

AOR "Assistance médicale à la procréation, Médecine Fœtale et Diagnostic génétique"

Résumés et résultats

2006 - 2026

Cliquer sur les titres pour accéder au détail des projets

Nom et institution	Titre	Année AOR
MORNET Etienne - Laboratoire SESEP - CH Versailles	Développement d'un outil statistique de prédiction des conséquences des mutations du gène de l'hypophosphatasie pour l'aide au diagnostic	2007
DOCO-FENZY Martine - ACLF	Extension d'une plate-forme informatique sécurisée pour la gestion du contrôle de qualité externe rétrospectif et prospectif en cytogénétique (EPICQE)	2008
VEKEMANS Michel - Necker - APHP	Etude de patients présentant une avance staturale syndromique par hybridation comparative sur puce à ADN	2008
GERARD Bénédicte - Robert Debré -APHP	Défauts de fermeture du tube neural : recherche d'un déficit en donneurs de méthyle par biochimie et biologie moléculaire	2009
LAINE Agnès - ALLT Etude et recherche	Les choix des personnes et couples à risque face aux tests génétiques et à l'intervention sur le vivant : le cas de la drépanocytose	2009
STERNBERG Damien - Pitié-Salpêtrière - APHP	Dépistage génétique des dysfonctions de la jonction neuromusculaire dans les syndromes d'akinésie fœtale	2009
NETCHINE Irène - INSERM U938 - Armand Trousseau -APHP	Etude de la méthylation de la région 11p15 au cours du développement chez l'homme : tissus fœtaux et diagnostic anténatal de Syndrome de Silver Russell ou Wiedemann-Beckwith	2010
VIVILLE Stéphane - IGBMC	Recherche de gènes impliqués dans l'infertilité humaine non syndromique	2010
AZRIA Elie / LUTON Dominique - Bichat - APHP	Etude de la fonction thyroïdienne des fœtus trisomiques 21	2011
BADENS Catherine - AP- HM	Application du séquençage haut débit au diagnostic moléculaire de maladies génétiques rares	2011
CLAUSTRES Mireille - CHU de Montpellier	Recherche d'épimutations germinales et de mutations génétiques rares par pyroséquençage et séquençage de 2ème génération	2011
FEREC Claude - CHRU Brest	Développement d'un vecteur minigène pour l'analyse de l'effet des variations inconnues sur l'épissage de l'ARN CFTR	2011

Nom et institution	Titre	Année AOR
MANDEL Jean-Louis - IGBMC	Séquençage à haut débit et diagnostic de pathologies monogéniques à haute hétérogénéité non allélique	2011
McELREAVEY Ken - Institut Pasteur	Projet du Séquençage d'Exome de l'Homme Infertile	2011
SERRE Jean-Louis - Université de Versailles	Distribution de la consanguinité dans les communautés libanaises	2011
JONVEAUX Philippe - CHU Nancy	Etude de l'impact diagnostique d'une puce ADN conçue pour l'identification de remaniements génomiques associés à la déficience intellectuelle	2012
LAUGEL Vincent - CHU de Strasbourg	Validation d'une approche diagnostique de référence pour le syndrome de Cockayne et les phénotypes apparentés	2012
MANDEL Jean-Louis - CERBM	Séquençage à haut débit et diagnostic de la déficience intellectuelle (retard mental)	2012
COSSEE Mireille - INSERM - CHU de Montpellier	Etude pilote de mise en place du diagnostic des myopathies et dystrophies musculaires par séquençage haut débit	2013
DE MONTGOLFIER Sandrine - IRIS	Information de la parentèle en génétique : enjeux et mise en œuvre de cas de maladie génétique à caractère familial	2013
LE MARECHAL Cédric - Université de Brest	Diagnostic des maladies rares autosomiques récessives : apport du séquençage haut débit (NGS) pour le conseil génétique des cas sporadiques	2013
CALLIER Patrick - CHU DIJON	Diagnostic des réarrangements chromosomiques et des mutations par séquençage haut-débit	2014
MANDEL Jean-Louis - IGBMC	Evaluation d'une stratégie de diagnostic génétique des troubles du spectre autistiques avec ou sans déficience intellectuelle	2014
MELKI Judith - INSERM - Bicêtre - APHP	Approches pangénomiques et séquençage de l'exome entier dans les maladies orphelines neuropédiatriques dans l'errance diagnostique	2014
MULLER Jean - CHU de Strasbourg	Validation du diagnostic moléculaire par séquençage haut débit ciblé des rétinopathies pigmentaires	2014
ZORDAN Cécile - CHU de Bordeaux	Evaluation de la lettre d'information de la parentèle dans le cadre d'un examen des caractéristiques génétiques	2014
JEANPIERRE Marc - Cochin - APHP	Optimisation du diagnostic moléculaire de la dystrophie facio-scapulo-humérale par une approche originale de NGS	2015
LEGUERN Eric - Pitié- Salpêtrière -APHP	Etude des mosaïques parentales dans le syndrome de Dravet	2015

Nom et institution	Titre	Année AOR
MELKI Judith - INSERM Paris 11	Identification des bases génétiques des malformations anévrysmales de la veine de Galien	2015
MOUTOU Céline - CHU de Strasbourg	Etude de faisabilité du DPI pour les maladies monogéniques par séquençage haut débit	2015
VINCENT Marie-Claire - IURC Montpellier	Evaluation du dosage relatif de mutation dans le diagnostic prénatal non invasif de la mucoviscidose par séquençage haut débit sur une plateforme MiSeq (Illumina)	2015
BEROUD Christophe - Dpt Génétique - AP-HM	Efficacité comparée des approches de séquençage génome vs exome pour le diagnostic des dystonies	2016
BOURGAIN Catherine - INSERM U988, Villejuif	La routinisation de la génétique en médecine préventive: Analyse de la diffusion des tests pour les thrombophilies non rares	2016
DAVID Véronique - CNRS UMR 6290 Rennes	Approche combinée de séquençage de transcriptome (RNA seq) et d'Exome pour l'amélioration du diagnostic moléculaire de l'holoprosencéphalie	2016
DECRAMER Stéphane - Inserm U1048 I2MC Toulouse	GénéRHE: Génétique des reins hyperéchogènes en période anténatale	2016
DEPIENNE Christel - IGBMC	Développement d'un test génétique pour le diagnostic des maladies neurologiques et neurodéveloppementales (neuromendéliome)	2016
MELKI Judith - UMR 1169, Bicêtre - APHP	Séquençage de l'exome entier dans les arthrogryposes et les akinésies fœtales à gène non identifié par l'exome ciblé	2016
VIVILLE Stéphane - CHU de Strasbourg	Confirmation et établissement de la prévalence des mutations dans les gènes impliqués dans des infertilités humaines non-syndromique	2016
BEZIEAU Stéphane - Institut de biologie de Nantes	Modélisation in vivo pour le diagnostic génétique des déficiences intellectuelles syndromiques	2017
CALMELS Nadège - Laboratoire de Diagnostic Génétique - STRASBOURG	Intérêt du séquençage haut débit des ARN pour le diagnostic des maladies génétiques hétérogènes	2017
COSSEE Mireille - EA 7402 - CHU de Montpellier	Comparaison et optimisation de kits de séquençage d'exome complet pour le diagnostic des myopathies et dystrophies musculaires	2017
FERGELOT Patricia - Génétique moléculaire - CHU de Bordeaux	Diagnostic des NBIA: Analyse de l'hétérogénéité génétique et validation de marqueurs mitochondriaux de pathogénicité des variants	2017
PASQUIER Laurent - CHU de Rennes	Examen des caractéristiques génétiques d'une personne: identification et optimisation des organisations dans deux spécialités médicales	2017

Nom et institution	Titre	Année AOR
PETERMANN Rachel - INTS	Application de la droplet digital PCR (ddPCR) dans le diagnostic prénatal non-invasif de l'incompatibilité plaquettaire foeto-maternelle	2017
PITON Amélie - IGBMC	Développement d'outils fonctionnels, génétiques et cliniques d'aide au diagnostic de la déficience intellectuelle de type MRD7 (DYRK1A)	2017
ROUX Anne-Françoise - EA 7402 - CHU de Montpellier	Le poisson zèbre pour étudier l'impact des variants identifiés dans les pathologies neurosensorielles	2017
EL KHATTABI Laila - INSERM U1016 - Paris	Caractérisation de grands variants de structure par la cartographie nouvelle génération utilisant la technologie Bionano	2018
FEREC Claude - HLA - UMR 1078 - Brest	Haplotypage Universel par technologie Chromium™ dans le Diagnostic Prénatal Non Invasif des Maladies Monogéniques	2018
GUISSART Claire - IURC - Montpellier	DPNI sur CFTC par amplification du génome entier couplée à un séquençage du mini-exome	2018
HERON Delphine - Génétique Clinique - Pitié Salpêtrière - APHP	Processus décisionnels des couples confrontés au diagnostic prénatal d'une agénésie du corps calleux	2018
KOSCINSKI Isabelle - INSERM U1256	La longueur des télomères, un marqueur de fertilité féminine ? (TELEFF)	2019
VAN-GILS Julien - Génétique Médicale - CHU de Bordeaux	Diagnostic du SRT : Identification des profils d'acétylation comme marqueurs épigénétiques de pathogénicité des variants du gène CREBBP	2019
HAMZAOUI Nadim - Génétique et biologie moléculaire - Cochin - APHP	Etude fonctionnelle à haut débit par mutation à saturation du domaine exonucléase de l'ADN polymérase POLE	2020
HERON Delphine - Génétique Médicale - Pitié Salpêtrière - APHP	Risque résiduel de trouble du neurodéveloppement après diagnostic prénatal d'anomalie du corps calleux isolée et séquençage d'exome négatif	2020
LE COZ Pierre - ADÈS UMR7268 Marseille	Information génétique de la parentèle (IGP) et maladies rares : adapter l'accompagnement des malades (projet IGPrare)	2020
PITON Amélie - IGBMC - CNRS UMR 7104, Inserm U 964	Développement de stratégies d'interprétation des variants de signification inconnue sur le chromosome X dans la déficience intellectuelle	2020
VINCENT Marie-Claire - IURC - Montpellier	Comparaison de deux techniques NGS de phasage des haplotypes parentaux pour le DPNI des maladies à expansions de triplets	2020
COUTTON Charles - Laboratoire de Génétique Chromosomique - CHU Grenoble	Valeur pronostique de l'exome dans la prise en charge des patients infertiles avec une azoospermie non obstructive idiopathique	2021

Nom et institution	Titre	Année AOR
MICHAUD Vincent - INSERM U1211 - Bordeaux	Analyse fonctionnelle de variants chez des patients atteints d'albinisme oculocutané	2021
PERRIN Aurore - UMR-1078 - Brest	Analyse des phénomènes de chromothripsis et chromoanasythesis dans les spermatozoïdes humains : une étude pilote	2021
WATRIN Erwan - IGDR/UMR6290 - CNRS - Rennes	HoloSyn: Signification clinique des variants synonymes dans l'holoprosencéphalie	2021
JAILLARD Sylvie - Cytogénétique - CHU de Rennes	Validation fonctionnelle des variants génétiques impliqués dans l'insuffisance ovarienne prématurée ou débutante par édition du génome	2022
MOREL Frédéric - UMR-1078 - Brest	Etude du biais de transmission de l'allèle mutant ARX dup24	2022
MULLER Jean - Génétique - UMR_S 1112 - Strasbourg	Mise au point d'une boîte à outils pour la validation fonctionnelle de variants chez des patients atteints de ciliopathies	2022
SCHLUTH-BOLARD Caroline - Diagnostic Génétique - CHU de Strasbourg	Recherche du chromosome Y à partir de l'ADN libre circulant chez les patientes atteintes du syndrome de Turner	2022
EL KHATTABI Laïla - Hôpital Armand Trousseau - Paris	Etude prospective évaluant l'apport de la cartographie optique du génome dans le diagnostic génétique des fausses couches à répétition	2023
LEBRE Anne-Sophie - INSERM UMRS1266 - Paris	NeuroSign : identification d'épisignatures pour la classification de variants génétiques dans les maladies du neuro-développement.	2023
SAUGIER-VEBER Pascale - Laboratoire de génétique Moléculaire - CHU de Rouen	Détection des duplications en cis du gène SMN1 afin de résoudre un piège majeur du conseil génétique de l'amyotrophie spinale infantile	2023
BERNARD Delphine - Inserm UMR1078, Génétique, Génomique fonctionnelle et Biotechnologies - Brest	De nouveaux variants de SF3B1 associés à la déficience intellectuelle : caractérisation fonctionnelle et implication pour le diagnostic	2024
BOBE Julien - UR1037 – Laboratoire de Physiologie et Génomique des Poissons (LPGP) – RENNES	Développement de modèles in vivo pour la validation fonctionnelle de l'insuffisance ovarienne prématurée	2024
LETURCQ France - Service de Médecine Génomique des Maladies de Système et d'Organe DMU BioPhyGen - Cochin	La technologie de séquençage Nanopore au service de l'étude des régions génomiques complexes et de leur état de méthylation : application au diagnostic de la dystrophie facio-scapulo-humérale (FSHD)	2024

Nom et institution	Titre	Année AOR
MAUGE Laetitia - Service d'Hématologie biologique 20 rue Leblanc 75015 Paris	Optimisation de l'exploration génétique des déficits constitutionnels en protéine C : séquençage du gène entier par NGS et étude fonctionnelle par minigène.	2024
REYNIER Pascal - Laboratoire de Biochimie et biologie moléculaire CHU Angers UMR MITOVASC, CNRS 6015-INSERM1083, Université d'Angers	Intérêt du séquençage de l'ADN mitochondrial natif et long fragment pour l'amélioration du diagnostic moléculaire des pathologies mitochondriales	2024
ROORYCK THAMBO Caroline - Laboratoire de génétique moléculaire CHU de Bordeaux	Exploration anténatale des fœtus atteints de malformation cardiaque congénitale complexe par multiOMICS	2024

Développement d'un outil statistique de prédiction des conséquences des mutations du gène de l'hypophosphatasie pour l'aide au diagnostic

MORNET Etienne - Laboratoire SESEP - CH Versailles - Le Chesnay

[Retour tableau](#)

Résumé

L'hypophosphatasie est une maladie héréditaire de la minéralisation osseuse et dentaire qui pose des problèmes très particuliers de diagnostic et de conseil génétique, en raison de son très large spectre clinique, de son mode de transmission qui peut être autosomique dominant ou récessif, de la pénétrance incomplète rencontrée dans les familles et de l'existence d'une forme détectable in utero mais évoluant très favorablement par la suite. Nous avons une expérience de 10 années dans le diagnostic de cette maladie et collecté un échantillon de prélèvements de plus de 300 familles (960 prélèvements). L'objet de ce projet est d'intégrer un ensemble de techniques de biologie moléculaire, de bio-informatique et de bio-statistiques dans un arbre décisionnel pour optimiser le conseil génétique et le diagnostic génétique de l'hypophosphatasie. Cet outil sera validé rétrospectivement à partir d'une partie de l'échantillon déjà collecté, et prospectivement à partir d'échantillons collectés dans les deux prochaines années. Les techniques de biologie moléculaire utilisées sont le séquençage, la mutagenèse dirigée et l'expression dans un hôte hétérologue, la mesure de l'expression par RT-PCR qualitative et quantitative, la localisation cellulaire de protéines mutées par immunofluorescence. Les méthodes de bio-informatique concernent la modélisation tridimensionnelle et la recherche de séquence signifiantes (ESE, ISE, sites cryptiques d'épissage, sites de branchement). Enfin un modèle biostatistique permettra, à partir d'informations phylogénétiques, biochimiques et structurales, de donner une valeur prédictive (score) au génotype ou à la mutation d'un patient. A court terme nous attendons de ce travail un outil d'aide au diagnostic et au conseil génétique dans l'hypophosphatasie. A plus long terme, grâce au développement des bases de données sur les mutations des gènes responsables de maladies génétiques et à l'existence d'un nombre croissant de structures tridimensionnelles répertoriées dans les bases de données, les paramètres utilisés et validés ici pourront être utilisés pour d'autres maladies héréditaires, notamment les maladies héréditaires du métabolisme.

Résultats

Fauvert, Delphine, Isabelle Brun-Heath, Anne-Sophie Lia-Baldini, Linda Bellazi, Agnès Taillandier, Jean-Louis Serre, Philippe de Mazancourt, et Etienne Mornet. 2009. « Mild Forms of Hypophosphatasia Mostly Result from Dominant Negative Effect of Severe Alleles or from Compound Heterozygosity for Severe and Moderate Alleles ». BMC Medical Genetics 10 (1): 51.

Simon-Bouy, Brigitte, Agnès Taillandier, Delphine Fauvert, Isabelle Brun-Heath, Jean-Louis Serre, Carmen G. Armengod, Martin G. Bialer, et al. 2008. « Hypophosphatasia: Molecular Testing of 19 Prenatal Cases and Discussion about Genetic Counseling ». Prenatal Diagnosis 28 (11): 993-98.

[Retour tableau](#)

Extension d'une plate-forme informatique sécurisée pour la gestion du contrôle de qualité externe rétrospectif et prospectif en cytogénétique (EPICQE)

DOCO-FENZY Martine - ACLF - Association des Cytogénéticiens de Langue Française

[Retour tableau](#)

Résumé

Le but de ce projet est de consolider et de compléter l'outil sécurisé permettant aux cytogénéticiens Français de réaliser leur contrôle de qualité externe (CQE) dans les meilleures conditions de confidentialité. Le CQE en cytogénétique s'est développé en France depuis 2005 à l'initiative du GFCH (Groupe Français de Cytogénétique Hématologique) et de l'ACLF (Association des Cytogénéticiens de Langue Française). La principale difficulté est liée à la gestion d'un grand nombre d'images à expertiser du fait du grand nombre de laboratoires. Grâce au support du projet PEGH 2006 par l'Agence de Biomédecine, une plate-forme informatique a été mise en place pour le CQE rétrospectif, constitutionnel (pré et post-natal). Cette plate-forme informatique permet aujourd'hui une gestion des dossiers rapide, fiable, et sécurisée. Elle permet de faire l'économie d'une personne pour la réception et l'anonymisation des dossiers et d'un local pour leur stockage. Il s'agit d'un support technique indispensable pour le succès du CQE en ligne, testé en 2007. Nous souhaitons créer une base de données supplémentaire pour développer un contrôle de qualité prospectif, pour les trois secteurs cytogénétiques : constitutionnel (pré et post-natal), et onco-hématologique ainsi que pour les techniques de cytogénétique moléculaire comme l'Hybridation In Situ en Fluorescence (FISH). Le CQE prospectif complémentaire du rétrospectif permettra aux différents laboratoires de cytogénétique français d'analyser les mêmes images des mitoses proposées sur le site web. Ils répondront en ligne au sein d'un questionnaire par transfert de fichiers texte, et d'images de mitoses classées. Les experts examinateurs consulteront les dossiers après anonymisation et transmettront leurs évaluations sur la même base de données commune. Les évaluations seront comparées au sein d'un même groupe d'experts, puis entre tous les groupes afin d'harmoniser les résultats. Les résultats seront mis à disposition directement sur la base de données en ligne. Le but est donc de créer un réseau où tous les cytogénéticiens interviendront en tant qu'évalués mais aussi à leur tour en tant qu'experts de ce contrôle. Il en découlera la formation des praticiens avec l'homogénéisation et l'amélioration de la pratique de la cytogénétique comme l'a montré la première phase du contrôle rétrospectif en ligne. Ce système pourra être adapté à la fois à la cytogénétique constitutionnelle pré et post natale, à la cytogénétique hématologique et à la cytogénétique des tumeurs solides. Il pourra s'étendre dans l'avenir aux techniques innovantes telles que la CGH-array.

[Retour tableau](#)

Etude de patients présentant une avance staturale syndromique par hybridation comparative sur puce à ADN

VEKEMANS Michel - Ap-Hp Hôpital Necker Enfants Malades

[Retour tableau](#)

Résumé

De nombreux syndromes comportent une avance staturale (AS). Si les progrès de la génétique moléculaire ont permis d'identifier les bases moléculaires de certaines de ces conditions, de nombreux cas restent encore inexpliqués. L'observation d'anomalies chromosomiques associées à une AS syndromique suggère que certains de ces syndromes pourraient être la conséquence d'anomalies chromosomiques cryptiques. L'hybridation génomique comparative sur puces à ADN représente une avancée majeure qui permet l'exploration globale des chromosomes humains avec une résolution 10 fois supérieure à celle des techniques de cytogénétique classique. Notre projet a donc pour objectif d'évaluer par cette technique la fréquence et la nature des remaniements chromosomiques dans une population de patients présentant une avance staturale syndromique puis d'utiliser ces connaissances pour identifier de nouvelles entités cliniques associées à une AS et de nouveaux gènes responsables d'anomalies de la croissance. Depuis plusieurs années, et en collaboration avec l'association L'Eveil syndrome de Sotos, nous avons recueilli les prélèvements de plus de 160 patients présentant une AS syndromique rentrant dans un cadre connu (Sotos, Weaver, Marshall-Smith, etc.) ou non. Malgré des explorations cliniques, biochimiques et moléculaires extensives, dans plus de 50% des cas, la cause de l'anomalie de croissance demeure inexpliquée. Parallèlement, l'équipe du Dr L. COLLEAUX a développé dans son laboratoire une plateforme d'analyse par CGH-array. Ses travaux précédents montrent que l'utilisation d'une puce «pan-génome» avec une résolution de l'ordre de 1 Mb, conduit à l'identification d'un remaniement chromosomique pathogène chez 15% de patients retardés mentaux syndromiques. Ces résultats attestent de la puissance d'analyse de cette nouvelle technique et de son intérêt potentiel pour l'étude de cohorte de patients. Notre projet vise donc à analyser par CGH-array 80 patients présentant un syndrome d'AS idiopathique avec trois objectifs principaux :

- 1) Caractériser la nature et la fréquence des anomalies chromosomiques associées à une AS. Ce travail sera réalisé en utilisant une puce commercialisée par la société Affymetrix® et permettant l'exploration de l'ensemble du génome avec une résolution d'environ 40 kb.
- 2) Définir de nouvelles entités nosologiques
- 3) Etablir des corrélations génotypes/phénotypes pour identifier de nouveaux gènes impliqués dans des syndromes d'AS.

Les résultats attendus sont une meilleure caractérisation des anomalies chromosomiques responsables d'une avance staturale. Outre l'importance de ces résultats pour le diagnostic, la caractérisation des anomalies moléculaires à l'origine de ces phénotypes sera d'un réel bénéfice pour les patients et leur famille. En effet, le diagnostic moléculaire fournit les éléments essentiels pour proposer un conseil génétique aux familles concernées et permet d'adapter la prise en charge en particulier sur le plan du risque tumoral. De plus, l'étude clinique détaillée de ces anomalies devrait permettre de définir de nouvelles entités nosologiques et d'aider la démarche diagnostique pour les futurs patients. Enfin, les remaniements ainsi identifiés seront un outil de choix pour caractériser par une approche de type «gène candidat» de nouveaux gènes dont le dysfonctionnement serait à l'origine d'anomalies de la croissance.

Résultats

Malan, Valérie, Suzanne Chevallier, Gwendoline Soler, Christine Coubes, Didier Lacombe, Laurent Pasquier, Jean Soulier, et al. 2010. « Array-based comparative genomic hybridization identifies a high frequency of copy number variations in patients with syndromic overgrowth ». *European Journal of Human Genetics* 18 (2): 227–232.

[Retour tableau](#)

Défauts de fermeture du tube neural : recherche d'un déficit en donneurs de méthyle par biochimie et biologie moléculaire

GERARD Bénédicte - hôpital Robert Debré

[Retour tableau](#)

Résumé

Les défauts de fermeture du tube neural (DFTN) regroupent le spina bifida, l'encéphalocèle et l'anencéphalie. Ils constituent la plus fréquente des malformations fœtales après les malformations cardiaques, touchant 1 fœtus sur 1000 et jusqu'à 1 % des conceptus. De rares cas de transmissions monogéniques sont à l'origine de ces DFTN. D'autres causes impliquant à la fois des facteurs de prédisposition génétique et des carences nutritionnelles (notamment en acide folique et en choline) seraient à l'origine de la plupart de ces cas non familiaux. Le mécanisme moléculaire à l'origine des DFTN reste aujourd'hui largement inconnu. En particulier, aucun lien n'a été à ce jour recherché entre DFTN et anomalie de méthylation de l'ADN.

Nous proposons de tester l'hypothèse suivante : ces malformations pourraient être liées à la présence d'un stock ovocytaire insuffisant en molécules donneur de méthyle et notamment en Sadenosylméthionine (SAM). Ce défaut de stock initial, constitué avant la conception du zygote, pourrait être responsable d'une hypométhylation de l'ADN, de protéines (notamment des histones) et de lipides au cours des premières divisions cellulaires et donc d'un défaut de la mise en place de la régulation épigénétique de gènes impliqués dans l'embryogenèse précoce. En effet, les premiers stades de développement embryonnaire se déroulent avant la mise en place d'un placenta et d'une circulation embryonnaire fonctionnelle : la vague de reméthylation de l'ADN à partir du 8ème jour de développement puiserait donc directement dans le stock de S adénosyl méthionine disponible dans les cellules fœtales. L'hypométhylation de l'ADN et/ou des histones perturberait alors le processus de différenciation cellulaire et pourrait ainsi expliquer la genèse des DFTN.

Objectifs : Etude du lien entre DFTN et carence ovocytaire en SAM

Méthodologie : Nous souhaitons évaluer, par méthodes biochimiques et génétiques, le stock de donneur de méthyle présent dans les tissus de 20 couples mère/fœtus présentant un DFTN, comparativement à des couples mère/fœtus contrôles. Le dosage biochimique de différentes molécules (SAM, phosphatidylcholine, bétaine, choline, créatine ...) et vitamines (ac folique, vit B12) impliquées dans les processus de méthylation sera effectué sur les prélèvements maternels et fœtaux réalisés au moment de l'IMG. L'hypométhylation de l'ADN sera recherchée par des méthodes basées sur le traitement au bisulfite de l'ADN : une étude globale de l'état de méthylation des promoteurs de 27.000 gènes sera réalisée sur puce à ADN et la méthylation des CpG des promoteurs de gènes de développement, connus pour être inactivés précocement sera étudiée par séquençage.

La compréhension du mécanisme moléculaire impliquée dans la genèse de ces malformations permettra de mieux cibler les femmes potentiellement à risque pour de telles malformations et donc pourra permettre à terme de réduire l'incidence des DFTN par une prévention mieux adaptée.

[Retour tableau](#)

Les choix des personnes et couples à risque face aux tests génétiques et à l'intervention sur le vivant : le cas de la drépanocytose

LAINE Agnès - ALLT Etude et recherche

[Retour tableau](#)

Résumé

La prévalence élevée de la drépanocytose, la souffrance des malades et le coût de la prise en charge ont motivé le développement d'une offre de prévention par le dépistage néonatal de la drépanocytose par lequel on dépiste les atteints et les hétérozygotes, le dépistage en population générale des adultes hétérozygotes et sur le dépistage prénatal (DPN) suivi (ou non) d'IMG. Le diagnostic préimplantatoire (DPI) est une alternative au DPN encore peu utilisée. Le constat est celui d'une adhésion très modérée des personnes à l'offre de prévention. Aussi le projet propose une étude des implications des techniques de dépistage et d'intervention sur le vivant pour les personnes à risque en France : la population concernée est originaire pour 1/3 des Antilles et pour près des 2/3 d'Afrique, ce qui motive une étude centrée sur cette pathologie et sur ces populations dont le parcours pose la question de la prise en compte des différences socioculturelles dans les dispositifs de prévention.

Ce programme comporte deux axes :

1) Une étude rétrospective des dépistages d'adultes hétérozygotes effectués au centre d'information et de dépistage de la drépanocytose (CIDD), inauguré fin 2006. L'objectif est de mesurer les conséquences personnelles, sociales et familiales de ces dépistages, ainsi que leur efficacité. Cette partie du programme reposera sur des entretiens.

2) Une étude des implications du DPN, de l'interruption de grossesse voire du diagnostic préimplantatoire pour les couples à risque, reposant d'une part sur l'observation du conseil génétique et d'autre part sur l'analyse d'entretiens réalisés auprès de couples postérieurement à une naissance ou à une IMG consécutive à un conseil génétique. Nous étudierons notamment l'influence des représentations de la conception, de l'hérédité et de la filiation inscrites au cœur des religions africaines dans l'attitude des personnes concernées. Nous étudierons aussi les cheminements et les interactions sociales avec lesquels les couples construisent leur décision.

Cette étude sera faite sur 3 sites relevant des deux centres de référence français de la drépanocytose, Henri-Mondor, Robert-Debré et le Centre Guy Mérieux de la Guadeloupe.

Les disciplines mobilisées : l'histoire, l'anthropologie, l'éthique et la psychologie en relation avec les disciplines médicales impliquées dans la prise en charge des couples à risque, devraient permettre de proposer des éclairages sur les liens entre société et prévention des naissances pathologiques ainsi que, le cas échéant, des aménagements aux fins d'optimiser la prévention dans le respect des conceptions religieuses et éthiques des personnes.

Résultats

Lainé, A., J. Bardakdjian, F. Prunelle, F. E. Maroja, S. Quélet, R. Girot, et A. Niakaté. 2015. « L'impact du dépistage du trait drépanocytaire en population. Une étude rétrospective au Centre d'information et de dépistage de la drépanocytose (Paris) ». *Revue d'Epidémiologie et de Santé Publique* 63 (2): 77-84.

Dépistage génétique des dysfonctions de la jonction neuromusculaire dans les syndromes d'akinésie foetale

STERNBERG Damien - Pitié-Salpêtrière

[Retour tableau](#)

Résumé

Objectifs :

Récemment, des anomalies de gènes de la voie du récepteur musculaire à l'acétylcholine (RAch) ont été identifiées dans des séquences d'akinésie foetale létale (Syndrome léthal des ptérygiums multiples) et non létale (Syndrome d'Escobar). A ce jour, des mutations homozygotes ou hétérozygotes composites ont été rapportées dans les gènes CHRNA, CHRND, CHRNG et RAPSN, dans des akinésies foetales. Les atteintes génétiques de la jonction neuromusculaire sont décrites depuis plus longtemps chez l'enfant et l'adulte où elles occasionnent des syndromes myasthéniques congénitaux. Elles sont dues à des mutations des gènes des sous-unités du récepteur ou de protéines impliquées dans la régulation des récepteurs (rapsyne, musk, dok7), ou encore pour certaines à des mutations affectant des constituants synaptiques ou présynaptiques (COLQ, CHAT). Les séquences d'akinésie foetales représentent 1 grossesse sur 5000 environ, dont une majorité de formes sans diagnostic précis compatibles avec une cause neurogène ou myogène. 30 % des formes sans diagnostic précis seraient plutôt de type myopathiques, mais 70 % sont compatibles avec une atteinte nerveuse ou de la jonction neuromusculaire. Notre étude a pour but de préciser la contribution des atteintes génétiques des gènes du récepteur nicotinique musculaire et de sa voie de régulation à ces formes sans diagnostic précis, et de fournir ainsi un diagnostic et un conseil génétique à un certain nombre de couples concernés.

Résultats attendus :

Un nombre variable de ces syndromes d'akinésie foetale sans diagnostic se révéleront probablement être dus à des atteintes précoces, génétiquement déterminées, récessives, ou dominante de novo, de la jonction neuromusculaire.

Un conseil génétique basé sur des données moléculaires interprétables pourra être fourni à un certain nombre de couples.

Méthodologie :

Les cas d'akinésie foetale seront analysés méthodiquement documentés à la recherche des différentes étiologies. Les cas demeurant sans diagnostic et compatibles avec une atteinte de la jonction neuromusculaire seront étudiés à la recherche de mutations des gènes du récepteur nicotinique musculaire et de sa voie de régulation.

Les gènes analysés seront les gènes du récepteur à l'acétylcholine et de sa voie de régulation.

Les anomalies recherchées seront de type mutation ponctuelle, détectable par PCR-séquençage. Le séquençage sera direct, bidirectionnel, et concernera de produits d'amplification couvrant les régions codantes, les jonctions intron-exon et le promoteur des gènes.

L'interprétation des variations de séquence ponctuelles retrouvées se fera selon le type de variant ponctuel retrouvés et l'analyse de ségrégation. Certains seront clairement pathogènes et pourront être informatives pour un conseil génétique ; d'autres feront l'objet d'études supplémentaires (étude ARN, étude dans des systèmes d'expression) afin de statuer sur leur rôle physiopathologique.

Résultats

Ben Ammar, A., F. Petit, N. Alexandri, K. Gaudon, S. Bauché, A. Rouche, D. Gras, et al. 2010. « Phenotype Genotype Analysis in 15 Patients Presenting a Congenital Myasthenic Syndrome Due to Mutations in DOK7 ». *Journal of Neurology* 257 (5): 754-66. <https://doi.org/10.1007/s00415-009-5405-y>.

Poster

Arthrogryposis Multiplex Congenita and Fetal Akinesia Deformation Sequence : 5 Cases with Mutations in Acetylcholine Receptor and Neuromuscular Junction Genes

Travail coordonné par : Laboratoire de Cardiogénétique et Myogénétique, APHP (P. Richard)
Travail effectué en lien avec : Fédération des Centres de Référence des Anomalies du Développement (FECLAD)
Société Française de Foetopathologie (SOFOTO)

S. Whalen (1) M. Gonzalez (2,3) A. Laquerrière (4,5) S. Guilleme-Roy (6) A.J. Delzou (7,8) F. Gouffaux (9), P. Richard (10) A. Le Bail (10) B. Hainque (10,11) A. Chevalier (12) E. Rieth (13), D. Aillaud-Streiner (14) D. Héron (1) D. Sternberg (10)

(1) Département de Génétique, Centre Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Assistance Publique Hôpitaux de Paris, France; (2) Unité de Pathologie Fœtale et Placentaire, Service de Génétique et d'Embryologie Médicale, Hôpital Armand Trousseau, Assistance Publique Hôpitaux de Paris, France; (3) UFR de Médecine, Université Pierre et Marie Curie, Paris, France; (4) Service d'Anatomie et d'Embryologie Pathologiques, Hôpital Charles Stiebel, CHU Rouen; (5) UFR de Médecine et de Pharmacie, Université de Rouen, France; (6) Service de Pédiatrie, Endocrinologie et Métabolisme, Hôpital Raymond Poincaré, Assistance Publique Hôpitaux de Paris, France; (7) Unité de Pathologie Fœtale et Placentaire, Service de Génétique et d'Embryologie Médicale, Hôpital Armand Trousseau, Assistance Publique Hôpitaux de Paris, France; (8) UFR de Médecine, Université Paris Diderot, Paris, France; (9) Service de Génétique Médicale, Centre de Référence des Anomalies du Développement et Syndromes Malformatifs, CHU de Viers, France; (10) Unité de Biochimie Métabolique, Centre Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Assistance Publique Hôpitaux de Paris, France; (11) Service de Génétique Médicale, Centre de Référence des Anomalies du Développement et Syndromes Malformatifs, CHU de Viers, France; (12) Unité de Biochimie Métabolique, Centre Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Assistance Publique Hôpitaux de Paris, France; (13) Service de Génétique Médicale, Hôpital de Saint-Denis, France; (14) Service de Génétique Médicale, Hôpital de Saint-Denis, France

Introduction

Antenatal NMJ defects may cause arthrogryposis multiplex congenita (AMC) and fetal akinesia deformation sequence (FADS). Neuromuscular junction (NMJ) and acetylcholine receptors (AChR) are functional as early as 5 weeks of pregnancy (wp). AChRs contain a specific antenatal gamma subunit encoded by *CHRNA1* gene (gamma-epsilon switch). Other components of NMJ and AChRs are expressed in antenatal as well as in postnatal period. *CHRNA1* mutations are responsible for non-lethal (Escobar) or lethal multiple pterygium syndrome (MPS), which is a variety of AMC. Severe mutations in other NMJ genes (*CHRNA1*, *CHRNA2*, *RAPSN*, *DOK7*) are responsible for lethal fetal akinesia (FA) or multiple pterygium syndrome (LMPS).

Patients and Methods

We analysed samples from 61 independent cases with arthrogryposis or FADS with no definite cause at clinical or foetopathological examination. We categorized cases according to age and severity.

- 12 living patients were aged more than 3 years, they had AMC but no evidence of active myasthenia and no need for vital support (group 1)
- 12 patients were alive but younger than 3 years or still needing vital support (group 2)
- 6 patients were born with AMC and possibly myasthenia but needed vital support and deceased at a young age (group 3)
- 31 fetuses were diagnosed with FADS leading to termination of pregnancy (TOP) or death *in utero* (group 4)

We sequenced *CHRNA1* in group 1 patients with no evidence of active myasthenia. We sequenced *CHRNA1*, *CHRNA2*, *CHRNA3*, *CHRNA4*, *CHRNA5*, *DOK7* and *MUSK* genes in groups 2, 3 and 4.

In group 1, two living patients with AMC were diagnosed with *CHRNA1*-related Escobar syndrome (biallelic *CHRNA1* mutations). In group 4, three fetuses had clearly pathogenic mutations in NMJ genes (*CHRNA1* : 1 ; *DOK7* : 1 ; *CHRNA2* : 1)

Figure 1 : Two Children with AMC and *CHRNA1* mutations

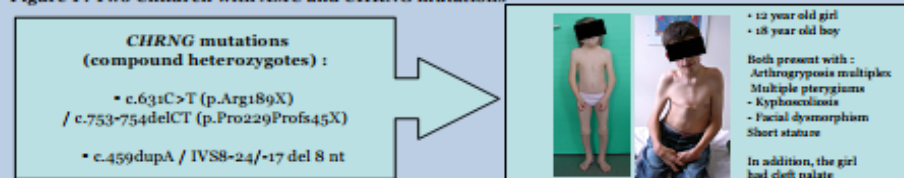


Figure 2 : Three Fetuses with FADS (one with *CHRNA1*, one with *CHRNA2* and one with *DOK7* mutations)

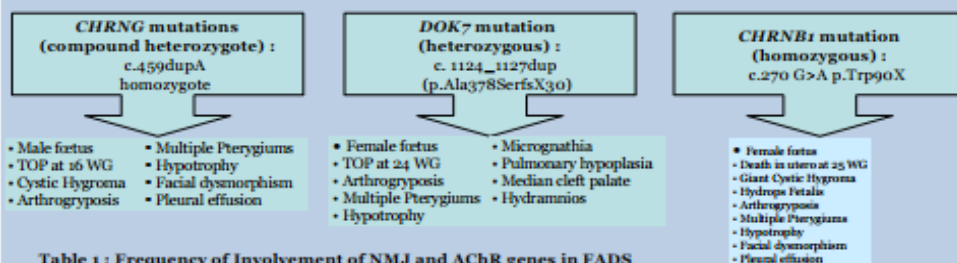


Table 1 : Frequency of Involvement of NMJ and AChR genes in FADS and AMC with Undefinite Cause

	German study (Michalk, Hoffmann, Mundlos...)	English study (Morgan, Vogt, Maier...)	Our study	Synthesis of the three studies
Nr of cases studied	70	21	61	152
Nr of positive cases	<i>CHRNA1</i>	10	6	19
	<i>RAPSN</i>	1	1	2
	<i>CHRNA2</i>	2	0	2
	<i>CHRNA3</i>	0	0	1
	<i>CHRNA4</i>	2	0	2
	<i>DOK7</i>	nd	1	2
	All NMJ genes	15	8	28
				17,5%

Conclusion

- * AChR and other NMJ genes account for a small but significant number of AMC and FADS cases without definite cause
- * At first analysis, no specific feature orientate towards an AChR or NMJ genetic dysfunction that can be searched for in the absence of elements that orientate towards other defined cause (e.g. central or peripheral nervous system, myopathy, etc.)
- * A French Clinical Research Hospital Project (PHRC) is under way to identify other genetic causes for AMC and FADS and refine their diagnostic algorithm (Pr Judith Melki)

Contact and further information :

- Inclusion of patients in PHRC : Judith Melki (judith.melki@inserm.fr)
- Genetic counselling : Sandra Whalen (sandra.whelan@pslaphp.fr)
- Clinical and therapeutic issues : Pierre-Simon Jouk (psjouk@chu-grenoble.fr)
- Foetopathologic expertise : Annie Laquerrière (annie.laquerriere@univ-rouen.fr) – Marie Gonzalez (marie.gonzalez@tscap-hop-paris.fr)
- Molecular Genetics Diagnosis for NMJ genes : Damien Sternberg (damien.sternberg@pslaphp.fr)

[Retour tableau](#)

Etude de la méthylation de la région 11p15 au cours du développement chez l'homme : tissus foetaux et diagnostic anténatal de Syndrome de Silver Russell ou Wiedemann-Beckwith

NETCHINE Irène - Laboratoire de biologie moléculaire endocrinienne, INSERM U938, hôpital Armand Trousseau

[Retour tableau](#)

Résumé

Objectifs

La région 11p15 chez l'homme est l'une des régions soumises à empreinte parentale très importante durant la vie foetale chez l'homme. Elle comporte des gènes essentiels pour la prolifération et le cycle cellulaire KCNQ1OT1, CDKN1C (ICR2, domaine centromérique) et IGF2, H19 (ICR1, domaine télomérique). Les troubles d'empreinte (LOI) de cette région telle que perte (LOM) ou gain (GOM) de méthylation sont en cause dans deux syndromes cliniquement opposés, le syndrome de Wiedemann-Beckwith (SBW) et le syndrome de Silver-Russell (SRS). Ces LOI se produisent le plus souvent en mosaïque ce qui rend leur détection avec les méthodes d'analyse conventionnelles très difficile. Les syndromes de SRS et BWS se caractérisent par une hétérogénéité clinique complexe qui peut être expliquée par l'aspect en mosaïque des LOI de la région 11p15 pouvant être différent d'un tissu à un autre.

