

## ANALYSES DES PANELS DE GÈNES ASSOCIÉS AUX MALADIES CARDIOVASCULAIRES PAR SÉQUENÇAGE DE NOUVELLE GÉNÉRATION (SNG); COMPLÉMENT D'INFORMATION

Les analyses offertes par la Plateforme de génomique du CHU de Québec-Université Laval-OPTILAB Capitale-Nationale comprennent l'étude de la séquence et la recherche des délétions et des duplications.

### Liste des panels associés aux cardiomyopathies (CMP) idiopathique ou génétique/héréditaire

PANEL	GÈNES
CMP hypertrophique (CMH) (27 gènes)	ACTC1, ACTN2, ALPK3, CACNA1C, CSR3, DES, FHL1, FHOD3, FLNC, GLA, JPH2, LAMP2, MYBPC3, MYH7, MYL2, MYL3, PLN, PRKAG2, PTPN11, RAF1, RIT1, TNNC1, TNNI3, TNNT2, TPM1, TRIM63, TTR
CMP dilatée ou arythmogène du ventricule gauche (CMD) (41 gènes)	AARS2, ACTC1, ACTN2, BAG3, DES, DMD, DOLK, DSC2, DSG2, DSP, EMD, FKRP, FKTN, FLNC, HCN4, JPH2, JUP, LAMP2, LMNA, MYBPC3, MYH7, NEXN, NKX2-5, NRAP, PKP2, PLN, PPCS, PPP1R13L, RAF1, RBM20, RYR2, SCN5A, TAFAZZIN, TMEM43, TNNC1, TNNI3, TNNI3K, TNNT2, TPM1, TTN <sup>1</sup> , VCL
CMP arythmogène du ventricule droit (12 gènes)	ANK2, CDH2, DES, DSC2, DSG2, DSP, FLNC, JUP, LMNA, PKP2, PLN, TMEM43
Amyloïdose TTR (1 gène)	TTR

### Liste des panels associés aux arythmies héréditaires

PANEL	GÈNES
Syndrome Andersen- Tawil (1 gène)	KCNJ2
Syndrome de Brugada (1 gène)	SCN5A
Syndrome du QT long (12 gènes)	CACNA1C, CALM1, CALM2, CALM3, KCNE1, KCNE2, KCNH2, KCNJ2, KCNQ1, SCN5A, TECRL, TRDN
Syndrome du QT court (6 gènes)	CACNA1C, KCNH2, KCNJ2, KCNQ1, SCN5A, SLC4A3
Tachycardie ventriculaire polymorphe (TVP) catécholaminergique (8 gènes)	CALM1, CALM2, CALM3, CASQ2, KCNJ2, RYR2, TECRL, TRDN
Trouble de conduction (15 gènes)	DES, EMD, GLA, GNB5, HCN4, LAMP2, LMNA, NKX2-5, PRKAG2, SCN5A, SGO1, TBX5, TNNI3K, TRPM4, TTR
Arrêt cardiaque inexplicable (73 gènes)	AARS2, ACTC1, ACTN2, ALPK3, ANK2, BAG3, CACNA1C, CALM1, CALM2, CALM3, CASQ2, CDH2, CSR3, DES, DMD, DOLK, DSC2, DSG2, DSP, EMD, FHL1, FHOD3, FKRP, FKTN, FLNC, GLA, GNB5, HCN4, JPH2, JUP, KCNE1, KCNE2, KCNH2, KCNJ2, KCNQ1, LAMP2, LMNA, MYBPC3, MYH7, MYL2, MYL3, NEXN, NKX2-5, NRAP, PKP2, PLN, PPA2, PPCS, PPP1R13L, PRKAG2, PTPN11, RAF1, RBM20, RIT1, RYR2, SCN5A, SGO1, SLC4A3, TAFAZZIN, TBX5, TECRL, TMEM43, TNNC1, TNNI3, TNNI3K, TNNT2, TPM1, TRDN, TRIM63, TRPM4, TTN <sup>1</sup> , TTR, VCL ET CE VARIANT DANS DPP6 (NM_130797.4):C.244-141059C>T)

<sup>1</sup>**TTN** : En raison de l'interférence des répétitions en tandem au sein du gène *TTN*, les régions génomiques couvrant les exons 172-192 et 195-198 du Meta transcript (NM\_001267550.2) ne sont pas analysées par ce test. Notez que ces exons sont absents du transcrit cardiaque court (N2B; NM\_003319.4) et qu'uniquement les exons 174, 181 et 182, sont présents dans le transcrit cardiaque long (N2BA; NM\_001256850.1). Les variants faux-sens du gène *TTN* ne sont pas rapportés sauf s'ils sont pathogénique/probablement pathogénique.

