

SOFFOET 20 Juin 2014
Actualités en génétiques



Séquençage Haut Débit : De la foetopathologie au gène

Tania Attié-Bitach
Hôpital Necker –Enfants Malades
INSERM U781, Paris



EMBRYOFOETOPATHOLOGIE

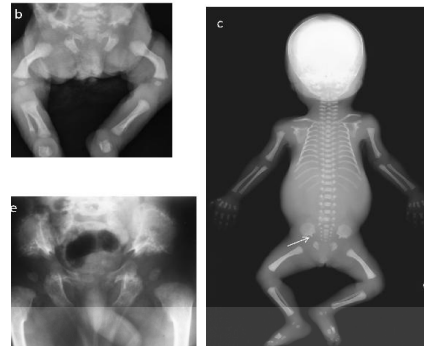
- Mort *in utero*
- IMG pour malformation

Clinique



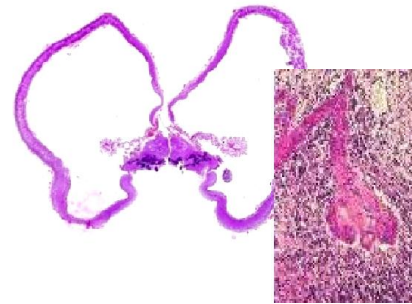
CHARGE

Radiographies

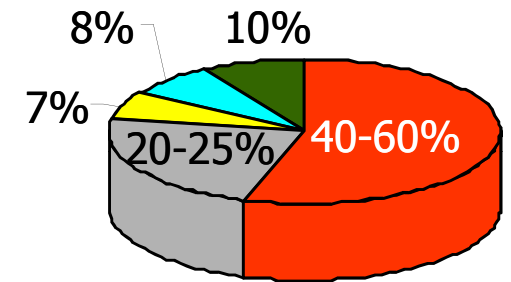


JEUNE

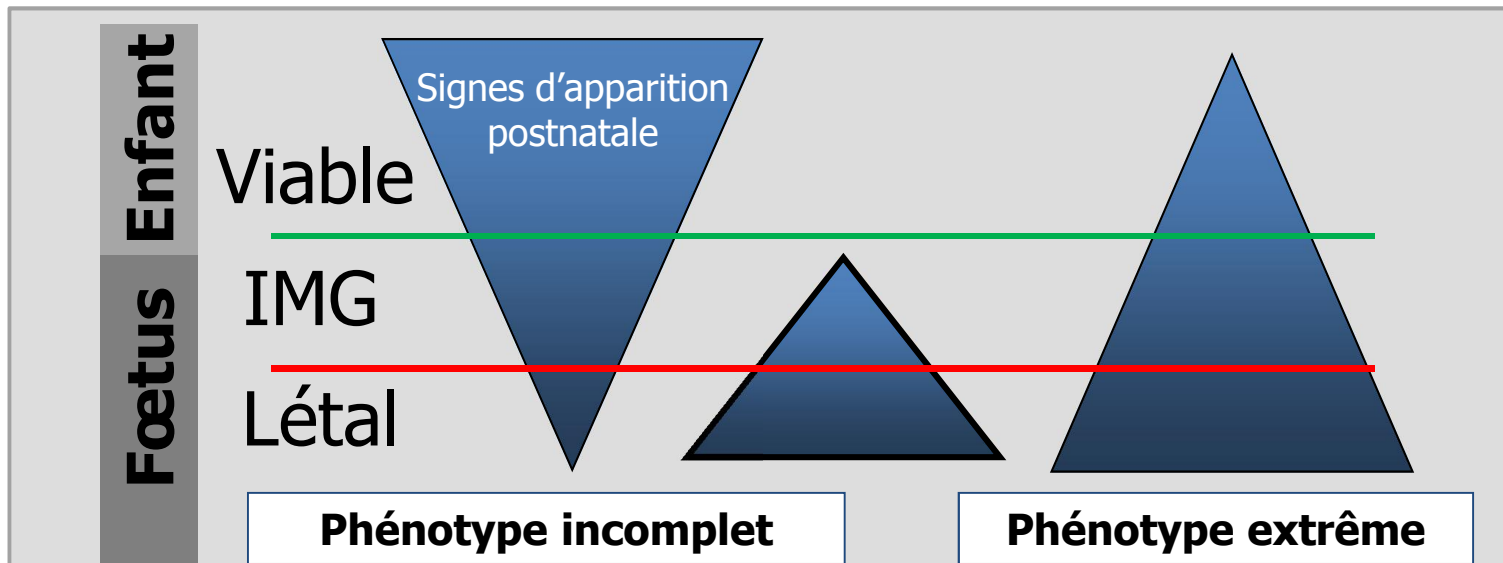
Histologie



FOWLER



- inconnue
- multifactorielle
- chromosomique
- monogénique
- environnementale



NGS et Foetopathologie

□ Défis

- Difficultés diagnostiques
- Conservation tissulaire
- Nombre de cas homogènes / pathologies rares, sévères

