

Analyse Exomes ???

Dr. Thomas Steimlé


Août 2021

Laboratoire d'oncohématologie de l'hôpital Necker

- Dans les ??? , identifier des gènes d'intérêts à inclure dans un panel NGS ciblé.

N = 11 couples normal/tumoral (FFPE).

Les prélèvements tumoraux ont été qualifiés en anapath (???) et en CG ().

Case	 Infiltration	Commentaire
???02	60%	
???05	80%	
???11	70%	✗ échantillon normal prélevé après allo-HSCT
???23	90%	
???24	80%	
???51	60%	
???53	60%	
???55	90%	
???65	70%	
???81	60%	✗ échantillon de qualité insuffisante
???89	60%	
???90	70%	
???94	50%	



Séquençage selon la méthode *Agilent SureSelect Human All Exon V7 panel* sur automates *Illumina Next/NovaSeq*.



Analyse bioinformatique réalisée à partir des BAM fournis par Imagine.

Callers :

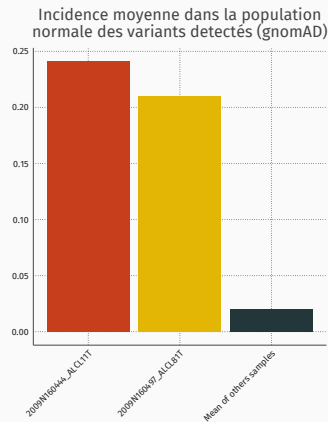
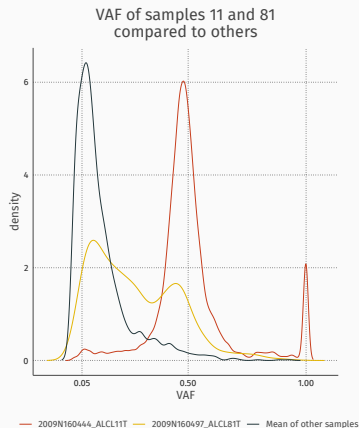
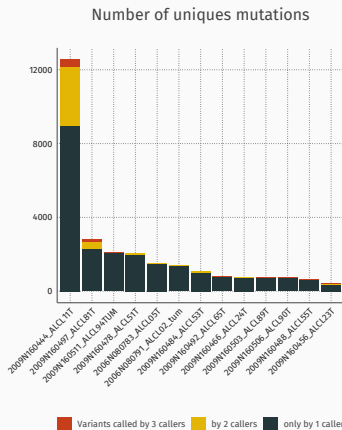
- **mutect2** (GATK v4.2)
- **strelka** (Illumina v2.9.10)
- **lancet** (NY Genome Center v1.1.0)

En suivant les modes opératoires fournis (cf. diapos supplémentaires).



Résultats

! Problèmes sur les couples N/P 11 et 81



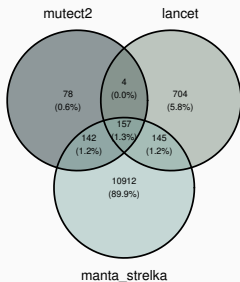
- Détection d'un nombre trop important de SNP dans les échantillons 11 et 81.
- En raison pour le 11 d'un "normal" prélevé après allo-HSCT.