**Liste des panels associés aux aortopathies (dilatation/dissection de l'aorte thoracique)**

PANEL	GÈNES
Anévrisme de l'aorte familial non-syndromique (15 gènes)	<i>ACTA2, COL1A1, COL3A1, FBN1, LOX, MYH11, MYLK, PRKG1, SMAD2, SMAD3, SMAD4, TGFB2, TGFB3, TGFBR1, TGFBR2</i>
Anévrisme de l'aorte syndromique (26 gènes)	<i>ACTA2, CBS, COL1A1, COL3A1, COL5A1, COL5A2, EFEMP2, ELN, FBLN5, FBN1, FKBP14, FLNA, LOX, MYH11, MYLK, PLOD1, PRKG1, SKI, SLC2A10, SMAD2, SMAD3, SMAD4, TGFB2, TGFB3, TGFBR1, TGFBR2</i>
Syndrome d'Ehlers-Danlos classique (3 gènes)	<i>COL1A1, COL5A1, COL5A2</i>
Syndrome d'Ehlers-Danlos vasculaire (2 gènes)	<i>COL1A1, COL3A1</i>
Syndrome de Loeys-Dietz (6 gènes)	<i>SMAD2, SMAD3, TGFB2, TGFB3, TGFBR1, TGFBR2</i>
Syndrome de Marfan (1gène)	<i>FBN1</i>

**MÉTHODOLOGIE:**

L'analyse est effectuée par séquençage de nouvelle génération (SNG). La préparation des librairies est effectuée avec des sondes de capture personnalisées (Twist Bioscience) selon le protocole commercial Illumina DNA Prep with Enrichment et permet de cibler des gènes impliqués dans les cardiomyopathies, arythmies et aortopathies, ainsi que dyslipidémies familiales. L'ADN est par la suite séquencé avec un séquenceur NextSeq 1000/2000 et analysé par le serveur d'analyse Dragen Bio-IT (Illumina). Les séquences sont ensuite alignées sur le génome de référence GRCh38/hg38. Une analyse tertiaire annote les variants restreints aux gènes du profil demandé. Les exons codants ainsi que les frontières intron-exon (+/-10pb) de ces gènes, en plus de certains variants introniques spécifiques (Tableau 1) sont analysés systématiquement. Sauf indication contraire, toutes les régions ciblées par le panel sont séquencées avec une profondeur de lectures >= 20X. Le séquençage direct Sanger peut être employé pour confirmer des SNV/InDel et couvrir les régions de faible couverture au besoin. Les variations génétiques d'un seul nucléotide (SNV) ou les petites variations génétiques (InDel) sont détectées par cette méthode avec une sensibilité analytique de 99,98% et une spécificité analytique supérieure à 99,99%. Les variations du nombre de copies (CNV) sont détectées avec une sensibilité analytique estimée supérieure à 87% et une spécificité analytique supérieure à 99,96%. Toutes les CNV rapportables sont confirmées par une méthode décrite dans la section interprétation lorsqu'applicable. Un essai de génotypage (SNAPshot®, ThermoFisher) sur un panel de SNPs est systématiquement fait en parallèle afin d'exclure la possibilité d'un mélange d'échantillons lors des étapes du protocole de séquençage. Cette analyse est réalisée dans un laboratoire médical accrédité par le Conseil canadien des normes (CCN) et est conforme aux exigences de la norme internationale ISO 15189: 2012 ainsi qu'aux conditions d'accréditation établies par le CCN (Laboratoire accrédité # 928; Dossier CCN #151142).

