



**SOCIÉTÉ DE PHARMACIE DE LYON**

*Acteur de communication sur la santé  
et le médicament*

# Le séquençage du génome humain à des fins médicales

**Pr C Vinciguerra**

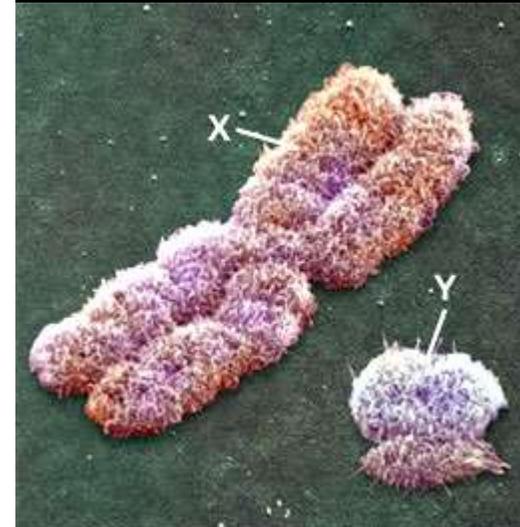
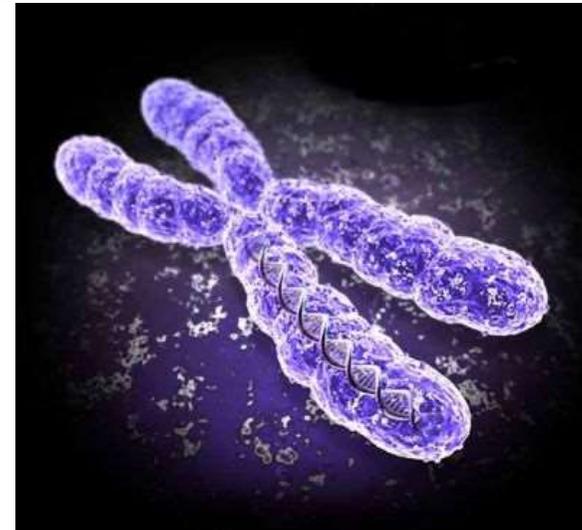
**Carole Ferraro-Peyret Pr Damien Sanlaville**

**Conférence du 29 septembre 2022**



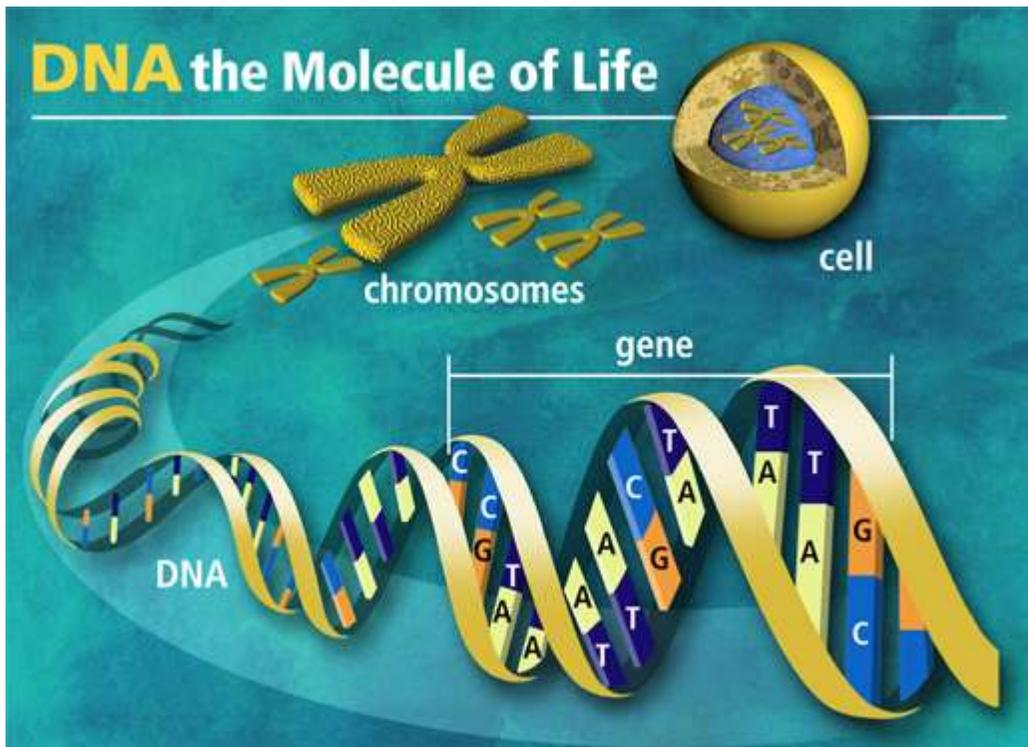
# Génome: notions générales

- **Contient toute l'information génétique d'un individu**
- **Chromosomes:**
  - 46 chromosomes
    - 22 autosomes
    - 2 chromosomes sexuels
      - XX pour les femmes
      - XY pour les hommes



# Génome: notions générales

- Composés de l'ADN sous forme compactée (chromosomes)



- Chromosomes: Etudiés par technique de cytogénétique (caryotype)

# ADN: notions générales

- **ADN= acide désoxy-ribonucléique**, découvert par James Watson, Francis Crick, Maurice Wilkins et Rosalind Franklin.
- **Structure = double hélice avec 2 brins complémentaires**



# ADN: notions générales

- **Composé d'un enchainement de bases**
- **Chaine de 3 milliards d'unités = bases:**
  - « bibliothèque »
    - 46 **chromosomes** = « livres »
    - **Gènes** = unité de fabrication d'une protéine = « chapitre »
    - « Phrases » (**exons**)



# ADN: notions générales

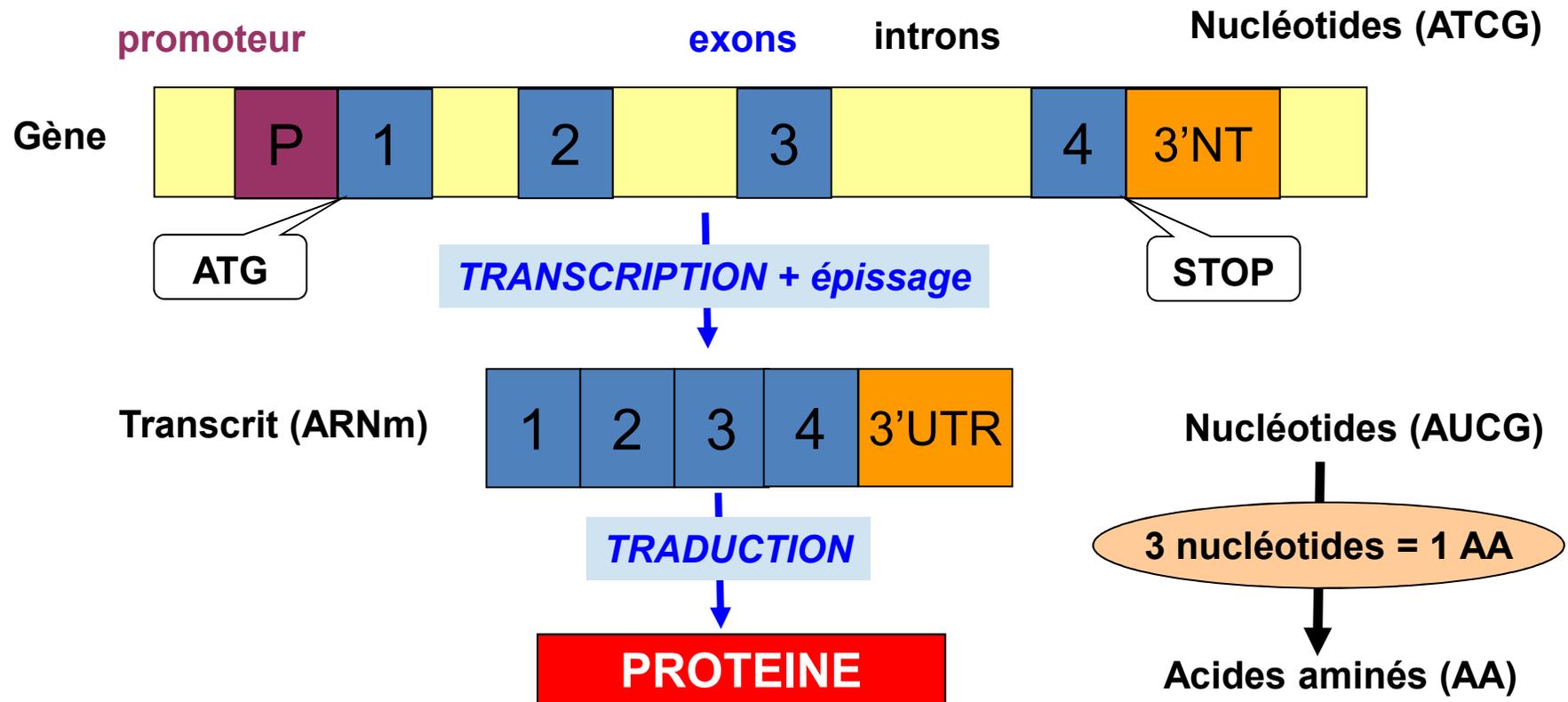
- **Gène= unité de fabrication d'une protéine**

