



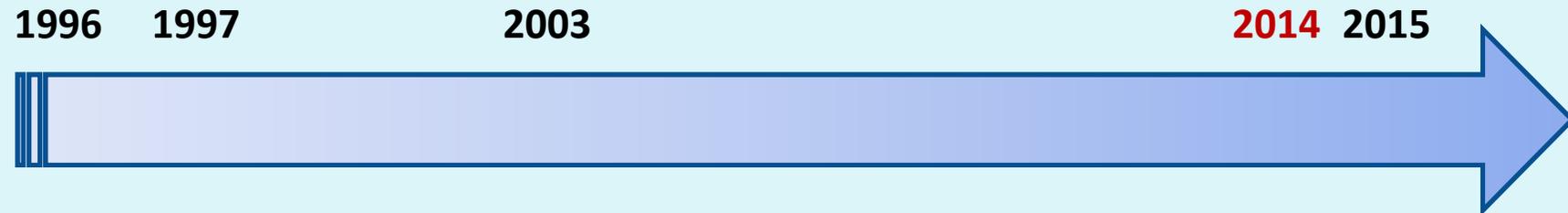
Séquençage nouvelle génération : un espoir pour le diagnostic des MAI ?

G Sarrabay, G Tachon, D Mechin, I Touitou





Histoire du diagnostic génétique des MAI



Diagnostic indirect
(haplotypes ancestraux)

Mutations spécifiques FMF (ARMS, RFLP...)

Séquençage Sanger

Mutation hot spots
4 premières fièvres récurrentes

Implémentation des **nouveaux gènes** au fil de leur découverte

NGS

PGM
Lifetech
(abandonné)

MiSeq
Illumina
Gènes publiés et candidats



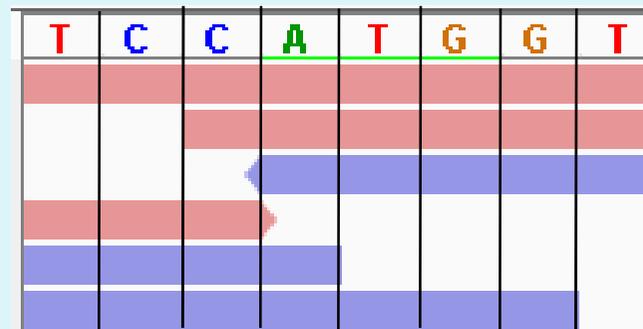
Quelques notions de NGS

- Exome = séquencer tous les exons
- Panel ciblé = séquencer les exons d'un panel de gènes
- Couverture (horizontale) = base lue au moins 1 fois (en %)

Couverture $\left\{ \begin{array}{l} 9/9 \text{ (100\%)} \\ 7/9 \text{ (77\%)} \end{array} \right.$



- Profondeur (verticale) = nombre de fois ou 1 base est lue (en X)



4X ← Profondeur → 3X



NGS panel ciblé MAI

N = 58



Mise à jour selon les
besoin diagnostiques

Panel à façon 108kb, **32 gènes**

Publiés:

<i>CARD14</i>	<i>MEFV</i>	<i>PSTPIP1</i>
<i>CECR1</i>	<i>MVK</i>	<i>RBCK1</i>
<i>IL10</i>	<i>NLRC4</i>	<i>SH3BP2</i>
<i>IL10RA</i>	<i>NLRP12</i>	<i>SLC29A3</i>
<i>IL10RB</i>	<i>NLRP3</i>	<i>TNFRSF1A</i>
<i>IL1RN</i>	<i>NOD2</i>	<i>TNFRSF11A</i>
<i>IL36RN</i>	<i>PLCG2</i>	
<i>LPIN2</i>	<i>PSMB8</i>	

Candidats:

<i>CASP1</i>	<i>PSENEN</i>	
<i>MDFIC</i>	<i>PSMA3</i>	
<i>NCSTN</i>	<i>PSMB4</i>	
<i>NLRP1</i>	<i>PSMB9</i>	
<i>POMP</i>	<i>TNFRSF9</i>	



MiSeq (Illumina)

Validation

- ✓ Profondeur minimale : 40X
- ✓ Profondeur moyenne : 545X
- ✓ 2 exons* non capturés.
- ✓ Concordance avec le Sanger: 100%

* *SLC29A3*, exon1; *TNFRSF11A*, exon1



Annotation et interprétation des mutations

Filtrage : Seqnext software (JSI)

Prédictions *in silico* : Alamut Visual (Interactive Biosoftware).

