

DIU Génétique et Reproduction

NGS en pratique

26 Novembre 2021
Philippe Dessen
Institut Gustave Roussy, Villejuif

dessen@igr.fr

<http://pdessen.free.fr/KB>

Abdelkader Heddar
Hôpital Bicêtre

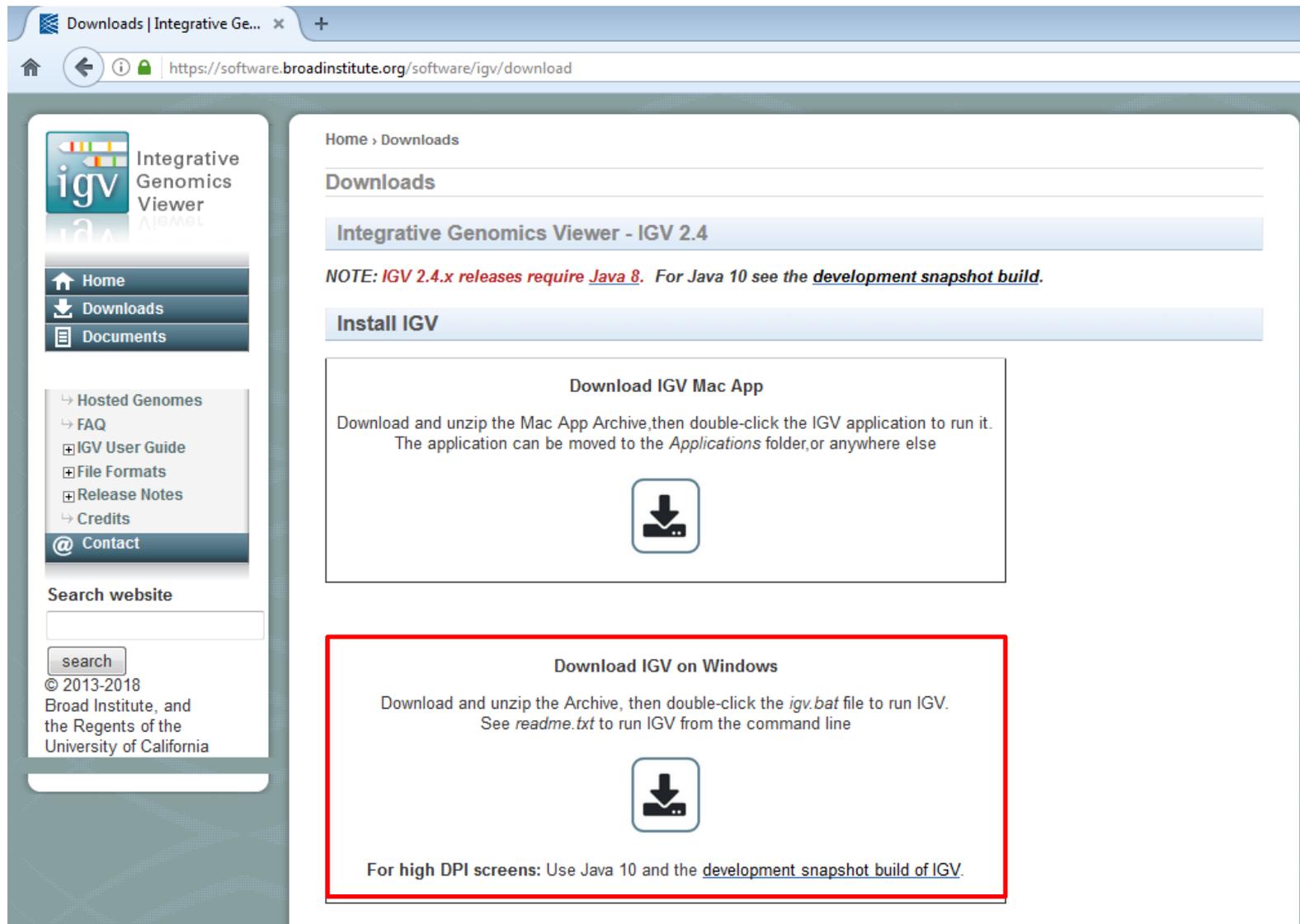
abdelkader.heddar@aphp.fr

Installation IGV.4

- Utilisateur: adresse mail u-psud

<https://software.broadinstitute.org/software/igv/download>

Installation IGV.4



The screenshot shows a web browser window with the URL <https://software.broadinstitute.org/software/igv/download>. The page features a left sidebar with the IGV logo and navigation links: Home, Downloads, Documents, Hosted Genomes, FAQ, IGV User Guide, File Formats, Release Notes, Credits, and Contact. A search bar and copyright information (© 2013-2018 Broad Institute, and the Regents of the University of California) are also present. The main content area is titled 'Downloads' and contains a section for 'Integrative Genomics Viewer - IGV 2.4'. A note states: 'NOTE: IGV 2.4.x releases require Java 8. For Java 10 see the development snapshot build.' Below this is an 'Install IGV' section with two download options: 'Download IGV Mac App' and 'Download IGV on Windows'. The 'Download IGV on Windows' section is highlighted with a red border. Both sections include a download icon and instructions on how to run the application.

Home · Downloads

Downloads

Integrative Genomics Viewer - IGV 2.4

NOTE: IGV 2.4.x releases require Java 8. For Java 10 see the [development snapshot build](#).

Install IGV

Download IGV Mac App

Download and unzip the Mac App Archive, then double-click the IGV application to run it.
The application can be moved to the *Applications* folder, or anywhere else



Download IGV on Windows

Download and unzip the Archive, then double-click the *igv.bat* file to run IGV.
See *readme.txt* to run IGV from the command line



For high DPI screens: Use Java 10 and the [development snapshot build of IGV](#).

Installation IGV.4

The screenshot shows a web browser window at <https://software.broadinstitute.org/software/igv/download>. The page has a sidebar on the left with the IGV logo and navigation links: Home, Downloads, Documents, Hosted Genomes, FAQ, IGV User Guide, File Formats, Release Notes, Credits, and Contact. The main content area is titled "Downloads" and features a section for "Integrative Genomics Viewer - IGV 2.4". A note states: "NOTE: IGV 2.4.x releases require Java 8. For Java 10 see the development snapshot build." Below this is an "Install IGV" section with two download options: "Download IGV Mac App" and "Download IGV on Windows". Both sections include instructions and a download icon. A red box highlights the "Download IGV on Windows" section. A file dialog window titled "Ouverture de IGV_Win_2.4.15.zip" is overlaid on the right, showing the file "IGV_Win_2.4.15.zip" (21.2 Mo) and the option "Enregistrer le fichier" selected.

Downloads | Integrative Ge... x +

Home · Downloads

Downloads

Integrative Genomics Viewer - IGV 2.4

NOTE: IGV 2.4.x releases require Java 8. For Java 10 see the [development snapshot build](#).

Install IGV

Download IGV Mac App

Download and unzip the Mac App Archive, then double-click the application. The application can be moved to the *Applications* folder.



Download IGV on Windows

Download and unzip the Archive, then double-click the application. See [readme.txt](#) to run IGV from the command line.



For high DPI screens: Use Java 10 and the [development snapshot build](#) of IGV.

Ouverture de IGV_Win_2.4.15.zip

Vous avez choisi d'ouvrir :

 IGV_Win_2.4.15.zip

qui est un fichier de type : zip Archive (21,2 Mo)
à partir de : <http://data.broadinstitute.org>

Que doit faire Firefox avec ce fichier ?

Ouvrir avec 7-Zip File Manager (défaut)

Enregistrer le fichier

Toujours effectuer cette action pour ce type de fichier.

OK Annuler

Installation IGV.4

The screenshot shows a Windows File Explorer window with the following details:

- Address bar: IGV_Win_2.4.15 > lib
- Search bar: Rechercher dans : lib
- Navigation: Organiser, Ouvrir, Partager avec, Nouveau dossier
- Left sidebar: Favoris (Bureau, Emplacements récer, Téléchargements), Bibliothèques (Documents, Images, Musique, Vidéos), Ordinateur (OSDisk (C:), Elements (F:), Lecteur réseau (Z:)), Réseau
- File list table:

Nom	Modifié le	Type	Taille
batik-codec-1.10	01/11/2018 17:38	Executable Jar File	119 Ko
goby-io-igv-1.1	01/11/2018 17:39	Executable Jar File	1 934 Ko
igv	01/11/2018 17:40	Executable Jar File	20 170 Ko
log4j-core-2.11.0	01/11/2018 17:41	Executable Jar File	1 668 Ko

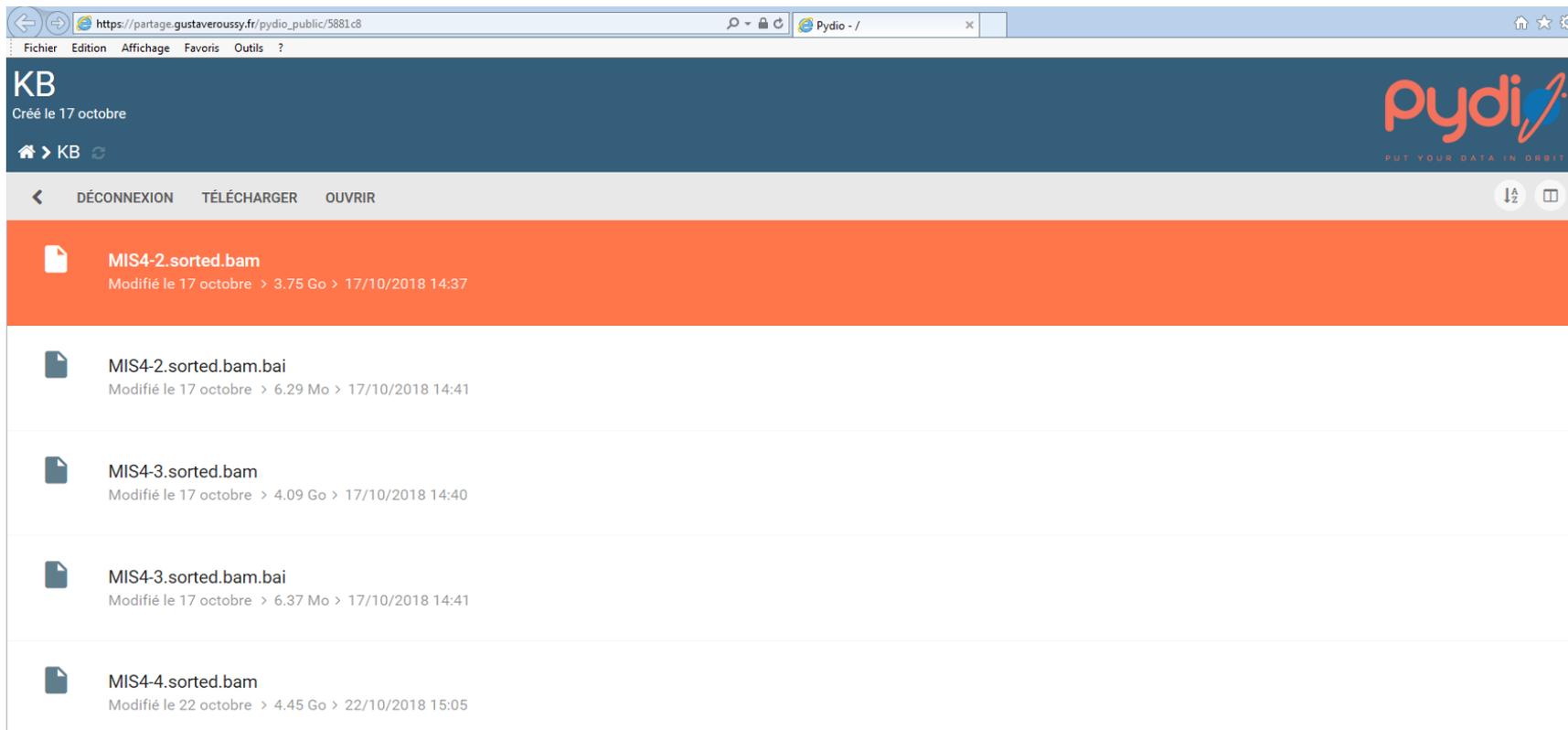
A dialog box titled "Loading Genome..." is overlaid on the window, showing a progress bar that is approximately 25% full.

Status bar details for the selected file 'igv':

- igv
- Modifié le : 01/11/2018 17:40
- Date de création : 08/11/2018 10:20
- Executable Jar File
- Taille : 19,6 Mo

Téléchargements des BAM

https://partage.gustaveroussy.fr/pydio_public/5881c8



The screenshot shows a web browser window displaying the Pydio interface. The address bar shows the URL https://partage.gustaveroussy.fr/pydio_public/5881c8. The page title is 'KB' and it was created on October 17. The interface includes a menu with 'Fichier', 'Edition', 'Affichage', 'Favoris', and 'Outils'. The main content area shows a list of files:

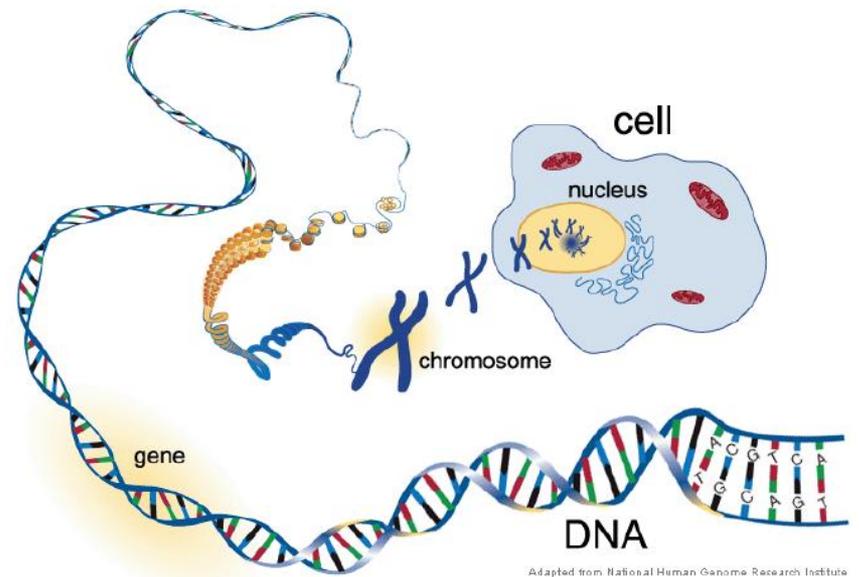
File Name	Modified	Size	Time
MIS4-2.sorted.bam	17 octobre	3.75 Go	17/10/2018 14:37
MIS4-2.sorted.bam.bai	17 octobre	6.29 Mo	17/10/2018 14:41
MIS4-3.sorted.bam	17 octobre	4.09 Go	17/10/2018 14:40
MIS4-3.sorted.bam.bai	17 octobre	6.37 Mo	17/10/2018 14:41
MIS4-4.sorted.bam	22 octobre	4.45 Go	22/10/2018 15:05

Quelques rappels

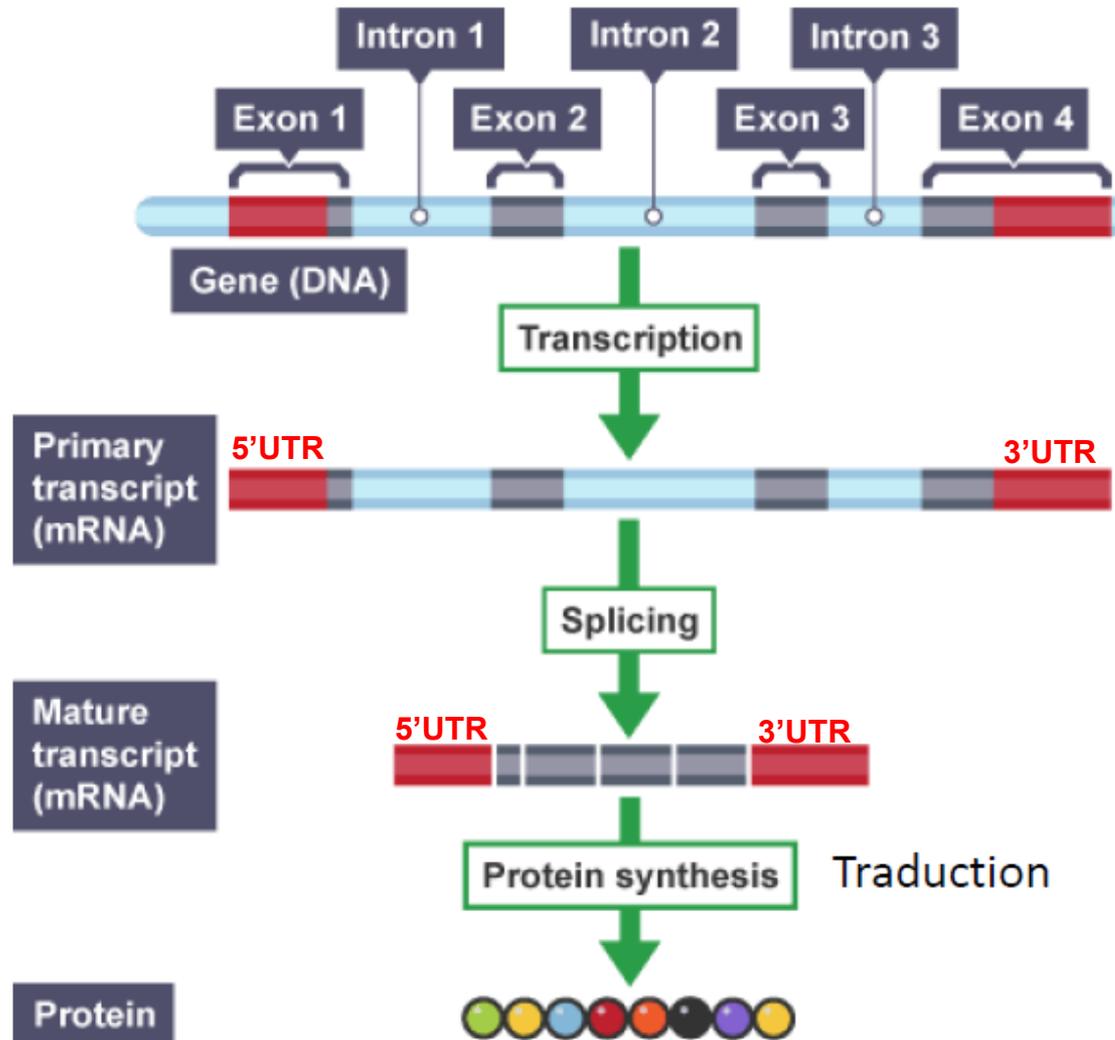
- NGS: *Next generation Sequencing*
- Nouvelle technique d'étude du génome
- Preuve de principe 2004-2005
- Première application dans une maladie mendélienne 2009
- Actuellement c'est la méthode de routine en diagnostic

Le genome humain

- Tous les gènes et les régions intergéniques
- 46 chromosomes
- >3 Gb paires de bases
- **20.000 gènes**
- > 233,785 exons
- 8 exons / gènes [1-283]