**Environ 21 000 gènes dans le génome humain (5% du génome)**

- **Structure d'un gène:**
  - **Promoteur: initiateur de la lecture du gène**
  - **Exons: parties impliquées dans la synthèse de la protéine via la synthèse d'ARN**
  - **Introns: régions encore mal connues, contenant des régions de régulation du gène**

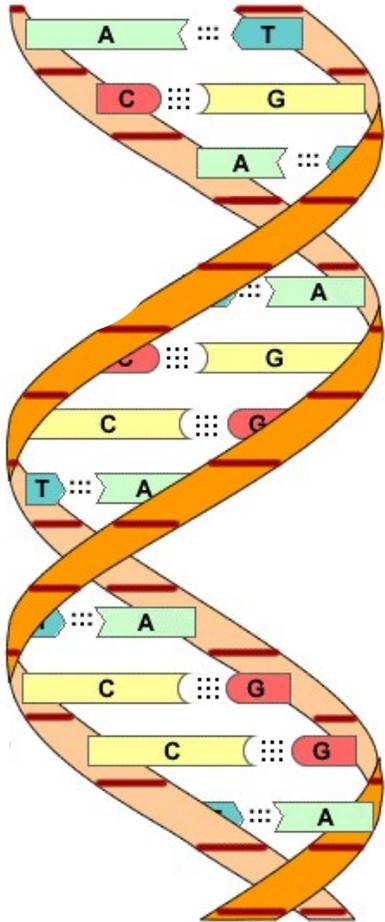
# GENE

- Gène = unité de codage pour une protéine



*3 nucléotides = triplet = codon*

# ADN: notions générales



- **Alphabet = de 4 « lettres »: A (adénine), T (thymine), G (guanine), C (cytosine)**
- **Syntaxe = triplet: mot de 3 lettres**  
↔ **consignes de fabrication d'une protéine**
  - ATG = « au travail »
  - CCA = ajoute une proline
  - GTT = ajoute une valine
  - TGA = « NON » = « travail fini »
- **Gène = ensemble de consignes permettant à la cellule de fabriquer correctement des protéines (briques de l'organisme)**
  - Si erreur dans la consigne ⇒ fabrication altérée

# SEQUENCAGE DE L'ADN

- **Lecture des bases composant le génome**

=> repérer les anomalies génétiques (variants) :

- ***Variants non pathogènes*** = polymorphismes expliquant la variabilité génétique
- ***Variants pathogènes*** = responsables d'une pathologie
- ***Variants « ponctuels »*** = anomalie sur 1 ou quelques bases
- ***Variants de structure*** = anomalie de grande taille

# SEQUENCAGE DE L'ADN

- Depuis quand ? Human Genome Project et Celera Genomic (années 2 000) => connaissance de 95% de l'ADN

⇒ Avancées technologiques énormes depuis 20 ans

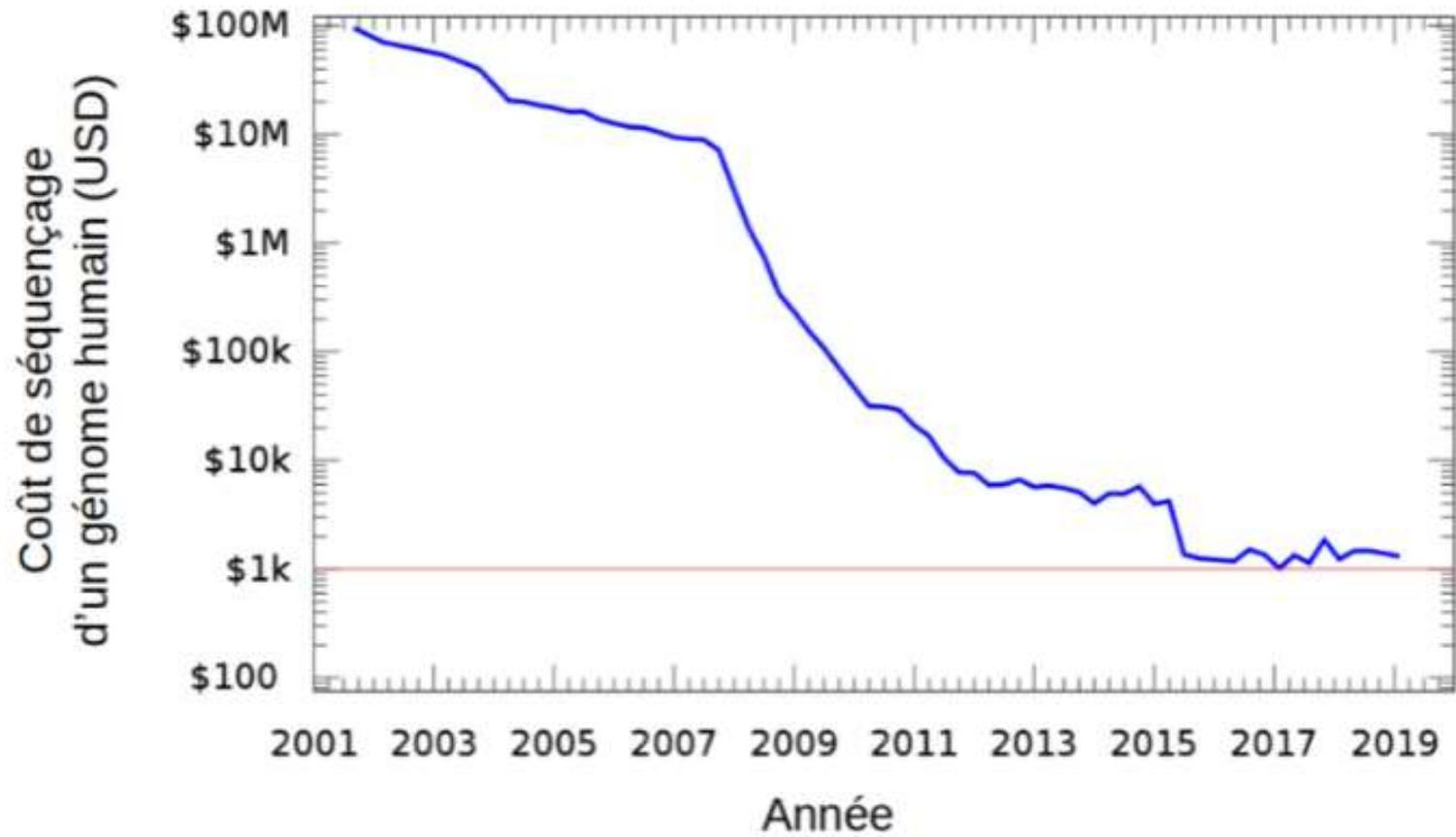
**HGP / 2001** : 13 ans – 3 milliards \$

**2009**: 200 000 \$

**2015**: 1 000 \$

# SEQUENCAGE DE L'ADN

- **Techniques**
  - **Manuelle : technique de Sanger (1977)**
  - **Automatisation de la technique Sanger (années 2000) = séquenceurs automatiques**
  - **NGS: new generation sequencing = changement total de méthode permettant de séquencer très rapidement l'ADN**



Source : adapté de Stephens et coll., 2015, CC BY, [PLOS Biology](https://doi.org/10.1371/journal.pbio.1004191)

# SEQUENCAGE DE L'ADN

- Depuis quand= Human Genome Project et Celra Genomic = années 2 000 => connaissance de 95% de l'ADN

