

L'exploration du gène

Dr Philippe KHAU VAN KIEN

L'analyse de l'ADN

- Identifier la(es) mutation(s) responsable(s) d'une maladie génétique
- maladies « monogéniques » +++
- Marqueur indépendant de l'âge et du phénotype
- Utile (svt indispensable)
 - confirmer un diagnostic clinique chez un malade (cas index)
 - dépister chez ses apparentés un risque de développer la maladie (prédictif, prévention...) ou de transmettre la maladie (conseil génétique, DPN...)
- Parfois : corrélations génotype / phénotype (pronostic), physiopathologie / thérapies

Techniques / Stratégies

- **Innovations technologiques croissantes:** multitudes de méthodes et d'approches différentes
- **Principaux critères de choix des méthodes :** Efficacité, Fiabilité, Coût, Rapidité, Automatisation
- En fonction de la maladie, du(es) gène(s) étudié(s), du type de mutations à rechercher, des contraintes techniques :
 - 1 maladie / 1 mutation
 - 1 maladie / des mutations fréquentes ou un point chaud de mutation (région du gène) dans un gène
 - 1 maladie / mutations réparties dans tout le gène (différentes tailles)
 - 1 maladie / plusieurs gènes
 - Diagnostic indirect

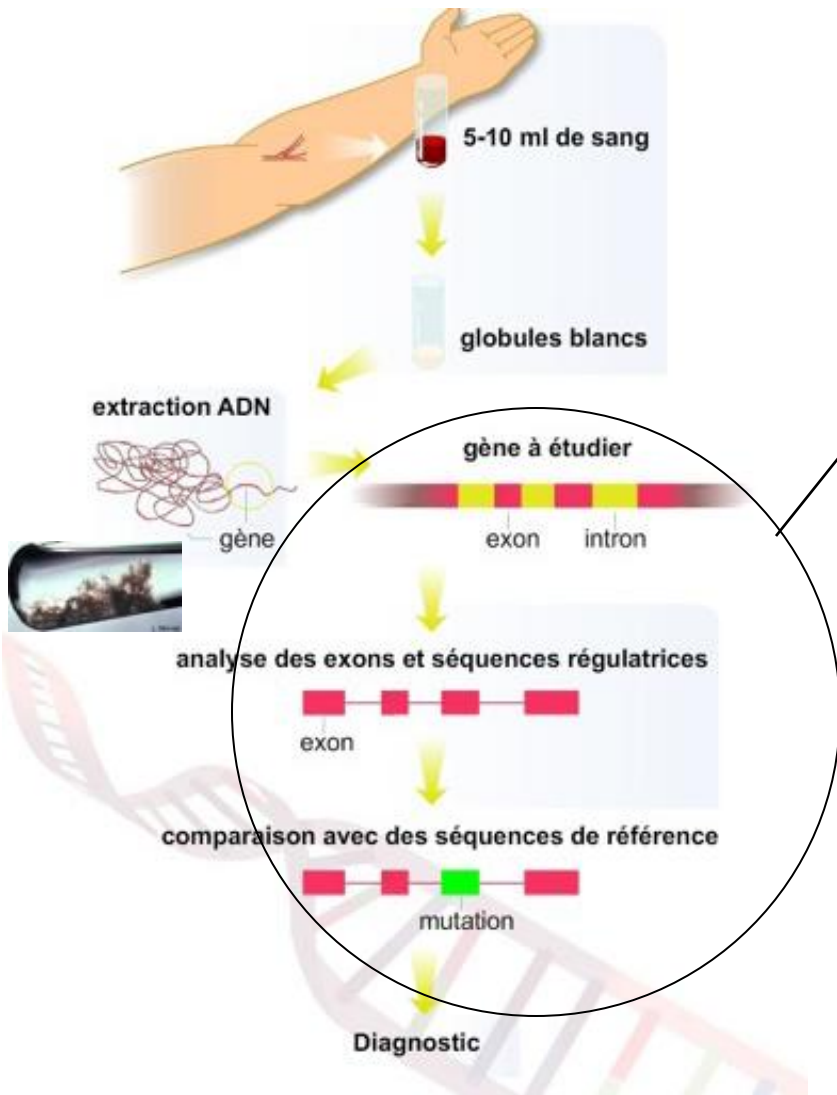
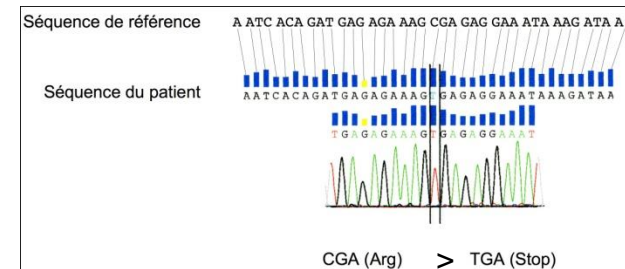
Stratégies directes

Le + svt étape préalable à l'analyse :
amplification de la région d'intérêt
(amplicons) en un très grand nombre
de copies (PCR)

Recherche ciblée :

- analyse de la taille +/- coupure enzymatique (SB, RFLP...)
- changements de propriétés du fragment d'intérêt induites par la mutation (détection hétéroduplex, domaines de fusion, puces ADN...)

