



COLLOQUE  
**ATC**

ASSOCIATION DES TECHNICIENS  
EN CYTOGÉNÉTIQUE

29 & 30  
SEPTEMBRE  
2022

Centre de Rencontres  
Internationales et de Séjour  
**DIJON**



# L'intérêt d'allier les différentes technologies de génétique dans le diagnostic des maladies rares



Cas n° 1 FAYOLLET Pierre  
Cas n° 2 LESECQ Angélique



COLLOQUE  
ATC

ASSOCIATION DES TECHNICIENS  
EN CYTOGÉNÉTIQUE

29 & 30  
SEPTEMBRE  
2022

Centre de Rencontres  
Internationales et de Séjour

DIJON



## Présentation du cas n° 1 par Pierre Fayollet

- ▶ L'intérêt de l'analyse CNV associé aux variants en NGS

## Présentation du cas n° 2 par Angélique Lesecq

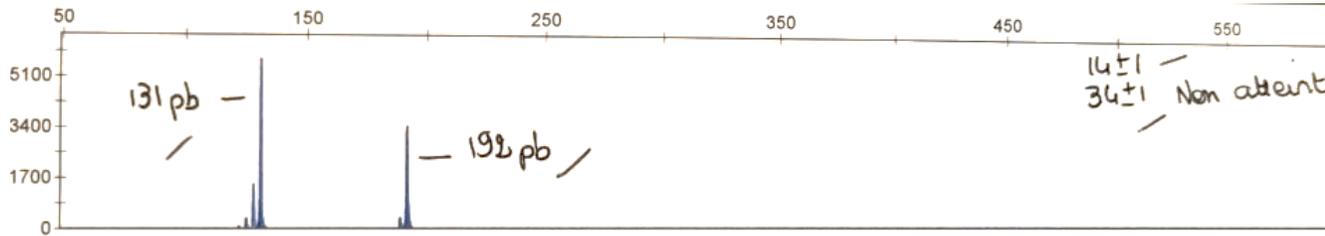
- ▶ L'apport de *l'optical genome mapping* dans l'errance de diagnostic



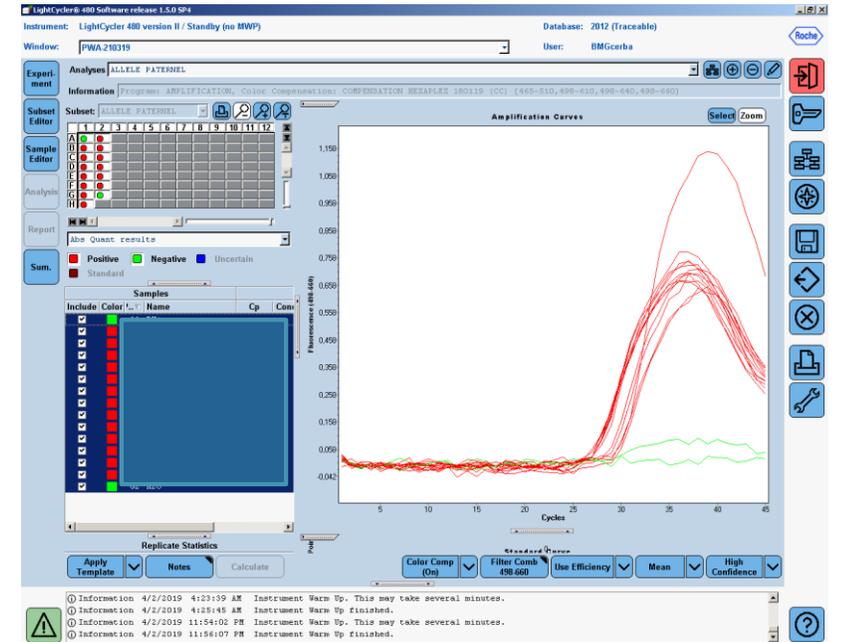
## Cas n° 1:

- ▶ Cas index: un fœtus à 35 SA, présentant un polyhydramnios
- ▶ Examens réalisés en amont de la grossesse pour malformation rénale:

