



Hôpital du Valais
Spital Wallis



Institut Central des Hôpitaux
Zentralinstitut der Spitäler

Mendel, les maladies (non-)mendéliennes et la 3^e génération de séquençage

Thomas von Känel PhD, Chef du Service de Génétique médicale
027 603 48 50 / thomas.vonkaenel@hopitalvs.ch

Les 50 ans de l'ARL à Zermatt

7 octobre 2022

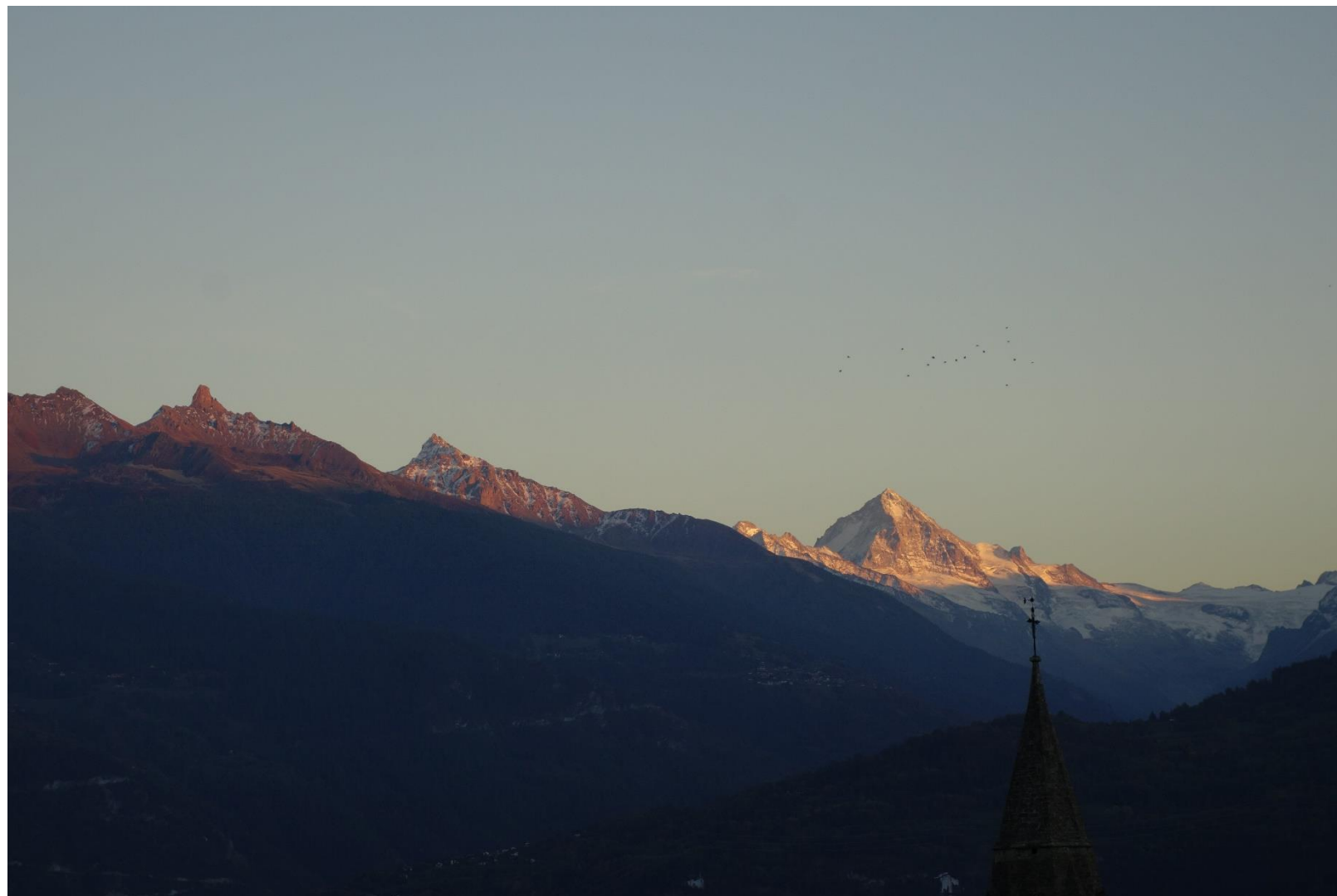
Conflits d'intérêt



Hôpital du Valais
Spital Wallis



Institut Central des Hôpitaux
Zentralinstitut der Spitäler





200^e anniversaire de Gregor Mendel



<https://gregormendel200.org/>

DE CZ

NEWS

CALENDAR

GREGOR MENDEL +

MENDEL'S LEGACY +

ABOUT +

GREGOR MENDEL's 200 Year Anniversary



Allow me? I am Gregor Mendel. I was a teacher, abbot and researcher. By now they call me the "father of genetics" – this year I would be 200 years old. In this video I introduce myself and this website. Welcome!

Mendel & Genetics Quiz



Play Now

GMI#



Grow your
own peas

send us
your results

GMI#
GREGOR MENDEL INSTITUTE
OF MOLECULAR PLANT BIOLOGY

Curriculum vitae

- 1822 : Naissance à Heinzendorf bei Odrau comme Johann Mendel
- 1843 : Accueil à l'abbaye de St Thomas à Brno, entre autres dû à « des amers soucis alimentaires »
- 1866 : Publication « Recherches sur des hybrides végétaux »
- 1868 : Elu supérieur de son couvent
- 1872 : « Comthurkreuz des Franz Joseph Ordens » (« *Il jouit du respect général en raison de son comportement humain et de son spirituel caractère doux.* »)
- 1884 : Mort à Brno



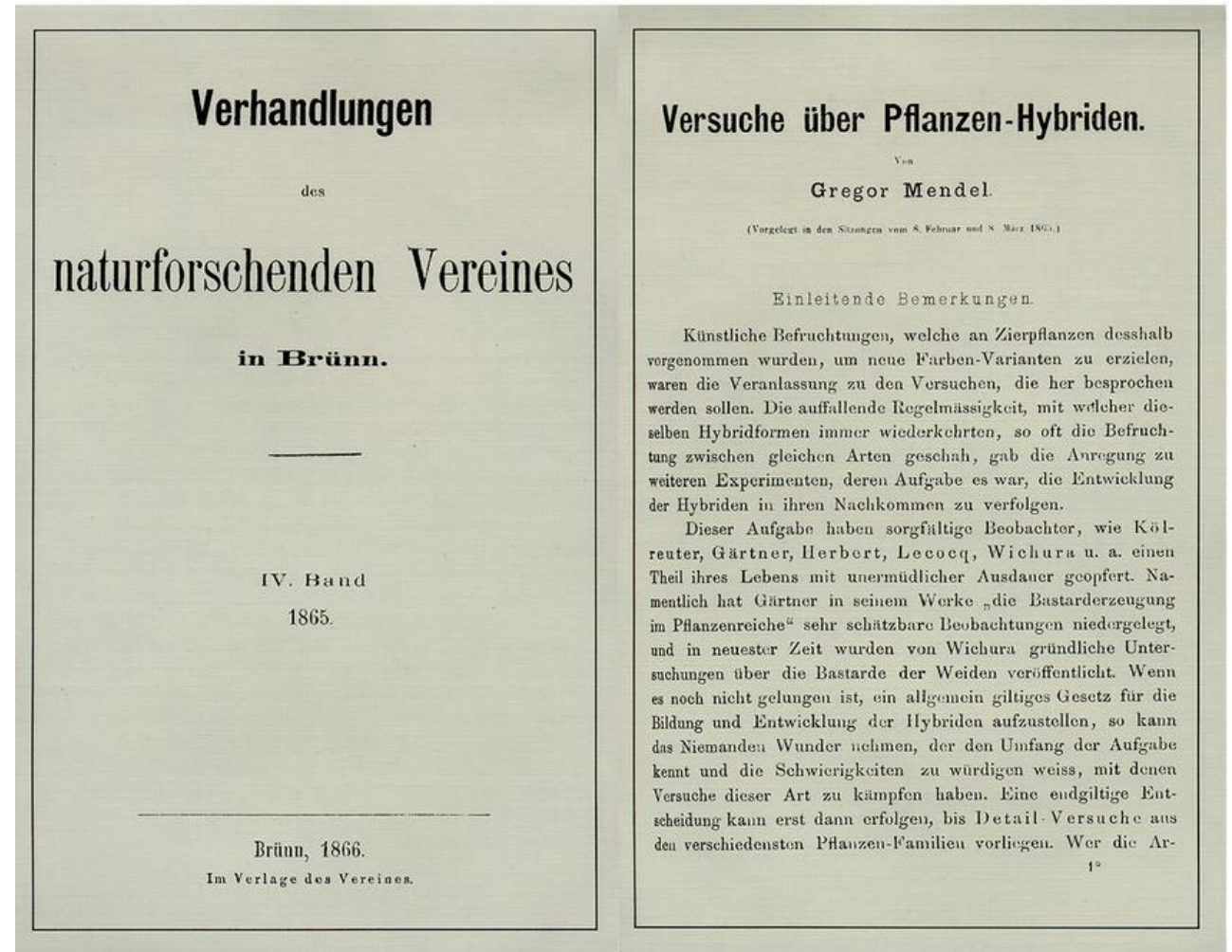
Recherches sur des hybrides végétaux

Graine		Fleur	Cosse		Tige	
Forme	Cotylédons	Couleur	Forme	Couleur	Emplacement	Taille
Gris & lisse	Jaune	Blanc	Plein	Jaune	Cosse axiale Fleur tout du long	Long (~3m)
Blanc & Ridé	Vert	Violet	Étroit	Vert	Cosse terminales Fleurs en haut	Court (~30 cm)
1	2	3	4	5	6	7

