

Intérêt de la technologie NGS dans les amyloses

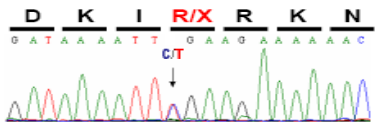
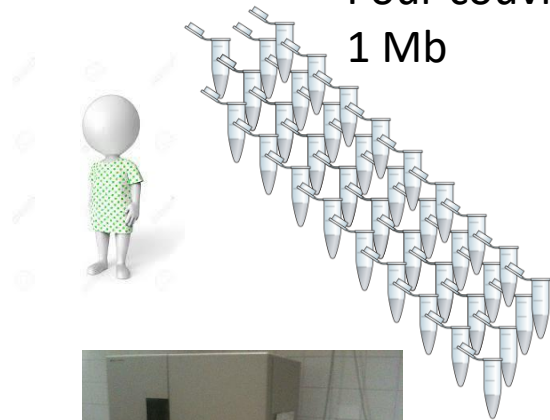
Dr Vianney POINSIGNON

Le Séquençage « Haut Débit » (anciennement « NGS »)

Changement d'échelle : séquencer plus, plus vite, moins cher... accélérer le diagnostic ...

Par Sanger

3000 PCRs
Pour couvrir
1 Mb



Séquence 600 bp
haute qualité (QV50)
Méthode de référence



Séquençage nouvelle génération



23 à 96 patients



Moyen débit à haut débit

Capture ciblée de **plusieurs gènes (>100)** à l'exome entier (WES)

