

INFORMATION CONCERNANT LES ANALYSES GENOMIQUES

Array Comparative Genomic Hybridization (array CGH)
Single Nucleotide Polymorphism array (SNP array)
Massive Parallel Sequencing (MPS)

Brochure d'information

Version 1/20150504

Design by Ben Caljon, UZ Brussel



B.U.N.143201524795



Universitair Ziekenhuis Brussel



Centrum voor
Medische Genetica



BRIGHT
core

INTRODUCTION

QU'EST-CE QU'UN GENE, QU'EST-CE QU'UN GENOME, QU'EST-CE QU'UN EXOME?

Chaque être humain est constitué de milliards de cellules. Chaque cellule contient de l'information génétique, stockée dans deux types de compartiments cellulaires: le noyau (qui contient notre génome, organisé en chromosomes), et les mitochondries (contenant notre ADN mitochondrial).

L'information génétique est constituée d'ADN. L'ADN est une chaîne double brin d'acides nucléiques (ou nucléotides, ou bases). Quatre types de bases existent: A, T, G et C. C'est la succession (ou séquence) de ces quatre bases qui contient l'information génétique.

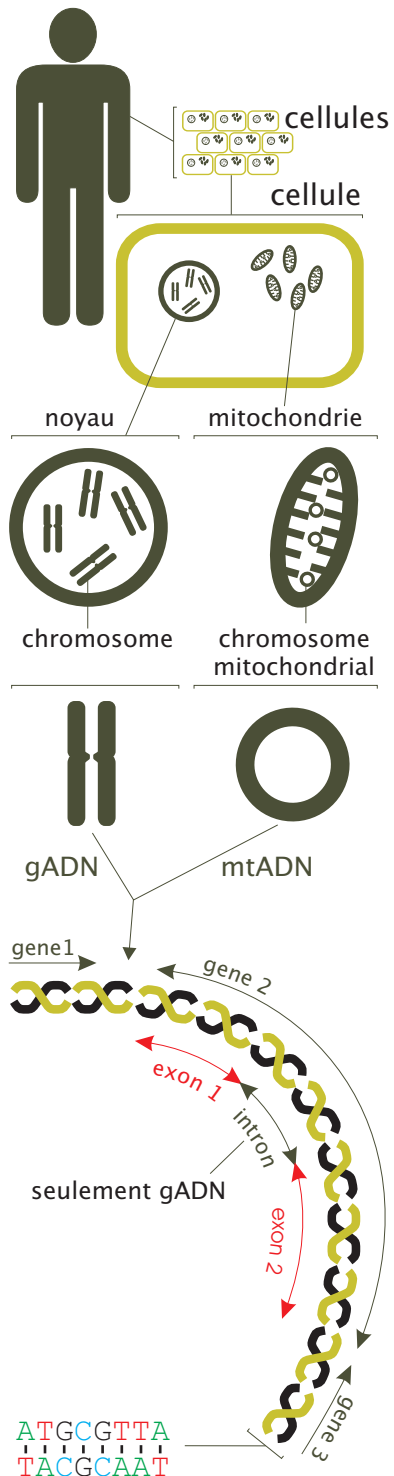
Différents noms sont donnés à différents aspects ou parties de notre ADN.

CHROMOSOME est le nom donné à l'ADN, quand il est compacté lorsque la cellule se divise, et devient visible au microscope sous la forme de deux paires de 23 chromosomes (donc 46 au total). Nous recevons 23 chromosomes de notre mère, et 23 de notre père. La 23e paire, les chromosomes sexuels, détermine le sexe. En effet, les femmes ont deux chromosomes X, alors que les hommes ont un chromosome X et un chromosome Y.

GENOME est le nom donné à l'ADN contenu dans les 23 chromosomes. Nous avons deux copies du génome, (une reçue de notre mère, une de notre père). Chaque copie est faite de 3 milliards de paires de bases (3 Gb).

GENE est le nom donné à une petite partie du génome, qui contient les informations pour fabriquer des protéines. Les protéines sont les éléments clés pour l'orientation du développement et le fonctionnement de notre corps. Les gènes sont composés d'exons (qui contiennent l'information essentielle pour construire les protéines) et des introns (qui ne font pas partie des protéines). Nous avons environ 30 000 gènes dans notre génome.