Organisme modèle : le pois

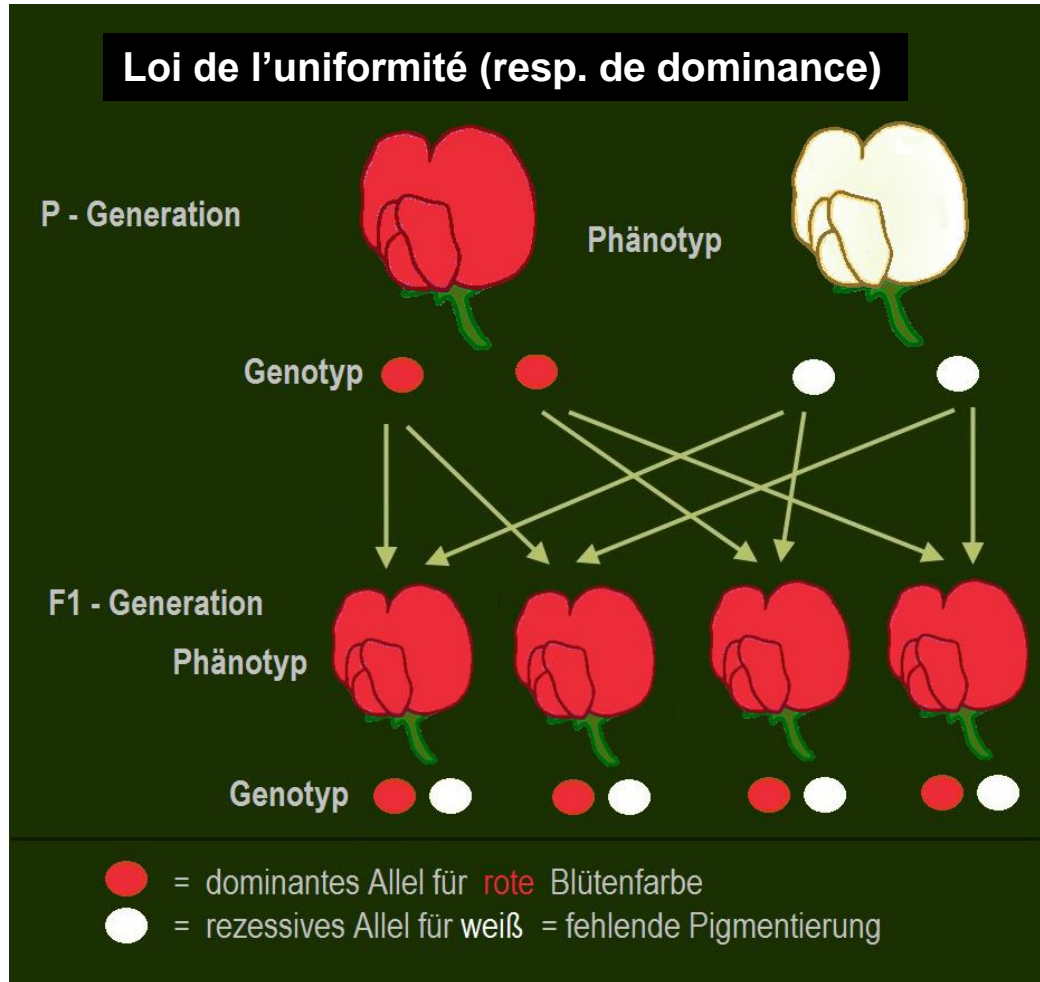
- Lignées pures (\triangleq homozygotes) grâce à l'autofécondation
- 355 fécondations artificielles avec différentes variétés
- Analyse de 12'980 hybrides

>>> Dédution des trois lois de Mendel

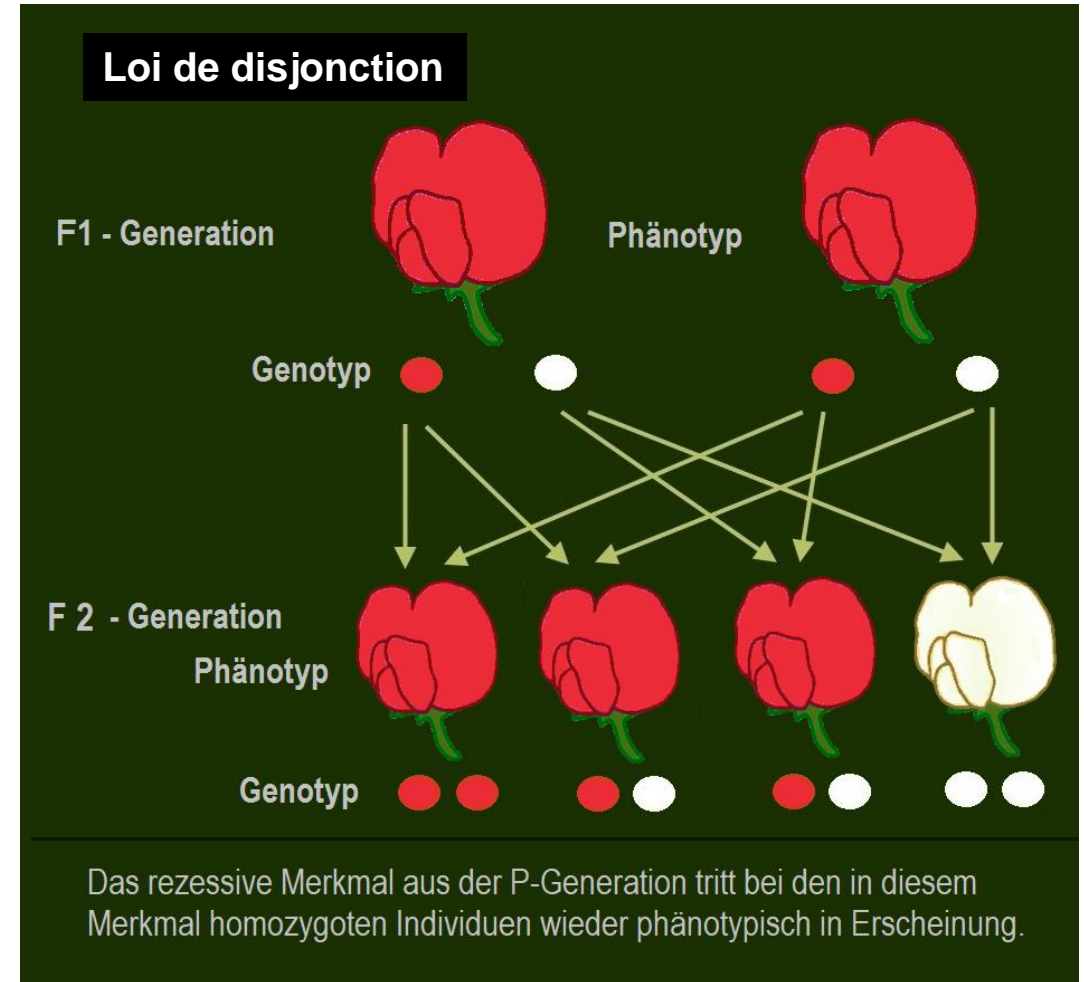


Première et deuxième lois : uniformité et disjonction

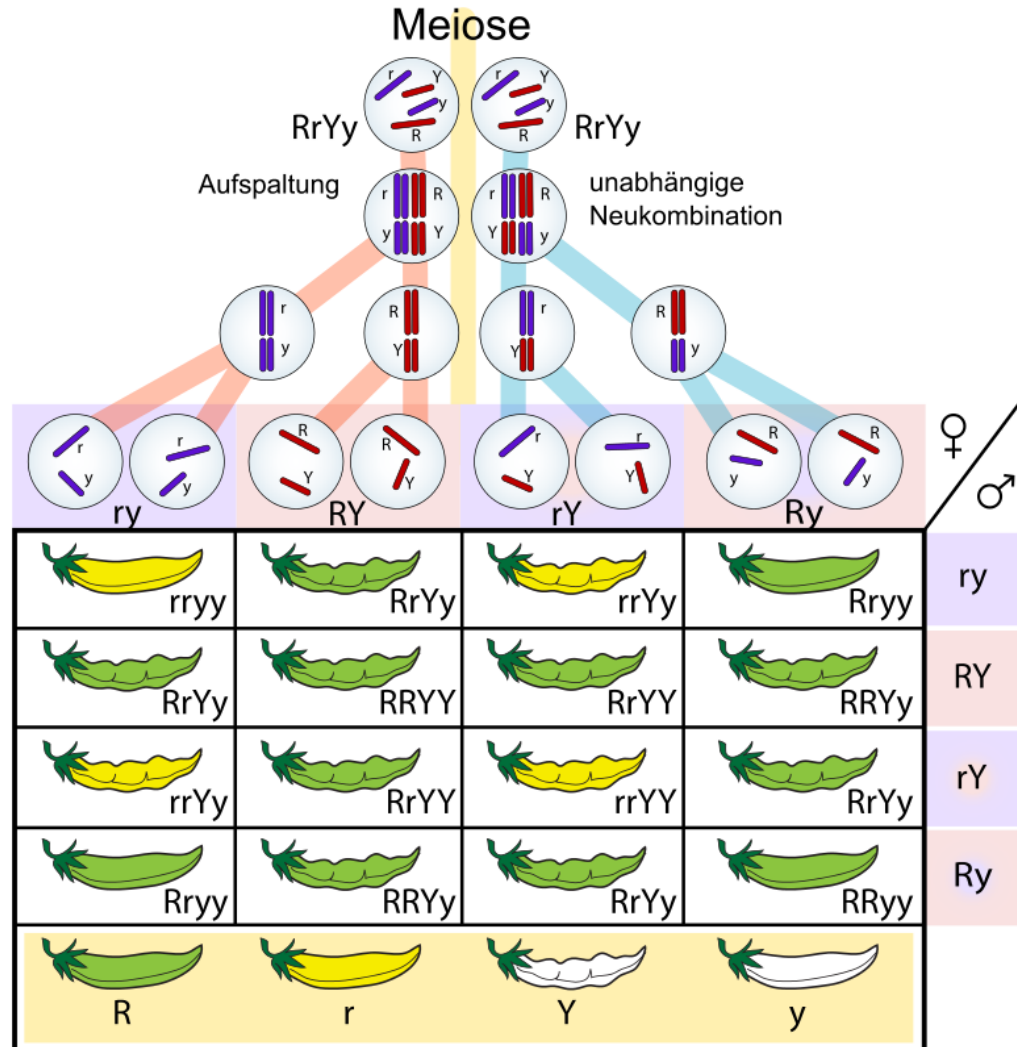
Loi de l'uniformité (resp. de dominance)