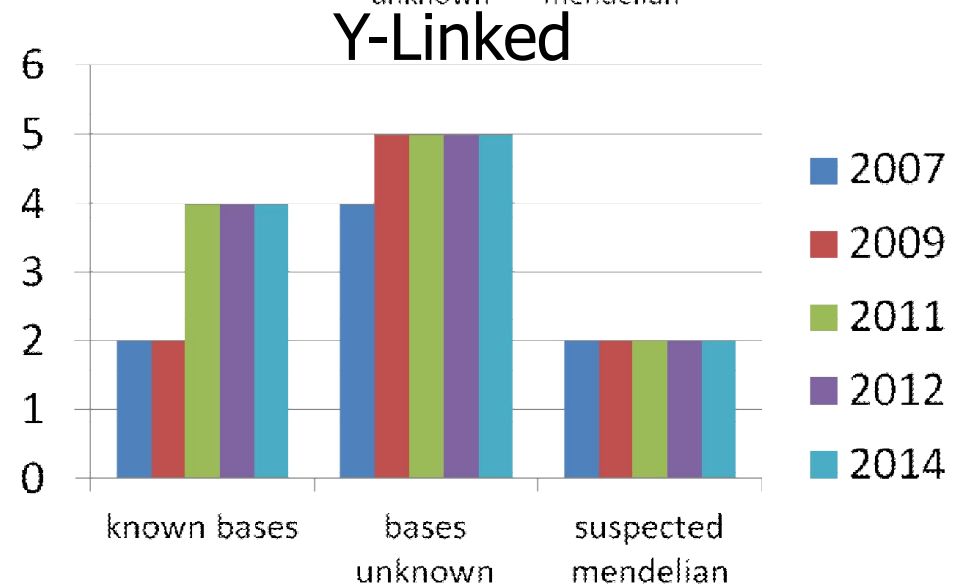
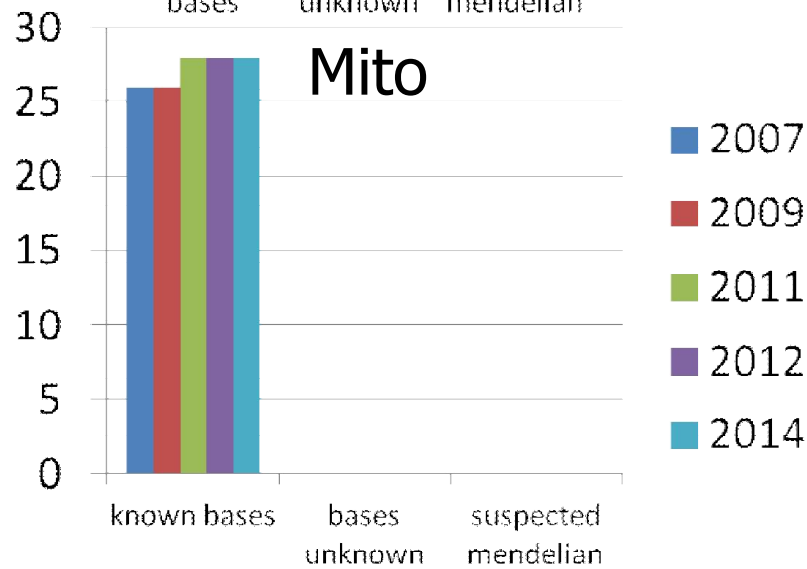
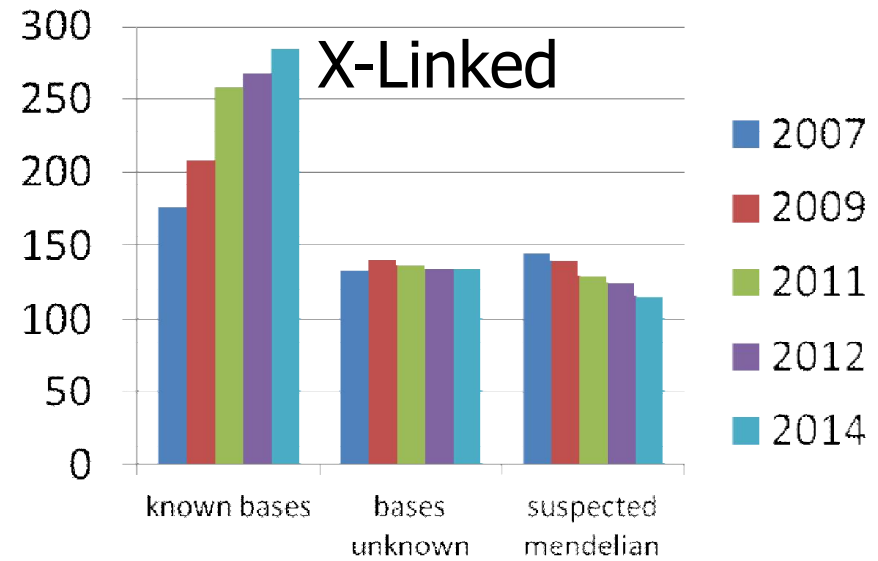
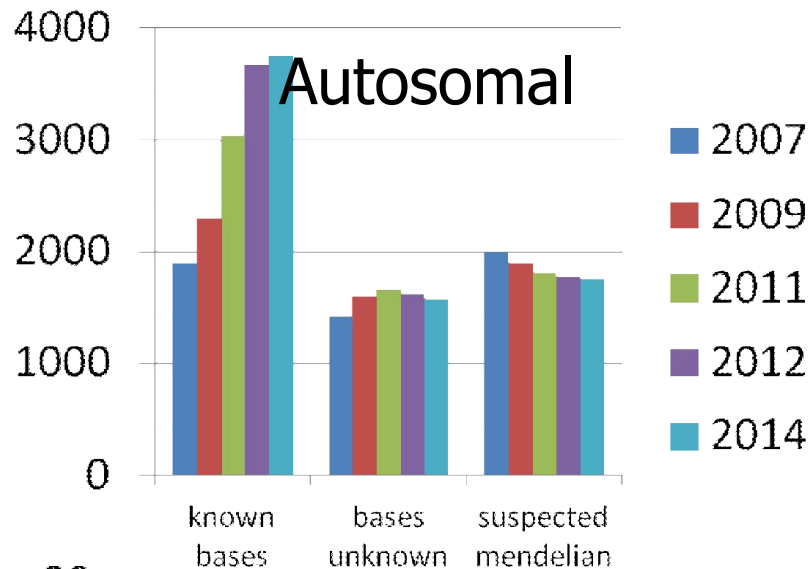
□ Avantages

