



Projet Consortium (Groupe?) CDG-France

- G2m (Pascale de Lonlay)
- Bichat - Biochimie-INSERM
 - Lyon (David Cheillan)
- Necker et KB (Delphine Borgel, Alexandre Kauskot)
- Lille (François Foulquier, Zoé Durin, Anne Harduin-Lepers)
 - Imagine (Hortense de Calbiac, Pascale de Lonlay)
 - CEA Saclay (François Fenaille, Yann Tenier, Gabriel Mansour)
- G2m (Jean-Meidi Alili, Pascale de Lonlay)



CDG et clinique, filière G2m (coordination P de Lonlay)

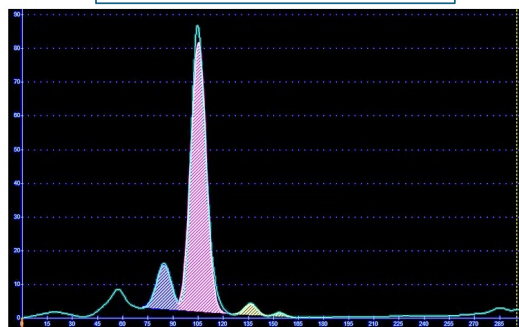
- Diagnostic:
 - que 2 labos, qui sont dans G2m > réseau très bien organisé
 - Génomes autres équipes > retour vers ces 2 labos pour études fonctionnelles
- RCP CDG nouveaux patients interfilière: diagnostic et traitement
 - Mounira: re rediffuser la RCP à toutes les filières; ce sont svnt ces 2 labos qui invitent médecins à RCP
- CCP obtenu pour tout traitement et tout CDG pour la filière (p de lonlay et c tuchmann-durand)
- Protocole urgences pour PMM2-CDG (site internet)
 - Fièvre: anomalies hémostase et thrombose/saignement/CIVD/Stroke-like
 - Question Est-ce vasculaire ou aussi pb trafic ? Qs F Foulquier et HdC/PdL
- Necker: PMM2-CDG essais cliniques
 - site phase II Man-1-P glycomine démarrage juin 2025
 - PHRC en cours écriture multi-sites diamox et epalrestat
- Necker Pour delphine hemostase
 - Voir heteroZ parents hemostase (F Foulquier) et surtout si fièvre ?
 - donner liste CDG necker pour re regarder a posteriori (FVIII notamment)
 - Relever pour delphine borgel à sa demande (mais prlevts systematiques)
- Journée 27 et 28 mars 2025 recherche et clinicobio
- Discuter le reglementaire/declaration banque biologique – jean-meidi allili (serum systematiquement envoyé au labo et Fibro)
- Faire registre ? Notamment pour
 - hemostase des nouveaux CDG
 - CDG traitables/traités: evolution naturelle et sous traitement
 - Tous nos CDG – force de frappe que 2 labos et 1 RCP-G2m qui centralise

Biochimie Bichat

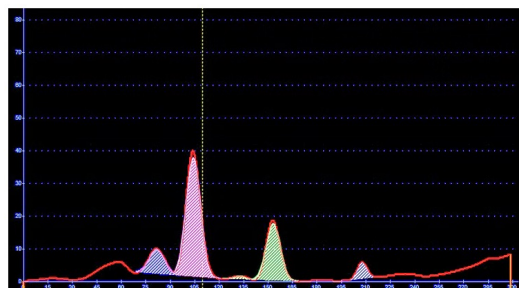
Thierry Dupré, Sandrine Vuillaumier-Barrot, Arnaud Bruneel,
Elodie Lebredonchel, Alexandre Raynor, Katell Peoc'h
2 techniciens référents : Faly Cisse & Yoann Cabeza



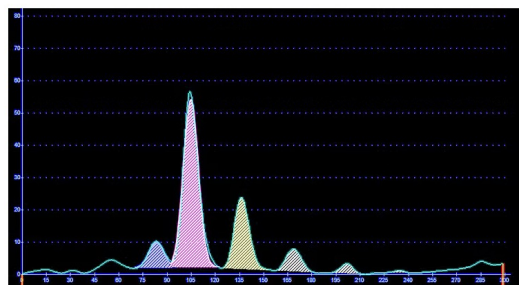
Capillaire Transferrine (N-glycosylation)



