Recherche des mutations du gène TP53

CQ21.1 : 26 LABORATOIRES PARTICIPANTS

Carole MAUTE

ECHANTILLONS

CQ21.1

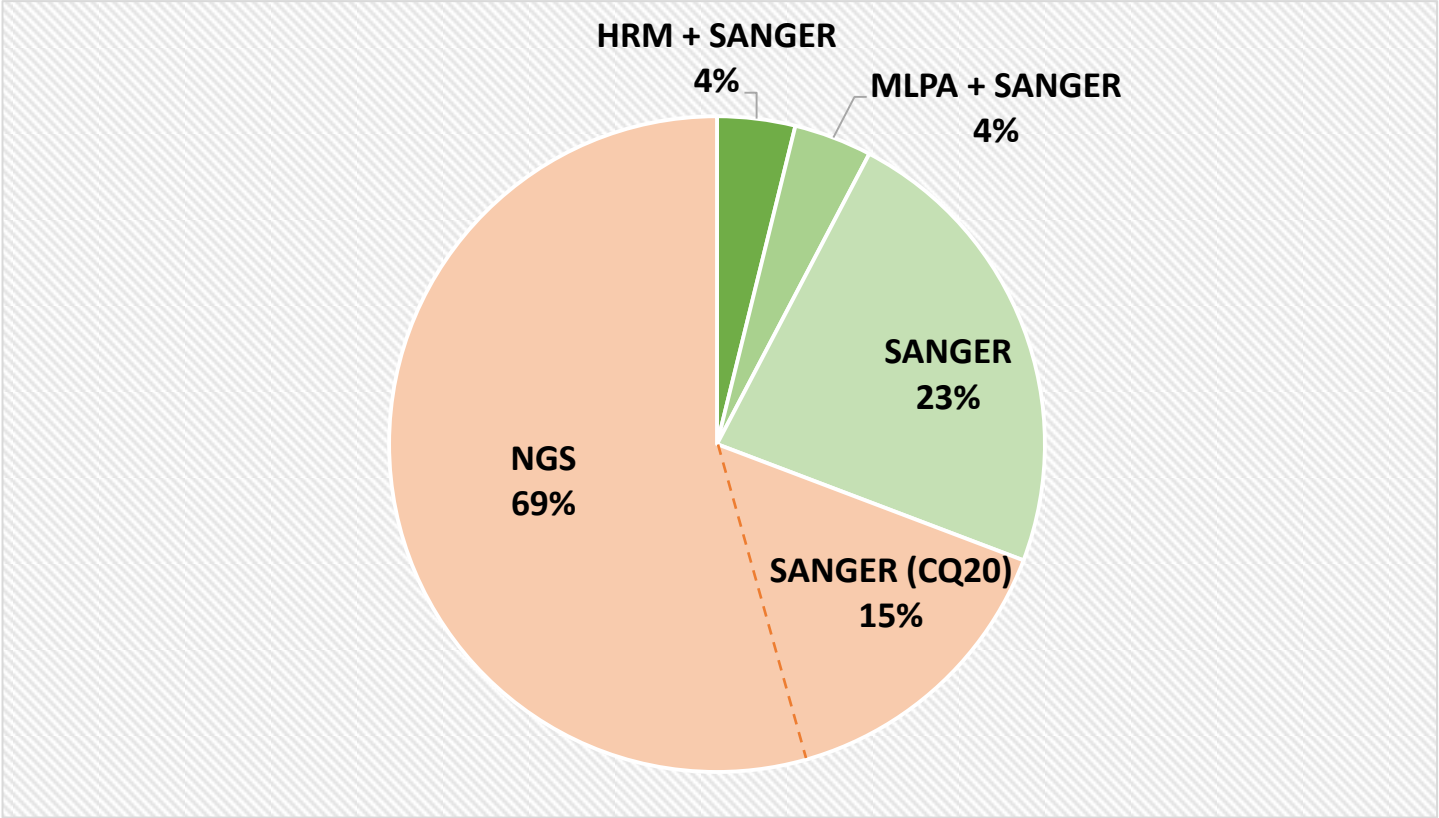
- **Campagne d'EEQ :**

  - 4 échantillons d'ADN de patients
    - CQ21.1 TPA
    - CQ21.1 TPB
    - CQ21.1 TPC
    - CQ21.1 TPD

- **Travaux à réaliser :**

  1) Doser les ADN
  2) Rechercher les mutations du gène TP53

METHODOLOGIE



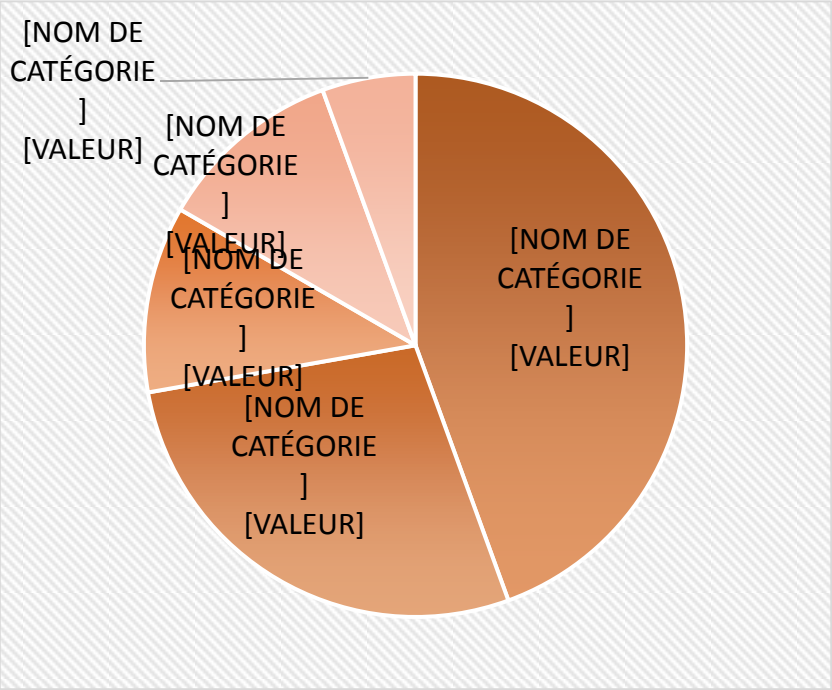
➔ **18 laboratoires réalisent le séquençage du gène TP53 par NGS**

→ **4 nouveaux laboratoires par rapport au CQ20**

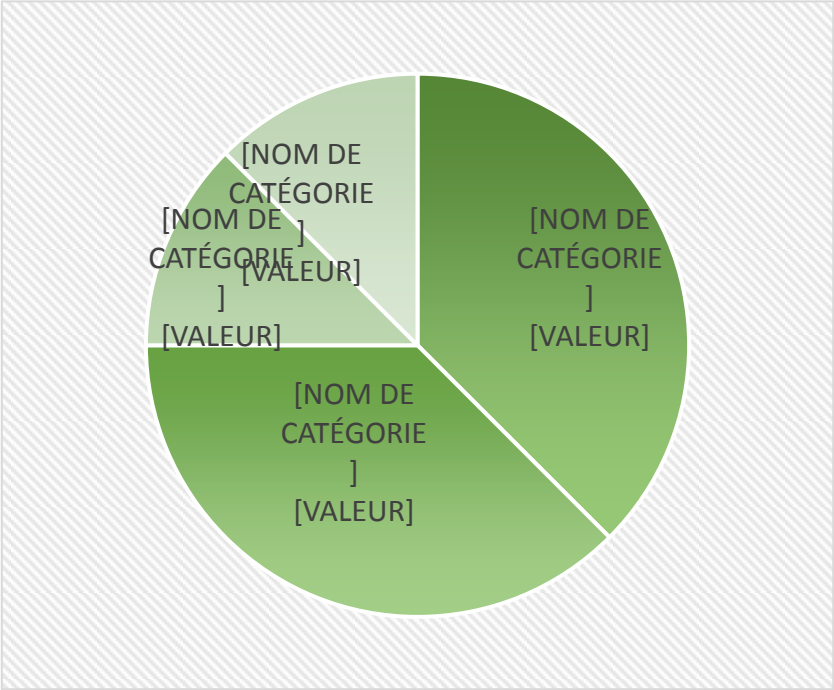
➔ **8 laboratoires réalisent le séquençage du gène TP53 par SANGER**

METHODOLOGIE

AUTOMATES NGS



AUTOMATES SANGER



METHODOLOGIE

ATTENTION ERREURS DE SAISIE

1 laboratoire a rendu :

