

## **IMPLICATION DES SÉQUENCES NON-CODANTES DU GÈNE *PAX6* DANS L'ANIRIDIE**

*Dr Julie Plaisancié – UDEAR, UMR 1056 INSERM-UPS, CHU TOULOUSE*

L'aniridie est une anomalie du développement de l'œil qui se manifeste par une hypoplasie complète ou partielle de l'iris, souvent accompagnée d'une hypoplasie de la fovéa, ce qui induit généralement une acuité visuelle réduite chez les patients. Cette anomalie peut être isolée ou associée à des manifestations extra oculaires. Plus de 90% des patients avec aniridie sont porteurs de mutations impliquant la séquence codante du gène *PAX6*. Ainsi, près de 10% des patients restent sans diagnostic moléculaire. L'aniridie est une pathologie très rare (1/80 000 en moyenne) et donc, les patients sans diagnostic moléculaire sont finalement très peu nombreux. Or, pour pouvoir mettre en évidence de nouveaux gènes ou mécanismes physiopathologiques à l'origine d'affections très rares, il est nécessaire de pouvoir étudier plusieurs patients ensemble afin de révéler des processus communs entre eux. Ainsi, dans ce travail, nous avons réussi à constituer une cohorte exceptionnelle de 27 patients atteints d'aniridie chez qui aucune mutation siégeant dans les régions codantes et les jonctions introniques du gène *PAX6* n'a été mise en évidence. Afin d'apporter un diagnostic à ces patients, nous avons entrepris un séquençage extensif du gène *PAX6* à la recherche de mutations siégeant dans les régions non-codantes du gène. En effet, l'implication de séquences régulatrices de *PAX6* dans l'aniridie avait été suggérée il y a déjà plusieurs années par la mise en évidence de remaniements chromosomiques impliquant la région non-codante en aval de ce gène.

Ainsi, nous avons mis à profit l'émergence des nouvelles techniques de séquençage (NGS) pour étudier ces régions non-codantes de *PAX6*. Nous avons mis au point un panel de reséquençage nouvelle génération (panel « aniridie ») qui permet d'étudier l'intégralité des régions conservées au locus *PAX6*. Ce panel ciblé utilise la technique *Ampliseq* de préparation des bibliothèques et un séquençage moyen-débit sur *Ion Torrent PGM*. Les résultats obtenus sont très positifs, traduisant un taux élevé de de détection de variants dans les séquences non-codantes de *PAX6*, en particulier des régions régulatrices d'aval, des exons non-codants et des sites d'épissage profonds du gène. La validation fonctionnelle des variants mis en évidence a permis d'attribuer 12 variants responsables parmi les 27 patients testés (45%). Parmi les 15 patients chez qui la responsabilité du gène n'a pas pu être retenue, 9 présentent toutefois des variants candidats dont l'impact est en cours d'évaluation par des études fonctionnelles. Ce qui fait que seuls 6 patients sur 27

demeurent dépourvus de diagnostic moléculaire et posent la question d'une mutation très à distance du gène, de l'implication d'un autre gène ou d'un autre mécanisme lésionnel.

Parmi ces hypothèses, (i) des variants pourraient être présents dans des zones incomplètement couvertes du panel, mais ceci est peu probable puisque la couverture réelle de ce panel approche les 100%, (ii) il pourrait s'agir de l'implication d'éléments régulateurs de *PAX6* non encore décrits et enfin, (iii) il pourrait s'agir de l'implication d'un autre gène non encore découvert. Ainsi, une stratégie d'analyse exome constituera la prochaine étape exploratoire chez ces patients sans diagnostic. Elle sera éventuellement complétée par une analyse de l'ensemble du génome. En effet, une analyse du génome entier permettrait à la fois la recherche de nouveaux gènes et l'analyse des régions régulatrices tout en s'affranchissant de certains biais spécifiques à l'étude de l'exome.

Ainsi, cette approche ciblée par NGS traduit l'efficacité diagnostique de l'approche et complète maintenant l'analyse des mutations du gène *PAX6* réalisée dans le laboratoire de diagnostic. Elle est désormais utilisée comme technique de première intention chez tous les patients atteints d'aniridie permettant d'apporter un diagnostic moléculaire à plus de 95% des patients atteints d'aniridie. Ce travail confirme que *PAX6* reste le gène majeur de l'aniridie.