

Stratégie d'identification de gènes candidats de transmission autosomique récessif par l'étude des régions d'homozygotie

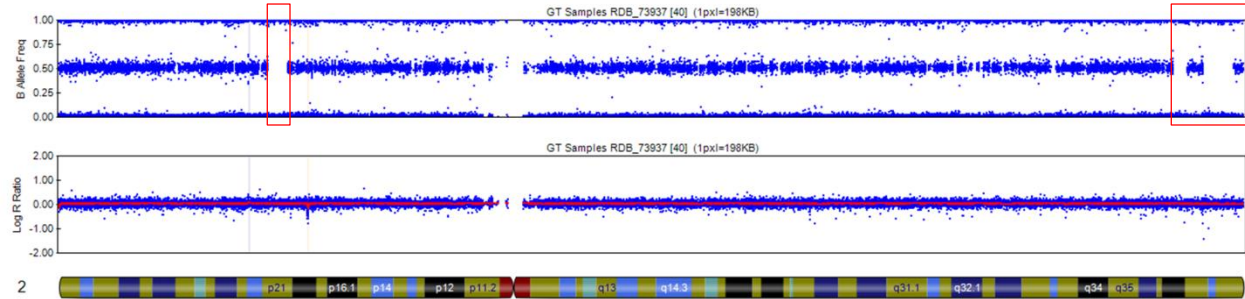
Echecs, succès et perspectives

Jonathan Lévy

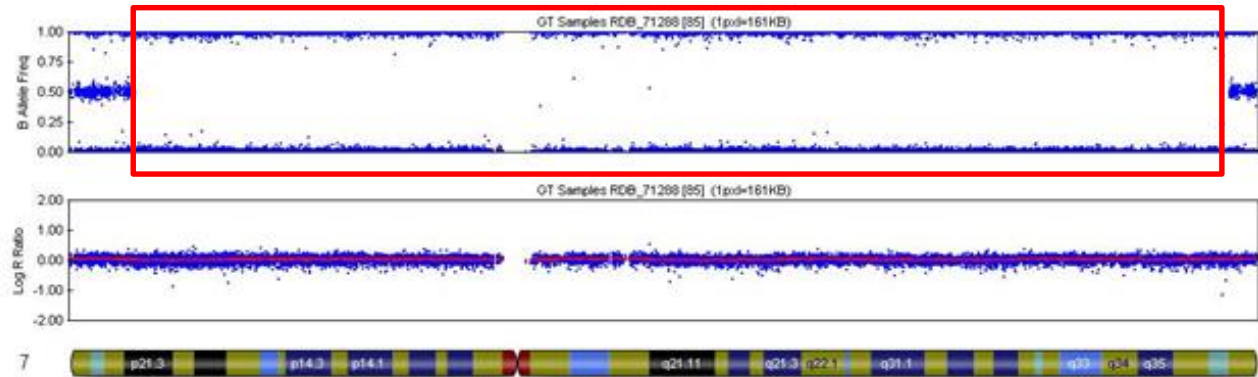
Rappels

SNP array : puces de génotypage, permet d'identifier des CNV et des RoHs

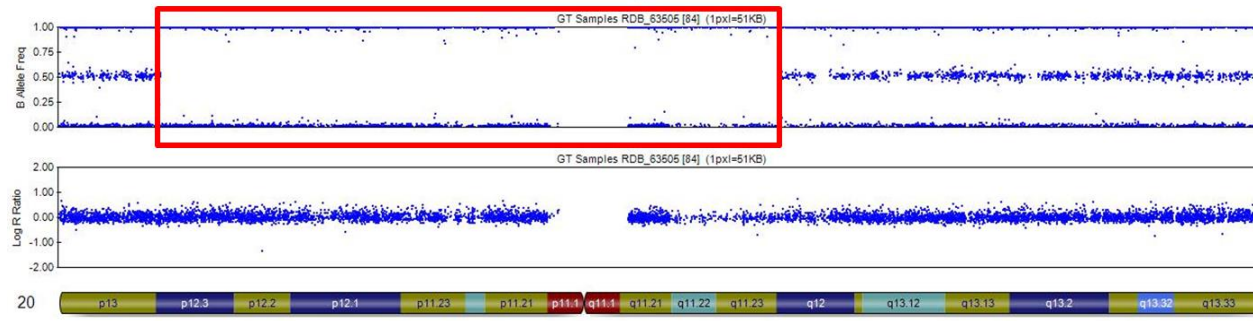
*homozygotie
ancestrale*



*disomie
uniparentale*



*consanguinité
parentale*



Quels outils ?