CDG type 1 pattern

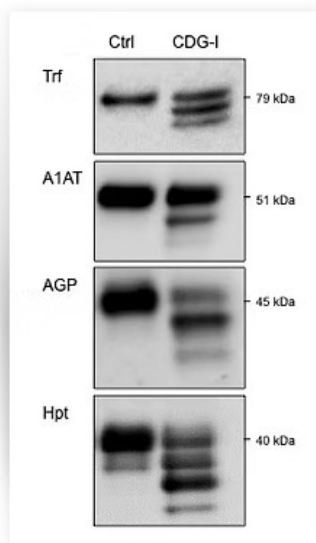


CDG type 2 pattern



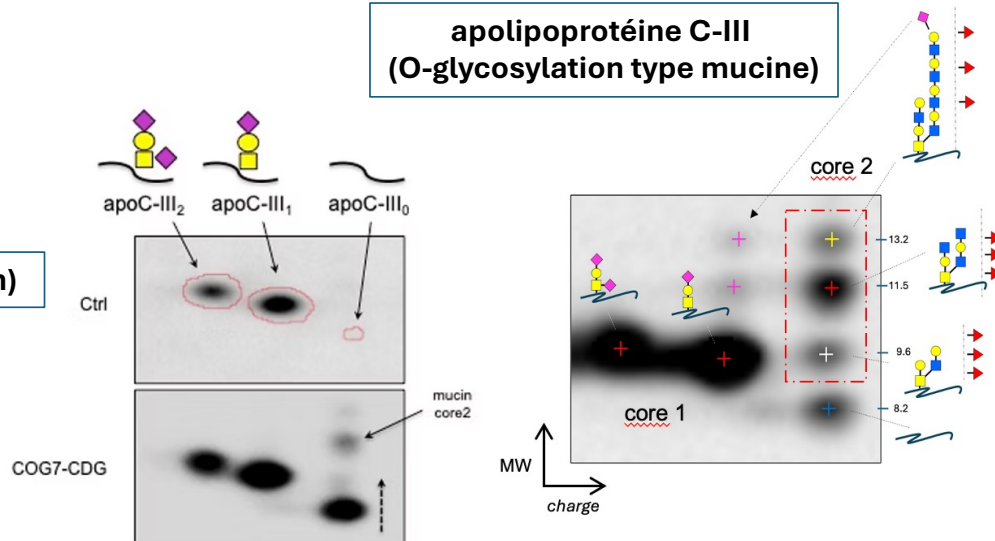
→ 1500/2000
dépistages CDG/an

Western-blot (N-glycosylation)

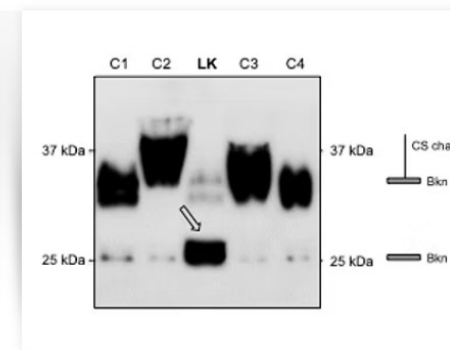
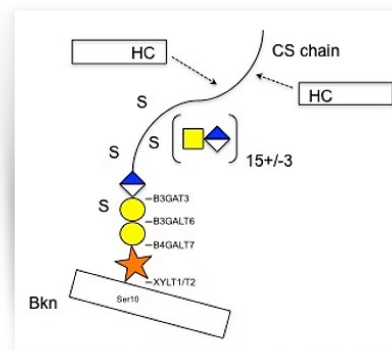


→ Sérothèque
→ Cellules (fibroblastes)

apolipoprotéine C-III (O-glycosylation type mucine)



Bikunine (GAG type chondroïtine sulfate)



+ dosage mannose
+ dosage sorbitol

+ trafic et lectines et
cytosquelette possibles
à Saclay

Panel 44 CDG genes

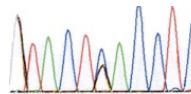
CDG I (n=24) + others (n=2)		CDG II (n=18)
MPI	DOLK	MGAT2
PMM2 + intron 7	DPM1	COG1
ALG1	DPM2	COG5
ALG11	DPM3	COG6
ALG12	STT3A	COG7
ALG13	PGM1	COG8
ALG14	GALT	ATP6V0A2
ALG3	ALDOB	Man1B1
ALG6		B4GALT1
ALG8		SLC35A1
ALG9		SLC35A2
DHDDS		SLC35A3
DPAGT1		TRAPPC11
MPDU1		CCDC115
RFT1		TMEM199
SRD5A3		ATP6AP1
SSR4		ATP6AP2
SSR2		ATP6V1F

Génétique

α-DG genes Panel

B3GALNT2
B3GNT1
DAG1
FKRP
FKTN
GMPPB
INPP5K
ISPD
LARGE
POMGNT1
POMGNT2
POMK
POMT1
POMT2
TMEM5

- *Gene sequencing*
 - Sanger
 - Panel NGS
 - exome
- *Whole genome sequencing : SeqOIA*
 - CDG 1 & 2
 - Alpha dystroglycanopathies
 - GLUT1