- Méthode d'analyse → NGS
- Automate d'analyse → ABI 3500

≠ Discordance

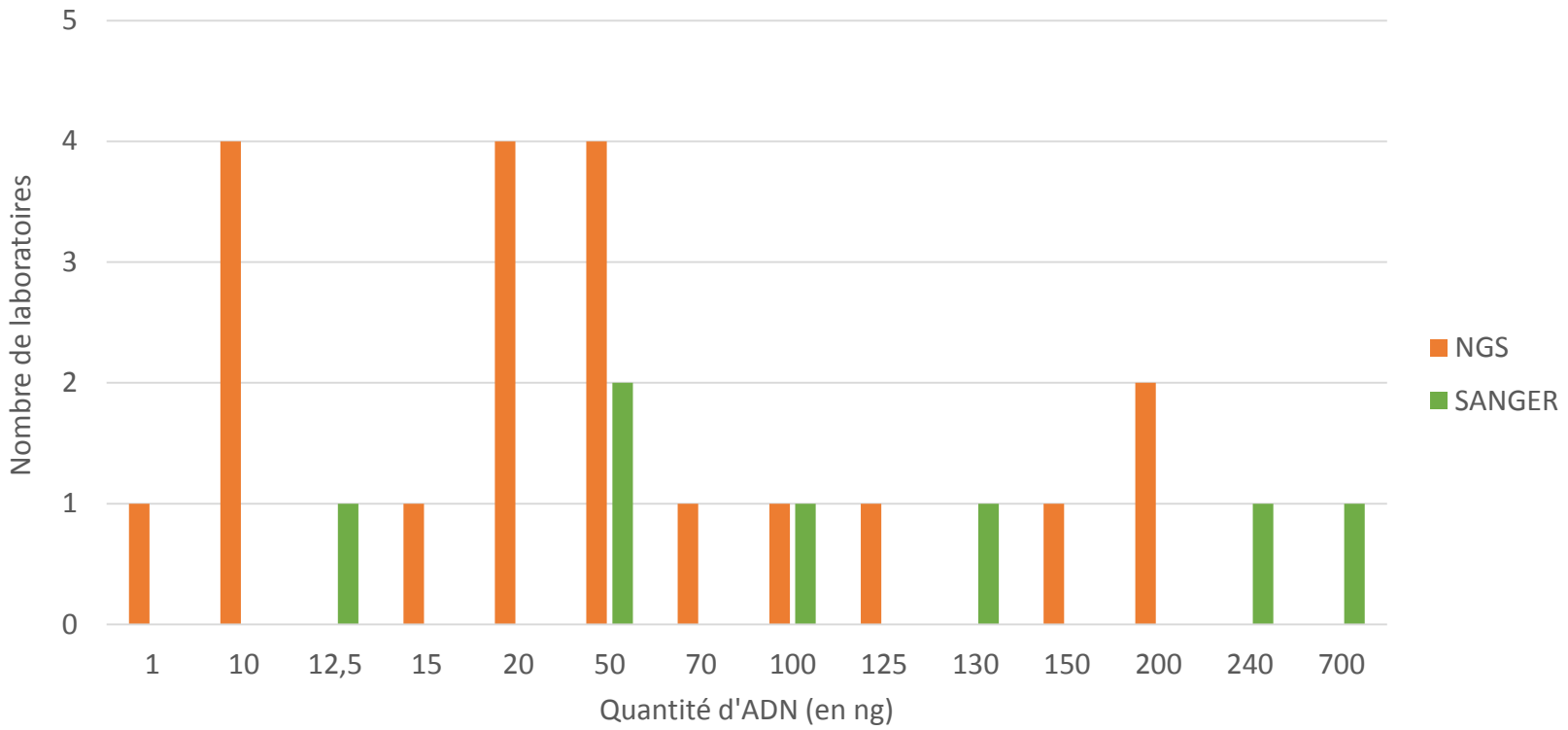
→ **Méthode d'analyse = critère pour former les groupes de pairs**

Groupes de pairs lors de l'analyse du CQ21.1 :

- **NGS → 19 laboratoires**
- **SANGER → 7 laboratoires**

METHODOLOGIE

- **Quantité d'ADN utilisée (en ng)**



→ **Elle est très variable d'un laboratoire à un autre**

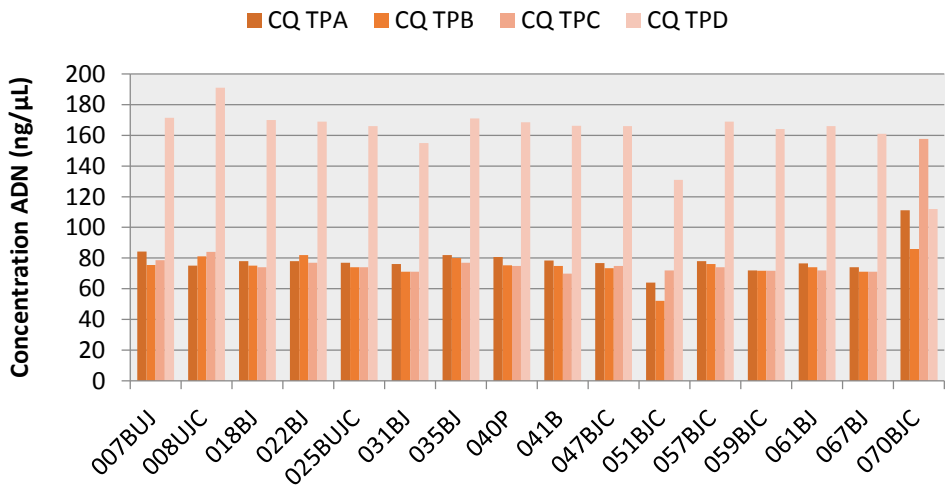
NGS → 1 à 200 ng

SANGER → 12,5 à 700 ng

RESULTATS

RESULTATS DOSAGE

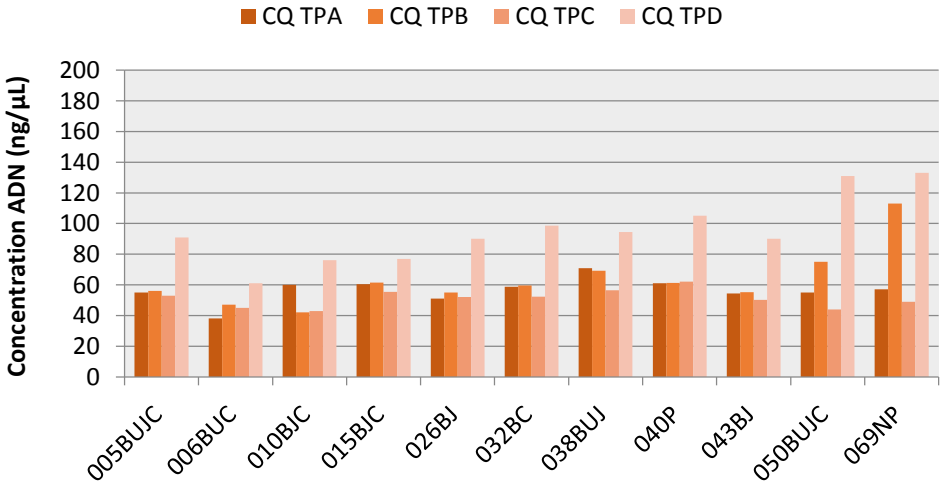
Dosage par spectrophotométrie (N=16)



SPECTRO	CQ TPA	CQ TPB	CQ TPC	CQ TPD
MOYENNE	**78,85**	**74,54**	**79,59**	**162,34**
ECART TYPE	**9,73**	**7,32**	**21,13**	**17,88**
MIN	64,00	52,00	69,90	112,00
MAX	111,20	85,90	157,70	191,00
CV (%)	12,33	9,82	26,54	11,01

Dosage par fluorimétrie (N=7)

FLUO	CQ TPA	CQ TPB	CQ TPC	CQ TPD
MOYENNE	**56,48**	**63,15**	**51,12**	**95,17**
ECART TYPE	**8,00**	**18,89**	**5,74**	**21,83**
MIN	38,00	42,00	43,00	61,00
MAX	70,80	113,00	62,00	133,00
CV (%)	14,16	29,92	11,22	22,94



RESULTATS CQ21.1 TPA

S = SANGER

NGS ILLUMINA

NGS ION TORRENT

- **Echantillon CQ21.1 TPA ➔ 1 MUTATION notée**

❑ **MUTATION 1 (N=27)**

c.497C>G

p.Ser166*

Moyenne VAF = 48%

➢ **100% de réponses correctes**

Code Laboratoire	Mutation sur l'ADNc	Changement d'aa
005BUJC MISEQ	c.497C>G	p.S166*
006BUC-1 NEXTSEQ	c.497C>G	p.Ser166*
006BUC-2 NEXTSEQ	c.497C>G	p.Ser166*
007BUJ S	NM_000546.5:c.497C>G	p.Ser166*
008UJC S	c.497C>G	p.S166*
010BJC PGM	c.497C>G	p.S166X
015BJC S5XL	c.497C>G	TP53 exon 5 c.497C>G : p.S166X (VAF: 49%)
018BJ S	c.497C>G	p.S166*
022BJ MISEQ	c.497C>G	p.S166*
025BUJC S	c.497C>G	p.S166X
026BJ MISEQ	c.497C>G	p.Ser166Ter
031BJ S5	c.497C>G	p.Ser166*
032BC S5	c.497C>G	p.S166*
035BJ MISEQ	NM_001126112.2(TP53):c.497C>G	NM_001126112.2(TP53):p.Ser166*
038BUJ PGM	c.497C>G	p.S166Ter
040P S	c.497C>G	p.Ser166*
041B NGS	c.497C>G	p.S166*
043BJ NEXTSEQ	c.497C>G	p.Ser166*
047BJC PGM	c.497C>G	p.S166X
050BUJC MISEQ	c.497C>G	p.Ser166*
051BJC PGM	c.497C>G	p.S166*
057BJC S	c.497C>G	p.S166*
059BJC MISEQ	c.497C>G	p.S166*
061BJ MISEQ	c.497C>G	p.Ser166*
067BJ PGM	c.497C>G	p.S166*
069NP MISEQ	c.497C>G	p.Ser166*
070BJC S	c.497C>G	p.S166*

