

REPROD ACTION

RQR

Réseau Québécois
en reproduction



[ENGLISH](#) / JANVIER 2015

Nouvelle approche de dépistage des trisomies en ciblant des séquences d'ADN du fœtus présentes dans le sang maternel

Dre Dominique Bérubé, directrice du laboratoire de génétique à la Clinique OVO.

Plusieurs études récentes ont démontré que des cellules fœtales intactes, ainsi que de l'ADN fœtal libre, circulent dans le sang maternel. Cependant, les cellules fœtales sont en très petites quantités et elles sont difficiles à isoler.

BÉBÉ ↔ MÈRE

Contrairement à nos croyances que le placenta est une barrière imperméable entre la mère et le bébé, la circulation se fait dans les deux sens.

bébé peut varier de 4% à 20%. La taille des fragments d'ADN se situe entre 150-300 pb et le génome fœtal est représenté au complet.

Trouver l'ADN de bébé...

Récemment, des chercheurs ont découvert une technique pour isoler l'ADN fœtal libre dans le sang de femmes enceintes. L'ADN fœtal provient en majorité des cellules du placenta et est un produit de l'apoptose (mort cellulaire programmée). La quantité d'ADN du

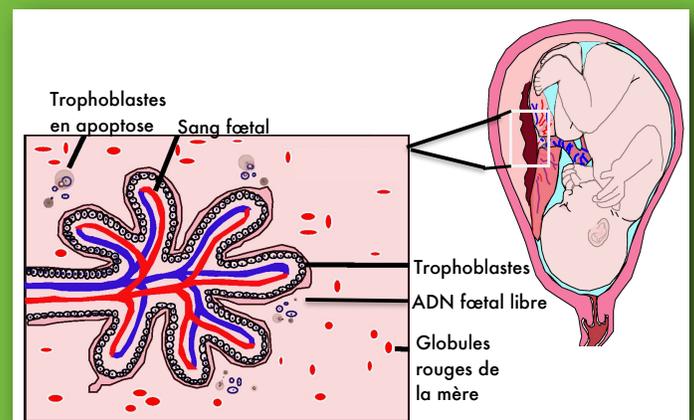


Figure 1: L'apoptose des trophoblastes (cellules du placenta) libère l'ADN fœtal dans le sang maternel.

Les nucléotides qui composent l'ADN - adénine (A), guanine (G), cytosine (C) ou thymine (T) - sont appelés des *bases*.

La taille de l'ADN se mesure en bases et la plupart du temps en *paires de bases (pb)* étant donné la forme double brin de l'ADN. À titre de comparaison, le génome humain contient trois milliard de paires de bases.

Les bases sont reproduites des millions ou des milliards de fois tout au long d'un génome et la séquence particulière des bases (ordre) est très importante. La technique de *séquençage* consiste à lire l'ADN.

La demi-vie de l'ADN fœtal libre est de courte durée de telle sorte que les fragments d'ADN du bébé ne sont plus détectables 45 minutes après la naissance.

De cette façon, l'analyse du sang de la mère ne peut pas être mal interprétée par la présence de l'ADN fœtal d'une grossesse antérieure.

La majorité des techniques utilisées pour analyser l'ADN fœtal sont des techniques de séquençage (lecture de l'ADN). Ces techniques nécessitent des appareils sophistiqués, coûteux et consomment beaucoup d'heure de travail. C'est pour cette raison que leur utilisation est restreinte.

La ddPCR

Dans le laboratoire de génétique de la clinique OVO, un test d'analyse d'ADN fœtal a été mis au point avec une technologie moins coûteuse et plus rapide appelée la *droplet digital PCR (ddPCR)*.

La *PCR*, de l'abréviation anglaise de «polymerase chain reaction», est une réaction de polymérisation en chaîne. Il s'agit d'une technique utilisée en biologie moléculaire pour amplifier l'ADN, c'est-à-dire faire des copies de certaines régions du génome.

La *droplet digital PCR* s'effectue à partir d'une très petite quantité d'ADN. L'appareil, appelé «*DROPLET GENERATOR*», va partager la gouttelette d'ADN en 20 000 gouttelettes qui seront soumises à des cycles de PCR. Finalement, un autre appareil, le «*DROPLET READER*» effectuera la lecture et l'analyse des séquences amplifiées.

La demi-vie désigne le temps nécessaire pour qu'une molécule perde la moitié de son activité.

Il s'agit d'une technique non-invasive, c'est-à-dire qu'elle ne présente aucun danger pour le fœtus. Il suffit de faire une prise de sang à la mère enceinte à partir de la 9^e semaine de grossesse. Par la suite, l'ADN présent dans le sang maternel est extrait pour être analysé.



