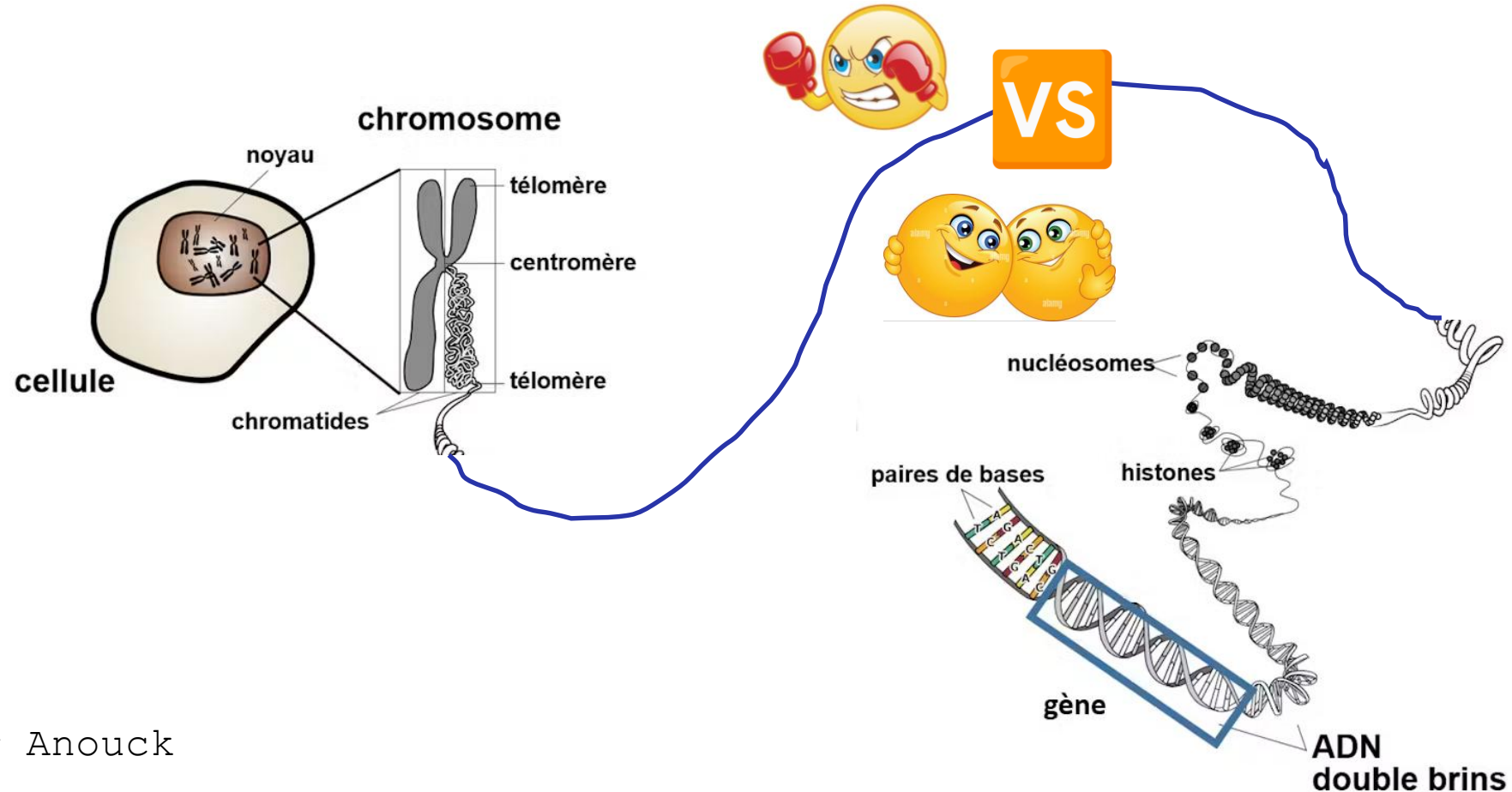


# L'Œil et le Code : Le Vieux géant et le Scalpel Moléculaire :

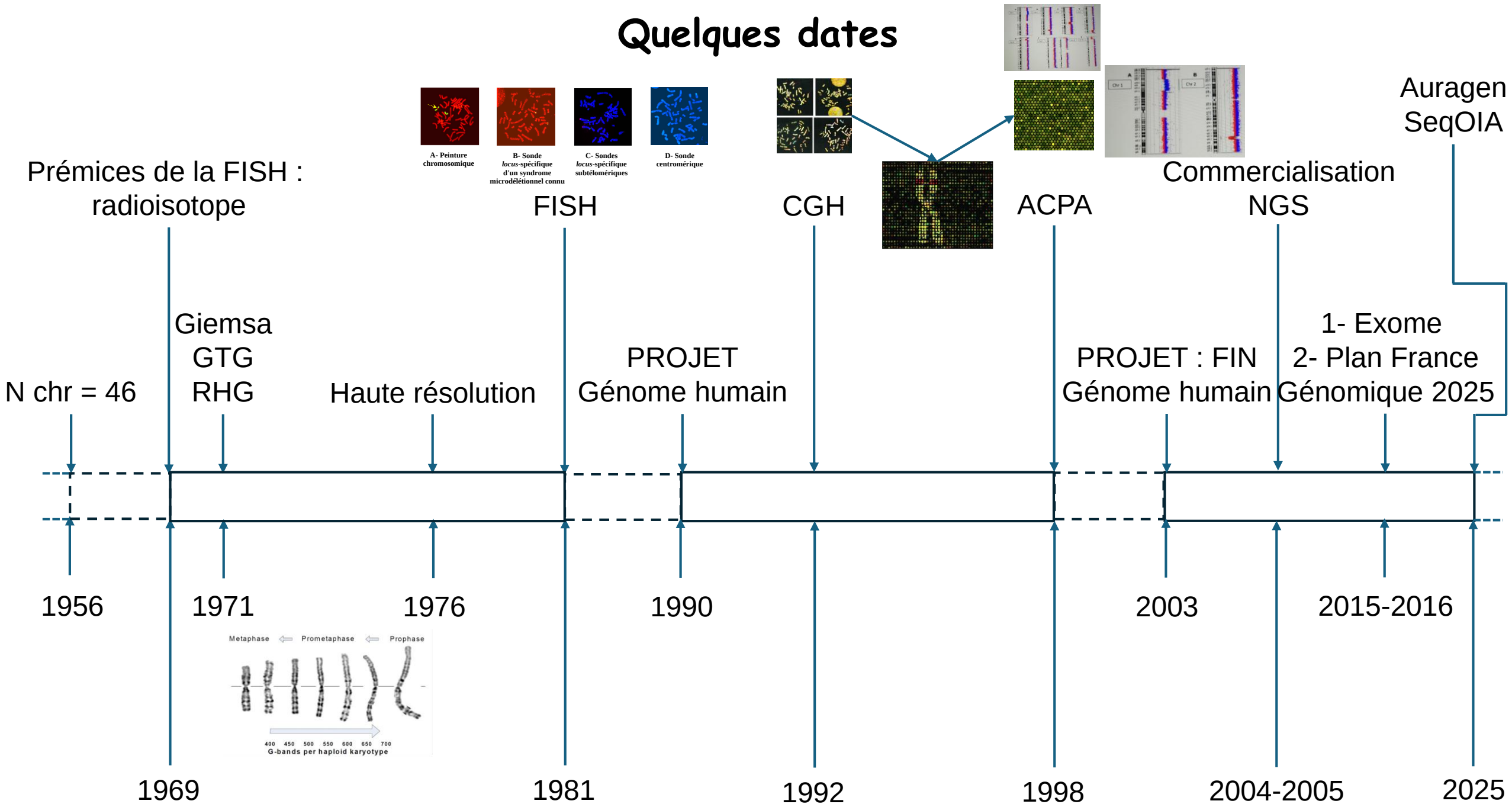
## Duel or not duel au Cœur du Génome



Dr Schneider Anouck

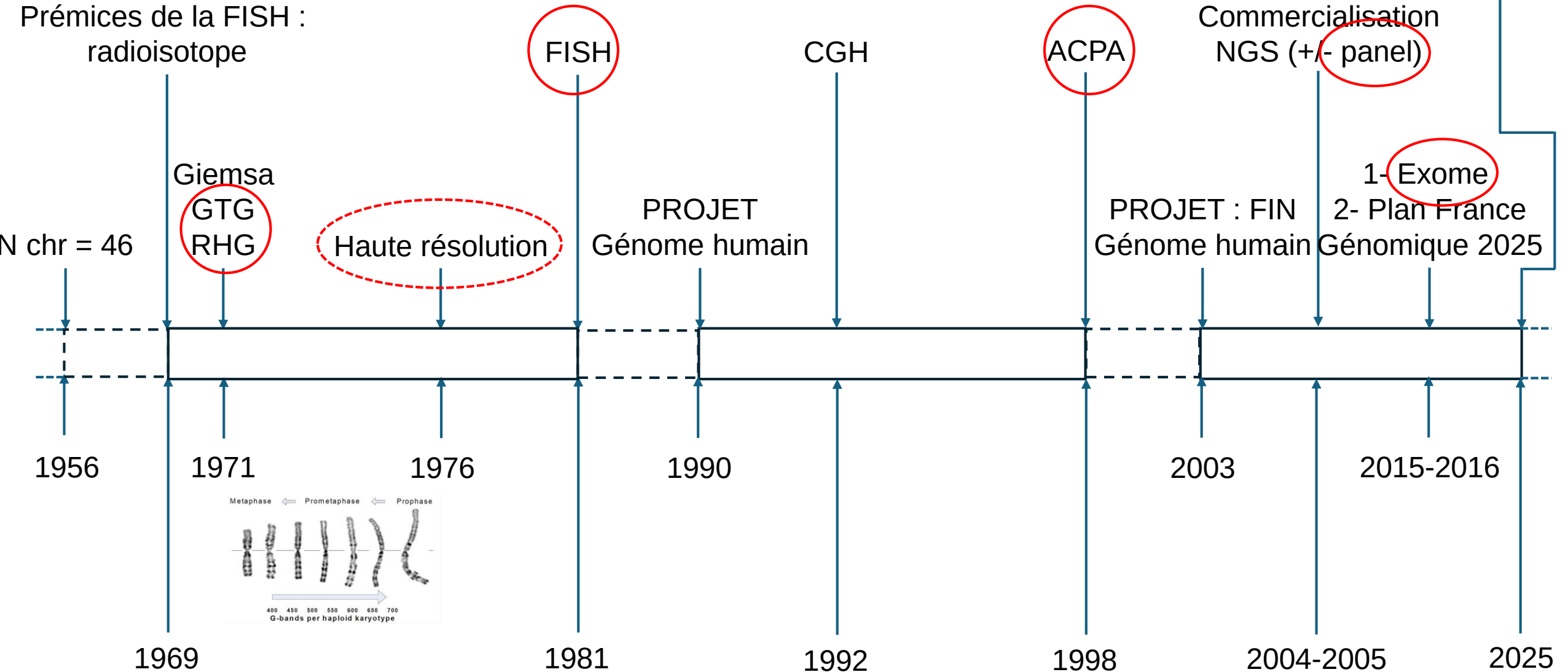
Colloque de l'ATC - Marseille - 1<sup>er</sup> octobre 2026

# Quelques dates



# Quelles techniques à l'heure actuelle ?

## Que de choix !! Quelles technique(s) mettre en œuvre ?!?

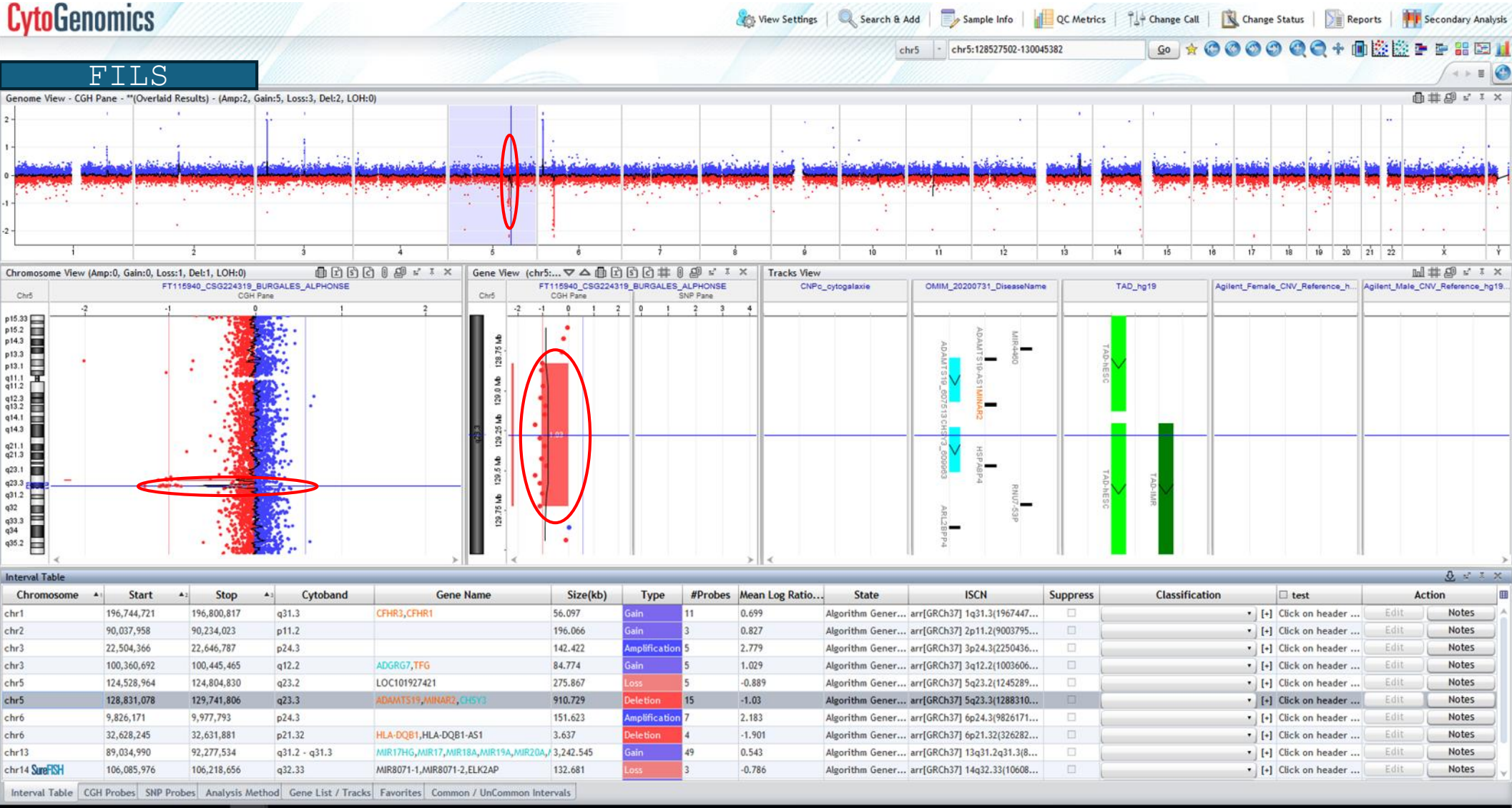


# Clinique du cas

- Période anténatale : T2 ➔ dilatation rénale D  
T3 ➔ suspicion de macrosomie
- Période néonatale : 39SA+1j  
TN : 51,5 cm / PN : 3650g / PCN : 37cm  
Apgar : 8/10/10  
Duplicité rénale bilatérale  
CIV musculaire  
Ébauche d'un 6<sup>ème</sup> doigt axial
- A 2 ans : + hypotonie

