

pratique est considérée comme un facteur accroissant l'incidence de maladies autosomiques récessives, les malformations congénitales, la morbidité et la mortalité. L'objectif de notre étude est d'évaluer le taux de consanguinité chez des familles avec enfants atteints de maladies autosomiques récessives et de comparer ce résultat aux taux moyen de consanguinité dans la population marocaine. Méthodes : L'étude a été réalisée au Département de Génétique Médicale à Rabat et a porté sur 176 familles avec maladies autosomiques récessives diagnostiquées et confirmées par des investigations cliniques, radiologiques, enzymatiques ou moléculaires. Le taux de consanguinité a été également étudié chez 852 familles qui ont eu des enfants avec trisomie 21 confirmée par caryotype. Ces familles ont été choisies puisque (i) aucune association n'est reconnue entre la trisomie 21 et la consanguinité, (ii) ces patients sont issus de différentes régions du Maroc et (iii) la trisomie 21 concerne toutes les couches sociales. Résultats : Parmi 176 familles avec maladies autosomiques récessives, la consanguinité représente 59,09 %. Nous avons estimé le taux de consanguinité au Maroc à 15,25 % avec coefficient moyen de consanguinité de 0,0065. Conclusion : Ces résultats placent le Maroc parmi les pays à taux élevé de consanguinité. Cette étude pourra définir les risques liés à la consanguinité, ce qui impose la mise en place de stratégies éducatives pour le public et les professionnels de santé. Dans le but de diminuer l'impact de la consanguinité sur la morbidité et la mortalité.

Mots-clés : Maladies autosomiques récessives, consanguinité, santé

■P293. LE MARIAGE CONSANGUIN DANS LA RÉGION DE SOUSS MASSA DARAA AU MAROC

L. Sbiï, H. Hami, D. Benali, A. Mokhtari, A. Soulaymani
Laboratoire de Génétique et Biométrie Département de Biologie, Faculté des Sciences, Université Ibn Tofail, Kenitra, Maroc
Contact : sbii_1@yahoo.fr

La consanguinité est une survivance d'anciennes civilisations qui persiste jusqu'à nos jours. Elle constitue une déviation au régime panmixte et témoigne de l'évolution du patrimoine génétique d'une population. Pour déterminer le niveau de cette pratique matrimoniale dans la région de Souss Massa Darraa au sud du Maroc, une étude prospective a été menée en 2005-2007 auprès de 194 familles échantillonnées au hasard dans la région étudiée. D'après les résultats que nous avons obtenus, le taux de consanguinité est de 14,4 % chez la génération des couples étudiés. La génération des parents des maris et celle des parents des femmes donnent respectivement des fréquences de 7,2 % et 14,9 % de consanguinité. Le caractère coutumier de ces mariages est illustré par le fait que certains types d'unions entre cousins sont préférés à d'autres. Les unions entre cousins germains par exemple représentent les fréquences les plus élevées.

Mots-clés : consanguinité, patrimoine génétique, Maroc.

Génome humain

■P294. ÉTUDE DU RETENTISSEMENT DE VARIANTS INTRONIQUES SUR L'ÉPISSAGE DE GÈNES CODANT POUR DES RÉCEPTEURS DE LA VOIE BMP RESPONSABLES DE VASCULOPATHIES HÉRÉDITAIRES

Y. Lahely (1), M. Eyries (1), F. Coulet (1), M.F. Carette (2), B. Girerd (3), M. Humbert (3), D. Montani (3), F. Chabot (4), F. Soubrier (1)
(1) Laboratoire d'Oncogénétique et d'Angiogénétique Moléculaire, Groupe hospitalier Pitié-Salpêtrière, Paris, France ; (2) Centre de Compétence pour la Maladie de Rendu-Osler en Ile de France ; Service de Radiologie, Hôpital Tenon, Paris, France ; (3) INSERM U999, Service de Pneumologie et Réanimation Respiratoire, Hôpital Antoine-Béclère, Clamart, France ; (4) Service des Maladies respiratoires et réanimation respiratoire. Hôpitaux de Brabois. CHU de Nancy, France
Contact : melanie.eyries@psl.aphp.fr

