10 ASSISES DE GÉNÉTIQUE HUMAINE ET MÉDICALE
PALAIS DES CONGRÈS TOURS, 21 > 24 JANVIER 2020
www.assises-genetique.org
FFGH

Développement d'un panel de 15 marqueurs pour une identitovigilance des échantillons analysés par séquençage haut débit ou sur puces à SNP

F Rousseau, J-F Taly, C Ploton Nicollet, M Taoudi, A Perdriau, L Raymond
Service de Génétique, Eurofins-Biomnis, Lyon

eurofins | Biomnis

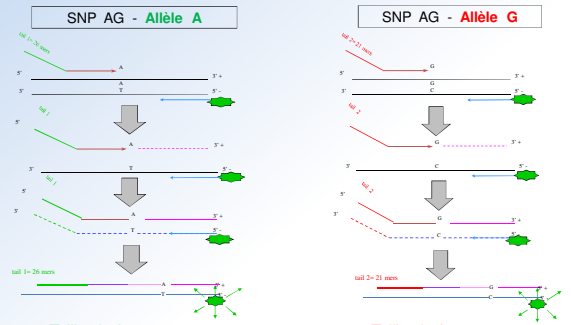
Introduction

La maitrise de l'identitovigilance est un élément crucial en laboratoire de diagnostic.
Nous avons développé une approche consistant à génotyper 15 marqueurs polymorphes, et à comparer les résultats obtenus à ceux déterminés par la technique principale (exome, SNP array ou panels).

Principe de la méthode

- Utilisation de 14 SNPs + AMLXY,
- Critères choix des SNPs : MAF >30% 1000G,
  Profondeur Exome >30X.
- Unicité théorique ~1 sur 5 millions,
- AS-PCR multiplex couplée à une migration sur séquenceur capillaire.

Figure 1 : Principe de l'AS-PCR en format 1 couleur



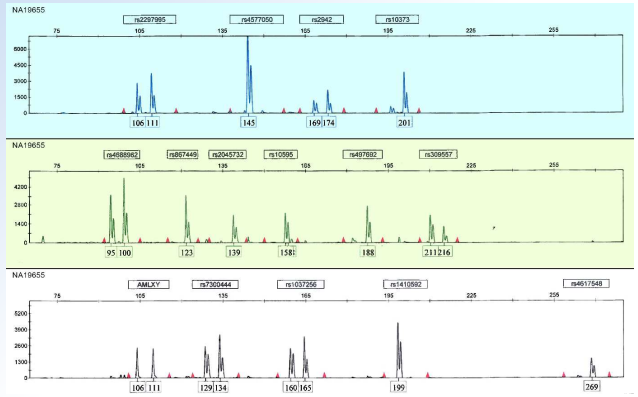
Lecture après migration sur gel capillaire
Détection des tailles différentes selon les allèles présents
Homo A : 1 fragment T+26
HTZ A/G : 2 fragments (T+26) et (T+21)
Homo G : 1 fragment T+21

Etapes de la méthode

1. Extraction d'ADN,
2. Pré-amplification multiplex,
3. PCR-allèle spécifique (AS-PCR) multiplex,
4. Migration sur un ABI 3130XL ,
5. Attribution automatique des génotypes,
6. Etablissement du taux de concordance par échantillon entre le résultat de ce génotypage et la technique principale,
7. Comparaison entre les échantillons traités dans une même série.

Durée de la technique : 1 journée

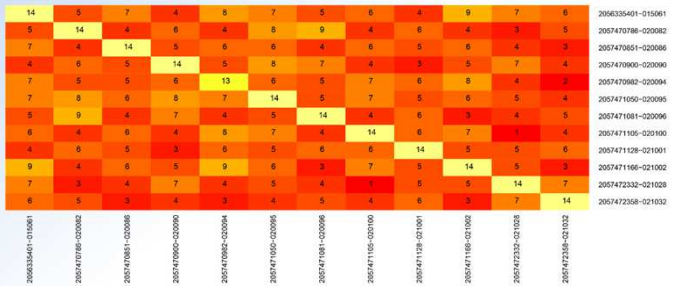
Figure 2 : Electrophorégramme de l'AS-PCR des 15 marqueurs sur 3130XL



Résultats sur 619 échantillons séquencés et génotypés

- 191 271 comparaisons
- 99,90% des paires testés ont moins de 12 génotypes identiques
- Aucune paire ne présente d'identité sur les 15 marqueurs
- 2 paires présentent 14 sur 15 marqueurs identiques :
  - 1 couple (mère-fille) d'une famille consanguine,
  - 2 individus indépendants génétiquement

Figure 3 : Nombre de SNPs identiques entre le génotypage et le séquençage pour une série d'échantillons séquencés sur le même run.



Conclusion et Perspectives

- Technique rapide et peu onéreuse.
- Pas d'équipement particulier sauf ABI 3130.
- Si au moins 12 SNPs + sexe équivalent entre les 2 techniques : garantie d'unicité de plus de 99.9%.
- Amplification directement sur sang total en cours de développement pour garantir une identitovigilance sur l'ensemble du processus.