**Tableau 1 : Variants introniques spécifiques couverts par l'analyse**

SNP	Gène	Variant	Taille (nt)
rs764160782	<i>CBS</i>	NM_000071.3:c.667-14_667-7del	8
rs72648337	<i>COL1A1</i>	NM_000088.3:c.1354-12G>A	1
rs587776747	<i>DMD</i>	NM_004006.3:c.9225-285A>G	1
rs398124091	<i>DMD</i>	NM_004006.3:c.9225-647A>G	1
rs797045526	<i>DMD</i>	NM_004006.3:c.6614+3310G>T	1
rs398124099	<i>DMD</i>	NM_004006.3:c.961-5831C>T	1
rs606231226	<i>DPP6</i>	NM_130797.4:c.244-141059C>T	1
rs1554754182	<i>FKTN</i>	NM_001079802.2:c.648-1243G>T	1
rs2067676994	<i>FLNA</i>	NM_001110556.2:c.4750_4755+18del	24
rs199473684	<i>GLA</i>	NM_000169.2:c.640-801G>A	1
rs36212066	<i>MYBPC3</i>	NM_000256.3:c.3628-41_3628-17del	25

rs2095881691	<i>MYBPC3</i>	NM_000256.3(MYBPC3):c.2731_2737+19del	26
rs886041030	<i>MYBPC3</i>	NM_000256.3:c.2309-26A>G	1
rs397515893	<i>MYBPC3</i>	NM_000256.3:c.1227-13G>A	1
rs587776699	<i>MYBPC3</i>	NM_000256.3:c.1224-19G>C	1
rs1178447240	<i>MYBPC3</i>	NM_000256.3:c.1224-21A>G	1
rs786204336	<i>MYBPC3</i>	NM_000256.3:c.1224-52G>A	1
rs1025692267	<i>MYBPC3</i>	NM_000256.3:c.1224-80G>A	1
NA	<i>MYBPC3</i>	NM_000256.3:c.1091-575A>C	1
rs2095893477	<i>MYBPC3</i>	NM_000256.3:c.1090+453C>T	1
rs864622197	<i>MYBPC3</i>	NM_000256.3:c.906-36G>A	1

## LIMITATIONS

La sensibilité du test peut être réduite dans les régions dont la couverture est inférieure à 20X. Les variants classés pathogénique, probablement pathogénique ou de signification incertaine qui sont situés dans les régions codantes et les régions introniques proches (+/- 2 pb) des gènes énumérés ci-dessus sont rapportés. Les variants synonymes, ceux localisés dans les régions UTRs ainsi que les variants introniques en dehors des séquences consensus d'épissage (+/- 1, 2) ne sont pas rapportés, sauf s'ils sont pathogénique/probablement pathogénique ou qu'un effet sur l'épissage est prédict par des algorithmes bioinformatiques. Certains types de variations, comme les réarrangements structuraux (par exemple, les translocations, les inversions, etc.), les variations intégrées dans une séquence à l'architecture complexe (par exemple, les répétitions en tandem courtes), les larges insertions (> 50 pb), les CNV d'un exon ou moins et les variations en mosaïques, peuvent ne pas être détectés. Ce test ne permet pas d'identifier la localisation génomique ou l'orientation des segments dupliqués, ni d'identifier la phase de certains variants. Certaines régions chromosomiques sont dupliquées sur le génome avec une homologie d'au moins 90% sur plus de 1000 paires de bases. Ces duplications segmentales affectent la qualité de l'alignement et par conséquent la sensibilité et la spécificité analytique de détection des variants lors de l'analyse bioinformatique. Ces régions représentent moins de 0,36% de l'ensemble des régions codantes de nos profils (Tableau 2). Certaines régions chromosomiques complexes ont une profondeur de lectures plus faible en raison de limitations lors de l'étape de capture (Tableau 3). Sauf indication contraire, l'analyse des délétions/duplications n'est pas effectuée dans les régions qui ont été séquencées par Sanger et aucun test supplémentaire n'a été effectué pour évaluer les modifications génétiques de ce spécimen. Finalement, seuls les transcrits indiqués dans la liste de gènes sont analysés (Tableau 4).