Loi de disjonction

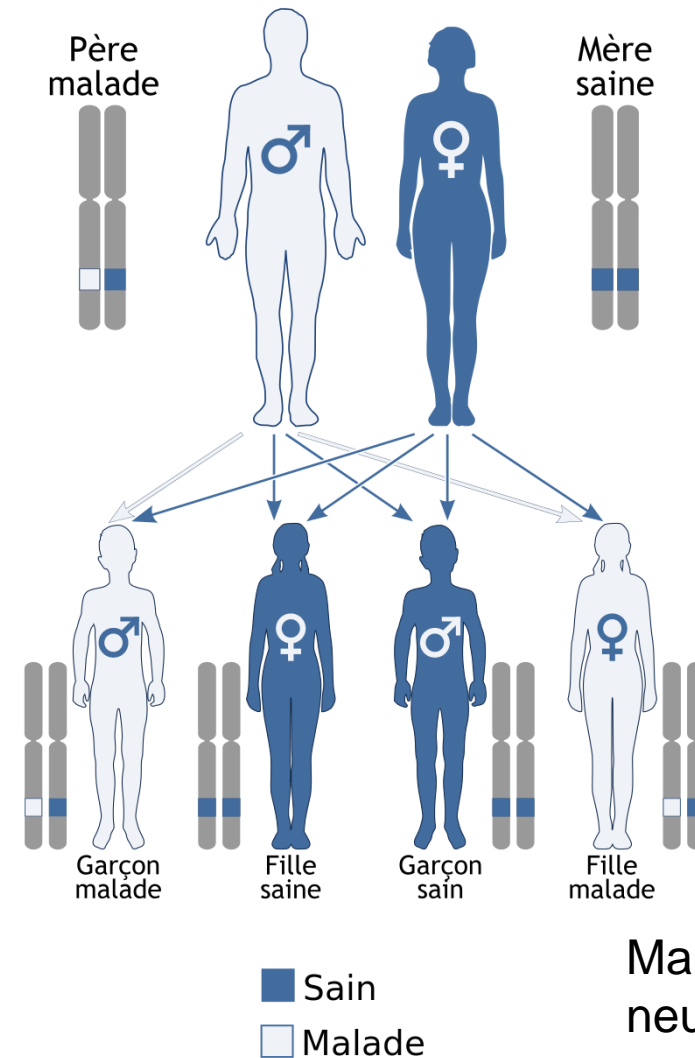
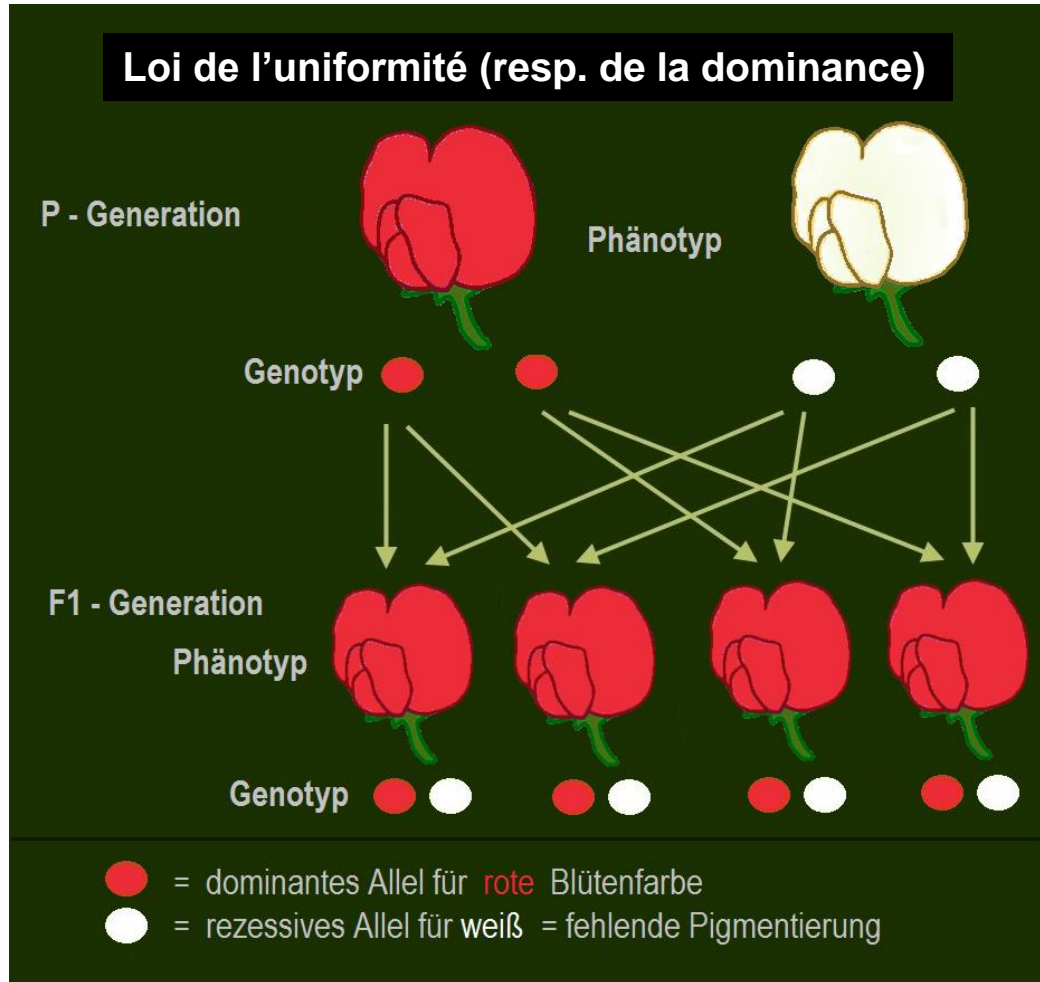


Troisième loi : indépendance des caractères



Les maladies mendéliennes : autosomique-dominant

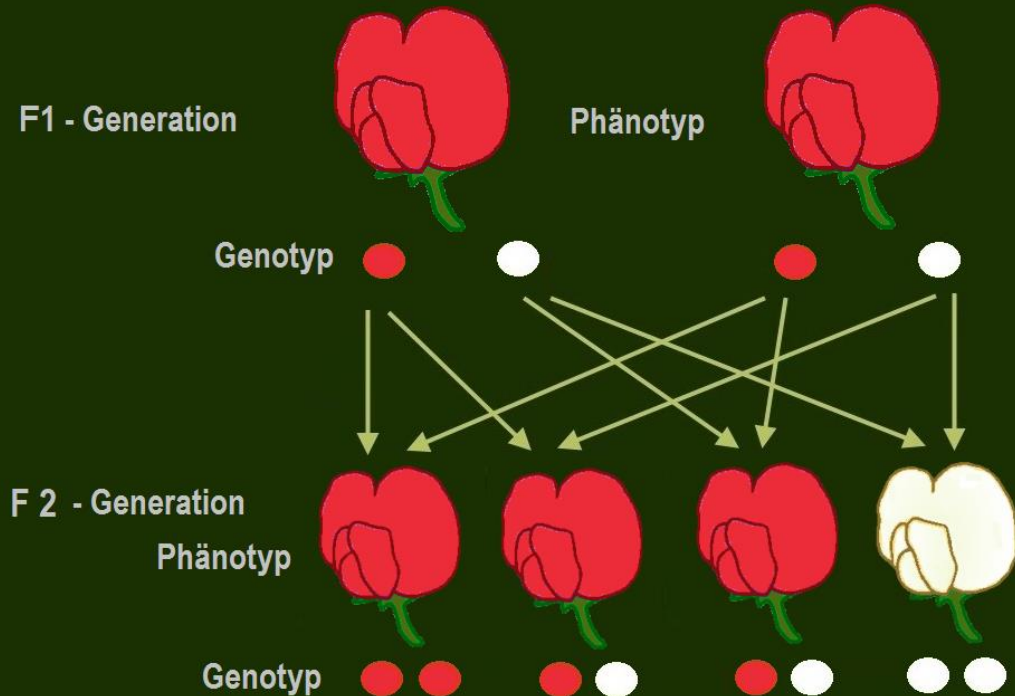
Loi de l'uniformité (resp. de la dominance)



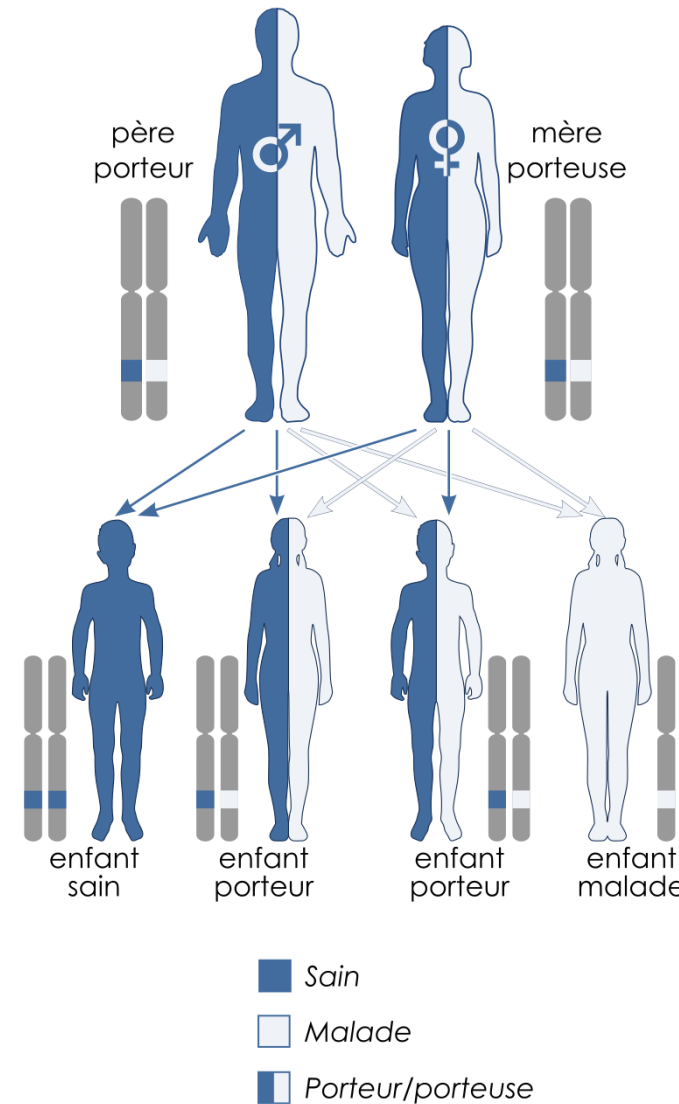
Maladie de Marfan,
neurofibromatose,
maladie de Rendu-Osler,

Les maladies mendéliennes : autosomique-récessif

Loi de disjonction

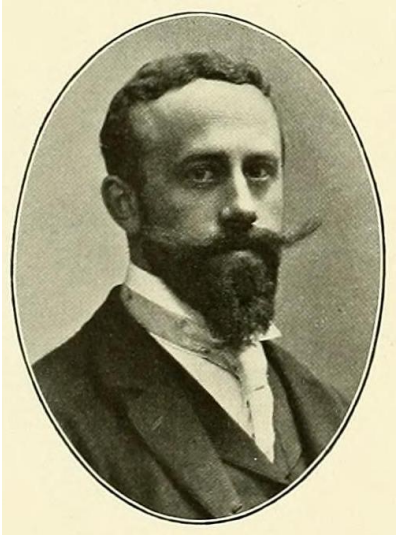


Das rezessive Merkmal aus der P-Generation tritt bei den in diesem Merkmal homozygoten Individuen wieder phänotypisch in Erscheinung.



mucoviscidose,
hémochromatose,
drépanocytose,
phénylcétonurie, ...