In silico seulement indicatif! Exemple M694V = Classe 2 avec Alamut, revu classe 5!

Information prises en compte si disponibles:

- **Ségrégation familiale ++**
- *De novo* ?
- Publié?
- Codon portant des mutations déjà connues?

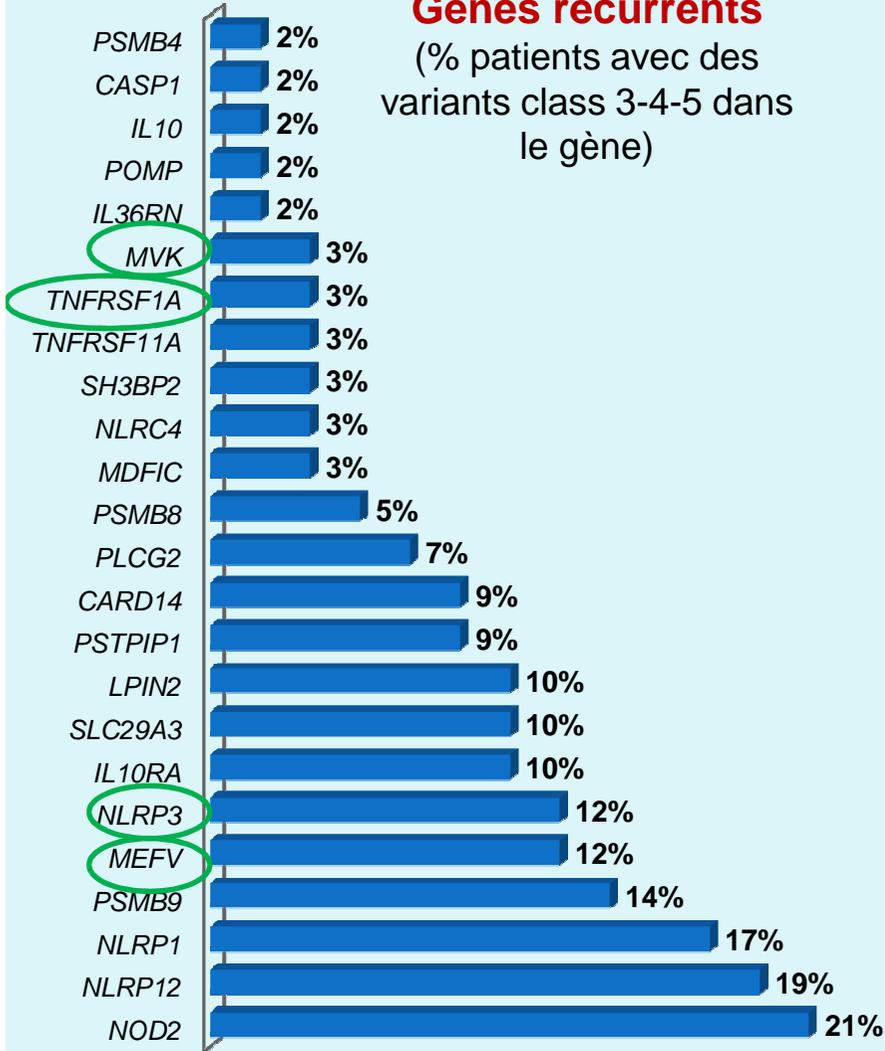
Classe	Description
1	Clairement bénin
2	Probablement bénin
3	Signification inconnue (VUS)
4	Probablement pathogène
5	Clairement pathogène