Ces LOI se produisent très tôt durant le développement fœtal et affectent ainsi le devenir du futur individu. A ce jour aucune étude exhaustive du pattern de méthylation de la région 11p15 n'a été réalisée chez l'homme. Or cette étude peut permettre d'avancer dans la compréhension de la physiopathologie du SRS et SBW. Beaucoup d'études ont été néanmoins réalisées chez la souris et les résultats sont extrapolés chez l'humain. Par ailleurs, le diagnostic anténatal (DPN), réalisé sur l'ADN extrait à partir d'échantillons biologiques fœtaux, permet la recherche de causes moléculaires de certaines maladies graves in utero. A ce jour, le DPN moléculaire des anomalies de méthylation de la région 11p15 pour les suspicions de SRS ou de SBW, n'est pas disponible.

Notre objectif à travers ce projet est donc d'étudier la méthylation différentielle de la région 11p15 dans différents tissus fœtaux normaux et pathologiques de façon aussi exhaustive que possible pour comprendre la physiopathologie complexe du SRS et SBW. Par ailleurs, le développement d'un diagnostic anténatal devient une nécessité pour répondre aux demandes croissantes de ce type de test pour lequel nous sommes de plus en plus sollicités en tant que le centre de référence en France du suivi médical et de l'analyse moléculaire de ces deux syndromes.

Résultats attendus

Des profils de méthylation différents de la région 11p15 peuvent être identifiés dans les différents tissus fœtaux normaux ou pathologiques qui seront analysés. Ces résultats aideront dans la compréhension de la physiopathologie du SRS et SBW. Par ailleurs, la mise au point du DPN moléculaire de la région 11p15 sur l'ADN amniocytaire nous permettra d'offrir un outil de diagnostic pour le dépistage du SRS et SBW in utéro.

Méthodes

L'étude de la méthylation différentielle de la région 11p15 (ICR1 et ICR2) sera réalisée grâce à la technique quantitative, allele specific methylated multiplex real time quantitative PCR (ASMM RTQ-PCR) que nous avons récemment développée et validée au laboratoire, rendant possible une exploration moléculaire y compris sur une faible quantité d'ADN.

Résultats

Azzi, S., V. Steunou, J. Tost, S. Rossignol, N. Thibaud, C. D. Neves, M. Le Jule, et al. 2015. « Exhaustive Methylation Analysis Revealed Uneven Profiles of Methylation at IGF2/ICR1/H19 11p15 Loci in Russell Silver Syndrome ». *Journal of Medical Genetics* 52 (1): 53-60.

Azzi, Salah, Annick Blaise, Virginie Steunou, Madeleine D. Harbison, Jennifer Salem, Frédéric Brioude, Sylvie Rossignol, et al. 2014. « Complex Tissue-Specific Epigenotypes in Russell-Silver Syndrome Associated with 11p15 ICR1 Hypomethylation ». *Human Mutation* 35 (10): 1211-20.

[Retour tableau](#)

Recherche de gènes impliqués dans l'infertilité humaine non syndromique

VIVILLE Stéphane - IGBMC

[Retour tableau](#)

Résumé

Un nombre croissant de couples fait appel à l'assistance médicale à la procréation et 1 à 3.6 % des grossesses dans les pays occidentaux sont obtenues grâce à ces techniques d'AMP. Pour plus de la moitié de ces couples, la cause des dysfonctionnements à l'origine de l'infertilité reste inconnue et la FIV est souvent proposée de façon systématique sans connaître l'étiologie de cette infertilité, ce qui n'est pas satisfaisant. Nous proposons donc dans cette étude d'identifier et de caractériser des gènes impliqués dans des cas supposés génétiques d'infertilité humaine permettant ainsi une meilleure prise en charge des couples en AMP.

L'objectif de cette étude est de sélectionner dans le génome d'hommes et de femmes infertiles issus de familles infertiles consanguines ou originaires d'une même région géographique, une région d'homozygotie. L'origine géographique commune des patients nous laisse espérer qu'un même événement génétique ancestral est responsable du phénotype observé (effet fondateur). Le fait que plusieurs individus atteints soient issus de germains plaide en faveur d'une transmission sur un mode autosomique récessif, les individus atteints auraient hérité de chacun de leurs parents d'une même copie de l'allèle morbide arrière-grand paternel ou maternel. Les individus atteints présenteront donc une région d'homozygotie au locus morbide. Une étude *in silico* des gènes présents dans cette région nous permettra de sélectionner des gènes candidats : en priorité des gènes impliqués dans la méiose et exprimés préférentiellement dans les gonades. Les étapes suivantes de l'étude consisteront à séquencer l'ensemble des exons/jonctions intron-exon du /des gènes candidats afin d'identifier la ou les mutations causales. Enfin, pour confirmer que le gène identifié est bien responsable du phénotype d'infertilité, une étude fonctionnelle est nécessaire ; en raison de la difficulté d'atteinte de la protéine (gonadique exclusive ou préférentiellement), un recours à des modèles

Résultats

El Inati, Elias, Jean Muller, et Stéphane Viville. 2012. « Autosomal mutations and human spermatogenic failure ». *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease, Molecular Genetics of Human Reproductive Failure*, 1822 (12): 1873-79.

Okutman, Ozlem, Maroua Ben Rhouma, Moncef Benkhalifa, Jean Muller, et Stéphane Viville. 2018. « Genetic Evaluation of Patients with Non-Syndromic Male Infertility ». *Journal of Assisted Reproduction and Genetics* 35 (11): 1939-51.

[Retour tableau](#)

Année: 2011

Etude de la fonction thyroïdienne des fœtus trisomiques 21

AZRIA Elie / LUTON Dominique - Hôpital Bichat

[Retour tableau](#)

Résumé

Introduction

La trisomie 21 est fréquemment associée à une dysfonction thyroïdienne responsable d'une hypothyroïdie. Ce risque d'hypothyroïdie augmente avec l'âge, principalement en raison du risque d'hypothyroïdie d'origine auto-immune. Cependant, outre cette hypothyroïdie acquise, il très est probable à la vue des résultats publiés qui témoignent de l'existence d'une fréquence accrue d'hypothyroïdie congénitale et de travaux préliminaires sur le statut thyroïdien des fœtus trisomiques 21, qu'une hypothyroïdie modérée se soit déjà installée dès la vie fœtale.

Hypothèses

L'hypothyroïdie fœtale est plus fréquente chez le fœtus trisomique 21 que dans la population générale.

Objectif principal

Déterminer la fréquence de l'hypothyroïdie fœtale dans une population de fœtus présentant une trisomie 21 confirmée.

Objectifs secondaires

- Caractériser la dysfonction thyroïdienne des fœtus trisomiques 21 (TSH, FT4, FT3, diamètre et périmètre thyroïdien, maturation osseuse, croissance). - Constitution d'une sérothèque et d'une banque de tissu thyroïdien.

Critère d'évaluation principal

Hypothyroïdie fœtale définie par une TSH dans le sang fœtal lors de l'issue de grossesse (au moment de la naissance après clampage du cordon ou par ponction de sang fœtal lors d'un foeticide si décision d'IMG), inférieure au 95ème percentile de courbes validées. Critères d'évaluation secondaires

Thyroxinémie (FT4) inférieure au 5ème percentile.

Thyroxinémie (FT4) inférieure au 10ème percentile.

TSH supérieur au 90ème percentile.

Volume thyroïdien fœtal, biométries fœtales et âge osseux évalués par échographie.

En cas d'interruption médicale de grossesse : poids et volume thyroïdien déterminé par examen foetopathologique, analyse histologique de la thyroïde fœtale.

Méthodologie : type d'étude et plan expérimental

Etude observationnelle descriptive, multicentrique

Constitution d'une sérothèque et d'une banque de tissu thyroïdien fœtal

Nombre de sujets nécessaires : 50

Critères d'inclusion et principaux critères de non inclusion

Tous les fœtus présentant une trisomie 21 confirmée par caryotype pourront être inclus sous réserve d'un accord de la part de la mère.

Les fœtus de mère présentant une pathologie thyroïdienne, ne parlant pas le français, mineures ou non affiliés à un régime de sécurité sociale ne pourront pas être incluses.

Durée totale de l'étude : 3 ans –

Nombre de centres participants : 6

Résultats

Luton, Dominique, Elie Azria, Michel Polak, Aurore Carré, Edith Vuillard, Anne Lise Delezoide, et Jean Guibourdenche. 2012. « Thyroid Function in Fetuses with Down Syndrome ». Hormone Research in Paediatrics 78 (2): 88-93.

[Retour tableau](#)

Application du séquençage haut débit au diagnostic moléculaire de maladies génétiques rares

BADENS Catherine - AP-HM

[Retour tableau](#)

Résumé

Il s'agit d'étudier l'impact scientifique, médical, thérapeutique, éthique et financier de l'approche pangénomique pour le diagnostic génétique des maladies neuromusculaires. Pour cela, nous proposons un test sur 2 ans et 100 patients en parallèle, en appliquant sur un même prélèvement d'une part la stratégie diagnostique "classique" en approche gène par gène, et d'autre part une approche de séquençage systématique de tous les exons du génome par NGS.

La mise à disposition des moyens (humains et en matériels) est fournie par notre structure de tutelle, nous demandons à l'Agence de Biomédecine une participation aux consommables pour un montant de 50 000 euros.

L'acquisition de l'équipement (séquenceur haut débit) est demandée à l'APHM dans le cadre de la Commission à l'Innovation. Le reste des consommables et du personnel est financé par les autres projets en cours (consortium européens, associations de patients).

Cette nouvelle technologie de séquençage permet en une seule expérimentation d'obtenir la séquence de l'ensemble des exons des gènes d'un individu. Elle a été validée en recherche, nous souhaitons l'appliquer au domaine du diagnostic génétique.

L'impact attendu sur la qualité de ce diagnostic concerne le délai de rendu de résultat, le coût global de l'analyse et l'efficacité du diagnostic en termes d'identification de mutations, ainsi que sur les avancées médicales et thérapeutiques offertes par la découverte de nouveaux gènes impliqués.

Résultats

Lacoste, Caroline, Jean-Pierre Desvignes, David Salgado, Christophe Pecheux, Laurent Villard, Marc Bartoli, Christophe Beroud, Nicolas Levy, Catherine Badens, et Martin Krahn. 2016. « Coverage Analysis of Lists of Genes Involved in Heterogeneous Genetic Diseases Following Benchtop Exome Sequencing Using the Ion Proton ». Journal of Genetics 95 (1): 203-8.

[Retour tableau](#)

Recherche d'épimutations germinales et de mutations génétiques rares par pyroséquençage et séquençage de 2ème génération

CLAUSTRES Mireille - CHRU DE MONTPELLIER

[Retour tableau](#)

Résumé

Malgré les progrès technologiques de ces dernières années dans le diagnostic moléculaire des maladies génétiques, il persiste un certain nombre de patients pour lesquels le diagnostic clinique est confirmé mais dont l'étude moléculaire n'a pas permis d'identifier le génotype. Dans ces familles, un diagnostic prénatal ou préimplantatoire peut être proposé en déterminant l'haplotype à risque (utilisation de marqueurs microsatellites) lorsqu'un prélèvement du cas index est disponible. Toutefois, en l'absence d'ADN du cas index, un certain nombre de couples ne peut accéder à ces diagnostics, seule l'identification de la (des) mutation(s) causale(s) permettra alors d'identifier le chromosome muté qui ségrège dans la famille. Dans ce projet, nous proposons de rechercher des mutations qui ne sont pas identifiables par les méthodes actuellement utilisées en diagnostic génétique, d'une part les épimutations germinales (méthylation de l'ADN) et d'autre part des mutations génétiques localisées dans des régions peu ou pas explorées (régions 5' et 3' non codantes et régions introniques profondes). Pour détecter ces mutations nous utiliserons des techniques nouvelles et puissantes : le pyroséquençage et le séquençage de 2ème génération. Deux pathologies liées aux mutations du gène CFTR, la mucoviscidose (Cystic Fibrosis ou CF) et l'absence bilatérale congénitale des canaux déférents (ABCD) seront utilisées comme modèles pour cette étude ; l'exploitation des résultats permettra d'envisager le développement de cette approche dans d'autres maladies génétiques. Les résultats de cette étude devraient permettre d'améliorer le diagnostic moléculaire et d'élargir le nombre de familles qui pourront bénéficier du DPN et du DPI.

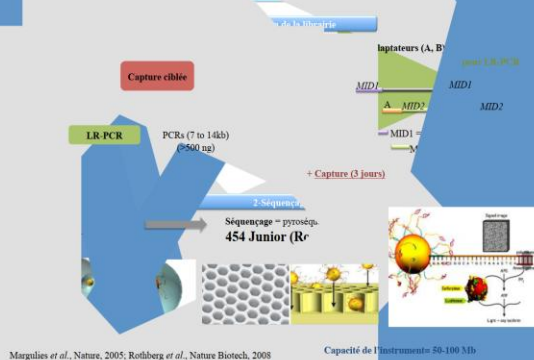
Résultats

Bergougnoux, Anne, Isabelle Rivals, Alessandro Liquori, Caroline Raynal, Jessica Varilh, Milena Magalhães, Marie-José Perez, et al. 2014. « A Balance between Activating and Repressive Histone Modifications Regulates Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator (CFTR) Expression in Vivo ». *Epigenetics* 9 (7): 1007-17

Poster

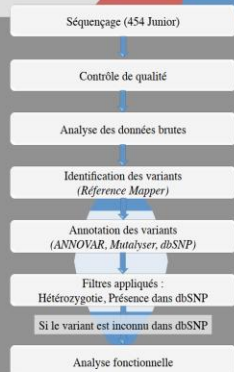
Méthodes

Séquençage Nouvelle Génération (NGS)
du locus *CFTR* entier (250kb)



→ Test en cours sur un Séquenceur MiSeq (Illumina®)

Pipeline bio-informatique

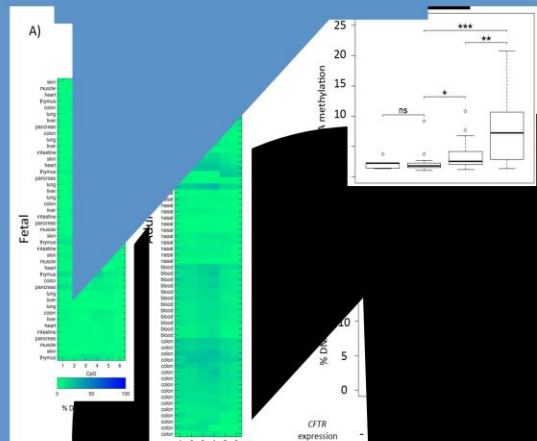


Pipeline E.Beyne

dbSNP
Short Genetic Variations

La méthylation

est faible (<20%)



La méthylation de l'ADN dans les cellules épithéliales nasales est faible (<20%) (Bergougnot et al., 2015)

Les cellules épithéliales nasales sont un modèle pour étudier la méthylation de l'ADN dans des pathologies du système respiratoire (Bergougnot et al., 2015)

Les cellules épithéliales nasales sont prélevées par microcuretage du cornet inférieur, ensuite utilisées pour extraire l'ADN génomique. Image adaptée de « Cavité Nasale » de Servier Medical Art, <http://smart.servier.fr/servier-medical-art>

Publications

- Bonini I, Varilh J, Raynal C, Thize C, Beyne E, Audrezet MP, Ferec C, Bienvenu T, Girodon E, Tuffery-Girard S, Des Georges M, Claustres M, Tassabehji M. Small-scale high-throughput sequencing-based identification of new therapeutic tools in cystic fibrosis. *Genet Med*. 2015 Jan 8. doi: 10.1038/gim.2014.194.
- Bergougnot A, Claustres M and De Sario A. Nasal epithelial cells, a tool to study DNA Methylation in airway diseases. *Epigenomics* 7(1):119-26. doi: 10.2217/epi.14.65 (2015).
- Bergougnot A, Rivals J, Lipojanc A, Raynal C, Varilh J, Magalhães M, Perez M, Bigi N, Desjardins M, Chiron R, Squalli-Houssaini AS, Claustres M, De Sario A. A balance between activating and repressive histone modifications regulates cystic fibrosis transmembrane conductance regulator (CFTR) expression in vivo. *Epigenetics*. 2014 Jul;9(7):1007-17.

[Retour tableau](#)

Développement d'un vecteur minigène pour l'analyse de l'effet des variations inconnues sur l'épissage de l'ARN CFTR

FEREC Claude - CHRU Brest

[Retour tableau](#)

Résumé

Le gène CFTR est le siège de plus de 1600 anomalies différentes décrites au sein du Consortium international d'étude des mutations du gène CFTR (www.genet.sickkids.on.ca), et à côté des mutations fréquentes, il existe de nombreuses variations dont le caractère délétère n'est pas clairement établi, qui mettent parfois en difficulté les généticiens moléculaires et les cliniciens. Ceci est particulièrement vrai lorsqu'il s'agit de variations introniques ou de variations exoniques silencieuses, dont on sait qu'elles peuvent affecter l'épissage de l'ARN CFTR et donner ainsi naissance à des protéines tronquées ou en quantité insuffisante. Plusieurs outils de prédiction in silico de l'impact des variants de séquence sur l'épissage existent et sont maintenant largement utilisés dans les laboratoires. Mais, même s'ils ont prouvé leur efficacité dans l'analyse de variants d'épissage de nombreux gènes, il est important de pouvoir valider ces prédictions bioinformatiques par une analyse fonctionnelle in vitro.

Le projet de travail que nous nous proposons de réaliser a pour but de proposer une technique compatible avec une utilisation en situation d'urgence diagnostique pour l'analyse des variations nucléotidiques rapportées dans le gène CFTR et plus particulièrement d'étudier leur impact sur l'épissage de l'ARN CFTR.

A partir d'une construction originale d'un vecteur pcDNA3.1 dans laquelle nous avons introduit les exons 1, 2 et 3 du gène ubiquitaire Polr2g sous l'influence du promoteur CMV, nous allons cloner par une technique de recombinaison homologue, différentes séquences sauvages et mutées du gène CFTR dont nous étudierons parallèlement les transcrits à partir de prélèvements d'épithélium nasal. Ces vecteurs produits seront utilisés pour transfecter deux lignées cellulaires (les cellules Hela et les cellules T84), à partir desquelles les ARNm seront extraits et analysés au bout de 24h de culture.

Seize variations à étudier ont été sélectionnées sur la base des résultats obtenus par les prédictions bioinformatiques, et sont regroupées en quatre classes en fonction de l'effet attendu sur l'épissage de l'ARN (exclusion complète d'exon, exclusion partielle, utilisation d'un site cryptique d'épissage, ou absence d'effet).

La première étape va consister à tester quatre échantillons d'ADN appartenant à ces quatre classes, et à confronter les résultats obtenus in vitro à partir des transfections réalisées dans les deux types cellulaires avec les résultats des prédictions bioinformatiques et à partir de l'ARN des patients. Enfin, nous compléterons cette étude par l'analyse d'un nombre important de variants, avant de pouvoir proposer cet outil à la communauté scientifique.

Résultats

Bonini, Jennifer, Jessica Varilh, Caroline Raynal, Corinne Thèze, Emmanuelle Beyne, Marie-Pierre Audrezet, Claude Ferec, et al. 2015. « Small-Scale High-Throughput Sequencing-based Identification of New Therapeutic Tools in Cystic Fibrosis ». *Genetics in Medicine* 17 (10): 796-806.

[Retour tableau](#)

Séquençage à haut débit et diagnostic de pathologies monogéniques à haute hétérogénéité non allélique

MANDEL Jean-Louis - IGBMC

[Retour tableau](#)

Résumé

De nombreuses maladies génétiques définies cliniquement sont caractérisées par une très importante hétérogénéité génétique non allélique, des mutations dans de nombreux gènes pouvant entraîner des expressions cliniques identiques ou très proches, et la recherche exhaustive de mutations devient impossible en pratique avec les stratégies « classiques » (séquençage capillaire, avec ou sans prescreening par analyse de fusion type HRM ou DHPLC). Or le diagnostic étiologique précis est essentiel pour le conseil génétique, et dans certains cas pour la prise en charge médicale et dans le futur pour des approches thérapeutiques mutations spécifiques ou de thérapie génique. Très récemment, l'introduction du séquençage à très haut débit a révolutionné les approches de génomique, et commence à trouver des applications dans l'identification de nouveaux gènes impliqués dans des maladies monogéniques. Mais les applications diagnostiques hors projet de recherche restent à développer, en tenant compte des aspects de coût, de fiabilité, et de complexité de l'analyse bioinformatique.

Nous proposons, à travers 3 pathologies hétérogènes, de développer des stratégies d'applications diagnostiques basées sur le séquençage à haut débit utilisant le séquenceur Illumina/Solexa (le plus répandu) et des stratégies de capture d'exons et de « DNA pooling ». Les 3 pathologies dont notre laboratoire diagnostic est un spécialiste reconnu, sont le syndrome de Bardet-Biedl, les ataxies (et notamment les ataxies récessives ou sporadiques) et enfin le retard mental lié au chromosome X. Une première étape de validation fera appel à des ADN porteurs de mutations connues, et sera suivie d'une étape de test d'ADN à mutations non connues. Nous calculerons le coût et l'efficacité des diverses stratégies testées.

Résultats

Redin, C., B. Gerard, J. Lauer, Y. Herenger, J. Muller, A. Quartier, A. Masurel-Paulet, et al. 2014. « Efficient Strategy for the Molecular Diagnosis of Intellectual Disability Using Targeted High-Throughput Sequencing ». Journal of Medical Genetics 51 (11): 724-36.

[Retour tableau](#)

Projet du Séquençage d'Exome de l'Homme Infertile

McELREAVEY Ken - Institut Pasteur

[Retour tableau](#)

Résumé

Le séquençage d'exome entier est une technique efficace de séquençage des régions codantes de l'ensemble du génome humain permettant une stratégie, devenue abordable financièrement, d'identification de nouveaux gènes associés à des pathologies Mendéliennes communes ou rares. L'intérêt de cette technologie est d'identifier les variants fonctionnels responsables de la maladie sans le coût exorbitant du séquençage du génome entier ni l'aspect chronophage du séquençage de plusieurs gènes candidats. Environ 85% des mutations entraînant une pathologie sont localisées dans les régions codantes protéiques du génome. Le séquençage d'exome est donc logiquement devenu la méthode de choix pour l'identification des mutations pathogènes en génétique médicale sans connaissance à priori des gènes impliqués. L'objectif de ce projet est d'identifier les causes génétiques d'infertilité dans des groupes spécifiques d'hommes infertiles qui sont difficiles à analyser par les approches génétiques classiques. Les analyses vont inclure des individus présentant :

- (i) une azoospermie par arrêt en méiose
- (ii) une azoospermie par absence de cellules germinales (Sertoli cell Only)
- (iii) une tératozoospermie monomorphe
- (iv) une oligozoospermie avec anomalies de méthylation.

Nous proposons de réaliser un séquençage d'exome sur des échantillons d'ADN représentatifs de patients bien définis cliniquement et phénotypiquement dans chacun de ces groupes (total de 16 échantillons). L'Unité de Génétique du Développement Humain possède déjà une expertise dans ce domaine et maîtrise cette nouvelle technologie. L'ADN génomique est enrichi pour tous les exons puis le séquençage est réalisé en utilisant la technologie Life Sciences SOLiD system. Les analyses bioinformatiques complètes seront réalisées sur l'ensemble des datasets et les mutations pathogéniques potentielles identifiées seront validées par une confirmation moléculaire génétique ainsi que par des études fonctionnelles. Cette puissante approche devrait apporter un nouvel éclairage aux différentes formes d'infertilité masculine réfractaires jusqu'à présent aux analyses génétiques. Il en résultera de nouveaux diagnostics et de nouveaux tests pronostiques, fournissant de nouvelles informations sur la transmission et le risque de développer une infertilité aux générations futures issues des techniques d'Assistance Médicale à la Procréation.

Résultats

Hughes, I. A., Y. Morel, K. McElreavey, et A. Rogol. 2012. « Biological assessment of abnormal genitalia ». Journal of Pediatric Urology, Working Party on DSD Evaluation. Fondation Mérieux, Annecy, France, March 14–17, 2012, 8 (6): 592-96.

[Retour tableau](#)

Distribution de la consanguinité dans les communautés libanaises

SERRE Jean-Louis - Université de Versailles Saint Quentin en Yvelines

[Retour tableau](#)

Résumé

1- Contexte

Il peut être utile pour le conseil génétique et de l'AMP par fécondation in vitro, de disposer d'une mesure de la consanguinité afin de mieux évaluer des risques pathologiques et c'est une question récemment abordée par le groupe de travail « accueil de l'embryon » au sein de l'Agence de la Biomédecine.

Les mariages entre apparentés conduisent à la consanguinité de leurs descendants caractérisée par l'homozygotie par descendance (HBD : homozygote by descent) de nombreux segments du génome et à l'identité par descendance (IBD : identity by descent) du génotype pour de nombreux gènes.

Les tailles des zones HBD et la proportion du génome sous cet état augmentent avec la relation de parenté des conjoints, et la consanguinité augmente la fréquence des maladies récessives du fait de l'augmentation de la probabilité IBD aux locus des gènes impliqués dans ces maladies. L'estimation de la consanguinité « proche » résultant d'unions volontaires entre apparentés et de la consanguinité éloignée relevant de l'isolement populationnel et d'unions involontaires entre apparentés relève autant d'une finalité scientifique fondamentale (anthropologie, génétique des populations) que d'une finalité médicale et appliquée (santé publique, conseil génétique, AMP, évaluation des risques de pathologies récessives, cartographie des gènes impliqués dans celles-ci).

Les méthodes classiques d'évaluation de la consanguinité par l'analyse généalogique ou l'estimation des écarts à la panmixie pour des fréquences génotypiques de polymorphismes sont aujourd'hui relayées par des méthodes génomiques applicables à des centaines de milliers de polymorphismes de type SNP (single nucléotide polymorphism) dont les plus proches sont en déséquilibre de liaison et peuvent définir des blocs spécifiques d'un isolat. 2- Objectifs

Le premier objectif est d'étudier la distribution HBD dans les génomes individuels de la population libanaise et de comparer les résultats obtenus en fonction de l'appartenance communautaire qui a une réalité politique, historique et humaine dans ce pays, les communautés Maronite, Grecque orthodoxe, Sunnite et Chiite, éventuellement une cinquième, Druze.

Le second objectif, méthodologique vis-à-vis de l'approche classique de la mesure généalogique de la consanguinité proche, est de valider cette méthode d'estimation de la consanguinité globale via la distribution et la taille des zones génomiques HBD afin d'en faire un outil de génétique des populations applicable aux études de populations et en médecine (conseil génétique ou AMP). 3- Résultats attendus La réalisation des deux objectifs définis au paragraphe précédent.

4-Méthodologie

Le matériel est stocké dans la DNAtèque de l'unité de génétique médicale (UGM) de l'université Saint Joseph (USJ) de Beyrouth, partenaire de ce projet (échantillons d'ADN recueillis avec consentement pour la recherche).

L'analyse génomique a déjà commencé sur puces « Affymetrix cytogenetics 2.7 M arrays » et nécessite un complément de financement justifiant la demande de subvention à l'agence de la biomédecine.

Elle associe des partenaires spécialistes du domaine sur le plan théorique ou pratique.

Résultats

Jalkh, Nadine, Mourad Sahbatou, Eliane Chouery, André Megarbane, Anne-Louise Leutenegger, et Jean-Louis Serre. 2015. « Genome-wide inbreeding estimation within Lebanese communities using SNP arrays ». *European Journal of Human Genetics* 23 (10): 1364-69.

Poster

Etude de l'impact diagnostique d'une puce ADN conçue pour l'identification de remaniements génomiques associés à la déficience intellectuelle

JONVEAUX Philippe - CHU Nancy

[Retour tableau](#)

Résumé

Dans la pratique clinique, la déficience intellectuelle (DI) représente un motif des plus fréquents de demande de conseil génétique, et face à la très grande hétérogénéité génétique et allélique des DI, la question soulevée réside dans la stratégie optimale à proposer pour aboutir à un diagnostic étiologique. A ce jour, les techniques d'analyse globale du génome telle la CGH-array occupe une place privilégiée dans l'approche diagnostique. Notre projet de recherche s'inscrit dans une optique d'amélioration des techniques de diagnostic génétique de la DI. Nous envisageons l'évaluation d'une puce, correspondant à un microréseau de sondes de très haute résolution, ciblée sur les gènes de DI.

Notre raisonnement se base sur deux observations :

- à côté des déséquilibres exoniques, des anomalies siégeant dans les introns ou dans les régions intergéniques situées en amont et aval d'un gène peuvent contribuer à la dérégulation de son expression, via des anomalies de l'épissage, des altérations de séquences régulatrices situées à distance tels des enhancers ou silencers.
- le fait de cibler l'analyse sur des gènes connus pour être associés à la survenue d'une DI renforce l'implication d'un tel microremaniement à l'origine de la DI chez les individus étudiés

Actuellement, les puces utilisées à titre diagnostique reposent sur un microréseau d'oligonucléotides d'une résolution moyenne de 180K (type Agilent) avec une couverture très inégale et parfois incomplète des gènes de la DI. L'aspect novateur de la puce DIS (Déficience Intellectuelle Spécifique) porte sur sa conception couvrant à très haute résolution (1M), les exons, les introns et les régions en amont et aval les gènes de DI. La population étudiée portera sur une cohorte de 50 individus atteints d'une DI modérée à sévère non syndromique, sans anomalie génomique identifiée au préalable à l'aide d'une analyse sur microréseau 180K. Les objectifs se déclineront en :

- objectif primaire, principal de type diagnostique : apprécier la fréquence de microremaniement des gènes de DI, en tenant compte dans l'interprétation des résultats des analyses parentales s'agissant du caractère de novo de l'anomalie pour les DI dominantes, ou hérité dans les formes récessives.
- objectif secondaire : contribuer à identifier via cette puce DIS haute résolution de nouveaux mécanismes de dérégulation des gènes de la DI, avec notamment dans un second temps (hors projet) à titre plus cognitif des éventuels enhancers et ou silencers.

[Retour tableau](#)

Validation d'une approche diagnostique de référence pour le syndrome de Cockayne et les phénotypes apparentés

LAUGEL Vincent - Hôpitaux Universitaires de Strasbourg

[Retour tableau](#)

Résumé

Le syndrome de Cockayne est une maladie autosomique récessive principalement caractérisée par un retard staturopondéral, une atteinte neurologique et sensorielle et une photosensibilité cutanée. La sévérité et l'âge d'apparition des manifestations sont variables. Cette maladie rare (1/550 000 naissances en France) est liée à des mutations des gènes ERCC6/CSB ou ERCC8/CSA impliqués dans la voie de la réparation de l'ADN par excision de nucléotides (NER). Les patients atteints présentent un déficit spécifique de la voie de la réparation liée à la transcription (TCR: transcription coupled repair) qui peut être mis en évidence en mesurant la synthèse d'ARN dans les fibroblastes en culture après irradiation aux UV (test RRS Recovery RNA Synthesis).

Il n'existe pas à l'heure actuelle de réelle stratégie diagnostique validée pour le syndrome de Cockayne. Le criblage moléculaire permet le plus souvent un diagnostic fiable et rapide, accompagné d'un conseil génétique précis pour tous les membres de la famille. Il peut cependant être d'interprétation très délicate en présence de variants de pathogénicité inconnue, notamment en prénatal. Le test RRS se heurte quant à lui au manque de fiabilité et de reproductibilité de tout test cellulaire. L'offre diagnostique pour ce syndrome est par ailleurs très réduite avec seulement deux laboratoires européens assurant en routine les analyses moléculaires et/ou cellulaires. Notre objectif est donc de mettre au point, de valider et de promouvoir une stratégie complète regroupant les explorations moléculaires et cellulaires en pré et postnatal. Nous proposons d'utiliser les techniques de séquençage de nouvelle génération pour réaliser efficacement et au meilleur coût le criblage moléculaire des gènes impliqués dans le syndrome de Cockayne (séquençage sur puces à semi-conducteur après amplification multiplexe des régions à analyser). En parallèle, nous proposons de développer un test cellulaire de type RRS utilisant un marquage non radioactif sur différents types de lignées cellulaires. Ces approches moléculaire et cellulaire seront individuellement validées grâce à l'étude comparative d'une cohorte de patients connus (cohorte rétrospective) puis seront appliquées à une cohorte prospective estimée à une cinquantaine de patients par an. En effet, l'important rendement du séquençage nouvelle génération et la rapidité du test cellulaire non radioactif nous permettront d'ouvrir le recrutement non seulement aux patients répondant parfaitement aux critères cliniques du syndrome de Cockayne mais également aux formes cliniques moins typiques.

Enfin, nous souhaitons comparer la sensibilité et la spécificité des approches moléculaire et cellulaire dans le cadre du diagnostic prénatal, afin de définir la meilleure stratégie en termes de fiabilité des résultats et de rapidité de rendu. Nous souhaitons que cette offre diagnostique puisse contribuer à une meilleure reconnaissance de ce syndrome très probablement sous diagnostiqué en France, comme en témoigne l'incidence deux fois plus élevée dans d'autres pays européens comme le Royaume-Uni ou les Pays-Bas.

Résultats

Calmels, Nadège, Géraldine Greff, Cathy Obringer, Nadine Kempf, Claire Gasnier, Julien Tarabeux, Marguerite Miguet, et al. 2016. « Uncommon nucleotide excision repair phenotypes revealed by targeted high-throughput sequencing ». Orphanet Journal of Rare Diseases 11: 26.

Poster

V – Poster résumé des travaux



Cockayne syndrome and DNA repair disorders :

high-throughput sequencing expands the spectrum of neurological phenotypes

Laugel V.^{1,2}, Greff G.³, Obringer C.², Gener Querol B.⁴, Mazur A.⁵, Sabouraud P.⁶, Calmels N.³

¹ Department of Pediatrics, Strasbourg University Hospital, FRANCE; ² Laboratory of Medical Genetics, Strasbourg, FRANCE; ³ Genetic Diagnostic Laboratory, Strasbourg University Hospital, FRANCE; ⁴ BioCruces Health Research Institute, Genetics Department, Cruces University Hospital, Bizkaia, SPAIN; ⁵ Medical Faculty, University of Rzeszow, POLAND; ⁶ Department of Pediatrics, Reims University Hospital, FRANCE

Objective : Cockayne syndrome (CS) is an autosomal recessive leukodystrophy and multisystem disorder characterized by mental retardation, microcephaly, severe growth failure, sensorial impairment, peripheral neuropathy and cutaneous photosensitivity. It belongs to the family of DNA repair and transcription disorders together with xeroderma pigmentosum (XP) and trichothiodystrophy. These conditions are specifically associated with various genetic defects in the nucleotide excision repair pathway (NER) and have overlapping clinical phenotypes. Clinical and genetic diagnosis still remains challenging. Our goal was to develop a unique and efficient mutation-screening strategy for Cockayne syndrome and related disorders and to improve our understanding of the clinical spectrum of these disorders.

Methods : We have designed a novel targeted high-throughput sequencing approach for the diagnosis of Cockayne syndrome and related DNA repair disorders (multiplex amplification approach on Ion Torrent). Sixteen genes of interest involved in the NER pathway have been included in our design (453 amplicons). This strategy was validated in a well-studied cohort of 11 patients already tested by Sanger sequencing. We have then studied 30 consecutive patients presenting with the cardinal clinical features of Cockayne syndrome or related DNA repair disorders who had been referred to our laboratory for diagnostic analysis.

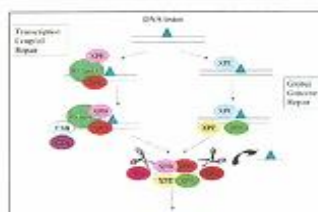


Fig 1. Nucleotide excision repair pathway.

Official gene symbol	Legacy name	# Exons
CSB1	CSB	17
CSB2	CSB	17
XPB1	XPB	13
XPB2	XPB	13
ERCC1	ERCC1	13
ERCC2	ERCC2	13
ERCC3	ERCC3	13
ERCC4	ERCC4	13
ERCC5	ERCC5	13
ERCC6	ERCC6	13
ERCC7	ERCC7	13
ERCC8	ERCC8	13
ERCC9	ERCC9	13
ERCC10	ERCC10	13
ERCC11	ERCC11	13
ERCC12	ERCC12	13
ERCC13	ERCC13	13
ERCC14	ERCC14	13
ERCC15	ERCC15	13
ERCC16	ERCC16	13
ERCC17	ERCC17	13
ERCC18	ERCC18	13
ERCC19	ERCC19	13
ERCC20	ERCC20	13
ERCC21	ERCC21	13
ERCC22	ERCC22	13
ERCC23	ERCC23	13
ERCC24	ERCC24	13
ERCC25	ERCC25	13
ERCC26	ERCC26	13
ERCC27	ERCC27	13
ERCC28	ERCC28	13
ERCC29	ERCC29	13
ERCC30	ERCC30	13
ERCC31	ERCC31	13
ERCC32	ERCC32	13
ERCC33	ERCC33	13
ERCC34	ERCC34	13
ERCC35	ERCC35	13
ERCC36	ERCC36	13
ERCC37	ERCC37	13
ERCC38	ERCC38	13
ERCC39	ERCC39	13
ERCC40	ERCC40	13
ERCC41	ERCC41	13
ERCC42	ERCC42	13
ERCC43	ERCC43	13
ERCC44	ERCC44	13
ERCC45	ERCC45	13
ERCC46	ERCC46	13
ERCC47	ERCC47	13
ERCC48	ERCC48	13
ERCC49	ERCC49	13
ERCC50	ERCC50	13
ERCC51	ERCC51	13
ERCC52	ERCC52	13
ERCC53	ERCC53	13
ERCC54	ERCC54	13
ERCC55	ERCC55	13
ERCC56	ERCC56	13
ERCC57	ERCC57	13
ERCC58	ERCC58	13
ERCC59	ERCC59	13
ERCC60	ERCC60	13
ERCC61	ERCC61	13
ERCC62	ERCC62	13
ERCC63	ERCC63	13
ERCC64	ERCC64	13
ERCC65	ERCC65	13
ERCC66	ERCC66	13
ERCC67	ERCC67	13
ERCC68	ERCC68	13
ERCC69	ERCC69	13
ERCC70	ERCC70	13
ERCC71	ERCC71	13
ERCC72	ERCC72	13
ERCC73	ERCC73	13
ERCC74	ERCC74	13
ERCC75	ERCC75	13
ERCC76	ERCC76	13
ERCC77	ERCC77	13
ERCC78	ERCC78	13
ERCC79	ERCC79	13
ERCC80	ERCC80	13
ERCC81	ERCC81	13
ERCC82	ERCC82	13
ERCC83	ERCC83	13
ERCC84	ERCC84	13
ERCC85	ERCC85	13
ERCC86	ERCC86	13
ERCC87	ERCC87	13
ERCC88	ERCC88	13
ERCC89	ERCC89	13
ERCC90	ERCC90	13
ERCC91	ERCC91	13
ERCC92	ERCC92	13
ERCC93	ERCC93	13
ERCC94	ERCC94	13
ERCC95	ERCC95	13
ERCC96	ERCC96	13
ERCC97	ERCC97	13
ERCC98	ERCC98	13
ERCC99	ERCC99	13
ERCC100	ERCC100	13

Table 1. Genes included in the targeted high-throughput sequencing approach.

