



Un autre projet mis de l'avant par **GenomeCanada**

Technologies pour des études du méthylome

État	En cours
Concours	Développement de nouvelles technologies
Secteur	Développement de nouvelles technologies
Centre de génomique	Génome Colombie-Britannique
Chef de projet	Art Petronis

Description du projet

Le Projet du génome humain avait pour objectif ultime de déterminer la séquence des trois milliards « d'éléments génétiques » ou nucléotides qui composent le génome humain. La séquence du génome humain a une énorme valeur et pourrait révolutionner la recherche biologique et la médecine clinique. Elle fait aussi comprendre que la séquence complète du génome n'est que le commencement de notre compréhension de la biologie humaine. L'un des plus grands mystères est la régulation des gènes présents dans chaque cellule. Même si elles sont identiques génétiquement parlant, les cellules de tissus différents ont une apparence différente et remplissent des fonctions très différentes. Par exemple, même si des gènes de la dopamine sont présents dans les cellules du cerveau, des muscles et de la peau, ces gènes sont actifs dans les neurones, mais pas dans les muscles ou la peau. On croit maintenant que l'expression spécifique dans des tissus se fait par régulation épigénétique des gènes par des processus tels que la méthylation de l'ADN. Plus précisément, l'un des nucléotides, soit la cytosine, peut être présent dans deux états fonctionnels, méthylé ou non méthylé. Les cytosines méthylées sont parfois considérées comme la 5^e base de l'ADN humain.

Les profils de méthylation de l'ADN sont très variables selon les cellules, même dans le même organisme, et ces variations dépendent des tissus, de l'âge, du sexe, du régime alimentaire, et de nombreux autres facteurs. On constate de plus en plus que les facteurs épigénétiques peuvent causer diverses maladies humaines telles que le cancer, la schizophrénie, le diabète, l'asthme pour ne nommer que celles-là. Au cours de la dernière décennie, les chercheurs ont développé une série de nouvelles méthodes pour examiner les profils de méthylation de l'ADN dans de grandes régions de l'ADN – des chromosomes, voire des génomes complets. Malheureusement, toutes ces méthodes ont des limites considérables parce qu'elles ont besoin de grandes quantités d'ADN, n'interrogent qu'une petite fraction des nucléotides qui peuvent être méthylés et ne sont capables de scanner que de courts fragments d'ADN.

La présente demande à Génome Canada vise à développer un ensemble de nouvelles technologies pour l'analyse pangénomique de la méthylation de l'ADN, ou méthylome. Les chercheurs s'efforceront, dans un premier projet, de combiner deux technologies puissantes : le dépôt ciblé de grands groupes de biopolymères sur l'ADN, et l'application des « microarrays ». Des méthyltransférases d'ADN artificielles – des enzymes qui méthylent l'ADN – serviront à fixer des étiquettes fluorescentes sur des cytosines non méthylées, et ces fragments d'ADN étiquetés seront examinés sur des « microarrays ». Ces « microarrays » sont de petites plaquettes de verre qui contiennent des millions de courtes séquences d'ADN qui, en s'hybridant, mettent en évidence les fragments d'ADN non méthylés. Cette nouvelle approche offre de nombreux avantages par rapport aux méthodes actuelles de profilage de la méthylation de l'ADN sur les plans de la simplicité, de la sensibilité, de l'information obtenue et de la robustesse. Un autre projet aura pour objet de cartographier les cytosines méthylées dans tout le génome d'une cellule individuelle. La principale difficulté réside dans la manipulation d'une infime quantité d'ADN extraite d'une seule cellule, soit moins de 1/100 000 de 1/1 000 000 d'un gramme.

Par un certain nombre de manipulations, les fragments d'ADN qui ne contiennent pas de cytosines méthylées seront séparés de ceux qui en contiennent une forte densité. La fraction non méthylée du génome d'une cellule individuelle sera amplifiée à l'aide de la réaction en chaîne de la polymérase et analysée au moyen des « microarrays ». Cette procédure sera reprise individuellement pour de nombreuses cellules, et les profils pangénomiques de méthylation propres à une cellule seront établis. Finalement, nous tenterons d'adapter ce qu'on appelle le séquençage en profondeur aux études méthylomiques fines de génomes complexes pour obtenir des cartes de méthylation de l'ADN très détaillées pour diverses cellules dans une même expérience. Cette technologie est fondée sur le séquençage simultané de millions de fragments d'ADN modifiés.

Les nouvelles technologies peuvent contribuer considérablement à notre compréhension, entre autres questions importantes des sciences de la vie, du développement, de la différenciation des tissus, et du vieillissement. Plus encore, les études pangénomiques de la méthylation de l'ADN peuvent permettre d'identifier des signatures uniques et révélatrices de maladies humaines courantes telles que le cancer, le diabète, la schizophrénie, et la sclérose en plaques. Ce projet sera d'importance cruciale pour la mise au point de nouveaux tests de diagnostic précoce et de traitements individualisés.