

Optical Genomic Mapping (OGM): mise en place et applications

Cartographie optique du génome par Bionano™

Laurène Gérard, Ingénieur Hospitalier

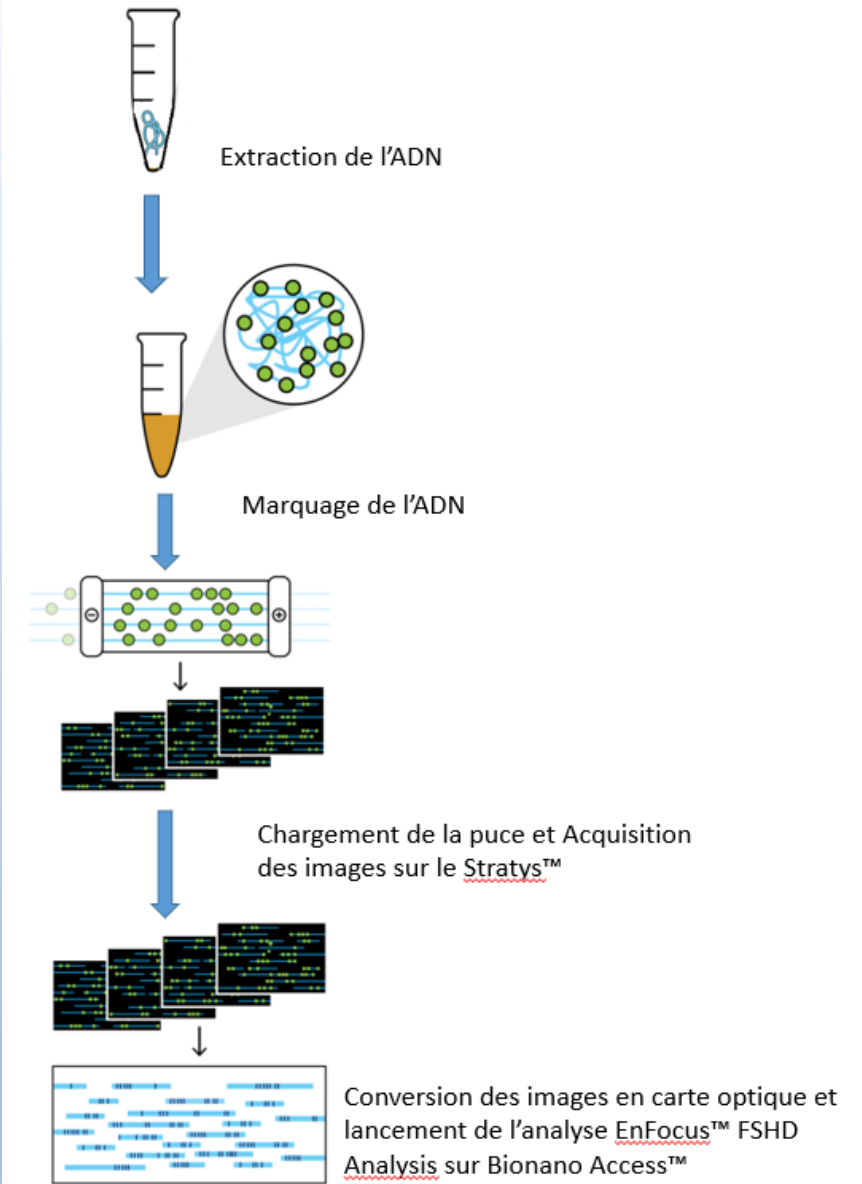
Biogénopôle, plateforme de Médecine Moléculaire et Génomique de Marseille (M2GM), AP-HM Timone

À l'occasion de l'ATC (Association des Techniciens en Cytogénétique)

Le 01-02 octobre 2026

Principe de l'OGM

- Repose sur le **marquage direct** de très longues molécules d'ADN à l'aide d'une enzyme (**DLE-1**). Un **fluorochrome (DL-Green)** est fixé sur des motifs spécifiques et répétés de l'ADN reconnus par cette enzyme. **L'ADN ainsi marqué par des points fluorescents, à la manière d'un code-barres, permet de générer des cartes optiques** qui sont ensuite comparées à des cartes de référence. Cette technique permet de détecter des anomalies de nombre, des anomalies de variations du nombre de copies (CNV), des variants structuraux.
- L'OGM comprend quatre grandes étapes : **l'extraction de l'ADN, le marquage, le chargement et la migration sur puce**, puis **l'analyse des résultats**.



Introduction

Principe OGM

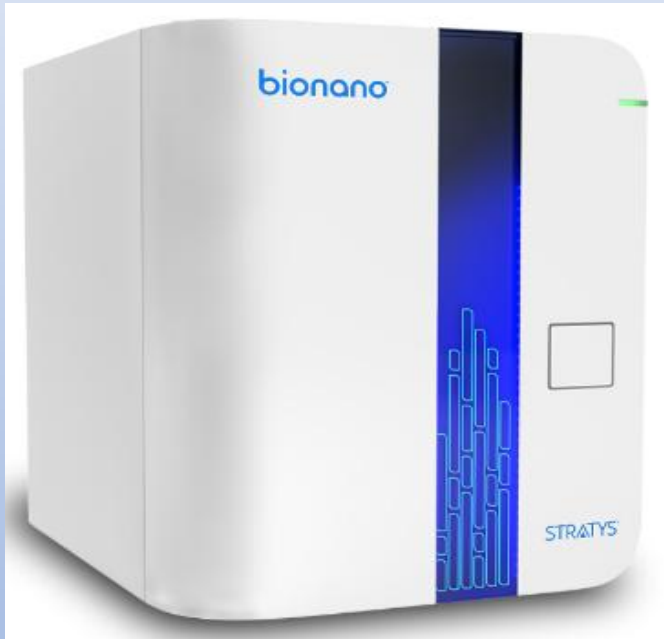
Mise en place

Applications

Conclusion

Mise en place

- Arrivée du système Stratys™ et formation fin novembre 2024



- **Capacité accrue** : 12 puces en position standard et 3 puces en position urgente.
- **Meilleure couverture du génome**, permettant une sensibilité accrue pour la détection des variants rares.
- **Traitement et analyse des données plus rapides.**

Introduction

Principe OGM

Mise en place

Applications

Conclusion

Mise en place

- Première formation avec l'ingénieur de Bionano portant sur l'extraction de l'ADN, le marquage, le chargement des puces, ainsi qu'une initiation au logiciel Bionano Access.
- Cette formation a permis d'identifier deux étapes critiques du processus : **la gestion du pré-analytique et le chargement des puces.**