NGS and Sanger
Sequencing

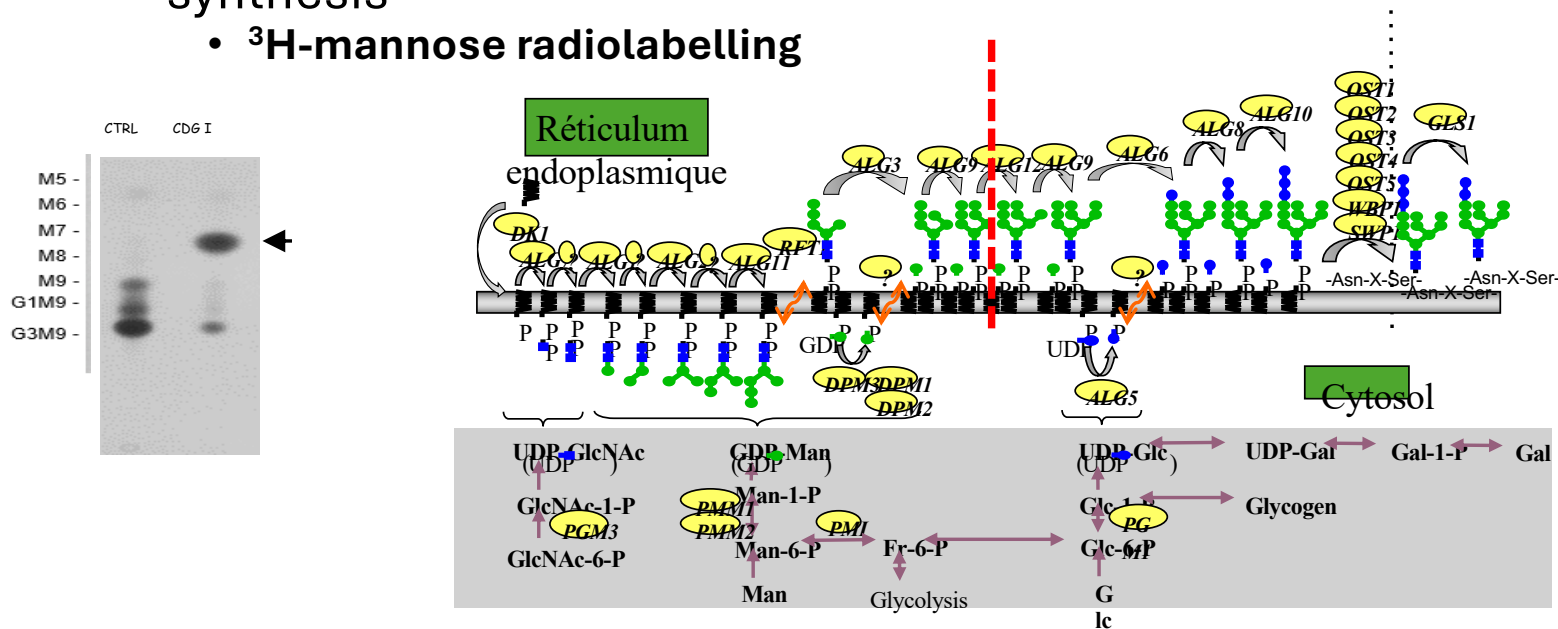
→ *Post and prenatal diagnosis*

Collaboration with the Inserm group

S. Moore, I. Chantret



- Phenotypic characterisation of the blocking step of the oligosaccharide synthesis
 - ^3H -mannose radiolabelling



- Yeast transcomplementation
- Enzyme activity assay
- c-DNA studies

Service Biochimie et Biologie Moléculaire

LBMR « MHM » dont CDG syndromes

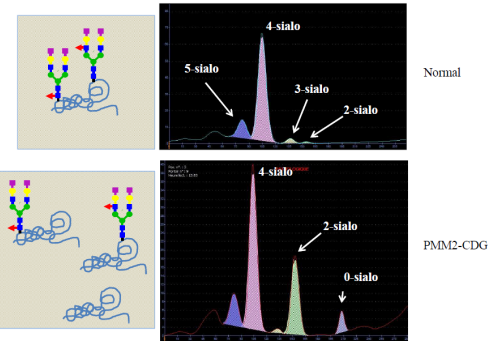
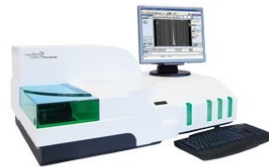
Dr David Cheillan

Diagnostic biochimique

Profil de glycosylation plasmatique

~400 prélèvements / an

1 / Transferrine
carboxydéficiente en
Électrophorèse capillaire

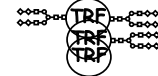


2 / Transferrine et orosomucoïde en WB
(DBS)

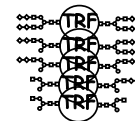
Contrôle



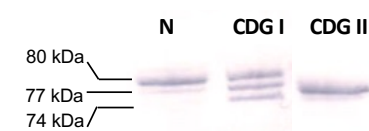
CDG I



CDG II



Western Blot





Service Biochimie et Biologie Moléculaire

LBMR « MHM » dont CDG syndromes

Dr David Cheillan

Diagnostic moléculaire

Profil de glycosylation plasmatique

~20 CI/ an + 20 LA (anasarque)

Design d'un panel « CDG_113gènes »
comprenant les gènes de la N-
Glycosylation + « GPI »-CDG
Capture Roche + Illumina



Panel Anomalies de la glycosylation: liste des 113 gènes étudiés :