Prader-Willi négatif, Steinert négatif



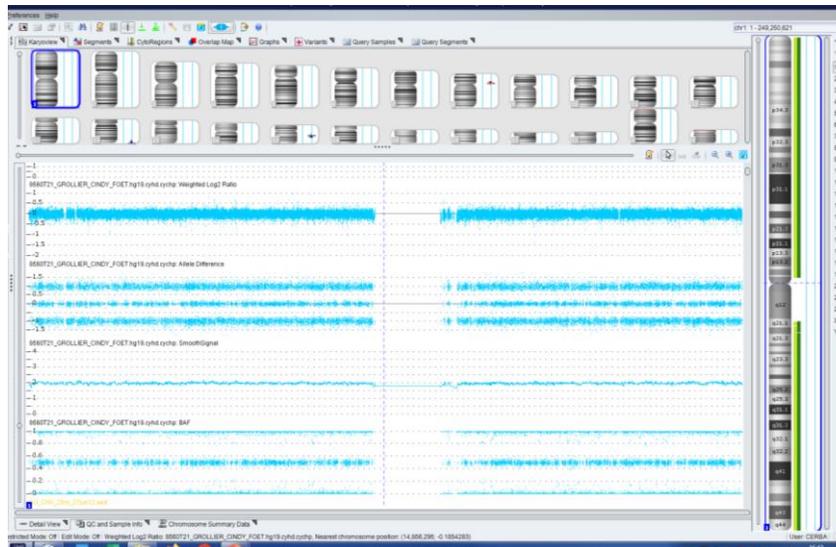
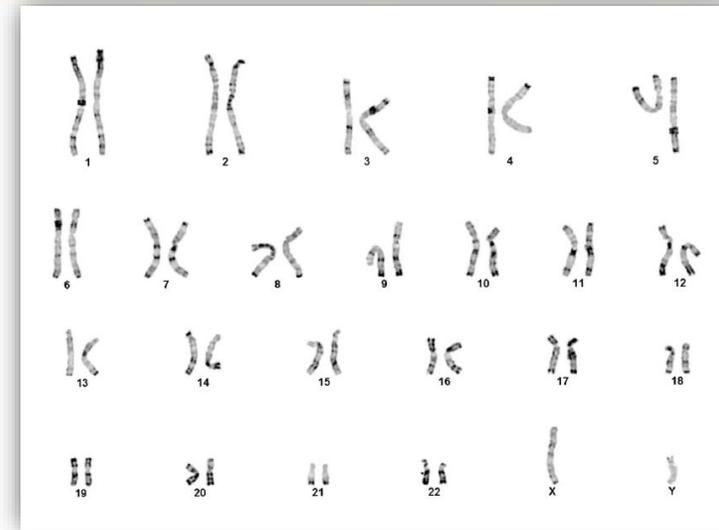
Test de Steinert



Test du Prader-Willi



- ▶ Caryotype
- ▶ Résolution : 7 à 10 mégabases
- ▶ Pas d'anomalie visible



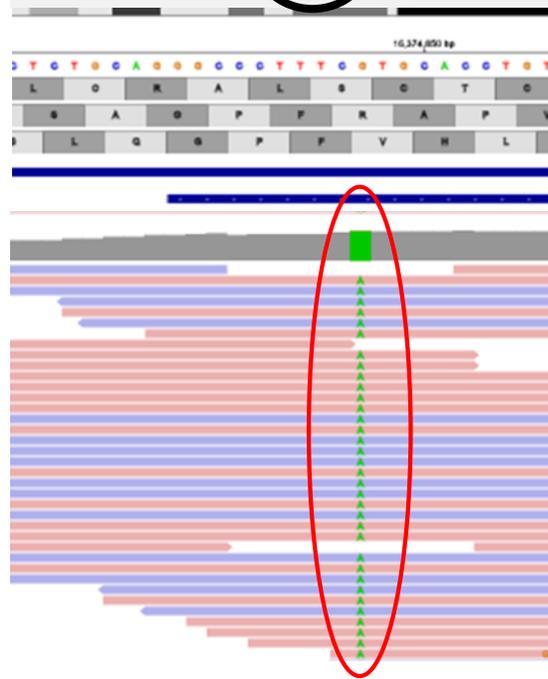
- ▶ CGH Array
- ▶ Résolution en prénatal: 1000Kb
- ▶ Résolution en haute définition: 200Kb
- ▶ Pas d'anomalie décelée





## Passage en panel exome en NGS pour le fœtus, le papa et la maman

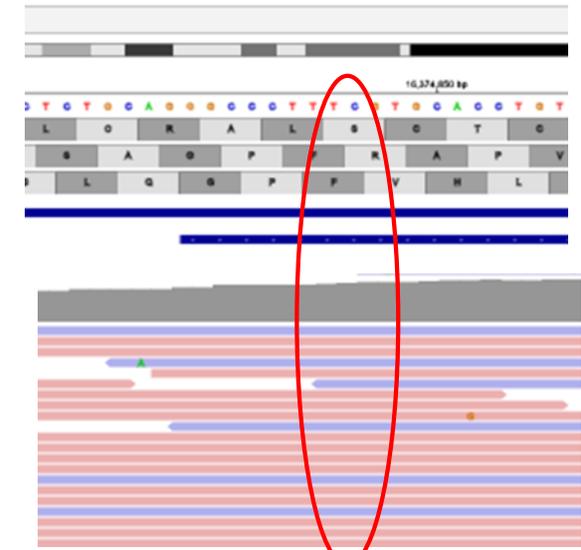
ACMG Beta		VKB Beta		Gene	Transcript	NA Mutation	AA Mutation	Effect	Databases	Pop freq. (relative)	Patient			Father			Mother		
1	3			CLCNKB	NM_000085.5	c.508G>A	p.V170M	missense variant	dbsnp omim	1.4 x 10 <sup>-4</sup>	GT	VAF	QUAL	GT	VAF	QUAL	GT	VAF	QUAL
											●	100%	39	◐	54%	38	○	N/A	N/A