Quelques découvertes



1900 :
Redécouverte
des études de
Mendel par
Hugo de
Vries, Carl
Correns et
Erich von
Tschermak



1944 :
Oswald Avery
démontre
que l'ADN est
le support de
l'hérédité

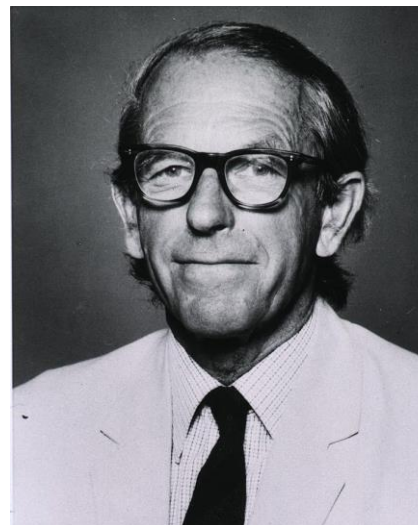


1953 :
Watson et
Crick
décrivent la
structure de
l'ADN grâce
aux données
de Rosalind
Franklin



1972 :
Paul Berg
développe le
premier ADN
recombinant

FONDATION
DE L'ARL

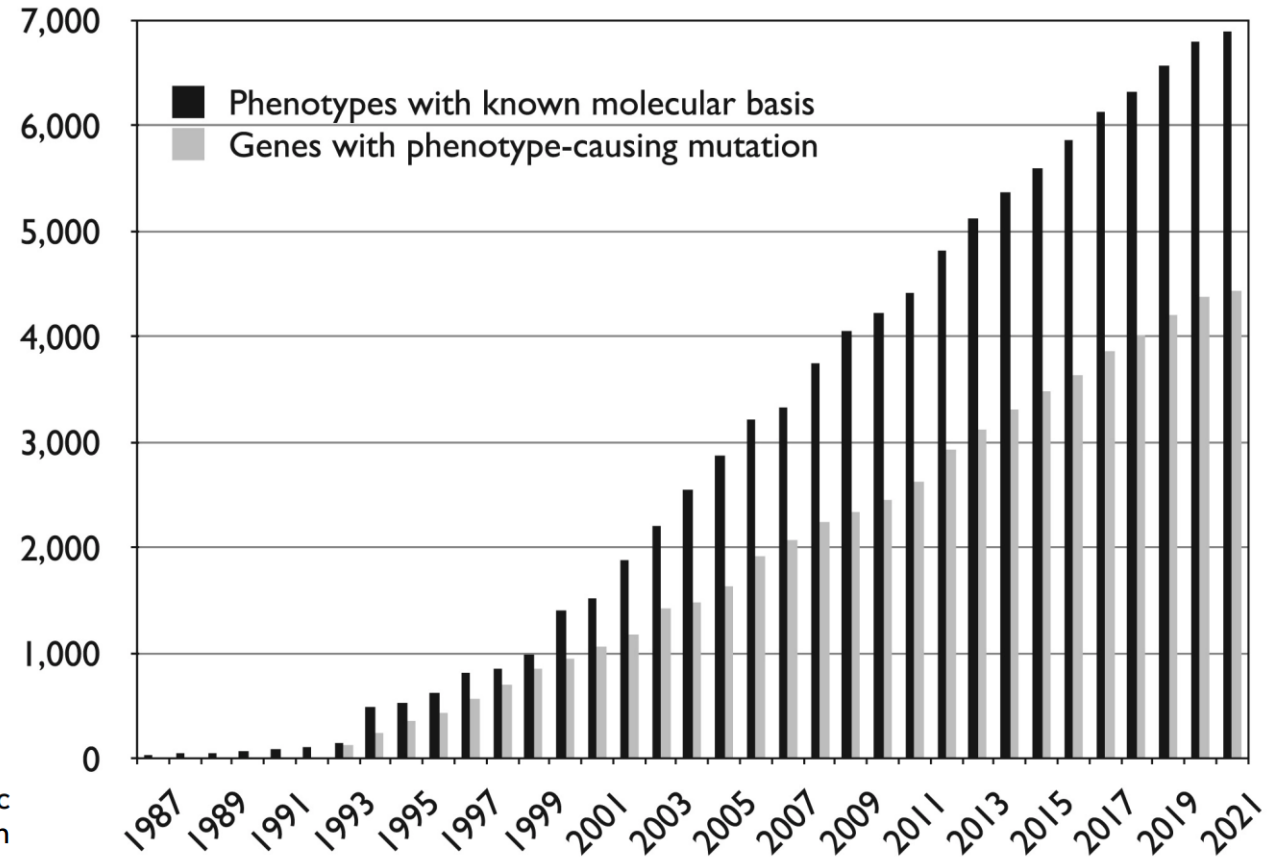
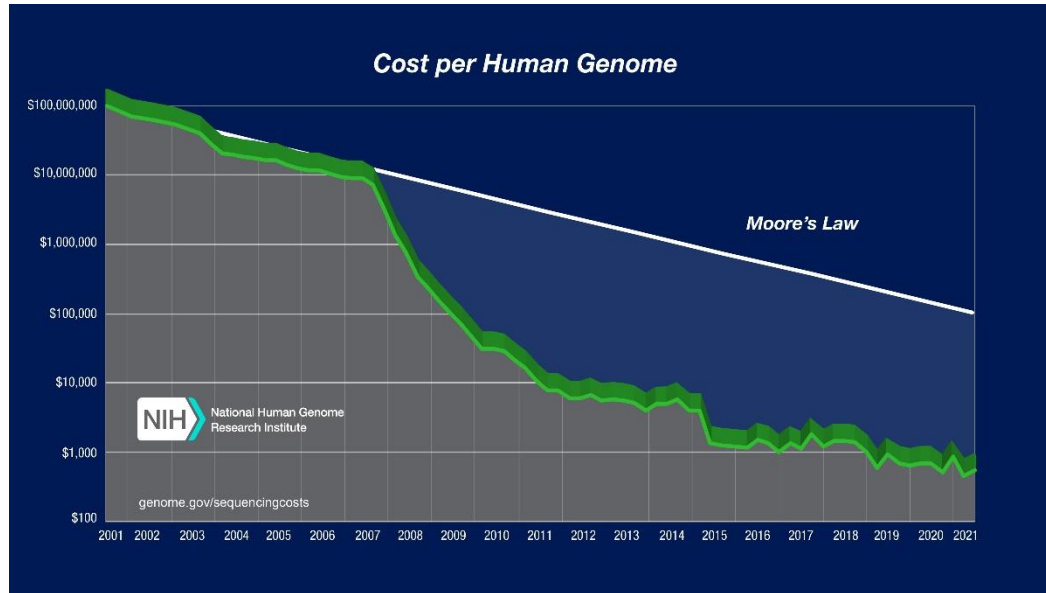


1977 :
Frederik
Sanger
développe
une
méthode
facile pour
séquencer
des gènes



2003 :
Finalisation
provisoire
du *Human
Genome
Project*

NGS et OMIM (Online Mendelian Inheritance in Man)



ARTICLE **OPEN**

Recommendations for whole genome sequencing
in diagnostics for rare diseases

ISSAID/EMQN Best Practice Guidelines for the Genetic
Diagnosis of Monogenic Autoinflammatory Diseases in
the Next-Generation Sequencing Era

ACMG PRACTICE GUIDELINE

Exome and genome sequencing for pediatric patients with
congenital anomalies or intellectual disability: an evidence-
based clinical guideline of the American College of Medical
Genetics and Genomics (ACMG)



Et donc les maladies non-mendéliennes ?

Non-Mendelian inheritance

From Wikipedia, the free encyclopedia

1 Types

- 1.1 Incomplete dominance
- 1.2 Co-dominance
- 1.3 Genetic linkage
- 1.4 Multiple alleles
- 1.5 Epistasis
- 1.6 Sex-linked inheritance
- 1.7 Extranuclear inheritance
- 1.8 Polygenic traits
- 1.9 Non-random segregation
- 1.10 Gene conversion
- 1.11 Infectious heredity
- 1.12 Genomic imprinting
- 1.13 Mosaicism
- 1.14 Trinucleotide repeat disorders

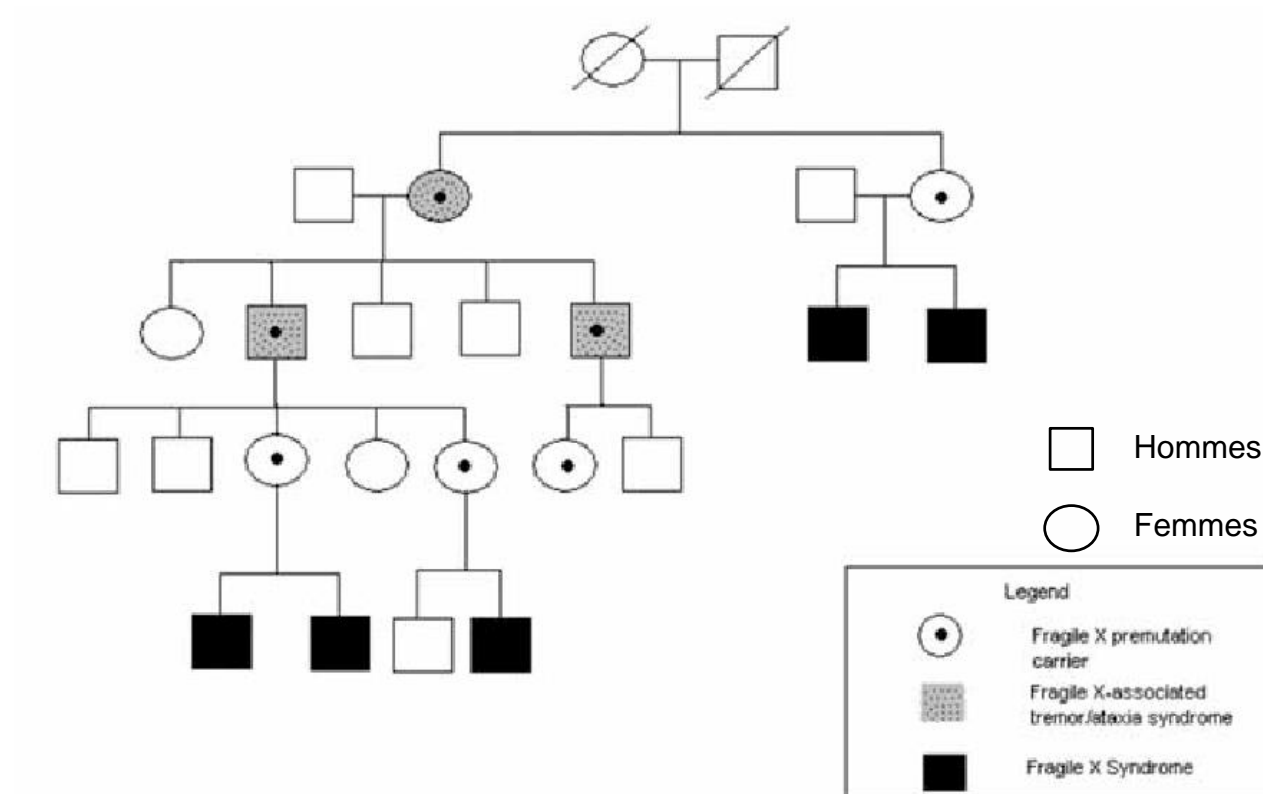
Et donc les maladies non-mendéliennes ?