	Cockayne syndrome	CSB syndrome	Trichothiodystrophy	Xeroderma pigmentosum	UV-sensitive syndrome
Growth failure	++	++	+	+	+
Microcephaly	++	++	+	+	+
Mental retardation	++	++	+	+	+
Protein degeneration	+	+	+	+	+
Cataracts	+	+	+	+	+
Deafness	+	+	+	+	+
Photosensitivity	+	+	+	+	+
Brittle hair	+	+	+	+	+
Cancer	+	+	+	+	+

Table 2. Clinical symptoms of DNA repair (NER) disorders.

Results : We have identified the causative mutations in 14 of the 30 patients. Three patients showed biallelic mutations in the ERCC6/CSB gene. 2 patients in the ERCC8/CSA gene : most patients had classical Cockayne phenotype with growth failure, microcephaly, mental retardation, pyramidal and extra-pyramidal signs, neurosensory impairment but some had very mild and incomplete phenotypes, with inconclusive functional assays on fibroblasts. Six patients with classical XP phenotype had biallelic mutations in the POLH gene. Interestingly, our results also revealed unexpected findings of XPD, XPB and XPG mutations in a case of UV-sensitive syndrome and 2 cases of mixed XP/CS phenotypes (1 patient in the ERCC3/XPD gene, 1 in the ERCC5/XPG). These patients had combined phenotypes with pigimentary changes on the skin and some neurological / sensorial features of Cockayne syndrome.

Patient #	Gender	Mental retardation	Growth failure	Microcephaly	Photosensitivity	Neuro-sensorial impairment	Cancer	Mutated gene	Final diagnosis
1	M	+	+	+	+	+	+	ERCC6/CSB	CS
2	M	+	+	+	+	+	+	ERCC6/CSB	CS
3	F	+	+	+	+	+	+	ERCC6/CSB	CS
4	F	+	+	+	+	+	+	ERCC6/CSB	CS
5	M	+	+	+	+	+	+	ERCC6/CSB	CS
6	M	+	+	+	+	+	+	ERCC6/CSB	CS
7	M	+	+	+	+	+	+	ERCC6/CSB	CS
8	F	+	+	+	+	+	+	ERCC6/CSB	CS
9	F	+	+	+	+	+	+	ERCC6/CSB	CS
10	M	+	+	+	+	+	+	ERCC6/CSB	CS
11	F	+	+	+	+	+	+	POLH	XP
12	F	+	+	+	+	+	+	POLH	XP
13	F	+	+	+	+	+	+	POLH	XP
14	M	+	+	+	+	+	+	POLH	XP

Table 3. Clinical symptoms and genetic defects in the 14 elucidated patients.

Conclusion and take-home message

We believe that this novel approach is the appropriate answer to a puzzling diagnostic challenge in patients who combine specific neurological, dermatological and growth features. This approach is able to quickly confirm the molecular diagnosis for classical presentations of Cockayne syndrome and xeroderma pigmentosum and is also able to unravel unexpected phenotypes with combined features or very mild symptoms.

Cutaneous photosensitivity / pigimentary changes
and/or
Growth failure
+ neurological symptoms (mental retardation, even mild) → DNA repair disorders



Fig. 3. Clinical pictures of patient 3 and patient 10.



Fig. 4. Brain MRI of patient 3 (sagittal T1 and axial T2-Flair).

Séquençage à haut débit et diagnostic de la déficience intellectuelle (retard mental)

MANDEL Jean-Louis - Centre européen de recherche en Biologie et en médecine, CERBM

[Retour tableau](#)

Résumé

Plus de 200 gènes sont impliqués dans les formes monogéniques de déficience intellectuelle (DI) / retard mental (RM), et environ une centaine d'entre eux sont situés sur le chromosome X. La moitié des gènes liés à l'X est responsable de formes non ou pauvrement syndromiques, tandis que l'autre moitié est responsable de formes généralement syndromiques, mais responsables aussi dans quelques cas de formes appartenant à la définition non syndromique, en raison de la présence de mutations « douces » et / ou d'une pénétrance incomplète des signes cliniques associés au syndrome. Le diagnostic est assez simple pour les patients avec des formes syndromiques évocatrices telles que le syndrome de Coffin-Lowry (RSK2), les syndromes ATRX et ARX ou bien les patients atteints de maladies métaboliques. En revanche, pour les patients qui ne présentent pas de symptômes clairement évocateurs d'un syndrome en particulier, le diagnostic est limité aux tests de l'X fragile et à une analyse par CGH array. La majorité des cas de DI nonsyndromique restent donc non diagnostiquée. Nous proposons de concevoir une capture d'exon pour le séquençage à haut débit de 220 gènes clairement impliqués dans la DI. Nous allons développer et valider des stratégies de « pooling » de manière à réduire les coûts, et des stratégies d'analyse des variants pour permettre une interprétation rapide des résultats. Ces deux mises au point sont en effet nécessaires pour la mise en place d'une utilisation routinière de la technique en diagnostic génétique. Nous avons entrepris une telle étude de diagnostic par séquençage haut débit sur le cas « simple » du syndrome de Bardet-Biedl pour lequel 16 gènes seulement sont responsables de 80% des cas, et les résultats sont plus qu'encourageants. Nous souhaitons maintenant évaluer cette stratégie pour la DI, maladie beaucoup plus complexe et beaucoup plus fréquente, de manière à mettre en place un dépistage pour les échantillons de patients négatifs pour l'X fragile et les tests de CGH-array qui sont reçus chaque année dans notre laboratoire de diagnostic (hôpital de l'université de Strasbourg) et dans d'autres laboratoires en France. En plus du développement d'un test diagnostique pour l'ensemble de ces cas sporadiques, cette étude permettra de mieux évaluer quelle est la contribution de chaque gène à la DI sporadique, et pourra révéler des corrélations génotype / phénotype cliniquement pertinentes, utiles pour améliorer les soins médicaux et / ou pédagogiques pour les différents patients atteints de DI, suivant leur diagnostic génétique.

Résultats

Calmels, Nadège, Géraldine Greff, Cathy Obringer, Nadine Kempf, Claire Gasnier, Julien Tarabeux, Marguerite Miguet, et al. 2016. « Uncommon nucleotide excision repair phenotypes revealed by targeted high-throughput sequencing ». Orphanet Journal of Rare Diseases 11: 26. <https://doi.org/10.1186/s13023-016-0408-0>.

Piton, Amélie, Hélène Poquet, Claire Redin, Alice Masurel, Julia Lauer, Jean Muller, Julien Thevenon, et al. 2014. « 20 Ans Après: A Second Mutation in MAOA Identified by Targeted High-Throughput Sequencing in a Family with Altered Behavior and Cognition ». European Journal of Human Genetics 22 (6): 776-83. <https://doi.org/10.1038/ejhg.2013.243>.

Piton, Amélie, Claire Redin, et Jean-Louis Mandel. 2013. « XLID-Causing Mutations and Associated Genes Challenged in Light of Data from Large-Scale Human Exome Sequencing ». American Journal of Human Genetics 93 (2): 368-83. <https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2013.06.013>.

[Retour tableau](#)

Etude pilote de mise en place du diagnostic des myopathies et dystrophies musculaires par séquençage haut débit

COSSEE Mireille - CHU Montpellier, INSERM

[Retour tableau](#)

Résumé

Les myopathies et dystrophies musculaires constituent un ensemble de pathologies phénotypiquement et génétiquement hétérogènes. Plus de 70 gènes sont actuellement identifiés. Le diagnostic étiologique, orienté par des critères cliniques et paracliniques, repose sur la mise en évidence de l'anomalie protéique et la caractérisation de la (les) mutation(s) affectant le gène correspondant. Le diagnostic génétique repose sur une recherche de mutation gène par gène, elle peut être longue voire infructueuse, certains gènes n'étant pas analysés en raison de leur grande taille et de la lourdeur du séquençage classique. Dans environ 50% des cas, l'anomalie moléculaire n'est pas identifiée, rendant impossible un conseil génétique fiable dans la famille. L'avènement du séquençage nouvelle génération (Next Generation Sequencing-NGS) va révolutionner les pratiques diagnostiques pour les pathologies génétiquement hétérogènes puisque il va permettre d'analyser en un seul temps un grand nombre de gènes et de réaliser une recherche exhaustive de mutations. L'amélioration du diagnostic sera bénéfique pour le patient, en donnant un nom à sa maladie et en lui permettant l'accès à d'éventuels traitements spécifiques, ainsi qu'à sa famille qui pourra bénéficier d'un conseil génétique fiable et accéder si elle le souhaite à un diagnostic prénatal voire un diagnostic préimplantatoire. Toutefois, les études publiées concernent principalement des projets de recherche, et très peu l'application au diagnostic. Le séquençage du génome complet n'étant pas encore accessible en routine, les stratégies actuelles font appel à une sélection préalable de séquences exoniques, soit exome total (l'ensemble des exons du génome) soit capture ciblée de certains gènes. Nous proposons dans ce projet de réaliser dans un premier temps une étude comparative de fiabilité de différentes technologies sur quatre échantillons d'ADN contrôles (porteurs de mutations et de polymorphismes connus dans le gène DMD). Nous comparerons ensuite deux stratégies de capture (exome total versus exome ciblé des gènes connus et candidats de myopathies et dystrophies musculaires) par l'analyse de 10 patients décédés en période néonatale d'une pathologie neuromusculaire d'étiologie non déterminée. Une difficulté majeure du NGS réside dans l'interprétation du caractère pathogène des variants identifiés (environ 15 000 SNV-Single Nucleotide Variants- par exome, dont 1500 ne sont pas répertoriés dans les bases de données). Nous testerons différents logiciels d'analyse et stratégies de filtrage des données, afin d'identifier la stratégie la plus efficace pour la détermination de l'anomalie moléculaire en cause chez ces patients. Le but du projet est d'apporter un diagnostic étiologique à ces familles et de leur permettre l'accès à un conseil génétique fiable. Il constituera également une « preuve de principe » pour la mise en place du diagnostic par NGS des pathologies neuromusculaires congénitales dans notre laboratoire.

Poster

Information de la parentèle en génétique : enjeux et mise en œuvre de cas de maladie génétique à caractère familial

DE MONTGOLFIER Sandrine - IRIS

[Retour tableau](#)

Résumé

La loi de bioéthique de 2004 révisée en 2011 prévoit lors de tout examen des caractéristiques génétiques d'une personne, une information et une procédure de transmission de cette information à la parentèle du patient, si une anomalie génétique grave, pour laquelle il existe des mesures de prévention ou de soins, était diagnostiquée. L'objectif de ce projet est d'étudier la mise en œuvre de cette information de la parentèle aux regards des évolutions de la loi de 2011 et des attentes des différents acteurs concernant les maladies génétiques familiales. L'information à la parentèle d'un résultat d'un test génétique est une question ancienne qui a souvent conduit à des débats autour de l'importance de cette transmission dans les cas où des vies humaines pourraient être sauvées, mais aussi de la légitimité d'une telle transmission dans les autres cas, du conflit qui l'oppose au respect du secret médical, de la responsabilité pouvant reposer sur les personnes impliquées dans cette procédures d'information. Cette recherche consistera à étudier les conditions de réalisation de la transmission d'une information génétique obtenue pour un patient, sujet index, aux membres de la famille : information donnée par le généticien, support documentaire, vocabulaire employé et justification, modalité de la transmission par les patients, par les professionnels, implication possibles des associations de patients Nous nous proposons d'analyser cette question éthique sous les trois angles disciplinaires suivant :

- L'analyse juridique : qui permettra d'explorer 1/la question de la responsabilité mettant en perspective les choix juridiques réalisés en France avec les positions prises à l'étranger et en particulier en Amérique du Nord ; 2/les conditions d'applicabilité de la loi actuelle, Ces travaux seront menés dans le contexte actuel d'adoption du décret d'application de la loi de bioéthique sur les tests génétiques.

- L'étude de la posture déclarative de l'ensemble des acteurs de l'information de la parentèle (professionnels, institutionnels et associatifs) afin de mieux cerner la position des généticiens sur cette

question éthique. Nous souhaitons à l'aide d'une étude empirique par questionnaire leur donner la parole et leur permettre d'exprimer leurs questions, de témoigner de leur pratique antérieure ou non à la loi et de les inviter à expliciter leur perception des enjeux éthiques de cette pratique.

- Le vécu des acteurs sur le terrain par une analyse de type ethnographique explorant la perception des patients, de leur famille et des professionnels du service, et les questions éthiques associées en fonction des pathologies et de leur incidence familiale : l'enquête aura lieu dans deux services de génétiques autour de trois maladies génétiques différentes.

- Unité des maladies génétiques du globule rouge (UMGGR)- médecine interne. Hôpital Henri Mondor (Créteil). Service dirigé par les Pr Frédéric Galactéros. Nous avons défini avec l'équipe de travailler sur les maladies génétiques suivantes : l'hémochromatose et la drépanocytose.

- Département de Biologie des tumeurs - Service Génétique. Institut Curie. Chef de département. Pr Dominique Stoppa Lyonnet. Nous avons défini avec l'équipe de travailler sur les cancers du sein et de l'ovaire d'origine génétique : mutation BRCA1 et BRCA2

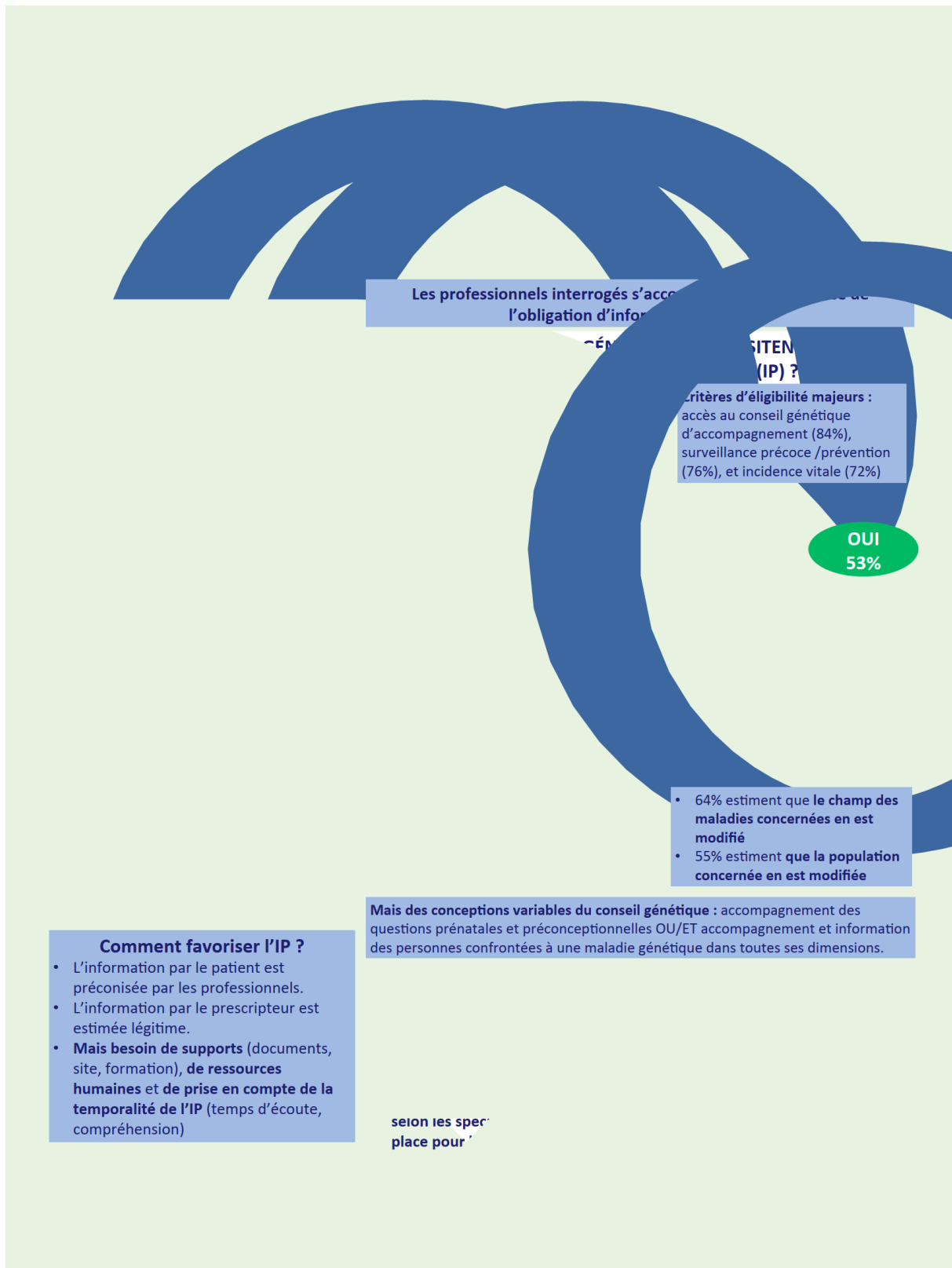
La finalité de ce projet serait en fonction des résultats de construire et d'élaborer avec des généticiens cliniciens les modalités de l'information de la parentèle : critères, support, ressources ...

Résultats

D' Audiffret Van Haecke, Diane, et Sandrine de Montgolfier. 2016. « Genetic Test Results and Disclosure to Family Members: Qualitative Interviews of Healthcare Professionals' Perceptions of Ethical and Professional Issues in France ». *Journal of Genetic Counseling* 25 (3): 483-94.

Haecke, Diane d'Audiffret Van, et Sandrine de Montgolfier. 2018. « Genetic Diseases and Information to Relatives: Practical and Ethical Issues for Professionals after Introduction of a Legal Framework in France ». *European Journal of Human Genetics* 26 (6): 786-95.

Poster



[Retour tableau](#)

Diagnostic des maladies rares autosomiques récessives : apport du séquençage haut débit (NGS) pour le conseil génétique des cas sporadiques

LE MARECHAL Cédric - Université de Brest

[Retour tableau](#)

Résumé

Suspectée depuis longtemps, l'implication de la génétique dans les anomalies du développement ne cesse de se confirmer grâce aux nouvelles technologies d'analyses génomiques de type pangénomique (CGH-array, séquençage d'exome) qui sont entrées, ou commencent à être utilisées, comme tests diagnostiques de routine. Le dépistage des malformations par échographie fœtale est le principal motif de délivrance d'attestations d'interruption de grossesse pour motif médical (3145 en 2010 en France). Les analyses cytogénétiques prescrites dans cette situation identifient une anomalie dans 8 à 35 % des cas et des travaux récents confirment que la CGH-array a la capacité de détecter 6% d'anomalies supplémentaires. Le conseil génétique proposé lors du bilan étiologique post-natal des troubles des acquisitions ou du développement a pour objectif d'évaluer le risque de récurrence chez les couples demandeurs d'un recours au diagnostic anténatal. Dans ce contexte, le dépistage d'anomalies chromosomiques par CGH-array identifie une anomalie dans 15% des cas.

En l'état actuel des connaissances, la détection d'un remaniement chez le cas index, l'étude de la transmission intra-familiale du remaniement est au centre de l'interprétation du résultat en considérant qu'une anomalie chromosomique transmise par un parent de phénotype normal est un argument pour rassurer ces familles quant au rôle pathologique de l'anomalie identifiée. Toutefois, nous émettons l'hypothèse que certaines situations diagnostiques seraient des maladies rares autosomiques récessives composites (réarrangement et mutation ponctuelle en Trans) dont le risque de récurrence serait alors de 25% à chaque grossesse. L'arrivée du séquençage haut débit aussi appelé NGS (Next Generation Sequencing) rend désormais possible l'identification des gènes de maladies dans des situations jusqu'alors inenvisageables.

Dans ce travail, nous proposons d'intégrer l'identification de mutations ponctuelles par séquençage massivement parallèle (NGS) en complément des analyses cytogénétiques utilisées en diagnostic de routine (caryotype standard ou CGH-array). L'objectif principal de ce travail pilote est de tenter d'identifier un deuxième allèle muté en Trans d'un remaniement, synonyme de pathologie autosomique récessive, en focalisant l'analyse dans les séquences remaniées ; un reséquençage systématique sera réalisé par NGS ciblé sur tous les exons et les séquences manquantes des gènes annotés dans ces loci. Les objectifs secondaires seront : 1) de montrer la faisabilité du NGS en routine diagnostique, 2) préciser les arbres décisionnels 3) appréhender l'interprétation et le rendu des résultats 4) contribuer à la connaissance des maladies rares.

Dans cette étude rétrospective nous avons sélectionné 15 cas qui représentent le groupe de patients avec un fort potentiel pour l'identification d'un deuxième allèle muté. Tous représentent un phénotype pathologique assez sévère et sont porteurs de variants du nombre de copies (CNV) récurrents considéré comme pathologique car contenant un ou plusieurs gènes rapportés dans la littérature comme associés à un phénotype particulier ou d'une translocation ou inversion. Le prolongement de ce travail, selon les résultats et contraintes techniques, sera d'appliquer la stratégie diagnostique (combinaison cytogénétique et NGS) que nous proposons de mettre en œuvre dans ce projet en prospectif et dans des situations d'urgence diagnostique (femmes enceintes).

[Retour tableau](#)

Diagnostic des réarrangements chromosomiques et des mutations par séquençage haut-débit

CALLIER Patrick - CHU DIJON

[Retour tableau](#)

Résumé

Dans le génome humain, les micro-remaniements chromosomiques se présentent, entre autre, sous forme de moyennes ou grandes délétions et/ou duplications, appelées CNV (copy-number variant). L'ensemble de ces variations contribue en partie aux différences phénotypiques normales de la population générale mais peut être aussi à l'origine de maladies génétiques. Jusqu'à présent, ces CNV sont mis en évidence par les techniques de CGH-array et/ou de SNP-array. Avec l'apparition de nouvelles technologies comme le séquençage haut-débit (Next Generation Sequencing ou NGS), qui a permis l'identification de nouveaux gènes impliqués dans des maladies monogéniques, de nouveaux champs d'application sont apparus. Cette technologie permet depuis peu, à l'aide de nouveaux algorithmes, la détection de CNV pour l'instant uniquement testés sur des plateformes de séquençage haut-débit de type HiSeq. Cette technique demande à être optimisée et standardisée sur un appareil NGS de type MiSeq, maintenant mis à disposition dans tous les laboratoires de génétique moléculaire de France grâce au plan maladies rares 2, les plateformes de séquençage haut débit de type HiSeq restant rares.

L'objectif de ce travail est

- 1) De démontrer la possibilité d'identifier des réarrangements chromosomiques ou CNV exoniques détectés par la CGH-array, en utilisant la technique de séquençage d'exome avec algorithmes spécifiques sur MiSeq, à partir d'un échantillon de patients porteurs de CNVs connus non pathogènes
- 2) De démontrer la supériorité de cette technologie en identifiant des remaniements exoniques de petite taille non détectés par CGH-array, mais aussi dans le même temps de mettre en évidence des mutations ponctuelles exoniques

Pour cela, nous proposons de réaliser un séquençage d'exome sur Miseq à partir de 23 patients porteurs d'une déficience intellectuelle syndromique. En faisant l'hypothèse que cette technique permettra dans au moins 95% des cas avec une précision de $\pm 15\%$ de mettre en évidence la présence d'un ou plusieurs CNVs, 23 patients seront nécessaires à cette étude. Les données générées seront analysées à l'aide de logiciel permettant la détection couplée des CNV et des SNV.

En parallèle les données d'exomes de 23 patients pour lesquelles une analyse d'exome à déjà été réalisé sur Hiseq par notre équipe de recherche seront analysées.

Ces patients auront bénéficié au préalable d'une CGH-array sur la plateforme de CGH-array de DIJON (180K Agilent avec une résolution de 22kb), qui aura été interprétée comme normale car sans variant pathogène pouvant expliquer le phénotype du patient, mais pour laquelle des variants polymorphes auront été détectés (environ une quinzaine de CNV >20kb connus dans la DGV), permettant de s'assurer que les nouveaux algorithmes ne passent pas à côté de variants connus. Les données de Séquençage haut-débit seront analysées dans le département de Génétique de Dijon qui possède déjà une expertise dans ce domaine et maîtrise cette nouvelle technologie.

L'acquisition d'un MiSeq a été possible grâce au PNMR2. L'analyse bio-informatique sera réalisée avec l'algorithme CoNIFER permettant une quantification du nombre de copies et une détection des CNVs rares <20 Kb (Krumm et al., 2012), et une recherche de mutations ponctuelles sera réalisée en parallèle avec l'algorithme GATK, à partir de la plateforme de bio-informatique du CHU de Dijon et de l'université de Bourgogne mise en place en 2012.

En conclusion, cette étude préliminaire, grâce à une analyse bio-informatique adaptée, permettra en une seule phase la détection de mutations et de réarrangements chromosomiques (ou CNV) chez des patients présentant une déficience intellectuelle syndromique. Cette technique permettra d'optimiser et standardiser cette méthode pour l'étude des CNVs sur un appareil NGS mis à disposition dans tous les laboratoires de génétique moléculaire de France grâce au PNMR2, dans l'intérêt de tous les laboratoires de génétique humaine de France.

[Retour tableau](#)

Evaluation d'une stratégie de diagnostic génétique des troubles du spectre autistiques avec ou sans déficience intellectuelle

MANDEL Jean-Louis - IGBMC

[Retour tableau](#)

Résumé

L'autisme est considéré comme un problème majeur de santé publique par sa fréquence et son impact sur les patients et leurs familles. Le diagnostic de trouble du spectre autistique (TSA) regroupe des troubles très hétérogènes, tant en ce qui concerne les manifestations et comorbidités cliniques associés (avec ou sans déficience intellectuelle, DI, par exemple) que les mécanismes génétiques impliqués. Contrairement à la DI modérée ou sévère, où l'on connaissait l'importance des causes monogéniques et des anomalies chromosomiques, les TSA ont longtemps été considérées comme majoritairement multifactoriels/multigéniques, impliquant des facteurs de risque fréquents dans la population. Cela a conduit à mener de nombreuses études de liaison et d'association sur génome entier, dont les résultats ont été décevants, avec des loci identifiés mais peu répliqués. Avec l'avènement des analyses en CGH array et du séquençage de gènes candidats à partir 2005, puis des exomes en 2012, le rôle de variants rares de novo (SNVs ou CNVs) comme événements causaux chez certains patients a été validé. Ceci a des implications diagnostiques majeures. L'identification d'un événement causal est important pour la famille car cela fournit une première explication aux problèmes de l'enfant, diminue la culpabilité, et permet le conseil génétique. Cela peut permettre une meilleure prise en charge du patient, en anticipant le développement de possibles comorbidités, ou, dans des cas encore trop rares, de suggérer des options thérapeutiques spécifiques. Toutefois, les études de grandes cohortes par séquençage d'exomes ou par CGH n'ont pas différencié entre TSA avec ou sans DI, et pour les exomes, sont axées majoritairement sur la détection de variants de novo. Le séquençage d'exome qui nécessite l'analyse en trio parent-enfant, est encore trop coûteux pour être utilisé en test de routine, et environ 20 % des régions ne sont pas suffisamment couvertes. Nous avons récemment montré que le séquençage ciblé des régions codantes de 220 gènes impliqués dans la DI permet d'établir un diagnostic étiologique fiable dans 24-28 % de patients avec DI. Nous voulons maintenant tester la fréquence des mutations causales qui peuvent être trouvés chez des patients avec TSA, et si le rendement diagnostique est ou non inférieur chez les individus présentant un autisme « haut-niveau » sans atteinte des fonctions cognitives comparé à ceux qui présentent un autisme associé à la DI. Nous utiliserons une version améliorée avec plus de 300 gènes du panel utilisé avec succès pour le diagnostic de la DI. Les variants potentiellement pathogènes seront testés par séquençage Sanger (ou qPCR pour les CNVs exoniques) chez les parents, frères et sœurs atteints ou non-atteints. En accord avec le consentement éclairé signé, un diagnostic individuel pourra être rendu. Ces travaux devraient permettre de déterminer l'efficacité et le coût de cette approche ciblée pour le diagnostic des TSA avec et sans DI.

Résultats

Quartier, Angélique, Hélène Poquet, Brigitte Gilbert-Dussardier, Massimiliano Rossi, Anne-Sophie Casteleyn, Vincent des Portes, Claire Feger, et al. 2017. « Intragenic FMR1 Disease-Causing Variants: A Significant Mutational Mechanism Leading to Fragile-X Syndrome ». *European Journal of Human Genetics* 25 (4): 423-31.

[Retour tableau](#)

Approches pangénomiques et séquençage de l'exome entier dans les maladies orphelines neuropédiatriques dans l'errance diagnostique

MELKI Judith - INSERM, Génomique, facteurs environnementaux et biothérapie des maladies endocriniennes et neurologiques, hôpital Bicêtre

[Retour tableau](#)

Résumé

Les approches pangénomiques (cartographie génétique et détection des microremaniements) et le séquençage de l'exome entier ont bouleversé notre capacité à identifier de nouveaux gènes de maladies monogéniques ces dernières années. Le séquençage haut débit de gènes ciblés correspondant à des phénotypes précis (retard mental, ataxie, myopathies) se met progressivement en place dans le cadre d'une activité de diagnostic.

Néanmoins, chez de nombreux patients atteints de maladies orphelines à phénotype singulier qui ne rentre pas dans le cadre des affections sus-citées, ces nouvelles technologies ne sont pas proposées. Dans le cadre d'une activité de recherche pilote entre l'équipe de recherche en génomique (UMR986), l'unité de génétique médicale (responsable Pr J Melki) et le service de neuropédiatrie de l'hôpital Bicêtre (chef de service : Pr P Aubourg), nous avons testé ces approches (cartographie génétique par microarray seule ou combinée au séquençage de l'exome entier) chez 8 familles multiplex ou consanguines affectées par des maladies neuropédiatriques non diagnostiquées. Les mutations en cause ont été identifiées chez 6 familles, validées au titre du diagnostic et rendues aux familles. Pour l'une des familles, des mutations du gène SLC52A3 ont été mises en évidence et ont permis l'administration de riboflavine ce qui a permis de reverser progressivement le phénotype musculaire y compris respiratoire. Une approche similaire a été menée en parallèle par l'unité de génétique médicale (responsable J Melki) au Centre Hospitalier Sud Francilien et a permis le diagnostic génétique de 6 familles sur les 11 analysées. Chez 2 des 11 familles, deux nouveaux gènes très candidats ont été identifiés. Ces résultats démontrent que cette approche permet dans 65% des cas d'établir un diagnostic, proposer un conseil génétique et dans certains cas un traitement.

Le projet a pour but la mise en place d'une plateforme de génomique clinique sur le CHU de Bicêtre pour le diagnostic génétique des affections orphelines neuropédiatriques dans l'errance diagnostique dans les formes multiplex ou consanguines. Cette plateforme bénéficiera du recrutement exceptionnel de patients, d'un phénotypage précis dans le service de neuropédiatrie. Après discussion des dossiers pour l'inclusion des familles dans le protocole (après recueillement des consentements), la cartographie génétique des loci morbides par microarray, le séquençage de l'exome entier (si nécessaire) puis l'analyse bioinformatique des données et la validation des variants par séquençage Sanger ou PCR-temps réel seront effectuées.

Cette étude permettra d'estimer sur une cohorte plus large (total: 40 familles) le pourcentage de succès dans l'identification du gène en cause, l'évaluation comparée des coûts d'une stratégie génétique ciblée (gène par gène) ou non ciblée telle que nous la proposons.

Résultats

Kauskot, Alexandre, Tiffany Pascreau, Frédéric Adam, Arnaud Bruneel, Christelle Reperant, Marc-Damien Lourenco-Rodrigues, Jean-Philippe Rosa, et al. 2018. « A Mutation in the Gene Coding for the Sialic Acid Transporter SLC35A1 Is Required for Platelet Life Span but Not Proplatelet Formation ». *Haematologica* 103 (12): e613-17.

[Retour tableau](#)

Validation du diagnostic moléculaire par séquençage haut débit ciblé des rétinopathies pigmentaires

MULLER Jean - CHRU Strasbourg

[Retour tableau](#)

Résumé

Les Rétinopathies Pigmentaires (RP) sont des affections génétiques qui entraînent une dégénérescence rétinienne conduisant à une malvoyance sévère et constituent la première cause de consultation dans les centres de référence dédiés à la génétique ophtalmologique. Ces maladies rares sont caractérisées par une triple hétérogénéité (clinique, génétique et moléculaire), qui a rendu leur diagnostic moléculaire inaccessible par les techniques traditionnelles de séquençage par le nombre très important de gènes à tester (>200).

L'avènement du séquençage haut-débit (NGS) et de la capture ciblée ouvre des perspectives inespérées d'investigations et in fine d'amélioration de la prise en charge des patients. Le laboratoire de diagnostic génétique des HUS a récemment utilisé et validé cette technologie sur 2 groupes de maladies rares (ciliopathies et déficience intellectuelle) avec des résultats très prometteurs sur >180 patients (Redin et al, 2012, Piton et al en cours).

Ce projet propose d'étudier l'épidémiologie moléculaire et génétique d'une cohorte de patients atteints de RP issus du centre de référence affections rares en génétique ophtalmologique (CARGO, Strasbourg). Les patients bénéficieront d'un phénotypage rétinien détaillé (acuité visuelle, champ visuel, photographies du fond d'œil, OCT et ERG). Leur ADN sera analysé par NGS ciblé sur les ~200 gènes connus (<https://sph.uth.edu/retnet1>) Cette étape nécessitera diverses investigations pour le design du test, l'analyse génétique et la validation bioinformatique des résultats. La demande effectuée sur cet appel d'offre vis la mise au point fine des paramètres techniques attendant au NGS.

A terme, cette recherche permettra une étude d'épidémiologie moléculaire sur une cohorte à comparer aux publications récentes sur la fréquence des gènes impliqués. Le bénéfice pour les patients sera majeur pour: établir un mode de transmission de la maladie et optimiser le conseil génétique (actuellement très empirique) ; établir des corrélations phénotypes-génotype au sein de la population française (très peu d'études à ce jour) et par rapport aux données de la littérature internationale; identifier les patients susceptibles d'être inclus dans des protocoles futurs de recherche thérapeutique; identifier les patients avec un potentiel important pour des projets ultérieurs d'identification de nouveaux gènes.

Cette étude pilote réalisée sur une cohorte restreinte de patients (50 patients) permettra de définir les éléments techniques d'un projet plus vaste (de 150 patients) qui devrait aboutir à une stratégie nationale de prise en charge diagnostique des patients atteints de RP.

[Retour tableau](#)

Evaluation de la lettre d'information de la parentèle dans le cadre d'un examen des caractéristiques génétiques

ZORDAN Cécile - CHU Bordeaux

[Retour tableau](#)

Résumé

Objectifs

La récente publication du décret n° 2013-527 du 20 juin 2013 fixe les différentes modalités de transmission de l'information de la parentèle dans le cadre de la mise en évidence chez une personne d'une anomalie génétique pouvant être responsable d'une affection grave justifiant de mesures de prévention ou de soins. Ainsi, si cette personne ne souhaite pas informer elle-même les membres de sa famille, elle peut demander au médecin de procéder à la transmission de cette information. Un modèle de lettre pouvant être adressé par le médecin aux apparentés potentiellement concernés a été publié en annexe de ce décret.

L'objectif principal de cette étude est l'harmonisation des pratiques concernant la procédure d'information de la parentèle avec l'utilisation par le plus grand nombre de professionnels exerçant en Génétique d'un même modèle de lettre, permettant une cohérence de l'information au sein des familles. Cette étude applique les recommandations de la Haute Autorité de la Santé (Elaboration d'un document écrit d'information à l'intention des patients et des usagers du système de santé) pour proposer une lettre répondant aux critères de compréhension nécessaire à instaurer un dialogue clair avec le patient et sa famille.

Résultats attendus

Cette recherche permettra de :

- savoir comment le modèle de lettre paru en annexe du décret (lettre A) est compris et perçu
- connaître les représentations associées à certains mots spécifiques de cette lettre
- proposer une nouvelle lettre (lettre B) prenant en compte les résultats obtenus
- déterminer une lettre, forte de ces évaluations scientifiques, qui conviendrait au plus grand nombre afin d'uniformiser les pratiques sur l'ensemble du territoire national garantissant ainsi une unité de soins aux consultants et à leur famille.

Méthodologie

Une première partie (étude 1a) permettra d'évaluer la compréhension et les émotions suscitées par la lettre publiée en annexe du décret (lettre A) sur les patients et la population générale grâce à un questionnaire rempli au cours d'un entretien individuel.

Cette étude 1a sera complétée par des entretiens semi-directifs auprès des deux populations précitées mais également auprès de professionnels travaillant en Génétique et des personnes ayant reçu cette lettre (étude 1b).

Toujours dans cette étude 1, un groupe focus sera constitué (regroupant différents professionnels travaillant en génétique et des représentants d'association) afin d'obtenir de nouvelles informations sur la compréhension de la

lettre A (étude 1c). L'ensemble de ces observations nous permettra de rédiger une nouvelle lettre (lettre B) tenant compte des éléments de ces trois évaluations.

La seconde partie de notre étude comparera les deux lettres A et B sur des thèmes précis auprès de trois populations différentes : les patients, la population « tout venant » et les professionnels travaillant en génétique (étude 2) ; permettant ainsi d'identifier une lettre qui conviendrait au plus grand nombre.

Résultats

Zordan, Cécile, Laetitia Monteil, Emmanuelle Haquet, Christophe Cordier, Eva Toussaint, Pauline Roche, Virginie Dorian, et al. 2019. « Evaluation of the Template Letter Regarding the Disclosure of Genetic Information within the Family in France ». Journal of Community Genetics, mars.

Poster

Evaluation de la lettre d'information de la parentèle dans le cadre d'un examen des caractéristiques génétiques (étude LIPEG)

Cécile ZORDAN (1), Linda AKLOUL (2), Christophe CORDIER (3), Pauline ROCHE (1), Didier LACOMBE (1), Laura RICHERT (4), Aline MAILLARD (4), Séverine MARTIREN (4), Laetitia MONTEIL (5), Emmanuelle HAQUET (6), Nicolas TARIS (7), Eva TOUSSAINT (1)
(1) Service de Génétique Médicale, CLAD Sud-Ouest, CHU de Bordeaux, Université de Bordeaux (cécile.zordan@chu-bordeaux.fr) (2) Service de Génétique Clinique, CLAD Ouest, Hôpital Sud, CHU de Rennes, (3) Service de Génétique Oncologique, UF 6948, CHRU de Strasbourg, (4) Unité de Soutien Méthodologique à la Recherche Clinique et Épidémiologique, CHU de Bordeaux, (5) Service de Génétique Médicale, Hôpital Purpan, CHU de Toulouse, (6) Service de Génétique Médicale, CLAD Sud-Languedoc Roussillon, Hôpital Arnaud de Villeneuve, CHRU de Montpellier, (7) Service de Génétique Oncologique, CRLCC Paul Strauss, Strasbourg.