Analyse d'environ 170 patients **simple** ou **multiplex**, phénotypes variés sans CNV causal retrouvé

1- Logiciel Genome Studio (CytoSNP12 & OmniExpress24 ,Illumina)

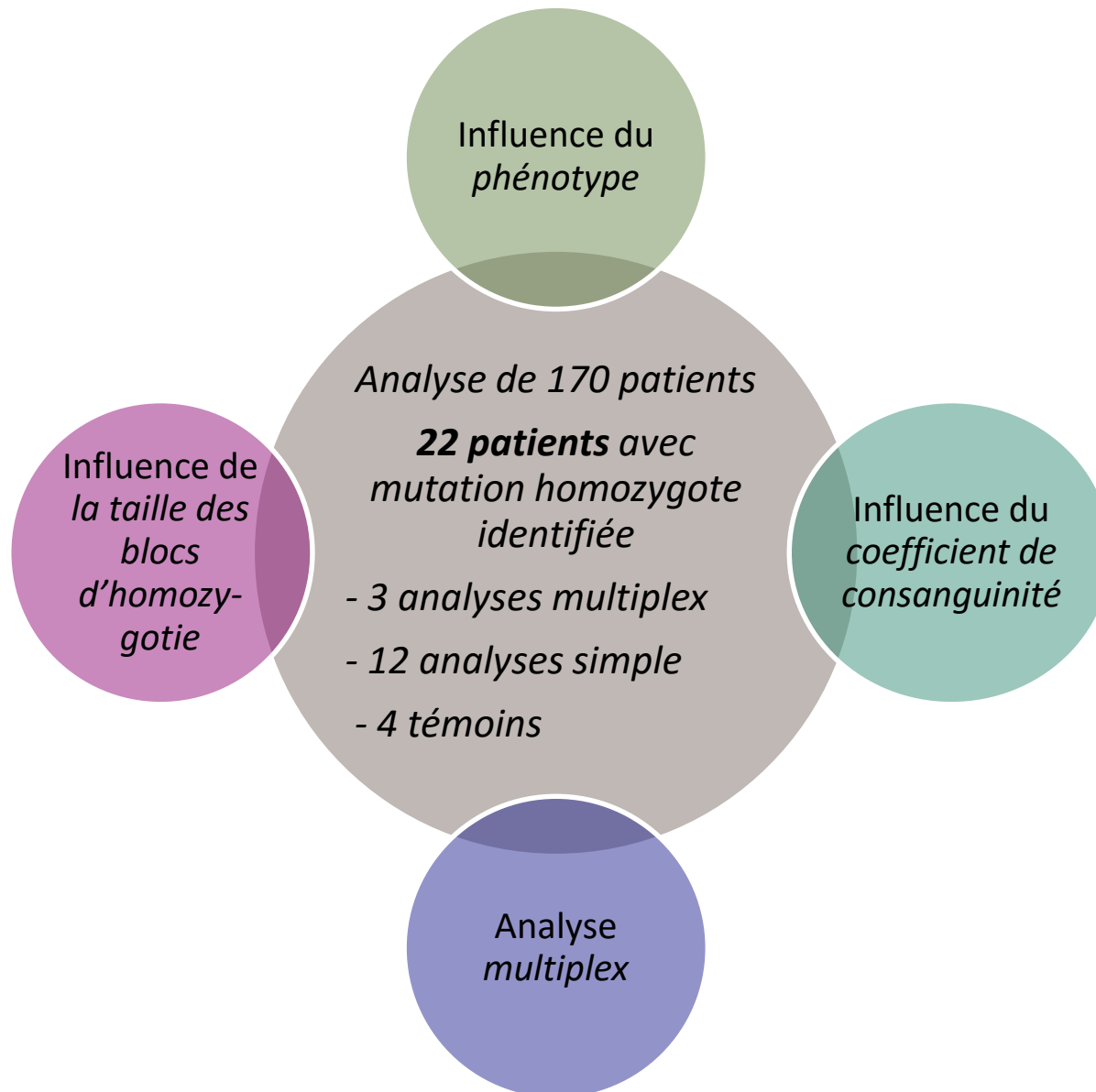
CNV partition 3.2 : Extraction des ROHs par l'algorithme

