

## Titre du projet

Diagnostic des réarrangements chromosomiques et des mutations par séquençage haut-débit

## Résumé du projet

Dans le génome humain, les micro-remaniements chromosomiques se présentent, entre autre, sous forme de moyennes ou grandes délétions et/ou duplications, appelées CNV (copy-number variant). L'ensemble de ces variations contribue en partie aux différences phénotypiques normales de la population générale mais peut être aussi à l'origine de maladies génétiques. Jusqu'à présent, ces CNV sont mis en évidence par les techniques de CGH-array et/ou de SNP-array. Avec l'apparition de nouvelles technologies comme le séquençage haut-débit (Next Generation Sequencing ou NGS), qui a permis l'identification de nouveaux gènes impliqués dans des maladies monogéniques, de nouveaux champs d'application sont apparus. Cette technologie permet depuis peu, à l'aide de nouveaux algorithmes, la détection de CNV pour l'instant uniquement testés sur des plateformes de séquençage haut-débit de type HiSeq. Cette technique demande à être optimisée et standardisée sur un appareil NGS de type MiSeq, maintenant mis à disposition dans tous les laboratoires de génétique moléculaire de France grâce au plan maladies rares 2, les plateformes de séquençage haut débit de type HiSeq restant rares.

L'objectif de ce travail est

- 1) De démontrer la possibilité d'identifier des réarrangements chromosomiques ou CNV exoniques détectés par la CGH-array, en utilisant la technique de séquençage d'exome avec algorithmes spécifiques sur MiSeq, à partir d'un échantillon de patients porteurs de CNVs connus non pathogènes
- 2) De démontrer la supériorité de cette technologie en identifiant des remaniements exoniques de petite taille non détectés par CGH-array, mais aussi dans le même temps de mettre en évidence des mutations ponctuelles exoniques

Pour cela, nous proposons de réaliser un séquençage d'exome sur Miseq à partir de 23 patients porteurs d'une déficience intellectuelle syndromique. En faisant l'hypothèse que cette technique permettra dans au moins 95% des cas avec une précision de  $\pm 15\%$  de mettre en évidence la présence d'un ou plusieurs CNVs, 23 patients seront nécessaires à cette étude. Les données générées seront analysées à l'aide de logiciel permettant la détection couplée des CNV et des SNV.

En parallèle les données d'exomes de 23 patients pour lesquelles une analyse d'exome a déjà été réalisée sur HiSeq par notre équipe de recherche seront analysées.

Ces patients auront bénéficié au préalable d'une CGH-array sur la plateforme de CGH-array de DIJON (180K Agilent avec une résolution de 22kb), qui aura été interprétée comme normale car sans variant pathogène pouvant expliquer le phénotype du patient, mais pour laquelle des variants polymorphes auront été détectés (environ une quinzaine de CNV >20kb connus dans la DGV), permettant de s'assurer que les nouveaux algorithmes ne passent pas à côté de variants connus.

Les données de Séquençage haut-débit seront analysées dans le département de Génétique de Dijon qui possède déjà une expertise dans ce domaine et maîtrise cette nouvelle technologie. L'acquisition d'un MiSeq a été possible grâce au PNMR2. L'analyse bio-informatique sera réalisée avec l'algorithme CoNIFER permettant une quantification du nombre de copies et une détection des CNVs rares <20 Kb (Krumm et al., 2012), et une recherche de mutations ponctuelles sera réalisée en parallèle avec l'algorithme GATK, à partir de la plateforme de bio-informatique du CHU de Dijon et de l'université de Bourgogne mise en place en 2012.

En conclusion, cette étude préliminaire, grâce à une analyse bio-informatique adaptée, permettra en une seule phase la détection de mutations et de réarrangements chromosomiques (ou CNV) chez des patients présentant une déficience intellectuelle syndromique. Cette technique permettra d'optimiser et standardiser cette méthode pour l'étude des CNVs sur un appareil NGS mis à disposition dans tous

les laboratoires de génétique moléculaire de France grâce au PNMR2, dans l'intérêt de tous les laboratoires de génétique humaine de France.