INTRODUCTION

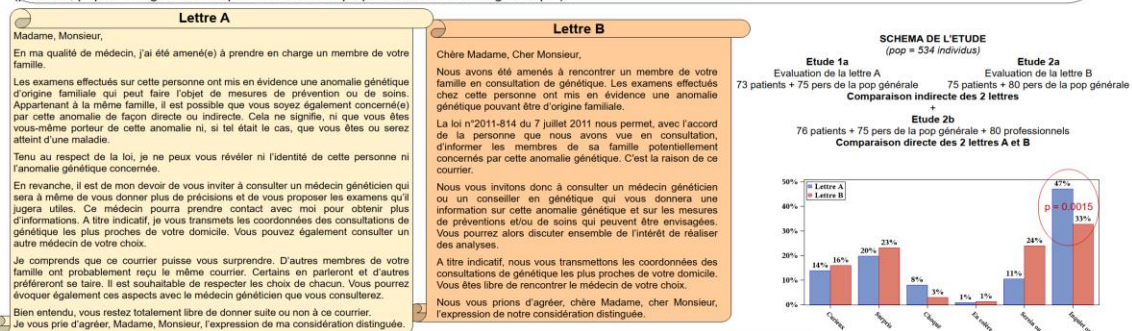
Le décret d'application n°2013-527 du 20 juin 2013 fixe les différentes modalités de transmission de l'information de la parentèle en cas de diagnostic d'une anomalie génétique pouvant être responsable d'une affection grave. Si la personne chez qui l'anomalie est identifiée ne souhaite pas informer elle-même les membres de sa famille potentiellement concernés, elle peut demander au médecin prescripteur de procéder à cette information par l'envoi d'une lettre recommandée. Cette lettre a pour objectif d'inviter les apparentés à consulter dans un service de génétique. Le modèle de lettre publié en annexe de ce décret n'est pas consensuel, ayant fait l'objet de nombreuses réécritures par les professionnels de la Génétique. Il nous a donc paru essentiel de réaliser une étude visant à évaluer la compréhension et l'impact que cette lettre peut avoir sur les patients comme sur les professionnels.

OBJECTIF

Notre recherche, intitulée LIPEG, a pour objectif d'évaluer la lettre du décret. Avec ces résultats, nous espérons proposer un modèle de lettre consensuelle dont l'utilisation par le plus grand nombre de professionnels permettrait d'harmoniser les pratiques dans l'information de la parentèle.

METHODOLOGIE

Il s'agit d'une étude observationnelle nationale multicentrique qui a bénéficié d'un financement de l'Agence de la biomédecine. Une première étude (1a) s'est intéressée, grâce à un questionnaire, à la compréhension de la lettre publiée en annexe du décret (lettre A), ainsi qu'aux sentiments qu'elle peut susciter et à l'envie d'y donner suite (patients reçus en consultation de conseil génétique et personnes de la population générale). Elle a été complétée par des entretiens semi-directifs auprès des deux populations précitées, de professionnels de la Génétique et de personnes ayant reçu cette lettre dans les conditions réelles. L'ensemble de ces observations a été la base d'échanges entre professionnels (conseillers en génétique, psychologue, médecin généticien et médecin généraliste) et associations de patients (Vaincre les Maladies Lysosomales, Association Française du Syndrome de Rubinstein-Taybi, Association Française Ataxie de Friedreich, Association Connaitre les Syndromes Cérébelleux, Alliance Maladies Rares) afin de rédiger une nouvelle lettre (lettre B). L'étude a été poursuivie en deux phases :
- étude 2a : évaluation de la lettre B dans les mêmes conditions que pour la lettre A dans l'étude 1a, permettant une comparaison indirecte des deux lettres A et B
- étude 2b : comparaison directe des deux lettres A et B décrivant la préférence des participants, par un autre questionnaire après lecture aléatoire des deux lettres (patients, population générale et professionnels impliqués dans le conseil génétique).



RESULTATS

Compréhension : Plus de 90% des personnes interrogées dans les études 1a et 2a ont compris le sens général des lettres A et B.

L'étude 2b ne montre pas de différence significative de compréhension entre les 2 lettres.

Sentiments

- De manière très comparable après lecture des lettres A et B, le sentiment prépondérant dans les études 1a et 2a est l'inquiétude (54% des individus), suivi par la curiosité (20% lettre A et 22% lettre B). Pour les parents, cette inquiétude est concentrée sur leurs enfants.

- L'étude 2b confirme ce résultat et précise que la lettre A suscite significativement plus d'inquiétude que la lettre B ($p = 0.0015$). De même les individus sont significativement plus sereins ou sans émotion après lecture de la lettre B par rapport à la lettre A ($p = 0.0001$).

Préférence : L'étude 2b n'a pas permis d'observer de préférence significative d'une des deux lettres auprès des trois populations interrogées.

Objectif de la lettre : Après lecture des deux lettres, plus de 85% des individus contacteraient un professionnel de santé. A noter qu'une majorité des individus interrogés contacteraient, entre autre, leur médecin traitant.

DISCUSSION

Nous notons des réponses homogènes entre les différentes populations interrogées, notamment en fonction de leurs caractéristiques (âge, sexe, catégorie socioprofessionnelle) ainsi qu'en fonction du centre recruteur. Nous n'avons pas relevé de préférence significative pour une des deux lettres alors que notre groupe de travail avait un a priori plutôt négatif sur la lettre publiée en annexe du décret.

Nous relevons des remarques intéressantes des participants, notamment qu'il semble important d'expliquer la procédure d'information de la parentèle dans la lettre, que l'adresse du service expéditeur peut lever l'anonymat, que la lettre A est préférée par certains car jugée plus humaine et rassurante alors que la lettre B est préférée par d'autres car plus simple et directe. Ces deux lettres ne semblent pas aussi inquiétantes que nous l'aurions pensé au préalable, avec des sentiments de surprise et de curiosité très présents. Mais nous reconnaissons que le fait que ces lettres ne soient pas lues en situation réelle a nécessairement un impact sur les sentiments ressentis.

CONCLUSION

Cette étude montre une bonne acceptation des lettres. L'inquiétude induite par la lecture de la lettre encourage les personnes à contacter leur médecin traitant et/ou un service de génétique. Il semble donc important de diffuser une information sur cette procédure auprès des médecins traitants. La formulation du courrier n'interfère pas avec le sens compris par les individus ni avec leur volonté d'y donner suite. Malgré nos suppositions, cette étude démontre que le modèle initial proposé en annexe du décret, bien que significativement plus inquiétant que le second testé, est satisfaisant pour qu'il soit conservé et utilisé par tous.

Optimisation du diagnostic moléculaire de la dystrophie facio-scapulo-humérale par une approche originale de NGS

JEANPIERRE Marc - Hôpital Cochin

[Retour tableau](#)

Résumé

La dystrophie facio-scapulo-humérale (FSHD) est une myopathie héréditaire transmise sur un mode autosomique dominant avec une prévalence estimée à 1/25 000 (ORPHA269). La pathologie moléculaire est restée longtemps mystérieuse et ce n'est que très récemment que le groupe de Sylvère Van Der Maarel a élucidé les mécanismes moléculaires des FSHD de type 1 et 2 qui ont en commun l'expression de la protéine DUX4 à partir des unités répétées D4Z4 portées par l'extrémité de certains chromosomes 4 dits « permissifs ». La détermination des haplotypes du chromosome 4 et l'identification de ceux dits permissifs est devenu un élément critique du diagnostic moléculaire qui a été jusqu'à présent sous-évalué, en particulier en raison des difficultés d'analyse de cette région du chromosome 4 qui est répétée, riche en GC et présente 98% de similitude avec l'extrémité du chromosome 10. D'après notre expérience personnelle (plus de 3000 familles étudiées) une proportion significative d'allèles sont atypiques, allèles hybrides 4/10 par exemple.

Notre projet consiste à reconstituer qualitativement et quantitativement les haplotypes en distinguant par analyse bioinformatique ceux du chromosome 4 et ceux du chromosome 10. Ceci sera possible via une approche NGS fondée sur un Ion Ampliseq Custom Panel spécifique de 400pb et utilisant une enzyme de séquençage de type Hi-Q. La preuve de concept de cette approche a été déjà faite à l'aide d'un premier design sur une centaine de patients atteints de FSHD de type 1 et 2. L'objectif principal de la demande consiste à améliorer le design du panel et à valider cette approche sur une série de 100 cas index FSHD1 et 2 dont les haplotypes ont été déterminés par des approches conventionnelles. L'identification des haplotypes par NGS sera validée par l'étude de leur ségrégation sur une série de 50 formes familiales. L'objectif secondaire est de déterminer l'implication des haplotypes dans le phénotype des patients FSHD1 et 2, la notion de permissivité pouvant ne pas être limitée à la présence d'un signal de polyadénylation ATAAA.

Les retombées attendues sont de démontrer la possibilité d'identifier de façon fiable et quantitative les haplotypes permissifs du chromosome 4 et d'optimiser la stratégie de diagnostic moléculaire de la FSHD, en particulier en matière de diagnostic prénatal

[Retour tableau](#)

Etude des mosaïques parentales dans le syndrome de Dravet

LEGUERN Eric - CCPPRB Hôpital Pitié Salpêtrière

[Retour tableau](#)

Résumé

Le syndrome de Dravet, ou encéphalopathie myoclonique sévère du nourrisson, est une pathologie développementale caractérisée par une épilepsie pharmaco-résistante, sensible à la fièvre, débutant dans la première année de vie, d'évolution sévère. Les principaux gènes responsables de cette pathologie sont SCN1A et PCDH19, tous deux étudiés dans notre laboratoire depuis respectivement 2003 et 2009. Dans la plupart des cas, les patients atteints sont des cas sporadiques et les mutations identifiées dans ces gènes surviennent de novo, i.e. sont présentes chez l'enfant atteint et absentes chez les parents. En raison de la sévérité de cette pathologie et de la possibilité d'une mosaïque germinale, les couples demandent souvent la réalisation d'un diagnostic prénatal (DPN) pour les grossesses ultérieures. La fréquence des mosaïques parentales n'a jamais été évaluée dans une grande cohorte ; en effet, les précédents travaux de notre équipe ont montré que des mosaïques parentales étaient visibles lors du séquençage Sanger dans 7% des cas, cependant, en cas de mosaïque faible, celle-ci n'est pas visible par la technique de Sanger, nous sous-estimons donc probablement la fréquence des mosaïques parentales.

L'objectif de ce projet est d'évaluer la fréquence des mosaïques parentales par séquençage profond à partir d'une grande cohorte de patients porteurs de mutations de SCN1A ou PCDH19 considérées jusqu'à présent comme de novo.

Pour répondre à cet objectif, nous étudierons par séquençage de nouvelle génération (GS Junior - Roche) les ADN des 310 enfants porteurs de mutations de novo de SCN1A et des 27 enfants porteurs de mutations de novo de PCDH19 ainsi que ceux de leurs parents sains identifiées dans notre laboratoire. La profondeur de lecture attendue (2000 lectures) permettra de mettre en évidence des mosaïques très faibles, impossible à détecter par séquençage Sanger. Les mosaïques faibles (<2%) seront confirmées par un séquençage plus profond (>5000 lectures) et par PCR quantitative allèle-spécifique. Lorsque des mosaïques seront identifiées dans le sang, nous proposerons d'évaluer le taux de celles-ci dans d'autres tissus, à partir de prélèvements de salive, d'urine et/ou de peau.

La réalisation de ce projet permettra d'évaluer précisément la fréquence et le taux de mosaïque sanguine chez les parents d'enfants ayant un syndrome de Dravet lié à des mutations a priori de novo de SCN1A ou PCDH19. Il se base sur l'expérience du laboratoire dans le diagnostic moléculaire du syndrome de Dravet par le séquençage Sanger, et plus récemment, par le séquençage de nouvelle génération. L'ensemble des ADN nécessaire à cette étude est déjà disponible, et nous bénéficierons de l'équipement du laboratoire de diagnostic ainsi que de la plateforme de génotypage et séquençage de l'ICM pour la réalisation des expériences. Les résultats attendus comportent un bénéfice direct pour les familles en termes de conseil génétique puisqu'ils permettront de mieux discriminer les parents porteurs d'une mosaïque sanguine, même faible, donc à risque d'être porteurs d'une mosaïque germinale et donc d'avoir un deuxième enfant atteint.

[Retour tableau](#)

Identification des bases génétiques des malformations anévrysmales de la veine de Galien

MELKI Judith - INSERM Paris 11

[Retour tableau](#)

Résumé

Introduction : les shunts vasculaires cérébraux observés chez l'enfant peuvent être divisés en malformation anévrysmale de la veine de Galien (MAVG), les malformations artérioveineuses piales et les malformations des sinus duraux. Les MAVG sont les malformations vasculaires cérébrales les plus fréquemment observées chez le nouveau-né et le nourrisson. La classification de Lasjaunias distingue deux groupes de MAVG : le type I ou choroidien et le type II ou mural. Les principaux symptômes associés à cette malformation sont une insuffisance cardiaque à haut débit en période de néonatale, une hydrocéphalie survenant en général dans les mois suivants la naissance, ou un retard de développement psychomoteur. Ces malformations peuvent être diagnostiquées en période anténatale par échographie et IRM. L'embolisation endovasculaire transartérielle, en période néonatale en cas d'insuffisance cardiaque non contrôlée, ou vers l'âge de 4-5 mois en l'absence de symptômes décompensés est le traitement de choix. Il s'agit d'une affection sporadique sans cause génétique identifiée à ce jour quel que soit le type de MAVG.

Objectif : Notre projet de recherche a pour objectif l'identification des bases génétiques des MAVG de type I et II. Ce projet bénéficie du recrutement exceptionnel du Centre de Référence des Pathologies Neurovasculaires Malformatives (Dr G Saliou, Dr A Ozanne, Hôpital Bicêtre). Les MAVG sont dans la majorité des cas sporadiques suggérant la survenue de mutation dominante de novo. Néanmoins, nous avons identifié quelques familles avec deux sujets atteints et des patients nés de parents consanguins pouvant aussi évoquer un mode de transmission autosomique récessif. A ce jour un total de 15 patients porteurs de MAVG a été inclus dans cette étude génétique. Notre objectif est d'inclure au moins 10 patients de chaque type (I et II).

Méthodologie : Deux approches seront entreprises en parallèle : Une cartographie physique haute résolution des altérations génomiques (CNV, résolution 25kb) et le séquençage de l'exome entier. Nous croiserons les données filtrées issues du séquençage de l'exome entier et de la cartographie des CNV non répertoriés des patients afin d'identifier les gènes partagés par au moins 3 patients de la cohorte. Le type de MAVG (type I et II) sera pris en compte dans l'analyse des données dans l'hypothèse d'une possible hétérogénéité génétique. Les variants candidats validés seront testés sur une plus grande cohorte de patients pour évaluer leur prévalence (n=40). L'identification de mutations du même gène chez plusieurs patients permettra de confirmer l'implication de ce nouveau gène.

Conclusions et perspectives : La classification de Lasjaunias a permis la distinction des MAVG de type I et II. L'identification des bases génétiques des MAVG permettra de déterminer si les types I et II sont alléliques ou non. De plus, le pronostic de ces 2 groupes apparaît différent. Si ces deux groupes sont le fait de mutation de gènes différents, préciser la cause génétique devrait permettre d'optimiser la prise en charge des patients et proposer une information génétique éclairée aux familles. Si la fonction du gène n'est pas connue, une recherche physiopathologique pourra alors être entreprise pour élucider le rôle de la protéine codée par ce gène dans le développement et/ou la différenciation du réseau vasculaire cérébral.

Résultats

Tas, Berivan, Daniele Starnoni, Stanislas Smajda, Alexandre J. Vivanti, Catherine Adamsbaum, Mélanie Eyries, Judith Melki, et al. 2022. « Arteriovenous Cerebral High Flow Shunts in Children: From Genotype to Phenotype ». *Frontiers in Pediatrics* 10 (avril): 871565. <https://doi.org/10.3389/fped.2022.871565>.

Vivanti, Alexandre, Augustin Ozanne, Cynthia Grondin, Guillaume Saliou, Loic Quevarec, Hélène Maurey, Patrick Aubourg, et al. 2018. « Loss of Function Mutations in EPHB4 Are Responsible for Vein of Galen Aneurysmal Malformation ». *Brain* 141 (4): 979-88. <https://doi.org/10.1093/brain/awy020>.

[Retour tableau](#)

Etude de faisabilité du DPI pour les maladies monogéniques par séquençage haut débit

MOUTOU Céline - CMCO hôpitaux universitaires de Strasbourg

[Retour tableau](#)

Résumé

Le Diagnostic Préimplantatoire (DPI) peut être proposé à des couples à risque de transmettre une maladie génétique grave à sa descendance. Les difficultés techniques majeures du DPI résident dans le peu de matériel disponible pour réaliser l'analyse génétique (cellule unique), et le délai restreint pour en rendre les résultats (24 à 48h). Pour les DPI pour maladies monogéniques, la PCR multiplex est utilisée et combine si possible la recherche de(s) la mutation(s) en cause à une analyse familiale à l'aide de marqueurs microsatellites. Il est nécessaire pour chaque couple faisant une demande de DPI, de trouver plusieurs microsatellites informatifs entourant le locus d'intérêt et, si aucun test existant n'est adapté, de développer un test multiplex sur cellule unique. Ces développements demandent un temps et un savoir-faire considérables et sont très coûteux. Ils peuvent rallonger le délai d'attente des couples.

Nous proposons de tester et éventuellement valider cliniquement une approche par séquençage haut-débit (NGS) ciblé pour les DPI des maladies monogéniques. Cette technique utilisera la méthode de « karyomapping », ou haplotypage à l'aide de SNPs informatifs combinée au séquençage des exons codants du gène d'intérêt. Pour cette étude, le panel ciblant les régions à amplifier permettra le séquençage des exons du gène CFTR (impliqué dans la mucoviscidose) ainsi que des SNPs communs inclus dans la région du gène. Cela permettra en théorie la prise en charge de la quasi-totalité des couples, sans mise au point préalable nécessaire en dehors d'une étude familiale utilisant la même technique. Une telle application nécessite une étape préliminaire d'amplification génome entier puisque la quantité d'ADN recueillie à partir d'une seule cellule est insuffisante pour l'analyse de plusieurs centaines d'amplicons. Ce type d'amplification augmente le taux d'allele drop-out ou ADO, phénomène se produisant lors de l'amplification sur cellule unique et menant à l'absence d'amplification d'un des deux allèles, pouvant faire apparaître des locus hétérozygotes comme homozygotes. Une première phase d'optimisation de la technique sur cellules témoin sera nécessaire pour s'assurer de la faisabilité du NGS sur une ou deux cellules (mimant une biopsie de blastomères au stade J3 des embryons) et sur 5 à 10 cellules (mimant une biopsie de trophoctoderme au stade J5) et estimer le taux d'ADO. La procédure sera ensuite optimisée de façon à permettre un délai de rendu de résultat compatible avec un transfert embryonnaire frais si la biopsie se fait au 3ème jour. La validation clinique se fera grâce à la réanalyse d'embryons non transférables issus de DPI pour mucoviscidose, avec le consentement des couples, à l'aide de la technique de NGS. La concordance des résultats avec ceux du DPI sera vérifiée. Si la technique est validée, nous envisagerons une application aux futurs DPI pour mucoviscidose.

[Retour tableau](#)

Année: 2015

Evaluation du dosage relatif de mutation dans le diagnostic prénatal non invasif de la mucoviscidose par séquençage haut débit sur une plateforme MiSeq (Illumina)

VINCENT Marie-Claire - IURC Montpellier

[Retour tableau](#)

Résumé

Objectifs :

Nous avons développé un test de DPNNI de la mucoviscidose à partir de sang maternel par l'analyse de l'ADN fœtal libre circulant (cff-DNA, cell-free foetal DNA) en recherchant la mutation paternelle dans les familles présentant une hétérozygotie composite au niveau du gène CFTR. L'objectif de cette étude est de compléter notre offre de diagnostic non invasif de la mucoviscidose (CF) par dosage relatif de mutation par séquençage haut débit chez les couples à risque de CF dont chaque membre est porteur du même variant. Malgré les progrès technologiques, la complexité des analyses bioinformatiques reste encore à résoudre avant de proposer ces tests en routine.

Résultats attendus :

Automatisation et simplification du diagnostic prénatal non invasif de la mucoviscidose par NGS : diagnostic direct et indirect à l'aide d'outils informatiques adaptés, en particulier un algorithme de calcul spécifique pour :

- La détermination de la proportion de cffDNA de l'échantillon plasmatique
- Le dosage relatif du SNV familial : séquence mutée par rapport à la séquence sauvage
- Le diagnostic indirect par étude de transmission de blocs de SNPs (définissant les haplotypes morbide/sain)

Matériels et Méthodes :

L'étude conduite est rétrospective ; elle est réalisée chez 12 couples à priori à risque de mucoviscidose. L'analyse en trio inclura 24 ADN génomiques parentaux et 12 plasmas de femmes enceintes soigneusement sélectionnées sur la base des génotypes parentaux et du résultat du DPN invasif.

L'étude sera réalisée par séquençage haut débit sur un appareil MiSeq (Illumina) à partir de bibliothèques de séquençage obtenues par capture. L'étude s'articulera en deux temps :

- une phase de validation analytique :
 - sélection des marqueurs polymorphes informatifs du gène CFTR au sein de notre population
 - génération d'un set de données brutes de NGS du gène CFTR pour des échantillons témoins chimères créés artificiellement et mimant les trois types de plasmas maternels susceptibles d'être analysés en DPN,
 - création à partir de ces données de l'algorithme de calcul pour le dosage relatif des haplotypes parentaux transmis et le dosage relatif de l'allèle muté
- une phase de validation diagnostique :
 - évaluation et validation de l'algorithme défini sur les 12 plasmas de femme enceintes à risque de CF.

Poster

Appels d'offres Recherche

☐ Recherche et greffe

☒ AMP, diagnostic prénatal et diagnostic génétique

Année de financement :

RAPPORT FINAL

I - Résumé du projet

Nom et prénom du coordinateur

Dr Marie-Claire VINCENT

Titre du projet (maximum 120 caractères)

Evaluation du dosage relatif de mutation dans le diagnostic prénatal non invasif de la mucoviscidose par séquençage haut débit sur une plateforme MiSeq (Illumina)

Résumé (maximum 3000 caractères) (objectifs, méthodologie, résultats attendus)

Objectifs :

Nous avons développé un test de DPNNI de la mucoviscidose à partir de sang maternel par l'analyse de l'ADN foetal libre circulant (cff-DNA, cell-free foetal DNA) en recherchant la mutation paternelle dans les familles présentant une hétérozygotie composite au niveau du gène *CFTR*. L'objectif de cette étude est de compléter notre offre de diagnostic non invasif de la mucoviscidose (CF) par dosage relatif de mutation par séquençage haut débit chez les couples à risque de CF dont chaque membre est porteur du même variant. Malgré les progrès technologiques, la complexité des analyses bioinformatiques reste encore à résoudre avant de proposer ces tests en routine.

Résultats attendus :

Automatisation et simplification du diagnostic prénatal non invasif de la mucoviscidose par NGS : diagnostic direct et indirect à l'aide d'outils informatiques adaptés, en particulier un algorithme de calcul spécifique pour :

- La détermination de la proportion de cffDNA de l'échantillon plasmatique
- Le dosage relatif du SNV familial : séquence mutée par rapport à la séquence sauvage
- Le diagnostic indirect par étude de transmission de blocs de SNPs (définissant les haplotypes morbide/sain)

Matériels et Méthodes :

L'étude conduite est rétrospective ; elle a été réalisée chez 13 couples à priori à risque de mucoviscidose. L'analyse en trio inclut les ADN génomiques parentaux, d'un précédent enfant ou fœtus et des plasmas de femmes enceintes soigneusement sélectionnées sur la base des génotypes parentaux et du résultat du DPN invasif.

L'étude a été réalisée par séquençage haut débit sur un appareil MiSeq (Illumina) à partir de bibliothèques de séquençage obtenues par capture. L'étude s'articule en deux temps :

- une phase de validation analytique :
 - validation d'un pipeline bio informatique custom sur un set de données brutes de NGS du gène *CFTR* pour des échantillons témoins chimères créés artificiellement et mimant les trois types de plasmas maternels susceptibles d'être analysés en DPN,
 - définition à partir de ces données des critères de stringences de l'algorithme de calcul pour le dosage relatif des haplotypes parentaux transmis et le dosage relatif de l'allèle muté
- une phase de validation diagnostique :
 - évaluation et validation de l'algorithme défini sur 14 plasmas de femme enceintes à risque de CF.

Année: 2016

Effacité comparée des approches de séquençage génome vs exome pour le diagnostic des dystonies

BEROUD Christophe - Dpt Génétique, Hôpital des enfants de la Timone, Marseille

[Retour tableau](#)

Résumé

Objectifs :

L'objectif de ce projet est d'étudier l'impact scientifique, médical, thérapeutique, éthique et financier de l'approche pangénomique pour le diagnostic génétique des dystonies.

Résultats attendus :

Les résultats permettront d'évaluer :

- Le coût global de l'analyse pour chacune de ces techniques prenant en compte les analyses bioinformatique
- L'efficacité du diagnostic en termes d'identifications de mutations
- L'impact des étapes de capture sur la qualité des informations obtenues par séquençage haut débit
- Le délai de rendu de résultat par les deux techniques

L'ensemble de cette analyse nous permettra d'augmenter l'efficacité du diagnostic en termes d'identification de mutations, de coût et de délais.

Méthodologie :

Nous proposons de tester une trentaine de patients en appliquant sur un même prélèvement d'une part une stratégie de séquençage de tous les exons après capture (séquençage de l'exome ou « Whole Exome Sequencing » [WES] et d'autre part une approche de séquençage du génome complet i.e. sans étape de capture (séquençage du génome ou « Whole Genome Sequencing » [WGS]).

[Retour tableau](#)

La routinisation de la génétique en médecine préventive: Analyse de la diffusion des tests pour les thrombophilies non rares

BOURGAIN Catherine - INSERM U988, Villejuif

[Retour tableau](#)

Résumé

Le terme de thrombophilies non-rares (TNR) désigne l'ensemble des anomalies génétiques de l'hémostase identifiées depuis 1965 comme prédisposant à une maladie thromboembolique veineuse (MTEV) récidivante. Deux mutations en particulier (facteurs V et II), relativement fréquentes, contribuent à augmenter le risque de survenue ou de récurrence de MTEV, mais de façon non déterministe. Depuis 2010, les tests génétiques pour les TNR constituent pourtant les examens de génétique moléculaire postnatale les plus courants en France (31% de tous les examens réalisés en 2014). Cette montée en puissance s'inscrit dans un mouvement plus général qui voit plusieurs tests génétiques de susceptibilité occuper les premières places des examens de génétique postnatale. Depuis 2012, l'agence de biomédecine s'étonne de façon récurrente de cette situation et appelle à « une réflexion globale sur l'intérêt de tels examens ».

Ce projet vise à analyser les conditions de la diffusion des tests de susceptibilité génétique aux maladies fréquentes dans la routine clinique, pour décrypter les enjeux qu'ils posent à la santé publique. Pour ce faire, il s'intéresse au cas des tests génétiques pour les TNR.

Cette enquête s'organisera autour de deux axes complémentaires : l'histoire de la validation scientifique et clinique des tests génétiques pour les TNR en France et de leur inscription à la nomenclature (axe 1) et l'étude de l'intégration rapide de ces tests dans la pratique médicale de routine (axe 2).

Le premier axe reposera sur une étude de la littérature scientifique et des rapports et avis émis, complétée par des entretiens avec des protagonistes. Nous analyserons les débats au sein des spécialités médicales et scientifiques ainsi que les conditions des prises de décisions institutionnelles. L'objectif sera d'en cerner les ressorts disciplinaires, organisationnels, économiques et politiques.

Le second axe reposera sur la conduite d'une enquête ethnographique effectuée en grande partie au sein du service de médecine vasculaire du CHU de Nantes. Cette enquête visera à comprendre ce qui procède des cultures médicales disciplinaires mobilisées, de l'expérience des patients et personnes concernées, et de la spécificité génétique des tests. Elle reposera sur des entretiens avec les personnels soignants et les personnes testées (patients ou apparentés sains), complétés par un travail d'observation ethnographique des consultations médicales.

Les deux démarches méthodologiques retenues et les compétences complémentaires des chercheurs impliqués, constituent une approche inédite pour aborder un tel sujet. De cette perspective interdisciplinaire pourra découler une précision dans l'analyse des dimensions spécifiques aux tests de susceptibilité des TNR ainsi que des hypothèses étayées sur les éléments généralisables à tous les tests de susceptibilité génétique.

Résultats

Bourgain, Catherine. 2019. « De la génétique clinique à la médecine génomique. Enjeux d'une « démocratisation » de l'accès aux technologies génomiques en contexte de soin ». Cahiers Droit, Sciences & Technologies, n° 8 (mars): 15-29.

Turrini, Mauro, et Catherine Bourgain. 2020. « Genomic susceptibility in practice: The regulatory trajectory of non-rare thrombophilia (NRT) genetic tests in the clinical management of venous thrombo-embolism (VTE) ». *Social Science & Medicine*, mars, 112903.

Turrini, M., et C. Bourgain. 2021. « Appraising Screening, Making Risk in/Visible. The Medical Debate over Non-Rare Thrombophilia (NRT) Testing before Prescribing the Pill ». *Sociology of Health and Illness* 43 (7): 1627-42. <https://doi.org/10.1111/1467-9566.13348>.

[Retour tableau](#)

Approche combinée de séquençage de transcriptome (RNA seq) et d'Exome pour l'amélioration du diagnostic moléculaire de l'holoprosencéphalie

DAVID Véronique - CNRS UMR 6290 Rennes

[Retour tableau](#)

Résumé

L'holoprosencéphalie (HPE) résulte d'un défaut de clivage de la ligne médiane cérébrale et représente la plus fréquente des anomalies du développement du cerveau (1/10000 naissances, 1/250 conceptions). Elle est caractérisée par une expressivité phénotypique variable au niveau de la face et du cerveau et son étiologie est à la fois environnementale et génétique. Son mode de transmission d'abord considéré comme dominant, est maintenant établi comme multigénique. Le CHU de Rennes est le centre de référence national pour cette pathologie. Plus de 1000 échantillons de patients issus de l'ensemble du territoire français et de pays européens ont été regroupés au sein de notre CRB. Après avoir ciblé la recherche de mutations sur les gènes majeurs (SHH, ZIC2, SIX3 et TGIF), nous avons mis en place une stratégie de séquençage haut-débit sur un panel de 20 gènes mineurs et candidats, ce qui a augmenté le taux de mutations identifiées de 30% à 40%. Le séquençage d'exomes de familles consanguines et de trios nous a permis d'identifier un nouveau gène (STIL) et d'impliquer le gène DISP1 dans deux familles. L'analyse de trios a révélé aussi de nombreuses variations dans des gènes candidats. Leur validation comme mutation pathogène passe par l'observation de leur présence récurrente dans un plus grand nombre de familles, mais aussi par des investigations supplémentaires telles que des tests fonctionnels ou l'évaluation de leur répercussion sur le transcriptome. L'analyse exomique sera donc complétée par une approche de séquençage haut-débit de transcriptome (RNA seq) sur tissu cérébral de fœtus qui nous permettra d'évaluer l'impact de mutations rares sur le transcriptome et particulièrement l'épissage alternatif des gènes correspondants. Cette approche est aujourd'hui rendue possible par la réalisation d'un séquençage d'ARN extrait d'échantillons fixés et inclus en paraffine (FFPE, formaldéhyde fixed paraffin embeded) et conservés par le foetopathologiste après l'autopsie.

L'objectif est de mener une étude rétrospective, portant sur la comparaison de séquences d'exomes, et du transcriptome obtenu à partir d'échantillons FFPE de tissu cérébral obtenu après interruption médicale de grossesse (IMG). Cette étude a pour but :

- 1/de valider les mutations neutres responsables d'altération du transcriptome (épissage d'alternatif particulièrement)
- 2/ d'augmenter le nombre d'exomes réalisés chez des fœtus atteints d'HPE, permettant de valider certains gènes déjà considérés comme candidats.

Méthodes :

Séquençage d'ARN couplé au séquençage d'exome sur 20 individus pour lesquels nous disposons à la fois de lames FFPE de tissus cérébraux et d'ADN de sang total.

Résultats attendus: Validation de mutations dans de nouveaux gènes responsables de l'holoprosencéphalie ; amélioration du diagnostic et du conseil génétique et du diagnostic prénatal de cette pathologie ; contribution à une meilleure connaissance de la physiopathologie de cette maladie complexe du développement cérébral.

Résultats

Kim, Artem, Jérôme Le Douce, Farah Diab, Monika Ferozova, Christèle Dubourg, Sylvie Odent, Valérie Dupé, et al. 2020. « Synonymous Variants in Holoprosencephaly Alter Codon Usage and Impact the Sonic Hedgehog Protein ». Brain 143 (7): 2027-38. <https://doi.org/10.1093/brain/awaa152>.

Kim, Artem, Clara Savary, Christèle Dubourg, Wilfrid Carré, Charlotte Mouden, Houda Hamdi-Rozé, Hélène Guyodo, et al. 2019. « Integrated Clinical and Omics Approach to Rare Diseases: Novel Genes and Oligogenic Inheritance in Holoprosencephaly ». Brain 142 (1): 35-49. <https://doi.org/10.1093/brain/awy290>.

Poster

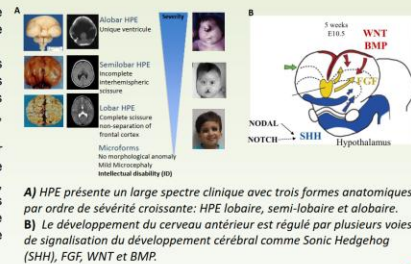
L'implication des variants rares dans les maladies complexes du développement: exemple de l'holoprosencéphalie

Artem Kim¹, Clara Savary¹, Christèle Dubourg^{1,2}, Wilfrid Carré^{1,2}, Charlotte Mouden¹, Houda Hamdi-Rozé^{1,2},
Hélène Guyodo¹, Jérôme Le Douce¹, Valérie Dupé¹, Sylvie Odent^{1,3}, Marie de Tayrac^{1,2}, Véronique David^{1,2}

1-Université Rennes 1, Institut de Génétique et Développement de Rennes (IGDR) UMR6290 CNRS
2-Centre Hospitalier Universitaire de Rennes, Service de génétique moléculaire et génomique
3-Centre Hospitalier Universitaire de Rennes, Service de génétique clinique

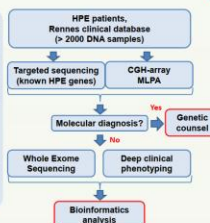
I. Contexte

L'holoprosencéphalie (HPE) est une pathologie complexe du développement du cerveau antérieur caractérisée par une grande hétérogénéité, à la fois phénotypique et génétique. L'HPE présente un large spectre clinique allant de microformes (légère microcéphalie) à des formes sévères d'HPE alobaire (cyclopie, proboscis). Actuellement, 16 gènes et plusieurs voies de signalisation (SHH, FGF, NOTCH, NODAL) ont été impliqués dans la maladie, mais environ 70% des cas familiaux restent inexplicables. Dans la majorité des cas, les mutations causales sont héritées de parents asymptomatiques¹, ce qui suggère l'existence de gènes modificateurs. Ces mutations modificateurs peuvent correspondre à des variants rares agissant de manière hypomorphe², conférant ainsi une susceptibilité élevée à l'apparition d'une HPE. Afin d'explorer l'implication des variants rares dans cette maladie, trente-six familles atteintes d'HPE pour lesquelles aucun diagnostic moléculaire n'avait pu être établi, ont été sélectionnées pour un séquençage d'exome. Afin d'identifier les variants causaux, nous avons utilisé une nouvelle approche bio-informatique, combinant l'analyse de données d'exome avec deux stratégies complémentaires basées sur les phénotypes précis des patients et l'étude des profils d'expression des gènes au cours du développement cérébral. Cette approche intégrative a permis d'identifier de nouveaux gènes de l'HPE et d'illustrer son caractère multigénique nécessitant l'accumulation de plusieurs mutations hypomorphes.



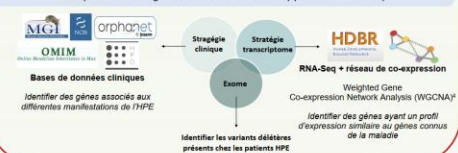
II. Patients

- Tous les patients référés ont initialement été analysés par un séquençage ciblé de gènes connus de l'HPE² ainsi que par des techniques de CGH-array/MLPA. Le principal critère d'inclusion dans l'étude était l'absence de diagnostic moléculaire. Les familles dont la cause génétique de l'HPE n'avait pu être établie, ont été séquencées et incluses dans cette étude.
- La cohorte finale de comprenait 26 familles (un total de 80 individus), dont 29 patients diagnostiqués avec une HPE lobaire (n=3), semilobaire (n=11), alobaire (n=13) ou microforme (n=2).

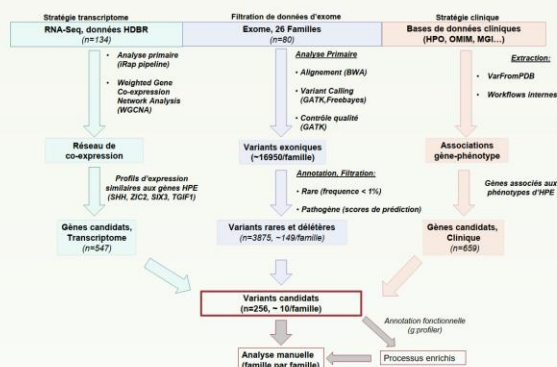


III. Matériel & Méthodes

Afin d'identifier les variants causaux parmi le grand nombre de variations non-pathogènes détectées en exome, nous avons utilisé une nouvelle approche intégrative combinant la filtration classique des variants avec deux stratégies complémentaires basées sur les associations gène-phénotype (ontologies cliniques); et sur l'analyse du transcriptome embryonnaire (étude des profils d'expression des gènes au cours du développement cérébral).



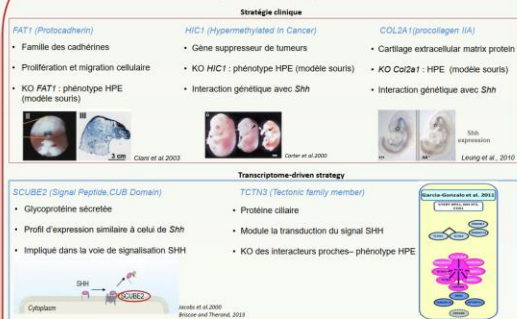
IV. Résultats



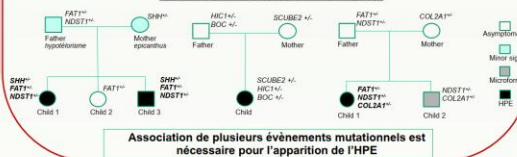
Appliquée à la cohorte HPE, l'approche intégrative a permis d'identifier un total de 256 variants candidats dans 183 gènes pour 26 familles étudiées. Parmi les candidats, 175 variants sont situés dans les gènes associés à des phénotypes HPE (stratégie clinique) et 104 variants sont situés dans les gènes ayant un profil d'expression similaire aux gènes connus de l'HPE (stratégie transcriptome).

