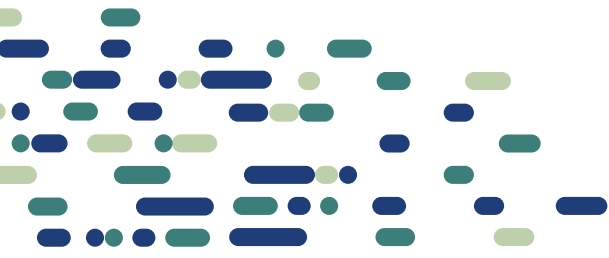




Oncogénétique constitutionnelle

Utilisation du séquençage long-read

Nanopore : l'exemple du gène ***PMS2***



Le séquençage long-read (ou séquençage de troisième génération) permet de produire des lectures sensiblement plus longues que le séquençage de deuxième génération (short-read), soit plusieurs milliers (voire millions) de paires de bases vs. quelques centaines (*Fig.1 et 2*).

Régions ciblées

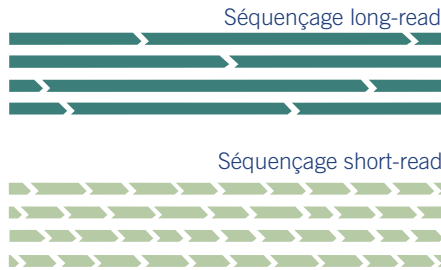


Figure 1 : Genomescan

Historigramme du nombre de bases en fonction de la longueur des reads

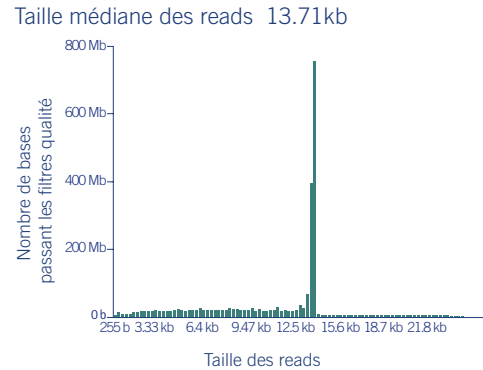


Figure 2 : Taille des reads : fragments de grande longueur >10 kb

La technologie Oxford Nanopore, qui permet le séquençage de fragments de très grande longueur, est basée sur la détection d'un courant ionique qui passe à travers des nanopores biologiques insérés dans une membrane synthétique. Au passage d'une molécule d'ADN dans le pore, un changement de courant est détecté et permet d'identifier la séquence d'acides nucléiques (*Fig.3*).

L'approche short-read présente des limites pour l'étude des gènes partageant des homologies de séquences trop importantes avec d'autres régions du génome (notamment certains pseudogènes).

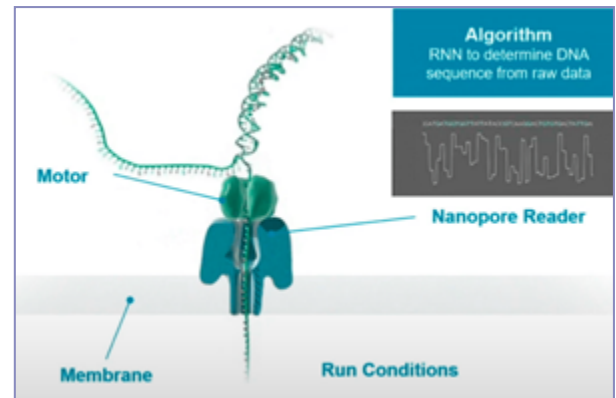


Figure 3 : Le processus du séquençage nanopore

Plusieurs études ont démontré la pertinence des approches long-read qui permettent de contourner la difficulté posée par les homologies de séquences¹⁻².

En oncogénétique, c'est le cas par exemple du gène **PMS2** qui avec le pseudogène **PMS2CL** présente pour certains exons des homologies supérieures à 99 %.

Cas clinique

Fille de 12 ans, leucémie lymphoblastique T.
Panel hémapathie maligne négatif.