RESULTATS CQ21.1 TPA

S = SANGER

NGS ILLUMINA

NGS ION TORRENT

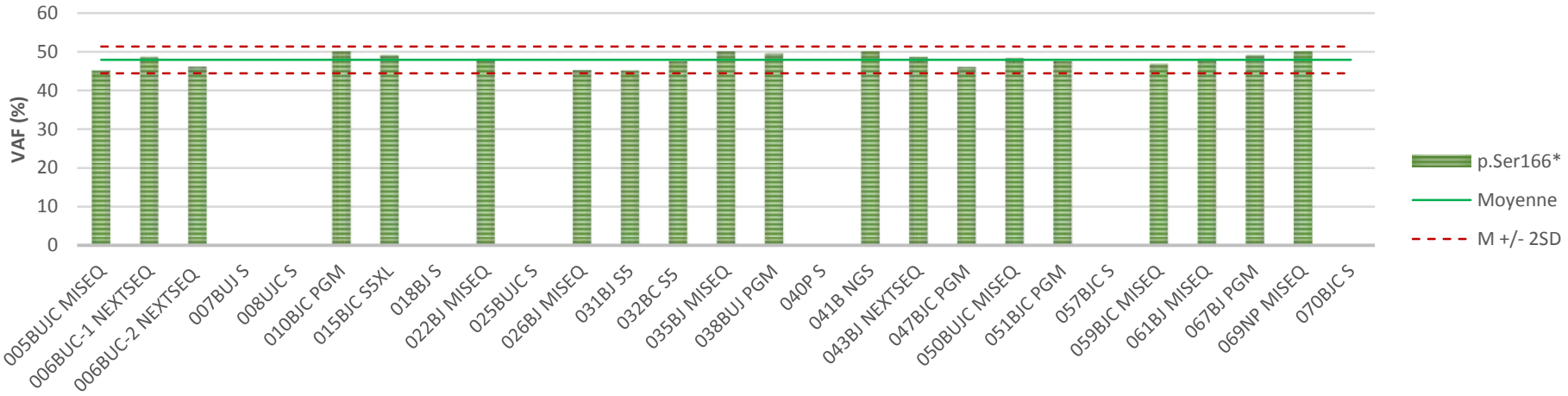
- **Echantillon CQ21.1 TPA ➔ 1 MUTATION notée**

❑ **MUTATION 1 (N=20)**

c.497C>G

p.Ser166*

- **100% des VAF rendues sont à +/- 2 SD autour de la moyenne**
- **Moyenne VAF = 48% (45-50)**
- **Ecart type = 1,72**



RESULTATS CQ21.1 TPA

S = SANGER

NGS ILLUMINA

NGS ION TORRENT

- **Echantillon CQ21.1 TPA ➔ autres mutations**

❑ MUTATION 2

c.775G>T

p.Asp259Tyr

- **Vu par 54% des laboratoires (dont 14/19 labo NGS et aucun labo SANGER)**
- **VAF entre 1,8% et 3,4%**

Code Laboratoire	Mutation sur l'ADNc	Changement d'aa	VAF (%)
006BUC-1 NEXTSEQ	c.775G>T	p.Asp259Tyr	2,3
006BUC-2 NEXTSEQ	c.775G>T	p.Asp259Tyr	2,2
010BJC PGM	c.775G>T	p.D259Y	3,3
015BJC S5XL	c.775G>T	TP53 exon 7 c.775G>T : p.D259Y	3,0
022BJ MISEQ	c.775G>T	p.D259Y	2,1
026BJ MISEQ	c.775G>T	p.Asp259Tyr	2,6
031BJ S5	c.775G>T	p.Asp259Tyr	2,0
032BC S5	c.775G>T	p.D259Y	3,3
035BJ MISEQ	NM_001126112.2(TP53):c.775G>T	NM_001126112.2(TP53):p.Asp259Tyr	2,0
043BJ NEXTSEQ	c.775G>T	p.Asp259Tyr	2,3
047BJC PGM	c.775G>T	p.D259Y	1,8
050BUJC MISEQ	c.775G>T	p.Asp259Tyr	2,3
051BJC PGM	c.775G>T	p.D259Y	2,2
059BJC MISEQ	c.775G>T	p.D259T	3,4
069NP MISEQ	c.775G>T	p.D259Y	3,0

RESULTATS CQ21.1 TPA

S = SANGER

NGS ILLUMINA

NGS ION TORRENT

- **Echantillon CQ21.1 TPA ➔ autres mutations**

❑ **MUTATION 3**

c.797G>A
p.Gly266Glu

- **Vu par 38% des laboratoires (dont 10/19 labo NGS et aucun labo SANGER)**
- **VAF entre 1,6% et 3,8%**

Code Laboratoire	Mutation sur l'ADNc	Changement d'aa	VAF (%)
006BUC-2 NEXTSEQ	c.797G>A	p.Gly266Glu	1,6
015BJC S5XL	c.797G>A :	TP53 exon 8 c.797G>A : p.G266E (VAF: 3.8%)	3,8
031BJ S5	c.797G>A	p.Gly266Glu	2,0
035BJ MISEQ	NM_001126112.2(TP53):c.797G>A	NM_001126112.2(TP53):p.Gly266Glu	2,0
043BJ NEXTSEQ	c.797G>A	p.Gly266Glu	1,7
047BJC PGM	c.797G>A	p.G266E	2,7
050BUJC MISEQ	c.797G>A	p.Gly266Glu	1,7
051BJC PGM	c.797G>A	p.G266E	2,7
059BJC MISEQ	c.797G>A	p.G266E	3,6
069NP MISEQ	c.797G>A	p.G266E	2,0

RESULTATS CQ21.1 TPA

S = SANGER

NGS ILLUMINA

NGS ION TORRENT

- **Echantillon CQ21.1 TPA ➔ autres mutations**

❑ **MUTATION 4**

c.586C>T
p.Arg196*

- **Vu par 31% des laboratoires (dont 8/19 labo NGS et aucun labo SANGER)**
- **VAF entre 0,8% et 2,2%**

Code Laboratoire	Mutation sur l'ADNc	Changement d'aa	VAF (%)
006BUC-1 NEXTSEQ	c.586C>T	p.Arg196*	1,5
006BUC-2 NEXTSEQ	c.586C>T	p.Arg196*	1,6
015BJC S5XL	exon 6 c.586C>T	TP53 exon 6 c.586C>T:p.Arg196Ter (VAF:0.8)	0,8
026BJ MISEQ	c.586C>T	p.Arg196Ter	2,1
035BJ MISEQ	NM_001126112.2(TP53):c.586C>T	NM_001126112.2(TP53):p.Arg196*	2,0
043BJ NEXTSEQ	c.586C>T	p.Arg196*	1,5
047BJC PGM	c.586C>T	p.R196X	1,5
050BUJC MISEQ	c.586C>T	p.Arg196*	1,9
059BJC MISEQ	c.586C>T	p.R196*	2,2

RESULTATS CQ21.1 TPA

S = SANGER

NGS ILLUMINA

NGS ION TORRENT

- **Echantillon CQ21.1 TPA ➔ autres mutations**

❑ **MUTATION 5**

c.146dupA
p.Asp49Glufs*3

- **Vu par 15% des laboratoires (dont 4/19 labo NGS et aucun labo SANGER)**
- **VAF entre 1,2% et 2,0%**

Code Laboratoire	Mutation sur l'ADNc	Changement d'aa	VAF (%)
006BUC-1 NEXTSEQ	c.146dupA	p.Asp49Glufs*3	1,5
006BUC-2 NEXTSEQ	c.146dupA	p.Asp49Glufs*3	1,4
031BJ S5	c.146dup	p.Asp49Glufs*3	2,0
043BJ NEXTSEQ	c.146dup	p.Asp49Glufs*3	1,6
059BJC MISEQ	c.146dupA	p.D49fs	1,2

RESULTATS CQ21.1 TPA

S = SANGER

NGS ILLUMINA

NGS ION TORRENT

- **Echantillon CQ21.1 TPA ➔ autres mutations**

❑ MUTATION 6

c.713G>A

p.Cys238Tyr

- **Vu par 8% des laboratoires (dont 2/19 labo NGS et aucun labo SANGER)**
- **VAF entre 1,3% et 2,0%**

Code Laboratoire	Mutation sur l'ADNc	Changement d'aa	VAF (%)
015BJC S5XL	c.713G>A	TP53 exon 7 c.713G>A:p.Cys238Tyr	1,3
031BJ S5	c.713G>A	p.Cys238Tyr	2,0