V. Découvertes principales

New HPE genes



HPE : mode de transmission complexe



VI. Conclusion and perspectives

Cette étude montre que l'apparition de l'HPE peut être due au signal combiné de multiples variants rares agissant de manière hypomorphe dans des gènes appartenant à des voies de signalisation critiques du développement cérébral. Appliquée à la cohorte HPE, l'approche intégrative a permis l'identification de variants rares dans les gènes associés aux phénotypes HPE (FAT1, NDST1, COL2A1) ou ayant un profil d'expression très similaire aux gènes déjà connus de la maladie (SCUBE2, TCTN3). Tous les patients décrits dans cette étude présentent des multiples variants rares hérités des parents asymptomatiques, ce qui est en faveur d'un mode de transmission complexe nécessitant l'association de plusieurs événements mutationnels. L'implication des gènes candidats dans la maladie a été validée dans les modèles murins et leurs fonctions sont liées à l'une des voies clés du développement du cerveau antérieur – la voie Sonic Hedgehog. L'accumulation de mutations dans les gènes liés à SHH observé chez nos patients soutient l'hypothèse que des variations dans l'activité de SHH sont cruciales dans le mécanisme de la maladie. La distinction entre les formes mineures de l'HPE (comme la microcéphalie) et les formes sévères (comme la cyclopie) pourrait également résider dans le degré d'impact fonctionnel global sur la signalisation SHH.

Bibliography

- Mercier et al., 2011. New findings for phenotypic heterogeneity in a large European series of holoprosencephaly cases. *Journal of Medical Genetics*, 2011; 48(11): 762-769.
- Zahn, 2012. Mouse as a model for multifactorial inheritance of neural tube defects. *Birth Defects Res C Embryo Today* 96, 193-205.
- Dubourg et al., 2016. Mutational Spectrum in Holoprosencephaly Shows That FGF is a New Major Signaling Pathway. *Human Mutation*, 2016; 37(12): 1329-1339.
- Longfelder and Hornath, 2008. WGCNA: an R package for weighted correlation network analysis. *BMC Bioinformatics*, 2008; 9:255.

GénéRHE: Génétique des reins hyperéchogènes en période anténatale

DECRAMER Stéphane - Inserm U1048 I2MC Toulouse

[Retour tableau](#)

Résumé

L'identification d'une hyperéchogénicité rénale en période anténatale (isolée ou associée à des kystes rénaux) est une situation fréquente mais dont la prise en charge et le conseil génétique à apporter demeurent difficiles. Des mutations du gène HNF1B sont identifiées chez environ 40 à 50 % des fœtus avec des reins hyperéchogènes (RHE) de taille normale ou discrètement diminuée ou augmentée, tandis qu'une mutation dans un des gènes associés à la polykystose dominante (PKD1/PKD2) ou dans le gène PKHD1 de la Polykystose Hépaté Rénale Autosomique Récessive (PKAR), est classiquement identifiée chez les fœtus avec des reins de grande taille. Dans plus de 40% des cas, aucun diagnostic moléculaire ne peut être posé. Cette absence de diagnostic s'accompagne d'une évaluation incertaine du pronostic rénal à court terme, d'une méconnaissance des risques de pathologies extra-rénales surajoutées et donc d'un suivi non adapté aux risques réels encourus en période post-natale, dans l'enfance et à l'âge adulte.

Dans une première étude utilisant la technique d'exome sequencing, nous avons pu identifier 8 gènes candidats chez des individus présentant des reins hyperéchogènes de taille normale ou diminuée, mais sans mutation d'HNF1B. Les objectifs du projet faisant l'objet de la demande de financement auprès de l'ABM sont de confirmer l'implication de ces 8 gènes dans une large cohorte de 96 patients avec des RHE, d'identifier de nouveaux gènes associés aux RHE parmi un panel de 150 gènes candidats issus de la littérature, et de préciser les corrélations génotype – phénotype (fonction rénale à moyen et long terme, symptômes extra-rénaux, aspects échographiques). Pour cela, une approche par séquençage haut débit ciblant les régions génomiques d'intérêt (8 gènes candidats précédemment identifiés, gènes candidats de la littérature) sera réalisée dans la cohorte des 96 patients (échantillons déjà disponibles). L'implication des gènes identifiés sera validée in vitro dans un modèle cellulaire présentant une invalidation d'HNF1B ou une invalidation du gène candidat.

Ce travail s'adosse à un projet de recherche plus large visant à caractériser de nouveaux biomarqueurs, identifiés dans le liquide amniotique ou l'urine fœtale, permettant de prédire la fonction rénale à long terme de fœtus présentant des anomalies du développement rénal (PHRC BIOMAN 2010, Klein et al. Science Transl Medicine 2013). A terme, ce projet devrait permettre de mieux caractériser les anomalies génétiques à l'origine de l'apparition de reins hyperéchogènes isolés ou associés à des kystes rénaux, et donc à améliorer la prise en charge des enfants atteints de ces pathologies et le conseil génétique délivré aux familles d'enfants atteints de RHE

[Retour tableau](#)

Développement d'un test génétique pour le diagnostic des maladies neurologiques et neurodéveloppementales (neuromendéliome)

DEPIENNE Christel - IGBMC Illkirch

[Retour tableau](#)

Résumé

Les maladies neurodéveloppementales constituent un ensemble cliniquement hétérogène dont la cause est génétique dans de multiples cas. Ces pathologies représentent de 1 à 5% des naissances et constituent un problème majeur de santé publique. Des mutations dans ~2500 gènes ont été associées en 2015 à un syndrome génétique dont l'atteinte est cérébrale ou associée à un signe neurologique. Actuellement, les capacités de diagnostic génétique des maladies neurodéveloppementales sont limitées en France comparé à d'autres pays européens comme les Pays-Bas, et aucun test diagnostique n'est proposé lorsque des malformations cérébrales sont identifiées en prénatal. Par exemple, la découverte d'une agénésie du corps calleux isolée chez un fœtus sera associée dans 70% des cas à un développement cognitif normal et dans 30% des cas à une évolution défavorable vers une déficience intellectuelle. En l'absence de test génétique permettant d'identifier la cause de cette malformation, le conseil génétique reste basé sur ces statistiques.

L'objectif de ce projet est de développer un test génétique unique et évolutif (neuromendéliome) pour le diagnostic des maladies neurodéveloppementales représentant une alternative rationnelle au séquençage d'exome, qui reste encore cher en pratique clinique et présente des inconvénients comme la possibilité d'identifier des mutations avec répercussion clinique sans rapport avec l'indication de départ (incidental findings). Ce test est basé sur le séquençage haut-débit, après capture, des régions codantes de ~3500 gènes (15 Mb) dont 2500 sont responsables de syndromes génétiques reconnus avec une atteinte cérébrale et 1000 sont des gènes candidats sur la base de leur fonction ou de leur expression cérébrale préférentielle. Cette liste de gènes sera révisée tous les 6 mois.

Ce panel sera testé dans le cadre de ce projet sur deux cohortes différentes déjà recrutées (ADN des patients et parents disponible) :

- 1) une cohorte post-natale constituée de 50 patients avec DI, encéphalopathie épileptique ou trouble du développement sans diagnostic étiologique et
- 2) une cohorte "prénatale", constituée de 30 fœtus interrompus pour malformation cérébrale ou patients nés après un diagnostic prénatal de malformation cérébrale (par exemple une agénésie du corps calleux).

Les patients seront analysés avec (n=55 trios) ou sans (n=25 solos) leur parents. L'enrichissement en régions cibles sera effectuée avec la technologie SeqCap EZ choice Library (Roche) et le séquençage sera réalisé sur HiSeq 2500 (Illumina) à la plate-forme de l'IGBMC (Strasbourg). Le test diagnostique développé sera ensuite transféré au laboratoire de diagnostic génétique (Hôpitaux universitaires de Strasbourg).

Le développement du panel neuromendéliome permettra de compléter l'offre des panels diagnostique déjà existant et de proposer un diagnostic génétique aux patients sans diagnostic étiologique et/ou pour lesquels aucune analyse n'est actuellement disponible en France. Il sera en outre utilisé comme test diagnostique en périodes prénatale et néonatale pour établir des diagnostics précoces chez des fœtus ou des nouveau-nés pour lesquels il n'existe

actuellement aucun test adapté malgré l'urgence dans ces situations de prédire le pronostic cognitif et de définir parfois une prise en charge adaptée à l'anomalie génétique.

Résultats

1, Hum Genet. 2017 Apr;136(4):463-479.

[Retour tableau](#)

Séquençage de l'exome entier dans les arthrogryposes et les akinésies fœtales à gène non identifié par l'exome ciblé

MELKI Judith - UMR 1169, Hôpital Bicêtre, Kremlin Bicêtre

[Retour tableau](#)

Résumé

Introduction :

Les arthrogryposes multiples congénitales (AMC) et les akinésies fœtales représentent un groupe hétérogène de maladies fréquentes (incidence : 1 sur 3000 naissances). Dans environ 70% des cas, le diagnostic génétique n'est pas posé. Dans une étude préalable (PHRC2010), le séquençage nouvelle génération exome entier (WES) appliqué à 72 familles puis de l'exome ciblé à l'ensemble des gènes connus ou récemment identifiés (TES, 70 gènes) et appliqué à 93 familles a permis d'identifier la cause génétique dans 52% des cas incluant l'identification de 7 nouveaux gènes. Nous avons réalisé le WES chez 12 patients dont le TES s'était révélé négatif. Cette étude préliminaire a permis d'identifier la cause génétique chez 7 patients : il s'agissait soit de nouveaux gènes (n=2), de gènes connus mais dont les mutations n'avaient pas été rapportées associées à ce phénotype (n=2) ou de gènes non inclus dans le premier panel TES (n=3).

Objectif :

Notre projet a pour but d'identifier le/les gènes dont les mutations sont responsables d'AMC ou d'AF chez 38 patients sans cause génétique retrouvée par le TES. Le WES devrait permettre d'identifier de nouveaux gènes ou d'identifier des gènes connus mais dont les mutations n'étaient pas connues pour être responsables d'AMC ou d'AF. Une analyse morphologique approfondie en microscopie électronique à partir de biopsie neuromusculaire sera effectuée en parallèle pour caractériser le phénotype neuromusculaire précis des patients.

Méthodologie :

Un total de 38 patients non apparentés et atteints d'AMC ou d'AF non syndromiques seront inclus dans ce projet. Les données cliniques ont été rassemblées et le TES déjà réalisé. Le WES et l'analyse bioinformatique des données seront effectuées. Nous croiserons les données issues du WES des patients afin d'identifier les gènes porteurs de mutations possiblement pathogéniques et partagés par au moins 2 patients de la cohorte présentée (n=38) ainsi que les patients qui ont déjà eu, dans le cadre du projet PHRC, un WES sans gène causal retrouvé (n=27) soit un total de 65 WES. Cette approche sera aidée par l'analyse morphologique du système neuromusculaire qui permettra de définir des sous-groupes de patients à phénotype morphologique similaire. Les variants candidats seront validés par séquençage Sanger et leur ségrégation intrafamiliale établie.

Conclusions et perspectives :

Cette étude permettra d'établir la proportion de cas où le WES aura permis d'établir la cause génétique de cette affection et d'analyser les causes d'échec du TES : nouveaux gènes ou gènes de maladies neuromusculaires mais non reconnus pour être responsables d'AMC ou d'AF élargissant le spectre clinique de ces affections ; ou encore une mauvaise couverture de certains exons ou jonctions intron-exon dans les gènes inclus dans le TES. Ces travaux devraient permettre d'améliorer le diagnostic génétique de ces affections par la mise au point d'un nouveau kit TES incluant les nouveaux gènes. Ceci permettra d'améliorer l'information génétique des familles en leur donnant une évaluation correcte du risque de récurrence et les options possibles de tests prénataux (diagnostic anténatal ou préimplantatoire). Ces travaux devraient permettre l'identification de nouveaux gènes point de départ vers la caractérisation de nouvelles protéines essentielles au développement du système neuromusculaire chez l'Homme.

Résultats obtenus:

Nos résultats montrent que le séquençage d'exome entier (WES) permet d'identifier la cause génétique des arthrogryposes multiples congénitales (AMC) dans 63.5% et a permis d'identifier de nouveaux gènes dans les AMC. Nos résultats révèlent la valeur ajoutée du WES par rapport au séquençage d'exome ciblé (TES) : en effet le WES a permis d'identifier la cause génétique de l'AMC chez 24 patients sur les 111 pour qui le TES était revenu négatif (21.6%). Ceci est dû à l'hétérogénéité génétique marquée des AMC et l'identification de nouveaux gènes (manuscripts soumis et en préparation). Si le TES est une approche intéressante car elle est rapide et évite l'identification de variants sans lien avec la cause génétique de la maladie recherchée, elle peut conduire à ne pas identifier la cause génétique due à une hétérogénéité génétique importante.

Résultats

Capri, Yline, Lucas Bourmance, Céline Dupont, Marie-Hélène Saint-Frison, Fabien Guimiot, Sarah Grotto, Yvon Chitrit, Annie Laquerrière, et Judith Melki. « DST Variants Are Responsible for Neurogenic Arthrogryposis Multiplex Congenita Enlarging the Spectrum of Type VI Hereditary Sensory Autonomic Neuropathy ». *Clinical Genetics* 104, n° 5 (2023): 587-92. <https://doi.org/10.1111/cge.14397>.

Jaber, Dana, Cyril Gitiaux, Sophie Blesson, Florent Marguet, David Buard, Maritzaida Varela Salgado, Anna Kaminska, et al. « De Novo Mutations of SCN1A Are Responsible for Arthrogryposis Broadening the SCN1A-Related Phenotypes ». *Journal of Medical Genetics* 58, n° 11 (1 novembre 2021): 737-42. <https://doi.org/10.1136/jmedgenet-2020-107166>.

Kamien, Benjamin, Joshua S. Clayton, Han-Shin Lee, Disna Abeysuriya, Elyshia McNamara, Jelena Martinovic, Marie Gonzales, Judith Melki, et Gianina Ravenscroft. « Bi-allelic MYH3 loss-of-function variants cause a lethal form of contractures, pterygia, and spondylocarpotarsal fusion syndrome 1B ». *Neuromuscular Disorders* 32, n° 5 (1 mai 2022): 445-49. <https://doi.org/10.1016/j.nmd.2022.03.007>.

Laquerrière, Annie, Dana Jaber, Emanuela Abiusi, Jérôme Maluenda, Dan Mejlachowicz, Alexandre Vivanti, Klaus Dieterich, et al. « Phenotypic Spectrum and Genomics of Undiagnosed Arthrogryposis Multiplex Congenita ». *Journal of Medical Genetics* 59, n° 6 (1 juin 2022): 559-67. <https://doi.org/10.1136/jmedgenet-2020-107595>.

Weber, Mathilde, Dana Jaber, Ferechte Encha-Razavi, Emmanuel Julien, Julie Grevoul-Fesquet, Julie Steffann, Judith Melki, et Jelena Martinovic. « Broadening the Phenotypic Spectrum of TUBA1A Tubulinopathy to Syndromic Arthrogryposis Multiplex Congenita ». *American Journal of Medical Genetics Part A* 188, n° 8 (2022): 2331-38. <https://doi.org/10.1002/ajmg.a.62866>.

[Retour tableau](#)

Confirmation et établissement de la prévalence des mutations dans les gènes impliqués dans des infertilités humaines non-syndromique

VIVILLE Stéphane - CHU de Strasbourg

[Retour tableau](#)

Résumé

L'infertilité est un problème mondial de santé qui affecte de façon égal les hommes et les femmes. Malgré près de quatre décennies de pratique de la FIV, un nombre considérable de cas (25 à 30%) restent idiopathiques chez les couples infertiles. La plupart des traitements proposés sont souvent empiriques et peu a été réalisé afin de mieux comprendre les mécanismes sous-jacents à la fertilité humaine. On estime qu'environ 50% des cas idiopathiques pourrait être expliqué par un défaut génétique.

La recherche est passée de simples études de mutation génique à l'analyse pan génomique. Au cours de la dernière décennie, suite à l'étude de cas familiaux d'infertilité ou de groupes de patients infertiles, la liste des gènes humains impliqués dans l'infertilité a cru très rapidement. Il y a, actuellement, 16 gènes pour lesquels des données sont suffisantes pour les considérer comme responsable d'un phénotype d'infertilité non syndromique chez l'homme lorsqu'ils sont mutés.

Notre objectif est de réaliser une recherche de mutations pour ces 16 gènes dans une cohorte de 125 patients français avec un phénotype d'infertilité bien défini et de déterminer la prévalence de chacune des mutations dans cette population. Tous les patients seront diagnostiqués par un bilan complet d'infertilité et un échantillon de salive sera recueilli après qu'un formulaire de consentement ait été signé. L'ADN extrait sera analysé par séquençage ciblé en utilisant la technologie Ion AmpliSeq TM. Les résultats seront confirmés par séquençage de Sanger et des patients fertiles seront analysés en tant que groupe contrôle.

La technologie Ion AmpliSeq TM offre une construction simple et rapide de bibliothèque pour un séquençage ciblé de groupes de gènes spécifiques et / ou régions génomiques. Elle exige aussi peu que 10 ng d'ADN, les variants peuvent être identifiés en un seul jour à l'aide de la technologie Ion-AmpliSeq TM. Le test de diagnostic mis au point est basé sur l'expertise du laboratoire de diagnostic génétique des HUS. Elle comporte le séquençage de l'ASN ciblée des loci d'intérêts en utilisant la technologie Ion Torrent, suivie d'une analyse bio-informatique pour identifier les modifications d'intérêts.

Cette étude mettra en évidence les mutations génétiques qui ont un impact significatif sur des phénotypes d'infertilité spécifiques sur une cohorte restreinte de patients, ces résultats conduiront par la suite à un autre projet avec un groupe plus important de patients.

La valeur ajoutée du projet proposé repose dans la collaboration étroite entre la recherche fondamentale et les partenaires cliniques. Cette coopération permettra un continuum direct entre l'obtention des résultats et l'application clinique, permettant ainsi la mise en place efficace de nouveaux protocoles cliniques pour traiter l'infertilité humaine, ce qui fait partie des intérêts de notre laboratoire.

Résultats

Okutman, Ozlem, Julien Tarabeux, Jean Muller, et Stéphane Viville. 2021. « Evaluation of a Custom Design Gene Panel as a Diagnostic Tool for Human Non-Syndromic Infertility ». Genes 12 (3): 410. <https://doi.org/10.3390/genes12030410>.

[Retour tableau](#)

Modélisation in vivo pour le diagnostic génétique des déficiences intellectuelles syndromiques

BEZIEAU Stéphane - Institut de biologie de Nantes

[Retour tableau](#)

Résumé

La contribution des causes génétiques à l'étiologie des déficiences intellectuelles (DI) est majeure. La forte hétérogénéité génétique est cependant un obstacle à l'interprétation des résultats dans le diagnostic moléculaire de la DI. L'identification des gènes responsables de DI représente un enjeu important pour le diagnostic génétique. Le PHRC interrégional HUGODIMS a évalué l'apport diagnostique du séquençage haut débit d'exome en trio chez 75 patients atteints de DI modérée à sévère. Des gènes associés à la DI ont été mis en évidence dans le cadre de ce travail. Des variants de gènes encore peu caractérisés ont également pu être identifiés. Pour ces derniers, une validation expérimentale est nécessaire afin de déterminer leur causalité dans la DI. La distance évolutive réduite par rapport à l'Homme, la forte conservation de voies moléculaires majeures en miroir de ses coûts d'utilisation réduits et des possibilités nombreuses de transgénèse dont du zebrafish (*Danio rerio*) un outil particulièrement pertinent pour l'interprétation de variants génétiques. Afin de poursuivre l'identification des gènes liés à la DI syndromique, nous proposons de caractériser in vivo dans un modèle zebrafish les variants identifiés.

Résultats attendus

Les zebrafish seront analysés afin de rechercher des signes spécifiques des atteintes neurologiques et extra-neurologiques mis en évidence chez les patients. Des malformations cérébrales et cardiaques, des anomalies des extrémités ainsi que des anomalies squelettiques seront particulièrement recherchées. Ce projet translationnel, piloté par le service de Génétique Médicale du CHU de Nantes (Pr D. Bézieau), vise à appuyer les progrès du séquençage à haut débit en modélisant in vivo l'effet de variants candidats. Ce travail représenterait aussi une preuve de concept des stratégies de modélisation innovantes faisant suite à l'exome, répondant aux besoins de la pratique actuelle du diagnostic moléculaire en Génétique Médicale.

Méthodes

L'inactivation de six gènes candidats par édition de génome grâce à la technique CRISPR/Cas9 en parallèle d'une extinction de l'expression par morpholino seront réalisées afin d'évaluer l'effet d'une perte de fonction dans notre modèle. Une restauration du phénotype sera recherchée par injection d'ARNm sauvage ou muté. Les étapes de biologie moléculaire seront réalisées par un ingénieur au sein du service de Génétique Médicale du CHU de Nantes, équipe coordinatrice. L'injection et le phénotypage des zebrafish seront réalisées au sein de l'équipe du Dr EE. Davis et Pr N. Katsanis du Center for Human Disease Modeling (Duke University, Durham, NC, USA), à l'expertise largement reconnue dans la modélisation de pathologies génétiques humaines grâce au modèle zebrafish, dont les formes syndromiques de DI.

Poster

Intérêt du séquençage haut débit des ARN pour le diagnostic des maladies génétiques hétérogènes

CALMELS Nadège - Laboratoire de Diagnostic Génétique UF 1421- STRASBOURG

[Retour tableau](#)

Résumé

L'avènement du séquençage de l'ADN génomique à haut débit a permis des avancées majeures pour le diagnostic des maladies génétiques d'origine hétérogène. Ainsi, notre laboratoire hospitalier a développé ces dernières années plusieurs tests diagnostiques basés sur le séquençage ciblé des séquences codantes de panels de gènes (d'une vingtaine de gènes pour les maladies de la réparation de l'ADN à près de cinq cents gènes pour la déficience intellectuelle). Ces analyses ciblées, réalisées par capture, ont ainsi résolu de 25 à 80% des cas selon les indications, sans pour autant permettre le diagnostic de la totalité des patients. Pour ces cas négatifs, la recherche de mutations dans les séquences codantes a ensuite été étendue à l'exome entier (Whole Exome Sequencing), assurant ainsi plusieurs diagnostics supplémentaires. Des patients restent malgré tout sans diagnostic après cette étude d'exome. Il pourrait s'agir de cas complexes d'origine génétique ou même non génétique, mais également de pathologies monogéniques liées à des mutations non identifiables par les analyses de séquences codantes, et touchant notamment les ARN messagers.

L'objectif du présent projet est de tester l'intérêt du séquençage de l'ARN messager pour le diagnostic étiologique de ces patients irrésolus après séquençage des régions codantes. Après une étape de validation à partir de 6 échantillons porteurs de mutations connues affectant les ARN messagers, nous souhaitons appliquer cette technique à 30 cas irrésolus dans différents contextes pathologiques : déficience intellectuelle, myopathies, maladies neurosensorielles et troubles de la réparation de l'ADN. Au préalable, nous avons vérifié qu'une majorité de nos gènes d'intérêt étaient suffisamment exprimés dans les tissus à notre disposition. Nous souhaitons tester deux stratégies en parallèle : le séquençage de la globalité des ARN messagers (whole RNA-seq) et le séquençage ciblé des ARN messagers en utilisant les mêmes sondes de capture que celles utilisées pour le séquençage de l'ADN génomique. Par cette dernière approche, nous espérons optimiser la couverture des gènes faiblement exprimés. L'analyse des données inclura l'analyse des jonctions exoniques, la recherche de variants (avec comparaison avec les données de séquençage obtenues sur l'ADN génomique) et la quantification des ARNm.

Nous proposons de faire réaliser les expériences de séquençage d'ARN et l'analyse bioinformatique des données sur la plateforme de séquençage de l'IGBMC (Institut de Génétique, de Biologie Moléculaire et Cellulaire) qui possède toutes les compétences requises. La formation de notre propre personnel bioinformatique au cours de ce projet devrait ainsi nous permettre d'être indépendant à l'avenir pour la réalisation et l'analyse du séquençage haut débit de l'ARN messager, si cette technique s'avère concluante d'un point de vu diagnostic.

Résultats

Le May, Nicolas, Jérémie Courraud, Imène Boujelbène, Cathy Obringer, Tomoo Ogi, Alan R. Lehmann, Fanny Laffargue, et al. « Clinical and Molecular Overlap between Nucleotide Excision Repair (NER) Disorders and DYRK1A Haploinsufficiency Syndrome ». *Frontiers in Neuroscience* 19 (26 mars 2025). <https://doi.org/10.3389/fnins.2025.1554093>.

[Retour tableau](#)

Comparaison et optimisation de kits de séquençage d'exome complet pour le diagnostic des myopathies et dystrophies musculaires

COSSEE Mireille - EA 7402 Dép Génét Mol -CHU Montpellier

[Retour tableau](#)

Résumé

Les myopathies et dystrophies musculaires (M-DM) sont phénotypiquement et génétiquement très hétérogènes, avec plus de 100 gènes identifiés. Le séquençage de nouvelle génération (NGS) a révolutionné leur diagnostic en permettant de séquencer, en un seul temps, l'ensemble des séquences d'intérêt. Le NGS ciblé sur panels de gènes impliqués dans ces pathologies a constitué la technologie de choix pour la mise en place du NGS en pratique diagnostique. Toutefois, la nécessité de mise à jour régulière du panel avec l'identification de nouveaux gènes responsables de M-DM, et l'absence d'analyse de gènes non connus pour être impliqués dans les pathologies neuromusculaires constituent une limitation de cette approche ciblée. Le séquençage de tous les exons (et jonctions exons-introns) de tous les gènes, Whole Exome Sequencing (WES), a démontré son efficacité à identifier des mutations non seulement dans des gènes connus, mais également dans d'autres gènes non identifiés auparavant comme responsables de M-DM.

Le développement de nouvelles versions des librairies de capture de WES offrant une meilleure couverture de séquençage, couplé à l'amélioration de la capacité à stocker les données et à les interpréter dans les laboratoires de diagnostic moléculaire, permettent d'envisager cette technologie pour une prise en charge diagnostique. A ce jour, les dernières versions de produits de capture pour WES sont SureSelect V6 (Agilent), SeqCap EZ Medexome (Roche NimbleGen) et TruSeq Rapid Exome (Illumina). Le kit SeqCap EZ MedExome constitue la dernière solution de préparation de librairies de WES de la société Roche-NimbleGen. Elle présente la particularité d'offrir une couverture améliorée sur 4600 gènes d'intérêt médical tout en offrant une couverture exhaustive du reste de l'exome. Enfin, ces sociétés offrent la possibilité de personnaliser la capture d'exome à façon en enrichissant la densité de sondes de capture de certaines régions choisies du génome.

Nous avons mis au point en 2013 le diagnostic par NGS ciblé des exons et jonctions exon-introns de 137 gènes de M-DM. L'objectif de notre étude est d'évaluer les kits de capture de WES les plus récents proposés par les principales sociétés, afin de choisir la technologie la plus fiable en termes de couverture et de profondeur de séquençage non seulement de l'exome total, mais aussi des gènes de M-DM de notre panel ciblé. Si la couverture de séquençage au niveau des 137 gènes n'est pas satisfaisante, nous proposons d'optimiser le kit de capture de WES le plus efficace par l'adjonction de sondes au niveau des gènes de M-MD. Cette étude constituera un préliminaire à la mise en place du WES en pratique diagnostique puis à une étude visant à évaluer l'efficacité diagnostique du WES comparée au NGS ciblé sur un grand nombre de patients.

Résultats

Juntas Morales, Raul, Aurélien Perrin, Guilhem Solé, Delphine Lacourt, Henri Pegeot, Ulrike Walther-Louvier, Pascal Cintas, et al. 2021. « An Integrated Clinical-Biological Approach to Identify Interindividual Variability and Atypical Phenotype-Genotype Correlations in Myopathies: Experience on A Cohort of 156 Families ». Genes 12 (8): 1199. <https://doi.org/10.3390/genes12081199>.

Yauy, Kevin, Charles Van Goethem, Henri Pégeot, David Baux, Thomas Guignard, Corinne Thèze, Olivier Ardouin, et al. 2023. « Evaluating the Transition from Targeted to Exome Sequencing: A Guide for Clinical Laboratories ». International Journal of Molecular Sciences 24 (8): 7330. <https://doi.org/10.3390/ijms24087330>.

[Retour tableau](#)

Diagnostic des NBIA: Analyse de l'hétérogénéité génétique et validation de marqueurs mitochondriaux de pathogénicité des variants

FERGELOT Patricia - Labo Génét mol, PTBM

CHU de Bordeaux

[Retour tableau](#)

Résumé

Les neurodégénérescences par accumulation intracérébrale de fer (NBIA) représentent un groupe hétérogène de maladies rares du système nerveux, tant sur le plan génétique que phénotypique.

Le service de génétique médicale du CHU de Bordeaux est référent pour le diagnostic clinique (Pr Cyril Goizet, neurogénétique) et moléculaire (Dr Patricia Fergelot laboratoire de génétique moléculaire) de ces pathologies.

Le diagnostic est basé sur l'IRM cérébrale qui montre le dépôt anormal de fer dans les noyaux gris centraux et l'analyse génétique. Dix formes de NBIA se distinguant par le gène en cause et la présentation clinique sont reconnues actuellement. Cependant les tableaux cliniques sont parfois chevauchants et le diagnostic moléculaire peut être pris en défaut du fait de variants dits de signification inconnue dont le caractère pathogène n'est pas documenté. Environ la moitié des cas évocateur cliniquement et à l'IRM restent sans confirmation moléculaire. Les enjeux diagnostiques sont de 2 ordres : d'une part avoir une exhaustivité suffisante ce qui passe par l'analyse, en séquençage haut débit, d'un panel de gènes incluant l'ensemble des gènes décrits et pouvant évoluer au fur et à mesure de l'identification de nouveaux gènes et, d'autre part, valider par des études fonctionnelles la pathogénicité des variants géniques détectés.

Quatre grandes voies sont impliquées dans la physiopathologie de ces maladies : le métabolisme du fer, le métabolisme des lipides, l'énergétique cellulaire et l'autophagie.

La biochimie de la mitochondrie est impliquée dans ces voies et nous avons donc réalisé un 1er test sur les fibroblastes d'un patient de notre cohorte et effectué une revue de la littérature pour définir les paramètres pertinents à valider sur un groupe de patients atteints de NBIA dont l'anomalie moléculaire est connue.

A partir de la cohorte bordelaise de 70 patients 2 groupes seront étudiés :

- Un groupe de 44 patients sans diagnostic moléculaire et 6 témoins. L'analyse sera effectuée sur un panel de 16 gènes de NBIA dont 9 sont déjà étudiés en génétique moléculaire au CHU de Bordeaux, la nouveauté portant également sur l'utilisation de la capture (couverture optimisée) couplée au séquençage Ion Torrent (disponibilité sur le plateau technique du CHU, rapidité) ;
- Un groupe de 10 patients, avec variants identifiés dans les gènes déjà étudiés au laboratoire de diagnostic moléculaire du CHU, pour la mise en place de dosages, plasmatiques, sur cellules sanguines et sur fibroblastes issus de biopsie cutanée. La présente étude sera réalisée à partir de patients atteints de 2 formes de NBIA fréquentes, MPAN et PKAN, avec 5 patients pour chaque type et un groupe de 6 témoins appariés pour le sexe et si possible pour l'âge.

Notre perspective est la mise en place de ces tests génétiques et biochimiques en diagnostic avec les filières maladies rares et le réseau CARAMMEL impliqué dans le diagnostic des maladies mitochondriales.

Résultats

Van Gils, Julien, Frederique Magdinier, Patricia Fergelot, et Didier Lacombe. 2021. « Rubinstein-Taybi Syndrome: A Model of Epigenetic Disorder ». *Genes* 12 (7): 968. <https://doi.org/10.3390/genes12070968>.

Angelini, Chloé, Christelle Marie Durand, Patricia Fergelot, Julie Deforges, Anne Vital, Patrice Menegon, Elizabeth Sarrazin, et al. 2023. « Autosomal Dominant MPAN : Mosaicism Expands the Clinical Spectrum to Atypical Late-Onset Phenotypes ». *Movement Disorders* 38 (11): 2103-15. <https://doi.org/10.1002/mds.29576>.

Poster

**Diagnostic des NBIA : analyse de l'hétérogénéité génétique
et validation de marqueurs mitochondriaux de pathogénicité des variants.**

Fergelot P, Durand C, Hubert C, Chupin M, Goizet C, Coupry I
CHU de Bordeaux et INSERM U1211, Université de Bordeaux

Evolution du
diagnostic
moléculaire des
NBIA

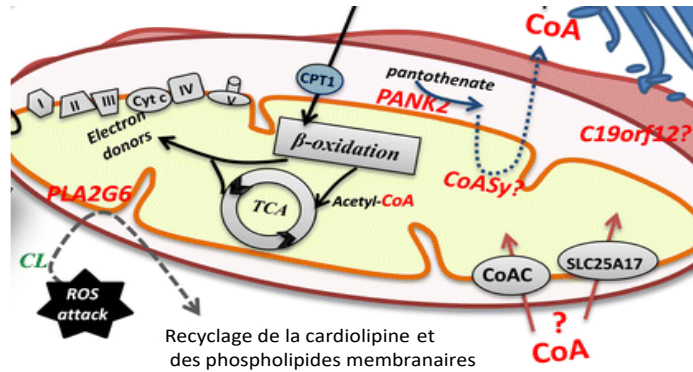
Core panel
9 à 12 gènes
(30% des
patients)

Pré-indication
PFMG2025

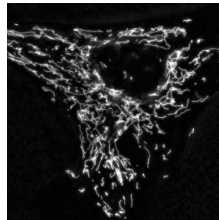
Séquençage
génomique entier

Nouveaux
variants et
nouveaux gènes

Outils
de validation
des variants

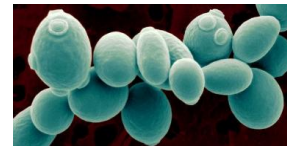


Hypothèse : la mitochondrie est le carrefour des mécanismes
d'accumulation de fer et de neurodégénérescence



Fibroblastes des patients
Variants C19ORF12

Les formes récessives et
dominantes entraînent
la même perte
d'expression de la
protéine qui serait à
l'origine d'une inhibition
de la mitophagie



CAB1 : pantothénate kinase
chez la levure

Des variations faux-sens
de PANK2 sont introduites
par CRISPR-Cas9 dans
les acides aminés
conservés chez la levure.
La croissance sur milieux
respiratoires est diminuée
en présence de formes
mutées de CAB1

Conclusion –perspectives. Nous avons montré l'intérêt de tests cellulaires pour les variants de C19Orf12 et du modèle levure pour PANK2 . De telles approches devront être validées sur différentes formes de NBIA pour préciser leur caractère universel ou spécifique, ce qui passe aussi par une meilleure connaissance de la physiopathologie de l'accumulation de fer et des mécanismes menant à la neurodégénérescence.

[Retour tableau](#)

Examen des caractéristiques génétiques d'une personne: identification et optimisation des organisations dans deux spécialités médicales

PASQUIER Laurent - Pôle Pédiatrie CHU Rennes

[Retour tableau](#)

Résumé

Faisant le constat d'une prescription massive d'un examen des caractéristiques génétiques d'une personne (ECGP) dans toutes les disciplines médicales et à tous les âges de la vie, la génétique est devenue une étape courante et indispensable de la prise en charge des patients. Pourtant, ces pratiques sont caractérisées par une incertitude entre l'essor technologique de la connaissance du génome (étude globale de l'ADN maintenant utilisée en pratique comme la puce à ADN ou l'exome) et les applications pour le diagnostic, les soins, et la prévention.

Par ailleurs, de par ses spécificités en termes d'interprétations, de risque héréditaire (tests diagnostiques) ou de tests présymptomatiques, l'ECGP fait l'objet d'un encadrement juridique contraignant (loi du 7 juillet 2011 relative à la bioéthique et ses décrets d'application) ainsi que de recommandations de bonnes pratiques. Cet essor de données réglementaires autour des droits des personnes (notamment en termes d'information individuelle et à la parentèle, de formalisation du consentement et de protection de la personne) et un décalage avec les pratiques caractérisent également ce domaine médical.

Si les médecins généticiens sont sensibilisés aux spécificités de l'ECGP, il apparaît indispensable d'explorer ces pratiques auprès des médecins non généticiens, qui sont et deviendront de plus en plus premiers acteurs de cette prescription. En effet des questions majeurs vont accompagner la prescription et le retour de résultats dans les années à venir et les équipes n'ont pas à ce jour de réponses ni de référentiels forcément clairs : contenu de l'information initiale à délivrer, modalités de retour des résultats et interprétation de leurs limites, obligation et conditions d'information de la parentèle. Ces situations peuvent générer de grandes incertitudes et disparité de pratiques. Un travail apparaît essentiel pour comprendre les conditions de réalisation d'un ECGP actuellement et envisager les évolutions nécessaires pour répondre à ces nouvelles questions.

Pour cela il conviendra d'explorer d'une part les circonstances selon lesquels un ECGP est proposé et d'autre part les modalités de réalisation de cet examen en termes de relation et d'information avec les patients. L'hypothèse de notre recherche est que les attentes de procédures et besoins de formation des professionnels seront les plus importants sur ces deux volets.

L'intérêt de cette recherche transdisciplinaire est d'explorer les facteurs médicaux, sociologiques et juridiques qui sont au cœur de ces pratiques professionnelles, d'en explorer les incertitudes et envisager les évolutions nécessaires pour l'avenir. Pour s'assurer de la faisabilité, le champ d'études sera restreint à une région administrative, la Normandie, et à deux disciplines médicales complémentaires et emblématiques de l'utilisation courante des examens des caractéristiques génétiques chez une personne : la neurologie et l'oncologie. La neurologie est notamment caractérisée par le diagnostic et la prise en charge de maladies neurodégénératives rares pour lesquelles il n'existe pas de moyens de prévention ou de traitement. A l'opposé, l'oncologie est caractérisée par des maladies relativement fréquentes (cancers du sein, prostate,...) parfois d'origine génétique, pour lesquelles il existe des outils efficaces de dépistages ou de traitements précoces.

L'identification de ces facteurs pourrait conduire à adapter les outils de formation initiale et continue vers l'ensemble des médecins prescripteurs de tests génétiques, ainsi que les procédures internes aux services, pour une optimisation médicale de cet acte particulier.

Résultats

Pasquier, Laurent, Guy Minguet, Sylvie Moisdon-Chataigner, Pascal Jarno, Philippe Denizeau, Ginette Volf, Sylvie Odent, et Grégoire Moutel. 2022. « How Do Non-Geneticist Physicians Deal with Genetic Tests? A Qualitative Analysis ». European Journal of Human Genetics 30 (3): 320-31.

[Retour tableau](#)

Application de la droplet digital PCR (ddPCR) dans le diagnostic prénatal non-invasif de l'incompatibilité plaquettaire foeto-maternelle

PETERMANN Rachel - Institut national de la transfusion sanguine (INTS)

Dép immuno plaquettaire

[Retour tableau](#)

Résumé

L'allo-immunisation plaquettaire foeto-maternelle résulte d'une incompatibilité parentale dans le système antigénique plaquettaire. Cette pathologie touche environ 1 naissance vivante sur 1000 chez les caucasiens et se traduit par la destruction des plaquettes du fœtus par les alloanticorps maternels dirigés contre un ou plusieurs antigènes plaquettaires du père, exprimés chez le fœtus et absents chez la mère. Il en résulte une thrombopénie foetale ou néonatale (TNN) dont les conséquences peuvent être très graves. En effet, les thrombopénies sévères sont parfois à l'origine d'hémorragies intracrâniennes (HIC) qui survient chez 10 à 30% des cas. Actuellement, le génotypage plaquettaire foetal est réalisé à partir de cellules amniotiques. Néanmoins, cette méthode s'appuie sur un geste invasif avec un risque d'hémorragie et de perte de fœtus estimé à environ 1%.