→ Analyse simultanée de **plusieurs patients**

**(Très haut débit : génomes entiers (WGS)
Projet France Médecine Génomique...)
Analyses en TRIO**



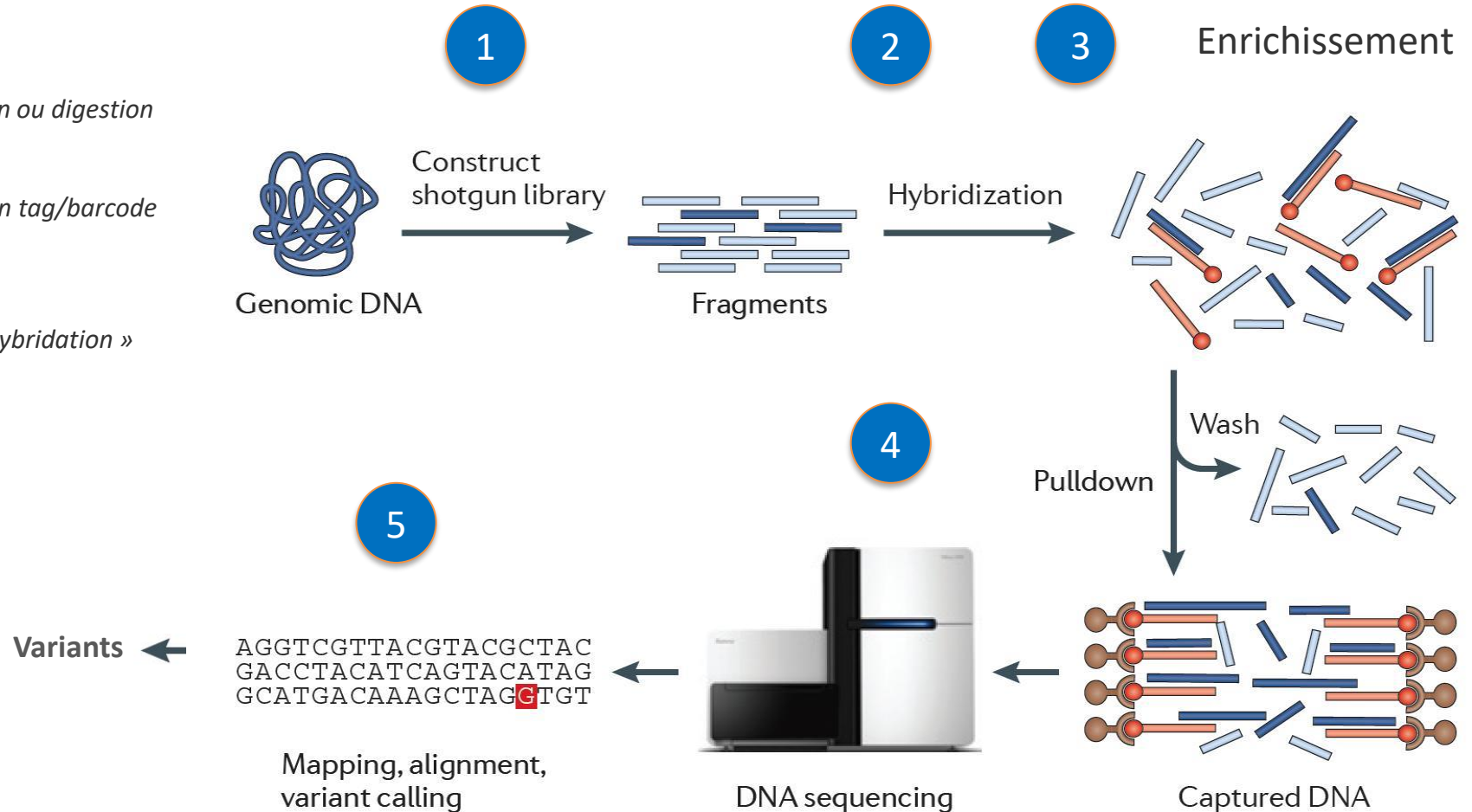
Séquençage ciblé : principe général

5 étapes principales:

- 1 **Fragmentation ADN** (*sonication ou digestion enzymatique*)
- 2 **Préparation librairie** (*ajout d'un tag/barcode pour mélange de patients*)
- 3 **Enrichissement** (*Capture par « hybridation » des gènes d'intérêts*)
- 4 **Séquençage**
- 5 **Analyse bioinformatique**

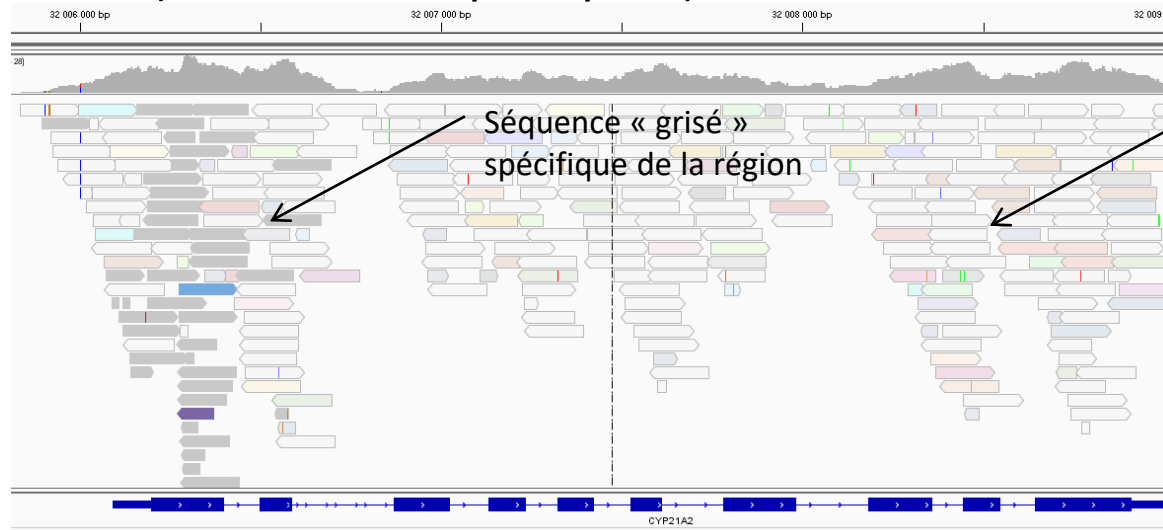
Avantages

- Qualité des données
- Optimisation du coût
- Analyse simplifiée



LIMITES : le séquençage haut débit ne permet pas de tout voir...