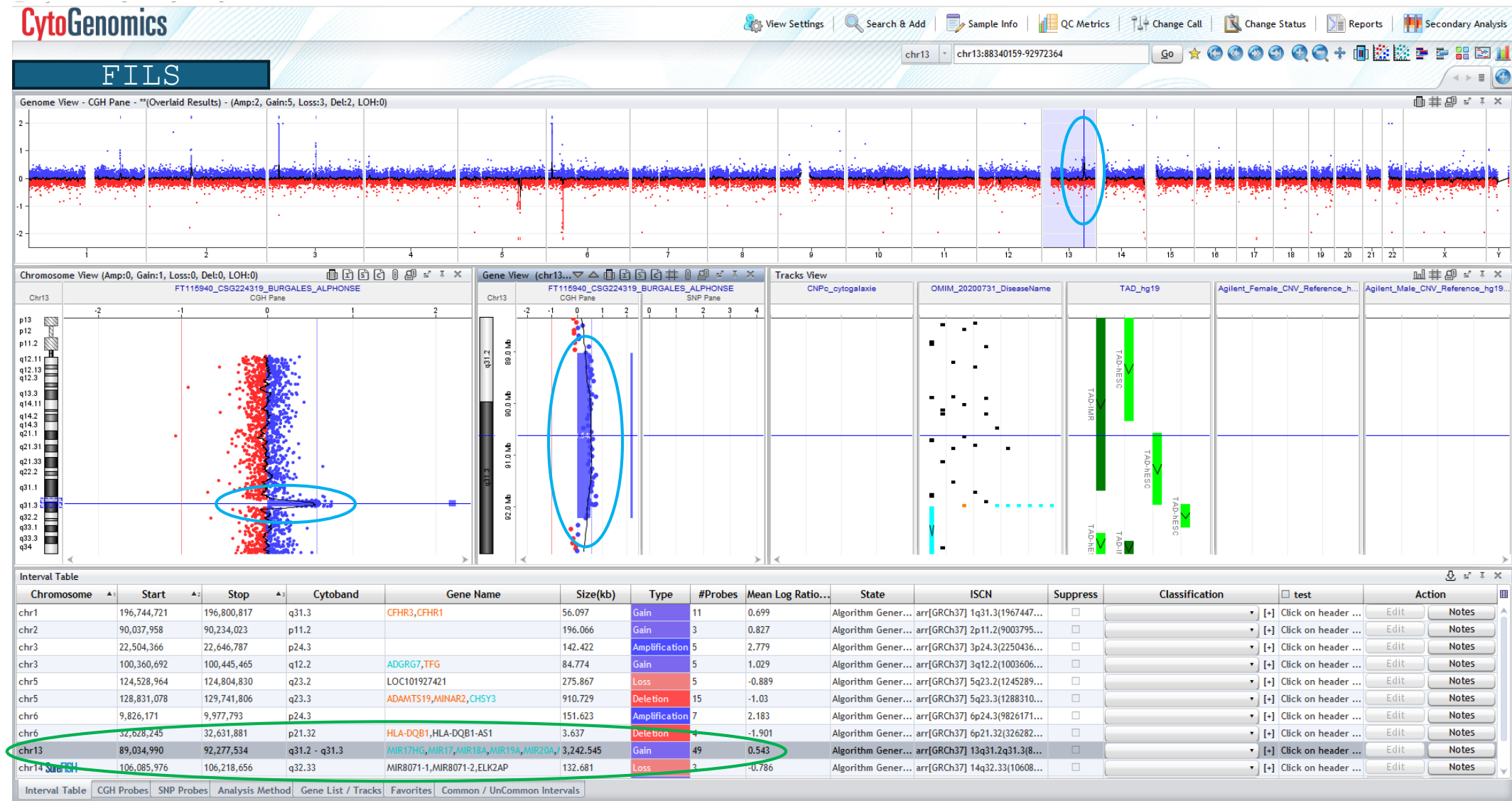
**DEMANDE d'une ACPA**

Résultat de l'ACPA (I)



ET...

# Résultat de l'ACPA (II)



**VOUS**

arr[GRCh37] 5q23.3(128831078\_129741806)x1,13q31.2q31.3(89034990\_92277534)x3

**Probablement pathogène**

# Interprétation des résultats de l'ACPA

- ✓ arr[GRCh37] 5q23.3(128831078\_129741806)x1
  - délétion hétérozygote interstitielle d'environ 910.0 kb de la région chromosomique 5q23.3.
  - 5 gènes dont le gène *ADAMTS19* (potentiellement interrompu) : atteintes cardiovasculaires (transmission autosomique récessive), (Massadeh S et al. Clin Genet 2020. PMID:32323311).
  - ➔ variant de signification clinique inconnue (**VOUS**).
  
- ✓ arr[GRCh37] 13q31.2q31.3(89034990\_92277534)x3
  - duplication interstitielle d'environ 3242.0 kb de la région chromosomique 13q31.2q31.3.
  - 28 gènes (un gène OMIM Morbid).
  - Des duplications incluses dans celle-ci sont associées à des anomalies du développement telles que des hypotonies (Siavrien E. et al. Gene 2020. PMID: 32473250 ) et des polydactylies post-axiales (Kannu P. et al. Eur J Med Genet 2013. PMID:23792790).
  - ➔ **pathogène**

# Confirmation des résultats d'ACPA (et enquête familiale)...par ddPCR

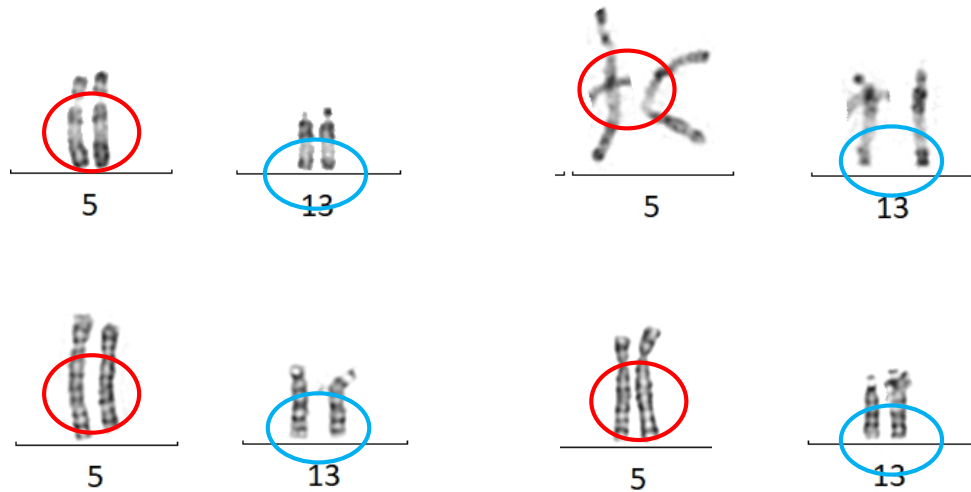
➤ Recherche de la délétion 5q23.3 par biologie moléculaire

➔ Délétion héritée de l'un des parents (asymptomatique)

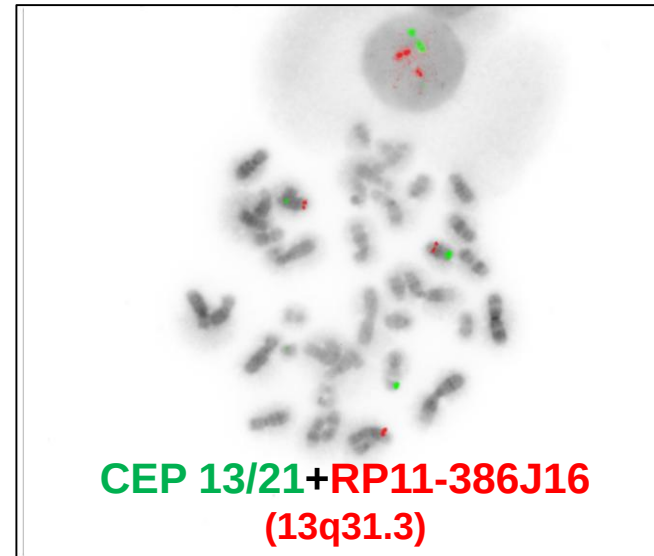
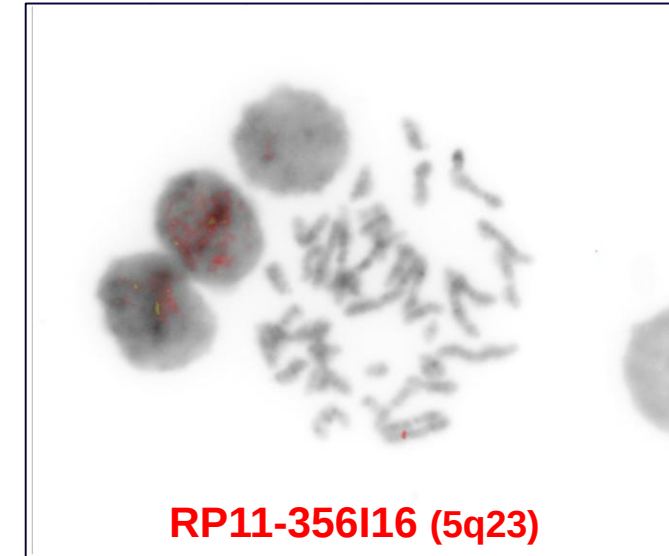
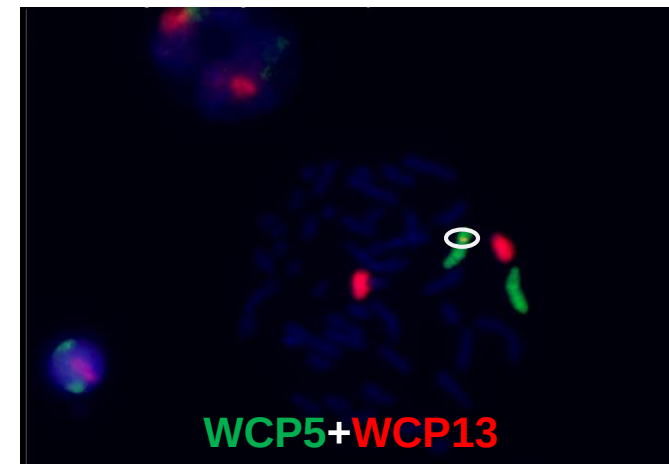
➔ VOUS -

# Confirmation des résultats d'ACPA (et enquête familiale)...par FISH : CI

## Chromosomes 5 et 13 au caryotype



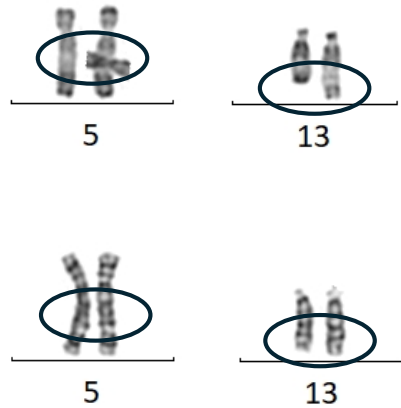
## Résultats FISH



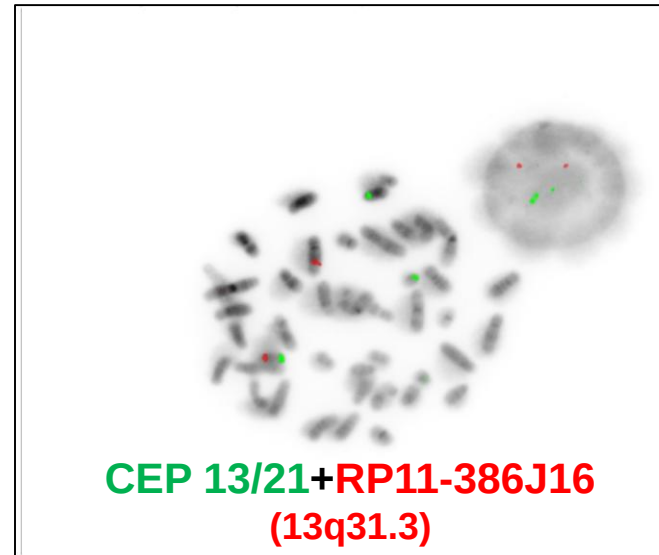
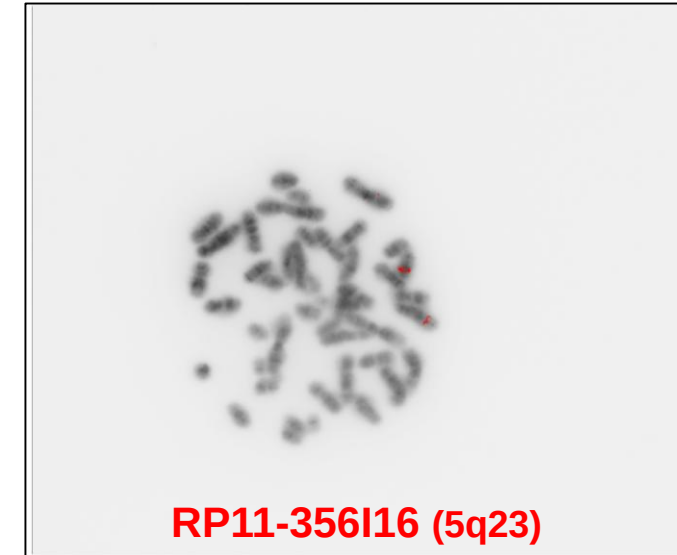
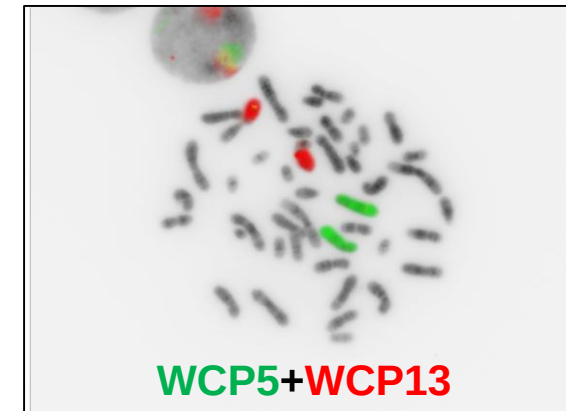
**46,XY.ish** der(5)ins(5;13)(q23.3;q31.2q31.3)(wcp5+,wcp13+,RP11-383J16+,RP11-356I16-)