Gène et expression du génome humain

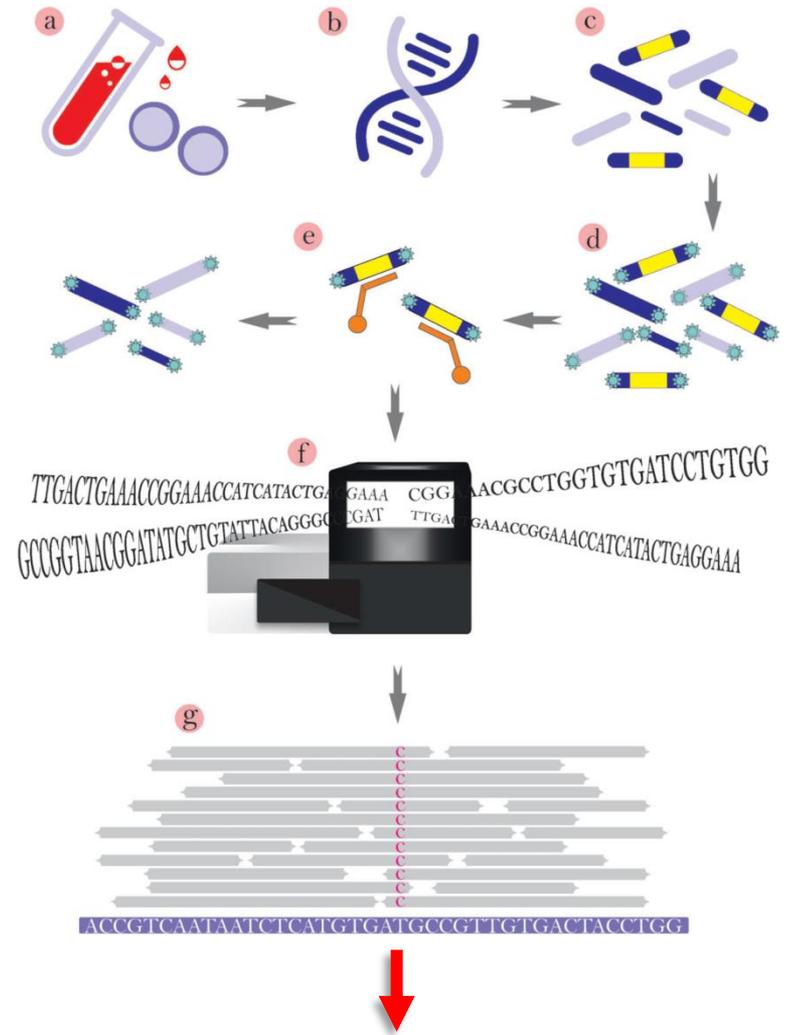


Les différents types d'anomalies génétiques

Anomalie	Méthode d'étude
Délétion d'un gène	CGHarray, MLPA, QMPSF,+/- NGS
Délétion intragenique (1 ou >exons)	qPCR, MLPA, QMPSF,+/- NGS
Expansion de triplets	PCR
Anomalie d'empreinte génomiques	PCR-methyl spécifique
Mutation ponctuelle / indel	Sanger ou NGS

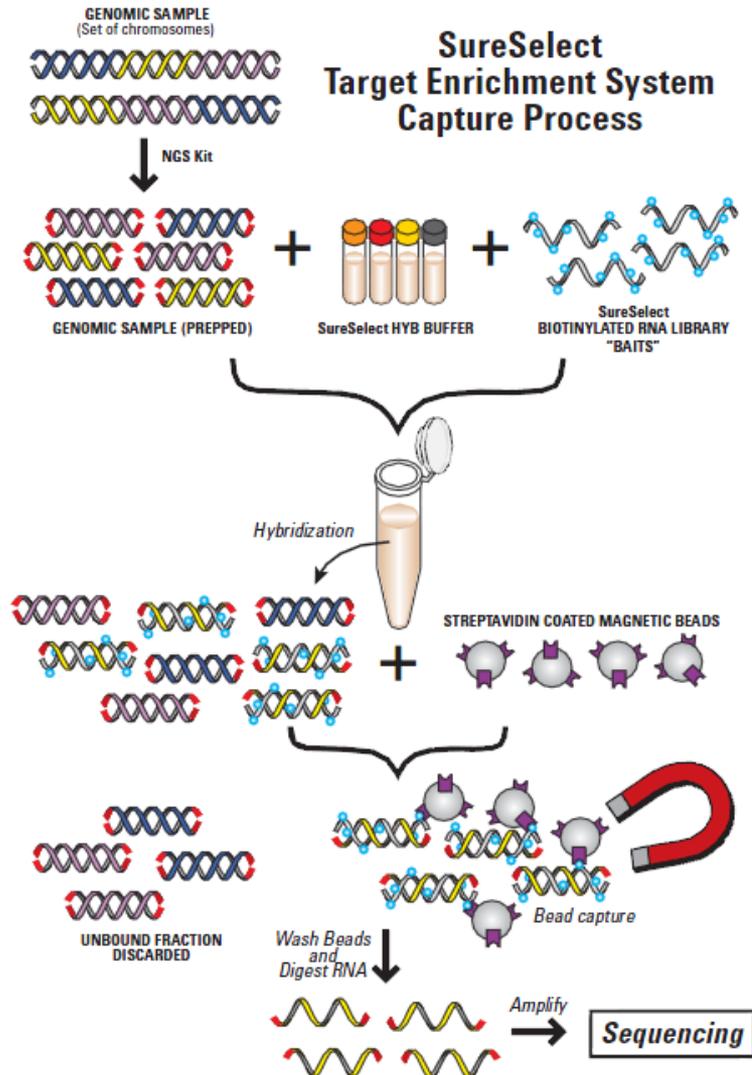
NGS: Principe

- Cf cours du Dr Christine Bole-Feysot
- Séquencage massive en parallele.
- Panel, exome ou genome
- Traitement bioinformatique
- Generation de plusieurs variations
- **Fichiers de sorties (OUTPUT):**
 - **BAM (IGV)**
 - **VCF (Excel)**



~20.000 variations (exome)
~200-300 (panel)

NGS: Principe

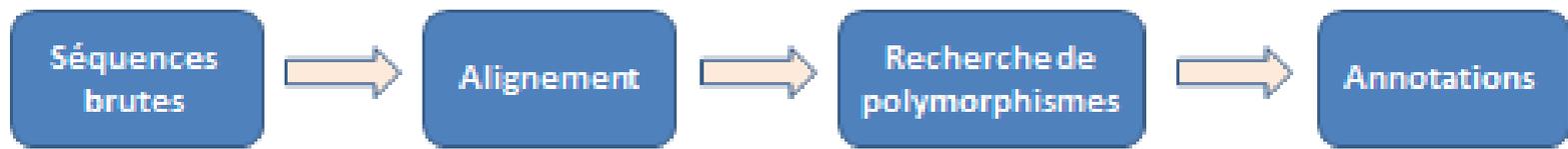


Permet de réduire les parties d'ADN à séquencer

Ex: exome :
Ensemble des zones du génome couvert par des séquences codant pour des gènes
Environ 50 Mbases (au lieu de 3.3 Gbases)

NGS: Principe

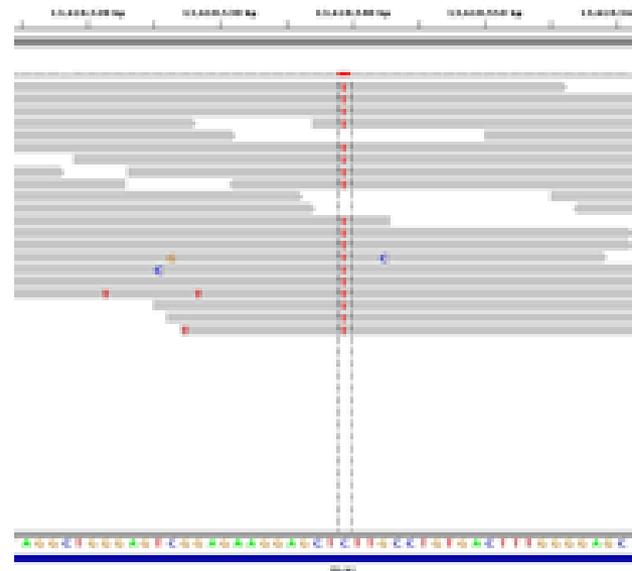
WorkFlow d'analyse de séquençage haut débit (recherche de polymorphismes)



- Outils d'alignement :
BWA

- Outils de recherche de polymorphismes :
Samtools – Varscan

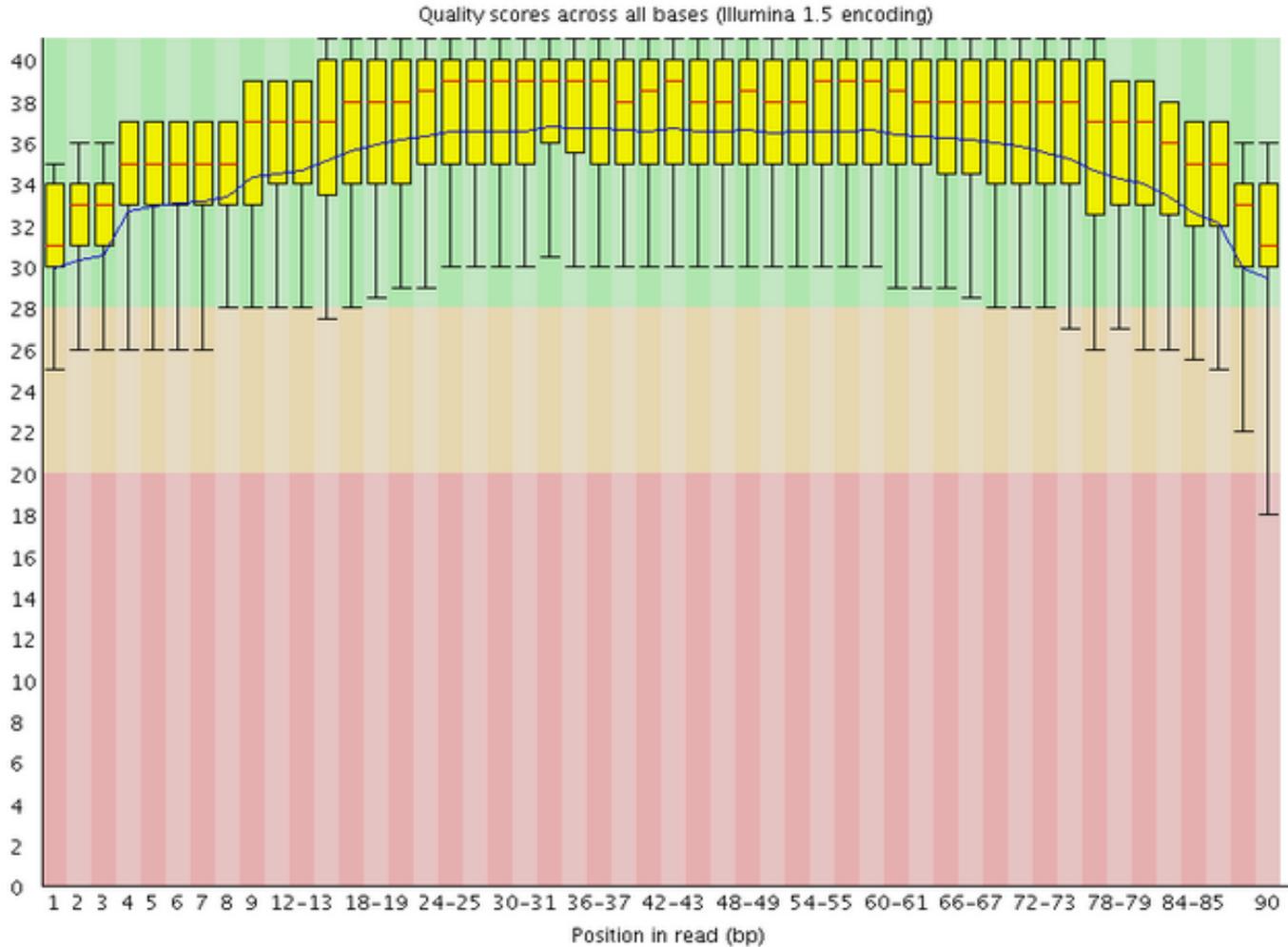
- Outils d'annotations :
Scripts et programmes « in house » - Bases de données publiques – Sift



Visualisation IGV

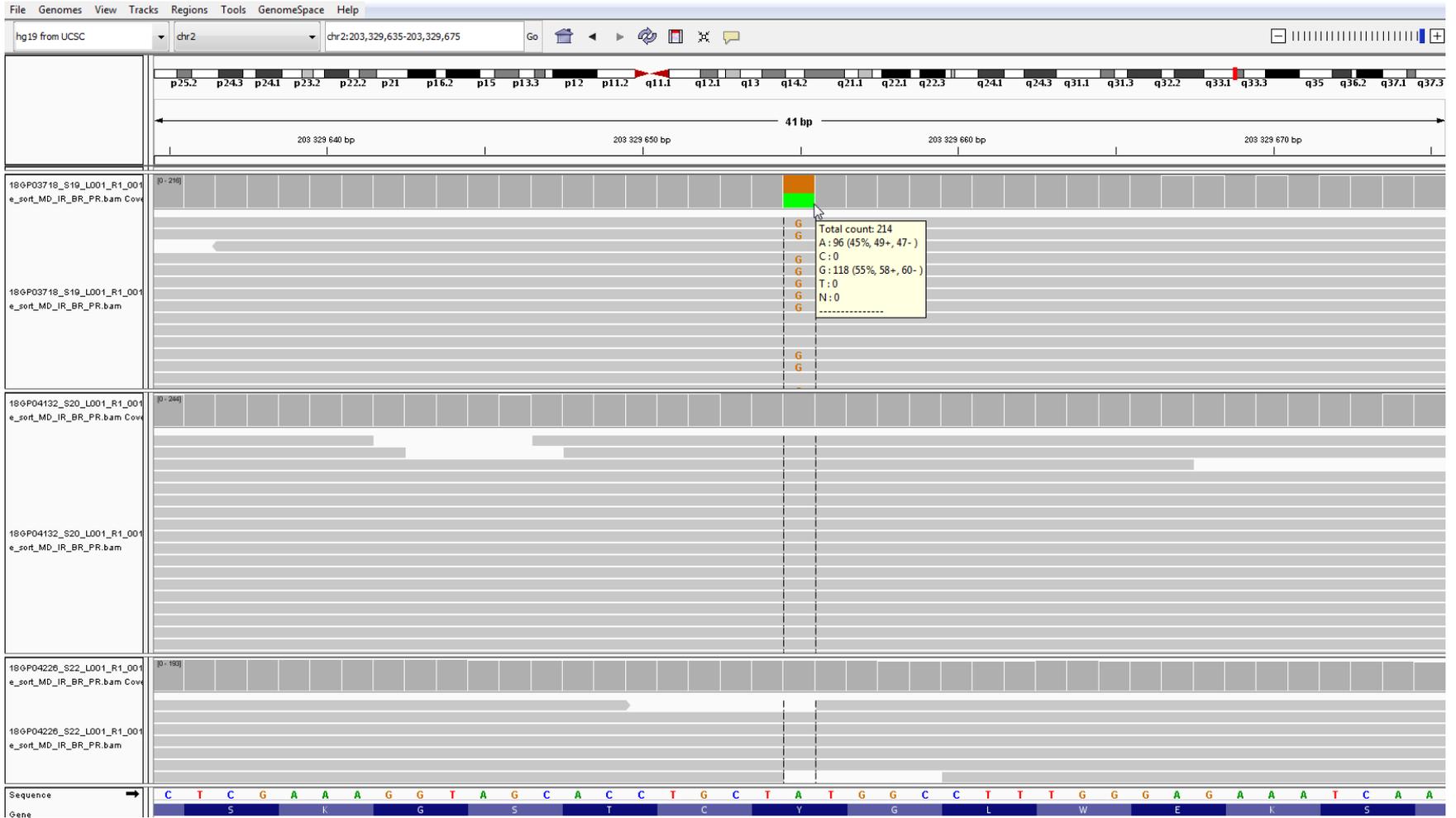
NGS: critère de qualité (FASTQC)

✔ Per base sequence quality

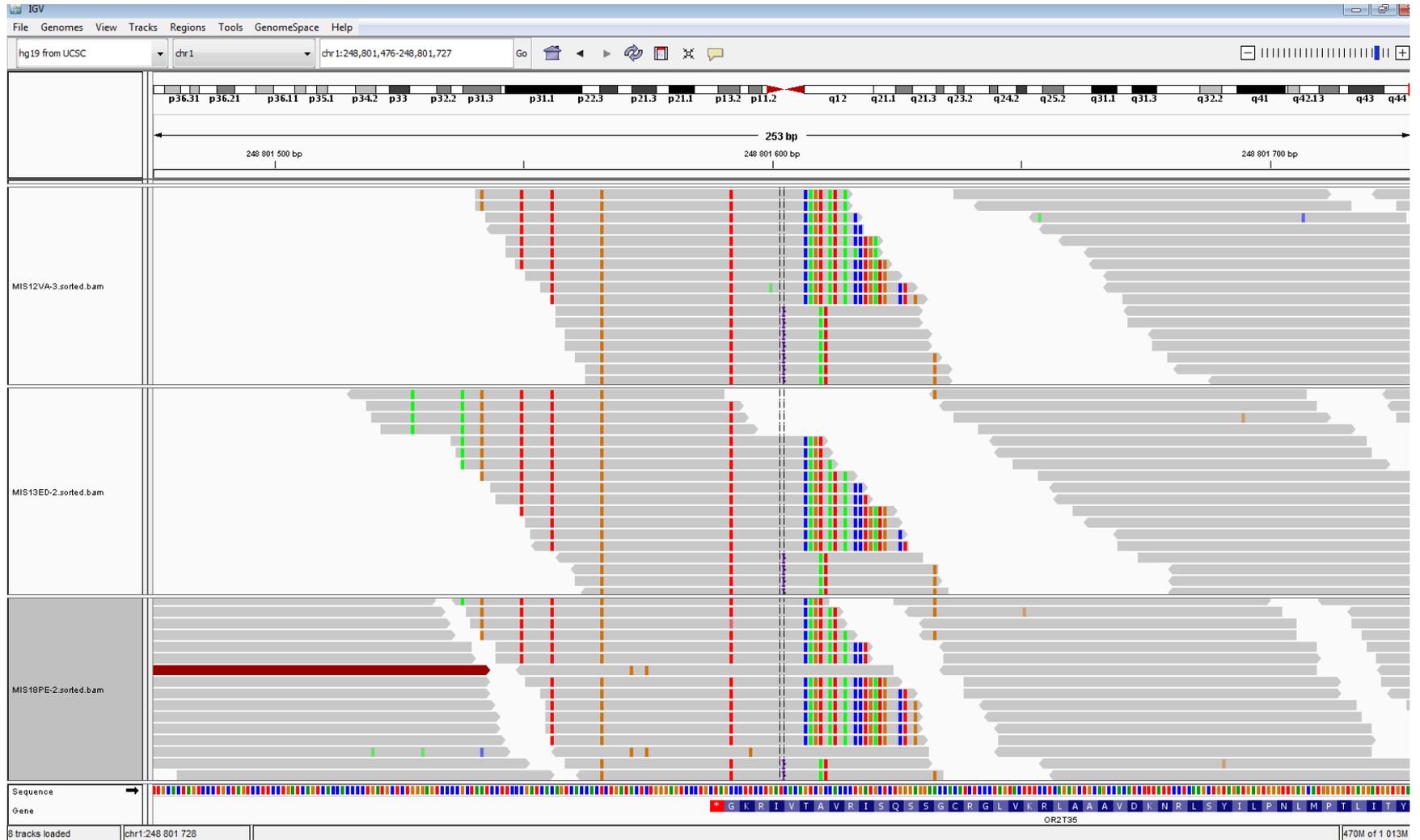


Fastqc

NGS: critère de qualité (IGV)



NGS: critère de qualité (IGV)



