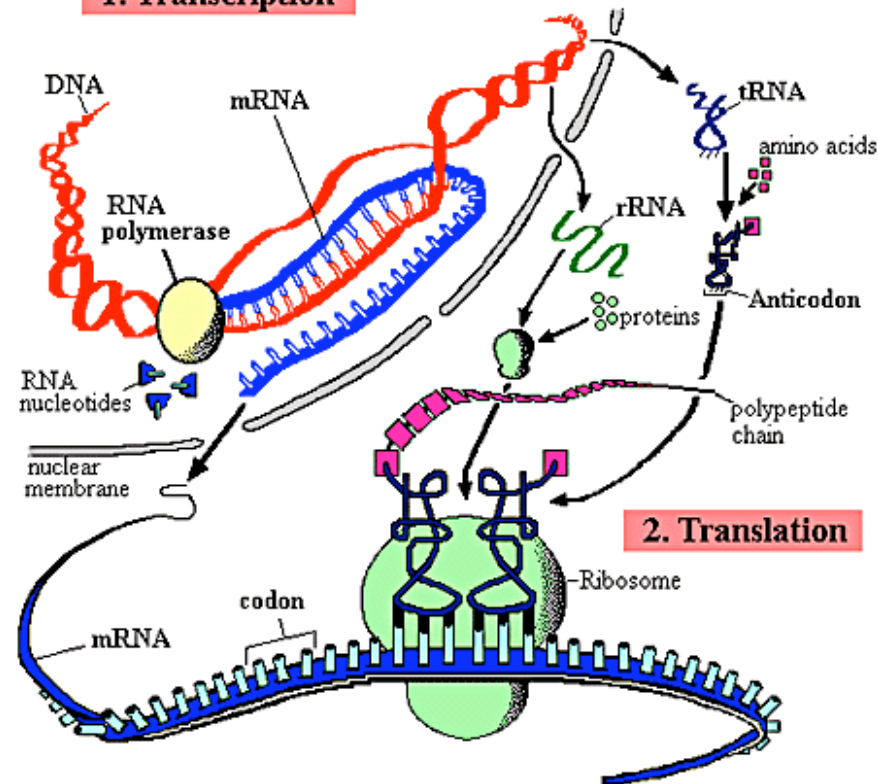


Analyse de l'expression de gènes

Expression de gènes

1. Transcription



Protein synthesis

(http://www.accessexcellence.org/AB/GG/protein_synthesis.html)

Expression

Expression d'un gène = quantité de ARNm présent

(aussi : quantité de protéines traduites = expression protéique)

Comment mesurer l'expression d'un gène G ?

Méthode : extraire tout ARNm d'une tissue+utiliser une sonde pour quantifier G

(1) extraction de ARN : facile, mais $> 90\%$ est de l'ARN de transfert ou ribosomique. Il faut identifier l'ARNm — aucune méthode générale. Une idée qui marche assez bien se relie au fait que l'ARNm des Eukaryotes contient une queue de 'A'-s.

Hybridation

Sondage : **hybridation** — idée centrale en génomique.