RESULTATS CQ21.1 TPB

S = SANGER

NGS ILLUMINA

NGS ION TORRENT

- **Echantillon CQ21.1 TPB ➔ 2 MUTATIONS notées**

❑ **MUTATION 1 (N=27)**

c.844C>T

p.Arg282Trp

Moyenne VAF = 64%

➢ **93% de réponses correctes**

Code Laboratoire	Mutation sur l'ADNc	Changement d'aa
005BUJC MISEQ	c.844C>T	p.R282W
006BUC-1 NEXTSEQ	c.844C>T	p.Arg282Trp
006BUC-2 NEXTSEQ	c.844C>T	p.Arg282Trp
007BUJ S	Non muté	Non muté
008UJC S	c.844C>T	p.R282W
010BJC PGM	Non muté	Non muté
015BJC S5XL	c.844C>T :	TP53 exon 8 c.844C>T : p.R282W (VAF : 66%)
018BJ S	c.844C>T	p.R282W
022BJ MISEQ	c.844C>T	p.R282W
025BUJC S	c.844C>T	p.R282W
026BJ MISEQ	c.844C>T	p.Arg282Trp
031BJ S5	c.844C>T	p.Arg282Trp
032BC S5	c.844C>T	p.R282W
035BJ MISEQ	NM_001126112.2(TP53):c.844C>T	NM_001126112.2(TP53):p.Arg282Trp
038BUJ PGM	c.844C>T	p.R282W
040P S	c.844C>T	p.R282W
041B NGS	c.844C>T	p.R282W
043BJ NEXTSEQ	c.844C>T	p.Arg282Trp
047BJC PGM	c.844C>T	p.R282W
050BUJC MISEQ	c.844C>T	p.Arg282Trp
051BJC PGM	c.844C>T	p.R282W
057BJC S	c.844C>T	p.R282W
059BJC MISEQ	c.626_627delGA	p.R282W
061BJ MISEQ	c.844C>T	p.Arg282Trp
067BJ PGM	c.844C>T	p.R282W
069NP MISEQ	c.844C>T	p.R282W
070BJC S	c.844C>T	p.R282W

RESULTATS CQ21.1 TPB

S = SANGER

NGS ILLUMINA

NGS ION TORRENT

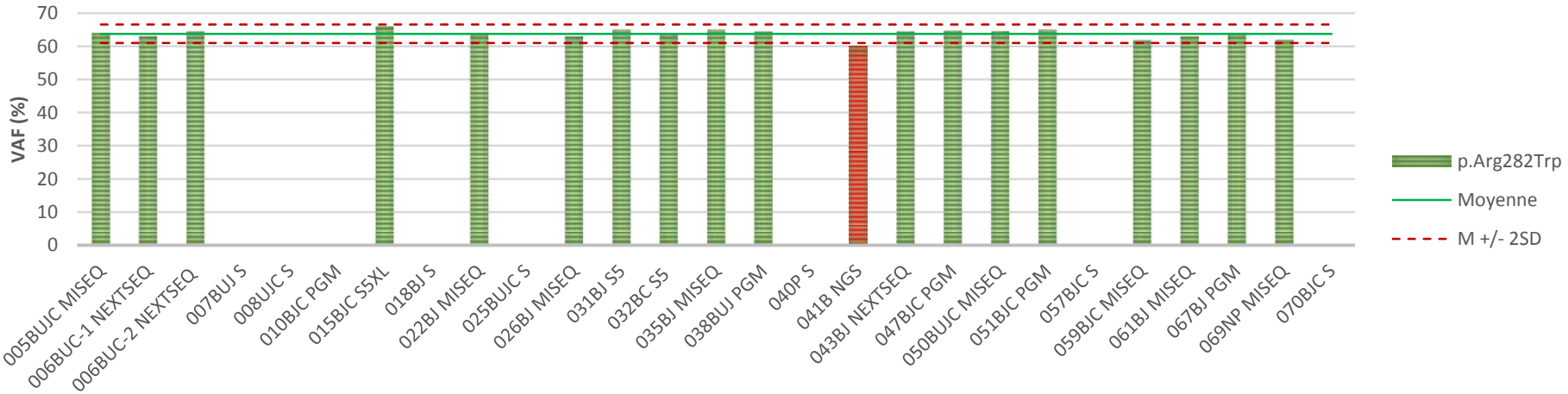
- **Echantillon CQ21.1 TPB ➔ 2 MUTATIONS notées**

❑ **MUTATION 1 (N=19)**

c.844C>T

p.Arg282Trp

- **95% des VAF rendues sont à +/- 2 SD autour de la moyenne**
- **Moyenne VAF = 64% (60-66)**
- **Ecart type = 1,40**



RESULTATS CQ21.1 TPB

S = SANGER
NGS ILLUMINA
NGS ION TORRENT
Problème de nomenclature

- **Echantillon CQ21.1 TPB ➔ 2 MUTATIONS notées**

❑ **MUTATION 2 (N=20)**

c.626_627delGA
p.Arg209Lysfs*6

Moyenne VAF = 8,7%

➢ **85% de réponses correctes**

VAF<20% →mutation non prise en compte pour les SANGER

Code Laboratoire	Mutation sur l'ADNc	Changement d'aa
005BUJC MISEQ	c.626_627del2	p.R209fs*6
006BUC-1 NEXTSEQ	c.626_627del	p.Arg209Lysfs*6
006BUC-2 NEXTSEQ	c.626_627del	p.Arg209Lysfs*6
007BUJ S	Non muté	Non muté
008UJC S	Non muté	Non muté
010BJC PGM	c.626_627del	p.R209fs*
015BJC S5XL	c.626_629delGAAAinsAA	TP53 exon 6 c.626_629delGAAAinsAA : p.R209KfsX6 (VAF : 9.6%)
018BJ S	Non muté	Non muté
022BJ MISEQ	c.626_627delAG	p.R209Kfs*6
025BUJC S	Non muté	Non muté
026BJ MISEQ	c.626_627delGA	p.Arg209LysfsTer6
031BJ S5	p.Arg209Lysfs*6	c.626_627del
032BC S5	c.626_627del:	p.R209Kfs*6
035BJ MISEQ	NM_001126112.2(TP53_v001):c.626_627del	NM_001126112.2(TP53_i001):p.(Arg209Lysfs*6)
038BUJ PGM	Non muté	Non muté
040P S	c.626_627delGA	p.R209Kfs*6
041B NGS	c.625_626delAG	p.R209fs*6
043BJ NEXTSEQ	c.626_627del	p.Arg209Lysfs*6
047BJC PGM	c.626_627delGA	p.R209Kfs
050BUJC MISEQ	c.626_627delGA	p.Arg209fs
051BJC PGM	c.626-627delGA	p.R209fs
057BJC S	c.625-626delAG	p.R209Tfs
059BJC MISEQ	c.626_627delGA	p.R209fs
061BJ MISEQ	c.626_627del	p.Arg209Lysfs*6
067BJ PGM	Non muté	Non muté
069NP MISEQ	c.626_627del	p.R209Kfs*6

RESULTATS CQ21.1 TPB

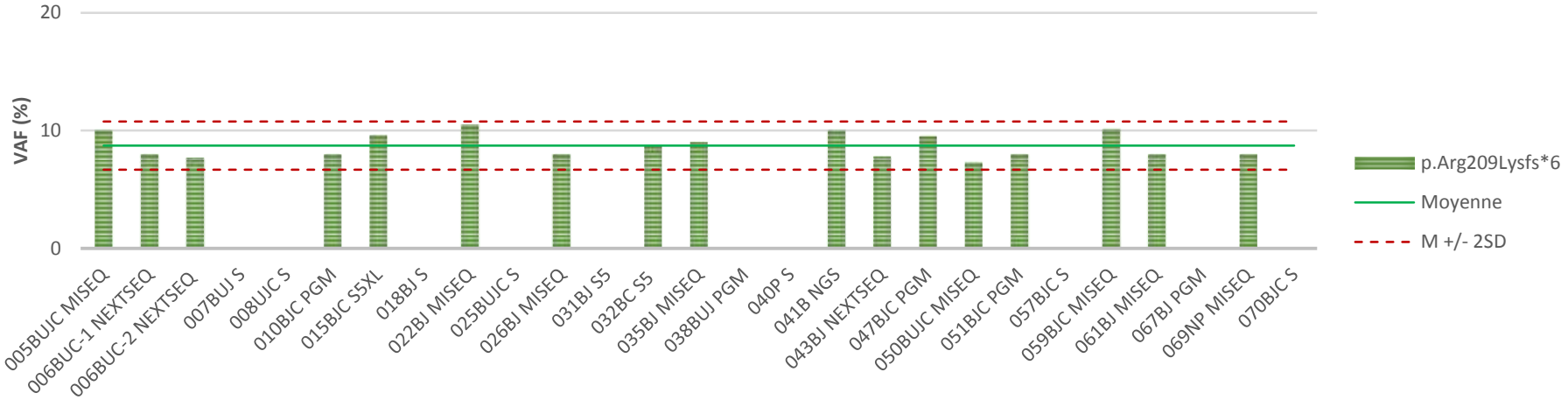
S = SANGER
NGS ILLUMINA
NGS ION TORRENT

- **Echantillon CQ21.1 TPB ➔ 2 MUTATIONS notées**

❑ **MUTATION 2 (N=17)**

c.626_627delGA
p.Arg209Lysfs*6

- **100% des VAF rendues sont à +/- 2 SD autour de la moyenne**
- **Moyenne VAF = 8,7% (7,3-10,5)**
- **Ecart type = 1,02**



