

GENETIC DIAGNOSTIC OF FAMILIAL HYPERCHOLESTEROLEMIA

Doctors:	Dr Title 1 Dr Title 2	
Studied genes:	LDLR, APOB, PCSK9	
Family name: Middle name: Given name: Date of birth: Sex: F	Request No: NIP: External Ref:	Sample Nature: Blood EDTA Sample No: Collection Date: Reception Date:
Indication:	Cas index	
Analysis method:		
Search for punctual mutations:	Multiplex amplification (Multiplicom, kit <i>ADH MASTR assay VI.O</i>) high throughput sequencing (automate MiSeq and analysed par SeqNext V4.1.2); sequencing validation Sanger of exons with lower cover than 30X (automate ABI3730 and analysis with Seqscape V2.5) - coding exons and intron regions separating the genes : <i>LDLR</i> (NM_000527.4) <i>PCSK9</i> (NM_174936.3) -coding region c.10182 to c.11105 of gene <i>APOB</i> (NM_000384.2)	
Results:		
	Identification of an heterozygote status of a mutation in <i>LDLR gene</i> (NM_000527.4) exon 14,c.2043C>A,p.Cys681 * (codon 660 excluding the signal peptide)	
Conclusion and comments:		
The promoters and exons of the coding genes for LDLR and PCSK9 as well as for the ApoB region implicated in the binding to LDLR were studied. During the conduct of this analysis, a mutation of the LDLR gene (exon 14, nucleotide 2043, C-> A) was identified in the heterozygous status of the patient. This mutation, which has already been associated with Familial Hypercholesterolemia, induces the transformation of Cysteine (C) with a stop codon (X) in position 681 (p.Cys681 *; codon 660 excluding the signal peptide, C660X). This induces a reduction in the expression of the receptor on the cell surface (degraded mRNA and/or production of a truncated protein). An additional confirmation analysis and the continuation of the family survey are desirable.		
Prescribed by:	Date:	Doctor:

GENETIC DIAGNOSTIC OF FAMILIAL HYPERCHOLESTEROLEMIA

Doctors:	Dr Title 1 Dr Title 2	
Studied genes:	LDLR, APOB, PCSK9	
Family name: Middle name: Given name: Date of birth: Sex:	Request No: NIP: External Ref:	Sample Nature: Blood EDTA Sample No: Collection Date: Reception Date:
Indication:		
Analysis method:		
1. Search for punctual mutations:	Multiplex amplification (Multiplicom, kit <i>ADH MASTR assay VI.O</i>) high throughput sequencing (automate MiSeq and analysed par SeqNext V4.1.2); sequencing validation Sanger of exons with lower cover than 30X (automate ABI3730 and analysis with Seqscape V2.5) - coding exons and intron regions separating the genes : <i>LDLR</i> (NM_000527.4) <i>PCSK9</i> (NM_174936.3) -coding region c.10182 to c.11105 of gene <i>APOB</i> (NM_000384.2)	
2. Search for significant rearrangements in <i>LDLR</i> gene	Identification of CNV (" <i>Copy Number Variation</i> ") using Sophia DDM V4.1.1 software	
Results:		
Sequencing of LDLR, APOB, PCSK9:	Absence of identified mutation	
Search for CNV LDLR:	Absence of detected rearrangement	
Conclusion and comments:		
No mutation was found for this patient during the sequencing of the promoters and exons of the genes coding for LDLR and PCSK9 and that for the region of APOB involved in its binding to the LDLR. No significant rearrangements were observed in the LDLR gene. Following to the performed analysis no molecular anomalies were identified related to the Hypercholesterolemia for this patient. NB: The results do not exclude the presence of rare mutations located outside the analyzed regions (intronic regions, regulatory regions or the un-identified genes) or undetected mutations due to limitation of method used for analysis.		
Prescribed by:	Date:	Doctor:

DIAGNOSTIC GÉNÉTIQUE DE L'HYPERCHOLESTÉROLÉMIE FAMILIALE

Gènes étudiés: *LDLR*, *APOB*, *PCSK9*

Nom de Naissance:	N° demande : 661601026744	Nature de l'échantillon : Sang EDTA
Nom Usuel :	Famille :	Echantillon n° : 16EN000024
Prénom :	NIP : 4507110768	Prélevé le : 07/01/2016
Né(e) le : 30/04/1954	Sexe : F	Ref externe : 661601026744
		Reçu le : 08/01/2016