Non-Mendelian inheritance

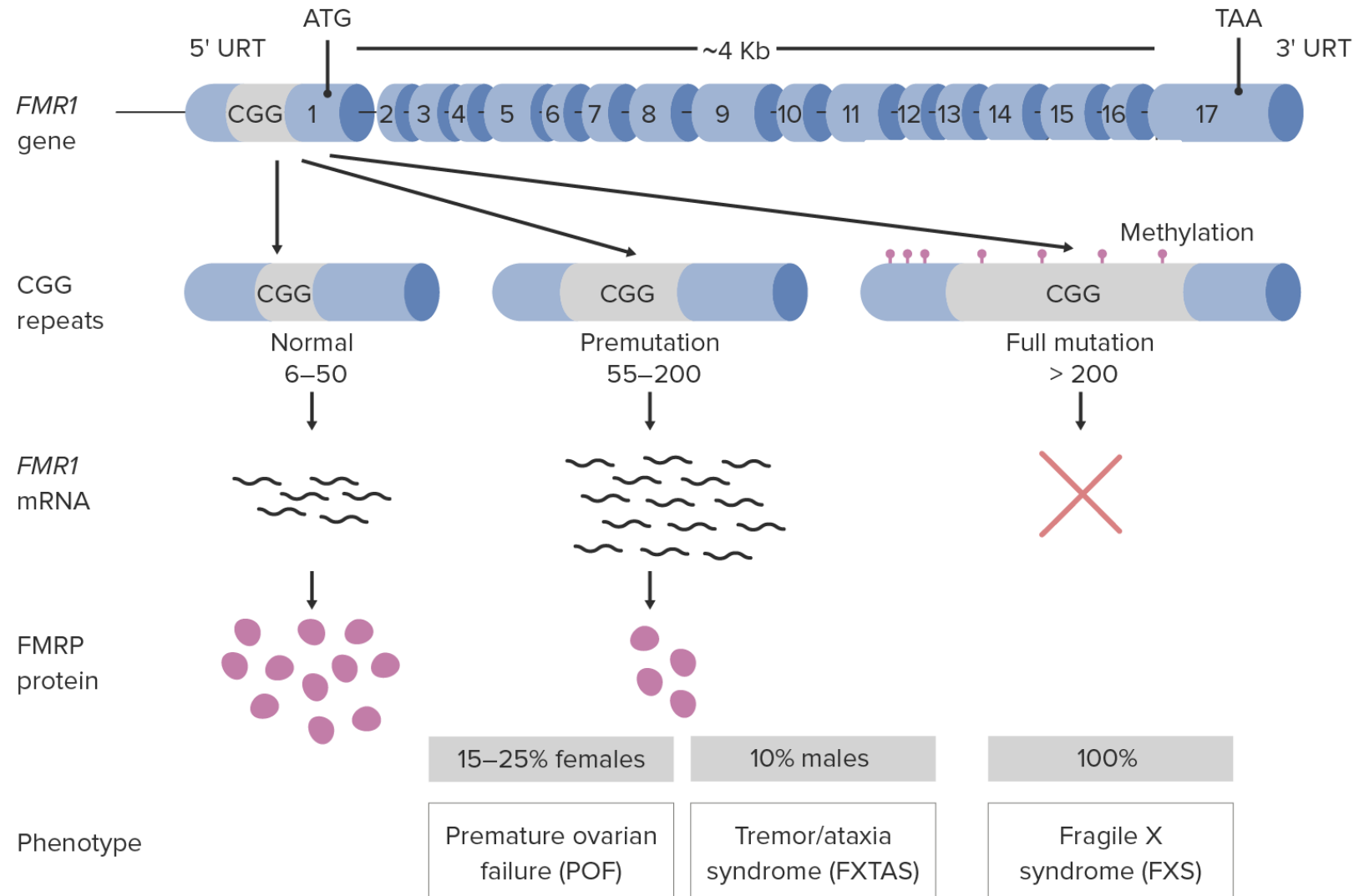
From Wikipedia, the free encyclopedia

1 Types

- 1.1 Incomplete dominance
- 1.2 Co-dominance
- 1.3 Genetic linkage
- 1.4 Multiple alleles
- 1.5 Epistasis
- 1.6 Sex-linked inheritance
- 1.7 Extranuclear inheritance
- 1.8 Polygenic traits
- 1.9 Non-random segregation
- 1.10 Gene conversion
- 1.11 Infectious heredity
- 1.12 Genomic imprinting
- 1.13 Mosaicism
- 1.14 Trinucleotide repeat disorders

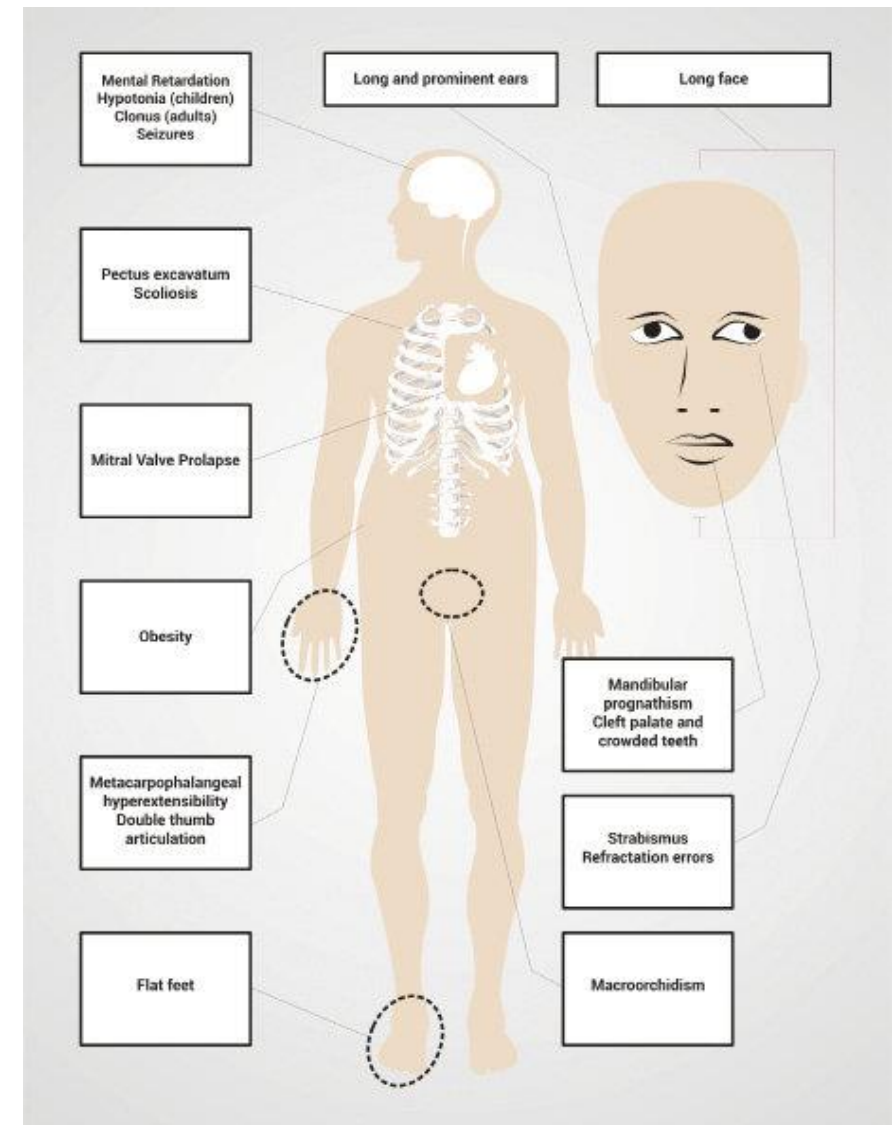


X-fragile : expansion de repeat localisé sur le chromosome X



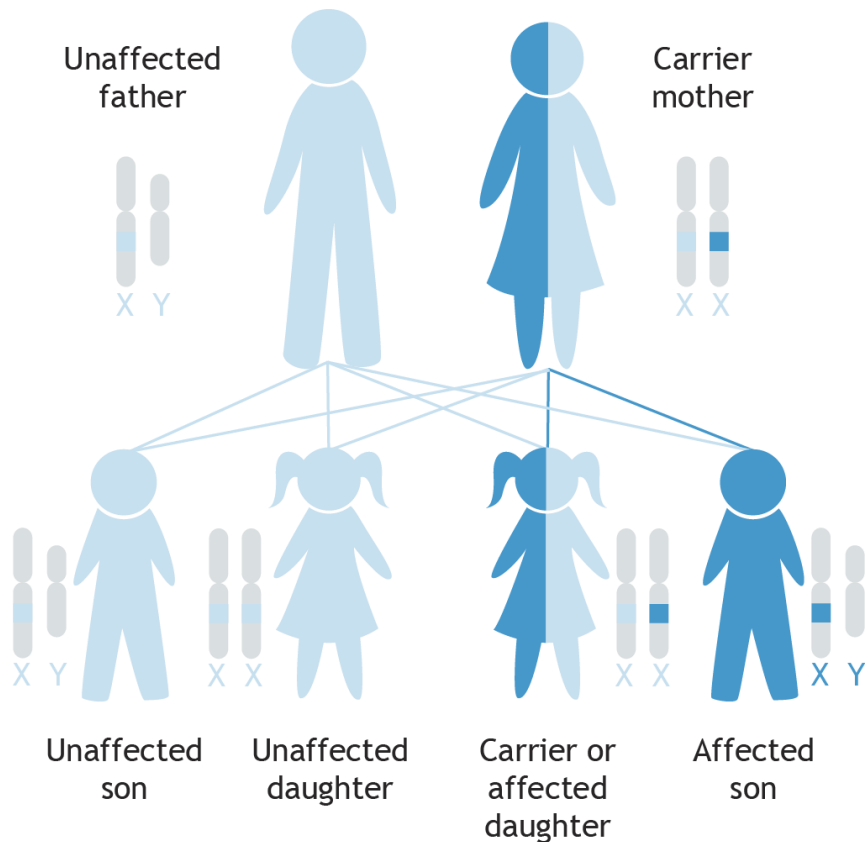
X-fragile : phénotypes

- **Mutation complète**
 - Syndrome de l'X fragile (FXS) : Intellectual disability, autism spectrum disorder (50%-70%), dysmorphic features, hypotonia, gastroesophageal reflux, strabismus, seizures, sleep disorders, joint laxity, pes planus, scoliosis, and recurrent otitis media
- **Pré-mutation**
 - Fragile X-associated tremor/ataxia syndrome (FXTAS) : Late-onset, progressive cerebellar ataxia and intention tremor followed by cognitive impairment
 - Fragile X-associated primary ovarian insufficiency (FXPOI)
 - Pas de FXS



FMR1 : localisé sur le chromosome X, donc...

