

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE SAAD DAHLAB, BLIDA -1-
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE ET PHYSIOLOGIE CELLULAIRE



Mémoire de fin d'études

En vue de l'obtention du diplôme de Master

En Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : SCIENCES BIOLOGIQUES

Option : Génétique

THÈME

Etude par méthode Bioinformatique du polymorphisme du gène aquaporine (AQP) chez les diabétiques.

Présenté par :

M^{elle} KADDOUR Hanane

M^{elle} OUDNI Kahina

Soutenu le : 23/09/2020

Devant le jury :

Membre de Jury	Grade	Qualité	Domiciliation
M ^{me} BELKHITER S.	MAA	Président	USDB1
M ^r BOUKHATEM M.N	MCA	Examinateur	USDB1
M ^{me} EDDAIKRA A.	MCB	Promotrice	USDB1

Promotion 2019/202



*La nature de notre esprit nous porte à
chercher l'essence où le pourquoi des choses*

Claude Bernard



Remerciements

Nous tenons à adresser nos sincères remerciements et profond respect à notre promotrice Mme **EDDAIKRA ATIKA**, maitre de conférences de classe B à la faculté des sciences de la nature et de la vie de l'université de Blida. Nous tenons à lui témoigné notre profonde gratitude de nous avoir proposé la thématique de notre sujet de fin d'étude, nous la remercions pour sa patience, sa compréhension, sa disponibilité, ses conseils et pour toute l'aide qu'elle nous a rapporté, on a beaucoup apprécié la confiance qu'elle nous a toujours accordé et grâce à laquelle on a bénéficié d'une grande liberté dans notre travail.

Un grand merci également aux membres de ce jury qui ont accepté d'évaluer notre travail : Mr **Boukhatem M.N** en qualité d'examineur et un grand merci aussi pour la présidente Madame **BELKHITER**.

Nous remercions aussi tous ceux qui ont contribué de près et de loin à la mise en œuvre de ce travail.

Ces remerciements ne peuvent s'achever sans remercier nos mères, nos pères pour toute leur patience et leurs conseils, nos frères et nos sœurs.

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail accompagné d'un profond amour :

À celle qui m'a arrosé de tendresse et d'espoir, à ma source d'amour qui m'a bénie par ses prières à **Wahiba** ma mère,

À mon très cher père **Farid** qui a toujours été à mes côtés pour me soutenir et m'encourager,

À mon frère **Islem** et ma sœur **Nora** pour leur soutien moral, leur encouragement et pour tout ce qu'ils ont fait pour moi,

À ma chère mamie, mes tentes et mon oncle **El-Hadj** que dieu leur donne une longue et joyeuse vie,

À mon fiancé **Djahid** qui n'a pas cessé de me conseiller, encourager et soutenir tout au long de mes études,

Sans oublier mon binôme **Kahina** pour son soutien moral, sa patience et sa compréhension tout au long de ce projet.

Hanane KADDOUR

Dédicaces

Avant tout, je remercie Allah le tout puissant de m'avoir donné la santé, la patience et le courage pour réaliser ce travail.

Je dédie ce travail à mes chers parents, qu'ils trouvent ici le témoignage de ma profonde gratitude pour leur encouragements, leurs conseils, leurs soutiens et de longues années de sacrifices et de privations pour m'aider à avancer dans la vie et de faire de moi ce que je suis aujourd'hui.

Comme je dédie aussi ce travail à ma sœur **Nora** qui a toujours été à mes côtés.

Kahina OUDNI

Résumé

Plusieurs facteurs contribuent au développement du diabète qui est une maladie chronique complexe se traduisant par une hyperglycémie qui conduit à son tour à des lésions affectant plusieurs appareils ou systèmes ; les facteurs environnementaux et les facteurs génétiques dont certains gènes sont mutés donnent des protéines tronquées, parmi ces gènes on a les gènes codant pour les aquaporines qui sont des protéines membranaires intégrales jouant un rôle important dans le transport de l'eau et le glycérol dans les différents organes (œil, voies respiratoires,...) et affinent la réabsorption de l'eau au niveau rénal. Les variations génétiques mononucléiques (SNP) des gènes codant pour ces aquaporines pourraient être impliquées dans l'apparition de diabète. Notre étude *in silico* repose sur l'utilisation des outils bioinformatique pour trouver les SNP des gènes aquaporines impliqués dans le diabète. Pour répondre à la problématique de notre étude *in silico*, nous avons utilisé les séquences nucléotidiques stockées dans les bases de données à accès libre comme NCBI, et c'est grâce aux outils NCBI, Ensembl, UCSC et Galaxy qu'on a pu obtenir une liste interminable de SNP des gènes AQP2, 7 et 11. Afin de sélectionner seulement les rs qui sont impliqués dans l'apparition du diabète on s'est servi de l'outil LitVar qui nous a permis d'associer chaque rs avec le type de diabète qu'il peut provoquer. Nos résultats confirment l'implication des aquaporines 2, 7 et 11 dans la physiopathologie du diabète, plus précisément le diabète de type 2 et le diabète insipide néphrogénique grâce à la présence de huit SNP dans le gène AQP2 dont cinq sont situés au niveau de l'exon 1 (rs1288385043, rs964170650, rs28931580, rs1468828294 et le rs149659001), un SNP situé au niveau de l'exon 2 (rs104894333) et deux SNP situés au niveau de l'exon 4 (rs750321982 et rs104894339) impliqués dans l'apparition du diabète insipide néphrogénique, deux SNP dans le gène AQP7 (rs2989924 et rs3758269) et un seul SNP situé au niveau de l'exon 1 du gène AQP11 (rs2276415) impliqué dans l'apparition du diabète type 2.

Mots clés : Aquaporines, gènes des aquaporines, diabète de type 2, diabète insipide néphrogénique, SNPs, outil

Abstract

Several factors contribute to the development of diabetes which is a complex chronic disease resulting in hyperglycemia which in turn leads to lesions affecting several organs or systems; environmental factors and genetic factors in which some genes are mutated encoding truncated proteins, among these genes we have the genes encoding aquaporins which are integral membrane proteins playing an important role in the transport of water and glycerol in the different organs (eye, respiratory tract, etc.) and refine the reabsorption of water in the kidneys. The mononucleic genetic variations (SNPs) of the genes encoding these aquaporins could be involved in the development of diabetes. Our study in silico is based on the use of bioinformatic tools to find the SNP of the aquaporin genes involved in diabetes. To answer the problem of our in silico study, we used the nucleotide sequences stored in open access databases such as NCBI, and with the help of the tools NCBI, Ensembl, UCSC and Galaxy that we were able to obtain an interminable list of SNPs of the genes AQP2, 7 and 11. In order to select only the rs which are involved in diabetes, we used the LitVar tool which allowed us to associate each rs with the type of diabetes that can cause. Our results confirm the involvement of aquaporins 2, 7 and 11 in the pathophysiology of diabetes, more precisely type 2 diabetes and nephrogenic diabetes insipidus and that due to the presence of eight SNPs in the AQP2 gene, five of them are located in exon 1 (rs1288385043 , rs964170650, rs28931580, rs1468828294 and rs 149659001), one located in exon 2 (rs104894333) and two located in exon 4 (rs750321982 and rs104894339) involved in the onset of nephrogenic diabetes insipidus, two SNPs in the AQP7 gene (rs2989924 and rs3758269) and a single SNP located in the exon 1 of the AQP11 gene (rs2276415) involved in the onset of type 2 diabetes.

Keywords: Aquaporin, aquaporin gene, diabetes type 2, nephrogenic diabetes insipidus, SNP, bioinformatics tools.

الملخص

هناك العديد من العوامل المؤثرة في ظهور و تطور داء السكري الذي يعتبر مرض مُزمن معقد، تتمثل أعراضه في ارتفاع نسبة السكر في الدم، هذا الارتفاع يسبب عدة مشاكل تُمس الأعضاء و الأجهزة الحيوية ، من بين هذه العوامل نذكر العوامل الطبيعية المحيطة بالإنسان و العوامل الوراثية مُؤديةً إلى حدوث طفرات وراثية على مستوى عدة مُورثات و التي تؤدي بدورها إلى خلل في تركيب البروتينات ونخصُ بالذكر مورثة AQP خاصة لبروتين غشائي ألا وهو الأكوابورين الذي يلعب دور هام في تبادل جزيئات الماء و الغليسرول بين الوسطين الداخلي و الخارجي لخلايا عدة أعضاء كالعين، الكلى، الجهاز التنفسي و الأمعاء ... إلخ كما أنها تلعب دور هام في إعادة امتصاص الماء على مستوى الكليتين. الطفرات الوراثية (SNP) للمورثات الخاصة بهذه البروتينات لها علاقة بداء السكري فهي تؤثر كما ذكرنا سابقا في ظهور و تطور هذا المرض. تعتمد دراستنا *in silico* على استخدام البرامج المعلوماتية المتخصصة في العلوم البيولوجية وذلك بهدف تحديد الطفرات الوراثية لمورثة خاصة لبروتين غشائي (الأكوابورينات) التي لها علاقة بداء السكري. للإجابة على الإشكالية المطروحة في دراستنا *in silico* , قمنا باستعمال السلاسل النيكلويدية المخزنة في بنوك معطيات المتوفرة مجانا على شبكة الأنترنت أهمها بنك المعلومات NCBI ، بفضل البرامج NCBI ، Ensembl ، UCSC و Galaxy تمكنا من الحصول على قائمة غير منتهية من الطفرات الوراثية لمورثات خاصة للبروتينات AQP2 ، AQP7 و AQP11. و من أجل انتقاء الطفرات الوراثية (rs) المسؤولة على ظهور داء السكري فقط ، قمنا باستخدام البرنامج LitVar الذي سهل لنا ربط كل طفرة (rs) بنوع السكري المسؤولة على ظهوره. تؤكد النتائج المتحصل عليها باستخدام البرامج المذكورة سابقاً أن كل من AQP2 ، AQP7 و AQP11 لها علاقة في ظهور داء السكري و نُخص بالذكر داء السكري نوع 2 و السكري الكاذب الكلوي، بحيث تحصلنا على ثمانية طفرات وراثية لمورثة AQP2 منها خمسة طفرات في القطعة الدالة 1 (exon1) (rs1288385043 ، rs964170650 ، rs28931580 ، rs1468828294 و rs149659001) طفرة واحدة في القطعة الدالة 2 (rs104894333) و طفرتين في القطعة الدالة 4 (rs750321982 و rs104894339) ؛ طفرتين وراثيتين لمورثة AQP7 (rs2989924 و rs3758269) و طفرة واحدة لمورثة AQP11 في القطعة الدالة 1 (rs2276415). من خلال معطيات النتائج نستخلص أن كل من الطفرات الوراثية (rs) لها علاقة بظهور داء السكري حيث : كل من rs1288385043 ، rs964170650 ، rs28931580 ، rs1468828294 ، rs149659001 ، rs104894333 ، rs750321982 و rs104894333 للمورثة AQP2 مسؤولة على ظهور السكري الكاذب الكلوي بينما كل من : rs2989924 و rs3758269 للمورثة AQP7 و rs2276415 للمورثة AQP11 فهي مسؤولة على ظهور داء السكري نوع 2.

الكلمات المفتاحية: الأكوابورينات ، مورثة الأكوابورين ، مرض السكري نوع 2 ، مرض السكري الكاذب الكلوي، الطفرة الوراثية ، برامج المعلوماتية الحيوية.

Sommaire

Sommaire

Liste des abréviations	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Glossaire	
Introduction.....	1
1. Rappels bibliographique	
1.1. Gène AQP.....	3
1.1.1. Structure et localisation	3
1.1.2. Fonction	7
1.1.3. Expression	9
1.1.4. Biosynthèse.....	19
1.1.5. Régulation.....	20
1.1.6. Protéines du gène de l'AQP.....	23
1.2. Polymorphisme.....	24
1.2.1. Variations de nucléotides uniques (SNP).....	25
1.3. Association diabète et polymorphisme du gène AQP.....	26
1.3.1. Diabète.....	26
1.3.1.1. Diabète type1.....	26
1.3.1.2. Diabète type2.....	27
1.3.1.3. Diabète insipide	28
1.4. Conséquences physiopathologiques du polymorphisme de l'AQP dans le diabète...29	
2. Matériel et Méthodes.....	31
2.1. Matériel.....	31
2.1.1. Matériel biologique.....	31
2.1.2. Outils bioinformatiques.....	32
2.2. Méthodes	34
2.2.1. Recherche des SNP du gène AQP.....	34
2.2.1.1. Outil NCBI	34
2.2.1.2. Outil Ensembl	35
2.2.1.3. Outil UCSC	35
2.2.1.4. Outil Galaxy	36
2.2.2. Identification d'association pathologique par LitVar	37
3. Résultats et Discussions	38
3.1. Résultats.....	38
3.2. Discussion	44
4. Conclusion	47
Références bibliographiques	
Annexe	

Liste des abréviations

ADH : Hormone Antidiurétique
ADN : Acide Désoxyriboucléique
Ampc : Adénosine Monophosphate Cyclique
AQP : Aquaporine
ARN : Acide Ribonucléique
AVP : Arginine-Vasopressine
CAM : Calmoduline
CML : Leujémie Myéloïde Chronique
CPA : Cellule Présentatrice d'Antigène
CTLA4 : Antigène 4 des Lymphocytes T Cytotoxique
DIC : Diabète Insipide Central
DIN : Diabète Insipide Néphrogénique
DT1 : Diabète De Type 1
DT2 : Diabète De Type 2
ER : Réticulum Endoplasmique
G : Golgie
GAD : Décarboxylase d'Acide Glutamique
HLA : Antigène des Leucocytes Humains
IFIH1 : Interféron Induit avec le Domaine 1 de l'Hélicase C
IL2RA : Récepteur Alpha de l'Interleukine 2
IL7R : Récepteur de l'Interleukine 7
INS : Insuline
Kda : Kilo Dalton
Lys : Lysine
MIP : Centre américain pour les informations biotechnologique
NGS : Séquençage de la Nouvelle Génération
NFAT : Facteur Nucléaire des Lymphocytes T Activés
NPA : Asparagine-Proline-Alanine
PKA : Protéine Kinase A
PKC : Protéine Kinase C
PKG : Protéine Kinase G

RGC : Cellule Ganglionnaire Rétinienne

PTPN2 : Protéine Tyrosine Phosphatase Non-Récepteur de Type 2

RXR : Récepteur Rétinoïde X

SCC : Carcinome Squameux

SNC : Système Nerveux Central

SNP : Single Nucleotide Polymorphism

Thr : Thréonine

TM : Transmembranaire

UCSC : University of California Santa Cruz

V2R : Récepteur de la Vasopressine de Type 2

Liste des figures

Figure 01 : l'arbre phylogénétique des 13 AQP humains (Yang 2017).....	3
Figure 02 : localisation du gène AQP0 au niveau du chromosome 12	3
Figure 03 : localisation du gène AQP1 au niveau du chromosome 7	4
Figure 04 : localisation du gène AQP2 au niveau du chromosome 12	4
Figure 05 : localisation du gène AQP3 au niveau du chromosome 9	4
Figure 06 : localisation du gène AQP4 au niveau du chromosome 18	5
Figure 07 : localisation du gène AQP5 au niveau du chromosome 12	5
Figure 08 : localisation du gène AQP6 au niveau du chromosome 12	5
Figure 09 : localisation du gène AQP7 au niveau du chromosome 9	6
Figure 10 : localisation du gène AQP8 au niveau du chromosome 16	6
Figure 11 : localisation du gène AQP9 au niveau du chromosome 15	6
Figure 12 : localisation du gène AQP10 au niveau du chromosome 1	6
Figure 13 : localisation du gène AQP11 au niveau du chromosome 11	7
Figure 14 : localisation du gène AQP12 au niveau du chromosome 2	7
Figure 15 : histogramme représentatif du niveau d'expression des RNA-seq de l'AQP0 dans différents tissus	9
Figure 16 : histogramme représentatif du niveau d'expression des RNA-seq de l'AQP1 dans différents tissus	10
Figure 17 : histogramme représentatif du niveau d'expression des RNA-seq de l'AQP2 dans différents tissus	11
Figure 18 : histogramme représentatif du niveau d'expression des RNA-seq de l'AQP3 dans différents tissus	11
Figure 19 : histogramme représentatif du niveau d'expression des RNA-seq de l'AQP4 dans différents tissus	12
Figure 20 : histogramme représentatif du niveau d'expression des RNA-seq de l'AQP5 dans différents tissus	13
Figure 21 : histogramme représentatif du niveau d'expression des RNA-seq de l'AQP6 dans différents tissus	13
Figure 22 : histogramme représentatif du niveau d'expression des RNA-seq de l'AQP7 dans différents tissus	14

Figure 23 : histogramme représentatif du niveau d'expression des RNA-seq de l'AQP8 dans différents tissus	14
Figure 24 : histogramme représentatif du niveau d'expression des RNA-seq de l'AQP9 dans différents tissus	15
Figure 25 : histogramme représentatif du niveau d'expression des RNA-seq de l'AQP10 dans différents tissus	15
Figure 26 : histogramme représentatif du niveau d'expression des RNA-seq de l'AQP11 dans différents tissus	16
Figure 27 : histogramme représentatif du niveau d'expression des RNA-seq de l'AQP12 dans différents tissus	16
Figure 28 : résumé de la distribution des différentes aquaporines dans le rein (King, Kozono et Agre, 2004).....	17
Figure 29 : résumé de la distribution des différentes aquaporines dans la voie respiratoire (King, Kozono et Agre, 2004).....	17
Figure 30 : résumé de la distribution des différentes aquaporines dans l'œil (King, Kozono et Agre, 2004)	18
Figure 31 : expression des AQP dans les tumeurs humaine (Papadopoulos et Saadoun, 2015).....	18
Figure 32 : représentation schématique de la régulation de l'AQP2 par l'AVP (Yang 2017).....	22
Figure 33 : représentation schématique d'une molécule d'aquaporine (Pietrement, 2008).....	23
Figure 34 : structure d'un gène humain, sites de polymorphisme et pertinence fonctionnelle (Eddaikra, 2018).....	24
Figure 35 : classification du diabète selon l'OMS (Collin de l'Hortet 1979).....	26
Figure 36 : facteurs de prédisposition génétiques du diabète type 1 (Eddaikra, 2018).....	26
Figure 37 : physiopathologie du diabète de type 1 (Collin de l'Hortet 1979).....	27
Figure 38 : contribution relative des facteurs génétiques et environnementaux dans le diabète de type 2 (Collin de l'Hortet 1979).....	27
Figure 39 : mécanisme conduisant au développement du diabète de type 2 (Vaxillaire et Froguel, 2003).....	28
Figure 40 : schéma hypothétique a deux résultats pour l'augmentation du risque de CKD chez les patients diabétique porteurs de l'allèle mineur AQP11 (Choma et al. 2016).....	30
Figure 41 : méthode de recherche des SNP du gène AQP	34
Figure 42 : les outils utilisés pour trouver les SNP du gène AQP	34

Figure 43 : Différentes étapes à suivre pour trouver les « rs » de l'AQP2 avec l'outil Ensembl	35
Figure 44 : Différentes étapes à suivre pour trouver les « rs » de l'AQP1 avec l'outil UCSC	36
Figure 45 : Les différentes étapes et réglages à suivre pour trouver les SNP du gène AQP2 avec l'outil Galaxy	37
Figure 46 : liste des SNP de l'AQP2 trouvés avec l'outil LitVar	37
Figure 47 : résultats de la recherche des variations SNPs du gène « AQP2 » avec Ensembl	38
Figure 48 : résultats de la recherche des variations SNPs du gène « AQP7 » avec Ensembl.....	39
Figure 49 : résultats de la recherche des variations SNPs du gène « AQP11 » avec Ensembl	39
Figure 50 : résultats de la recherche des variants SNPs du gène « AQP2 » avec UCSC	40
Figure 51 : résultats de la recherche des variants SNPs du gène « AQP7 » avec UCSC	40
Figure 52 : résultats de la recherche des variants SNPs du gène « AQP11 » avec UCSC ...	41
Figure 53 : résultats de la recherche des variations SNPs du gène « AQP2 » avec l'outil Galaxy	41
Figure 54 : résultats de la recherche des variations SNPs du gène « AQP7 » avec l'outil Galaxy	42
Figure 55 : résultats de la recherche des variations SNPs du gène « AQP11 » avec l'outil Galaxy	42

Liste des tableaux

Tableau I : Description des molécules biologiques	32
Tableau II : Description des outils bioinformatiques utilisé	33
Tableau III : résultat de la recherche des SNPs impliqués dans l'apparition du diabète avec LitVar	43

Glossaire

A

ADH : Initiales du terme anglais AntiDiurétic Hormone, en français hormone antidiurétique, sigle d'une hormone sécrétée par l'hypothalamus et stockée dans l'hypophyse postérieure ; cette hormone permet la réabsorption de l'eau au niveau du tube distal du néphron.

AMPC : Sigle de l'acide 3'-5' adénosine monophosphate cyclique. Il a été qualifié de second messenger hormonal.

Annotation génomique : L'annotation génomique est une analyse informatique des séquences obtenues lors du séquençage permettant d'identifier les séquences informatives des génomes, ces séquences sont principalement des gènes alors on parle de prédiction de gène.

Auto-immunité : n.f. C'est la capacité pour un organisme de déclencher des réactions immunitaires contre ses propres constituants.

B

Blast : Il trouve des régions de similarités entre les séquences biologiques. Le programme compare les séquences nucléotidiques ou protéiques aux bases de données séquentielles et calcule la signification statistique.

C

Cellules acinaires du pancréas : ce sont des cellules qui produisent et secrètent les enzymes de la digestion qui sont acheminées vers l'intestin via le système des canaux pancréatiques.

Cellules gliales : se situent dans le système nerveux, elles entourent les neurones et participent au contrôle de l'environnement chimique et électrique.

Cellule gliale de Muller : c'est la principale cellule gliale de la rétine ; sa forme est allongée et s'étend sur toute l'épaisseur de la rétine.

F

FASTA : Le format FASTA est un format texte qui peut représenter des séquences d'ADN, d'ARN ou de protéines stockées à l'aide de codes à une lettre. Il est couramment utilisé pour stocker des séquences génomiques dans des bases de données biologiques. Le prototype du format permet également d'utiliser des noms de séquence et des identifiants pour chaque séquence.

G

Gène : n.m. Nom donné par Johannsen en 1909 aux facteurs mendéliens. Il était considéré comme une structure individuelle occupant un emplacement déterminé (locus) sur le chromosome. Aujourd'hui, le gène est une unité élémentaire d'ADN capable de se reproduire (réplication), susceptible d'une mutation et capable de transmettre un message héréditaire.

Glande sudoripare : est une glande située sous la peau qui secrète la sueur.

Glomérule : Partie du néphron où un peloton d'artérioles rénales vient au contact de la capsule du tube urinifère.

Glycémie : Elle indique le taux de glucose du sang. A jeun, elle est normalement de 0,85 g/L et ne doit pas dépasser 1g/L qu'elle que soit l'alimentation de l'individu.

H

Hormone : n.f. Ce sont les régulateurs chimiques de l'activité d'un organisme. Émises dans le sang par des glandes endocrines, elles agissent à faible dose sur les cellules cibles.

Hypothalamus : n.m. Zone de l'encéphale située à la base du cerveau, sous le thalamus (=couches optiques), reliée par un petit pédoncule à l'hypophyse.

Hypophyse : Glande rattaché à la base du cerveau et sécrétant de nombreuses hormones.

I

Insuline : Hormone élaborée et sécrétée dans le sang par les cellules β du pancréas. Sa cellule cible est la cellule hépatique.

K

KiloDalton : unité de mesure de masse moléculaire valant 1000 daltons (10^3 daltons).

M

Mutation : n.f. Modifications soudaine survenant au niveau du matériel génétique. Lorsqu'une mutation affecte le matériel génétique d'une cellule sexuelle elle est à l'origine d'un caractère nouveau qui se transmet héréditairement.

O

Ostéoclastes : sont des cellules osseuses responsables de la résorption du tissu osseux, et participant donc à son renouvellement continu.

R

Récepteur : protéine, généralement située à la surface des cellules, capable de fixer une molécule informative (médiateurs chimiques, neurotransmetteurs, hormones....) et de convertir ce message extracellulaire en signal intracellulaire, entraînant une réponse de la part de la cellule.

S

Syndrome de Sjögren : est une maladie auto-immune systémique qui se caractérise par l'association de manifestations touchant certaines glandes notamment lacrymales et salivaires avec une diminution des sécrétions de larmes et de salive réalisant un syndrome sec.

V

Vasopressine : ou hormone antidiurétique c'est une hormone peptidique de neuf acides aminés synthétisée par les noyaux supraoptiques et paraventriculaires de l'hypothalamus, et libérée par l'hypophyse postérieure (neurohypophyse). Elle a principalement un rôle antidiurétique au niveau du rein, où elle provoque une réabsorption d'eau via une action sur le segment distal du néphron lors d'une déshydratation corporelle.

Introduction

Introduction

En 2019, 1 personne sur 11 souffre du diabète dans le monde. Le chiffre rendu public par la Fédération internationale du diabète (FID) dans la 9^{ème} édition de son Atlas du diabète (2019) représente très exactement 463 millions de personnes à travers le monde. L'Algérie a enregistré, de 2003 à 2017, une augmentation de 80%, alors que la prévalence était de 8,9% de la population ciblée. Plusieurs études ont démontré l'implication du polymorphisme des gènes AQP dans le diabète et leur contribution dans la progression et le développement de cette maladie et ses complications telles que la rétinopathie, la néphropathie et la neuropathie, ...etc. ([Eddaikra, 2018](#)).

Le diabète est une maladie chronique, il correspond à une élévation anormale de la glycémie, définie par le taux de sucre dans le sang (glycémie à jeun est supérieure ou égale à 1,26 g/L) survenant lorsque la quantité d'insuline n'est plus suffisamment produite et/ou n'est pas assez active par rapport aux besoins de l'organisme. On distingue deux types de diabète : le diabète de type 1 (maladie auto-immune qui concerne environ 10% des diabétiques) et le diabète de type 2 (conséquence de deux anomalies concomitantes : une baisse insulino-sécrétion et une insulino-résistance, il concerne environ 90% des diabétiques) ([Collin de l'Hortet, 1979](#)).

