

Formulaire de stage (sur une page maximum)  
Parcours M2 GGBS 2019-20

**Laboratoire :** Unité de recherche de l'Institut du Thorax

**Intitulé/N° d'équipe :** Equipe Emergente de recherche en Génétique : Inserm UMR1087/CNRS UMR 6291

**Nom-Prénom de l'encadrant :** Pr Stéphane Bezieau

**Courriel de l'encadrant :** stephane.bezieau@chu-nantes.fr

**Titre du stage :** Favoriser l'accès au diagnostic et l'identification de nouveaux gènes dans les maladies rares : une nouvelle stratégie de séquençage de l'exome.

**Résumé du projet proposé :**

De façon collective, les **maladies rares** concernent près de 3 millions de personnes en France. La déficience intellectuelle (DI) isolée ou syndromique est un des premiers motifs de consultation, avec près de 25% de causes génétiques identifiées.

Le **séquençage de l'exome** (régions codantes du génome) par séquençage à haut débit est d'un intérêt majeur dans l'identification de variants impliqués dans les maladies rares (environ 25-30% de rendement diagnostique dans la DI). Il permet l'analyse combinée de plusieurs milliers de gènes et une ré-analyse des données bioinformatiques au gré des avancées scientifiques. Le **séquençage simultané de l'exome des parents avec celui du cas index** (étude « **en trio** ») est d'un intérêt tout particulier car il permet de détecter rapidement les variants *de novo* (non hérités des parents). La présence d'un variant *de novo* est un argument fort pour l'impliquer en pathologie et le discriminer des multiples autres variants retrouvés par exome. Néanmoins, du fait d'un coût relativement important, l'accès à l'exome, et notamment en « trio » reste limité à un petit nombre de patients en routine.

Le but de cette étude est de mettre au point une **technique de regroupement des ADN parentaux (ou pooling)** sous un même index/identifiant de séquençage pour diminuer les coûts de cette analyse. Il s'agira de comparer les variants de chaque patient (séquencé isolément), avec ceux du « pool » d'ADN parentaux.

Le projet aura deux aspects:

1. **Mise en place technique du regroupement (ou pooling) des ADN parentaux**, sur séquenceur de nouvelle génération (NextSeq550 Illumina). Le regroupement diminuant forcément la profondeur d'analyse, il sera nécessaire de définir le nombre de parents pouvant être regroupés, tout en gardant une fiabilité dans l'identification des variants.
2. **Identifier de nouveaux gènes/variants pathogènes** responsables de maladies rares chez les patients séquencés pour l'étude du pooling. Les patients recrutés par le service de Génétique Clinique auront un phénotype très précis: syndrome polymalformatif avec une **déficience intellectuelle**, pouvant donner lieu à l'identification de nouveaux gènes.  
L'analyse des variants donnera lieu à la réalisation d'études fonctionnelles étudiant leur impact sur l'épissage (RNA-Seq) ou sur la qualité/quantité de la protéine synthétisée (analyse Minigène ou Western-Blot).