Fœtus:  
homozygote



Père:  
hétérozygote



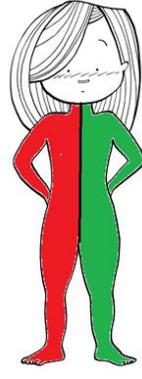
Mère: absence  
de la mutation



## Ségrégation autosomique récessive



Papa



Maman



Hétérozygote



Homozygote



Hétérozygote



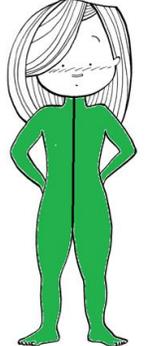
Normal



## Ségrégation de notre cas



Papa



Maman



Homozygote ??



- ▶ Vérification de la concordance entre les trois patients et pour éliminer toute inversion ou erreur technique 
- ▶ Vérification par Séquençage Sanger : résultats concordants avec le panel exome 
- ▶ un variant retenu : **NM\_000085.5(CLCNKB):c.508G>A(p.Val170Met)**

- ▶ **Variant pathogène récessif** (database OMIM)



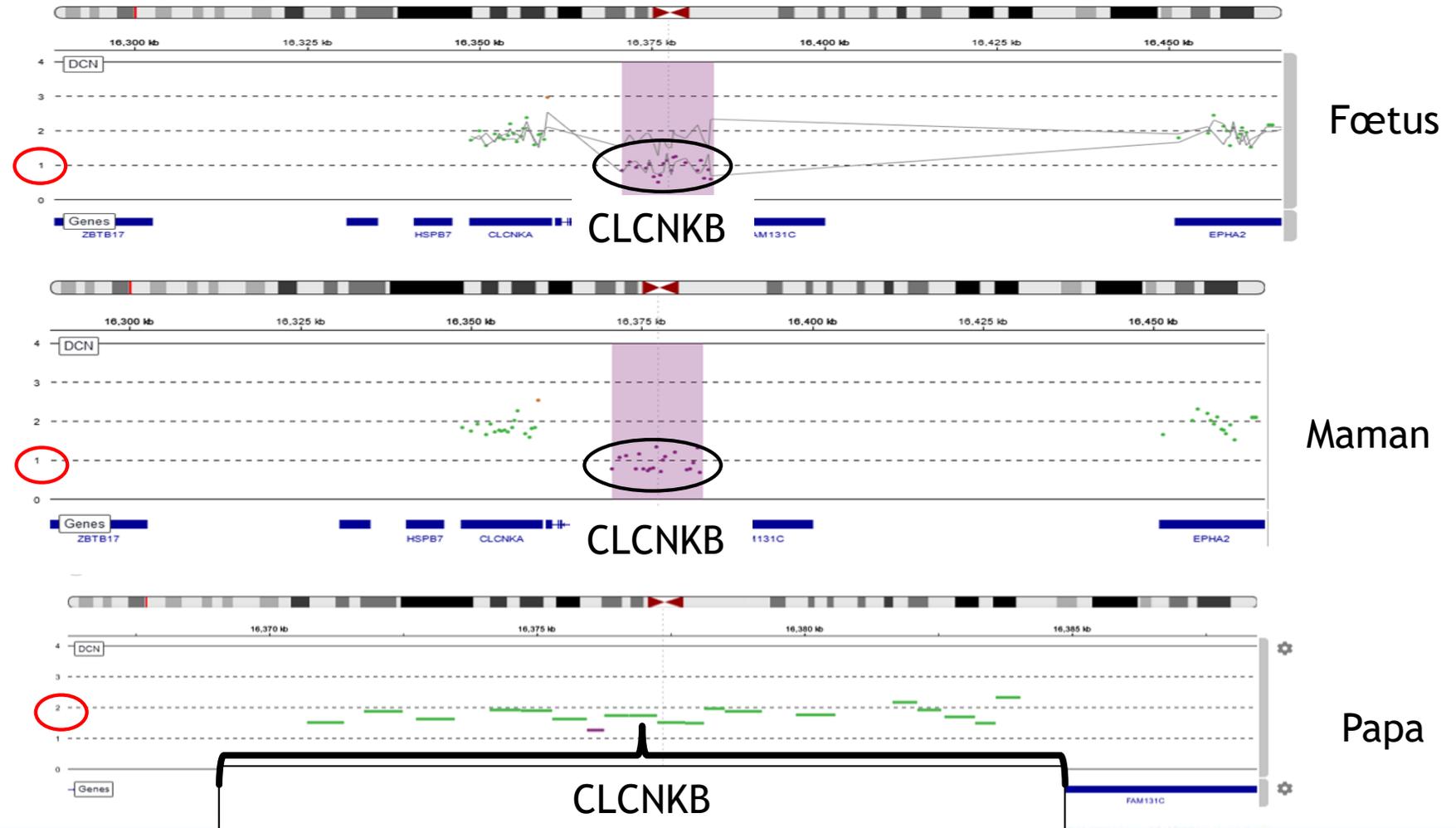
- ▶ Sur le chromosome 1, localisation: 1p36.13





