Caractérisation d'anomalies complexes par cartographie optique du génome de patients atteints de troubles du neurodéveloppement et syndrome malformatif

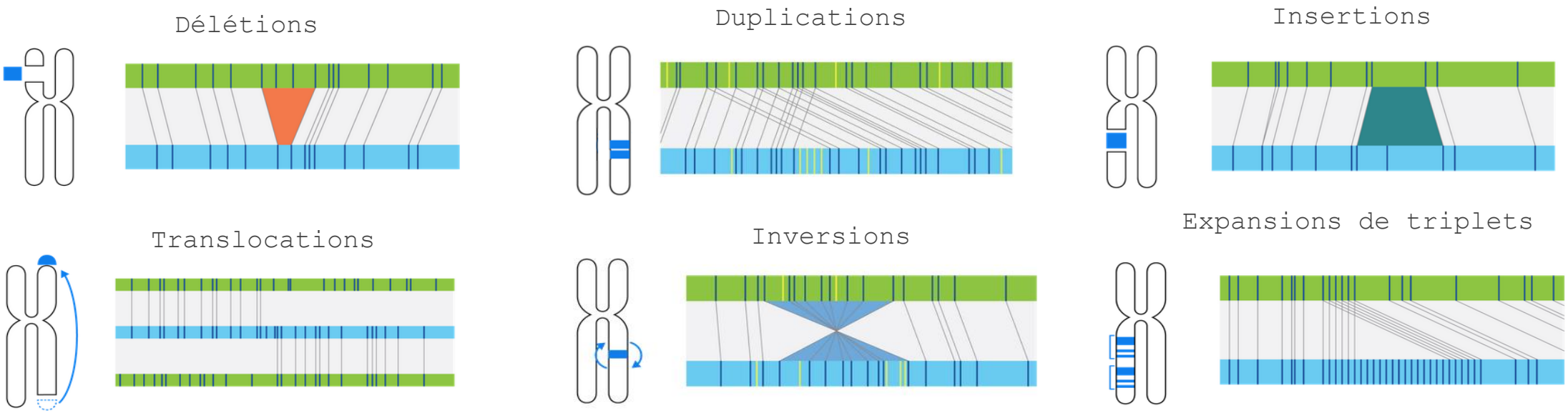
Jade Bailly-Checri (M1)

Dr Jonathan Levy

Service du Pr Anne-Claude Tabet

PRINCIPE

- Cartographie optique complète du génome à plus large échelle
- Image de très longues molécules d'ADN simple brin (>250 kb jusqu'à 2 Mb) marquées sur des sites de restriction
- Résolution plus importante que l'ACPA : identification de CNV
- Identification d'anomalie de structure : équilibrées ou déséquilibrées



PATIENT 1

Indication :
Dysplasie choriorétinienne, déficience intellectuelle, suspicion de maladie de Norrie

HPO

Orphanet

Norrie disease [ORPHA:649]

Narrow nasal bridge [HP:0000446] Deeply set eye [HP:0000490] Chorioretinal abnormality [HP:0000532] Corneal opacity [HP:0007957]

Abnormality of the retinal vasculature [HP:0008046]

HPO

0007731
Chorioretinal dysplasia

0001249
Intellectual disability

Variants perte de fonction de type SNV du gène NDP

NORRIE DISEASE; ND

Alternative titles; symbols

ATROPHIA BULBORUM HEREDITARIA
EPISKOPI BLINDNESS

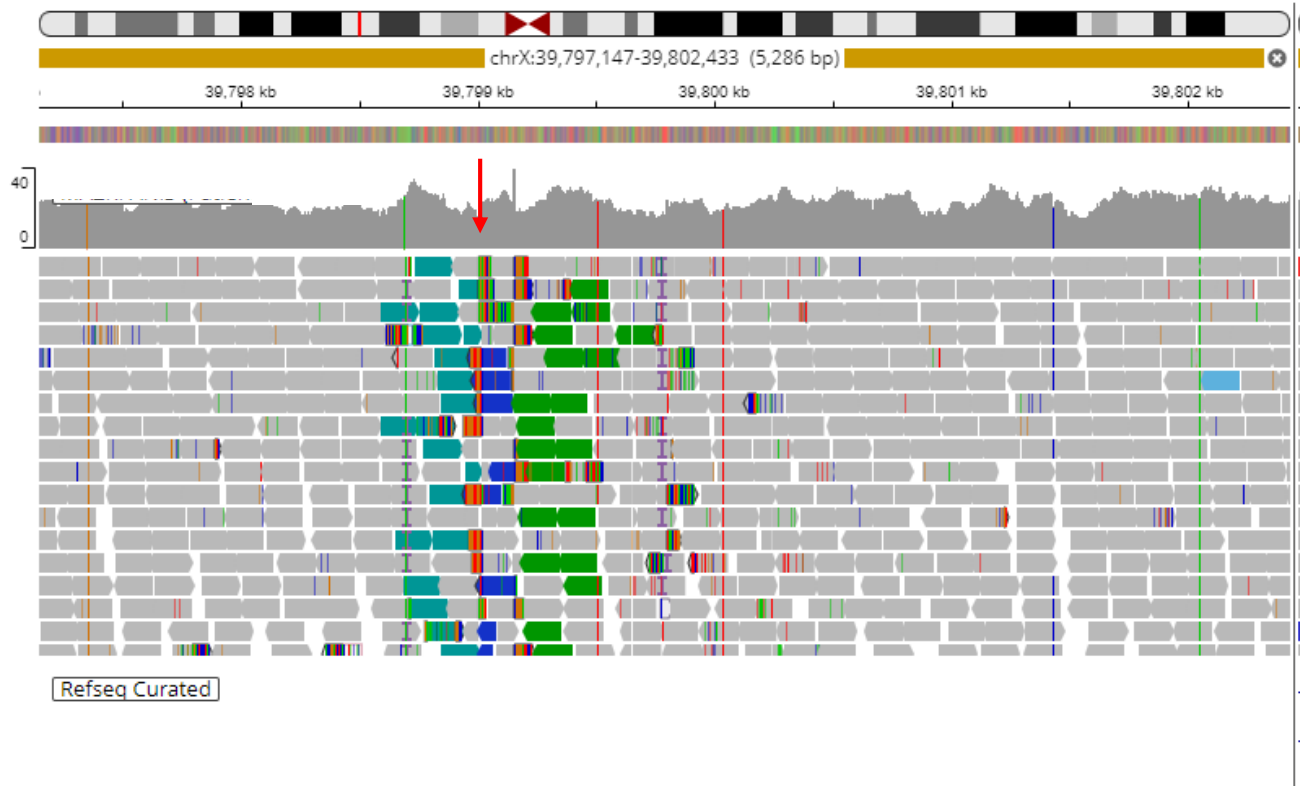
Phenotype-Gene Relationships

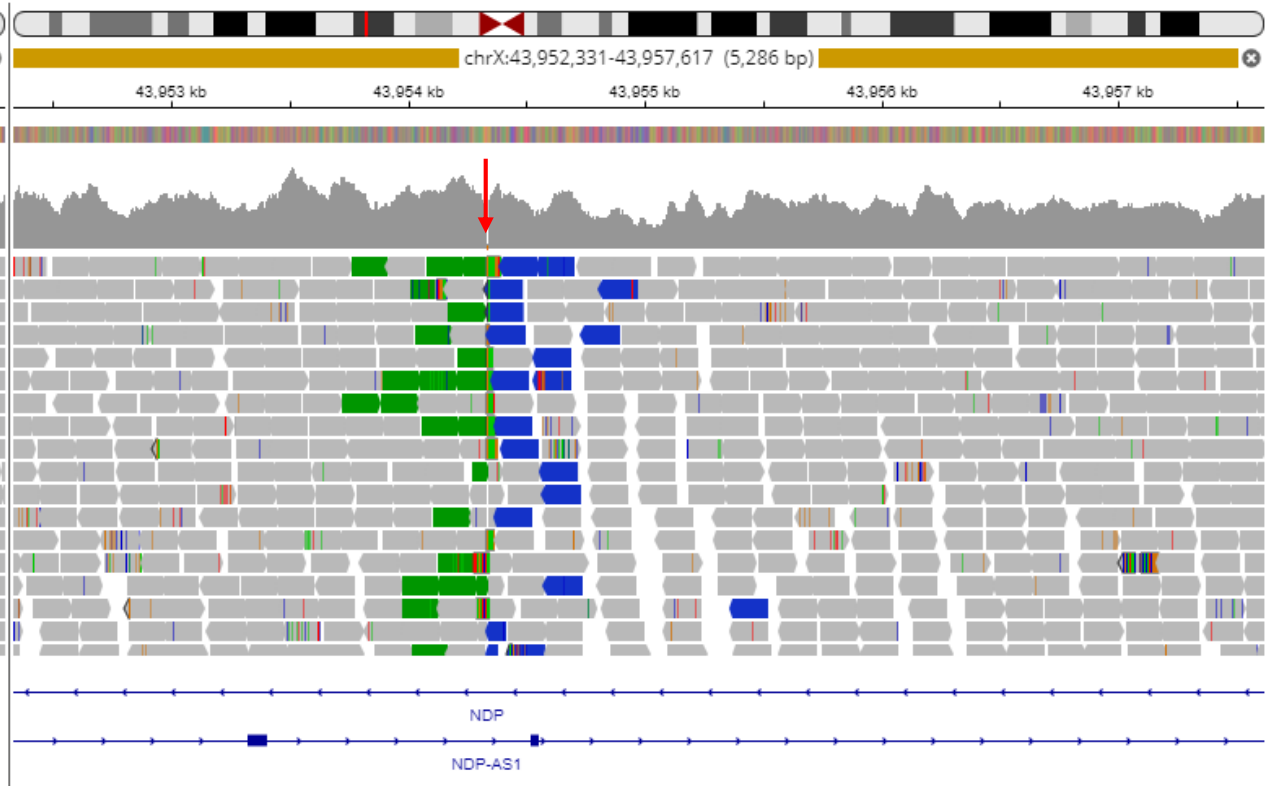
Location	Phenotype	Phenotype MIM number	Inheritance	Phenotype mapping key	Gene/Locus	Gene/Locus MIM number
Xp11.3	Norrie disease	310600	XLR	3	NDP	300658

Résultats ACPA normaux :