2- Genomic Oligoarray and SNP array evaluation tool v3.0

http://firefly.ccs.miami.edu/cgi-bin/ROH/ROH_analysis_tool.cgi

- ✓ Interprétation et analyse des ROHs
 - ✓ Estimation du coefficient de consanguinité en f° de la taille des ROHs totales > 5 Mb
 - ✓ Analyse de toutes les ROHs > 1 Mb
 - ✓ Gènes candidats établis selon les critères cliniques (corrélation génotype-phénotype)

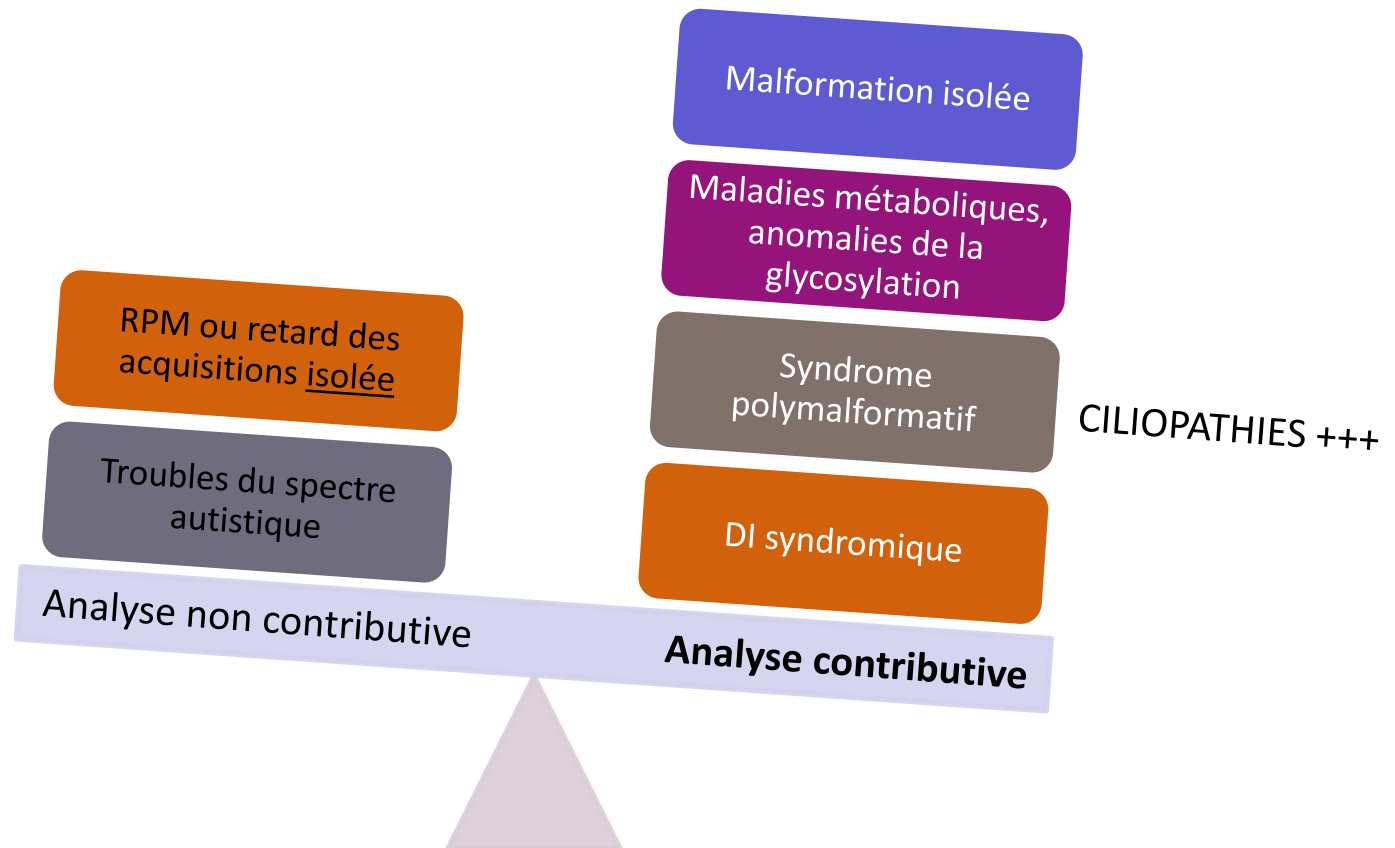
Résultats



1. Influence du phénotype

Phénotype non spécifique

Phénotype spécifique



2. Influence de la taille des blocs d'homozygotie

Notre série

- 22 patients
- Gène identifié **dans des RoHS comprises entre 7 et 56 Mb**
- En moyenne, bloc d'homozygotie d'environ **21,6 Mb**

Wang et al., 2015

- 9 patients
- Gène identifié **dans des RoHS comprises entre 7 et 54 Mb**
- En moyenne, bloc d'homozygotie d'environ **25 Mb**

*Wierenga et al.,
2013*

- 7 patients
- Gène identifié **dans des RoHS comprises entre 10,7 et 33 Mb**
- En moyenne, bloc d'homozygotie d'environ **17,5 Mb**

Mutations retrouvées dans des blocs d'homozygotie > 7 Mb

3. Influence du coefficient de consanguinité

