

# **Analyses OMICs**

## **Applications en immuno-allergologie**

*Dr Charline Miot*

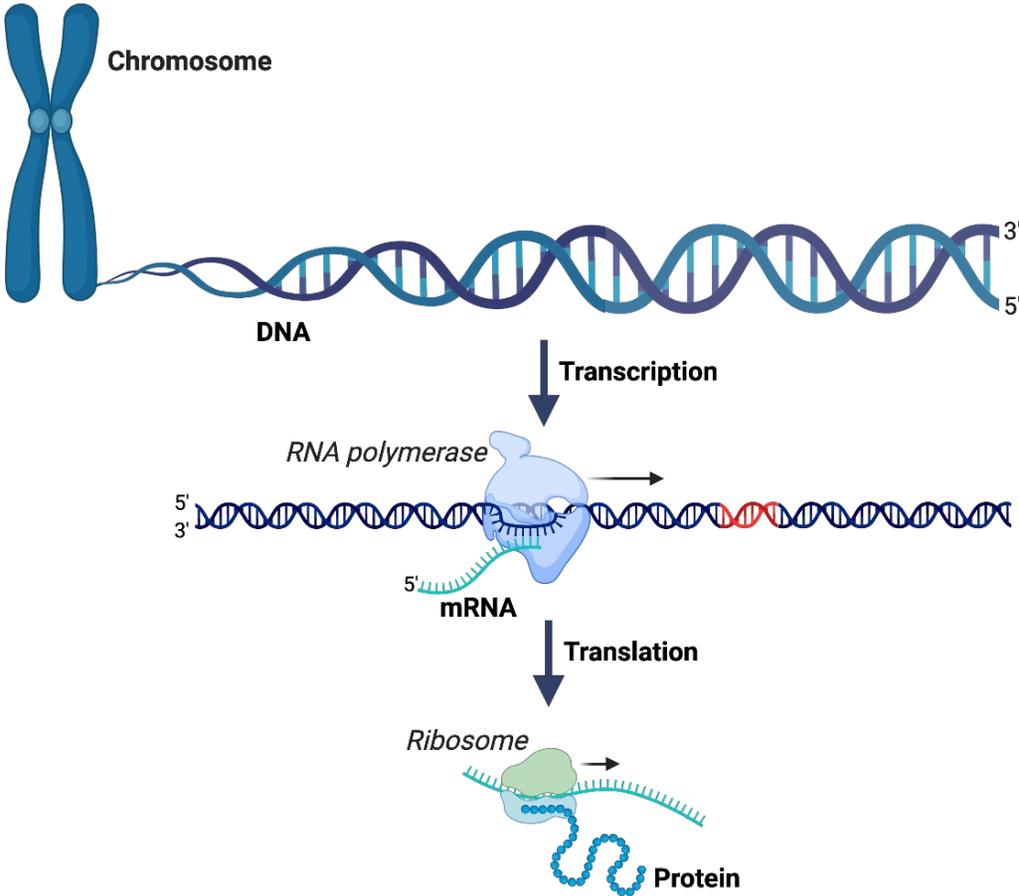
*MCU-PH*

*Laboratoire d'immunologie et allergologie*

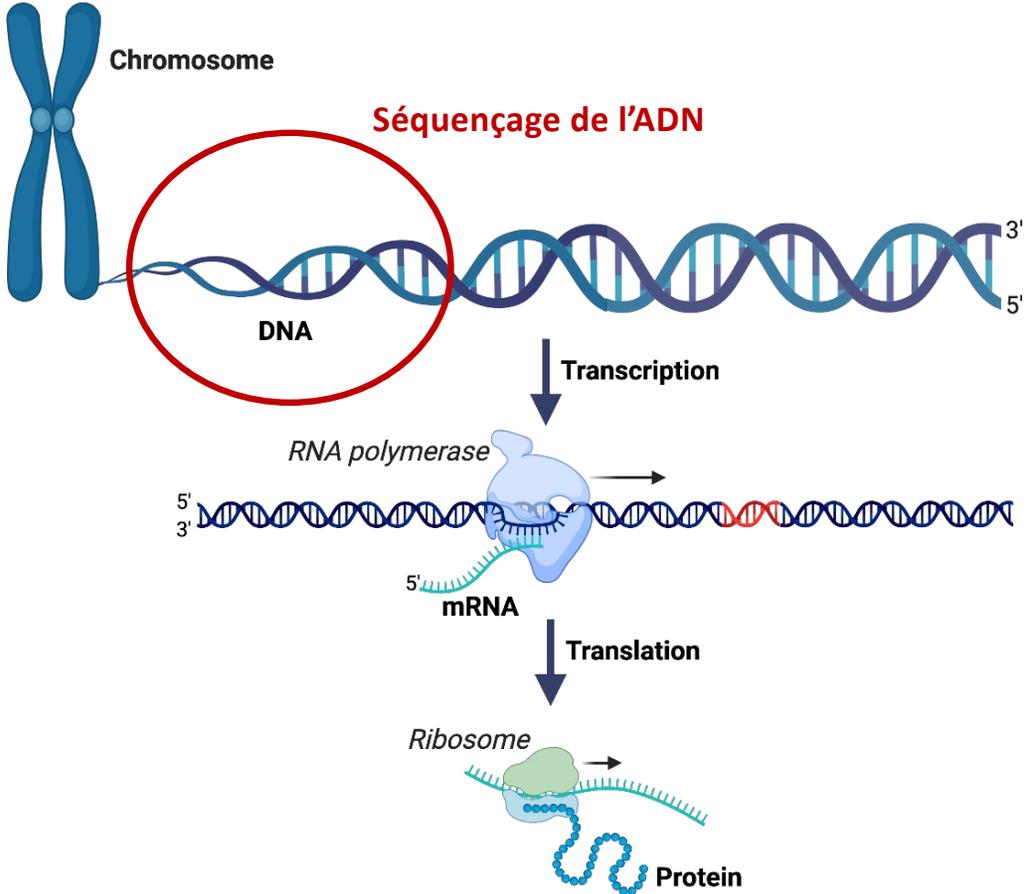
*Unité d'onco-hémato-immunologie pédiatrique*

*CHU Angers*

# De l'ADN aux protéines



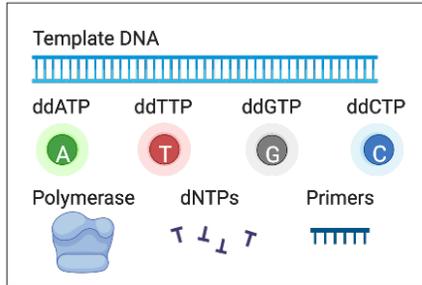
# De l'ADN aux protéines



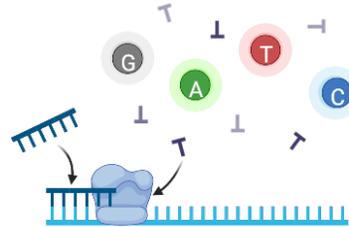
# Séquençage Sanger

- Technique de référence
- Longue et fastidieuse

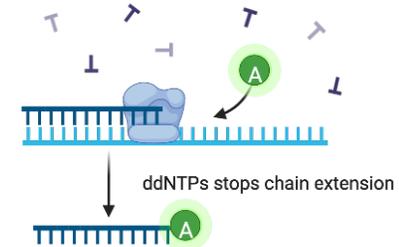
## Reagents



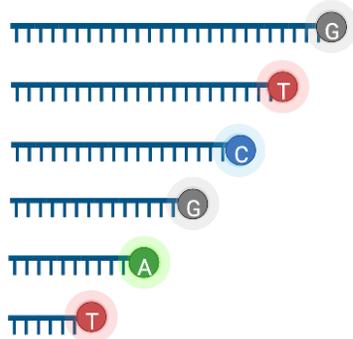
## ① Primer annealing and chain extension



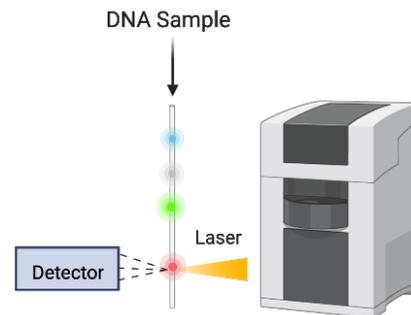
## ② ddNTP binding and chain termination



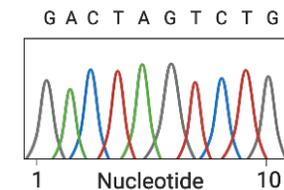
## ③ Fluorescently labelled DNA sample



## ④ Capillary gel electrophoresis and fluorescence detection

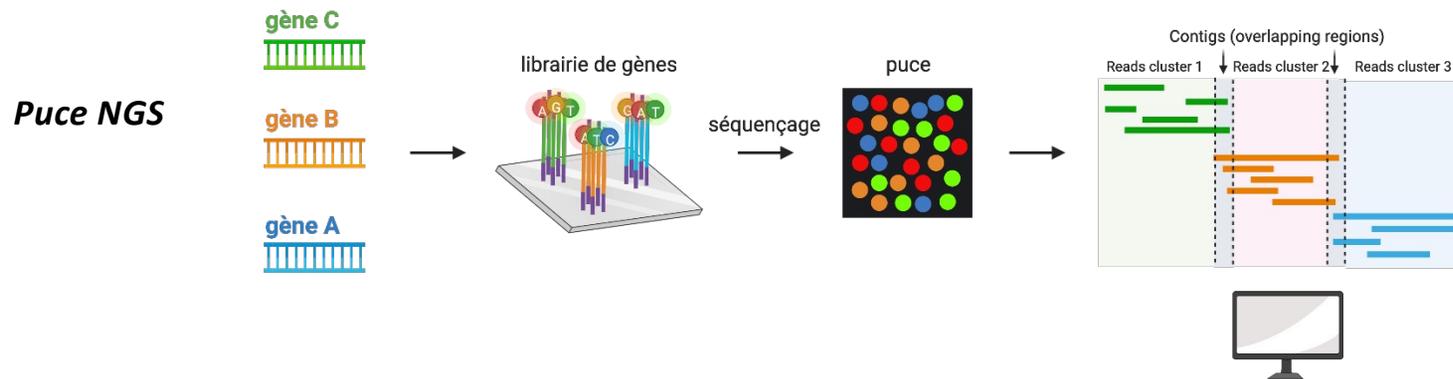
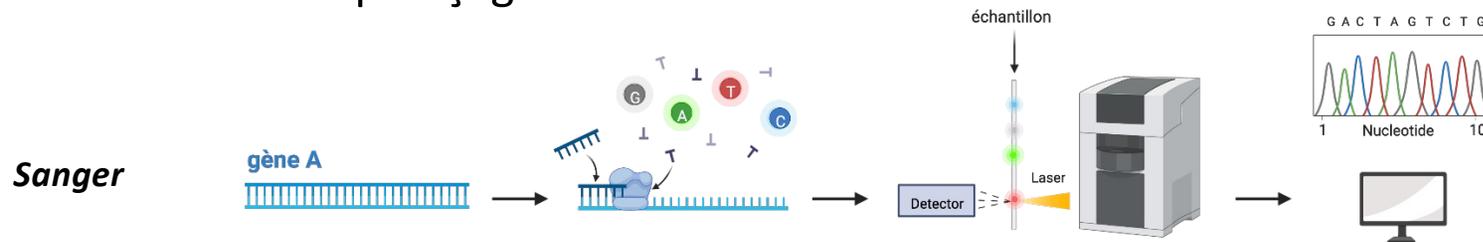


