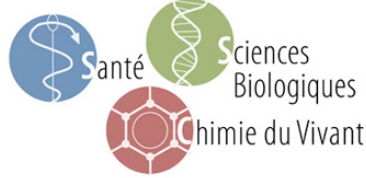




ECOLE DOCTORALE **SSBCV**



**Année 2017-2018 - Demande d'allocation doctorale
ED Santé, Sciences Biologiques et Chimie du Vivant (SSBCV) n°549**

1. Informations administratives :

Nom de l'encadrant responsable de la thèse : **TOUTAIN Annick**
Unité : **INSERM UMR930 (future unité U1253)**
Equipe (si unité multi-équipes): **Neurogénomique et physiopathologie neuronale**
Filière de rattachement : **A (Physiopathologie humaine et animale)**
Email de l'encadrant : **annick.toutain@univ-tours.fr**

Co-encadrant : **VUILLAUME-WINTER Marie-Laure**

2. Titre de la thèse : Identification de nouveaux gènes de déficience intellectuelle par neurogénomique fonctionnelle.

3. Résumé :

La Déficience Intellectuelle (DI) touchant 2 à 3% de la population, est un enjeu de santé publique. Elle constitue un ensemble hétérogène, de causes très variées, anomalies chromosomiques ou maladies monogéniques rares. Dans la DI modérée ou sévère aucun diagnostic ne peut être établi dans 50 à 60% des cas. Les avancées récentes en matière d'analyse génétique avec l'avènement du séquençage à haut débit (SHD) ont permis des progrès majeurs en matière d'identification de gènes, et ont montré que 60 % des cas de DI sévère sont expliqués par la survenue de mutations *de novo* dans les régions codantes. Le SHD d'exome permet ainsi l'identification de variants génétiques dans des gènes connus ou dans de nouveaux gènes. Dans un projet collaboratif inter-régional, HUGODIMS (Projet interrégional du grand Ouest pour l'exploration par approche exome des causes moléculaires de déficience intellectuelle modérée ou sévère) nous avons fait la preuve que cette stratégie est efficace. Selon une approche *de novo* appliquée à une cohorte de 75 trios (patient et les deux parents), un diagnostic moléculaire a été établi chez plus de 50 % des patients et de nouveaux gènes de DI ont été identifiés chez près de 20 % des patients, dont certains ont été publiés (*CHAMP1*, *PSMD12*, *GNB1*, *TRIP12*, *CAMK2A*, *CAMK2B*). Sur les 12 patients que nous avons inclus, 5 ont eu un diagnostic validé avec identification d'une mutation dans 5 gènes connus et 3 sont porteurs d'une mutation dans un nouveau gène candidat. Ces 3 nouveaux gènes candidats font actuellement l'objet d'analyses fonctionnelles pour valider leur implication dans la DI.

Le projet de thèse vise à identifier de nouveaux gènes de DI par l'analyse d'une série de 23 nouveaux patients atteints de DI modérée à sévère, syndromique ou non spécifique, sans diagnostic posé et sans antécédent familial, avec une hypothèse de mutation *de novo*. En se basant sur les résultats de notre précédente série d'exomes, cette analyse devrait permettre l'identification potentielle de 4 à 6 nouveaux gènes candidats qui feront l'objet d'analyses fonctionnelles. Ce projet s'appuiera sur l'équipe clinique du service de génétique du CHU de Tours pour le recrutement des patients. Cette équipe a une expertise reconnue en matière de

DI (Centre de Référence et de Compétences pour les Anomalies du développement et pour la Déficience intellectuelle au sein des filières Maladies Rares AnDDi-Rares et DéfiScience). Elle collabore avec les autres CHU de la région HUGO pour le projet HUGODIMS et le projet OFIDRIMS (Multi-Omics and iPSCs to Improve Diagnosis of Rare Intellectual Disabilities), et avec le réseau national DI des laboratoires de Génétique Moléculaire.

Le séquençage d'exome des 23 trios sera effectué par le Centre National de Génotypage pour 13 nouveaux patients inclus dans le projet HUGODIMS 2 (financements GIRCI-GO et ARS) et par la société Integragen (financement CHU) pour 10 autres patients.