- Patient de 14 ans, dysplasie mandibuloacrurale type B,
Couple non apparenté, issus de la tribu Bushinengué
- ✓ ROH totale : **27 Mb** (*cousin germains env. 180 Mb*)
 - ✓ Deux blocs d'homozygotie (21 Mb et 6 Mb)
 - ✓ Mutation homozygote **ZMPSTE24** (21 Mb)



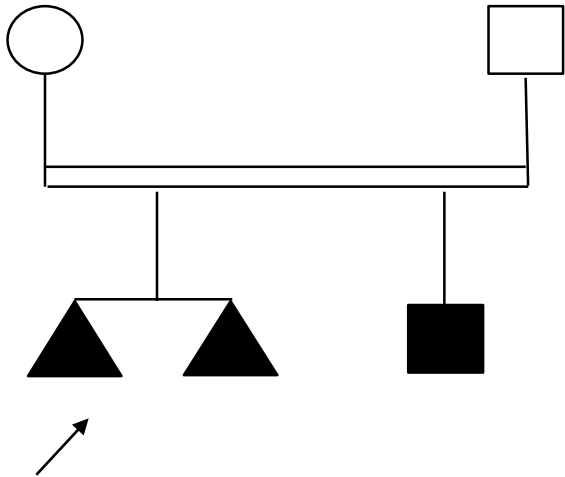
Dans le cadre d'une consanguinité éloignée ou de population endogame

Analyser toutes les régions d'homozygoties > 1Mb

Mutation retrouvée dans un **bloc d'homozygotie de 1,5 Mb**
(*Pajusalu et al., 2015*)

Analyse quelque soit le degré de consanguinité (éloignée, populations endogames...)

4. Analyse multiplex : 1^{ère} famille



hypoplasie rénale,
cardiopathie (CIV),
RCIU, anomalies des
CSC, ACC

Etude des ROH

- ✓ ROH totale **147 Mb**
- ✓ Pas de gènes évident

RCIU, microcéphalie,
atrésie duodénale,
cryptorchidie,
hypoplasie rénale,
anomalies des CSC,
ACC, thrombopénie

Etude des ROH

- ✓ ROH totale **135 Mb**
- ✓ Pas de gènes évident

CARTOGRAPHIE D'HOMOZYGOTIE (32 Mb)

Etudes ROH communes chez le fœtus et l'enfant atteint

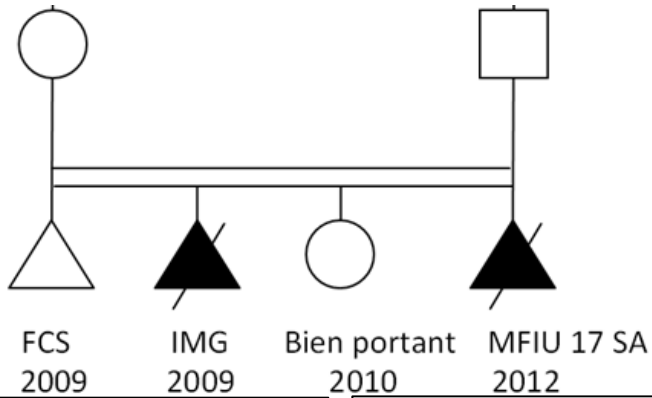
24 gènes de TAR sur 32 Mb de génome à analyser