- **Régions répétées : pas de distinction entre différents locus**
 - Exemple locus *SMN1* +++
 - Exemple *CYP21A2* (Déficit en 21-hydroxylase)



Séquence « blanche »
sur plusieurs
locus

- **Positionnement *a posteriori* des séquences / référence du génome**
Importance voire « Dépendance » de la Bioinformatique +++

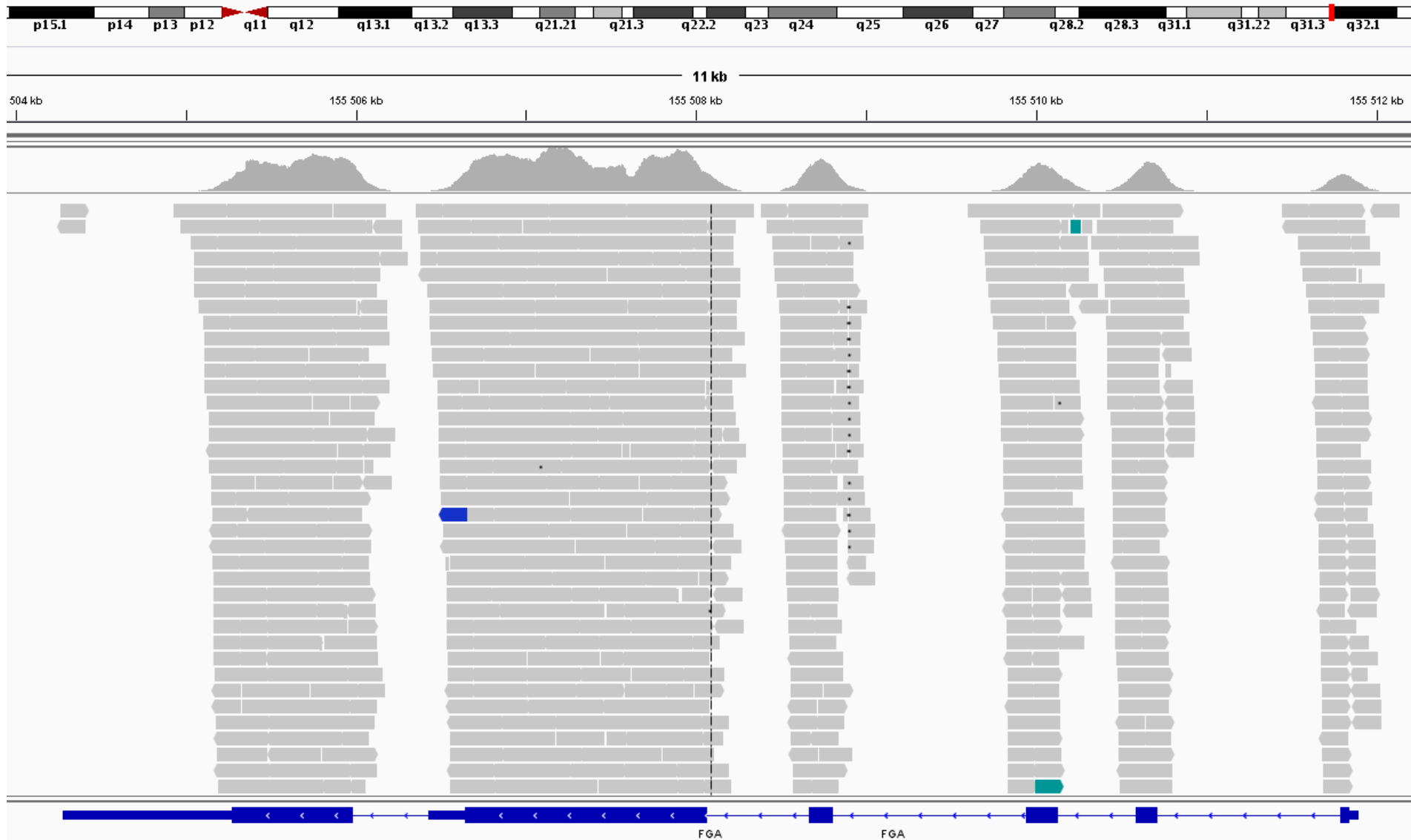
- > 100 variants par patients (panel de gènes, ciblé)
- > 10 000 variants pour un « exome entier »
- > 5 millions variants pour un « génome entier »

→ Comment interpréter ces nombreux variants ?