arr (X,Y)x1,(1-22)x2

GENOME SEQOIA

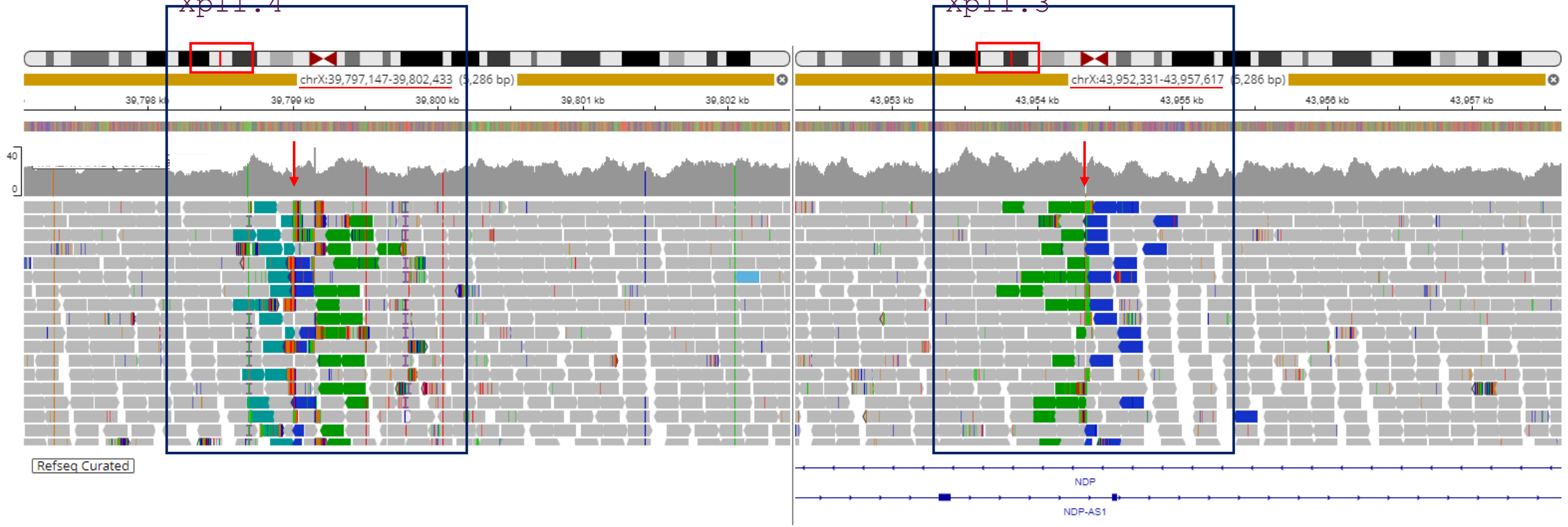




GENOME SEQOIA

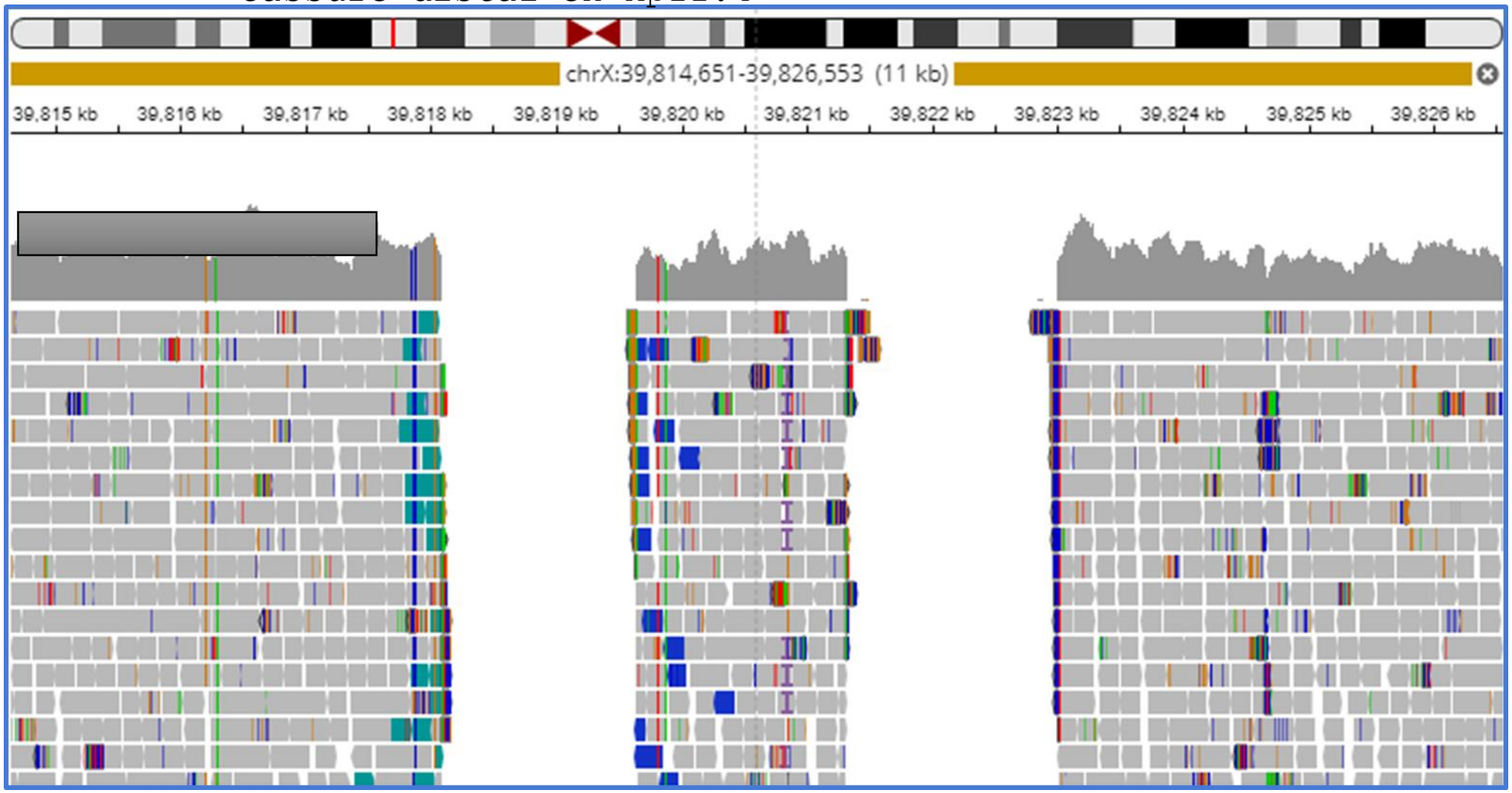
Distal :
Xp11.4

Proximal :
Xp11.3



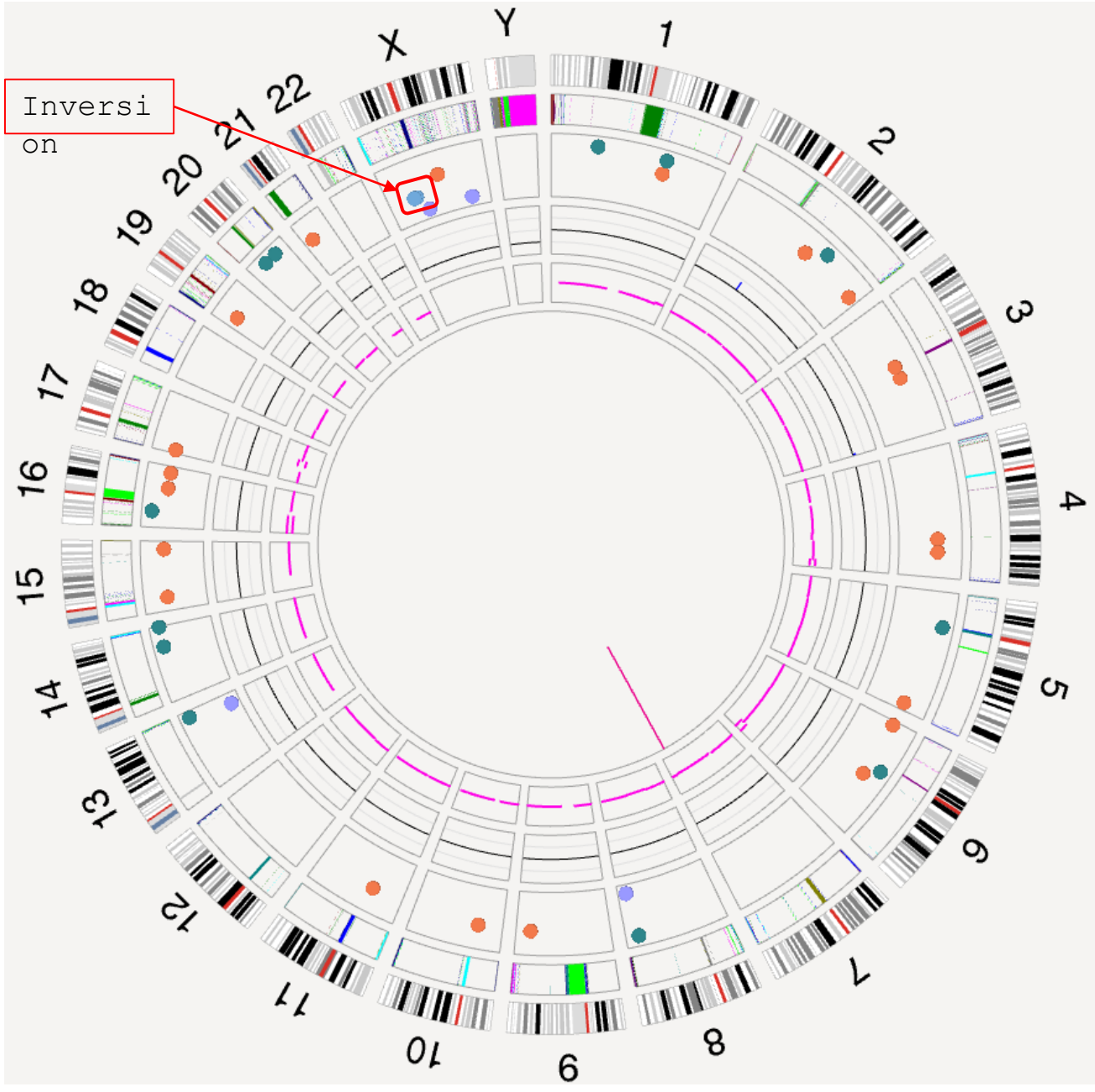
Inversion chromosomique *de novo* paracentrique du chrX

Plusieurs délétions hémizygotes au point de cassure distal en Xp11.4



Confirmation par OGM compte tenu de la taille de l'inversion

CONFIRMATION BIONANO



Summary | Filters | Features

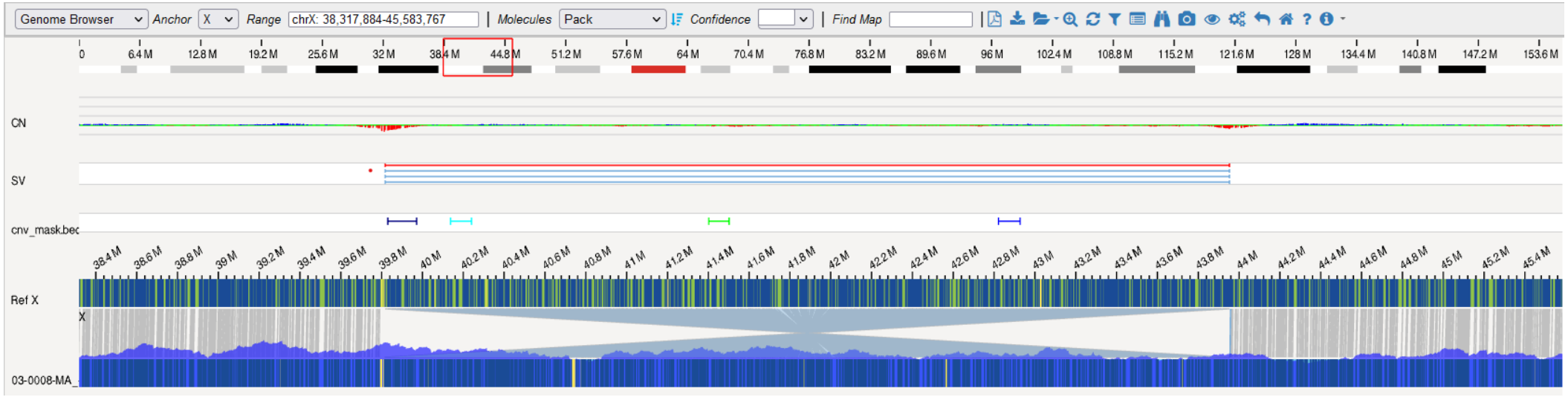
Name: 03-0008-MA_-_De_novo_mol_filter_pipeline_results_2
Sample: 03-0008-MA
Operation: Import Annotated de Novo Assembly
Reference: hg38_DLE1_0kb_0labels.cmap
Job ID: 5643

Category	Count
Insertion	12
Deletion	23
Inversion	4
Duplication	6
Intra-Fusion	1
Inter-Translocation	0
AOH/LOH Region	0
CNV Gain Segment	2
CNV Loss Segment	0
Aneuploidy Gain	0
Aneuploidy Loss	0

Circos Tracks (start from outer rings)

