

PROGRAMME D'ACTIVITE
CENTRE NATIONAL DE GENOTYPAGE

INTRODUCTION

La génétique humaine a connu ces dernières années un essor considérable. Pionnière et novatrice, la France a joué un rôle central dans ces développements, grâce à la fois à une concentration de moyens et au développement de nouveaux outils mis à la disposition des communautés scientifiques française et internationale.

Ces outils ont largement contribué aux récents succès de la génétique médicale, essentiellement concernée par les maladies monogéniques. Ils ont également permis la conceptualisation et le lancement d'études de maladies fréquentes dites complexes ou multifactorielles qui touchent la population et la médecine dans leur ensemble. Des progrès significatifs majeurs ont déjà été réalisés, par exemple dans les domaines du diabète ou de la démence. Le rythme de ces avancées ira s'accéléralant avec la mise en oeuvre de nouveaux programmes de recherche et des outils correspondants. La génétique est ainsi considérée comme l'une des voies prioritaires au développement de nouvelles approches thérapeutiques et préventives de la médecine du siècle prochain, et elle aura un impact majeur sur la nosologie de demain.

L'identification de gènes morbides dans les maladies complexes est une tâche lourde. Sa réalisation nécessite impérativement une organisation qui doit prendre en considération les dimensions et complexités de la tâche et des enjeux, en tenant compte de la compétition internationale, de l'évolution constante des outils et de l'échelle des études. Elle ne peut se faire sans programmation et engagement à long terme. Les exemples allemands, américains, anglais et japonais nous prouvent que la poursuite de ces objectifs nécessite la concentration de ressources dans de grosses structures capables d'assurer un suivi à longue échéance.

Compte tenu des retombées escomptées de ces secteurs de recherche en génétique humaine dans les domaines de la santé publique, scientifique et économique, il nous paraît essentiel de préserver l'acquis et de permettre à la France de se maintenir dans son rôle de tête de file, en créant le Centre National de Génotypage. Ce Centre, en interaction avec le Centre National de Séquençage, Infobiogen, le CEPH et autres pôles de génomique en France, assurera la présence de la France sur la scène internationale.

MISSIONS DU CENTRE DE GENOTYPAGE

L'objectif du Centre de Génotypage est de contribuer à l'identification de gènes morbides impliqués dans les maladies héréditaires, notamment les maladies complexes, en collaboration avec d'autres laboratoires de recherche. Le Centre aura pour responsabilité d'assurer l'application, le maintien et le développement continu d'outils génomiques; il garantira aux laboratoires nationaux accès et formation à la fois à son savoir-faire et à l'utilisation de ses équipements, ainsi que diffusion et transfert technologique. Ses activités favoriseront le développement de l'infrastructure scientifique nécessaire à l'implémentation industrielle de ces applications, et à la valorisation des découvertes faites dans le secteur public qui sera d'autant plus effective que l'état de la recherche génétique sera plus avancée.

Le maintien d'un outil puissant et moderne de génotypage est une condition nécessaire mais non suffisante pour assurer le rôle et la réussite des activités du Centre. Le génotypage est un outil en constante évolution. La nature des problèmes scientifiques abordés nécessite l'accès à un nombre de marqueurs supérieur à celui disponible aujourd'hui (et passer de 10,000 à plus de 100,000). Le Centre contribuera non seulement au développement de marqueurs mais aussi au développement et à

l'introduction de technologies émergentes de génotypage (telles que l'électrophorèse en capillaire, l'utilisation de marqueurs bialléliques, ou des "puces à ADN"). Ajoutons à cela que, eu égard au nombre de marqueurs et à la taille des échantillons à analyser, afin d'atteindre des seuils de significativité statistique, le Centre devra aussi s'assurer la capacité de traitement de grands volumes. Ce travail sera poursuivi par une étape essentielle de vérification et d'analyse de la qualité des données de génotypage. La réalisation de ces objectifs, aux normes industrielles, nécessitera une automatisation adéquate, justifiant besoins en informatique et robotisation.

Mais le génotypage n'est qu'une étape intermédiaire vers l'identification des gènes morbides. Elle suit les étapes de recensement, phénotypage et collecte. Elle sera suivie par l'analyse statistique des résultats génétiques, l'établissement de cartes physiques des régions suspectées, l'application des techniques de clonage positionnel, le séquençage de régions définies du génome et l'identification et validation de gènes candidats. Pour la validation du caractère morbide d'un gène particulier il faudra souvent procéder à une recherche systématique pour la présence de mutations dans une région génomique définie sur un grand nombre de chromosomes. Ceci pourra se faire par séquençage à grande échelle ou en ayant recours à d'autres techniques de visualisation des variations de séquences. La complexité et l'ampleur de ces tâches nécessiteront l'innovation de démarches ou techniques adaptées, qui devront toutes être maîtrisées au Centre.