Le diabète insipide néphrogénique congénitale est une autre forme de diabète héréditaire rare qui se traduit par l'incapacité des reins à concentrer l'urine malgré des taux circulants élevés d'hormones antidiurétiques car les reins ne réussissent pas à augmenter la perméabilité hydrique du tubule collecteur pour produire une urine concentrée induisant une polyurie parfois sévère ([Matar, 2014](#); [Morin & Barberis, 2000](#)).

Le polymorphisme des gènes AQP qui codent pour les protéines aquaporines (AQP) est l'un des facteurs génétiques qui contribuent à l'apparition du diabète. Il existe 13 aquaporines chez les vertébrés dont on peut distinguer trois groupes : les aquaporines classiques qui permettent le passage de l'eau, les aquaglycéroporines qui permettent le passage du glycérol et les aquaporines subcellulaires ([Peter, 2005](#)). Ces aquaporines sont des protéines qui forment des canaux aqueux qu'on retrouve sur la membrane plasmique des cellules de différents organes tel que l'œil, le rein, les voies respiratoires, ... ([King, Kozono et Agre, 2004](#)).

Le changement de l'expression génique et de l'activité des aquaporines contribuent à la susceptibilité génétique du diabète. L'étude de l'association entre les mutations des gènes

Introduction

codants pour les aquaporines et le diabète ouvre la porte vers le développement de nouvelles stratégies thérapeutiques.

Notre étude s'intéresse à l'étude du polymorphisme des gènes aquaporines (AQP) chez les diabétiques et de comprendre la relation qui existe entre le polymorphisme de ces gènes et le diabète.

Pour cette étude nous avons utilisé des outils bioinformatiques pour répondre à la question suivante : Quel sont les différents variants polymorphiques (SNP) qui peuvent changer l'expression de ces gènes et inhiber la fonction de ces protéines chez les diabétiques.

Pour pouvoir couvrir tous les aspects de ce thème, la rédaction de notre mémoire a été structurée en trois chapitres :

- ✓ Dans le premier chapitre, nous allons représenter les généralités sur les aquaporines et leur relation avec la physiopathologie du diabète.
- ✓ Dans le second, on décrira les outils bioinformatiques utilisé et les différentes étapes utilisées pour répondre à notre problématique.
- ✓ Le dernier chapitre rapporte les résultats obtenus ainsi qu'une discussion à lumière des données bibliographiques.

Rappels bibliographiques

1. Rappels bibliographiques

1.1 Le gène AQP

Les aquaporines (AQP) sont une famille de protéines des canaux aqueux qui sont trouvées dans les membranes des cellules plasmiques de diverses cellules du règne animal et végétal. Plus de 450 aquaporines différentes sont connues chez les êtres vivants dont 13 chez les vertébrés.

La famille des AQP se divise en deux groupes, en fonction de leurs perméabilités et de leurs homologues de séquences : les aquaporines sont toutes des AQP uniquement perméables à l'eau alors que les aquaglycéroporines sont des canaux perméables au glycérol, à l'urée, voire à d'autres solutés (Peter, 2005) (voir la figure 01).

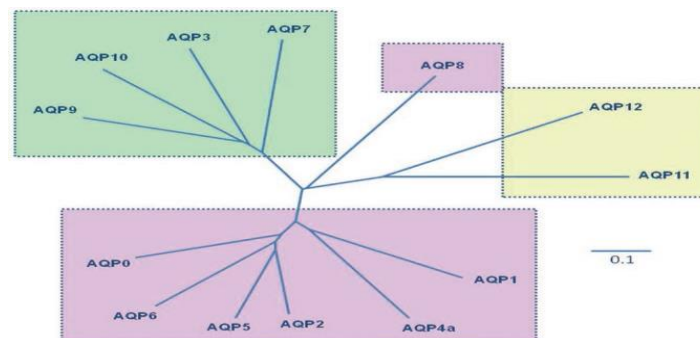


Figure 1 : Classification phylogénétique des 13 AQP humaines (le carré violet représente les AQP classiques, le vert représente les aquaglycéroporines et le marron les supraaquaporines (Yang, 2017)

1.1.1. Structure et localisation des aquaporines

Le gène AQP0 a été cartographié parmi les aquaporines 2, 5 et 6 dans un cluster de gènes potentiels à 12q13, il est localisé dans la région 12q13.3 et il comporte huit exons, (figure 2).

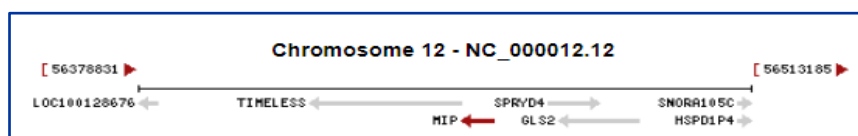


Figure 2 : Localisation du gène AQP0 au niveau du chromosome 12.

(URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/4284>)

Rappels bibliographiques

Le gène AQP1 est de 13 kb chez la souris, il contient quatre exons avec des limites introniques correspondant à d'autres gènes connus de l'aquaporine. Le gène AQP1 a été localisé à 7p14 par hybridation in situ, (figure 3).

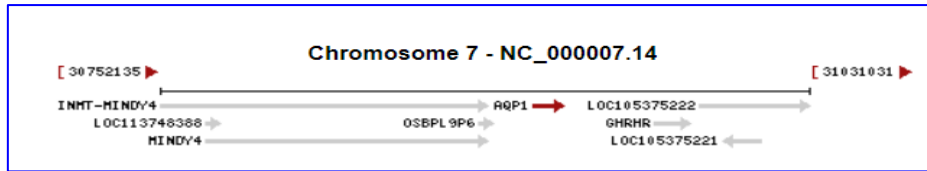


Figure 3 : Représentation schématique du gène AQP1

(URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/358>)

Le gène AQP2 est de 28.14kb et code pour une protéine du canal d'eau, il appartient à la famille des MIP/aquaporines dont certains membres sont regroupés sur le chromosome 12q13. Le gène AQP2 est localisé dans la région 12q13.12, il comporte quatre exons et trois introns, (figure 4).

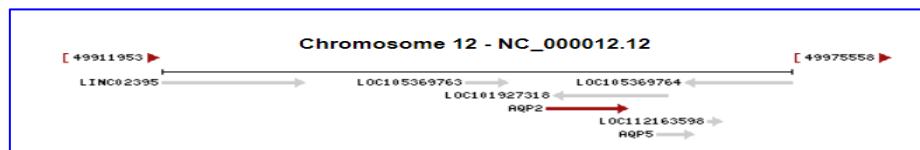


Figure 4 : Représentation schématique du gène AQP2

(URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/359>)

Le gène AQP3 est localisé dans la région 9p13.3, il comporte six exons, (figure 5). Le site d'initiation de la transcription est localisé à 64pb en amont du premier codon ATG. La région flanquante 5' contient une boîte TATA, deux séquences SP1 et quelque séquences consensus y compris les sites AP-2 (Yang, 2017).

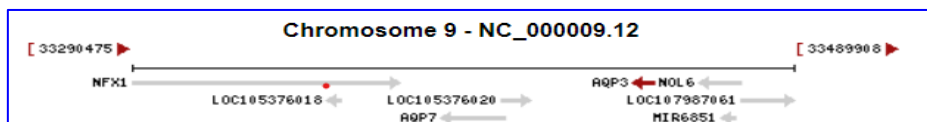


Figure 5 : Localisation du gène AQP3 au niveau du chromosome 9.

(URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/360>)

Rappels bibliographiques

Le gène AQP4 est localisé dans la région 18q11.2, il comporte quatre exons codant pour 127, 55, 27 et 92 acides aminés séparés par des introns de 0.8, 0.3 et 5.2kb (Lu et al., 1996), (figure 6).

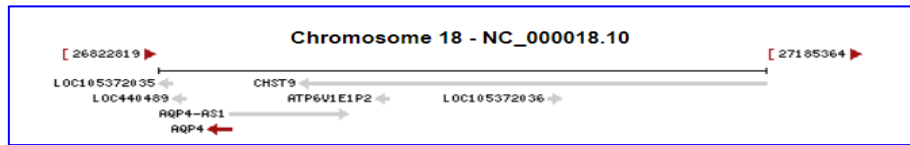


Figure 6 : Localisation du gène AQP4 au niveau du chromosome 18.

(URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/361>)

Le gène AQP5 code pour la protéine aquaporine 5 appartenant à la famille des MIP. Le gène est localisé dans la région 12q13.12, il comporte cinq exons, (figure 7).

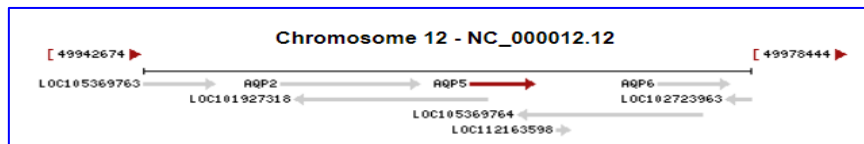


Figure 7 : Localisation du gène AQP5 au niveau du chromosome 12.

(URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/362>)

L'AQP6 est localisé dans la région 12q13.12, il comporte quatre exons, (figure 8).

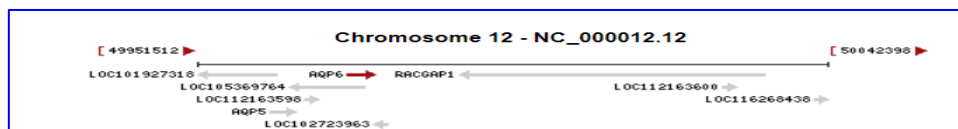


Figure 8 : Localisation du gène AQP6 au niveau du chromosome 12.

(URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/363>)

Le gène AQP7 est localisé dans la région 9p13.3, il comporte dix exons, (figure 9). Une séquence Alu répétitive et des sites de liaison pour différents facteurs de transcription au sein du promoteur ont été déterminés, y compris un putatif élément de réponse du proliférateur du peroxydase (PPRE) et un élément putatif de réponse à l'insuline (Yang, 2017).

Rappels bibliographiques

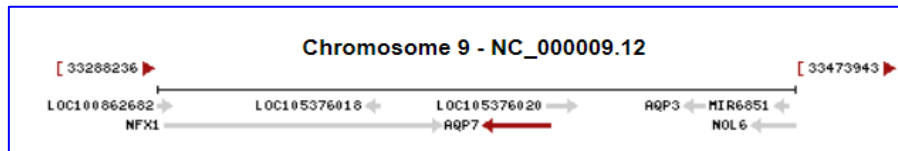


Figure 9 : Localisation du gène AQP7 au niveau du chromosome 9.

(URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/364>)

Le gène AQP8 est localisé dans la région 16p12.1, il comporte six exons, (figure 10).

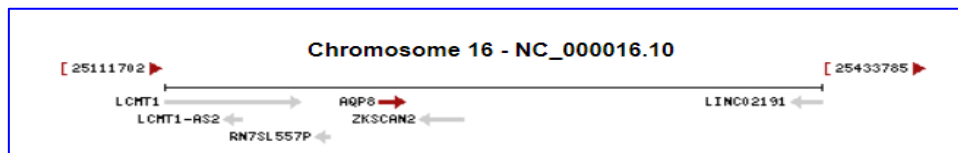


Figure 10 : Localisation du gène AQP8 au niveau du chromosome 16.

(URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/343>)

Le gène AQP9 est localisé dans la région 15q21.3, il comporte sept exons, (figure 11).

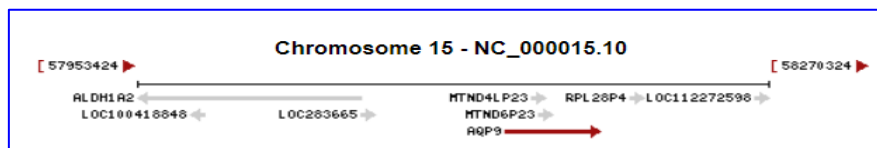


Figure 11 : Localisation du gène AQP9 au niveau du chromosome 15.

(URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/366>)

Le gène AQP10 est localisé dans la région 1q21.3, il comporte six exons, (figure 12).

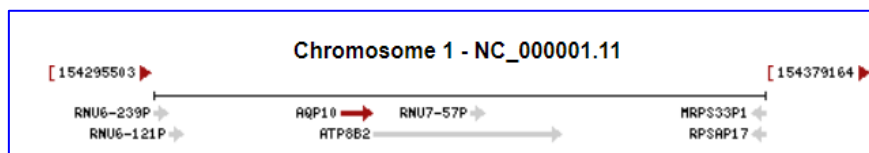


Figure 12 : Localisation du gène AQP10 au niveau du chromosome 1.

(URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/89872>)

Le gène AQP11 est localisé dans la région 11q14.1, il comporte trois exons, (figure 13).

Rappels bibliographiques

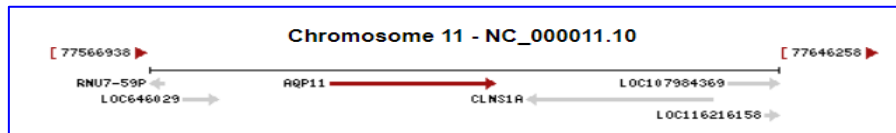


Figure 13 : Localisation du gène AQP11 au niveau du chromosome 11.

(URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/282679>)

Le gène AQP 12 est localisé dans la région 2q37.3, il comporte quatre exons, (figure 14).

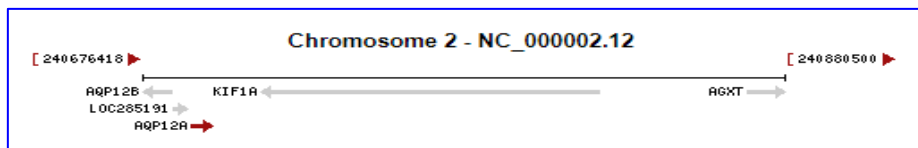


Figure 14 : Localisation du gène AQP12 au niveau du chromosome 2.

(URL : <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/375318>)

1.1.2. Fonction des aquaporines

La distribution tissulaire des aquaporines, les études de leur régulation ainsi que la génération des souris invalidées pour les gènes des aquaporines ont permis de connaître les multiples rôles qu'elles jouent dans les processus physiologiques.

L'**AQP0** est dotée d'un rôle structurel comme molécule d'adhésion entre les cellules Sa fonction de canal d'eau est requise pour l'homéostasie et transparence de la lentille (Matar, 2014).

L'**AQP1** joue un rôle important dans les mécanismes de concentration urinaire (Pietrement, 2008), Elle caractériserait certaines cellules en division ou elle jouerait un rôle important dans la transition de la phase G1 à la phase S (Ripoche, 1996), Facilite le mouvement de l'eau à travers l'endothélium cornéen et répare les plaies stromales cornéennes et Maintient la transparence de la lentille .

L'**AQP2** affine la réabsorption de l'eau (Day et al, 2014).

L'**AQP3** a un rôle dans la fonction des macrophages et des lymphocytes (Verkman, 2013). Au niveau rénal, elle permet le passage transcellulaire de l'eau depuis la lumière tubulaire jusqu'à l'interstitium (Pietrement, 2008). Elle est importante pour le transport de l'eau et du glycérol dans la cellule et la régulation de la teneur en eau fécale (Day et al., 2014). Comme

Rappels bibliographiques

elle possède un rôle dans l'homéostasie du corps ainsi que dans la prolifération et la migration cellulaire et l'hydratation de la peau (Matar, 2014).

L'AQP4 C'est un canal de sortie de l'eau à travers la membrane basale des cellules principales du tube collecteur (Pietrement, 2008). Elle participe au maintien de l'équilibre hydrique du cerveau, dans la migration des cellules gliales influençant la formation de cicatrice et dans la transduction du signal neural et elle contribue probablement à la régulation de l'osmolarité extracellulaire qui fluctue avec l'activité neuronale (King, Kozono et Agre, 2004; Matar, 2014; Sjöhamn et Hedfalk, 2014).

L'AQP5 est responsable du mouvement de l'eau à travers l'épithélium cornéen sur la surface oculaire entraîné par l'hypertonie du film lacrymal et elle participe à la formation des larmes et de la salive (Matar, 2014).

L'AQP6 a un rôle dans la sécrétion des protons et participe au maintien de l'équilibre acidobasique de l'organisme (Pietrement, 2008), elle fonctionne comme un canal anionique avec une perméabilité élevée pour le nitrate et elle est impliquée dans la régulation à médiation cellulaire de Muller des concentrations d'ions synaptiques.

L'AQP7 a un rôle dans le métabolisme des lipides. Dans les adipocytes, l'AQP7 contrôle le mouvement du glycérol dans et hors de la cellule (Matar, 2014; Papadopoulos et Saadoun, 2015).

L'AQP8 Permet l'écoulement transcellulaire de l'eau de l'espace périvasculaire vers l'interstitium, dans le canal central et a un rôle dans la fertilité masculine (King, Kozono et Agre, 2004; Day et al, 2014).

L'AQP9 Facilite l'absorption hépatique du glycérol (Verkman, 2013), permet la différenciation des ostéoclastes et fusion cellulaire (Day et al., 2014) et fournit aux neurones du cerveau du lactate et glycérol pour le métabolisme énergétique (Tran et al., 2014).

L'analyse fonctionnelle de **L'AQP10** a indiqué que les cellules exprimant cette protéine sont perméables à des quantités relativement faibles d'eau, mais, contrairement à AQP3, AQP7 et AQP9, ne sont pas perméables à l'urée ou au glycérol (Hatakeyama, S et al, 2001).

Rappels bibliographiques

L'AQP11 jusqu'à présent, aucune fonction de transport de soluté n'a pu être attribuée à cette protéine.

L'AQP12 est intracellulaire et sa fonction n'est pas connue (Ishibashi, 2006).

1.1.3. Expression des aquaporines

a. Dans les tissus normaux

L'AQP0 C'est la protéine dominante dans les cellules fibreuses du cristallin de l'œil (Sjöhamn et Hedfalk, 2014). Dans le noyau des lentilles, est présent dans des jonctions minces de 11 à 13 nm. Elle apparait dans les portions intraoculaires des axons de cellules ganglionnaires rétiniennes (RGC) dans le diabète, ainsi que son expression dans la couche interne peu clair et la frontière entre les couches plexiformes internes et RGC (Schey et al., 2014), (figure 15).

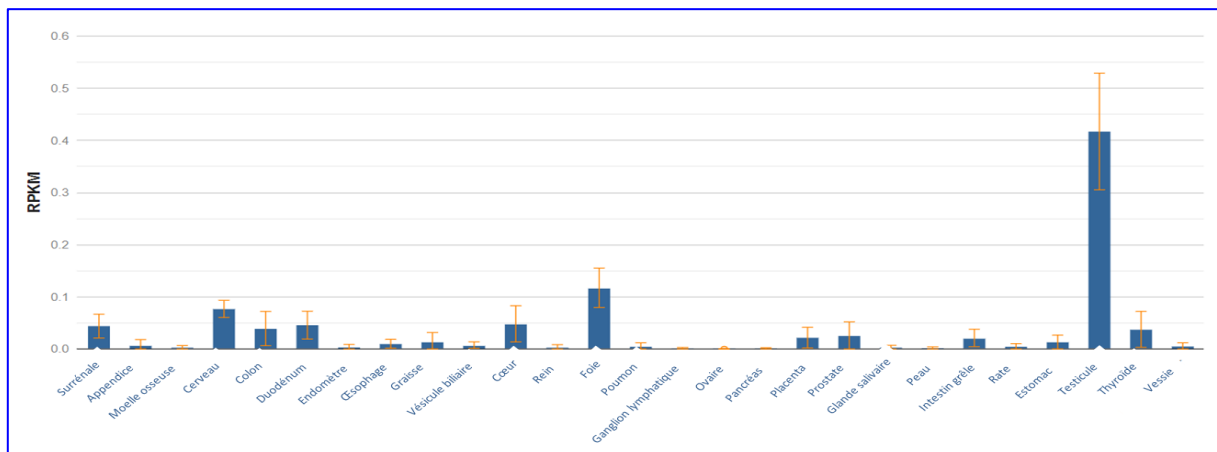


Figure 15 : histogramme représentatif du niveau d'expression des RNA-seq de l'AQP0 dans différents tissus (URL : <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/4284>)

L'AQP1 Elle est présente dans les globules rouges, le poumon, l'œil, les glandes salivaires, les plexus choroïdes, dans certaines cellules endothéliales (Pietrement, 2008). Au niveau rénal, elle est exprimée de façon constitutive dans les cellules épithéliales du tubule proximal, à la partie apicale des bordures en bosse (l'AQP1 représenterait 3 à 4% des protéines de la bordure en bosse (Ripoche, 1996) ainsi qu'au niveau basolatérale, conférant à cette partie du néphron une très grande perméabilité hydrique responsable de 80% de la réabsorption de l'eau filtrée au niveau glomérulaire. Elle est également présente dans le segment grêle descendant de l'anse de Henle et dans l'endothélium de vasa recta descendants définissant un lieu de passage d'une très grande quantité d'eau depuis la lumière tubulaire jusqu'à l'interstitium puis

Rappels bibliographiques

dans l'espace vasculaire (Pietrement, 2008). L'AQP1 est également présente dans l'épithélium ciliaire et dans celui de l'iris ou elle réglerait l'osmolarité de l'humeur (Ripoche 1996). Elle est abondante dans les cellules endothéliales des capillaires et des veinules qui entourent les voies respiratoires et les alvéoles (King et al., 2004) , (figure 16).

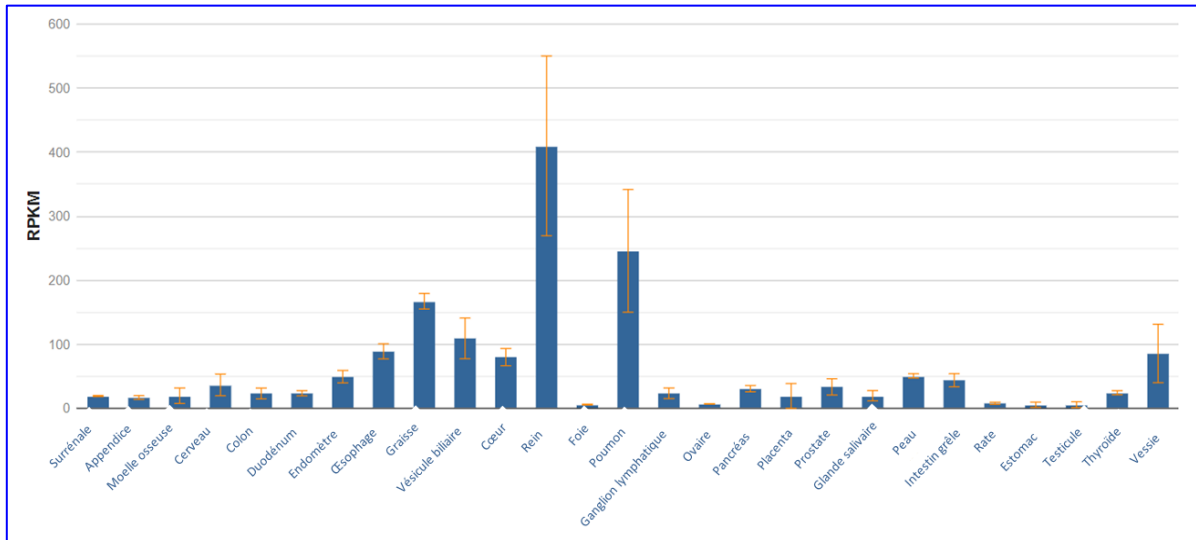


Figure 16 : histogramme représentatif du niveau d'expression des RNA-seq de l'AQP1 dans différents tissus. (URL : <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/358>)

L'AQP2 est exprimée essentiellement dans le rein au niveau du pôle apical des cellules du canal collecteur au niveau du cortex mais principalement au niveau de la médulla (la partie la plus hypertonique du rein), Mais on la trouve aussi sur la membrane basolatérale. Van Balkom et ses collègues ont montré que l'exposition d'un épithélium rénal (rein du chien Madin-Barby) à un milieu hypertonique pendant plusieurs jours à entrainer l'insertion d'AQP2 dans la membrane basolatérale (King, Kozono et Agre, 2004; Pietrement, 2008; Verkman, 2013), (figure 17).

Rappels bibliographiques

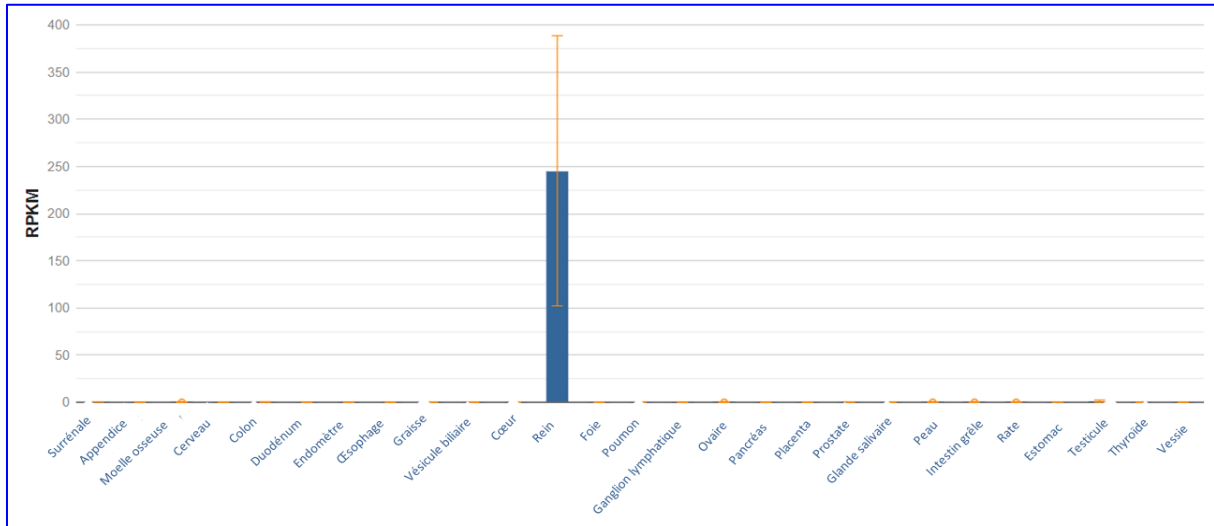


Figure 17 : histogramme représentatif du niveau d'expression des RNA-seq de l'AQP2 dans différents tissus. (URL : <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/359>)

L'AQP3 est initialement découverte dans le rein, elle est exprimée au niveau de la membrane basolatérale des cellules principales des canaux collecteurs (King et al., 2004; Ripoché, 1996). Elle est présente dans l'œil, la peau, voies respiratoires, colon, cerveau, vessie, trachée, l'œsophage, l'estomac, l'œil, l'épididyme et le cartilage (Pietrement, 2008; Day et al., 2014; Matar, 2014). Ainsi que dans la couche basale de prolifération des kératinocytes dans l'épiderme et dans la couche cornée de la peau (Papadopoulos & Saadoun, 2015; Verkman, 2013). Dans l'œil l'AQP3 est exprimée au niveau de l'épithélium conjonctif et l'épithélium cornéen (Verkman et al., 2008) ; (figure 18).