⇒ Avancées technologiques énormes depuis 20 ans

HGP / 2001 : 13 ans – 3 milliards \$

2009: 200 000 \$

2015: 1 000 \$

**Question d'une nouvelle approche médicale par connaissance de la séquence d'ADN = médecine génomique**

## POURQUOI SEQUENCER L'ADN ?

- **Diagnostic de maladies génétiques / maladies rares (MR) = limiter l'errance diagnostic**

**7000 maladies rares / 3 millions de personnes**

- **Cancers (KC): optimiser la prise en charge**
- **Maladies communes, ayant des déterminants génétiques (facteurs de prédisposition => association de facteurs ⇔ profils de réponse aux traitements)**

# POURQUOI SEQUENCER L'ADN ?

- **Diagnostic de maladies génétiques / maladies rares**
  - **Mettre un nom sur la maladie**
  - **Pouvoir délivrer un conseil génétique à la famille**
  - **Meilleure compréhension des pathologies (découverte de l'implication de nouveaux gènes)**
  - **Recherche sur des nouvelles thérapeutiques**

# NOUVEAUTES THERAPEUTIQUES

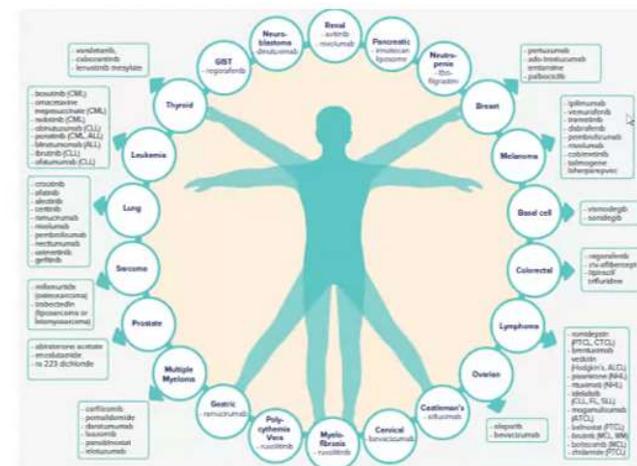
- **Syndrome de CLOVES: maladie avec hyper-croissance, malformations vasculaires...**
- **Anomalie de la voie PIK3CA**
- **Une pharma développait une molécule anti PIK3CA**
- **Réussite sur plusieurs patients**



# POURQUOI SEQUENCER L'ADN ?

- **Cancers**
  - Poser le diagnostic = « empreinte génétique » de certains KC
  - Evaluer le pronostic du patient
  - Déterminer la sensibilité de la tumeur face à des traitements

Depuis 2010,  
>100 nouveaux médicaments en oncologie



Source: IMS Health, MIDAS, Lifecycle, R&D Focus, IMS Institute for Healthcare Informatics, Dec 2015

# Intérêt théranostique

⇒ Aider à la prise en charge thérapeutique  
(choisir une thérapie, évaluer la réponse au traitement)

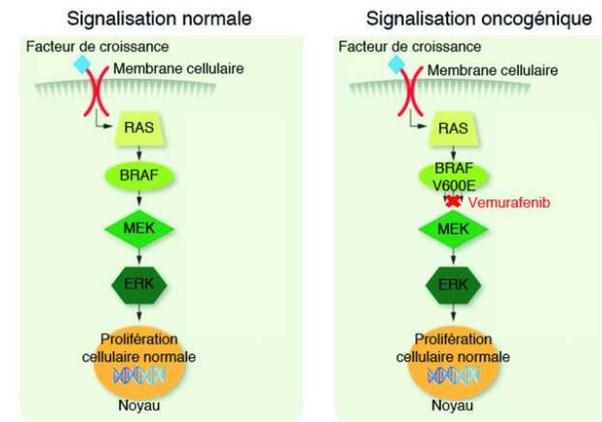
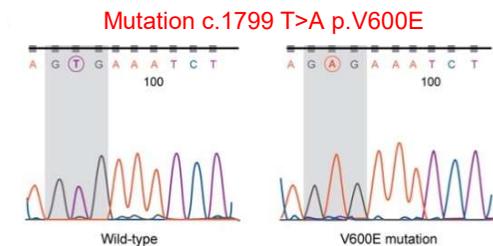
## Exemple : Mélanome

Activation la cascade de signalisation = « **mutation driver** » (dépendance du cancer à un signal oncogénique)

⇒ **Thérapie ciblée** : molécule inhibant la cascade oncogénique sous la kinase BRAF

Ex: Inhibiteur de Braf V600E : Vemurafenib

Mutation V600E de BRAF (exon 15)



# STRATEGIES DU SEQUENCAGE

- Différentes selon les domaines MR ou KC
- Les questions sont différentes:
  - *On cherche un à 2 variants pathogènes / MR*
  - *On trouve plein de variants dans les KC => repérer ceux qui ont un intérêt pour le patient*

# STRATEGIES DU SEQUENCAGE MR

- **Maladies monogéniques** = on séquence le gène impliqué

Exemple: Hémophilie A / gène du facteur VIII

- **Maladies polygéniques** = on repère les gènes impliqués et
  - *panel* composés de ces gènes connus impliqués = mais on ne trouve pas toujours un variant responsable
  - Séquençage des exons = **exome** (**whole exome sequencing WES**)= tous les exons (parties codantes) de tous les gènes
  - Séquençage de l'ensemble du génome = **whole genome sequencing (WGS)**

**Matériel : échantillon sang patient + parents**

# STRATEGIE DU SEQUENCAGE CANCERS

- **Cancers**= on séquence la tumeur et le sang du patient
- **Stratégies :**
  - *panel* composés des gènes impliqués dans des thérapies ciblées
  - Séquençage des exons = *exome (whole exome sequencing WES)*= tous les exons (parties codantes) de tous les gènes
  - Séquençage des ARN (transcrits) = *RNA seq*
  - Séquençage de l'ensemble du génome = *whole genome sequencing (WGS)*

## En France ?

### Plan France Médecine Génomique 2025

- Répond à la demande du Premier ministre **Manuel Valls**
- Rapport demandé à l'Alliance **Aviesan** en avril 2015 afin d'examiner la mise en place, et la prospective sur **10 ans**, des conditions de l'accès au **diagnostic génétique** dans notre pays.
- Programme de génomique lancé
  - en 2012 en Angleterre (100 000 génomes)
  - en 2014 aux Etats Unis et en Chine
- Rapport remis par le **Pr Levy le 22/6/2016**



# Objectifs du PFMG 2025

- **Positionner la France sur la médecine personnalisée**
- **Intégrer la médecine génomique dans le parcours de soin**  
En 2020 : 235 000 génomes par an.
- **Filière nationale de médecine génomique**: innovation, valorisation industrialisation.
- Sans oublier la partie **éthique**

## 3 champs d'application :

Maladies rares

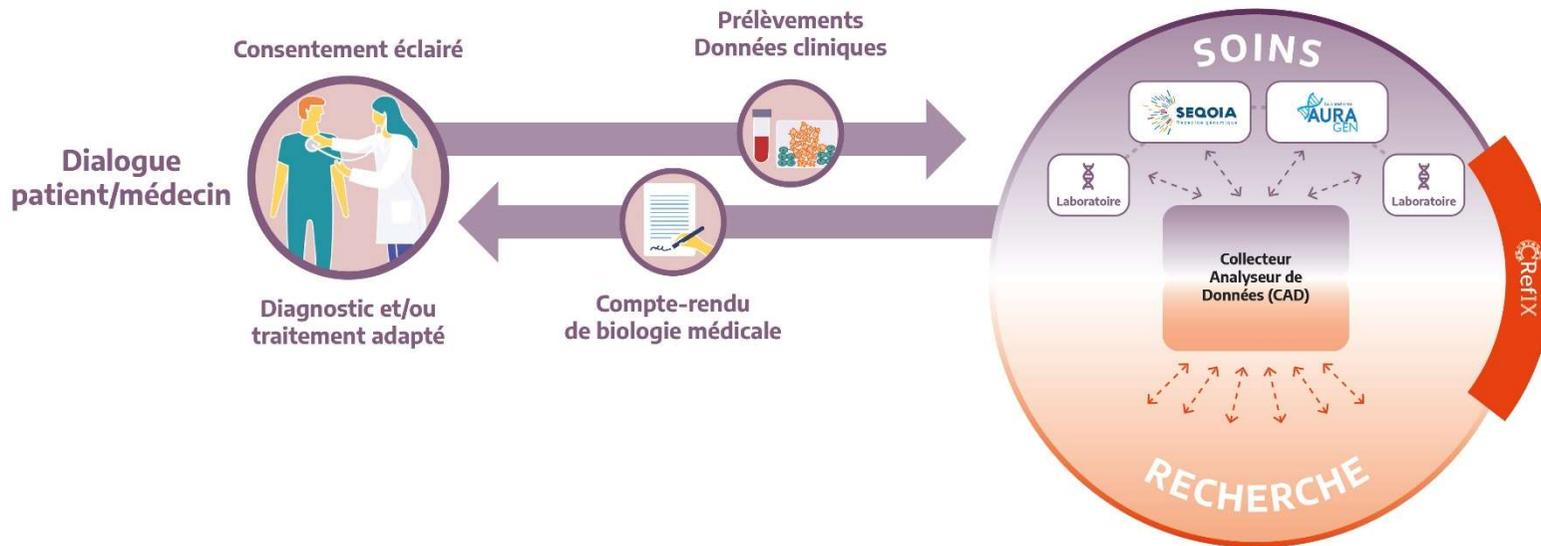
Cancer

Maladies communes  
(diabète, hypertension,...)