En attente de guidelines
et de critères consensus
de classification

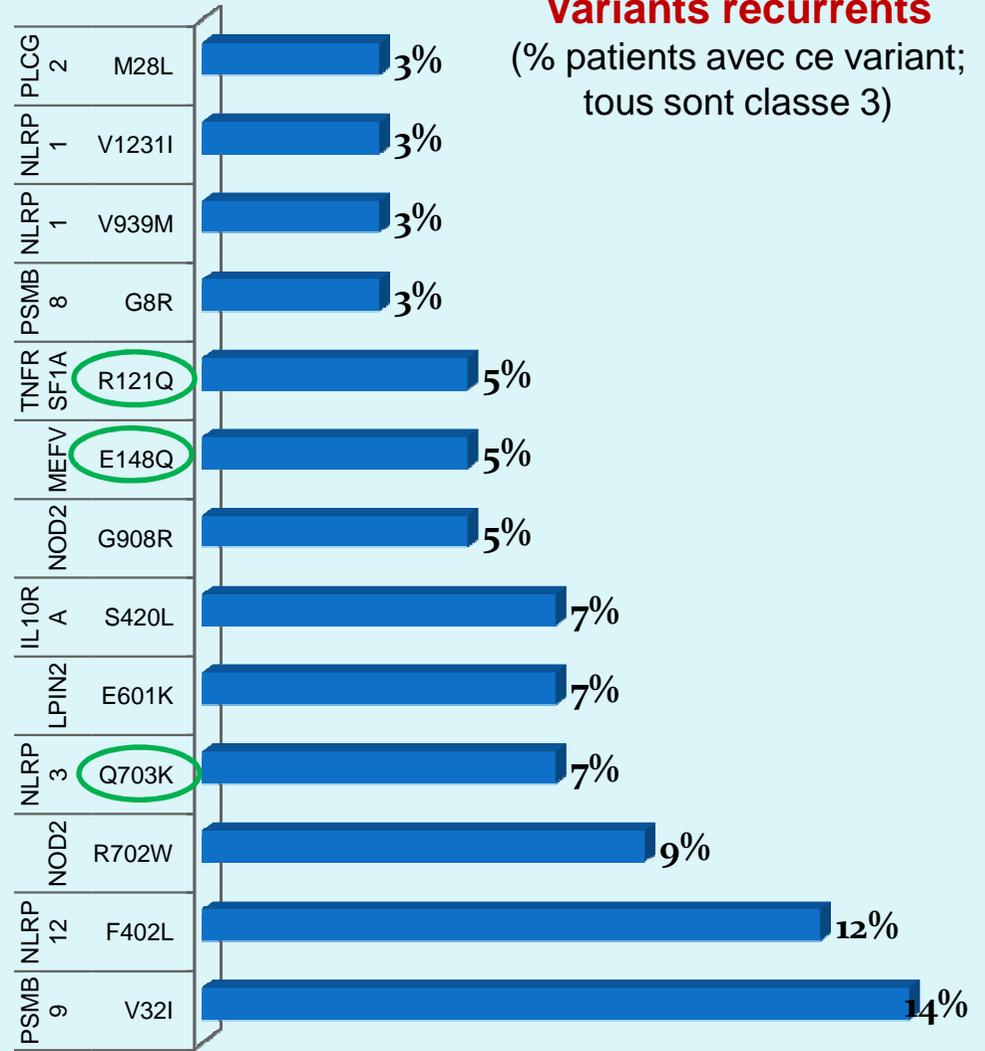


Résultats

Gènes récurrents (% patients avec des variants class 3-4-5 dans le gène)