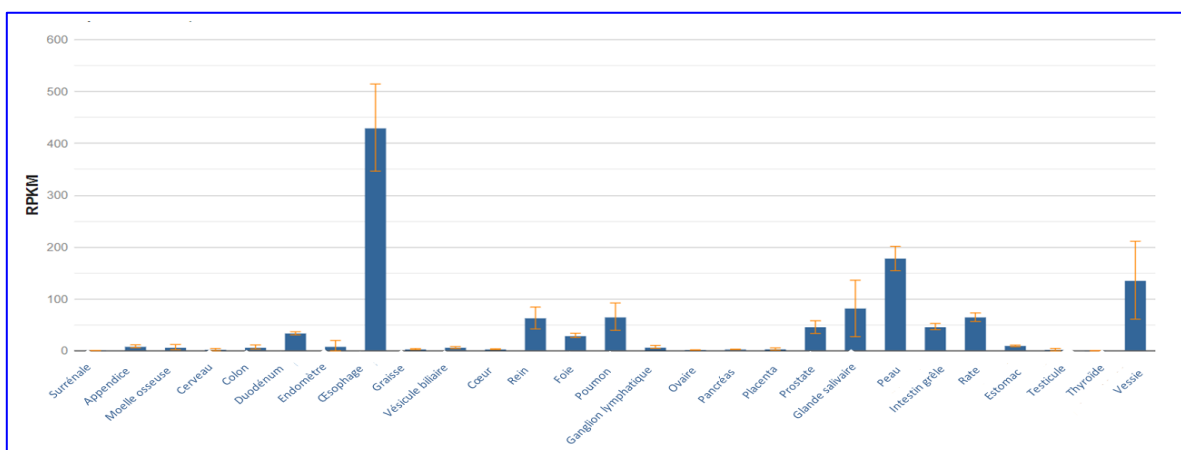


Figure 18 : histogramme représentatif du niveau d'expression des RNA-seq de l'AQP3 dans différents tissus. (URL : <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/360>)

Rappels bibliographiques

L'AQP4 est essentiellement présente dans le cerveau et plus particulièrement dans les cellules gliales en contact avec les capillaires sanguins (Pietrement, 2008). C'est l'AQP la plus dominante dans le système nerveux central (Sjöhamn & Hedfalk, 2014). elle est retrouvée de façon constitutive à la membrane basolatérale des cellules principales du tubule collecteur principalement ceux de la médullaire interne (Pietrement, 2008; Matar, 2014), en plus elle est également présente dans l'œil, les poumons, la trachée, les neurones des noyaux supraoptiques et paraventriculaire, les fibres musculaires, les glandes lacrymales, dans la membrane basolatérale des plasmocytes des cellules pariétales gastrique, la rétine et dans l'épithélium non pigmenté du corps ciliaire antérieur (Day et al., 2014; King et al., 2004; Matar, 2014; Papadopoulos & Saadoun, 2015; Ripoche, 1996; Tran et al., 2014), (voir la figure 19).

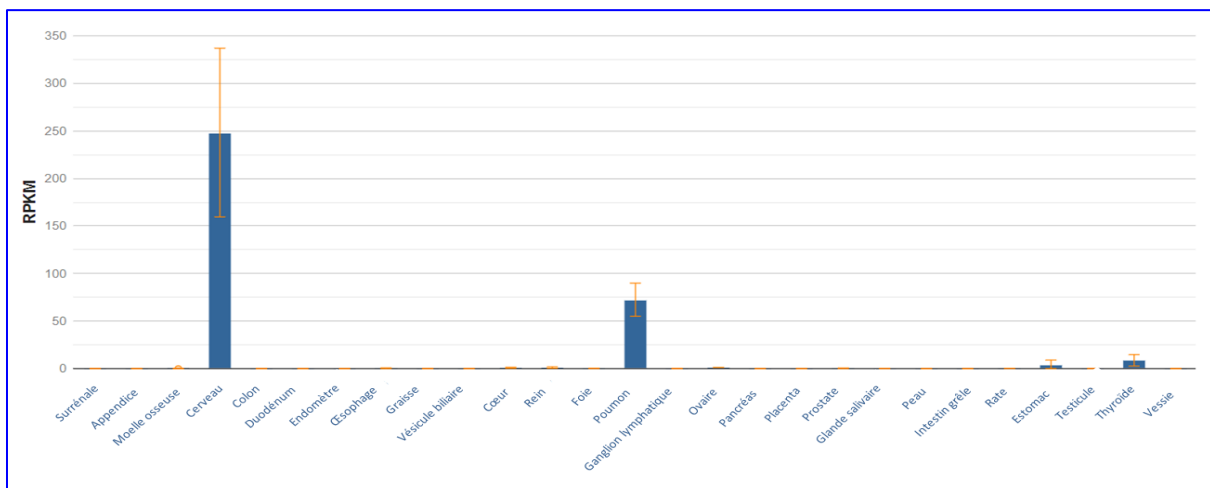


Figure 19 : histogramme représentatif du niveau d'expression des RNA-seq de l'AQP4 dans différents tissus. (URL : <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/361>)

L'AQP5 occupe une place stratégique à la membrane apicale des glandes sécrétrices telles que les glandes salivaires (Matar, 2014). Elle est également présente dans l'épithélium alvéolaire pulmonaire, dans les glandes sous-muqueuses des voies respiratoires, la trachée, les yeux, les glandes sudoripares, les cellules épithéliales et les fibres (Barandika et al., 2016; Day et al., 2014; Sjöhamn & Hedfalk, 2014). Les expressions intraoculaires les plus élevées d'AQP5 se trouvent dans la cornée. L'AQP5 a été localisée dans les membranes apicales des cellules acineuses lacrymales chez des témoins sains mais aussi dans le cytoplasme chez les patients atteints du syndrome de Sjogren (Schey et al., 2014). Dans l'alvéole, l'AQP5 est présente dans la membrane apicale de pneumocyte de type I (King et al., 2004), (voir la figure 20).

Rappels bibliographiques

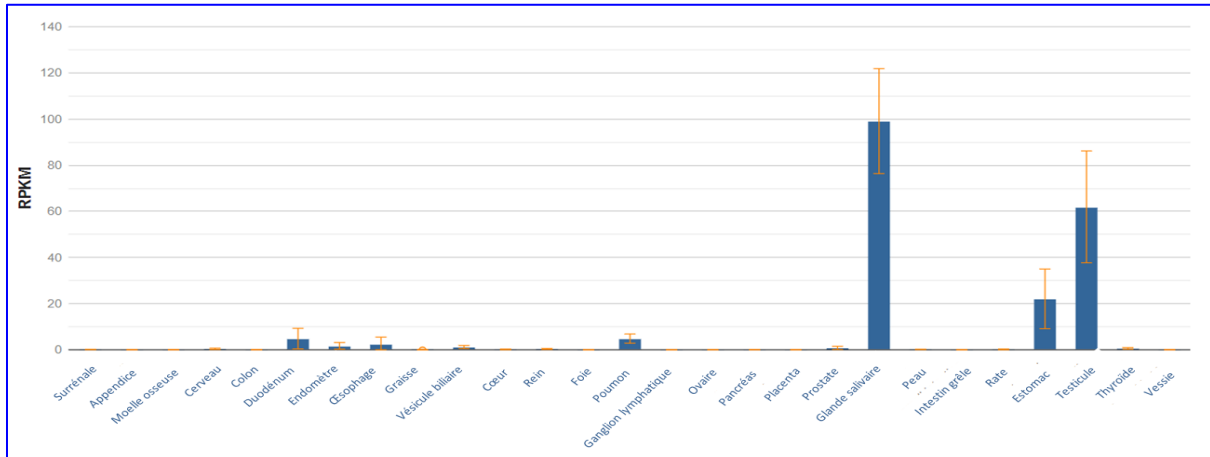


Figure 20 : histogramme représentatif du niveau d'expression des RNA-seq de l'AQP5 dans différents tissus. (URL : <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/362>)

L'AQP6 a été identifiée exclusivement dans les membranes intracellulaires des cellules épithéliales rénales (Pietrement, 2008). Elle est localisée près de la pompe H^+ ATPase dans les vésicules intracellulaires des cellules intercalaires de type α du tubule collecteur impliquées dans la régulation acido-basique rénale (Matar, 2014). Elle est localisée dans les membranes des cellules gliales de Muller qui entourent les synapses du ruban et s'étendent dans la couche photoréceptrice (Schey et al., 2014). L'AQP6 est exprimée plus faiblement dans les adipocytes ainsi qu'au niveau des segments S2 et S3 du tubule proximal dans les vésicules sous-épithéliales (Pietrement, 2008), (voir la figure 21).

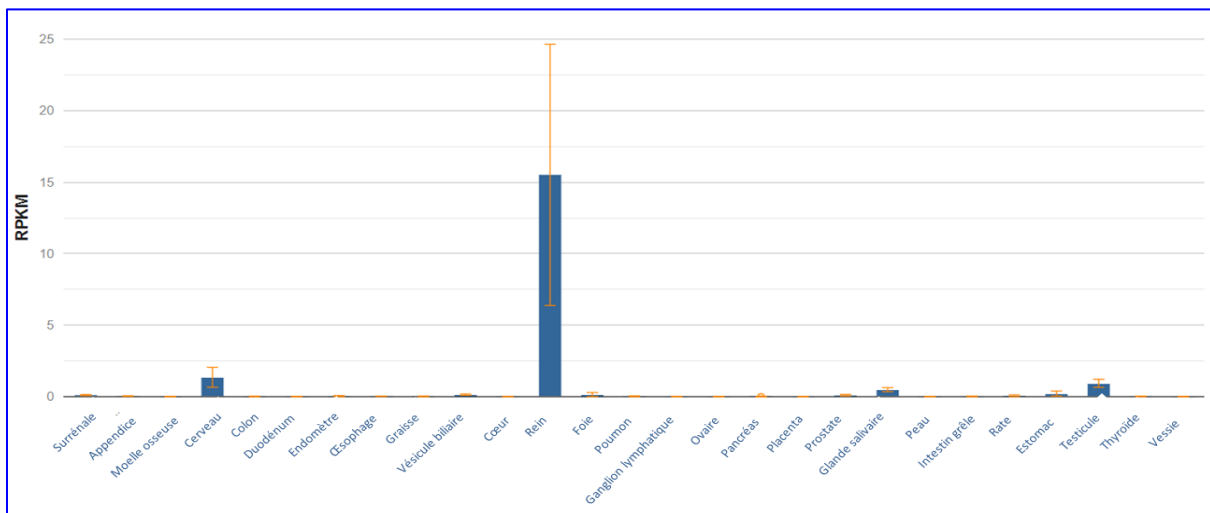


Figure 21 : histogramme représentatif du niveau d'expression des RNA-seq de l'AQP6 dans différents tissus. (URL : <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/363>)

Rappels bibliographiques

L'AQP7 a été identifiée en premier lieu dans les testicules et le tissu adipeux (Matar, 2014). Elle est présente dans la bordure en bosse des cellules épithéliales de la dernière partie, S3, du tubule proximale (Pietrement, 2008). Des études d'immunohistochimie ont également démontré le marquage d'AQP7 dans l'épithélium du cristallin. L'AQP7 est localisée aux extrémités des cellules de Muller au niveau de la membrane limite interne. (voir la figure 22)

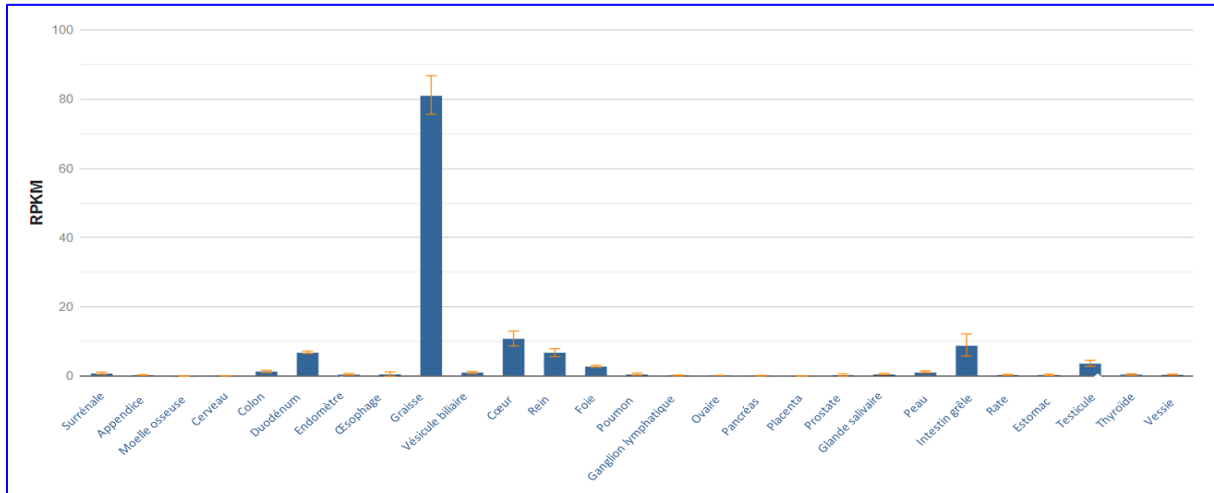


Figure 22 : histogramme représentatif du niveau d'expression des RNA-seq de l'AQP7 dans différents tissus. (URL : <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/364>)

L'AQP8 fut clonée en 1997, elle est présente au niveau du foie, pancréas, les glandes salivaires, l'intestin grêle, le colon, le cœur, les reins et les voies respiratoires (Matar, 2014). Elle est aussi exprimée dans le rein, retrouvée dans le cytoplasme des cellules épithéliales du tubule proximal et les canaux collecteurs (Pietrement, 2008)(King et al., 2004). (voir la figure 23).

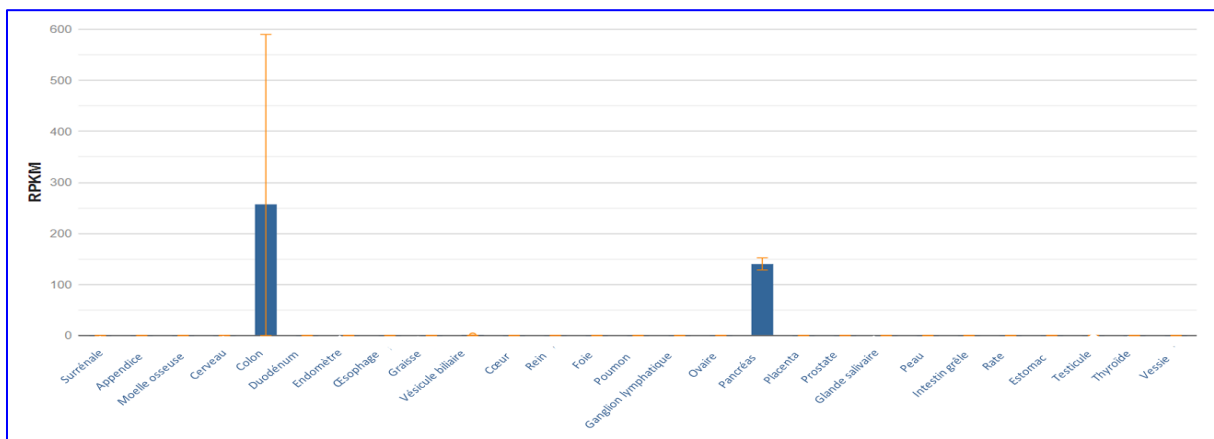


Figure 23 : histogramme représentatif du niveau d'expression des RNA-seq de l'AQP8 dans différents tissus. (URL : <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/343>)

Rappels bibliographiques

L'AQP9 a été initialement découverte dans les hépatocytes et dans les leucocytes (Matar, 2014). Elle est également présente au niveau des hépatocytes, des ostéoclastes, des cellules de la granulosa ovarienne et dans les cellules amacrines catécholaminergiques (Verkman, 2013)(Day et al., 2014). L'AQP9 a été aussi détectée dans les processus astrocytaires entourant les capillaires rétiens, dans le cytoplasme des segments internes des photorécepteurs ainsi que dans les cellules épithéliales des pigments rétiens (Schey et al., 2014). (Voir la figure 24).

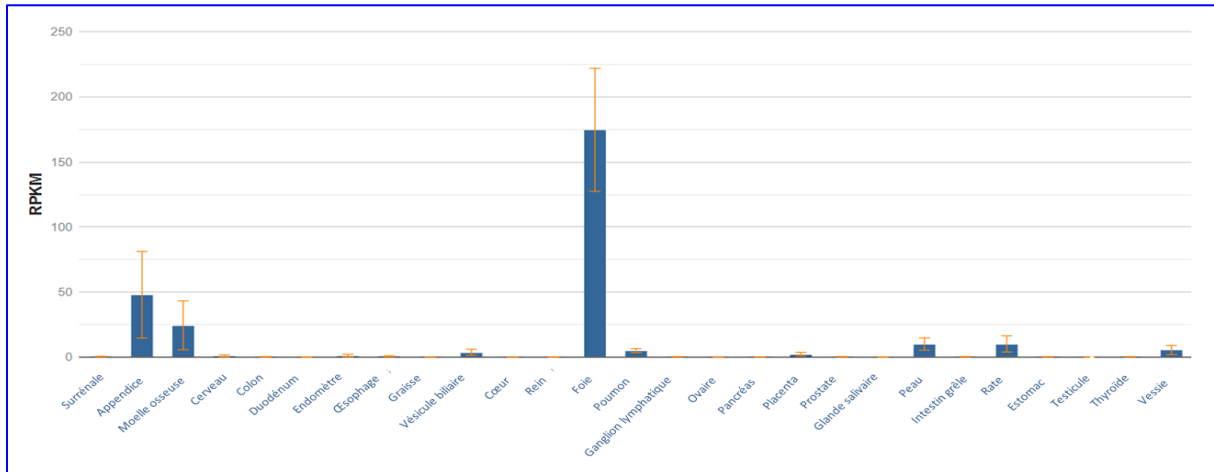


Figure 24 : histogramme représentatif du niveau d'expression des RNA-seq de l'AQP9 dans différents tissus. (URL : <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/366>)

L'AQP10 a été retrouvée dans le tractus gastro-intestinal et plus précisément de façon exclusive au niveau du duodénum et jéjunum (Matar, 2014). (Voir la figure 25)

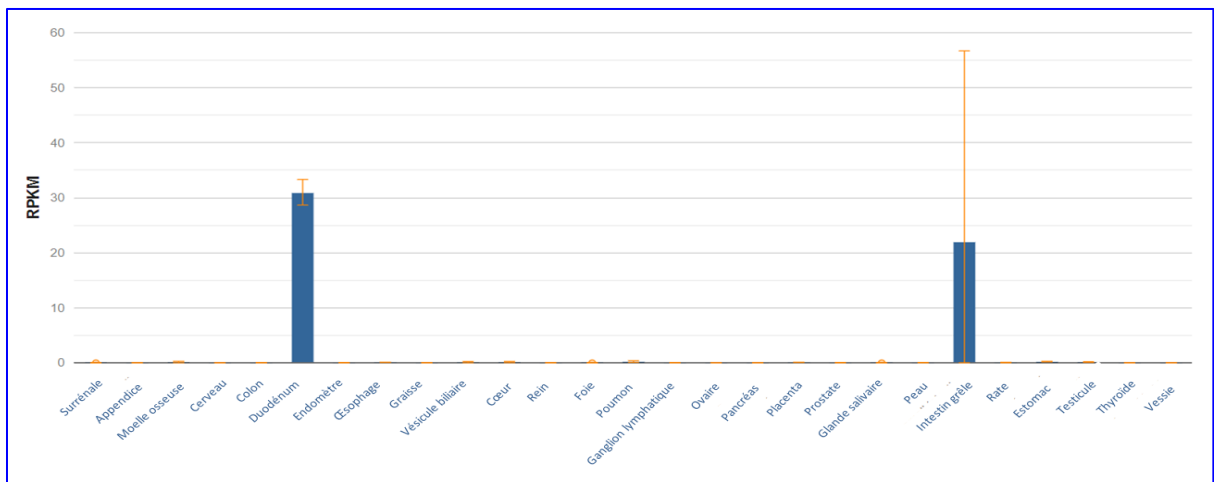


Figure 25 : histogramme représentatif du niveau d'expression des RNA-seq de l'AQP10 dans différents tissus. (URL : <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/89872>)

Rappels bibliographiques

L'AQP11 est exprimé spécifiquement au niveau du tubule proximal, non pas à la membrane cellulaire mais dans le cytoplasme (Pietrement, 2008). Elle est aussi présente au niveau des testicules, le foie et le cerveau (Matar, 2014). (Voir la figure 26).

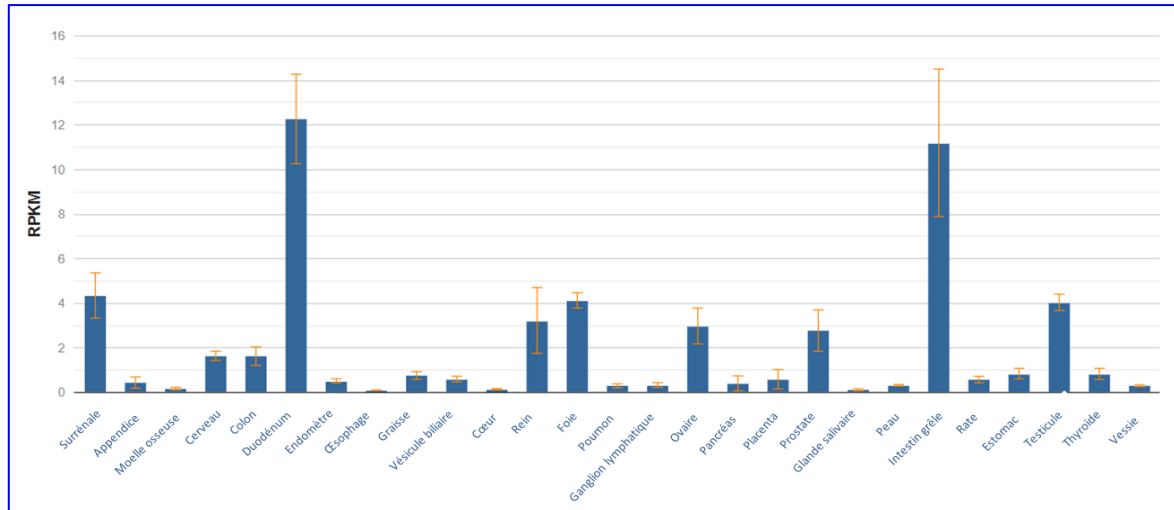


Figure 26 : histogramme représentatif du niveau d'expression des RNA-seq de l'AQP11 dans différents tissus. (URL : <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/282679>)

L'AQP12 est présente exclusivement dans les cellules acinaires du pancréas (Matar, 2014) (voir la figure 27).