EXOME est le nom donné au sous-ensemble de notre génome, composé de tous les exons de nos gènes. La plupart des maladies génétiques s'expliquent par des erreurs dans l'exome, même si celui-ci n'est constitué que d'environ 1% du génome humain total.



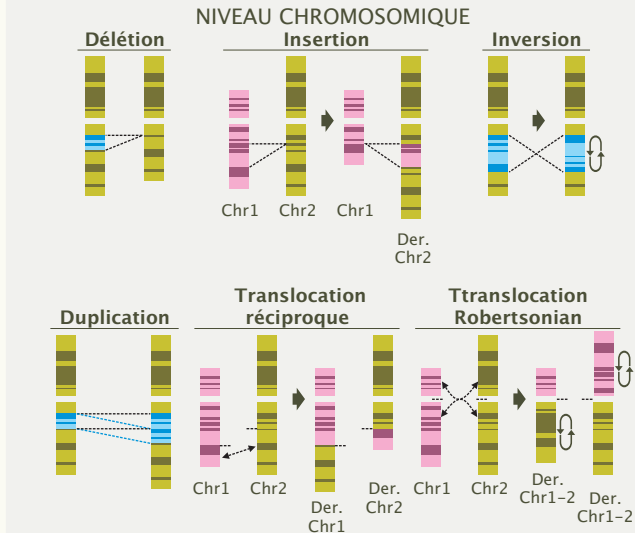
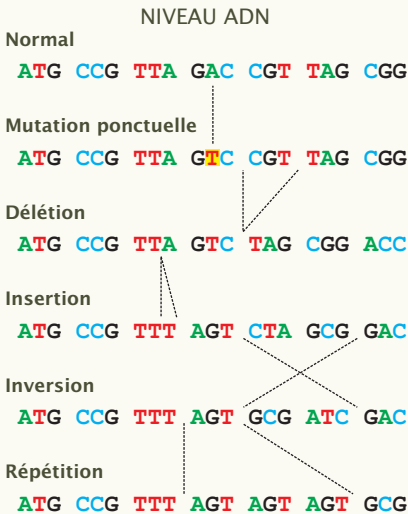


Les **MITOCHONDRIES** peuvent être considérées comme les usines énergétiques de la cellule. Les mitochondries ont leur propre ADN, qui est constitué d'environ 16 500 bases, et est donc beaucoup plus petit que le génome ou l'exome. Néanmoins, des erreurs dans l'ADN mitochondrial peuvent donner lieu à des troubles complexes, qui peuvent atteindre le muscle, le foie, ou le cerveau.

QUELS SONT LES TYPES D'ANOMALIES GENETIQUES?

Notre ADN génomique et mitochondrial contient des variations, qui déterminent l'apparence (phénotype) d'une personne (par exemple la couleur des yeux et des cheveux), mais aussi si cette personne est plus sensible à certaines maladies, ou est atteinte ou porteuse d'une maladie génétique.

- Des **mutations ponctuelles** sont des changements d'une ou de quelques bases spécifique(s)
- Les **délétions** consistent en la perte d'une ou plusieurs bases, ou de fragments encore plus grands (exon(s) / gène(s) / fragment(s) chromosomique(s))
- Les **duplications** se composent de quelques bases, ou de fragments encore plus grands (exon(s) / gène(s) / fragment(s) de chromosome) qui sont dupliqué(e)s
- Ces délétions et duplications d'exons, de gènes ou de fragments chromosomiques sont appelés **Copy Number Variant (CNV)**
- Les **insertions** sont constituées d'insertion d'une ou plusieurs bases, ou de fragments encore plus grands (exon(s) / gène(s) / fragment chromosomique(s))
- Les **inversions** consistent en inversions de fragments (le plus souvent larges) au sein d'un chromosome
- Les **répétitions** consistent en répétitions de deux ou plusieurs bases; celles-ci se rencontrent dans les maladies à expansion de triplets
- Les **translocations** consistent en un échange de matériel génétique entre deux chromosomes n'appartenant pas à la même paire de chromosomes; les translocations peuvent être équilibrées (aucune perte nette d'ADN) ou déséquilibrées (avec une perte nette d'ADN)
- Les **aneuploïdies** consistent en la sur- ou sous-représentation d'un ou plusieurs chromosomes (complets)



COMMENT POUVONS-NOUS EXPLORER NOTRE ADN GÉNOMIQUE OU MITOCHONDRIAL?