## ► Analyse des CNV en NGS pour le trio

- CNV = Variation du nombre de copie d'un gène au sein d'un chromosome
- Statut sans anomalie = 2 (2 chromosomes)





- ▶ Mise en évidence d'une délétion d'environ 13Kb sur le gène *CLCNKB*
- ▶ Localisation en p36.13 sur le chromosome 1
- ▶ Chez le fœtus et la maman

1:16,370,688 - 16,384,029 p36.13  
13.34kb 0.68% ↓ -1

Add a manual comment about this cnv

CNV summary Evaluations New Genome browser

1 Clinical regions 1/1 Clinical genes 100% Max DGV overlap 1 Variants 0 VKB

Clinical genes Show all genes

Gene symbol	Databases	Phenotype(s)	ClinGen haploinsufficiency score	pLI (GnomAD)	Exons	Fraction overlap	Variants
CLCNKB	omim	[AR] Bartter syndrome type 3	30 (Gene associated with autosomal recessive phenotype)	0.93478	19/19	96.97%	



## Phenotype-Gene Relationships

Location	Phenotype	Phenotype MIM number	Inheritance	Phenotype mapping key	Gene/Locus	Gene/Locus MIM number
<a href="#">1p36.13</a>	Bartter syndrome, type 3	<a href="#">607364</a>	<u>AR</u>	<u>3</u>	CLCNKB	<a href="#">602023</a>

- ▶ 2 formes : anténatale ou infantile et une forme classique

La maladie clinique résulte d'une réabsorption rénale défectueuse du chlorure de sodium

▶ Forme anténatale:  
**polyhydramnios**, prématurité,  
polyurie, déshydratation,  
hypercalciurie et néphrocalcinose.



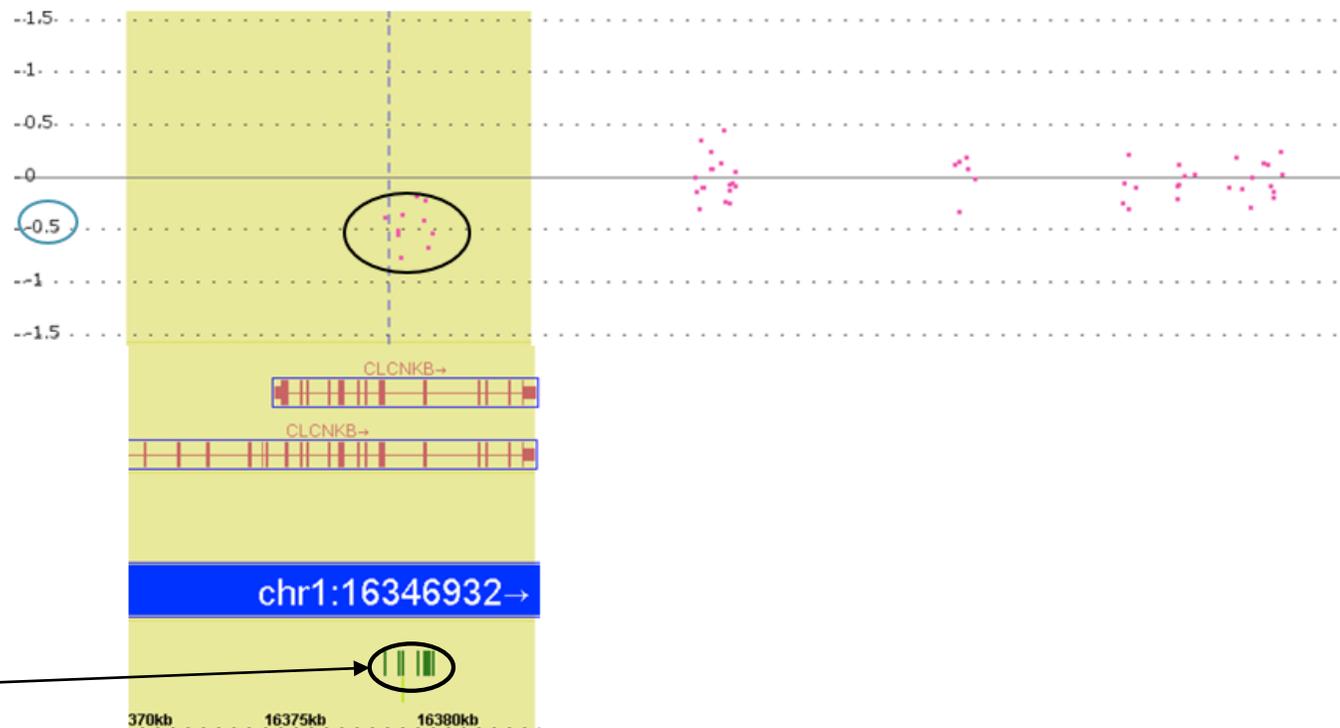
▶ Signes échographiques du fœtus:  
**malformation rénale** et  
**polyhydramnios**