cnv_mask.bed Feature
SV track
CNV track
VAF segments
Translocations

CONFIRMATION BIONANO



CONFIRMATION BIONANO

Zone sélectionnée du chromosome p11.4 p11.3

Inversions détectées par Bionano

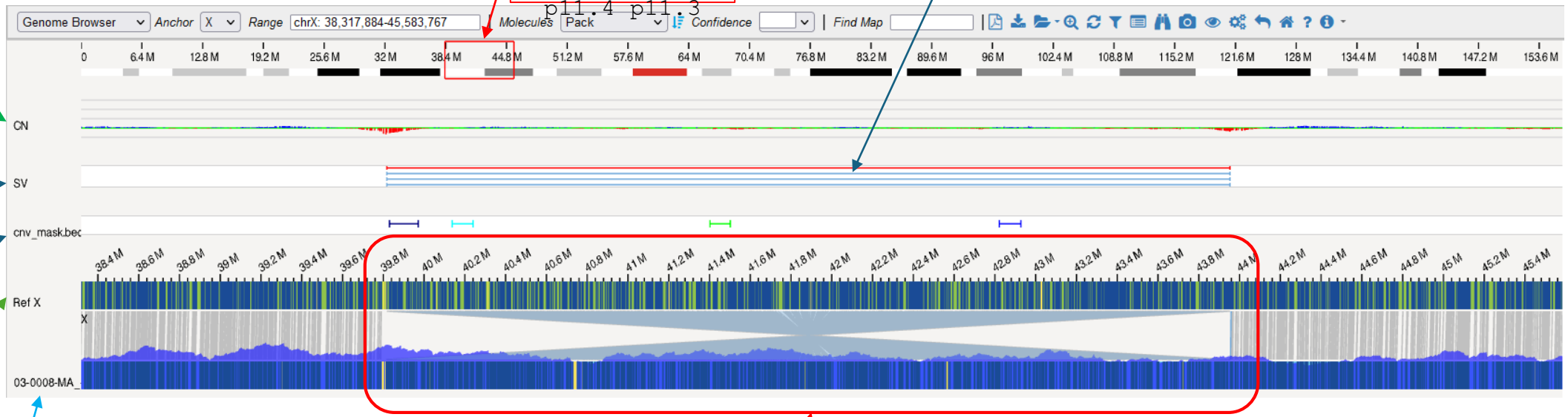
Piste des CNV

Piste des SV

Zones d'incertitude

Génome de référence

Une des cartes optiques du patient



Inversion paracentrique

CONFIRMATION BIONANO

Zone sélectionnée du chromosome p11.4 p11.3

Inversions détectées par Bionano

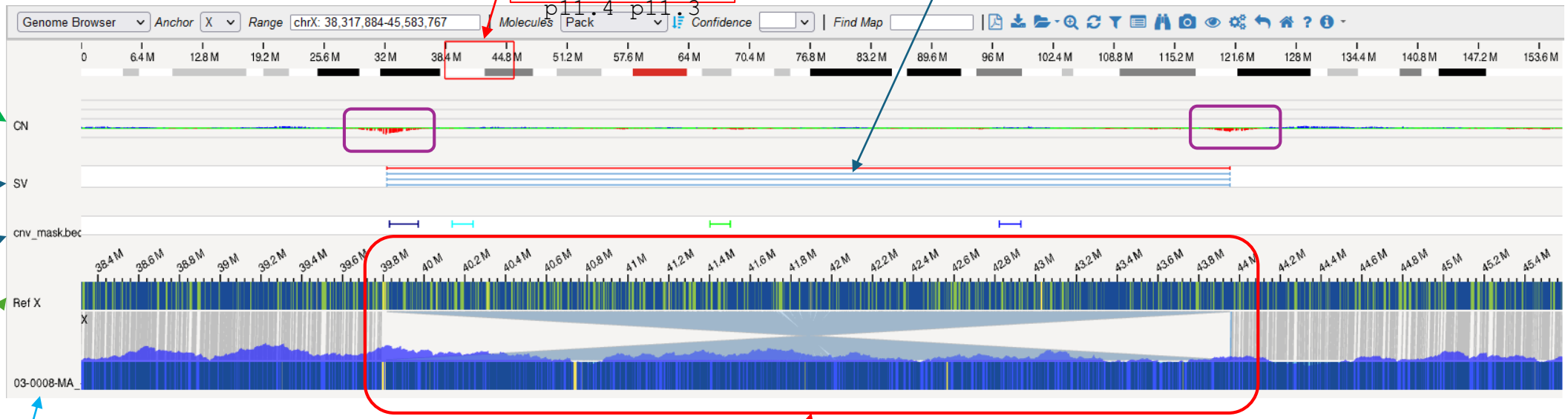
Piste des CNV

Piste des SV

Zones d'incertitude

Génome de référence

Une des cartes optiques du patient



Inversion paracentrique

CONFIRMATION BIONANO

Zone sélectionnée du chromosome p11.4 p11.3

Inversions détectées par Bionano

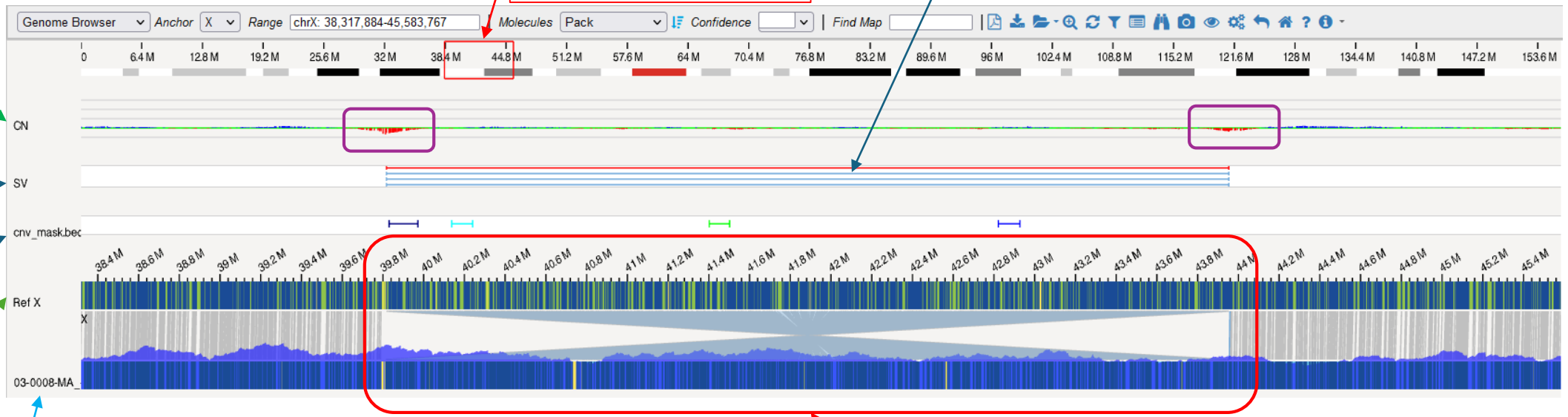
Piste des CNV

Piste des SV

Zones d'incertitude

Génome de référence

Une des cartes optiques du patient



Inversion paracentrique

Interruption de *NDP*

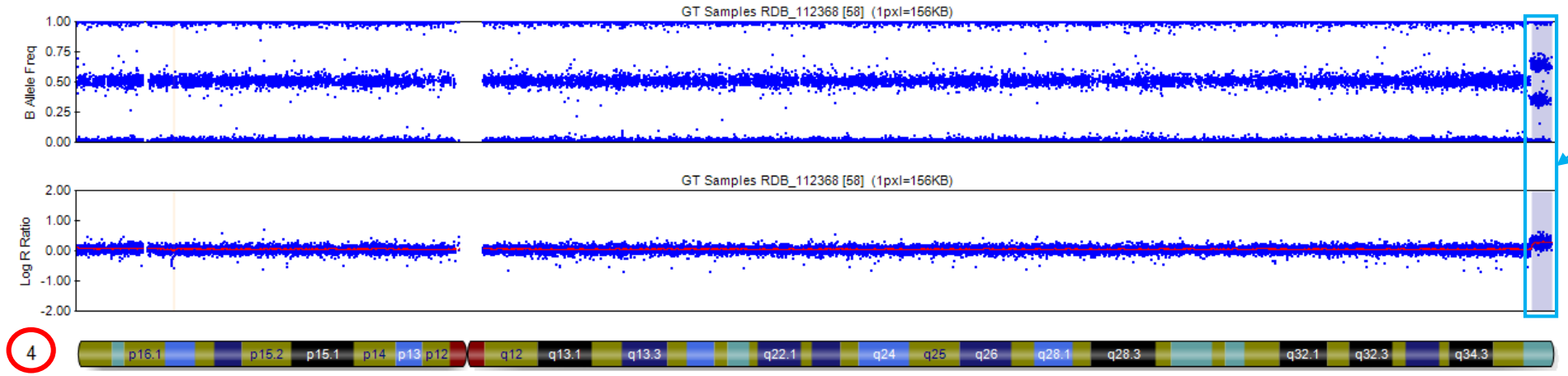
Conclusion Cas n°1

- Trois anomalies de structures décrites dans la littérature (1995-1998) impliquant NDP : deux translocations X autosome et une inversion péricentrique, toutes caractérisées par caryotype uniquement
- Premier cas d'inversion paracentrique interrompant *NDP* caractérisé au niveau génomique par deux approches différentes : srWGS et OGM
- Dans le cas d'une maladie de Norrie ou d'une dysplasie rétinienne, si l'approche ciblée est négative (panel / exome), une des deux techniques est recommandée pour identifier un remaniement de structure

PATIENT 2

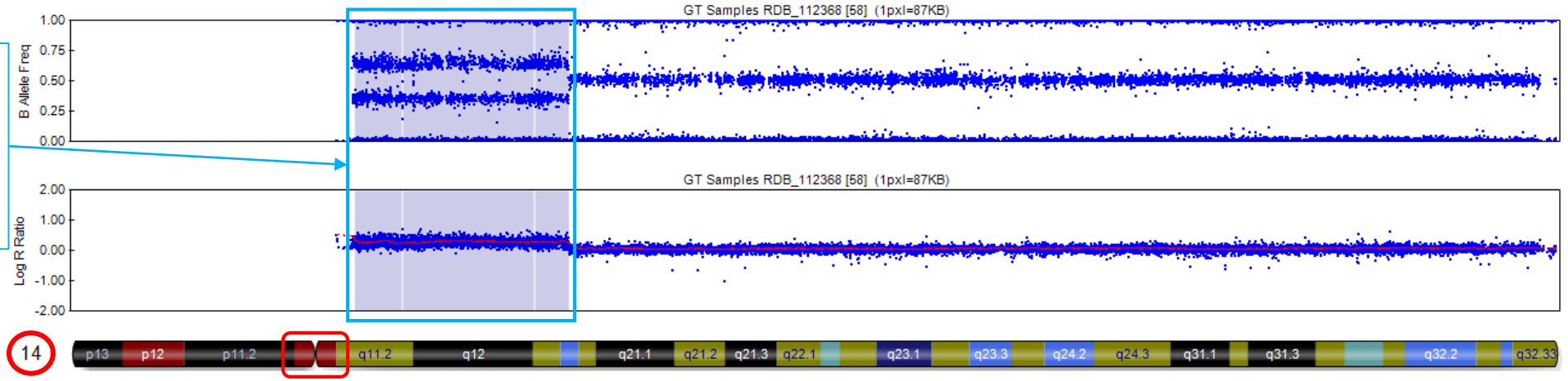
Indication :
TND sévère, RPM et notion de marqueur surnuméraire (14 ou 22 ?)