ALG1 (NM_019109), ALG10 (NM_032834), ALG11 (NM_001004127), ALG12 (NM_024105), ALG13 (NM_001099922), ALG14 (NM_144988), ALG2 (NM_033087), ALG3 (NM_005787), ALG5 (NM_013338), ALG6 (NM_013339), ALG8 (NM_001007027), ALG9 (NM_024740), ATP6AP1 (NM_001183), ATP6AP2 (NM_005765), ATP6V0A2 (NM_012463), ATP6V1A (NM_001690), ATP6V1E1 (NM_001696), B4GALT1 (NM_001497), CAD (NM_004341), CCDC115 (NM_032357), COG1 (NM_018714), COG2 (NM_007357), COG3 (NM_031431), COG4 (NM_015386), COG5 (NM_006348), COG6 (NM_020751), COG7 (NM_153603), COG8 (NM_032382), DDOST (NM_005216), DHDDS (NM_205861), DOLK (NM_014908), DPAGT1 (NM_001382), DPM1 (NM_001317034), DPM2 (NM_003863), DPM3 (NM_018973), FUT8 (NM_178155), GFPT1 (NM_001244710), GMPPA (NM_205847), GPAA1 (NM_003801), MAGT1 (NM_032121), MAN1B1 (NM_016219), MGAT2 (NM_002408), MOGS (NM_006302), MPDU1 (NM_004870), MPI (NM_002435), NANS (NM_018946), NUS1 (NM_138459), PGAP1 (NM_024989), PGAP2 (NM_014489), PGAP3 (NM_033419), PGM1 (NM_002633), PGM3 (NM_001199917), PIGC (NM_153747), PIGG (NM_001127178), PIGL (NM_004278), PIGN (NM_176787), PIGO (NM_032634), PIGP (NM_153681), PIGS (NM_033198), PIGT (NM_015937), PIGV (NM_001202554), PIGW (NM_178517), PIGY (NM_001042616), PMM2 (NM_000303), RFT1 (NM_052859), SLC35A1 (NM_006416), SLC35A2 (NM_005660), SLC35A3 (NM_001271685), SLC35C1 (NM_018389), SLC39A8 (NM_022154), SLC9A7 (NM_001257291), SRD5A3 (NM_024592), SSR4 (NM_001204526), STT3A (NM_001278503), STT3B (NM_178862), TMEM165 (NM_018475), TMEM199 (NM_152464), TRAPPC11 (NM_021942), TRAPPC12 (NM_001321102), TUSC3 (NM_006765), VPS13B (NM_017890)

Delphine Borgel, Alexandre Kauskot

Plaquettes & coagulation

INSERM U1176 Hémostase, inflammation, thrombose, KB
+ Necker

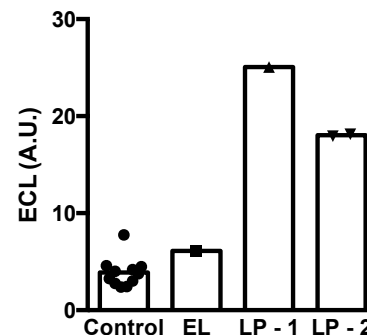
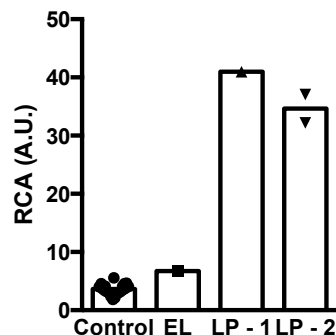
Plaquettes et glycosylation

Avancées récentes montrent : que l'exposition du beta-galactose est un signal de clairance des plaquettes

Technique de base au laboratoire : cytométrie en flux – lectines + tous les tests fonctionnels des plaquettes

- Nous avons montré le rôle de SLC35A1 dans la survie des plaquettes (patients)
- Nous avons investigué (sans publier) des patients GNE : bien qu'il n'existe pas de biomarqueur, les plaquettes semblent montrer un déficit en acide sialique (publié par d'autres groupes) et nous le voyons également.

Est-ce que la plaquette pourrait être un biomarqueur chez les patients GNE ?



Contrôles sains n= 33
EL : contrôle (mère)
LP : patient GNE à 2 prlvts (1 et 2)

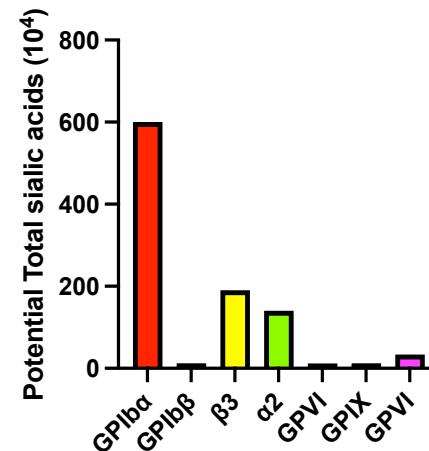
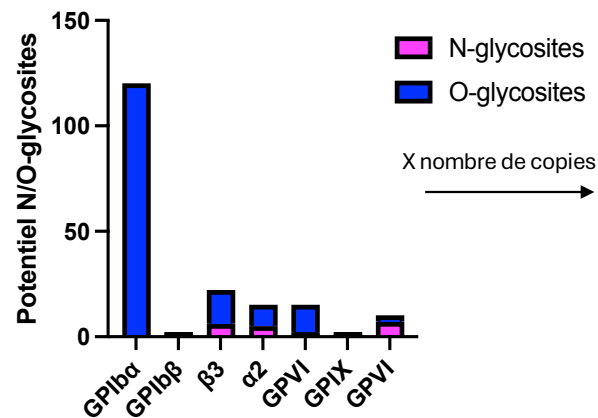
Plaquettes et glycosylation