## Objectifs du PFMG 2025

- Estimation des besoins : environ **235 000 séquences de génomes** par an en 2020
- **20 000 patients** atteints de **maladies rares** et leurs familles
  - environ 60 000 génomes : stratégie en trio
- **50 000 patients** prioritaires car atteints de **cancers** métastatiques/réfractaires au traitement (environ 175 000)

## L'ORGANISATION GLOBALE DU PFMG2025



### ACTIONS TRANSVERSALES

-   
**Ethique, réglementaire et société**
-   
**Evaluation médico-économique**
-   
**Formation**
-   
**Filière industrielle**
-   
**Communication**
-   
**International**
-   
**Projets « pilotes »**

# PFMG 2025

## LE PLAN FRANCE MÉDECINE GÉNOMIQUE 2025 :

### 3 OBJECTIFS – 14 MESURES

- I. METTRE EN ŒUVRE LES INSTRUMENTS DU PARCOURS DE SOIN GÉNOMIQUE**
- II. ASSURER LA MISE EN ŒUVRE OPÉRATIONNELLE ET LA MONTÉE EN PUISSANCE**
- III. METTRE EN ŒUVRE LES OUTILS DE SUIVI ET DE PILOTAGE**

**Soutien de l'état =670 M€ sur 10 ans**

# 3 OBJECTIFS – 14 MESURES

## I- METTRE EN ŒUVRE LES INSTRUMENTS DU PARCOURS DE SOIN GÉNOMIQUE

**Mesure** ① Création d'un réseau de plateformes de séquençage très haut débit.

**Mesure** ② Création d'un « collecteur Analyseur de Données » (CAD) pour traiter et exploiter le volume de données généré

**Mesure** ③ Permettre l'intégration et l'exploitation des données patients dans la parcours de soin

## II - ASSURER LA MISE EN ŒUVRE OPÉRATIONNELLE ET LA MONTÉE EN PUISSANCE

**Mesure** ④ Mettre en place un centre de référence, d'innovation, d'expertise et de transfert (CREFIX)

**Mesure** ⑤ Lever les verrous technologiques, cliniques et réglementaires rencontrés sur le parcours

**Mesure** ⑥ Mettre en place un dispositif d'évaluation et de validation des nouvelles indications d'accès au diagnostic génomique.

**Mesure** ⑦ Disposer des nouvelles compétences et des personnels capables de relever le défi de l'exploitation et de l'interprétation des données.

**Mesure** ⑧ Garantir un parcours sécurisé et de qualité

## III - METTRE EN ŒUVRE LES OUTILS DE SUIVI ET DE PILOTAGE

**Mesure** ⑨ Mobiliser les acteurs industriels autour du projet

**Mesure** ⑩ Orienter les activités des acteurs de la filière en fonction des problématiques industrielles posées par le parcours de soin génomique

**Mesure** ⑪ Assurer un suivi à l'échelle internationale du champ de la médecine génomique

**Mesure** ⑫ Mettre en œuvre un programme dédié aux aspects médico-économiques

**Mesure** ⑬ Organiser l'information, la consultation et l'implication des acteurs de la société concernés

**Mesure** ⑭ Gouvernance du plan

# 3 OBJECTIFS – 14 MESURES

## I- METTRE EN ŒUVRE LES INSTRUMENTS DU PARCOURS DE SOIN GÉNOMIQUE

**Mesure** ① Création d'un réseau de plateformes de séquençage très haut débit.

**Mesure** ② Création d'un « collecteur Analyseur de Données » (CAD) pour traiter et exploiter le volume de données généré

**Mesure** ③ Permettre l'intégration et l'exploitation des données patients dans la parcours de soin

## II - ASSURER LA MISE EN ŒUVRE OPÉRATIONNELLE ET LA MONTÉE EN PUISSANCE

**Mesure** ④ Mettre en place un centre de référence, d'innovation, d'expertise et de transfert (CREFIX)

**Mesure** ⑤ Lever les verrous technologiques, cliniques et réglementaires rencontrés sur le parcours

**Mesure** ⑥ Mettre en place un dispositif d'évaluation et de validation des nouvelles indications d'accès au diagnostic génomique.

**Mesure** ⑦ Disposer des nouvelles compétences et des personnels capables de relever le défi de l'exploitation et de l'interprétation des données.

**Mesure** ⑧ Garantir un parcours sécurisé et de qualité

## III - METTRE EN ŒUVRE LES OUTILS DE SUIVI ET DE PILOTAGE

**Mesure** ⑨ Mobiliser les acteurs industriels autour du projet

**Mesure** ⑩ Orienter les activités des acteurs de la filière en fonction des problématiques industrielles posées par le parcours de soin génomique

**Mesure** ⑪ Assurer un suivi à l'échelle internationale du champ de la médecine génomique

**Mesure** ⑫ Mettre en œuvre un programme dédié aux aspects médico-économiques

**Mesure** ⑬ Organiser l'information, la consultation et l'implication des acteurs de la société concernés

**Mesure** ⑭ Gouvernance du plan

## PLATEFORMES PFMG 2025

- **Appel à projet en 2016** pour mise en place de plateformes de séquençage très haut débit (STHD)
- **Critères pour évaluer les dossiers**
  - Projet national
  - Cancers et maladies rares
  - Partenariat public / privé
  - Tenir compte du CREFIX et du CAD
  - Evaluation médico-économique
  - Enseignement / formation
  - Ethique



**Labellisation de 2 laboratoires de Biologie médicale – France médecine génomique (LBM-FMG)**

# PFMG 2025

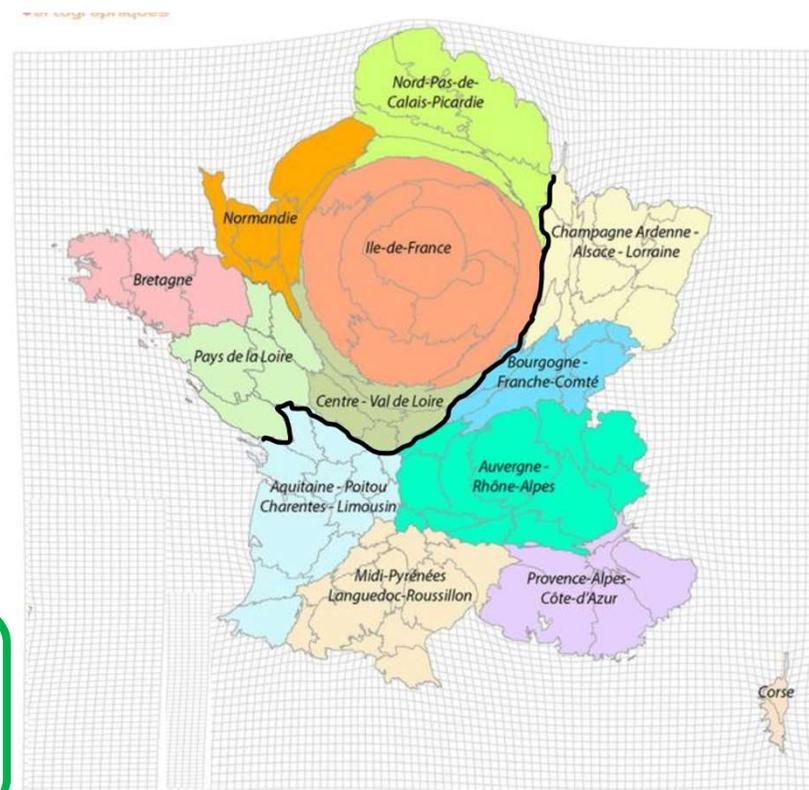
## 2 plateformes labellisées



- Ile-de-France, Bretagne, Pays de la Loire, Normandie, Hauts de France, Centre Val de Loire