## ⑤ Sequence analysis and reconstruction

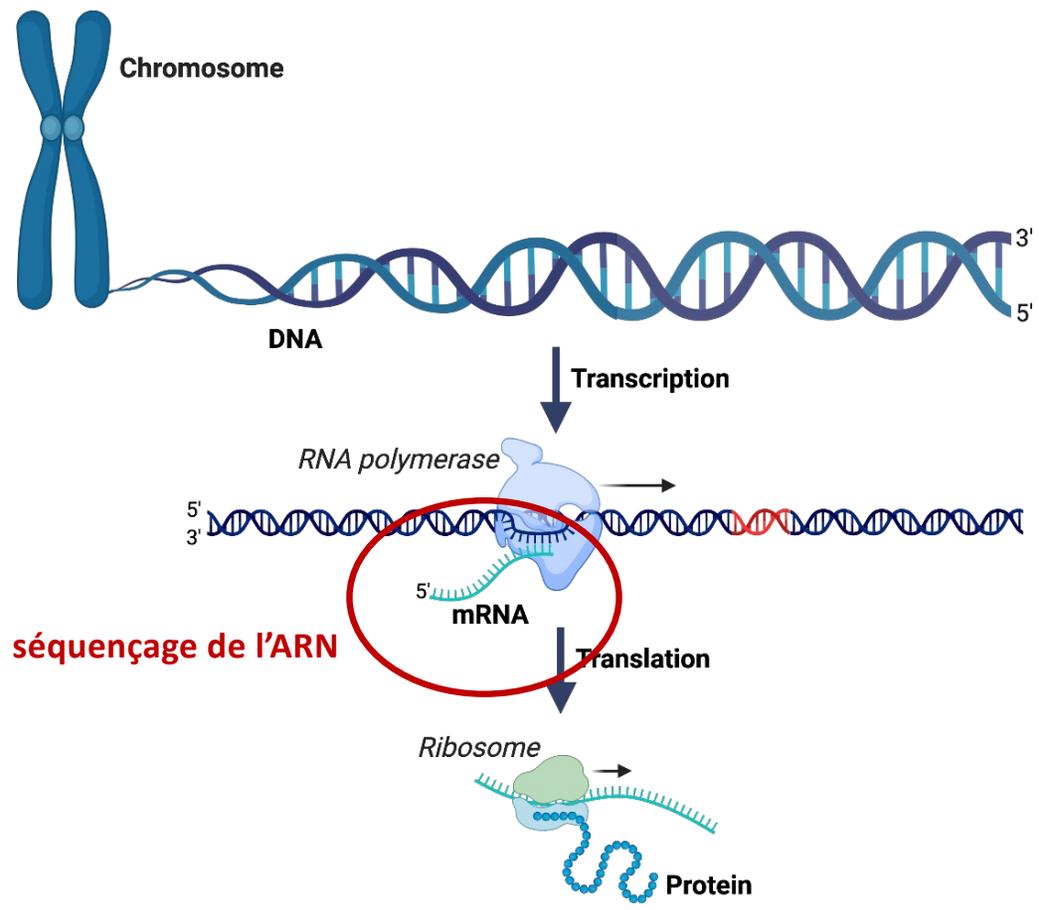


# Développement des techniques NGS

- Technique rapide
- Bibliothèques d'amorces avec codes barres
- Couverture de séquençage variable

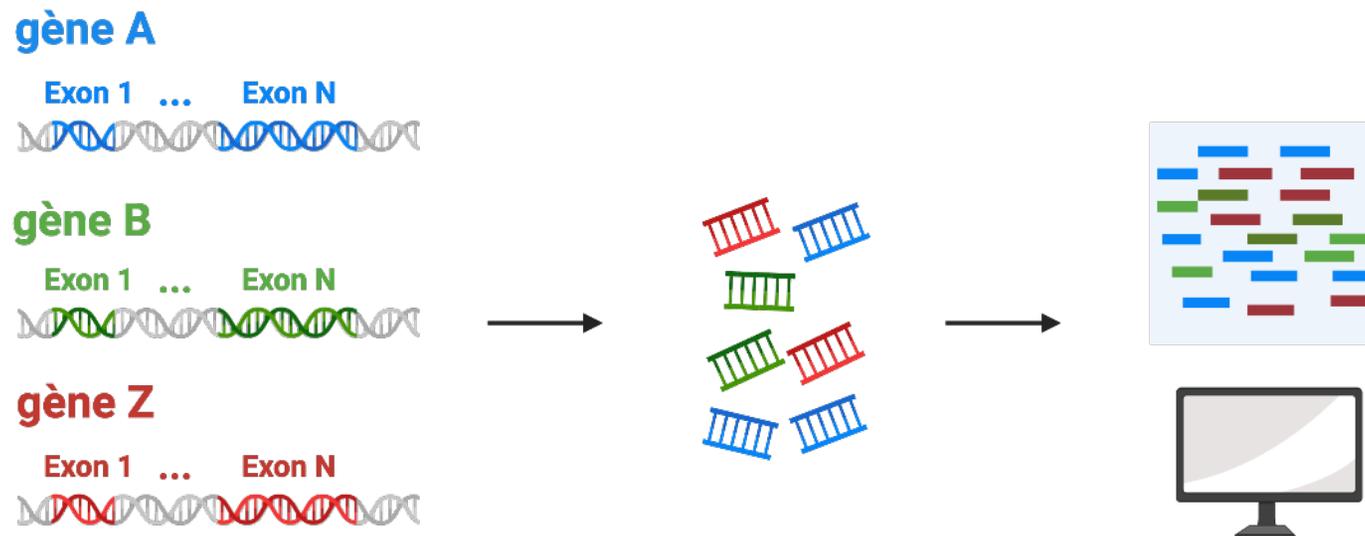


# De l'ADN aux protéines



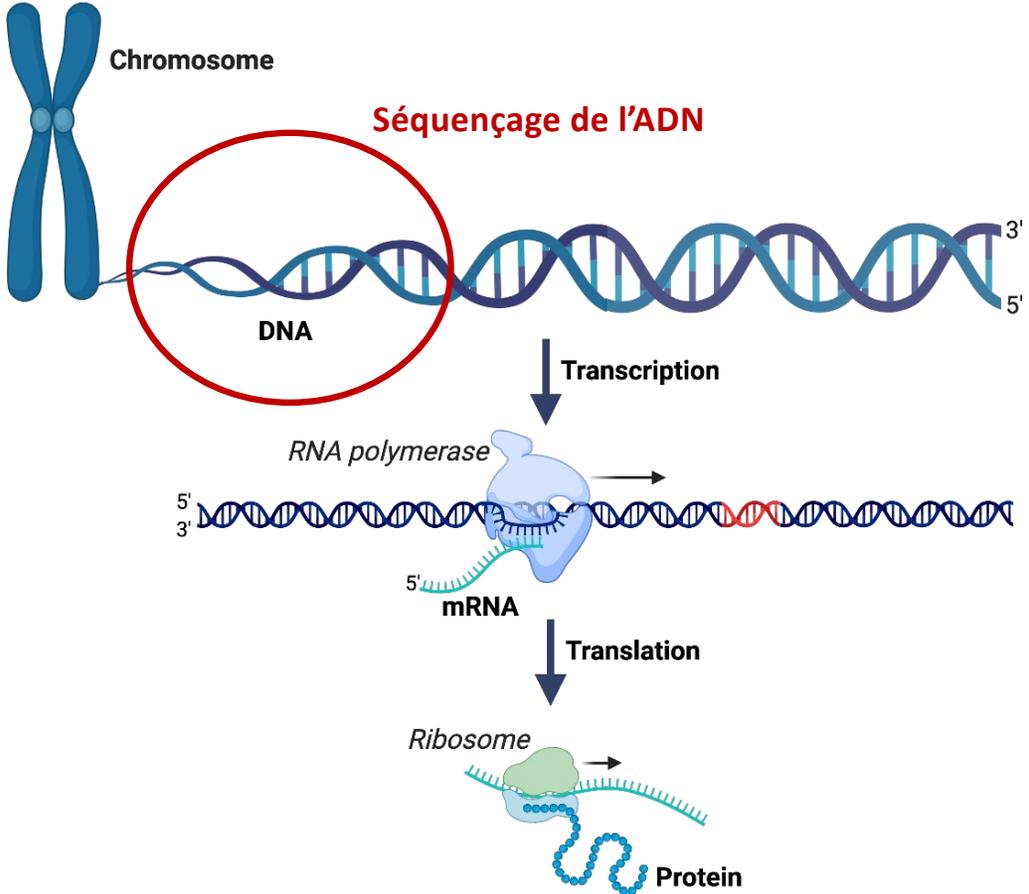
# Whole Exome Sequencing WES

- Séquençage régions codantes de l'ADN (exons)