RESULTATS CQ21.1 TPB

S = SANGER

NGS ILLUMINA

NGS ION TORRENT

- **Echantillon CQ21.1 TPB → autres mutations**

MUTATION 3

c.455dupC
p.Pro153Alafs*28

- **Vu par 35% des laboratoires (dont 9/19 labo NGS et aucun labo SANGER)**
- **VAF entre 4,1% et 10,0%**

Code Laboratoire	Mutation sur l'ADNc	Changement d'aa	VAF (%)
005BUJC MISEQ	c.455dupC	p.P153fs*28	7,0
006BUC-1 NEXTSEQ	c.455dupC	p.Pro153Alafs*28	4,1
006BUC-2 NEXTSEQ	c.455dupC	p.Pro153Alafs*28	4,2
026BJ MISEQ	c.455dupC	p.Pro153AlafsTer28	4,8
031BJ S5	c.455dup	p.Pro153Alafs*28	9,0
035BJ MISEQ	NM_001126112.2(TP53):c.455dup	NM_001126112.2(TP53_i001):p.(Pro153Alafs*28)	5,0
041B NGS	c.455_456insC	p.P153fs*28	10,0
043BJ NEXTSEQ	c.455dup	p.Pro153Alafs*28	5,3
050BUJC MISEQ	c.455dupC	p.Pro153fs	4,5
061BJ MISEQ	c.455dupC	p.Pro153Alafs*28	6,0

RESULTATS CQ21.1 TPB

S = SANGER

NGS ILLUMINA

NGS ION TORRENT

- **Echantillon CQ21.1 TPB ➔ autres mutations**

❑ **MUTATION 4**

c.686_687delGT
p.Cys229Tyrfs*10

- **Vu par 27% des laboratoires (dont 7/19 labo NGS et aucun labo SANGER)**
- **VAF entre 1,0% et 2,0%**

Code Laboratoire	Mutation sur l'ADNc	Changement d'aa	VAF (%)
006BUC-1 NEXTSEQ	c.686_687del	p.Cys229Tyrfs*10	1,5
006BUC-2 NEXTSEQ	c.686_687del	p.Cys229Tyrfs*10	2,0
022BJ MISEQ	c.686_687delTG	p.C229Tfs*10	1,4
035BJ MISEQ	NM_001126112.2(TP53_v001):c.686_687del	NM_001126112.2(TP53_i001):p.(Cys229Tyrfs*10)	1,0
043BJ NEXTSEQ	c.686_687del	p.Cys229Tyrfs*10	1,1
050BUJC MISEQ	c.686_687delGT	p.Cys229fs	1,5
059BJC MISEQ	c.686_687delGT	p.C229fs	1,5
069NP MISEQ	c.686_687del	p.C229Yfs*10	1,0

RESULTATS CQ21.1 TPC

S = SANGER

NGS ILLUMINA

NGS ION TORRENT

Problème de nomenclature

- **Echantillon CQ21.1 TPC ➔ 3 MUTATIONS notées**

❑ **MUTATION 1 (N=27)**

c.701A>G

p.Tyr234Cys

Moyenne VAF = 36%

➢ **100% de réponses correctes**

Code Laboratoire	Mutation sur l'ADNc	Changement d'aa
005BUJC MISEQ	c.701A>G	p.Y234C
006BUC-1 NEXTSEQ	c.701A>G	p.Tyr234Cys
006BUC-2 NEXTSEQ	c.701A>G	p.Tyr234Cys
007BUJ S	NM_000546.5:c.701A>G	p.(Tyr234Cys)
008UJC S	c.701A>G	p.Y234C
010BJC PGM	c.701A>G	p.Y234C
015BJC S5XL	c.701A>G	TP53 exon 7 c.701A>G : p.Y234C (VAF: 38%)
018BJ S	c.701A>G	p.Y234C
022BJ MISEQ	c.701A>G	p.Y234C
025BUJC S	c.701A>G	p.Y234C
026BJ MISEQ	c.701A>G	p.Tyr234Cys
031BJ S5	c.701A>G	p.Tyr234Cys
032BC S5	c.701A>G	p.Tyr234C
035BJ MISEQ	NM_001126112.2(TP53):c.701A>G	NM_001126112.2(TP53):p.Tyr234Cys
038BUJ PGM	c.701A>G	p.Y234C
040P S	c.701A>G	p.Y234C
041B NGS	c.701A>G	p.Y234C
043BJ NEXTSEQ	c.701A>G	p.Tyr234Cys
047BJC PGM	c.701A>G	p.Y234C
050BUJC MISEQ	c.701A>G	p.Tyr234Cys
051BJC PGM	c.701A>G	p.Y234C
057BJC S	c.701A>G	p.Y234C
059BJC MISEQ	c.701A>G	p.T234C
061BJ MISEQ	c.701A>G	p.Tyr234Cys
067BJ PGM	c.701A>G	p.Y234C
069NP MISEQ	c.701A>G	p.Y234C
070BJC S	c.701A>G	p.Y234C

RESULTATS CQ21.1 TPC

S = SANGER

NGS ILLUMINA

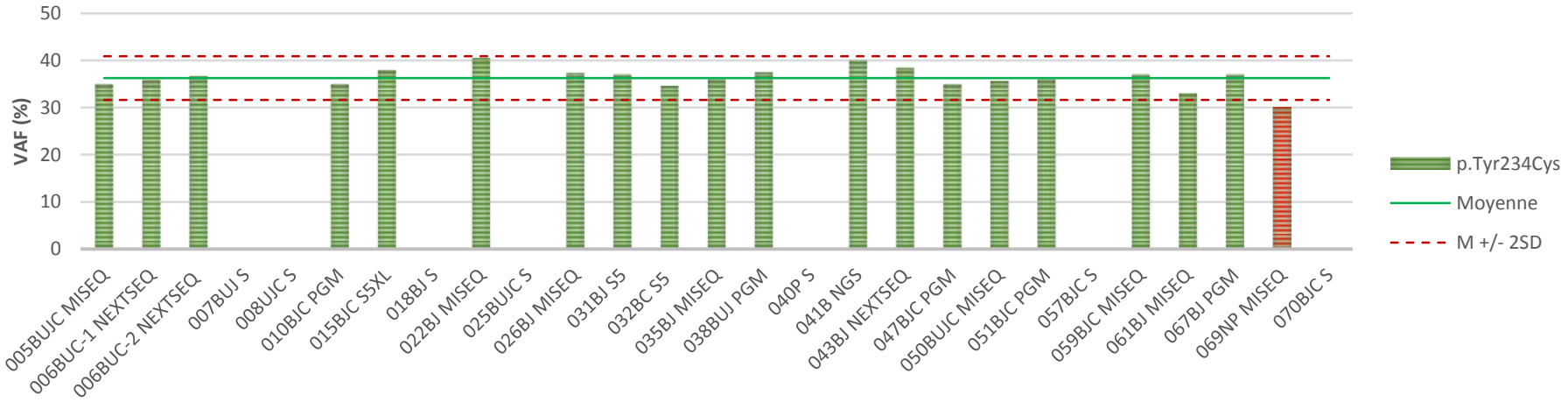
NGS ION TORRENT

- **Echantillon CQ21.1 TPC ➔ 3 MUTATIONS notées**

❑ **MUTATION 1 (N=20)**

c.701A>G
p.Tyr234Cys

- **95% des VAF rendues sont à +/- 2 SD autour de la moyenne**
- **Moyenne VAF = 36% (30-40)**
- **Ecart Type = 2,3**



RESULTATS CQ21.1 TPC

S = SANGER

NGS ILLUMINA

NGS ION TORRENT

- **Echantillon CQ21.1 TPC ➔ 3 MUTATIONS notées**

❑ **MUTATION 2 (N=27)**

c.1149delC

p.Met384Cysfs*

Moyenne VAF = 36%

➢ **78% de réponses correctes**

Code Laboratoire	Mutation sur l'ADNc	Changement d'aa
005BUJC MISEQ	c.1149delC	p.M384fs
006BUC-1 NEXTSEQ	c.1149del	p.Met384Cysfs*?
006BUC-2 NEXTSEQ	c.1149del	p.Met384Cysfs*?
007BUJ S	NM_000546.5:c.1149delC	p.(Met384Cysfs*38)
008UJC S	Non muté	Non muté
010BJC PGM	c.1149delC	p.L383fs
015BJC S5XL	c.1149delC	TP53 exon 11 c.1149delC : p.M384CfsX38 (VAF: 37
018BJ S	c.1149delC	P.(M384Cfs*38)
022BJ MISEQ	c.1149delD	p.M384Cfs*?
025BUJC S	Non muté	Non muté
026BJ MISEQ	c.1149delC	p.Met384CysfsTer38
031BJ S5	Non muté	Non muté
032BC S5	c.1149del	p.M384Cfs*38
035BJ MISEQ	NM_001126112.2(TP53_v001):c.1149del	NM_001126112.2(TP53_i001):p.(Met384Cysfs*38
038BUJ PGM	c.1149delC	p.M384fs
040P S	c.1149delC	p.M384Cfs*38
041B NGS	c.1149delC	p.M384fs*38
043BJ NEXTSEQ	c.1149del	p.Met384Cysfs*38
047BJC PGM	c.1149delC	p.L383fs
050BUJC MISEQ	c.1149delC	p.Met384fs
051BJC PGM	Non muté	Non muté
057BJC S	c.1149delC	p.M384Cfs*9
059BJC MISEQ	c.1149delC	p.M384fs
061BJ MISEQ	c.1149del	p.Met384Cysfs*
067BJ PGM	Non muté	Non muté
069NP MISEQ	c.1149del	p..M384Cfs*?
070BJC S	Non muté	Non muté