de novo



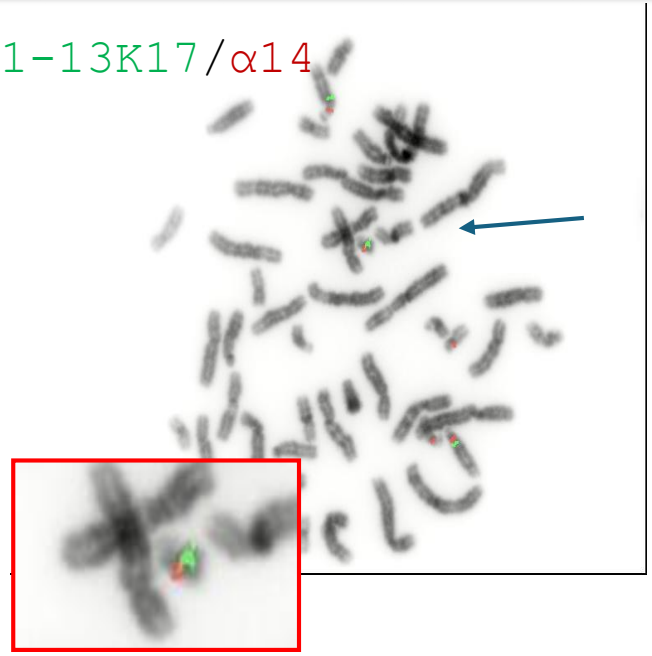
Dup terminale
4q35.2
≈ 2.7 Mb
VOUS

Dup proximale
14q11.2q13.2
≈ 15.6 Mb
Pathogène

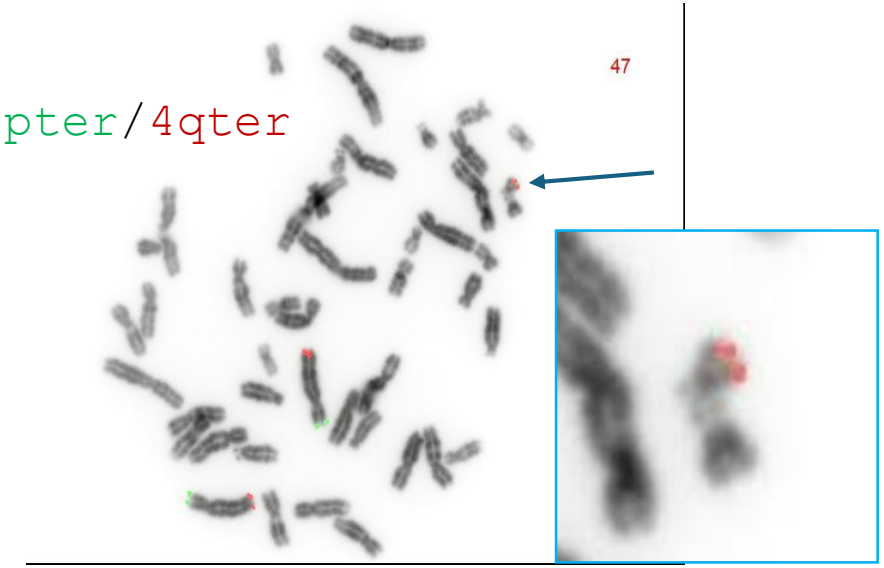


FISH

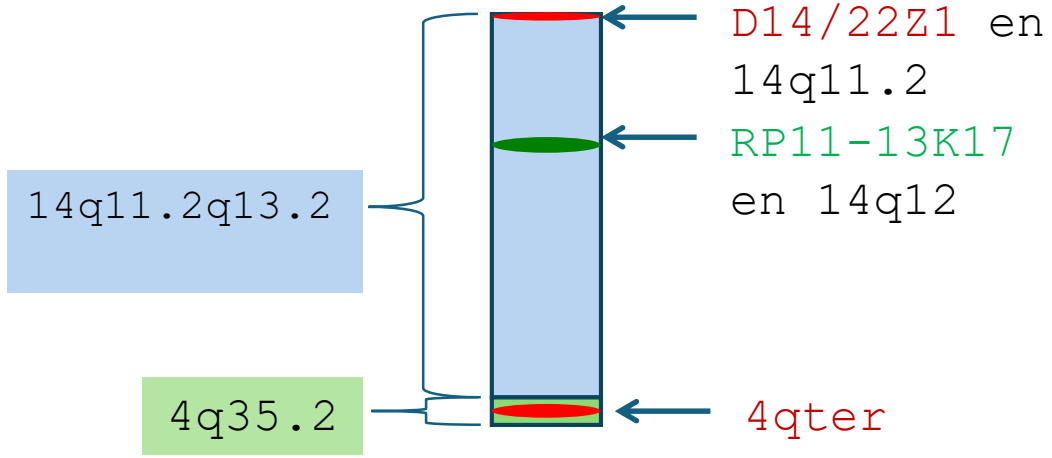
RP11-13K17/α14



4pter/4qter

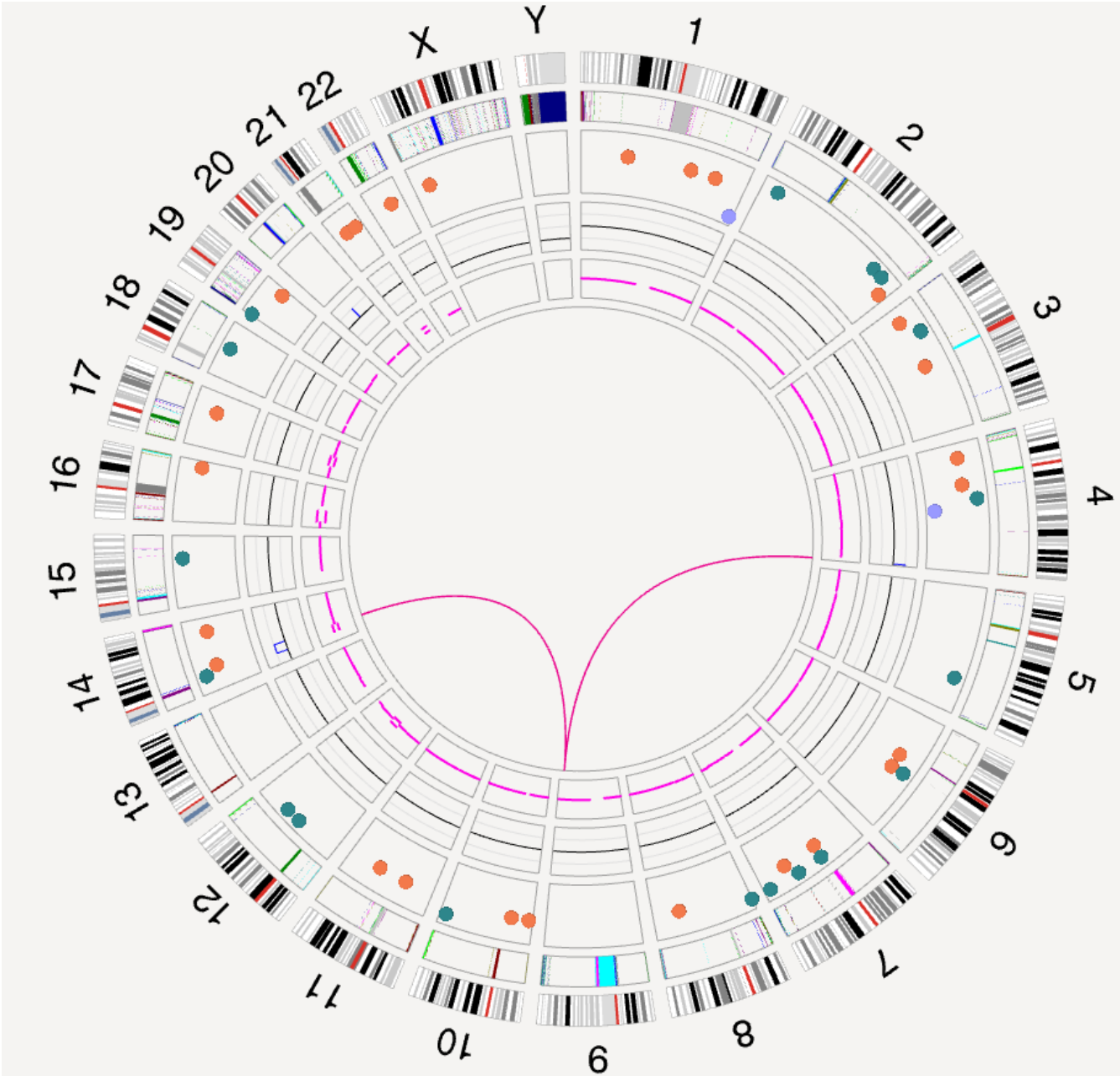


Chromosome surnuméraire avec matériel chromosomique du 14 et du 4



Marqueur surnuméraire du chromosome 14

CONFIRMATION PAR BIONANO



Summary | Filters | Features

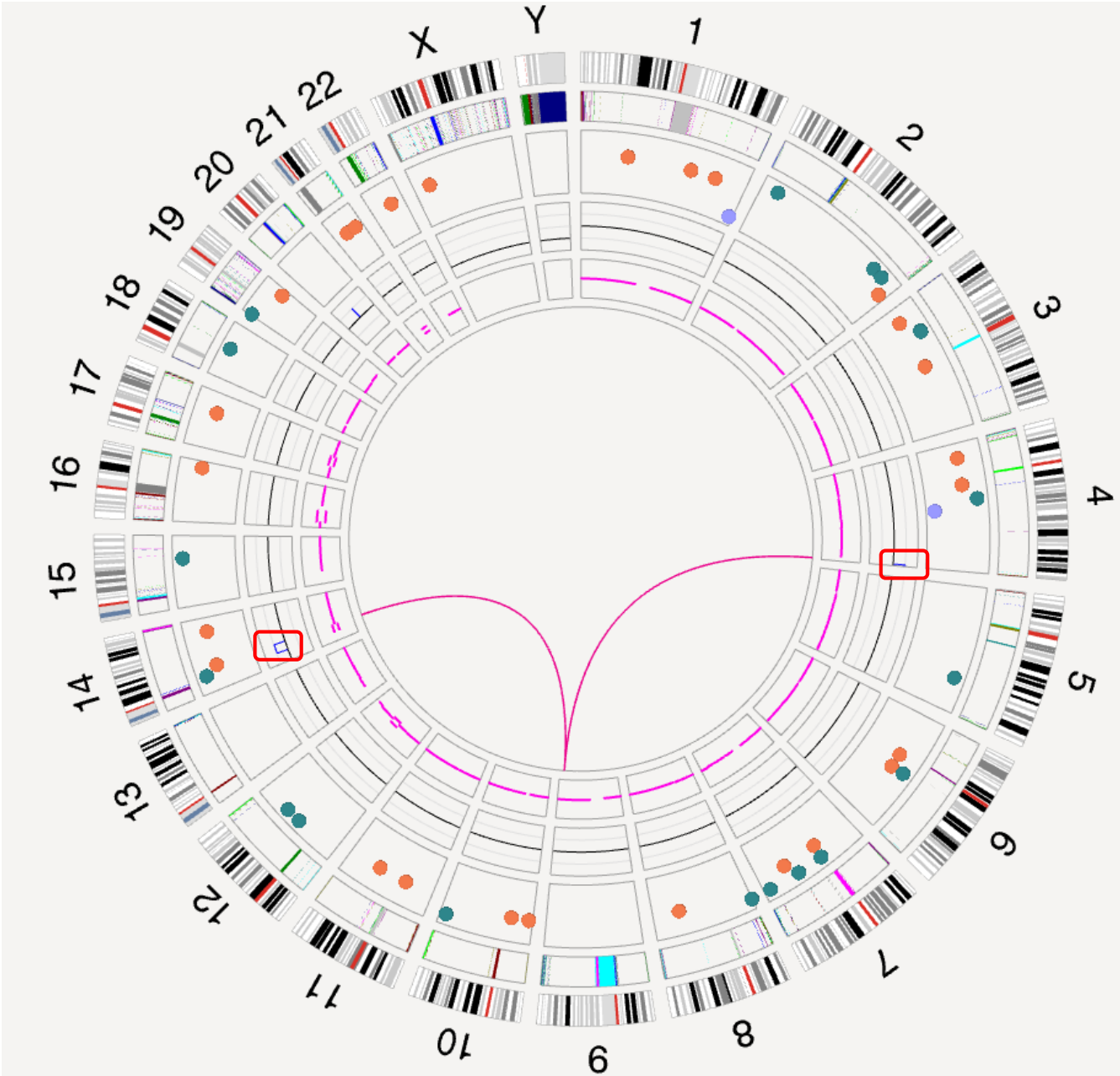
Name: 03-0002-GI_-_De_novo_scan2_pipeline_results-2
Sample: 03-0002-GI
Operation: Import Annotated de Novo Assembly
Reference: hg38_DLE1_0kb_0labels.cmap
Job ID: 5641

Category	Count
Insertion	19
Deletion	28
Inversion	0
Duplication	2
Intra-Fusion	0
Inter-Translocation	2
AOH/LOH Region	0
CNV Gain Segment	3
CNV Loss Segment	0
Aneuploidy Gain	0
Aneuploidy Loss	0

Circos Tracks (start from outer rings)

cnv_mask.bed Feature
SV track
CNV track
VAF segments
Translocations

CONFIRMATION PAR BIONANO



Summary | Filters | Features

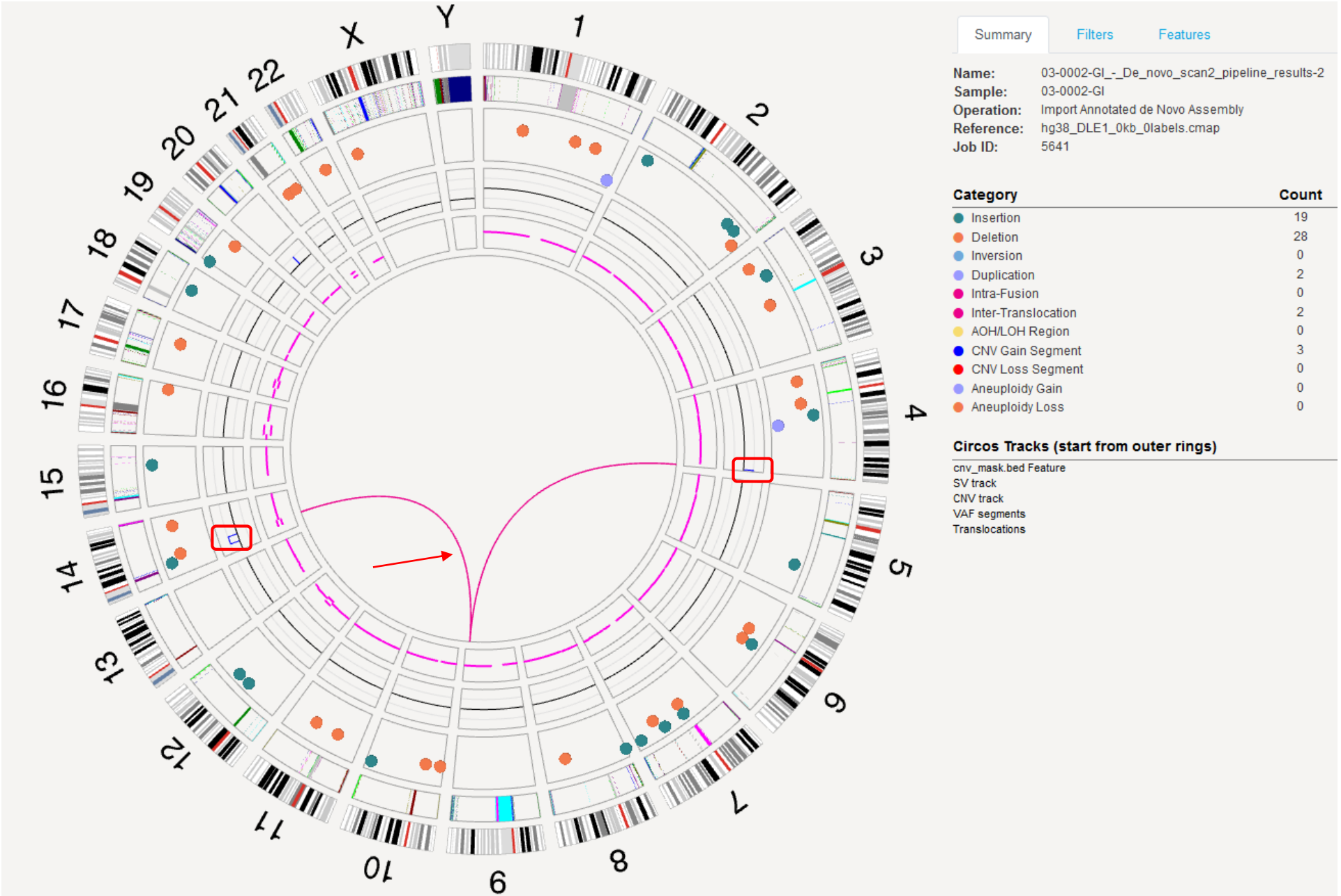
Name:	03-0002-GI_-_De_novo_scan2_pipeline_results-2
Sample:	03-0002-GI
Operation:	Import Annotated de Novo Assembly
Reference:	hg38_DLE1_0kb_0labels.cmap
Job ID:	5641