L'épissage est le processus complexe par lequel les cellules eucaryotes produisent un ARN messager (ARNm) mature à partir d'un pré-ARNm. Les anomalies d'épissage représentent 10 % des mutations rapportées dans la Human Gene Mutation Database, alors que seules les mutations affectant les sites donneurs et accepteurs d'épissage sont comptabilisées. La mise en évidence des anomalies d'épissage est donc incontournable en diagnostic. L'hypertension artérielle pulmonaire et la maladie de Rendu-Osler ou télangiectasie hémorragique héréditaire sont deux maladies vasculaires héréditaires associées à des mutations affectant des gènes impliqués dans la voie de signalisation du TGF- β . Des mutations sur le gène *BMPR2* sont retrouvées dans plus de 70 % des formes familiales et 10 à 30 % des formes sporadiques d'HTAP idiopathique. Des mutations sur les gènes *ACVRL1* et *Endogline* sont retrouvées chez 88 % des patients présentant les signes cliniques de la

maladie de Rendu-Osler. Nous avons étudié par PCR sur l'ADN complémentaire (ADNc), le retentissement sur l'épissage de trois variants de signification inconnue sur les gènes *BMPR2* et *ACVRL1*. L'extraction d'ARN a été réalisée à partir de sang total prélevé sur tubes PAXgene Blood RNA. Deux variants introniques rares, distants d'1 seul base, ont été identifiés sur *ADN*, dans l'intron 9 du gène *BMPR2* : le variant c.1277-9A>G et le variant c.1277-8A>G. Les prédictions in silico montrent que chacun de ces variants entraîne la création de sites cryptiques accepteurs d'épissage dans l'intron 9. Le séquençage des exons 9, 10 et 11 de l'ADNc de *BMPR2* des patients porteurs des variants c.1277-8A>G et c.1277-9A>G a mis en évidence une insertion respectivement des 7 et 8 derniers nucléotides de l'intron 9 dans la séquence codante de *BMPR2*, ce qui entraîne un décalage du cadre de lecture et l'apparition d'un codon stop précoce au niveau de la protéine. Les prédictions in silico du variant c.625+10G>A, identifié dans l'intron 5 du gène *ACVRL1*, indiquent que ce variant ne crée pas de site cryptique d'épissage. En revanche, il est prédit que ce variant supprime plusieurs ESE (Exonic Splicing Enhancer), des séquences consensus de régions régulatrices favorisant l'épissage. Le séquençage des exons 5, 6 et 7 de l'ADNc d'*ACVRL1* a mis en évidence un saut complet de l'exon 5 chez ce patient avec décalage du cadre de lecture. Ces résultats illustrent l'intérêt de réaliser des analyses sur ARNm afin d'identifier le caractère délétère des variants introniques de signification inconnue et ainsi de compléter le diagnostic moléculaire. Devant les nouveaux mécanismes de régulation de l'expression régulièrement découverts, ces études sur ARNm seront amenées à s'étendre pour étudier l'impact de variants sur d'autres types de mécanismes que celui de l'épissage, comme par exemple la méthylation ou encore l'étude fonctionnelle des régions promotrices.

Mots-clés : épissage, hypertension artérielle pulmonaire, télangiectasie hémorragique héréditaire.

■P295. DETERMINING THE CARRIER FREQUENCY OF P.F508DEL IN THE CFTR GENE IN IRAN

S.S. Banihosseini (1, 2), R. Kalhor (3), H. Nezari (4), A. Khodadad (1, 2), E. Elahi (4)

(1) Students' Scientific Research Center, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran ; (2) Children's Hospital Medical Center, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran ; (3) Molecular and Computational Biology, University of Southern California, Los Angeles, CA ; (4) Faculty of Biology, University College of Science, University of Tehran, Iran