Gène **FREM2** impliqué dans le syndrome de Fraser présent dans un bloc d'homozygotie d'environ 8,3 Mb

Réexamen de l'enfant et du fœtus : anomalies ophtalmologiques +++



petites fentes palpébrales avec hypertélorisme



ptérygyums multiples, akinésie fœtale, anomalies des oreilles, cardiopathie congénitale

Etude des ROH

✓ ROH totale **364 Mb**

ptérygyums multiples, akinésie fœtale, anomalies des oreilles, cardiopathie congénitale

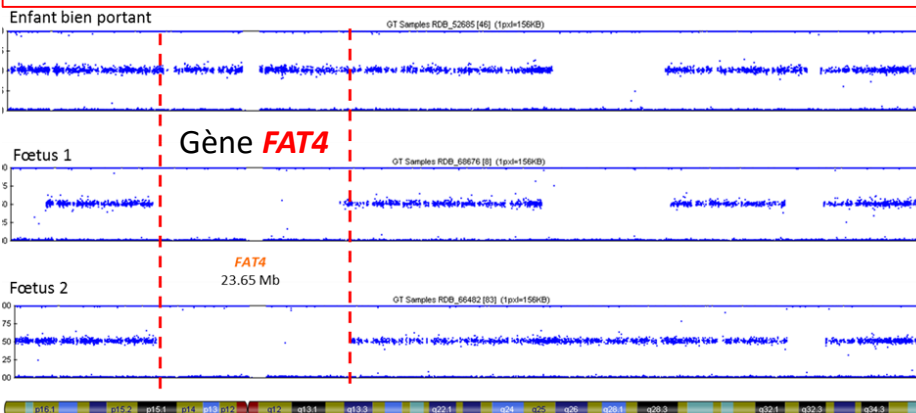
Etude des ROH

✓ ROH totale **398 Mb**

Séquençage des gènes impliqués dans la myasthénie : négatif

CARTOGRAPHIE D'HOMOZYGOTIE (69 Mb)

Etudes ROH communes chez les fœtus et ≠ l'enfant BP



SIMPLIFICATION DE L'ANALYSE DE L'EXOME

Analyse restreinte à la **cartographie d'homozygotie 2875 Mb VS 69 Mb ! Soit 2,4%**

FAT4

mutation faux-sens

✓ Impliquée dans le syndrome de *syndrome de Van Maldergem*

✓ Logiciel de prédiction : **bénigne**

ERBB3

mutation faux-sens et mutation d'un site d'épissage

✓ Impliqué dans le *syndrome léthal de contracture congénitale de type II (LCSS2)*