Séquençage direct
de chaque
amplicons

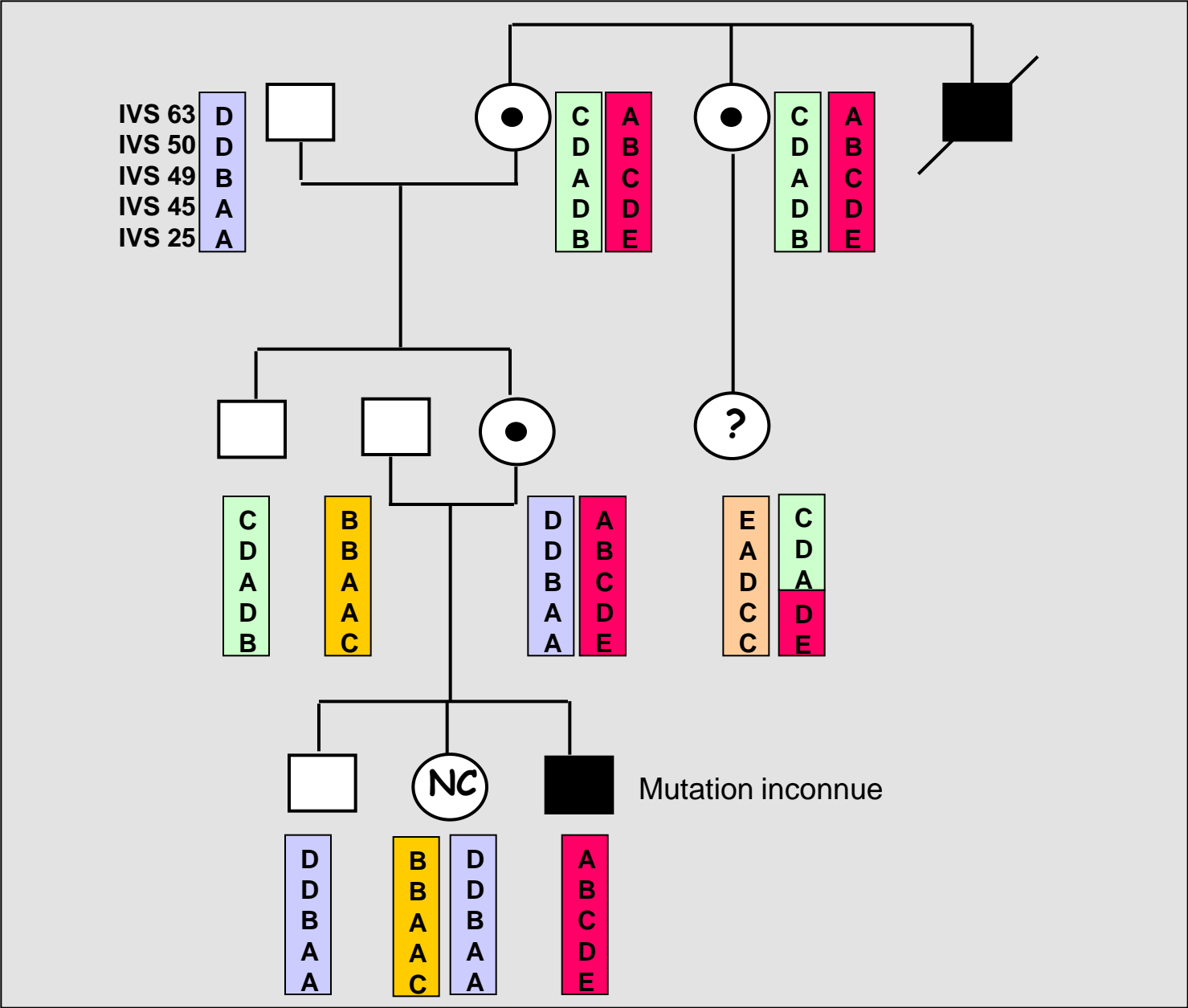


Quelques écueils....

- **La mutation identifiée est-elle bien responsable de l'anomalie (VSI) ?**
 - Nécessite des études complémentaires et souvent les prélèvements d'autres membres de la famille (y compris parent(s) indemne(s)) et/ou l'obtention d'autres tissus (biopsies de peau ou autre pour ARNs)
 - **Valeur relative d'un résultat négatif:**
 - taux de détection des mutations incomplet : limites technologiques, autre(s) gène(s) impliqué(s) ou mauvaise orientation clinique?
 - **Maladies autosomiques récessives :**
 - les mutations sont-elles portées par le même chromosome (en cis) ou deux chromosomes différents (en trans)?
 - Nécessite de vérifier que chaque mutation est bien héritée de chacun des parents (prélèvements des parents indispensable)
- > Expertise, qualité des interactions clinicien/biologiste

Diagnostic indirect

- **Utilise les marqueurs génétiques neutres** (polymorphismes, empreintes) de la région d'un gène
- **Stratégie utilisée par défaut**
 - Lorsque la mutation n'est pas identifiée (ou causalité incertaine)
- **Stratégie utilisée par choix**
 - Réduire le nombre de gène à analyser (hétérogénéité génétique, nbx gènes impliqués)
 - Sécuriser le diagnostic en combinaison avec une analyse directe (origine du prélèvement ?, pb d'interprétation, repérer une éventuelle contamination, DPN, DPI+++)
 - Délai d'analyse trop court pour appliquer analyse directe (grossesse en cours)
- **Nécessite :**
 - Une bonne participation des membres de la famille (prélèvements / génotypage) et un statut clinique fiable de chaque participant (renseignements, évaluation, phénotypage)



Perspective

Analyses ciblées (1 ou pls gènes) / séquençage individuel (exome / génome)



Course au génome à 1000 dollars !

L'exploration du gène

Dr Philippe KHAU VAN KIEN