# Ségrégation des résultats d'ACPA...par FISH : Parent asymptomatique

Chromosomes 5 et 13 au caryotype



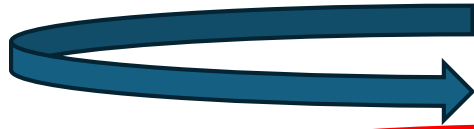
Résultats FISH



**46,X?.ish** der(5)ins(5;13)(q23.3;q31.2q31.3)(wcp5+,wcp13+,RP11-383J16+,RP11-356I16-),  
der(13)ins(13;5)(q31.2;q23.3q23.3)(wcp13+,RP11-356I16+,RP11-383J16-)

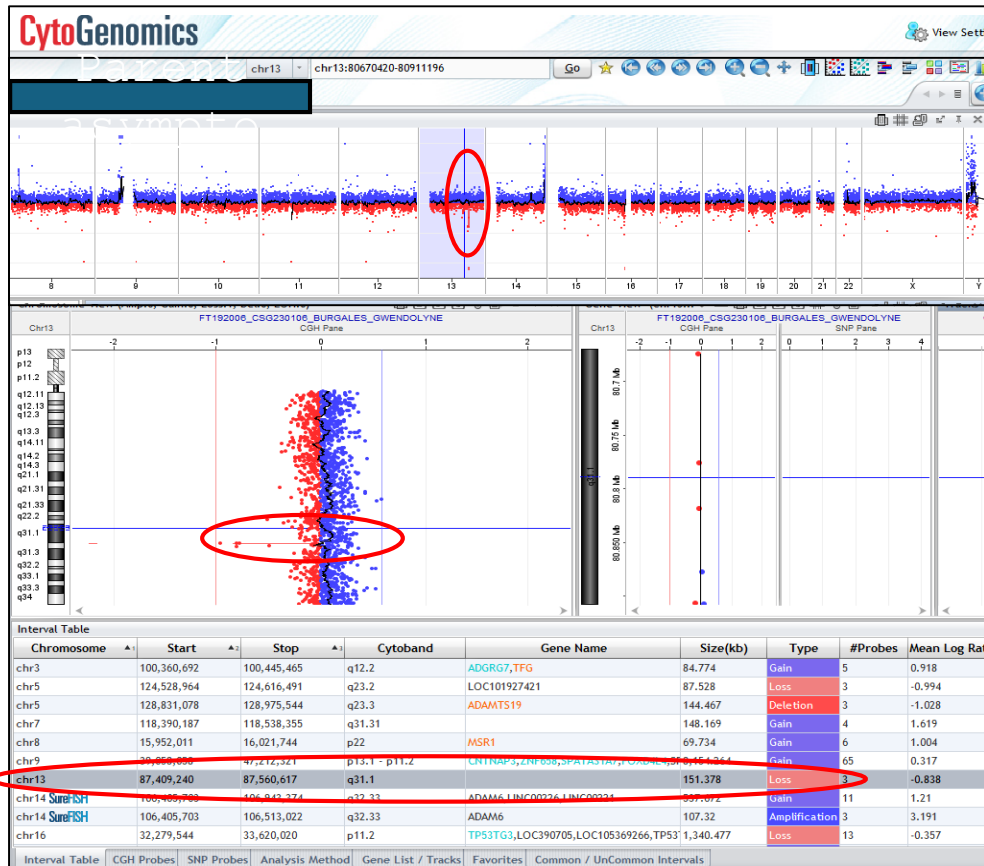
# Ségrégation des résultats d'ACPA...par ACPA : Parent asymptomatique

Devant les résultats du caryotype et de la FISH



**ACPA :**

arr[GRCh37] 5q23.2(124528964\_124616491)x1,  
5q23.3(128831078\_128975544)x1,13q31.1(87409240\_87560617)x1



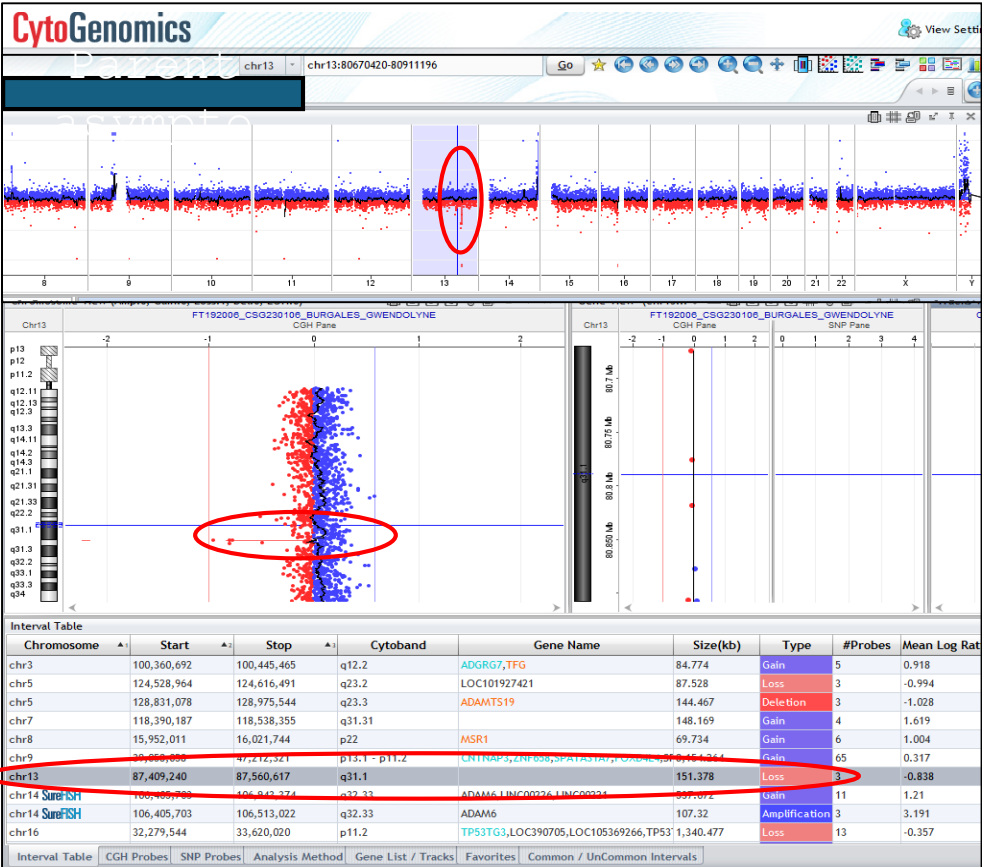
# Ségrégation des résultats d'ACPA...par ACPA : Parent asymptomatique

Devant les résultats du caryotype et de la FISH



ACPA :

arr[GRCh37] 5q23.2(124528964\_124616491)x1,  
5q23.3(128831078\_128975544)x1,13q31.1(87409240\_87560617)x1

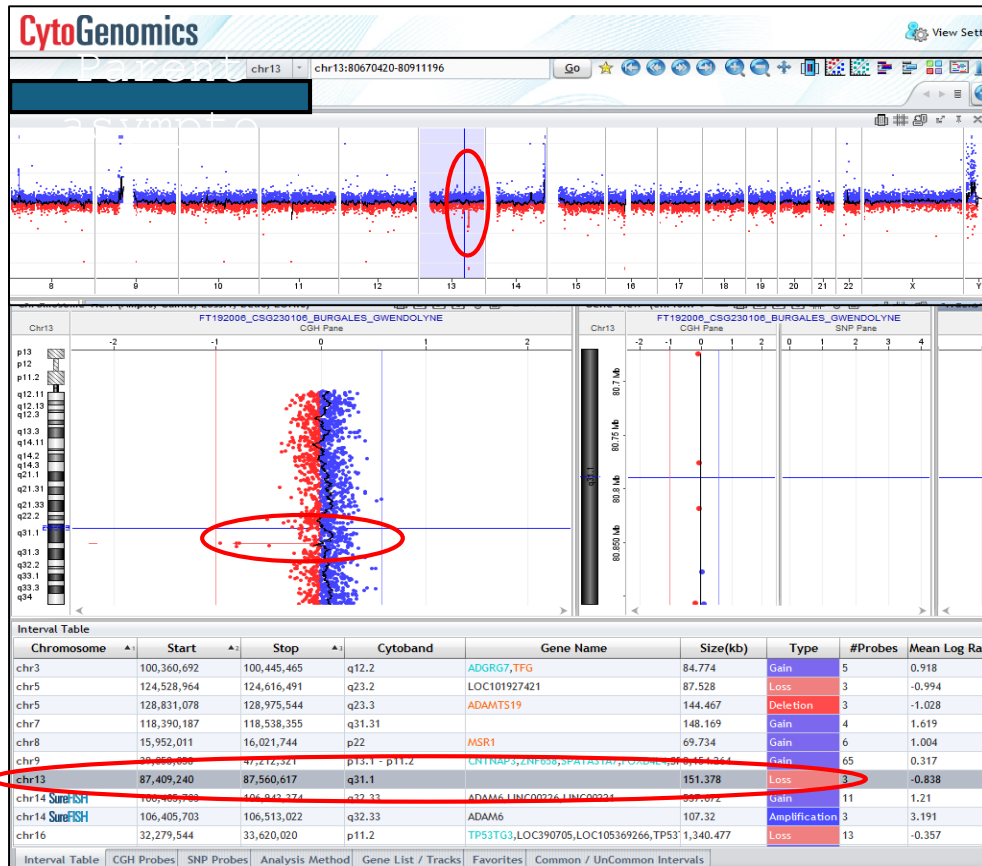
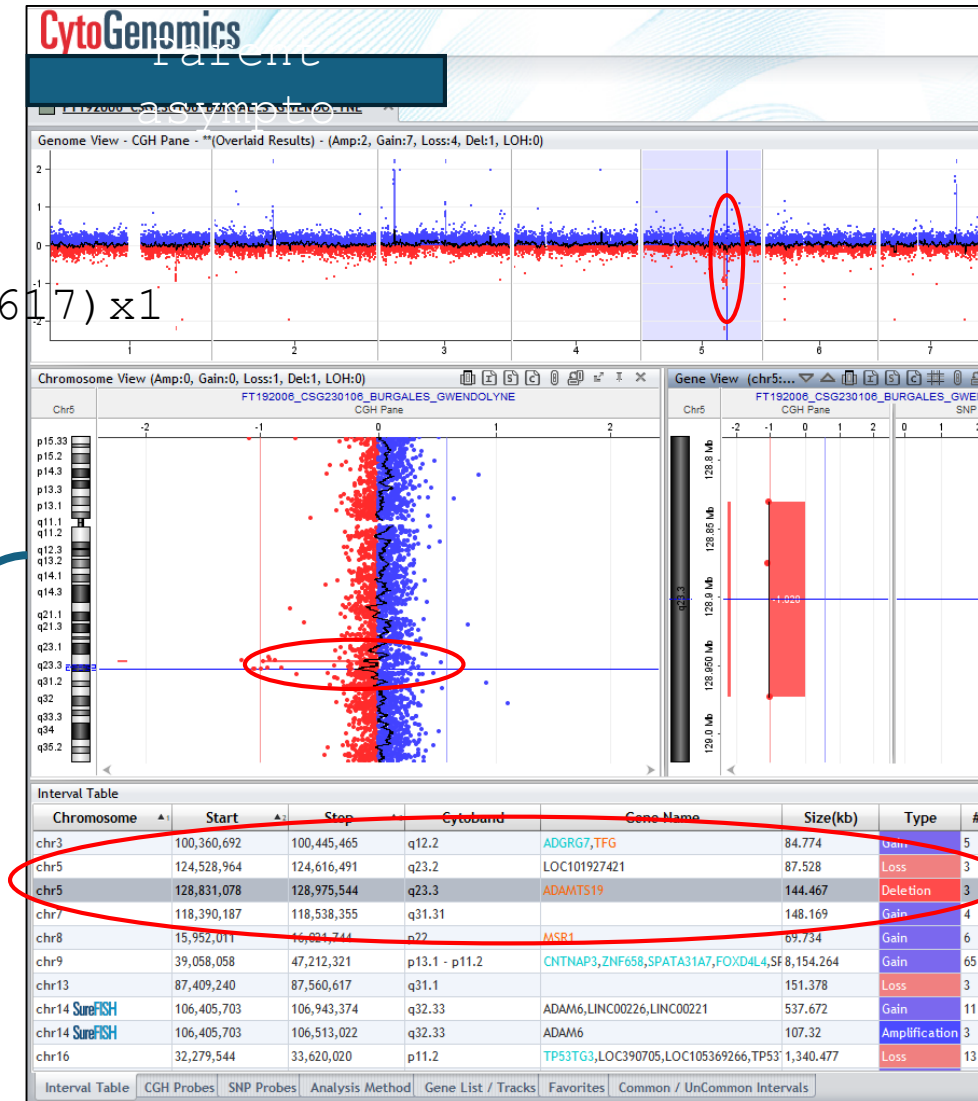


# Ségrégation des résultats d'ACPA...par ACPA : Parent asymptotique

Devant les résultats du caryotype et de la FISH

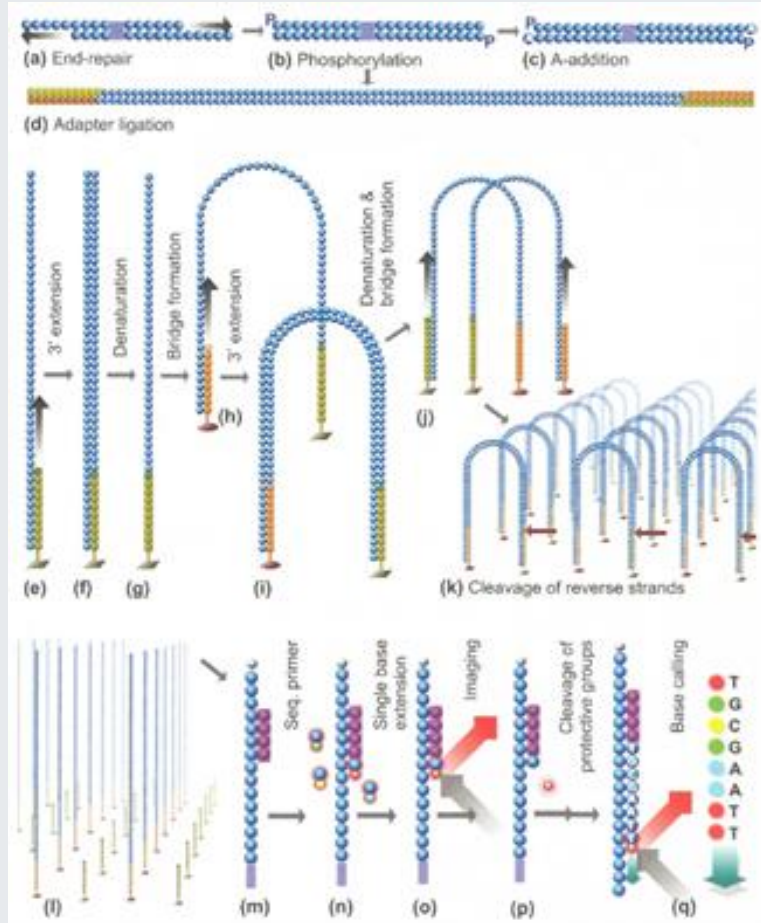
ACPA :

arr[GRCh37] 5q23.2(124528964\_124616491)x1,  
5q23.3(128831078\_128975544)x1,13q31.1(87409240\_87560617)x1



Et du coup... génome aussi !!!  
Pour CI et parent asymptotique

# Petit rappel sur la technologie de séquençage (I)



(a) Les morceaux d'ADN coupés sont réparés et complétés au niveau de leurs extrémités chevauchantes. On parle de « blunting ».