Introduction

Principe OGM

Mise en place

Applications

Conclusion

Mise en place

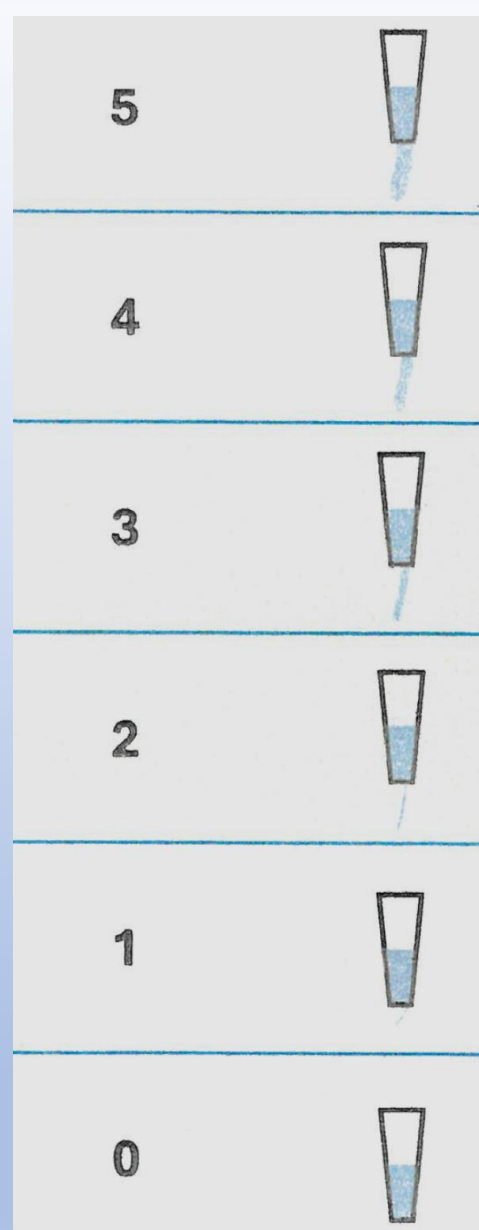
Autres points critiques identifiés :

- **L'extraction de l'ADN :**

- Travailler à partir de **1,5 million de cellules**.
- **Maîtriser les techniques de pipetage** afin d'éviter la fragmentation de l'ADN.
- **Savoir évaluer la viscosité de l'ADN extrait**.
- Réaliser un dosage au **Qubit** : concentration attendue entre **45 et 120 ng/μL**. Une concentration satisfaisante ne garantit toutefois pas une bonne qualité de l'ADN.



Nécessité d'une bonne expertise du technicien.



Introduction

Principe OGM

Mise en place

Applications

Conclusion

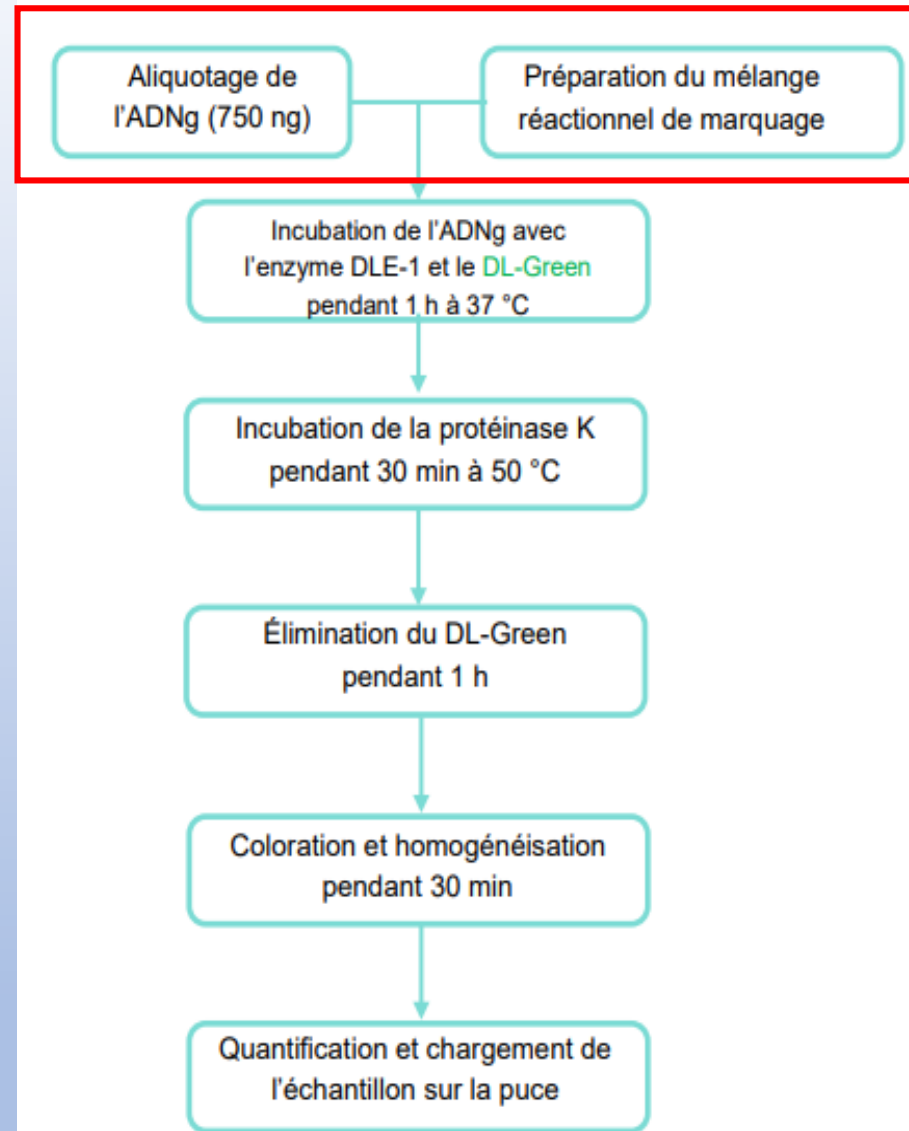
Mise en place

- Le marquage de l'ADN extrait :
 - Mélange de l'ADN visqueux avec le mélange réactionnel.
 - Dosage au **Qubit** : concentration attendue entre **4 et 16 ng/μL**.
 - Une concentration satisfaisante d'ADN marqué ne garantit toutefois pas une bonne qualité de l'ADN marqué.



Nécessité d'une bonne expertise du technicien.

ÉTAPES DU PROTOCOLE



Introduction

Principe OGM

Mise en place

Applications

Conclusion

Mise en place

Actions menées :

- **Amélioration du protocole de dilution des moelles osseuses hyperleucocytaires** afin de mieux gérer la viscosité de l'ADN et de réduire les échecs d'extraction.
- **Adaptation du volume de prise d'essai pour le sang congelé.**
- **Espacement des étapes d'extraction et de marquage.**
- **Augmentation du temps de formation** pour renforcer l'expertise technique des opérateurs.
- Ces mesures permettront une meilleure gestion de la viscosité des échantillons.
- Depuis juin 2025, **ces adaptations ont réduit les échecs** d'extraction, de marquage et de puces. **Les échecs restants sont principalement liés aux puces ou au pré-analytique.**

Introduction

Principe OGM

Mise en place

Applications

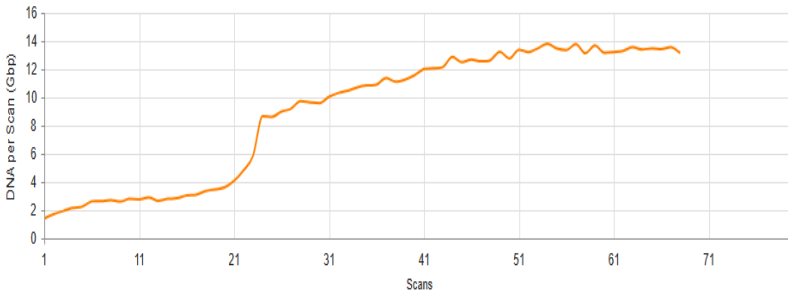
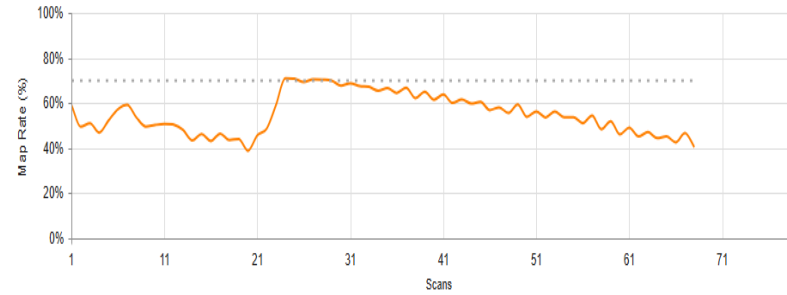
Conclusion