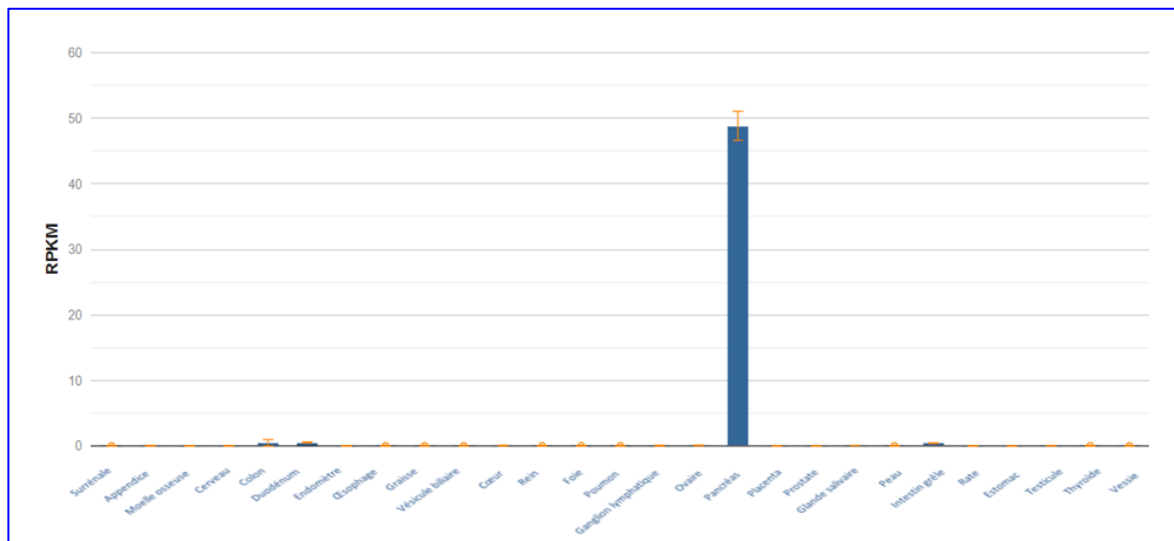


Figure 27 : histogramme représentatif du niveau d'expression des RNA-seq de l'AQP12 dans différents tissus. (URL : <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/375318>)

Rappels bibliographiques

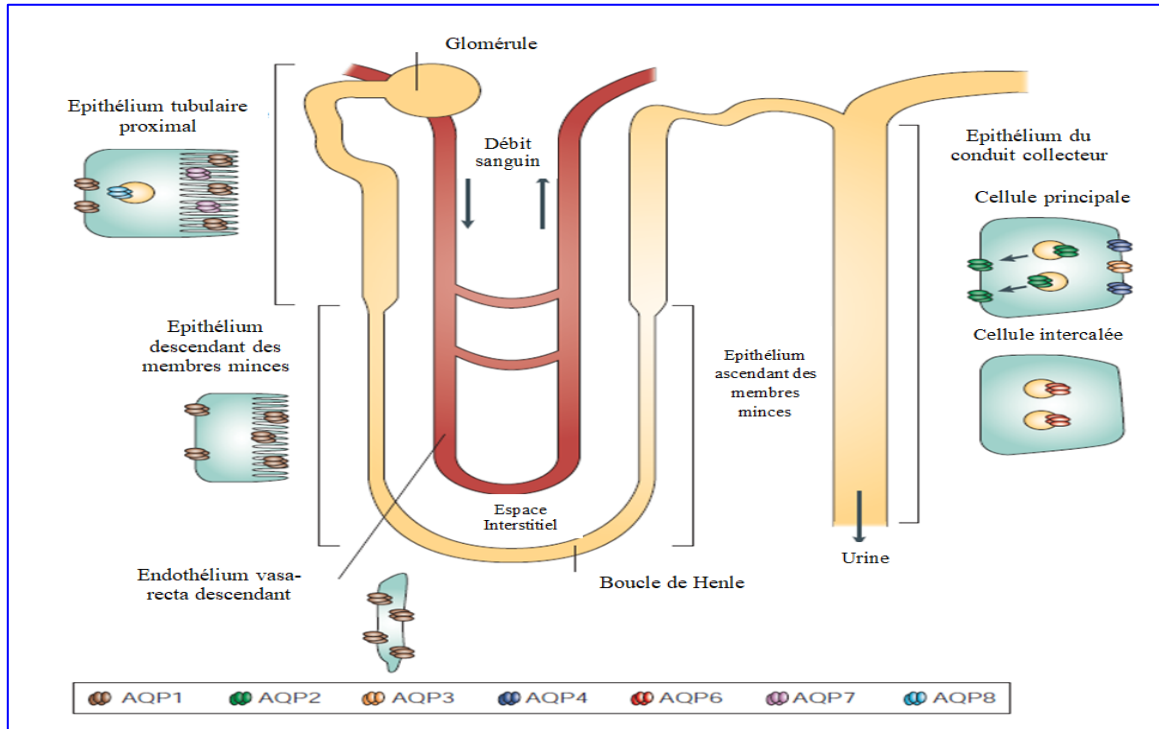


Figure 28 : Résumé de la distribution des différentes aquaporines dans le rein (King, Kozono et Agre, 2004).

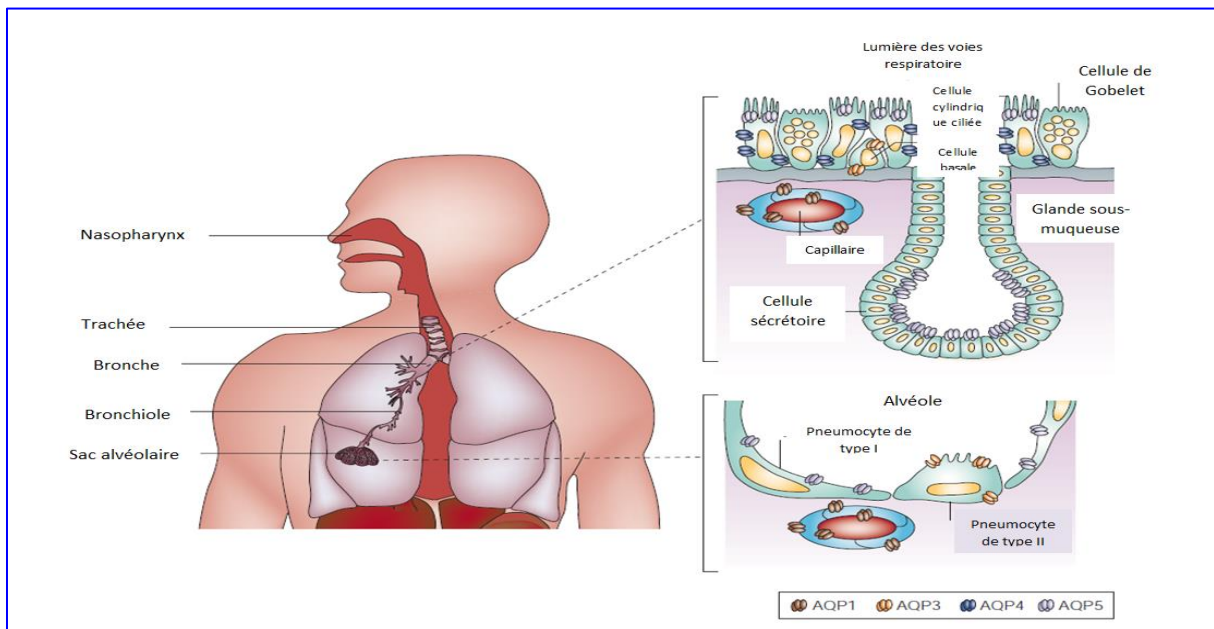


Figure 29 : Résumé de la distribution des différentes aquaporines dans la voie respiratoire (King, Kozono et Agre, 2004).

Rappels bibliographiques

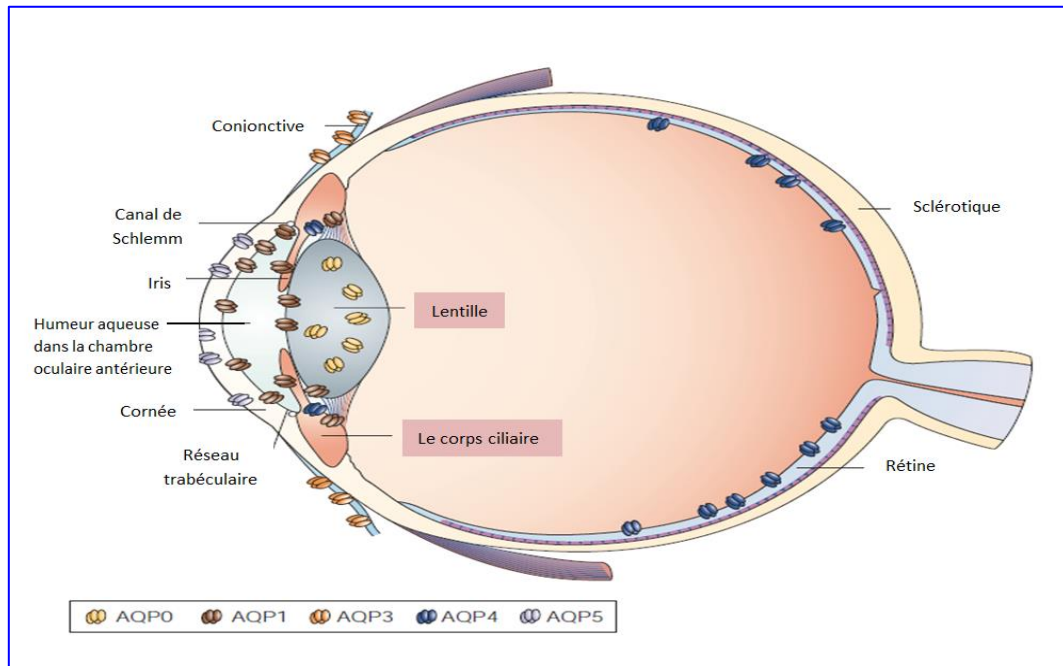


Figure 30 : Résumé de la distribution des différentes aquaporines dans l'œil (King, Kozono et Agre, 2004).

b. Dans les tissus tumoraux

Type de tumeur	Aquaporines	Niveau d'AQP
Astrocytome	AQP1, 4, 8, 9	élevé
Cancer du sein	AQP5	élevé
	AQP1	élevé
	AQP4	basse
Carcinome cholangio	AQP1	basse
	AQP1	élevé
Cancer colorectal	AQP1, 3, 5	élevé
	AQP8	basse
Cancer cervical	AQP1, 3	élevé
	AQP5	élevé
Tumeur du plexus choroïde	AQP1	élevé
Hémangioblastome	AQP1	élevé
Cancer du larynx	AQP1	élevé
Leucémie	AQP5	élevé
Cancer du foie	AQP3, 5	élevé
	AQP8, 9	basse
Cancer du poumon	AQP1, 3, 5	élevé
	AQP1, 4	élevé
Méningiome	AQP4	élevé
Cancer du Nasopharynx	AQP1	élevé
Cancer de l'œsophage	AQP3, 5	élevé
Cancer des ovaires	AQP1, 5, 9	élevé
Rénale	AQP3	élevé
Peau, SCC	AQP3	élevé
Cancer de l'estomac	AQP5	élevé
	AQP4	basse
	AQP3	élevé
Cancer de la thyroïde	AQP4	élevé (papillaire)
	AQP3, 4	basse (indifférenciée)
	AQP7	élevé
Cancer de la langue	AQP3, 5	élevé (SCC)
Vessie	AQP3	basse

Figure 31 : Expression des AQP dans les tumeurs humaine (Papadopoulos & Saadoun, 2015).

1.1.4. Biosynthèse des aquaporines

Prenant l'exemple de biosynthèse de l'AQP2 : Les travaux de Knepper et ses collaborateurs présentent une description détaillée de facteurs de transcription additionnels et certains motifs qui semblent impliqués dans la synthèse de l'AQP2 tels les sites GATA et SP1, un site du facteur nucléaire des lymphocytes T activés (NFAT) et un site du récepteur rétinol X (RXR). Il a aussi été démontré que l'hypertonie joue un rôle dans la transcription de l'AQP2 et de plusieurs autres gènes via l'interaction entre le facteur de transcription TonEBP et son ligand TonE qui est présent sur le gène de l'AQP2.

Suite à leur synthèse dans le RE, les protéines d'AQP2 traversent le réseau golgi/trans golgi pour ensuite être emmagasinées dans des vésicules de stockage, en attente du signal qui activera leur transport vers la membrane apicale. Ainsi ces amas de particules voyagent entre la membrane plasmique et les vésicules cytoplasmiques en fonction de la présence et/ou l'absence de la vasopressine.

Phosphorylation de l'AQP2 et adressage membranaire : Il y a 4 sites de phosphorylation présente dans la queue terminale (S256, S261, S264 et S269) de l'AQP2, la sérine 256 est la plus importante dans l'adressage de l'AQP2.

Outre la PKA, la vasopressine semble contrôler le degré de phosphorylation par le biais d'autres protéines kinases (PKC, PKG) qui agissent à différents sites de phosphorylation, comme les résidus S148, S229 et S231 aussi impliqués dans le processus d'adressage à la membrane apicale. SP-1 s'avère être une protéine d'activation de la GTPase Rap1, et s'associe à l'extrémité C-terminale de l'AQP2 pour guider son trajet vers la membrane plasmique apicale. Pour atteindre la membrane plasmique apicale, plusieurs acteurs sont mis à contribution. Les AKAPs sont des protéines d'ancrage dont le rôle est d'attacher la PKA et d'autres facteurs de signalisation aux vésicules de stockage.

De plus, la dynamique du cytosquelette joue un rôle important dans ce système en facilitant la translocation des vésicules d'AQP2 à la membrane apicale en présence de stimulus (AVP).

En effet les études ont démontré le rôle de la vasopressine dans la dépolymérisation de l'actine-F apicale en inhibant indirectement la GTPase RhoA, menant du coup à la migration de l'AQP2 en apicale. L'implication du calcium dans ce mécanisme d'adressage soulève ainsi

Rappels bibliographiques

des points d'interrogation. En effet, certains groupes de recherche ont réussi à détecter une augmentation de calcium intracellulaire dans les cellules IMCD en réponse à l'AVP et a démontré son rôle dans l'exocytose de l'AQP2.

D'autres auteurs stipulent que l'AMPc est suffisante à elle seul pour déclencher la cascade de signalisation qui mobilisera les vésicules d'AQP2 vers la membrane apicale et leurs exocytose.

La fusion et l'exocytose de l'AQP2 à la membrane apicale nécessitent l'action des protéines de la superfamille des SNAREs.

Endocytose et dégradation : Suite au retrait du stimulus adéquat (AVP), l'AQP2 s'accumule dans des puits recouverts de clathrine puis est internalisée par un processus impliquant plusieurs protéines : hsc70, clathrine, endophiline et les protéines du cytosquelette.

La protéine hsc70, une ATPase de la cathrine s'est avérée être importante a ce mécanisme d'endocytose puisqu'elle interagit directement avec l'AQP2 en c-terminal et permet de découvrir les vésicules recouvertes de clathrine.

Après son passage aux endosomes précoces par la voie de l'IP3 kinase, l'AQP2 se retrouve dans des vésicules de stockage spécifiques contenant Rab11 et qui, sous l'effet de l'ADH sont réacheminées à la membrane plasmique apicale. De plus, les microtubules et les filaments d'actine agissent de pair avec ces différentes protéines afin d'assurer une coordination efficace des mécanismes d'endocytose et exocytose (Matar, 2014).

1.1.5. Régulation des aquaporines

La régulation de l'activité des AQP peut se faire sur trois niveaux : synthèse de la protéine, translocation de celle-ci à la membrane ou modification des charges ioniques au niveau du pore, ce qui a pour conséquence l'augmentation ou la diminution de la perméabilité de l'aquaporine (Peter, 2005).

Rappels bibliographiques

L'AQP0 est régulée par le clivage du C-terminal, le PH et le Ca²⁺/calmoduline (CAM). L'abaissement de la concentration interne du Ca²⁺ ou l'inhibition de la calmoduline augmente la perméabilité à l'eau de l'AQP0, par contre la liaison à la calmoduline inhibe la perméabilité à l'eau par allostérie (Yang, 2017).

L'AQP1 peut être régulée par plusieurs hormones. Dans le système d'expression des ovocytes des *Xenopus*, la perméabilité à l'eau d'AQP1 a été augmentée par la vasopressine et diminuée par l'ANP. En outre, la PKC régule positivement à la fois la perméabilité à l'eau et la conductance ionique des canaux AQP1 par phosphorylation de la Thr157 et Thr239. L'AMPc et le GMPc réduisent l'ubiquitination de l'AQP1 et augmentent la stabilité de celle-ci car elle possède deux sites d'ubiquitination (lys-243 et lys-267) (Yang, 2017). En plus, le niveau d'expression de l'AQP1 augmente lorsque la voie de phosphorylation de la protéine kinase A (PKA) est activée via la forskoline ou l'AMPc (Peter, 2005).

L'AQP2 peut être régulées par l'AVP. L'AVP se lie au récepteur de la vasopressine de type 2 (V2R) présent sur la membrane basolatérale du canal collecteur rénal. Cela induit une cascade de signalisation impliquant l'activation médiée par les protéines G de l'adénylate cyclase, l'augmentation de l'AMPc intracellulaire, l'activation de la protéine kinase A (PKA) et la phosphorylation subséquente de l'AQP2. Ceci conduit à la redistribution de l'AQP2 des vésicules intracellulaire à la membrane apicale. La stimulation par l'AVP entraîne aussi une augmentation du niveau de Ca²⁺ intracellulaire via la libération du Ca²⁺ de la calmoduline dépendante réserve intracellulaire sensible à la ryanodine qui induisent l'expression d'AQP2 à la membrane apicale. Sur le long terme, la vasopressine augmente l'expression de l'AQP2 en activant les facteurs transcriptionnels qui stimulent la transcription d'AQP2 au niveau du promoteur AQP2. Une fois l'équilibre de l'eau restauré, les niveaux d'AVP baissent et l'AQP2 est internalisé par ubiquitination. Poussé par le gradient osmotique transcellulaire, l'eau pénètre dans les cellules principales par l'AQP2 et passe à travers la membrane plasmique basolatérale via l'AQP3 et l'AQP4 au sang (Yang, 2017). (Voir la figure 32).

1.1.6. Protéines du gène AQP

Une protéine d'aquaporine est de taille de 30KDa, elle est composée de 06 segments transmembranaires constitués d'hélices α d'au moins vingt acides aminés chacun reliées par 05 boucles de connexion qui plongent alternativement à l'extérieur et à l'intérieur de la cellule (A-E) (Ripoche, 1996; Pietrement, 2008) Ils contiennent plusieurs motifs conservés dont les séquences NPA (asparagine, proline, alanine) contenus l'un dans la boucle B et l'autre dans la boucle E, les 02 hélices B et E orientées en sens inverse sont reliées entre elles par des interactions proline-proline près du centre du canal, les 02 asparagines des motifs NPA projettent leur chaîne latérale au centre du canal créant un dipôle positif (Pietrement, 2008). (Voir la figure 33).

Les monomères d'AQP s'assemblent en tétramère au niveau des membranes mais chaque monomère fonctionne seul, il faut savoir que les hélices de chaque monomère d'AQP positionné sur la face extérieur du tétramère est hydrophobe tandis que ceux qui sont placés vers le centre du tétramère sont hydrophile (King, Kozono et Agre, 2004; Verkman, 2013).

La spécificité des AQP pour l'eau est liée au site de constriction arginine aromatique (ar/R), appelé ainsi en raison de la présence de résidus aromatiques et arginines très conservés, ce site est situé du côté périplasmique à 10 Å des jonctions NPA (Pietrement, 2008).

Des sites présomptifs de glycosylation sont identifiés dans toutes les AQP (Ripoche, 1996).

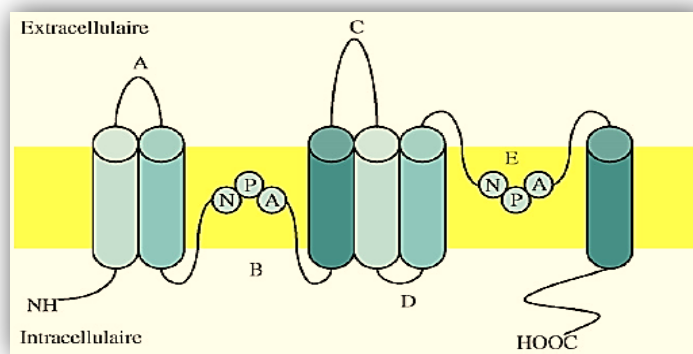


Figure 33 : Représentation schématique d'une molécule d'aquaporine (Pietrement, 2008).

1.2. Le polymorphisme

La notion de polymorphisme repose sur le caractère non pathogène de la variation de séquence. Un polymorphisme existe si la fréquence de celui-ci est supérieure ou égale à 1 %. Si la fréquence de cette variation est inférieure à 1 %, on parle de variant.

Le polymorphisme est dit bi-allélique si une base (A, C, G ou T) peut être remplacée par une autre base sur un gène.

Le polymorphisme des gènes humains peut être observé sur un ou plusieurs des sites suivants : (1) le promoteur ou la région flanquante en 5' qui peut affecter la transcription du gène, (2) le ou les exons ou le gène codant des séquences qui peut être silencieuse ou affecter l'expression ou la fonction d'un gène en entraînant des modifications de structure, de liaison ou du trafic protéique, (3) le ou les introns ou les séquences intervenant du gène pouvant conduire à des défauts de traitement d'ARN et d'ARNm, (4) la région 3' non-traduite (3' UTR) qui affecte l'expression du gène en modifiant la demi-vie de l'ARNm ou en influençant la traduction ribosomale de ce dernier (Eddaikra, 2018). (Voir la figure 34).

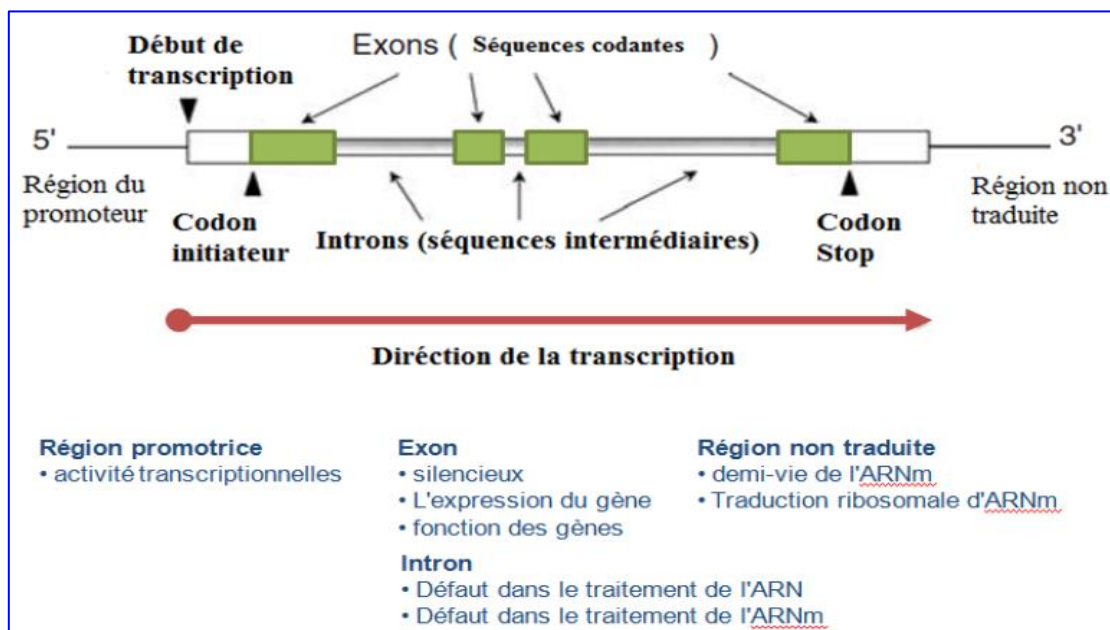


Figure 34 : Structure d'un gène humain, sites de polymorphisme et pertinence fonctionnelle (Eddaikra, 2018).

1.2.1. Variations de nucléotides uniques (SNP)

Les polymorphismes mononucléotidiques (SNP) sont des variations simples et uniques touchant la séquence nucléotidique d'un gène, les SNP sont retrouvés chez plusieurs individus d'une même espèce et se transmettent de façon mendélienne. Ils représentent environ 90% de la diversité génétique humaine connue.

Les SNP (Single Nucleotide Polymorphism) constituent la forme la plus abondante de variations génétiques dans le génome humain. Ils représentent plus de 90% de toutes les différences entre individus. C'est un type de polymorphisme de l'ADN dans lequel deux chromosomes diffèrent sur un segment donné par une seule paire de bases. Dans deux génomes humains tirés au hasard, 99,9% de la séquence d'ADN est identique. Les 0,1% restants contiennent des variations de séquence dont le type le plus commun est le polymorphisme pour un nucléotide (SNP). Les SNP sont stables, très abondants et distribués uniformément dans tout le génome (http://www.edu.upmc.fr/sdv/masselot_05001/polymorphisme/snp.html).

Un SNP se caractérise par sa position chromosomique, ses allèles et sa fréquence allélique mineure appelée (Minor Allele Frequency ou MAF). L'association de SNPs dans une région du génome située sur un même chromosome s'appelle un haplotype.

En fonction des modifications nucléotidiques, on distingue deux types de SNP :

a. Les SNP codants

Les SNP codants sont soit des polymorphismes de substitution aboutissant à une modification de l'acide aminé codé, ou des polymorphismes synonymes lorsque le changement du codon n'entraîne pas une modification de l'acide aminé codé (Eddaikra, 2018).

b. Les SNP non codants

Les SNP non codants sont des polymorphismes touchant les régions 5' ou 3' non transcrites, les régions 5' ou 3' non traduites, les introns et les régions intergéniques (Eddaikra, 2018).

1.3. Association diabète du gène AQP

1.3.1. Diabète

Le diabète est défini par une hyperglycémie (une élévation de la glycémie à jeun au-delà de 7 mmol/L (1,26 g/L)) survenant lorsque la quantité d'insuline plasmatique n'est plus suffisamment produite et/ou assez active par rapport aux besoins de l'organisme. La physiopathologie à l'origine de cette carence, complexe et hétérogène, permet de distinguer différents types de diabète parmi eux : le diabète de type 1 et le diabète de type 2 (Collin de l'Hortet, 1979). (Voir la figure 35).

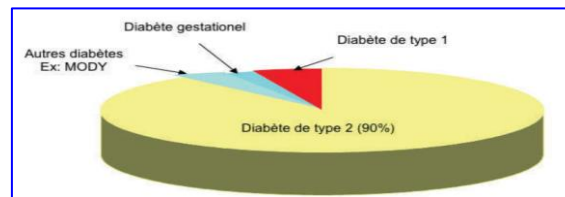


Figure 35 : Classification du diabète selon l'OMS (Collin de l'Hortet, 1979)

1.3.1.1 Diabète de type 1

Le diabète sucré de type 1 est un sous-type de diabète qui est généralement diagnostiqué à un jeune âge (Li et al., 2017). C'est une maladie chronique appelée diabète insulino-dépendant ou diabète Juvénile. Il se caractérise par une combinaison de facteurs tels que la prédisposition génétique, la dérégulation du système immunitaire et l'exposition aux facteurs environnementaux déclencheurs (Acharjee et al., 2013). (Voir la figure 36).