Erreur d'alignement

Les différents types de variants

SNV

Reference

ATTGGCCTTAACCCCGATTATCAGGAT

Patient

ATTGGCCTTAACCCCGATTATCAGGAT

InDel / Insertion / Délétion

Reference

ATTGGCCTTAACCCGATCCGATTATCAGGAT

Patient

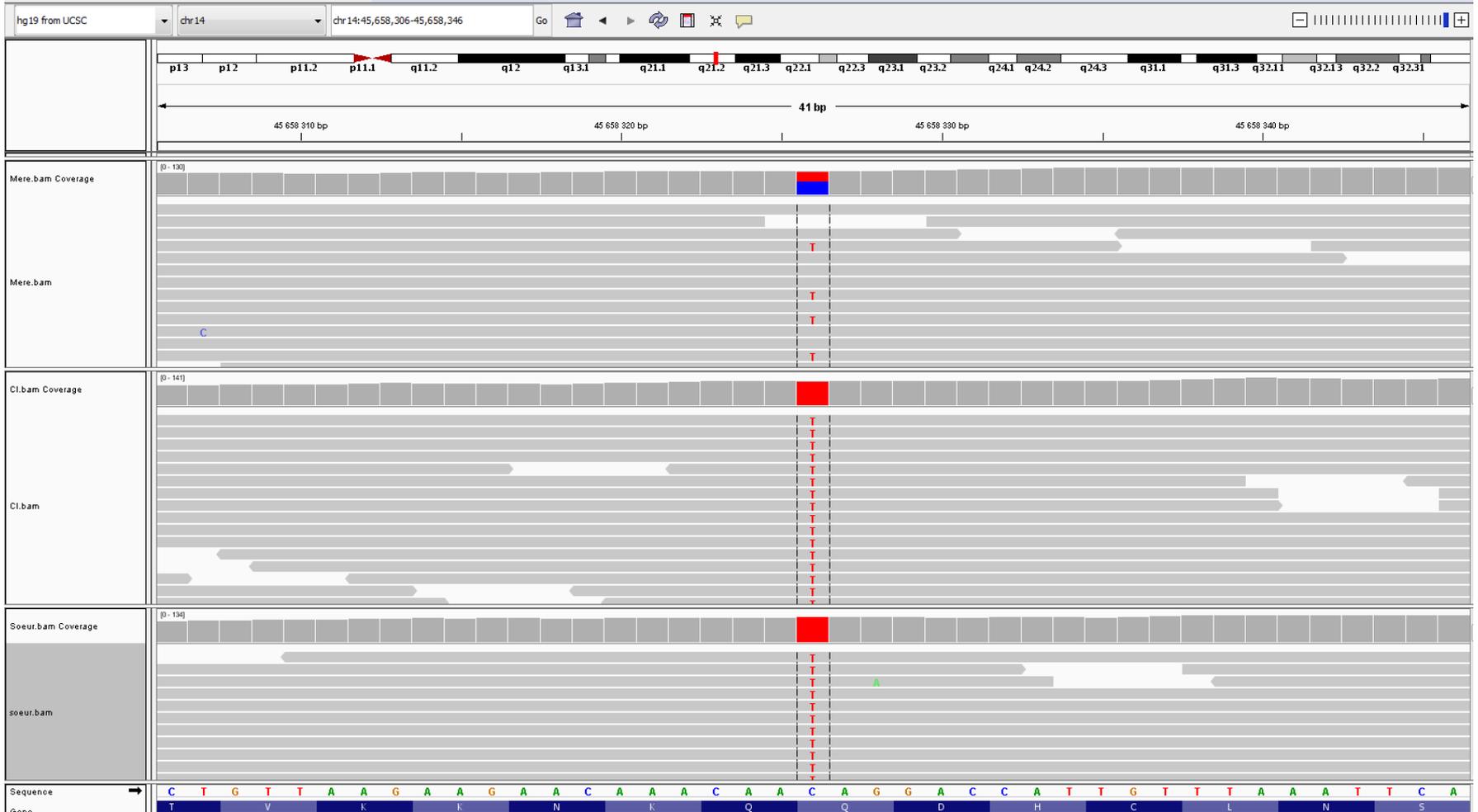
ATTGGCCTTAACCC---CCGATTATCAGGAT

SNV

SNV

Reference
Patient

ATTGGCCTTAACC**C**CCGATTATCAGGAT
ATTGGCCTTAACC**T**CCGATTATCAGGAT

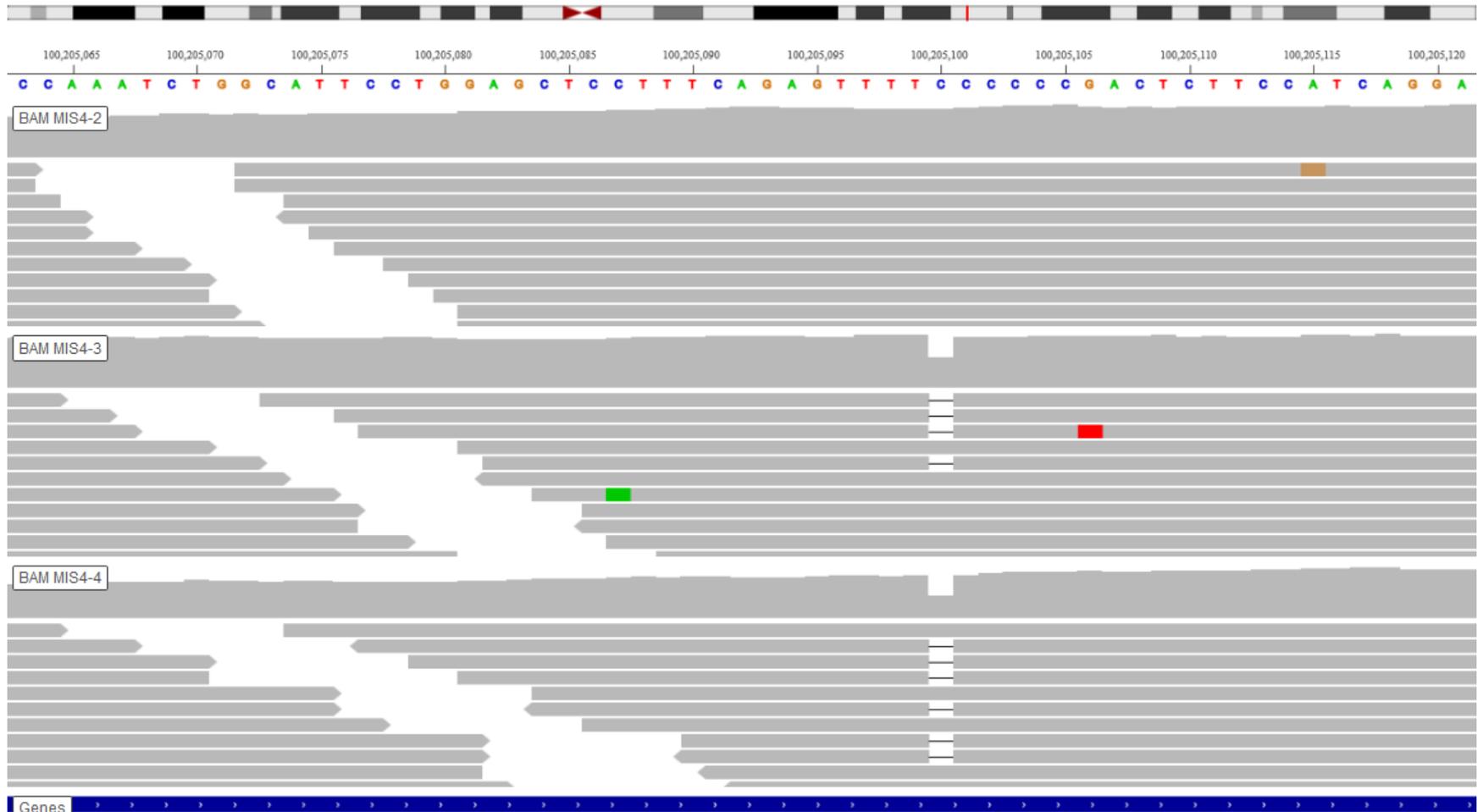


Délétion

InDel / Insertion / Délétion

Reference
Patient

```
Reference: ATTGGCCTTAACCCGATCCGATTATCAGGAT
Patient:   ATTGGCCTTAACCC---CCGATTATCAGGAT
```



Interprétation des variants en NGS

SNV

Reference
Patient

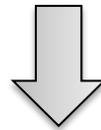
```
ATTGGCCTTAACCCCGATTATCAGGAT  
ATTGGCCTTAACCCCGATTATCAGGAT
```

InDel / Insertion / Délétion

Reference
Patient

```
ATTGGCCTTAACCCGATCCGATTATCAGGAT  
ATTGGCCTTAACCC---CCGATTATCAGGAT
```

Interprétation



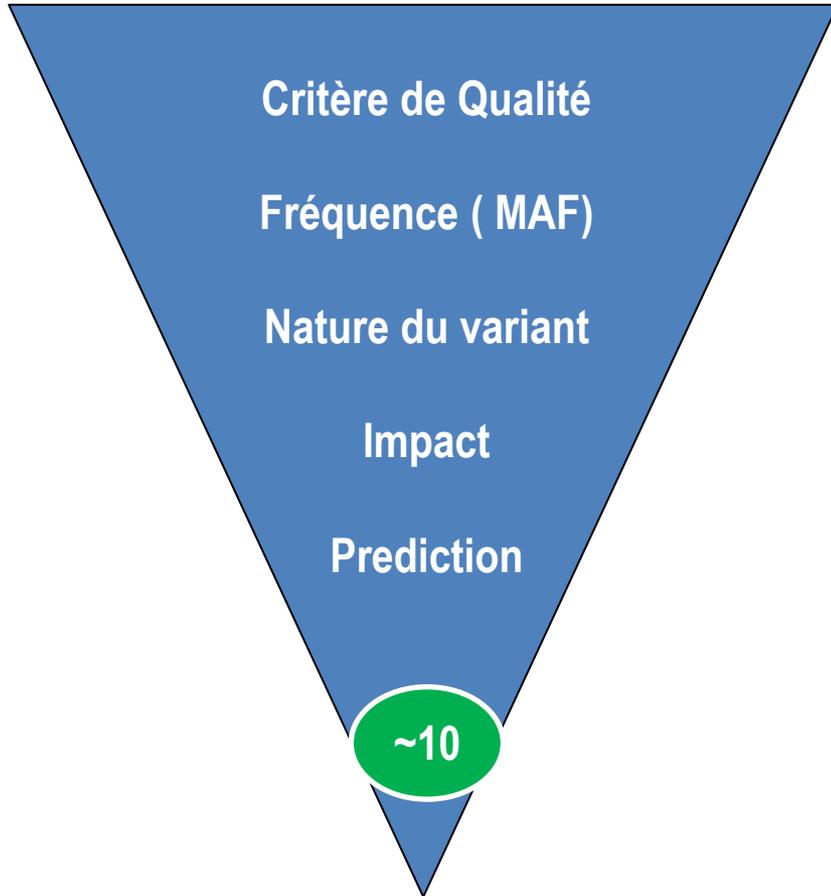
Bénin

Undétrminé (VUS)

Pathogène

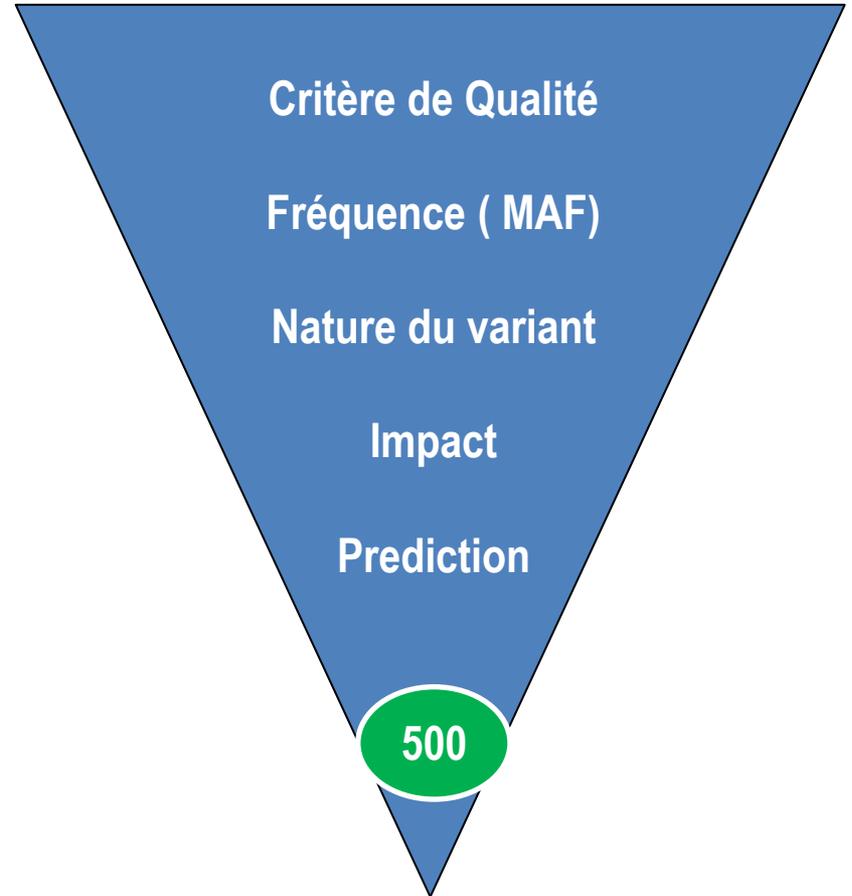
Interpretation des variants en NGS

~200 variations



Panel

~20.000 variations



Exome

MAF (*Minor Allele Frequency*)

- Fréquence de l'allèle mineur dans une population donnée
- Base de données de polymorphisme
 - dbSNP
 - ExAC
 - EVS
 - 1000Genomes
 - GnomAD (+150000 exome et génomes)
- Intérêt de la plateforme *Varsome* (*varsome.com*)

← → ↻ 🏠 www.ensembl.org/Homo_sapiens/Variation/Explore?db=core;r=22:41699599 ☆

🔍 Débuter avec Firefox <http://www.google.fr/> 📁 Autres marque-pages

e!Ensembl BLAST/BLAT | VEP | Tools | More ▾ 🔍

 **Human** (GRCh38.p13) ▾ Login/Register

Location: 22:41,699,099-41,700,099 Variant: rs73424975

Variant displays

- └ Explore this variant
- └ Genomic context
 - └ Genes and regulation
 - └ Flanking sequence
- └ Population genetics
- └ Phenotype data
- └ Sample genotypes
- └ Linkage disequilibrium
- └ Phylogenetic context
- └ Citations
- └ 3D Protein model

rs73424975 SNP

Most severe consequence missense variant
| [See all predicted consequences](#)

Alleles G/A | Ancestral: G | MAF: 0.02 (A) | Highest population MAF: 0.09

Change tolerance CADD: A:15.30 | GERP: 1.53

Location Chromosome [22:41699599](#) (forward strand) | VCF
22 41699599 rs73424975 G A

Evidence status







Clinical significance +

HGVS names This variant has 7 HGVS names - [Show](#) ⊕

Synonyms This variant has 2 synonyms - [Show](#) ⊕

Genotyping chips This variant has assays on 4 chips - [Show](#) ⊕

Original source Variants (including SNPs and indels) imported from dbSNP (release 154) | [View in dbSNP](#) ↗

About this variant This variant overlaps [2 transcripts](#), [2 regulatory features](#), has [3009 sample genotypes](#) and is associated with [1 phenotype](#)

⚙️ [Configure this page](#)

 [Custom tracks](#)

 [Export data](#)

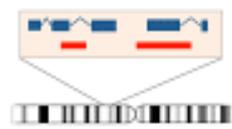
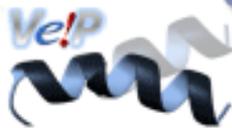
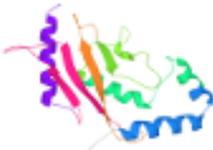
 [Share this page](#)

 [Bookmark this page](#)

Entrez : rs73424975 comme critere

<http://www.ensembl.org>

Explore this variant

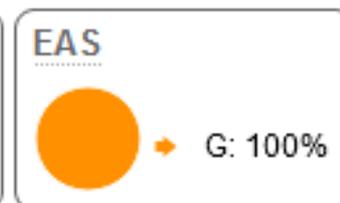
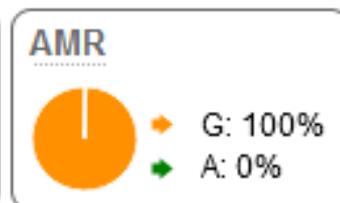
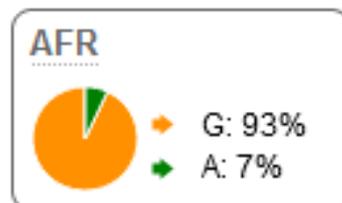
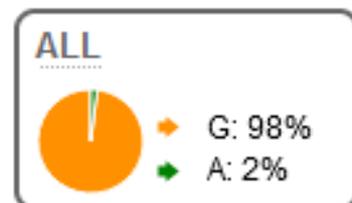
 <p>Genomic context</p>	 <p>Genes and regulation</p>	 <p>Flanking sequence</p>	 <p>Population genetics</p>	 <p>Phenotype data</p>
 <p>Sample genotypes</p>	 <p>Linkage disequilibrium</p>	 <p>Phylogenetic context</p>	 <p>Citations</p>	 <p>3D Protein model</p>

Using the website

Documentation

Population genetics ?