Category	Count
Insertion	19
Deletion	28
Inversion	0
Duplication	2
Intra-Fusion	0
Inter-Translocation	2
AOH/LOH Region	0
CNV Gain Segment	3
CNV Loss Segment	0
Aneuploidy Gain	0
Aneuploidy Loss	0

Circos Tracks (start from outer rings)

cnv_mask.bed Feature
SV track
CNV track
VAF segments
Translocations

CONFIRMATION PAR BIONANO



Summary | Filters | Features

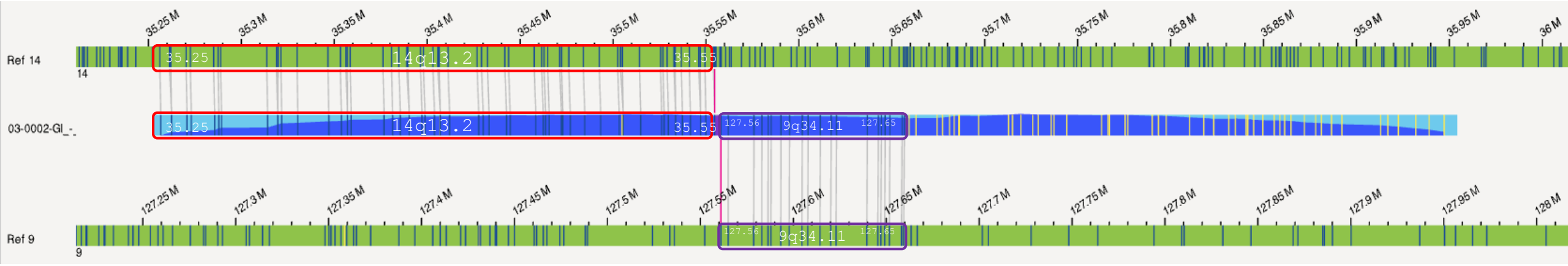
Name: 03-0002-GI_-_De_novo_scan2_pipeline_results-2
Sample: 03-0002-GI
Operation: Import Annotated de Novo Assembly
Reference: hg38_DLE1_0kb_0labels.cmap
Job ID: 5641

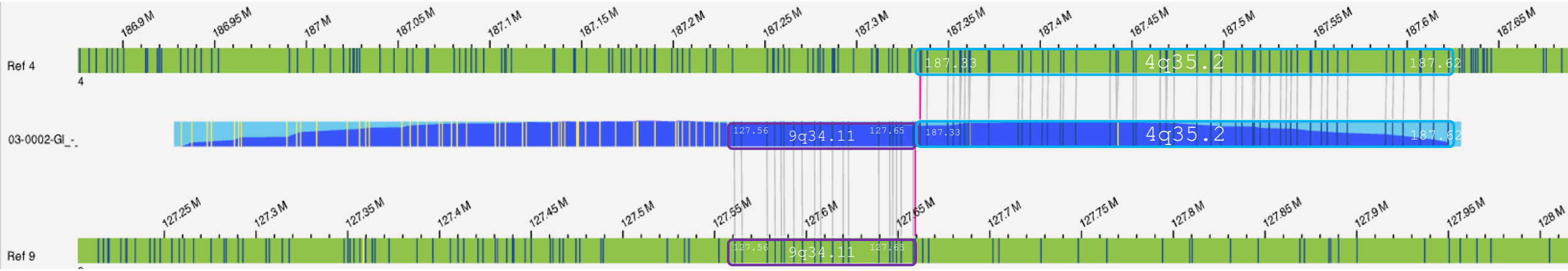
Category	Count
Insertion	19
Deletion	28
Inversion	0
Duplication	2
Intra-Fusion	0
Inter-Translocation	2
AOH/LOH Region	0
CNV Gain Segment	3
CNV Loss Segment	0
Aneuploidy Gain	0
Aneuploidy Loss	0

Circos Tracks (start from outer rings)

cnv_mask.bed Feature
SV track
CNV track
VAF segments
Translocations

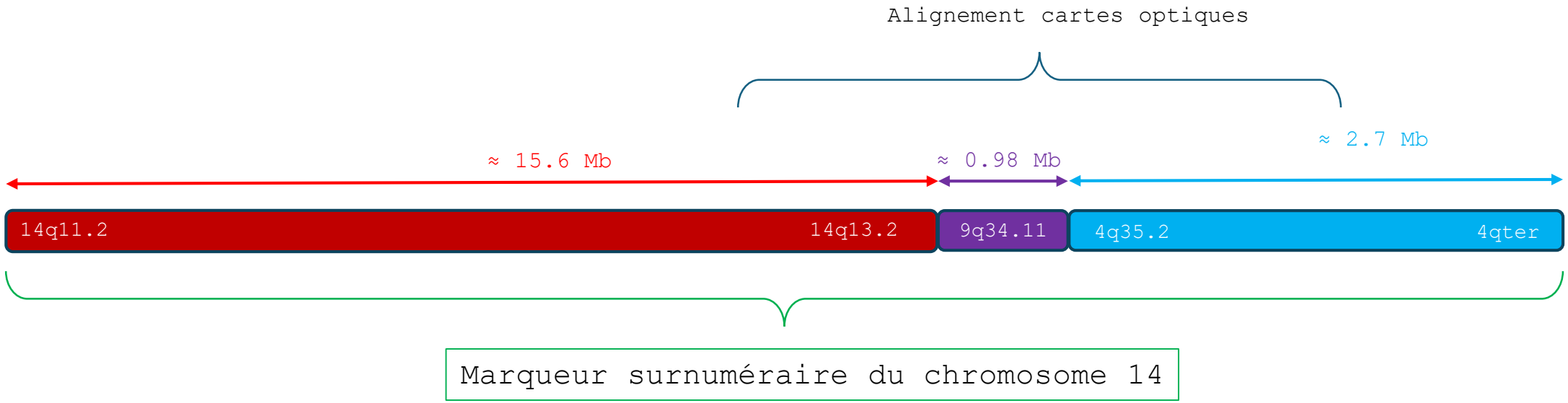
CONFIRMATION PAR BIONANO





Conclusion n°2

- Caractérisation plus fine d'un marqueur chromosomique surnuméraire, initialement non exploré
- Nécessité du caryotype + FISH pour confirmer l'existence d'un marqueur surnuméraire