X-Linked Inheritance in Fragile X Syndrome



FXS :

Hommes : 1 sur 2500 à 7000 atteints ;
symptômes graves

Femmes : 1 sur 2500 à 11,000 atteintes
(environ 50% des porteuses de la mutation
complète) ; symptômes *mild to moderate*,
diagnostiqués plus tard

FXTAS :

40% d'atteints parmi les porteurs de la pré-
mutation, 20% chez les porteuses

FXPOI :

Observé chez 20% des porteuses de la pré-
mutation



Maladie d'expansion de repeat, donc anticipation

Four classes of CGG repeat alleles

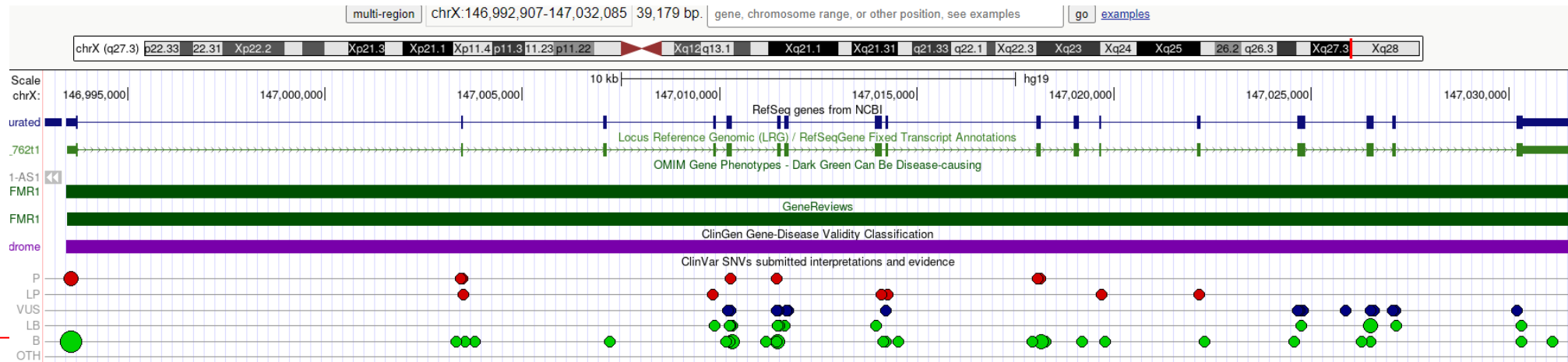
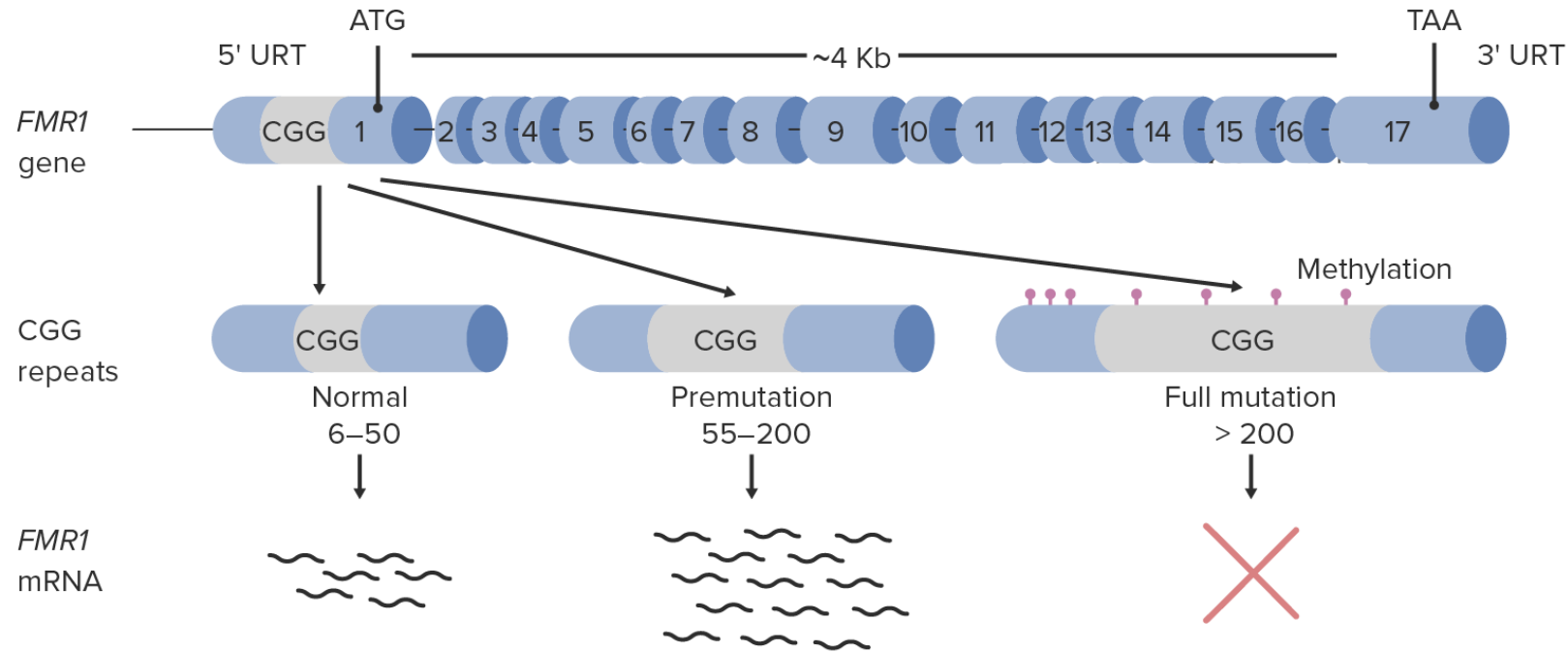
<45 repeats The most common alleles contain 29 or 30 repeats	Normal (N)	Normal	Transition to a full mutated allele has never been reported. Extremely rare cases of minor changes in repeat number have been described
45–54 repeats	Intermediate or grey-zone allele (IA)	Normal	Possible instability upon transmission. Very rare cases of expansion to a premutation have been described. Very rare cases of expansion to a full mutation have been described in two generations but not in one generation
55 to ~200 repeats without abnormal methylation	Premutation (P)	Risk of FXPOI for females. Risk of FXTAS for males and females	Unstable upon transmission and at risk to pass on a full mutation in one generation when transmitted by a female. This risk is proportional to the premutation size
>~200 repeats with abnormal methylation	Full mutation (M)	Males are affected with FXS. ~50% of females are affected with FXS	

Femmes avec pré-mutations de >100 repeats : 98% de risque de transition à une mutation complète lors de la transmission.

Le risque de transition est modulé par des AGG intercalé dans le CGG repeat.

Régressions : rarement observées.

Ce n'est pas encore assez compliqué...



Garçon de deux ans

- Retard global du développement avec atteinte de la communication verbale et non-verbale
- Stéréotypies
- Hypotonie axiale
- Difficultés de la prise pondérale persistantes
- IRM cérébrale normale
- Analyses métaboliques : résultat compatible avec une *lysinuric protein intolerance* (LPI)
- Pas d'anomalies ophtalmiques ou auditives connues

- **Trio exome :**
 - **Résultat normal pour *SLC7A7* (gène de la LPI)**
 - **Reflexe sur 1750 gènes impliqués dans la déficience intellectuelle > résultat normal**

C'est si simple...



Demandes : Recherche d'expansion *FMR1* (gène de l'X-fragile).

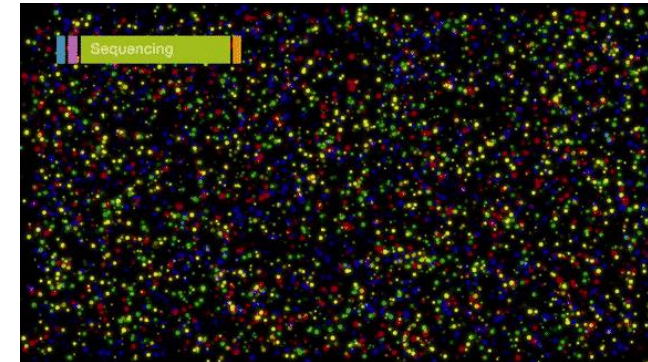
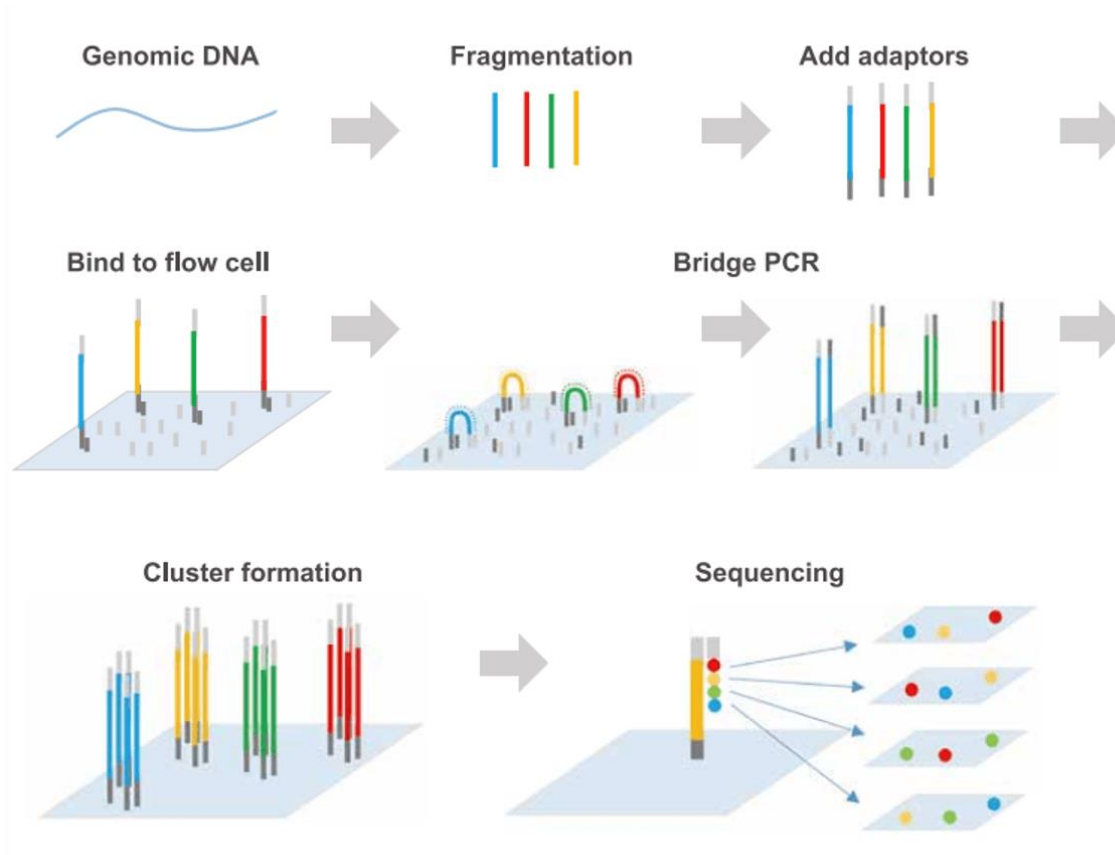
Résultat :

Mutation complète du gène *FMR1*: Expansion hémizygote de la région instable de >200 triplets.

