

I Comment trier les variants identifiés par les séquençages haut débit?

Pour cela on prendra en exemple des individus issus de 10 trios parents sains / enfant avec retard mental.

Les maladies analysés grâce à ces arbres sont donc des maladies issues :

- de mutations récessives
- de mutation de novo
- d'une pénétrance incomplète
- de une mutation sur l'X
- de digénisme. **Digénisme:** Mutation du père hétérozygote et une mère mutation hétérozygote d'un autre gène donnent ensemble la maladie.

Au départ on a: 21755 variants génétiques à trier:

1er tri:

-Les variants de mauvaise qualité:

Quels sont t'il ? Tout simplement les variation que l'on observe en faible proportion.

Pourquoi observe t'on en faible proportion des mutations de SNP? (ex: 24 T et 6 C observés)

Une des possibilités est que cela est du a des erreurs de séquençage. La Taq polymérase fait de nombreuses erreurs. (1 erreur toutes les 300nt) Il semble toute fois possible de s'affranchir de cela si on possède de nombreuses copies d'adn..

Le mosaïssisme peut également causer cela.

Mosaïssisme: ADN du sang plupart des cellules sont T mais certains sont C .. Le mosaïssisme c'est donc quand on présente des différences de génotype en fonction de la lignée cellulaire.

-Intronique et non génique éliminé:

Certaines séquences peuvent ne pas avoir été éliminé. On les repère en alignant les séquences avec le génome humain.

-Synonyme

On cherche des mutations susceptible de causer une maladie, on élimine donc toutes les mutations synonymes.

A ce point il reste 5640 variants restants.

2e tri:

-Exclure tout les variants connus. Il ne devrait pas être retrouvés dans la population générale de façon normale. On cherche des évènements rares.

Dès lors il reste 143 variants restants. Ce sont des variants non synonymes, jamais observés auparavant.

3e tri:

-Exclusion les variants hérités. Hypothèse de mutation de novo (Exclusion de récessif, digénisme)

A ce moment il reste 2 à 7 variants par enfant observé.

Reséquencage:

Les 51 variants ont été séquencés classiquement et 38 variants ont été exclus.
Les séquençages classiques sont réalisés 50 fois environ et on regarde la base la plus observée.
A ce moment on observe que l'un des parents était probablement porteur mais n'avait pas été détecté par le séquençage haut débit. (*couverture pas assez forte dans cette région du génome.*)

Observations:

Observation des variants isolés: (13 variants)
Observation de la fonction du gène. On peut alors permettre de faire un tri. Certains gènes touchés sont plus susceptibles de causer une maladie que d'autre.
On a trouvé dans 80% des cas la cause génique probable de la maladie.
C'est donc une technique qui fonctionne de façon efficace sur les mutations de novo.

II L'importance du contexte des mutations

Que fait t'on lorsque les exomes ne donnent pas de résultat? (car l'exome est de mauvaise qualité ou bien parce que la mutation est non exonique.)
Quelle peut être alors le type de mutation ?

-Mutation d'un promoteur. Module l'expression du gène

-Mutation dans les introns. Module l'épissage

-Mutation dans les parties 5' ou 3' UTR. Stabilité des ARN, régulation de la traduction altérée.
Micro RNA: Petits ARN exprimés qui ciblent les parties 3' des gènes. Ils sont complémentaires de leurs cibles dans ces fameuses parties 3'UTR et régulent la transcription ou la traduction. C'est donc une source de maladie possible.

-Mutations synonymes.

Progeria: maladie vieillissement précoce. Issue d'une mutation synonyme.

Comment trier les mutations non synonymes, délétères ou non délétères?

-Lorsque l'on observe un changement d'acide aminé pour déterminé si le changement est délétère ou non on regarde si la charge des acides aminés est très différentes.

Il existe des matrices qui donnent un score pour la pathogénicité possible du à un changement d'acide aminé.

-Si la structure de la protéine est connue on peut déterminer en fonction de la localisation la mutation si elle a plus de chance d'être délétère.