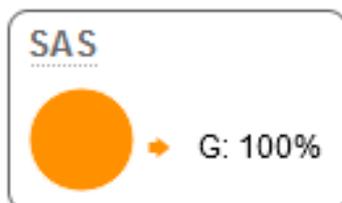
1000 Genomes Project Phase 3 allele frequencies



Sub-populations ⊕

Sub-populations ⊕

Sub-populations ⊕



Sub-populations ⊕

Sub-populations ⊕

Jump to: [1000 Genomes Project Phase 3 \(32\)](#) | [gnomAD exomes r2.1.1 \(9\)](#) | [gnomAD genomes r3.0 \(10\)](#) | [NCBI ALFA \(12\)](#) | [TOPMed \(1\)](#) | [UK10K \(2\)](#) | [NHLBI Exome Sequencing Project \(2\)](#) | [Gambian Genome Variation Project \(5\)](#)

MAF (exemple GnomAD)

Variant: 22-42095603-G-A

	Exomes	Genomes	Total
Filter	Pass	Pass	
Allele Count	1164	501	1665
Allele Number	240586	31378	271964
Allele Frequency	0.004838	0.01597	0.006122
Filtering AF (95% confidence)	0.004607	0.01481	

Population Frequencies

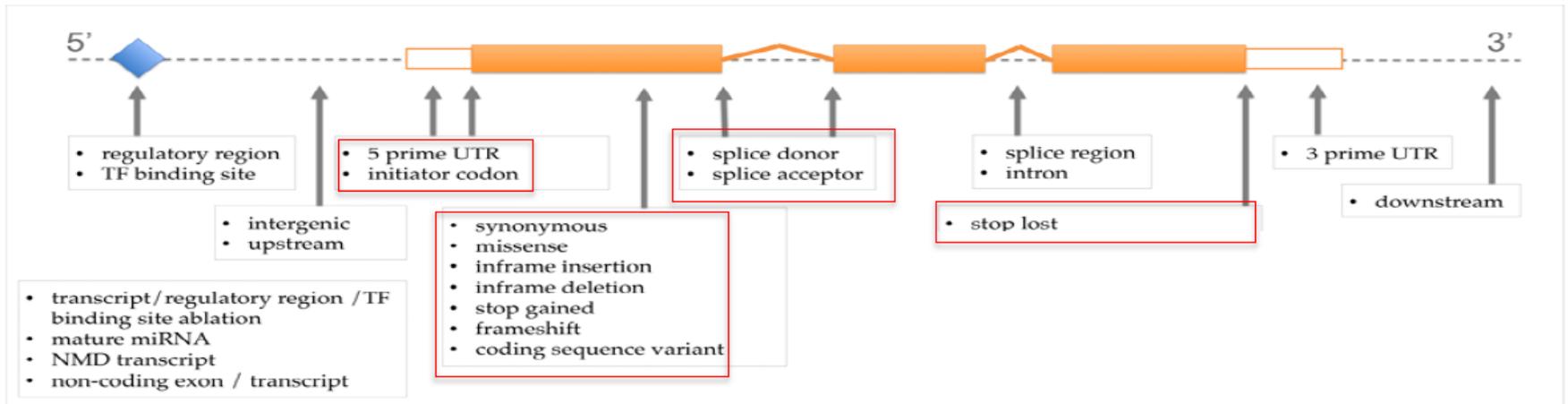
Population	Allele Count	Allele Number	Number of Homozygotes	Allele Frequency
▶ African	1393	23556	41	0.05914
▶ Latino	126	35118	1	0.003588
▶ Ashkenazi Jewish	36	10138	0	0.003551
▶ Other	21	6988	0	0.003005
▶ South Asian	21	30480	2	0.0006890
▶ European (non-Finnish)	65	121850	0	0.0005334
▶ European (Finnish)	3	24466	0	0.0001226
▶ East Asian	0	19368	0	0.000
Total	1665	271964	44	0.006122

Include: Exomes Genomes

MAF : Minor allelic frequency

<http://gnomad.broadinstitute.org/variant/22-42095603-G-A>

Impact du variant

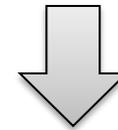
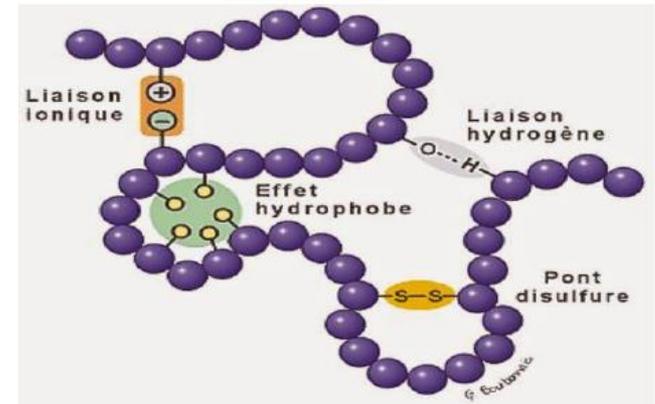


Impact du variant

- **HIGH**
 - STOP
 - Mutation avec décalage de cadre de lecture
 - Mutation d'épissage
- **MODERATE**
 - Missense
 - Délétion ou insertion en phase
- **LOW**
 - Mutation synonyme
 - Région intronique profonde
- **MODIFIER**
 - Région régulatrice (5'UTR, 3'UTR,.....)

Logiciel de prédictions (missense)

- Variation d'un seul nucleotide
- Remplacement d'un acide aminé par un autre
- **G**GC(Gly) ->**A**GC (Ser)
- Effet ?



Logiciel de prédiction

Logiciel de prédictions (missense)

genetics.bwh.harvard.edu/pph2/

Rechercher



PolyPhen-2

prediction of functional effects of human nsSNPs

Home About Help Downloads Batch query WHESS.db

PolyPhen-2 (Polymorphism Phenotyping v2) is a tool which predicts possible impact of an amino acid substitution on the structure and function of a human protein using straightforward physical and comparative considerations. Please, use the form below to submit your query.

Query Data	
Protein or SNP identifier	<input type="text"/>
Protein sequence in FASTA format	<pre>DPRLSONKQALEGLGDLKLLFEYLTLEFGIADKISFDLSLARGLDYY TGVLYEAVLIQTPTQAGEEPLNVGSAAGGRYDGLVGMFDPKGHKV PCVGLSIGVERIFYIVPQRMKTGKEKVRTTETQVFVATPQKN FLQERLKLIAELWDSGIIKAEMLYKNNPKLLTOLHYCESPGIPLVVI IGEQELKEGVKIR SVASREEVAIKRENFVAEIQKRLSES</pre>
Position	<input type="text" value="200"/>
Substitution	AA ₁ A R N D C E Q G H I L K M F P S T W Y V AA ₂ A R N D C E Q G H I L K M F P S T W Y V
Query description	<input type="text" value="variant 1"/>

Submit Query Clear Check Status

[Display advanced query options](#)

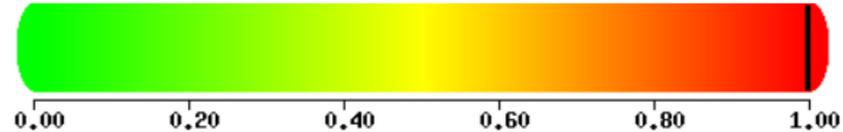
<http://genetics.bwh.harvard.edu/pph2/>

Logiciel de prédictions (missense)

0.00 0.20 0.40 0.60 0.80 1.00

HumVar

This mutation is predicted to be **PROBABLY DAMAGING** with a score of 0.998 (sensitivity: 0.18; specificity: 0.98)



Details

Multiple sequence alignment

UniProtKB/UniRef100 Release 2011_12 (14-Dec-2011)

QUERY	IVQGRYREFCQC	DFDIAGQFD	EMIPDAECLKIMCEI	L	SGLQLGDFL	IKV	NDRRIVDGMFAV
sp UPI00020AC31A#1	IVQGRYREFCQC	DFDIAGQFD	EMIPDAECLKIMCEI	L	SGLQLGDFL	IKV	NDRRIVDGMFAV
sp C9JV49#1	IVQGRYREFCQC	DFDIAGQFD	EMIPDAECLKIMCEI	L	SGLQLGDFL	IKV	NDRRIVDGMFAV
sp F7DMK1#1	VVQGRYREFCQC	DFDIAGQFD	EMIPDAECLKIMCEI	L	SGLQLGDFL	IKV	NDRRIVDGMFAV
sp F7I4Z6#1	IVQGRYREFCQC	DFDIAGQFD	EMIPDAECLKIMCEI	L	NGLQLGDFL	IKV	NDRRIVDGMFAV
sp G1PX24#1	IVQGRYREFCQC	DFDIAGQFD	EMIPDAECLKIMCEI	L	TGLQLGDFL	IKV	NDRRIVDGMFAI
sp G1SLE1#1	IVQGRYREFCQC	DFDIAGQFD	EMIPDAECLKIMCEI	L	SGLQLGNFL	IKV	NDRRIVDGMFAV
sp A5D7V9#1	IVQGRYREFYQC	DFDIAGQFD	EMIPDAECLKIMCEI	L	SGLHLGDFL	IKV	SDRRILDGIFAV
sp F1N0T6#1	IVQGRYREFYQC	DFDIAGQFD	EMIPDAECLKIMCEI	L	SGLHLGDFL	IKV	SDRRILDGIFAV
sp UPI00021053D2#1	IVQGRYREFCQC	DFDIAGQFD	EMIPDAECLKIMCEI	L	SGLQLGDFL	IKV	NDRRIVDGMFAV
sp F1RGD8#1	IVQGRYREFCQC	DFDIAGQFD	EMIPDAECLKIMCEI	L	SGLQLGDFL	IKV	NDRRIVDGMFAV
sp G1LWC9#1	IVQGRYREFCQC	DFDIAGQFD	EMIPDAECLKIMCEI	L	SGLQLGDFL	IKV	NDRRIVDGMFAV
sp C9JW95#1	-----	DFDIAGQFD	EMIPDAECLKIMCEI	L	SGLQLGDFL	IKV	NDRRIVDGMFAV
sp G3TL50#1	IAQGRYREFYQC	DFDIAGQFD	EMIPDAECLKIMCEI	L	SGLQLGDFL	IKV	NDRRIVDGMFAV
sp E2QZ43#1	IVQGRYREFCQC	DFDIAGQFD	EMIPDAECLKIMCEI	L	SGLQLGDFL	IKV	NDRRIVDGMFAV
sp UPI000184FAD2#1	IVQGRYREFYQC	DFDIAGQFD	EMIPDAECLKIMCEI	L	SGLQLGDFL	IKV	NDRRIVDGMFAV
sp UPI000214A6E0#1	VVQGRYREFCQC	DFDIAGQFD	EMIPDAECLKIMCEI	L	SGLQLGDFL	IKV	NDRRIVDGMFAV
sp O99KK9#1	IAQGRYREFCQC	DFDIAGQFD	EMIPDAECLKIMCEI	L	SGLQLGDFL	IKV	NDRRIVDGMFAV

L200 V

Logiciel de prédictions (missense)

Score a variant

Enter the [GRCh37/hg19](#) coordinate for a missense variant to retrieve its M-CAP score.

GRCh37/hg19

19:55239223

Go!

Demo!

GRCh37/hg19:19:55,239,223 Reference Allele G

Alt Allele	M-CAP	95% sensitivity
A	0.001	Likely Benign
C	0.001	Likely Benign
T	0.001	Likely Benign

How to cite

Jagadeesh, K., Wenger, A., Berger, M., Guturu, H., Stenson, P., Cooper, D., Bernstein, J., and Bejerano, G. (2016). M-CAP eliminates a majority of variants with uncertain significance in clinical exomes at high sensitivity. *Nature Genetics*, 2016. DOI: [10.1038/ng.3703](https://doi.org/10.1038/ng.3703)

Download M-CAP Scores

- [M-CAP v1.0 scores 10/24/2016](#)
- [M-CAP v1.2 scores 09/21/2018](#)

M-CAP source code

M-CAP public git repository can be found [here](#).

<http://bejerano.stanford.edu/mcap/>

Logiciel de prédictions (epissage)

Human Splicing Finder  
GENETICS & BIOINFORMATICS TEAM

Home Analyse Now! What's New? Help & Tutorials Credits & Publications Our Other Tools Contact Us

Start an Analysis

Select an analysis type

Analyze mutation(s) Ensembl database release: **75** (February 2014)

Automatically select the longest transcript: Yes No

Search for SNPs related to the analyzed sequence: Yes No

[More database options](#)

Choose a sequence by

Gene Name (e.g. DMD)

Paste your mutant list (e.g. c.4250T>A)

c. 726G>A

For more information on how to fill in this form, please refer to the help located at the bottom of this page.

[Show advanced parameters](#)

Select all or a subset of matrices and set their thresholds to display Splicing Elements.

Logiciel de prédictions (epissage)

Results

MCM9 c.726G>A

Sequences

Reference sequence

MCM9 Gene > ENST00000316316 Transcript > Exon number: 5 (201 bp) + 100 intronic nucleotides at exon ends

```
1 aagggagtggt tttatttcta atttctggtc ctttgtcatt ttgagtctgt gtcacgatg caggatgcta ctgctggact cacttgatgc tttttcctag
101 GTGATGACCT CACTATTTC GGAATTGTAA TGCAACGGTG GAAGCCCTTT CAGCAAGATG TCGCTGTGA AGTGGAGATA GTCCTGAAAG CAAATTACAT
201 CCAAGTAAAT AATGAGCAGT CCTCAGGGAT CATCATGGAT GAGGAGTCC AAAAGGAATT CGAAGATTTT TGGGAATACT ATAAGAGCGA TCCCTTTGCA
301 Ggtttgtggt taagggctaa aactgattat tattaatggt attacattca gtggttaaat atgatgtctg tgatttgaca gtcttatatg cgcataact
401 c
```

Total sequence length: 401 nucleotides

Mutant sequence

```
1 aagggagtggt tttatttcta atttctggtc ctttgtcatt ttgagtctgt gtcacgatg caggatgcta ctgctggact cacttgatgc tttttcctag
101 GTGATGACCT CACTATTTC GGAATTGTAA TGCAACGGTG GAAGCCCTTT CAGCAAGATG TCGCTGTGA AGTGGAGATA GTCCTGAAAG CAAATTACAT
201 CCAAGTAAAT AATGAGCAGT CCTCAGGGAT CATCATGGAT GAGGAGTCC AAAAGGAATT CGAAGATTTT TGGGAATACT ATAAGAGCGA TCCCTTTGCA
301 Ggtttgtggt taagggctaa aactgattat tattaatggt attacattca gtggttaaat atgatgtctg tgatttgaca gtcttatatg cgcataact
401 c
```

Total sequence length: 401 nucleotides

The underlined sequences are analyzed by HSF.

Interpreted Data

This table shows only relevant results related to the mutation position and context.

The mutation occurs in the late exonic positions, the following table show results of donor splice sites, ESE and ESS that could be affected by the mutation

No significant splicing motif alteration detected.
This mutation has probably no impact on splicing.

Logiciel de prédictions (epissage)

Results

WEE2 c.1350C>T

Sequences

Reference sequence

WEE2 Gene > ENST00000397541 Transcript > Exon number: 9 (171 bp) + 100 intronic nucleotides at exon ends

```

1 ccttatatgc actcgaatga acctttccta ccagttatat ttaaatctag actcaccctg cttggcatag taactggcct tcctgtcttc tgttttgaag
101 GATTACCGGC ACCTTCCCAA AGCAGACATA TTTGCCTTGG GATTAACAAT TGCAGTGGCT GCAGGAGCAG AGTCATTGCC CACCAATGGT GCTGCATGGC
201 ACCATATCCG CAAGGGTAAC TTTCCGGACG TTCTCAGGA GCTCTCAGAA AGCTTTTCCA GTCTGCTCAA Ggtgatagct cttacgagat gaacagaaga
301 tgcaatatct attttttag tgcgatggca actagttggg caaagaaaaa tggagatgct agtagtgca c
  
```

Total sequence length: 371 nucleotides

Mutant sequence

```

1 ccttatatgc actcgaatga acctttccta ccagttatat ttaaatctag actcaccctg cttggcatag taactggcct tcctgtcttc tgttttgaag
101 GATTACCGGC ACCTTCCCAA AGCAGACATA TTTGCCTTGG GATTAACAAT TGCAGTGGCT GCAGGAGCAG AGTCATTGCC CACCAATGGT GCTGCATGGC
201 ACCATATCCG CAAGGGTAAC TTTCCGGATG TTCTCAGGA GCTCTCAGAA AGCTTTTCCA GTCTGCTCAA Ggtgatagct cttacgagat gaacagaaga
301 tgcaatatct attttttag tgcgatggca actagttggg caaagaaaaa tggagatgct agtagtgca c
  
```

Total sequence length: 371 nucleotides

The underlined sequences are analyzed by HSF.

Interpreted Data

This table shows only relevant results related to the mutation position and context.

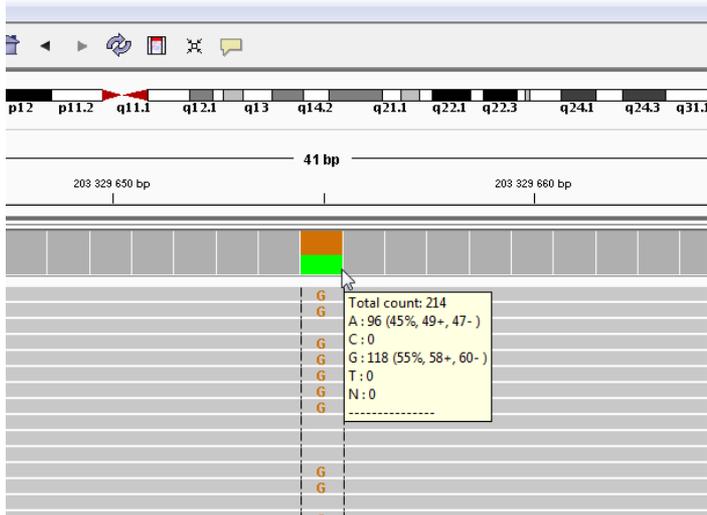
The mutation occurs in the late exonic positions, the following table show results of donor splice sites, ESE and ESS that could be affected by the mutation

Predicted signal	Prediction algorithm	cDNA Position	Interpretation
New ESS Site	1 - IIEs from Zhang et al.		<p>Creation of an exonic ESS site. Potential alteration of splicing.</p>
	2 - ESR Sequences from Goren et al.		
	3 - Sironi et al. - Motif 3		

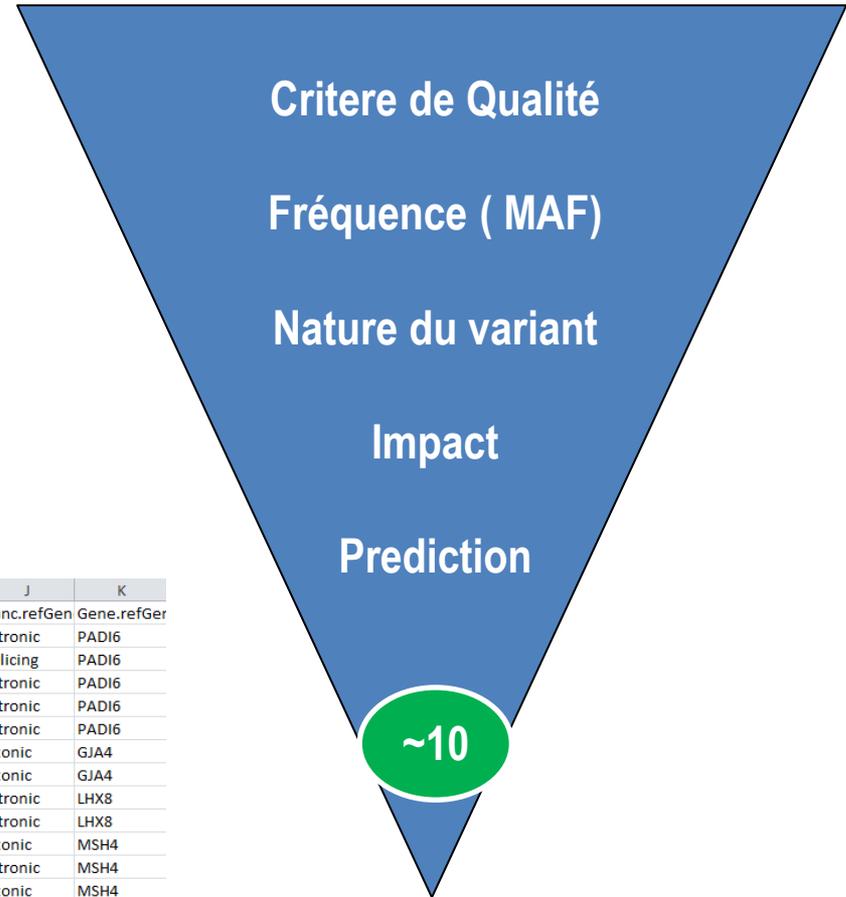
Raw Data Tables ?