L'objectif de ce projet est de valider, sur une grande cohorte, la preuve de concept de l'utilisation de la PCR digitale en microgouttelettes (ddPCR : droplet digital PCR) pour le génotypage plaquettaire foetal dans le cadre du diagnostic prénatal non-invasif de l'incompatibilité plaquettaire foeto-maternelle. Cette technique est largement appliquée en clinique, elle permet entre autre, de caractériser l'ADN libre tumoral circulant chez des patients atteints de cancer avec une sensibilité allant jusqu'à 0,001%. Dans le cadre de ce projet, les régions spécifiques porteuses de polymorphismes des systèmes antigéniques plaquettaires HPA-1, -3, -5 et -15 seront amplifiées et quantifiées à partir de l'ADN libre dans la circulation maternelle puis comparées d'une part avec les résultats de génotypage obtenus à partir de l'ADN génomique des parents et d'autre part à partir de l'ADN foetal obtenu à partir du liquide amniotique ou après sa naissance. Ces systèmes sont responsables de plus de 95% des TNN. La ddPCR permettra également de vérifier, de manière sensible et fiable, la présence de l'ADN foetal dans le plasma maternel. La différence de méthylation du promoteur du gène RASSF1A entre les cellules maternelles et le placenta (fœtus) nous permet de contrôler la présence d'ADN foetal par digestion enzymatique du plasma maternel.

Cette méthode pertinente et non-invasive de génotypage plaquettaire foetal permettrait de diagnostiquer une éventuelle incompatibilité plaquettaire foeto-maternelle et d'adapter la prise en charge biologique et thérapeutique des patientes.

[Retour tableau](#)

Développement d'outils fonctionnels, génétiques et cliniques d'aide au diagnostic de la déficience intellectuelle de type MRD7 (DYRK1A)

PITON Amélie - IGBMC Illkirch

[Retour tableau](#)

Résumé

Des mutations du gène DYRK1A causent une forme de déficience intellectuelle (DI) syndromique assez fréquente (MRD7, pour mental retardation autosomal dominant 7). Le gène DYRK1A code une protéine sérine/thréonine kinase, exprimée tout le long de la vie, et impliquée dans un grand nombre de processus cellulaires. Une cinquantaine de variations potentiellement pathogènes ont été identifiées dans ce gène, par séquence haut-débit d'exome, de panels de gènes, ou par séquençage Sanger des régions codantes de DYRK1A. Parmi celles-ci, un tiers sont des variations faux-sens, pour lesquelles l'interprétation reste difficile et incertaine. Nous proposons dans ce projet de développer des outils pour l'interprétation de la pathogénicité des variants faux-sens de signification inconnue identifiés dans ce gène. Par ailleurs, nous souhaitons mieux définir le spectre clinique associé à une altération de DYRK1A et identifier des mutations de ce gène (ou de ses partenaires) qui échapperaient au séquençage classique des séquences codantes (Sanger ou haut-débit).

- Evaluation de l'effet fonctionnel de variants faux-sens dans le gène DYRK1A : Nous surexprimerons la protéine DYRK1A sauvage ou mutée et testerons son expression, localisation et activité kinase. Nous caractériserons également le phénotype engendré par une inactivation partielle de *dyrk1a* chez le poisson zèbre (microcéphalie, etc) et réaliserons des tests de rescue avec de l'ARN de DYRK1A sauvage ou porteur de variations faux-sens.

- Identification de gènes cibles de DYRK1A et développement d'un test fonctionnel rapide et peu coûteux : Cette étude s'inscrit dans un projet plus global portant sur l'étude des conséquences moléculaires et cellulaires d'une haploinsuffisance de DYRK1A ou de mutations pathogènes affectant ce gène dans différents modèles, in vitro (précurseurs neuraux humains) et in vivo (zébrafish) dont le but est de mieux comprendre les mécanismes pathophysiologiques liés aux mutations du gène DYRK1A. Les conséquences moléculaires sur l'expression des gènes et leur épissage d'une altération du gène DYRK1A seront analysées dans des fibroblastes de patients porteurs de variants certainement pathogènes (RNAseq, qPCR). Les résultats obtenus seront comparés aux données générées dans les précurseurs neuronaux (étude en cours). Les gènes cibles dont l'expression ou l'épissage seront affectés par les mutations de DYRK1A dans les deux types cellulaires seront validés sur des ARN extraits de sang de patients. Une fois le test fonctionnel validé, nous entreprendrons d'étudier ces altérations sur des prélèvements (sang et/ou fibroblastes) de patients porteurs de faux-sens de signification inconnue.

- Meilleure caractérisation des signes cliniques associés à des mutations du gène DYRK1A : En parallèle de ces études fonctionnelles, nous chercherons à mieux définir le spectre clinique et connaître l'histoire naturelle des individus avec mutations dans le gène DYRK1A. Nous développerons un système de scoring clinique pour cette forme de DI (MRD7) et meneront des investigations fonctionnelles et génétiques chez les patients les plus cliniquement évocateurs sans mutation identifiée dans les séquences codantes du gène. Au final, ces études fonctionnelles, génétiques et cliniques nous permettront de mieux comprendre, de mieux diagnostiquer et de mieux prendre en charge les individus présentant une DI causée par une mutation dans le gène DYRK1A.

Résultats

Courraud, Jérémie, Eric Chater-Diehl, Benjamin Durand, Marie Vincent, Maria del Mar Muniz Moreno, Imene Boujelbene, Nathalie Drouot, et al. 2021. « Integrative Approach to Interpret DYRK1A Variants, Leading to a

Frequent Neurodevelopmental Disorder ». *Genetics in Medicine*, août, 1-10. <https://doi.org/10.1038/s41436-021-01263-1>.

Durand, Benjamin, Elise Schaefer, Pauline Burger, Sarah Baer, Carmen Schroder, Jean-Louis Mandel, Amélie Piton, et Romain Coutelle. 2022. « Neurocognitive and Neurobehavioral Characterization of Two Frequent Forms of Neurodevelopmental Disorders: The DYRK1A and the Wiedemann–Steiner Syndromes ». *Clinical Genetics* 102 (4): 296-304. <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/cge.14190>.

Mirzaa, Ghayda M., Jessica X. Chong, Amélie Piton, Bernt Popp, Kimberly Foss, Hui Guo, Ricardo Harripaul, et al. 2020. « De Novo and Inherited Variants in ZNF292 Underlie a Neurodevelopmental Disorder with Features of Autism Spectrum Disorder ». *Genetics in Medicine* 22 (3): 538-46. <https://doi.org/10.1038/s41436-019-0693-9>.

Poster

Le poisson zèbre pour étudier l'impact des variants identifiés dans les pathologies neurosensorielles

ROUX Anne-Françoise - Labo de génétique mol-CHU de Montpellier

Labo de génétique des maladies rares -EA 7402

[Retour tableau](#)

Résumé

Dans le cadre de notre activité diagnostique des pathologies neurosensorielles, nous identifions un nombre croissant de variants de signification clinique incertaine. Ce nombre a particulièrement explosé avec la mise en place d'un panel de gènes analysés par séquençage haut débit. Nos rendus de diagnostic se font à ce jour sur un panel de 121 gènes comprenant 61 gènes impliqués dans les surdités isolées, 38 gènes impliqués dans les rétinites pigmentaires autosomiques récessives, et les 10 gènes impliqués dans le syndrome de Usher (forme syndromique associant surdité et rétinite pigmentaire). Par ailleurs, une dizaine de gènes « candidats » sont également inclus dans ce panel. L'utilisation d'outils de prédiction en parallèle de la consultation des bases de données ne permet pas dans tous les cas d'aboutir à une classification du variant, rendant impossible un diagnostic de certitude d'implication du gène et un conseil génétique approprié. A cela s'ajoute une variabilité phénotypique associée à certains variants considérés comme pathogènes qui peut être difficile à expliquer et qui rend difficile le pronostic d'évolution des signes cliniques.

Une analyse fonctionnelle des altérations identifiées représente une approche de choix pour définir l'impact d'un variant, néanmoins, elle n'est pas toujours possible. Nous avons dans cette démarche mis en place des analyses fonctionnelles pour analyser l'effet des variants sur l'épissage de l'ARN prémessager. Parce que l'analyse des transcrits peut s'avérer compliquée, voire impossible, nous utilisons une approche ex vivo par minigènes dans la majorité des cas. Cette approche est maintenant utilisée en routine dans notre activité diagnostique mais ne répond qu'à une hypothèse d'un impact sur l'épissage. A ce jour nous ne disposons pas d'outils fonctionnels pour évaluer les conséquences d'un variant au niveau protéique.

En continuité de notre démarche de diagnostic d'expertise, nous souhaitons mettre en place une plateforme d'analyse chez le modèle poisson zèbre pour déterminer non seulement si un variant identifié chez homme aura un impact mais aussi pour déterminer la gravité et l'évolution du phénotype. Le modèle poisson zèbre a déjà été utilisé avec succès pour l'analyse nombreuses pathologies dont les surdités, rétinites pigmentaires et syndrome de Usher.

Ce projet se fait en étroite collaboration avec « la plateforme poisson zèbre » de Montpellier. Il s'agit dans un premier temps d'analyser deux variants du gène USH1C, touchant la même position nucléotidique mais associés à des phénotypes très différents. Afin d'établir si la variabilité phénotypique est due à la nature de la mutation, plusieurs modèles de poissons zèbres seront créés. L'étude des organes impliqués se fera par analyse comportementale (testant aussi bien la fonction auditive que visuelle), par histologie et par immunohistochimie. Les résultats permettront non seulement de conclure à l'impact des variants USH1C mais aussi de valider la mise en place des protocoles de phénotypage. Cette approche novatrice d'étude fonctionnelle des variants sera alors appliquée aux autres gènes étudiés dans le secteur neurosensoriel.

Poster

Appel d'offres

Le poisson zèbre pour étudier l'impact des variants identifiés dans les pathologies neurosensorielles

Christel Vaché^{1,2}, Nicolas Cubedo³, Mireille Rossel³, Anne-Françoise Roux^{1,2}

¹Laboratoire de Génétique Moléculaire, CHU Montpellier, Université de Montpellier, Montpellier, France, ²IMM, Université de Montpellier, INSERM U1298, Montpellier, France, ³MMDN, Université de Montpellier, EPHE, INSERM, Montpellier, France

OBJECTIFS

Dans le cadre de notre activité de diagnostic des pathologies neurosensorielles nous sommes amenés à identifier de nombreux nouveaux variants. Leur analyse par différents outils d'interprétation in silico et par des tests fonctionnels ex vivo ne sont pas toujours suffisants pour apporter une réponse claire quant à leur pathogénicité.

Ce projet consiste à initier la mise en place de différents outils d'exploration phénotypique chez le poisson zèbre qui permettront d'aider à la caractérisation de certains de ces variants de signification incertaine (VSI).

MÉTHODOLOGIE

Les différences phénotypiques entre des poissons zèbre non injectés ou injectés au stade 1 cellule avec des ARNm humains mutants ou contrôles ont été objectivées, à 5 jours après fertilisation, à l'aide de la plateforme de phénotypage sensoriel et comportemental ZebraSens de Montpellier.

L'acuité visuelle de chaque larve a été évaluée par l'enregistrement du réflexe optocinétique (OKR) et du décompte des saccades générées lors du test (VisioBox®).

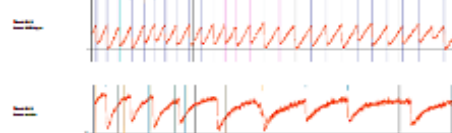
La fonction auditive a, quant à elle, été estimée par des études comportementales (réflexe de fuite) lors de stimuli sonores à différentes fréquences et intensités sonores (test ASR avec ZebraBox®). La présence de possibles défauts locomoteurs a également été recherchée par vidéo-traquage des larves lors de changements brusque d'intensité lumineuse (test VMR avec ZebraBox®).

RÉSULTATS

✦ Ce projet a fortement contribué à la mise en place d'une collaboration entre deux équipes.

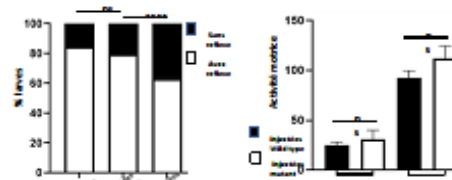
✦ Lors de ce travail nous avons développé les protocoles expérimentaux à utiliser pour l'étude de la vision et de l'audition chez les larves de 5 jours.

✦ L'utilisation du test OKR a pu être validée au regard des résultats obtenus lors de l'étude de larves issues d'une lignée établie de poissons zèbre mutés dans un gène altérant la vision.



🔍 Les larves mutées ont un nombre de saccades plus faible que les larves contrôles pour un temps d'étude identique.

✦ Les tests réalisés pour étudier l'audition nous ont permis de mettre en évidence le caractère pathogène d'un variant non-stop dans un gène impliqué dans des surdités dominantes. A ce jour, seules trois autres variations pathogènes ont été répertoriées dans ce gène.



🔍 Les larves injectées avec l'ARNm humain muté sont moins nombreuses à réagir à des stimuli sonores (test ASR) alors que leur activité motrice est conservée (test VMR).

CONCLUSION

La mise en place d'études fonctionnelles innovantes est particulièrement importante dans un contexte de rendu de diagnostic basé sur des analyses de séquençage très haut débit qui mettent en évidence de nombreux nouveaux variants. L'ensemble de ce travail a permis d'établir que les tests fonctionnels sur le poisson zèbre ont toute leur place dans notre stratégie de diagnostic exhaustif des pathologies neurosensorielles rares.



**6^{èmes}
Journées
de l'Agence
de la biomédecine**

7 & 8 octobre 2021
#JournéesABM2021

Caractérisation de grands variants de structure par la cartographie nouvelle génération utilisant la technologie Bionano

EL KHATTABI Laila - Laboratoire de Cytogénétique Constitutionnelle Pré et Postnatale U1016 - Paris

[Retour tableau](#)

Résumé

Le développement récent des techniques d'analyse pan génome a permis d'améliorer nos capacités à détecter les variants de structure supérieurs à 1 kb. Cependant, les technologies actuelles présentent encore des limites qui empêchent une analyse globale de l'ensemble des variations. L'Analyse Chromosomique sur Puce a ADN, qui est la technique de choix aujourd'hui pour la détection pangénomique de CNV, a une résolution limitée par le nombre d'oligonucléotides utilisés et ne permet pas l'identification des variants de structure équilibrés. Le séquençage haut débit utilisant des tailles de lecture courte est mal adapté à la détection des variants de plusieurs centaines de kilobase, tandis que les approches basées sur la lecture de grands fragments (natifs ou "reconstitués") ont une sensibilité limitée par la capacité des algorithmes utilisés à reconstruire une carte génomique à partir des données de séquençage.

Du fait de ces limites technologiques, les anomalies chromosomiques de structure équilibrées ou complexes associées à la déficience intellectuelle, aux malformations congénitales et/ou aux troubles de la reproduction ne sont pas détectées. De même, le nombre et le type de réarrangements chromosomiques de structure équilibrés polymorphiques ne peut être correctement estimé.

Une nouvelle technique de cartographie pangénome met en oeuvre un système nanofluidique pour étirer des molécules d'ADN de haut poids moléculaire préalablement marquées au niveau de sites de restriction, et une lecture automatisée de la fluorescence. Après analyse des images acquises, un assemblage de novo du genome est réalisé. Par comparaison à la carte de référence du génome humain, il est alors possible d'identifier les remaniements de structure déséquilibrés de quelques kilobases à plusieurs mégabases, mais aussi les remaniements équilibrés comme les translocations ou les insertions.

Seules deux études ont évalué cette technologie en génétique clinique. L'une dans une cohorte de patients DMD et l'autre dans le cancer de la prostate.

Notre étude vise à tester cette approche chez des patients chez lesquels des anomalies de structure équilibrées et déséquilibrées ont été identifiées afin d'en valider les performances, dans un premier temps, puis évaluer sa capacité à détecter des variants de structure équilibrés non identifiés par les techniques actuelles. Par ailleurs, nous pourrons comparer les performances avec une autre approche novatrice basée sur le séquençage de fragments longs reconstitués (système 10X Genomics) qui a été utilisée par les mêmes laboratoires participants à ce projet.

Les enjeux sont importants puisque cette technique peut potentiellement simplifier et améliorer le diagnostic des variants de structure déséquilibrés avec une seule technique remplaçant le caryotype, l'ACPA et la MLPA notamment, et surtout elle peut bouleverser nos capacités à diagnostiquer les remaniements équilibrés toujours basées sur le caryotype qui a une résolution très faible.

Résultats

Mantere, Tuomo, Kornelia Neveling, Céline Pebrel-Richard, Marion Benoist, Guillaume van der Zande, Ellen Kater-Baats, Imane Baatout, et al. 2021. « Optical genome mapping enables constitutional chromosomal aberration

detection ». The American Journal of Human Genetics 108 (8): 1409-22.
<https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2021.05.012>.

[Retour tableau](#)

Année: 2018

Haplotypage Universel par technologie Chromium™ dans le Diagnostic Prénatal Non Invasif des Maladies Monogéniques

FEREC Claude - Laboratoire de Génétique Moléculaire et d'Histocompatibilité et Unité Inserm UMR1078 Génétique Génomique et

Biotechnologies - Brest

[Retour tableau](#)

Résumé

Objectifs :

La découverte de l'ADN fœtal libre circulant dans le sang maternel a permis le développement du diagnostic prénatal non invasif (DPNI). Avec l'arrivée de nouvelles techniques, il est envisageable de détecter des allèles fœtaux transmis par le père ou de déduire le génotype fœtal par recherche de surreprésentation d'un allèle maternel par rapport à l'autre.

Les cellules fœtales représentent une approche prometteuse, mais qui nécessite encore de nombreux développements avant de pouvoir être envisagée en routine.

Les applications de l'étude de l'ADN fœtal libre circulant se limitent aujourd'hui à la recherche de séquences fœtales différentes du génome maternel telles que la détermination du sexe fœtal ou le génotypage RHD, et à la quantification de séquences du chromosome 21 dans le dépistage de la trisomie 21 fœtale. A ce jour, les publications proposant la détermination du statut du fœtus vis-à-vis du variant maternel ne rapportent que des cas isolés ou des petites cohortes, sans approche standardisée ou contrôle des risques statistiques.

Cette étude a pour objectifs :

- le développement d'une stratégie robuste permettant le DPNI des maladies monogéniques, - la recherche et caractérisation moléculaire des trophoblastes circulants.

Méthodes :

Nous avons acquis au laboratoire la technologie Chromium™ (10XGenomics™), qui permet de reconstituer les haplotypes parentaux à partir d'ADN génomique, et donc d'identifier les haplotypes morbides. L'étude du plasma en parallèle permet de déterminer les haplotypes parentaux hérités par le fœtus et d'en déduire son statut vis-à-vis de la pathologie familiale.

Nous incluons des couples à risque de transmettre la mucoviscidose et demandeurs d'un diagnostic prénatal (DPN). Nous utiliserons un nouveau test statistique pour l'analyse des résultats permettant un

contrôle strict des risques statistiques. L'analyse sera réalisée en parallèle du DPN conventionnel, et le résultat sera comparé au résultat obtenu sur prélèvement invasif fœtal.

Nous chercherons à identifier et caractériser les cellules fœtales circulantes dans le sang maternel par l'approche Single Cell (10X Genomics™). Celle-ci permet d'obtenir le profil transcriptionnel d'un grand nombre de cellules présentes dans un échantillon.

Résultats attendus :

Nous souhaitons dans un premier temps inclure de manière prospective 20 couples, ce qui représentera la plus grosse cohorte publiée dans le cadre du DPNI.

Cette étude nous permettra d'évaluer l'intérêt de cette technique dans le DPNI sur la fiabilité du résultat, les délais d'analyse et le coût, afin d'envisager dans un futur proche l'approche non invasive en première intention chez les couples demandeurs d'un DPN dans le cadre d'un antécédent familial de maladie monogénique.

D'autre part, l'approche Single Cell nous permettra de différencier les populations de cellules circulantes dans le sang maternel et d'identifier des caractéristiques moléculaires spécifiques des trophoblastes.

[Retour tableau](#)

Année: 2018

DPNI sur CFTC par amplification du génome entier couplée à un séquençage du mini-exome

GUISSART Claire - Institut Universitaire de Recherche Clinique IURC

Laboratoire de Génétique Moléculaire - Montpellier

[Retour tableau](#)

Résumé

Contexte : Les approches dites de Diagnostic Prénatal Non Invasif (DPNI), basées sur l'analyse de fragments d'ADN fœtal libres circulants (cff-DNA) apportent de clairs bénéfices en pratique clinique dans un dépistage précoce des maladies monogéniques. Elles améliorent la sécurité du diagnostic prénatal (DPN), en s'affranchissant du risque de perte fœtale dû aux prélèvements invasifs (amniocentèse ou choriocentèse) estimé entre 0,5 et 1%. Toutefois des difficultés techniques liées aux caractéristiques du cff-DNA demeurent et nécessitent de longues étapes de mise au point analytique et parfois des analyses bio informatiques complexes. Les DPNI actuellement proposés sont des diagnostics « à façon » spécifique le plus souvent d'une mutation donnée, voire un gène.

Objectifs :

Le présent projet propose de compléter l'offre de DPNI en développant un test de DIAGNOSTIC DIRECT applicable à la majorité des gènes et mutations impliquées dans les demandes de DPN à partir de cellules fœtales trophoblastiques circulantes (CFTC) isolées.

Méthodologie :

Réalisation d'une prise de sang chez la femme enceinte à partir de 9 semaines d'aménorrhée pour laquelle une indication de DPN pour maladie rare est reconnue.

Isolement des CFTC à partir des systèmes d'isolement des Cellules Tumorales Circulantes (CTCs), puis amplification du génome entier des cellules isolées suivi d'un séquençage du mini-exome et d'une analyse par un filtre bioinformatique spécifique de l'indication du DPN.

L'étude se fera en 2 temps :

validation analytique de la méthode par l'étude des données de qualité du séquençage des régions géniques ciblées selon les indications majoritaires de DPN au niveau national (cf. liste des pathologies du bilan ABM DPN 2014 en Annexe 2).

évaluation en contexte clinique de la méthode en vérifiant la concordance des résultats de génotypes obtenus lors de l'examen standard (gold standard = DPN par amniocentèse ou choriocentèse) et de ceux obtenus avec notre nouvelle approche DPNI pour 15 femmes enceintes.

Résultats attendus et perspectives :

Cette étude doit permettre d'établir la preuve de concept d'une méthode de DPNI semi-universelle concernant la majorité des maladies rares faisant l'objet de demandes de DPN en déterminant à partir d'une simple prise de sang maternel si l'enfant à venir est atteint ou non de la maladie génétique transmise par ses parents.

Cette approche DPNI permettrait de réduire le nombre de gestes invasifs et ainsi de supprimer le risque de perte fœtale lié à l'amniocentèse ou la choriocentèse. Elle permettrait de proposer l'accès au niveau national à un DPNI pour un large panel de maladies rares.

Résultats

Cayrefourcq, Laure, Marie-Claire Vincent, Sandra Pierredon, Céline Moutou, Marion Imbert-Bouteille, Emmanuelle Haquet, Jacques Puechberty, et al. 2020. « Single Circulating Fetal Trophoblastic Cells Eligible for Non Invasive Prenatal Diagnosis: The Exception Rather than the Rule ». Scientific Reports 10 (1): 9861.

[Retour tableau](#)

Processus décisionnels des couples confrontés au diagnostic prénatal d'une agénésie du corps calleux

HERON Delphine - Service de génétique clinique. Hôpital Pitié Salpêtrière

[Retour tableau](#)

Résumé

L'agénésie du corps calleux (ACC), partielle ou totale est la malformation cérébrale la plus fréquente, et accessible au diagnostic prénatal par échographie, le plus souvent au 2nd trimestre de la grossesse. Lorsque celle-ci est apparemment isolée (ACCI), c'est-à-dire non associée à d'autres malformations ou à une anomalie chromosomique, le phénotype neurocognitif est extrêmement variable, pour une même présentation neuro-anatomique. En effet, le neuro-développement peut être normal, ou être associé à des troubles cognitifs mineurs, ou encore à une déficience intellectuelle (DI) de gravité variable. Ainsi, le pronostic est considéré comme favorable dans 75% des cas (Moutard et al, 2012) et défavorable dans 25% des cas (DI de gravité variable). Depuis une vingtaine d'années, plus de 400 couples confrontés à la découverte in utero d'une ACC ont été vus en consultation prénatale dans notre équipe pluridisciplinaire associant obstétriciens et sage-femmes, neuropédiatres, généticiens et psychologues.

La découverte au cours de la grossesse de cette malformation cérébrale à pronostic très incertain plonge les couples dans une situation d'extrême difficulté, puisqu'ils doivent prendre la décision de poursuivre ou d'arrêter la grossesse sur ces seules données statistiques. Dans ce contexte, les couples et les équipes médicales se trouvent dans une situation paradigmatique de prise de décision en situation d'incertitude. Comment les couples prennent-ils leur décision ? Comment vivent-ils cette décision dans le temps ? Ces questions n'ont pas encore fait l'objet d'étude spécifique.

Notre étude comporte 3 objectifs :

- 1) Etudier de manière rétrospective le processus décisionnel chez les couples suite à une annonce d'ACCI au cours de la grossesse.
- 2) Evaluer le devenir de la décision des couples.
- 3) Connaître leurs besoins afin d'améliorer le dispositif du parcours de soin actuellement proposé. Notre projet associe les 3 équipes hospitalières impliquées dans le suivi des couples (médecine fœtale, neuropédiatrie, génétique), et 2 équipes de recherche universitaire.

La population concernée est constituée de 30 couples pour lesquels l'annonce d'une ACCI au cours de la grossesse a eu lieu entre 2014 et 2017. Deux groupes se constitueront au cours de l'étude :

Groupe 1) Couples ayant pris la décision de poursuivre la grossesse.

Groupe 2) Couples ayant eu recours à une IMG. Nous utiliserons des outils nous permettant de recueillir des données qualitatives et quantitatives (entretien semi-structuré de recherche, échelle de dépression Beck, échelles d'anxiété STAI A-B, échelle d'évènement traumatique PCLS).

Cette étude permettra de déterminer les facteurs externes et internes intervenant dans la décision des couples confrontés à l'incertitude de pronostic en prénatal, et pourra servir de modèle pour d'autres malformations à pronostic incertain. Les résultats permettront également de comprendre les besoins des familles et d'adapter les modalités de prise en charge.

La longueur des télomères, un marqueur de fertilité féminine ? (TELEFF)

KOSCINSKI Isabelle - Unité INSERM Nutrition Génétique Exposition aux Risques Environnementaux

U 1256

[Retour tableau](#)

Résumé

Depuis trois décennies, dans la plupart des pays industrialisés, l'âge de la première grossesse ne cesse d'augmenter. Dans le même temps, les femmes sont de plus en plus conscientes que leur fécondité diminue avec l'âge. En outre, de plus en plus de femmes de moins de 35 ans présentent une insuffisance ovarienne prématurée (IOP). Cependant, pour une jeune femme faisant de longues études, il n'existe pas de marqueur permettant de prédire un risque de IOP dans les 10 prochaines années. Dans ce contexte, il semble du plus grand intérêt de disposer d'un marqueur prédictif de la durée de la fenêtre de fécondité. Les marqueurs hormonaux disponibles de la fertilité féminine (FSH, Estradiol, AMH) ou le comptage échographique de petits follicules ont une valeur prédictive médiocre de l'IOP. Les télomères sont des structures nucléoprotéiques non codantes situées à l'extrémité des chromosomes. Avec l'âge, la longueur des télomères (LT) présente un raccourcissement progressif conduisant finalement à un arrêt de la croissance appelé sénescence répllicative. Étant donné que les télomères courts peuvent avoir une incidence sur l'intégrité des chromosomes, la stabilité de la chromatine et la capacité de réplication cellulaire, la LT est un indicateur à la fois de l'historique de réplication et du potentiel de réplication d'une cellule. Ainsi, nous proposons que la LT dans les cellules de la granulosa pourrait être un marqueur prédictif de la durée de la fenêtre de fertilité. Comme la LT est synchronisée à la naissance, nous proposons d'évaluer également la LT dans les leucocytes en tant que marqueur potentiel en raison de sa meilleure disponibilité (une simple prise de sang). Pour tester cette hypothèse, nous proposons de mesurer la LT dans les cellules de la granulosa et dans les leucocytes dans deux groupes de patients sous ART traités entre 20 et 38 ans: des femmes stériles subissant une FIV-ICSI en raison d'une insuffisance ovarienne VS. des femmes subissant une FIV-ICSI pour une indication masculine avec une bonne réponse à la stimulation ovarienne.

Les résultats de cette étude pourraient servir à établir un score prédictif d'IOP aidant les jeunes femmes et les praticiens dans la décision de cryoconserver ou pas les ovocytes à un âge jeune.

[Retour tableau](#)

Diagnostic du SRT : Identification des profils d'acétylation comme marqueurs épigénétiques de pathogénicité des variants du gène CREBBP

VAN-GILS Julien - Centre de Référence « Anomalies du développement et Syndromes malformatifs du Sud-Ouest Occitanie Réunion »

Service de Génétique Médicale - Hopital Pellegrin, CHU Bordeaux. Laboratoire MRGM, INSERM U1211, Université de Bordeaux

[Retour tableau](#)

Résumé

Des modifications épigénétiques post-traductionnelles des histones telles que l'acétylation des lysines peuvent altérer la structure de la chromatine, modulant l'expression des gènes. Cette acétylation joue un rôle clé dans la régulation transcriptionnelle et donc la différenciation cellulaire pendant le développement embryonnaire. Les protéines CBP et p300 sont des co-facteurs transcriptionnels appartenant à la famille KAT3 des Histones Acétyl Transférase. Ces enzymes présentent une grande homologie de séquence et hautement conservées au cours de l'évolution, interagissent avec plus de 400 protéines cibles. Elles sont codées respectivement par les gènes CREBBP et EP300.

Ces deux gènes sont impliqués dans le déterminisme du syndrome de Rubinstein-Taybi (SRT). Ce trouble neurodéveloppemental rare est caractérisé par une déficience intellectuelle et des anomalies typiques de la face et des extrémités et de nombreuses autres malformations. Le SRT représente une maladie modèle pour l'étude en pathologie humaine des modifications épigénétiques touchant la chromatine.

Des études sur modèle murin ont montré l'impact d'une perte de fonction de CBP et p300 au cours du neurodéveloppement pour la fermeture du tube neural mais également pour le stockage et l'encodage de la mémoire. Chez l'Homme, les voies moléculaires touchées ne sont pas encore précisées.

Notre centre de référence maladies rares « anomalies du développement » coordonné par le Pr Lacombe, est le référent national pour le diagnostic du SRT sur les plans clinique et moléculaire. A ce titre, depuis 1993 l'ensemble des centres de génétiques de France nous adresse des demandes diagnostiques. Nous avons ainsi réuni une cohorte de plus de 300 patients dont le phénotype et la mutation causale sont caractérisés.

Etant donné l'implication directe de CBP et p300 dans le mécanisme épigénétique d'acétylation, nous proposons de caractériser chez les patients SRT les profils d'acétylation en les comparant à des contrôles non porteurs de mutation CREBBP ou EP300. Cette étude pilote sera menée tout d'abord à partir de cellules souches pluripotentes induites (IPSc) issues de fibroblastes de 3 patients mutés pour le gène CREBBP et 3 patients contrôles puis différenciées en neurones corticaux et pyramidaux. L'analyse inclura une analyse de l'acétylome par identification de peptides acétylés par liquid chromatography-mass spectrometry (LC-MS) complétée par du ChIP-seq pour valider les histones cibles de l'acétylation et une annotation fonctionnelle pour identifier les voies moléculaires impactées dans le neurodéveloppement.

L'objectif est de caractériser les profils d'acétylation de CREBBP au cours de la différenciation normale et pathologiques des neurones corticaux et pyramidaux pour développer des tests fonctionnels adaptés dans la cadre du diagnostic.

Résultats

Van Gils, Julien, Slim Karkar, Aurélien Barre, Seyta Ley-Ngardigal, Sophie Nothof, Stéphane Claverol, Caroline Tokarski, et al. « Transcriptome and Acetylome Profiling Identify Crucial Steps of Neuronal Differentiation in Rubinstein-Taybi Syndrome ». *Communications Biology* 7, n° 1 (15 octobre 2024): 1-15. <https://doi.org/10.1038/s42003-024-06939-3>.

[Retour tableau](#)

Etude fonctionnelle à haut débit par mutation à saturation du domaine exonucléase de l'ADN polymérase POLE

HAMZAoui Nadim - Service de Génétique et Biologie Moléculaires, 27 rue du faubourg Saint Jacques, 75014, Hôpital Cochin, APHP.

Centre Université de Paris

[Retour tableau](#)

Résumé

La réplication de l'ADN fait notamment intervenir les ADN polymérases POLD1 et POLE qui en sus de leur domaine polymérase, ont un domaine exonucléase 3'-5' qui est le domaine d'édition à l'origine de la grande fidélité de la réplication de l'ADN. Il a été récemment montré que des mutations constitutionnelles faux-sens des gènes POLE et POLD1 laissant intact le domaine polymérase mais affectant la fonction du domaine exonucléase étaient à l'origine d'un nouveau syndrome de cancer héréditaire. Les patients affectés sont prédisposés aux cancers colorectaux sur fond de polypose adénomateuse ainsi qu'aux cancers de l'intestin grêle, de l'endomètre, de l'ovaire et du cerveau. Ces tumeurs sont caractérisées sur le plan moléculaire par une accumulation très élevée de mutations. De fait, une très bonne réponse à l'immunothérapie des tumeurs mutées POLE a été démontrée notamment dans les cancers colorectaux. L'interprétation des très nombreux variants issus du Séquençage de Nouvelle Génération (NGS) est l'enjeu majeur de la médecine génomique. A ce jour, plus de 200 variants faux-sens du domaine exonucléase de POLE ont été identifiés. La pathogénicité de ces variants n'a été clairement établie que pour une poignée d'entre eux, la classification des variants faux-sens étant notoirement difficile. Pourtant, une classification précise de ces variants est essentielle pour le conseil génétique et la prise en charge familiale de patients porteurs de variants constitutionnels, voire pour leur traitement par immunothérapie. Afin de répondre à ce défi, notre équipe a développé au cours des trois dernières années un test fonctionnel chez la levure qui nous a permis de démontrer la pathogénicité de variants constitutionnels du domaine exonucléase de POLE identifiés dans 10 familles différentes atteintes de cancers et polyposes coliques héréditaires. Cette approche fonctionnelle efficace nécessite cependant d'être mise en œuvre individuellement pour chacune des variations faux-sens candidates de POLE identifiées dans les familles ou les tumeurs étudiées, ce qui représente un travail fastidieux, eu égard au large éventail de mutations mises à jour par les approches NGS. Forts de cette expérience des tests fonctionnels POLE chez la levure, nous avons désormais pour projet de développer un test fonctionnel à haut débit pour caractériser simultanément tous les variants possibles du domaine exonucléase du gène POLE dans une perspective de conseil génétique. La mise en évidence de la pathogénicité de mutations germinales de POLE par l'étude de leurs conséquences fonctionnelles permettra d'optimiser et d'accélérer la prise en charge oncogénétique des patients atteints de polypose adénomateuse associée aux ADN polymérases et de leurs familles suivies par la consultation d'oncogénétique du service de Gastroentérologie de l'hôpital Cochin. Par ailleurs, la mise en évidence de la pathogénicité de mutations somatiques de POLE par notre étude fonctionnelle aura également des conséquences théranostiques car l'importante charge mutationnelle et l'infiltration immunitaire de ces cancers mutés POLE en font des candidats à l'immunothérapie.

Poster

Test fonctionnel à haut débit appliqué aux variants faux-sens du domaine exonucléase de l'ADN polymérase epsilon

Albain Chansavang^{1,2}, Bertrand Diebold¹, Philippe Goussard¹, Ingrid Lecomte², Eric Pasmant^{1,2}, Nadim Hamzaoui^{1,2}

¹Fédération de Génétique et de Médecine Génomique APHP Centre Université Paris Cité, Hôpital Cochin, Paris, France

²Institut Cochin, Inserm U1016, CNRS UMR8104, Université Paris Cité, Hôpital Cochin, Paris, France

Introduction

- L'ADN polymérase répliquative POLE possède un **domaine exonucléase 3'-5'** corrigeant les mésappariements réalisés par le domaine polymérase
- Des variants constitutionnels de ce domaine sont responsables d'un syndrome de **prédisposition aux polypes et cancers digestifs**
- Des variants somatiques de ce domaine sont associés à une **charge mutationnelle tumorale très élevée**
- La présence d'un variant tumoral pathogène de **POLE** est associée à une **bonne réponse aux immunothérapies anti-PD1**

Il existe ainsi un réel besoin de classification des variants de signification incertaine de **POLE**.

Objectif

Développer un **test fonctionnel à haut débit** pour évaluer l'ensemble des variants faux-sens du domaine exonucléase de l'ADN polymérase ε (résidus 268-471 du gène **POLE**) par édition génomique à saturation du gène homologue **POL2** au sein d'un modèle levure *Saccharomyces cerevisiae*.

Matériels et méthodes

- Les levures sont **transfectées** avec un plasmide CRISPR/Cas9 et des pools d'oligonucléotides contenant tous les variants possibles de chaque acide aminé du domaine exonucléase de **POL2**
- L'instabilité génétique résultant de l'introduction de ces variants **POL2** est mesurée par la fréquence d'apparition de **variants inactivateurs du gène URA3** permettant de résister à l'exposition à l'agent toxique 5FOA
- La fréquence allélique des mutants **POL2** au sein de la population de levures transformées sera quantifiée avant et après sélection par 5FOA par **séquençage NGS** du domaine exonucléase (Fig.1)

Les variants **POL2** dont la fréquence allélique augmente sont pathogènes car ils induisent une instabilité génétique et donc une fréquence accrue de variants d'**URA3** permettant la survie en présence de 5FOA ; ceux dont la fréquence allélique diminue sont les variants bénins car ils induisent peu de variants d'**URA3**

S. cerevisiae
W303 strain
URA3 RAD5

Sélection de transfect

Replicage

Mix

Sélection fonction

Replicage

Sélection fonction

Replicage

Sélection fonction

Replicage

Sélection fonction

Replicage

Sélection fonction

Replicage

Sélection fonction

Replicage

Sélection fonction

Replicage

Sélection fonction

Replicage

Sélection fonction

Replicage

Sélection fonction

Replicage

Sélection fonction

Replicage

Sélection fonction

Replicage

Plasmide Cas9

AIA
GATATAGAA
GCTATAGCA

Oligonucléotides

P301
TTCCCGGAT
TTCNNKGAT

M309
ATAATGATG
ATANNKATG

Résultats et discussion

A l'aide d'une **bibliothèque test de 41 variants POL2** (2 acides aminés, P301 et M309, mutés à saturation et un témoin positif), nous avons pu valider un **protocole d'évaluation fonctionnelle de l'activité exonucléase de variants du domaine exonucléase**.

- Un nombre important de variants faux-sens du résidu P301 (correspondant à P286 chez l'homme, acide aminé le plus souvent muté dans les cancers) **augmentent le taux mutationnel** d'un facteur >10
- Seuls les acides aminés avec de courtes chaînes latérales semblent n'avoir aucun effet, ce qui suggère que le mécanisme pathogène passe par une **inhibition stérique** de l'attachement du brin naissant dans le site exonucléase
- Seuls quelques variants du résidu M309 (M294 chez l'homme) augmentent le taux mutationnel. L'hypothèse la plus probable est l'**interaction du variant avec un des résidus du site catalytique** (notamment D292 (D277 chez l'homme)), perturbant la chélation de l'ion Mg²⁺ et donc l'activité exonucléase
- Les variants observés du gène **URA3** dans les levures mutées **POL2** après sélection fonctionnelle ont un **profil mutationnel différent** de ceux observés dans les souches sauvages (Fig. 2). Les cellules mutées **POL2** ont un **enrichissement en C>T, C>A et T>A**, qui se rapproche des signatures SBS10a et SBS10b observées dans les tumeurs humaines mutées **POLE**.