Différentes techniques ont été développées pour identifier les anomalies génétiques, mais aucune technique ne peut les identifier toutes.

HYBRIDATION GÉNOMIQUE COMPARATIVE (CGH ARRAY)

La CGH array permet la comparaison de petits morceaux chromosomiques du patient à ceux d'une personne contrôle. La CGH array peut identifier des variations de la «quantité» d'ADN, telles que les délétions ou les duplications, d'au moins une certaine taille (qui dépend du type d'array utilisé), et qu'on appelle Copy Number Variants ou CNV. Comme nous pouvons déterminer la position exacte de chaque partie chromosomique sur l'array, nous pouvons déduire quelles régions (et donc quels gènes) sont sur- ou sous-représentés. Les CNV peuvent être à l'origine d'anomalies congénitales et/ou de déficience intellectuelle. D'autres peuvent être des facteurs de risque, par exemple pour l'apparition de difficultés d'apprentissage ou d'une déficience intellectuelle, et peuvent être hérités d'un parent normal. La plupart des délétions et duplications identifiées sont bénignes (et non rapportées), ou de signification clinique encore inconnue. Dans un contexte prénatal, seul les pathologiques établies, ou très probablement pathologiques, sont signalées. La CGH array ne peut pas détecter d'altérations dans la séquence d'acides nucléiques.



NIVEAU ADN	noyau	mitochondrie
Mutation ponctuelle	-	-
Délétion	-	-
Insertion	-	-
Inversion	-	-
Répétitions	-	-
Régions homozygotes (UPD/LOH)	-	/
NIVEAU CHROMOSOMIQUE		
Délétion	+	-
Insertion	+	-
Inversion	-	-
Duplication	+	-
Translocation - équilibrée	-	/
Translocation - déséquilibrée	+	/
Aneuploidies	+	/

+ : détectable
 ~ : parfois détectable
 - : pas détectable
 / : pas applicable

ARRAY DE POLYMORPHISMES NUCLEOTIDIQUES (SNP ARRAY)

Un SNP array a plusieurs parallèles avec la technologie de CGH array. Le SNP array détecte aussi des délétions et duplications de fragments chromosomiques, mais aussi des variations d'une seule base (SNP). Il peut être utilisé pour tracer la transmission de petites régions chromosomiques dans une famille. Ceci est étudié dans le cadre de maladies récessives, surtout quand il y a une consanguinité parentale. Il peut être utilisé pour tracer l'association entre une maladie et des régions dans le génome pour une famille spécifique, ce qu'on appelle une étude de liaison familiale. Dans ce cas, plus le nombre de membres (atteints) de la famille testés est élevé, plus on a de chances de mettre en évidence l'anomalie génétique correspondante. L'étude de liaison contribue également à l'interprétation des résultats des autres tests, comme le séquençage d'exome ou de génome. Le SNP array permet également d'identifier les disomies uniparentales, situations dans lesquelles, les deux copies d'un fragment ou d'un chromosome entier sont héritées d'un même parent et non des deux. Ceci peut être à l'origine de certaines maladies rares.



NIVEAU ADN

	noyau	mitochondrie
Variation ponctuelle	~	-
Délétion	~	-
Insertion	-	-
Inversion	-	-
Répétition	-	-
Régions homozygotes (UPD/LOH)	+	/

NIVEAU CHROMOSOMIQUE

Délétion	+	-
Insertion	+	-
Inversion	-	-
Duplication	+	-
Translocation – équilibrée	-	/
Translocation – déséquilibrée	+	/
Aneuploidies	+	/

ANALYSE D'UN SEUL GENE

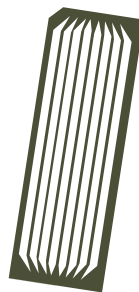
Lorsqu'une maladie est connue pour être généralement causée par des mutations dans un gène donné, ce gène peut être analysé en premier lieu. Certaines maladies sont liées à des mutations récurrentes, que nous examinons en premier lieu. Pour d'autres gènes, des mutations très diverses sont décrites, auquel cas nous analysons la séquence complète du gène (séquençage des gènes).