En pratique

~200 variations



#	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K
1	#CHROM	POS	REF	ALT	QUAL	MQ	FORMAT	_pd__oc_AF		Func.refGen	Gene.refGer
2	chr1	17707739	T	C	3767.77	60.00	GT:AD:DP:G:C	1/1:0,109:105	1.00	intronic	PADI6
3	chr1	17718671	AG	A	3339.77	60.22	GT:AD:DP:G:C	1/1:0,95:95	9 1.00	splicing	PADI6
4	chr1	17720439	T	C	1316.77	60.00	GT:AD:DP:G:C	0/1:69,52:12	0.500	intronic	PADI6
5	chr1	17720615	A	C	1718.77	60.00	GT:AD:DP:G:C	0/1:67,66:13	0.500	intronic	PADI6
6	chr1	17725358	C	G	675.77	60.00	GT:AD:DP:G:C	0/1:39,28:67	0.500	intronic	PADI6
7	chr1	35259961	A	G	2899.77	59.91	GT:AD:DP:G:C	0/1:90,105:1	0.500	exonic	GJA4
8	chr1	35260202	G	A	898.77	60.00	GT:AD:DP:G:C	0/1:54,32:86	0.500	exonic	GJA4
9	chr1	75609049	A	C	1147.77	60.00	GT:AD:DP:G:C	0/1:44,44:88	0.500	intronic	LHX8
10	chr1	75614380	CT	C	1056.77	59.95	GT:AD:DP:G:C	0/1:53,55:11	0.500	intronic	LHX8
11	chr1	76269460	G	A	5563.77	60.00	GT:AD:DP:G:C	1/1:0,174:17	1.00	exonic	MSH4
12	chr1	76344011	C	A	5319.77	60.00	GT:AD:DP:G:C	1/1:0,160:16	1.00	intronic	MSH4
13	chr1	76344711	A	T	6776.77	60.00	GT:AD:DP:G:C	1/1:0,199:19	1.00	exonic	MSH4
14	chr1	76346920	C	CAT	9130.77	60.21	GT:AD:DP:G:C	1/1:0,204:20	1.00	intronic	MSH4
15	chr1	76349534	C	G	6139.77	60.00	GT:AD:DP:G:C	1/1:1,188:18	1.00	intronic	MSH4
16	chr1	91728053	G	A	6783.77	60.00	GT:AD:DP:G:C	1/1:0,197:19	1.00	exonic	HFM1
17	chr1	91739208	C	T	4018.77	60.00	GT:AD:DP:G:C	1/1:0,124:12	1.00	intronic	HFM1
18	chr1	91739414	G	A	5745.77	60.00	GT:AD:DP:G:C	1/1:0,178:17	1.00	intronic	HFM1
19	chr1	91781413	T	G	6047.77	60.00	GT:AD:DP:G:C	1/1:0,182:18	1.00	exonic	HFM1



Compatibilité avec histoire familiale

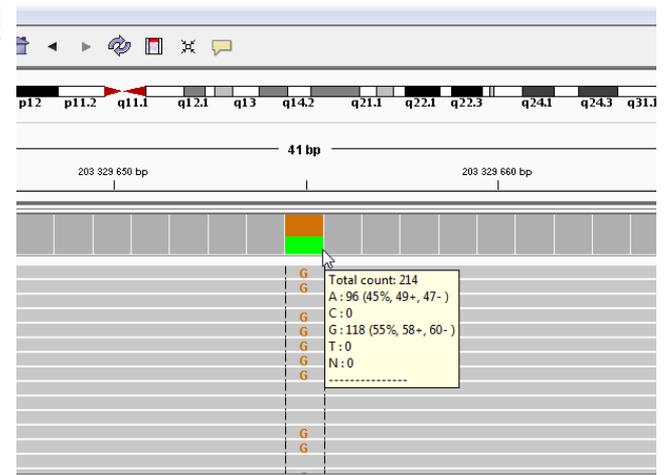
En pratique

<https://varsome.com/variant/hg19/rs73424975>

VarSome

chr22-42095603-G-A

	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K
1	#CHROM	POS	REF	ALT	QUAL	MQ	FORMAT	_pd__oc_AF	Func.refGen	Gene.refGer	
2	chr1	17707739	T	C	3767.77	60.00	GT:AD:DP:G:C/1/1:0,109:10:1.00		intronic	PADI6	
3	chr1	17718671	AG	A	3339.77	60.22	GT:AD:DP:G:C/1/1:0,95:95:9.1.00		splicing	PADI6	
4	chr1	17720439	T	C	1316.77	60.00	GT:AD:DP:G:C/0/1:69,52:12:0.500		intronic	PADI6	
5	chr1	17720615	A	C	1718.77	60.00	GT:AD:DP:G:C/0/1:67,66:13:0.500		intronic	PADI6	
6	chr1	17725358	C	G	675.77	60.00	GT:AD:DP:G:C/0/1:39,28:67:0.500		intronic	PADI6	
7	chr1	35259961	A	G	2899.77	59.91	GT:AD:DP:G:C/0/1:90,105:1:0.500		exonic	GJA4	
8	chr1	35260202	G	A	898.77	60.00	GT:AD:DP:G:C/0/1:54,32:86:0.500		exonic	GJA4	
9	chr1	75609049	A	C	1147.77	60.00	GT:AD:DP:G:C/0/1:44,44:88:0.500		intronic	LHX8	
10	chr1	75614380	CT	C	1056.77	59.95	GT:AD:DP:G:C/0/1:53,55:11:0.500		intronic	LHX8	
11	chr1	76269460	G	A	5563.77	60.00	GT:AD:DP:G:C/1/1:0,174:17:1.00		exonic	MSH4	
12	chr1	76344011	C	A	5319.77	60.00	GT:AD:DP:G:C/1/1:0,160:16:1.00		intronic	MSH4	
13	chr1	76344711	A	T	6776.77	60.00	GT:AD:DP:G:C/1/1:0,199:19:1.00		exonic	MSH4	
14	chr1	76346920	CAT	C	9130.77	60.21	GT:AD:DP:G:C/1/1:0,204:20:1.00		intronic	MSH4	
15	chr1	76349534	C	G	6139.77	60.00	GT:AD:DP:G:C/1/1:1,188:18:1.00		intronic	MSH4	
16	chr1	91728053	G	A	6783.77	60.00	GT:AD:DP:G:C/1/1:0,197:19:1.00		exonic	HFM1	
17	chr1	91739208	C	T	4018.77	60.00	GT:AD:DP:G:C/1/1:0,124:12:1.00		intronic	HFM1	
18	chr1	91739414	G	A	5745.77	60.00	GT:AD:DP:G:C/1/1:0,178:17:1.00		intronic	HFM1	
19	chr1	91781413	T	G	6047.77	60.00	GT:AD:DP:G:C/1/1:0,182:18:1.00		exonic	HFM1	



En pratique

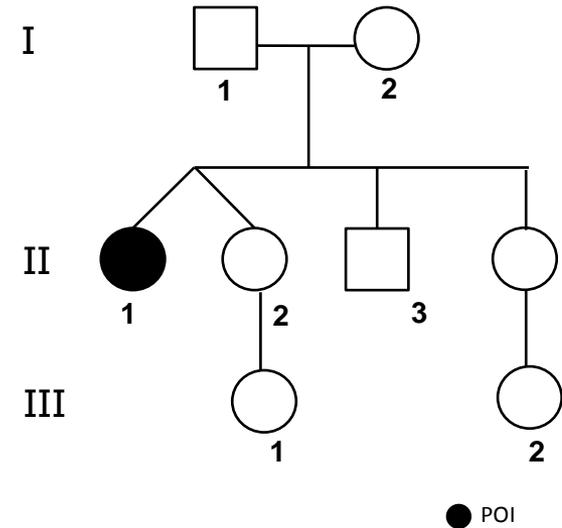
- **Application NGS (AH)**
 - Panel
 - Exome
- **Bases de données (PD)**
 - Orphanet
 - OMIM
 - PubMed

1ere application

PANEL NGS

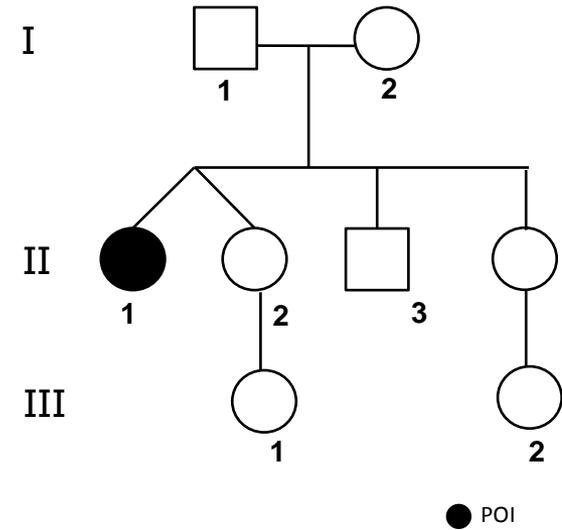
Cas clinique 4

- Patiente d'origine Marocaine
- Pas de consanguinité.
- 30 ans
- IOP sporadique
- Réglée a 11 ans, cycles réguliers
- **Aménorrhée secondaire** à 30 ans
- FSH=**97UI/l** puis à **90UI/l**
- **AMH basse (<0,1 à 29 ans)**
- Echographie: pas de follicule.
- Mère ménopausée à 52 ans; Bien portante.



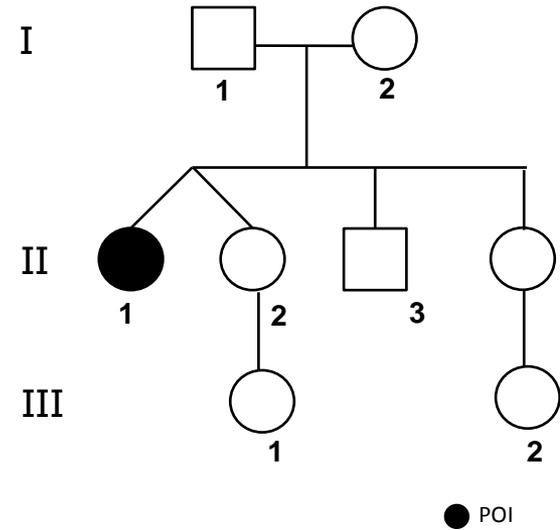
Cas clinique 4

- VCF=CC4.vcf
- BAM=CC4.bam
- Prendre également des BAMs controls:
 - 18GP03578.bam
 - 18GP04227.bam



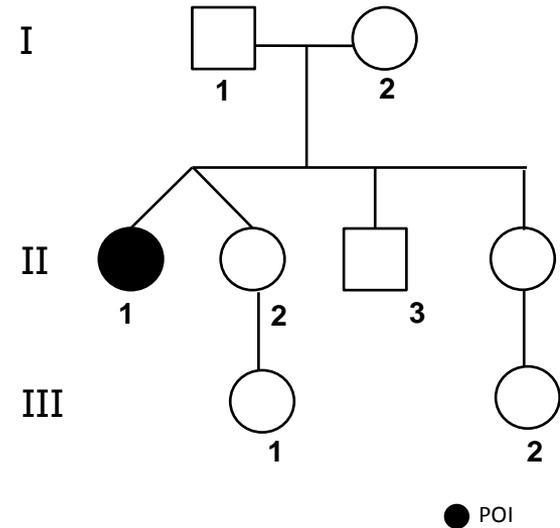
Cas clinique 4

- VCF=CC4.vcf
 - Pour faciliter les analyses utilisez l'onglet « *all_variants* »
- BAM=CC4.bam
- Prendre également des BAMs controls:
 - 18GP03578.bam
 - 18GP04227.bam



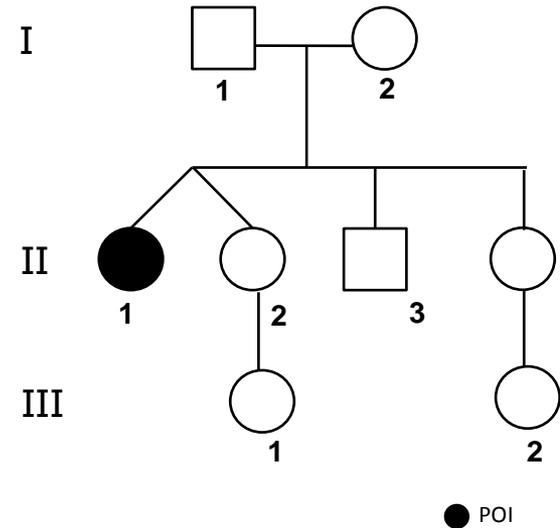
Cas clinique 4

- Nombre de variants avec une MAF<1% ?
- Sans les « MODIFIER » ?
- Sans les synonymes ?
- Check IGV ?
- Quels sont les variants pathogènes ou probablement pathogènes ?
- Quel(s) variant(s) retenez vous ?



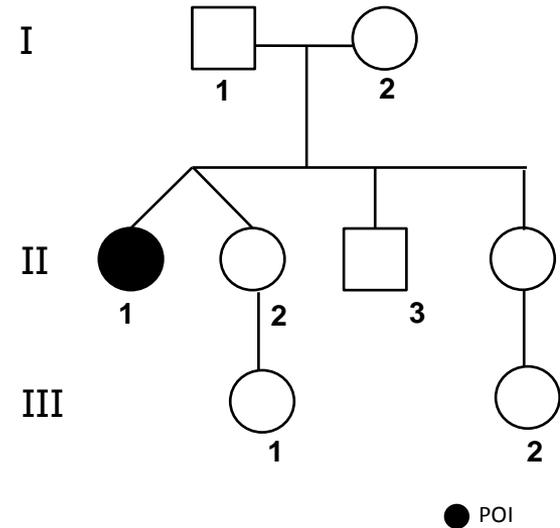
Cas clinique 4

- Nombre de variants avec une MAF < 1% ? 15
- Sans les « MODIFIER » ?
- Sans les synonymes ?
- Check IGV ?
- Quels sont les variants pathogènes ou probablement pathogènes ?
- Quel(s) variant(s) retenez vous ?



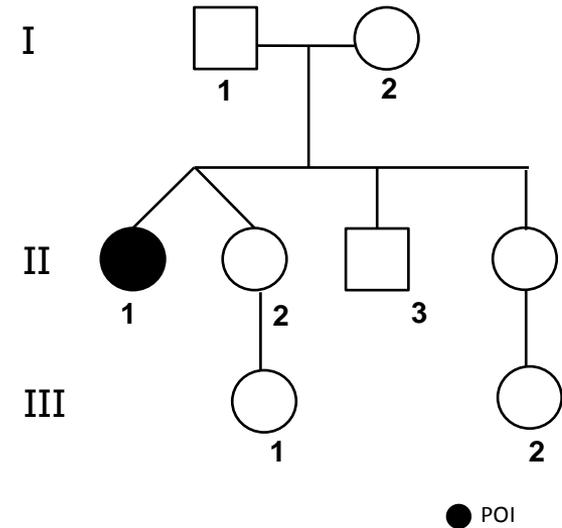
Cas clinique 4

- Nombre de variants avec une MAF<1% ? 15
- Sans les « MODIFIER » ? 7
- Sans les synonymes ?
- Check IGV ?
- Quels sont les variants pathogènes ou probablement pathogènes ?
- Quel(s) variant(s) retenez vous ?



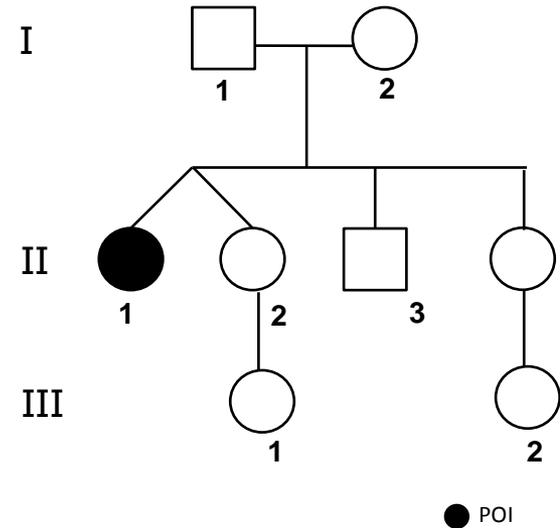
Cas clinique 4

- Nombre de variants avec une MAF<1% ? 15
- Sans les « MODIFIER » ? 7
- Sans les synonymes ? 5
- Check IGV ?
- Quels sont les variants pathogènes ou probablement pathogènes ?
- Quel(s) variant(s) retenez vous ?



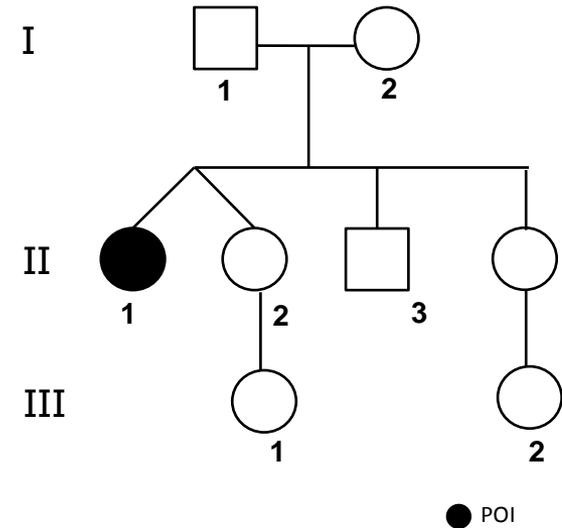
Cas clinique 4

- Nombre de variants avec une MAF<1% ? 15
- Sans les « MODIFIER » ? 7
- Sans les synonymes ? 5
- Check IGV ? 3
- Quels sont les variants pathogènes ou probablement pathogènes ?
- Quel(s) variant(s) retenez vous ?



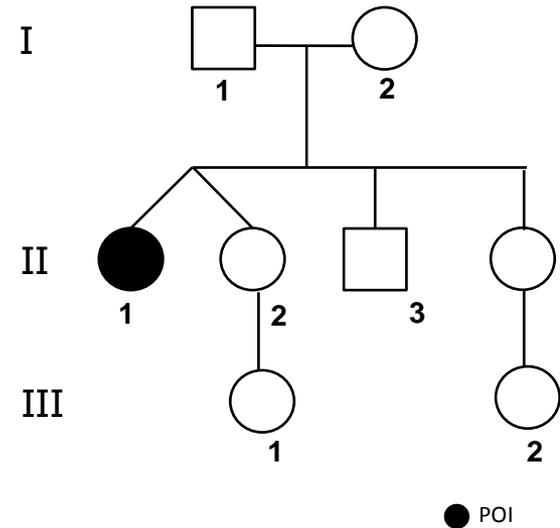
Cas clinique 4

- Nombre de variants avec une MAF<1% ? 15
- Sans les « MODIFIER » ? 7
- Sans les synonymes ? 5
- Check IGV ? 3
- Quels sont les variants pathogènes ou probablement pathogènes ? *NOBOX,ERAL1,ZP3*
- Quel(s) variant(s) retenez vous ?



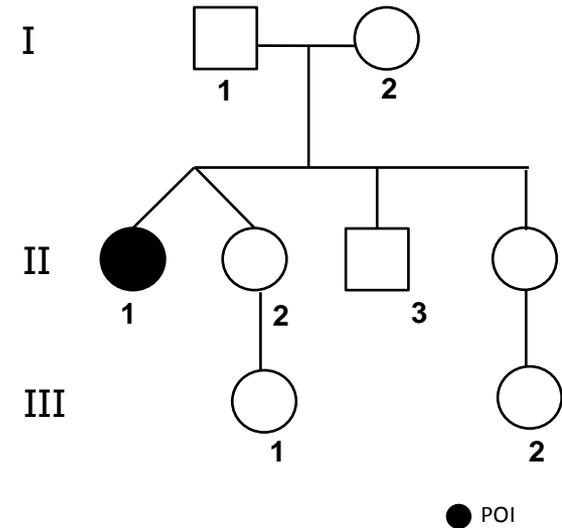
Cas clinique 4

- Nombre de variants avec une MAF<1% ? 15
- Sans les « MODIFIER » ? 7
- Sans les synonymes ? 5
- Check IGV ? 3
- Quels sont les variants pathogènes ou probablement pathogènes ? *NOBOX,ERAL1,ZP3*
- Quel(s) variant(s) retenez vous ? *NOBOX*
- Quel est votre conduite a tenir ?