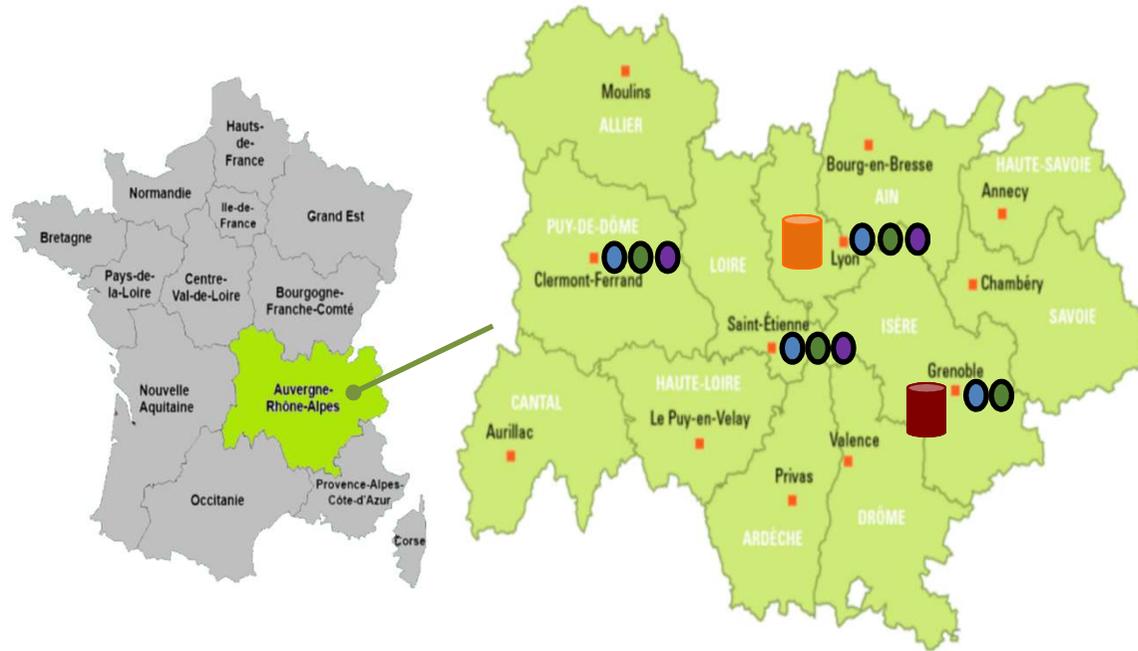
- Auvergne Rhône Alpes, Bourgogne Franche Comté, Grand Est, Languedoc Roussillon, Nouvelle Aquitaine, Occitanie, Provence Alpes Côte d'Azur, Corse, **Outre-Mer**



**Objectif = 18 000 génomes par an**



Auvergne Rhône Alpes  
Genomique



Consortium

GCS (HCP)

Partenaires

Infrastructures

-  Hôpital : Clermont-Ferrand, Grenoble, Lyon, Saint-Etienne
-  CLCC-IC: Centre Léon Bérard, Centre Jean Perrin, Inst. Cancérologie Loire
-  Universités : Clermont-Ferrand, Grenoble, Lyon, Saint-Etienne, Ecole de Mines, Synergie Lyon Cancer
-  Centre de séquençage: HCL / Industry (tbd)
-  Centre de calcul: CHU Grenoble-Alpes / Industry (tbd)

# LISTES DES PATHOLOGIES ETUDIEES

- **Maladies rares**

Synergie avec les différents plans Maladies Rares mis en place en France définissant:

- Un maillage territorial de centres de références et de compétences pour une équité de prise en soin en France
- Centres de références et de compétences regroupées au sein de filières de soins



- Propositions des filières de pathologies (ou groupes de pathologies) => analyses des demandes par HAS => **liste de pré-indications**

# LISTES DES PATHOLOGIES ETUDIEES

- **Cancer**

Synergie L'INCA (Institut National du Cancer):



- Un maillage territorial pour une équité de prise en soin en France
- Propositions pour des cancers ou types de cancers => analyses des demandes par HAS => **liste de pré-indications**

# PRE INDICATIONS PRE SELECTIONNEES / 1<sup>ère</sup> vague PAR LA HAS

Pré-indication	Nombre patients prévus/an	FSMR
Maladies osseuses constitutionnelles	600	OSCAR
Maladies mitochondriales d'une particulière gravité	360	FILNEMUS
Anomalies sévères de la différenciation sexuelles d'origine gonadique et hypothalamo-hypophysaire	60	FIRENDO
Insuffisance ovarienne primitive	90	FIRENDO
Maladies héréditaires du métabolisme avec profil biochimique atypique	900	G2M
Néphropathie chronique d'origine indéterminée	300	ORKID
Maladies inflammatoires et autoimmunes monogéniques	150	FAI <sup>2</sup> R
Cardiomyopathie dilatée familiale	300	Cardiogen
Leucodystrophies	150	BrainTeam

## PRE INDICATIONS PRE SELECTIONNEES / 1<sup>ère</sup> vague PAR LA HAS

Pré-indication	Nombre	
Cancer pédiatrique	400	« INCA »
Patients atteints de cancers dans un contexte d'antécédents familiaux sévères	50	GGC
Oncogénétique: cas extrêmes sporadiques	50	GGC

# LISTES DES PRE-INDICATIONS

**3 vagues de pré-indications:**

Maladies rares

Cancer

Maladies communes  
(diabète, hypertension,...)

**60 pré-indications**

**10 pré-indications**

**Dans un  
second  
temps**

**2 pré-indications en onco-génétique**

# CIRCUIT

- Consultation médicale
- Validation par réunion de concertation pluridisciplinaire (RCP)

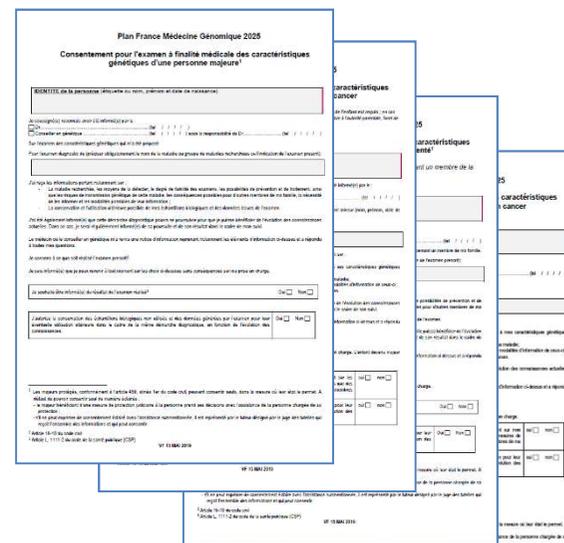
- Consentement éclairé

## INFORMATION ET CONSENTEMENT

Deux notices d'information à remettre aux patients



Consentements adaptés à chaque situation



# CIRCUIT

- Consultation médicale
- Validation par réunion de concertation pluridisciplinaire (RCP)
- Consentement éclairé
- **Prélèvement du patient / apparentés**
  - **Patient avec MR= étude du cas index + ses parents (trio)**
  - **Patient avec cancer= patient (sang et tumeur congelée)**

# CIRCUIT

- Par le médecin sur plateforme de prescription

Validation de la prescription

- Prélèvements
- Envoi des prélèvements

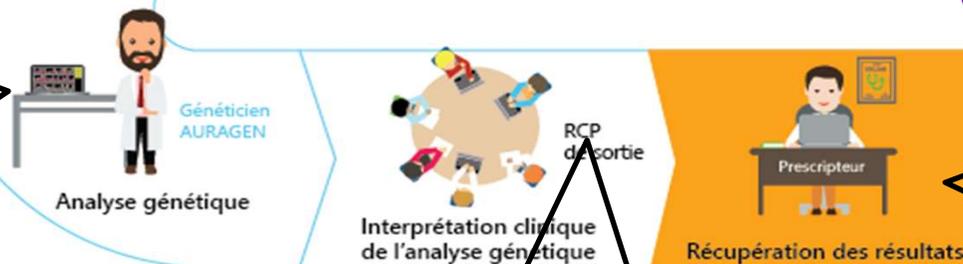


Analyses Bio-informatiques :