NIVEAU ADN

	noyau	mitochondrie
Variation ponctuelle	+	+/~
Délétion	+	+/~
Insertion	+	+/~
Inversion	~	~
Répétition	~	~
Régions homozygotes (UPD/LOH)	~	/

SEQUENÇAGE MASSIF EN PARALLÈLE



Le séquençage massif en parallèle (dit MPS en anglais) est une technologie qui permet d'étudier simultanément le génome complet (ou partie de celui-ci). Cette technique permet d'étudier soit un ensemble de gènes (ce qu'on appelle un panel de gènes ou « gene panel »), soit tous les gènes (ce qu'on appelle un exome), voire le génome entier, ou encore la totalité de l'ADN mitochondrial. Jusqu'il y a peu, seule une approche séquentielle par gène candidat pouvait être proposée lors d'un bilan génétique, tandis qu'à l'heure actuelle, tous les gènes d'intérêt peuvent être analysés simultanément. Le MPS est donc la technique de choix pour les maladies/situations pour lesquelles des gènes différents peuvent être responsables du phénotype. Dans ce cas, le MPS peut grandement accélérer le diagnostic génétique. Il est important de noter que les analyses de « gene panel », d'exome, de génome ou d'ADN mitochondrial sont tous des tests différents. Selon les situations, le généticien, déterminera quel test est le plus approprié. Le MPS ne sera proposé que lorsqu'aucun test plus simple ou moins cher n'est disponible pour évaluer le diagnostic génétique. Le MPS génère de grandes quantités de données nécessitant, pour les analyser, d'outils bioinformatiques. Cette analyse peut être restreinte à un nombre limité de gènes, même si plus de données sont disponibles (comme pour un exome ou génome), ceci est appelée analyse ciblée "in silico" de gènes. Si aucun résultat ne peut être obtenu avec l'analyse ciblée, la recherche peut (selon le type de test utilisé au départ) être étendue à l'ensemble de l'exome ou du génome.



NIVEAU ADN

	noyau	mitochondrie
Variation ponctuelle	+	+
Délétion	+	+
Insertion	+	+
Inversion	+	+
Répétition	~	~
Régions homozygotes (UPD/LOH)	+	+

NIVEAU CHROMOSOMIQUE

Délétion	+	+
Insertion	+	+
Inversion	+	+
Duplication	+	+
Translocation – équilibrée	~	/
Translocation – déséquilibrée	+	/
Aneuploïdies	+	/

+ : détectable
 ~ : parfois détectable
 - : pas détectable
 / : pas applicable

ETUDE FONCTIONNELLE

Ce type d'analyse ne fait pas partie des procédures de routine en laboratoire. Pourtant, il pourrait être nécessaire d'analyser les conséquences des variations qui sont identifiées. Ceci n'est possible que via des projets de recherche dédiés. Ceci peut être réalisé par de nombreux moyens.

A QUEL GENRE DE RÉSULTATS PEUT-ON S'ATTENDRE?

- **Aucune anomalie** n'est identifiée, ce qui n'exclut pas la possibilité d'une maladie génétique.
- **Une ou plusieurs variations** qui **expliquent** votre phénotype sont identifiées.
- **Une ou plusieurs variations** sont identifiées qui **pourraient expliquer** votre phénotype. Cependant des recherches supplémentaires sont nécessaires pour en confirmer la causalité. Ceci pourrait être facilité en recherchant ces variations chez d'autres membres de la famille et/ou par un autre type de recherche.

Quand une analyse envisageant une large portion du génome (analyse dite «non sélective») est effectuée, une ou plusieurs variations associées à une autre maladie que celle ayant motivé le test peuvent être identifiées. Certains de ces **résultats «fortuits» ou «secondaires»** peuvent préciser un risque de développer des maladies pour lesquelles une prévention ou un traitement est disponible (par exemple les cancers héréditaires, les maladies cardiaques) Dans ces situations, des recommandations médicales bien précises sont à même de diminuer la sévérité et/ou la mortalité de la maladie. Avec votre consentement préalable, ces résultats secondaires vous seront transmis. La liste de ces gènes bien particuliers peut être consultée sur le site Web du Centre de Génétique Médicale

Lorsque qu'aucune variation n'est mise en évidence par MPS, un rapport temporaire sera émis. Une ré-analyse périodique pourra être envisagée (voir le paragraphe «quel suivi est possible ? »).

COMMENT GÈRE-T-ON LES RÉSULTATS DE VOS TESTS?