Cas clinique 4

- Nombre de variants avec une MAF<1% ? 15
- Sans les « MODIFIER » ? 7
- Sans les synonymes ? 5
- Check IGV ? 3
- Quels sont les variants pathogènes ou probablement pathogènes ? *NOBOX,ERAL1,ZP3*
- Quel(s) variant(s) retenez vous ? *NOBOX*
- Quel est votre conduite à tenir ? *Sanger; ségrégation ; test d'épissage*



Cas clinique 4

- IOP sporadique
- Variant d'épissage dans NOBOX probablement à l'origine de l'IOP de cette patiente
- Etude de ségrégation
- Etude de l'effet du variant au niveau de l'ARN

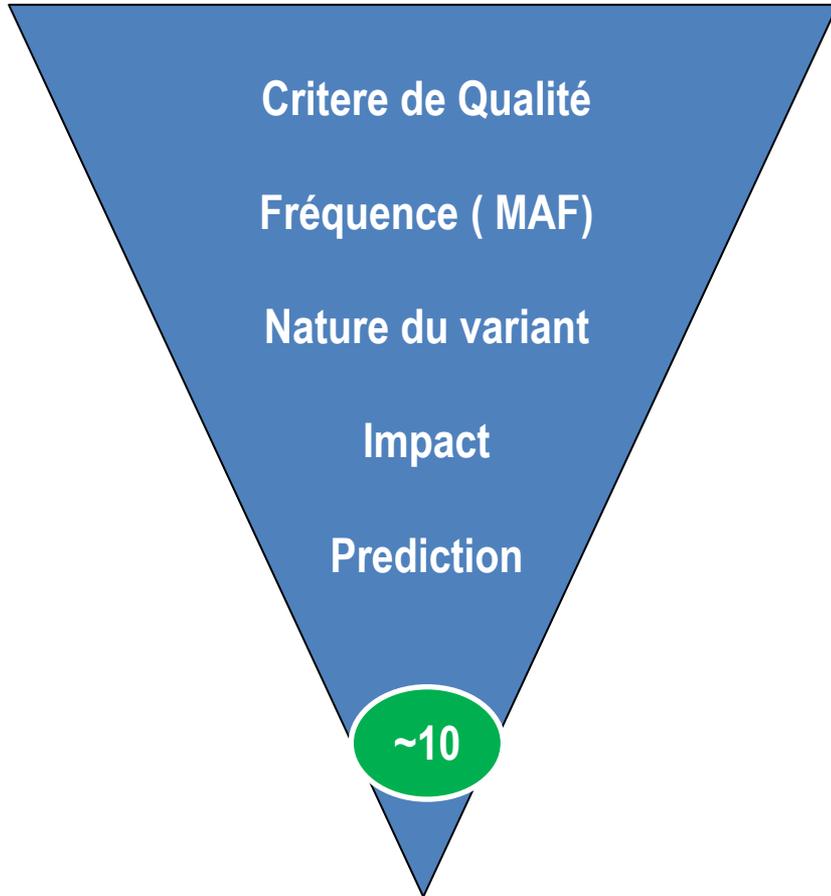
2eme application

EXOME

Cas clinique 1

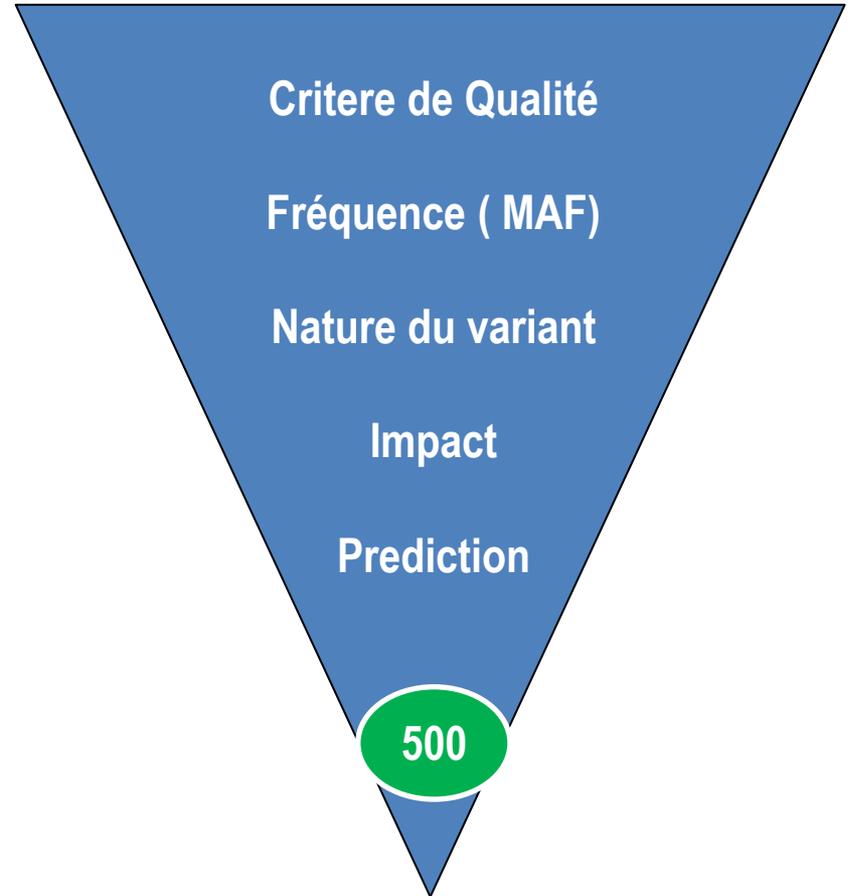
Interpretation des variants en NGS

~200 variations



Panel

~20.000 variations

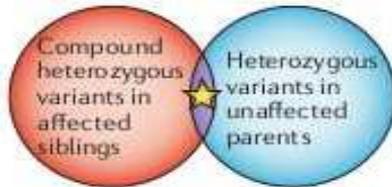
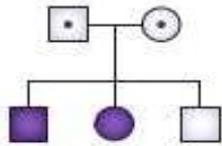


Exome

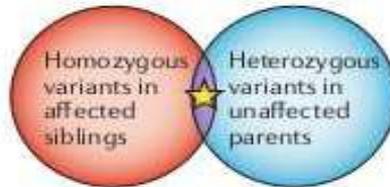
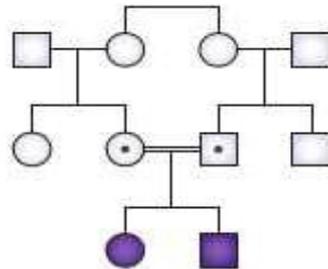
Les stratégies d'exome intrafamilial

a Inherited mutations

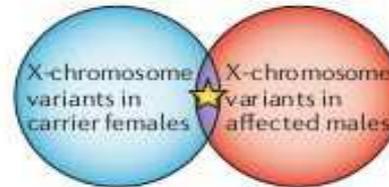
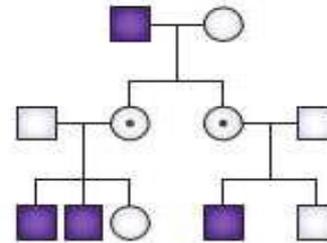
Autosomal recessive



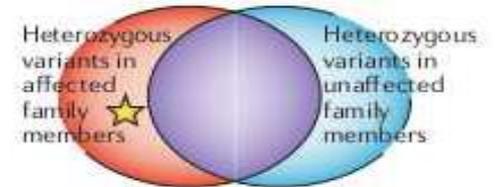
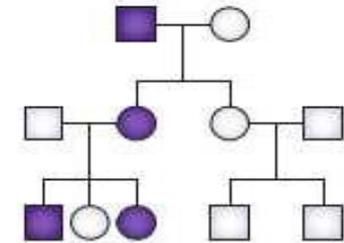
Consanguineous autosomal recessive



X-linked recessive



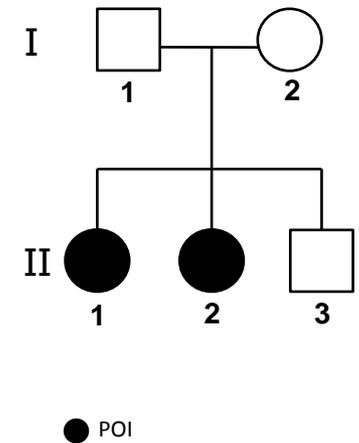
Autosomal dominant



La détermination de la mutation causale, parmi les variations restantes, dépend de **l'hérédité de la maladie**

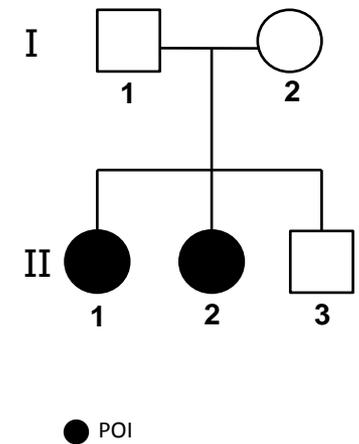
Cas clinique 1

- Famille d'origine Finlandaise
- CI (II.1)
 - Réglée a 12 ans, cycle irréguliers
 - **Aménorrhée secondaire** à 24 ans avec bouffée de chaleur.
 - FSH=41UI/l puis à 120UI/l, **AMH basse (0,2 à 28 ans)**
 - Echographie: ovaire de petite taille, présence de follicule.
- Sœur du CI (II.2)
 - Réglée a 12 ans , cycles irréguliers.
 - Spanioménorrhée , bouffée de chaleur à 20 ans.
 - FSH=16, AMH=0,6 (23 ans)
 - Echographie: pas de follicule
- Mère (I.2)
 - Ménopause à 47 ans; Bien portante.



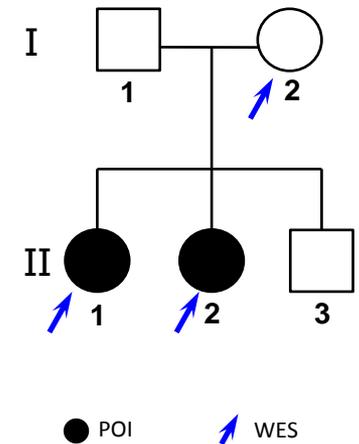
Cas clinique 1

- On veut réaliser un exome pour identifier la cause génétique à l'origine de l' IOP des deux sœurs.
- Quel est le mode de transmission le plus probable ?
- Quelle stratégie d'analyse d'exome faut-il privilégier ?
- Quel sont les membres de cette famille à inclure dans l'étude d'exome ?



Cas clinique 1

- On veut réaliser un exome pour identifier la cause génétique à l'origine de l'IOP des deux sœurs.
- Quel est le mode de transmission le plus probable ?
 - Transmission autosomique récessive
 - Modèle homozygote ou hétérozygote composite
 - Transmission autosomique dominante (père)
- Quelle stratégie d'analyse d'exome faut-il privilégier ?
 - Exome comparatif intrafamilial
- Quel sont les membres de cette famille à inclure dans l'étude d'exome ?
 - Les deux sœurs atteintes et leur mère.



Cas clinique 1

- Les exomes des sœurs atteintes et de leurs mère sont disponibles.
- Voici les statistiques des 3 exomes.

Nombre de variants	Mère	CI(II.1)	Sœur(II.2)
SNP	37929	37590	37859
indel	2692	2753	2702
total	40621	40343	40561

- Comment filtrer ces variants pour identifier le variant causal ?

Cas clinique 1

- Comment filtrer les variants pour identifier le variant causal ?
 - **Fréquence rare (fréquence de <1% dans les bases de donnée de polymorphisme).**
 - **Impact des variants**
 - **Modèle (homozygote, hétérozygote ...)**
 - **Éliminer les biais de séquençage**
 - Fonction du gène
 - Logiciel de prédiction de pathogénie (missense +++, mutation d'épissage)
 - Conservation nucléotidique
 - Expression tissu spécifique
 - Modèle animaux ..

Cas clinique 1

- Variant restants après les premiers filtres.
- VCF:
 - CasIndex_VCF.xls
 - Mere_VCF.xls
 - Soeur_VCF.xls
- BAM
 - Cas index: Sample_MIS12VA-3.bam
 - Sœur: Sample_MIS12VA-4.bam
 - Mère: Sample_MIS12VA-2.bam

Cas clinique 1

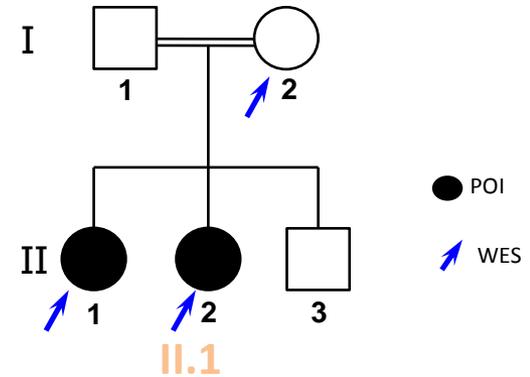
- **Première Hypothèse:** Une mutation homozygote chez les deux sœurs et hétérozygote chez leur mère
- Nombre de variants homozygote chez le CI , rare (<1% 1000Genome, EVS et ExAC)?
- Nombre de variants homozygote chez le CI , rare (<1% 1000Genome, EVS et ExAC)?
- Nombre de variants hétérozygote chez le mère , rare (<1% 1000Genome, EVS et ExAC)?

Cas clinique 1

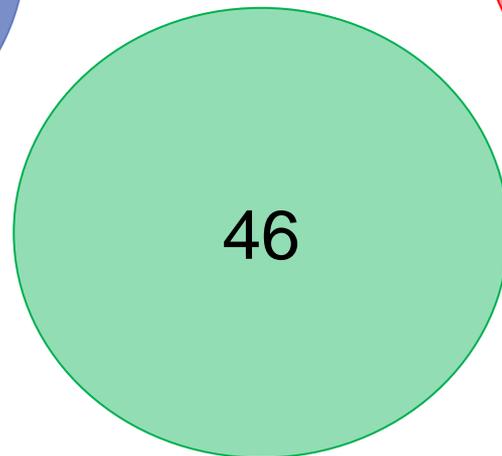
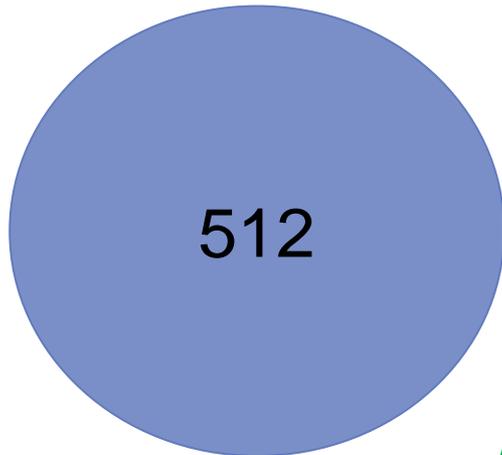
- **Première Hypothèse:** Une mutation homozygote chez les deux sœurs et hétérozygote chez leur mère
- Nombre de variants homozygote chez le CI , rare (<1% 1000Genome, EVS et ExAC)
 - 94 variants (H=9;M=43;L=41)
- Nombre de variants homozygote chez le CI , rare (<1% 1000Genome, EVS et ExAC)
 - 46 variants (H=5;M=28;L=13)
- Nombre de variants hétérozygote chez le mère , rare (<1% 1000Genome, EVS et ExAC)
 - 512 variants (H=23;M=283;L=206)

Cas clinique 1

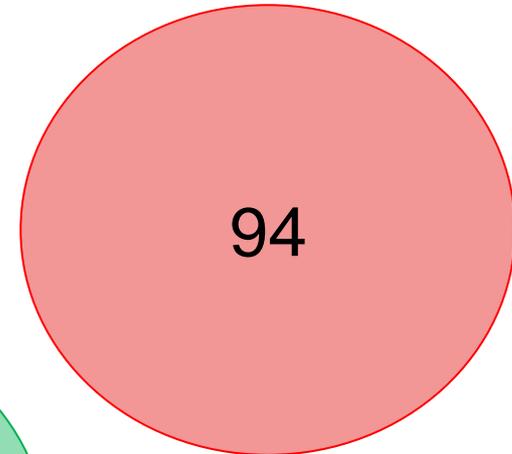
- Transmission autosomique dominante
 - ✓ Homozygote chez la patiente (II.1; II.2)
 - ✓ Hétérozygote chez la mère (I.2)



I.2 (mother)



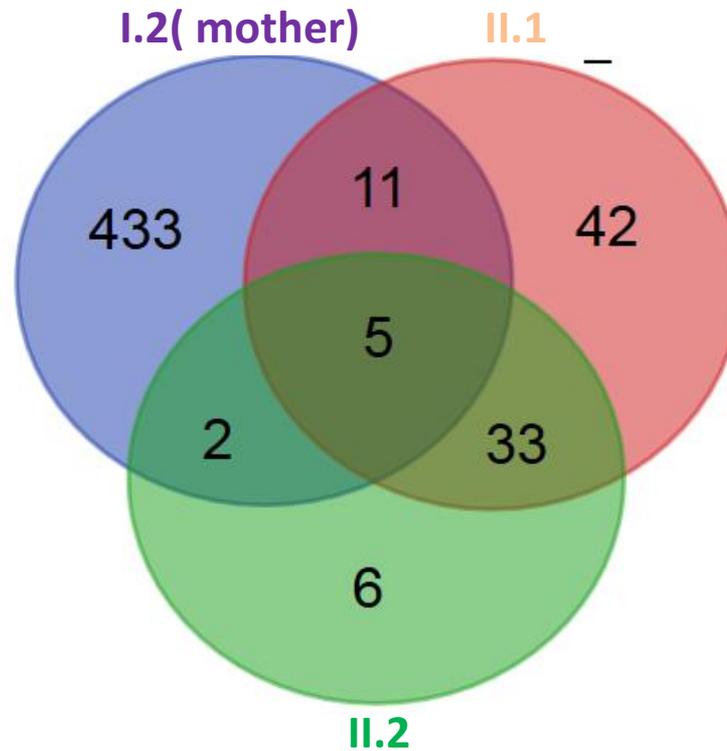
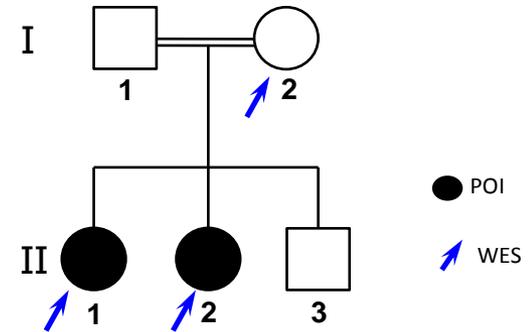
II.2



II.1

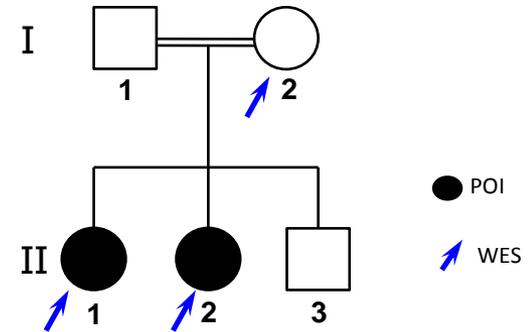
Cas clinique 1

- Transmission autosomique dominante
 - ✓ Homozygote chez la patiente (II.1; II.2)
 - ✓ Hétérozygote chez la mère (I.2)



Cas clinique 1

- Transmission autosomique dominante
 - ✓ Homozygote chez la patiente (II.1; II.2)
 - ✓ Hétérozygote chez la mère (I.2)



chrom	position	gene	refseq	protein variation	impact	consequence
chr1	17086939	MST1L	NM_001271733.1	R128X	HIGH	frameshift_variant
chr14	45658326	FANCM	NM_020937.2	Q1701*	HIGH	stop_gained
chr2	21227503	APOB	NM_000384.2	T3945A	MODERATE	missense_variant
chr19	55239223	KIR3DL3	NM_153443.3	V168I	MODERATE	missense_variant
chr21	10910340	TPTE	NM_199261.2	L472L	LOW	synonymous_variant