- Phénotypes extrêmement bien définis
- Phénotypes extrêmes...mutations extrêmes ?
- En France.....SOFFOET !

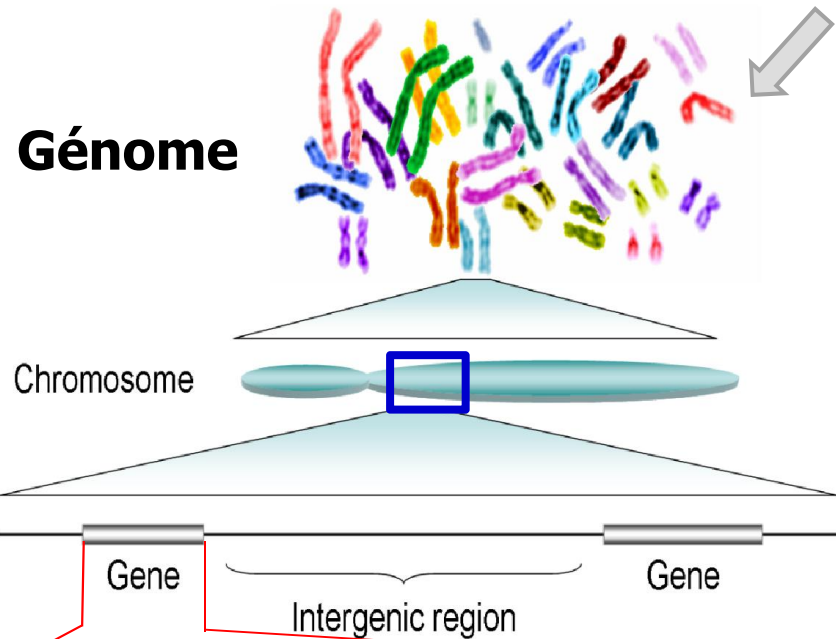
Statistiques OMIM 19/03/2014

	Autosomal	X-Linked	Y-Linked	Mitoch	Total
# Phenotype description, molecular basis known	3744	283	4	28	3661
% Mendelian phenotype or locus, molecular basis unknown	1572	134	5	0	1764
Other, mainly phenotypes with, suspected mendelian basis	1745	115	2	0	1895