Show Data

Chip: QVVDG3GHN7WPTMGU / LOT#: 23486
Expiration: 01/04/2026 02:00:00
Chip Name: B2023-2464Ter

Instrument: STRATYS-C0018
Run ID: 2cebb8b5-b2cb-4915-acaf-5072d41d0c74

Start Time: 19/05/2025 12:00:55
End Time: 20/05/2025 14:58:03



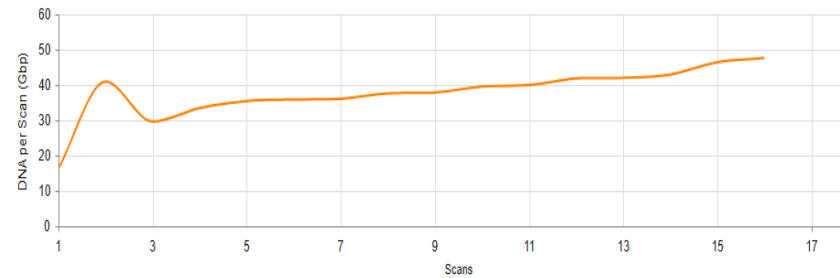
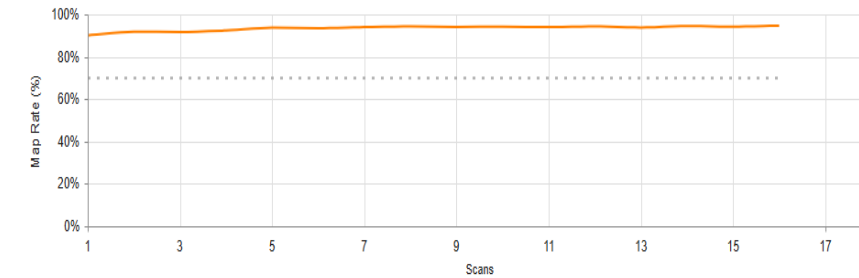
For Run ID: 2cebb8b5-b2cb-4915-acaf-5072d41d0c74				
Plot	Flowcell	Prep	Result	Avg N50 ≥150kbp
	1	Project: FSHD Sample: B2023-2464 Channel: Green 01 Enzyme: DLE-1 Reference: hg38_DLE1_0kb_0labels_masked_YPARs.cmap		527 kbp

Show Data

Chip: 2GBZHSOHN6BPTMGU / LOT#: 23486
Expiration: 01/04/2026 02:00:00
Chip Name: B2025-1609

Instrument: STRATYS-C0018
Run ID: 77b1ec20-57c8-40fa-a877-7d1c4bbadd70

Start Time: 16/05/2025 14:29:39
End Time: 16/05/2025 20:27:27



For Run ID: 77b1ec20-57c8-40fa-a877-7d1c4bbadd70												All runs for chip: 2GBZHSOHN6BPTMGU
Plot	Flowcell	Prep	Result	Avg N50 ≥150kbp	Avg N50 ≥20kbp	Avg Label Density per 100kbp	Avg Map Rate	Est Effective Coverage ≥150kbp	Avg PLV	Avg NLV	DNA Collected ≥150kbp	Cumulative DNA ≥150kbp
	1	Project: FSHD Sample: B2025-1609 Channel: Green 01 Enzyme: DLE-1 Reference: hg38_DLE1_0kb_0labels_masked_YPARs.cmap		320 kbp	261 kbp	15.42	93.6%	183.07 X	5.5%	9.9%	603.755 Gbp	Collected: 604 Gbp Target: 600 Gbp Percent: 100.63 %

Après

Introduction

Principe OGM

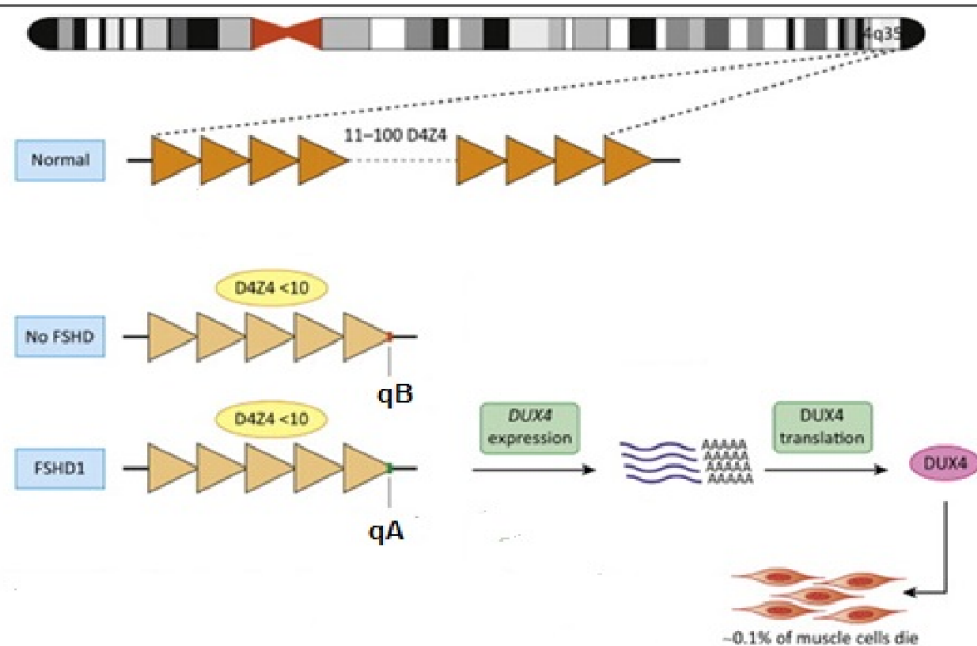
Mise en place

Applications

Conclusion

Applications : diagnostic FSHD

La FSHD est une **dystrophie musculaire héréditaire à transmission autosomique dominante** qui affecte principalement les **muscles de la face, des épaules et des bras**, mais peut également toucher les membres inférieurs. Il s'agit d'une maladie évolutive et asymétrique. La pénétrance est incomplète, avec l'existence de porteurs asymptomatiques, et l'expressivité clinique est variable.



- Anomalie génétique localisée en 4q35-qter
- Séquence répétée D4Z4 de 3,3 kb
- Deux haplotypes : qA et qB
- Allèle normal : ≥ 11 unités D4Z4
- Allèle pathogène (FSHD1) : 1 à 9 unités D4Z4 sur un haplotype permissif 4qA
- Forte homologie avec la région subtélomérique 10qter
- Analyse spécifique par le **pipeline FSHD Focus** de Bionano.