Détection en exome de 2 variants dans le gène **PMS2** dans des exons non spécifiques :

NM_000535.7:c.1831dup (exon 11)

NM_000535.7:c.137G>T (exon 2)

Variations déjà rapportées comme pathogènes

- ▶ **Alignement spécifique sur *PMS2* (fig 4 et 5) par la technique Nanopore**
- ▶ **Confirmation de la présence des 2 variants sur le gène *PMS2* et confirmation en parallèle au centre de référence**
- ▶ **Diagnostic de syndrome MMRd confirmé**

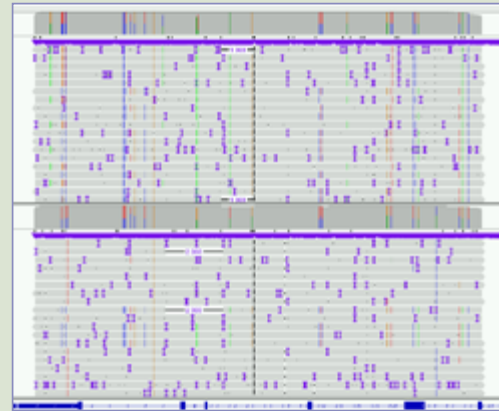


Figure 4 : Alignement sur *PMS2*

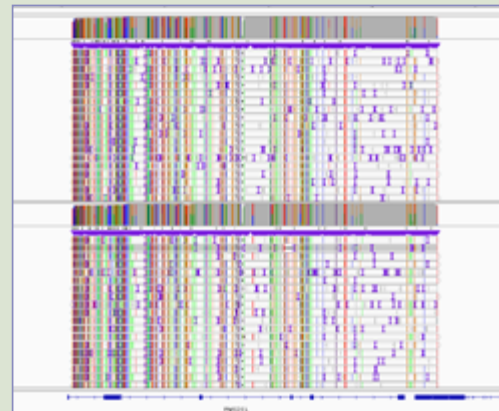


Figure 5 : Alignement sur *PMS2CL*

1 Watson CM, Crinnion LA, Simmonds J, Camm N, Adlard J, Bonthon DT. Long-read nanopore sequencing enables accurate confirmation of a recurrent PMS2 insertion-deletion variant located in a region of complex genomic architecture. *Cancer Genet.* 2021;256-257:122-126. doi:10.1016/j.cancergen.2021.05.012

2 The Value of Long Read Amplicon Sequencing for Clinical Applications. Kornelia Neveling et al.

Figure 1 : <https://www.genomescan.nl/long-read-sequencing-2/>

Figure 2 : Etude moléculaire du gène MEFV par Séquençage Nanopore. *Eurofins Biomnis.*

Figure 3 : Lin B, Hui J, Mao H. Nanopore Technology and Its Applications in Gene Sequencing. *Biosensors.* 2021; 11(7):214. <https://doi.org/10.3390/bios11070214>

Figures 4-5 : Captures d'écran Integrative Genomics Viewer. *Eurofins Biomnis.*

Le séquençage ciblé de longs fragments à façon permet l'étude des régions exoniques, introniques et promotrices, de déterminer la phase de deux variants et de discriminer le gène d'éventuels pseudogènes.

Cette technique est très adaptée en cas de :

- forte suspicion clinique impliquant un gène unique,
- détection d'un seul variant exonique (pathologies récessives) pour rechercher un second variant,
- identification préalable de variant(s) dont la confirmation et/ou la phase ne peut se faire que par séquençage de longs fragments (parents non disponibles, pseudogènes, régions mal couvertes, variants de structure...).

La technique Nanopore est utilisée en routine au laboratoire Eurofins Biomnis pour l'étude des gènes *MEFV* ou *TTR*, ou pour d'autres cibles génétiques sur demande.

Et désormais en oncogénétique en complément pour l'étude du gène *PMS2*.

En savoir plus

Département de génétique et oncologie moléculaire

Tél : 04 72 80 25 77

E-mail : secretariat.genetique@biomnis.eurofinseu.com

Dr Jérémie MORTREUX

Médecin généticien

Tél : 04 72 80 25 77

E-mail : Jeremie.Mortreux@biomnis.eurofinseu.com

Dr Rizk BENNANI

Médecin biologiste

Tél : 04 72 80 25 77

E-mail : Rizk.Bennani@biomnis.eurofinseu.com

Dr Vanna GEROMEL

Expert scientifique

Tél : 04 72 80 25 09

E-mail : Vanna.Geromel@biomnis.eurofinseu.com