OMIM Statistics, Phenotypes



Séquençage haut débit



Ensemble des exons du génome
Exome
Séquences codantes, 1% du génome

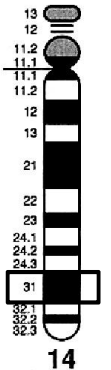
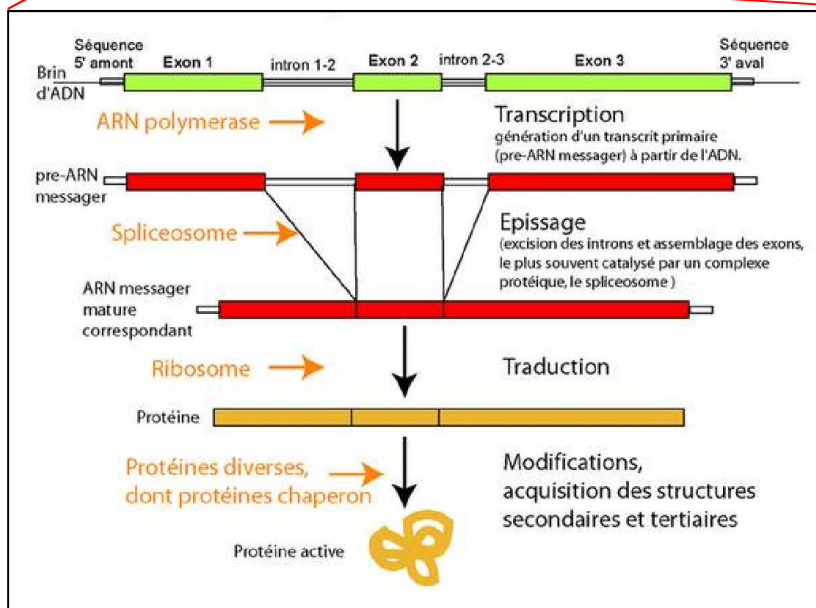
Walker-Warburg

Région chromosomique
Locus
Gène

Fowler

Exons d'un groupe de gènes
Exome ciblé
Exome de l'X

Séquences non codantes
(Mirnome etc...)



Ciliome

I. Séquençage d'une région génomique

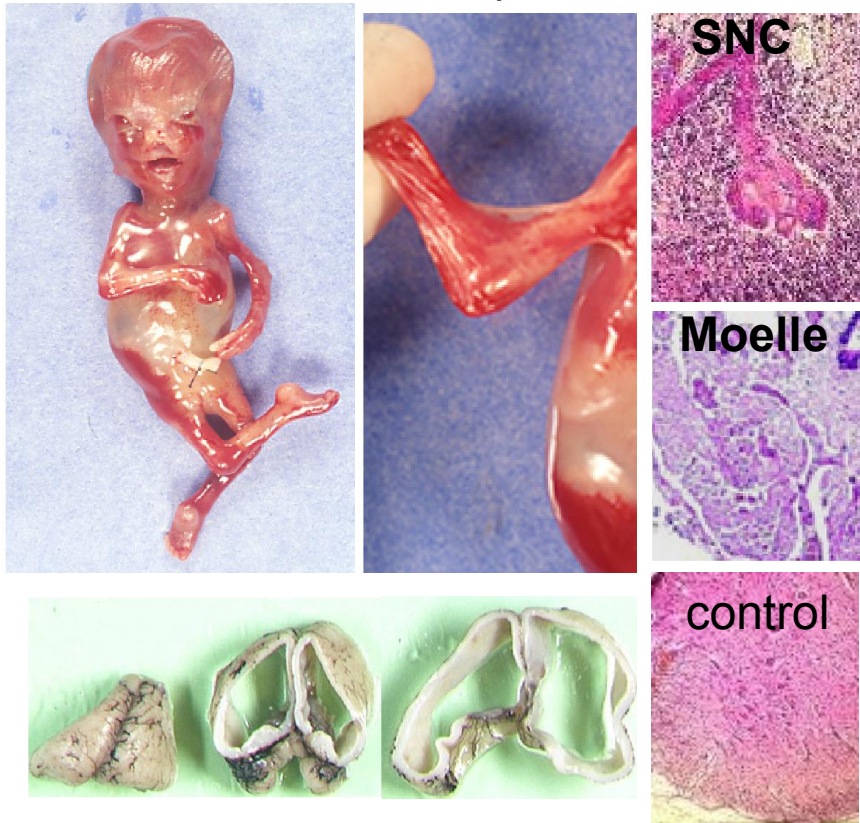
***FLVCR2* et Syndrome de Fowler**

Proliferative vasculopathy (MIM 225790)