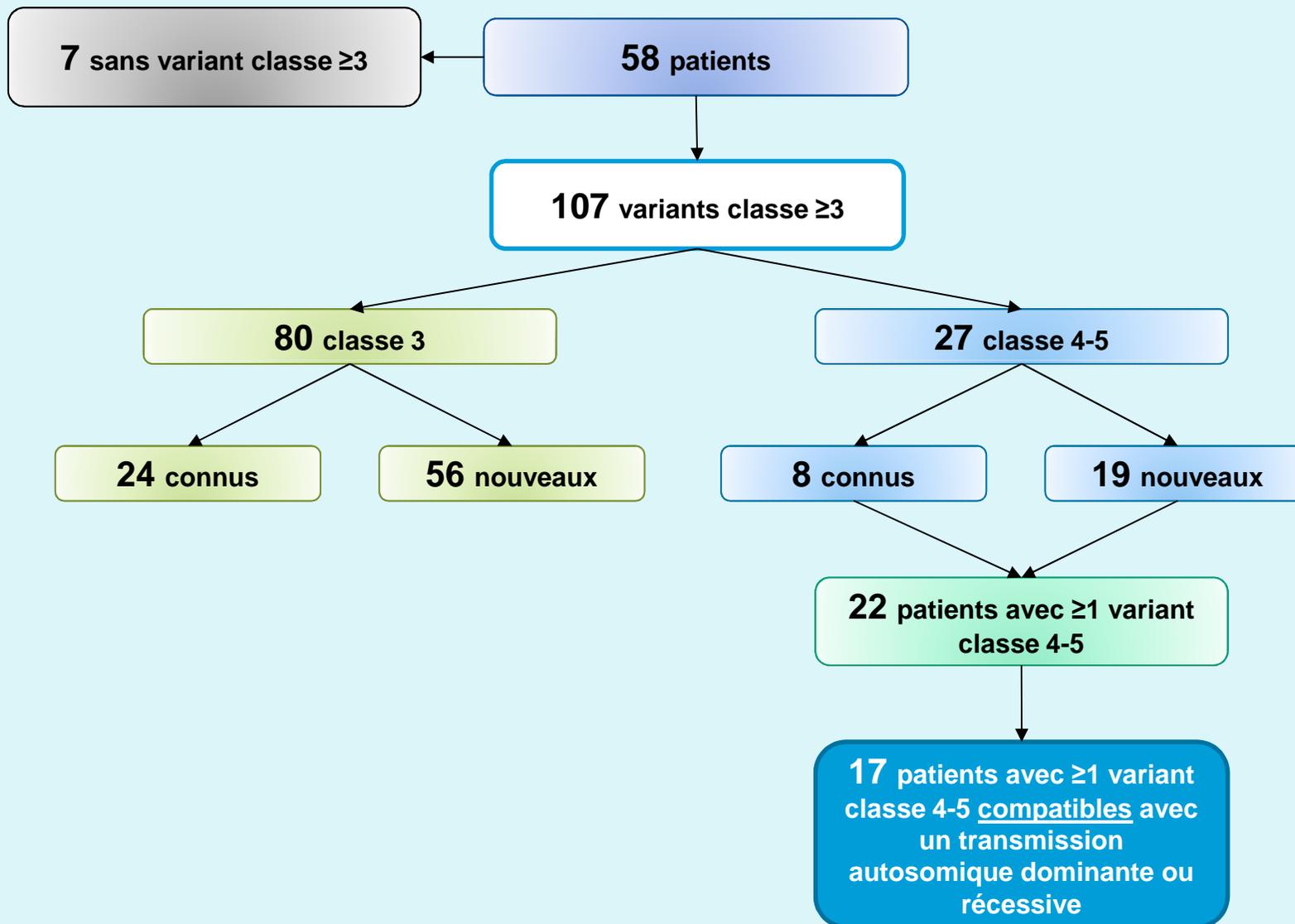


Variants récurrents (% patients avec ce variant; tous sont classe 3)