Pronostic post natal:  
Espérance de vie diminuée  
Qualité de vie altérée  
Croissance réduite  
Taux d'hospitalisation élevé



## Zoom sur le patient en ACPA après le passage en EXOME

- Passage avec un puce HD
- Résolution de 200kb
- Mise en évidence du CNV trouvé en Panel exome

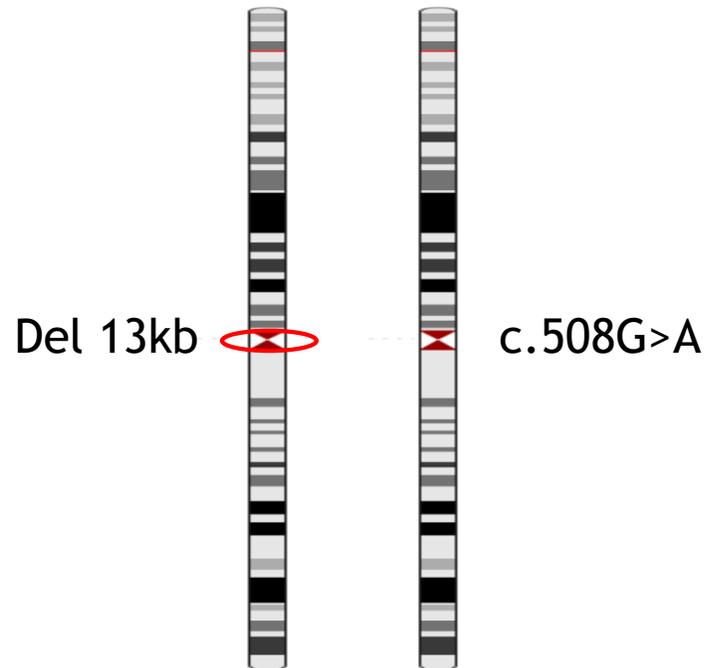


- Zone peu marquée (7 marqueurs)



► **Conclusion:**

- Panel exome mise en évidence du génotype du père
- L'analyse des CNV mise en évidence de la délétion de 13 kb