Introduction

Principe OGM

Mise en place

Applications

Conclusion

Bionano EnFocus™ FSHD Analysis Report

Experiment information

Sample name: B2025-4441
Enzyme used: DLE-1
Instrument serial number: STRATYS-C0018
Chip ID: XM6NVB6HN7QYTMGU (Flowcell 1)
Run ID: 29199f62-217d-41e7-8f4d-fb26745834fd
Date of data collection: 2025-12-02 05:50:14 PM
Version of ICS software: ICS # Software Version: " 3.8.2.1-release2_Solve3.8.2.1-06-26-24-rel"

Overall sample quality metrics

Inferred sex of sample: male
Assessment of molecule quality: PASS
Assessment of stable regions of the genome: PASS

Analysis information

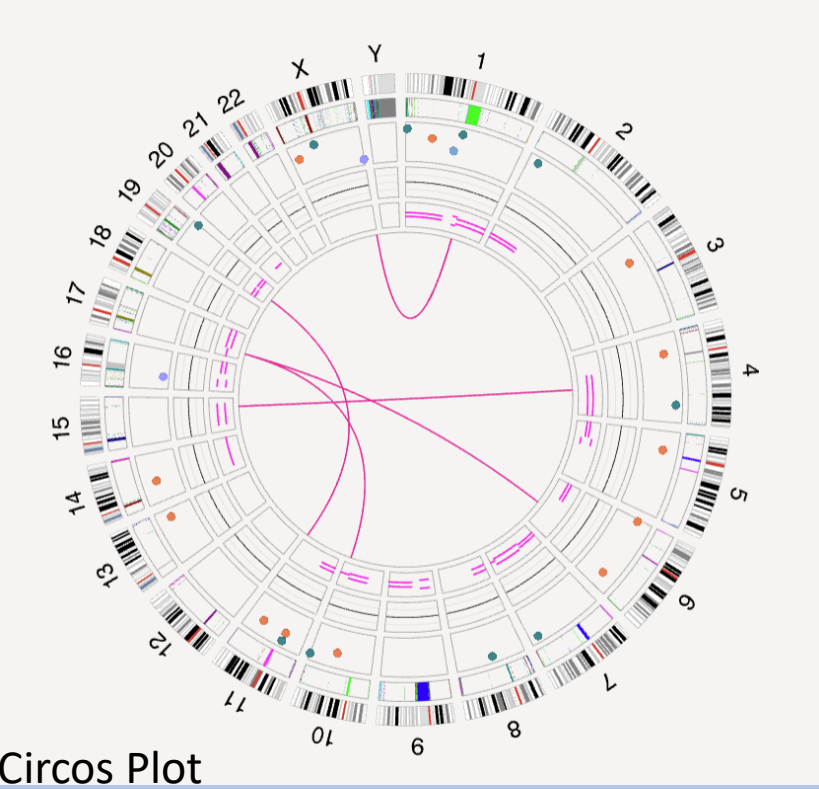
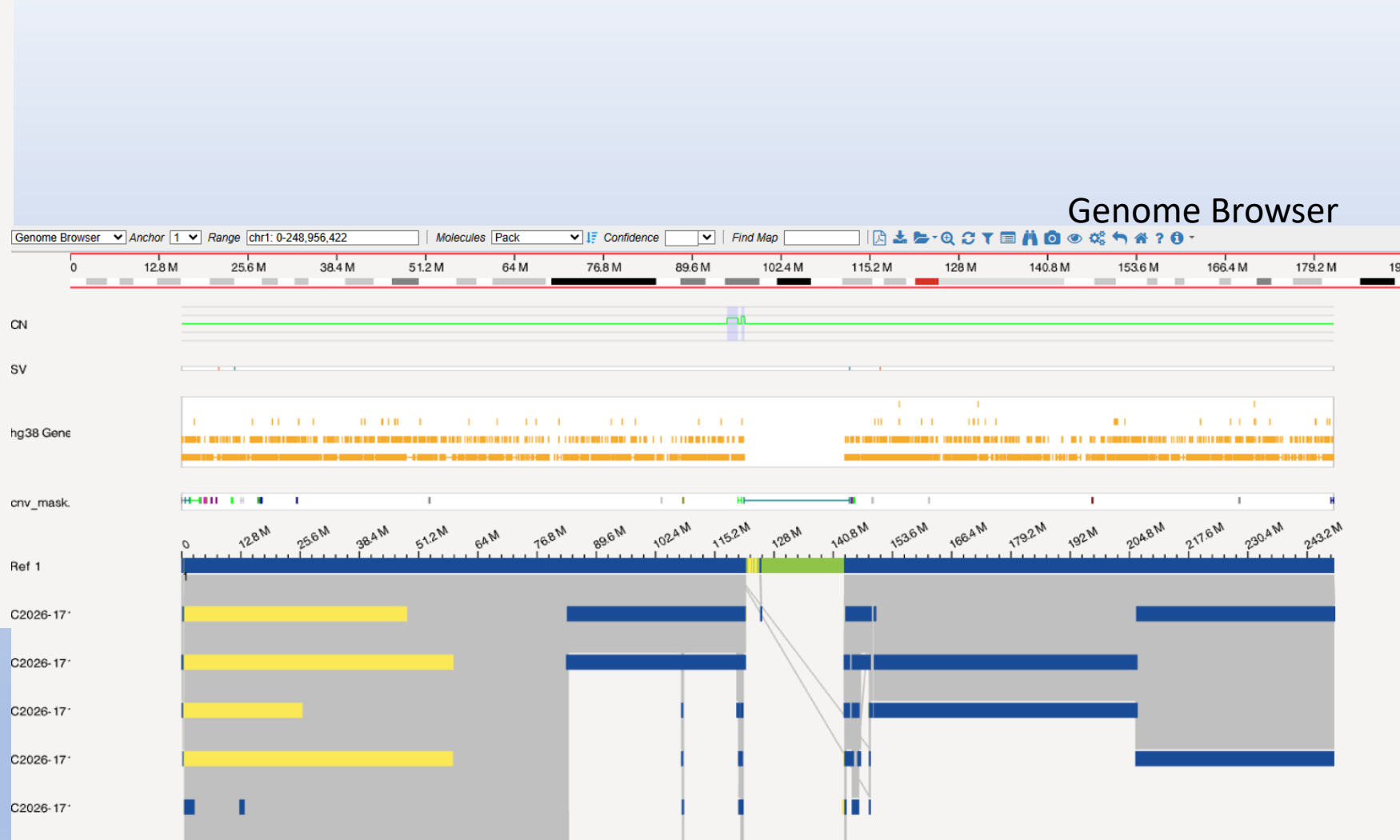
Analysis performed: Bionano EnFocus™ FSHD Analysis
Job ID: 19523
Job name: B2025-4441 - FSHD Analysis
Operator name: Génétique Moléculaire
Date of analysis: 2025-12-03 21:33
Version of assembly pipeline: Solve3.8.2.1-release2_Solve3.8.2.1-06-26-24-rel
Version of FSHD analysis pipeline: Bionano EnFocus™ FSHD Analysis 1.0

Detailed results

Chr	Map ID	Calculated repeat count (units)	Haplotype	Repeat-spanning coverage (X)
4	21	5	4qA	34
4	330	23	4qA	20
10	11	17	10qA	39
10	300	42	10qA	10