Les N-glycans sont importants pour les fonctions de plaquettes : nous avons montré un impact d'un déficit en MAGT1 (XMEN) sur les fonctions des plaquettes

Bien que les N-glycosylations soient importantes, nous avons une vue qui est encore limitée :

- Bien que nous avons l'analyse de la N-glycomique
- **L'analyse de la O-glycomique est primordiale** (faite par les collègues/concurrents? International) car les principaux récepteurs portent plus de O-glycosylations que des N.

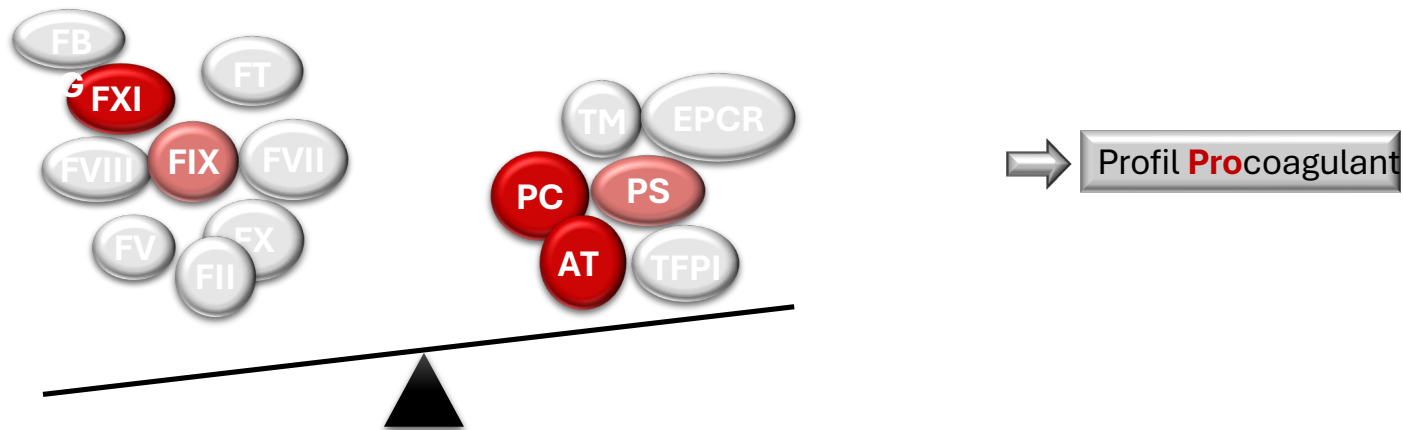
Analyse sur NetNGlyc 1.0 & NetOGlyc 4.0



Coagulation et glycosylation

Anomalies caractéristiques de la coagulation dans les CDG de type I

Touchant à la fois des facteurs anticoagulants (AT, PC, PS) et procoagulants (FIX, FXI)



Questions:

- Les patients hétérozygotes ont-ils des taux strictement normaux des facteurs de la coagulation?
- Un taux à la limite de la normale d'AT, de PC, de PS, de FIX ou de FXI peut-il être expliqué par une hétérozygotie?
- Ont-ils un risque thrombotique accru ?

Etude des apparentés?

Institut Imagine
Hortense de Calbiac - Zebrafish



Zebrafish to model metabolic diseases

Advantages



- Vertebrate
- Similar biology and genetics to humans
- Measurable behaviour
- Transparent
- Permeable
- Easy to modify genetically
- High reproduction rate
- Fast and external development
- Small size

Genetic investigation
Gene editing, gene inhibition,
test of variants pathogenicity
Transgenic models

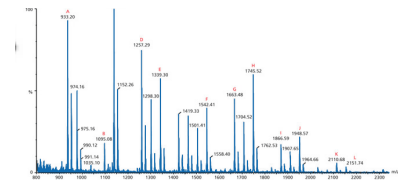
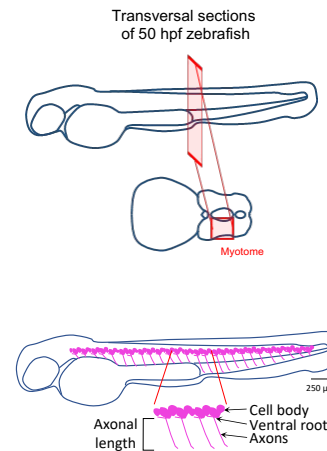
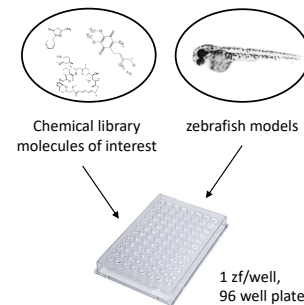
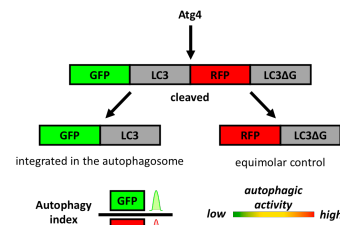
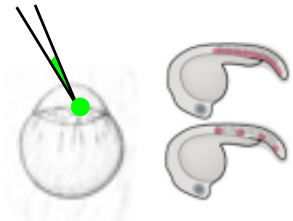
Behavioural screens