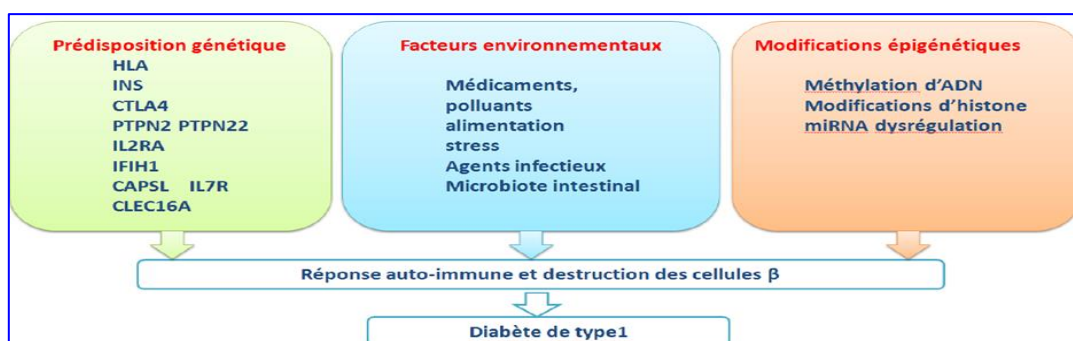


Figure 36 : Facteurs de prédisposition génétiques du diabète type 1 (Eddaikra, 2018).

Dans l'histoire de la maladie, la perméabilité intestinale serait augmentée et pourrait favoriser les infections. Cette hyperperméabilité pourrait être la conséquence des modifications du comportement alimentaire. La destruction des cellules bêta par l'infection libère des antigènes

Rappels bibliographiques

qui seront reconnus par les cellules présentatrices d'antigène (CPA) au niveau des nœuds lymphatiques pancréatiques. Les lymphocytes T CD4⁺ activés par les CPA migrent vers les cellules bêta pancréatiques et relâchent des chimiokines attirant ainsi les LT CD8⁺ cytotoxiques. Ces dernières produisent des cytokines, vont permettre le recrutement des macrophages et détruire les cellules bêta, induisant l'insuline (Collin de l'Hortet, 1979). (Voir la figure 37).

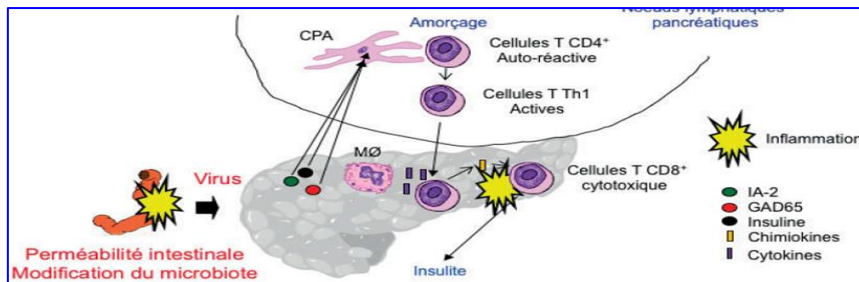


Figure 37 : Physiopathologie du diabète de type 1 (Collin de l'Hortet, 1979)

1.3.1.2 Diabète de type 2

Le diabète de type 2 (DT2) est la forme la plus répandue, présentant près de 90% des formes diagnostiquées du diabète. L'étiologie de la maladie est complexe, impliquant à la fois, les facteurs génétiques et environnementaux (Collin de l'Hortet, 1979). (Voir la figure 38).

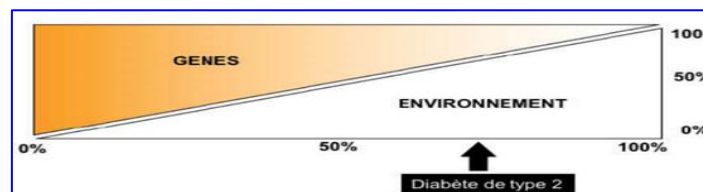


Figure 38 : Contribution relative des facteurs génétiques et environnementaux dans le diabète de type 2 (Collin de l'Hortet, 1979).

Le DT2 est une maladie multifactorielle complexe, causée à la fois par un défaut de l'insulino-sécrétion et par une diminution de la sensibilité tissulaire aux effets de l'insuline appelé insulino-résistance (diminution des effets de l'insuline sur les tissus insulino-sensibles (tissus musculaires, tissus adipeux, foie). ce trouble est caractérisé par une hyperproduction de glucose par le foie, expliquant l'hyperglycémie à jeun et une partie des hyperglycémies interprandiales. L'insulino-résistance est donc caractérisable au niveau des tissus périphériques, en particulier, du transport du glucose dans le muscle, dans le tissu adipeux et de la production hépatique de glucose. Cette insulino-résistance est aggravée par

Rappels bibliographiques

l'hyperglycémie et l'excès d'acide gras libre circulants ou de triglycérides stockés en excès dans le muscle. L'excès de la production hépatique de glucose est aussi majoré par les taux élevés d'acides gras circulants (Halimi, 2005) (Vaxillaire & Froguel, 2003).

L'excès d'apport lipidique et l'insulino-résistance systémique, associés avec l'obésité, joueraient un rôle clé dans le déclin de la masse et de la fonction des cellules béta. L'inflammation chronique de faible grade, induite par l'hyperlipidémie contribue à aggraver l'insulino-résistance et le rôle diabétogène de l'obésité. En effet, l'exposition chronique des tissus insulino-sensibles aux cytokines pro-inflammatoires entraînent une insulino-résistance. De même, les cellules béta pancréatiques exposées longuement aux cytokines pro-inflammatoires sont incapables de sécréter de l'insuline en réponse au glucose et finissent par mourir par apoptose (Collin de l'Hortet, 1979). (Voir la figure 39).

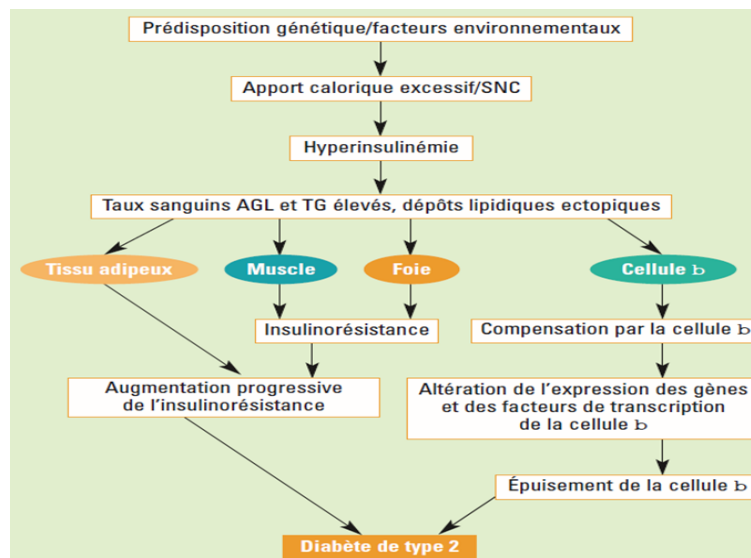


Figure 39 : Mécanisme conduisant au développement du diabète de type 2 (Vaxillaire Et Froguel, 2003).

1.3.1.3 Diabète insipide

C'est une maladie qui se traduit par l'incapacité du rein à concentrer l'urine, induisant du coup une polyurie parfois sévère (Matar, 2014). Le phénotype d'un patient atteint de DI se traduit par une diurèse élevée (> 30 ml/kg par jour) et une urine hypo-osmolaire (< 250 mmol/kg). On distingue 02 formes majeures existantes :

a. Le diabète insipide central

Le diabète insipide central (DIC) est défini par une incapacité à retenir de l'eau libre en raison d'une carence en hormone antidiurétique (ADH) liée à une atteinte des neurones

hypothalamiques. Il se manifeste par une polyurie, y compris nocturne, et une polydipsie (Köhler Ballan et al., 2012).

b. Le diabète insipide néphrogénique (DIN)

Est une entité rare à caractère héréditaire, dont le trouble essentiel réside, chez les patients atteints, en une incapacité à concentrer les urines malgré des taux circulants élevés d'hormone antidiurétique (Morin & Barberis, 2000). Dans ce cas l'hypophyse postérieure est bien stimulée en raison de l'augmentation de l'osmolarité plasmatique et génère une quantité suffisante d'AVP, mais les reins ne réussissent pas à augmenter la perméabilité hydrique du tubule collecteur pour produire une urine concentrée (Matar, 2014).

Le DIN acquis survient à la suite de traitement ou de désordres électrolytiques ou rénaux : médicaments tels les antibiotiques, les antifongiques et les antinéoplasique, l'hypercalcémie chronique, la nicotine, l'alcool, l'insuffisance rénale chronique et les néphropathies interstitielles (Moeller et al., 2013).

Dans le cas du DIN héréditaires, 90% des patients sont des hommes présentant une mutation sur le gène codant pour le récepteur de l'hormone antidiurétique (V2R) et donc une hérédité liée au chromosome X. Dans 10% des cas de DIN héréditaire, il s'agit d'une transmission génétique autosomique récessive ou dominante. Les mutations identifiées touchent le gène de l'aquaporine 2 (Morello & Bichet, 2001).

1.4. Conséquence physiopathologiques du polymorphisme de l'AQP dans le diabète

La maladie rénale, une complication courante du diabète est associée à un mauvais pronostic.

Une étude a montré une association significative entre la variante AQP11 rs2276415 et la prévalence de tout événement de lésion rénale aiguë et d'insuffisance rénale chronique (CDK) chez les patients diabétique mais pas chez les non diabétique. Les patients diabétiques CDK âgés de plus de 55 ans avec l'allèle mineur de l'AQP11 avaient une progression significativement plus rapide de la baisse du taux de filtration glomérulaire que les patients avec le génotype de type sauvage. Donc cette étude a identifié le rs2276415 comme un facteur génétique candidat prédisposant les patients atteints de DT2 à l'insuffisance rénale chronique (Choma et al., 2016). (Voir la figure 40).

Rappels bibliographiques

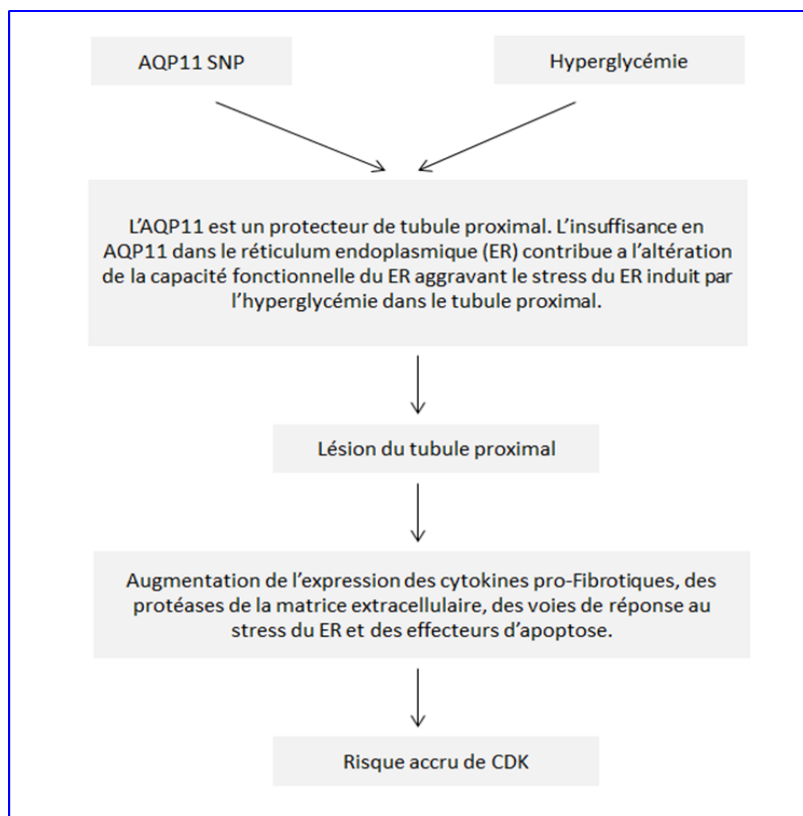


Figure 40 : Schéma hypothétique à deux résultats pour l'augmentation du risque de CKD chez les patients diabétique porteurs de l'allèle mineur AQP11 (Choma et al., 2016)

Matériels et méthodes

Matériels et méthodes

Le présent travail a été réalisé au département de physiologie et biologie cellulaire (BPC) de la faculté des sciences de la nature et de la vie (SNV) de l'université SAAD DAHLAB de BLIDA, pendant une période de 07 mois : du mois de Mars 2020 au mois de Septembre 2020.

N'ayant pas de plateforme de séquençage à haut débit en Algérie, nous sommes focalisés dans notre travail à une étude *in silico* en utilisant les données des bases de données internationales et stockées et publiées dans plusieurs bases de données.

Rappelons que l'objectif de notre travail est d'étudier le polymorphisme du gène AQP (aquaporine) chez les diabétiques.

2. Matériels et méthodes

2.1. Matériels

2.1.1. Matériels biologiques *in silico*

Pour répondre à la problématique de notre étude *in silico*, nous avons utilisé des échantillons stockés dans des bases de données à accès libre (Open Source) comme NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) et Ensemble Genome Browser (<https://www.ensembl.org>). Ces échantillons ont été obtenus après une étude qui avait nécessité des expérimentations à partir desquelles des molécules biologiques ont été obtenues puis traitées par des plateformes à l'échelle internationale utilisant la technologie de séquençage à haut débit comme les NGS (Next Generation Sequencing). En effet, cette dernière nous permet d'obtenir des séquences d'ADN ou de transcriptome et ceci pour répondre à plusieurs problématiques et thématiques dans le souci de comprendre les mécanismes d'interactions moléculaires, les voies cellulaires et biologiques associées à des pathologies qui dans notre cas est le diabète, ou aux diversités des espèces vivantes ou à des phénomènes biologiques.

Après une sélection des molécules biologiques que nous avons utilisées pour répondre à notre problématique, nous avons retenus les molécules répertoriées dans le tableau I :

Matériels et méthodes

Tableau I : Description des molécules biologiques.

Nature de la séquence	Numéro d'accèsion	ID : identifiant	Format	Source	Nombre de paires de bases	Exons	Début et fin de la séquence
ADN de l'AQP1	NC_000007.14	358	Fasta	NCBI (GeneBank)	79123	4	De 30911853 à 30925516
ADN de l'AQP2	NC_000012.12	359	Fasta	NCBI (GeneBank)	15141	4	De 49950737 à 49958878
ADN de l'AQP7	NC_000009.12	364	Fasta	NCBI (GeneBank)	24570	10	De 33383135 à 33402682
ADN de l'AQP11	NC_000011.10	368	Fasta	NCBI (GeneBank)	20721	3	De 77589635 à 77610356

2.1.2. Outils bioinformatiques

Notre étude a nécessité l'utilisation du matériel informatique (ordinateur portable, tablette, smartphone) et d'une connexion internet à haut débit.

Les progrès de la biologie moléculaire et du grand projet du génome humain ont élargi nos outils pour étudier les mécanismes pathogéniques des maladies humaines et la prédiction de certaines fonctions biologiques. Ainsi, nous avons utilisé des outils bio-informatiques pour le traitement de nos échantillons moléculaire qui sont des bases de données à accès libre (Open Source) nécessitant des interfaces web, des logiciels, des softwares et des algorithmes et qui sont répertoriés dans le tableau II.

Matériels et méthodes

Tableau II : Description des outils bioinformatiques utilisés

Base de données	Commentaire	URL
NCBI	C'est une base de données qui intègre des informations spécifiques aux gènes à partir de sources de données multiples.	https://www.ncbi.nlm.nih.gov/
Ensembl	C'est un explorateur de génomes pour les génomes de vertébrés qui soutient la recherche en génomique comparative, évolution, variation de séquence et régulation transcriptionnelle. Ensembl annote les gènes, calcule plusieurs alignements, prédit la fonction de régulation et recueille les données sur les maladies. Les outils Ensembl incluent BLAST, BLAT, BioMart et le Variant Effect Predictor (VEP) pour toutes les espèces prises en charge	https://www.ensembl.org/index.html
Galaxy	C'est une plateforme qui propose une « constellation » d'outils pour analyser, manipuler et visualiser des données génomiques	https://usegalaxy.org/
Varsome	C'est un moteur de recherche, un agrégateur et un outil d'analyse d'impact pour la variation génétique humaine et un projet communautaire visant à partager l'expertise mondiale sur les variantes humaines.	http://varsome.com/
UCSC	C'est un navigateur de génome en ligne et téléchargeable hébergé par l'Université de Californie à Santa Cruz.	https://genome.ucsc.edu/
LitVar	LitVar permet la recherche et la récupération d'informations pertinentes sur les variantes de la littérature biomédicale et montre les relations biologiques clés entre une variante et ses entités apparentées proches (par exemple, les gènes, les maladies et les médicaments).	https://www.ncbi.nlm.nih.gov/CBBresearch/Lu/Demo/LitVar/#!?query=

2.2. Méthodes

Le protocole de notre étude est schématisé par l'organigramme au niveau de la figure 41.

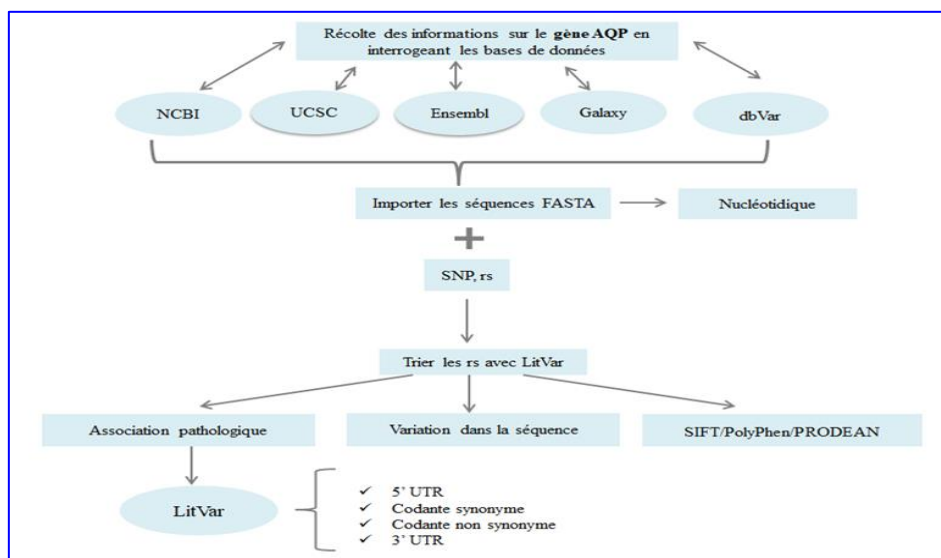


Figure 41 : Schémas représentant le protocole de recherche des SNP du gène AQP

2.2.1. Recherche des SNP du gène AQP

Nous allons d'abord commencer par chercher les SNPs des gènes AQP2, AQP7 et AQP11 dans les bases de données NCBI, UCSC, Ensembl et Galaxy. Puis nous allons trier les SNPs trouvés avec l'outil LitVar qui va nous donner seulement les SNPs impliqués dans le diabète. Ces différentes étapes sont représentées au niveau de la figure 42.

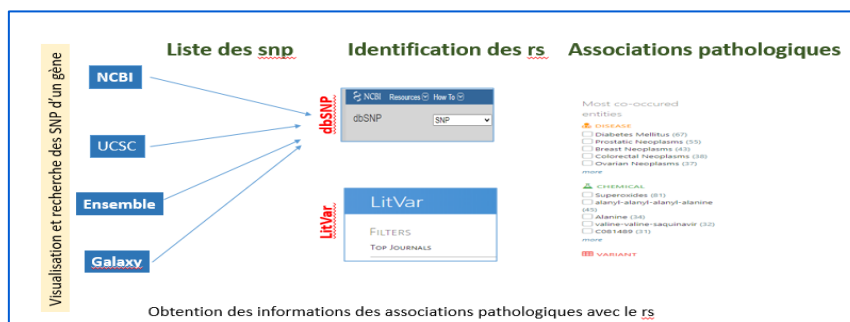


Figure 42 : Les outils utilisés pour trouver les SNP du gène AQP

2.2.1.1.L'outil NCBI

On se rend sur le lien <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/> qui nous permet d'accéder à la page d'accueil du site NCBI. Par la suite nous introduisons le symbole de notre gène « AQP2 » dans l'onglet « recherche », plusieurs possibilités vont apparaître. Nous allons choisir l'onglet « gène » puis « AQP2 homo sapiens », une page s'ouvrira indiquant toutes les informations

Matériels et méthodes

sur le gène, puis à droite de notre écran on choisit « SNP » et une liste de variation « rs » apparaîtra . On refait les mêmes étapes pour l'AQP7 et l'AQP11. (Voir l'annexe 03).

2.2.1.2.L'outil Ensembl

On se rend sur le lien <https://www.ensembl.org/index.html> et on choisit l'espèce humaine dans le champ des espèces puis on insère le symbole du gène « AQP2 » et on lance la recherche. On clique sur le gène AQP2 de l'espèce humaine, une page apparaîtra, à gauche de cette page il y a plusieurs option, on clique sur « tableau des variant » et une liste de « rs » apparaîtra avec les informations nécessaire. On fait la même chose avec l'AQP7 et l'AQP11. (Voir la figure 43).

The screenshot displays the Ensembl genome browser interface. At the top, the search bar shows 'Only searching Human' and 'AQP2'. Below the search bar, there are several sections: 'Current selection' (Only searching Human), 'Restrict category to:' (Gene, Transcript, GeneTree, Clones & Regions, Protein Family), 'Per page:' (10, 25, 50, 100), and 'Layout:' (Standard, Table). The main content area shows search results for 'AQP2 (Human Gene)' with 12 results. A red arrow points to the 'AQP2 (Human Gene)' entry. Below this, there are three transcript entries: 'AQP2-202 (Human Transcript)', 'AQP2-203 (Human Transcript)', and 'AQP2-201 (Human Transcript)'. To the right, there is a 'Gene-based displays' sidebar with a tree view of options like 'Splice variants', 'Transcript comparison', 'Gene alleles', 'Sequence', 'Secondary Structure', 'Comparative Genomics', 'Ontologies', 'Phenotypes', 'Gene Variation', 'Variant table', 'Structural variants', 'Gene expression', 'Regulation', 'External references', 'Supporting evidence', and 'ID History'. At the bottom, a table of variants is shown with columns: Variant ID, Chr, bp, Alleles, Clin. Sig., Conseq. Type, AA coord, SIFT, Poly-Phen, CAD, REV EL, Meta LR, Mutat Assessor, and Transcript. The table lists 15 variants, including rs1395873052, rs1170876223, rs1427741995, rs987370902, rs149553671, rs149553671, rs1479895113, rs1197532507, COSMID:CMUT:AT10N, and rs1438754427.

Figure 43 : Différentes étapes à suivre pour trouver les « rs » de l'AQP2 avec l'outil Ensembl

2.2.1.3.L'outil UCSC

On se rend sur le site <https://genome.ucsc.edu/> et on sélectionne l'espèce, on introduit la position de notre gène « AQP2 » et on clique sur « Go », une liste de « rs » apparaîtra avec tout à fait en bas des réglages à faire. Pour simplifier l'affichage on masque toutes les pistes de donnée en appuyant sur « hide all » puis on activera seulement les pistes qui nous intéressent comme le montre la figure, une fois terminer on clique sur « refresh ».

Matériels et méthodes

La sélection des SNPs va se faire par la suite en cliquant sur « Tools » puis « table browser » où on effectuera différents réglages puis sur « get output », une autre page apparaîtra, on fait encore des réglages et on clique sur « get output ». Une liste de « rs » apparaîtra avec les informations nécessaires. On refait les mêmes étapes avec l'AQP7 et l'AQP11. (Figure 44).

The image shows the UCSC Genome Browser interface. The top section displays various tracks for Genes and Gene Predictions, including GENCODE v32, RefSeq, Other RefSeq, AUGUSTUS, and CCDS. Below this is the Variation section with tracks for Common SNPs, All SNPs, and Flipped SNPs. The bottom section shows the Repeats section with tracks for RepeatMasker, Interrupted Repeats, RepeatMasker Viz., and Segmental Dups. A red arrow points to the 'refresh' button in the Repeats section.

The middle section shows the Table Browser tool configuration. The 'clade' is set to 'Mammal', 'genome' to 'Human', and 'assembly' to 'Dec 2013 (GRCh38/hg38)'. The 'variation' track is selected, and the 'table' is set to 'snp151Common'. The 'region' is set to 'genome', and the 'position' is 'chr12:49,950,741-49,958,881'. The 'output format' is set to 'selected fields from primary and related tables', and the 'output file' is left blank. The 'file type returned' is set to 'plain text'. A red arrow points to the 'get output' button.

The bottom section shows the 'Select Fields from hg38.snp151Common' table. The 'name' field is selected, and the 'observed' field is also selected. The table shows a list of SNPs with their names, scores, strands, and observed alleles.

name	score	strand	observed
rs184894331	0	+	A/C/G
rs3741559	0	+	A/G
rs3782319	0	+	A/G
rs3782320	0	+	A/G
rs461872	0	+	A/G
rs467199	0	+	A/G
rs3782322	0	+	A/G
rs76143524	0	+	A/G
rs461937	0	+	A/G
rs11169225	0	+	A/T
rs114162274	0	+	C/G
rs34119994	0	+	C/G
rs113967854	0	+	C/T
rs116689533	0	+	C/T
rs442674	0	+	A/C/T
rs158429113	0	+	A/G
rs484117	0	-	C/G
rs61924092	0	+	C/G/T
rs426496	0	-	A/G
rs12372344	0	+	C/T
rs402813	0	-	A/G
rs439779	0	-	A/G
rs7299924	0	+	A/G/T
rs410857	0	-	C/T
rs371777	0	-	G/T
rs403201	0	-	A/C/G
rs457487	0	-	G/T
rs467323	0	-	A/C/G

Figure 44 : Différentes étapes à suivre pour trouver les « rs » de l'AQP2 avec l'outil UCSC

2.2.1.4.L'outil Galaxy

On se rend sur le site <https://usegalaxy.org/> et on clique sur « get data » puis sur « UCSC Main table browser », une page s'ouvrira, on remplit les informations nécessaire avec la position de notre gène « AQP2 » et on clique sur « get output » ceci nous conduira vers une autre page où on fera d'autre réglages et on clique sur « send query to Galaxy ». On attend quelque secondes pour visualiser la liste des SNP. On refait la même chose avec l'AQP7 et l'AQP11. (Voir la figure 45).