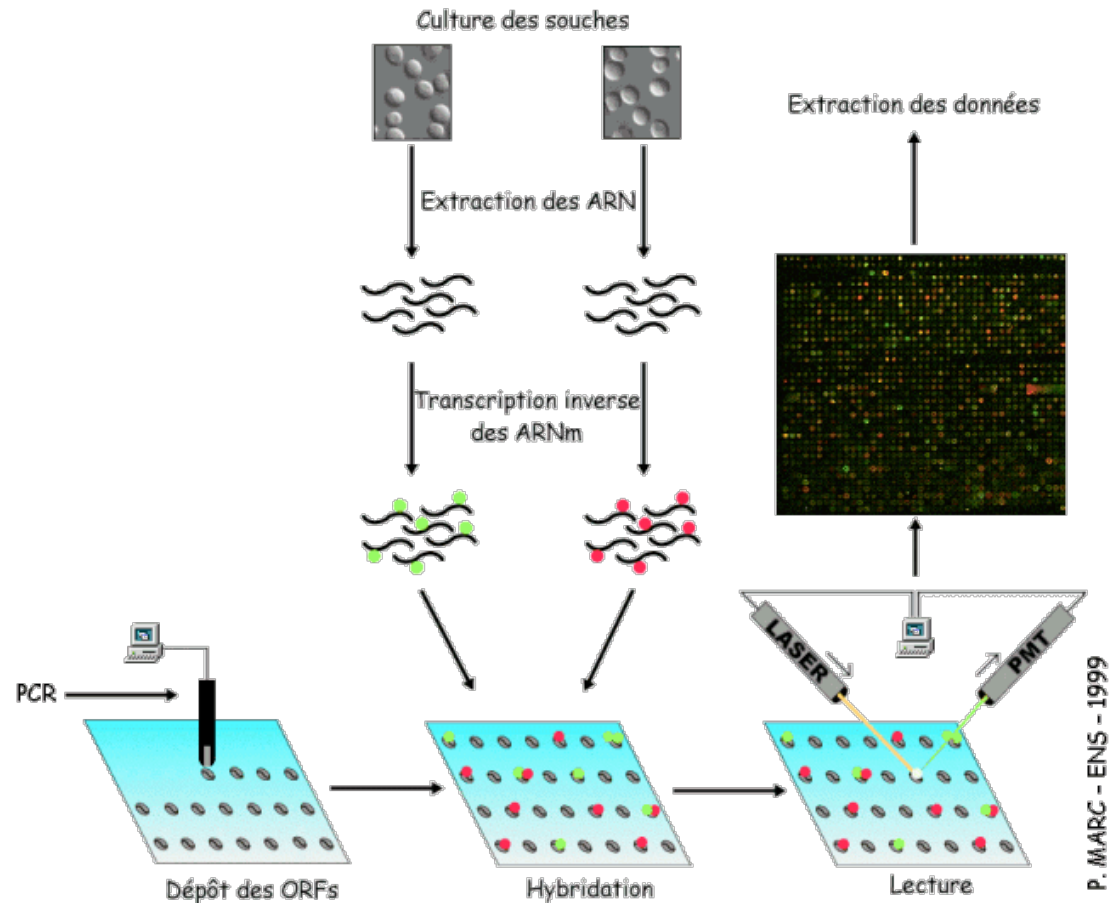
Deux brins de ADN s'hybrident s'ils sont complémentaires.

La **sonde** (*probe*) est une molécule poly-nucléotide spécifique à une séquence **cible** (*target*). P.e., le complémentaire d'un gène ou d'un de ses sous-mot qui est unique dans le génome.

(Comment aller de ARNm à ADN ? Transcription inverse — produit de l'ADN.)

Les sondes sont arrangées sur une surface en une matrice : **puce**

Puces



<http://www.transcriptome.ens.fr/sgdb/presentation/principe.php>

Puces - technologies

Placement de sondes : impression ou synthèse sur la surface

impression — puces à ADNc : sondes de ADNc sont placées sur une lame par une imprimante (*ink jet*) + robot