- Réception
- Qualification (cancer)
- Validation des échantillons
- Préparation des ADN
- Séquençage

Interprétation des résultats  
Génération d'un compte rendu

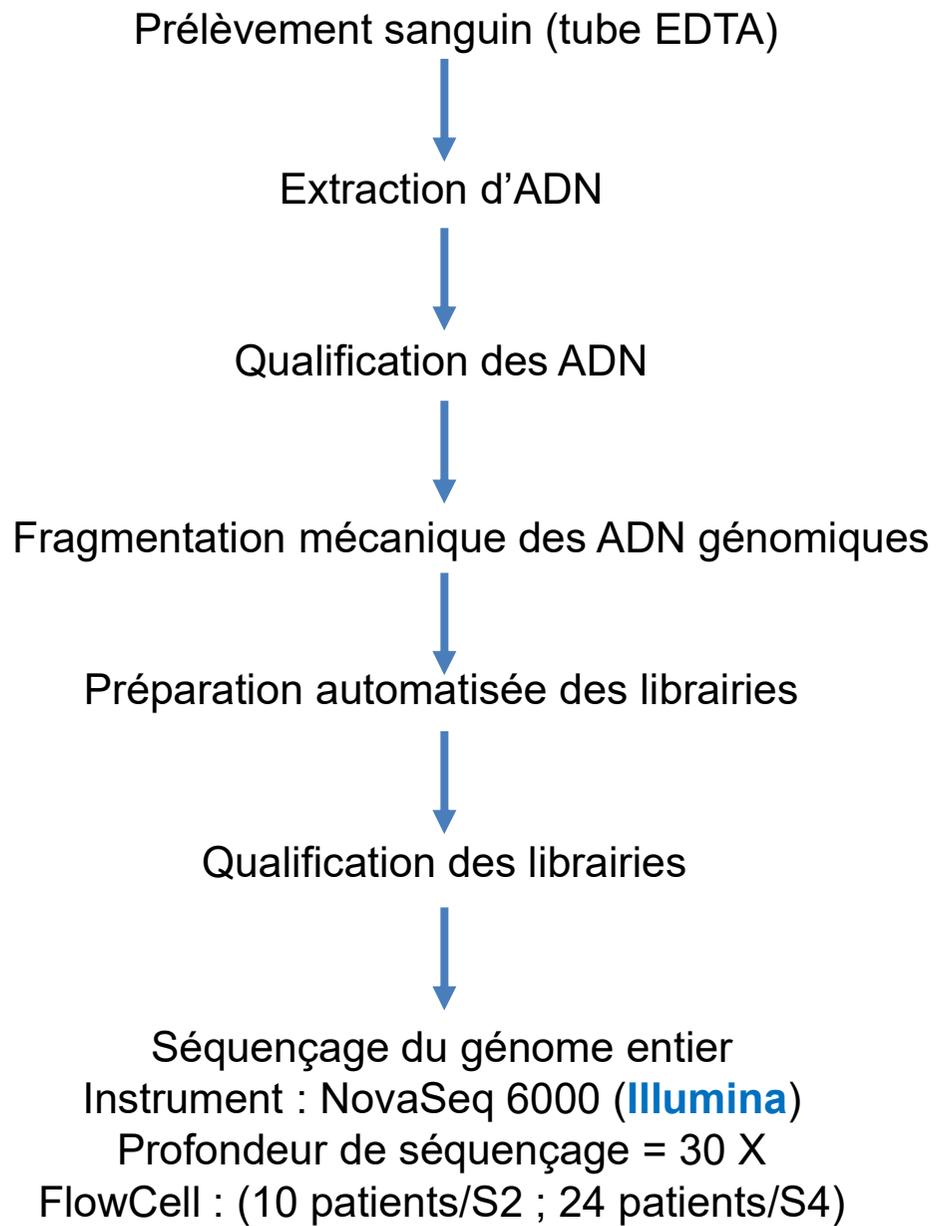


Revue et discussions des résultats

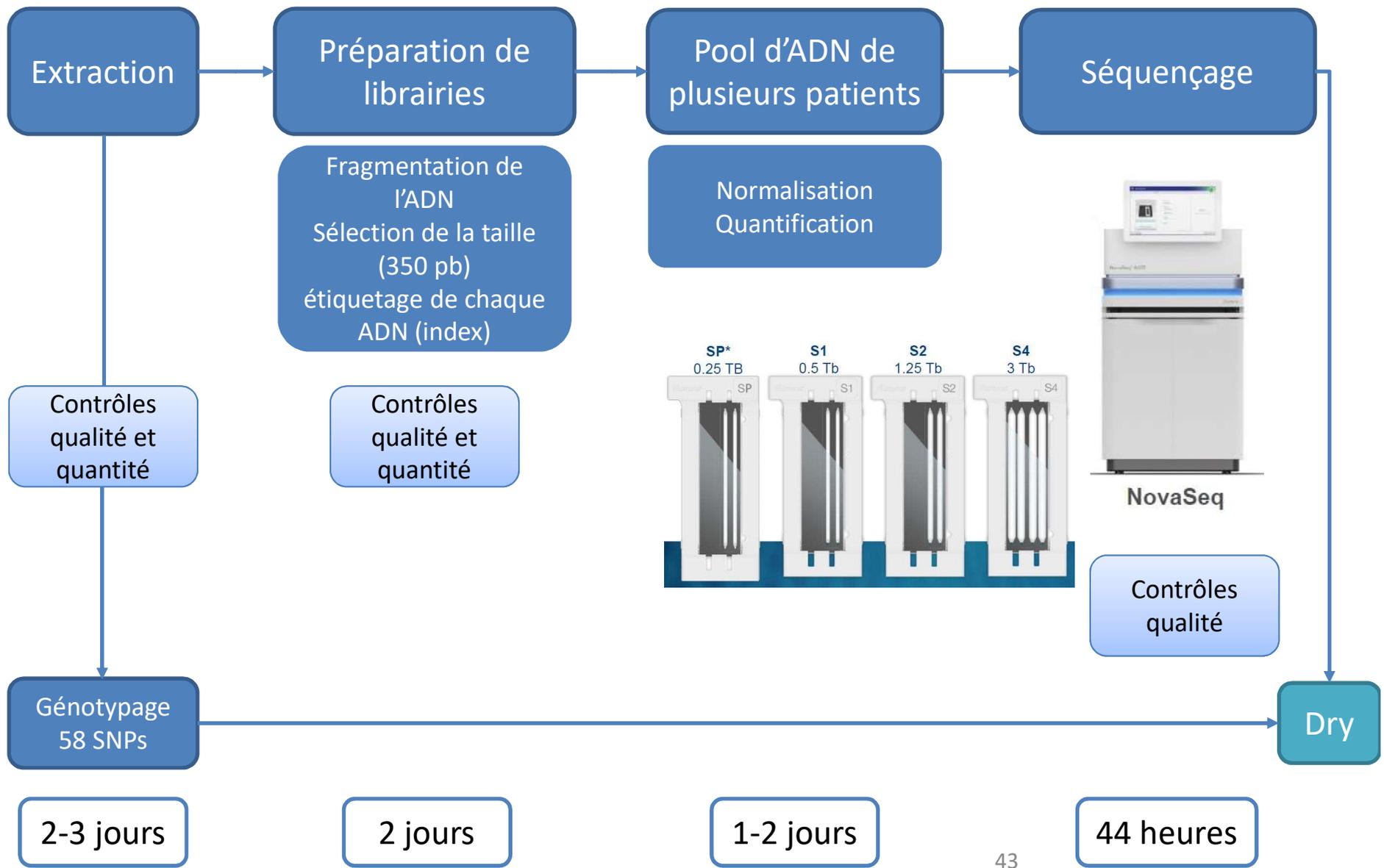
Restitution du compte rendu pour prise en soin

# ANALYSES

- **ANALYSES REALISES:**
  - **Whole genome sequencing (WGS)= *MR, OG et KC***
    - Profondeur 30x pour MR, 60x pour KC
  - **RNAseq et exome (WES): *KC***
    - Profondeur RNAseq : 120 millions reads attendus
    - Profondeur exome: 200 x