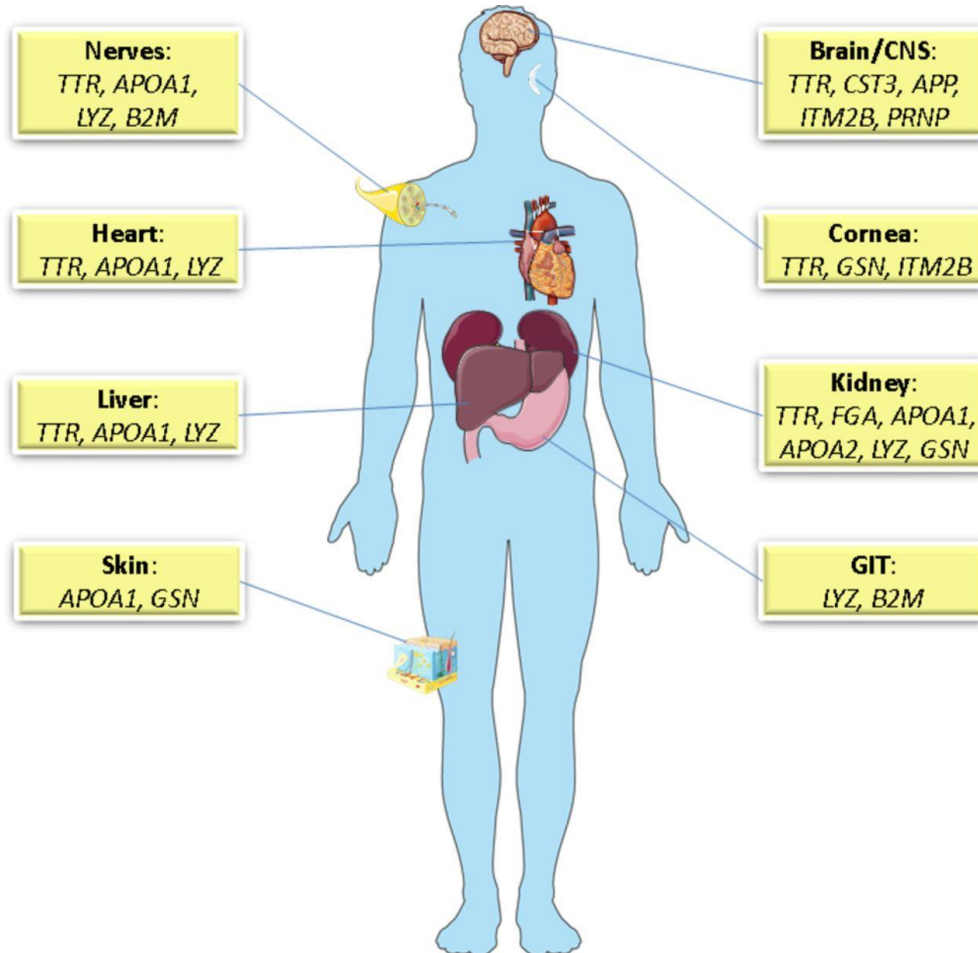
Réunions de concertations pluridisciplinaires +++
discussion : génotype versus phénotype

Classification selon ACMG 2015 en 5 classes
Fréquence dans la population générale
Littérature : mutation décrite, caractérisée, lien / phénotype...
Données de **ségrégation**, **transmission** *
Prédiction *in silico*