Les trisomies

La détection des trisomies s'effectue en amplifiant des séquences spécifiques pour rendre visibles (par fluorescence) les chromosomes impliqués dans les trisomies les plus fréquentes (trisomie 21, 13 et 18). On peut également utiliser cette technique pour déterminer le sexe du bébé et ainsi détecter les maladies liées au chromosome sexuel et cela, aussi tôt qu'à la 5^e semaine de la grossesse.

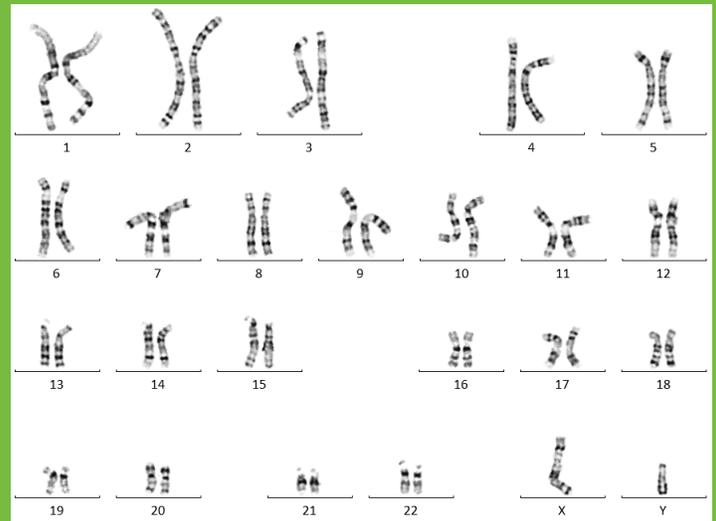


Figure 2: Le génome humain est emmagasiné sur 23 paires de chromosomes pour un total de 46. La trisomie est causée par la présence d'un 3^e chromosome sur une de ces 23 paires. Par exemple, pour la trisomie 21, un 3^e chromosome est présent sur la 21^e paire, pour un total de 47 chromosomes au lieu de 46.



Appareil QX100™ DROPLET READER et DROPLET GENERATOR de la compagnie BIO-RAD.

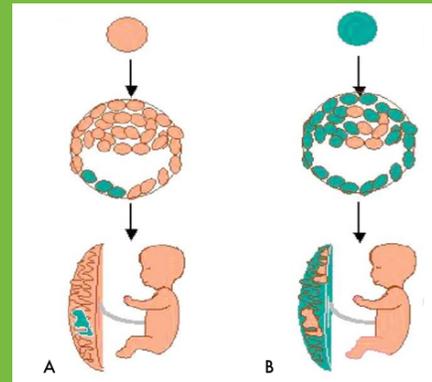
◆ Le RQR offrira un atelier de formation sur le PCR digital en février. Le formulaire d'inscription sera disponible sous peu. Pour réserver votre place: j.blouin@umontreal.ca. Veuillez noter qu'une priorité sera accordée aux étudiants du RQR.

Les séquences amplifiées, spécifiques aux chromosomes impliqués dans les trisomies, sont marquées à la fluorescence pendant le PCR pour ensuite être détectées avec un appareil qui permet de détecter les séquences fluorescentes (le QX100 DROPLET READER). La détection d'une trisomie chez l'enfant se fait en calculant ces séquences fluorescentes positives lorsqu'elles sont en plus grand nombre que celles attendues.

Étant donné que les cellules proviennent du placenta et que les cellules du placenta se divisent rapidement, elles peuvent se diviser anormalement et posséder 47 chromosomes au lieu de 46. Les cellules anormales

peuvent être localisées dans un endroit restreint du placenta et le bébé peut être normal. C'est pour cette raison que, suite à ce test, si le risque est élevé, la patiente doit passer une amniocentèse pour confirmer le résultat obtenu (Figure 2).

Figure 3:
A) Cellules avec 47 chromosomes (en vert) dans une zone restreinte du placenta: foetus normal
B) Nombre de cellules avec 47 chromosomes plus élevé: foetus à risque de faible croissance, de malformations et de mort intra-utérine.



Une avancée au niveau du dépistage

L'intérêt de ce test est de diminuer le nombre de patientes qui doivent subir une amniocentèse et de détecter les anomalies chromosomiques très tôt dans la grossesse.

Pour conclure, il faut se rappeler que ce test est un dépistage prénatal et non un diagnostic prénatal. Cependant, il demeure très fiable puisque sa sensibilité et sa spécificité sont de 99%.

Publications de membres du RQR pour les utilisateurs



Dr Claude Robert, Dr Marc-André Sirard et Isabelle Gilbert ont publié un article intitulé «[La génétique, puis la génomique et maintenant l'épigénétique?](#)» dans la revue Le producteur de lait québécois de novembre dernier.