**Identito-vigilance**



# ANALYSES suite

- **BIOINFORMATIQUE**
  - Données transférées sur un espace de stockage HDS
  - **Pipelines bioinformatiques:** spécifiques MR/OG ou KC =
    - reconstitution des séquences par patient (démultiplexage)
    - alignement avec séquence de référence
    - appel de variants (élimination des polymorphismes)
    - annotation des variants
  - **Production d'un rapport de synthèse** (AURApport) avec variants les plus probablement délétères
  - 1 à 4 semaines de traitement

# ANALYSES suite

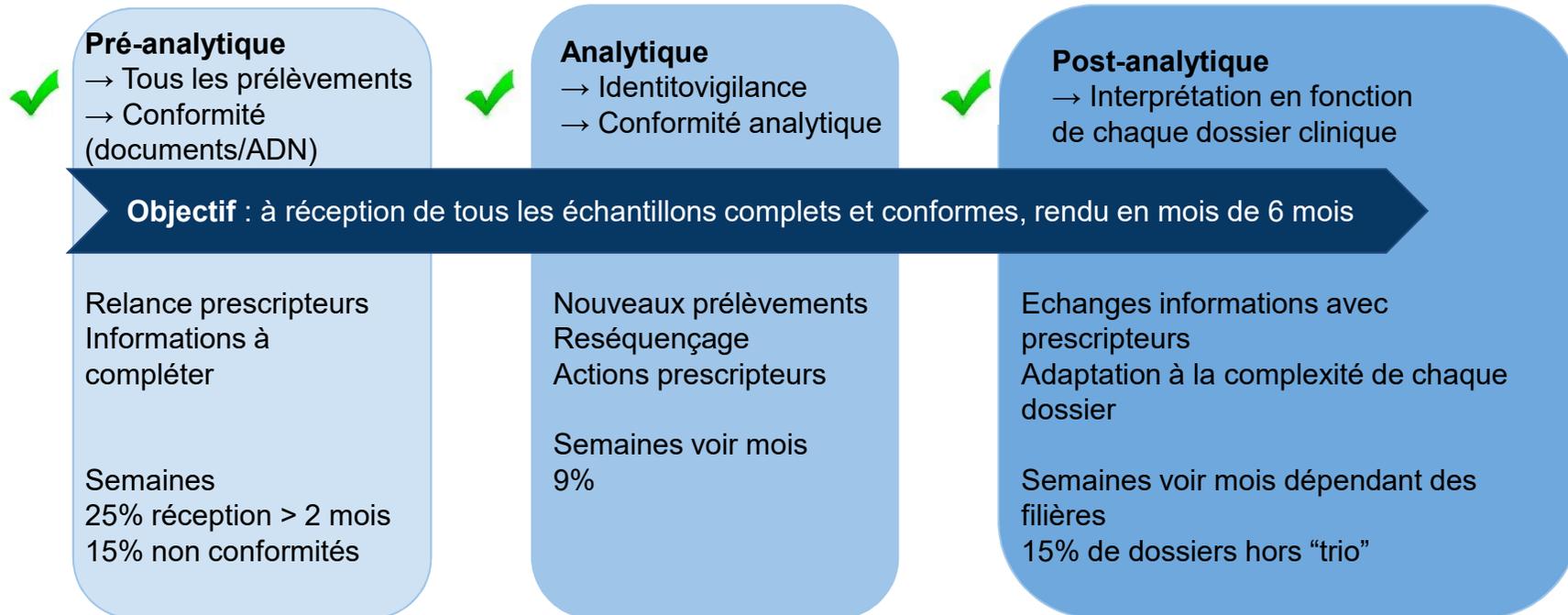
- **INTERPRETATION**

- **Par biologistes**

- Par pré-indication (compétence par types de pathologies)
    - En équipe / confrontation des avis
    - Outils informatique de "fouille" de variants
    - Rendu d'un CR
      - concluant (si variant délétère caractérisé) ou
      - non conclusif (si pas de variant ou variant de signification inconnue)
    - Possibilité dans l'avenir de ré-analyser les données

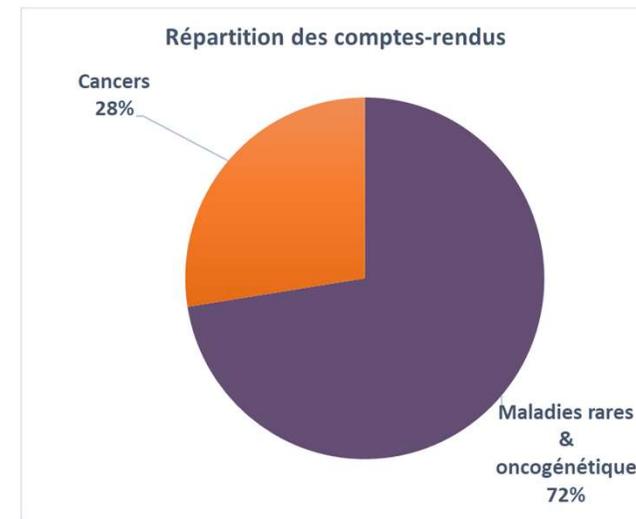
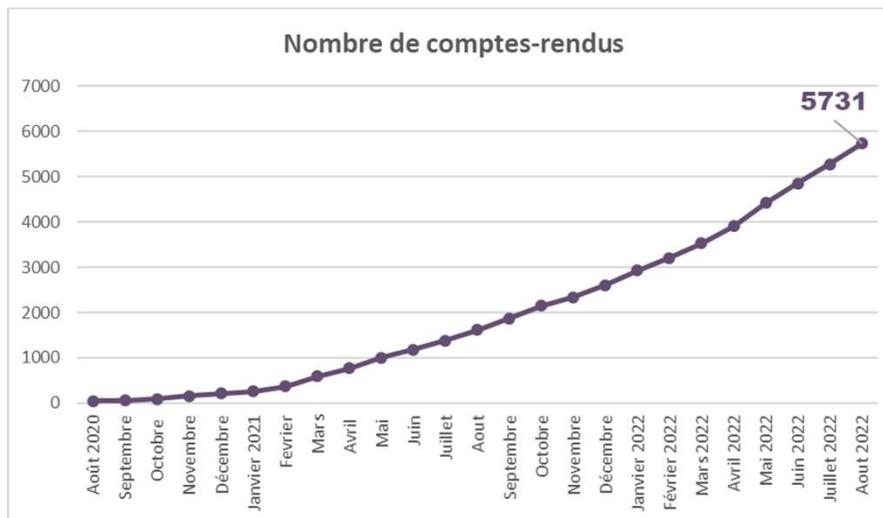
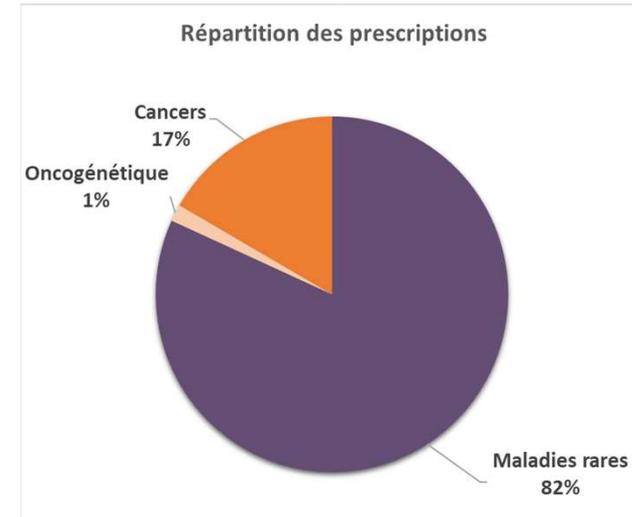
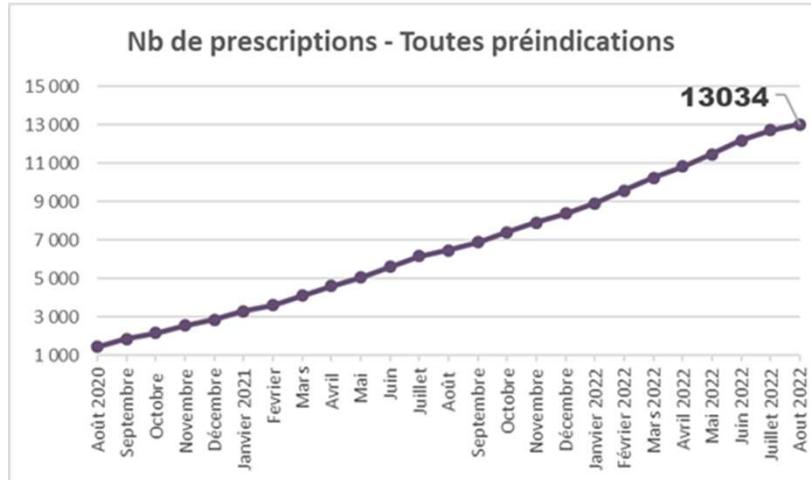