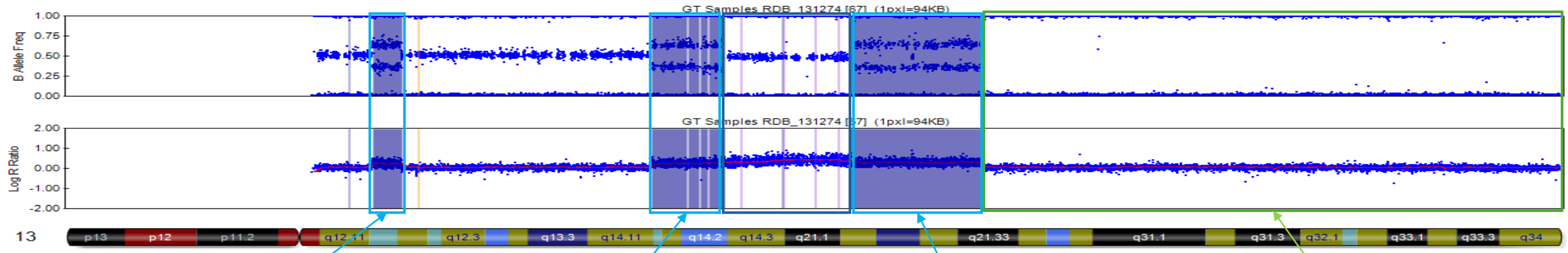


PATIENT 3

Indication :
Microcéphalie

Triplication
13q14.2q21.2
≈ 9.5 Mb
Pathogène

Toutes de novo



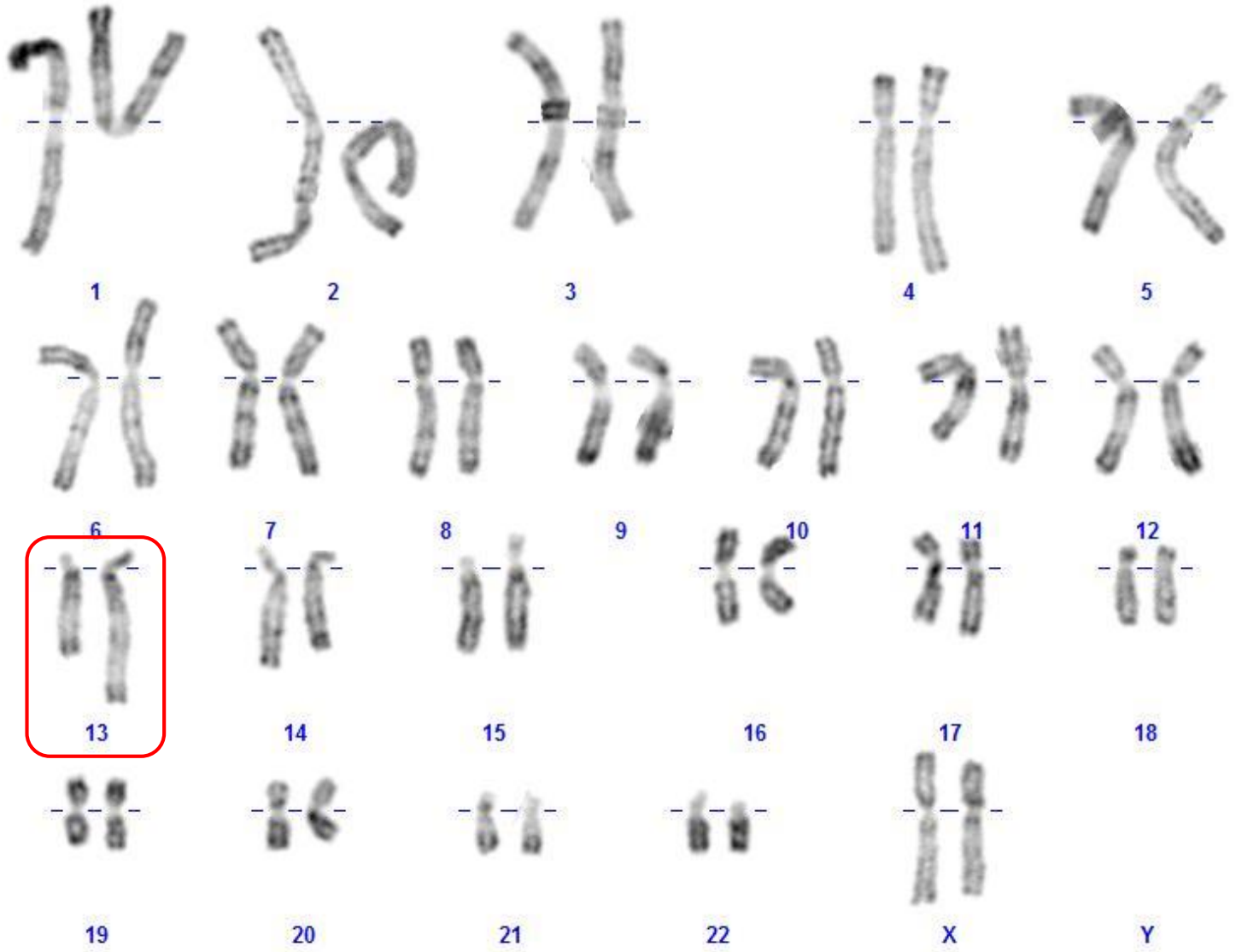
Dup
13q12.12q12.13
≈ 2.3 Mb
Pathogène

Dup 13q14.11q14.2
≈ 5.6 Mb
Pathogène

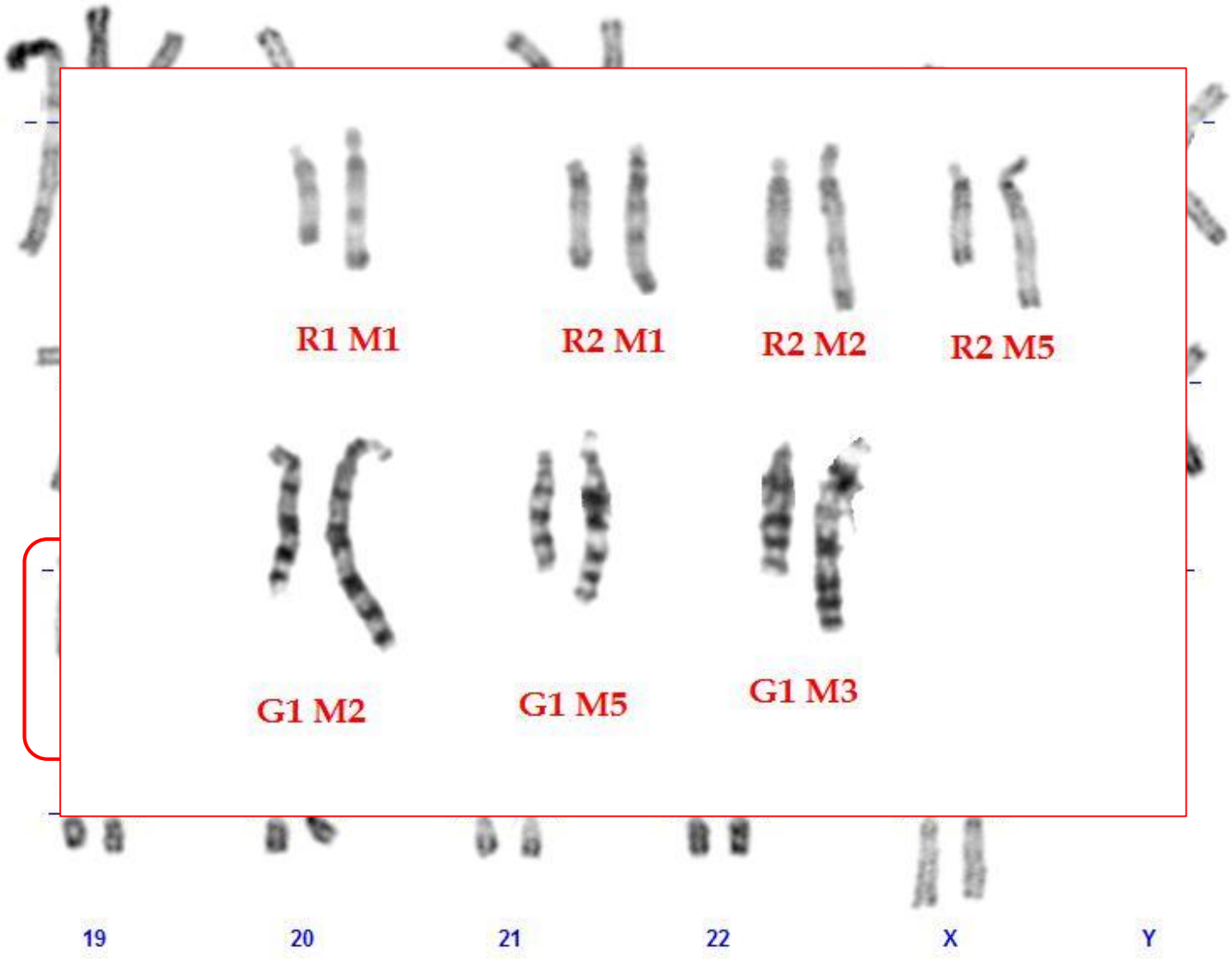
Dup 13q21.2q21.33
≈ 10.3 Mb
Pathogène

Région d'homozygotie terminale (ROH)
13q21.33q34
≈ 44 Mb
Pathogène

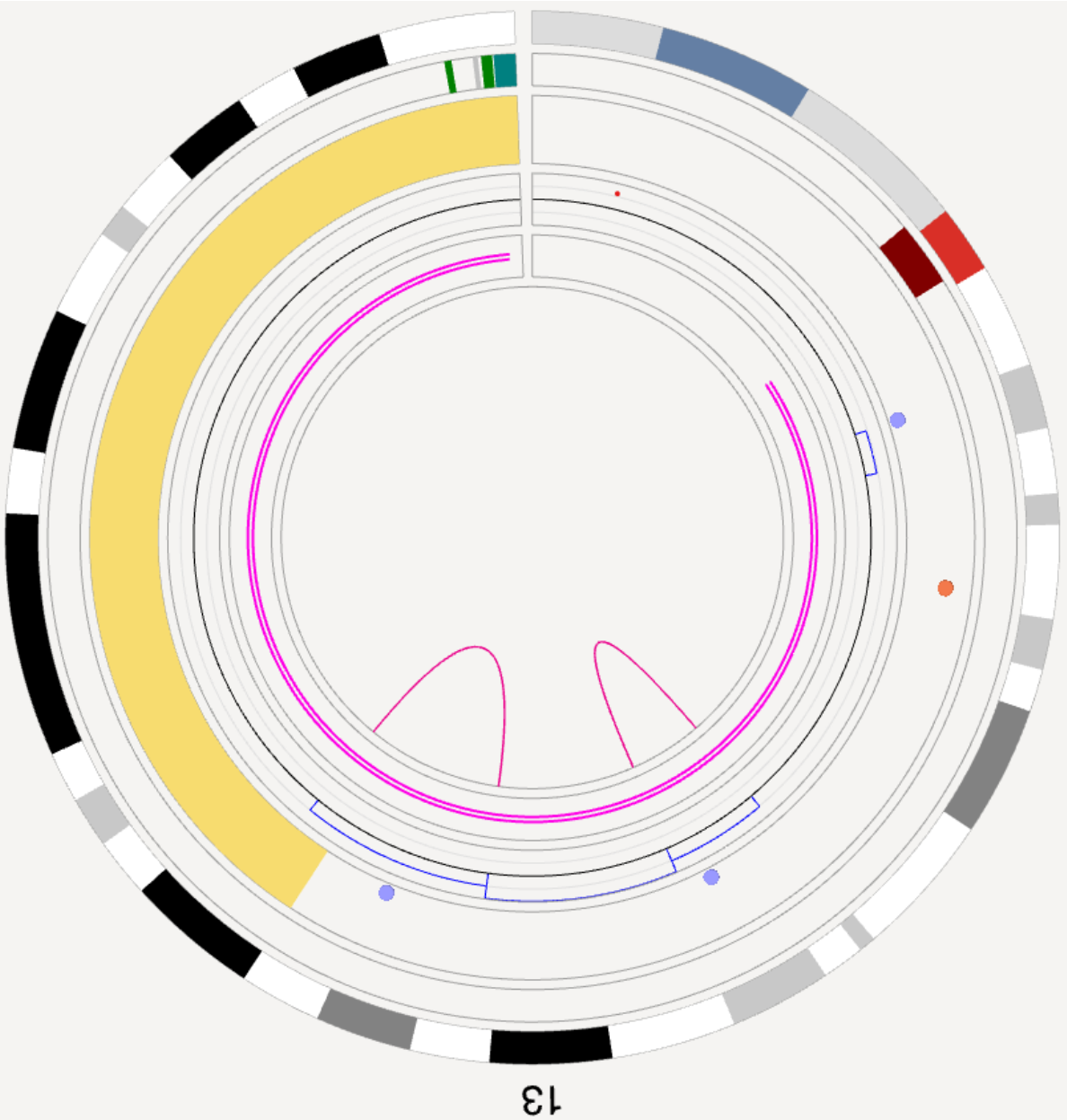
CARYOTYPE



CARYOTYPE : remaniement intrachromosomique



CONFIRMATION PAR BIONANO



Summary | Filters | Features

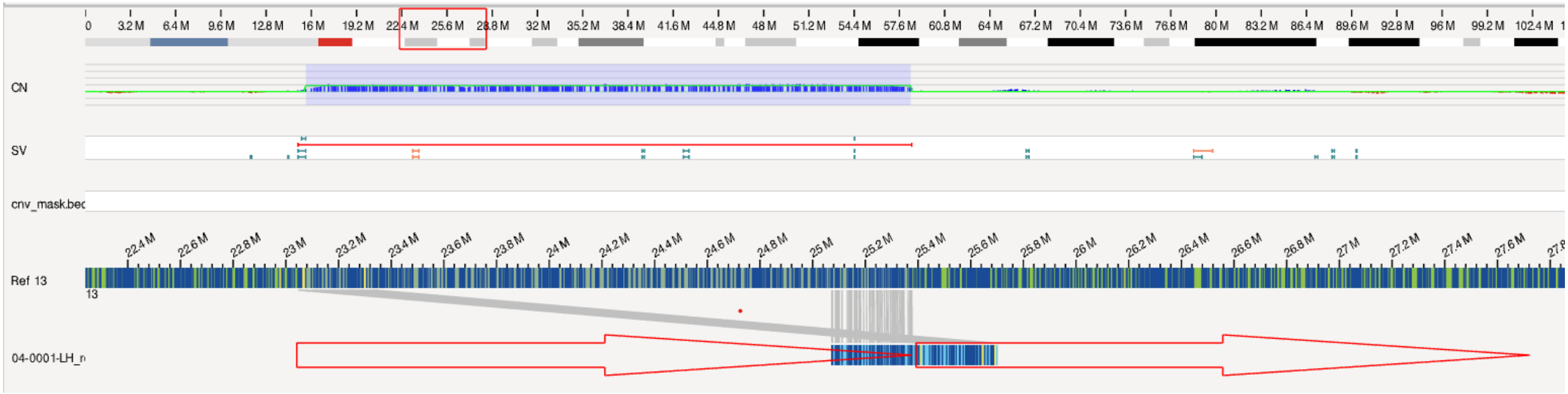
Name: 04-0001-LH_reupload_-_De_novo_pipeline_results_2
Sample: 04-0001-LH
Operation: Import Annotated de Novo Assembly
Reference: hg38_DLE1_0kb_0labels.cmap
Job ID: 5644

Category	Count
Insertion	0
Deletion	1
Inversion	0
Duplication	3
Intra-Fusion	4
Inter-Translocation	0
AOH/LOH Region	2
CNV Gain Segment	4
CNV Loss Segment	0
Aneuploidy Gain	0
Aneuploidy Loss	0

Circos Tracks (start from outer rings)

cnv_mask.bed Feature
SV track
CNV track
VAF segments
Translocations

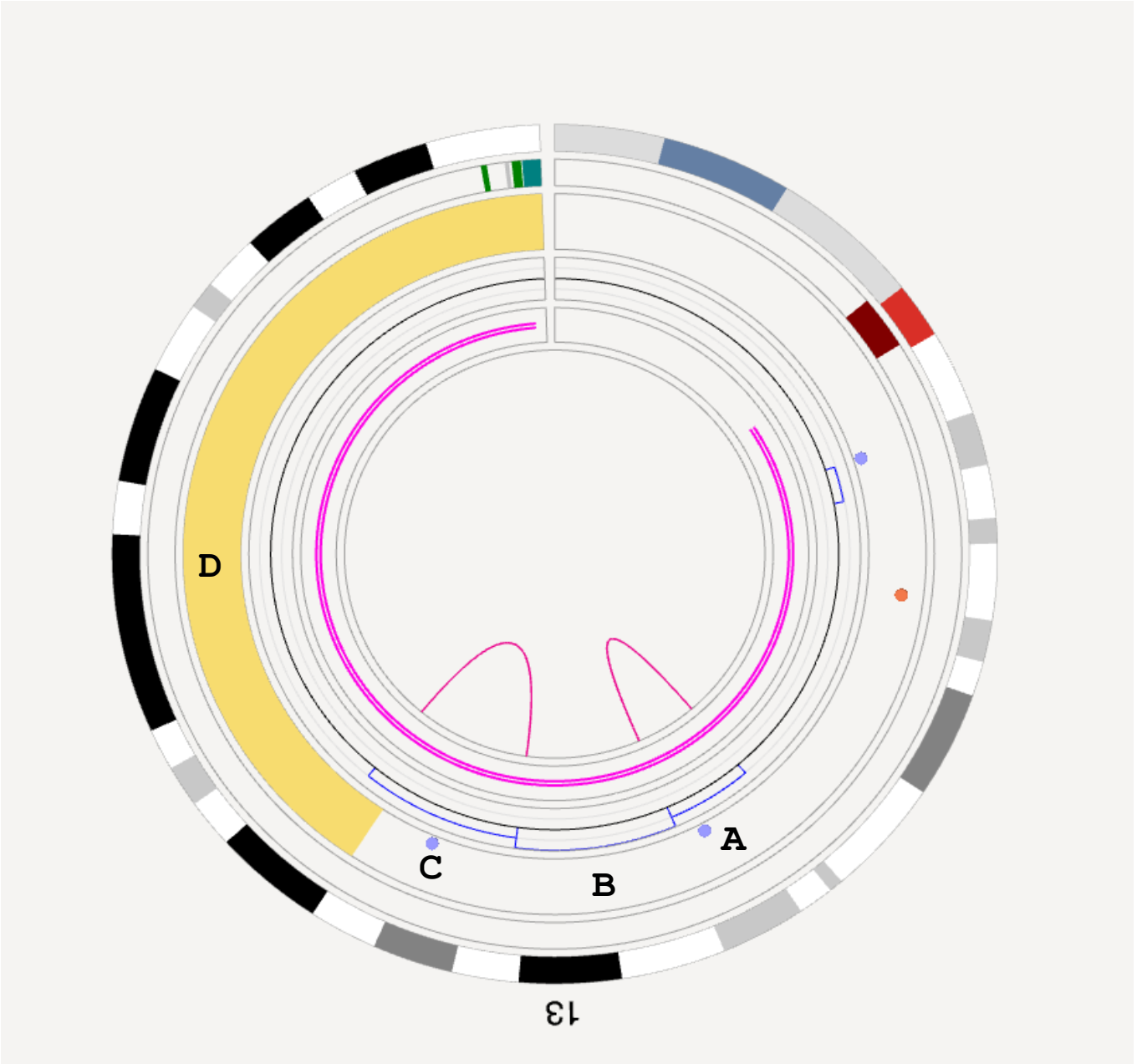
CONFIRMATION PAR BIONANO



Type	RefcontigID1	RefcontigID2	RefStartPos...	RefEndPos ...	Size (bp)	Zygosity	Confide...	SmapId	VAF	In_AOH/L...	AOH/LOH	Present in % of control db samples
duplication_split	13	13	23 046 150	25 376 426	2 330 276	*unknown*	-1,00	*11812*	0,300	*-1*	-1	0,0

arr[GRCh37]
13q12.12q12.13(23614924_25933438)x3
→ Duplication confirmée en tandem
→ VSI