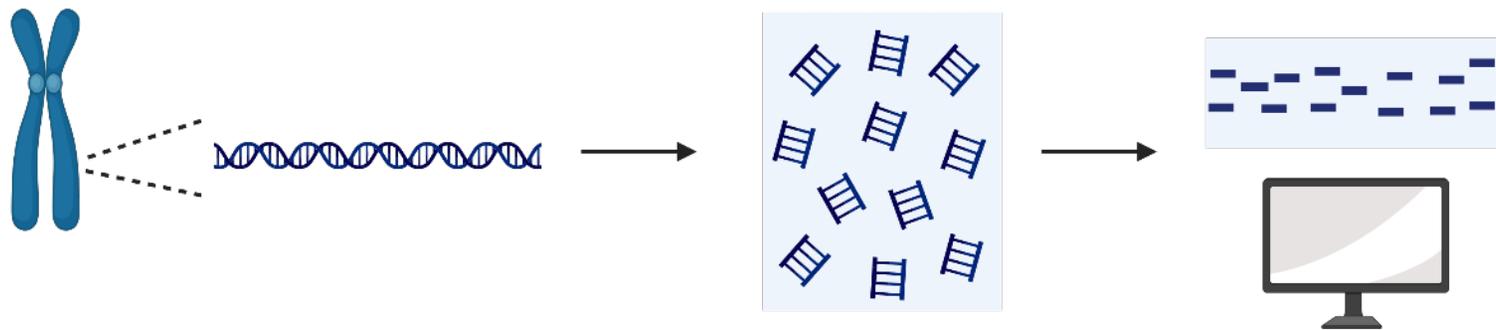
- Applications : recherche de mutations

# De l'ADN aux protéines



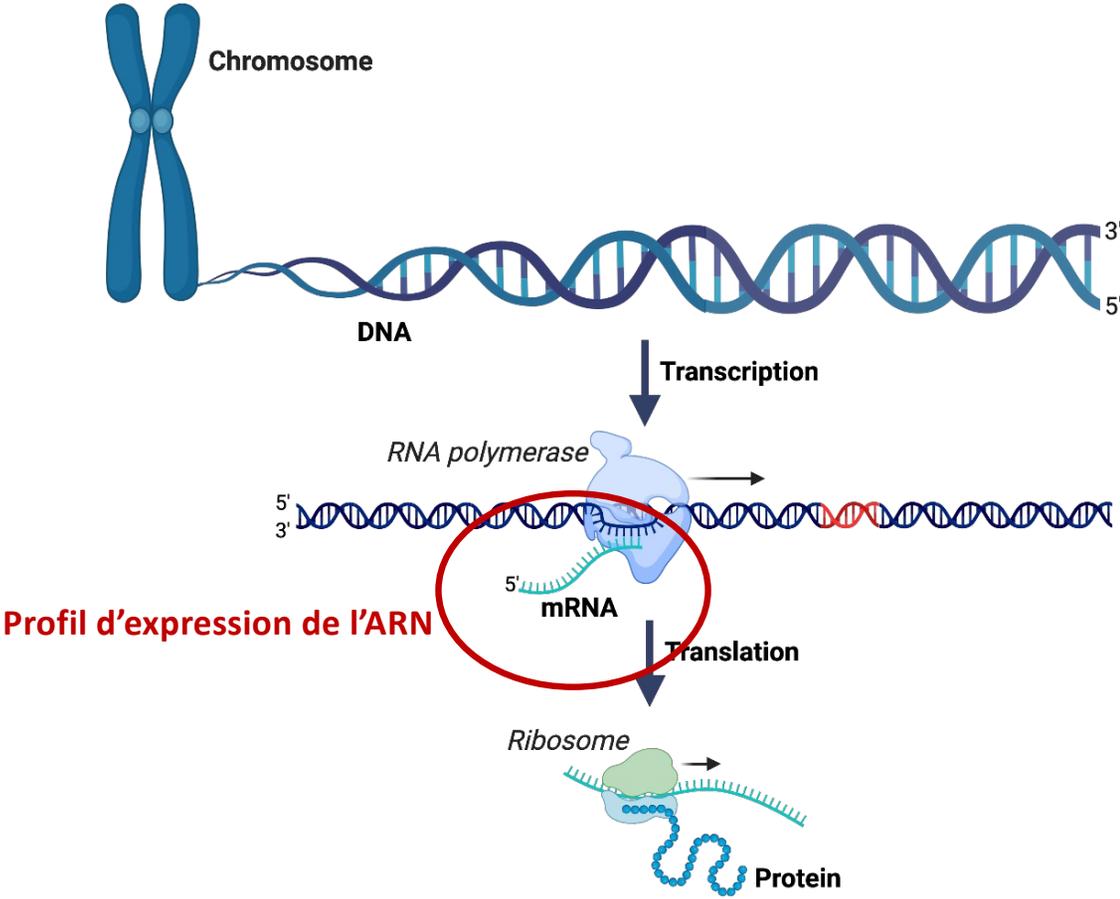
## Whole Genome Sequencing WGS

- Séquençage de tout le génome, y compris les régions non codantes



- Applications : recherche de mutations, translocations

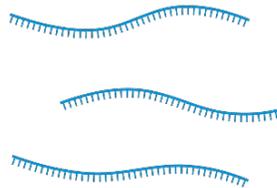
# De l'ADN aux protéines



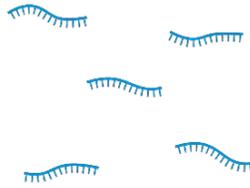
# RNA-Seq

## RNA Sequencing

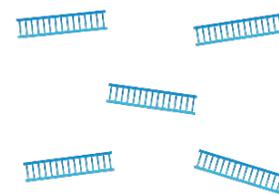
1 Isolate RNA from samples



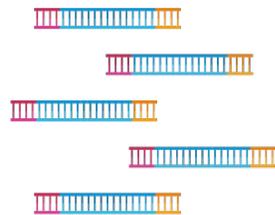
2 Fragment RNA into short segments



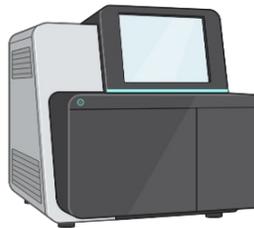
3 Convert RNA fragments into cDNA



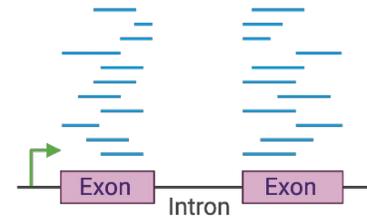
4 Ligate sequencing adapters and amplify



5 Perform NGS sequencing



6 Map sequencing reads to the transcriptome/genome



## RNA-Seq

- Applications :

  - comparaison des profils d'expression entre des échantillons

  - analyse de variants de transcripts (épissage alternatif)

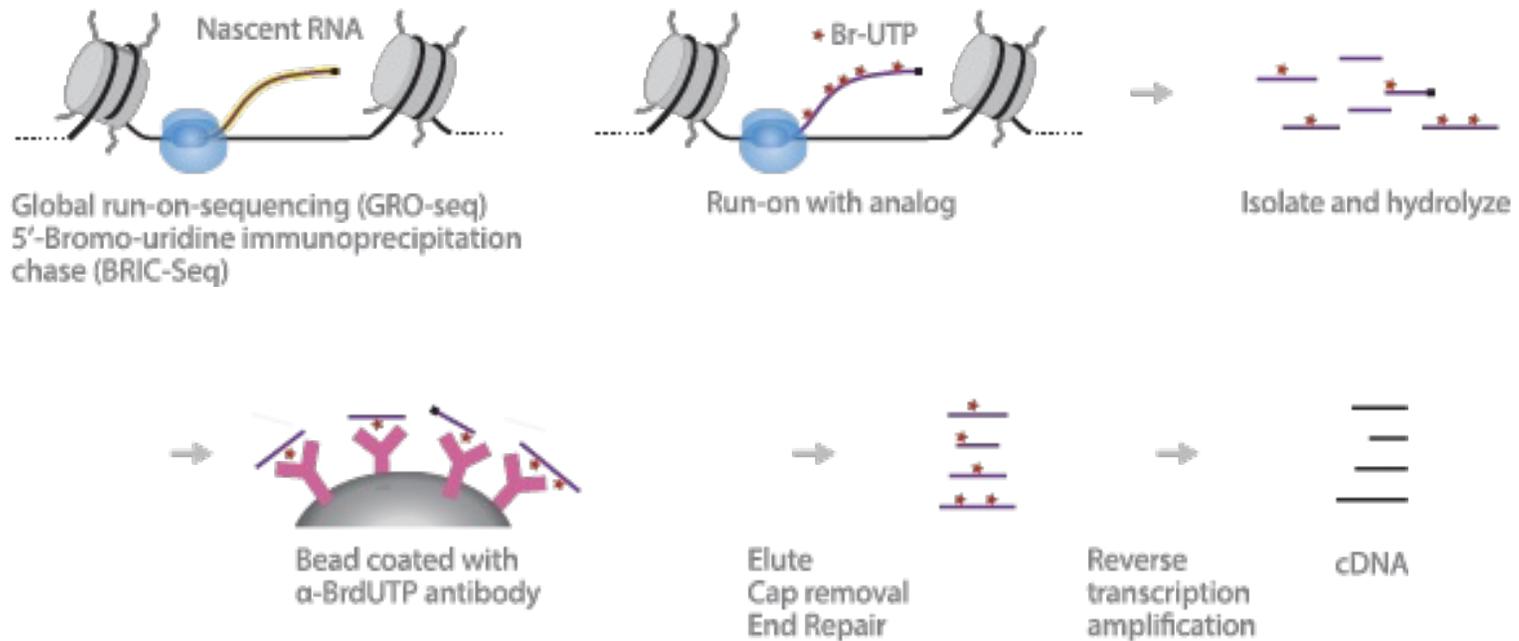
- Limites :

  - pas d'analyse possible des ARN à courte durée de vie

  - perte d'information sur les ARN de petite taille (comme les miRNAs) selon la technique d'extraction d'ARN utilisée et selon la profondeur de séquençage (nombre de reads par échantillons)