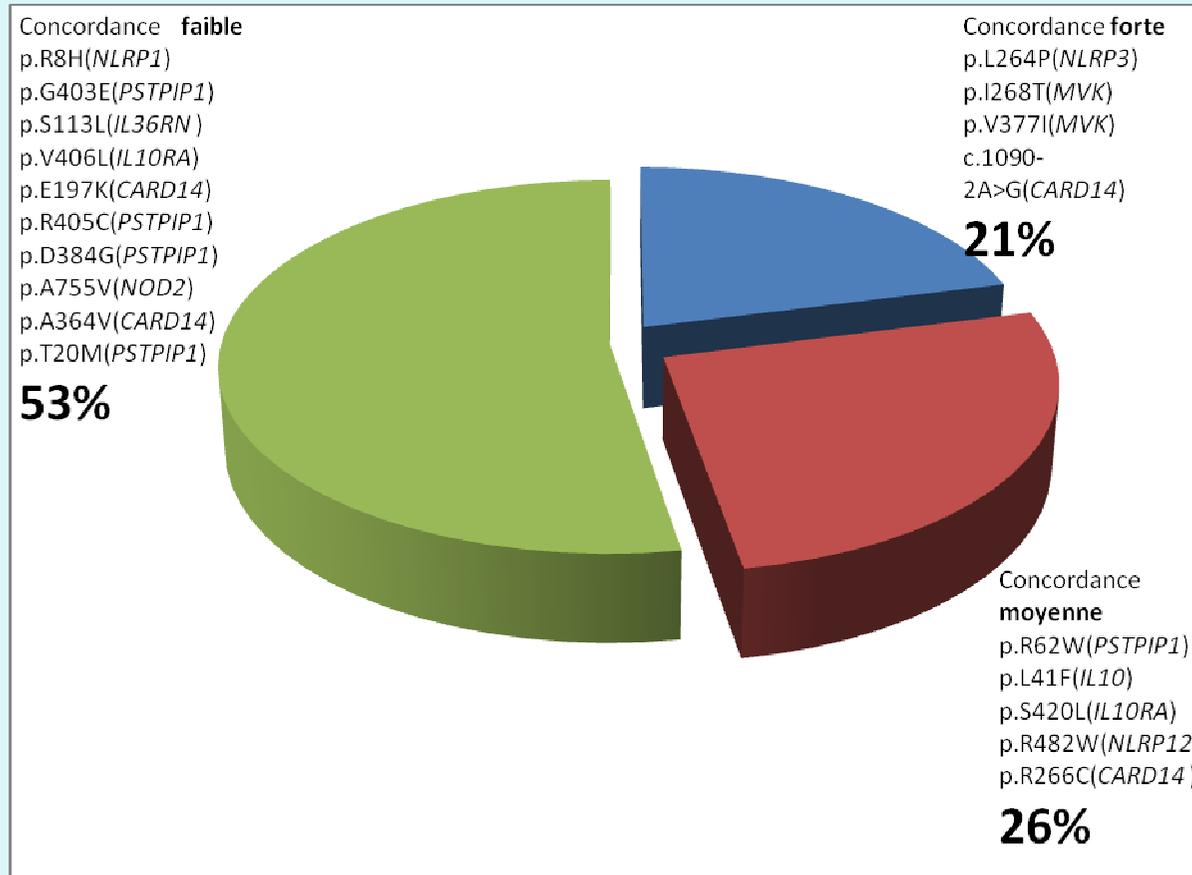


Résultats





Concordance clinique après “retrophenotyping”





Perspectives

Continuer à implémenter des gènes dans le panel, puis WES si négatif?

Gene
Gene
Gene
Gene
Gene

Switch vers le WES?