Physiopathological mechanisms

Chemical screens

Tissues' contribution to disease,
development, organs
morphology

« omics » analysis
Proteomics, transcriptomics,
metabolomics, lipidomics)





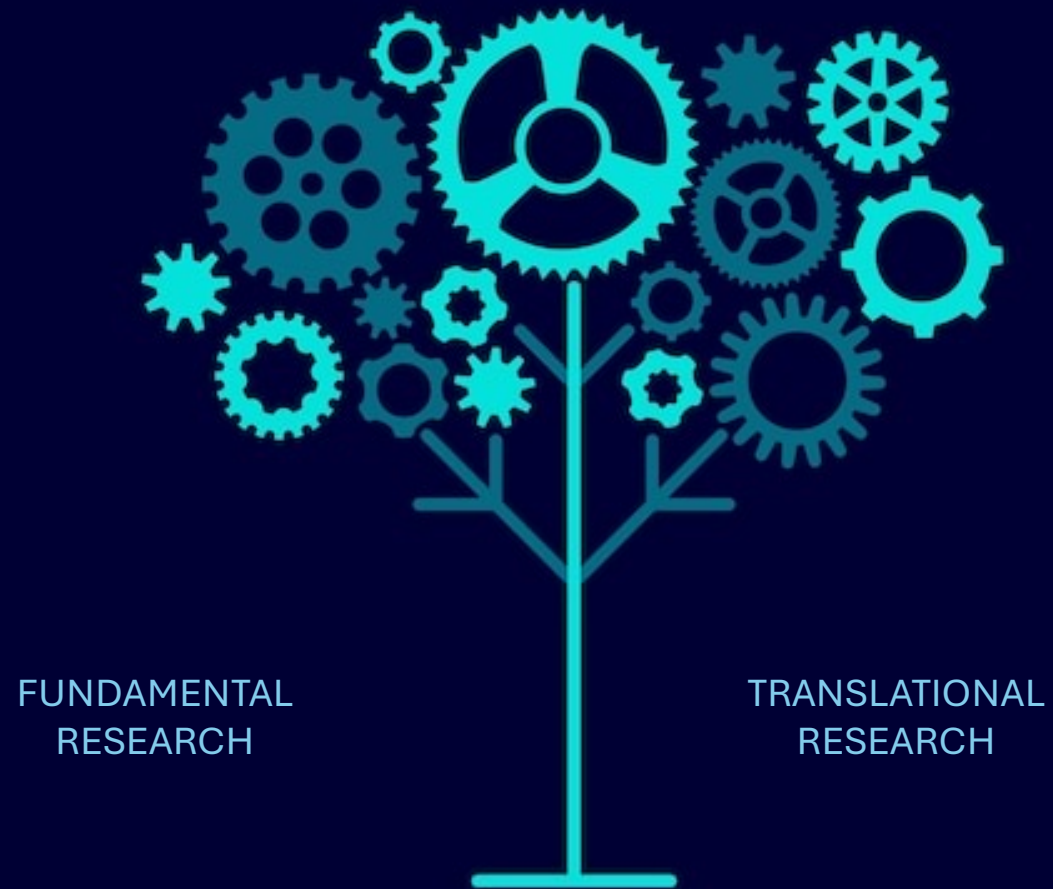
Lille

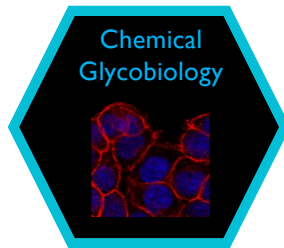
François Foulquier, Zoé Durin, Anne Harduin-Lepers

UGSF UMR8576 CNRS

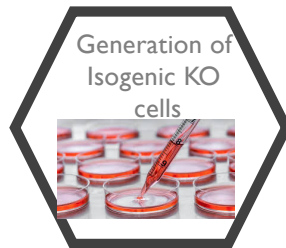
In Lille

Glycobiology engineering

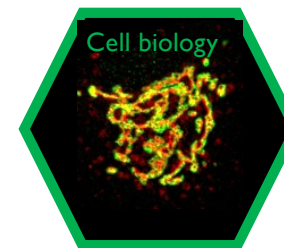
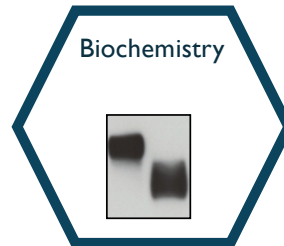