Les champs d'action du Centre font appel à des compétences scientifiques multidisciplinaires ayant recours à des technologies de pointe. Divers aspects de la génétique devront y être couverts, notamment : le recensement et la collecte des familles, l'établissement d'une banque d'ADN, le génotypage, l'analyse des données et contrôle de qualité, l'analyse génétique, l'épidémiologie génétique, le développement et utilisation des outils d'appoint pour l'identification des gènes morbides, l'étude de relations phénotypes/génotypes, de la pathophysiologie, et la création et l'étude de modèles animaux. Ces dernières étapes se feront en collaboration avec les laboratoires de recherche et les cliniciens impliqués dans l'étude de la compréhension du dysfonctionnement ou des aspects fonctionnels des gènes correspondants. Les généticiens épidémiologistes interviendront en amont et en aval de l'étude, c'est-à-dire aussi bien dans la programmation des protocoles expérimentaux que dans l'analyse et interprétation des résultats génétiques ou de l'établissement des relations phénotypes/génotypes.

Une particularité importante du Centre est qu'il regroupera sur un seul site toutes les compétences requises pour le travail proposé. Ceci lui permettra de fournir un encadrement approprié aux chercheurs externes souhaitant se former ou participer à l'une ou l'autre étape (moléculaire, statistique ou autre) du processus. Le Centre, par sa position et engagement dans ces divers programmes, jouera également un rôle fédérateur entre les intervenants.

Certaines de ces opérations (telles le séquençage de larges régions génomiques de l'ordre du Mégabase ou plus) se feront en collaboration étroite avec le Centre National de Séquençage dirigé par le Dr. Jean Weissenbach. Il existe de plus de nombreux autres points d'intérêts communs aux deux centres, tels les développements de nouvelles technologies, d'instrumentation ou outils informatiques, qui résulteront de cette interaction. De plus, ces Centres Nationaux auront le poids critique requis pour pouvoir négocier des transferts technologiques avec des industriels ayant développé des outils de génomique (par exemple, les DNA chips).

FONCTIONNEMENT DU CENTRE DE GENOTYPAGE

Le Centre aura une vocation de recherche basée sur des programmes ambitieux, tout en fournissant des prestations de services et de formation à la communauté génétique française, la proximité à la recherche étant la condition *sine qua non* garantissant la motivation, l'innovation et la qualité des prestations de services. Trois types de programmes seront menés au Centre : (1) des activités de recherche sous la responsabilité des chercheurs du Centre (bien que ces projets soient menés en collaboration avec des équipes ou réseaux externes) ; (2) des collaborations avec et sous la responsabilité d'équipes externes (qui délégueront des chercheurs dans le Centre pour animer et participer à la recherche) mais qui nécessitent néanmoins une participation active des chercheurs du Centre ; (3) un laboratoire d'accueil (plateau technique faisant appel à un personnel d'encadrement) sera disponible pour d'autres projets sous la responsabilité d'équipes extérieures et dans lesquels les chercheurs du Centre ne sont pas directement impliqués.

Les programmes potentiels du Centre seront évalués par un Comité Scientifique composé de scientifiques ayant une compétence reconnue dans le domaine de la génétique humaine. Le Comité Scientifique déterminera l'ordre de priorité des projets de recherche en fonction de leur intérêt scientifique, de leur faisabilité et de leur impact sur le plan international et sur la santé publique. Le Centre mettra à la disposition des projets de collaboration une partie de son personnel, son équipement, l'encadrement requis, et tout autre moyen nécessaire, et contribuera au financement de ces projets. Par ailleurs, le Centre pourra effectuer des projets académiques ou privés (après avis du Conseil Scientifique) avec des financements extérieurs.

Pour être en mesure de remplir ses objectifs le Centre National de Génotypage doit:

- 1) Assurer l'application, le maintien et le développement continu d'outils génomiques ;
- 2) Garantir aux laboratoires nationaux accès et formation à l'utilisation de ses équipements et à son savoir-faire, favorisant ainsi les transferts technologiques. Le Centre permettra ainsi un accès généralisé, en temps réel et à coûts réduits, à ces outils trop onéreux autrement ;
- 3) Assurer le recensement et la collecte des familles, et l'établissement d'une banque d'ADN pour ses programmes de recherches ;
- 4) Maîtriser et assurer un génotypage de qualité à grande échelle suivi d'une étape essentielle de vérification et d'analyse de la qualité des données ;
- 5) Minimiser la part manuelle des opérations répétitives par l'introduction de procédures automatisées et de systèmes de gestion informatisée (LIMS, Laboratory Informatics Management Systems) ;
- 6) Contribuer non seulement au développement de marqueurs mais aussi au développement et à l'introduction de technologies émergentes de génotypage, et rester ainsi à la pointe de ce secteur ;
- 7) Etre capable de réaliser l'analyse statistique et épidémiologique des résultats génétiques, et avoir une capacité de calcul correspondant ;
- 8) Etablir des cartes physiques des régions suspectées, appliquer les techniques de clonage positionnel, séquencer (avec l'aide du Centre National de Séquençage) des régions définies du génome et identifier et valider les gènes candidats ;

9) Etre à même d'accueillir des équipes extérieures et mettre à leur disposition l'espace requis pour la réalisation de leurs travaux.