# Déroulé des processus



	2019	2020	2021
Nombre de dossiers complets et conformes	19	551	1703
Délai médian de rendu (en jours)	565	310	204

## BILAN D'ACTIVITÉ AU 1<sup>ER</sup> SEPTEMBRE 2022



# PREINDICATIONS MAJORITAIRES

- **Syndromes malformatifs**
- **Déficience intellectuelle**
- **Dystrophies rétinienne**
- **Cancers rares**
- **Néphropathies**
- **Surdités précoces**
- **Cancers pédiatriques**
- **Malformations cérébrales**
- **Epilepsies**
- **Maladies osseuses**

# PRATIQUEMENT



# PRATIQUEMENT



# PRATIQUEMENT



# LOI DE BIOETHIQUE

- **Nouvelle loi en août 2021**
- **Possibilité d'étudier une personne décédée si intérêt pour la famille**
- **Données secondaires et incidentes**
  - **Secondaires= variants responsables de pathologies à révélation plus ou moins tardives**
  - **Incidentales: trouvées incidemment lors de l'analyse du génome**

**Décrets d'application en cours**

## ET APRES ?

- **Et la recherche dans tout cela ?**

## LES 4 PROJETS PILOTES DANS LE CADRE DE LA RECHERCHE

### DEFIDIAG

#### Déficiência intellectuelle

Comparer le % de diagnostics obtenus par séquençage à très haut débit et par la stratégie de référence.

- **1275** trios inclus (100 % des inclusions)

### MULTIPLI

#### Sarcomes des tissus mous

Evaluer la faisabilité du séquençage à très haut débit et si les traitements guidés par séquençage améliorent la survie des patients.

- **261** patients randomisés
- **10** thérapies ciblées disponibles dans l'essai

### POPGEN

#### Population générale

Fournir une référence sur les fréquences des variants génétiques dans la population française.

- **10232** participants de la cohorte Constances inclus (100% des inclusions)
- **9772** participants avec génotypage. 4000 WGS prévus

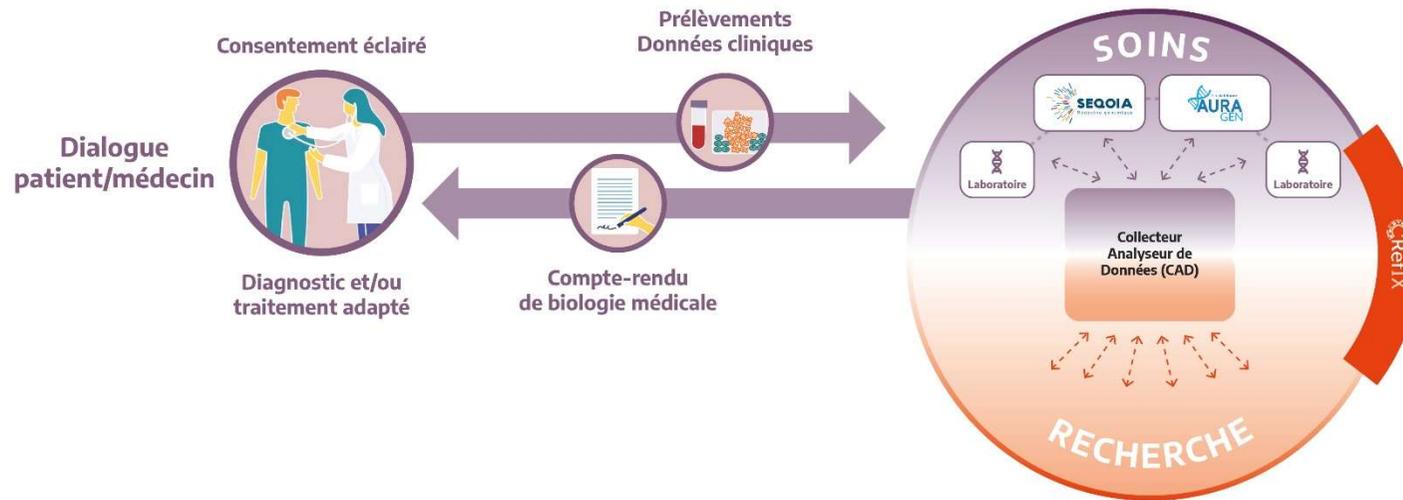
### GLUCOGEN

#### Formes atypiques du diabète

Évaluer l'apport du séquençage à très haut débit et d'une prise en charge multidisciplinaire sur le diagnostic et la prise en charge.

- En cours de préparation

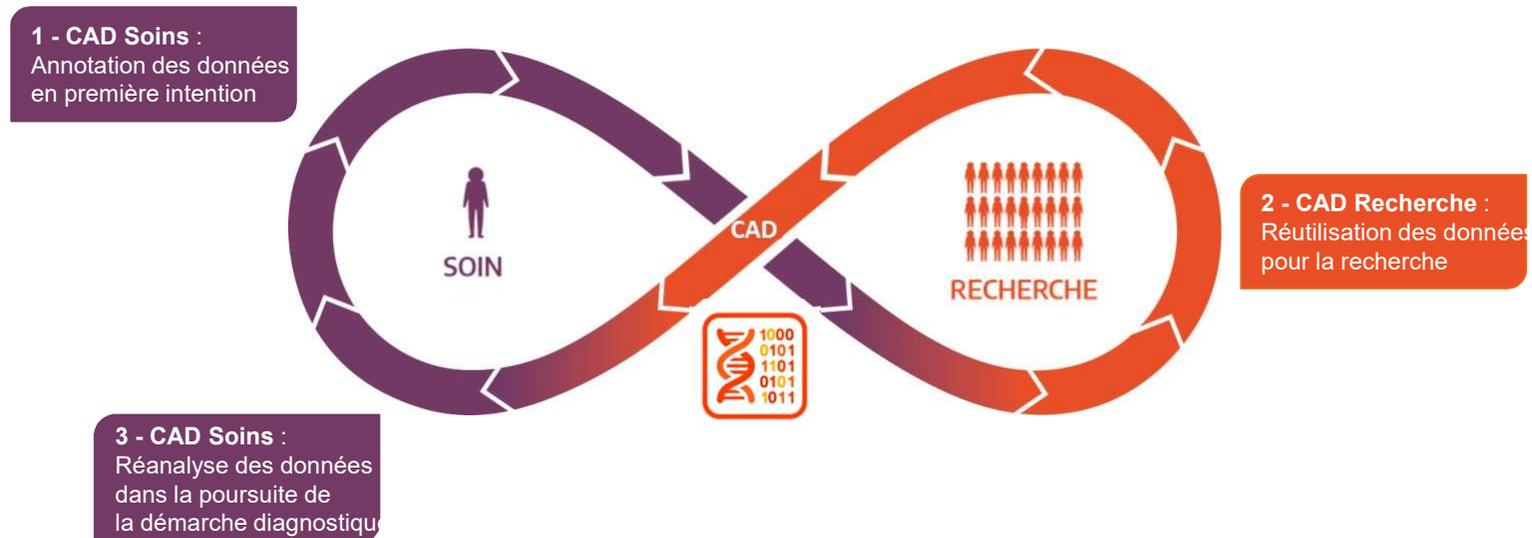
## L'ORGANISATION GLOBALE DU PFMG2025



### ACTIONS TRANSVERSALES



## CAD : CONTINUUM SOIN - RECHERCHE



**SOIN** : améliorer le diagnostic et la prise en charge des patients sur la base des connaissances générées par la recherche

**RECHERCHE** : accélérer la recherche par la réutilisation des données PFMG2025

# CONCLUSIONS

- **Enjeux multiples**
  - **Soin ⇔ médecine génomique**
  - **Recherche**
  - **Technologique**
    - **Techniques de séquençage= short reads / long reads**
    - **Bio informatique / gestion de « big data »**
  - **Ethiques**
  - **Sociétaux**