(b) - (c) Les extrémités 3' sont phosphorylées de façon à pouvoir continuer la synthèse et à incorporer une base A (Adénine).

(d) Les adaptateurs peuvent alors se lier. Cette ligation permet d'amplifier l'ADN à partir de deux amorces spécifiques de chacun des adaptateurs.

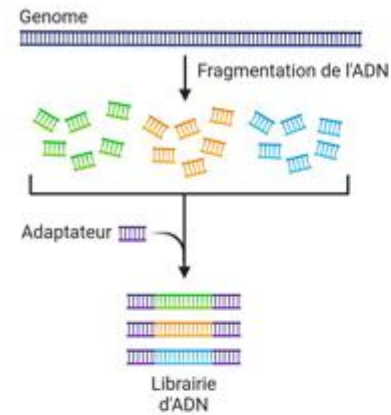
(e) - (l) Les différents fragments ainsi formés se fixent sur les séquences complémentaires des adaptateurs localisés sur une matrice. La PCR « bridge » de 35 cycles peut alors démarrer à partir de l'amorce spécifique de l'adaptateur fixé à la matrice. Cette étape est une succession de synthèse de brins complémentaires, de dénaturation, de libération du brin d'origine et de formation de ponts par fixation de la séquence complémentaire du second adaptateur.

(m) - (p) Le séquençage se fait après un blocage des extrémités 3' à l'aide d'une amorce de séquençage et de base fluorescente. L'élongation est d'au moins 50pb.

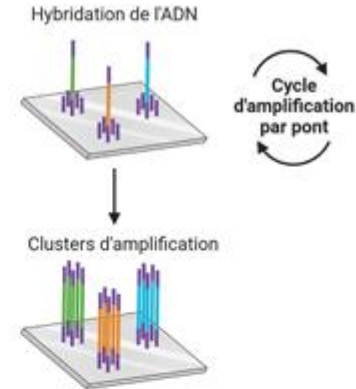
(q) L'assemblage se fait en PE2x100, c'est-à-dire paired-ends reads de 2x100 nucléotides.

# Petit rappel sur la technologie de séquençage (I)

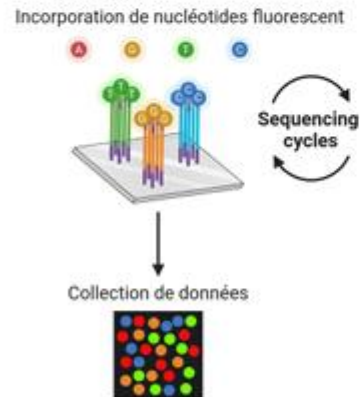
## ① Préparation de la librairie



## ② Amplification de l'ADN



## ③ Séquençage de la librairie



## ④ Alignement et analyse

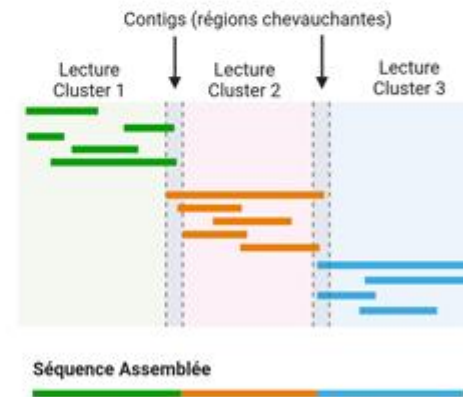
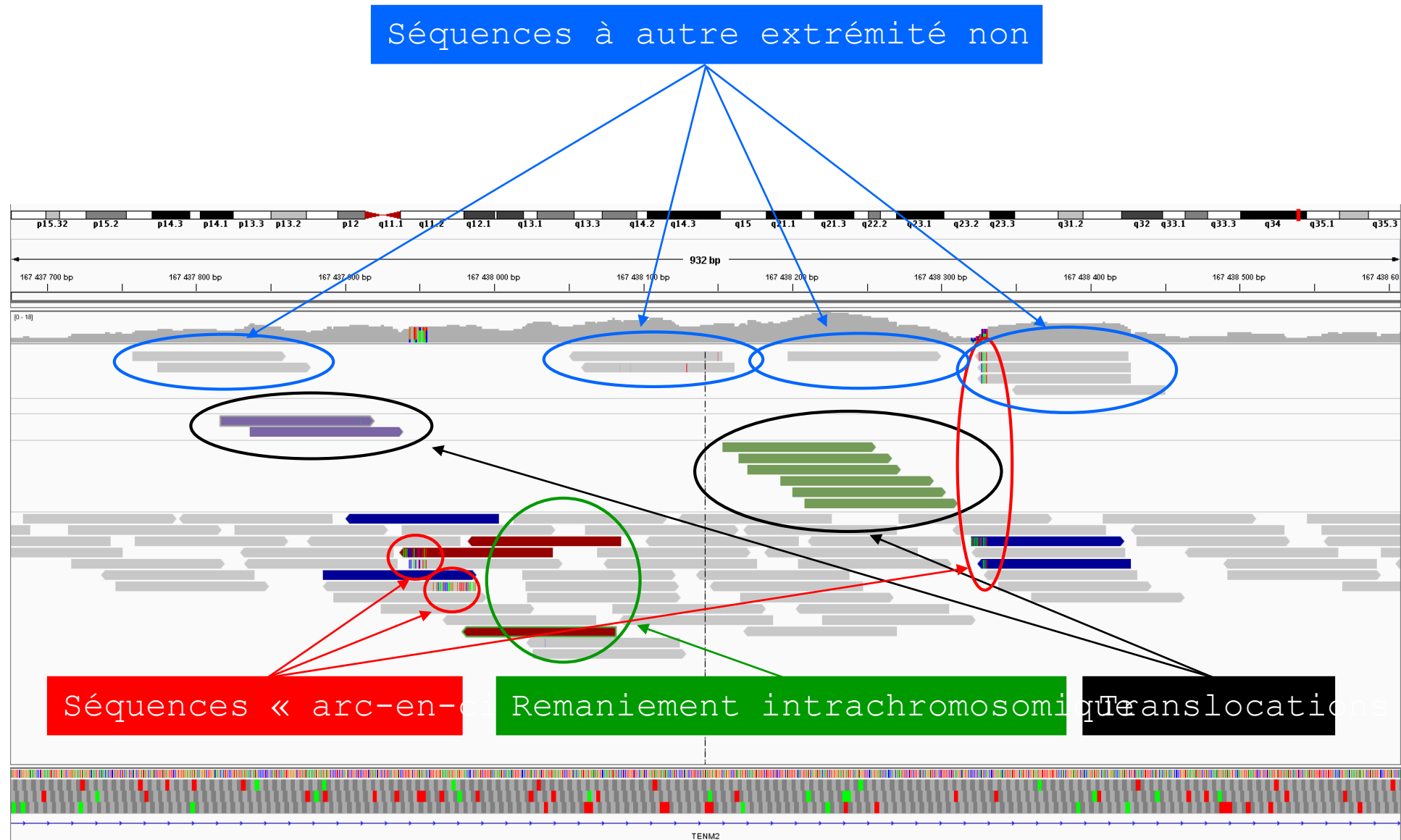


Figure 18: Principe du séquençage de Nouvelle Génération (NGS) par la technologie Illumina

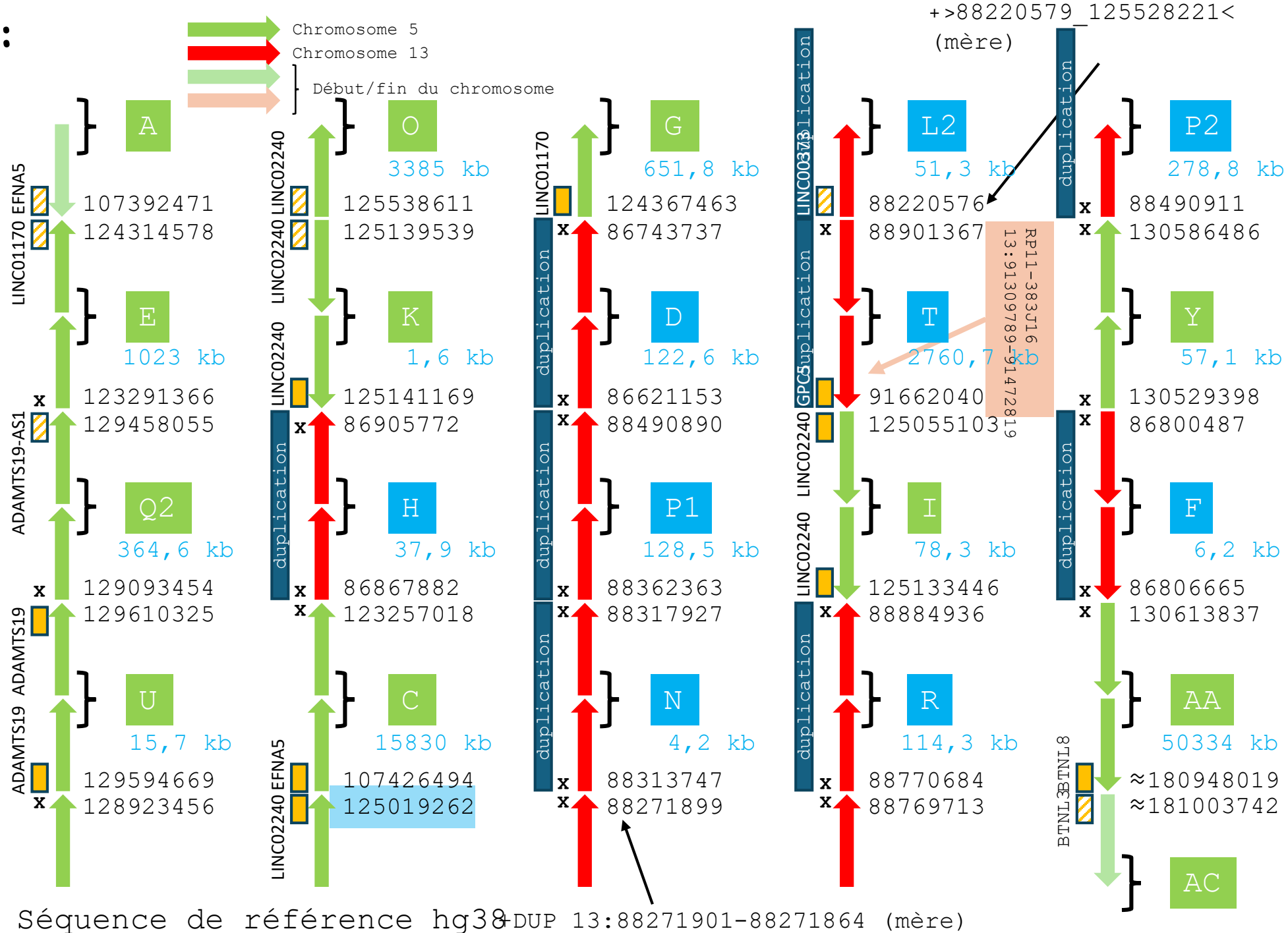
# Quelques images observées sur IGV (logiciel de visualisation des résultats)

## 1- en cytogénétique



## Résultat du CI:

Der(5)



# Interprétation des résultats du génome : Délétions sur le chromosome 5 (5q23.3)

| N°  | LOCALISATION            | TAILLE (kb) | GÈNES                                  | OMIM gène        | OMIM morbide                                   |
|-----|-------------------------|-------------|----------------------------------------|------------------|------------------------------------------------|
| 5B  | 107392471-<br>107426494 | 34,0        | <i>EFNA5</i>                           | 601535           |                                                |
| 5D  | 123257018-<br>123291366 | 34,3        | -                                      |                  |                                                |
| 5F  | 124314578-<br>124367463 | 52,9        | <i>LINC01170</i>                       |                  |                                                |
| 5H  | 125019262-<br>125055103 | 35,9        | <i>LINC02240</i>                       |                  |                                                |
| 5J  | 125133446-<br>125139539 | 6,1         | <i>LINC02240</i>                       |                  |                                                |
| 5L* | 125141169-<br>125538611 | 397,4       | <i>LINC02240</i><br>(+10<br>lncRNA)    |                  |                                                |
| 5P* | 128923456-<br>129093454 | 170,0       | <i>SLC27A6</i>                         | 604196           |                                                |
| 5T  | 129458055-129594669     | 136,6       | <i>ADAMTS19</i><br><i>ADAMTS19-AS1</i> | 607513           | 620067<br>Dysplasie<br>cardiovasculaire 2 (AR) |
| 5V* | 129610325-<br>130529398 | 919,1       | <i>ADAMTS19</i><br><i>MINAR2</i>       | 607513<br>620215 | 620067, Dysplasie cardiovasculaire<br>(AR)     |

Surligné jaune → voir alignements plus bas

\* Délétion plus grande chez le fils (cf. reconstructions chromosomiques)

# Interprétation des résultats du génome : Duplications sur le chromosome 13 (13q31.2q31.3)

| N°       | LOCALISATION      | TAILLE (kb) | GÈNES                                   | OMIM gène        | OMIM morbide                                                  |
|----------|-------------------|-------------|-----------------------------------------|------------------|---------------------------------------------------------------|
| 13D      | 86621153-86743737 | 122,6       | -                                       |                  |                                                               |
| 13F      | 86800487-86806665 | 6,2         | -                                       |                  |                                                               |
| 13H      | 86867882-86905772 | 37,9        | -                                       |                  |                                                               |
| 13L<br>2 | 88220576-88271899 | 51,3        | <i>LINC00373</i>                        | -                |                                                               |
| 13N      | 88313747-88317927 | 4,2         | -                                       |                  |                                                               |
| 13P<br>1 | 88362363-88490890 | 128,5       | -                                       |                  |                                                               |
| 13P<br>2 | 88490911-88769713 | 278,8       | <i>LINC00433</i>                        | -                |                                                               |
| 13R      | 88770684-88884936 | 114,3       | -                                       |                  |                                                               |
| 13T      | 88901367-91662040 | 2760,7      | <i>GPC5</i><br><i>MIR17HG</i><br>(+ nbx | 602446<br>609415 | Suppresseur de tumeur<br>614326 : syndrome de Feingold 2 (AD) |

# Interprétation des résultats du génome :

## Formule et conclusion (I)

```
NC_000005.10:g.107392471_130613837delins  
[NC_000005.10:g.123291366_124314578inv;  
NC_000005.10:g.129093454_129458055inv;  
NC_000005.10:g.129594669_129610325inv;  
NC_000005.10:g.125538611_128923456inv;  
NC_000005.10:g.125139539_125141169;  
NC_000013.11:g.86867882_86905772inv;  
NC_000005.10:g.107426494_123257018inv;  
NC_000005.10:g.124367463_125019262inv;  
NC_000013.11:g.86621153_86743737inv;  
NC_000013.11:g.88362363_88490890inv;  
NC_000013.11:g.88313747_88317927inv;  
NC_000013.11:g.88220576_88271899inv;  
NC_000013.11:g.88901367_91662040;  
NC_000005.10:g.125055103_125133446;  
NC_000013.11:g.88770684_88884936inv;  
NC_000013.11:g.88490911_88769713inv;  
NC_000005.10:g.130529398_130586486inv;  
NC_000013.11:g.86800487_86806665
```



# Interprétation des résultats du génome : Formule et conclusion (II)

Mise en évidence une transmission déséquilibrée du remaniement chromosomique complexe impliquant les chromosomes 5 et 13, observé chez l'un des parents (cf. diapo suivante). Ainsi, le patient est porteur :

- de deux chromosomes 13 considérés comme normaux,
- et, du dérivé 5 du remaniement chromosomique parental, qui s'est complexifié.