*Génotype selon la nomenclature HGVS: *FMR1*:c.-128_-126[(200);[(200)]*

Extensions de repeats et NGS : pas un amour fou

Séquençage de l'exome et du génome : typiquement effectué avec la technologie Illumina



Longueur maximale des reads de séquençage : 150 à 250 pb

Longueur d'une mutation FXS complète : min. 600 pb

>>> Pas possible de déterminer la longueur du repeat



Autres maladies de triplet

Disease	Symbol	OMIM	Inheritance	Gene	Cytogenetic location	Type	Repeat motif	Normal range	Expansion range	Strand	Start hg19	Reference repeat number	TRF match, %	TRF indel, %	Reference STR size, base pairs
Huntington disease	HD	143100	AD	HTT	4p16.3	Coding	CAG	6-34	36-100+	+	3,076,604	21.3	96	0	64
Kennedy disease	SBMA	313200	X	AR	Xq12	Coding	CAG	9-35	38-62	+	66,765,159	33.3	86	9	103
Spinocerebellar ataxia 1	SCA1	164400	AD	ATXN1	6p23	Coding	CAG	6-38	39-82	-	16,327,865	30.3	95	0	91
Spinocerebellar ataxia 2	SCA2	183090	AD	ATXN2	12q24	Coding	CAG	15-24	32-200	-	112,036,754	23.3	97	0	70
Machado-Joseph disease	SCA3	109150	AD	ATXN3	14q32.1	Coding	CAG	13-36	61-84	-	92,537,355	14	84	0	42
Spinocerebellar ataxia 6	SCA6	183086	AD	CACNA1A	19p13	Coding	CAG	4-7	21-33	-	13,318,673	13.3	100	0	40
Spinocerebellar ataxia 7	SCA7	164500	AD	ATXN7	3p14.1	Coding	CAG	4-35	37-306	+	63,898,361	10.7	100	0	32
Spinocerebellar ataxia 17	SCA17	607136	AD	TBP	6q27	coding	CAG	25-42	47-63	+	170,870,995	37	94	0	111
Dentatorubral-pallidoluysian atrophy	DRPLA	125370	AD	DRPLA/ATN1	12p13.31	Coding	CAG	7-34	49-88	+	7,045,880	19.7	92	0	59
Huntington disease-like 2	HDL2	606438	AD	JPH3	16q24.3	Exon	CTG	7-28	66-78	+	87,637,889	15.3	95	4	47
Fragile-X site A	FRAXA	300624	X	FMR1	Xq27.3	5' UTR	CGG	6-54	200-1,000+	+	146,993,555	25	90	5	75
Fragile-X site E	FRAXE	309548	X	FMR2	Xq28	5' UTR	CCG	4-39	200-900	+	147,582,159	15.3	100	0	46
Myotonic dystrophy 1	DM1	160900	AD	DMPK	19q13	3' UTR	CTG	5-37	50-10,000	-	46,273,463	20.7	100	0	62
Friedreich ataxia	FRDA	229300	AR	FXN	9q13	Intron	GAA	6-32	200-1,700	+	71,652,201	6.7	100	0	20
Myotonic dystrophy 2	DM2	602668	AD	ZNF9/CNBP	3q21.3	Intron	CCTG	10-26	75-11,000	-	128,891,420	20.8	92	0	83
Frontotemporal dementia and/or amyotrophic lateral sclerosis 1	FTDALS1	105550	AD	C9orf72	9p21	Intron	GGGGCC	2-19	250-1,600	-	27,573,483	10.8	74	8	62
Spinocerebellar ataxia 36	SCA36	614153	AD	NOP56	20p13	Intron	GGCCTG	3-8	1500-2,500	+	2,633,379	7.2	97	0	43
Spinocerebellar ataxia 10	SCA10	603516	AD	ATXN10	22q13.31	Intron	ATTCT	10-20	500-4,500	+	46,191,235	14	100	0	70
Myoclonic epilepsy of Unverricht and Lundborg	EPM1	254800	AR	CSTB	21q22.3	Promoter	CCCCGCCCGCG	2-3	40-80	-	45,196,324	3.1	100	0	37
Spinocerebellar ataxia 12	SCA12	604326	AD	PPP2R2B	5q32	Promoter	CAG	7-45	55-78	-	146,258,291	10.7	100	0	32
Spinocerebellar ataxia 8	SCA8	608768	AD	ATXN8OS/ATXN8	13q21	utRNA	CTG	16-34	74+	+	70,713,516	15.3	100	0	46
Spinocerebellar ataxia 31	SCA31	117210	AD	BEAN1/TK2	16q21	Intron	TGGAA ^a	N/A	2.5-3.8 kb ^b	+	66,524,302	0	N/A	N/A	N/A
Spinocerebellar ataxia 37	SCA37	615945	AD	DAB1	1p32.2	Intron	ATTTC ^c	0	31-75	-	57,832,716 ^c	0	N/A	N/A	N/A
Familial adult myoclonic epilepsy 1 ^d	FAME1	601068	AD	SAMD12	8q24	Intron	TTTCA ^a	0	440-3,680 ^e	-	119,379,055 ^e	0	N/A	N/A	N/A
Fuchs endothelial corneal dystrophy 3	FECD3	613267	AD	TCF4	18q21.2	Intron	CTG	10-40	50-150+	-	53,253,385	25.3	100	0	76
Oculopharyngeal muscular dystrophy	OPMD	164300	AD	PABPN1	14q11.2	Coding	GCG	6-7	8-13	+	23,790,682	6.7	100	0	20
Early infantile epileptic encephalopathy 1 ^f	EIEE1	308350	X	ARX	Xp21.3	Coding	GCG	7-12 ^g	17-20 ^g	-	25,031,771	14.7	90	0	44

Exemples :

- Maladie (dystrophie myotonique) de Steinert
- Chorée de Huntington
- Ataxie de Friedreich
- Ataxies spino-cérébelleuses

Nombre de repeats : jusqu'à 10'000 (dystrophie myotonique)

(Une maladie de repeat Valaisanne)



Tableau 3 – Comparaison des degrés de consanguinité de Saas avec ceux établis pour d'autres isolats suisses

Auteur	Commune et nombre de familles examinées	Nombre de mariages consanguins				
		II ^o	II ^o -III ^o	III ^o	III ^o -IV ^o	IV ^o
Brenk (1931)	Lungern (OW) 270 familles	5 =1,9%	1 =0,4%	20 =7,4%	11 =4,1%	39 =14,4%
Grob (1934)	Amden (SG) 139 familles	1 =0,7%	3 =2,1%	10 =7,1%	3 =2,1%	14 =10,0%
Egenter (1934)	Illgau (SZ) 52 familles	6 =11,5%	5 =9,6%	17 =32,7%	4 =7,7%	6 =11,5%
Ruepp (1935)	Weisstannen (SG) 77 familles	3 =3,9%	3 =3,9%	9 =11,7%	1 =1,2%	5 =6,4%
Hauser (1940)	Soglio (GR) 106 familles	8 =7,5%	3 =2,8%	7 =6,6%	11 =10,4%	25 =23,6%
Gysi (1951)	Baltwies (GR) 26 familles	3 =11,5%	1 =3,8%	3 =11,5%	2 =7,7%	2 =7,7%
Ammann (1962)	Saas (VS) 364 familles	5 =1,37%	5 =1,37%	18 =4,95%	13 =3,57%	53 =14,56%

Ammann et al, J. Génét. Hum, 1962

Une grande famille valaisanne atteinte d'épilepsie myoclonique progressive et de rétinite pigmentaire

Etude clinique, génétique et anatomo-pathologique*

D. KLEIN, M. MUMENTHALER, R. KRAUS-RUPPERT et E. RALLO

Institut universitaire de Génétique médicale de Genève (directeur: Prof. D. KLEIN) et Clinique neurologique universitaire de Berne (directeur: Prof. M. MUMENTHALER)

Reçu le 11 juillet 1968

Humangenetik 6, 237—252 (1968)

Dodecamer repeat expansion in cystatin B gene in progressive myoclonus epilepsy

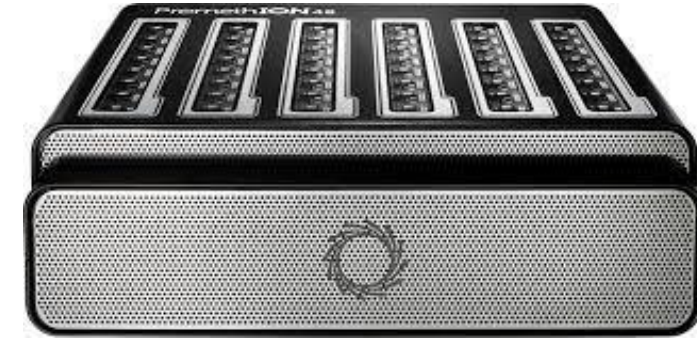
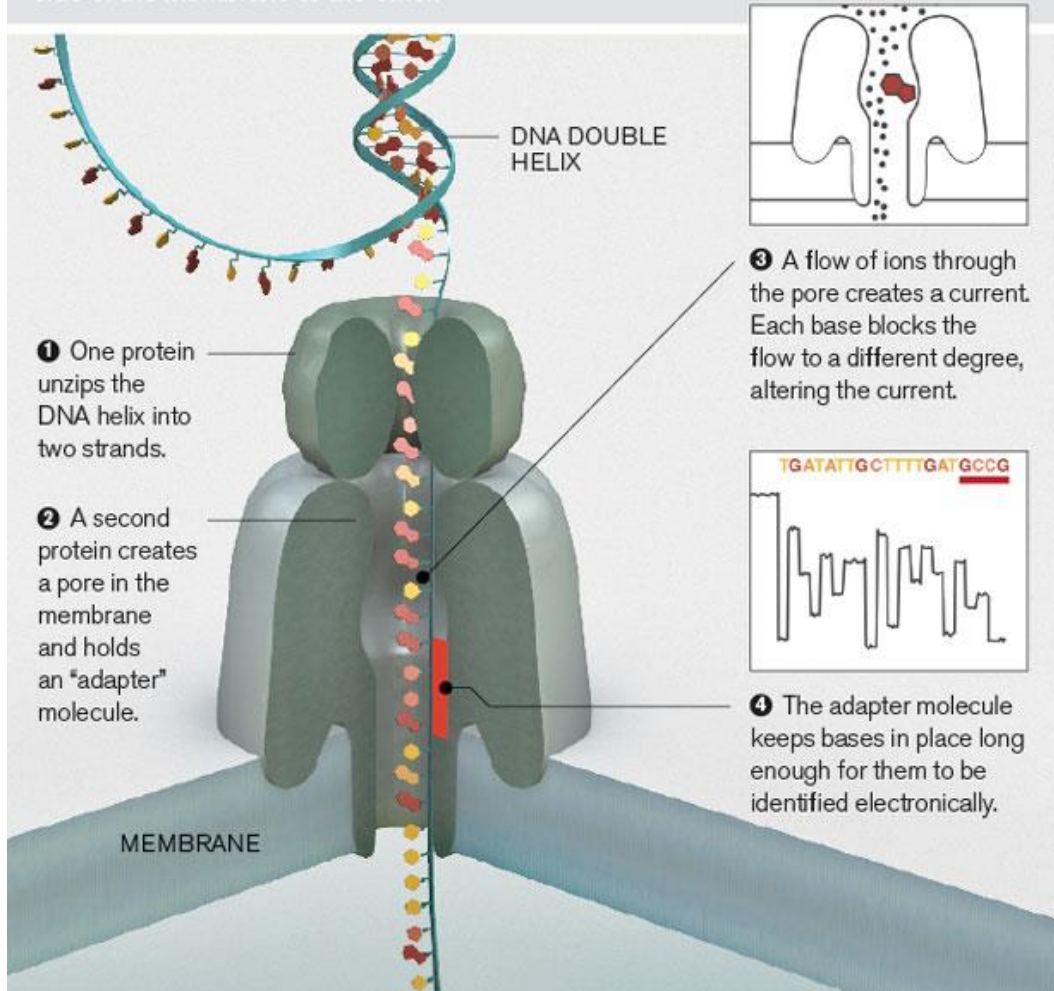
Maria D. Lalioti^{*}, Hamish S. Scott^{*}, Catherine Buresi[†], Colette Rossier^{*}, Armand Bottani[‡], Michael A. Morris[‡], Alain Malafosse[†] & Stylianos E. Antonarakis^{*‡}