Applications cytogénétique (pipeline Guided Assembly)



Introduction

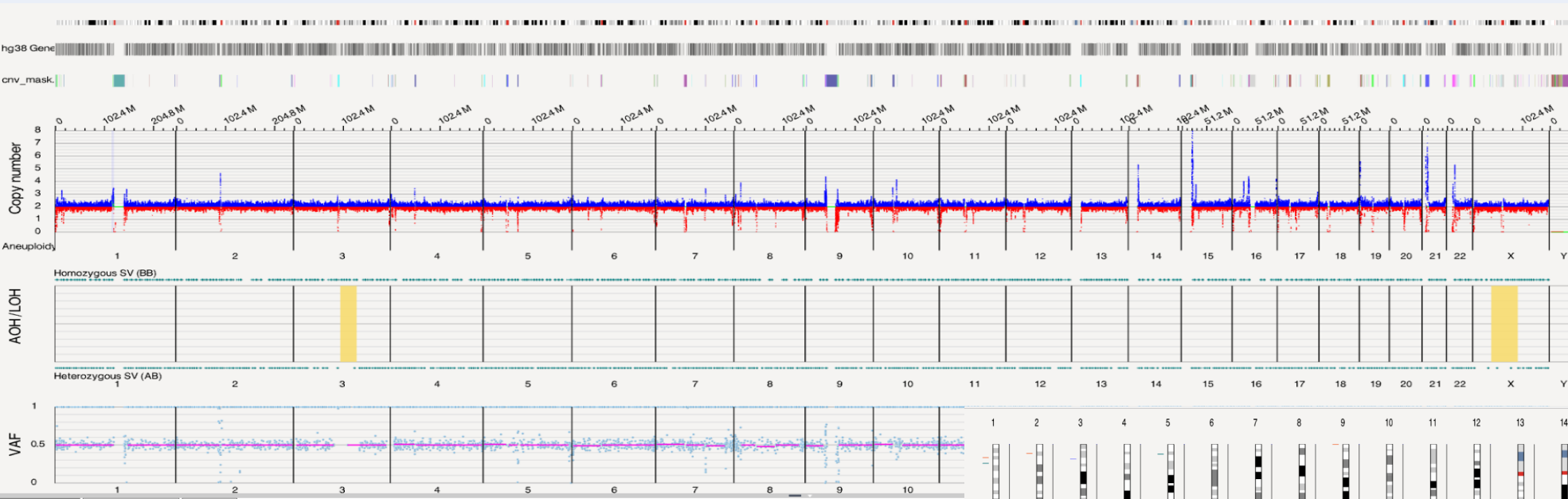
Principe OGM

Mise en place

Applications

Conclusion

Applications cytogénétique (pipeline Guided Assembly)



Whole Genome



Introduction

Principe OGM

Mise en place

Applications

Conclusion

Applications cytogénétique constitutionnelle

Enquête familiale, cas d'une translocation

 Résultat du caryotype : **46,XX,t(4;16)(q21.3;q24)**

La cartographie optique a permis de préciser les points de cassure :

 Résultat OGM : **t(4;16)(q21.3;q24)(90,557,637~90,575,803;86,930,604~86,940,435)**

Introduction

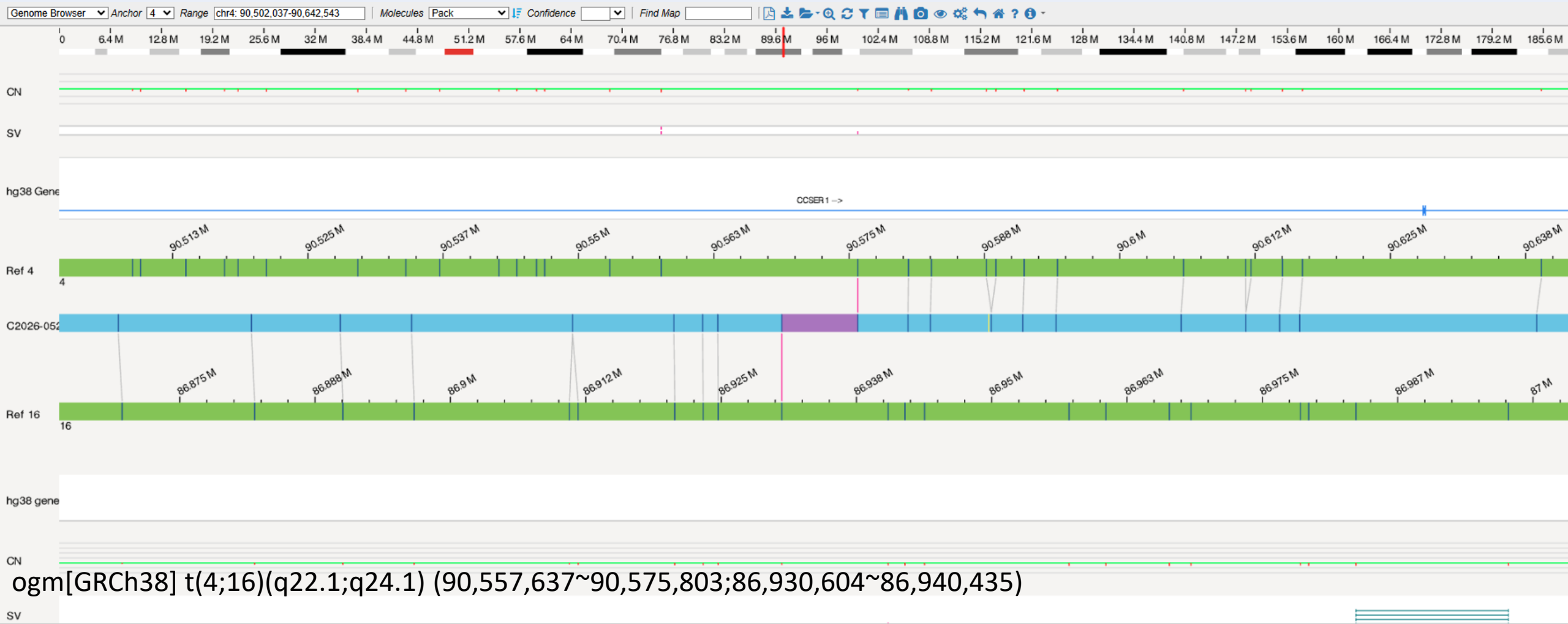
Principe OGM

Mise en place

Applications

Conclusion

Applications cytogénétique constitutionnelle



Introduction

Principe OGM

Mise en place

Applications

Conclusion

Applications cytogénétique somatique

Cas d'une rechute de LAL

Analyses réalisées au laboratoire :

- Caryotype
- Hybridation in situ en fluorescence (FISH) avec trois sondes : **BCR::ABL1**, **KMT2A** et **TRB (TCRB)**
- OGM (Optical Genome Mapping, Bionano)

Résultat du caryotype :

- 46,XY,t(1;7)(p33;q34),del(9)(q21q33)[17]/46,XY[3]
- Présence d'une translocation **t(1;7)(p33;q34)** associée à une délétion **9q** dans **17 mitoses sur 20**.

Résultats de la FISH :

- Recherche du réarrangement/fusion **BCR::ABL1** : négative.
- Recherche d'un réarrangement de **KMT2A (MLL)** : négative.
- Recherche d'un réarrangement de **TRB (TCRB)** : positive dans **16 mitoses sur 19** et dans **72 % des noyaux interphasiques**, en lien avec la translocation **t(1;7)** identifiée au caryotype.