Contact : setareh.banihosseini@gmail.com

Cystic fibrosis is the most common life-threatening autosomal recessive disease in many Caucasian populations. Approximately one in 2,500 newborns in populations of European ancestry are affected, wherein the average carrier frequency is 1:25. The disease is caused by mutations in the *CFTR* gene. More than 1400 mutations have been reported in the *CFTR* gene ; among p.F508del with the allele is the most frequent worldwide. The geographical distribution of the p.F508del shows a decreasing frequency from the Northwest to the Southeast of Europe. The observed frequency of approximately 18 % in Iran, which is located to the Southeast of Turkey, is in agreement with this gradient. However, high impact of CF were predicted in Turkey and Iran, based on data of frequency of individuals carrying homozygous mutations and extent of inbreeding in those populations. The low incidence commonly believed to be associated with this non-European population is likely to be due to under-diagnosis relatively. Specifically the carrier frequency in Iran was estimated to be 1:40, similar to that of European populations. We have now experimentally determined the frequency of p.F508del carriers among Iranians in 1200 who were randomly selected from 5 regions of North, South, West, East and center of Iran. Based on the number of carriers identified individuals in 1,200 and the latest observation that this allele accounts for 18 % of the *CFTR* mutated alleles of the Iranian population, the frequency of carriers of *CFTR* mutations was calculated to be 0.011. This figure corresponds to 1:45, more than the carrier frequency previously estimated. The carrier frequency in Iran is similar to experimentally determined estimate of 1:40, of European populations. However, since homozygous carriers of p.F508del usually die in early age, the acquired frequency might not represent the true frequency of the mutation. Therefore, blood samples were collected as well from the umbilical cord of 1000 newborns in the same geographical regions to determine the true frequency amongst those populations as well as in Iran in general. The analysis of these data is still ongoing. Subsequent to finding the prevalence of the mutation in 1200 individuals, we are performing SNP and haplotype analysis using the method PRASE and a homemade microarray chip. The results will be analyzed using bioinformatic methods.

Mots-clés : carrier frequency, *CFTR*, p.F508del.

■P296. RECHERCHE DE MUTATIONS CAUSANT LES MYOPATHIES CENTRONUCLEAIRES PAR SÉQUENÇAGE HAUT DÉBIT

N. Vasli (1), J. Boehm (1), F. Plewniak (1), N. Haumesser (1), V. Biancalana (2), J.L. Mandel (1, 2), J. Laporte (1)
(1) IGBMC, U964, Illkirch, France ; (2) Laboratoire de diagnostic génétique, Faculté de Médecine, Strasbourg, France
Contact : jocelyn@igbmc.fr

For rare monogenic disorders, identification of the mutated gene is the compulsory first step towards molecular diagnosis, creation of animal models, and characterization of the pathological mechanisms, and is a prerequisite for most therapeutic approaches. Apart from a few diseases where the defective protein could be guessed from metabolic studies (eg. mutation in an enzyme synthesizing the missing metabolite), most disease genes are identified through a laborious positional cloning strategy requiring extensive informative families. Although such approach was successful, it cannot be applied to rare disorders without informative families that now represent the usual case. We aim to use "sequence capture and high throughput sequencing" with different strategies to screen thousands of candidate genes and alternatively the whole genome to find the gene(s) that are mutated in myopathies. We focus on centronuclear myopathies (CNM), a group of rare muscle diseases typically presenting an abnormal positioning of nuclei in muscle fibers. We have previously been implicated in the identification of the three genes known to be associated to CNM. Mutations in the MTM1 gene encoding a phosphoinositides phosphatase lead to the severe neonatal myotubular myopathy. Mutations in BIN1 (encoding Amphiphysin 2) and DNM2 (Dynamain 2) induce autosomal recessive and dominant forms respectively. A number of patients were not found to carry mutations in the known genes despite classical CNM features. It is conceivable that other genes are implicated in the development of the disease, and this is backed up by our preliminary linkage analysis data. In our project we aim to detect premature stop codon mutation, deletion and point mutations through the use of expression chips for detecting the genes with reduce level of expression, deletion/CGH chip to detect large deletions, and sequence capture followed by high throughput sequencing, respectively. For each of these strategies, we will use different number of patients and controls. We will apply several consecutive bioinformatics filters to discard any variation that is not linked to the disease, and will sequence the best candidate genes through Sanger method in additional patients from our large panel of CNM patients. Finally, we aim to investigate the functional impact of the identified sequence variation(s) by biochemical analysis and cell-based assays. This approach, if successful, could be applied to any rare (and frequent) genetic disorders, both for molecular diagnosis and novel gene identification.