NATURE | VOL 386 | 24 APRIL 1997

Progressive myoclonus epilepsy of the Unverricht–Lundborg type (EPM1; MIM 254800) is an autosomal recessive disorder with onset between 6 and 13 years followed by variable progression to mental deterioration and cerebellar ataxia¹. It is a rare disorder but more common in Finland (1 in 20,000) and the western Mediterranean^{1,2}. Two point mutations in the cysteine proteinase inhibitor gene cystatin B (CSTB), proved that this gene is responsible for EPM1 (ref. 3). An extensive search in the CSTB gene revealed mutations accounting only for 14% of the 58 unrelated EPM1 alleles studied⁴. Here we report that the majority of EPM1 alleles contain expansions of a dodecamer (12-mer) repeat located about 70 nucleotides upstream of the transcription start site nearest to the 5' end of the CSTB gene. Normal alleles contain 2 or 3 copies of this repeat whereas mutant alleles contain more than 60 such repeats and have reduced levels of CSTB messenger RNA in blood but not in cell lines. 'Premutation' CSTB alleles with 12–17 repeats show marked instability when transmitted to offspring.

Une solution potentielle : long read sequencing

DNA can be sequenced by threading it through a microscopic pore in a membrane. Bases are identified by the way they affect ions flowing through the pore from one side of the membrane to the other.



- Longueur des reads : 10^5 à 10^6 pb
- Séquençage d'ADN et d'ARN
- Détection de la méthylation d'ADN
- Mais : taux d'erreur élevé

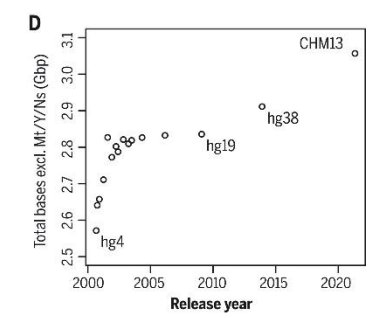
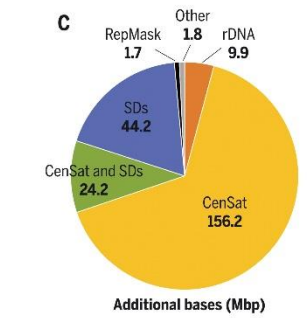
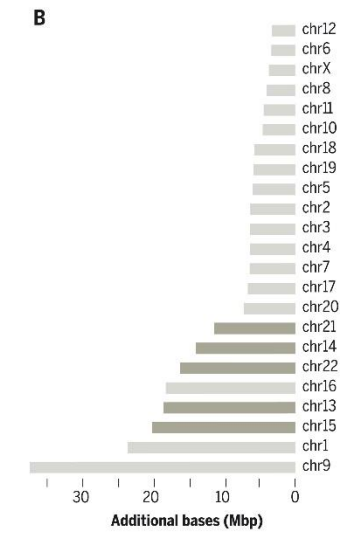
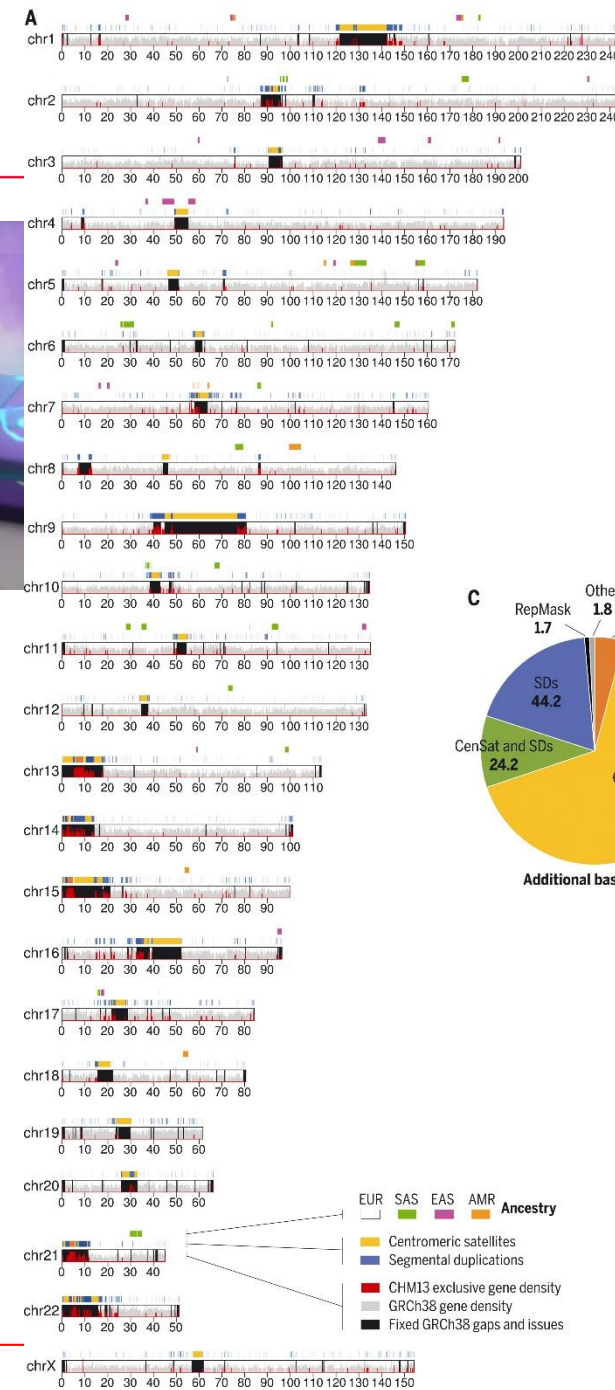
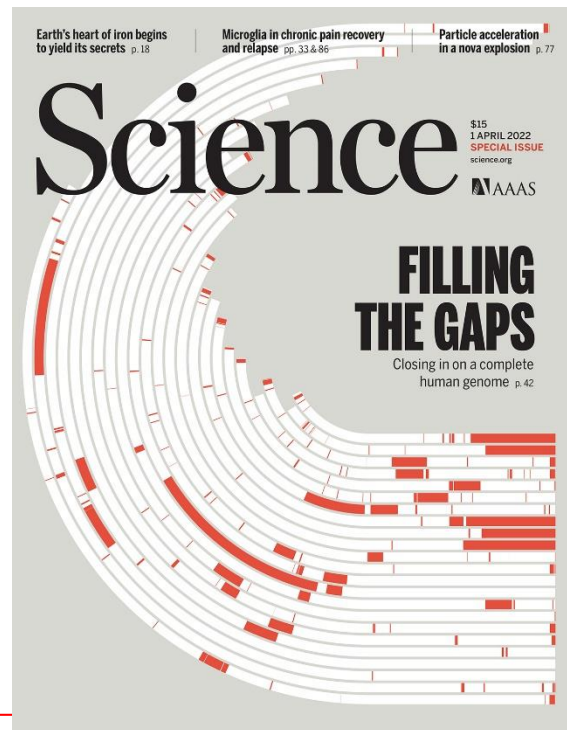
> Third generation sequencing <

Application : séquençage du génome

Telomere-to-Telomere (T2T)




The first complete, gapless sequence of a human genome.

The completed regions include all centromeric satellite arrays, recent segmental duplications, and the short arms of all five acrocentric chromosomes, unlocking these complex regions of the genome to variational and functional studies.



JOURNAL ARTICLE

Comprehensive Analysis of Fragile X Syndrome: Full Characterization of the *FMR1* Locus by Long-Read Sequencing

Qiaowei Liang, Yingdi Liu, Yaning Liu, Ranhui Duan, Wanli Meng, Jiahan Zhan, Jiahui Xia, Aiping Mao , Desheng Liang , Lingqian Wu  [Author Notes](#)

Clinical Chemistry, hvac154, <https://doi.org/10.1093/clinchem/hvac154>

Published: 29 September 2022 **Article history** ▼

SCIENCE ADVANCES | RESEARCH ARTICLE

GENETICS

Comprehensive genetic diagnosis of tandem repeat expansion disorders with programmable targeted nanopore sequencing

Stevanovski *et al.*, *Sci. Adv.* **8**, eabm5386 (2022) 4 March 2022

- Il y a une multitude de modes de transmission (plus globalement : la nature est très créative lorsqu'il s'agit de créer de la souffrance – et de la beauté !)
- Le NGS a énormément amélioré le diagnostic des maladies rares, mais il y a encore des lacunes
- La 3^e génération de séquençage surmonte certains de ces lacunes, mais le taux d'erreur est encore relativement élevé par rapport au NGS
- Le test génétique universel n'existe pas > une des raisons pour l'importance de la consultation génétique

Merci !



Hôpital du Valais
Spital Wallis



Institut Central des Hôpitaux
Zentralinstitut der Spitäler