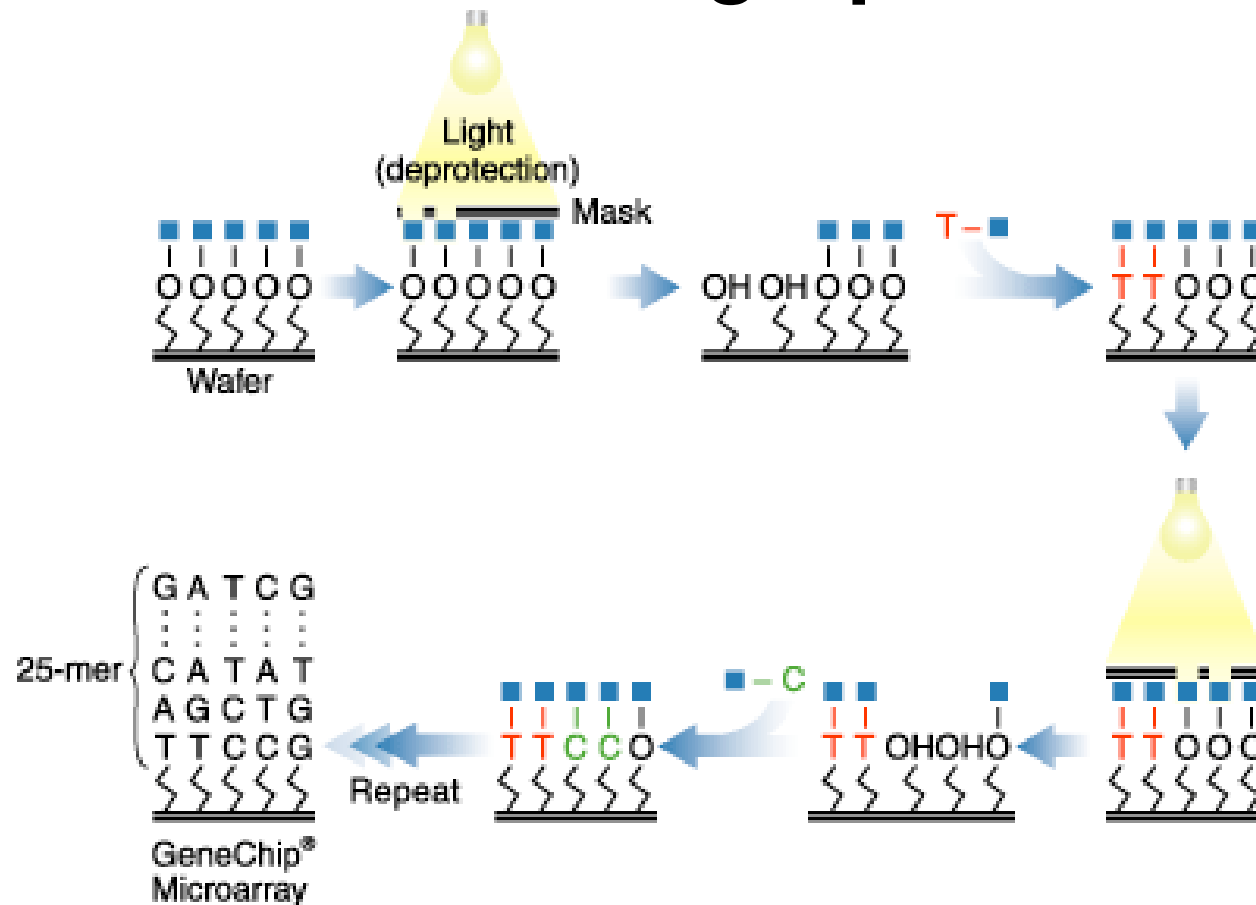
synthèse — puces à oligonucléotides (Affymetrix) : sondes construites par photolithographie

Combien de sondes ? Typiquement, 256×256 , 384×384 ou même 768×768 . Densité est plus haute par la technologie de Affy.

Photolithographie

Lodish et al. *Molecular Cell Biology*, 4th ed., W. H. Freeman 1999

Photolithographie



<http://www.affymetrix.com/technology/manufacturing/index.affx>

GeneChip de Affymetrix



Puces - analyse du signal

Signal — quel signal ? Il faut marquer soit les probes, soit les cibles. Marqueurs : fluorescence ou radioactivité.

→ radiographie : isotopes de phosphore — pas cher mais pas aussi sensitive (plutôt sur membranes de nylon)

→ fluorochromes : molécules absorbant/émettant des rayons à des spectres très limités