**Hétérozygote pour la délétion de CLCNKB**



**Hétérozygote pour le variant pathogène de CLCNKB**



**Hétérozygote composite = Malade**



## Cas n°2: Optical génome mapping

▶ Cas index : garçon de 14 ans

❑ *Prénatal: clarté nucale augmenté,  
excès de liquide amniotique.*



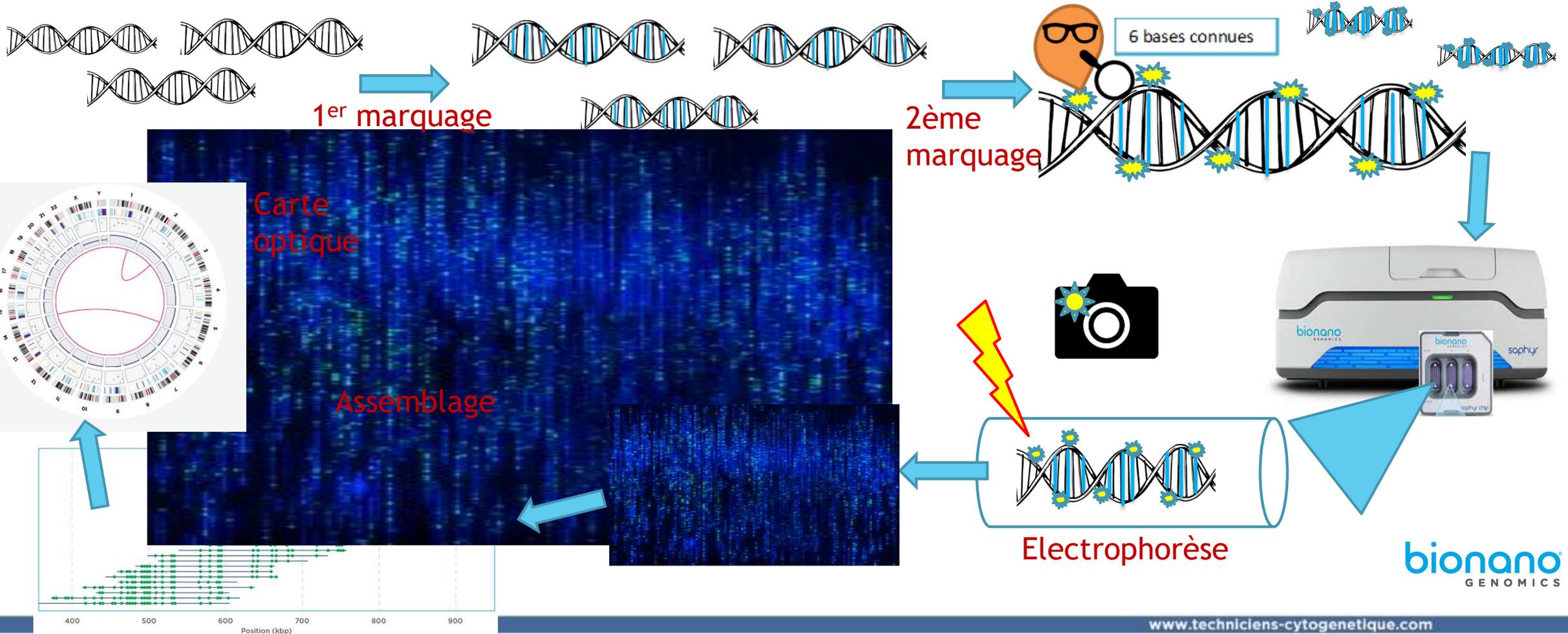
❑ *Postnatal: hyperlaxité ligamentaire diffuse,  
troubles du développement,  
asymétrie faciale et hypomimie, trouble de l'oculomotricité,  
hypertrophie du corps calleux, atrophie du cervelet,  
suspicion de maladie métabolique.*





## Optical genome mapping ou carte optique de chez Bionano

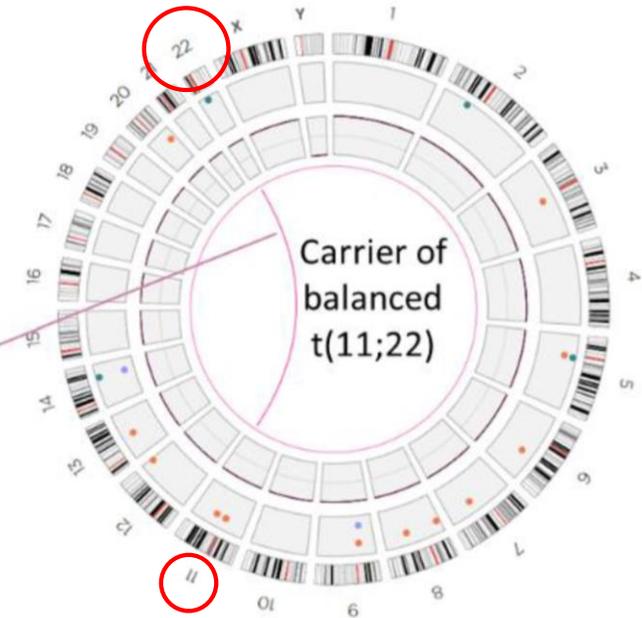
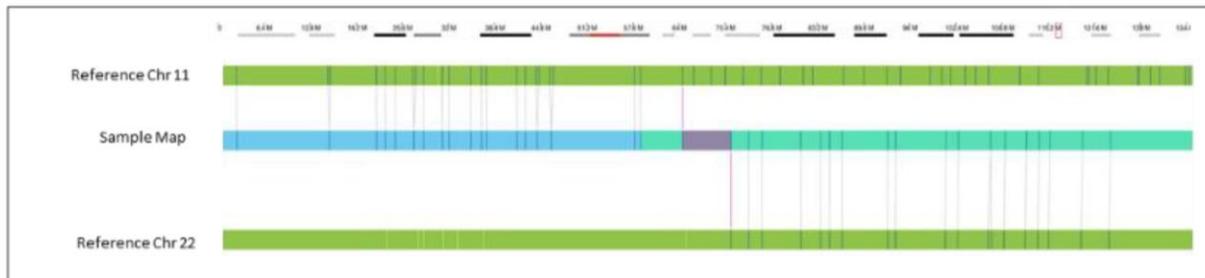
- ▶ Etablir un profil enzymatique d'ADN génomique à partir d'ADN de haut poids moléculaire (130kb)