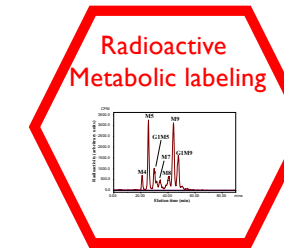
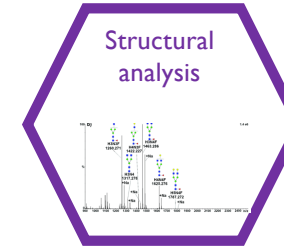
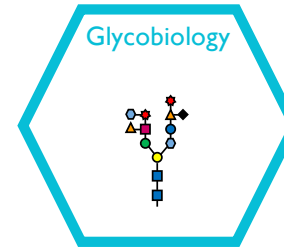
- ❖ Sialic acid pathway/
Fucose pathway
- ❖ Follow the trafficking of
glycoconjugates
- ❖ Visualize a defect by click
chemistry



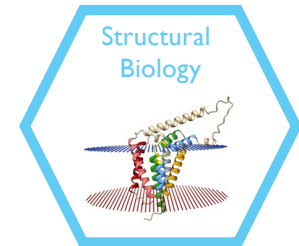
- ❖ Mammalian cells:
KO TMEM165,
SLC10A7, SPCA1...
Complemented or not
- ❖ Yeast:
KO for any genes,
Double KO, Triple KO



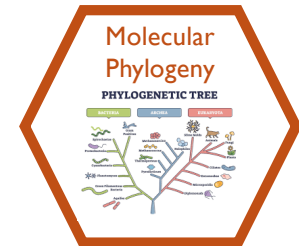
- ❖ Confocal microscopy
- ❖ Expression of tagged fluo
proteins
- ❖ RUSH for the dynamic
- ❖ Ca²⁺ analysis
- ❖ ICP-MS to measure Mn²⁺



- ❖ N- , O-GalNAC and glycolipid analysis by
Mass spec, In cells but also fluids
- ❖ ER glycosylation analysis, LLO, NLO and free
oligosaccharide
- ❖ NMR for polymannan yeasts analysis
- ❖ Test in vitro for glycosylation enzyme
activities



- ❖ Alpha fold model



CEA Saclay
François Fenaille, Yann Tenier, Gabriel Mansour



CEA Saclay François Fenaille

Laboratoire Innovations en spectrométrie de Masse pour la Santé (LI-MS)

Mass spectrometry-based omics methods

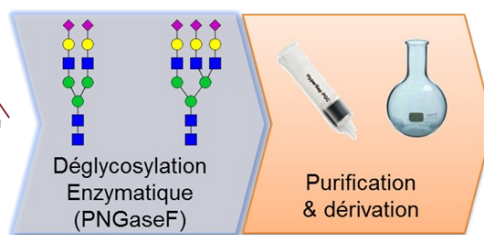
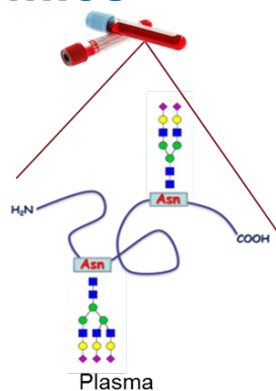
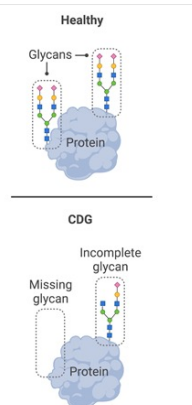
Biomarker Discovery

Biomarker Validation

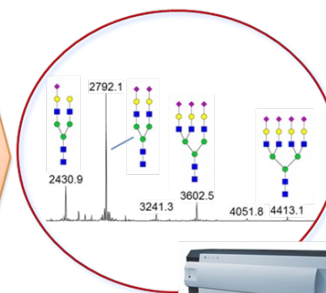
Detection/Diagnostic



N-glycomics



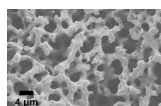
Purification
& dérivation



Spectrométrie
de masse

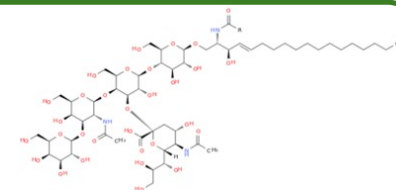


Serum/plasma,
Platelets,
Fibroblasts...