Pas encore faisable en routine

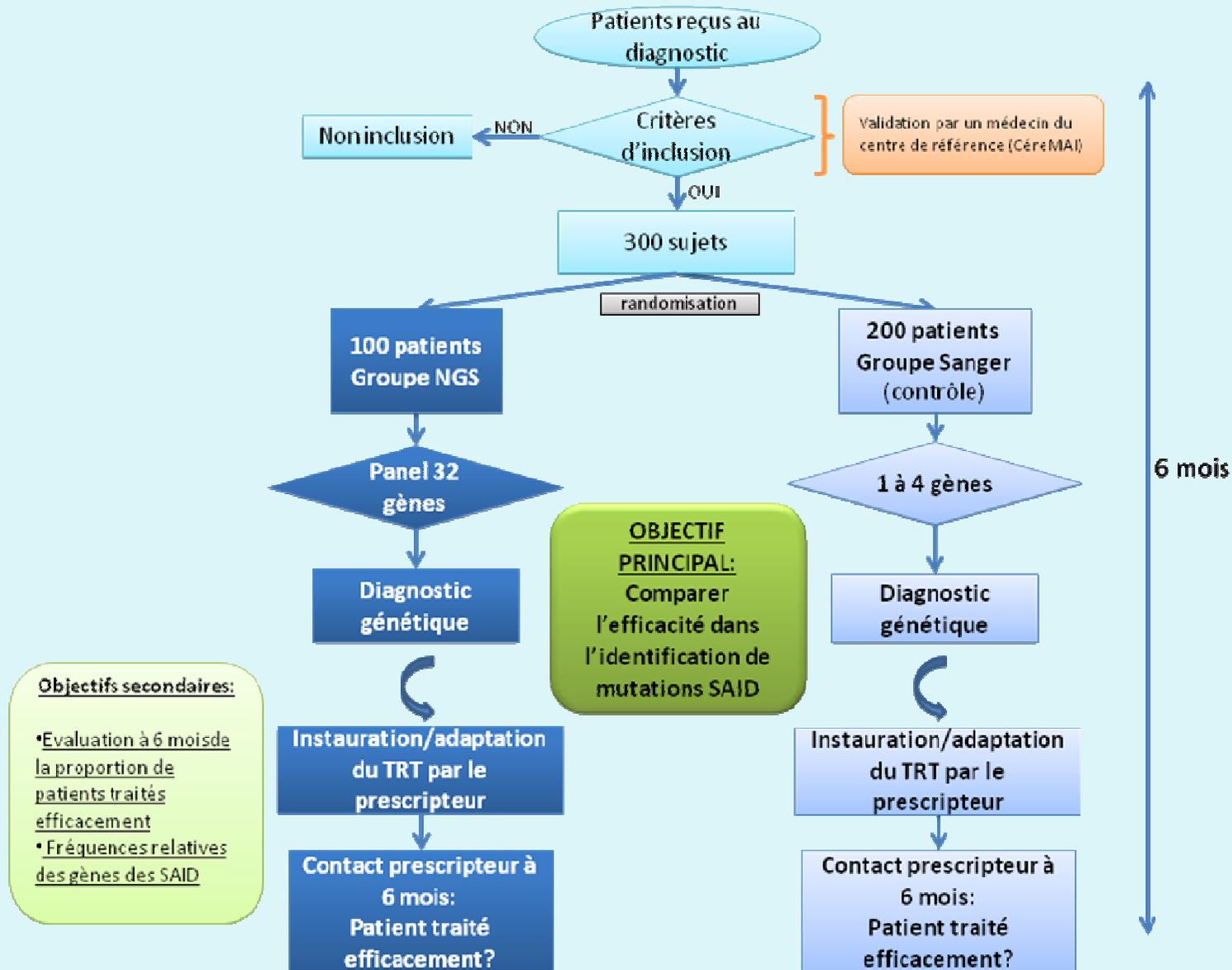
Coût

Incidentalome

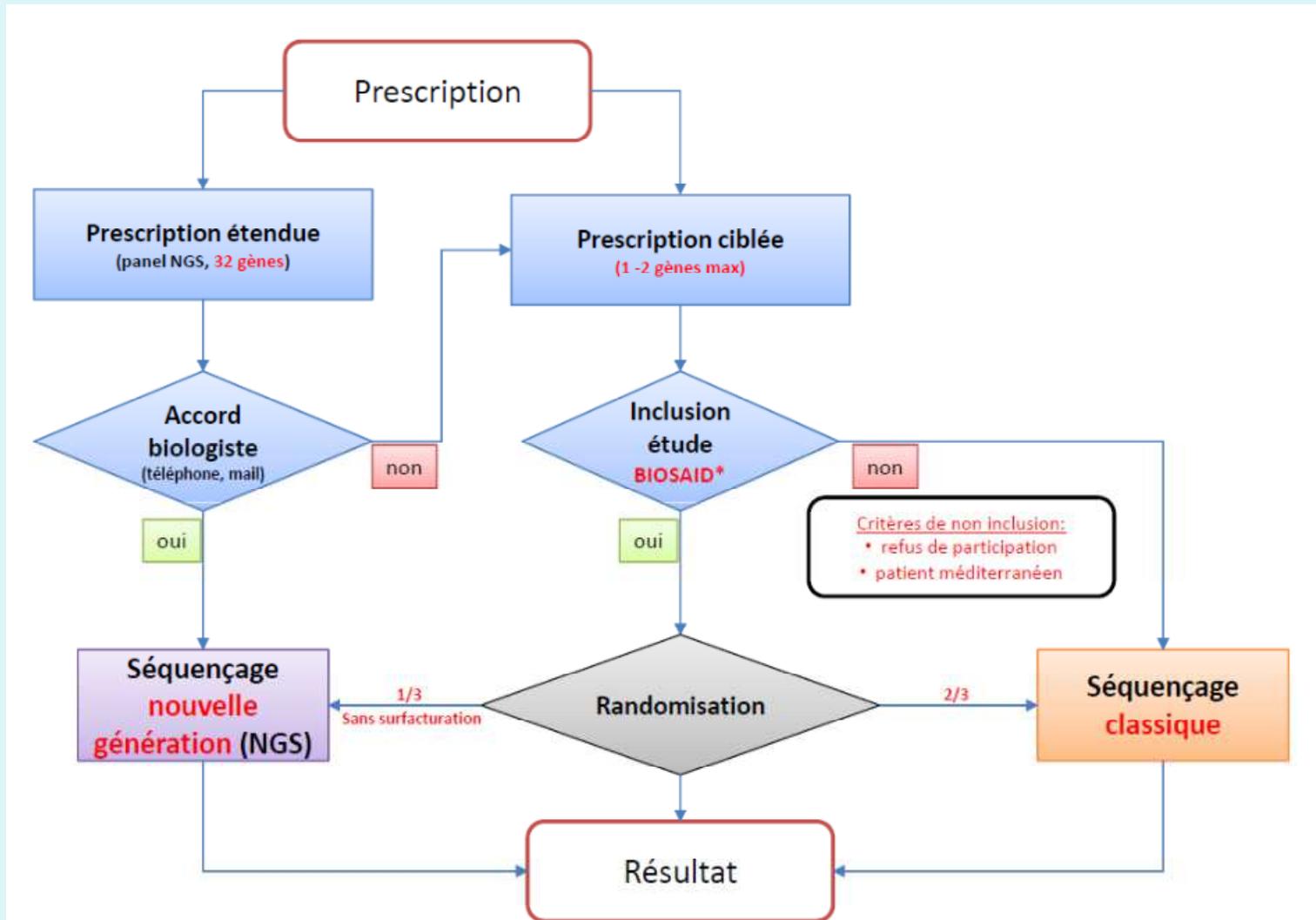


En attente d'une stratégie