- ▶ Résolution de 500pb
- ▶ Mise en évidence:
  - Nombre de copie d'un chromosome (CNV)
  - Anomalie de structure (translocations équilibrées ou non)

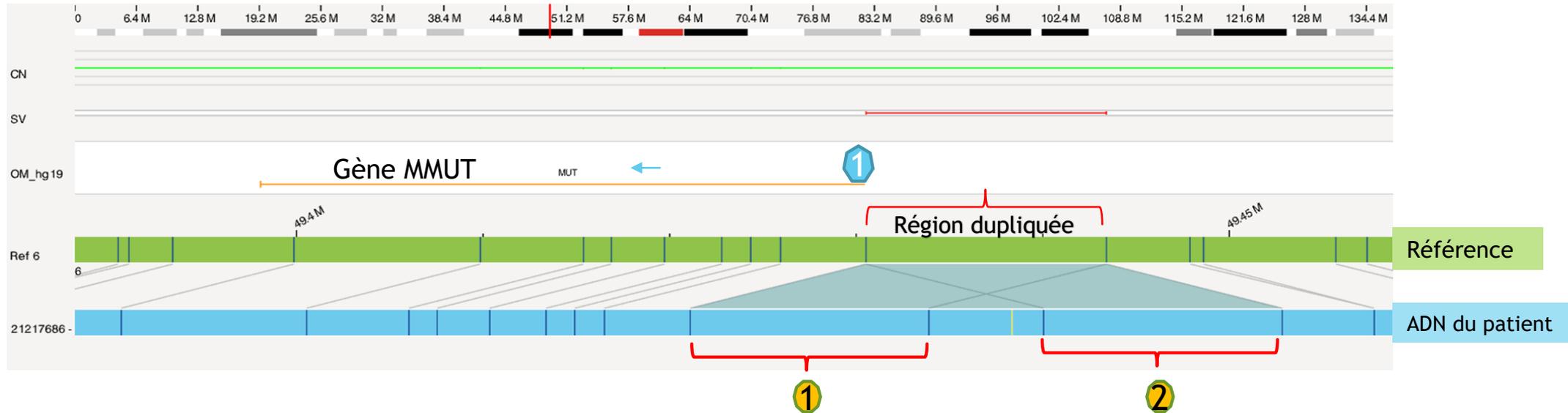
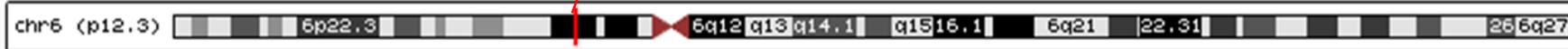
### Translocation(11;22)





# Analyse en OGM

6p12.3



Duplication hétérozygote 5,1 kb affectant le gène MMUT  
d'origine maternelle et **récessif**



## Analyse en Panel Exome

	ACMG RUO	VKB RUO	Gene	NA Mutation	AA Mutation	Impact	Effect	Transmission	Databases	Pop freq.		Sample Freq.		Exon	Sample			
										Rel.	Abs.	Project	All		GT	VAF	QUAL	COV
<input type="checkbox"/>	1	4	MUT	c.1106G>A	p.R369H	Moderate	missense variant	[AR]	● dbsnp ● clinvar ● omim ● cosmic	6.4 x10 <sup>-5</sup>	18	1 / 38	0.05%	6/13	●	45%	34	62

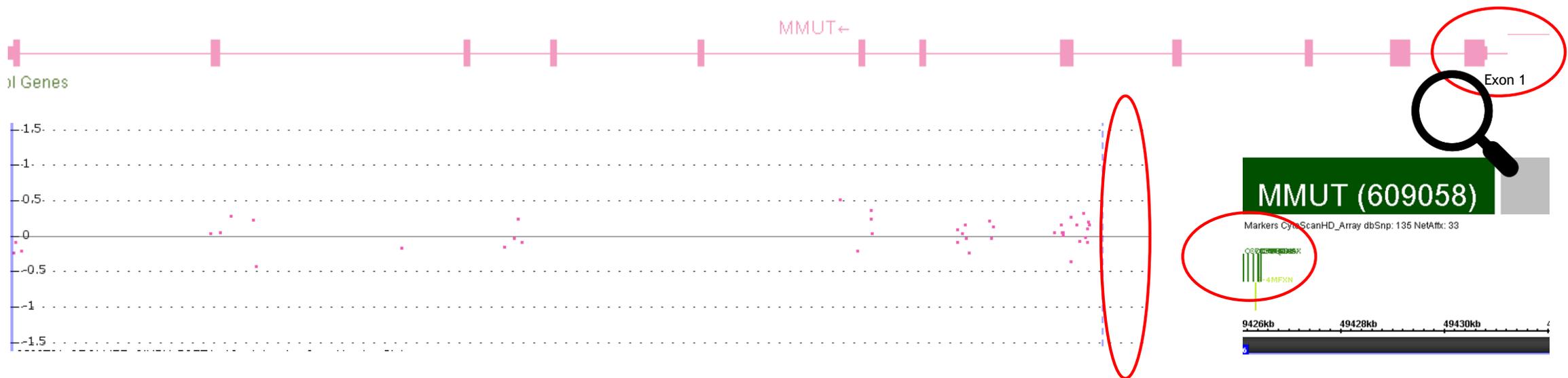
- ▶ Présence du variant: **NM\_000255.4 c.1106 G>A (p.R369H)** du gène **MMUT** sur le chromosome **6p12.3**
- ▶ Etat hétérozygote
- ▶ **Récessif**
- ▶ D'origine paternel
- ▶ **Variant pathogène** (cf clinvar)