Fowler et al, 1972
Hydranencéphalie-Hydrocéphalie
Akinésie Foétale

Vasculopathie Proliférative Gloméruloïde

Nécrose, calcifications
Vaisseaux perforants aberrants,
anormalement épaissis



Autosomique récessif

42 cas issus de 26 familles

Bessieres-Grattagliano et al., EJMG, 2009

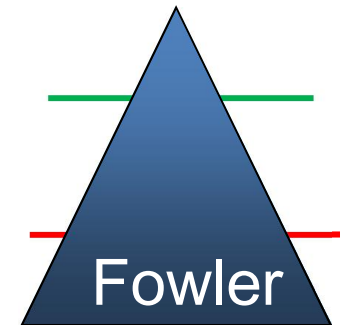
Williams et al. AJMG, 2010



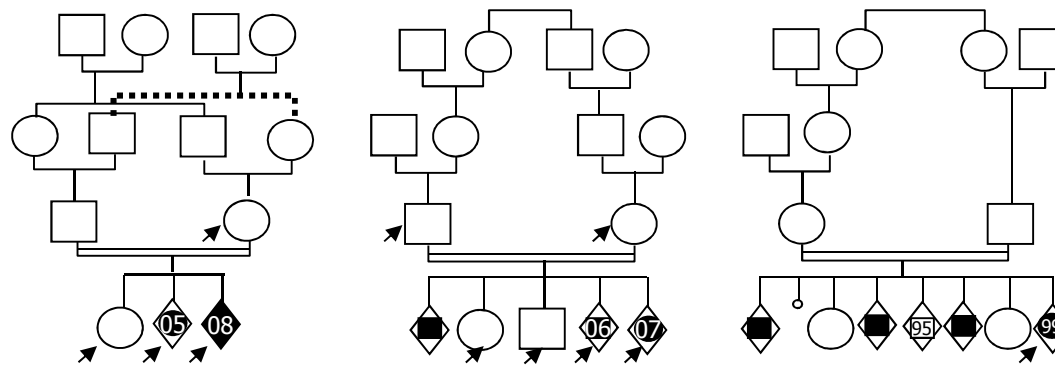
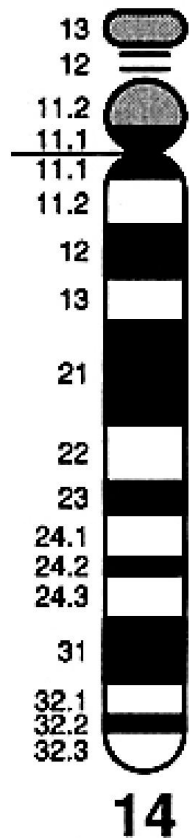
Formes moins sévères

- Hydrocéphalie
- Sans akinésie
- Apparition tardive (2° T)

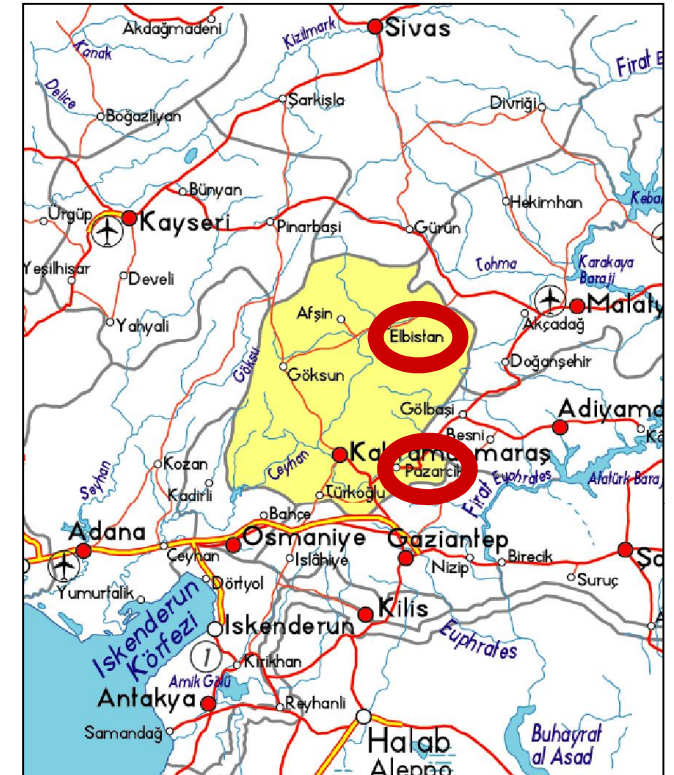
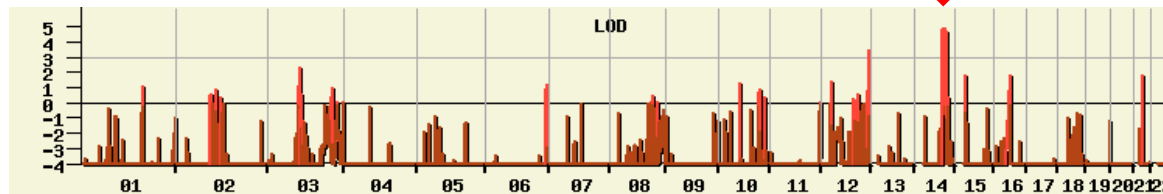
Viabile ?