Cas clinique 1

5 variations

False Positive

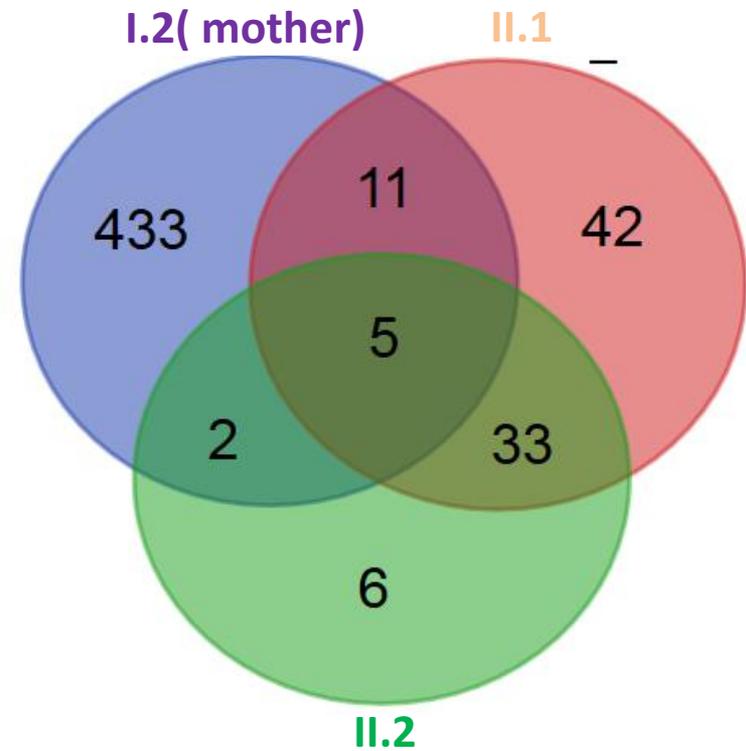
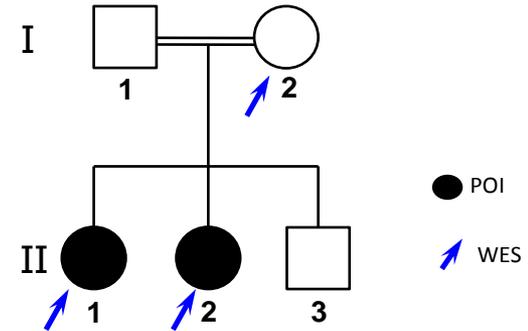
Gene function

Expression

Conservation

Mouse model

2

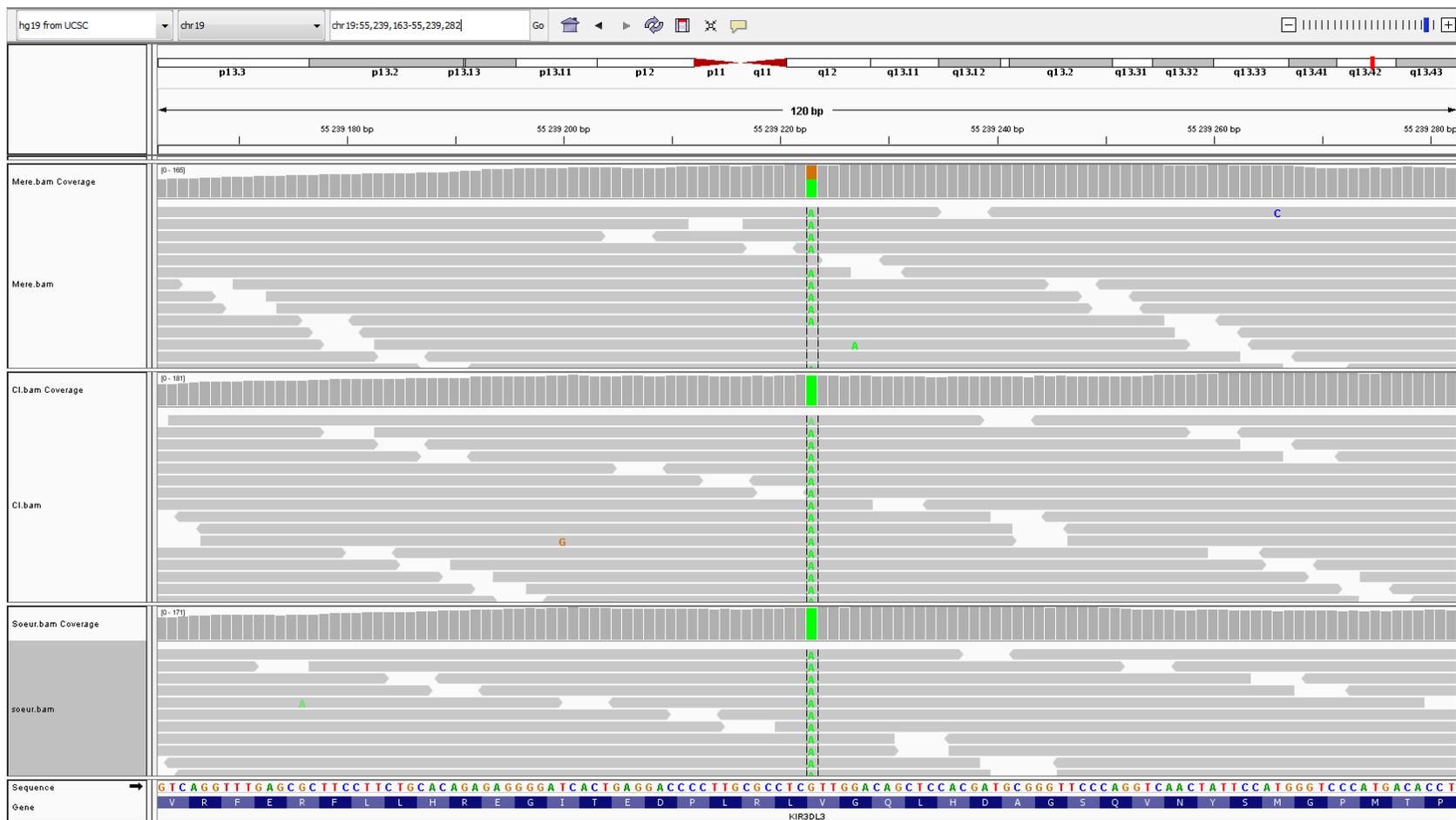


Cas clinique 1

chrom	position	gene	refseq	protein variation	impact	consequence	sample	status
chr14	45658326	FANCM	NM_020937.2	Q1701*	HIGH	stop_gained	I.2(Mere) II.1(CI) II.2(SOEUR)	HTZ HOM_mut HOM_mut
chr19	55239223	KIR3DL3	NM_153443.3	V168I	MODERATE	missense_variant	I.2(Mere) II.1(CI) II.2(SOEUR)	HTZ HOM_mut HOM_mut

Cas clinique 1

chrom	position	gene	refseq	protein variation	impact	consequence	sample	status
chr19	55239223	KIR3DL3	NM_153443.3	V168I	MODERATE	missense_variant	I.2(Mere) II.1(CI) II.2(SOEUR)	HTZ HOM_mut HOM_mut



Cas clinique 1

chrom	position	gene	refseq	protein variation	impact	consequence	sample	status
chr19	55239223	KIR3DL3	NM_153443.3	V168I	MODERATE	missense_variant	I.2(Mere) II.1(CI) II.2(SOEUR)	HTZ HOM_mut HOM_mut

- **Prédiction bio-informatique: bénin**
- SIFT , Polyphen

Cas clinique 1

chrom	position	gene	refseq	protein variation	impact	consequence	sample	status
chr19	55239223	KIR3DL3	NM_153443.3	V168I	MODERATE	missense_variant	I.2(Mere) II.1(CI) II.2(SOEUR)	HTZ HOM_mut HOM_mut

Score a variant

Enter the [GRCh37/hg19](#) coordinate for a missense variant to retrieve its M-CAP score.

GRCh37/hg19

[GRCh37/hg19:19:55,239,223](#) Reference Allele G

Alt Allele	M-CAP	95% sensitivity
A	0.001	Likely Benign
C	0.001	Likely Benign
T	0.001	Likely Benign

How to cite

Jagadeesh, K., Wenger, A., Berger, M., Guturu, H., Stenson, P., Cooper, D., Bernstein, J., and Bejerano, G. (2016). M-CAP eliminates a majority of variants with uncertain significance in clinical exomes at high sensitivity. *Nature Genetics*, 2016. DOI: [10.1038/ng.3703](https://doi.org/10.1038/ng.3703)

Download M-CAP Scores

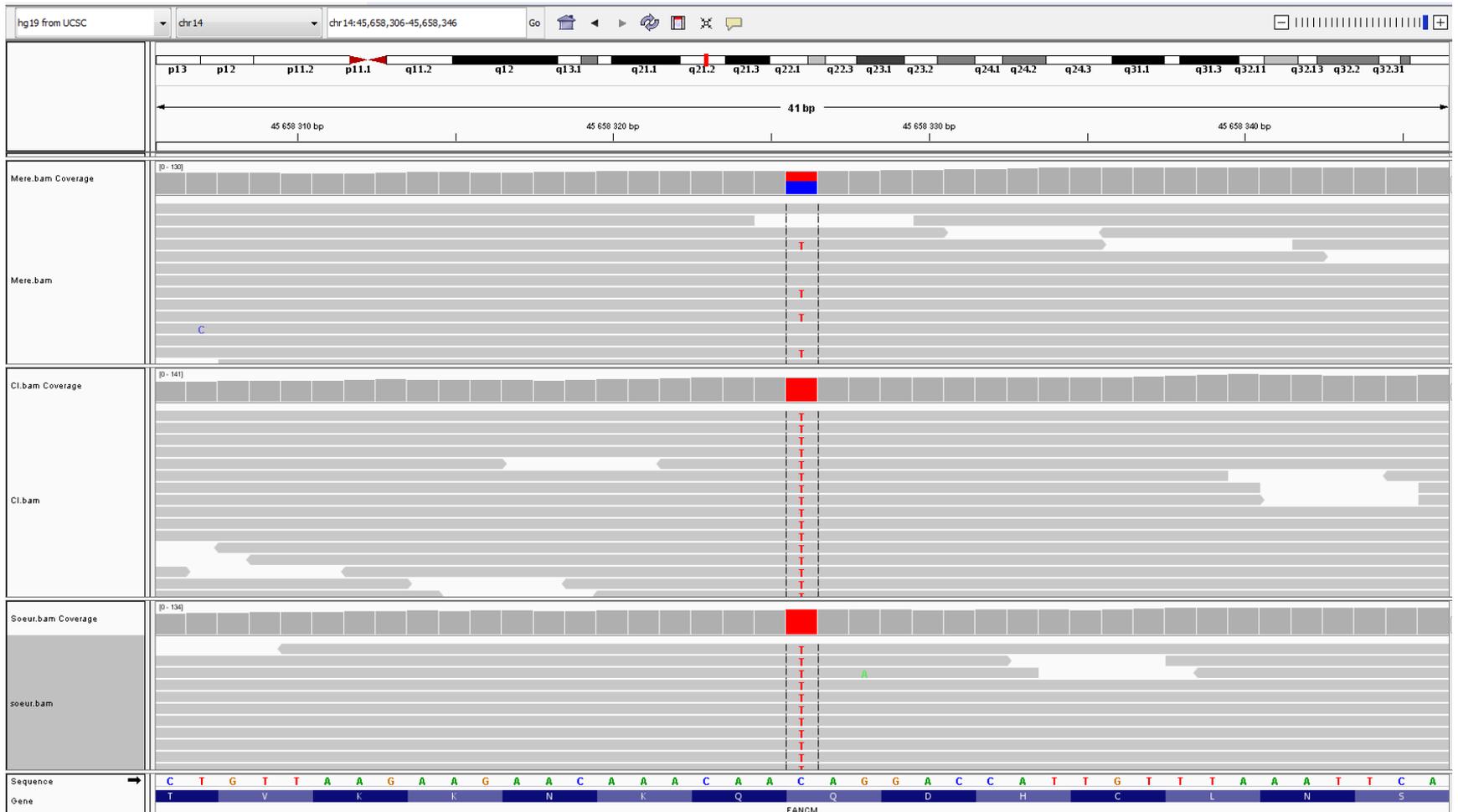
- [M-CAP v1.0 scores 10/24/2016](#)
- [M-CAP v1.2 scores 09/21/2018](#)

M-CAP source code

M-CAP public git repository can be found [here](#).

Cas clinique 1

chrom	position	gene	refseq	protein variation	impact	consequence	sample	status
chr14	45658326	FANCM	NM_020937.2	Q1701*	HIGH	stop_gained	I.2(Mere) II.1(CI) II.2(SOEUR)	HTZ HOM_mut HOM_mut



FANCM: Q1701*

chr14-45658326-C-T

Classify this variant

Community contributions

Favorites

Short link

Variant

Explain

Chromosome	Position	REF Sequence	ALT Sequence	Variation type	Cytoband	HGVS	RS ID
chr14	45658326	C	T	SNV	14q21.2	NM_020937.3:c.5101C>T (p.Gln1701Ter)	rs147021911 dbSNP

[UCSC genome browser](#)
[Mastermind](#)
[TraP Score](#)

Gene symbol
FANCM

This variant has been viewed 26 times on VarSome.

Region browser



Transcripts

Show 5 more transcripts...

NM_020937.3 Val > Lys > Lys > Asn > Lys > Gln > Gln > Asp > His > Cys > Leu > Asn

FANCM: Q1701*

Variant: rs147021911

rs147021911 SNP

Most severe consequence

stop gained | [See all predicted consequences](#)

Alleles

C/T | Ancestral: C | MAF: < 0.01 (T) | Highest population MAF: 0.01

Location

[Chromosome 14:45189123](#) (forward strand) | VCF: 14 45189123 rs147021911 C T

Co-located variant

COSMIC [COSM126686](#)

Evidence status ⓘ



Clinical significance ⓘ



HGVS names

This variant has 17 HGVS names - [Show](#) ⊕

Synonyms

This variant has 3 synonyms - [Show](#) ⊕

Genotyping chips

This variant has assays on: Illumina_HumanOmni5, Illumina_ExomeChip

Original source

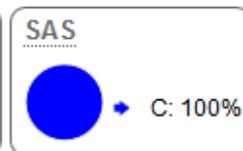
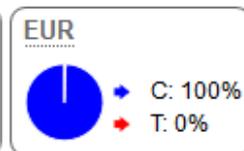
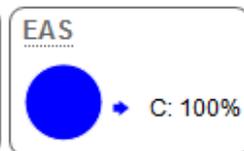
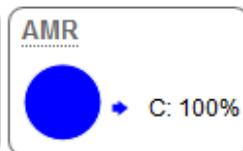
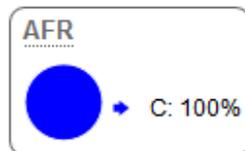
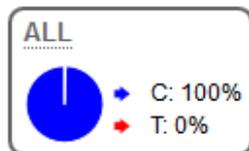
Variants (including SNPs and indels) imported from dbSNP (release 151) | [View in dbSNP](#) ↗

About this variant

This variant overlaps [5 transcripts](#), has [2504 sample genotypes](#) and is associated with [1 phenotype](#).

Population genetics ⓘ

1000 Genomes Project Phase 3 allele frequencies



[Sub-populations](#) ⊕

[Sub-populations](#) ⊕

[Sub-populations](#) ⊕

[Sub-populations](#) ⊕

[Sub-populations](#) ⊕

FANCM: Q1701*

gnomAD Exomes [?](#) Version: 2.0.2 **f = 0.00129**

[Explain](#) [View this on gnomAD Browser](#) [CLOSE](#) 

Population frequencies [?](#)

Population	Allele Count ?	Allele Number ?	Number of Homozygotes ?	Allele Frequency ?
African	1	15286	0	0.00006542
Ashkenazi Jewish	0	9848	0	0
East Asian	0	17246	0	0
European (Finnish)	183	22298	1	0.008207
European (Non-Finnish)	111	111486	0	0.0009956
Latino	4	33570	0	0.0001192
South Asian	0	30782	0	0
Other	18	5480	0	0.003285
Total	317	245996	1	0.001289
Male	175	134772	1	0.001298
Female	142	111224	0	0.001277

FANCM: Q1701*

gnomAD Genomes Version: 2.0.2 **f = 0.00171**

[Explain](#) [View this on gnomAD Browser](#) [CLOSE](#)

Population frequencies [?](#)

Population	Allele Count ?	Allele Number ?	Number of Homozygotes ?	Allele Frequency ?
African	0	8730	0	0
Ashkenazi Jewish	0	302	0	0
East Asian	0	1622	0	0
European (Finnish)	29	3494	0	0.008299
European (Non-Finnish)	20	15012	0	0.001332
Latino	0	838	0	0
Other	4	982	0	0.004073
Total	53	30980	0	0.001711
Male	30	17118	0	0.001753
Female	23	13862	0	0.001659

FANCM: Q1701*

▼ Animal Model

Bakker et al. (2009) generated Fancm-deficient mice by deleting exon 2. Fancm deficiency caused hypogonadism in mice and hypersensitivity to crosslinking agents in mouse embryonic fibroblasts (MEFs), similar to other FA mouse models. Fancm ^{-/-} mice also showed unique features atypical for FA mice, including underrepresentation of female Fancm ^{-/-} mice and decreased overall and tumor-free survival. This increased cancer incidence may be correlated to the role of FANCM in the suppression of spontaneous sister chromatid exchanges as observed in MEFs. In addition, Fancm appeared to have a stimulatory rather than essential role in Fancd2 (227646) monoubiquitination. Bakker et al. (2009) suggested that FANCM functions both inside and outside the FA core complex to maintain genome stability and to prevent tumorigenesis. +

FANCM: Q1701*

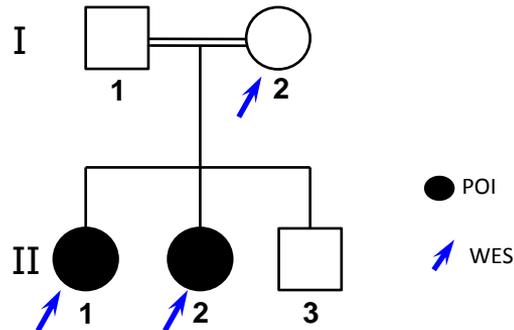
HUMAN BIOLOGY AND MEDICINE



A homozygous *FANCM* mutation underlies a familial case of non-syndromic primary ovarian insufficiency



Baptiste Fouquet, Patrycja Pawlikowska, Sandrine Caburet, Celine Guigon, Marika Mäkinen, Laura Tanner, Marja Hietala, Kaja Urbanska, Laura Bellutti, Bérangère Legois, Bettina Bessieres, Alain Gougeon, Alexandra Benachi, Gabriel Livera, Filippo Rosselli, Reiner A Veitia, Micheline Misrahi



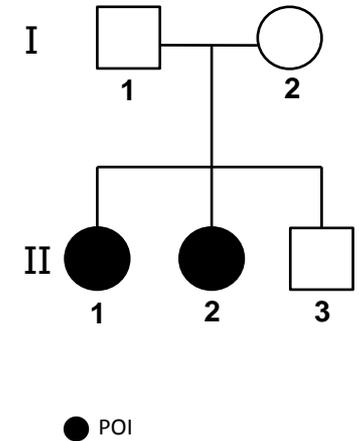
Cas clinique 1

- Forme familiale consanguine d'IOP non syndromique.
- Identification d'un variant pathogène dans *FANCM*
- 1^{ere} implication de *FANCM* dans l'IOP
- Intérêt des **formes familiales et consanguines** dans l'identification de **nouveaux gènes** d'IOP.
- **Robustesse de l'exome comparatif** dans les formes familiales

Cas clinique 2

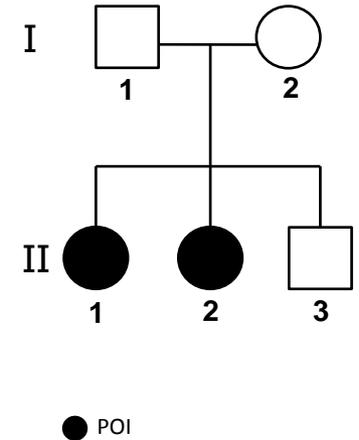
Cas clinique 2

- Famille d'origine Caucasienne.
- Parents non consanguins
- CI (II.1)
 - Aménorrhée primaire avec impubérisme.
 - FSH = **86UI/l** , LH=27,5 UI/l, E2<3pg/ml.
 - Echographie: utérus infantile, bandelette ovarienne.
- Sœur du CI (II.2)
 - Aménorrhée primaire avec impubérisme et bandelette ovarienne (échographie).
- Mère (I.2)
 - Ménopause à 51 ans; Bien portante.