Site catalytique exonucléase

Site catalytique exonucléase

Site catalytique exonucléase aboli

Proline 301

	Apolaires	Aliphatiques	Souffrés	Stop
P301	Y W F A V I L M C			
Enrich	33 23 28 3 3 54 27 29 0			

	Polaires	Neutres	Uniques
K R H D			
Enrich	29		

	AIA	WT
Enrich	45 1	

Echelle

Méthionine 309

	Apolaires	Aliphatiques	Souffrés	Stop
M309	Y W F A V I L M C			
Enrich	0 77 6 0 2 0 0 0			

	Polaires	Neutres	Uniques
E N Q S T G P			
Enrich	0 0 0 1 5 7 20		

Figure 1 : Protocole du test fonctionnel, modélisation in silico et facteurs d'enrichissement. Créée avec biorender.com. Les modélisations in silico représentent les résidus natifs en vert et les résidus variants (arginine) en rouge, pour les positions 286 et 294 du gène **POLE**. Les facteurs d'enrichissement sont calculés par rapport à la souche sauvage, fixée à 1.

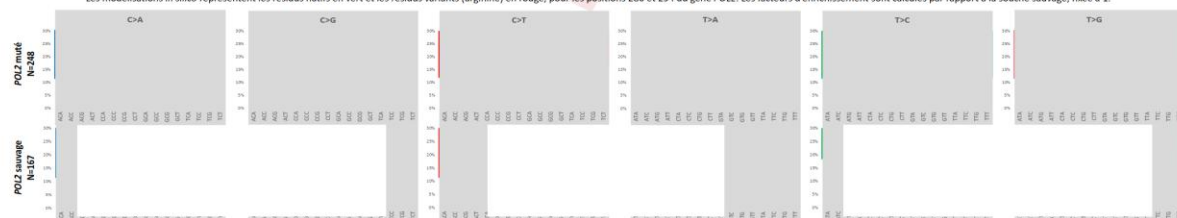


Figure 2 : Représentation des variants du gène **URA3** selon la substitution observée, le contexte trinucléotidique et le statut **POL2**.

Contact : albain.chansavang@aphp.fr

[Retour tableau](#)

Risque résiduel de trouble du neurodéveloppement après diagnostic prénatal d'anomalie du corps calleux isolée et séquençage d'exome négatif

HERON Delphine - Sorbonne Université Groupe hospitalier Pitié Salpêtrière Génétique médicale

47/83 bd de l'hôpital

75013 Paris

[Retour tableau](#)

Résumé

Le pronostic neuro-développemental des enfants nés après un diagnostic prénatal d'anomalie du corps calleux (ACC) est extrêmement variable et fonction du diagnostic étiologique. Il est considéré comme favorable dans 80% des cas lorsque l'ACC est apparemment isolée, en l'absence d'anomalie génétique sur le caryotype et l'ACPA. Afin d'augmenter le taux diagnostique, nous réalisons un séquençage d'exome prénatal en trio depuis septembre 2018, dans le but de rechercher les causes monogéniques connues d'ACC (qui sont les plus fréquentes). Cependant le risque résiduel de trouble du neurodéveloppement après bilan génétique exhaustif (incluant le séquençage d'exome) n'est pas connu. Notre objectif est d'évaluer ce risque résiduel par une évaluation du développement psychomoteur, des capacités cognitives et d'adaptation et de l'évolution neurologique des enfants avec ACC isolée nés et ayant bénéficié d'un bilan prénatal génétique exhaustif (incluant un séquençage d'exome en trio). Nous proposons une étude multicentrique observationnelle, longitudinale des enfants nés après diagnostic d'ACC isolée en prénatal et séquençage d'exome sans diagnostic identifié. Deux cohortes seront constituées : - Une cohorte prospective incluant les enfants nés après début de l'étude - Une cohorte rétrospective incluant les enfants déjà suivis et ayant déjà bénéficié d'un séquençage d'exome normal en prénatal (réalisé depuis septembre 2018 dans notre centre). Tous les enfants bénéficieront d'une consultation de neuropédiatrie et/ou génétique aux âges de 6 mois, 12 mois, 2 ans et 3 ans. Une évaluation neuropsychologique sera systématiquement réalisée à 3 ans, comprenant une WPSSI qui permettra d'évaluer l'efficacité intellectuelle. L'évaluation du risque résiduel de trouble du neurodéveloppement chez les enfants avec ACC isolée et bilan génétique sans diagnostic identifié permettra de délivrer une information claire et appropriée aux couples confrontés à cette situation en prénatal et ainsi de les aider dans leur prise de décision concernant la suite de la grossesse.

[Retour tableau](#)

Information génétique de la parentèle (IGP) et maladies rares : adapter l'accompagnement des malades (projet IGPrare)

LE COZ Pierre - ADÈS UMR7268 Marseille

[Retour tableau](#)

Résumé

Aujourd'hui, la confirmation du diagnostic d'une maladie rare repose le plus souvent sur un examen génétique. Inscrite dans un contexte d'hérédité, cette information peut être utile à d'autres membres de la famille, permettant la mise en place de mesures de prévention et/ou d'un conseil génétique. Réglementairement et dans les faits, cette Information Génétique de la Parentèle (IGP) revient essentiellement au malade qui vient de recevoir son propre diagnostic (l'informateur de la parentèle). Pour utile qu'elle puisse être, l'IGP expose à deux écueils: un défaut d'effectivité (information mal ou pas transmise), un défaut d'acceptabilité psychosociale pouvant entraîner une altération des liens familiaux. L'objectif du projet IGPrare est d'analyser les mécanismes en jeu lors de l'IGP, et de proposer des procédures et outils d'accompagnement de l'informateur pour éviter ces deux écueils. Délibérément inscrite dans une perspective de recherche collaborative, IGPrare associera un ensemble de contributeurs (des associations de malades, des professionnels de santé et des experts de SHS et de droit). Ils interviendront des premières phases (mise en évidence d'indicateurs d'effectivité et d'acceptabilité des IGP, construction du questionnaire) à la dissémination dans leurs milieux respectifs des connaissances et des propositions d'optimisation de l'IGP. Individuellement et collectivement, les associations de malades ont joué et jouent toujours un rôle déterminant dans le domaine des maladies rares ; Eurordis, une organisation transversale européenne, est associée à IGPrare. Cette recherche-action disposera d'un large échantillonnage d'IGP recueilli par enquête électronique auprès de malades concernés par une sélection de maladies rares, représentatives de leur diversité, impliquant une douzaine d'associations de malades. L'analyse en correspondances multiples des indicateurs d'efficacité et d'acceptabilité de ces IGP doit permettre d'identifier les situations-types rencontrées lors des IGP. Chacune d'elles sera décrite i) en fonction de paramètres « imposés » caractéristiques de ces sous-groupes (type d'atteintes de la maladie, âge de l'informateur, mode de transmission génétique,...), ii) par les paramètres actionnables dans la réalisation d'une IGP (de vive voix vs au téléphone, au domicile de l'informateur vs dans un lieu tiers, avec remise de documents écrits,...) autant de pistes d'optimisation spécifiques du sous-groupe concerné. Les analyses statistiques de cette phase quantitative seront discutées dans des ateliers réunissant l'ensemble des contributeurs afin de dégager et de comprendre les mécanismes gouvernant l'issue des IGP. Une synthèse, partagée sur le site d'IGPrare, de ces deux phases d'analyse servira de socle aux propositions d'optimisation spécifiques, élaborées en atelier conjointement par ces différents acteurs. Cette phase sera également ouverte aux contributions en ligne.

Poster

Pourquoi l'information génétique de la parentèle est-elle si difficile ?

Analyse collaborative de 685 expériences de patients dans les maladies rares

IGP
rare

INFORMATION GÉNÉTIQUE
DE LA PARENTÈLE
DANS LES MALADIES RARES

Marion MATHIEU^{1,2,4}, Bérengère SALIBA-SERRE², Sandrine DE MONTGOLFIER³, François FAURISSON¹, Martine LIBANY⁶, Paola DE CARLI⁷, Annagrazia ALTAVILLA⁴, Pierre LE COZ^{2,4}, Perrine MALZAC^{2,4,5}

¹ Association Tous Chercheurs, Marseille (mail : marion.mathieu@touschercheurs.fr)

² ADES UMR7268 - Aix Marseille Université, EFS, CNRS, Marseille

³ SESSTIM, Aix Marseille Université, Marseille

⁴ Espace de réflexion éthique PACA-Corse, Hôpital Timone APHM Marseille

⁵ Plateforme de médecine moléculaire et génomique, APHM Marseille

⁶ Association CMT-France, Saint-Alban

⁷ Association Vaincre La Mucoviscidose, Paris

Contexte

- De nombreuses maladies rares ont une origine **génétique** ;
- Les **tests génétiques** peuvent non seulement faciliter le **diagnostic individuel** mais aussi être utiles pour les **apparentés** ;
- Complexe, l'**Information Génétique de la Parentèle (IGP)**, qui repose en France essentiellement sur le **patient**, peut se révéler médiocrement informative et/ou responsable de dégradation des **relations familiales**.

Objectifs de la recherche

- Comprendre les mécanismes en jeu lors de l'IGP** : Identifier les facteurs (actionnables ou non) associés à une IGP peu informative et/ou responsable de dégradation des relations familiales ;
- Réfléchir à des améliorations concrètes dans la réalisation de l'IGP**.

Méthode

Une recherche multipartenaire	Une recherche transversale
portée par un comité de pilotage multidisciplinaire et 3 collèges* (professionnels de santé/patients/chercheurs en SHS), impliqués de la conception du questionnaire à l'analyse des résultats ;	s'intéressant aux mécanismes propres à l'IGP : le questionnaire s'adressait donc à l'ensemble des malades concernés par une maladie génétique rare et ayant eu à faire une IGP ;
Un questionnaire en ligne très complet	Une méthode statistique innovante
(7 volets, 85 questions) élaboré collégialement et diffusé par une soixantaine d'associations, pour recueillir l'expérience de personnes ayant fait une ou plusieurs IGP.	reposant sur une analyse des correspondances multiples (ACM) suivie d'une classification ascendante hiérarchique (CAH) permettant, sans a priori sur les mécanismes en cause, de mettre en évidence des groupes de situations d'IGP susceptibles d'être améliorées.

Résultats

- Données 685 IGP rapportées** (plus de 100 maladies rares). Les 2/3 des répondants sont la personne malade, 1/3 un parent d'enfant
- Démarche**



Quelques aspects typiques des différents sous-groupes			
	IGP 1 (~50%)	IGP 2 (~25%)	IGP 3 (~25%)
▶ Le contexte familial	▶ Famille soudée, nombreux liens et communication facile	▶ Peu de liens familiaux, communication difficile	▶ Peu de souvenirs de l'annonce initiale et de la présentation de la mission d'IGP
▶ Le contexte individuel	▶ Bon vécu de l'annonce initiale et de la présentation de la mission d'IGP	▶ Mauvais vécu de l'annonce initiale et de la présentation de la mission d'IGP	
▶ Le répondant (informateur)	▶ Motivé et se sentant légitime	▶ Motivé mais dans la crainte de nuire	▶ Peu investi
▶ L'information transmise	▶ Riche (génétique et clinique)	▶ Limitée	▶ Très limitée
Les conséquences sur les apparentés (informés) la famille	▶ Intéressés, ont bien compris, mis en place des actions ▶ Renforcement des liens familiaux	▶ Absence de réaction ou colère ; ▶ Dégâts relationnels	▶ Ne se souvient pas ▶ Pas de changement
Recours à la voie professionnelle ?	▶ Assument d'avoir informé eux-mêmes	▶ Regrettent de ne pas y avoir eu recours	

Conclusion

Ces résultats, nettement contrastés entre sous-groupes, soulignent la valeur de l'approche collaborative adoptée pour cette recherche, résultant dans le choix des questions. Cette stratégie et nos résultats fournissent une base factuelle de pistes d'améliorations pour un accompagnement plus personnalisé des personnes dans cette délicate tâche d'information des apparentés.

Projet soutenu par l'Agence de la biomédecine (A.O. Recherche 2020, convention 20AMP014)

Recherche ayant reçu un avis favorable du comité éthique de Aix-Marseille Univ (n°2021-07-08-09).

* Composition des 3 collèges :

Collège des professionnels de santé
A. Boureau-Wirth, B. Jarret, A. Mallet, P. Malzac, K. Nguyen, L. Pasquier, V. Pelletier, C. Rouzier, E. Toussaint, C. Zordan

Collège des chercheurs/praticiens en SHS
A. Altavilla, S. de Montgolfier, C. Dekeuwer, B. Derbez, F. Faurisson, S. Julia, K. Lahlou-Lafort, P. Le Coz, L. Marucci, B. Saliba-Serre, V. Sebbag-Depard

Collège des associations de malades
C. Baleyrier (AFAP), P. de Carli (VLM), C. Delbergue (ASTB), V. Dujardin et I. Marchetti (Valentin APAC), A. Geille et M. Bonnaire (AFM-Téléthon), J. Klein (ASG), M. Libany (CMT France), S. Leveille et R. Souqui (CSC), M. Mathieu (Tous Chercheurs), R. Picard (Huntington France), B. Pineau (FFAMH), J.-M. Tassin et M. Dien (AFH), V. Tronel (Amis-FSH)

[Retour tableau](#)

Développement de stratégies d'interprétation des variants de signification inconnue sur le chromosome X dans la déficience intellectuelle

PITON Amélie - Génétique et physiopathologie de maladies neurodéveloppementales et épileptogènes, Institut de génétique et Biologie Moléculaire et Cellulaire (IGBMC)- CNRS UMR 7104, Inserm U 964 –

1 rue Laurent Fries

67 400 ILLKIRCH

[Retour tableau](#)

Résumé

La déficience intellectuelle (DI) et autres troubles du neurodéveloppement (NDD) affectent 1 à 2% des individus et des événements génétiques uniques sont responsables dans au moins 50 des cas. Les formes monogéniques de ces NDD sont caractérisées par une hétérogénéité génétique extrême, avec plus d'un millier de gènes identifiés (SysID database), dont ~120 sur le chromosome X (Piton et al. 2013). Si l'identification des variations génétiques chez les patients a été largement facilitée au cours des dernières années par l'utilisation du séquençage à haut débit, leur interprétation reste parfois difficile. Cette interprétation, basée sur une convergence d'arguments cliniques, génétiques et fonctionnels (prédictifs ou expérimentaux), ne permet pas toujours de distinguer les variants pathogènes des non-pathogènes. Cela est particulièrement vrai pour les variants faux-sens (effet fonctionnel difficile à prévoir) qui surviennent dans des gènes localisés sur le chromosome X (avec souvent une transmission mère-fils peu informative). De tels variants restent très souvent considérés comme «de signification inconnue - VUS», ce qui prive les familles d'accès à un conseil génétique, particulièrement important dans le cas d'un mode de transmission lié au chromosome X. Il est donc fondamental de pouvoir mieux interpréter ces variants. Nous proposons, pour une trentaine de gènes soumis à contrainte évolutive forte et dans lesquels de nombreux variants faux-sens VUS sont identifiés, de développer une stratégie d'interprétation des variants qui serait adaptée à chaque gène. Dans un premier temps, 1) une analyse évolutive approfondie des séquences protéiques de ces gènes prenant en compte des séquences représentatives des différents taxons (non limités aux vertébrés) sera réalisé, de manière à pouvoir prédire l'effet potentiel des changements d'acides aminés identifiés. En parallèle, 2) des tests fonctionnels seront développés pour tester l'effet des faux-sens localisés dans certains de ces gènes, sélectionnés en fonction de leur rôle a) dans la régulation de l'expression des gènes pouvant générer une signature transcriptomique particulière dans le sang et b) dans l'architecture de la synapse ou remodelage du cytosquelette, pouvant entraîner des anomalies de la morphologie neuronale. Les conséquences fonctionnelles observées in vitro seront comparées aux prédictions in silico. Enfin, 3) des analyses génétiques systématiques seront réalisées pour les VUS identifiés au laboratoire de génétique moléculaire de Strasbourg ou d'autres CHU: une ségrégation familiale étendue de chaque du côté maternel, le profil d'inactivation du X chez les mères vectrices (et filles atteintes) avec identification de l'allèle qui reste exprimé. Nous espérons reclasser une part importante des VUS soit comme pathogènes ou comme bénins (recherche d'une autre cause génétique) et définir des recommandations spécifiques pour chacun des gènes pour aider les généticiens à interpréter les VUS identifiés dans des gènes de DI liée à l'X.

Résultats

Courraud, Jérémie, Camille Engel, Angélique Quartier, Nathalie Drouot, Ursula Houessou, Damien Plassard, Arthur Sorlin, et al. 2023. « Molecular Consequences of PQBP1 Deficiency, Involved in the X-Linked Renpenning Syndrome ». *Molecular Psychiatry*, novembre, 1-10. <https://doi.org/10.1038/s41380-023-02323-5>.

Poster

Développement de stratégies d'interprétation des variants de signification inconnue sur le chromosome X dans la déficience intellectuelle

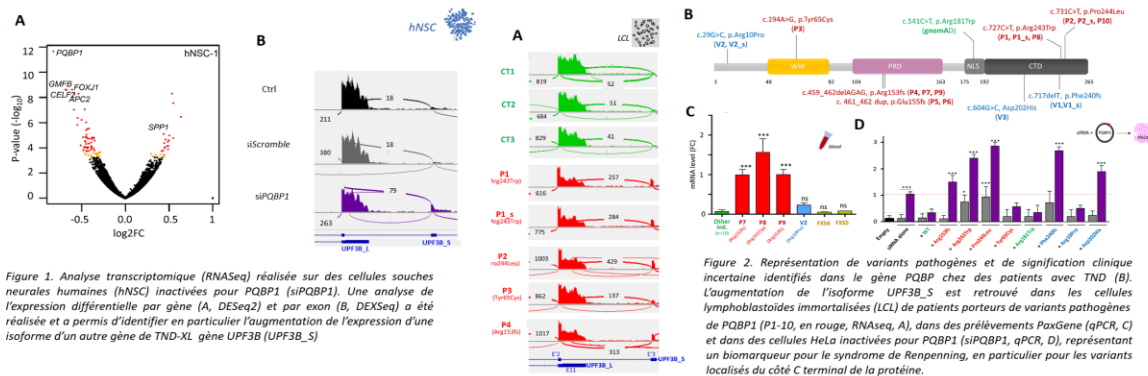
Clarisse Delvallee^{1,2,3,4,*}, Jérémie Courraud^{1,2,3,4,*}, Andrea Bernardin^{1,2,3,4,*}, Sarah Cluzel^{5,6}, Camille Engel^{1,2,3,4}, Nathalie Drouot^{1,2,3,4}, Damien Plassard^{1,2,3,4}, Maria Kyriacou^{1,2,3,4}, Mohsen Keshavarz^{1,2,3,4}, Alice Goldenberg⁷, François Lecoquillière⁷, Anne de Saint Martin⁸, Marie Vincent⁹, Benjamin Cogne⁹, Jean Muller⁹, Lazlo Tora^{1,2,3,4}, Jean-Louis Mandel^{1,2,3,4}, Amélie Piton^{1,2,3,4} & tous les auteurs inclus dans les papiers Courraud et al. 2023

¹ Institut de Génétique et de Biologie Moléculaire et Cellulaire, Illkirch, France ; ² Centre National de la Recherche Scientifique, UMR7104, Illkirch, France ; ³ Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale, U964, Illkirch, France ; ⁴ Université de Strasbourg, 67 400 Illkirch, France ; ⁵ Service de génétique médicale Strasbourg ; ⁶ Laboratoire de diagnostic génétique, Strasbourg ; ⁷ Génétique médicale Rouen ; ⁸ Service de neuropédiatrie, Strasbourg ; ⁹ Service de génétique médicale Nantes

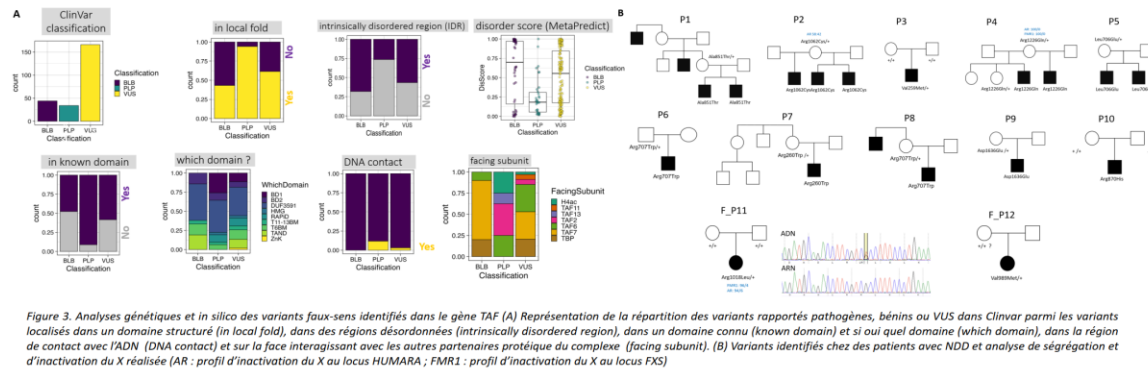
Introduction

Un dixième des mille gènes impliqués dans les formes monogéniques de troubles du neurodéveloppement (TND) avec déficience intellectuelle (DI) sont situés sur le chromosome X (TND-XL) et plusieurs dizaines d'autres restent à identifier (Leitao et al. 2022). Le diagnostic moléculaire des TND-XL est particulièrement important en raison du risque élevé de récurrence pour l'ensemble de la famille. Cependant, si l'interprétation des variants n'est pas toujours facile, en particulier pour les faux-sens, le mode de transmission des TND-XL posent des problèmes additionnels d'interprétation par rapport aux formes autosomiques : la transmission maternelle des variants chez les garçons et la variation souvent non expliquée de l'expressivité clinique chez les filles. Ces mêmes arguments compliquent également l'identification de nouveaux gènes de TND-XL.

Recherche d'une signature transcriptomique associée aux mutations du gène *PQBP1* (Courraud et al., 2023)



Réanalyse systématique et établissement de recommandation pour l'interprétation des variants faux-sens dans le gène *TAF1*



Identification de nouveaux gènes responsables de troubles du neurodéveloppement chez les garçons et les filles

RBMX2 (en cours)

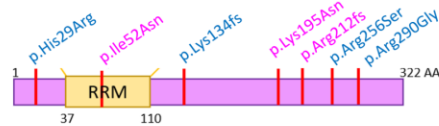
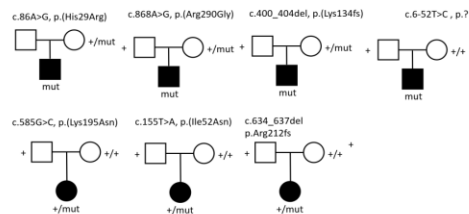


Figure 4. Identification de variants rares non-synonymes, de novo et hérités, dans le gène RBMX2 chez des patients avec TND de sexe masculin (bleu) et féminin (rose)



[Retour tableau](#)

Comparaison de deux techniques NGS de phasage des haplotypes parentaux pour le DPNI des maladies à expansions de triplets

VINCENT Marie-Claire - Institut Universitaire de Recherche Clinique IURC

Laboratoire de Génétique Moléculaire

641, avenue du doyen Gaston Giraud

34941 MONTPELLIER Cedex

[Retour tableau](#)

Résumé

Contexte :

La capacité à séquencer le cfDNA fœtal a conduit à de nouveaux développements intéressants pour le diagnostic génétique non invasif de maladies monogéniques (DPNI_MGR). Divers tests sont proposés pour des maladies à mutations dominantes de novo spécifiques, dominantes paternelles et certaines mutations récessives paternelles. Toutefois des difficultés techniques liées au dosage de la balance allélique maternelle demeurent, en particulier lors du phasage des haplotypes parentaux selon une stratégie en trio qui nécessite de disposer des ADN génomiques parentaux et d'au moins un enfant sain ou atteint. De plus les séquenceurs de 2^{de} génération ne permettent pas l'haplotypage des allèles porteurs de mutations dynamiques. Objectifs : Le présent projet propose la validation d'un test DPNI_MGR semi universel applicable à la majorité des gènes et mutations impliquées dans les demandes de DPN à partir d'un phasage des haplotypes parentaux par les techniques de séquençage 3^{ème} génération d'ADN long fragments couplé à un séquençage ciblé des ADN libres circulants du plasma maternel. Ce test sera validé en prenant pour modèle les maladies à expansions de triplets qui sont la deuxième indication de DPN au niveau national. Méthodologie :

Etude rétrospective sur 24 couples à risque de transmettre une maladie à expansions de triplets (Dystrophie myotonique de Steinert, maladie de Huntington, FRAXA, SCA1, 2, 3)

Phase 1 : Détermination pour 12 couples des haplotypes parentaux selon la technique « Nanopore Cas9 Targeted-Sequencing » (nCATS) et validation des paramètres analytiques et qualité de cette méthode (taux de couverture des régions d'intérêts, taux d'erreur, identification de l'allèle morbide porteur de l'expansion...), Comparaison des haplotypes parentaux obtenus en technique « Nanopore » versus ceux obtenus par la technique « Linked Reads 10xGenomics » chez ces 12 mêmes couples (les datas de séquençage et de phasage par cette 2^{ème} approche sont issues d'une précédente étude), Évaluation de la concordance des résultats de génotype fœtal obtenus lors de l'examen standard (DPN par amniocentèse ou choriocentèse) et de ceux obtenus avec ces nouvelles approches de phasage en DPNI.

Phase 2 : Validation du workflow le plus performant (efficacité/coût) de la phase 1 sur 12 couples supplémentaires pour un transfert clinique de l'approche. Résultats attendus et perspectives : Cette étude doit permettre de définir pour le DPNI des maladies à expansion de triplets le test le plus performant en accord avec les connaissances de l'art et valider les conditions de transfert en pratique clinique de l'approche (équipement, réactifs, coût analyse, critères de validation analytiques). Le workflow validé doit être le plus universel possible pour proposer secondairement l'accès au niveau national à un DPNI d'un large panel de maladies rares par ajustements futurs du contenu en gènes des panels de séquençage de l'ADN libre circulant.

Résultats

Liautard-Haag, C., G. Durif, C. VanGoethem, D. Baux, A. Louis, L. Cayrefourcq, M. Lamairia, et al. 2022. « Noninvasive Prenatal Diagnosis of Genetic Diseases Induced by Triplet Repeat Expansion by Linked Read Haplotyping and Bayesian Approach ». Scientific Reports 12 (1). <https://doi.org/10.1038/s41598-022-15307-2>.

[Retour tableau](#)

Année: 2021

Valeur pronostique de l'exome dans la prise en charge des patients infertiles avec une azoospermie non obstructive idiopathique

COUTTON Charles - Laboratoire de Génétique Chromosomique

Service de Génétique et Procréation

Hôpital Couple Enfant, CHU Grenoble Alpes,

CS 20217

38043 Grenoble Cedex 9

[Retour tableau](#)

Résumé

Contexte et objectifs

L'azoospermie non obstructive (ANO) est la forme la plus sévère d'infertilité masculine et concernerait environ 5% des infertilités de couples. A ce jour, l'association de l'extraction de spermatozoïdes testiculaires (TESE) avec l'injection intracytoplasmique de spermatozoïde (ICSI) reste le traitement de première ligne proposé aux patients avec ANO. Cependant, le recueil des spermatozoïdes est positif dans moins de 50% des cas due à l'hétérogénéité de l'ANO allant du syndrome des cellules de Sertoli seules à l'hypospermatogénèse et cette procédure peut induire différentes complications pouvant être invalidantes. Considérant le faible taux d'extraction positive (TEP) des spermatozoïdes et les complications associées, l'identification de paramètres prédictifs robustes et non invasifs du TEP doivent être encore explorées. Plusieurs paramètres ont été évalués comme le volume testiculaire, les dosages hormonaux ou l'âge mais aucun n'a pu démontrer une sensibilité ou spécificité suffisante. Etant donné que les spermatozoïdes utilisables pour l'ICSI sont surtout retrouvés chez les patients avec une hypospermatogénèse ou un blocage post-méiotique, l'identification de la cause génétique du blocage de la spermatogénèse pourrait être un facteur pronostique fiable du succès de la TESE.

L'objectif principal de ce travail est donc d'améliorer les outils prédictifs disponibles par des investigations génétiques additionnelles afin de fournir un nouvel outil utile à la décision et permettant d'éviter la réalisation de biopsies testiculaires / ICSI inutiles

Résultats attendus

Nos résultats préliminaires sur 96 patients avec ANO indiquent que le séquençage exomique pourrait doubler le rendement diagnostique de la stratégie d'investigation génétique actuelle et que le diagnostic obtenu est bien corrélé avec le taux de succès de la TESE. Associé avec les tests génétique de première ligne (caryotype et microdélétion du chromosome Y) nous pouvons espérer obtenir un diagnostic génétique avec un intérêt pronostic chez près de 50% des patients avec ANO. Dans la plupart de ces cas, le diagnostic sera associé à un pronostic

péjoratif de la TESE permettant d'éviter ainsi des biopsies inutiles. Ce travail devrait à terme permettre de réviser les recommandations autour du diagnostic et de la prise en charge des patients avec NOA. En plus de ce bénéfice direct pour le patient, l'identification de facteurs moléculaires pronostiques permettront de réduire le cout de la procédure actuelle.

Méthodologie

Cette étude rétrospective pronostique monocentrique a pour objectif d'explorer les causes génétiques encore inconnues d'ANO idiopathique et de préciser pour la première fois une corrélation entre la cause monogénique identifier et le taux de succès de la TESE. Pour explorer l'ensemble des causes génétiques d'ANO, nous proposons une approche par séquençage exomique complet (WES) qui apportera une analyse plus exhaustive et dynamique que ce qui est actuellement proposé. A partir d'une cohorte totale de 240 patients avec ANO idiopathique (dont 96 précédemment analysés) et chez qui une TESE a été réalisée en amont, nous évaluerons les performances (Se, Sp, VPP, VPN) du WES comme nouvel outil prédictif de l'issue de la biopsie. Les données d'exomes seront analysées par un pipeline bio-informatique spécifique développé localement permettant la détection de toutes les altérations génétiques y compris les petits CNVs (délétion ou duplication exoniques).

[Retour tableau](#)

Année: 2021

Analyse fonctionnelle de variants chez des patients atteints d'albinisme oculocutané

MICHAUD Vincent - Laboratoire INSERM/Université de Bordeaux U1211 : MRGM : Maladies Rares Génétique et Métabolisme

Ecole de Sages-Femmes 2ème étage

Place Amélie Raba Léon

33076 Bordeaux

[Retour tableau](#)

Résumé

L'albinisme oculocutané (OCA) est une pathologie génétique liée à l'atteinte d'un des 21 gènes connus actuellement. Malgré une analyse génétique complète, 30% des patients restent sans diagnostic moléculaire.

L'objectif principal est l'amélioration du diagnostic des patients atteints d'OCA en proposant la mise en place d'un processus de validation de variants de signification inconnue (VSI) par test fonctionnel sur mélanocytes en culture mettant en œuvre des essais de sauvetage de phénotype (rescue).

Les résultats attendus sont la mise en place de 4 modèles de mélanocytes en culture présentant l'inactivation (KO) d'un des 4 principaux gènes d'OCA (TYR, OCA2, TYRP1, SLC45A2) et leur caractérisation sur le plan fonctionnel.

Nous étudierons la production et la localisation des protéines, la production de mélanine et de ses intermédiaires et la maturation des mélanosomes à la fois chez les modèles sauvages, KO et après réintroduction de la séquence ADNc sauvage. Ceci nous permettra de valider les indicateurs pertinents et de calibrer les essais de validation fonctionnelle des VSI.

Chaque gène sera inactivé par CRISPR/Cas9 et l'absence de production de protéine sera vérifiée par Western-blot. La diminution de la production de mélanine permettra un crible visuel direct des clones homozygotes pour le KO. Le cDNA sauvage sera réintroduit dans les cellules inactivées pour vérifier la récupération de la production de la protéine. Nous évaluerons l'adressage et la localisation des protéines mélanogéniques par immunohistochimie avec co-marquage par des anticorps dirigés contre les différents compartiments cellulaires. La maturation des mélanosomes sera évaluée par microscopie électronique à transmission. Les différents composés et intermédiaires de la mélanine seront évalués par résonance magnétique nucléaire, HPLC ou ELISA. Nous évaluerons la régulation du pH mélanosomal par test DAMP et Lysotracker.

Une fois ces modèles bien caractérisés, les ADNc correspondants aux VSI d'intérêt obtenus par mutagenèse dirigée seront introduits dans les clones KO pour le gène correspondant afin d'évaluer leur effet sur la récupération du phénotype.

Au delà de répondre à l'errance diagnostique liée aux variants de signification inconnue, ce projet va identifier des éléments de compréhension de la relation génotype-phénotype. En particulier, la mise en évidence des molécules ayant un rôle clé dans le processus physiopathologique doit permettre de proposer des pistes thérapeutiques pour les patients atteints d'albinisme.

[Retour tableau](#)

Analyse des phénomènes de chromothripsis et chromoanasythesis dans les spermatozoïdes humains : une étude pilote

PERRIN Aurore - Génétique, génomique fonctionnelle et biotechnologies, UMR-1078,

Faculté de médecine et des sciences de la santé

22 avenue Camille Desmoulins CS 93837

29238 BREST Cedex 3

[Retour tableau](#)

Résumé

Au cours de la dernière décennie, les projets de séquençage massif du génome dans divers cancers ainsi que chez les patients atteints de maladies congénitales ont conduit à l'identification de nouveaux types de réarrangements chromosomiques complexes et massifs survenant lors d'évènements cellulaires chaotiques uniques. Ces phénomènes catastrophiques ont été appelés chromothripsis et chromoanasythesis.

Alors que le chromothripsis se caractérise par la pulvérisation d'un fragment de chromosome suivi du réassemblage aléatoire des fragments, le chromoanasythesis résulte d'altérations en série de la réplication de l'ADN le long de chromosomes. Les deux phénomènes aboutissent à la constitution de chromosomes fortement remaniés. Des études génétiques et des modèles expérimentaux ont montré que le chromothripsis et le chromoanasythesis résultaient de l'effet combiné des erreurs de ségrégation des chromosomes, de l'instabilité chromosomique générée et du stress réplicatif. Divers mécanismes de formation ont été identifiés et reproduit expérimentalement, dont la séquestration de chromosomes dans des micronoyaux, la condensation prématurée des chromosomes ou encore l'apoptose abortive.

Tous ces phénomènes peuvent se produire au cours de la formation des spermatozoïdes humains. En particulier, l'apoptose abortive est un mécanisme décrit au cours de la spermatogenèse humaine et qui peut se traduire par des phénomènes de fragmentation de l'ADN, quantifiables dans des échantillons de spermes.

Compte tenu de l'origine paternelle avérée de la majorité des cas de chromothripsis et de chromoanasythesis constitutionnels, ce projet vise à rechercher et à analyser la présence de chromothripsis et /ou de chromoanasythesis, directement dans des échantillons de spermatozoïdes humains présentant des taux élevés de fragmentation de l'ADN, selon un procédé déjà validé par nos deux laboratoires.

Après avoir trié les spermatozoïdes en fonction de leur degré de fragmentation, une analyse génétique de pools de 5 à 10 spermatozoïdes sera réalisée par la technique Nanopore de séquençage long-fragment sur MinION. Cette analyse permettra d'identifier et d'analyser ces phénomènes complexes dans le génome haploïde de spermatozoïdes humains, et ainsi d'attester de leur formation au cours de la spermatogenèse.

Il s'agit de la première étude de ces phénomènes réalisée sur des gamètes humains. Elle permettra d'amorcer l'étude de leur étiologie et de leur impact en Génétique et en Reproduction Humaine.

Résultats

Morel, Frédéric, Margaux Sellier, Corinne Tous, et al. 2025. « Sperm DNA Fragmentation as a Marker of Chromoanagenesis Occurrence During Spermatogenesis ». In *Methods in Molecular Biology*, vol. 2968. Humana Press Inc. https://doi.org/10.1007/978-1-0716-4750-9_31.

Pellestor, Franck, Jean Baptiste Gaillard, Benjamin Ganne, et Vincent Gatinois. 2025. « Chromoplexy ». In *Methods in Molecular Biology*, vol. 2968. Humana Press Inc. https://doi.org/10.1007/978-1-0716-4750-9_3.

Pellestor, Franck, Jean Baptiste Gaillard, Benjamin Ganne, Aurore Perrin, Frédéric Morel, et Vincent Gatinois. 2025. « Chromoanasythesis ». In *Methods in Molecular Biology*, vol. 2968. Humana Press Inc. https://doi.org/10.1007/978-1-0716-4750-9_2.

[Retour tableau](#)

Année: 2021

HoloSyn: Signification clinique des variants synonymes dans l'holoprosencéphalie

WATRIN Erwan - IGDR/UMR6290-CNRS

Faculté de Médecine

2 avenue Pr Bernard

35043 Rennes

[Retour tableau](#)

Résumé

Objectifs

L'holoprosencéphalie (HPE) est la pathologie neurodéveloppementale congénitale la plus fréquente et est causée par des variants pathogènes affectant jusqu'à présent 18 gènes. Parmi ceux-ci, les gènes SHH, ZIC2, SIX3 et GLI2 représentent les gènes majeurs de l'HPE et participent tous à la voie de signalisation Sonic HedgeHog. À ce jour, des variants causatifs ne peuvent être identifiés que dans 30% des cas, laissant ainsi de nombreux patients et leur famille sans diagnostic moléculaire.

Récemment, nous avons montré que des variants nucléotidiques synonymes (sSNV) du gène SHH présents chez des patients HPE ont un impact négatif sur l'abondance de la protéine SHH, fournissant ainsi une base moléculaire pour l'effet pathogène des sSNV de SHH dans HPE. Dans ce projet, nous souhaitons étendre l'étude de la pertinence clinique des sSNVs aux trois gènes HPE majeurs restants.

Les objectifs spécifiques des travaux proposés sont:

- lister pour les gènes ZIC2, SIX3 et GLI2 tous les sSNVs présents dans notre cohorte de patients HPE et absents ou très rares dans les cohortes témoins individuelles saines
- établir une base de données (SynDB) reliant les gènes, les sSNVs et les manifestations cliniques correspondantes
- évaluer et prédire l'impact des sSNVs identifiés sur la stabilité et le repliement des ARNms, l'épissage des pré-ARNms, la liaison des miARN et la quantité de protéines par des moyens bioinformatiques
- déterminer la réalité de ces prédictions à l'aide de systèmes modèles in vitro,

l'ensemble visant à:

- un taux de réussite accru du diagnostic génétique

-un conseil génétique amélioré.

Méthodes

Tout d'abord, nous collecterons et listerons tous les sSNVs affectant les gènes ZIC2, SIX3 et GLI2 spécifiquement présents ou hautement enrichis dans notre cohorte de patients HPE par rapport à la population saine, ainsi que toutes les données cliniques disponibles sur les patients.

Deuxièmement, des analyses bioinformatiques seront menées pour chaque sSNV collecté afin d'évaluer leur impact sur les différents aspects moléculaires qu'ils peuvent affecter, c'est-à-dire la structure secondaire et la stabilité des ARNms, l'épissage des pré-ARNms, la liaison des miARNs et la production de protéines.

Troisièmement, les sSNVs pour lesquels au moins un impact potentiel aura été prédit seront sélectionnés et étudiés plus avant à l'aide de tests cellulaires in vitro dédiés et déjà établis dans le laboratoire -XTAPA et mini-gène, afin de déterminer leur impact moléculaire réel.