# GRO-Seq

- Analyse des ARNm nouvellement synthétisés



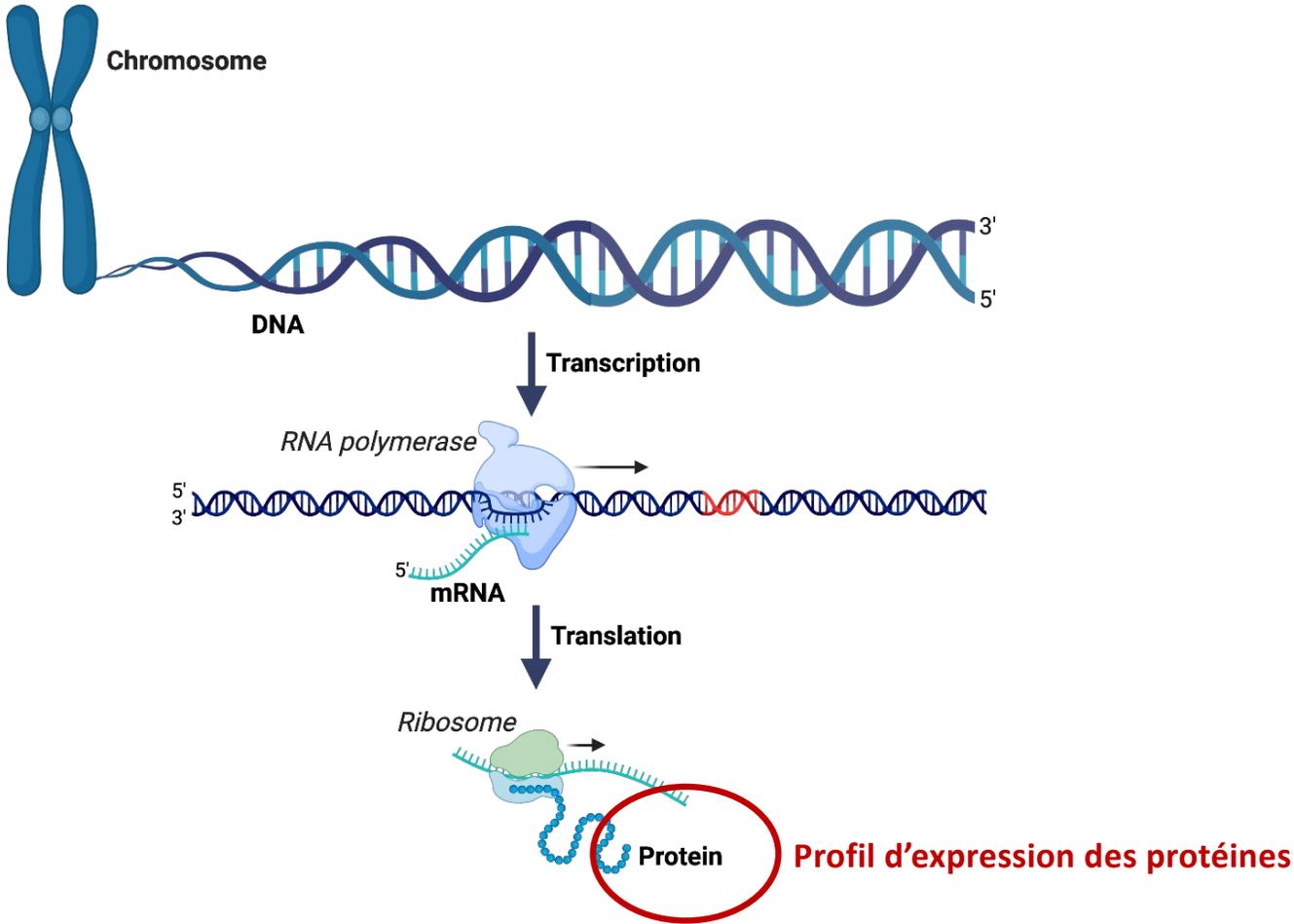
## GRO-Seq

- Applications :

analyse fine de l'activité transcriptionnelle des cellules

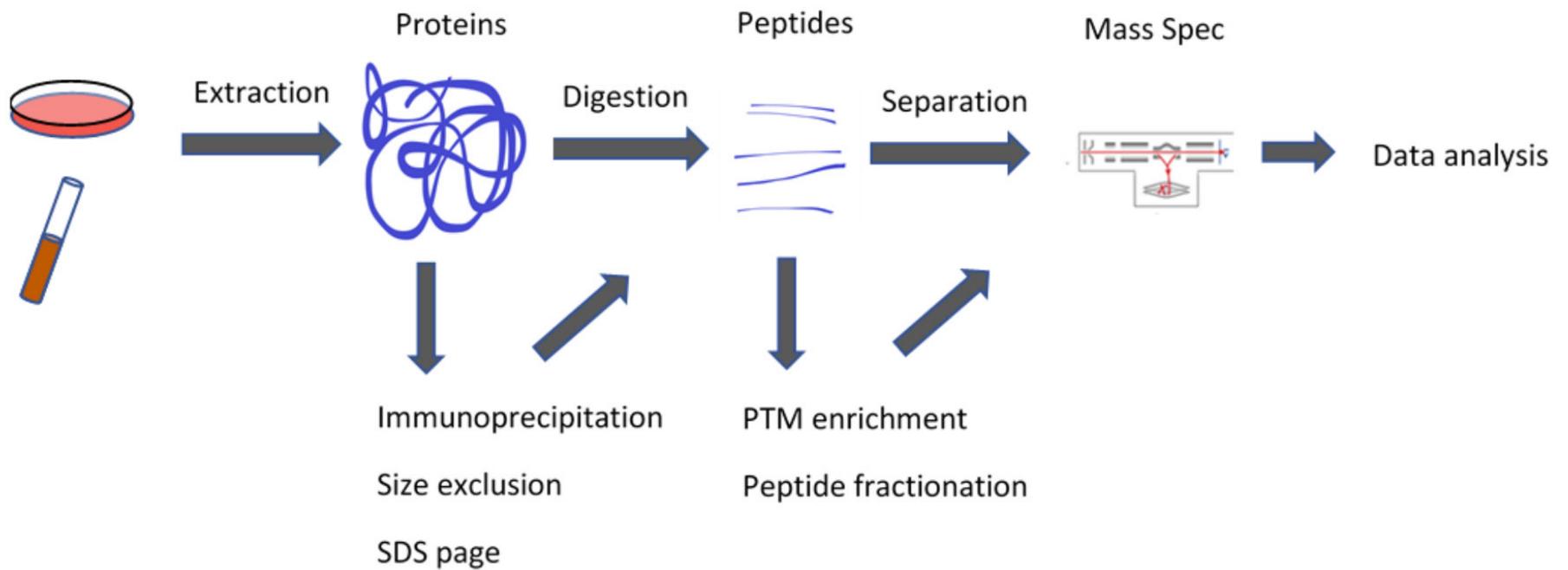
analyse de l'expression des ARN à courte durée de vie (codants et non codants)

# De l'ADN aux protéines



# Protéome

- Analyse des protéines par spectrométrie de masse



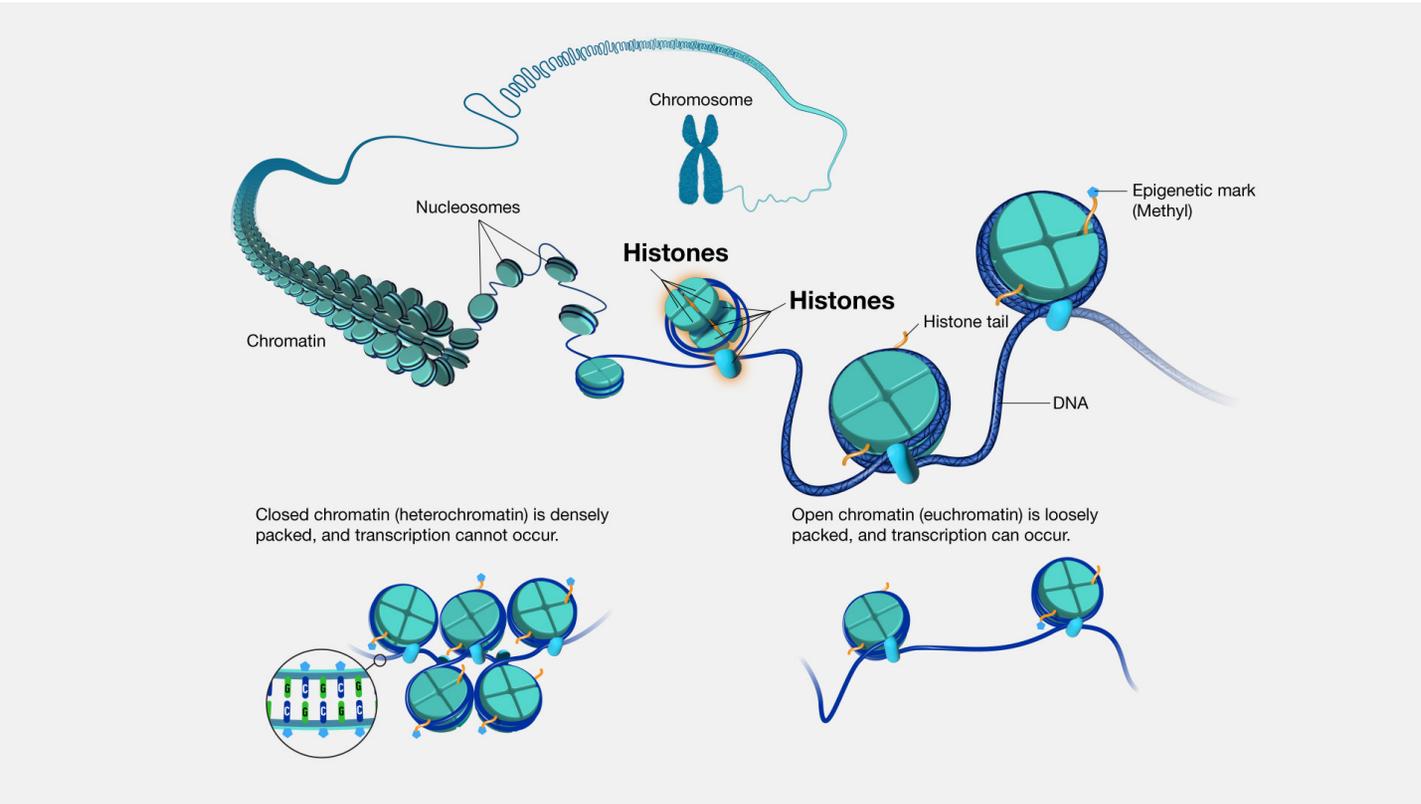
# Protéome

- Applications :

Analyse des modifications d'expression protéiques selon différentes conditions

Analyse des modifications post-traductionnelles : phospho-protéome, ubiquitinylome, ...