consensuelle

Etude BIOSAID



Etude BIOSAID

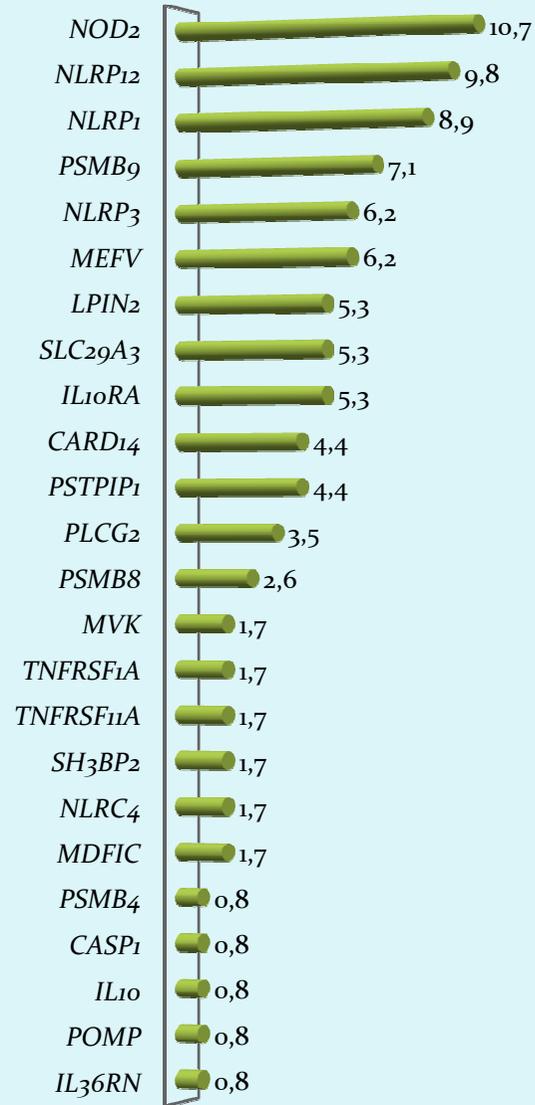




Séquençage nouvelle génération : un espoir pour le diagnostic des MAI ?