***Enquête familiale** : permet de reclasser des variants



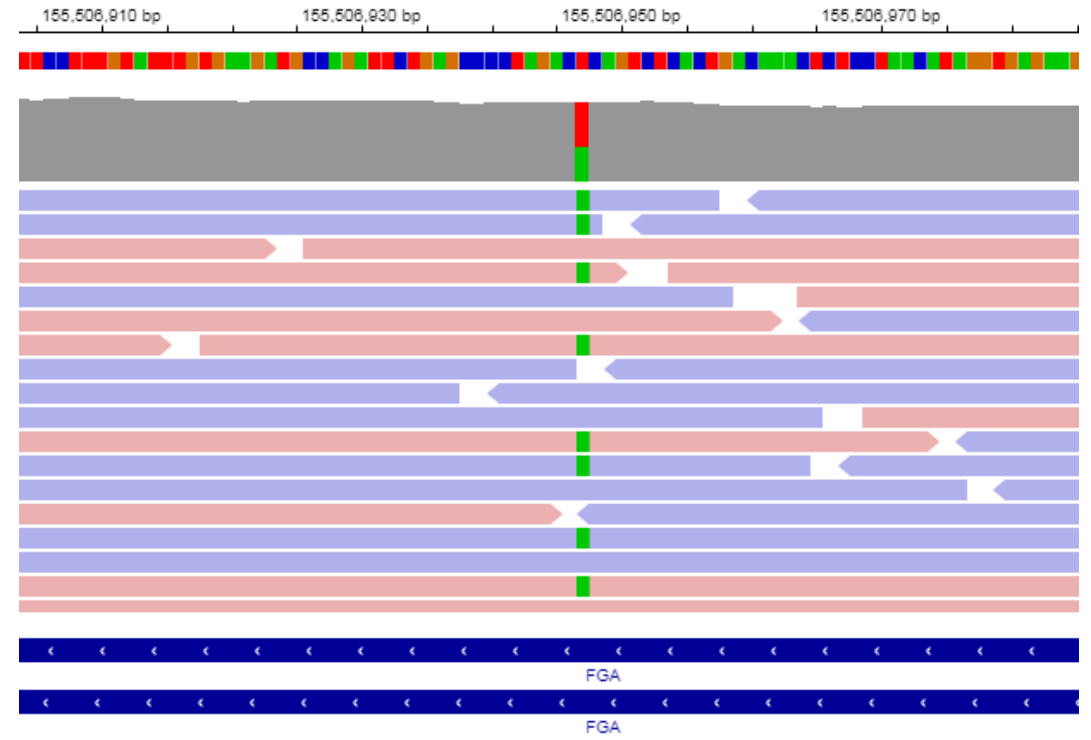
LES AMYLOSES HEREDITAIRES



- Rare : 1 / 1 000 000 incidence annuelle amylose héréditaire
- Multidisciplinaire : neurologue, cardiologue, néphrologue, gastro-entérologue...
- Approches :
 - Gène le plus fréquent
 - Séquençage en cascade
 - Séquençage simultané : **haut débit !**

