l'applicabilité de la thérapie de gène pour des patients présentant le syndrome de Rett. Sans compter que l'analyse quantitative courante du gène *MECP2* dans les patients féminins qui ont Rett sans mutation, un workup quantitatif diagnostique devrait également être envisagé pour les patients masculins présentant RM sévère et des symptômes neurologiques.

Remerciements

Nous sommes reconnaissants aux patients et à leurs familles, pour leur coopération. Nous remercions Mme R. Mattlar, DR. P. Hannikainen, DR. A. Paetau, et Dr. H. von Koskull, pour leur aide avec obtenir le sang et les échantillons de tissu provenant de la famille L36, et DR. C.

Goizet, pour l'information sur la famille T88. H.V.E. est un chercheur post-doctoral des fonds pour la recherche scientifique– Flandre, Belgique (FWO-Vlaanderen). Ce travail était supported by research grant G-0229-01 from FWO-Vlaanderen and by European Union RTD Project QLRT-2001-01810.

Appendix A

Array-CGH data (in a [tab-delimited ASCII file](#)) are presented for all clones on the array for the L36/control and control/L36 (i.e., color-flip) hybridizations. The normalized Cy5/Cy3 ratios and SDs for the duplicate spots on the array are given for each experiment. For the color-flip hybridization, the inverse ratio is calculated, and the mean of both experiments is given in the column "N. Ratio combined." Only those data for which the SD of the combined data is <0.5 were used for log₂ graphical display in [figure A1](#). Clones with SDs >0.5 most likely contain an outlier in one of the two hybridizations. In [figure A1](#), graphs are presented for clones on the X chromosome that have a known position (A), clones without a known exact position on X (B), and the autosomal clones (C). In A, the two clones containing the *LICAM* and *MECP2* genes are clearly above the normal interval.

Web Resources

The URLs for data presented herein are as follows:

- Ensembl Genome Browser, http://www.ensembl.org/Homo_sapiens/ [First citation in article](#)
- Online Mendelian Inheritance in Man (OMIM), <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Omim/> (for *MECP2* and *LICAM* and Rett, HSAS, MASA, and CRASH syndromes)
- UCSC Human Genome Browser, <http://genome.ucsc.edu/cgi-bin/hgGateway?org=Human> [First citation in article](#)

References

- Akiyama M, Kawame H, Ohashi H, Tohma T, Ohta H, Shishikura A, Miyata I, Usui N, Eto Y (2001) Functional disomy for Xq26.3-qter in a boy with an unbalanced t(X;21)(q26.3;p11.2) translocation. *Am J Med Genet* 99:111–114 [First citation in article](#) | [PubMed](#)
- Allen RC, Zoghbi HY, Moseley AB, Rosenblatt HM, Belmont JW (1992) Methylation of *HpaII* and *HhaI* sites near the polymorphic CAG repeat in the human androgen-receptor gene correlates with X chromosome inactivation. *Am J Hum Genet* 51:1229–1239 [First citation in article](#) | [PubMed](#)
- Amir RE, Van den Veyver IB, Wan M, Tran CQ, Francke U, Zoghbi HY (1999) Rett syndrome is caused by mutations in X-linked *MECP2*,