✓ Logiciel de prédiction : deux mutations **pathogènes**

✓ *ERBB3* situé dans un bloc d'homozygotie de 28,6 Mb

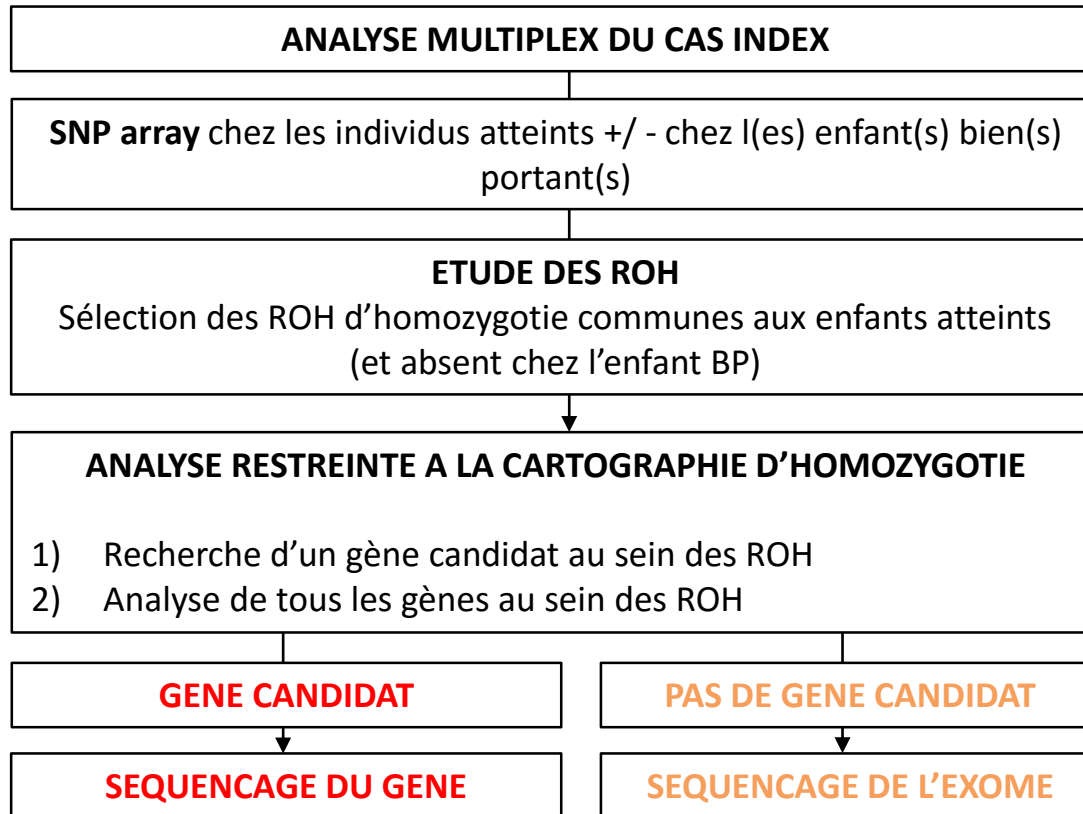
LIMITE DE L'ANALYSE DES ROH

✓ Données de la littérature sur le phénotype (deux familles), absence d'anomalies des oreilles

✓ Analyse des ROH trop stricte

2^e famille

5. Stratégie d'étude des ROH couplée au séquençage de l'exome



Au sein des RoHs +++

1. Etude des gènes de transmission autosomique récessive décrits
2. Hypothèse d'un gène de transmission autosomique récessive non décrit

En dehors des RoHs

3. Etudes de tous les variants +++ (AD, AR, lié à l'X)

Conclusion : L'étude des régions d'homozygotie

Quels phénotypes ?

- **Phénotype spécifique / syndromique** proposer des gènes candidats
- **Phénotype non spécifique** extraire et conserver le fichier pour des études ultérieures

Qu'est ce qu'un bon gène candidat?

- **Phénotype** spécifique ou syndromique
- **Bloc d'homozygotie > 7 Mb**
- **Cartographie d'homozygotie** concordante
- Pas d'influence du coefficient de consanguinité

Comment optimiser l'analyse ?

- **Etude multiplex par cartographie d'homozygotie** restreint les ROH à analyser
- **Séquençage de l'exome / NGS** Facilite l'analyse à moindre coût

PIEGES : ANALYSE BASÉE SUR LES DONNÉES DE LA LITTÉRATURE AU TEMPS t

1. Analyse « trop stricte » des données de la littérature
2. Ré-analyser les régions d'homozygotie (91 gènes (2014) → 121 gènes (2016) avec le gène muté décrit)

Remerciements

AP-HP, UF de Cytogénétique

Hôpital Robert Debré

Dr Anne-Claude Tabet

Dr Céline Dupont

Dr Aicha Boughalem

Marielle Bajal

Adeline Thaly

Les techniciennes

AP-HP, UF de Génétique clinique

Hôpital Robert Debré

Dr Damien Haye

Dr Yline Capri

Dr Sandrine Passemard

Dr Laurence Perrin

Dr Clarisse Baumann

Pr Alain Verloes

AP-HP, UF de Foetopathologie

Hôpital Robert Debré

Dr Fabien Guimiot

Pr Brigitte Benzacken

AP-HP, UF de Cytogénétique

Hôpital Jean Verdier

Dr Eva Pipiras

Pr Brigitte Benzacken

Dr Marine Durand

AP-HP, UF de Cytogénétique

Hôpital Pitié Salpêtrière

Dr Boris Keren

Les techniciennes