Mots-clés : high throughput sequencing, centronuclear myopathies (CNM).

Maladies complexes

■P297. IDENTIFICATION DE POLYMORPHISMES DU GÈNE *KCNQ5* ASSOCIÉS À LA FONCTION VENTILATOIRE PAR UNE STRATÉGIE MULTI-MARQUEURS EN DEUX ÉTAPES

E. Bouzigon (1), H. Aschard (1), H. Tharrault (1), M.H. Dizier (1), R. Matran (2), F. Kauffmann (3), M. Lathrop (4), F. Demenais (1)
(1) Inserm U946, Paris, France ; (2) Univ Lille Nord de France, Lille, France ; (3) Inserm U780, Villejuif, France ; (4) CEA-CNG, Evry, France
Contact : emmanuelle.bouzigon@inserm.fr

Un précédent criblage du génome réalisé dans les familles de l'étude EGEA (Études des facteurs Génétiques et Environnementaux de l'Asthme) par analyses de liaison génétique, a mis en évidence une liaison entre une mesure de la fonction ventilatoire (VEMS : Volume Expiratoire Maximum Seconde) et la région 6q14. Le signal de liaison détecté était plus significatif chez les germains âgés de plus de 16 ans. Nous avons exploré plus finement cette région en génotypant 399 SNPs (couvrant 30Mb) dans 203 familles (337 germains adultes). Pour réduire le problème des tests multiples, nous avons utilisé une approche en deux étapes basée sur deux méthodes multi-marqueurs : 1) Local Score et 2) FBAT multi-marqueurs (FBAT-M). Cette stratégie a permis la détection de groupes de marqueurs adjacents présentant une agrégation de scores statistiques élevés tout en prenant en compte le déséquilibre de liaison entre marqueurs. Nous avons identifié cinq marqueurs associés au VEMS (p-values allant de 0,005 à 0,0008) et qui restaient significatifs après correction de Bonferroni. Le groupe de marqueurs le plus significatif était localisé dans le gène *KCNQ5* et incluait 11 SNPs dont quatre étaient fortement associés au VEMS (p ≤

0,0007). Ces associations ont été répliquées chez 267 témoins adultes d'EGEA (p-values entre 0.03 et 0.002 pour quatre SNPs). La combinaison des p-values obtenues dans nos deux échantillons par le test de probabilité combinée de Fisher, renforçait l'évidence d'association entre le VEMS et trois SNPs (p-values combinées allant de 6x10⁻⁴ à 5x10⁻⁵). Le gène *KCNQ5* est exprimé dans l'épithélium bronchique et est un déterminant du liquide de surface des voies respiratoires. Il représente donc un gène candidat intéressant de la régulation de la fonction ventilatoire. Financé par le Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche, AFSSET, ANR-CEBS, GABRIEL

Mots-clés : VEMS, association familiale, multi-marqueurs.

■P298. RECHERCHE DE RÉGIONS GÉNOMIQUES ET DE GÈNES CANDIDATS IMPLIQUÉS DANS L'AUTISME

C. Nava (1), C. Depienne (1), B. Keren (2), D. Périssé (3), J. Xavier (3), C. Laurent (3), A. Afejar (4), A. Jacquette (4), S. Whalen (4), W. Carpentier (5), D. Cohen (3), D. Héron (4), A. Brice (1)
(1) CRICM, Inserm UMR_S 975, Hôpital de La Pitié-Salpêtrière, Paris, France ; (2) Département de Génétique et Cytogénétique, Unité Fonctionnelle de Cytogénétique, Hôpital de La Pitié-Salpêtrière, Paris, France ; (3) Service de Psychiatrie de l'enfant et de l'adolescent, Hôpital de La Pitié-Salpêtrière, Paris, France ; (4) Département de Génétique et Cytogénétique, Unité Fonctionnelle de Génétique Clinique, Hôpital de La Pitié-Salpêtrière, Paris, France ; (5) Plate-forme post-génomique P3S, Faculté de médecine Pierre-et-Marie-Curie, Site Pitié-Salpêtrière, Paris, France
Contact : caro.na@wanadoo.fr