- encoding methyl-CpG-binding protein 2. *Nat Genet* 23:185–188 [First citation in article](#) | [PubMed](#)
- Amir RE, Zoghbi HY (2000) Rett syndrome: methyl-CpG-binding protein 2 mutations and phenotype-genotype correlations. *Am J Med Genet* 97:147–152 [First citation in article](#) | [PubMed](#)
 - Ariani F, Mari F, Pescucci C, Longo I, Bruttini M, Meloni I, Hayek G, Rocchi R, Zappella M, Renieri A (2004) Real-time quantitative PCR as a routine method for screening large rearrangements in Rett syndrome: report of one case of MECP2 deletion and one case of MECP2 duplication. *Hum Mutat* 24:172–177 [First citation in article](#) | [PubMed](#)
 - Bauters M, Van Esch H, Marynen P, Froyen G (2005) X-chromosome array CGH for the identification of novel X-linked mental retardation genes. *Eur J Med Genet* (in press) [First citation in article](#)
 - Bourdon V, Philippe C, Martin D, Verloes A, Grandemenge A, Jonveaux P (2003) MECP2 mutations or polymorphisms in mentally retarded boys: diagnostic implications. *Mol Diagn* 7:3–7 [First citation in article](#) | [PubMed](#)
 - Collins AL, Levenson JM, Vilaythong AP, Richman R, Armstrong DL, Noebels JL, Sweatt JD, Zoghbi HY (2004) Mild overexpression of MeCP2 causes a progressive neurological disorder in mice. *Hum Mol Genet* 13:2679–2689 [First citation in article](#) | [PubMed](#)
 - Couvert P, Bienvenu T, Aquaviva C, Poirier K, Moraine C, Gendrot C, Verloes A, Andres C, Le Fevre AC, Souville I, Steffann J, des Portes V, Ropers HH, Yntema HG, Fryns JP, Briault S, Chelly J, Cherif B (2001) *MECP2* is highly mutated in X-linked mental retardation. *Hum Mol Genet* 10:941–946 [First citation in article](#) | [PubMed](#)
 - d'Adamo P, Menegon A, Lo Nigro C, Grasso M, Gulisano M, Tamanini F, Bienvenu T, Gedeon AK, Oostra B, Wu SK, Tandon A, Valtorta F, Balch WE, Chelly J, Toniolo D (1998) Mutations in *GDII* are responsible for X-linked non-specific mental retardation. *Nat Genet* 19:134–139 [First citation in article](#) | [PubMed](#)
 - Fiegler H, Carr P, Douglas EJ, Burford DC, Hunt S, Scott CE, Smith J, Vetrie D, Gorman P, Tomlinson IP, Carter NP (2003) DNA microarrays for comparative genomic hybridization based on DOP-PCR amplification of BAC and PAC clones. *Genes Chromosomes Cancer* 36:361–374 [First citation in article](#) | [PubMed](#)
 - Goodman BK, Shaffer LG, Rutberg J, Leppert M, Harum K, Gagos S, Ray JH, Bialer MG, Zhou X, Pletcher BA, Shapira SK, Geraghty MT (1998) Inherited duplication Xq27-qter at Xp22.3 in severely affected males: molecular cytogenetic evaluation and clinical description in three unrelated families. *Am J Med Genet* 80:377–384 [First citation in article](#) | [PubMed](#)
 - Hagberg B, Aicardi J, Dias K, Ramos O (1983) A progressive syndrome of autism, dementia, ataxia, and loss of purposeful hand use in girls: Rett's syndrome: report of 35 cases. *Ann Neurol* 14:471–479 [First citation in article](#) | [PubMed](#)
 - Hahn KA, Salomons GS, Tackels-Horne D, Wood TC, Taylor HA, Schroer RJ, Lubs HA, Jakobs C, Olson RL, Holden KR, Stevenson RE, Schwartz CE (2002) X-linked mental retardation with seizures and carrier manifestations is caused by a mutation in the creatine-transporter gene (*SLC6A8*) located in Xq28. *Am J Hum Genet* 70:1349–1356 [First citation in article](#) | [Full Text](#) | [PubMed](#)
 - Jun L, Frints S, Duhamel H, Herold A, Abad-Rodriguez J, Dotti C, Izaurralde E, Marynen P, Froyen G (2001) *NXF5*, a novel member of the nuclear RNA export factor family, is lost in a male patient with a syndromic form of mental retardation. *Curr Biol* 11:1381–1391 [First citation in article](#) | [PubMed](#)
 - Kammoun F, de Roux N, Boespflug-Tanguy O, Vallee L, Seng R, Tardieu M, Landrieu P (2004) Screening of *MECP2* coding sequence in patients with phenotypes of decreasing likelihood for Rett syndrome: a cohort of 171 cases. *J Med Genet* 41:e85 [First citation in article](#) | [PubMed](#)
 - Kenwrick S, Watkins A, De Angelis E (2000) Neural cell recognition molecule L1: relating biological complexity to human disease mutations. *Hum Mol Genet* 9:879–886 [First citation in article](#) | [PubMed](#)
 - Kokalj-Vokac N, Marcun-Varda N, Zagorac A, Erjavec-Skerget A, Zagradisnik B, Todorovic M, Gregoric A (2004) Subterminal deletion/duplication event in an affected male due to maternal X chromosome pericentric inversion. *Eur J Pediatr* 163:658–663 [First citation in article](#) | [PubMed](#)
 - Lachlan KL, Collinson MN, Sandford RO, van Zyl B, Jacobs PA, Thomas NS (2004) Functional disomy resulting from duplications of distal Xq in four unrelated patients. *Hum Genet* 115:399–408 [First citation in article](#) | [PubMed](#)
 - Lahn BT, Ma N, Breg WR, Stratton R, Surti U, Page DC (1994) Xq-Yq interchange resulting in supernormal X-linked gene expression in severely retarded males with 46,XYq- karyotype. *Nat Genet* 8:243–250 [First citation in article](#) | [PubMed](#)
 - Lammer EJ, Punglia DR, Fuchs AE, Rowe AG, Cotter PD (2001) Inherited duplication of Xq27.2→qter: phenocopy of infantile Prader-Willi syndrome. *Clin Dysmorphol* 10:141–144 [First citation in article](#) | [PubMed](#)
 - Luikenhuis S, Giacometti E, Beard CF, Jaenisch R (2004) Expression of MeCP2 in postmitotic neurons rescues Rett syndrome in mice. *Proc Natl Acad Sci USA* 101:6033–6038 [First citation in article](#) | [PubMed](#)
 - Meins M, Lehmann J, Gerresheim F, Herchenbach J, Hagedorn M, Hameister K, Epplen JT (2005) Submicroscopic duplication in Xq28 causes increased expression of the *MECP2* gene in a boy with severe mental retardation and features of Rett