Compte-tenu du fait que les résultats de tels tests n'ont pas seulement un impact sur le patient, mais aussi sur les membres de sa famille, la loi sur la confidentialité de l'information génétique (et médicale) est d'application.

Toutefois, lorsque un test génomique est effectué, étant donné la complexité de l'analyse, nous pourrions demander les conseils d'experts externes, qui doivent également respecter la confidentialité génétique/médicale. Ces experts externes pourraient donc avoir accès à l'ensemble, ou à une partie seulement, des données pertinentes (ce qui pourrait inclure les informations génomiques et cliniques, mais exclut vos données personnelles). Lors du partage des données, vos résultats seront codés (dits « dé-identifiés »), de sorte qu'ils ne peuvent pas être couplés directement à vos données personnelles ou votre identité.

Vos données dé-identifiées pourraient être partagées avec des scientifiques experts et/ou des collaborateurs extérieurs, et/ou être utilisées afin d'améliorer l'analyse de données génomiques similaires; ce qui permettra à terme d'améliorer la qualité des soins de santé en général.

QUELLES SONT LES LIMITES ET LES RISQUES?

Du fait de la complexité du génome, des technologies utilisées et de l'analyse bioinformatique des données, les tests génomiques de type MPS ou les array, ont aussi leurs limites. Ainsi, il est possible que des anomalies ne soient pas détectées. L'efficacité avec laquelle certaines anomalies sont mises en évidence dépend également du type d'array, ou du type de technologie de séquençage utilisé. En général, la cause du trouble peut être élucidée dans 5% à 40% des cas, en fonction du type de pathologie, du mode de transmission, de l'histoire familiale, etc.

Soyez conscient que ces tests peuvent entraîner des découvertes secondaires (non liée à la maladie). Vous pouvez choisir d'en être informé, ou non.

COMMENT COMMUNIQUONS-NOUS LES RESULTATS?

Une fois que les résultats des tests de diagnostic sont disponibles, vous serez invité par le Centre Génétique certifié pour un conseil génétique. Les résultats du test et leur impact possible sur votre vie et celle de votre famille vous seront expliqués. Soyez conscient que vous pourriez être informé par étapes, en cas de résultats de tests intermédiaires. Il faut tenir compte de la nature complexe de ces tests, avec ses avantages, mais aussi avec ses limites et ses risques.

DE QUOI AVONS-NOUS BESOIN ?

Pour réaliser une CGH array, un SNP array ou une analyse génomique par MPS, nous avons besoin au minimum des éléments suivants:

- Un échantillon de sang (tube EDTA 10 ml) de vous et de vos proches, préférentiellement du 1er degré (par exemple les parents et / ou des frères et sœurs)
- Un consentement éclairé rempli et signé
- Pour valider les résultats dans un contexte de recherche, d'autres échantillons tels que la biopsie de la peau, pourraient vous être demandé ultérieurement, avec votre consentement.

QUELS SONT LES COÛTS?

Les tests génomiques sont chers. Toutefois, certains de ces tests et la consultation génétique sont remboursés par le système national de soins de santé (pour la Belgique INAMI) de telle sorte que seule une contribution limitée, vous est demandée. Les coûts d'analyses d'exome ou de génome effectuées dans le cadre de la recherche seront pris en charge par les fonds de recherche de l'investigateur.

QUEL SUIVI EST POSSIBLE?

La génétique est un domaine qui évolue rapidement, et dans lequel les nouvelles découvertes sur les gènes, la fonction des protéines et l'impact de variations / mutations spécifiques sont régulières.

Si aucun résultat concluant n'est disponible au moment du test, nous pourrions, à un stade ultérieur, poursuivre ou reprendre l'analyse de ces données, dans un contexte scientifique, en fonction de l'évolution des ressources, des données scientifiques, et des mises à jour disponibles. Les résultats concluants qui en résulteraient vous seraient alors communiqués.



QUESTIONS

Voulez-vous recevoir des informations supplémentaires sur les tests génomiques après avoir lu cette brochure d'information?

Avez-vous des remarques sur le consentement éclairé ou des questions quant à l'utilisation des résultats de vos tests?

Voulez-vous simplement échanger des opinions ou des idées?

N'hésitez pas à en parler avec votre médecin, ou à prendre rendez-vous en consultation de génétique.

T +32(0) 2 477 60 71

F +32(0) 2 477 68 60

M cmg@uzbrussel.be

<http://www.brusselsgenetics.be>