Introduction

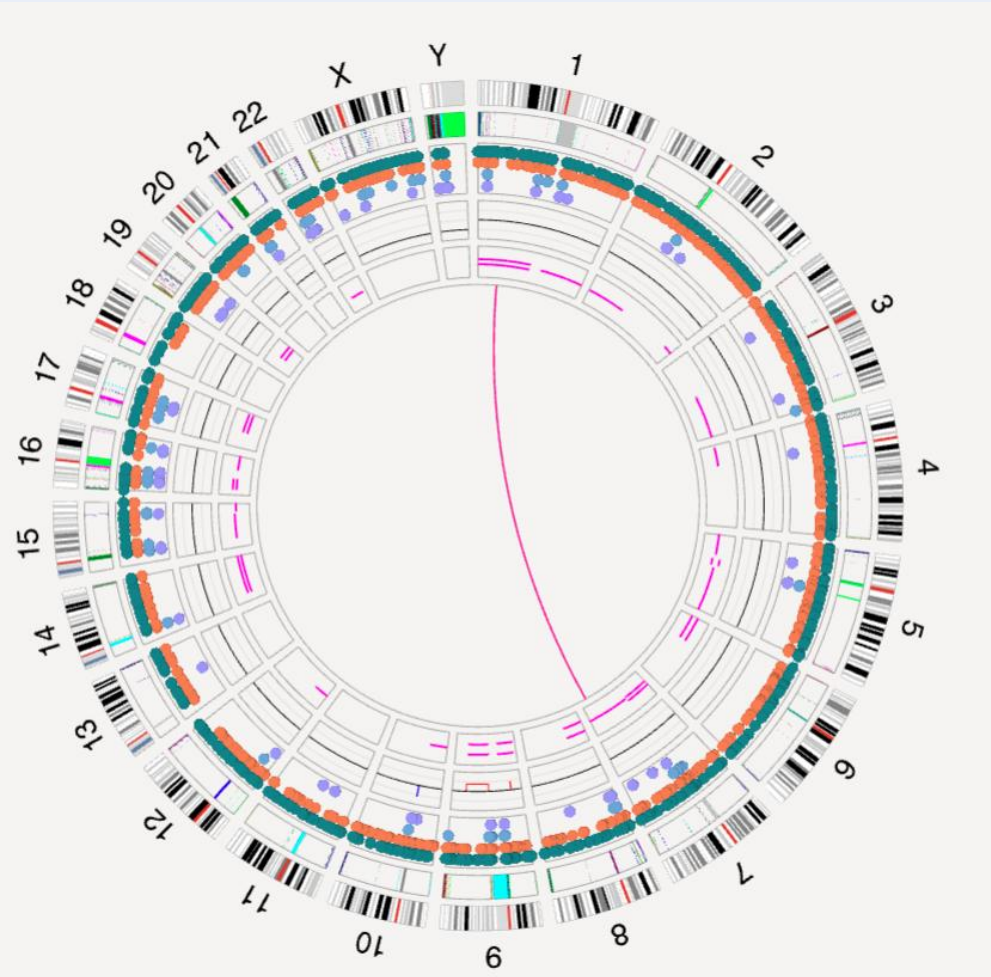
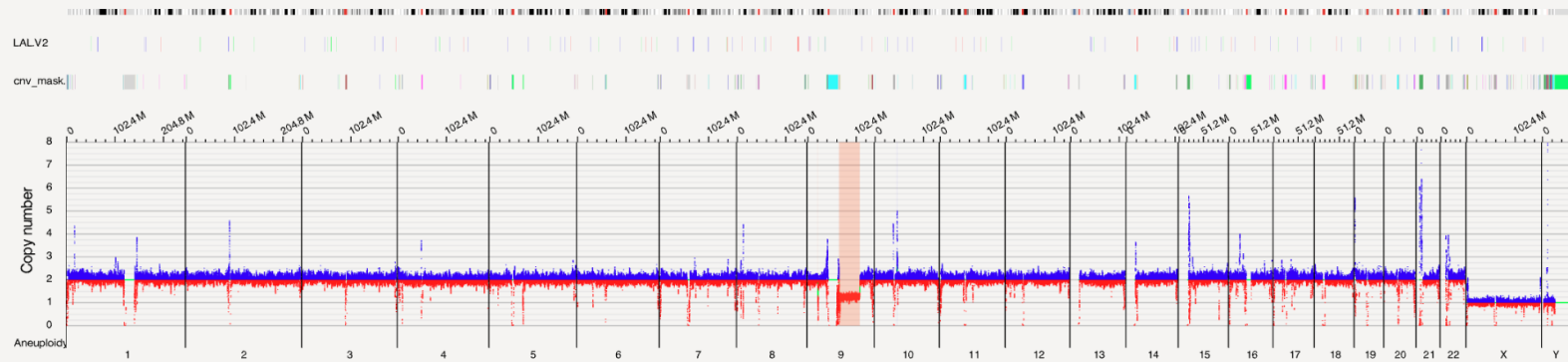
Principe OGM

Mise en place

Applications

Conclusion

Applications cytogénétique somatique



9q21.11q31.3(66,094,533_110,041,844)x1

Introduction

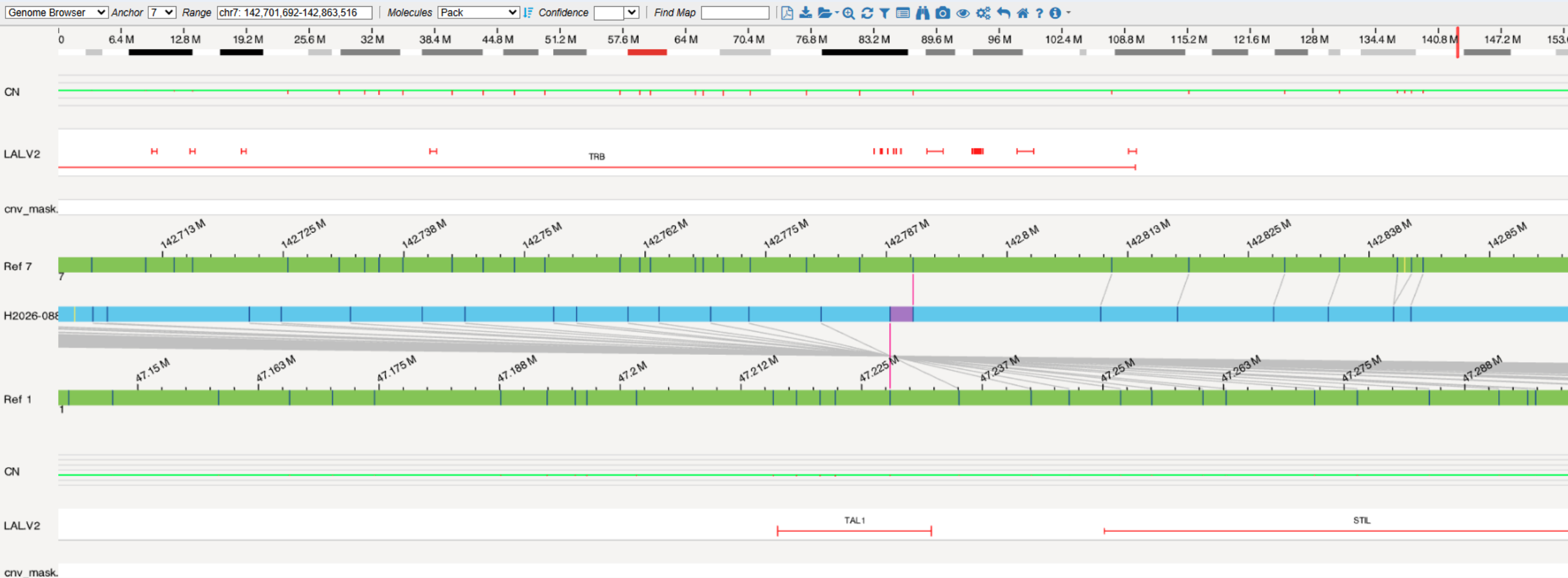
Principe OGM

Mise en place

Applications

Conclusion

Applications cytogénétique somatique



ogm[GRCh38] t(1;7)(p33;q34)(47,222,284~47,227,935;142,784,722~142,790,257)