CONFIRMATION PAR BIONANO

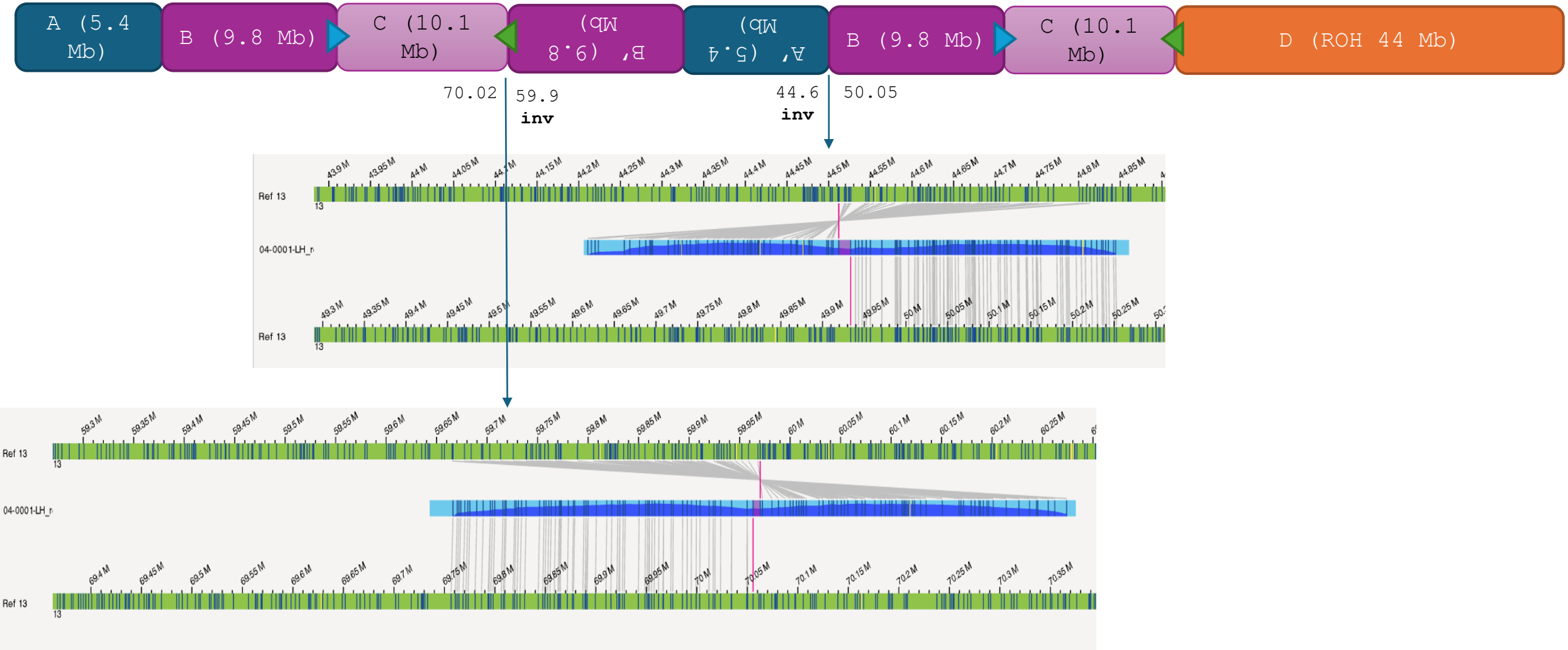


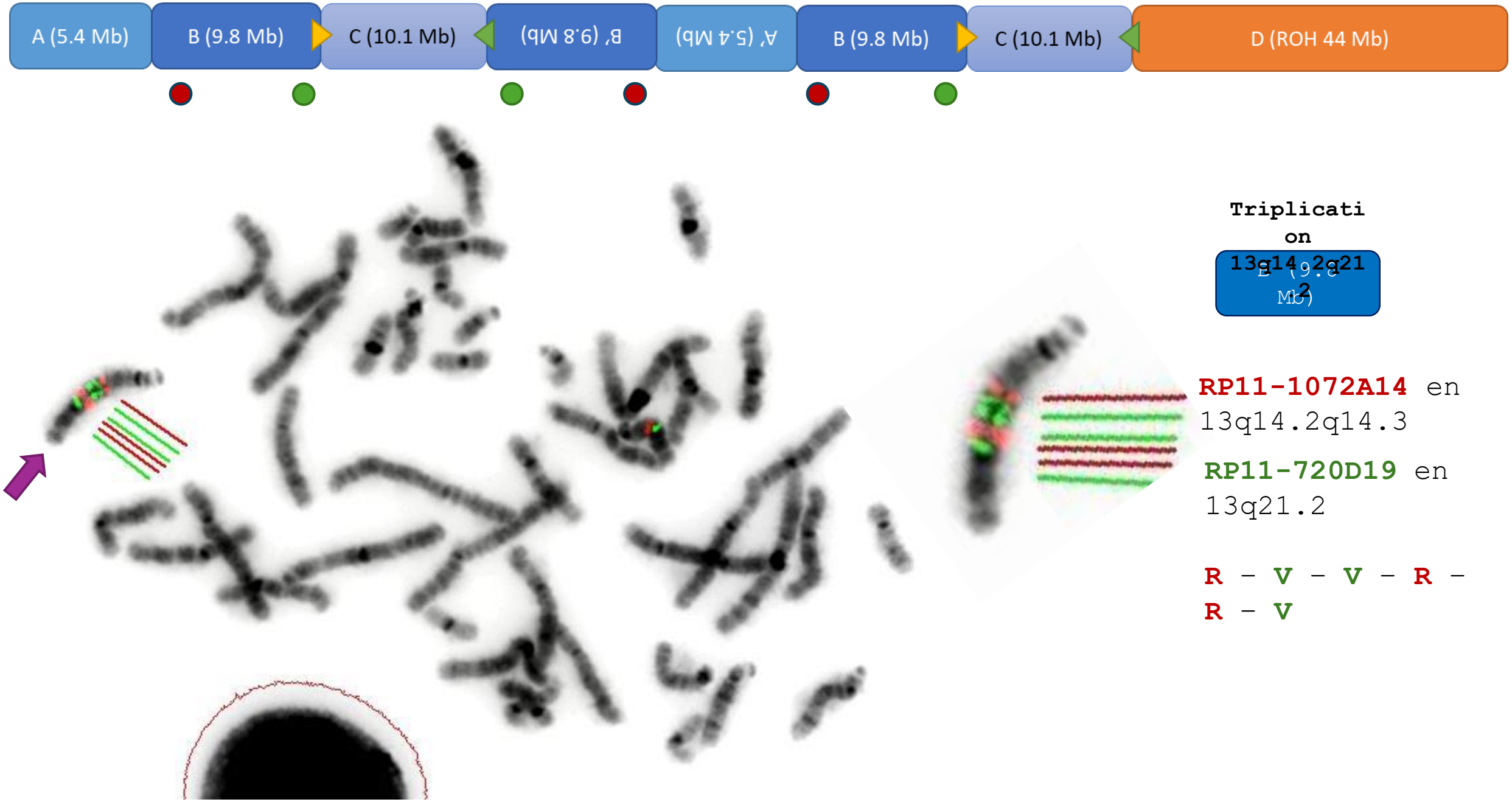
CIRCLE PLOT

Début du fragment A connecté au début du fragment B

Fin du fragment B connecté à la fin du fragment C

75	A	13	44 657 370	50 053 385	5 396 016	gain	3,035	3	1,00	0,518	Region-based	LINC00407;AL356515.1;LINC00330;NUFIP1;...	AL137060.2
76	B	13	50 055 640	59 893 813	9 838 174	gain	3,940	4	1,00	0,970	Region-based	AL137060.2;AL137060.8;AL137060.5;AL1370...	AL137060.4
77	C	13	59 897 449	70 023 408	10 125 960	gain	2,990	3	1,00	0,495	Region-based	RN7SL375P;DIAPH3-AS1;DIAPH3-AS2;DIAP...	ATXN8OS



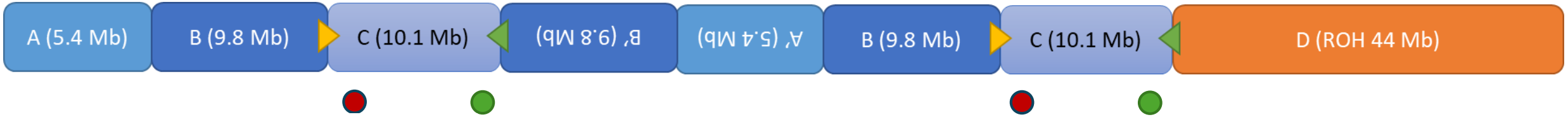


Triplication
13q14.2q21.2

RP11-1072A14 en 13q14.2q14.3

RP11-720D19 en 13q21.2

R – V – V – R – R – V



Duplication 13q21.2q21.33

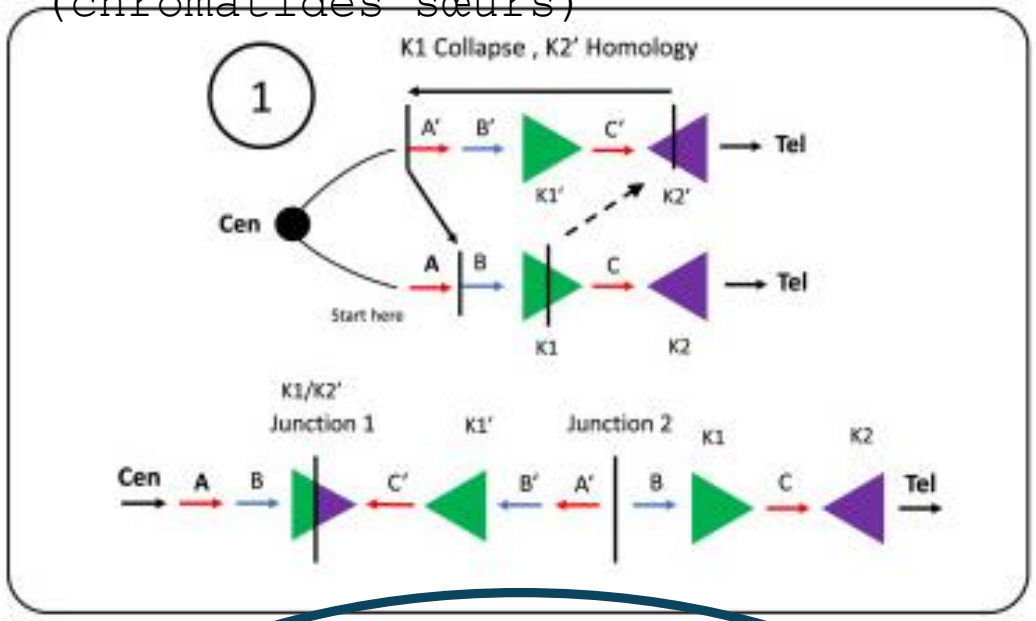
C' (10.1 Mb)