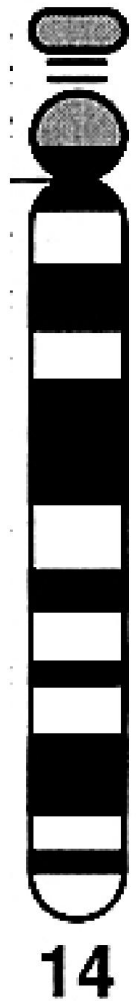
Etude de liaison pangénomique, Affymetrix 250K SNPs



Lodscore 4,8



Effet fondateur dans 2 familles turques 4 atteints
haploidentiques pour 280 SNPs
4,1 Mb

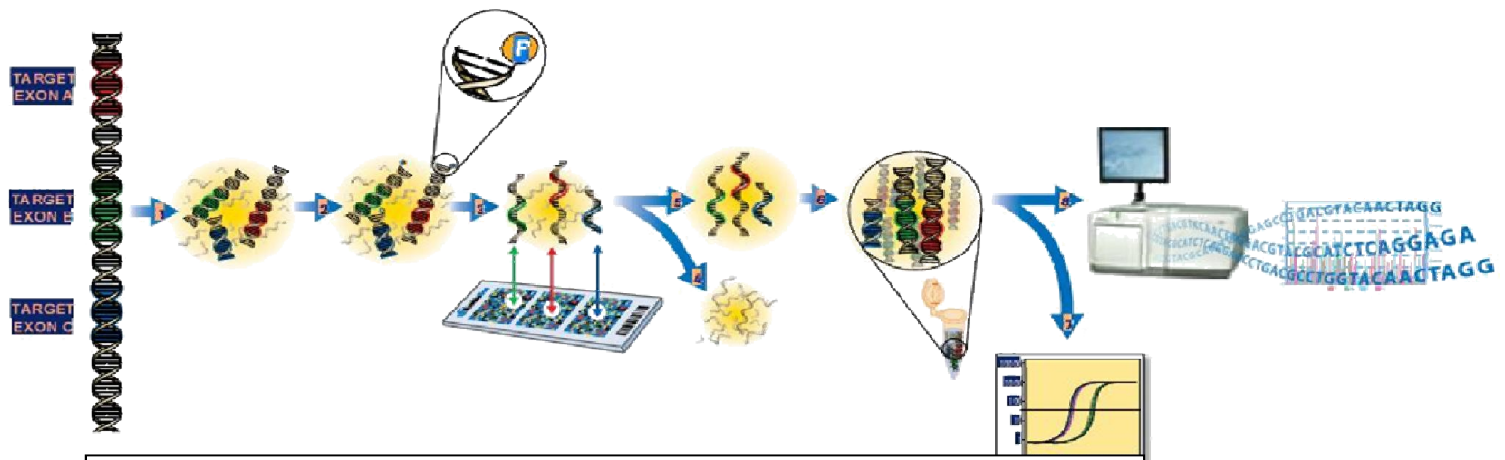


Gene Symbol	Start
DPF3	72145494
WDR21A	72462837
LOC729853	72462912
ZFYVE1	72505911
RBM25	72595020
PSEN1	72672931
PAPLN	72774007
NUMB	72811670
HEATR4	73014944
C14orf169	73027421
ACOT1	73073680
ACOT2	73105531
ACOT4	73128162
ACOT6	73153300
DNAL1	73181454
PNMA1	73248238
C14orf143	73251577
ZADH1	73368423
ZNF410	73423338
C14orf144	73470457
COQ6	73486396
ENTPD5	73502924
C14orf145	73586209
ALDH6A1	73596621
LIN52	73621251
CHX10	73775927
ABCD4	73821880
C14orf115	73884964
LOC646658	73942348
LOC729888	73945960
NPC2	74016395
ISCA2	74030220
LTBP2	74034638
KIAA0317	74197707
FCF1	74249602
YLDJ1	74299771
PROX2	74391587
DLST	74418371
RPS6KL1	74442098
EGE	74478289
EIF2B2	74539364
MLH3	74550219
ACYP1	74589676
C14orf140	74606100
NEK9	74620727
TMED10	74667925
LOC730011	74775071
ECS	74815283
LOC730019	74964308
JDP2	74966589
BATF	75058536
FLVCR2	75114744
C14orf1	75185883
TTL5	75197373
IGFBP3	75494194
C14orf179	75521877
C14orf118	75688011
ESRRE	75907478