Introduction

Principe OGM

Mise en place

Applications

Conclusion

Conclusion

Difficultés rencontrées

- Problèmes de mise en place de la technologie.
- Depuis mars 2026, augmentation du nombre d'échecs sans cause clairement identifiée.
- Les puces Stratys restent suspectées par Bionano.

Intérêt clinique

- Seule technologie disponible pour le diagnostic de la FSHD.
- Analyse simultanée des variations de structure, des CNV, et de l'impact sur les gènes.

Limite

- Ne remplacera pas le caryotype.
- N'identifie pas les translocations robertsoniennes.
- Difficultés d'identification des événements impliquant les régions télomériques et centromériques.
- Ne détecte pas les variants nucléotidiques (SNV).

Introduction

Principe OGM

Mise en place

Applications

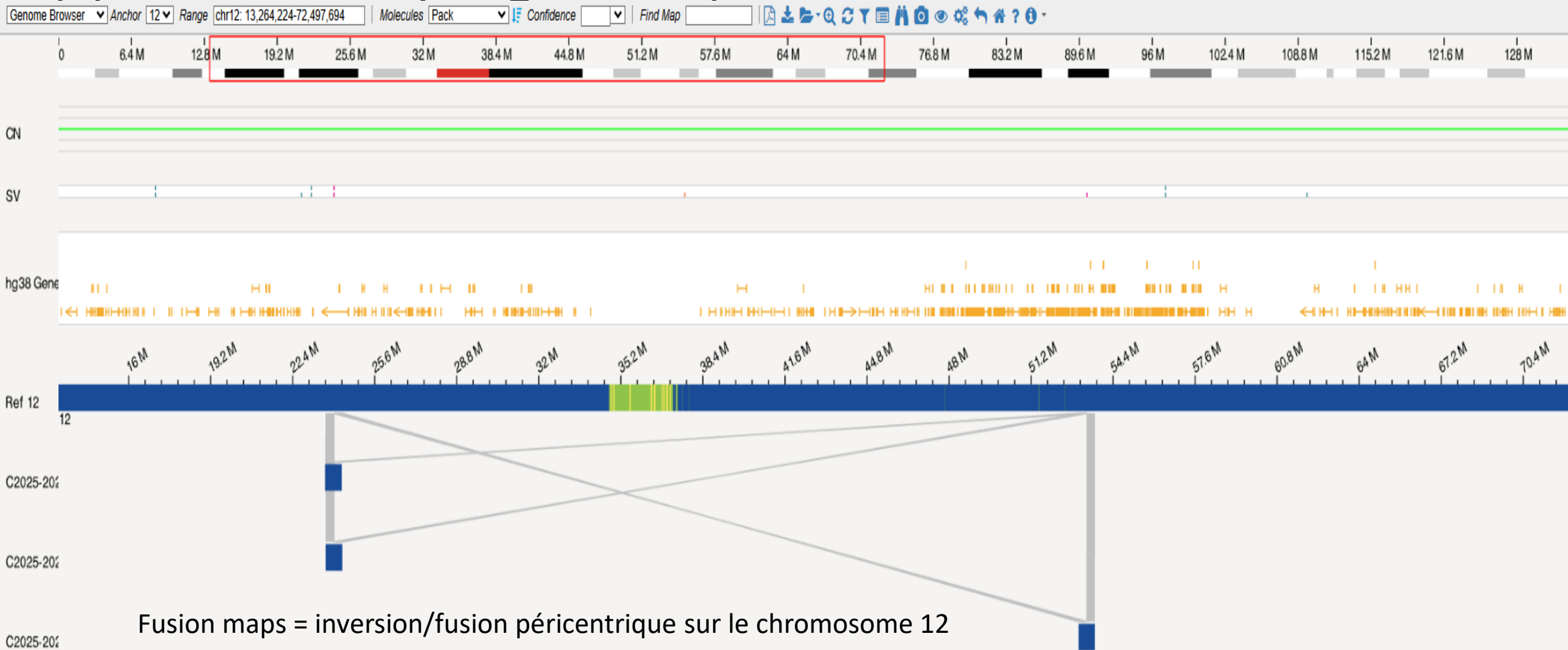
Conclusion

Remerciements

Je remercie chaleureusement :

- **Les organisateurs de l'ATC** pour m'avoir permis de présenter ce sujet aujourd'hui ;
- Les équipes de la plateforme M2GM du Biogénopôle de l'AP-HM Timone :
 - Le laboratoire de **Cytogénétique constitutionnelle prénatale et postnatale** ;
 - Le laboratoire de **Cytogénétique somatique d'hématologie** ;
 - Le laboratoire de **Biologie moléculaire** ;
- **Les équipes cliniques** partenaires pour leur confiance et leur collaboration ;
- Tous les collègues ayant contribué au développement et à l'utilisation de la cartographie optique du génome au bénéfice des patients.

Applications cytogénétique constitutionnelle



Inv(12)(p12.1q13.13)

Applications cytogénétique constitutionnelle

Variant Classifier

Range

chr12: 23,170,943-24,947,947

Name

Value

Type

translocation_intrachr

SmplId

6530

Sample

C2025_2025_constit_G...

RefcontiglD1

12

RefcontiglD2

12

RefStartPos (bp)

24 007 876

RefEndPos (bp)

53 387 412

Size (bp)

-1

Zygosity

heterozygous

Confidence

0,94

Algorithm

assembly_comparison

VAF

0,32

Fail assembly chime...

pass

Overlap Genes

SOX5;SP1

Nearest Non-Overlap...

AMHR2

Nearest Non-Overlap...

36 443

Putative Gene Fusion

SOX5-SP1

Self Molecule Count

16

Number Overlap DG...

-1

ISCN

ogm[GRCh38] fus{12;12...

Found in self molec...

yes

Present in % of cont...

0

Present in % of cont...