Introduction : L'autisme est un trouble neurodéveloppemental précoce altérant la communication, les interactions sociales et les comportements. En dépit de l'évidence d'une forte composante génétique, l'anomalie génétique en cause n'est réellement identifiée que dans 10 % des cas actuellement. Les études récentes ont identifié des microréarrangements génomiques (ou CNV pour Copy Number Variant) *de novo* chez 5 à 10 % des patients autistes contre 1 % dans la population générale. Objectifs et méthodes : L'objectif de cette étude était double : 1) identifier des microréarrangements génomiques chez 40 patients atteints d'autisme et de retard mental à l'aide de puces à ADN de haute densité de type SNP et identifier des régions homozygotes chez les patients ayant des parents apparentés dans l'hypothèse d'une pathologie autosomique récessive ; 2) utiliser les résultats de ces deux approches afin de proposer des gènes candidats. Résultats : Nous avons identifié une triplification 15q11-q12 et une délétion 9pter chez deux patients (un garçon et une fille). Nous avons également identifié 12 CNV différents chez 9 patients dont la signification reste inconnue ; ces CNV n'étaient pas référencés comme polymorphisme dans les bases de données et contenaient au moins un gène. Dans 7 cas (6 patients), il s'agissait d'un CNV hérité d'un parent asymptomatique, suggérant qu'il n'est pas responsable à lui seul des troubles autistiques. L'étude des parents est en cours pour les 5 autres CNV. D'autre part, l'étude d'une famille consanguine où 2 frères étaient autistes a permis d'identifier 4 régions homozygotes, en 6p21.32, 6q27, 8p21 et 15q13, présentes uniquement chez les atteints. Nous avons étudié 8 gènes candidats situés dans ces régions (GABRG3, CHRNA7, APBA2 et GREM1 en 15q13 et ELP3, PNMA2, CLU et DPYSL2 en 8p21). Cependant aucune mutation délétère n'a été identifiée. En conclusion, cette étude nous a permis d'identifier la cause de l'autisme chez 2 patients sur 40 (5 %) et de proposer de nouveaux gènes candidats à travers 2 approches : la recherche de microréarrangements génomiques et l'étude des régions d'homozygoties chez les patients ayant des parents apparentés. L'interprétation des CNV reste néanmoins délicate, et le rôle des CNV référencés comme polymorphisme dans les bases de données ou n'impliquant pas de gènes mais pouvant toucher des séquences régulatrices ne peut pas être exclu. Une des suites de ce projet sera d'analyser systématiquement des trios (enfant + parents) afin de caractériser en priorité toutes les anomalies survenues *de novo*, plus vraisemblablement causales.

Mots-clés : autisme, copy number variant, homozygotie.

■P299. RENDEMENT ÉTIOLOGIQUE DANS UNE POPULATION D'ENFANTS AUTISTES ISSUS D'UNE BASE GÉOGRAPHIQUE

F. Devillard (1), V. Guinchat (2), B. Assouline (3), M.A. Nguyen-Morel (4), F. Amblard (1), V. Satre (1), F. Prieur (5), R. Touraine (5), P.S. Jouk (1), C. Betancur (6)
(1) Département de Génétique, Hôpital Couple-Enfant, CHU de Grenoble, France ; (2) Psychiatrie de l'enfant et de l'adolescent, G.H. Pitié-Salpêtrière, Paris, France ; (3) Centre Alpin de Diagnostic Précoce de l'Autisme CADIPA, CH St Egrève, France ; (4) Département de Pédiatrie, Hôpital Couple-Enfant, CHU de Grenoble, France ; (5) Service de Génétique