➔ **Couples 11 et 81 non inclus dans l'analyse !**

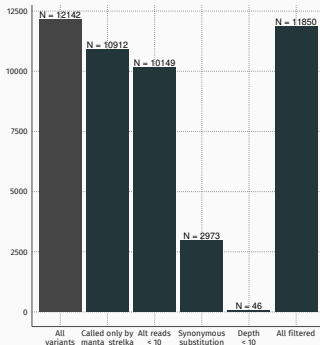


Filtrage des variants

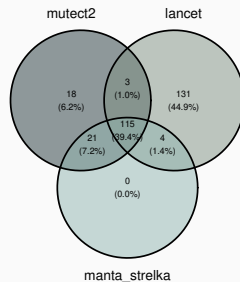
Before filtering



Number of variants removed by each filter



After filtering

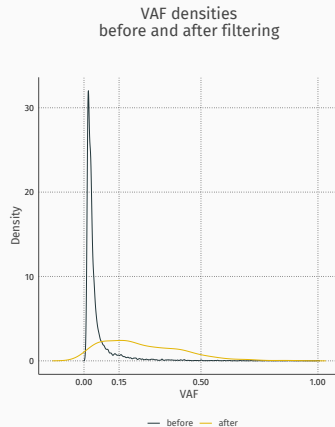
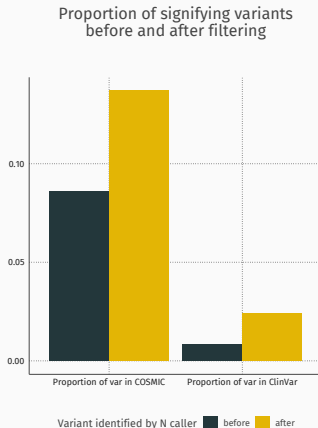
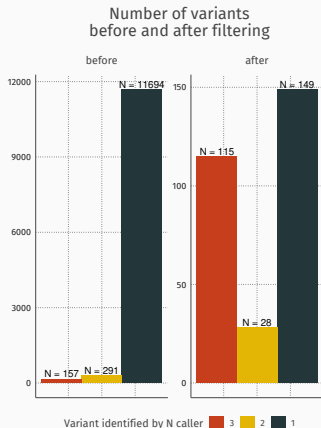


- Le caller manta_strelka est peu spécifique (89% des mutations) on s'en servira uniquement pour confirmation.

➔ **292 variants sélectionnés (2,4%)**



Filtrage des variants



Les variants sélectionnés sont plus fréquemment appelés par **plusieurs callers**.
Présentent une proportion plus importante de **variants significatifs** et sont de **VAF compatible avec l'infiltration**.

UNPUBLISHED DATA



UNPUBLISHED DATA



Mutations clonales significatives mais non récurrentes dans la cohorte

UNPUBLISHED DATA



Mutations clonales significatives mais non récurrentes dans la cohorte

UNPUBLISHED DATA

Supplementary



Source code : <https://github.com/nygenome/lancet>

```
1 lancet --ref hg19.fa
2     --tumor {TUMOR.BAM}
3     --normal {NORMAL.BAM}
4     --bed {AGILENT_REGIONS_V7.BED}
5     --num-threads 31
6     > {OUTPUT.VCF}
```

Listing 1: lancet – bash version

Manta: <https://github.com/Illumina/manta>

```
1 configManta.py --exome
2   --referenceFasta hg19.fa
3   --tumorBam {TUMOR.BAM}
4   --normalBam {NORMAL.BAM}
5   --callRegions {AGILENT_REGIONS_V7.BED}
6   --runDir /tmp/...
```

Listing 2: manta – bash version

Strelka: <https://github.com/Illumina/strelka>

```
1 configureStrelkaSomaticWorkflow.py --exome
2   --referenceFasta hg19.fa
3   --tumorBam {TUMOR.BAM}
4   --normalBam {NORMAL.BAM}
5   --callRegions {AGILENT_REGIONS_V7.BED}
6   --indelCandidates {MANTA_candidateSmallIndels.vcf.gz}
7   --runDir /tmp/...
```

Listing 3: strelka – bash version



Les étapes ont été reproduites à partir de :

<https://gatk.broadinstitute.org/hc/en-us/articles/360035531132>

```
1 gatk-4.2.1.0/gatk --java-options -Xmx32g
2   Mutect2
3   -R hg19.fa
4   -L {AGILENT_REGIONS_V7.BED}
5   -I {TUMOR.BAM}
6   -I {NORMAL.BAM}
7   --normal-sample {NORMAL}
8   --germline-resource af-only-gnomad.raw.sites.chr.vcf
9   --panel-of-normals pon.vcf.gz
10  --f1r2-tar-gz {TUMOR_tumoral_f1r2.tar.gz}
11  -O {OUTPUT.VCF}
```

Listing 4: Mutect2 – seule étape adaptée – bash version