Les variants candidats retenus grâce au traitement bio-informatique des données de séquençage (CNG, Integragen ou logiciel REGOVAR) seront ensuite évalués sur le plan fonctionnel sur différents supports biologiques : d'une part les cellules de patients (lymphocytes, fibroblastes, voire iPSCs) pour l'étude de l'expression génique et protéique ; ou d'autre part, des modèles cellulaires neuronaux (cultures primaires hippocampiques, corticales) chez lesquels la mutation candidate sera exprimée afin de déterminer le rôle neurodéveloppemental et physiopathologique du gène candidat.

Il s'agit donc d'un projet de recherche translationnelle allant de l'analyse phénotypique précise du patient à l'identification du gène par le SHD et aux études fonctionnelles sur modèles cellulaires neuronaux. Il s'inscrit dans les travaux menés depuis plusieurs années par l'équipe 2 de l'U930 dans le domaine de la déficience intellectuelle et des neurosciences.

4. Résumé en anglais :

Identification of novel genes involved in intellectual disability by functional genomic

Intellectual disability (ID), observed in 2 to 3% of the general population, is a major public health problem. It is a heterogeneous group, of various etiologies, such as chromosome abnormalities or rare monogenic conditions. No precise diagnosis can be established in 50 to 60% of cases of moderate or severe ID. Recent advances in genetic analyses, with the development of next generation sequencing (NGS), have allowed major progresses in gene identification, and have showed that 60 % of cases of severe ID are caused by *de novo* mutations in coding sequences. Exome sequencing therefore allows the identification of genetic variants in known genes or in novel candidate genes. Through a collaborative study, HUGODIMS (*Projet interrégional du grand Ouest pour l'exploration par approche exome des causes moléculaires de déficience intellectuelle modérée ou sévère*) we demonstrated the efficiency of this strategy. With a *de novo* hypothesis applied to a series of 75 trios (patient and both parents), a molecular diagnosis has been established in more than 50 % of the patients and novel ID genes have been identified in nearly 20 % of the patients, some of them having been published (*CHAMP1*, *PSMD12*, *GNB1*, *TRIP12*, *CAMK2A*, *CAMK2B*). Among the 12 patients that we have included, 5 have a definite diagnosis with the identification of a mutation in 5 genes already known, and 3 have a mutation in a novel candidate gene. Functional analyses are in progress in order to validate the implication of these 3 novel candidate genes in ID.

The aim of our project is to identify novel ID genes with the analysis of 23 other patients affected with moderate to severe ID, syndromic or non specific, with no definite diagnosis and without family history, with a hypothesis of a *de novo* mutation. On the basis of the results of our previous exome analysis, we expect the potential identification of 4 to 6 novel

candidate genes for which functional analyses will be performed. This project will rely on the clinicians from the Genetics Department of the University Hospital for patient recruitment. This team has a recognized expertise in ID (Reference Centre for Developmental Anomalies and Intellectual Disability in the French networks for Rare Diseases ‘AnDDi-Rares’ and ‘DéfiScience’). They work in collaboration with the other university hospitals from the west part of France for the HUGODIMS project and for the project OFIDRIMS (Multi-Omics and iPSCs to Improve Diagnosis of Rare Intellectual Disabilities), and with the French network of molecular laboratories involved in ID.

Exome sequencing of the 23 trios will be performed by the ‘Centre National de Génotypage’ for 13 novel patients included in the project HUGODIMS 2 (funding GIRCI-GO and ARS) and by the company Integragen (funding University Hospital) for 10 other patients.

The variants identified as candidate by bioinformatics analysis of sequencing data (CNG, Integragen or REGOVAR software) will be evaluated by functional analyses on various biological materials: on the one hand, patient cells (lymphocytes, fibroblasts, or even iPSCs) for gene or protein expression analysis; or on the other hand, neuronal cell models (primary hippocampic or cortical cultures) in which the candidate mutation will be expressed in order to determine the role of the candidate gene in the neurodevelopment and in the pathophysiology.

This project is a translational research project from precise phenotypic analysis of the patient to identification of a gene through NGS and functional analyses on neuronal cellular models. It takes place in the work conducted since several years by the Team 2 of the research group U930 on intellectual disability and neuroscience.