Indication : Cas index

Méthode d'analyse :

Recherche de mutations ponctuelles

amplification multiplex (Multiplicom, kit *ADH MASTR assay V1.0*) et séquençage haut débit (automate MiSeq et analyse par SeqNext V4.1.2); validation en séquençage Sanger des exons ayant une couverture inférieure à 30X (automate ABI3730 et analyse par Seqscape V2.5)

- *exons codants et régions introniques flanquantes des gènes:*

LDLR (NM_000527.4) ***PCSK9*** (NM_174936.3)

- *région codante c.10182 à c.11105 du gène **APOB*** (NM_000384.2)

Résultat :

Identification à l'état **hétérozygote** d'une **mutation du gène *LDLR*** (NM_000527.4)
exon 14, c.2043C>A, p.Cys681* (codon 660 sans compter le peptide signal)

Commentaires et conclusion :

Les promoteurs et exons des gènes codant pour le LDLR et PCSK9 ainsi que pour la région de l'APOB impliquée dans sa liaison au LDLR ont été étudiés.

Au cours de cette analyse nous avons identifié, à l'état **hétérozygote** chez cette patiente une mutation du gène ***LDLR*** (exon 14, nucléotide 2043, C->A). Cette mutation, qui a déjà été décrite comme étant associée à l'hypercholestérolémie familiale, conduit à la transformation du Cystéine (C) en un codon Stop (X) en position 681 (p.Cys681*; codon 660 sans compter le peptide signal, C660X). Elle doit aboutir à une baisse d'expression du récepteur à la surface des cellules (ARNm dégradé et/ou synthèse d'une protéine tronquée).

Un deuxième prélèvement de confirmation et la poursuite de l'enquête familiale sont souhaitables.

Prescrit par:

Date de Compte Rendu : 11 octobre 2016

DIAGNOSTIC GÉNÉTIQUE DE L'HYPERCHOLESTÉROLÉMIE FAMILIALE

Gènes étudiés: *LDLR*, *APOB*, *PCSK9*

Nom de Naissance:	N° demande : 661601088291	Nature de l'échantillon : Sang EDTA
Nom Usuel	Famille :	Echantillon n° : 16EN000067
Prénom :	NIP :	Prélevé le : 21/01/2016
Né(e) le : 16/11/1977	Sexe :M	Ref externe : 661601088291
		Reçu le : 22/01/2016

Indication : Cas index

Méthode d'analyse :

1) Recherche de mutations ponctuelles

amplification multiplex (Multiplicom, kit *ADH MASTR assay V1.0*) et séquençage haut débit (automate MiSeq et analyse par SeqNext V4.1.2); validation en séquençage Sanger des exons ayant une couverture inférieure à 30X (automate ABI3730 et analyse par Seqscape V2.5)

- *exons codants et régions introniques flanquantes des gènes:*

LDLR (NM_000527.4) *PCSK9* (NM_174936.3)

- *région codante c.10182 à c.11105 du gène APOB* (NM_000384.2)

2) Recherche de grands réarrangements du gène *LDLR*

Identification de CNV ("Copy Number Variation") par le logiciel Sophia DDM V4.1.1

Résultat :

Séquençage *LDLR*, *APOB*, *PCSK9*: **Absence** de mutation identifiée.

Recherche CNV *LDLR*: **Absence** de réarrangement détecté.

Commentaires et conclusion :

Le séquençage chez ce patient des promoteurs et exons des gènes codant pour le *LDLR* et *PCSK9* ainsi que pour la région de l'*APOB* impliquée dans sa liaison au *LDLR* n'a pas permis de retrouver de mutation de ces gènes.

Par ailleurs, la recherche de grand réarrangement du *LDLR* s'est avérée négative.

Au terme de ces analyses nous n'avons pas réussi à identifier d'anomalie moléculaire à l'origine de l'hypercholestérolémie chez ce patient.

NB: Ce résultat ne permet pas d'exclure la présence de mutations rares localisées hors des régions analysées (régions introniques, régions régulatrices ou gènes non encore identifiés) ou de mutations non détectées par la technique utilisée.

Prescrit par:

Date de Compte Rendu : 5 décembre 2016

Docteur