- syndrome. *J Med Genet* 42:e12 [First citation in article](#) | [PubMed](#)
- Meloni I, Bruttini M, Longo I, Mari F, Rizzolio F, d'Adamo P, Devriendt K, Fryns JP, Toniolo D, Renieri A (2000) A mutation in the Rett syndrome gene, *MECP2*, causes X-linked mental retardation and progressive spasticity in males. *Am J Hum Genet* 67:982–985 [First citation in article](#) | [Full Text](#) | [PubMed](#)
 - Novelli A, Bernardini L, Salpietro DC, Briuglia S, Merlino MV, Mingarelli R, Dallapiccola B (2004) Disomy of distal Xq in males: case report and overview. *Am J Med Genet A* 128:165–169 [First citation in article](#) | [PubMed](#)
 - Orrico A, Lam C, Galli L, Dotti MT, Hayek G, Tong SF, Poon PM, Zappella M, Federico A, Sorrentino V (2000) *MECP2* mutation in male patients with non-specific X-linked mental retardation. *FEBS Lett* 481:285–288 [First citation in article](#) | [PubMed](#)
 - Ravn K, Nielsen JB, Skjeldal OH, Kerr A, Hulten M, Schwartz M (2005) Large genomic rearrangements in *MECP2*. *Hum Mutat* 25:324 [First citation in article](#) | [PubMed](#)
 - Samaco RC, Nagarajan RP, Braunschweig D, LaSalle JM (2004) Multiple pathways regulate *MeCP2* expression in normal brain development and exhibit defects in autism-spectrum disorders. *Hum Mol Genet* 13:629–639 [First citation in article](#) | [PubMed](#)
 - Sanlaville D, Prieur M, de Blois MC, Genevieve D, Lapierre JM, Ozilou C, Picq M, Gosset P, Morichon-Delvallez N, Munnich A, Cormier-Daire V, Baujat G, Romana S, Vekemans M, Turleau C (2005) Functional disomy of the Xq28 chromosome region. *Eur J Hum Genet* 13:579–585 [First citation in article](#) | [PubMed](#)
 - Schollen E, Smeets E, Deflem E, Fryns JP, Matthijs G (2003) Gross rearrangements in the *MECP2* gene in three patients with Rett syndrome: implications for routine diagnosis of Rett syndrome. *Hum Mutat* 22:116–120 [First citation in article](#) | [PubMed](#)
 - Teek R, Zordania R, Zörjanova T, Tammur P, Bartsch O (2004) Case report: boy with severe hypotonia, hypogenitalism, chronic interstitial pneumonia, and partial X disomy, karyotype 46,X,der(Y)t(X;Y)(q28;q11.2) [poster 0217]. *Eur J Hum Genet* 12:129 [First citation in article](#)
 - Thies A, Schachner M, Moll I, Berger J, Schulze HJ, Brunner G, Schumacher U (2002) Overexpression of the cell adhesion molecule L1 is associated with metastasis in cutaneous malignant melanoma. *Eur J Cancer* 38:1708–1716 [First citation in article](#) | [PubMed](#)
 - Van Esch H, Hollanders K, Badisco L, Melotte C, Van Hummelen P, Vermeesch JR, Devriendt K, Fryns JP, Marynen P, Froyen G (2005) Deletion of *VCX-A* due to NAHR plays a major role in the occurrence of mental retardation in patients with X-linked ichthyosis. *Hum Mol Genet* 14:1795–1803 [First citation in article](#) | [PubMed](#)
 - Vasquez AI, Rivera H, Bobadilla L, Crolla JA (1995) A familial Xp+ chromosome, dup(Xq26.3→+qter). *J Med Genet* 32:891–893 [First citation in article](#) | [PubMed](#)
 - Veltman JA, Yntema HG, Lugtenberg D, Arts H, Briault S, Huys EH, Osoegawa K, de Jong P, Brunner HG, Geurts van Kessel A, van Bokhoven H, Schoenmakers EF (2004) High resolution profiling of X chromosomal aberrations by array comparative genomic hybridisation. *J Med Genet* 41:425–432 [First citation in article](#) | [PubMed](#)
 - Zeev BB, Yaron Y, Schanen NC, Wolf H, Brandt N, Ginot N, Shomrat R, Orr-Urtreger A (2002) Rett syndrome: clinical manifestations in males with *MECP2* mutations. *J Child Neurol* 17:20–24 [First citation in article](#) | [PubMed](#)
 - Zoghbi H (1988) Genetic aspects of Rett syndrome. *J Child Neurol Suppl* 3:S76–S78 [First citation in article](#) | [PubMed](#)