0

UCSC Web Link1

UCSC Web Link 1

UCSC Web Link2

UCSC Web Link 2

0

6.4 M

12.8 M

19.2 M

25.6 M

32 M

38.4 M

44.8 M

51.2 M

57.6 M

64 M

70.4 M

76.8 M

83.2 M

89.6 M

96 M

102.4 M

108.8 M

115.2 M

121.6 M

128 M

CN

SV

hg38 Genes

Ref 12

C2025-2025

Ref 12

hg38 Genes

Points de cassure: 24,007,876-24,008,843 bp dans le gène **SOX5**

Points de cassure: 53,355,810-53,387,412 bp dans le gène **SP1**

4 of 4

Role

Name

Classification

Notes

Action

Supervisor

fshd1_admin

Unclassified

Pathogenic

Likely pathogenic

Uncertain significance

Likely benign

Benign

Unclassified

Introduction

Plateforme M2GM (Médecine Moléculaire et Génomique de Marseille)

Cette plateforme regroupe plusieurs domaines de la génétique, notamment la **cytogénétique constitutionnelle**, la **cytogénétique somatique** et la **biologie moléculaire**.

La technique de **cartographie optique du génome (OGM) de Bionano** a été mise en place au sein de ces trois secteurs afin de répondre à différentes applications diagnostiques.



Introduction

Principe OGM

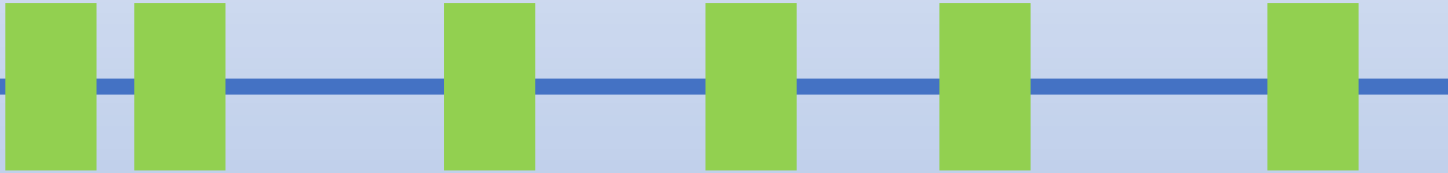
Mise en place

Applications

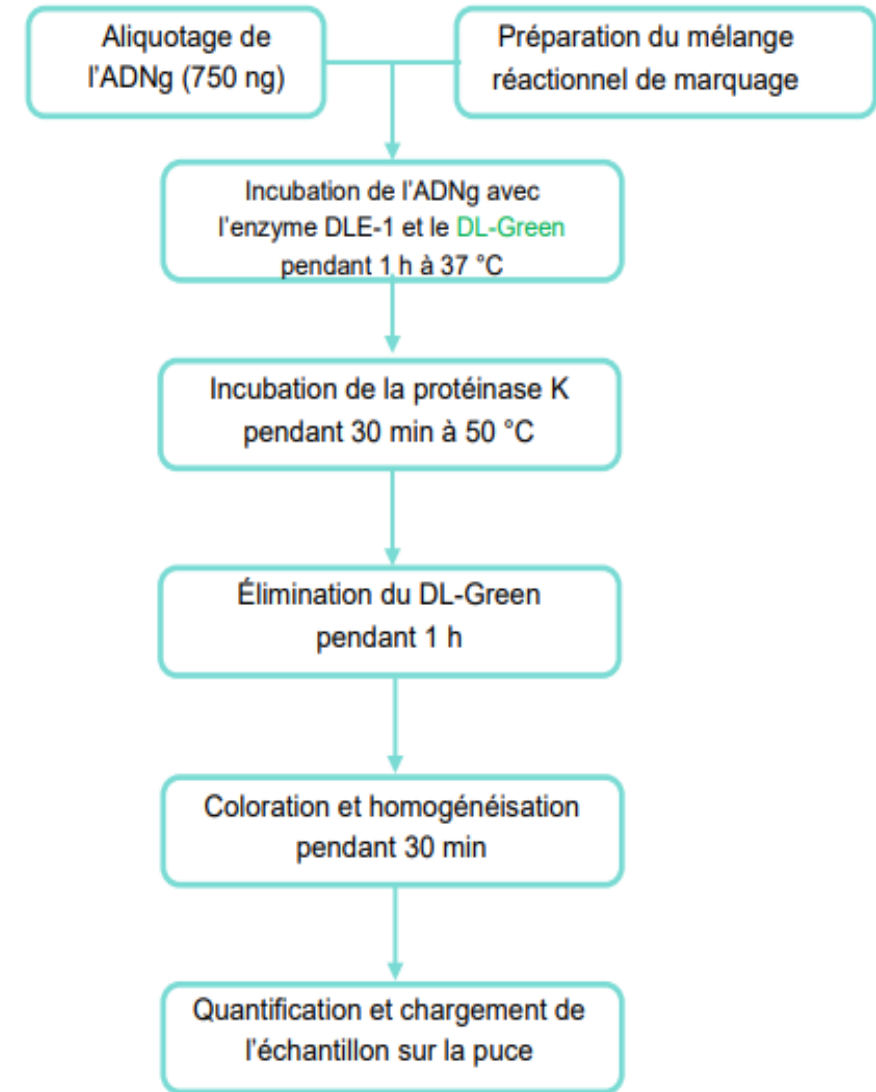
Conclusion

Mise en place

- Le marquage de l'ADN extrait :



ÉTAPES DU PROTOCOLE



Introduction

Principe OGM

Mise en place

Applications

Conclusion

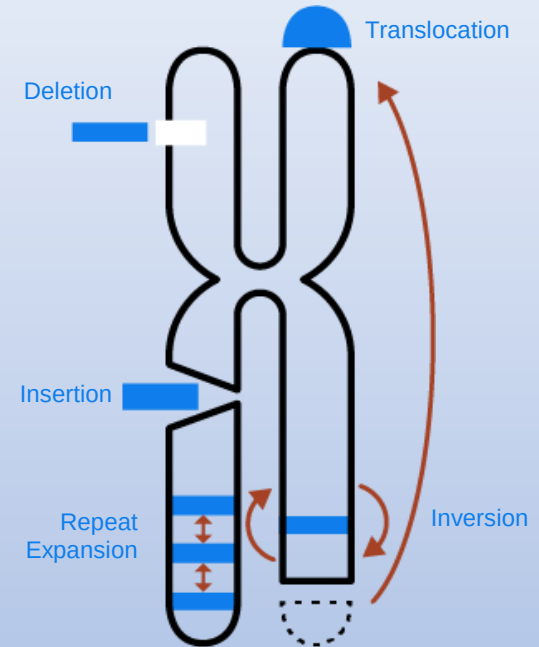
Applications

Application en cytogénétique constitutionnel :

- **Diagnostic de la dystrophie facio-scapulo-humérale (FSHD)**
- Pré et Post natale : **caractérisation de remaniement complexe, identification des points de cassures de manière précise (gène), anomalies de nombre**

Application en cytogénétique somatique :

- Dans le cadre des **Leucémie lymphoïde et myéloïde aigue** : caractérisation de remaniement complexe, identification des points de cassures de manière précise (identification des gènes de fusions), anomalies de nombre



Introduction

Principe OGM

Mise en place

Applications

Conclusion

Applications cytogénétique somatique

La leucémie aiguë myéloïde (LAM) et la leucémie aiguë lymphoïde (LAL) sont des cancers du sang caractérisés par la prolifération rapide de cellules immatures anormales (les blastes). Elles peuvent être dû à des remaniements de structures comme des translocations pouvant créer des gènes des fusions, des anomalies de nombre ou encore à des événements survenant dans certains gènes.



Introduction

Principe OGM

Mise en place

Applications

Conclusion