RESULTATS CQ21.1 TPC

S = SANGER

NGS ILLUMINA

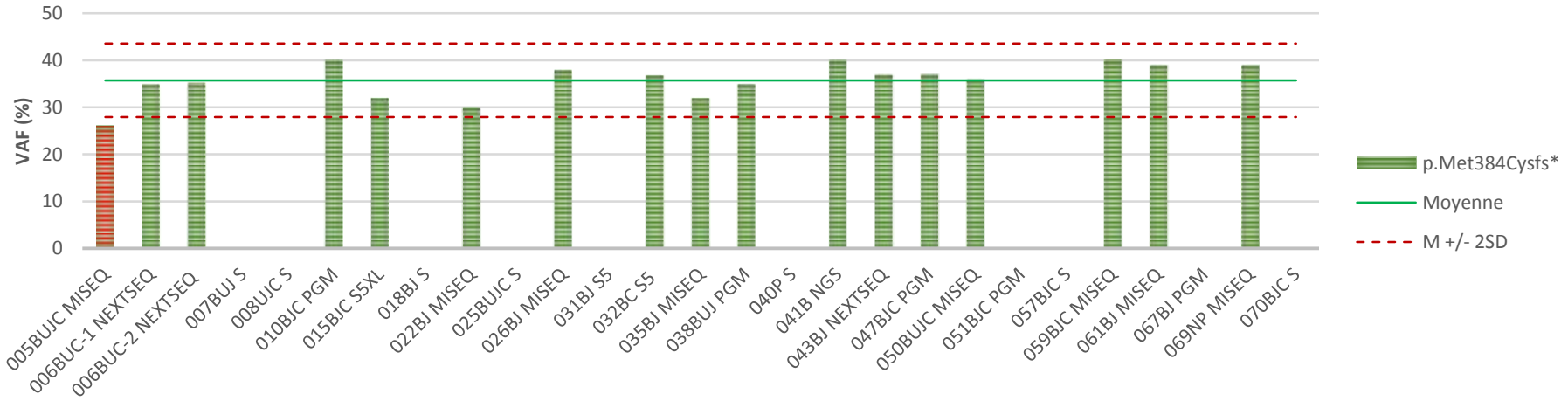
NGS ION TORRENT

- **Echantillon CQ21.1 TPC ➔ 3 MUTATIONS notées**

❑ **MUTATION 2 (N=17)**

c.1149delC
p.Met384Cysfs*

- **94% des VAF rendues sont à +/- 2 SD autour de la moyenne**
- **Moyenne VAF = 36% (26-40)**
- **Ecart Type = 3,9**



RESULTATS CQ21.1 TPC

S = SANGER

NGS ILLUMINA

NGS ION TORRENT

- **Echantillon CQ21.1 TPC ➔ 3 MUTATIONS notées**

❑ **MUTATION 3 (N=20)**

c.332T>C
p.Leu111Pro

Moyenne VAF = 7,7%

➢ **100% de réponses correctes**

VAF<20% →mutation non prise en compte pour les SANGER

Code Laboratoire	Mutation sur l'ADNc	Changement d'aa
005BUJC MISEQ	c.332T>C	p.L111P
006BUC-1 NEXTSEQ	c.332T>C	p.Leu111Pro
006BUC-2 NEXTSEQ	c.332T>C	p.Leu111Pro
007BUJ S	Non muté	Non muté
008UJC S	Non muté	Non muté
010BJC PGM	c.332T>C	p.L111P
015BJC S5XL	c.332T>C	TP53 exon 4 c.332T>C : p.L111P (7.2%)
018BJ S	Non muté	Non muté
022BJ MISEQ	c.332T>C	p.L111P
025BUJC S	Non muté	Non muté
026BJ MISEQ	c.332T>C	p.Leu111Pro
031BJ S5	c.332T>C	p.Leu111Pro
032BC S5	c.332T>C	p.L111P
035BJ MISEQ	NM_001126112.2(TP53):c.332T>C	NM_001126112.2(TP53):p.Leu111Pro
038BUJ PGM	c.332T>C	p.L111P
040P S	Non muté	Non muté
041B NGS	c.332T>C	p.L111P
043BJ NEXTSEQ	c.332T>C	p.Leu111Pro
047BJC PGM	c.332T>C	p.L111P
050BUJC MISEQ	c.332T>C	p.Leu111Pro
051BJC PGM	c.332T>C	p.L111P
057BJC S	Non muté	Non muté
059BJC MISEQ	c.332T>C	p.L111P
061BJ MISEQ	c.332T>C	p.Leu111Pro
067BJ PGM	c.332T>C	p.L111P
069NP MISEQ	c.332T>C	p.L111P
070BJC S	Non muté	Non muté

RESULTATS CQ21.1 TPC

S = SANGER

NGS ILLUMINA

NGS ION TORRENT

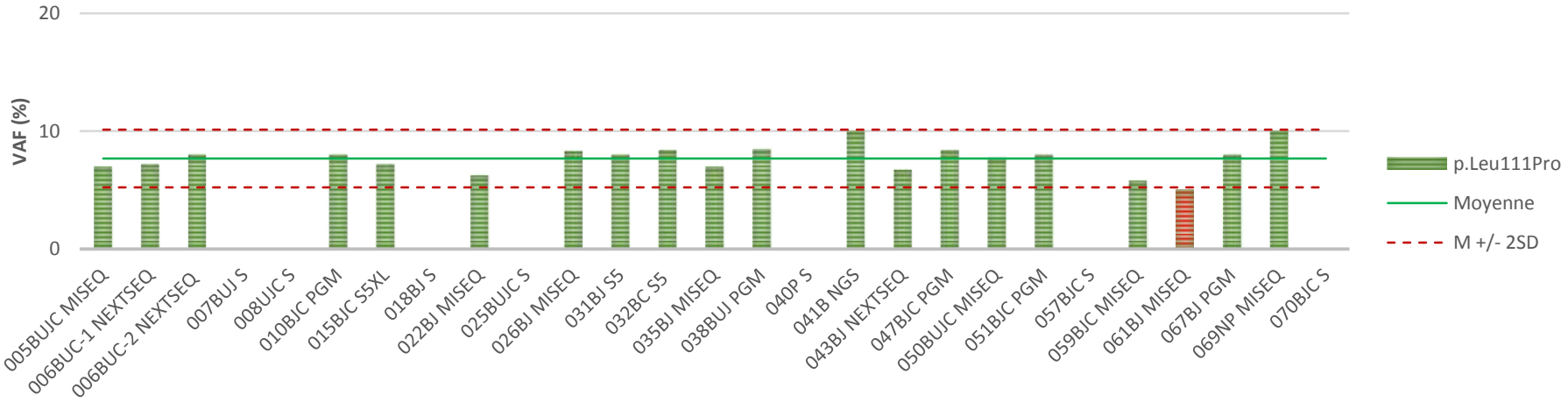
- **Echantillon CQ21.1 TPC ➔ 3 MUTATIONS notées**

❑ **MUTATION 3 (N=20)**

c.332T>C

p.Leu111Pro

- **95% des VAF rendues sont à +/- 2 SD autour de la moyenne**
- **Moyenne VAF = 7,7% (5,0-10,0)**
- **Ecart Type = 1,2**



RESULTATS CQ21.1 TPC

S = SANGER

NGS ILLUMINA

NGS ION TORRENT

- **Echantillon CQ21.1 TPC ➔ autres mutations**

❑ MUTATION 4

c.536A>G

p.His179Arg

- **Vu par 38% des laboratoires (dont 10/19 labo NGS et aucun labo SANGER)**
- **VAF entre 1,5% et 2,2%**

Code Laboratoire	Mutation sur l'ADNc	Changement d'aa	VAF (%)
006BUC-1 NEXTSEQ	c.536A>G	p.His179Arg	1,7
006BUC-2 NEXTSEQ	c.536A>G	p.His179Arg	1,9
015BJC S5XL	c.536A>G	TP53 exon 5 c.536A>G:p.His179Arg (VAF: 1.9%)	1,9
022BJ MISEQ	c.536A>G	p.H179R	2,2
031BJ S5	c.536A>G	p.His179Arg	2,0
035BJ MISEQ	NM_001126112.2(TP53):c.536A>G	NM_001126112.2(TP53):p.His179Arg	2,0
043BJ NEXTSEQ	c.536A>G	p.His179Arg	1,9
047BJC PGM	c.536A>G	p.H179R	1,5
050BUJC MISEQ	c.536A>G	p.His179Arg	2,1
059BJC MISEQ	c.536A>G	p.H179R	2,2
069NP MISEQ	c.536A>G	p.H179R	2,0