Matériels et méthodes

The screenshot shows the Galaxy web interface for the 'snpsnp151Common' tool. The configuration is as follows:

- clade:** Mammal
- genome:** Human
- assembly:** Dec. 2013 (GRCh38/hg38)
- group:** Variation
- track:** Common SNPs(151)
- table:** snp151Common
- region:** position chr12: 49,950,741-49,958,881
- identifiers (names/accessions):** paste list
- output format:** BED - browser extensible data
- Send output to:** Galaxy
- file type returned:** plain text

The 'Output snp151Common as BED' section is configured with:

- Include custom track header:** (name: tb_snp151Common, description: table browser query on snp151Common, visibility: pack)
- Create one BED record per:** Whole Gene

The main table displays the following data:

Chrom	Start	End	Name	Score	Strand	ThickStart	ThickEnd	ItemRGB	BlockCount	BlockSizes	BlockStart
chr12	49951032	49951033	rs104894331	0	+						
chr12	49951192	49951193	rs3741559	0	+						
chr12	49951295	49951296	rs3782319	0	+						
chr12	49951315	49951316	rs3782320	0	+						
chr12	49951422	49951423	rs461872	0	+						
chr12	49951481	49951482	rs467199	0	+						
chr12	49951516	49951517	rs3782322	0	+						
chr12	49951540	49951541	rs76143524	0	+						
chr12	49951841	49951842	rs461937	0	+						
chr12	49951887	49951888	rs11169225	0	+						
chr12	49951913	49951914	rs114162274	0	+						
chr12	49951927	49951928	rs34119994	0	+						

Figure 45 : Les différentes étapes et réglages à suivre pour trouver les SNP du gène AQP2 avec l'outil Galaxy

2.2.2. Identification d'association pathologique par LitVar

Grace à ce logiciel on pourra identifier les « rs » impliqués dans les différents types de diabète. Pour cela on se rend sur le site de LitVar, on écrit dans la barre de recherche le nom de notre gène « AQP2 » et une liste de « rs » apparaîtra chacune avec les pathologies qu'elle pourra engendrer, parmi elles le diabète, et on fait la même chose avec l'AQP7 et l'AQP11. (Voir la figure 46).

Variant	Clinical Significance	MAF	Diseases	Publications
rs104894330 [p.T126M]	pathogenic	r/a	DIABETES INSIPIDUS, NEPHROGENIC; POLYURIA; CONSTIPATION; HYDRONAPHOBIOSIS; MIGRAINE DISORDERS	27
rs104894332 [p.E259K]	pathogenic	r/a	DIABETES INSIPIDUS, NEPHROGENIC; SOTOS SYNDROME; OSTEO DEFORMANS; COLONRECTAL NEOPLASMS	18
rs104894328 [p.R187C]	pathogenic	r/a	DIABETES INSIPIDUS, NEPHROGENIC	14

Figure 46 : Liste des SNP de l'AQP2 trouvés avec l'outil LitVar

Résultats et Discussion

3. Résultats et discussion

3.1. Résultats

3.1.1. Résultat de la recherche des SNP du gène AQP

Pour trouver les SNP du gène AQP2, AQP7 et AQP11 ont à interroger plusieurs bases de données qui nous ont donnés des résultats sur le nombre des SNP.

3.1.1.1 L’outil NCBI

Les résultats de la recherche montre que les gènes AQP2, AQP7 et AQP11 ont un profil polymorphique caractérisé par un grand nombre de SNPs. Ces derniers incluent des SNP codants incluant les SNPs de substitution et les SNP synonymes. Cependant le reste des SNPs forment la partie non codante.

Le gène AQP2 compte au total 2814 SNPs parmi eux 120 SNPs codants synonymes. Le gène AQP7 compte au total 6535 SNPs parmi eux 149 SNPs codants synonymes, enfin, le gène AQP11 compte au total 5733 SNPs parmi eux 95 SNPs codants synonymes.

3.1.1.2 L’outil Ensembl

L’outil Ensembl nous a donné un tableau interminable de variant du gène AQP2 représenté au niveau de la figure 47, du gène AQP7 représenté au niveau de la figure 48 et du gène AQP11 représenté au niveau de la figure 49, chaque variant (rs) avec ces informations nécessaires comme sa position, le nombre de pair de base, sa classe, l’allèle concerné, sa source et son type.

ID de variante	Chr: bp	Allèles	MAF mondiale	Classe	La source	Preuve	Clin. Sig.	Conseq. Type	AA	Coor. gAA	SI ET	Poly Phen	CAD ID	SE DELE R	Meta LR	Évaluer de mutation	Transcription
rs1396873055	12: 49950752	G / C	-	SNP	dbSNP		-	5 variante UTR principale	-	-	-	-	-	-	-	-	ENST00000199280.3
rs1170478225	12: 49950753	A / G	-	SNP	dbSNP		-	5 variante UTR principale	-	-	-	-	-	-	-	-	ENST00000199280.3
rs1427741995	12: 49950754	G / C	-	SNP	dbSNP		-	5 variante UTR principale	-	-	-	-	-	-	-	-	ENST00000199280.3
rs987370952	12: 49950755	C / T	-	SNP	dbSNP		-	5 variante UTR principale	-	-	-	-	-	-	-	-	ENST00000199280.3
rs149553671	12: 49950756	G / A / T (A)	<0.001 (A)	SNP	dbSNP		?	5 variante UTR principale	-	-	-	-	-	-	-	-	ENST00000199280.3
rs149553671	12: 49950756	G / A / T (A)	<0.001 (A)	SNP	dbSNP		?	5 variante UTR principale	-	-	-	-	-	-	-	-	ENST00000199280.3
rs1478695313	12: 49950757-49950759	ATA / ATATA	-	indel	dbSNP		-	5 variante UTR principale	-	-	-	-	-	-	-	-	ENST00000199280.3
rs1197632507	12: 49950758	T / C	-	SNP	dbSNP		-	5 variante UTR principale	-	-	-	-	-	-	-	-	ENST00000199280.3
COSV52232135	12: 49950759	COSMIC MUTATION	-	SNV somatique	COSMIQUE		-	5 variante UTR principale	-	-	-	-	-	-	-	-	ENST00000199280.3
rs1438764427	12: 49950760-49950777	GAGTG / CGCA / GTGC / GAGTG / C	-	indel	dbSNP		-	5 variante UTR principale	-	-	-	-	-	-	-	-	ENST00000199280.3

Figure 47 : Résultats de la recherche des variations SNPs du gène « AQP2 » avec Ensembl

Résultats et discussion

ID de variante	Chr: bp	Allèles	MAF mondiale	Classe	La source	Preuve	Clin. Sig.	Conseq. Type	AA	Coord AA	SI FT	Poly Phen	CAD D	SE DELE CTE R	Meta LR	Évalu ateur de muta tion	Transcription
rs563202231	9: 33383203	T / G	<0.001 (G)	SNP	dbSNP		-	3 variante UTR principale	-	-	-	-	-	-	-	-	ENST00000297988.0
rs796583488	9: 33383206	C / A / T	-	SNP	dbSNP		-	3 variante UTR principale	-	-	-	-	-	-	-	-	ENST00000297988.0
rs796583488	9: 33383206	C / A / T	-	SNP	dbSNP		-	3 variante UTR principale	-	-	-	-	-	-	-	-	ENST00000297988.0
rs765211254	9: 33383207	GEOR GIE	-	SNP	dbSNP		-	3 variante UTR principale	-	-	-	-	-	-	-	-	ENST00000297988.0
rs368168558	9: 33383210	T / C	<0.001 (C)	SNP	dbSNP		-	3 variante UTR principale	-	-	-	-	-	-	-	-	ENST00000297988.0
rs1432383849	9: 33383212	T / G	-	SNP	dbSNP		-	3 variante UTR principale	-	-	-	-	-	-	-	-	ENST00000297988.0
rs773157971	9: 33383224	C / T	-	SNP	dbSNP		-	3 variante UTR principale	-	-	-	-	-	-	-	-	ENST00000297988.0
rs890498235	9: 33383235	G / A / T	-	SNP	dbSNP		-	3 variante UTR principale	-	-	-	-	-	-	-	-	ENST00000297988.0
rs890498235	9: 33383235	G / A / T	-	SNP	dbSNP		-	3 variante UTR principale	-	-	-	-	-	-	-	-	ENST00000297988.0
rs1461158919	9: 33383251	T / C	-	SNP	dbSNP		-	3 variante UTR principale	-	-	-	-	-	-	-	-	ENST00000297988.0
rs1372881829	9: 33383252	C / T	-	SNP	dbSNP		-	3 variante UTR principale	-	-	-	-	-	-	-	-	ENST00000297988.0

Figure 48 : Résultats de la recherche des variations SNPs du gène « AQP7 » avec Ensembl

ID de variante	Chr: bp	Allèles	MAF mondiale	Classe	La source	Preuve	Clin. Sig.	Conseq. Type	AA	Coord AA	SI FT	Poly Phen	CAD D	SE DELE CTE R	Meta LR	Évalu ateur de muta tion	Transcription
rs1038819537	11: 77589935-77589962	GGA GAC CGC CTC CTA CCC - / GGA G	-	indel	dbSNP		-	5 variante UTR principale	-	-	-	-	-	-	-	-	ENST00000313578.4
rs768819923	11: 77589957	C / T	-	SNP	dbSNP		-	5 variante UTR principale	-	-	-	-	-	-	-	-	ENST00000313578.4
rs1237897507	11: 77589963	C / T	-	SNP	dbSNP		-	5 variante UTR principale	-	-	-	-	-	-	-	-	ENST00000313578.4
rs119850422	11: 77589965	C / T	-	SNP	dbSNP		-	5 variante UTR principale	-	-	-	-	-	-	-	-	ENST00000313578.4
rs200630975	11: 77589966	G / A / T	<0.001 (A)	SNP	dbSNP		-	5 variante UTR principale	-	-	-	-	-	-	-	-	ENST00000313578.4
rs200630975	11: 77589966	G / A / T	<0.001 (A)	SNP	dbSNP		-	5 variante UTR principale	-	-	-	-	-	-	-	-	ENST00000313578.4
rs761532749	11: 77589968	À	-	SNP	dbSNP		-	5 variante UTR principale	-	-	-	-	-	-	-	-	ENST00000313578.4
rs767451693	11: 77589970	C / T	-	SNP	dbSNP		-	5 variante UTR principale	-	-	-	-	-	-	-	-	ENST00000313578.4
rs979873861	11: 77589971	CALIFO RNIE	-	SNP	dbSNP		-	5 variante UTR principale	-	-	-	-	-	-	-	-	ENST00000313578.4
rs773186685	11: 77589981	G / T	-	SNP	dbSNP		-	5 variante UTR principale	-	-	-	-	-	-	-	-	ENST00000313578.4

Figure 49 : résultats de la recherche des variations SNPs du gène « AQP11 » avec Ensembl

3.1.1.3 L'outil UCSC

Le navigateur UCSC nous a permis de visualiser les SNP des gènes AQP2, AQP7 et AQP11. Cette dernière montre une piste des « rs » représentées par les numéros d'accensions des SNPs communs et des SNPs associées à des études cliniques. La piste montre aussi que les SNPs sont distribués sur toute la longueur des gènes AQP2 (figure 50), AQP7 (figure 51) et AQP11 (figure 52) : les rouges sont des SNPs codants non synonymes, les verts sont des SNPs codants synonymes, les bleus sont les SNPs des régions d'épissage ou des régions non traduites et les noires représentent les SNPs des régions introniques.

Résultats et discussion

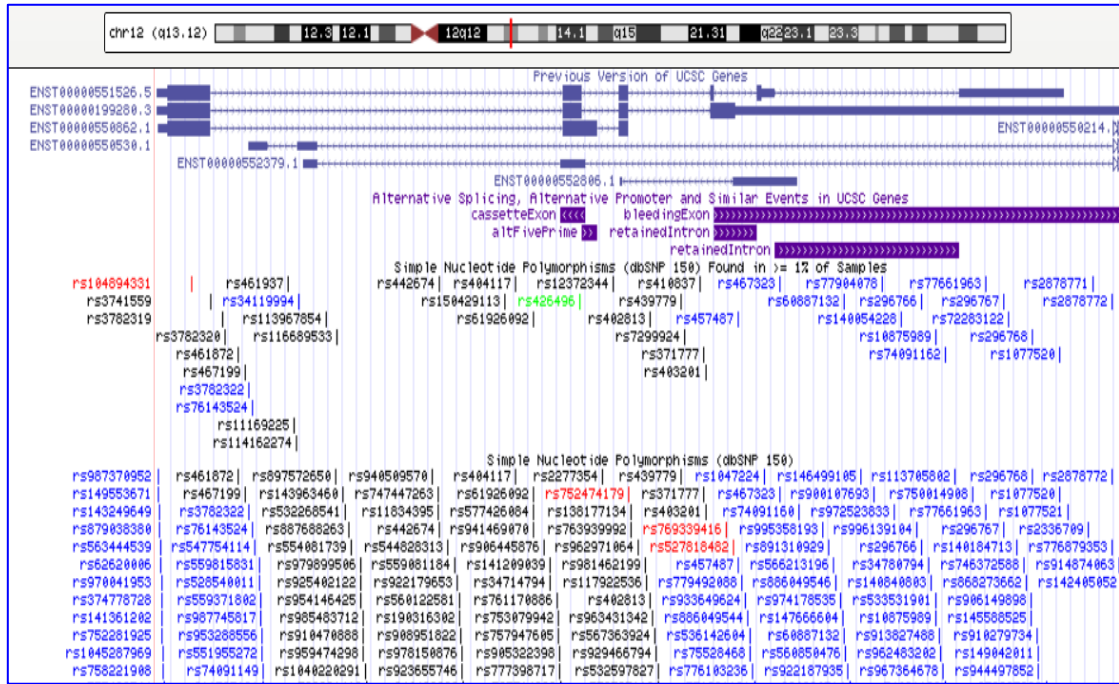
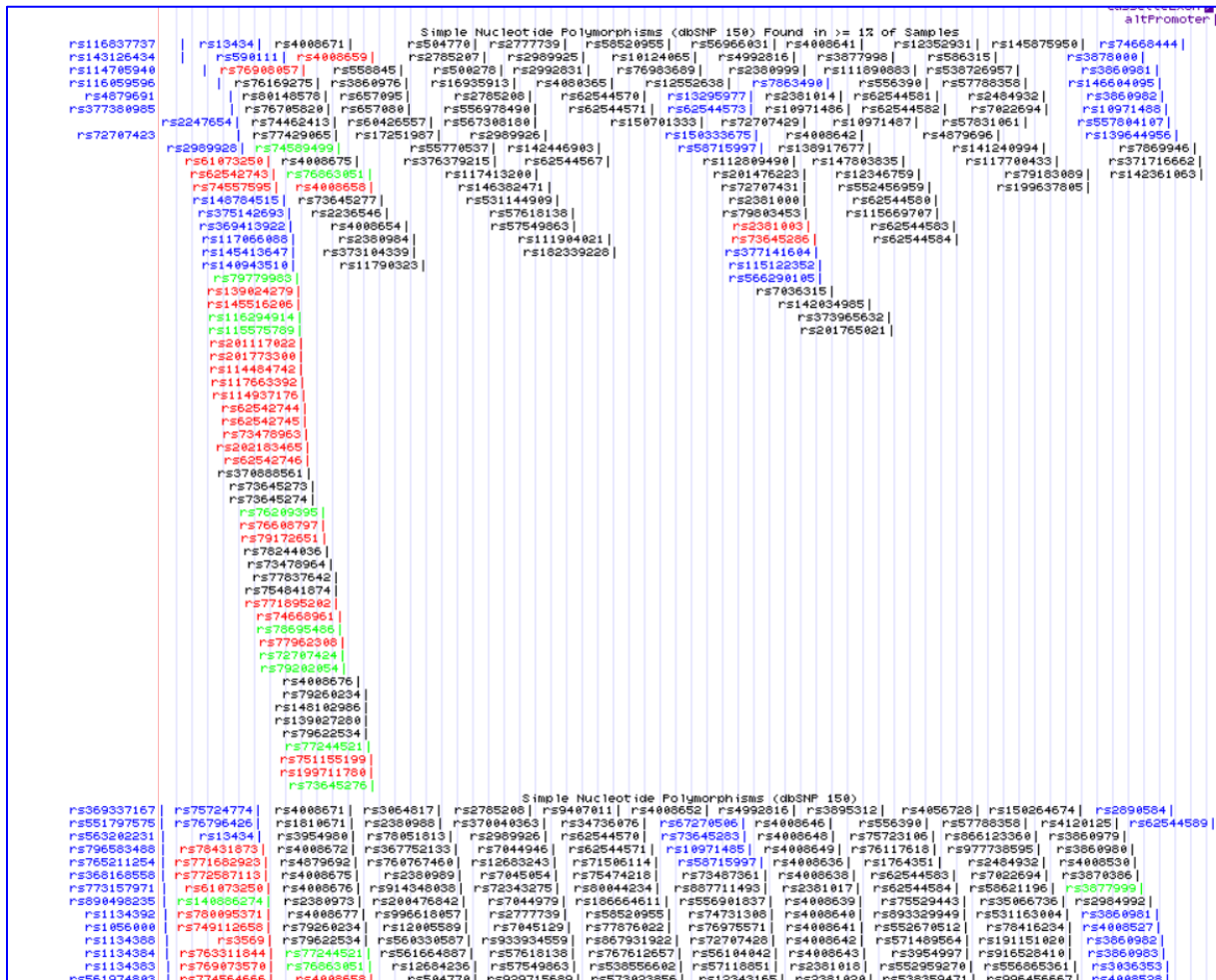


Figure 50 : Résultats de la recherche des variants SNPs du gène « AQP2 » avec UCSC



Résultats et discussion

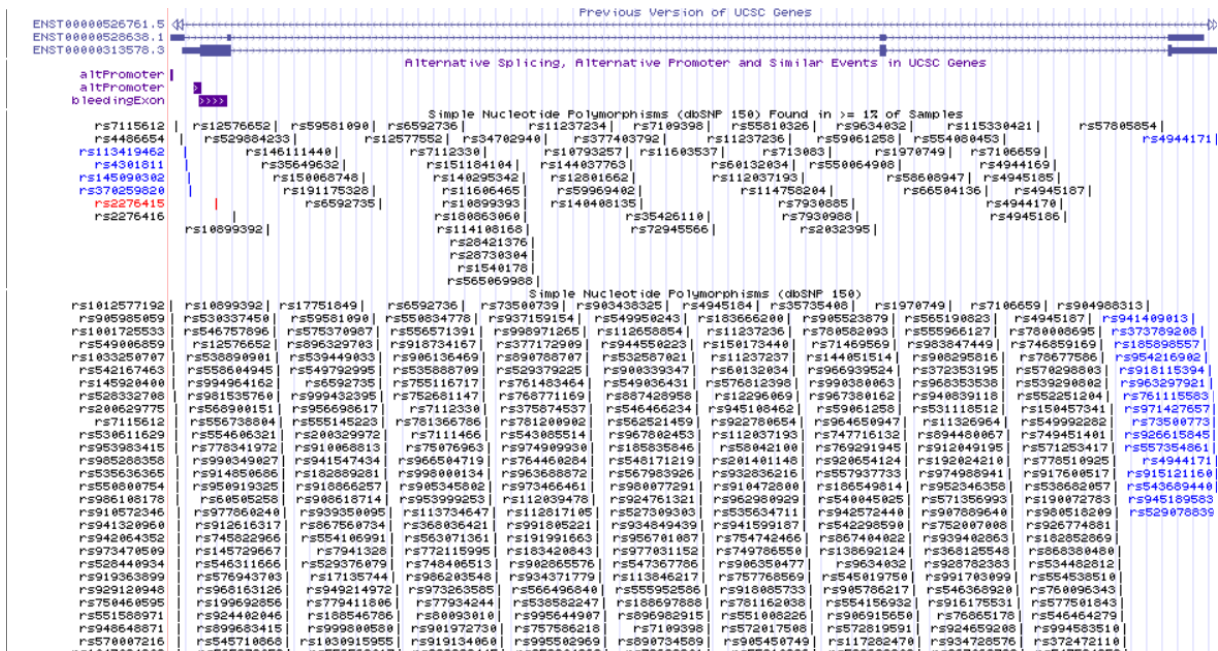


Figure 52 : Résultats de la recherche des variants SNPs du gène « AQP11 » avec UCSC

3.1.1.4 L'outil Galaxy

Galaxy nous a permis d'obtenir un tableau des SNPs des gènes AQP2 (voir figure 53), AQP7 (voir figure 54) et AQP11 (voir figure 55) ainsi que leurs positions (début et fin) et leurs scores. Environ 41 SNPs du gène AQP2, plus de 150 SNPs du gène AQP7 et plus de 60 SNPs du gène AQP11 ont été retrouvés.

Chrom	Start	End	Name	Score	Strand
chr12	49951032	49951033	rs104894331	0 +	-
chr12	49951192	49951193	rs3741559	0 +	-
chr12	49951295	49951296	rs3782319	0 +	-
chr12	49951315	49951316	rs3782320	0 +	-
chr12	49951422	49951423	rs461072	0 +	-
chr12	49951481	49951482	rs467199	0 +	-
chr12	49951516	49951517	rs3782322	0 +	-
chr12	49951540	49951541	rs76143524	0 +	-
chr12	49951841	49951842	rs461937	0 +	-
chr12	49951887	49951888	rs11169225	0 +	-
chr12	49951913	49951914	rs114162274	0 +	-
chr12	49951927	49951928	rs34119994	0 +	-
chr12	49952165	49952166	rs113967854	0 +	-
chr12	49952256	49952257	rs116689533	0 +	-
chr12	49953109	49953110	rs442674	0 +	-
chr12	49953661	49953662	rs150429113	0 +	-
chr12	49953752	49953753	rs404117	0 -	-
chr12	49953904	49953905	rs61926092	0 +	-
chr12	49954294	49954295	rs426496	0 -	-
chr12	49954575	49954576	rs12372344	0 +	-
chr12	49954890	49954891	rs402813	0 -	-
chr12	49955145	49955146	rs439779	0 -	-
chr12	49955177	49955178	rs7299924	0 +	-
chr12	49955306	49955307	rs410837	0 -	-
chr12	49955339	49955340	rs371777	0 -	-
chr12	49955359	49955360	rs403201	0 -	-
chr12	49955627	49955628	rs457487	0 -	-
chr12	49955981	49955982	rs467323	0 -	-
chr12	49956514	49956515	rs60887132	0 +	-
chr12	49956835	49956836	rs77904078	0 +	-
chr12	49957002	49957003	rs140054228	0 +	-
chr12	49957169	49957170	rs296766	0 +	-
chr12	49957291	49957292	rs10875909	0 +	-
chr12	49957364	49957365	rs74091162	0 +	-
chr12	49957708	49957709	rs77661963	0 +	-
chr12	49957857	49957858	rs296767	0 +	-
chr12	49957899	49957903	rs72283122	0 +	-
chr12	49958102	49958103	rs296768	0 +	-
chr12	49958332	49958333	rs1077520	0 +	-
chr12	49958609	49958610	rs2878771	0 +	-
chr12	49958775	49958776	rs2878772	0 +	-

Figure 53 : Résultats de la recherche des SNPs du gène « AQP2 » avec l'outil Galaxy