TABLEAU 2 : RÉGIONS AVEC DUPLICATIONS SEGMENTAIRES

Gène	Chromosome	Début	Fin	Exon
<i>TTN</i>	chr2	178663422	178663526	172
<i>TTN</i>	chr2	178663255	178663359	173
<i>TTN</i>	chr2	178662955	178663065	174
<i>TTN</i>	chr2	178662718	178662822	175
<i>TTN</i>	chr2	178662522	178662626	176
<i>TTN</i>	chr2	178662327	178662428	177
<i>TTN</i>	chr2	178662131	178662232	178
<i>TTN</i>	chr2	178661937	178662038	179
<i>TTN</i>	chr2	178661748	178661852	180
<i>TTN</i>	chr2	178659161	178659299	181
<i>TTN</i>	chr2	178658994	178659098	182
<i>TTN</i>	chr2	178658694	178658804	183
<i>TTN</i>	chr2	178658457	178658561	184
<i>TTN</i>	chr2	178658261	178658365	185
<i>TTN</i>	chr2	178658066	178658167	186
<i>TTN</i>	chr2	178657870	178657971	187
<i>TTN</i>	chr2	178657676	178657777	188

<i>TTN</i>	chr2	178657487	178657591	189
<i>TTN</i>	chr2	178654901	178655005	190
<i>TTN</i>	chr2	178654734	178654838	191
<i>TTN</i>	chr2	178654434	178654544	192
<i>TTN</i>	chr2	178653806	178653907	195
<i>TTN</i>	chr2	178653610	178653711	196
<i>TTN</i>	chr2	178653416	178653517	197
<i>TTN</i>	chr2	178653227	178653331	198
<i>MYLK</i>	chr3	123722117	123722290	13
<i>MYLK</i>	chr3	123709745	123709903	14
<i>MYLK</i>	chr3	123708687	123708905	15
<i>MYLK</i>	chr3	123707743	123708013	16
<i>MYLK</i>	chr3	123701427	123701519	17
<i>MYLK</i>	chr3	123700504	123701015	18
<i>MYLK</i>	chr3	123700009	123700520	18
<i>FLNC</i>	chr7	128856507	128856660	44
<i>FLNC</i>	chr7	128856734	128856931	45
<i>FLNC</i>	chr7	128857107	128857346	46
<i>FLNC</i>	chr7	128857997	128858227	47
<i>FLNC</i>	chr7	128858325	128858533	48
<i>PKP2</i>	chr12	32792633	32792741	12
<i>PKP2</i>	chr12	32792413	32792502	13
<i>CACNA1C</i>	chr12	2681939	2682064	Intron 42
<i>CACNA1C</i>	chr12	2682539	2682688	43
<i>CACNA1C</i>	chr12	2685725	2685852	44
<i>CACNA1C</i>	chr12	2686155	2686279	45
<i>CALM1</i>	chr14	90403851	90403978	5
<i>CALM1</i>	chr14	90404368	90404524	6
<i>CALM1</i>	chr14	90404678	90404727	7

### TABEAU 3 : RÉGIONS CHROMOSOMIQUES COMPLEXES AYANT UNE PROFONDEUR DE LECTURES PLUS FAIBLE

Certaines régions chromosomiques complexes sont difficilement amplifiables et peuvent donc être sous la profondeur de lecture minimale visée en SNG (< 20X). Les régions ayant une couverture inférieure à 15X seront systématiquement complémentées en séquençage Sanger. Les régions ayant une couverture supérieure à 15X mais inférieure à 20X seront examinées directement sur le fichier BAM et seront complémentées par Sanger si jugé nécessaire pour leur analyse.

Gène	Chromosome	Début	Fin	Exon
<i>TGFBR1</i>	chr9	99105195	99105312	1
<i>COL5A1</i>	chr9	134642177	134642306	1
<i>KCNQ1</i>	chr11	2445088	2445299	1
<i>JPH2</i>	chr20	44160004	44160417	2
<i>HCN4</i>	chr15	73367475	73367882	1
<i>CDH2</i>	chr18	28176952	28177032	1