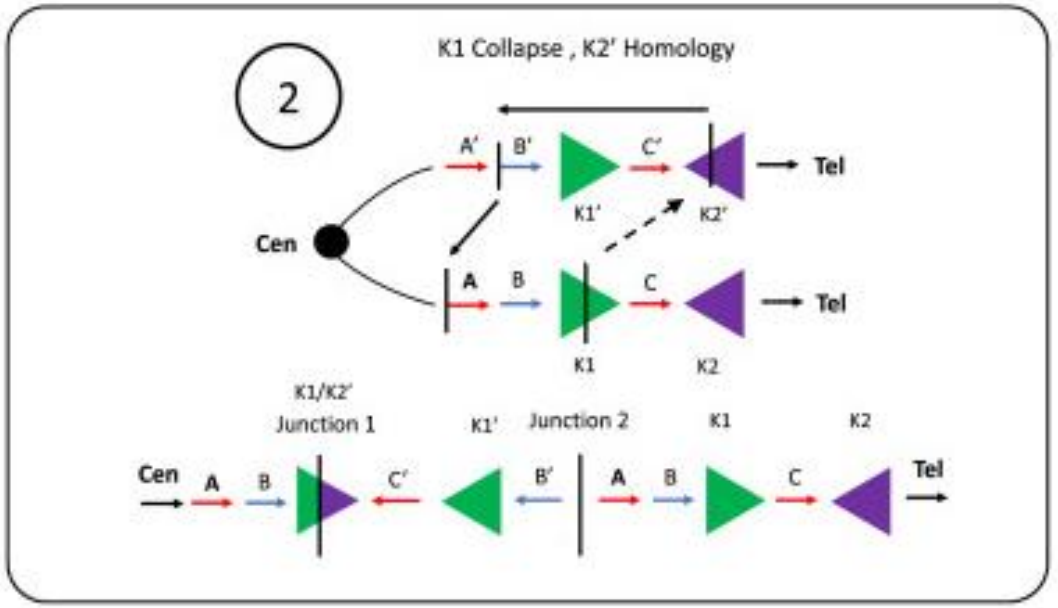
RP11-359P14 en 13q21.2

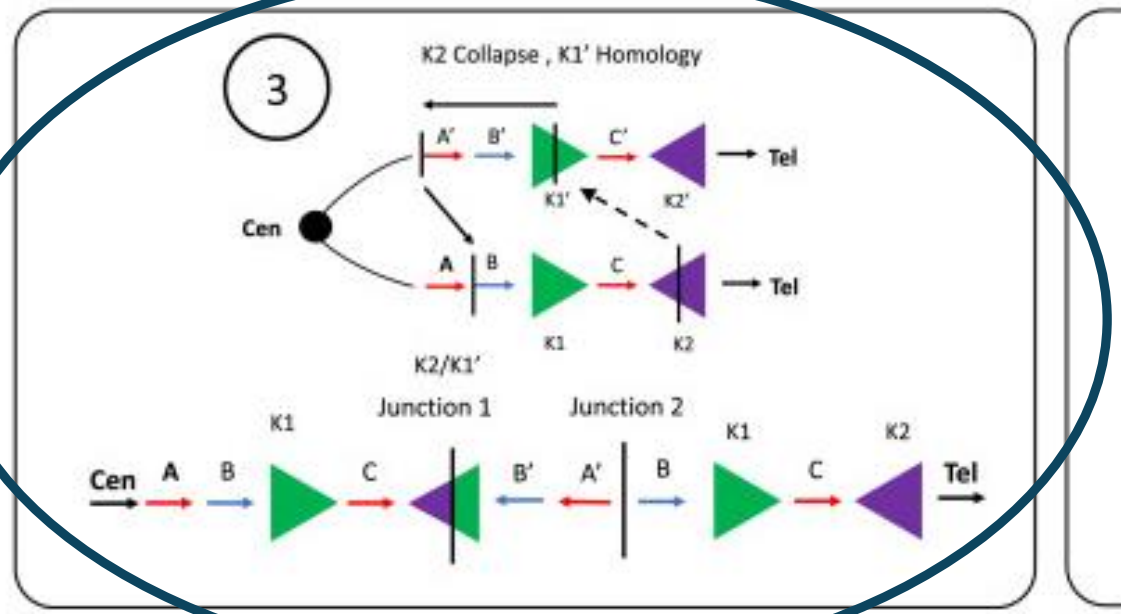
RP11-1026P1 en 13q21.33

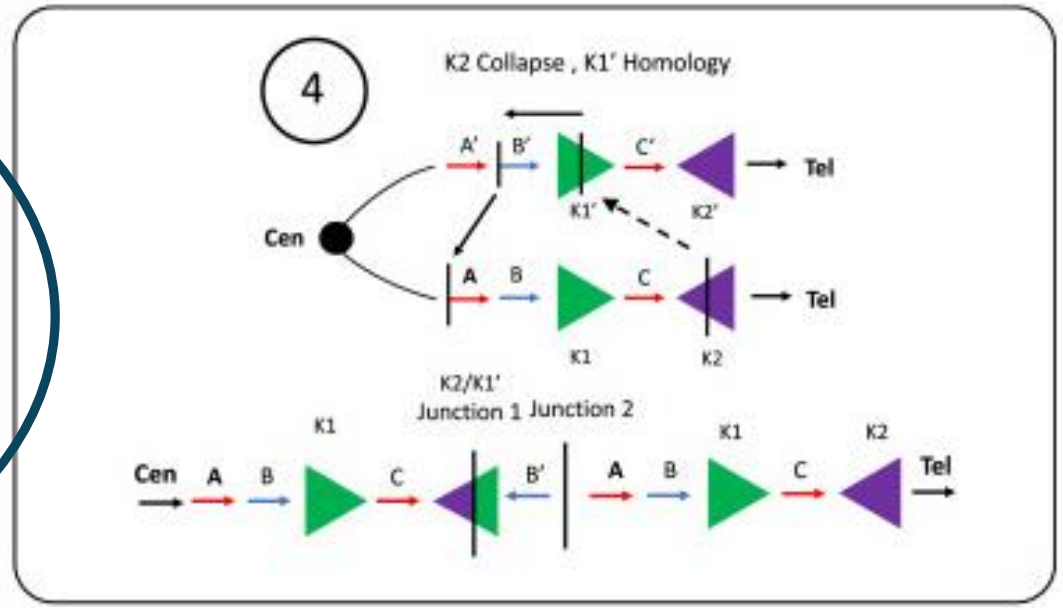
R - V -- R - V

Mécanisme de formation de la DUP – TRIP/INV – DUP (chromatides sœurs)





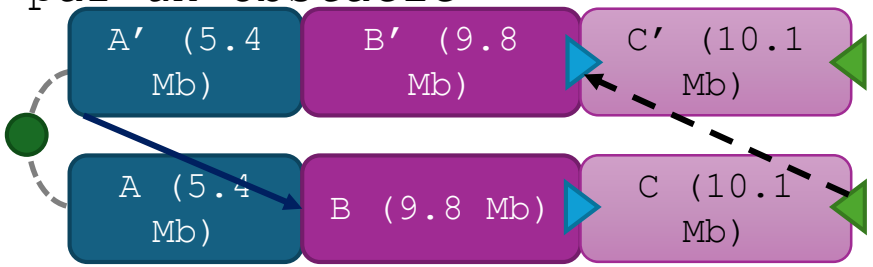




Grochowski et al. (2

1/ Délétion terminale (D) 13q21.33q34 initiale?

2/ Fourche de réplication (FDR) bloquée par un obstacle



3/ Invasion de la chromatine sœur

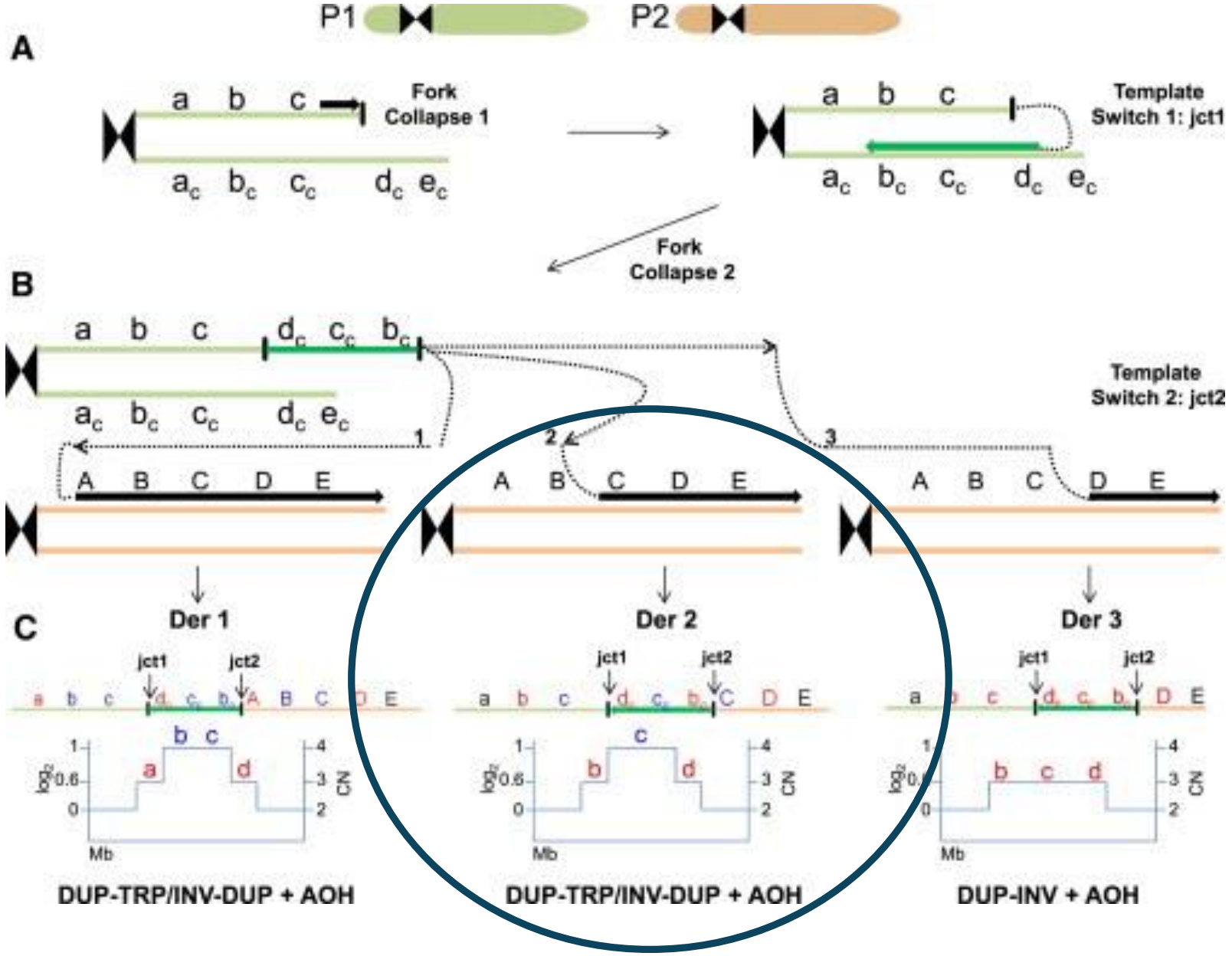
Mécanisme : FoSTeS (Fork Stalling and Template Switching)

ex. : répétitions inversées, structure 2R→ **effondrement de la FDR** générant une extrémité d'ADN simple brin → cherche une **région d'homologie** pour restaurer la réplication

Région avec homologie (> 100 kb) le souvent inversée → réplication ectopique par changement de matrice par la polymérase

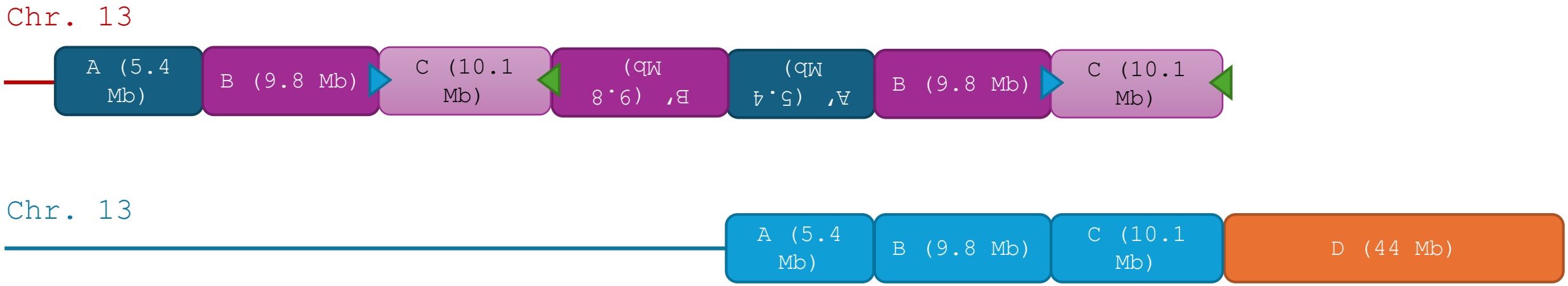
4/ Structure intermédiaire

Mécanisme de formation de la région d'homozygotie terminale (chromosomes homologues)

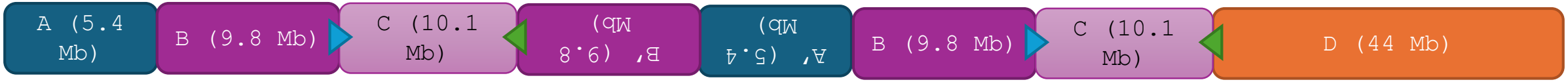


Carvalho et al. (201

5/ Invasion du chromosome homologue → réplication ectopique par changement de matrice par la polymérase



6/ Structure finale



CONCLUSION ET PERSPECTIVES

- OGM permet de caractériser et confirmer les remaniements des structures les plus simples aux plus complexes
- Complémentarité des techniques : caryotype, FISH, ACPA et srWGS
- Perspectives :
  - caractériser les remaniements complexes
  - terminer l'analyse de la cohorte de patients
  - préciser les bénéfices et les limites de la technique

MERCI POUR VOTRE ATTENTION