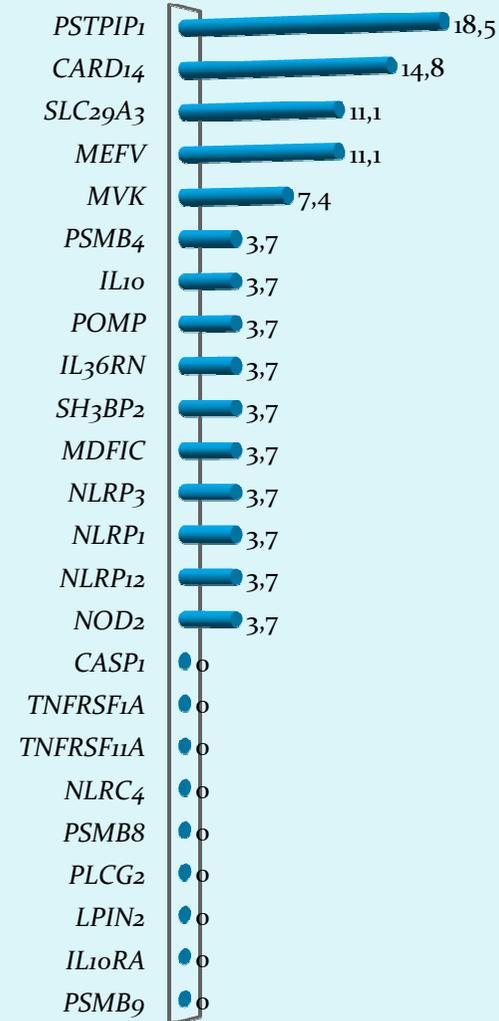
Merci!

Classe 3 à 5



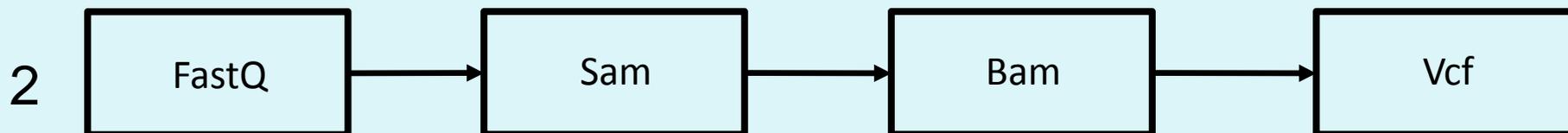
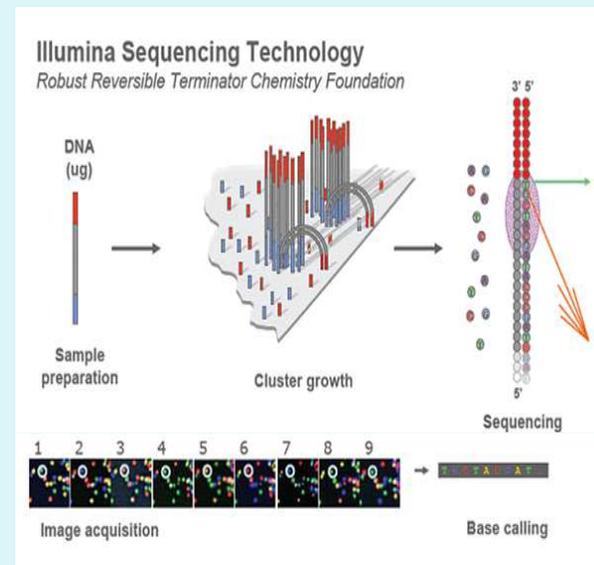
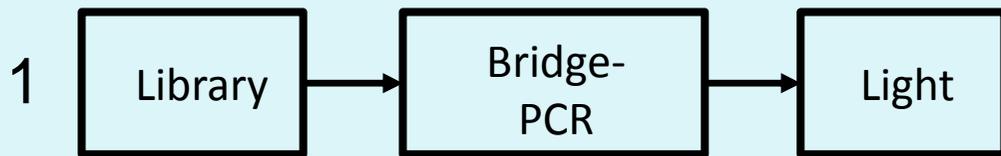
Distribution des gènes parmi tous les variants

Classe 4 et 5





De la lumière aux gènes



```

@PC1-1059-ILLUMI_1:5:4:616:1464
CAGATCAGGAAGTCCCCTGGTGAGCTCAGCCATGGC
+
BCBCBCBBCABA;BABBB@B4AA?AAC?ABB?BB=A
@PC1-1059-ILLUMI_1:5:76:1067:1293
ATCTGCTCCACCTGCAGGGCGAACGGTGCTCTCACC
+
ACCCBBACC@CCCBABB5@BABBBBA@BBBABAAB
  
```

QNAME	FLAGNAME	POS	MAPQ	CIGAR	MRNM	POS	SIZE	SEQ
@SQ	SN:chr10	LN:135374737						
PC1-1059-ILLUMI_1:5:76:1067:1293		16	chr10	84148	37	36M	*	0 0 GGTGAGAGCACCGTTCGCCC

Variants bruts