# Evaluation des modifications épigénétiques et de la dynamique chromatinienne

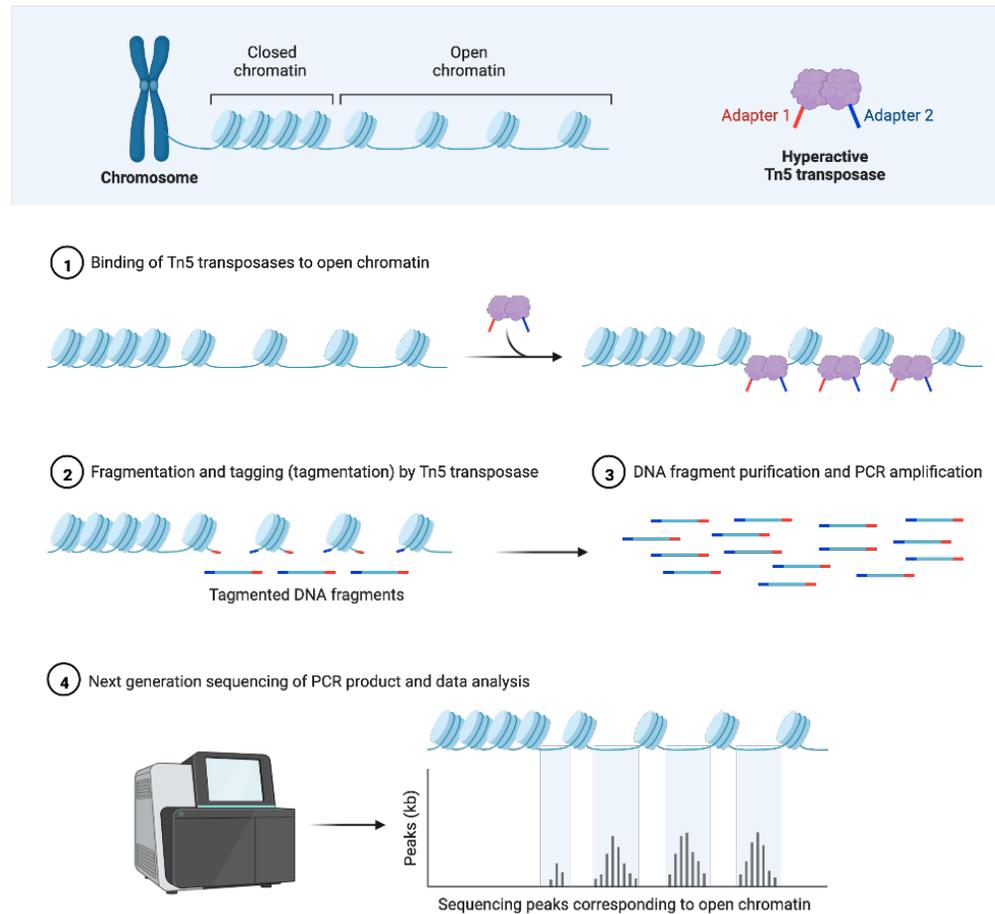


## **Evaluation des modifications épigénétiques et de la dynamique chromatinienne**

- ATAC-Seq
- CHIP-Seq
- MeDIP-Seq

# ATAC-Seq

- Cartographie des régions “ouvertes” de la chromatine



## ATAC-Seq

- Applications :

- analyse des modifications chromatiniennes sur le promoteur d'un gène d'intérêt

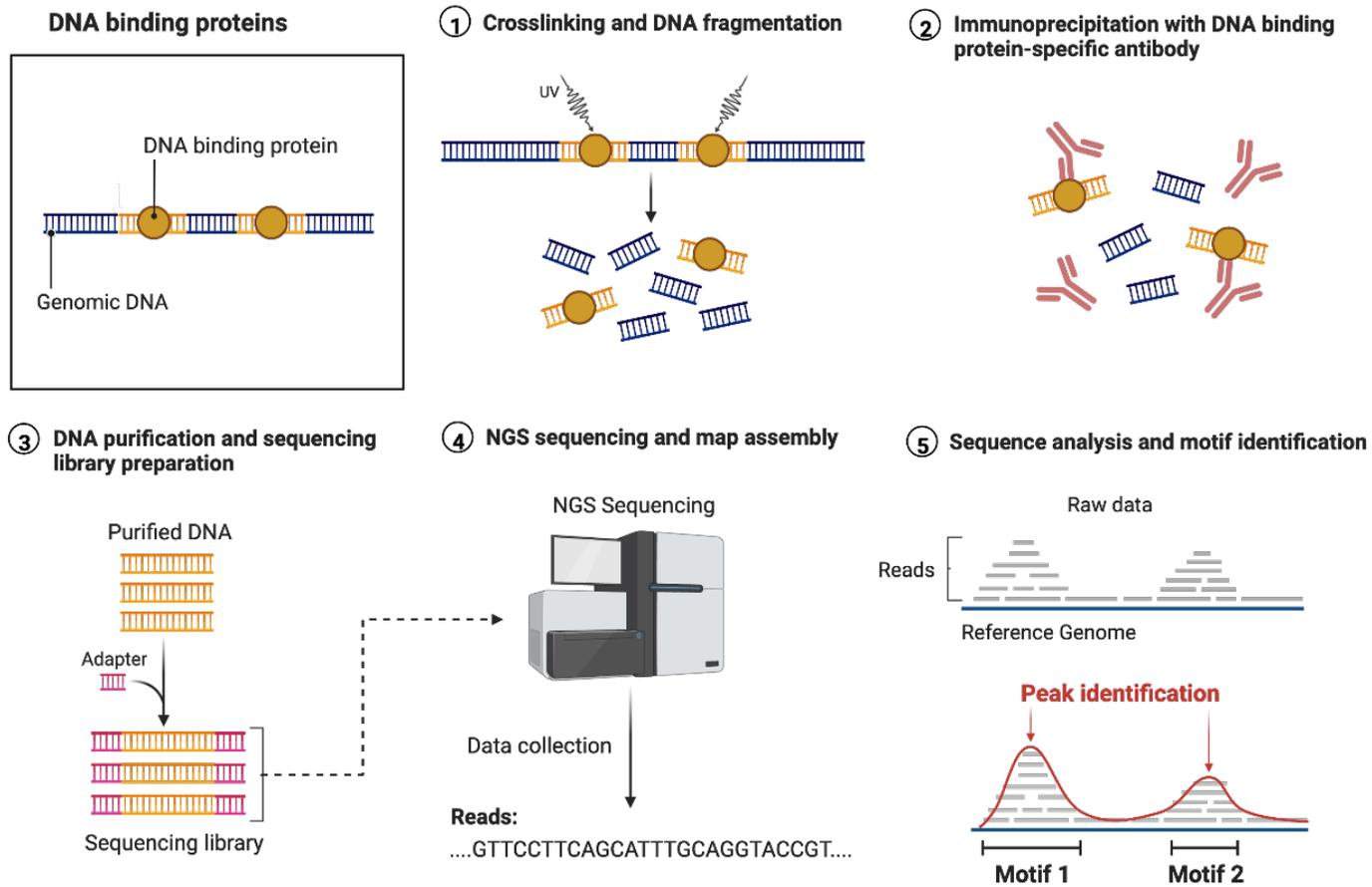
- recherche de séquences consensus de facteur de transcription activateur ou

- inhibiteur sur les zones ouvertes identifiées

- validation des résultats par CHIP-Seq

# CHIP-Seq

- Zones de liaison d'une protéine sur le génome



## CHIP-Seq

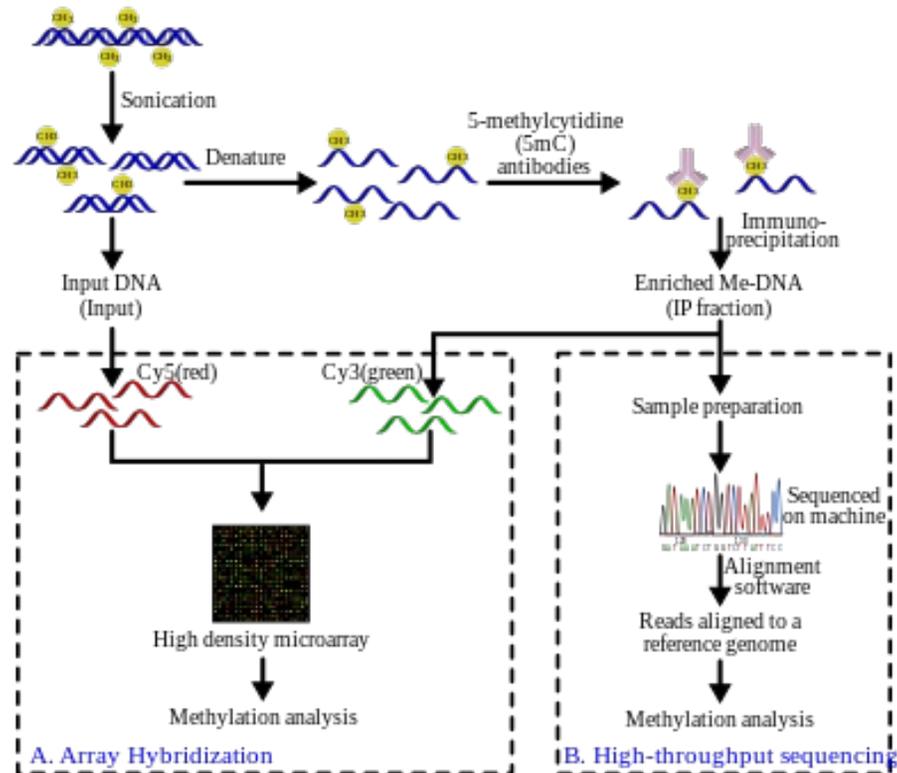
- Applications :