Le dérivé 5 présente donc :

1- Plusieurs délétions

- Quelques délétions de plus grande taille par rapport à celles observées chez le parent porteur du remaniement complexe initial.
- Quelques délétions d'origine parentale ne sont plus retrouvées du fait de la complexification du dérivé 5.

2- Plusieurs insertions, inversées ou non, intra-chromosomiques et inter-chromosomiques

➔ interruption de certains gènes sur le dérivé du chromosome 5 et conduisant à des duplications de taille variable issues du chromosome 13.

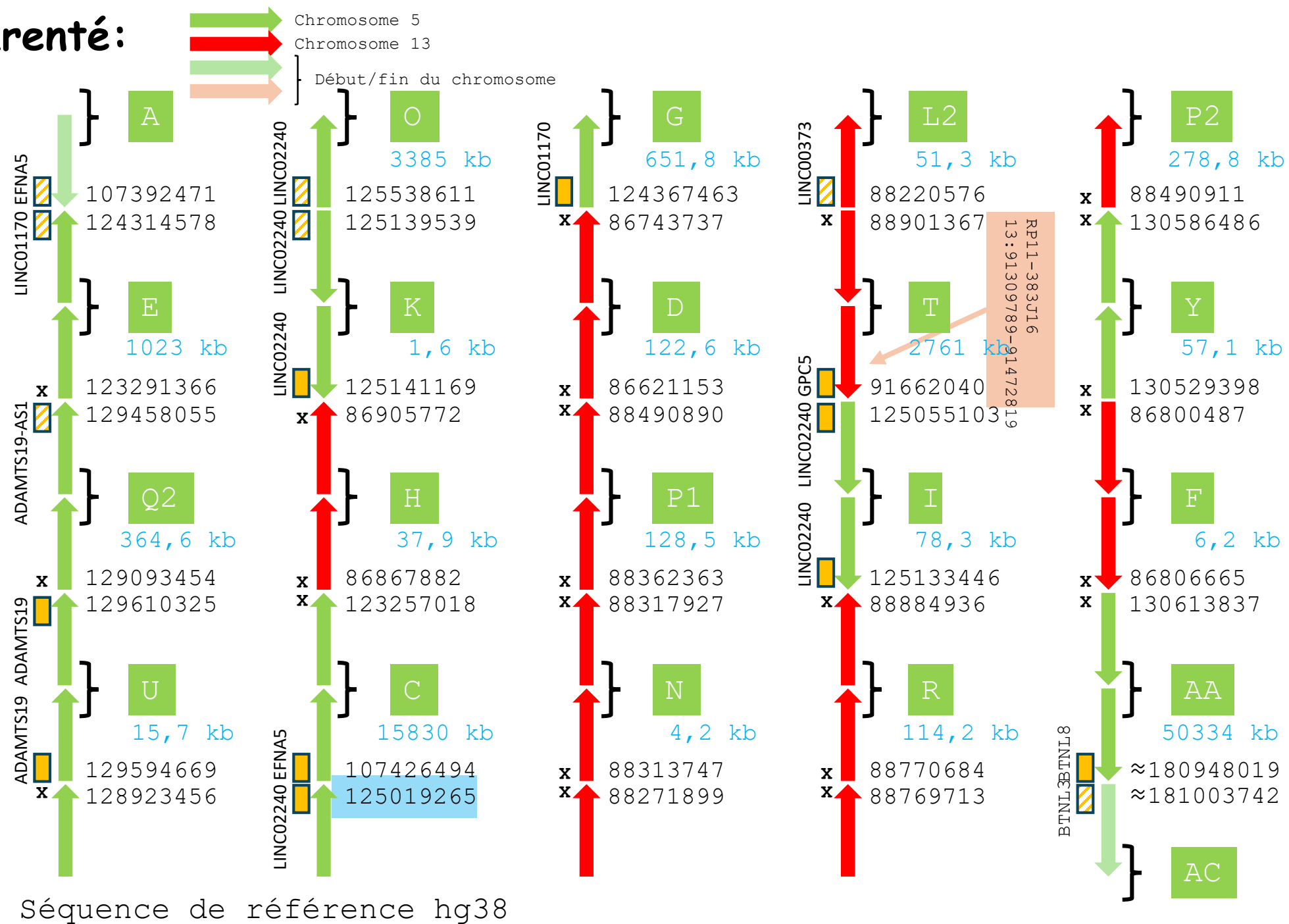
**Intérêt particulier** : cluster de gènes *MIR17HG*

1- dans la **duplication 13q31.2q31.3** (chr13:g.88901367-91662040) = **celle de l'ACPA**.

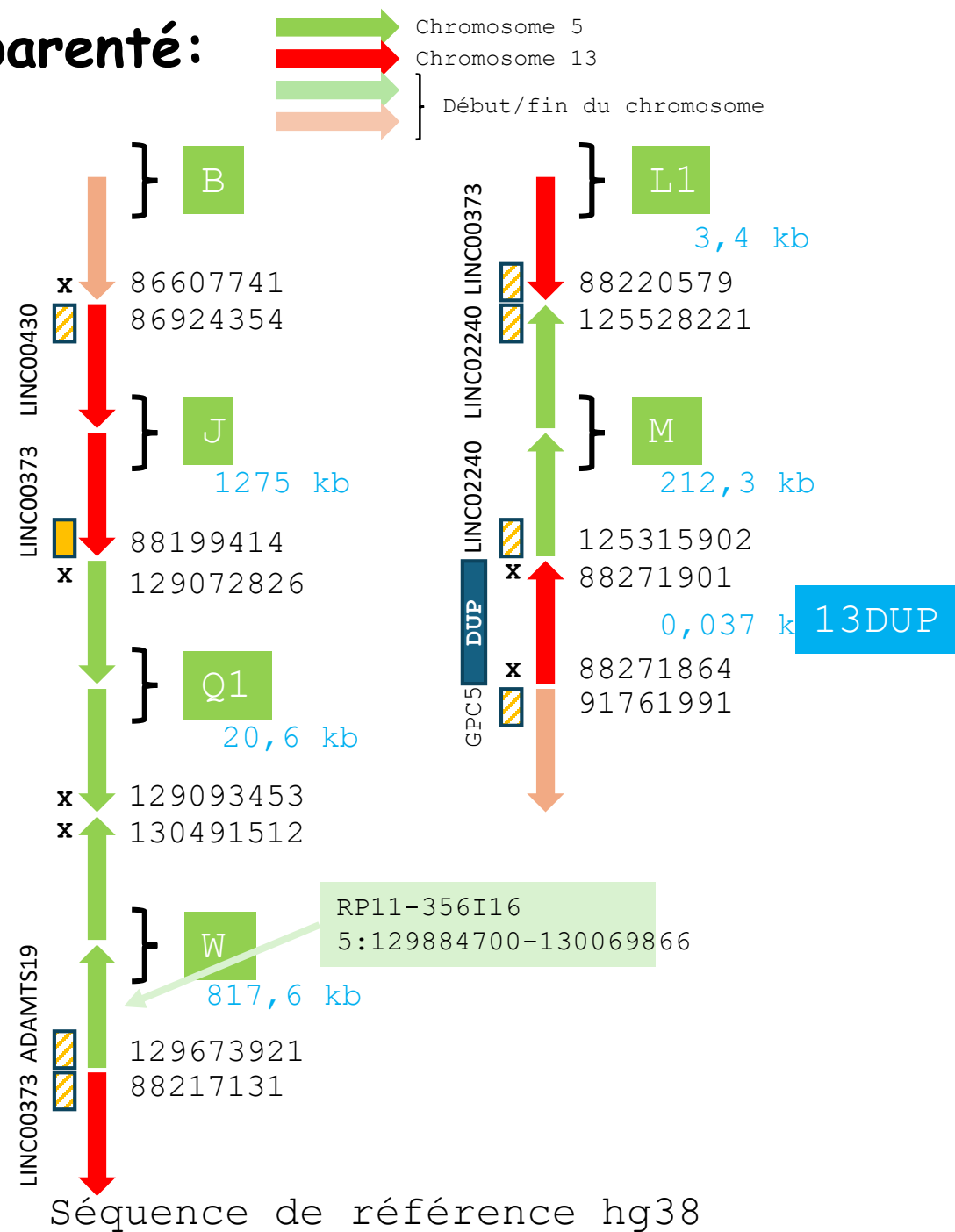
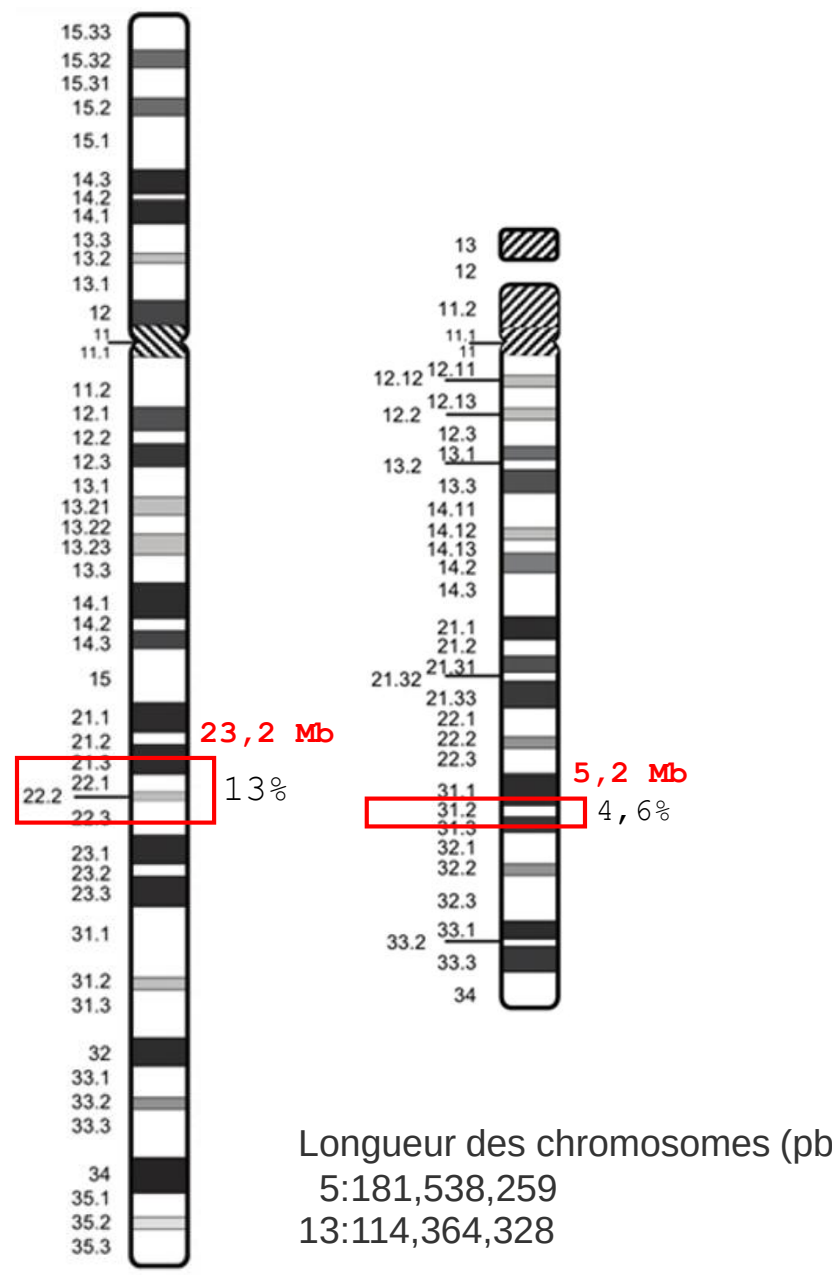
2- duplication de la région *MIR17HG* ➔ Syndrome de Feingold de type 2 (OMIM# 614326).

3- NB : existence de duplications incluses dans celle-ci associées à des anomalies du

# Résultat de l'apparenté: Der(5)



# Résultat de l'apparenté: Der(13)



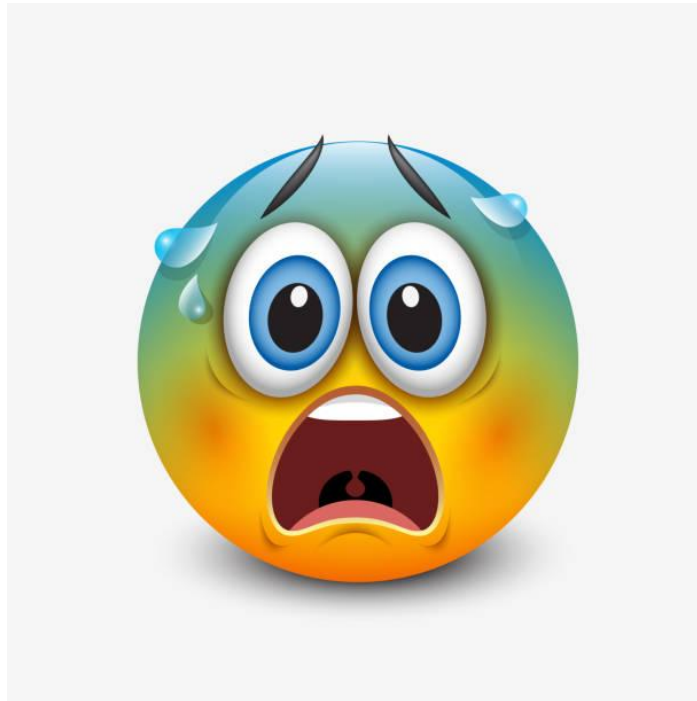
# Interprétation des résultats du génome : Der(5)

```
NC_000005.10:g.107392471_130613837delins  
[NC_000005.10:g.123291366_124314578inv;  
NC_000005.10:g.129093454_129458055inv;  
NC_000005.10:g.129594669_129610325inv;  
NC_000005.10:g.125538611_128923456inv;  
NC_000005.10:g.125139539_125141169;  
NC_000013.11:g.86867882_86905772inv;  
NC_000005.10:g.107426494_123257018inv;  
NC_000005.10:g.124367463_125019265inv;  
NC_000013.11:g.86621153_86743737inv;  
NC_000013.11:g.88362363_88490890inv;  
NC_000013.11:g.88313747_88317927inv;  
NC_000013.11:g.88220576_88271899inv;  
NC_000013.11:g.88901367_91662040;  
NC_000005.10:g.125055103_125133446;  
NC_000013.11:g.88770684_88884936inv;  
NC_000013.11:g.88490911_88769713inv;  
NC_000005.10:g.130529398_130586486inv;  
NC_000013.11:g.86800487_86806665]
```



# Interprétation des résultats du génome : Der(13)

```
NC_000013.11:g.86607741_91761991delins  
[NC_000013.11:g.86924354_88199414;  
NC_000005.10:g.129072826_129093453;  
NC_000005.10:g.1295673921_130491512inv;  
NC_000013.11:g.88217131_88220579;  
NC_000005.10:g.125315902_125528221inv;  
NC_000005.10:g.125528221_125528222ins[NC_000013.11:g.88271864_88271901inv;  
NC_000013.11:g.88271864_88271901inv];
```



# Interprétation des résultats du génome :

## Conclusion

Mise en évidence deux dérivés chromosomiques issus d'un remaniement chromosomique complexe de type chromotrypsis impliquant un chromosome 5 et un chromosome 13.