Résultats et discussion

Chrom	Start	End	Name	Score	Strand	chr9	33385772	33385773	rs117663392	0	+	chr9	33386788	33386789	rs4006675	0	+
chr9	33383559	33383560	rs116837737	0	+	chr9	33385785	33385786	rs114937176	0	+	chr9	33386808	33386809	rs4006676	0	+
chr9	33383565	33383566	rs143126434	0	+	chr9	33385787	33385788	rs7690057	0	+	chr9	33386841	33386842	rs79260234	0	+
chr9	33383969	33383970	rs114705940	0	+	chr9	33385809	33385810	rs62542744	0	+	chr9	33386845	33386846	rs148102986	0	+
chr9	33384231	33384232	rs116059596	0	+	chr9	33385816	33385817	rs62542745	0	+	chr9	33386848	33386849	rs139027280	0	+
chr9	33384455	33384456	rs4879691	0	+	chr9	33385829	33385830	rs73478963	0	+	chr9	33386852	33386853	rs79622534	0	+
chr9	33384485	33384486	rs377380995	0	+	chr9	33385853	33385854	rs202183465	0	+	chr9	33386890	33386891	rs77244521	0	+
chr9	33384570	33384571	rs2247654	0	+	chr9	33385864	33385865	rs62542746	0	+	chr9	33387005	33387006	rs76863051	0	+
chr9	33384586	33384587	rs27207423	0	+	chr9	33385893	33385894	rs37088561	0	+	chr9	33387045	33387046	rs751155199	0	+
chr9	33384674	33384675	rs2989928	0	-	chr9	33385957	33385958	rs73645273	0	+	chr9	33387048	33387049	rs4006658	0	+
chr9	33384978	33384979	rs13434	0	-	chr9	33385965	33385966	rs73645274	0	+	chr9	33387061	33387062	rs4006659	0	+
chr9	33385135	33385136	rs61073250	0	+	chr9	33386054	33386055	rs76169275	0	+	chr9	33387074	33387075	rs73645276	0	+
chr9	33385242	33385243	rs62542743	0	+	chr9	33386147	33386148	rs76608797	0	+	chr9	33387225	33387226	rs73645277	0	+
chr9	33385288	33385289	rs74557595	0	+	chr9	33386168	33386169	rs79172651	0	+	chr9	33387319	33387320	rs2236546	0	-
chr9	33385428	33385429	rs148784515	0	+	chr9	33386212	33386213	rs80148578	0	+	chr9	33387604	33387605	rs558845	0	+
chr9	33385440	33385441	rs590111	0	-	chr9	33386227	33386228	rs78244036	0	+	chr9	33387683	33387684	rs3860976	0	+
chr9	33385533	33385534	rs375142693	0	+	chr9	33386244	33386245	rs76705820	0	+	chr9	33387684	33387685	rs4006654	0	+
chr9	33385546	33385547	rs369413922	0	+	chr9	33386285	33386286	rs73478964	0	+	chr9	33387723	33387724	rs657095	0	-
chr9	33385601	33385602	rs117066088	0	+	chr9	33386379	33386380	rs74662413	0	+	chr9	33387732	33387733	rs657080	0	-
chr9	33385603	33385604	rs145413647	0	+	chr9	33386388	33386389	rs77429065	0	+	chr9	33387821	33387822	rs2380984	0	+
chr9	33385604	33385605	rs140943510	0	+	chr9	33386394	33386395	rs77837642	0	+	chr9	33387829	33387830	rs373104339	0	+
chr9	33385668	33385669	rs79779983	0	+	chr9	33386400	33386401	rs754841874	0	+	chr9	33388005	33388006	rs11790323	0	+
chr9	33385691	33385692	rs138024279	0	+	chr9	33386401	33386402	rs771895202	0	+	chr9	33388153	33388154	rs60426557	0	+
chr9	33385699	33385700	rs145516206	0	+	chr9	33386431	33386432	rs74509499	0	+	chr9	33388290	33388291	rs17251987	0	+
chr9	33385710	33385711	rs116294914	0	+	chr9	33386466	33386467	rs74668961	0	+	chr9	33388953	33388954	rs5044770	0	-
chr9	33385713	33385714	rs115575789	0	+	chr9	33386470	33386471	rs76995486	0	+	chr9	33389129	33389130	rs2785207	0	+
chr9	33385734	33385735	rs201171022	0	+	chr9	33386511	33386512	rs77962388	0	+	chr9	33389307	33389308	rs55770537	0	+
chr9	33385741	33385742	rs201773300	0	+	chr9	33386512	33386513	rs72707424	0	+	chr9	33389308	33389309	rs37639215	0	+
chr9	33385751	33385752	rs114484742	0	+	chr9	33386527	33386528	rs29200954	0	+	chr9	33389431	33389432	rs500278	0	-
chr9	33390335	33390336	rs148382471	0	+	chr9	33394838	33394839	rs4992816	0	+	chr9	33397405	33397406	rs62544581	0	+
chr9	33390472	33390473	rs531144909	0	+	chr9	33394843	33394844	rs112809490	0	+	chr9	33397488	33397489	rs115669707	0	+
chr9	33390620	33390621	rs2777739	0	-	chr9	33395031	33395032	rs2380999	0	+	chr9	33397632	33397633	rs62544582	0	+
chr9	33390769	33390770	rs57618138	0	+	chr9	33395032	33395033	rs27207429	0	+	chr9	33397791	33397792	rs62544583	0	+
chr9	33390794	33390795	rs57549863	0	+	chr9	33395036	33395037	rs201476223	0	+	chr9	33397830	33397831	rs62544584	0	+
chr9	33390951	33390952	rs2989925	0	-	chr9	33395040	33395041	rs27207431	0	+	chr9	33398229	33398230	rs12352931	0	+
chr9	33391046	33391047	rs2992831	0	+	chr9	33395041	33395042	rs2381000	0	+	chr9	33398546	33398547	rs586315	0	+
chr9	33391239	33391240	rs142446903	0	+	chr9	33395051	33395052	rs79803453	0	+	chr9	33398607	33398608	rs4879696	0	+
chr9	33391418	33391419	rs62544567	0	+	chr9	33395109	33395110	rs2381003	0	+	chr9	33398975	33398976	rs538726957	0	+
chr9	33391422	33391423	rs111904021	0	+	chr9	33395217	33395218	rs73645286	0	+	chr9	33399103	33399104	rs57788358	0	+
chr9	33391480	33391481	rs4890365	0	+	chr9	33395239	33395240	rs737141604	0	+	chr9	33399105	33399106	rs57831061	0	+
chr9	33391523	33391524	rs182339228	0	+	chr9	33395239	33395240	rs737141604	0	+	chr9	33399434	33399435	rs2484932	0	+
chr9	33392079	33392080	rs62544570	0	+	chr9	33395309	33395310	rs15122352	0	+	chr9	33399438	33399439	rs141420994	0	+
chr9	33392219	33392220	rs62544571	0	+	chr9	33395452	33395453	rs7863490	0	+	chr9	33399489	33399490	rs7022694	0	+
chr9	33392525	33392526	rs58520955	0	+	chr9	33395536	33395537	rs7036315	0	+	chr9	33399676	33399677	rs117700433	0	+
chr9	33393007	33393008	rs10124065	0	+	chr9	33395694	33395695	rs2381014	0	+	chr9	33400153	33400154	rs145875950	0	+
chr9	33393098	33393099	rs76983689	0	+	chr9	33395840	33395841	rs10971486	0	+	chr9	33400267	33400268	rs79183089	0	+
chr9	33393136	33393137	rs150701333	0	+	chr9	33396080	33396081	rs4006641	0	+	chr9	33400269	33400270	rs398637805	0	+
chr9	33393630	33393631	rs12552638	0	+	chr9	33396088	33396089	rs4006642	0	+	chr9	33401270	33401271	rs3878000	0	+
chr9	33394045	33394046	rs13295977	0	+	chr9	33396224	33396225	rs138917677	0	+	chr9	33401540	33401541	rs3860981	0	+
chr9	33394054	33394055	rs62544573	0	+	chr9	33396235	33396236	rs142034985	0	+	chr9	33401575	33401576	rs14664095	0	+
chr9	33394147	33394148	rs150323675	0	+	chr9	33396236	33396237	rs7373965632	0	+	chr9	33401634	33401635	rs3860982	0	+
chr9	33394234	33394235	rs58715997	0	+	chr9	33396626	33396627	rs201765021	0	+	chr9	33401693	33401694	rs10971488	0	+
chr9	33394486	33394487	rs56966031	0	+	chr9	33396668	33396669	rs3077998	0	+	chr9	33401746	33401747	rs557804107	0	+
chr9	33394838	33394839	rs4992816	0	+	chr9	33396661	33396662	rs147803835	0	+	chr9	33401901	33401902	rs53944956	0	+
chr9	33394843	33394844	rs112809490	0	+	chr9	33397074	33397075	rs11890883	0	+	chr9	33402020	33402021	rs74668444	0	+
chr9	33395031	33395032	rs2380999	0	+	chr9	33397086	33397087	rs10971487	0	+	chr9	33402232	33402233	rs7869944	0	+
chr9	33395032	33395033	rs72707429	0	+	chr9	33397151	33397152	rs12346759	0	+	chr9	33402326	33402327	rs371716662	0	+
chr9	33395036	33395037	rs201476223	0	+	chr9	33397291	33397292	rs556390	0	-	chr9	33402337	33402338	rs142361063	0	+
chr9	33395040	33395041	rs27207431	0	+												

Figure 54 : Résultats de la recherche des SNPs du gène « AQP7 » avec l’outil Galaxy

Chrom	Start	End	Name	Score	Strand	chr11	77596621	77596622	rs1540178	0	+	chr11	77596702	77596703	rs565069988	0	+
chr11	77589499	77589500	rs7115612	0	+	chr11	77596621	77596622	rs1540178	0	+	chr11	77596621	77596622	rs1540178	0	+
chr11	77589597	77589598	rs4486654	0	+	chr11	77596702	77596703	rs565069988	0	+	chr11	77				

Résultats et discussion

3.1.1. Identification d'association pathologique par l'outil LitVar

Cet outil nous a permis de visualiser seulement les SNPs impliqués dans l'apparition du diabète. Les résultats de cette recherche sont représentés dans le tableau suivant :

Tableau III : résultats de la recherche des SNP impliqués dans l'apparition du diabète avec LitVar

Gène	Position	base	Exon	Le rs /Mutation	Le diabète
AQP2	Chromosome 12: 49,950,741- 49,958,881	15141 pb	4	<p>rs750321982 une transition de C à G à la position 697 (c.697C>G) dans l'exon 4 (G211R).</p>	Diabète insipide néphrogénique
				<p>rs1288385043 une substitution de la guanine en thymine au niveau du nucléotide 3 (c.3G →T).</p> <p>rs964170650 une substitution de la guanine en adénosine au niveau du nucléotide 85 (c.85G →A).</p>	Diabète insipide néphrogénique
				<p>rs28931580 mutations ponctuelles à la position nucléotidique 170 (CAG à CCG; Q57P) et à la position 299 (GGA à GTA; G100V) dans l'exon 1 du gène AQP2.</p>	diabète insipide néphrogénique
				<p>rs1468828294 une transition C> T conduisant à une mutation faux-sens T108M de AQP2 au niveau du nucléotide 323 de l'exon 1.</p>	Diabète insipide néphrogénique
				<p>rs104894339 Une substitution de la Cytosine en Thymine au niveau du nucléotide 785 dans l'exon 4 de l'AQP2 (c.785C>T).</p>	Diabète insipide néphrogénique recessive
				<p>rs104894333 Une mutation à la position nucléotidique NM_000486.5: c.374C> T (p.Thr125Met) dans l'exon 2.</p>	Diabète insipide néphrogénique
				<p>rs149659001 Une mutation à la position nucléotidique (NM_000486.6):c.211G>A (p.Val71Met)</p>	Diabète insipide néphrogénique
				AQP7	Chromosome 9: 33,383,179-33,402,682
AQP1 1	Chromosome 11: 77,589,391-77,610,356	20722 pb	3	<p>rs2276415 Une substitution de Guanine en adénosine au niveau de l'exon 1</p>	Diabète de type 2

3.2. Discussion

Rappelons que notre étude a été réalisée pour étudier le polymorphisme du gène aquaporine (AQP) chez les diabétiques en utilisant les bases de données et les outils bioinformatiques.

D'après nos résultats, nous avons trouvé que les gènes qui codent pour les aquaporines impliqués dans l'apparition du diabète (AQP2, AQP7 et AQP11) sont caractérisés par un profil polymorphique caractérisé par un très grand nombre de SNPs, cependant plusieurs études sont venues confirmer l'implication de ces aquaporines dans l'apparition du diabète et dans la progression de ses complications.

- **Les SNP du gène AQP2 impliqués dans l'apparition du diabète**

À ce jour 66 mutations distinctes du gène AQP2 ont été décrites ([Liberatore et al., 2012](#)).

Nous avons identifié 8 SNPs au niveau du gène de l'AQP2 tous impliqués dans l'apparition du diabète insipide néphrogénique, parmi eux 5 SNPs sont localisés au niveau de l'exon 1 (rs1288385043, rs964170650, rs28931580, rs1468828294 et le rs149659001), 2 autres SNPs sont localisés au niveau de l'exon 4 du gène AQP2 (rs750321982 et le rs104894339) et enfin 1 SNP au niveau de l'exon 2 (rs104894339).

Le rs750321982 localisé au niveau de l'exon 4 de l'AQP2 qui est une transition de C à G à la position 697 (c.697C>G) a été aussi identifié par Raphael D et ses collaborateurs chez une fillette de deux mois atteinte de NDI, mais une autre mutation a été identifié au niveau de ce gène, il s'agit d'une transversion de C à T en position 601 (c.601C> T) dans l'exon 3 (H201Y), en effet les mutations résultant d'une substitution de la tyrosine pour l'histidine et de l'arginine pour la glycine altèrent gravement la structure de l'AQP2 et perturbent l'absorption de l'eau ([Liberatore et al., 2012](#)).

Une étude portée sur une fille thaïlandaise de 6 ans atteinte du diabète insipide néphrogénique congénital (NDI) a permis d'identifier deux nouvelles mutations faux-sens hétérozygotes situés au niveau de l'exon 1 du gène AQP2 : une substitution de G a T en position nucléotidique 3 (c.3G→T) hérité de sa mère (p.M1I) et une substitution de la guanine en adénosine au niveau du nucléotide 85 (c.85G→A) hérité de son père (p.G29S). La mutation du codon de départ (p.M1I) peut conduire à l'abolition du site de démarrage de la traduction donc il est possible qu'un autre codon d'initiation puisse être utilisé, ce qui conduira à l'élimination du premier et une partie du deuxième domaine transmembranaire donc au mauvais fonctionnement de la

Résultats et discussion

protéine AQP2. La mutation (p.G29S) est localisée dans le premier domaine transmembranaire de l'AQP2, une mutation dans cette partie peut provoquer un mauvais repliement de la protéine et donc incapacité à se déplacer vers la membrane plasmique (Sahakitrungruang et al., 2008).

Deux autres variations polymorphiques du gène AQP2 ont été identifiées dans les familles chinoises responsables du NDI. Il s'agit de mutations ponctuelles à la position nucléotidique 170 (CAG à CCG ; Q57P) et à la position 299 (GGA à GTA ; G100V) dans l'exon 1 du gène AQP2 ce qui cause un mauvais acheminement de cette protéine (Lin et al., 2015).

Une analyse de séquençage réalisée par Ma et ses collègues en 2020 du gène AQP2 d'un patient présentant les symptômes de diabète insipide néphrogénique congénitale a permis de trouver une transition C > T conduisant à une mutation faux-sens T108M au niveau de l'exon 1 du gène AQP2. Cette variation de T108M peut entraîner des changements structurels secondaires, l'AQP2 du patient a sept régions transmembranaires au lieu de six. Ces découvertes impliquent que le résidu thréonine en position 108 est un site clé pour une AQP2 fonctionnel (Ma et al., 2020).

Une autre variante du gène AQP2 responsable de l'apparition du diabète insipide néphrogénique a pu être identifier, il s'agit d'une mutation homozygote à la position nucléotidique NM_000486.5 : c.374C> T (p.Thr125Met) dans l'exon 2, ce qui a entrainer une délétion exonique comprenant les exons 2, 3 et partiellement l'exon 4 de l'AQP2 (Fernández et al., 2019).

Une autre étude a été faite sur une famille consanguine atteinte d'un diabète insipide néphrogénique récessif qui a permis d'identifier la mutation C.211G>A dans le gène AQP2, c'est la première mutation de ce gène rapporté en Afrique du Nord. L'analyse du gène AQP2 chez les deux patients a montré une transition homozygote G vers A en position 211 dans l'exon 1 (C.211G>A), conduisant à une substitution de la valine par une méthionine au niveau de l'acide aminé 71 dans la deuxième boucle intracellulaire du canal d'eau de l'AQP2 (Lassoued et al., 2008).

- **Les SNP du gène AQP7 impliqués dans l'apparition du diabète**

Avec l'outil LitVar nous avons pu identifier au niveau du gène AQP7 deux SNPs (rs2989924 variant G et rs3758269), les deux situés au niveau d'un intron, ces deux SNPs ont fait l'objet d'une étude chinoise dirigée par Yijin Wang et ses collègues en 2018 qui ont confirmé

Résultats et discussion

l'implication de ces SNPs dans le diabète de type 2 dans la population de Han notamment chez les sujets âgés, en surpoids et ceux souffrant d'une obésité centrale (Wang et al., 2018).

- **Les SNP du gène AQP11 impliqués dans l'apparition du diabète**

Au niveau de l'AQP11 un seul SNP a été identifié (rs2276415) situé au niveau de l'exon 1 du gène AQP11 qui est une transition de G à A à la position nucléotidique 304 donc changement de l'acide aminé glycine qui deviendra serine ce qui conduira à la formation d'une AQP11 non fonctionnelle. Cette SNP a fait l'objet d'une étude chinoise dirigée par Han et ses collaborateurs en 2019 qui ont confirmé l'implication de cette SNP dans l'une des complications du diabète de type 2 qui est l'insuffisance rénale chronique. En effet quand une personne est atteinte du diabète de type 2 et possède cette SNP cela conduira à un stress au niveau du réticulum endoplasmique qui mènera à une lésion au niveau du tubule proximal donc on aura l'intervention de cytokines, des protéases de la matrice extracellulaire et des voies de réponse au stress ce qui augmentera le risque d'une insuffisance rénale chronique. De là on comprend que le rs2276415 est un facteur de risque candidat chez les personnes souffrant du diabète de type 2 (Han et al., 2019).

Conclusion

Conclusion

Le diabète est une maladie chronique qui survient lorsque le pancréas ne produit pas assez d'insuline ou lorsque l'organisme n'est pas capable d'utiliser efficacement l'insuline qu'il produit. Il en résulte une concentration accrue de glucose dans le sang (hyperglycémie).

Notre étude est faite sur les aquaporines les plus importantes qui sont impliquées dans l'apparition du diabète. Notre objectif de travail est l'étude du polymorphisme du gène aquaporine (AQP) chez les diabétiques en utilisant des outils bioinformatiques.

On a commencé notre étude par la recherche des différents SNPs des gènes aquaporines (AQP2, AQP7 et AQP11) par l'utilisation des outils bioinformatiques (Galaxy, Ensembl, UCSC, NCBI). Vu le nombre important d'SNPs existant, on a dû les trier et sélectionner seulement ceux qui sont impliqués dans l'apparition du diabète et ceci en utilisant l'outil « LitVar » qui a permis d'associer chaque « rs » avec le type de diabète qu'il peut provoquer.

Au total nous avons pu identifier 8 SNPs au niveau du gène AQP2 (rs1288385043, rs964170650, rs28931580, rs1468828294, rs149659001, rs104894333, rs750321982 et rs104894339), 2 SNPs au niveau du gène AQP7 (rs2989924 et rs3758269) et 1 SNP au niveau du gène AQP11 (rs2276415).

Nous avons aussi utilisé des publications récoltées dans le site bibliographique PubMed pour confirmer l'implication de ces SNP dans le diabète, plusieurs études ont été faites sur le polymorphisme de ces aquaporines et ont montré qu'il existe des polymorphismes dans ces gènes associés au diabète de type 2 et au diabète insipide néphrogénique.

L'importance de l'identification et de l'analyse de ces SNPs contribue à une meilleure compréhension de leurs rôles et leurs implications dans le diabète, ce qui ouvre une nouvelle porte vers le développement de nouvelles stratégies thérapeutiques.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

- Acharjee, S., Ghosh, B., Al-Dhubiab, B. E., & Nair, A. B. (2013). Understanding type 1 diabetes: Etiology and models. *Canadian Journal of Diabetes*, 37(4), 269-276. <https://doi.org/10.1016/j.jcjd.2013.05.001>
- Babey, M., Kopp, P., & Robertson, G. L. (2011). Familial forms of diabetes insipidus: Clinical and molecular characteristics. *Nature Reviews Endocrinology*, 7(12), 701-714. <https://doi.org/10.1038/nrendo.2011.100>
- Barandika, O., Ezquerro-Inchausti, M., Anasagasti, A., Vallejo-Illarramendi, A., Llarena, I., Bascaran, L., Alberdi, T., De Benedetti, G., Mendicute, J., & Ruiz-Ederra, J. (2016). Increased aquaporin 1 and 5 membrane expression in the lens epithelium of cataract patients. *Biochimica et Biophysica Acta - Molecular Basis of Disease*, 1862(10), 2015-2021. <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2016.08.001>
- Choma, D. P., Vanacore, R., Naylor, H., Zimmerman, I. A., Pavlichenko, A., Pavlichenko, A., Foye, L., Carbone, D. P., Harris, R. C., Dikov, M. M., & Tchekneva, E. E. (2016). Aquaporin 11 variant associates with kidney disease in type 2 diabetic patients. *American Journal of Physiology - Renal Physiology*, 310(5), F416-F425. <https://doi.org/10.1152/ajprenal.00295.2015>
- Collin de l'Hortet, G. (1979). Physiopathologie du diabète. *Soins; la revue de référence infirmière*, 24(4), 7-10. [https://doi.org/10.1016/s1773-035x\(18\)30145-x](https://doi.org/10.1016/s1773-035x(18)30145-x)
- Day, R. E., Kitchen, P., Owen, D. S., Bland, C., Marshall, L., Conner, A. C., Bill, R. M., & Conner, M. T. (2014). Human aquaporins: Regulators of transcellular water flow. *Biochimica et Biophysica Acta - General Subjects*, 1840(5), 1492-1506. <https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2013.09.033>
- Eddaikra.A. (2018). *Association entre le polymorphisme des enzymes antioxydantes et la physiopathologie du diabète type1 chez la population Algérienne.*
- Fernández, L., Afonso, S., Lapunzina, P., Selgas, R., Mena, R., Peces, C., Santos, F., & Nevado, J. (2019). *Severe congenital nephrogenic diabetes insipidus in a compound heterozygote with a new large deletion of the AQP2 gene . A case report. October 2018*, 1-8. <https://doi.org/10.1002/mgg3.568>
- Gorelick, D., Praetorius, J., Tsunenari, T., & Nielsen, S. (2006). Aquaporin- 11: a channel protein lacking apparent transport function expressed in brain (Vol. 7:14). *BMC Biochem.*
- Halimi, P. S. (2005). *Le diabète de type 2 ou diabète non insulino- dépendant (DNID) (223b). 2003*, 1-12.
- Han, B., Wu, X., Huang, P. P., Zhu, F. X., & Liu, S. (2019). Aquaporin 11 rs2276415 variant and progression of chronic kidney disease. *Nephrology Dialysis Transplantation*, 34(6), 970-973. <https://doi.org/10.1093/ndt/gfy219>
- Ishibashi, K. (2006). *Aquaporin superfamily with unusual NPA boxes: S-aquaporins (superfamily, sip-like and subcellular-aquaporins)* (Vol. 52:20—7). *Cell Mol Biol (Noisy-le-grand).*
- King, L. S., Kozono, D., & Agre, P. (2004). From structure to disease: The evolving tale of aquaporin biology. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 5(9), 687-698.

Références bibliographiques

<https://doi.org/10.1038/nrm1469>

Köhler Ballan, B., Hernandez, A., Gonzalez Rodriguez, E., & Meyer, P. (2012). Diabète insipide central: Diagnostic et prise en charge. *Revue Medicale Suisse*, 8(362), 2158-2164.

Lassoued, M. B. E. N., Miled, N., Zouari, S., & Ayadi, H. (2008). *Characterization of V71M mutation in the aquaporin-2 gene causing nephrogenic diabetes insipidus*. 87(3), 279-282.

Li, W., Huang, E., & Gao, S. (2017). Type 1 Diabetes Mellitus and Cognitive Impairments: A Systematic Review. *Journal of Alzheimer's Disease*, 57(1), 29-36. <https://doi.org/10.3233/JAD-161250>

Liberatore, R. D., Carneiro, J. G., Leidenz, F. B., Melilo-Carolino, R., Sarubi, H. C., & de Marco, L. (2012). Novel compound aquaporin 2 mutations in nephrogenic diabetes insipidus. *Clinics*, 67(1), 79-82. [https://doi.org/10.6061/clinics/2012\(01\)13](https://doi.org/10.6061/clinics/2012(01)13)

Lin, S., Bichet, D. G., Sasaki, S. E. I., Kuwahara, M., Arthus, M., Lonergan, M., & Lin, Y. (2015). *Two Novel Aquaporin-2 Mutations Responsible for Congenital Nephrogenic Diabetes Insipidus in Chinese Families*. 87(November), 2694-2700.

Lu, M., Lee, M. D., Smith, B. L., Jung, J. I. N. S. U. P., Agre, P., Verdijk, M. A. J., Merckx, G., Rijss, J. P. L., & Deen, P. M. T. (1996). *The human AQP4 gene : Definition of the locus encoding two water channel polypeptides in brain*. 93(October), 10908-10912.

Ma, L., Wu, D., Wang, X., & Yang, Y. (2020). A Case of Congenital Nephrogenic Diabetes Insipidus Caused by Thr108Met Variant of Aquaporin 2. *Frontiers in Pediatrics*, 8(January), 1-7. <https://doi.org/10.3389/fped.2020.00015>

Matar, J. (2014). *Caractérisation biochimique et fonctionnelle du mutant T179N de l ' aquaporine-2 humaine Par*.

Moeller, H. B., Rittig, S., & Fenton, R. A. (2013). Nephrogenic diabetes insipidus: Essential insights into the molecular background and potential therapies for treatment. *Endocrine Reviews*, 34(2), 278-301. <https://doi.org/10.1210/er.2012-1044>

Morello, J., & Bichet, D. G. (2001). Nephrogenic diabetes insipidus. *Annual Review of Physiology*, 63(1), 607-630.

Morin, D., & Barberis, C. (2000). *Mise au point Génétique du diabète insipide. IV*, 224-230.

Papadopoulos, M. C., & Saadoun, S. (2015). Key roles of aquaporins in tumor biology. *Biochimica et Biophysica Acta - Biomembranes*, 1848(10), 2576-2583. <https://doi.org/10.1016/j.bbamem.2014.09.001>

Peter, P., & Les, A. (2005). *des aquaporines dans le cerveau. 21*.

Pietrement, C., & Cle, M. (2008). *ésentes dans le rein Les aquaporines pre Aquaporins in the kidney*. 562-567. <https://doi.org/10.1016/j.nephro.2008.03.009>

Ripoche, P. (1996). *et maladies H istoires d ' aquapOrines : des canaux qui font couler beaucoup d ' eau*. 787-794.

Sahakitrungruang, T., Wacharasindhu, S., Sinthuwiwat, T., Supornsilchai, V., Suphapeetiporn, K., & Shotelersuk, V. (2008). Identification of two novel aquaporin-2

Références bibliographiques

mutations in a Thai girl with congenital nephrogenic diabetes insipidus. *Endocrine*, 33(2), 210-214. <https://doi.org/10.1007/s12020-008-9074-x>

Schey, K. L., Wang, Z., L. Wenke, J., & Qi, Y. (2014). Aquaporins in the eye: Expression, function, and roles in ocular disease. *Biochimica et Biophysica Acta - General Subjects*, 1840(5), 1513-1523. <https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2013.10.037>

Sjöhamn, J., & Hedfalk, K. (2014). Unraveling aquaporin interaction partners. *Biochimica et Biophysica Acta - General Subjects*, 1840(5), 1614-1623. <https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2013.11.012>

Tran, T. L., Bek, T., la Cour, M., Nielsen, S., Prause, J. U., Hamann, S., & Heegaard, S. (2014). Altered aquaporin expression in glaucoma eyes. *Apmis*, 122(9), 772-780. <https://doi.org/10.1111/apm.12225>

Vaxillaire, M., & Froguel, P. (2003). *Dossier Diabète Facteurs génétiques et gènes candidats Diabète. Vii*, 252-262.