RESULTATS CQ21.1 TPD

S = SANGER

NGS ILLUMINA

NGS ION TORRENT

- **Echantillon CQ21.1 TPD ➔ 1 MUTATION notée**

❑ **MUTATION 1 (N=26)**

c.469G>A
p.Val157Ile

Moyenne VAF = 48%

➢ **96% de réponses correctes**

Code Laboratoire	Mutation sur l'ADNc	Changement d'aa
005BUJC MISEQ	c.469G>A	p.V157I
006BUC-1 NEXTSEQ	c.469G>A	p.Val157Ile
006BUC-2 NEXTSEQ	c.469G>A	p.Val157Ile
007BUJ S	NM_000546.5:c.469G>A	p.(Val157Ile)
008UJC S	c.469G>A	p.V157I
010BJC PGM	c.469G>A	p.V157I
015BJC S5XL	c.469G>A	TP53 exon 5 c.469G>A : p.V157I
018BJ S	c.469G>A	p.V157I
022BJ MISEQ	c.469G>A	p.V157I
025BUJC S	c.469G>A	p.V157I
026BJ MISEQ	c.469G>A	p.Val157Ile
031BJ S5	c.469G>A	p.Val157Ile
032BC S5	ECHEC	ECHEC
035BJ MISEQ	NM_001126112.2(TP53):c.469G>A	NM_001126112.2(TP53):p.Val157Ile
038BUJ PGM	c.469G>A	p.V157I
040P S	c.469G>A	p.V157I
041B NGS	c.469G>A	p.V157I
043BJ NEXTSEQ	c.469G>A	p.Val157Ile
047BJC PGM	c.469G>A	p.V157I
050BUJC MISEQ	c.469G>A	p.Val157Ile
051BJC PGM	c.469G>A	p.V157I
057BJC S	Non muté	Non muté
059BJC MISEQ	c.469G>A	p.V157I
061BJ MISEQ	c.469G>A	p.Val157Ile
067BJ PGM	c.469G>A	p.V157I
069NP MISEQ	c.469G>A	p.V157I
070BJC S	c.469G>A	p.V157I

RESULTATS CQ21.1 TPD

S = SANGER

NGS ILLUMINA

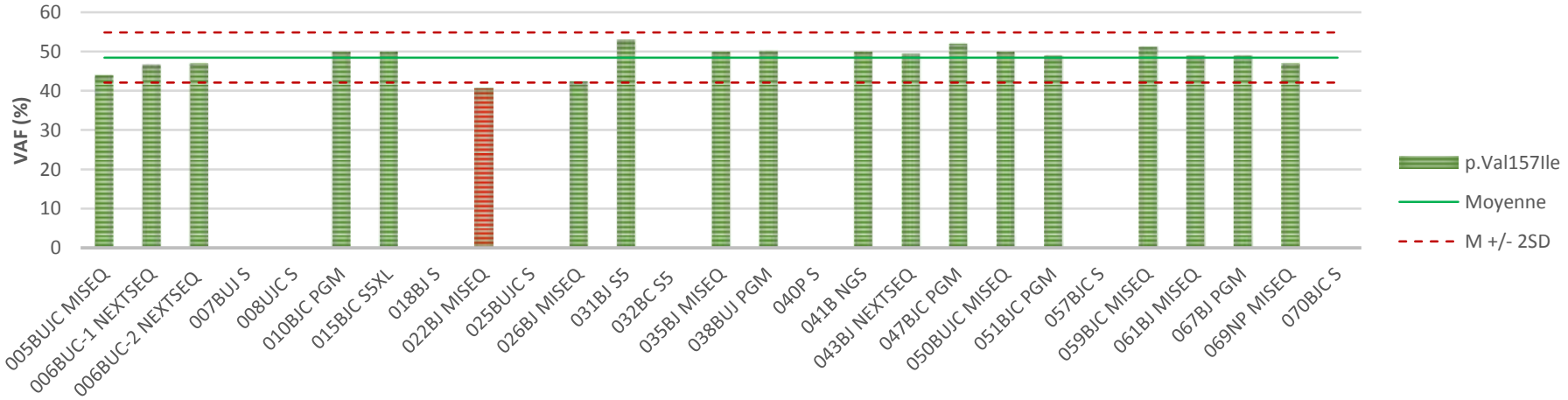
NGS ION TORRENT

- **Echantillon CQ21.1 TPD ➔ 1 MUTATION notée**

❑ **MUTATION 1 (N=19)**

c.469G>A
p.Val157Ile

- **95% des VAF rendues sont à +/- 2 SD autour de la moyenne**
- **Moyenne VAF = 48% (41-53)**
- **Ecart Type = 3,2**



RESULTATS CQ21.1 TPD

S = SANGER

NGS ILLUMINA

NGS ION TORRENT

- **Mutation 1 : p.Val157Ile (VAF = 48%)**

Labo	VAF (%)	Conclusion mutation
005BUJC MISEQ	44	Dans l'exon 5 de TP53, mise en évidence de la mutation V157I, touchant le domaine de liaison à l'ADN, décrite dans la base COSMIC (COSM43625) et considérée comme délétère dans la base IARC.
006BUC-1 NEXTSEQ	46,7	présence de la mutation p.Val157Ile du gène TP53. Résultat à interpréter en fonction du contexte clinico-biologique (absence de renseignements cliniques).
006BUC-2 NEXTSEQ	47	présence de la mutation p.Val157Ile du gène TP53. Résultat à interpréter en fonction du contexte clinico-biologique (absence de renseignements cliniques).
007BUJ S		Détection d'un variant faux sens de l'exon 5 codant notamment le domaine de liaison à l'ADN. Cette mutation est rare et les données d'activité montrent une diminution modérée de l'activité. Ce variant est décrit dans COSMIC(v89) et les scores de prediction ne sont pas consensuels. Cette mutation est de signification indeterminée.
008UJC S	50	Variant de TP53 de pathogénicté incertaine. A confronter avec l'analyse réalisée sur un prélèvement non tumoral.
010BJC PGM	50	Mutation de signification inconnue d'après les algorithme, dans IARC TP53, mutation entrainant un fonctionnement partiel de la protéine
015BJC S5XL	50	Absence de mutation de TP53 pathogène Mise en évidence du variant TP53 exon 5 c.469G>A : p.V157I. A considérer comme un SNP rare. Prédit comme potentiellement neutre par les logiciels in silico. Analyse confrontée à IARCTP53 . A confirmer par étude de matériel non tumoral
018BJ S	50	Détection d'une mutation missense: c.469G>A (VAF 50%) sur l'exon 5 du gène TP53. Elle est décrite comme pathogène selon les logiciels de prédictions. Analyses réalisées sur les exons 3 à 11. Elles ne permettent pas d'éliminer d'autres mutations avec un VAF <10% selon le seuil de détection du séquençage Sanger. Ces analyses ne permettent pas d'éliminer la présence d'autres mutations fonctionnelles sur l'exons 1 et 2 (présentes chez < 10% des patients avec un gène TP53 muté).
022BJ MISEQ	40,6	mutation de TP53 V157I. sont caractère pathogène n'est pas confirmé
025BUJC S	55	Mutation dans le domaine de liaison à l'ADN récurrente rapportée dans les bases de données (p53.fr et IARC TP53). L'impact fonctionnel sur la protéine est inconnu.
026BJ MISEQ	42,4	Signification incertaine (germline?)
031BJ S5	53	Mise en évidence d'une mutation dans l'exon 5 de TP53 avec une VAF de 53%: c.469G>A p.(Val157Ile). Il n'existe pas de preuve suffisante pour classer ce variant comme pathogène ou bénin (VUS)
032BC S5	50	Détection d'une mutation de TP53 de type faux sens à un niveau élevé
035BJ MISEQ	50,15	Présence d'une mutation faux sens dans l'exon 5 du gène, ayant pour conséquence une protéine partiellement fonctionnelle.
038BUJ PGM		Absence de mutation dans TP53. Présence d'un variant de signification indéterminée (pathogénicité incertaine, calsse 3 selon ACMG).
040P S	50	Mise en évidence d'un variant faux sens dans l'exon 5. La pathogénicité de cette substitution n'est pas démontrée dans les bases de données (COSM43625).
041B NGS	49,4	Présence d'une mutation pathogénique de TP53. En l'absence d'ADN constitutionnel, la fréquence allélique ne permet pas de savoir s'il s'agit d'une mutation somatique ou constitutionnelle. Un conseil génétique est indiqué.
043BJ NEXTSEQ	52	délétère
047BJC PGM	50	Variant probablement bénin
050BUJC MISEQ	49	Presence d'une mutation faux sens dont l'activité est partielle
051BJC PGM	51,2	Présence d'une mutation faux-sens dans l'exon 5 de TP53; la pathogénicité de cette mutation n'est pas connue
057BJC S	49	Présence d'une mutation du gène TP53 (exon 05, p.Val157Ile) dont la pathogénicité n'est pas connue.
059BJC MISEQ	49	Présence d'une mutation p.V157I de l'exon 5. Mutation de signification incertaine selon les bases de données IARC et TP53 website dont le taux inférieur à 50 % doit être éventuellement confronté aux données du séquencage de cellules germinales.
061BJ MISEQ	47	pathogénicité incertaine, caractère somatique incertain
067BJ PGM	50	Présence d'une mutation V157I sur l'exon 5 de TP53 cette mutation est décrite comme un SNP de faible fréquence donc sa pathogénicité n'est pas certaine.