4,1 Mb - 58 Gènes 13 séquencés

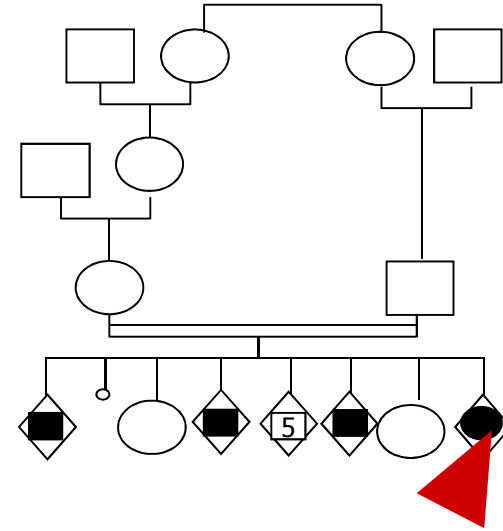
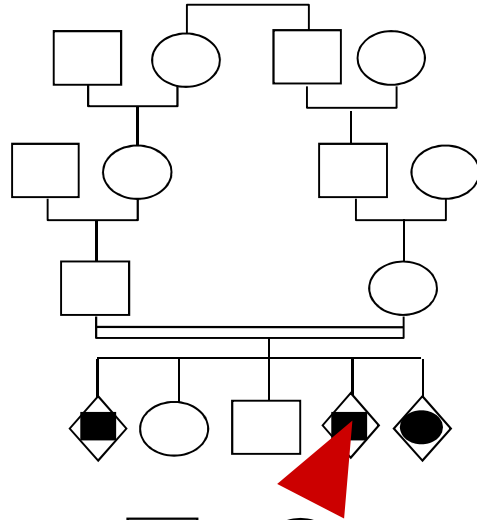
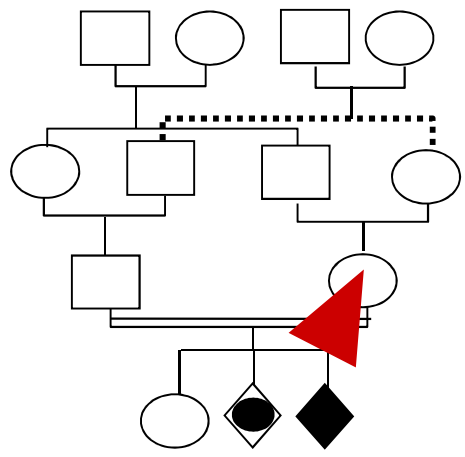
Capture complète de la région

↓
Séquençage haut débit
(Genoscope, Evry France
Plateforme Mutation GIS-Maladies rares)

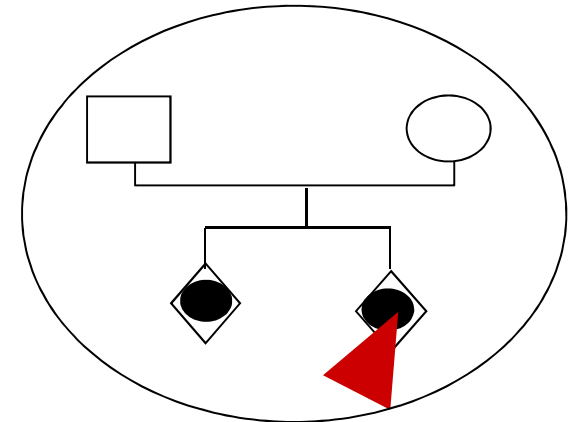
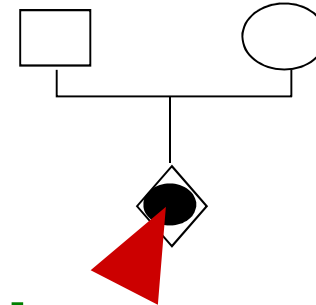
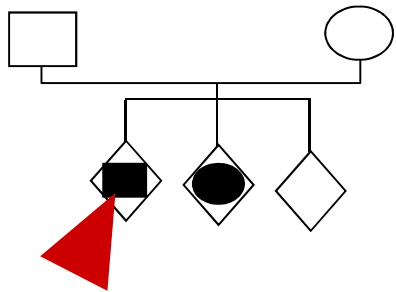
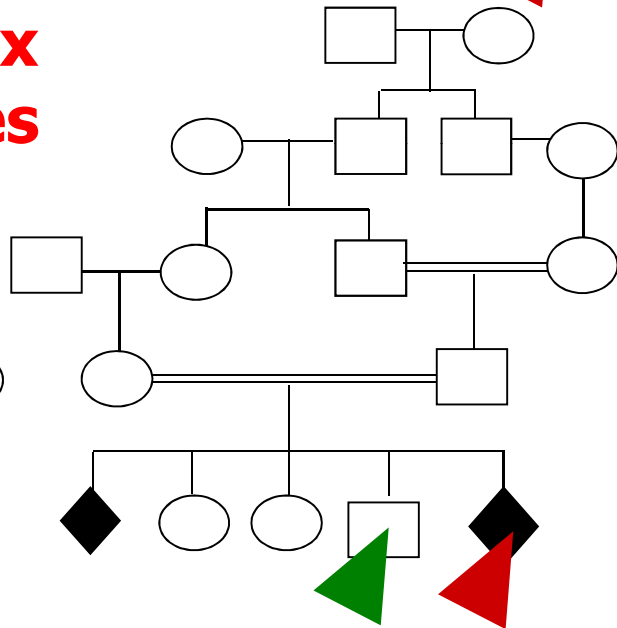