- identification des cibles génomiques d'une protéine

- analyse des modifications chromatinienne (modifications des histones) pour un gène d'intérêt

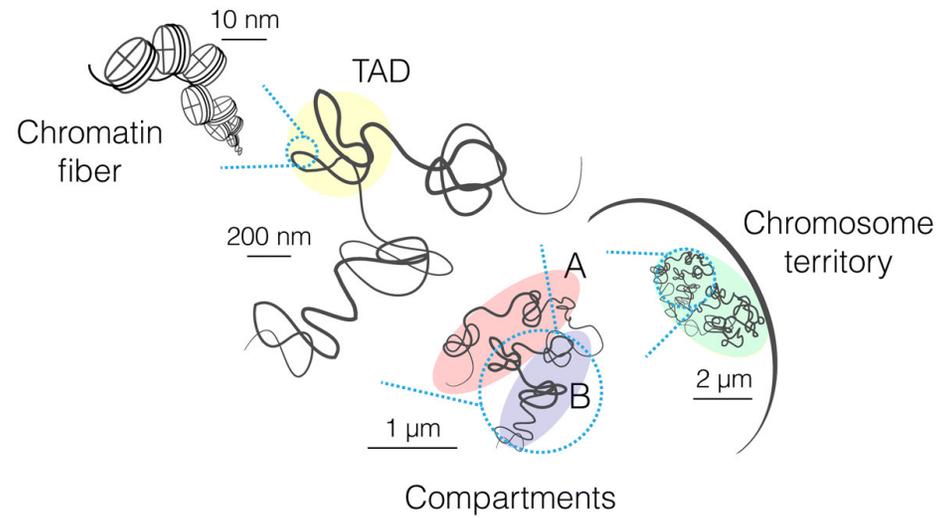
# Méthylome – MeDIP Seq

- Cartographie des zones méthylées de l'ADN = répression de la transcription

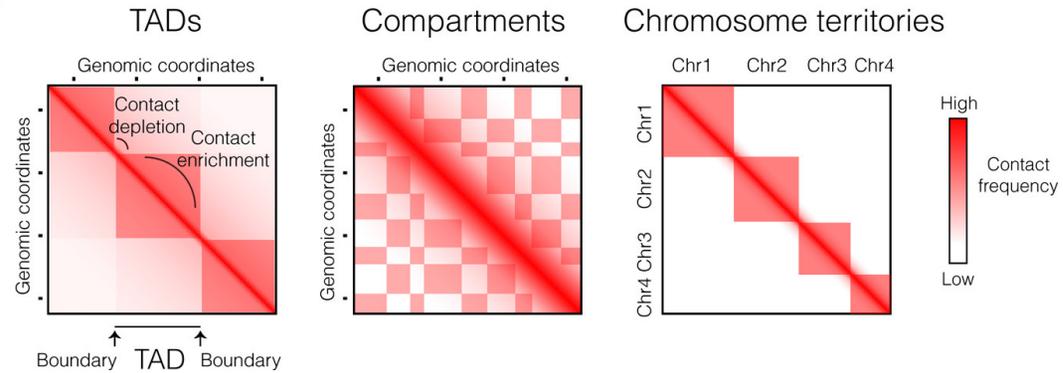


# Evaluation de la dynamique chromosomique

**A**

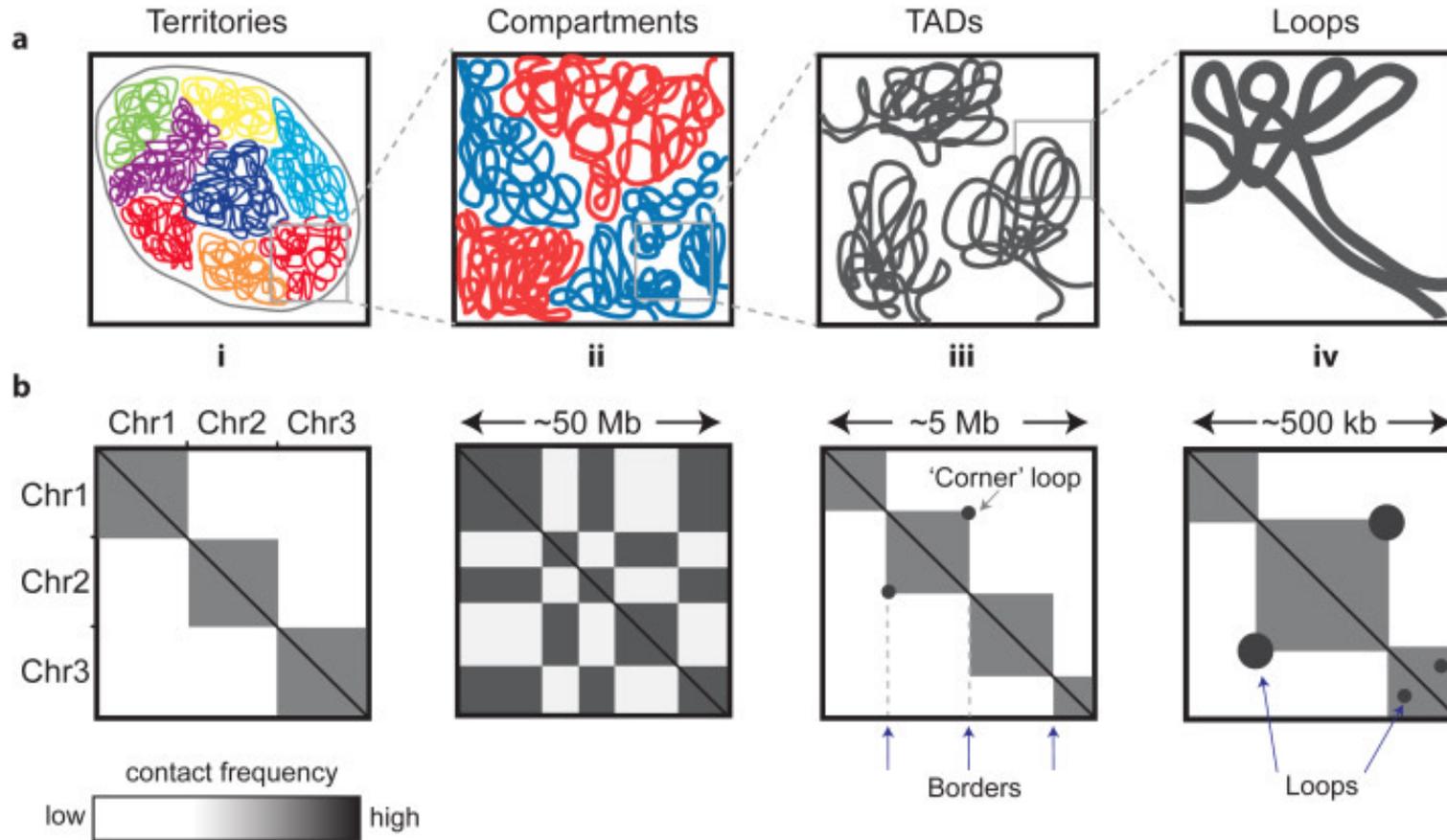


**B**



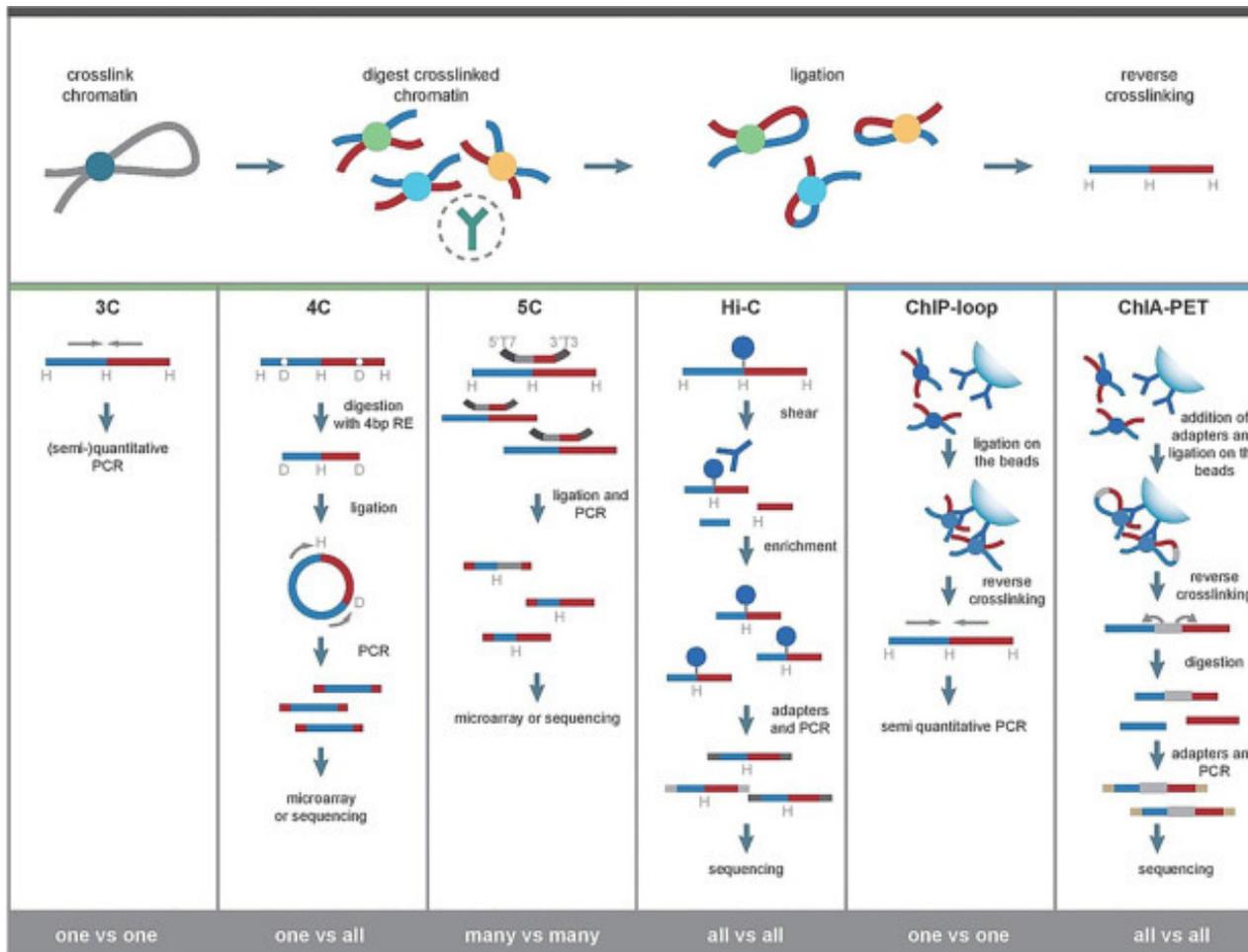
*TAD : topologically associated domain*

## Evaluation de la dynamique chromosomique



# Techniques de capture de la conformation chromosomique

- Cartographie des boucles d'interactions chromosomiques

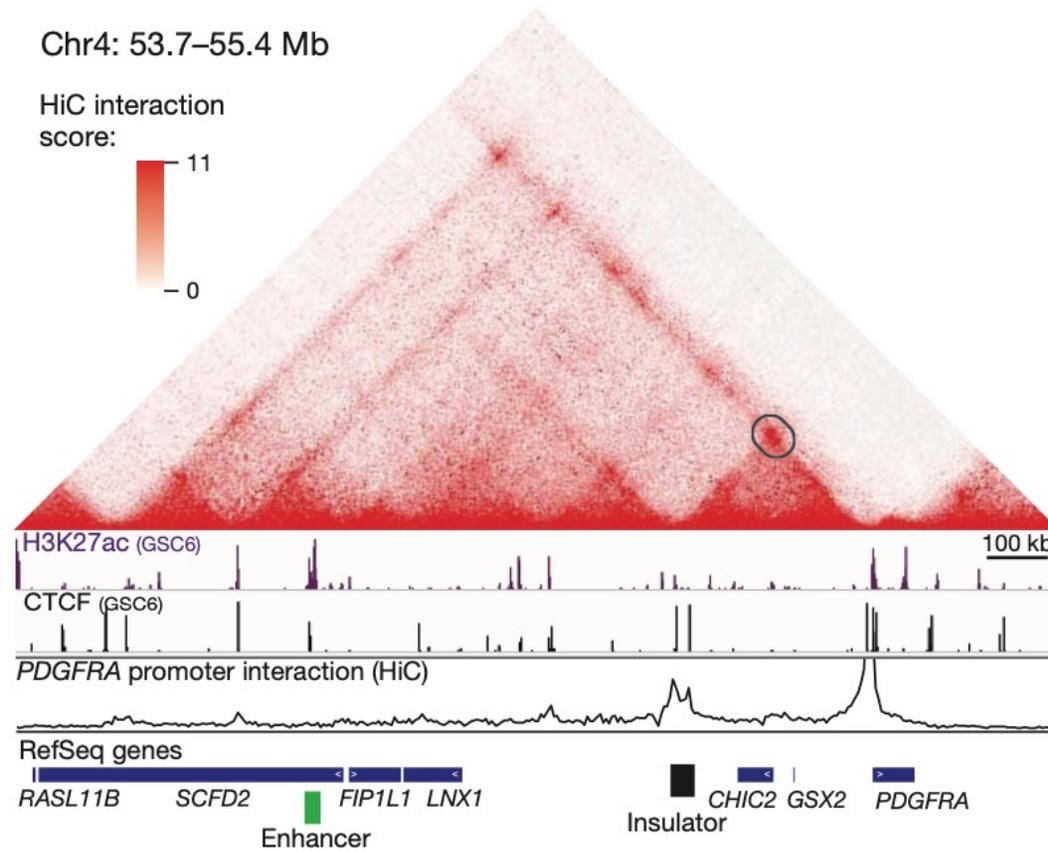