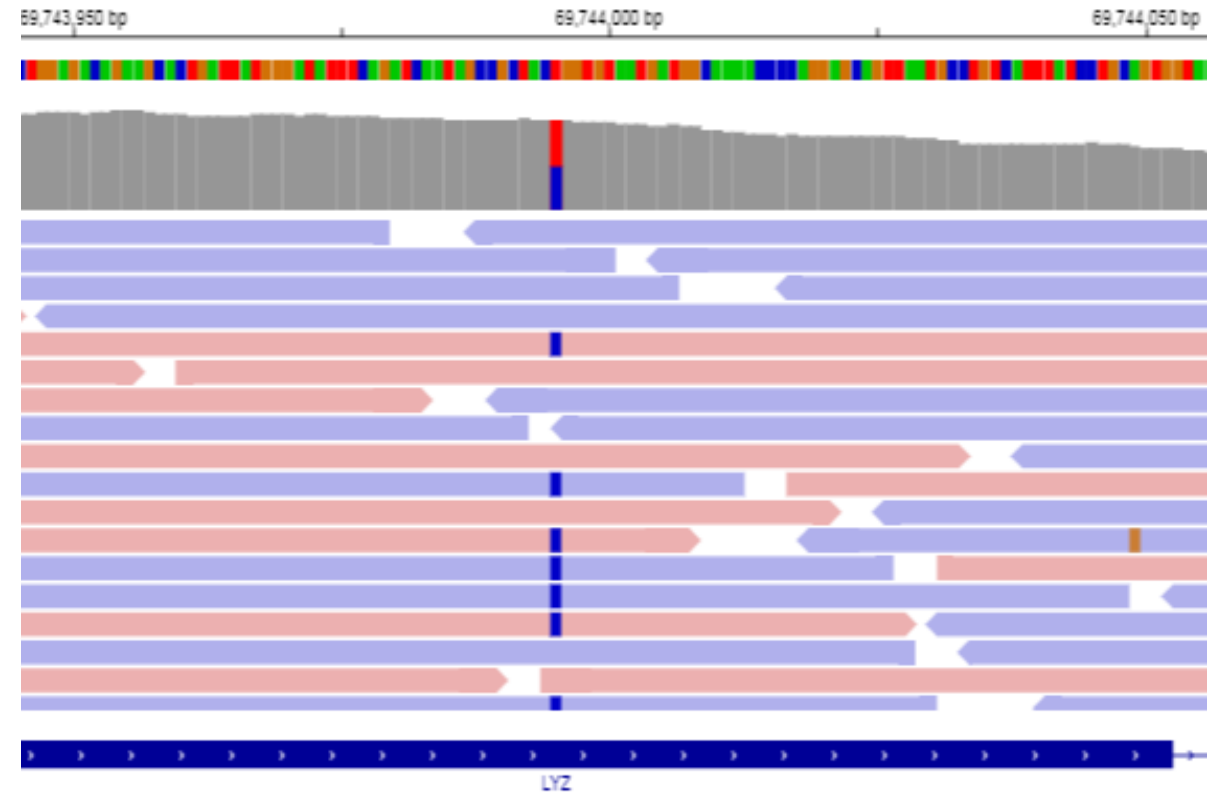
Vignette clinique 1

- Femme, 80 ans, origine portugaise
- Insuffisance rénale d'aggravation rapide, avec un virage néphrotique franc depuis quelques mois, et un antécédent familial au premier degré.
- Notion d'amylose (à TTR ?) chez son frère sans résultat génétique retrouvé
- TTR : négative
- Passage sur le panel amylose :
 - Identification du variant : c.1634A>T p.(Glu545Val) hétérozygote dans le gène FGA (NM_000508)
- Diagnostic d'amylose à fibrinogène



Vignette clinique 2

- Homme, 74 ans
- Insuffisance rénale terminale diagnostiquée à 71 ans
- PBR : amylose
- Spectrométrie en faveur du lysozyme
- Antécédents familiaux : mère dialysée, fils bien portant
- Passage sur panel amylose
 - c.244T>C p.(Trp82Arg) hétérozygote dans le gène LYZ (NM_000239)
- Confirmation du diagnostic d'amylose à lysozyme.



Remerciements



Hôpital
Bicêtre
AP-HP

GMP

Equipe technique

- Mélanie ANGELES
- Elodie DUPUIS
- Havva ERKUL
- Thomas LAMART
- Céline LEROUX
- Keerthana MURUGASAMY
- Chrislaine SAUJOT
- Odile TINMAR FOFANA

Ingénieurs

- Lilia LADDADA
- Alexis PROUST

Bioinformatique

- Kenneth CHAPPELL

Biologistes

- Dr Abd El Kader AIT TAÏEB
- Caroline BERTHOT
- Pr Jérôme BOULIGAND
- Dr Clara LAFFITTE REDONDO
- Dr Maureen LOPEZ
- Dr Lucie TOSCA
- Pr Céline VERSUYFT

Assistantes Médico-Administratives

- Dalila KOUCHA
- Françoise PEIGNE

Cadre de santé

- Amandine ROUXEL

**MERCI POUR VOTRE
ATTENTION !**