Le Centre National de Génotypage doit disposer d'un budget propre, recruter des personnels sous contrat (CDD et CDI), et accueillir des enseignants - chercheurs et des chercheurs mis à sa disposition par les EPST (Universités, CNRS, INSERM, INRA, CEA, etc.). Il pourra également établir des contrats en tant que fournisseur ou client d'entreprises privées.

Pour réaliser une mission aussi complexe, le Centre s'appuyera sur des équipes dont la direction sera assurée par des chercheurs ou ingénieurs ayant déjà acquis une compétence dans les domaines considérés :

- Une unité assurant le recensement et la collection des familles, la culture cellulaire et l'extraction d'ADN ;
- Une unité de génotypage ;
- Une équipe de clonage positionnel, identification des gènes et recherche de mutations (polymorphismes);
- Un groupe de veille et développement technologique;
- Une équipe de génétique statistique et épidémiologie et de bioinformatique (application des logiciels existant, évaluation des outils, développement de nouveaux algorithmes, analyses statistiques, bases de données, etc.) ;
- Un laboratoire d'accueil (plateau technique ouvert aux équipes internes ou externes, faisant ou non appel à un personnel d'encadrement);
- Un espace d'accueil pour les équipes extérieures qui viennent réaliser une partie de leur projet au Centre.
- Des services communs (approvisionnements, laverie, atelier de petites réparations et de petite mécanique de proximité - chargé de certaines activités de maintenance de l'équipement, administration, bibliothèque, bureautique, etc.) ;
- Des unités traitant des projets scientifiques.

PROGRAMMES DE RECHERCHE PROPRES AU CENTRE

Deux types de projets seront pris en compte : d'une part la poursuite de projets déjà entamés (sous la direction de Mark Lathrop), et d'autre part le démarrage de nouveaux programmes de recherche. Seuls ces premiers seront détaillés ci-dessous à titre d'exemple.

L'étude de l'étiologie du diabète de Type I et des maladies cardiovasculaires (hypertension artérielle et infarctus du myocarde), parfois associées, font partie d'un programme de recherche pluriannuel. Ce programme qui a été entrepris à Oxford au cours de ces dernières années, sera transféré au Centre National de Génotypage. Ces études reposent sur des cohortes de familles et de cas témoins collectés essentiellement en France et en Angleterre, ainsi que sur des croisements de modèles animaux correspondants et de lignées congéniques dérivées de ces croisements. Une convention entre l'INSERM et le Wellcome Trust couvre une partie de ces activités, auxquelles plusieurs unités INSERM (U36, U358, SC7) et CNRS (EP10) collaborent.

L'état de cette recherche est tel que pour certains locus, des régions candidates bien cernées ont pu être définies et il est maintenant possible de lancer une recherche visant à identifier le(s) gène(s) morbide(s). Pour d'autres locus, les localisations sont encore relativement grossières ou nécessitent confirmation. Cette dernière sera obtenue en agrandissant le panel de familles et cas malades, et en approfondissant l'analyse

phénotypique (phénotypes associées, sous-phénotypes, etc.). Pour ces locus, l'analyse génétique (génotypage) doit être poursuivie. Enfin le criblage du génome doit continuer afin d'identifier d'autres gènes de susceptibilité potentiels. Ces trois niveaux de recherche, qui font appel à toutes les compétences décrites ci-dessus, seront poursuivis simultanément au Centre National de Génotypage.

Citons quelques exemples afin de clairement démontrer la synergie possible entre cette activité de recherche et les objectifs plus généraux du Centre. Afin d'identifier et valider les gènes candidats (positionnels et fonctionnels), il sera nécessaire de développer des outils permettant la mise en évidence rapide et efficace de variants de séquence sur un grand nombre de gènes et chromosomes. Ceci impliquera le développement ou l'adaptation de protocoles et équipement qui bénéficiera à toute la recherche. Pour identifier et préciser les régions candidates, il est nécessaire d'augmenter le nombre de marqueurs génétiques disponibles pour les études d'association. Notre objectif est de cartographier les marqueurs de type microsatellite développés à Généthon qui n'ont pas encore été utilisés. En effet, seuls les marqueurs présentant un haut taux d'informativité (une hétérozygotie élevée) ont été retenus pour être intégrés dans la carte génétique de Généthon. Notre expérience démontre aujourd'hui que les marqueurs qui ne présentaient apparemment pas d'intérêt pour les études de liaison, peuvent néanmoins être très informatifs pour les études d'association.. Ces marqueurs (que nous estimons être de l'ordre de 5.000) seront donc localisés sur la carte génomique (en utilisant le panel interspécifique d'hybrides d'irradiation), puis appliqués aux programmes d'études spécifiques et mis à la disposition d'autres projets.