1- dérivé 5 :

Plusieurs délétions.

Plusieurs insertions, inversées ou non, intra-chromosomiques et inter-chromosomiques → interruption de certains gènes dont le gène OMIM *GPC5* (Glypican 5) dont 3 exons sont délétés sur le chromosome 13.

2- dérivé 13 :

Plusieurs délétions

Une duplication inversée au niveau de la région 13q31.2.

Et, plusieurs insertions de régions chromosomiques du chromosome 5 et du chromosome 13 → interruption du gène OMIM *GPC5* dont 3 exons sont délétés.

### CONCLUSION :

- ✓ Remaniement chromosomique très complexe sans conséquence phénotypique chez l'apparenté
- ✓ risque de complexification au cours de la méiose, en plus d'un risque de



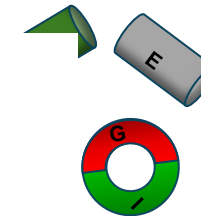
(Stephens et al. Cell 2011; Kloosterman et al. Hum Mol Genet 2011)

A diagram of a chromosome represented as a horizontal bar with a blue oval in the center. The chromosome is divided into 12 colored segments labeled A through L. Red lightning bolts indicate recombination events between segments C-D, D-E, E-F, F-G, G-H, H-I, I-J, J-K, and K-L.

## Endogenstationäre (personliche) und

Figure 1: Chromatin accessibility of the 100 most accessible genes across 20 cancer types. The chart shows the percentage of genes with accessible chromatin for each cancer type. The y-axis is 'Chromatin accessibility (%)' from 0 to 100. The x-axis lists 20 cancer types. The legend indicates: Carcinomas (red), CNS tumours (dark blue), Hematopoietic malignancies (purple), Sarcomas (light blue), and Other types of cancer (yellow).

| Cancer Type                           | Chromatin Accessibility (%) |
|---------------------------------------|-----------------------------|
| Soft tissue sarcoma                   | 100                         |
| RNA glioblastoma                      | 85                          |
| CNS glioblastoma                      | 85                          |
| Ovarian serous cystadenocarcinoma     | 75                          |
| Skin melanoma                         | 75                          |
| Lung adenocarcinoma                   | 75                          |
| Breast adenocarcinoma                 | 75                          |
| Bladder urothelial carcinoma          | 70                          |
| Prostate adenocarcinoma               | 65                          |
| Pancreatic adenocarcinoma             | 60                          |
| Lung SCC                              | 55                          |
| Skin squamous cell carcinoma          | 50                          |
| Stomach adenocarcinoma                | 50                          |
| Biliary intrahepatic carcinoma        | 45                          |
| Bladder urothelial carcinoma          | 45                          |
| Uterine sarcoma                       | 45                          |
| Adipocytic sarcoma                    | 40                          |
| Ovarian endometrioid carcinoma        | 35                          |
| Bone sarcoma                          | 35                          |
| Brain anaplastic astrocytoma          | 35                          |
| Brain glioblastoma                    | 30                          |
| Cervix endocervix                     | 30                          |
| Cervix ectocervix                     | 25                          |
| Brain meningioma                      | 25                          |
| Brain oligodendroglioma               | 25                          |
| Bone sarcoma                          | 25                          |
| Brain glioma                          | 25                          |
| Lymph CLL                             | 25                          |
| Pancreatic neuroendocrine             | 20                          |
| Head and neck squamous cell carcinoma | 20                          |
| CNS medulloblastoma                   | 20                          |
| Brain glioma                          | 20                          |
| Thyroid papillary carcinoma           | 15                          |
| Uterine sarcoma                       | 15                          |
| CNS glioblastoma                      | 15                          |
| Myeloid MDS                           | 15                          |
| Myeloid MDS                           | 15                          |



Constitutionnel:

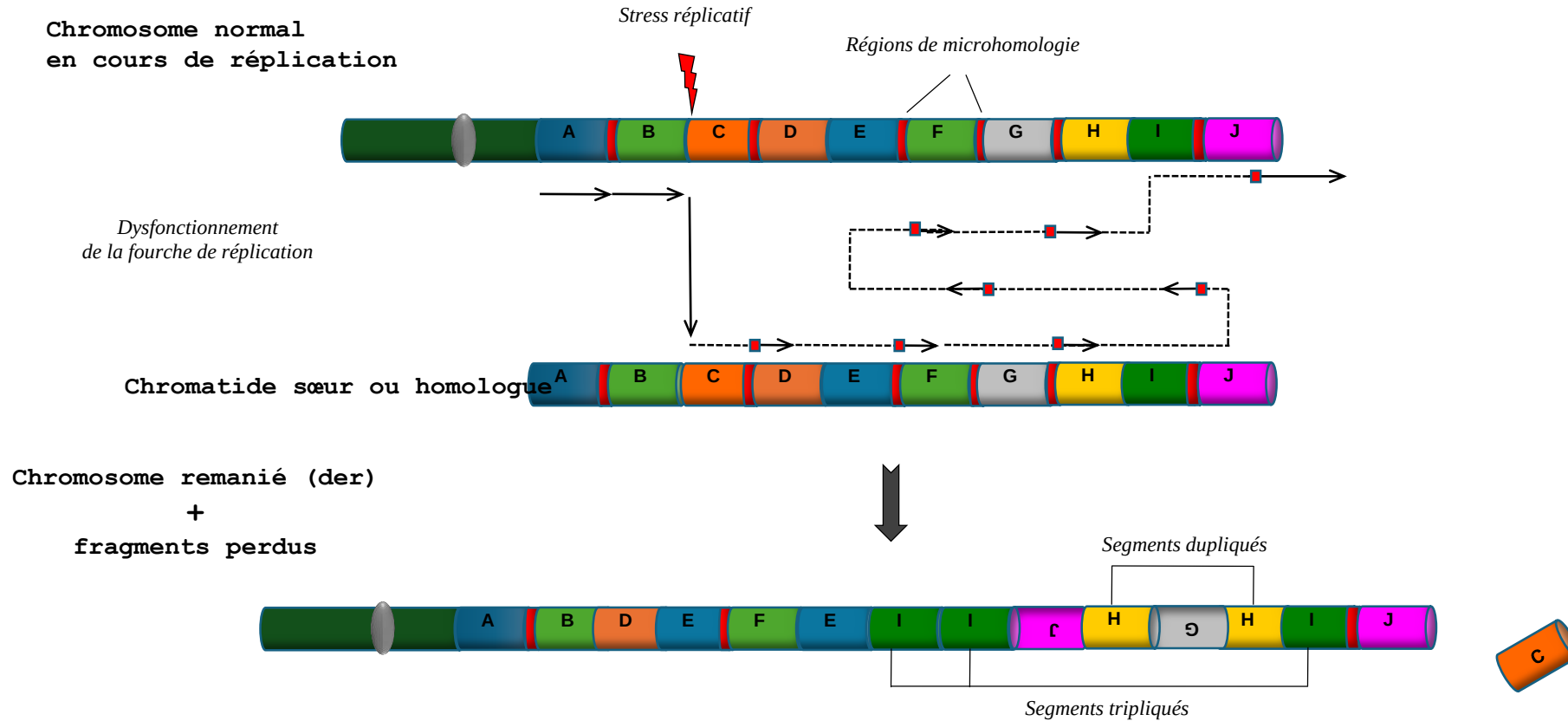
- ~ 5% des réarrangements chromosomiques (équilibrés et déséquilibrés)
- réarrangements moins nombreux et moins complexes qu'en Tumoral
- Hérité ou *de novo* (majoritairement d'origine paternelle)

# Chromoanasyntesis



« **chromo** pour chromosome et **anasyntesis** pour reconstitution »

(Liu et al. Cell 2011; Holland and Cleveland, Nat Med 2012)



- ✓ Formation de clusters de remaniements complexes, caractérisés par des duplications et des triplications.
- ✓ Essentiellement observé en constitutionnel, au cours de la gamétogenèse et du développement embryonnaire précoce. Plus récemment en cancérologie (2 à 5%).

# Chromoplexy

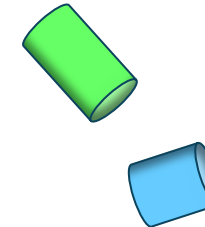


« **Chromo** pour chromosome, **pleko** pour tresser »

(Baca et al. Cell 2013)



Chromosomes remaniés (der)  
+  
Fragments perdus



- ✓ Événement cellulaire unique, catastrophique
- ✓ Formation de « **chaines** » **complexes de translocations** équilibrées inter- ou intra-chromosomiques
- ✓ Jusqu'à 40 translocations simultanées impliquant 8 chromosomes, avec formation de **gènes de fusion**
- ✓ Observé dans 90% des tumeurs prostatiques
- ✓ Observé dans **20% des cancers**: cancers lymphoïdes, du poumon, de la vessie, de la thyroïde, sarcome d'Ewing, mélanome, .. et récemment dans des troubles du neurodéveloppement

# Tableau comparatif



|                                 | Chromothripsis       | Chromoanasythesis                                | Chromoplexy                               |
|---------------------------------|----------------------|--------------------------------------------------|-------------------------------------------|
| Nombre d'évènements             | Unique               | simple ou multiple                               | simple ou multiple                        |
| Nombre de chromosomes impliqués | Low (1-4)            | Low (often 1)                                    | Multiple (>3-5)                           |
| Réarrangements                  | Équilibré, délétions | Équilibré, délétions, duplications/triplications | Translocations équilibrées, +/- délétions |
| Points de cassure               | +++                  | + (5-25) avec des microhomologies                | + (5-25)                                  |
| Mécanismes                      | NHEJ                 | MMBIR/ FoSTes                                    | NHEJ/alt-NHEJ                             |



→ A minima : Chromotrypsis

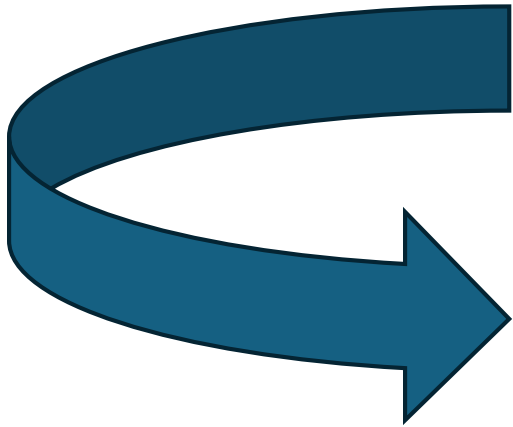
## Conclusion → quelle(s) technique(s) utiliser pour une analyse de la structure chromosomique ?

### ➤ Cas Index :

ACPA : 1 del + 1 dup → Caryotype + FISH : 1 del + 1 dup par insertion → Génome : remaniement complexe

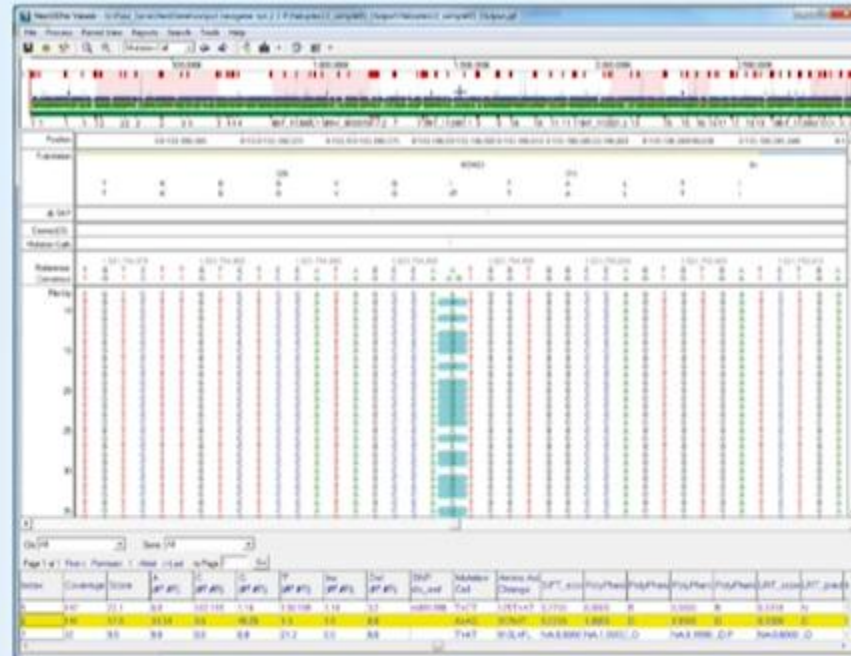
### ➤ Apparenté asymptomatique :

Caryotype + FISH : double insertion réciproque 5<->13 → ACPA : 3 del + 1 dup (non retenue) → Génome : remaniement complexe