CONCLUSIONS

S = SANGER

NGS ILLUMINA

NGS ION TORRENT

Problème de nomenclature

Code Laboratoire	CQ21.1 TPA Mutation 1	CQ21.1 TPB Mutation 1	CQ21.1 TPB Mutation 2	CQ21.1 TPC Mutation 1	CQ21.1 TPC Mutation 2	CQ21.1 TPC Mutation 3	CQ21.1 TPD Mutation 1
005BUJC MISEQ	Muté p.S166*	Muté p.R282W	Muté p.R209fs*6	Muté p.Y234C	Muté p.M384fs	Muté p.L111P	Muté p.V157I
006BUC-1 NEXTSEQ	Muté p.Ser166*	Muté p.Arg282Trp	Muté p.Arg209Lysfs*6	Muté p.Tyr234Cys	Muté p.Met384Cysfs*?	Muté p.Leu111Pro	Muté p.Val157Ile
006BUC-2 NEXTSEQ	Muté p.Ser166*	Muté p.Arg282Trp	Muté p.Arg209Lysfs*6	Muté p.Tyr234Cys	Muté p.Met384Cysfs*?	Muté p.Leu111Pro	Muté p.Val157Ile
007BUJ S	Muté p.Ser166*	Non muté	Non muté	Muté p.(Tyr234Cys)	Muté p.(Met384Cysfs*38)	Non muté	Muté p.(Val157Ile)
008UJC S	Muté p.S166*	Muté p.R282W	Non muté	Muté p.Y234C	Non muté	Non muté	Muté p.V157I
010BJC PGM	Muté p.S166X	Non muté	Muté p.R209fs*	Muté p.Y234C	Muté p.L383fs	Muté p.L111P	Muté p.V157I
015BJC S5XL	Muté p.S166X	Muté p.R282W	Muté p.R209KfsX6	Muté p.Y234C	Muté p.M384CfsX38	Muté p.L111P	Muté p.V157I
018BJ S	Muté p.S166*	Muté p.R282W	Non muté	Muté p.Y234C	Muté P.(M384Cfs*38)	Non muté	Muté p.V157I
022BJ MISEQ	Muté p.S166*	Muté p.R282W	Muté p.R209Kfs*6	Muté p.Y234C	Muté p.M384Cfs*?	Muté p.L111P	Muté p.V157I
025BUJC S	Muté p.S166X	Muté p.R282W	Non muté	Muté p.Y234C	Non muté	Non muté	Muté p.V157I
026BJ MISEQ	Muté p.Ser166Ter	Muté p.Arg282Trp	Muté p.Arg209LysfsTer6	Muté p.Tyr234Cys	Muté p.Met384CysfsTer38	Muté p.Leu111Pro	Muté p.Val157Ile
031BJ S5	Muté p.Ser166*	Muté p.Arg282Trp	Muté c.626_627del	Muté p.Tyr234Cys	Non muté	Muté p.Leu111Pro	Muté p.Val157Ile
032BC S5	Muté p.S166*	Muté p.R282W	Muté p.R209Kfs*6	Muté p.Tyr234C	Muté p.M384Cfs*38	Muté p.L111P	ECHEC
035BJ MISEQ	Muté p.Ser166*	Muté p.Arg282Trp	Muté p.(Arg209Lysfs*6)	Muté p.Tyr234Cys	Muté p.(Met384Cysfs*38)	Muté p.Leu111Pro	Muté p.Val157Ile
038BUJ PGM	Muté p.S166Ter	Muté p.R282W	Non muté	Muté p.Y234C	Muté p.M384fs	Muté p.L111P	Muté p.V157I
040P S	Muté p.Ser166*	Muté p.R282W	Muté p.R209Kfs*6	Muté p.Y234C	Muté p.M384Cfs*38	Non muté	Muté p.V157I
041B NGS	Muté p.S166*	Muté p.R282W	Muté p.R209fs*6	Muté p.Y234C	Muté p.M384fs*38	Muté p.L111P	Muté p.V157I
043BJ NEXTSEQ	Muté p.Ser166*	Muté p.Arg282Trp	Muté p.Arg209Lysfs*6	Muté p.Tyr234Cys	Muté p.Met384Cysfs*38	Muté p.Leu111Pro	Muté p.Val157Ile
047BJC PGM	Muté p.S166X	Muté p.R282W	Muté p.R209Kfs	Muté p.Y234C	Muté p.L383fs	Muté p.L111P	Muté p.V157I
050BUJC MISEQ	Muté p.Ser166*	Muté p.Arg282Trp	Muté p.Arg209fs	Muté p.Tyr234Cys	Muté p.Met384fs	Muté p.Leu111Pro	Muté p.Val157Ile
051BJC PGM	Muté p.S166*	Muté p.R282W	Muté p.R209fs	Muté p.Y234C	Non muté	Muté p.L111P	Muté p.V157I
057BJC S	Muté p.S166*	Muté p.R282W	Muté p.R209Tfs	Muté p.Y234C	Muté p.M384Cfs*9	Non muté	Non muté
059BJC MISEQ	Muté p.S166*	Muté p.R282W	Muté p.R209fs	Muté p.T234C	Muté p.M384fs	Muté p.L111P	Muté p.V157I
061BJ MISEQ	Muté p.Ser166*	Muté p.Arg282Trp	Muté p.Arg209Lysfs*6	Muté p.Tyr234Cys	Muté p.Met384Cysfs*	Muté p.Leu111Pro	Muté p.Val157Ile
067BJ PGM	Muté p.S166*	Muté p.R282W	Non muté	Muté p.Y234C	Non muté	Muté p.L111P	Muté p.V157I
069NP MISEQ	Muté p.Ser166*	Muté p.R282W	Muté p.R209Kfs*6	Muté p.Y234C	Muté p..M384Cfs*?	Muté p.L111P	Muté p.V157I
070BJC S	Muté p.S166*	Muté p.R282W	Non muté	Muté p.Y234C	Non muté	Non muté	Muté p.V157I
Moyenne VAF	**47,9%**	**63,7%**	**8,7%**	**36,3%**	**35,7%**	**7,7%**	**48,4%**
Labo Illumina qui trouvent la mutation	**11 (100%)**	**11 (100%)**	**11 (100%)**	**11 (100%)**	**11 (100%)**	**11 (100%)**	**11 (100%)**
Labo Ion Torrent qui trouvent la mutation	**8 (100%)**	**7 (88%)**	**5 (71%)**	**8 (100%)**	**5 (63%)**	**8 (100%)**	**7 (88%)**
Labo SANGER qui trouvent la mutation	**7 (100%)**	**6 (86%)**	**1 (14%)**	**7 (100%)**	**4 (57%)**	**0 (0%)**	**6 (86%)**

CONCLUSIONS

Résultats très satisfaisants

- NGS
  - ✓ 95% à 100% de réponses correctes pour les mutations ponctuelles
  - ✓ 84% de réponses correctes pour les insertions/délétions
- SANGER
  - ✓ 86% à 100% de réponses correctes pour les mutations ponctuelles
  - ✓ 57% de réponses correctes pour les insertions/délétions malgré VAF à 35,7%

Amélioration des nomenclatures

- CQ20.1 → 11 erreurs
- CQ21.1 → 1 erreur

Remplissage des formulaires

- Bien mettre l'information demandée dans chaque case
- Réserver le NM, l'exon, … à la case commentaire

→ **Facilite l'analyse des résultats**

Ex: «TP53 exon 5 c.469G>A : p.V157I» dans case AA au lieu de «p.V157I»

DISCUSSIONS

Mutations avec des VAF < 5%

- Renseigner dans le formulaire toutes les mutations vues
  - ➔ Création d'une base de données GBMHM
  - ➔ Vérifier la reproductibilité des résultats pour les VAF < 5% → Réduire la limite de détection à 2%

- Hétérogénéité du rendu des résultats pour les mutations avec des VAF entre 1% et 2%
  - ➔ Vérifier par PCR digitale si les mutations sont bien présentes

Exons

- Quelles sont les recommandations de l'ERIC sur les exons à analyser ?

BANQUES D'ECHANTILLONS

- **Format**
  - **Echantillons d'ADN patients**

- **But**
  - **Avoir des échantillons EEQ proches de ceux analysés en routine**
  - **Anonymisation des échantillons envoyés lors des EEQ**

- **Ressources**
  - **Echantillons d'ADN provenant des laboratoires membres du GBMHM**
  - **30µg d'ADN à une concentration minimum de 100ng/µL**
  - **Possibilité d'envoyer du sang → Extraction faite sur la plateforme**

Des volontaires pour alimenter la banque d'échantillons?