Verkman, A. S. (2013). Aquaporins. *Current Biology*, 23(2), 52-55. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2012.11.025>

Verkman, A. S., Ruiz-Ederra, J., & Levin, M. H. (2008). Functions of aquaporins in the eye. *Progress in Retinal and Eye Research*, 27(4), 420-433. <https://doi.org/10.1016/j.preteyeres.2008.04.001>

Wang, Y., Chen, G., Tu, Q., Wu, J., Qin, Y., Zhu, Z., Shen, Y., Yan, L., Han, A., Xiang, Q., & Wang, C. (2018). Associations between Aquaglyceroporin Gene Polymorphisms and Risk of Type 2 Diabetes Mellitus. *BioMed Research International*, 2018. <https://doi.org/10.1155/2018/8167538>

Yang, B. (2017). LIBRO: Aquaporins. In *Advances in Experimental Medicine and Biology* (Vol. 969). <https://doi.org/10.1007/978-94-024-1057-0>

Zardoya, R. (2005). *phylogeny and evolution of the major intrinsic protein family* (Vol. 97: 397-414). bio cell.

Annexes

Annexes 1

Les séquences nucléotidiques :

- **AQP2:** >NC_000012.12 :49950737-49958878 Homo sapiens chromosome 12, GRCh38.p13 Primary Assembly
- **AQP7:** >NC_000009.12 :c33402682-33383135 Homo sapiens chromosome 9, GRCh38.p13 Primary Assembly
- **AQP11:** >NC_000011.10 :77589635-77610356 Homo sapiens chromosome 11, GRCh38.p13 Primary Assembly

Annexes

Annexe 2

Information complémentaire trouvés sur la plateforme Varsome sur les SNP impliqués dans le diabète

Gène	Chromosome	Nombre de pb	Nombre d'exon	Rs ID	Position	Séquence REF	Séquence ALT	HGVS	La partie touchée
AQP2	12	8141 pb	4	rs750321982	50349272	C	G	(NM_000486.6):c.697C>G (p.Arg233Gly)	Exon 4
						C	T	(NM_000486.6):c.697C>T (p.Arg233Cys)	
				rs1288385043	50344616	G	A	(NM_000486.6):c.3G>A (p.Met1Ile)	Exon 1
						G	T	(NM_000486.6):c.3G>T (p.Met1Ile)	
				rs964170650	50344698	G	A	(NM_000486.6):c.85G>A (p.Gly29Ser)	Exon 1
				rs28931580	50344783	A	C	(NM_000486.6):c.170A>C (p.Gln57Pro)	Exon 1
				rs1468828294	50344936	C	T	(NM_000486.6):c.323C>T (p.Thr108Met)	Exon 1
				rs104894339	50349360	C	G	(NM_000486.6):c.785C>G (p.Pro262Arg)	Exon 4
						C	T	(NM_000486.6):c.785C>T (p.Pro262Leu)	
				rs104894333	50347951	C	T	(NM_000486.6):c.374C>T (p.Thr125Met)	Exon 2
				rs149659001	50344824	G	A	(NM_000486.6):c.211G>A (p.Val71Met)	Exon 1
						G	C	(NM_000486.6):c.211G>C (p.Val71Leu)	
AQP7	9	19547 pb	10	rs3758269	33403640	G	A	_____	Intron
				rs2989924	33403470	T	A	_____	Intron
AQP11	11	20721 pb	3	rs2276415	77301341	G	A	(NM_173039.3):c.304G>A (p.Gly102Ser)	Exon 1

Annexe 03

Les étapes d'interrogation de la base de données NCBI (Exemple : AQP2)

The screenshot shows the NCBI homepage with a search bar at the top. A red arrow points to the search bar. Below the search bar, there is a 'Welcome to NCBI' section with several icons: 'Submit', 'Download', 'Learn', 'Develop', 'Analyze', and 'Research'. On the right side, there is a 'Popular Resources' list including PubMed, Bookshelf, and BLAST. At the bottom right, there is a 'NCBI News & Blog' section with recent news items.

The screenshot shows the search results for 'AQP2'. A red arrow points to the search bar containing 'AQP2'. Below the search bar, it says 'Results found in 23 databases'. The main result is 'AQP2 - aquaporin 2' from Homo sapiens (human). Below this, there are buttons for 'Orthologs', 'Genome Browser', 'BLAST', and 'Download'. There are also sections for 'RefSeq Sequences', 'Literature', 'Genes', and 'Proteins'. A red arrow points to the 'Genes' section, which shows 413 genes. Other sections include 'Bookshelf' (37), 'MeSH' (4), 'NLM Catalog' (0), 'PubMed' (1,687), 'PubMed Central' (2,799), 'Conserved Domains' (0), 'Identical Protein Groups' (298), 'Protein' (541), 'Protein Clusters' (0), and 'Sparcle' (0).

The screenshot shows the search results table for 'AQP2'. A red arrow points to the first row, which is highlighted. The table has columns for 'Name/Gene ID', 'Description', 'Location', 'Aliases', and 'MIM'. The first row is for 'AQP2' (ID: 359) in Homo sapiens (human), located on Chromosome 12. Other rows show 'Aqp2' in Rattus norvegicus (Norway rat), Mus musculus (house mouse), and Canis lupus familiaris (dog). On the right side, there is a search box with 'AQP2[All Fields] AND alive[prop]' and a 'Search' button. Below that, there is a 'Recent activity' section with a search for 'AQP2 AND (alive[prop]) (413)' and 'SNP Links for Gene (Select 359) (2556)'. A red arrow points to the search box.

Name/Gene ID	Description	Location	Aliases	MIM
<input type="checkbox"/> AQP2 ID: 359	aquaporin 2 [Homo sapiens (human)]	Chromosome 12, NC_000012.12 (49950737..49958878)	AQP-CD, WCH-CD	107777
<input type="checkbox"/> Aqp2 ID: 25386	aquaporin 2 [Rattus norvegicus (Norway rat)]	Chromosome 7, NC_005106.4 (141237802..141242837)	AQP-2, aquaporin-2	
<input type="checkbox"/> Aqp2 ID: 11827	aquaporin 2 [Mus musculus (house mouse)]	Chromosome 15, NC_000081.7 (99476937..99482426)	AQP-CD, WCH-CD, cph, jpk	
<input type="checkbox"/> AQP2 ID: 486552	aquaporin 2 [Canis lupus familiaris (dog)]	Chromosome 27, NC_006609.3 (4743127..4750907, complement)	AQP-2, AQP-CD, WCH-CD	

Annexes

AQP2 aquaporin 2 [*Homo sapiens* (human)]

Gene ID: 359, updated on 22-Aug-2020

Summary

Official Symbol AQP2 provided by [HGNC](#)
Official Full Name aquaporin 2 provided by [HGNC](#)
Primary source [HGNC:HGNC:634](#)
See related [Ensembl:ENSG00000167580](#) [MIM:107777](#)
Gene type protein coding
RefSeq status REVIEWED
Organism [Homo sapiens](#)
Lineage Eukaryota; Metazoa; Chordata; Craniata; Vertebrata; Euteleostomi; Mammalia; Eutheria; Euarchontoglires; Primates; Haplorhini; Catarrhini; Hominidae; Homo
Also known as AQP-CD; WCH-CD
Summary This gene encodes a water channel protein located in the kidney collecting tubule. It belongs to the MIP/aquaporin family, some members of which are clustered together on chromosome 12q13. Mutations in this gene have been linked to autosomal dominant and recessive forms of nephrogenic diabetes insipidus. [provided by RefSeq, Oct 2008]
Expression Restricted expression toward kidney (RPKM 245.3) [See more](#)
Orthologs [mouse](#) [all](#)

Genomic context

Location: 12q13.12

[See AQP2 in Genome Data Viewer](#)

Exon count: 4

Annotation release	Status	Assembly	Chr	Location
109.20200815	current	GRCh38.p13 (GCF_000001405.39)	12	NC_000012.12 (49950737..49958878)
105	previous assembly	GRCh37.p13 (GCF_000001405.25)	12	NC_000012.11 (50344524..50352664)

Expression

HPA RNA-seq normal tissues

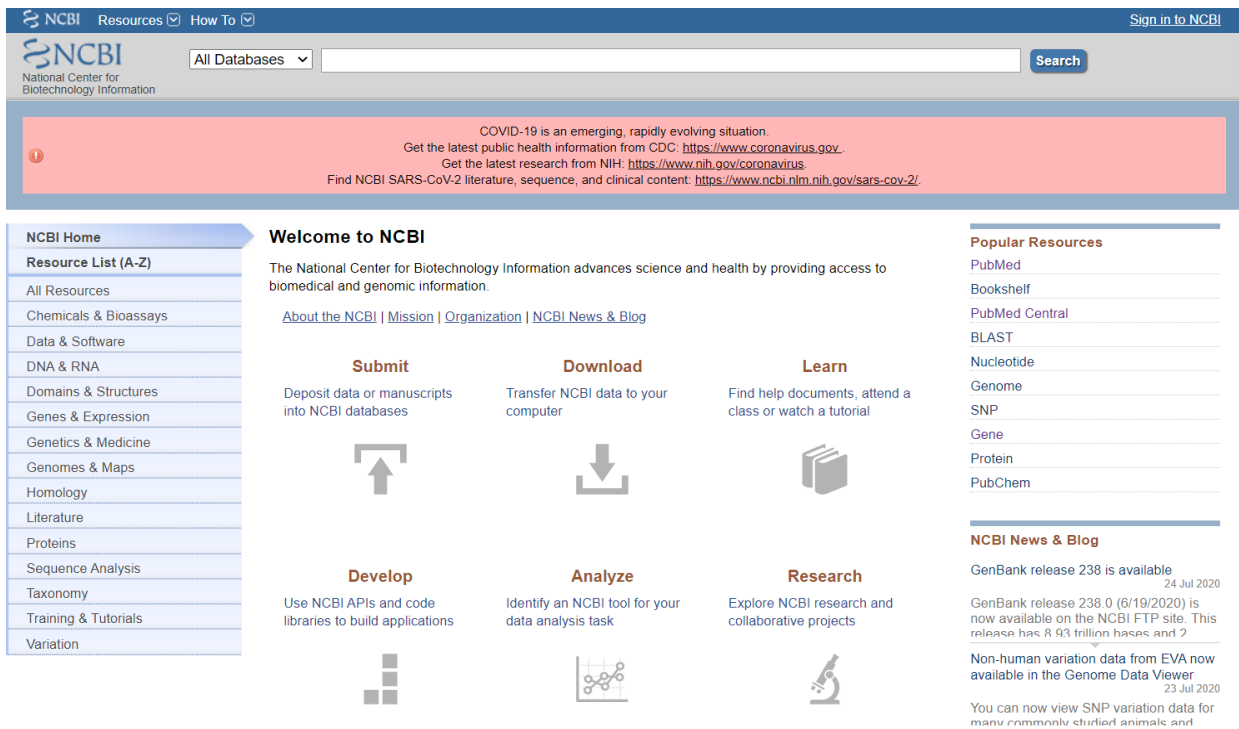
- Project title: HPA RNA-seq normal tissues
- Description: RNA-seq was performed of tissue samples from 95 human individuals representing 27 different tissues in order to determine tissue-specificity of all protein-coding genes
- BioProject: [PRJEB4337](#)
- Publication: [PMID:24306638](#)
- Analysis date: Wed Apr 4 07:08:55 2018

See details

- Related gene-specific medical variations
- SNP
- SNP GeneView
- Taxonomy
- Variation Viewer

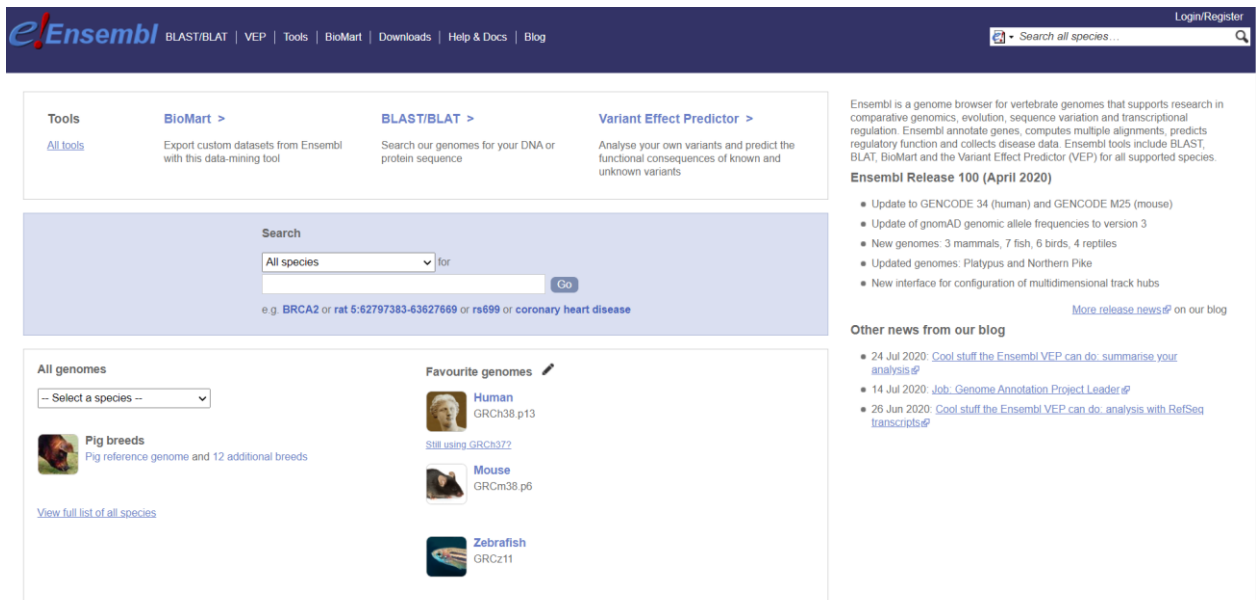
Annexes

Annexe 4



The screenshot shows the NCBI homepage with a navigation bar at the top containing 'NCBI Resources' and 'How To'. A search bar is prominently displayed. A red banner at the top provides COVID-19 information. The main content area is divided into three columns: a left sidebar with a 'Resource List (A-Z)' menu, a central 'Welcome to NCBI' section with icons for 'Submit', 'Download', 'Learn', 'Develop', 'Analyze', and 'Research', and a right sidebar with 'Popular Resources' and 'NCBI News & Blog' sections.

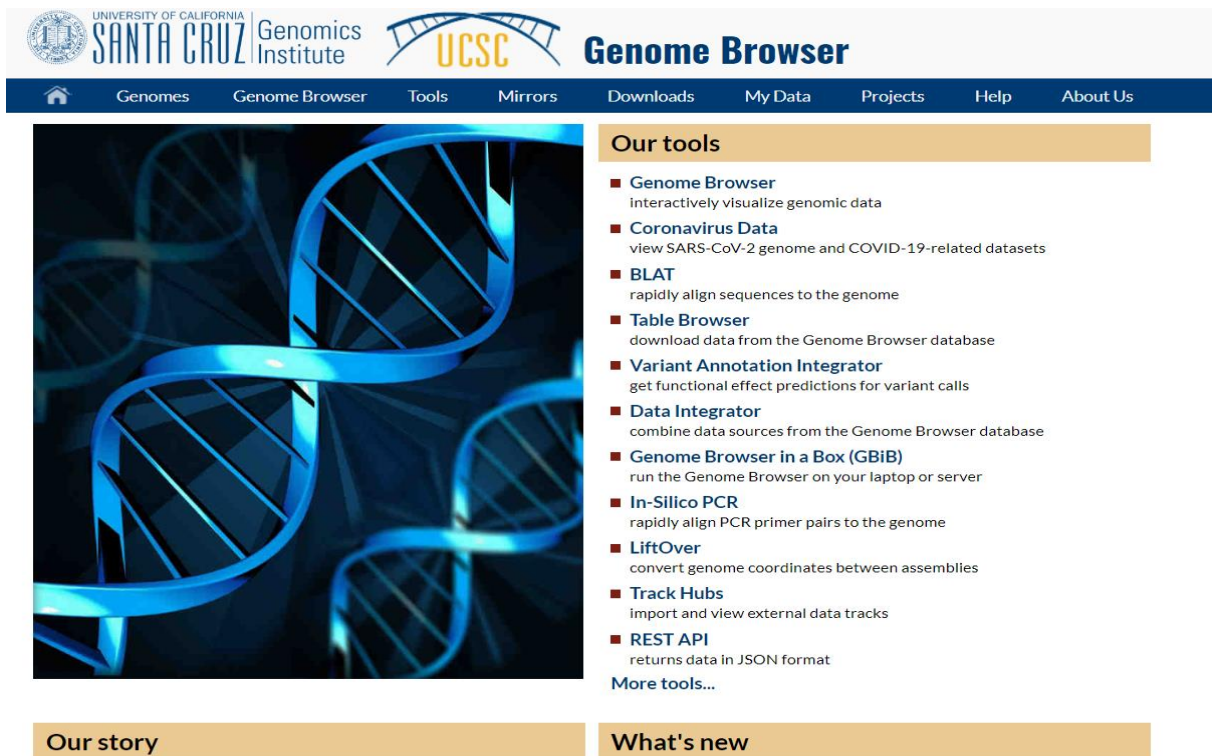
Page d'accueil de NCBI



The screenshot displays the Ensembl genome browser homepage. It features a top navigation bar with links for 'BLAST/BLAT', 'VEP', 'Tools', 'BioMart', 'Downloads', 'Help & Docs', and 'Blog'. A search bar is located in the top right. The main content area includes a 'Tools' section with links to 'BioMart', 'BLAST/BLAT', and 'Variant Effect Predictor'. Below this is a search interface for species and genomic coordinates. The 'All genomes' section lists various species, including 'Pig breeds', 'Human', 'Mouse', and 'Zebrafish'. A 'Favourite genomes' section highlights 'Human', 'Mouse', and 'Zebrafish'. The right sidebar contains news updates and a 'More release news' link.

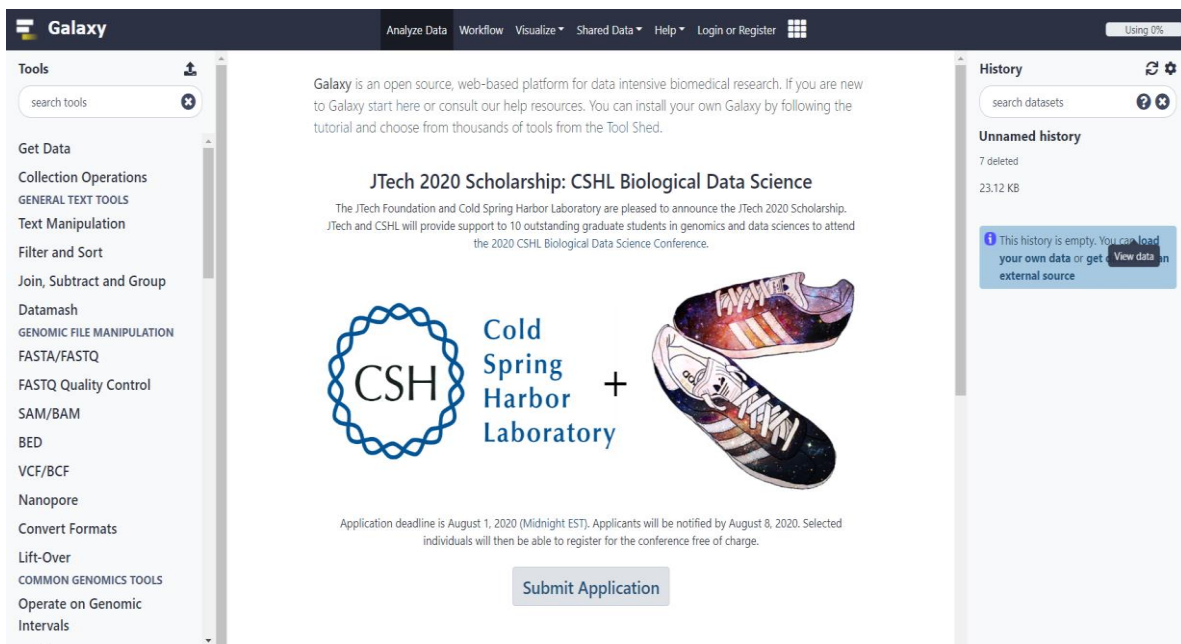
Page d'accueil de l'outil Ensembl

Annexes



The screenshot shows the UCSC Genome Browser homepage. At the top, there are logos for the University of California Santa Cruz Genomics Institute and UCSC. The main navigation bar includes links for Genomes, Genome Browser, Tools, Mirrors, Downloads, My Data, Projects, Help, and About Us. A large image of a DNA double helix is on the left. The 'Our tools' section lists various utilities like Genome Browser, Coronavirus Data, BLAT, Table Browser, Variant Annotation Integrator, Data Integrator, Genome Browser in a Box (GBiB), In-Silico PCR, LiftOver, Track Hubs, and REST API. Below this are sections for 'Our story' and 'What's new'.


Page d'accueil d'UCSC



The screenshot displays the Galaxy bioinformatics platform interface. The top navigation bar includes 'Galaxy' and options like 'Analyze Data', 'Workflow', 'Visualize', 'Shared Data', 'Help', 'Login or Register', and 'Using 0%'. A left sidebar contains a 'Tools' section with a search bar and categories such as 'Get Data', 'Collection Operations', 'Text Manipulation', 'Filter and Sort', 'Join, Subtract and Group', 'Datamash', 'Genomic File Manipulation', 'FASTA/FASTQ', 'FASTQ Quality Control', 'SAM/BAM', 'BED', 'VCF/BCF', 'Nanopore', 'Convert Formats', and 'Lift-Over'. The main content area features an announcement for the 'JTech 2020 Scholarship: CSHL Biological Data Science' from Cold Spring Harbor Laboratory, including a 'Submit Application' button. A right sidebar shows a 'History' section with a search bar and a message: 'This history is empty. You can load your own data or get external source'.

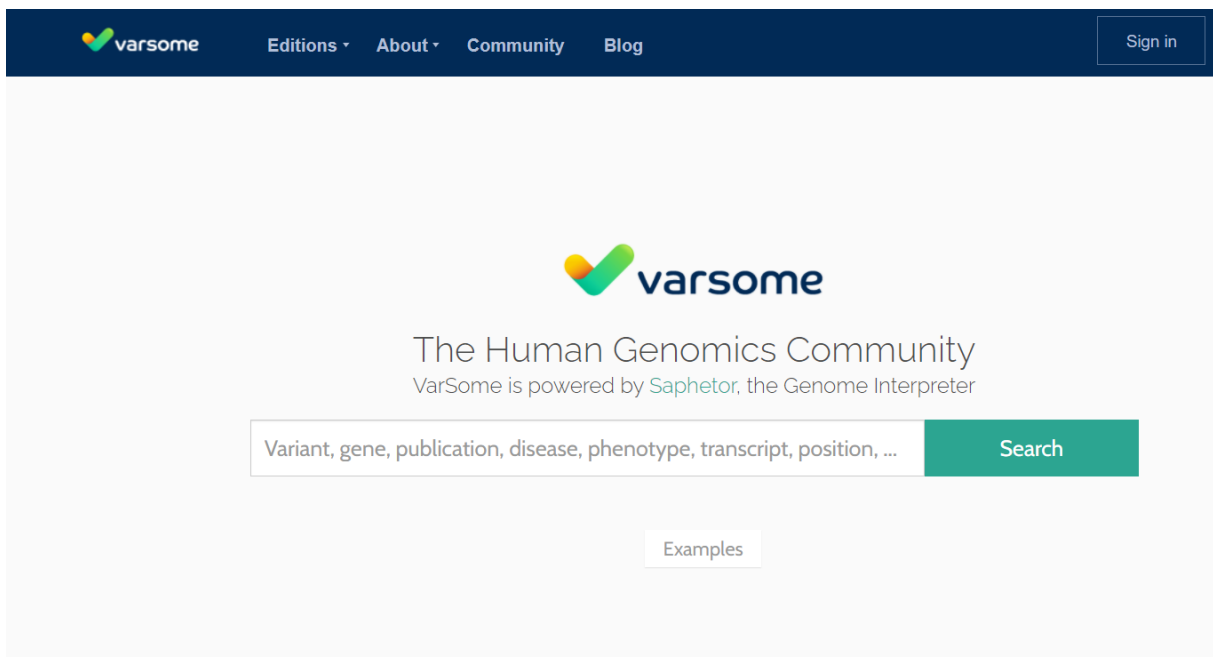
Plateforme de travail Galaxy

Annexes



The screenshot shows the LitVar homepage. At the top, there is a blue header with the NIH logo and text: "U.S. National Library of Medicine National Center for Biotechnology Information". On the right side of the header, there are links for "API" and "TUTORIAL". The main content area features the LitVar logo, which consists of a stylized blue and red icon followed by the text "LitVar". Below the logo is a search input field containing the text "Ex: BRAF V600E". Underneath the search field, there is a line of text: "Try: A146T, c.436G>A, rs121913527 or CFHR1210C". At the bottom of the page, there is a paragraph of text: "LitVar [1] allows the search and retrieval of variant relevant information from the biomedical literature and shows key biological relations between a variant and its close related entities (e.g. genes, diseases, and drugs). The LitVar results are automatically extracted (with regular updates) from over 30 million PubMed articles as well as applicable".

Page d'accueil de LitVar



The screenshot shows the Varsome homepage. At the top, there is a dark blue header with the Varsome logo and text: "Varsome Editions About Community Blog". On the right side of the header, there is a "Sign in" button. The main content area features the Varsome logo, which consists of a stylized green and yellow icon followed by the text "Varsome". Below the logo, there is a heading: "The Human Genomics Community" and a sub-heading: "VarSome is powered by Saphetor, the Genome Interpreter". Below this, there is a search input field containing the text "Variant, gene, publication, disease, phenotype, transcript, position, ..." and a green "Search" button. At the bottom of the page, there is a button labeled "Examples".

Page d'accueil de Varsome