Technique avec le plus d'informations = génome

**Image observée sur IGV (logiciel de visualisation des résultats)  
2-en biologie moléculaire**



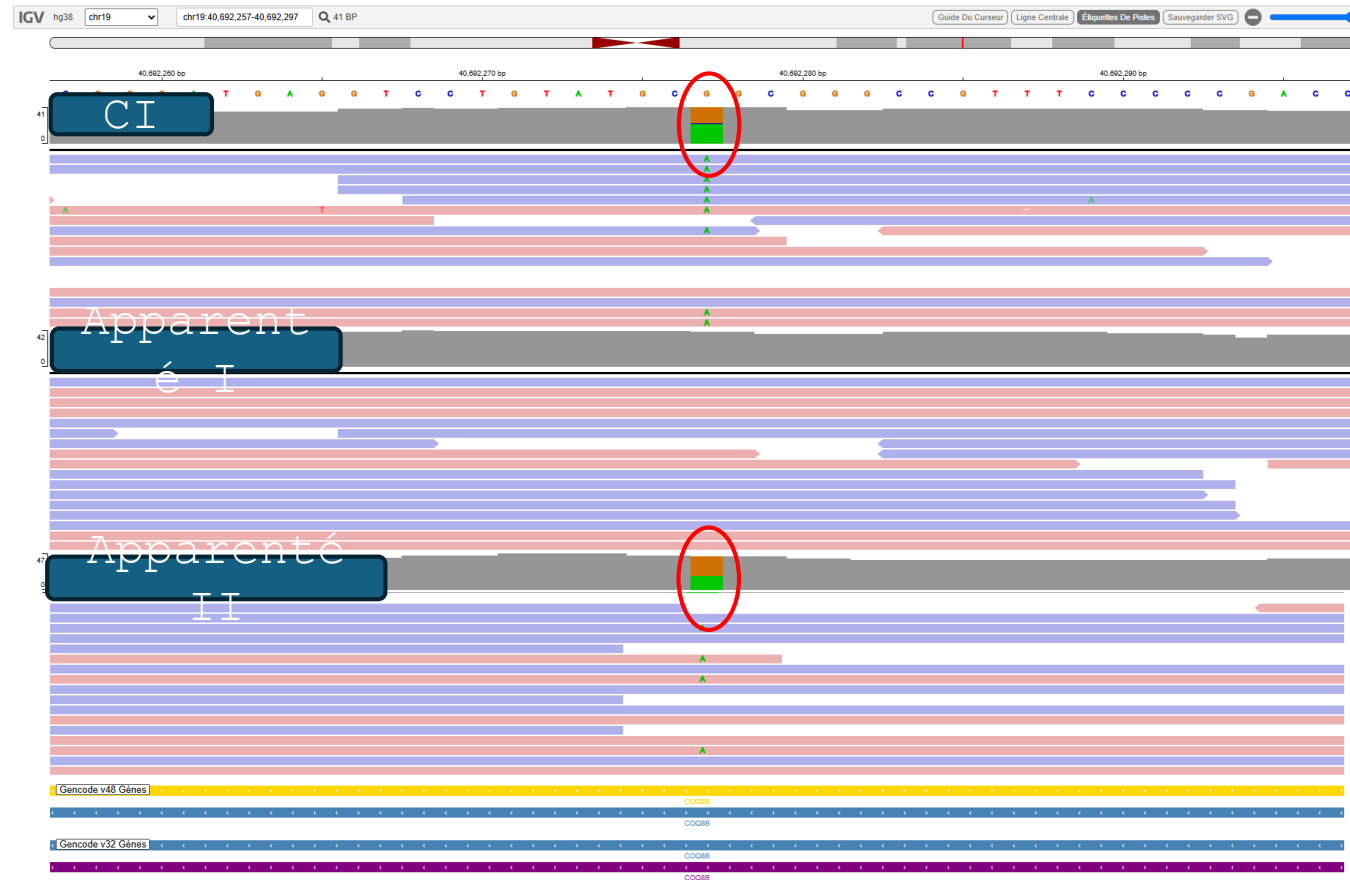
25 « **reads** » wild type  
25 « reads » muté  
Mutation hétérozygote

## Interprétation des résultats du génome : Formule et conclusion (III)

- Variant dans *COQ8B* ACMG classe 3 hérité de l'un des parents :

NM\_024876.4 (COQ8B) :c.1393C>T p.(Arg465Cys)

NC\_000019.10:g.40692277G>A

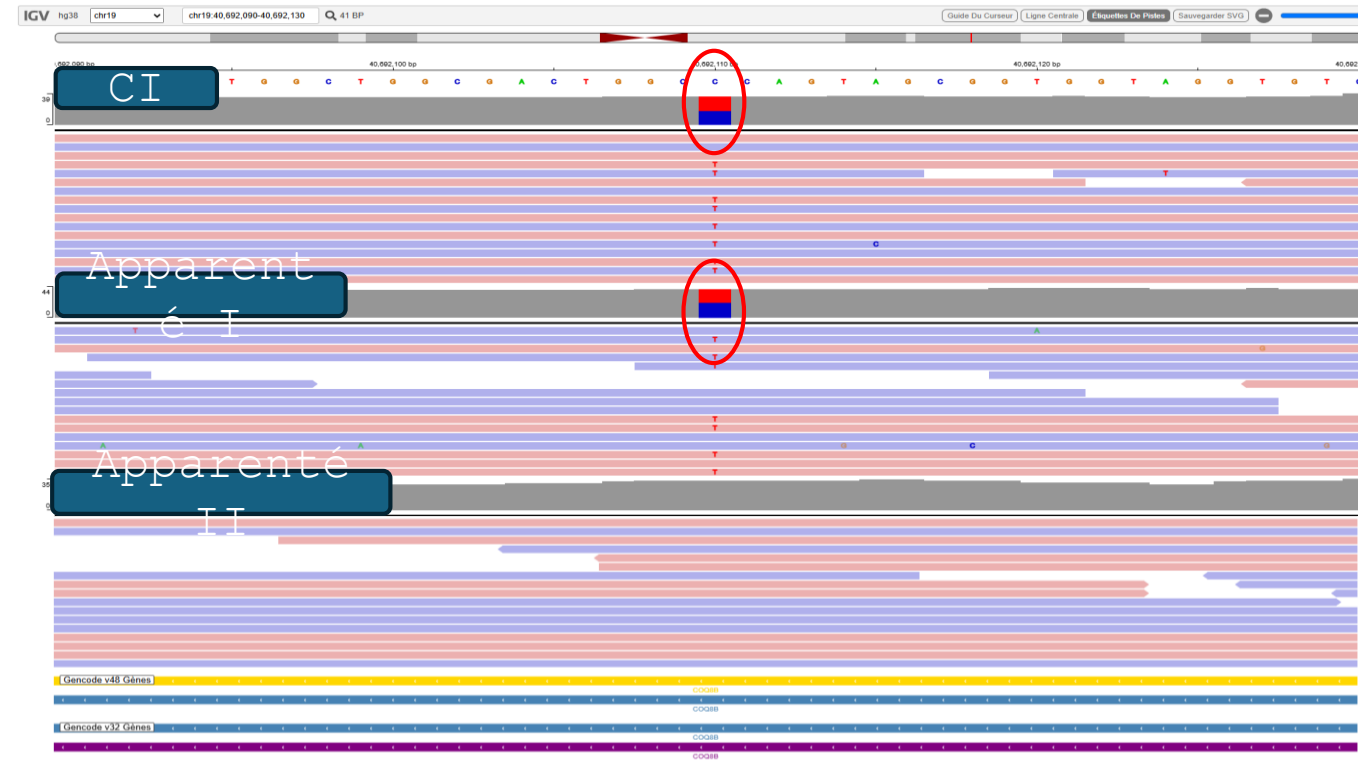


# Interprétation des résultats du génome : Formule et conclusion (IV)

➤ Variant dans *COQ8B* ACMG classe 4 hérité de l'autre des parents :

NM\_024876.4(*COQ8B*):c.1560G>A p.(Trp520Ter)

NC\_000019.10:g.40692110C>T



# Interprétation des résultats du génome : Formule et conclusion (V)

➤ Variant ACMG classe 3 hérité de l'un des parents :

NM\_024876.4(COQ8B):c.1393C>T p.(Arg465Cys)

NC\_000019.10:g.40692277G>A

➤ Variant ACMG classe 4 hérité de l'autre des parents :

NM\_024876.4(COQ8B):c.1560G>A p.(Trp520Ter)

NC\_000019.10:g.40692110C>T

➔ Perte de fonction bi-allélique de *COQ8B* : maladie mitochondriale avec diminution de la biosynthèse du coenzyme Q10 donc manifestation rénale : un syndrome néphrotique survenant entre 10 et 20 ans, résistant aux corticoïdes (PMID : 28125198).

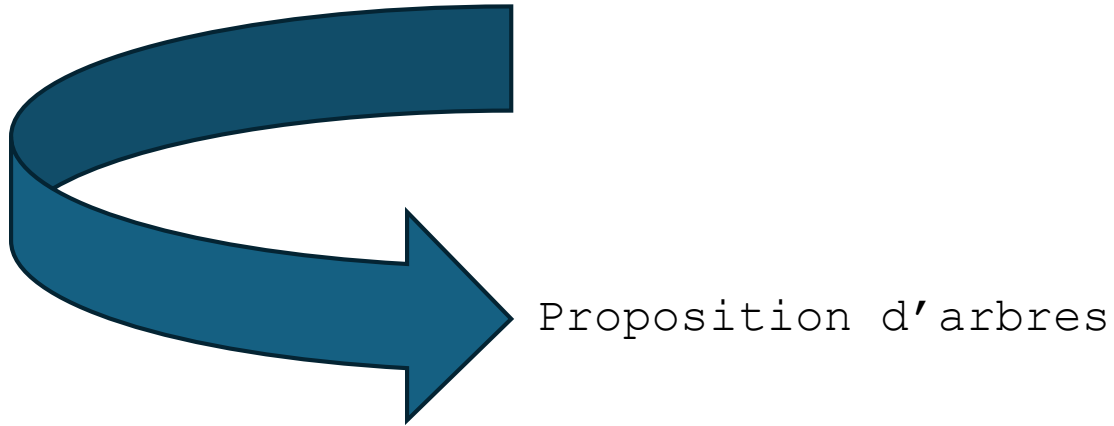
NB : possible rétinite pigmentaire non syndromique, une déficience intellectuelle et des crises d'épilepsies.

 CAT : analyse métabolique du coenzyme Q10 (dosage du coenzyme Q10 et dosage des complexes de la chaîne respiratoire)

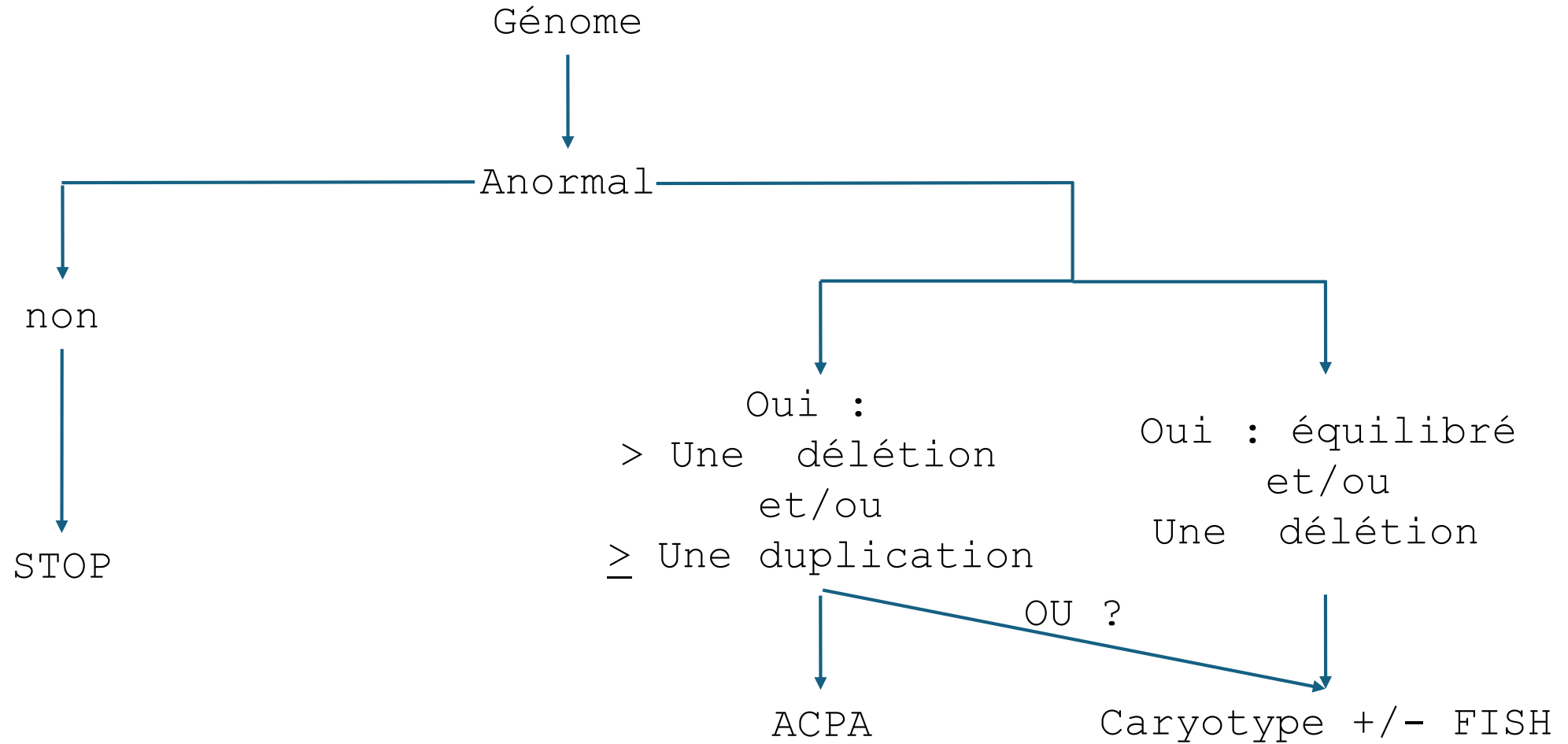
Information supplémentaire grâce au génome

## Donc : quelle(s) technique(s) utiliser ? Quelle stratégie

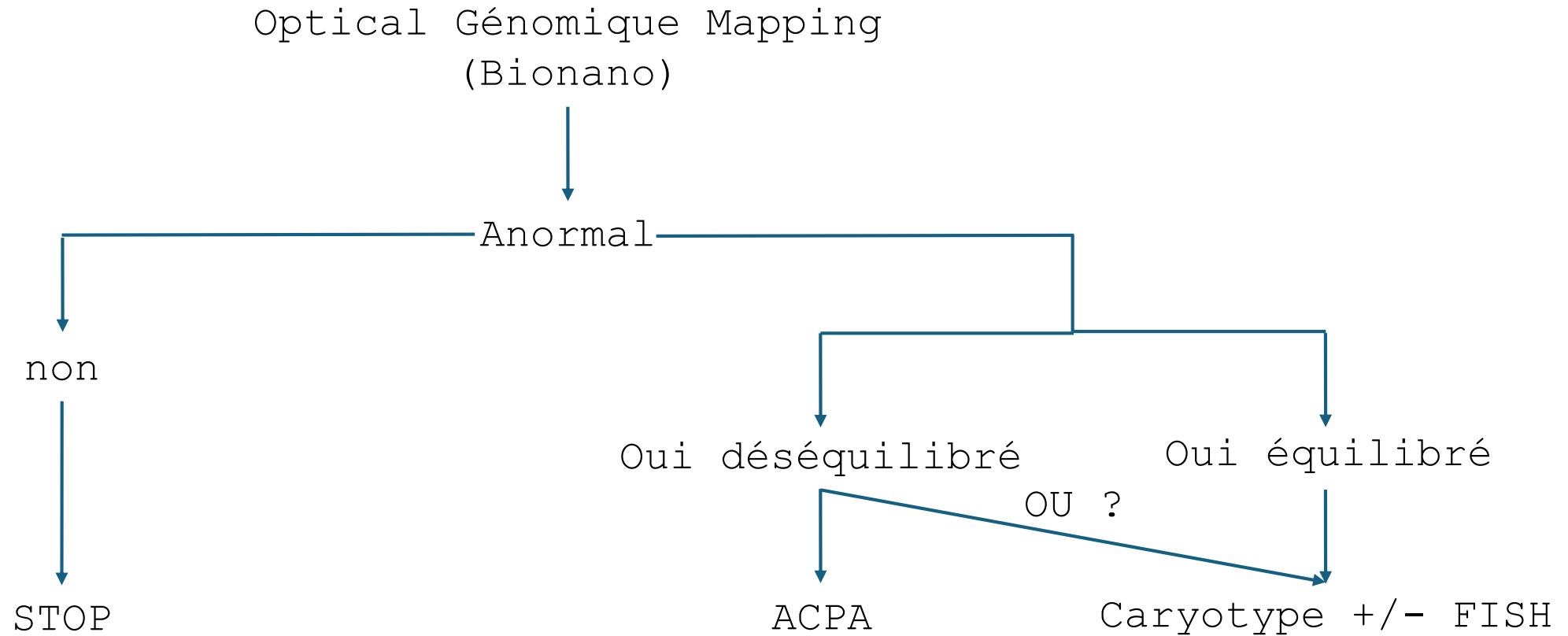
- Génome : on voit « tout »...donc interprétation
- ACPA : seuls les déséquilibres sont vus sans leur localisation
- FISH : on ne voit que ce que nous cherchons
- Caryotype : technique pangénomique de faible résolution