## Importance des TADs en pathologie humaine

- Les gènes présents au sein d'un TAD sont corégulés
- Les contacts entre les éléments activateurs (enhancers) et les régions promotrices sont localisés au sein d'un TAD
- La perturbation de la structure des TADs peut entraîner des contacts ectopiques entre des éléments régulateurs et des régions promotrices hors du TAD :
  - expression ectopique de gènes normalement réprimés
  - rôle dans les cancers et les maladies du développement**

# HiC

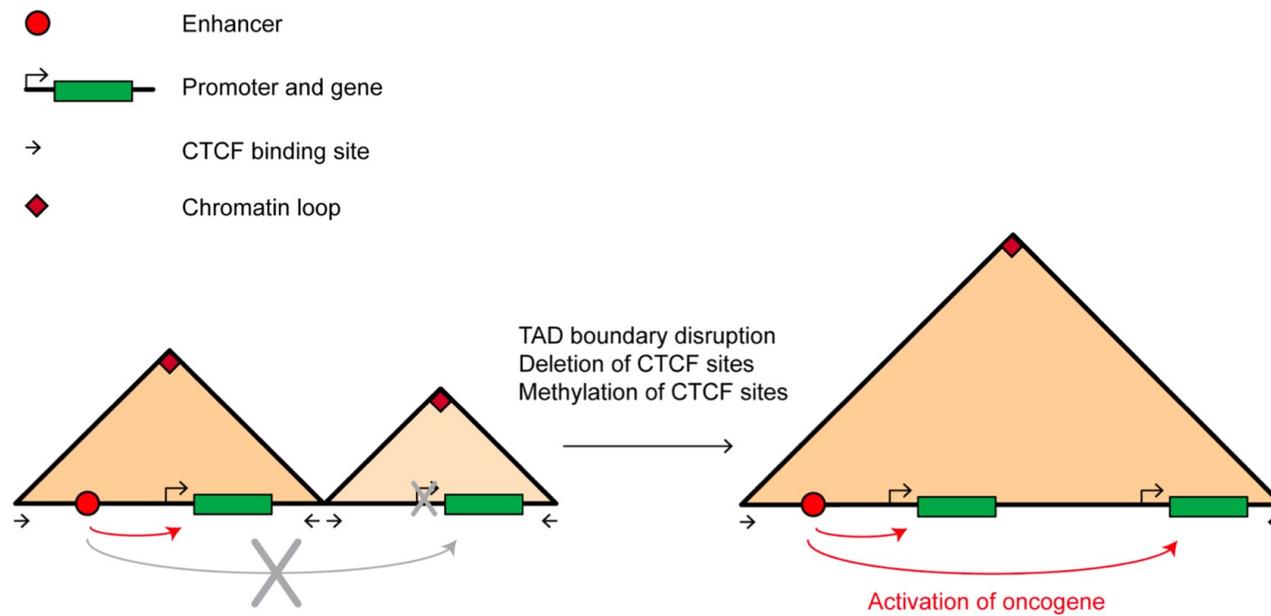
- Exemple d'application : perturbation des TADs dans les gliomes mutés IDH1



*Flavahan et al., 2016*

# HiC

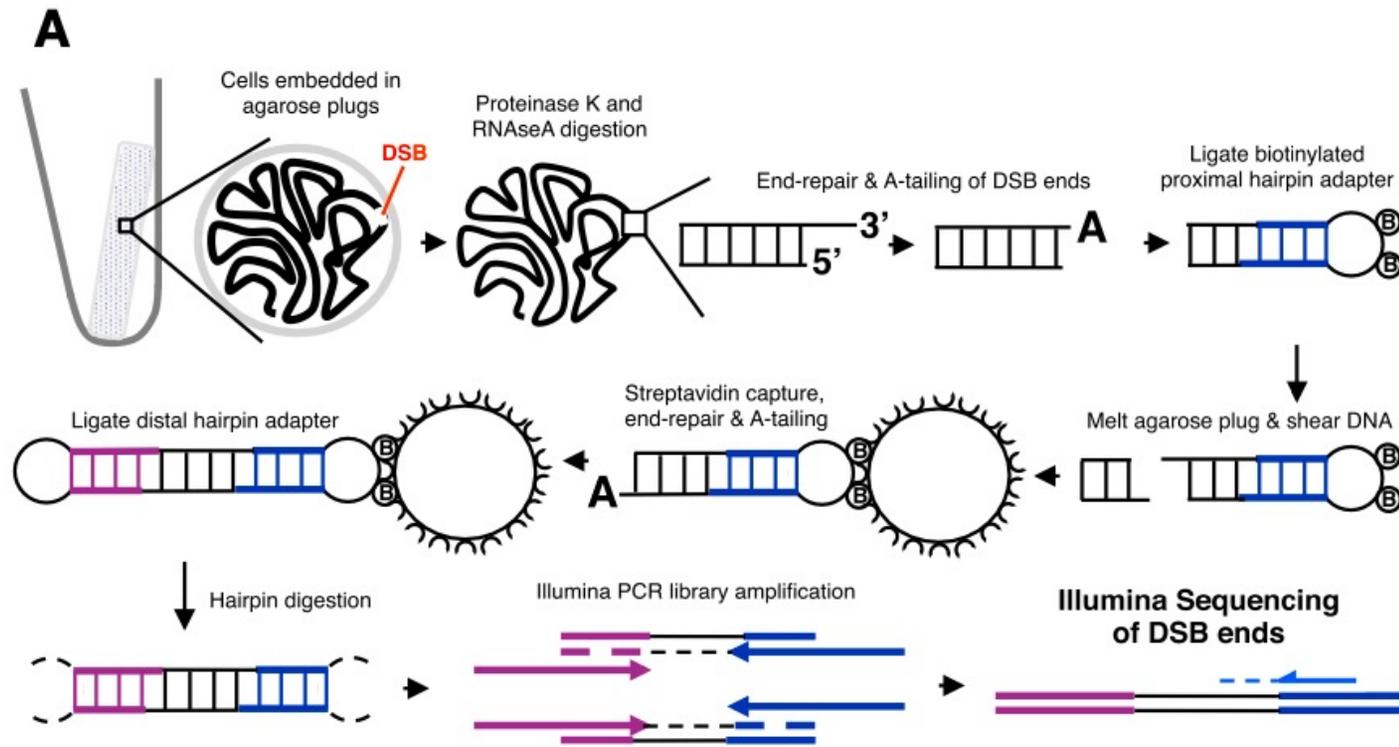
- Exemple d'application : perturbation des TADs dans les gliomes mutés IDH1