-Si chez tout les homologues l'acide aminé est conservé. Il est possible que l'altération de celui ci soit pathogène.

On trouve par ailleurs aujourd'hui des algorithmes permettant de calculer la probabilité du caractère délétère d'un changement d'acide aminé.

Si on ne trouve pas de résultat en triant les mutations faux sens, l'explication peut provenir d'une hétérogénéité génétique.

III Les interactions entre les gènes

L'hétérogénéité génétique: Plusieurs gènes peuvent donner un même phénotype.

Certaines maladies sont toutes regroupées sous un même nom (ex autisme) mais en réalité il existe

des causes très variables. Un pattern peut être trouvé en identifiant de nombreux gènes, on peut alors même mettre en évidence un pathway (=voie biologique) dans la cause de la maladie.

Il existe de nombreux types d'interaction géniques:

L'épistasie:

Qu'est ce que l'épistasie ?

Par exemple:

Gène A est responsable de la formation des cheveux

Gène B est responsable de la couleur des cheveux

Le gène A est épistatique sur le gène B. Son expression (ou ici absence d'expression) peut masquer l'expression d'un autre gène

Le polygénisme:

Polygénisme. Un phénotype est la conséquence de l'effet de plusieurs gènes. (*le digénisme est un exemple de polygénisme*)

Pour expliquer le polygénisme on prend par exemple: 2 gènes qui codent des protéines similaires.

La mutation des 2 gènes entraîne alors la maladie.

Les caractères multifactoriels.

Pour comprendre l'exemple des caractères multifactoriels on prendra l'exemple de la taille du cerveau. 2 hypothèses pour expliquer les caractères multifactoriels:

Hypothèse du tout additif.

De nombreux gènes font que la taille est importante. Chacun augmente un peu la taille.

Hypothèse du tout épistatique.

Plusieurs mutations entre elles donnent des variations importantes. Les mutations isolés ne provoquent pas cependant la maladie.

IV Epigénétique.

Epigénétique: Tout ce qui est transmissible héritable mais qui n'est pas codé par une séquence héritable, (ATGC...)

ex: méthylation de l'adn, acétylation des histones etc..

Inactivation de l'X:

Un corpuscule de Barr est un chromosome X qui est condensé et inactivé.

Caractéristiques spécifiques du corpuscule de Barr (Différent X classique): Ilots CpG méthylés, histones hypoacétylés, entre tard en phase S

La cellule détecte le nombre de chromosomes X et inactive pour n'en garder qu'un quel que soit les cas.

Comment est-il inactivé ?

Un X d'un des parents est inactivé dans les cellules de façon aléatoire. Ensuite l'inactivation va être constante dans la lignée.

Certaines activations semblent être tissu spécifique cependant, dans le cerveau notamment.

On a étudié ce mécanisme notamment grâce à une maladie: la dysplasie ectodermique anhidrotique: Certaines régions présentent des problèmes de sudations à cause d'une maladie liée à l'X en fonction de l'inactivation.

Comment est t'il inactivé ?

Le X inactivé va exprimer le gène Xist. Cet ARNm ne code aucune protéine.
Il va « décorer » (s'enrouler autour de) l'X inactivé et se déclenche alors des métylations etc..

L'empreinte parentale.

Exemple avec le Syndrome de Prader-Willi

2 maladies transmises par le même locus sur le chromosome 15 (Délétions le plus souvent)

Lors de la délétion, si celle-ci est d'origine paternelle, on obtient un syndrome de Prader

Certaines régions se « rappellent » donc si elle était d'origine paternelle ou maternelle.

Une différence de méthylation est sans doute responsable de cette différence. Le gène est inactivé alors par un ARN non codant.

Dans certains cas on observe ce syndrome lors d'une Unidisomie paternelle ou maternelle:

Dans le cas d'une unidisomie maternelle, le chromosome maternel a pris la place du chromosome paternel mais la même quantité d'ADN est détectée mais

Le segment maternel se souvient toujours de sa provenance.

On observe dans un snipPeep des chromosomes identiques et des faibles taux d'hétérozygotie.