TABLEAU 4 : GÈNES ET TRANSCRITS ANALYSÉS

AARS2	NM_020745.4	LOX	NM_002317.7
ACTA2	NM_001613.4	MYBPC3	NM_000256.3
ACTC1	NM_005159.5	MYH11	NM_002474.3/NM_001040113.2
ACTN2	NM_001103.4	MYH7	NM_000257.4
ALPK3	NM_020778.5	MYL2	NM_000432.4
ANK2	NM_001148.6	MYL3	NM_000258.3
BAG3	NM_004281.4	MYLK	NM_053025.4
CACNA1C	NM_000719.7/NM_001167623.2	NEXN	NM_144573.4
CALM1	NM_006888.6	NKX2-5	NM_004387.4
CALM2	NM_001743.6	NRAP	NM_198060.4
CALM3	NM_005184.4	PKP2	NM_001005242.3
CASQ2	NM_001232.4	PLN	NM_002667.5
CBS	NM_000071.3	PLOD1	NM_000302.4
CDH2	NM_001792.5	PPA2	NM_176869.3
COL1A1	NM_000088.4	PPCS	NM_024664.4
COL3A1	NM_000090.4	PPP1R13L	NM_006663.4
COL5A1	NM_000093.5	PRKAG2	NM_016203.4
COL5A2	NM_000393.5	PRKG1	NM_006258.4
CSRP3	NM_003476.5	PTPN11	NM_002834.5
DES	NM_001927.4	RAF1	NM_002880.4
DMD	NM_004006.3	RBM20	NM_001134363.3
DOLK	NM_014908.4	RIT1	NM_006912.6
DPP6	NM_130797.4:c.244-141059C>T	RYR2	NM_001035.3
DSC2	NM_024422.6	SCN5A	NM_000335.5/NM_001099404.2
DSG2	NM_001943.5	SGO1	NM_001199251.3
DSP	NM_004415.4	SKI	NM_003036.4
EFEMP2	NM_016938.5	SLC2A10	NM_030777.4
ELN	NM_000501.4	SLC4A3	NM_005070.4
EMD	NM_000117.3	SMAD2	NM_005901.6
FBLN5	NM_006329.4	SMAD3	NM_005902.4
FBN1	NM_000138.5	SMAD4	NM_005359.6
FHL1	NM_001159699.2/NM_001159702.3	TAFAZZIN	NM_000116.5
FHOD3	NM_001281740.3	TBX5	NM_181486.4
FKBP14	NM_017946.4	TECRL	NM_001010874.5
FKRP	NM_024301.5	TGFB2	NM_003238.6
FKTN	NM_001079802.2	TGFB3	NM_003239.5
FLNA	NM_001110556.2	TGFBR1	NM_004612.4
FLNC	NM_001458.5	TGFBR2	NM_003242.6
GLA	NM_000169.3	TMEM43	NM_024334.3
GNB5	NM_016194.4	TNNC1	NM_003280.3
HCN4	NM_005477.3	TNNI3	NM_000363.5
JPH2	NM_020433.5	TNNI3K	NM_015978.3
JUP	NM_002230.4	TNNT2	NM_001276345.2
KCNE1	NM_000219.6	TPM1	NM_001018005.2
KCNE2	NM_172201.2	TRDN	NM_006073.4/ NM_001256021.1/ NM_001256022.1
KCNH2	NM_000238.4	TRIM63	NM_032588.4
KCNJ2	NM_000891.3	TRPM4	NM_017636.4
KCNQ1	NM_000218.3	TTN	NM_001267550.2/NM_001256850.1
LAMP2	NM_002294.3	TTR	NM_000371.4
LMNA	NM_170707.4/NM_005572.4	VCL	NM_014000.3

**POLITIQUE DE RÉVISION ET DE RECLASSIFICATION DES VARIANTS:**

La plateforme de génomique du CHU de Québec peut réviser la classification d'un variant à tout moment selon les données disponibles. Le laboratoire ne peut garantir la révision systématique de tous les variants de signification clinique incertaine et probablement pathogéniques qui sont rapportés. Le laboratoire encourage les médecins traitants et conseillers(ères) en génétique à communiquer avec nous afin de vérifier l'évolution du statut d'un variant particulier dans le temps. Dans le cas où une révision entraîne la modification de la classification d'un variant, le laboratoire émettra un nouveau rapport afin d'en aviser le clinicien. La classification des variants est faite selon les recommandations de l'American College of Medical Genetics and Genomics et de l'Association for Molecular Pathology (ACMG et AMP) (PMID: 25741868, 2015), ainsi que selon les recommandations revues et adaptées par les groupes d'experts ClinGen lorsque disponibles.