# Cas de DI, malformations...



# Cas d'infertilité, fausses-couches...



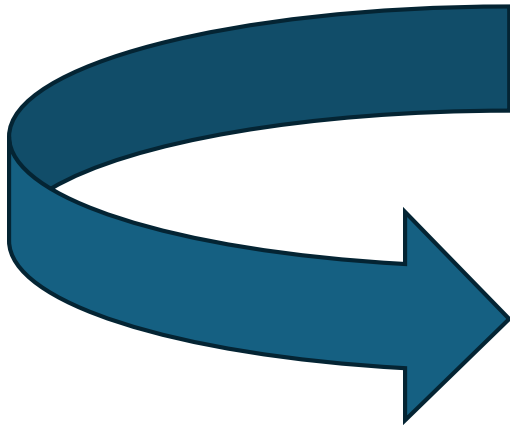
# Donc THE question : Le caryotype (+/- la FISH) sont-ils morts ? (I)

## Avantages

- Caryotype :
  - Pangénomique
  - Remaniement équilibré ET déséquilibré
- FISH :
  - Remaniement équilibré ET déséquilibré
  - « Résolutif »

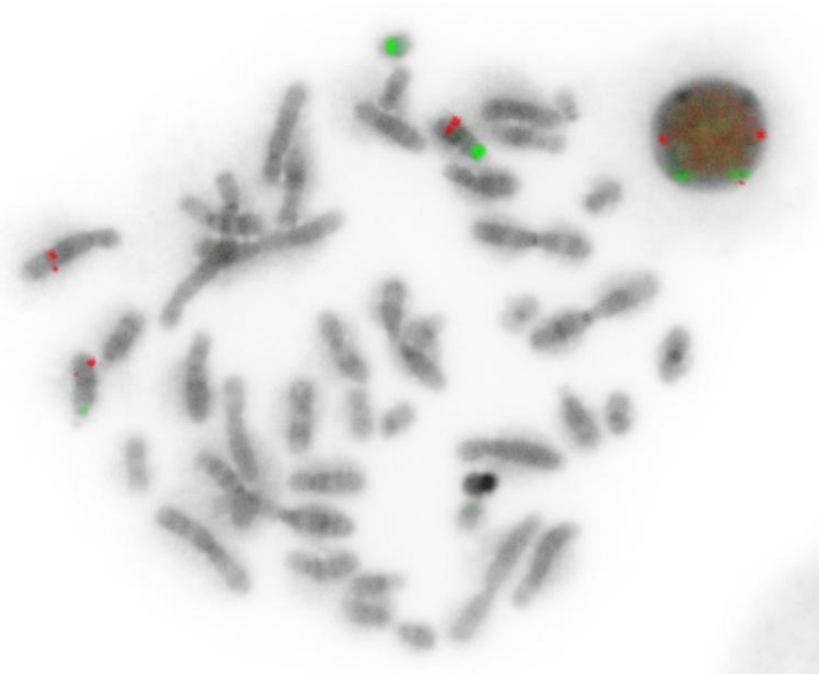
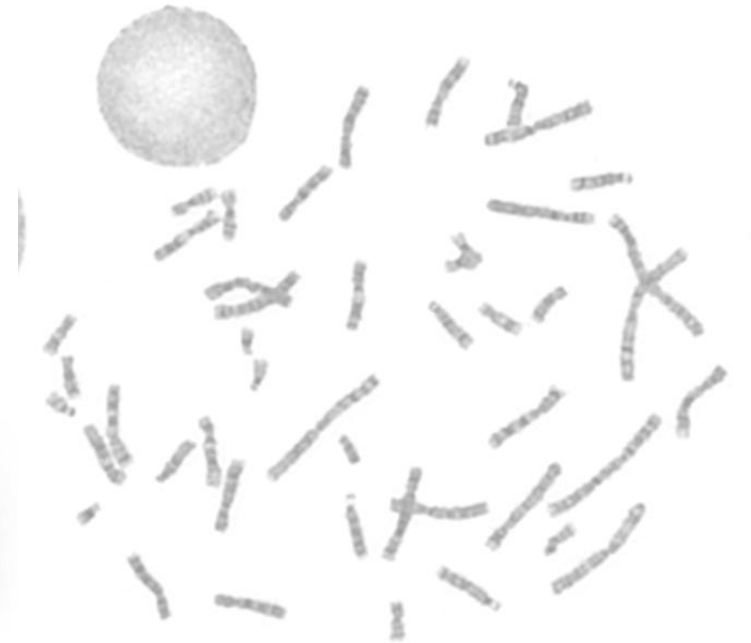
## Inconvénients

- MAIS
  - Peu résolutif 😞
- MAIS
  - On ne trouve que ce qu'on cherche 😞

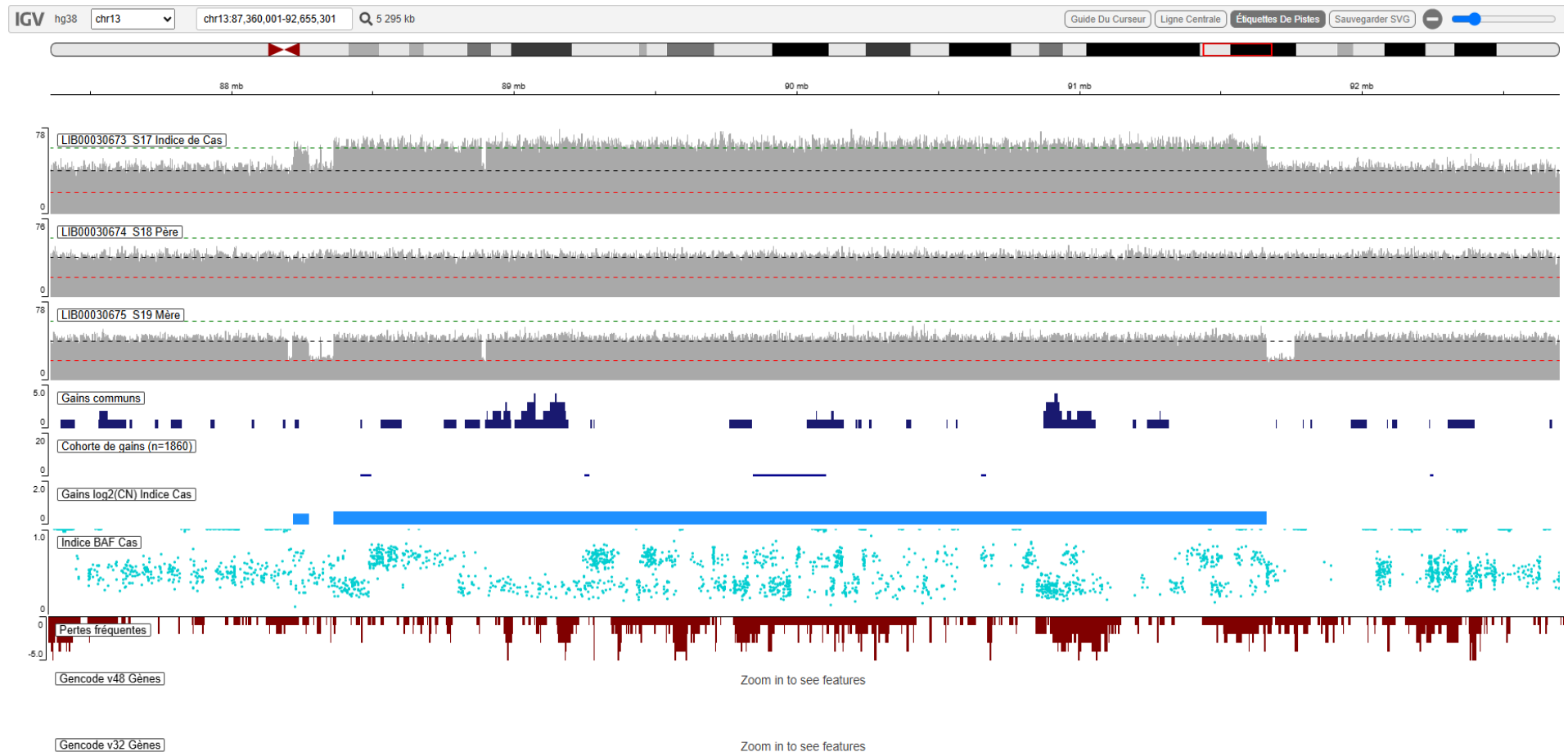


Malgré tout

Il est plus aisé d'interpréter ça...



... que ça



# Donc THE question : Le caryotype (+/- la FISH) sont-ils morts ? (II)

## Avantages

- Caryotype :
  - Pangénomique
  - Remaniement équilibré ET déséquilibré
- FISH :
  - Remaniement équilibré ET déséquilibré
  - « Résolutif »
- ACPA :
  - Pangénomique
  - « Résolutif »

## Inconvénients

MAIS

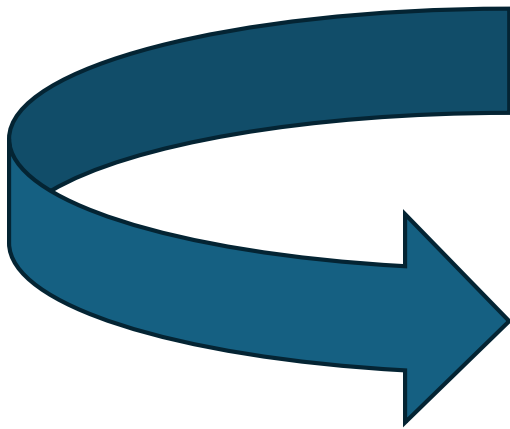
Peu résolutif 😞

MAIS

On ne trouve que ce qu'on cherche 😞

MAIS

Uniquement les remaniements déséquilibrés

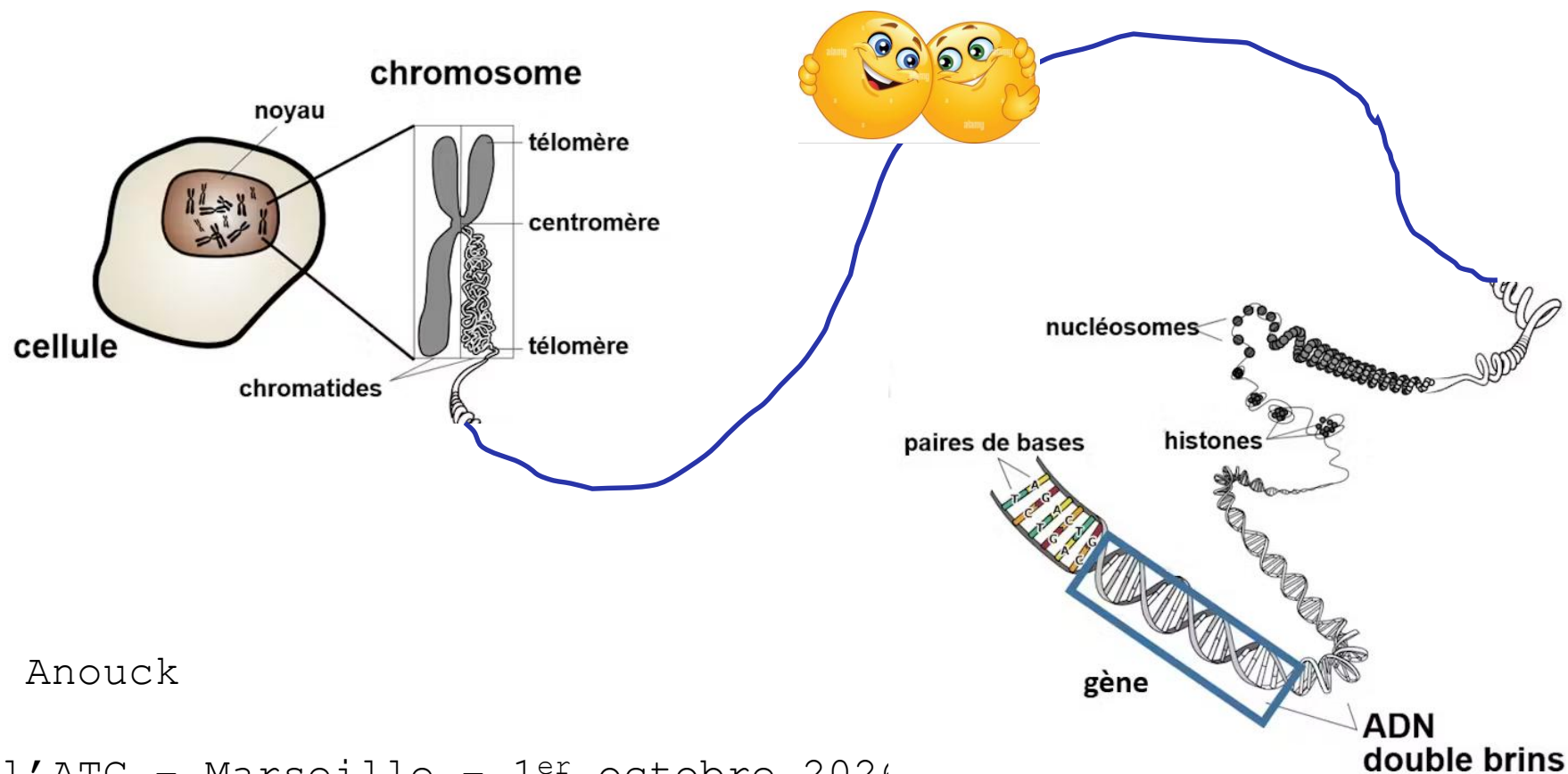


La question ne serait-elle pas plutôt ➔ est-ce

ALORS....

Le Vieux géant et le Scalpel Moléculaire :

Not duel au Cœur du Génome



Dr Schneider Anouck

Colloque de l'ATC - Marseille - 1<sup>er</sup> octobre 2026