Dans cette même édition, le Dr Jocelyn Dubuc, de l'Université de Montréal, a aussi publié un article intitulé «[Un deuxième test de gestation peut être payant](#)».

Une nouvelle cible pour le traitement du cancer du sein mise en évidence par une équipe du RQR

Le Dr Nicolas Gévry, de l'Université de Sherbrooke, et Stéphanie Bianco, stagiaire postdoctorale, ont démontré que le récepteur nucléaire « LRH-1 joue un rôle critique dans le cancer du sein en contrôlant la prolifération des cellules cancéreuses, ce qui pourrait entraîner une résistance aux traitements et donc un frein majeur à la guérison des patientes. En inhibant ce récepteur, on obtiendrait un traitement inédit.» [Consulter l'article](#)



Événements à venir...

- Mai 2015 : 24 heures de science du RQR en collaboration avec Nasci Biologie Médicale
- Septembre 2015 : Atelier de réseautage du RQR avec les cliniciens

Pour consulter la liste complète des activités ou pour avoir plus d'informations sur les activités proposées, visitez le site web RQR-TC.

Prix du RQR pour la mobilisation des connaissances

Deux prix de 400\$ chacun ont été remis, lors du 7^e Symposium du RQR en novembre dernier, à deux membres s'étant démarqués pour leur implication au niveau des utilisateurs. Les récipiendaires sont le Dr Claude Robert de l'Université Laval et Clotilde Maurice, étudiante au PhD à l'Université Laval.



Dre Janice L. Bailey, présidente du comité de mobilisation des connaissances, a remis une plaque honorifique au Dr Claude Robert et à Clotilde Maurice pour leur implication au niveau des utilisateurs de la recherche en biologie de la reproduction.

Par mobilisation des connaissances, on sous-entend que ce sont des activités qui sont destinées aux utilisateurs finaux et non seulement à la communauté scientifique. On parle donc de vulgarisation scientifique pour rendre la biologie de la reproduction accessible aux utilisateurs soit :

- le grand public,
- les industries pharmaceutiques et biotechnologiques,
- les vétérinaires,
- les médecins cliniciens,
- le gouvernement,
- et les autres cibles appropriées.

Le Dr Robert s'est démarqué grâce à ses nombreuses publications dans des revues de vulgarisation scientifique comme le *Producteur de lait québécois*. Il a aussi participé en tant que conférencier à des colloques organisés pour les producteurs, entre autres, comme le *Symposium sur les bovins laitiers* et s'est aussi impliqué lors de l'atelier de réseautage du RQR avec les vétérinaires en juin 2014. Clotilde a participé à l'émission *Cogito* mise-sur-pied par les étudiants aux cycles supérieurs de l'Université Laval

qui est diffusée sur les ondes du Canal Savoir en plus de s'impliquer dans la rédaction d'articles destinés à l'industrie.

Le RQR offrira encore, en 2015, un prix chercheur et un prix étudiant pour la mobilisation des connaissances. N'hésitez pas à nous soumettre votre candidature ou celle d'un collègue en utilisant le [formulaire Prix MdC!](#) Les candidatures peuvent être soumises en tout temps par courriel à j.blouin@umontreal.ca.

Une nouvelle cause de l'infertilité : article publié dans le journal *Le fil*

L'article, paru dans le journal de la communauté universitaire de l'Université Laval, édition du 4 décembre 2014, rapporte les résultats de recherche de l'équipe du Dr Claude Robert publié dans la revue «*Biology of Reproduction*» en octobre 2014. «Chez les mammifères, on considérait que l'ovocyte dépendait uniquement du matériel génétique qu'il contenait au moment de sa formation pour assurer son développement. Notre étude prouve le contraire» y souligne le Dr Robert. [Consulter l'article.](#)

Activité de réseautage du RQR avec les médecins cliniciens

Une activité de réseautage entre les chercheurs du RQR et les médecins cliniciens est prévue pour le mois de septembre. Nous avons demandé aux médecins cliniciens : *Au niveau de la reproduction, qu'est-ce que vous aimeriez régler ou quel outil/méthode/protocole vous aimeriez qui soit développé pour vous aider dans votre pratique et ainsi aider vos patients?*

L'activité de réseautage aura lieu conjointement avec le congrès annuel du *Club de Recherches Cliniques du Québec (CRCQ)*, du 24 au 26 septembre 2015 à l'Hôtel Sacacomie à Saint-Alexis-des-Monts.

Pour réserver, veuillez communiquer avec l'agente de transfert du RQR par courriel à j.blouin@umontreal.ca ou par téléphone au (450) 773-8521 poste 8221. N'hésitez pas à nous contacter pour nous soumettre vos sujets!