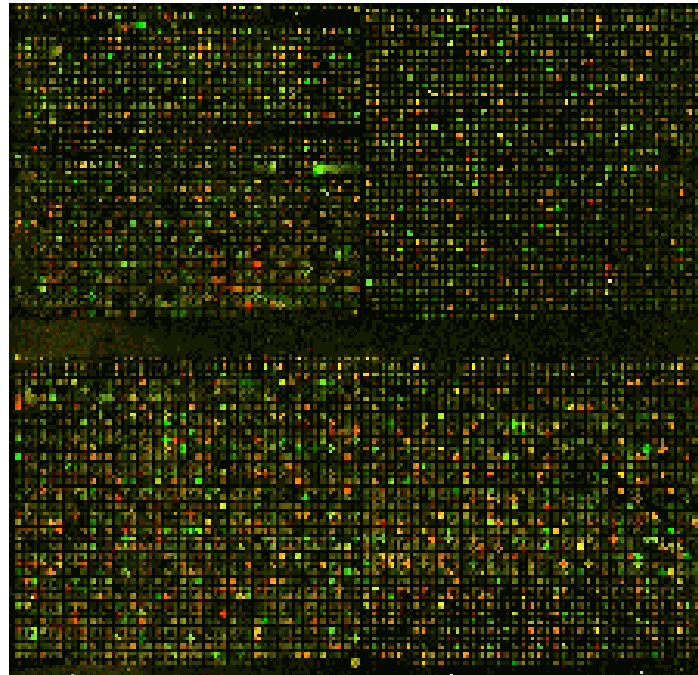
Cy3 : orange (550–581 nm), Cy5 : rouge (649–670 nm)

Signal

Lodish et al. *Molecular Cell Biology*, 4th ed., W. H. Freeman 1999

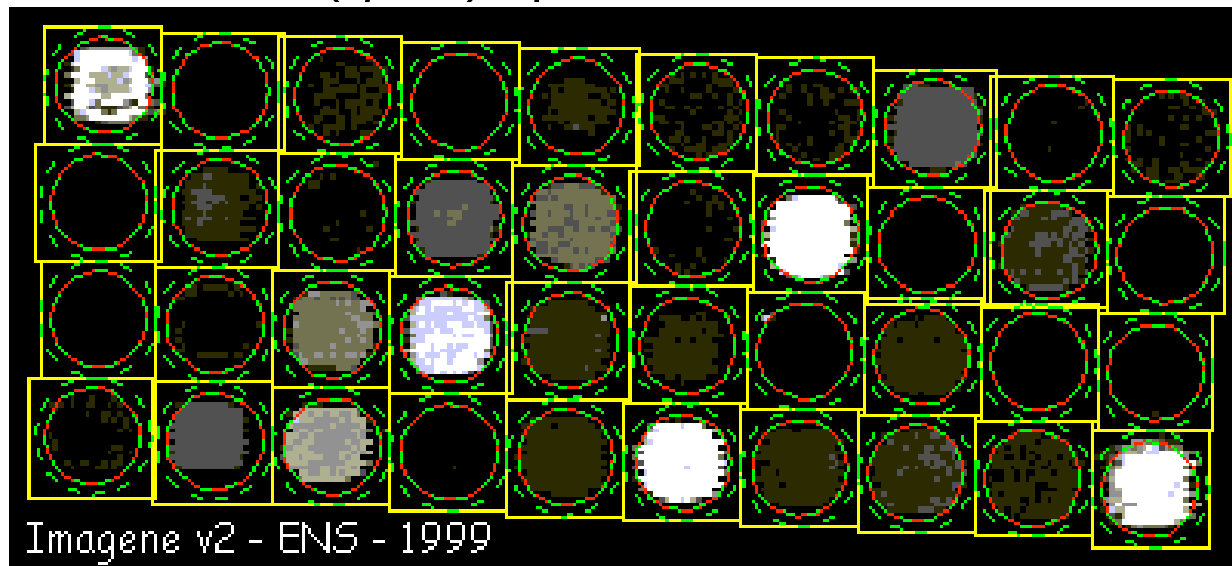
Analyse du signal - 2

Lasers pour exciter les fluorochromes, émission enregistrée : on a un photo essentiellement.



Analyse du signal - 3

Identification de taches (*spots*), quantification.



Analyse des données

1. traitement de signal : spots, sous-traction de bruit («background»), normalisation
2. but ambitieux : mesurer l'expression absolue (quantité de ARNm) ;
but moins ambitieux : quantifier l'expression différentielle ;
but modeste : qualifier l'expression différentielle
3. analyse par méthodes d'apprentissage : clustering ou apprentissage supervisé

Clustering - groupement

1. on a besoin d'une distance entre patterns d'expression
2. groupement hiérarchique agglomeratif : Eisen
3. groupement non-hiérarchique : k-moyennes, cartes auto-organisatrices («self-organizing maps»)