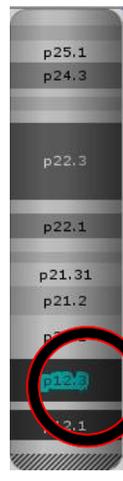
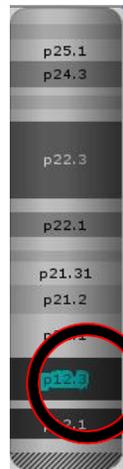


- Duplication non vue en Panel exome car non couvert



- Pas de passage en ACPA car pas de marqueur dans la zone





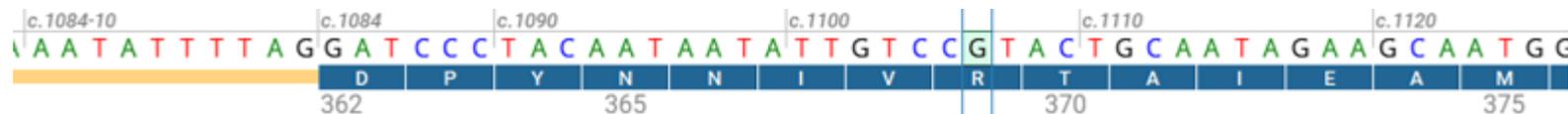
Vue générale du transcrit NM\_000255.4 (MMUT)

MMUT - Methylmalonyl-CoA mutase | GRCh38 (Chr 6) |

gnomAD SCORES

OMIM\*

BRIDGES



c.1106G>A

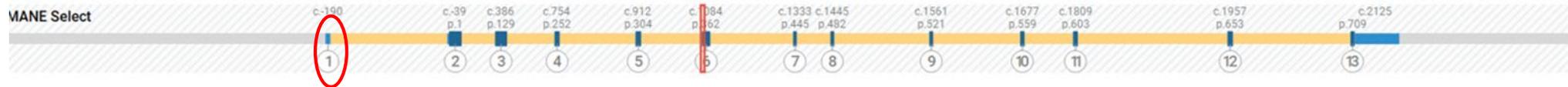
Vue générale du transcrit NM\_000255.4 (MMUT)

MMUT - Methylmalonyl-CoA mutase | GRCh38 (Chr 6) |

gnomAD SCORES

OMIM\*

BRIDGES



Duplication de 5,1Kb



## 2 mutations associées:

### Gene-Phenotype Relationships

Location	Phenotype	Phenotype MIM number	Inheritance	Phenotype mapping key
6p12.3	Methylmalonic aciduria, mut(0) type	251000	AR	3

- ▶ Acidurie méthylmalonique: déficience de l'activité enzymatique mitochondriale méthylmalonyl-CoA mutase

**Clinique:** léthargie, un retard de croissance, des vomissements récurrents, une déshydratation, une détresse respiratoire, une hypotonie musculaire, un retard de développement, un déficit intellectuel, une hépatomégalie et un coma.



**Patient:** CN augmentée, excès de liquide amniotique, hyperlaxité ligamentaire diffuse, troubles du développement asymétrie faciale et hypomimie, trouble de l'oculomotricité, hypertrophie du corps calleux, atrophie cervelet et suspicion de maladie métabolique



## Conclusion

- ▶ Une mutation ponctuelle hétérozygote **récessive** d'origine paternelle



- ▶ Une duplication hétérozygote **récessive** d'origine maternelle



- **Enfant hétérozygote composite**  
= **malade**





COLLOQUE  
**ATC**

ASSOCIATION DES TECHNICIENS  
EN CYTOGÉNÉTIQUE

29 & 30  
SEPTEMBRE  
2022

Centre de Rencontres  
Internationales et de Séjour

**DIJON**



Merci de votre attention