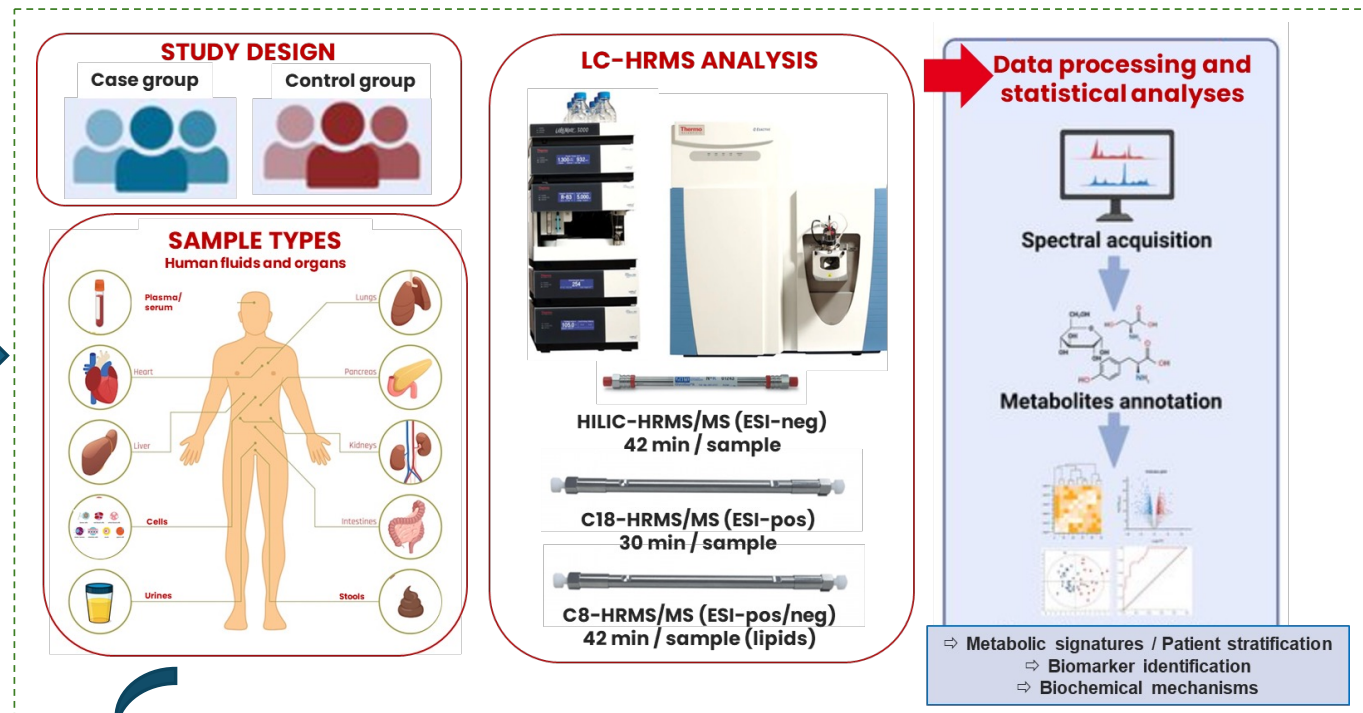
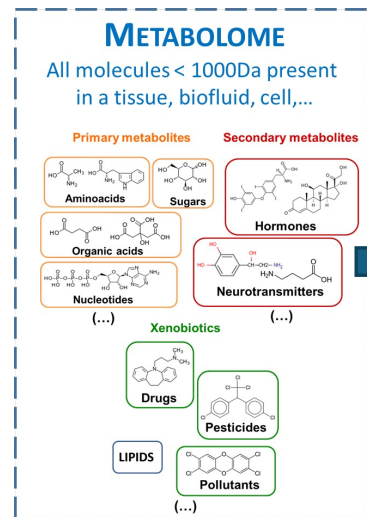


Porous silica monoliths for efficient glycan
purification
(PhD G. Mansour)

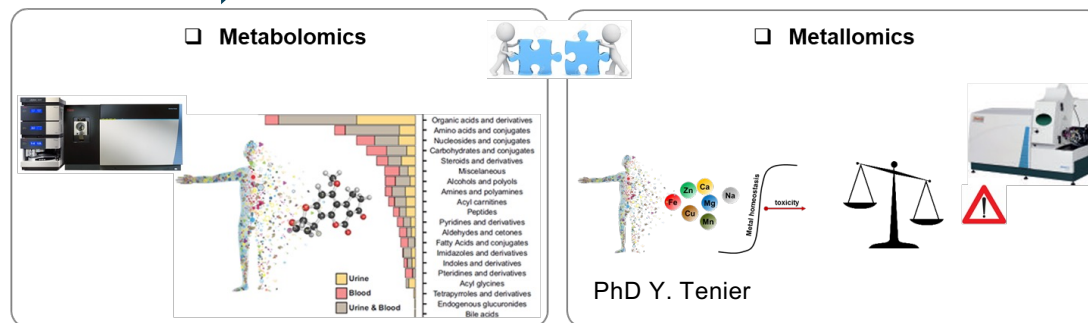
Glycolipids



Metabolomics



Metabolomics+Metallomics (CDG)



G2m
Jean-Meidi Alili



Pharmacien filière G2m, référent traitements et recherche

- **recherche de matières premières de qualité pharmaceutique** (MPUP)
- **échange avec académiques, autorités de tutelle (ANSM, HAS, DGS/DGOS...) et industriels pour mise à disposition de traitements** avec différents statuts réglementaires (préparation, accès compassionnel, etc.)
- diffusion information filière, notamment si besoin **recrutement essai clinique** (*via* guichet unique G2m)

- **biobanque collections biologiques « fond de tube »**