*Valton et al., 2016*

## Evaluation des cassures double brin de l'ADN - End-Seq

- Cartographie des cassures double brins de l'ADN

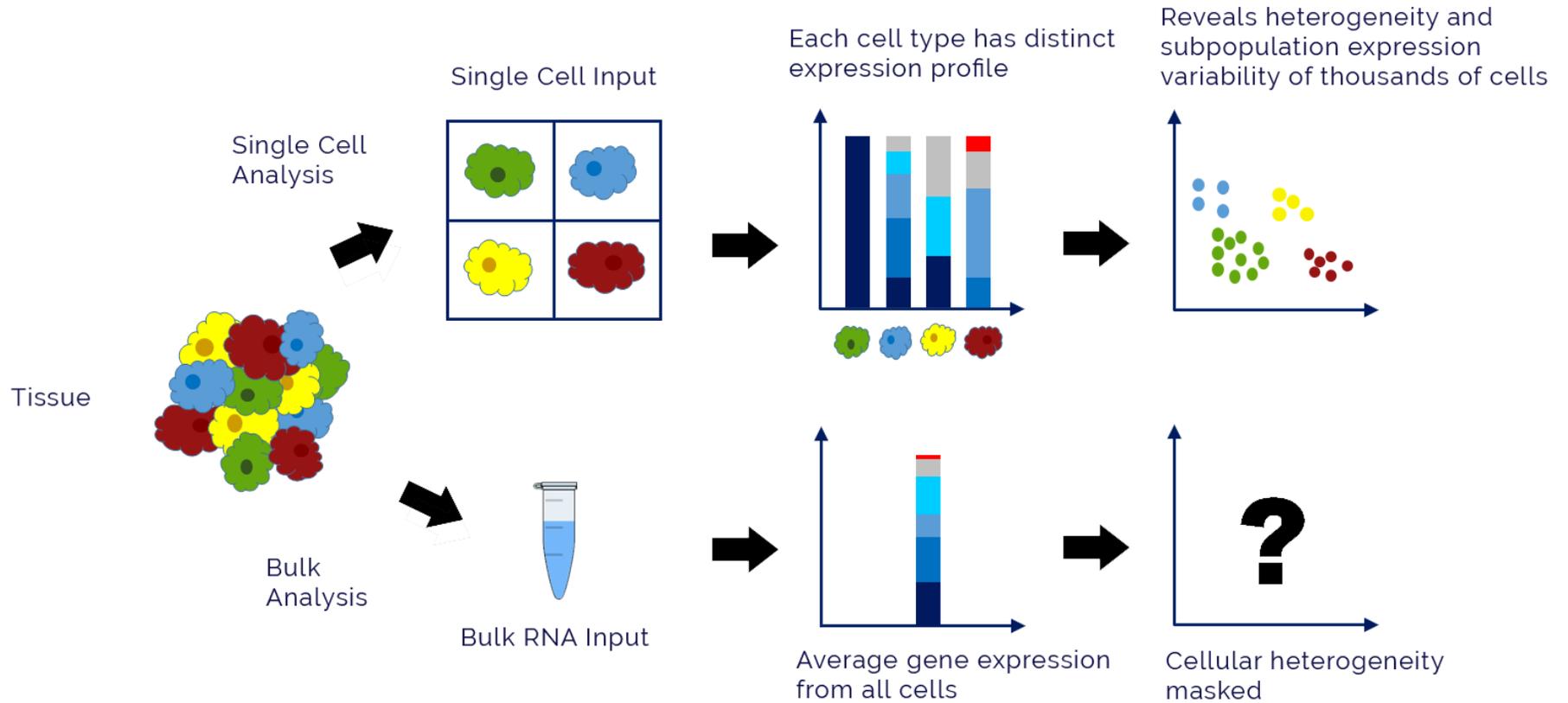


*Canela et al., 2016*

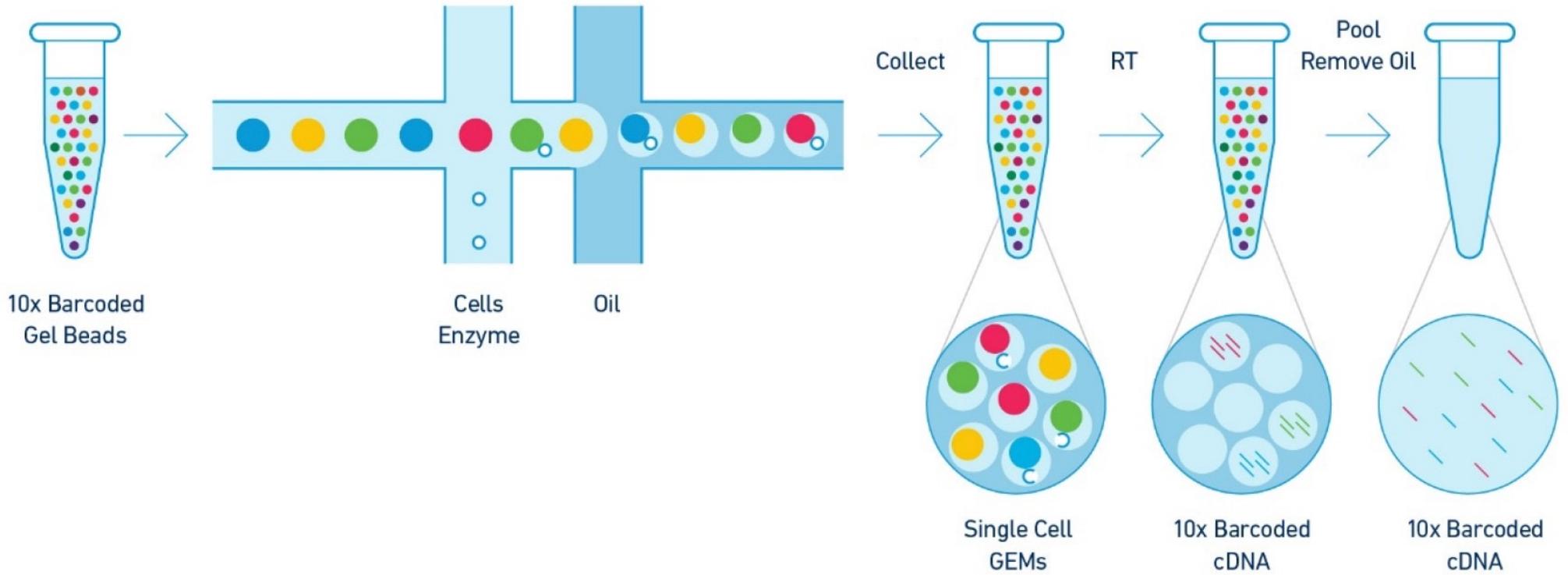
## End-Seq

- Applications :
  - édition génique
  - recombinaison VDJ
  - commutation isotypique
  - chimiothérapie

# Les analyses en single cell



# Les analyses en single cell



## Les analyses en single cell

- Applications :

DNA-Seq

RNA-Seq

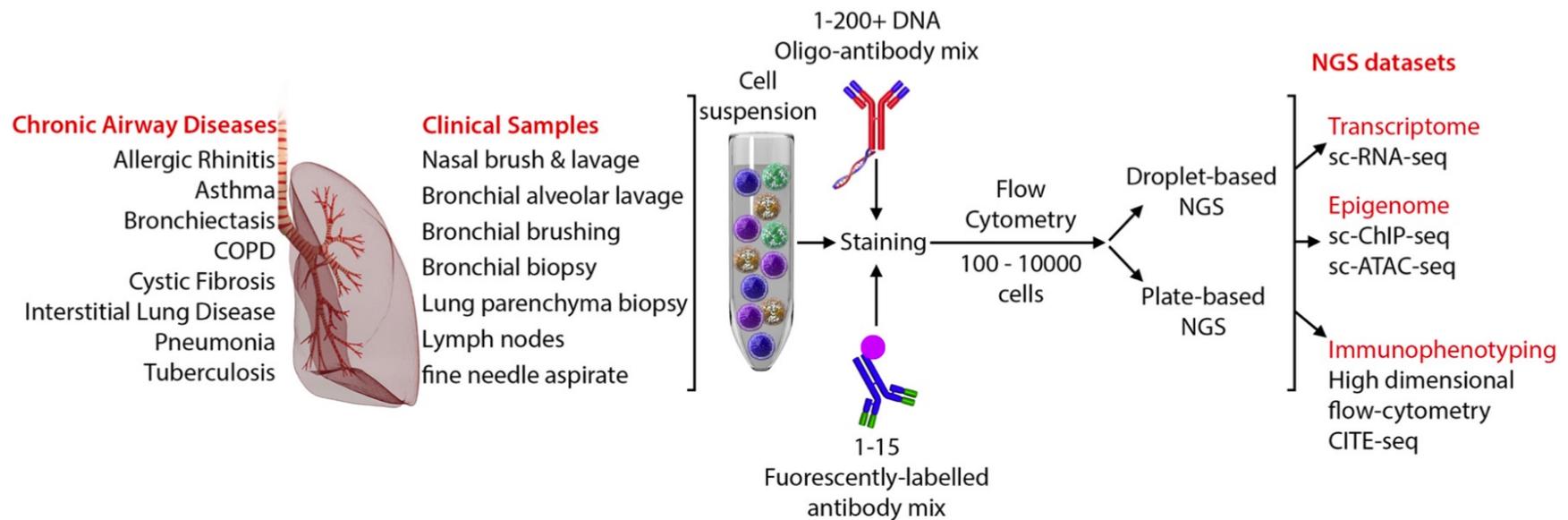
ATAC-Seq

CHIP-Seq (modifications des histones)

Méthylome

# Les analyses en single cell

- Exemple d'application :



*Seumois et al., 2019*

# Les analyses en single cell

- Exemple d'application :