Enfin, les résultats obtenus in vitro seront implémentés dans SynDB et rendus publics.

Résultats attendus

Le projet HoloSyn fournira une liste des sSNVs présents dans les principaux gènes impliqués dans HPE ZIC2, SIX3 et GLI2, ainsi que les manifestations cliniques associées. Plus important encore, ce projet fournira également un répertoire sans précédent de sSNV cliniques et leurs effets délétères sur les mécanismes moléculaires. Toutes ces informations seront rassemblées dans la base de données dédiée SynDB. Dans l'ensemble, les travaux proposés amélioreront directement le diagnostic moléculaire des patients HPE ainsi que le conseil génétique aux les familles.

[Retour tableau](#)

Validation fonctionnelle des variants génétiques impliqués dans l'insuffisance ovarienne prématurée ou débutante par édition du génome

JAILLARD Sylvie - Service de Cytogénétique et Biologie Cellulaire - 2 rue Henri Le Guilloux, 35033 RENNES Cedex

[Retour tableau](#)

Résumé

L'insuffisance ovarienne, incluant l'insuffisance ovarienne prématurée (IOP) et l'insuffisance ovarienne débutante (IOD), est une cause majeure d'infertilité féminine. L'IOP se caractérise par des troubles du cycle menstruel accompagnés d'une élévation des gonadotrophines sériques survenant avant l'âge de 40 ans. Une diminution de réserve ovarienne survient par ailleurs avec l'âge mais elle est considérée comme pathologique si elle est observée avant 40 ans (IOD). IOP et IOD constitueraient un continuum de défaillance ovarienne, avec une sévérité différente de la diminution de la réserve ovarienne. L'IOP est due dans 25 à 30% des cas à une cause génétique. Les recommandations concernant le bilan génétique des IOP inclut la réalisation, en première intention, d'une étude du gène FMR1 et d'un caryotype. Avec l'avènement du séquençage haut-débit, de nombreux variants géniques ayant un impact sur la fertilité féminine ont été identifiés. Plus de 80 gènes sont ainsi rapportés pour être responsables d'IOP et plus de 300 gènes candidats sont en parallèle décrits. L'IOD pourrait quant à elle en partie être expliquée par des voies moléculaires communes à celle de l'IOP. Il existe ainsi pour l'insuffisance ovarienne une hétérogénéité génétique avec l'implication de gènes intervenant dans différents processus.

L'objectif de l'étude consiste à évaluer biologiquement le rôle des variants génétiques de signification incertaine (VSI) dans cette situation pathologique. En effet, nos données de séquençage d'exome chez les patientes IOP/IOD montrent la mise en évidence d'un variant d'intérêt chez 30% des patientes, la majorité d'entre eux correspondant à un VSI. Notre approche est basée sur la création de ces variants dans des cellules humaines par édition du génome et l'évaluation des conséquences biologiques sur les processus clés responsables d'insuffisance ovarienne. Seules ces études fonctionnelles permettront de statuer sur le rôle causatif de ces altérations génétiques. Notre stratégie de validation fonctionnelle haut-débit est adaptée à la diversité interindividuelle importante des altérations détectées par séquençage d'exome dans l'IOP/IOD.

[Retour tableau](#)

Etude du biais de transmission de l'allèle mutant ARX dup24

MOREL Frédéric - Génétique, génomique fonctionnelle et biotechnologies, UMR-1078, Faculté de médecine et des sciences de la santé - 22 avenue Camille Desmoulins CS 93837, 29238 BREST Cedex 3

[Retour tableau](#)

Résumé

Le gène ARX (Aristaless-Related homeobox), responsable de retards mentaux, situé en Xp22.13, code un facteur de transcription s'exprimant au cours du développement embryonnaire. La mutation d'ARX la plus fréquemment retrouvée est une duplication de 24 paires de bases (c.429_451dup24, notée dup24) conduisant à une expansion d'une séquence de polyalanines. Bien qu'il ait été montré qu'ARX soit très fortement exprimé dans les ovaires, les testicules et les cellules de Leydig, son rôle dans les ovaires, les testicules ou les gamètes n'est pas connu.

Concernant cette mutation dup24, il a été observé une distribution non mendélienne dans la descendance des femmes hétérozygotes, avec davantage de garçons atteints que de garçons sains, suggérant une distorsion du rapport de transmission pour cette mutation.

Notre équipe dispose d'une lignée de souris knock-in pour la duplication dup24. Cette lignée présente une forte similarité de phénotypes avec les patients. De plus, nous avons observé que chez les femelles hétérozygotes, l'allèle mutant est préférentiellement transmis à la descendance, au détriment de l'allèle X sauvage, de manière similaire à ce qui est observé chez l'humain. Au contraire, lorsque l'allèle mutant provient du mâle (situation qui n'est jamais observée chez l'homme en raison du phénotype des patients masculins), nous observons que l'allèle mutant est moins souvent transmis à la descendance que l'allèle sauvage.

Les objectifs de ce projet sont d'identifier les origines de ces biais de transmission.

Dix souris XmY (m = allèle mutant) et dix souris XY (wild-type) seront utilisées pour étudier la ségrégation méiotique dans les spermatozoïdes et rechercher une déviation du sex-ratio après migration ascendante. Une hybridation in situ fluorescente avec des peintures chromosomiques spécifiques des chromosomes X et Y sera réalisée sur la population « brute » de spermatozoïdes épидидymaires et sur les deux populations de spermatozoïdes sélectionnés. Ainsi, 15 000 spermatozoïdes seront étudiés par souris soit un total de 300 000 spermatozoïdes pour cette étude.

Vingt femelles XmX et trois mâles XY (wild-type) seront nécessaires pour l'étude de la ségrégation méiotique dans les ovocytes. Après, fécondation in vitro, nous recueillerons en moyenne entre 15 et 20 complexes cumulo-ovocytaires par souris soit un total de 300 à 400 complexes cumulo-ovocytaires pour ce projet. La biopsie des globules polaires sera réalisée. La mutation sera recherchée par PCR nichée sur cellule unique dans les globules polaires ainsi que dans l'ovocyte.

D'un point de vue fondamental, cette étude nous permettra de valider une approche originale permettant de mieux comprendre les étiologies des biais de transmission qui sont observés à la fois chez l'Homme et dans notre lignée de souris exprimant la mutation ARX dup24, notions jusqu'à présent très peu documentées dans la littérature. D'un point de vue clinique, les résultats de ces recherches permettront un meilleur conseil génétique et une meilleure prise en charge des familles.

Résultats

Friocourt, Gaëlle, Aurore Perrin, Paul A. Saunders, Elvira Nikalayevich, Cécile Voisset, Charles Coutton, Guillaume Martinez, et Frédéric Morel. 2023. « Bypassing Mendel's First Law: Transmission Ratio Distortion in Mammals ». International Journal of Molecular Sciences 24 (2): 1600. <https://doi.org/10.3390/ijms24021600>.

[Retour tableau](#)

Mise au point d'une boîte à outils pour la validation fonctionnelle de variants chez des patients atteints de ciliopathies

MULLER Jean - Laboratoire de Génétique Médicale (UMR_S 1112) - CRBS - 1 rue Eugène Boeckel, 67000 Strasbourg

[Retour tableau](#)

Résumé

Les ciliopathies forment un large groupe de pathologies qui ont pour origine un dysfonctionnement du cil. Le cil est une protubérance de la membrane plasmique soutenue par un squelette de microtubules, présent à la surface de la quasi-totalité des cellules de l'organisme. Il existe deux catégories de cils dans le règne végétal et animal, les cils dits mobiles (doublets de microtubulaires 9+2; localisés par exemple au niveau de l'épithélium bronchique ou des flagelles des spermatozoïdes) et les cils dits immobiles ou cils primaires (doublets de microtubules 9+0). Les cils motiles peuvent se retrouver en grand nombre à la surface des cellules (e.g. épithélium bronchique) tandis que les cils primaires sont présents en une seule copie pour la cellule concernée. Chaque cil prend naissance dans le cytoplasme au niveau du corpuscule basal, dérivé du centriole.

De nombreuses protéines sont impliquées dans la constitution et la fonction du cil. Des anomalies de ces gènes ont pour conséquences des phénotypes variés comme des anomalies oculaires, squelettiques, pulmonaires, rénales, une obésité... groupés sous le terme de ciliopathies. On dénombre à ce jour 38 pathologies différentes impliquant 247 gènes. Au laboratoire, nous sommes particulièrement intéressés par les ciliopathies impliquant le cil primaire. Dans ce projet nous nous focaliserons sur 3 ciliopathies de transmission autosomique récessive en particulier, à savoir le syndrome de Bardet-Biedl (BBS, 24 gènes), l'Alström (ALMS, 1 gène) et l'Al Kaissi (1 gène).

L'un des avantages de ce type de pathologie est d'avoir accès à un phénotype cellulaire visible dans plusieurs lignées cellulaires et notamment pour des cellules accessibles du patient (fibroblastes de peau). Ainsi des défauts du cil peuvent s'apprécier en déterminant par rapport à des conditions contrôles plusieurs paramètres tels que :

Le taux de ciliogénèse,

La vitesse de ciliogénèse,

La morphologie du cil,

Les voies de signalisation du cil,

Le transport intra flagellaire,

La prolifération cellulaire,

Le cycle cellulaire.

Ces phénotypes pourront être également complémentés par l'utilisation du cDNA sauvage du gène en question ou bien porteur de variations d'intérêt. Nous testerons également plus classiquement le niveau d'expression de l'ARN (qRT-PCR) et de la protéine (Western blot), la localisation cellulaire (ciliaire), l'apoptose ...

L'objectif principal de ce projet est de mettre au point une boîte à outils de tests fonctionnels standardisés et un arbre décisionnel pour confirmer ou non la pathogénicité des variants de classe 3 pour les ciliopathies. Nous nous focaliserons sur 3 ciliopathies à transmission autosomique récessive en particulier (les syndromes de Bardet-Biedl, d'Alström et d'Al Kaissi), chacune nous permettant de valider un des aspects de cette boîte à outils.

Résultats

Karam, Adella, Clarisse Delvallée, Alejandro Estrada-Cuzcano, et al. 2023. « WGS Revealed Novel BBS5 Pathogenic Variants, Missed by WES, Causing Ciliary Structure and Function Defects ». International Journal of Molecular Sciences 24 (10): 8729. <https://doi.org/10.3390/ijms24108729>.

Karam, Adella, Clarisse Delvallée, Bénédicte Gérard, et al. 2025. « PIK3C2A -Related Clinical Phenotype and Cellular Characterization Linked to Functional SHH Primary Cilia Defect ». Clinical Genetics 108 (6): 696-707. <https://doi.org/10.1111/cge.70005>.

[Retour tableau](#)

Recherche du chromosome Y à partir de l'ADN libre circulant chez les patientes atteintes du syndrome de Turner

SCHLUTH-BOLARD Caroline - Laboratoires de Diagnostic Génétique - Nouvel Hôpital Civil - 1, place de l'Hôpital - 67000 STRASBOURG

[Retour tableau](#)

Résumé

Le syndrome de Turner touche 1/2500 nouveaux-nés de sexe féminin. Il est caractérisé par une petite taille, une dysgénésie gonadique et des anomalies osseuses. Il est secondaire à une anomalie du chromosome X homogène ou en mosaïque : monosomie X (45,X) ou anomalie de structure du chromosome X. L'évolution peut être marquée par différentes complications, dont la dégénérescence des reliquats gonadiques en gonadoblastome. Le risque de gonadoblastome est majoré par la présence de matériel issu du chromosome Y, avec un risque de 19 à 43 %. Cependant, ce matériel peut être difficile à détecter du fait de sa présence en mosaïque, à des taux variables en fonction des tissus, et de sa présence à l'état cryptique, non visible au caryotype.

L'ADN libre circulant (ADNlc) correspond à des fragments d'ADN extracellulaire présents dans le plasma, libérés dans la circulation lors de processus de mort cellulaire par les différents tissus de l'organisme. De par ses origines tissulaires multiples et son prélèvement facile, l'ADNlc apparaît donc comme une matrice adaptée pour rechercher des séquences du chromosome Y en faible mosaïque chez les patientes atteintes du syndrome de Turner.

L'objectif principal de l'étude est de développer un test basé sur l'ADNlc pour rechercher des séquences du chromosome Y chez 50 patientes atteintes du syndrome de Turner. Les objectifs secondaires sont de déterminer le seuil de sensibilité de détection de ce test et de comparer les performances de ce test à la technique d'hybridation in situ en fluorescence (FISH) utilisée en diagnostic courant.

Le test ADNlc est basé sur des réactions de PCR quantitatives en temps réel de type Taqman ciblées sur différents loci du chromosome Y. Des dilutions de plasma XY et XX permettront de déterminer le seuil de détection de mosaïque. Les patientes seront ensuite recrutées dans les centres des Hôpitaux Universitaires de Strasbourg (HUS) et des Hospices Civils de Lyon (HCL) lors d'une consultation de suivi. La recherche de chromosome Y sur ADNlc sera réalisée dans le Laboratoire de Diagnostic Génétique des HUS et une étude en FISH sur frottis sanguin sera réalisée dans le service de Génétique des HCL en parallèle et en aveugle. Les résultats des deux méthodes seront comparés à l'issue des analyses. Les patientes pour lesquelles des séquences du chromosome Y ont été détectées se verront proposer un suivi adapté.

Cette étude permettra d'évaluer la sensibilité de détection de ce test et d'évaluer sa pertinence en contexte clinique. Un taux de détection au moins égal à la technique de FISH proposée actuellement est attendu. Ceci permettra de proposer en routine ce test aux patientes atteintes du syndrome de Turner afin d'identifier au mieux les patientes à haut risque de développer un gonadoblastome et de leur proposer une prise en charge adaptée. Cette étude ouvrira également les applications de l'ADNlc à un nouveau champ diagnostique concernant la recherche de mosaïques constitutionnelles.

[Retour tableau](#)

Etude prospective évaluant l'apport de la cartographie optique du génome dans le diagnostic génétique des fausses couches à répétition

EL KHATTABI Laïla - APHP.Sorbonne, Hôpital Armand Trousseau - Paris

[Retour tableau](#)

Résumé

Les fausses-couches à répétition (FCR) concernent 1 à 2% des couples et ont des causes diverses parmi lesquelles des anomalies chromosomiques essentiellement équilibrées portées par l'un des partenaires. L'examen de choix pour les déceler est encore aujourd'hui le caryotype standard pour chacun des partenaires avec un rendement diagnostique très faible allant de 3 à 5%. Malgré sa très faible résolution et des performances qui peuvent varier selon la série technique et l'expérience du cytogénéticien, le caryotype reste incontournable dans cette indication, comme dans toutes les explorations des troubles de la reproduction, car il est le seul à permettre la détection pangénomique de tous les types d'anomalies chromosomiques.

Nous posons l'hypothèse qu'un pourcentage significatif d'anomalies chromosomiques liées aux FCR n'est pas décelables par le caryotype alors qu'il pourrait l'être par la cartographie optique du génome. Cette dernière ouvre la possibilité de surmonter ces difficultés en offrant une technique hautement résolutive, automatisable et robuste qui représente une alternative prometteuse au caryotype conventionnel. Cette nouvelle technique permet enfin d'espérer une amélioration du taux diagnostique dans les FCR, de la même manière que les puces à ADN ont permis il y a quelques années de révolutionner le diagnostic cytogénétique dans les pathologies du développement et ont remplacé le caryotype en première intention avec un taux diagnostique 2-3 fois plus élevé.

Ce travail a pour objectif principal de comparer le rendement diagnostique de la cartographie optique du génome pour l'identification d'anomalies chromosomiques dans l'indication de fausses-couches à répétition, à celui de la technique de référence aujourd'hui dans cette même indication, à savoir le caryotype.

Pour ce faire, nous nous proposons de mener une étude prospective multicentrique incluant 100 patients (50 couples) qui bénéficieront en même temps d'un caryotype et d'une cartographie optique. Nous avons créé un consortium de onze centres académiques français participant à l'inclusion et à l'analyse des données. Les analyses seront réalisées dans trois des centres disposant de l'instrument de cartographie optique, le Saphyr. Nous travaillerons ensemble et partagerons l'expertise acquise avec le reste de la communauté médicale au-delà de notre consortium en proposant par exemple des recommandations de filtres d'analyse et de nomenclature.

En améliorant le diagnostic chromosomique dans les situations de FCR, notre travail permettra à terme d'améliorer la prise en charge médicale des patients et de leurs familles. Un conseil génétique, éclairé par ces nouveaux résultats mettra fin à l'errance diagnostique et pourra proposer un diagnostic préimplantatoire et/ou un diagnostic prénatal lorsque cela sera indiqué.

[Retour tableau](#)

NeuroSign : identification d'épissignatures pour la classification de variants génétiques dans les maladies du neuro-développement.

LEBRE Anne-Sophie - Institut de Psychiatrie et Neurosciences, INSERM UMRS1266 - Paris

[Retour tableau](#)

Résumé

Les troubles neuro-développementaux (NDD) incluent des maladies rares génétiques qui ont été associées à une dérégulation épigénétique de processus critiques pour le développement normal du cerveau. Une grande diversité de tests fonctionnels peut être utilisée pour classer les variants génétiques dans les NDD. À ce jour, l'utilité diagnostique de l'analyse pangénomique de méthylation de l'ADN sur sang périphérique a été démontrée pour plus de 60 types de NDD. Ainsi, il est parfois possible de reclasser un variant en réalisant une analyse de méthylation de l'ADN quand l'épissignature dans le sang est connue.

En 2021, l'Institut de Psychiatrie et Neurosciences (IPNP) / INSERM UMRS1266 (Paris, France) a vu naître une équipe dont le projet est d'étudier les signatures pangénomiques de méthylation de l'ADN dans les NDD, les maladies psychiatriques et dans les tumeurs cérébrales. Avec cette nouvelle « task force », l'IPNP deviendra référent pour étudier les marques épigénétiques et développer de nouveaux tests en médecine translationnelle pour les maladies du cerveau. La capacité de l'équipe peut être attestée par des productions scientifiques antérieures dans le domaine de l'épigénétique. Notre expertise a débuté dans le domaine des NDD avec l'identification d'une nouvelle épissignature dans le syndrome de Wiedemann-Steiner (Foroutan et al 2022). Afin d'aider la communauté médicale, les variants reclassés ont été mis en libre accès dans la base de données Mobidetails.

Dans le cadre de ce projet, nous prévoyons d'étudier des échantillons d'ADN de 64 patients atteints de deux types de NDD avec variants des gènes FBXO11 et UBE3A. Nous avons émis l'hypothèse que l'altération de la fonction des protéines FBXO11 et UBE3A devrait être associée à des épissignatures spécifiques, lesquelles aideront à reclasser les variants de signification incertaine dans ces gènes (comme pathogènes ou bénins). Le budget demandé permettra l'achat d'une station de travail pour l'analyse bioinformatique, l'achat d'un NAS pour le stockage de données et l'hybridation des puces Illumina EPIC.

L'équipe de l'IPNP est à la croisée de nombreuses initiatives à grande échelle et de réseaux de collaboration. Le diagnostic des NDD est complexe, nous forçant à innover. Notre projet vise à intégrer des données multi-omiques (génétiques et épigénétiques) pour classer les variants et offrir un diagnostic de certitude aux patients. L'un des principaux défis de la recherche consiste à transférer efficacement et rapidement les résultats scientifiques du laboratoire au chevet du patient. Notre équipe est impliquée dans le réseau de laboratoires de la filière DéfiScience, ce qui facilitera la diffusion des découvertes scientifiques dans la pratique clinique. Ce projet bénéficiera des facilités de l'IPNP, mais nous rechercherons d'autres sources de financements afin de donner suite à cet ambitieux projet en épigénétique.

Notre projet de médecine génomique permettra d'améliorer le diagnostic des NDD :

1) en identifiant de nouvelles épissignatures dans les NDD,

- 2) en répliquant dans notre laboratoire les épisignatures déjà publiées par d'autres groupes,
- 3) en organisant un réseau français impliqué dans ce domaine,
- 4) en joignant le réseau européen impliqué dans ce domaine (réseau EpiEuroNet, leader : Pr Marco Tartaglia, Italie),
- 5) en colligeant tous les variants déjà reclassés après épisignature et les important dans la base Mobidetails pour aider la communauté médicale.

[Retour tableau](#)

Détection des duplications en cis du gène SMN1 afin de résoudre un piège majeur du conseil génétique de l'amyotrophie spinale infantile

SAUGIER-VEBER Pascale - Laboratoire de génétique Moléculaire - CHU de Rouen

[Retour tableau](#)

Résumé

L'amyotrophie spinale infantile (Spinal Muscular Atrophy ; SMA) est une maladie neuromusculaire de transmission autosomique récessive particulièrement sévère, la forme la plus sévère de la maladie conduisant au décès de l'enfant en l'absence de traitement. Le conseil génétique qui vise à détecter les couples où les deux conjoints sont hétérozygotes est particulièrement important. Dans certains pays, un dépistage préconceptionnel est proposé. Pourtant, le statut d'hétérozygote de certains sujets ne peut être détecté, ce en raison de l'existence d'une duplication en cis du gène SMN1 sur le second allèle (génotype 2+0). Aucune des méthodes de génétique moléculaire actuellement utilisées au titre du diagnostic n'est en mesure de détecter ces génotypes 2+0 qui constituent un véritable piège pour le conseil génétique.

Le gène SMN1, responsable de la SMA, est localisé en 5q11q13 dans une région complexe dont la séquence dans le génome de référence est encore mal élucidée (dark region). L'architecture même de cette région dupliquée inversée favorise la survenue d'événements de recombinaison à l'origine de délétions, de duplications et de conversions géniques. Le gène SMN1, localisé dans l'élément télomérique a lui-même un gène copie, extrêmement homologue, le gène SMN2, localisé dans l'élément centromérique. L'absence de connaissance fine de la variabilité des événements de duplication constitue un frein pour le développement d'outils moléculaires en vue d'améliorer le conseil génétique.

Nous nous proposons d'utiliser les nouvelles technologies basées sur l'analyse d'ultra-longues molécules pour détecter la duplication en cis du gène SMN1.

Nous évaluerons l'intérêt des approches combinées d'analyse d'ultra-longues molécules par séquençage Nanopore (Oxford Nanopore Technologies) et par cartographie optique (Bionano). Ainsi 6 sujets porteurs d'une seule copie du gène SMN1 et 10 sujets porteurs d'un génotype 2+0 (2 copies du gène SMN1 en cis sur un allèle et une délétion sur l'autre allèle) seront analysés en parallèle par ces deux technologies. Compte tenu de la complexité de la région, une optimisation des conditions d'analyses sera nécessaire. L'analyse sera ciblée sur les molécules les plus longues (>500Kb) et les alignements seront réalisés sur la version T2T du génome. En cartographie optique, la durée acquisition sera majorée afin d'améliorer le nombre de grandes molécules analysables à ce locus. Le séquençage Nanopore bénéficiera d'un enrichissement au locus SMN par Adaptive Sampling et d'une reconstruction des haplotypes afin d'identifier précisément les gènes SMN1 et SMN2 grâce à l'interrogation des positions différentielles SMN1/SMN2.

Cette approche permettra in fine d'objectiver la présence des allèles porteurs de la délétion ou de la duplication en cis. Les méthodes innovantes de ce projet permettront ainsi d'explorer une des régions les plus complexes du génome avec un intérêt majeur en génétique médicale.

[Retour tableau](#)

De nouveaux variants de SF3B1 associés à la déficience intellectuelle : caractérisation fonctionnelle et implication pour le diagnostic

BERNARD Delphine - Inserm UMR1078, Génétique, Génomique fonctionnelle et Biotechnologies - Brest

[Retour tableau](#)

Résumé

La déficience intellectuelle (DI) est une pathologie touchant 1 à 2% de la population mais une cause n'est retrouvée que dans la moitié des cas. L'avènement des analyses de séquençage haut débit a permis une augmentation significative du rendement diagnostique et la découverte de nouveaux gènes, pour lesquels une caractérisation fonctionnelle est très souvent nécessaire. Parmi ces gènes, certains codent des composants de la machinerie d'épissage, ce qui a conduit au terme de spliceosomopathies. La protéine SF3B1 est un facteur d'épissage essentiel qui participe à la reconnaissance du point de branchement, au sein du complexe snRNP U2, lors des étapes initiales de l'épissage des pré-ARN messagers. Des mutations faux-sens récurrentes du gène SF3B1 (dont K700E) sont fréquemment retrouvées dans les cancers, en particulier les hémopathies, et conduisent à un remodelage de 1% du transcriptome. A ce jour, aucune variation constitutionnelle de SF3B1 n'a été décrite associée à un phénotype précis. Pourtant, des mutations perte de fonction dans d'autres gènes de la machinerie d'épissage, comme SF3B2, SF3B4, PUF60 ou PQBP1 ont été associées à des syndromes variés, avec pour certains une composante neurodéveloppementale.

La constitution d'une cohorte de 20 patients atteints de DI et présentant une variation de novo du gène SF3B1 nous amène à formuler l'hypothèse que de nouveaux variants de SF3B1, distincts de ceux retrouvés dans le cancer, seraient associés à des désordres neurodéveloppementaux. L'objectif principal de notre étude est d'analyser l'implication de variants du gène SF3B1 dans la DI et les troubles du neurodéveloppement, et d'identifier les mécanismes moléculaires en jeu dans ces pathologies, grâce à une étude fine du transcriptome dans des modèles cellulaires et des échantillons provenant de patients. Nos premiers résultats obtenus par une approche ciblée et globale (RNAseq) sur une lignée cellulaire érythroleucémique montrent que les variants faux sens impactent l'épissage de manière globale, bien que l'effet soit plus modéré que pour les mutations retrouvées dans le cancer.

Nous confirmerons ces résultats préliminaires en exprimant les différents variants faux-sens de novo SF3B1 dans une seconde lignée cellulaire (HEK293). Les données de RNAseq seront validées par une méthode ciblée (RT-qPCR), et confrontées aux données de protéomique qui seront générées dans les mêmes lignées. Enfin, nous prévoyons de réaliser des études de RNA-seq sur des prélèvements de sang de patients et de contrôles, et de comparer ces résultats à ceux obtenus avec les lignées cellulaires. L'ensemble des résultats obtenus sera confronté à ceux de la littérature, en particulier pour comparer ces variants de novo aux variants "cancer" de SF3B1, et pour identifier des voies cellulaires ou gènes cibles d'intérêt en commun avec d'autres spliceosomopathies associées à une DI.

Cette étude, qui devra être poursuivie par des analyses in vivo, permettra d'apporter une réponse diagnostique aux patients et leur parents en impasse diagnostique depuis de nombreuses années, et de leur proposer un conseil génétique. La valorisation de ce travail rendra disponible ces données à tous les acteurs impliqués dans le diagnostic de la DI.

Résultats

De novo variants in the splicing factor gene SF3B1 are associated with neurodevelopmental disorders

[Retour tableau](#)

Développement de modèles in vivo pour la validation fonctionnelle de l'insuffisance ovarienne prématurée

BOBE Julien - UR1037 – Laboratoire de Physiologie et Génomique des Poissons (LPGP) – RENNES

[Retour tableau](#)

Résumé

L'insuffisance ovarienne prématurée (IOP) est une cause d'infertilité féminine touchant 1 à 2% des femmes. Elle se caractérise par des troubles du cycle menstruel accompagnés d'une élévation des gonadotrophines sériques survenant avant l'âge de 40 ans. Le diagnostic étiologique des IOP s'appuie sur la réalisation d'un bilan génétique qui inclut, en première intention, une étude du gène FMR1 et un caryotype. Le développement de l'utilisation des techniques de séquençage haut-débit en seconde intention a permis des avancées majeures dans le diagnostic génétique de ces patientes, avec plus de cent gènes responsables d'IOP rapportés à ce jour. Ces gènes sont impliqués dans différents processus comme le développement gonadique, la méiose et la réparation de l'ADN, la folliculogenèse, la fonction hormonale, l'apoptose, la régulation immunitaire, la fonction mitochondriale, le métabolisme et la cytoprotection. Ainsi, l'identification de variants au sein de gènes participant à ces différentes voies fonctionnelles ovariennes représente autant de pistes diagnostiques pertinentes. Ces avancées ont également soulevé de nouvelles problématiques : la validation fonctionnelle de l'implication des variations de signification incertaine (VSI) et des gènes de signification incertaine (GSI). Les stratégies de validation disponibles s'appuient sur l'étude conjointe de l'impact des variants identifiés sur la protéine pour les VSI et sur l'évaluation de la fonction biologique des gènes pour les GSI. Or, les stratégies de validation des VSI/GSI dans le cadre des IOP demeurent complexes. Les modèles cellulaires ne sont que partiellement adaptés à la validation fonctionnelle des GSI. Par ailleurs, une majorité des gènes impliqués dans l'IOP sont spécifiquement exprimés au niveau gonadique et l'accès à des modèles cellulaires adaptés ou à des échantillons ovariens de patientes demeure limité.

L'objectif de l'étude consiste à évaluer biologiquement le rôle de VSI/GSI identifiés chez des patientes présentant une IOP. Notre approche est basée sur la création de modèles poissons médaka délétés pour les gènes d'intérêt. L'évaluation des conséquences biologiques sur l'ensemble des processus clés ovariens pourra ainsi être réalisée in vivo dès le stade embryonnaire jusqu'à maturité sexuelle. Le cycle de reproduction rapide du médaka est adapté à une stratégie de criblage fonctionnel in vivo. Ceci permettra à terme d'évaluer également l'impact de l'atteinte de plusieurs gènes concomitants afin de tester des hypothèses d'oligogénisme, mais également d'évaluer des effets phénotypiques plus modérés suspectés pour certains variants hétérozygotes ou de gènes classiquement impliqués dans d'autres troubles de la reproduction.

[Retour tableau](#)

La technologie de séquençage Nanopore au service de l'étude des régions génomiques complexes et de leur état de méthylation : application au diagnostic de la dystrophie facio-scapulo-humérale (FSHD)

LETURCQ France - Service de Médecine Génomique des Maladies de Système et d'Organe

DMU BioPhyGen - Cochin

[Retour tableau](#)

Résumé

La Dystrophie Musculaire Facio-Scapulo-Humérale (FSHD) est une pathologie musculaire génétique relativement fréquente, associée à une prévalence de 4.5 pour 100 000 en Europe. Elle est caractérisée par une faiblesse musculaire progressive affectant le visage, les épaules et les bras. Génétiquement, la FSHD est causée par une désorganisation de réseau de répétitions macrosatellites D4Z4 dans la région 4q35, entraînant la dérégulation et la réexpression du gène DUX4, dont l'expression est normalement éteinte par méthylation du locus. La forme majoritaire, notée FSHD1, résulte de la réduction du nombre d'unités répétées (UR) sur un allèle permissif, tandis que la FSHD2, moins commune, est associée à des variations pathogènes d'autres gènes (SMCHD1, DNMT3B, LRIF1), aboutissant également à une déméthylation des unités répétées D4Z4 et une réexpression de la protéine DUX4, toxique pour le muscle.

Notre laboratoire est l'un des deux seuls laboratoires français à proposer le diagnostic moléculaire de cette pathologie, que nous réalisons par Southern Blot avec une expertise de plus de 30 ans. Cependant, cette stratégie diagnostique est complexe à mettre en œuvre et ne fournit pas une caractérisation moléculaire exhaustive de l'allèle pathologique, de par l'impossibilité de mettre en évidence la présence ou non du signal de polyadénylation (haplotype permissif), l'étude de la méthylation ou la présence de réarrangements complexes et de variants pathogènes impliqués dans la FSHD2. L'objectif principal de ce projet est d'utiliser les potentialités du séquençage Nanopore afin d'améliorer les méthodes de diagnostic de la FSHD. Le séquençage de longs fragments permet de déterminer le nombre d'UR D4Z4, d'identifier le signal de polyadénylation sur l'haplotype permissif, ainsi que les variants impliqués dans la FSHD2, mais aussi d'étudier l'état de méthylation des UR D4Z4 dans l'objectif d'identifier les régions d'intérêt les plus différenciellement méthylées entre patient-es FSHD1 versus patient-es FSHD2 versus population contrôle.

Notre équipe, forte d'une expérience préalable en séquençage Nanopore, s'engage à poursuivre le développement des solutions bioinformatiques spécifiques pour aborder la complexité de la maladie. Nos résultats préliminaires ont montré la faisabilité technique de cette approche et révélé des variations épigénétiques pertinentes, promettant d'améliorer la compréhension de la FSHD et de contribuer à une prise en charge personnalisée plus efficace des patients. Ce projet ambitieux témoigne de notre expertise et de notre capacité à mener des recherches innovantes en matière de diagnostic génétique des maladies musculaires.

[Retour tableau](#)

Optimisation de l'exploration génétique des déficits constitutionnels en protéine C : séquençage du gène entier par NGS et étude fonctionnelle par minigène.

MAUGE Laetitia - Service d'Hématologie biologique

20 rue Leblanc 75015 Paris

[Retour tableau](#)

Résumé

La maladie thromboembolique veineuse est une pathologie qui se manifeste par des thromboses récidivantes. Elle peut être liée à la présence de facteurs de risque biologiques constitutionnels comme le déficit en protéine C. Le diagnostic de ce déficit repose sur des tests plasmatiques mettant en évidence une diminution de l'activité de la protéine C associée ou non à une diminution de sa concentration plasmatique. L'exploration génétique du gène de la protéine C, PROC, permet de confirmer l'origine constitutionnelle du déficit. Elle repose actuellement sur l'étude des régions exoniques et flanquantes et régions UTR 3' et 5', complétée si nécessaire par une recherche de grand remaniement génique par MLPA. Dans la majorité des cas, un variant (probablement) pathogène est mis en évidence dans ces régions. Dans les autres cas, le déficit pourrait être lié à la présence d'un variant dans les introns de PROC, qui ne sont pas étudiés dans la pratique courante.

L'objectif de ce travail est d'utiliser la technologie NGS afin d'analyser le gène PROC dans sa totalité (introns compris) dans une cohorte de patients déficitaires en protéine C pour lesquels aucun variant potentiellement pathogène n'a été mis en évidence par séquençage Sanger et MLPA. Pour les variants introniques de signification indéterminée, les conséquences fonctionnelles seront étudiées grâce à la technique minigène.

Résultats

Mauge, Laetitia, Carla Rial, Philippe De Mazancourt, et al. 2026. « Whole PROC Gene Sequencing to Explain Genetically Unresolved Protein C Deficiencies ». *Thrombosis and Haemostasis* 126 (6): 582-94. <https://doi.org/10.1055/a-2668-5003>.

[Retour tableau](#)

Intérêt du séquençage de l'ADN mitochondrial natif et long fragment pour l'amélioration du diagnostic moléculaire des pathologies mitochondriales

REYNIER Pascal - Laboratoire de Biochimie et biologie moléculaire

CHU Angers

UMR MITOVASC, CNRS 6015-INSERM1083, Université d'Angers

[Retour tableau](#)

Résumé

Le développement du séquençage à haut débit de l'ADN mitochondrial (ADNmt) et des outils bio-informatiques associés a permis d'améliorer la détection des variants ponctuels pathogènes et des délétions simples ou multiples du génome mitochondrial. Malgré ces avancées, les corrélations entre les génotypes et les phénotypes des patient(e)s porteurs/euses de variants de l'ADN mitochondrial (ADNmt) sont encore imparfaites et laissent supposer d'autres niveaux de pathogénicité. La méthylation de l'ADNmt pourrait par exemple participer au contrôle de qualité de l'ADNmt et à l'expressivité des variants pathogènes.

La technologie de séquençage de nouvelle génération basée sur des nanopores permet la lecture de longs fragments d'ADN à partir de molécules d'ADN natives, c'est-à-dire sans amplification ni synthèse de nucléotides, et possède en outre la capacité de détecter simultanément les bases méthylées. Cette technologie permet donc à la fois de s'affranchir des biais d'amplification préalables et des biais de reconstruction des courts fragments séquencés par les technologies à haut débit conventionnelles. Cela rend possible l'étude globale et rapide du génome mitochondrial comportant :

- une quantification plus précise des taux d'hétéroplasmie,
- une meilleure analyse des réarrangements complexes de l'ADNmt par la visualisation complète de la structure des génomes natifs non pré-amplifiés
- une quantification des profils de méthylation.

Cette étude sera réalisée sur 90 échantillons de patient(e)s adressés au CHU d'Angers pour recherche de pathologie mitochondriale. Nous sélectionnerons 30 patient(e)s porteurs/euses de variants de l'ADNmt afin de valider la méthode. Puis 30 patient(e)s pour la recherche ou l'étude de la structure des réarrangements de l'ADNmt et 30 patient(e)s avec variants pathogènes identifiés mais présentant une discordance de corrélation phénotype/génotype. L'analyse bioinformatique optimisée pour l'étude de l'ADNmt permettra de rechercher les réarrangements complexes et les profils de méthylation. Cela devrait permettre une analyse plus précise et exhaustive de l'ADNmt afin d'améliorer le diagnostic moléculaire.

[Retour tableau](#)

Exploration anténatale des fœtus atteints de malformation cardiaque congénitale complexe par multiOMICS

ROORYCK THAMBO Caroline - Laboratoire de génétique moléculaire

CHU de Bordeaux

[Retour tableau](#)

Résumé

Les malformations cardiaques congénitales (MCC) forment un groupe de cardiopathies très hétérogène en termes de mécanismes embryonnaires, de phénotypes et d'étiologies. Dans les formes isolées, des causes génétiques sont identifiées dans seulement 19% des cas, liées à des anomalies chromosomiques (8%) ou à des variants géniques (11%). Des causes environnementales telles qu'une infection, une exposition à des toxiques ou une ingestion de substance tératogène peuvent aussi favoriser la survenue d'une MCC. Bien que dans la majorité des cas, l'étiologie reste inconnue, la découverte d'une MCC en anténatal aboutit presque systématiquement à la réalisation d'un bilan étiologique génétique sur liquide amniotique pour réalisation de caryotype, ACPA, et plus récemment de l'exome. S'agissant des causes environnementales, les données récentes de la littérature rapportent un lien entre les expositions environnementales (professionnelles, extra-professionnelles ou médicamenteuses) et anomalies congénitales.

Objectifs : Le faible pourcentage d'anomalies génétiques et des facteurs toxiques identifiés comme causaux chez les patients porteurs de MCC non syndromique pousse à rechercher des causes plus complexes telles que des modifications épigénétiques liées à une interaction entre les gènes et des facteurs environnementaux.

Méthodologie : L'approche par études multi-omiques, grâce aux technologies de séquençage à haut débit (exome, RNASeq, méthylSeq) permet d'obtenir de nombreuses informations sur les voies de signalisation cellulaires et/ou tissulaires en réponse à une exposition. Ainsi l'analyse intégrée des transcriptomes et des méthylomes, a démontré la survenue de défauts combinés d'expression et de méthylation génique suite à des expositions toxiques. La période de formation de MCC au cours du développement embryonnaire nous incite à rechercher des modifications épigénétiques pendant la vie anténatale, au plus près des mécanismes physiopathologiques menant à la malformation.

Résultats attendus : l'analyse multi-omique appliquée aux fœtus atteints de MCC complexes (M3C) non syndromiques, combinée à la caractérisation des expositions environnementales professionnelles et extra-professionnelles va nous permettre d'étendre la recherche étiologique pour ces malformations, d'identifier des biomarqueurs de survenue et de sévérité de ces malformations et de mieux comprendre les mécanismes physiopathologiques liés aux M3C.

A plus long terme, cette étude servira de base à des études de grande envergure pour permettre le développement de politiques de prévention, s'appuyant sur des cohortes exhaustives et multicentriques. En outre, les études multi-omiques pourront permettre d'identifier des marqueurs géniques, par exome, transcriptome et/ou méthylome qui pourront être ensuite étudiés de manière ciblée sur une grande population, à moindre coût.

[Retour tableau](#)