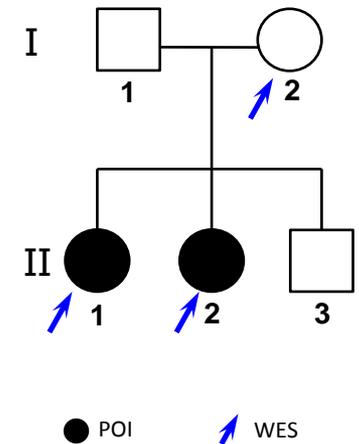
Cas clinique 2

- On veut réaliser un exome pour identifier la cause génétique à l'origine de l' IOP des deux sœurs.
- Quel est le mode de transmission le plus probable ?
- Quelle stratégie d'analyse d'exome faut-il privilégier ?
- Quel sont les membres de cette famille à inclure dans l'étude d'exome ?



Cas clinique 2

- On veut réaliser un exome pour identifier la cause génétique à l'origine de l'IOP des deux sœurs.
- Quel est le mode de transmission le plus probable ?
 - Transmission autosomique récessive
 - Modèle hétérozygote composite
 - Transmission autosomique dominante (père)
- Quelle stratégie d'analyse d'exome faut-il privilégier ?
 - Exome comparatif intrafamilial
- Quel sont les membres de cette famille à inclure dans l'étude d'exome ?
 - Les deux sœurs atteintes et leur mère.



Cas clinique 2

- Hypothèse I: Modèle récessive (Hétérozygote composite)
- Stratégie d'analyse ?

Cas clinique 2

- Hypothèse I: Modèle récessive (Hétérozygote composite)
- Stratégie d'analyse ?
 - **Deux variants hétérozygotes rares** chez les deux sœurs.
 - Dans le même gène.
 - Pathogènes .
 - Dont l'un transmis par la mère.
 - Le gène doit être impliqué dans la physiopathologie ovarienne.

Cas clinique 2

- Variant restants après les premiers filtres.
- VCF:
 - CI_variants_rares.xls
 - Mere_variants_rares.xls
 - Soeur_variants_rares.xls
- BAM
 - Cas index: MIS4-3.sorted.bam
 - Sœur: MIS4-4.sorted.bam
 - Mère: MIS4-2.sorted.bam

Cas clinique 2

- Nombre de variants hétérozygotes rares chez la mère ?
- Nombre de variants hétérozygotes rares chez le CI ?
- Nombre de variants hétérozygotes rare chez la sœur du CI ?
- Nombre de gènes avec au moins deux variants chez le CI ?
- Nombre de gènes avec au moins deux variants chez la sœur du CI ?
- Nombre de gènes communs entre les deux sœurs?

Cas clinique 2

- Nombre de variants hétérozygotes rares chez la mère ?
 - 427 variants
- Nombre de variants hétérozygotes rares chez le CI ?
 - 331 variants
- Nombre de variants hétérozygotes rare chez la sœur du CI ?
 - 323 variants
- Nombre de gènes avec au moins deux variants chez le CI ?
 - 14 gènes
- Nombre de gènes avec au moins deux variants chez la sœur du CI ?
 - 11 gènes
- Nombre de gènes communs entres les deux sœurs?
 - 7 gènes

Cas clinique 2

- Parmi les gènes avec deux variants chez les deux soeurs quels sont ceux n'ayant pas deux variant également chez la mère ?
 - 3 gènes potentiellement intéressants
 - STAG3
 - DNAH10
 - COL5A2

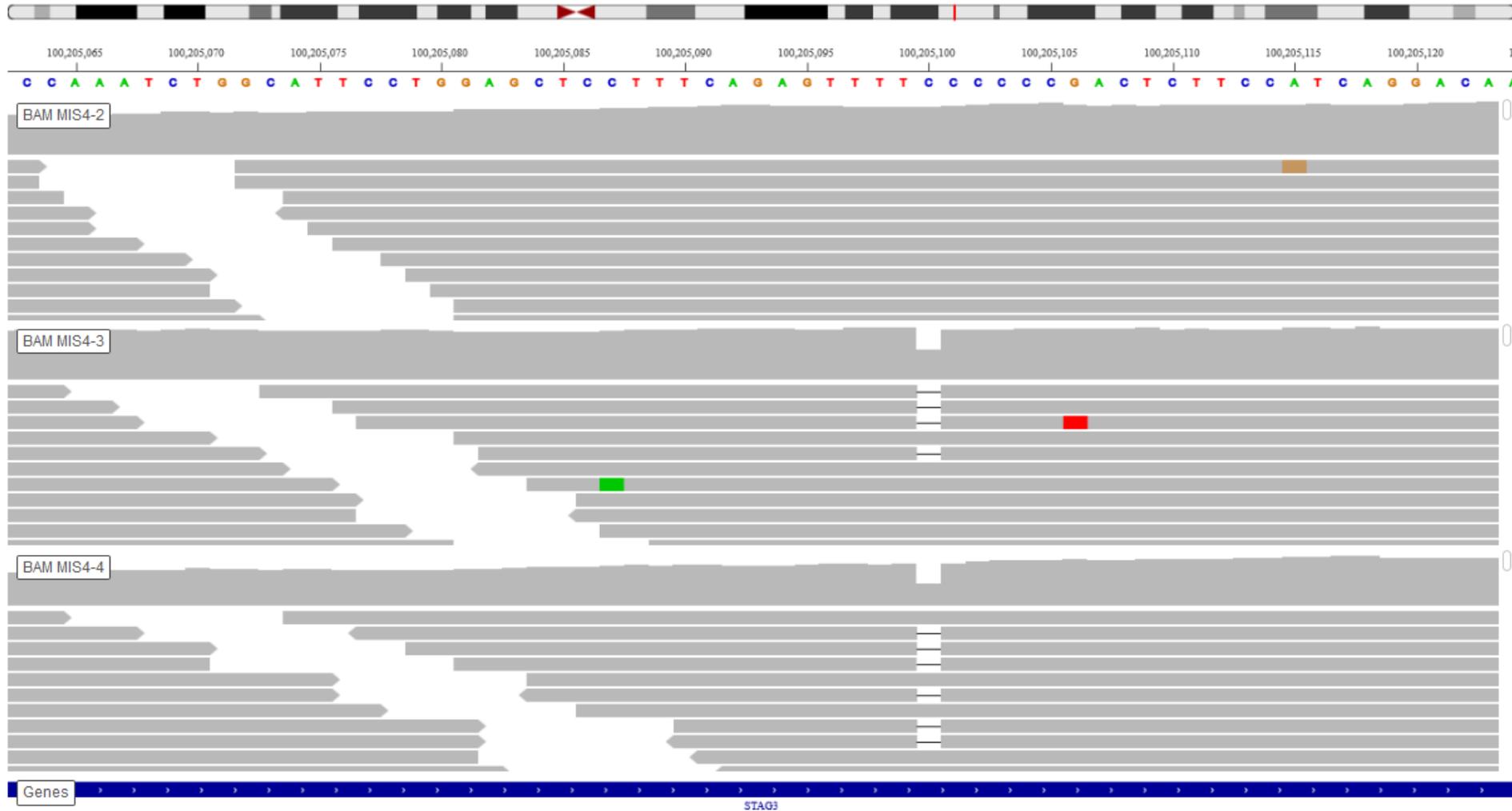
Cas clinique 2

- Avec les logiciels de prediction bioinformatique
 - DNAH10 1 des deux variant est bénin(notre hypothèse est un modèle récessif)
 - COL5A2 1 des deux variant est bénin

Cas clinique 2

- **Au total**
- Mise en évidence de deux variants pathogènes répondant au modèle récessif chez les deux sœurs atteintes, dont un transmis par la mère.
- STAG3 : complexe de cohésine spécifique de la méiose
- Gene causal dans les IOP identifié récemment

STAG3: NM_001282717.1:c.3052del;



STAG3: NM_001282717.1:c.3052del;

Frequencies

gnomAD Exomes [?](#) Version: 2.0.2 **f = 4.06e-06**

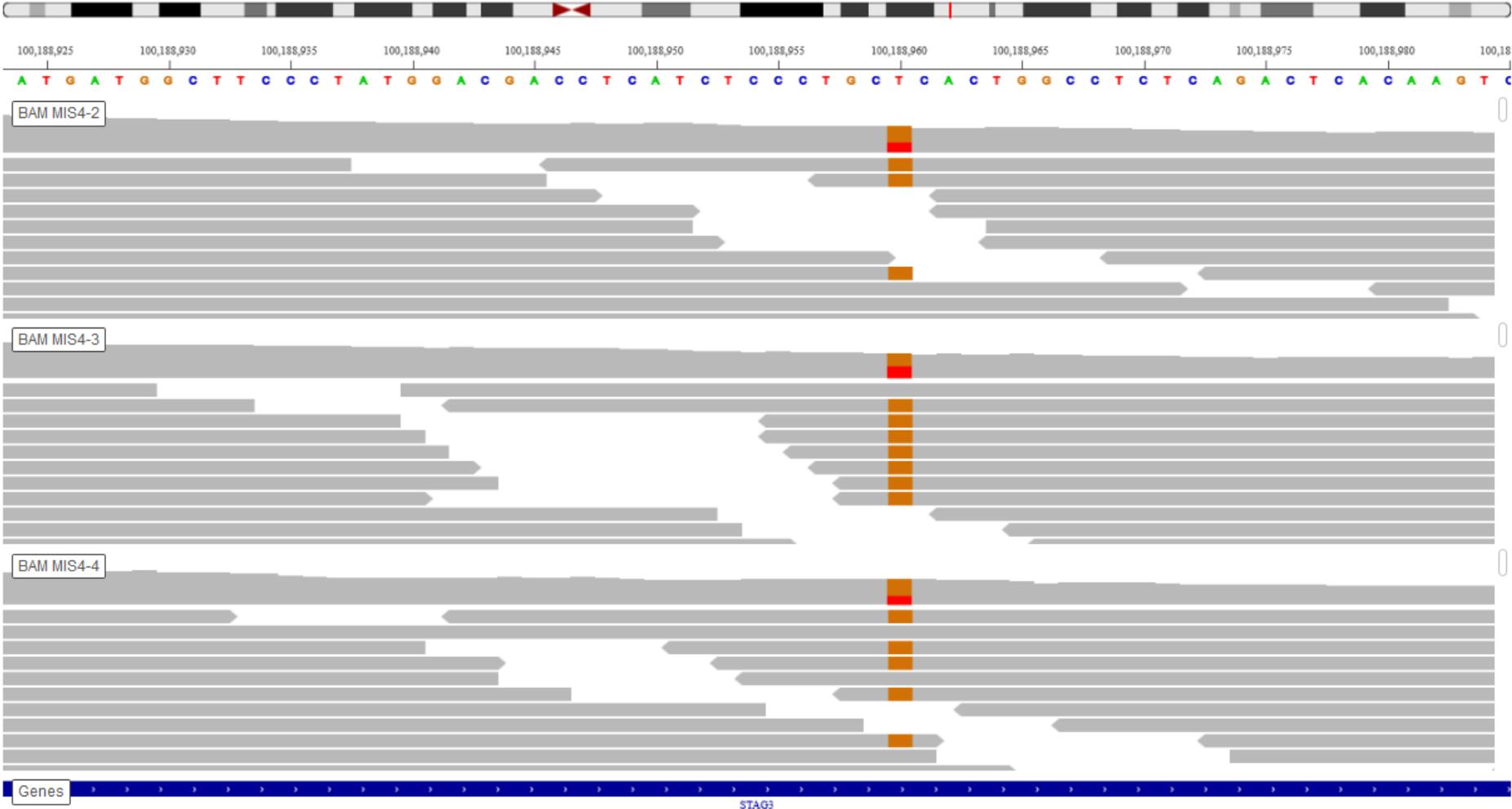
[Explain](#)

[CLOSE](#)

Population frequencies [?](#)

Population	Allele Count ?	Allele Number ?	Number of Homozygotes ?	Allele Frequency ?
African	0	15300	0	0
Ashkenazi Jewish	0	9850	0	0
East Asian	0	17248	0	0
European (Finnish)	0	22298	0	0
European (Non-Finnish)	0	111662	0	0
Latino	0	33580	0	0
South Asian	1	30782	0	0.00003249
Other	0	5482	0	0
Total	1	246202	0	0.000004062
Male	1	134868	0	0.000007415
Female	0	111334	0	0

STAG3:NM_001282717.1:c.659T>G



STAG3:NM_001282717.1:c.659T>G

Variant [?](#) Explain [CLOSE](#)

Chromosome	Position	REF Sequence ?	ALT Sequence ?	Variant type ?	Cytoband ?	HGVS	Gene symbol ?
chr7	100188960	T	G	SNV	7q22.1	NM_001282716.1:c.659T>G (p.Leu220Arg)	STAG3

[UCSC genome browser](#) [TraP Score](#)

This variant has been viewed **9** times on VarSome.
[Ask for an introduction](#)

Region browser [?](#) [<](#) [>](#) [^](#) [v](#) [🔍](#) [🔍](#) [🖼️](#) [CLOSE](#)

100188920 100188940 100188960 100188980 100189000

CTCTATGATGGCTTCCCTATGGACGACCTCATCTCCCTGCTCACTGGCCTCTCAGACTCACAAAGTCCGCGCCTTCCGTAC

Transcripts

Non répertorié dans les bases de données de polymorphisme.

SIFT: pathogène

Polyphen Pathogene.

M-CAP: Pathogene

STAG3:NM_001282717.1:c.659T>G

B

L220
↓

HUMAN	MDDLISLLTGLSDSQVRAFRHTSTLAAMKLMTSLVKVALQ
CHIMPANZE	MDNLISLLTGLSDSQVRAFRHTSTLAAMKLMTSLVKVALQ
MACAQUE	MDNLISLLTGLSDSQVRAFRHTSTLAAMKLMTSLVRVALQ
SHEEP	MDNLISLLTGLSDSQVRAFRHTSTLAAMKLMTSLVRVALQ
BOVIN	MDNLISLLTGLSDSQVRAFRHTSTLAAMKLMTSLVRVALQ
DOLPHIN	MDNLISLLTGLSDSQVRAFRHTSTLAAMKLMTSLVRVAFQ
BAT	MDNLISLLTGLSDSQVRAFRHTSTLAAMKLMTSLVRVALQ
WOLF	MDNLISLLTGLSDSQVRAFRHTSTLAAMKLMTSLVRVALQ
ELEPHANT	MDNLISLLTGLSDSQVRAFRHTSTLAAMKLMTSLVKVALQ
RABBIT	MDNLISLLTGLSDSQVRAFRHTSTLAAMKLMTSLVRVALQ
MOUSE	MDDLISLLIIGLSDSQVRAFRHTSTLAAMKLMTSLVKVALQ
RAT	MDDLISLLIIGLSDSQVRAFRHTSTLAAMKLMTSLVKVALQ
CAT	MDNLISLLTGLSDSQVRAFRHTSTLAAMKLMTSLVSVALQ
TURTLE	MDTLISLLTGLSDSQVRAFRHTSTFAAMKLMTALVMVALG
Alligator	ADTLVSLLTGLSDSQVRAFRHTSTLAAMKLMTALVNVALG
Xenope	MDALISLLTGLSDSQVRAFRHTSTFAAVKLMGLVKVAWD
CATFISH	FSALIAFLTGLADSQVRAFRHTSTLIAMRLMSAIVAVSAV
ZEBRAFISH	FSSFIAALLTGLADSQVRAFRHTSSFIAMRLMSSIVSVAAD

C

217← - - - - STAG domain - - - → 244

STAG3	MDDLISLLTGLSDSQVRAFRHTSTLAAMKLMTSLVKVALQ
STAG2	MDTVISLLTGLSDSQVRAFRHTSTLAAMKLMTALVNVALN
STAG1	MDTVISLLTGLSDSQVRAFRHTSTLAAMKLMTALVNVALN

Acide aminé très conservé et situé dans un domaine fonctionnel de la protéine

Cas clinique 2

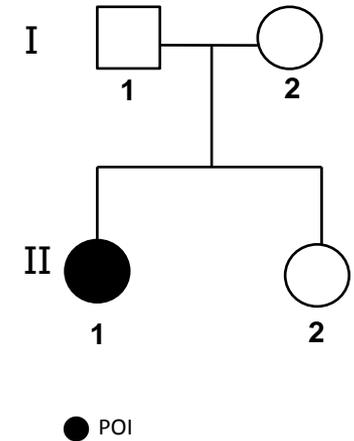
- Forme familiale caucasienne d'IOP non syndromique.
- Identification de deux variants pathogènes dans STAG3 (un gène de méiose)
- Responsable de l'IOP chez les deux sœurs
- **Robustesse de l'exome comparatif** dans les formes familiales

Cas clinique 3

Cas clinique supplémentaires

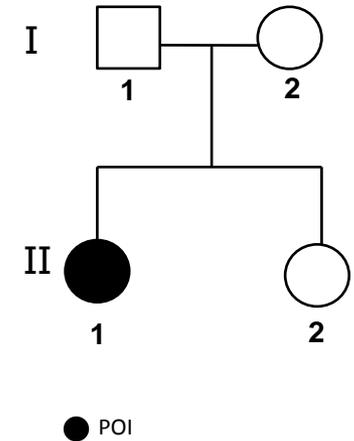
Cas clinique 3

- Famille d'origine turque.
- Parents cousins germains
- CI (II.1)
 - Aménorrhée primaire avec impubérisme.
 - FSH = **102UI/l** , LH=27,5 UI/l, E2<3pg/ml.
 - Echographie: utérus infantile, bandelette ovarienne.
- Sœur du CI (II.2)
 - 17 ans.
 - Cycles réguliers
- Mère (I.2)
 - Ménopause à 51 ans; Bien portante.



Cas clinique 3

- Famille d'origine turque.
- Parents cousins germains
- CI (II.1)
 - Aménorrhée primaire avec impubérisme.
 - FSH = **102UI/l** , LH=27,5 UI/l, E2<3pg/ml.
 - Echographie: utérus infantile, bandelette ovarienne.
- Sœur du CI (II.2)
 - 17 ans.
 - Cycles réguliers
- Mère (I.2)
 - Ménopause à 51 ans; Bien portante.



Cas clinique 3

- VCF=Merged_mere_fille.vcf
- BAM=MIS47-2.bam et MIS47-3.bam