▲ Figure 1: NimbleGen Sequence Capture Protocol

1. Genomic DNA fragmentation
2. Linker ligation
3. Hybridization
4. Array washing
5. Target fragment elution
6. Amplification
7. Enrichment QC
8. Sequencing



**Un cas index
de 7 familles**



**+ Un frère non atteint
sans l'allèle morbide**

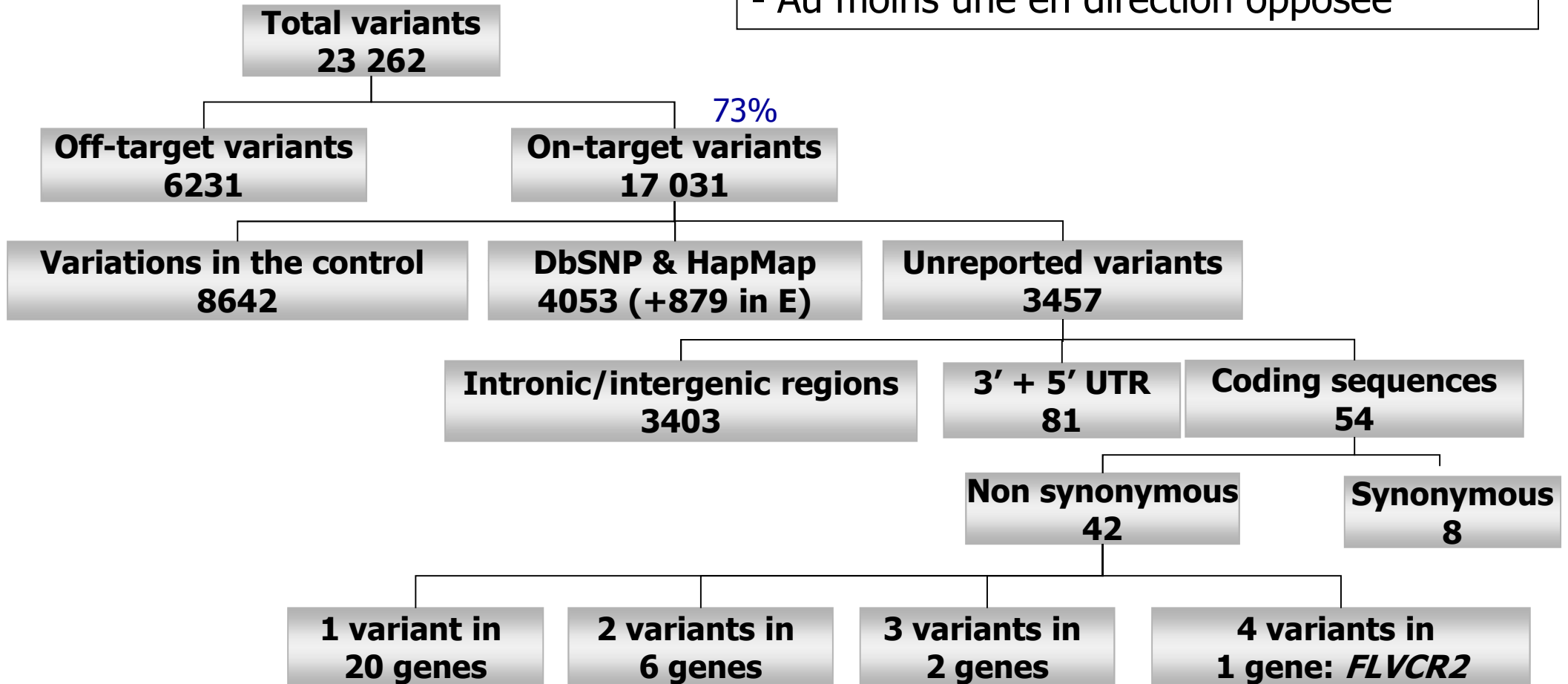
Sans atteinte
médullaire

Analyse des résultats

Seuil arbitraire

- > 3 lectures

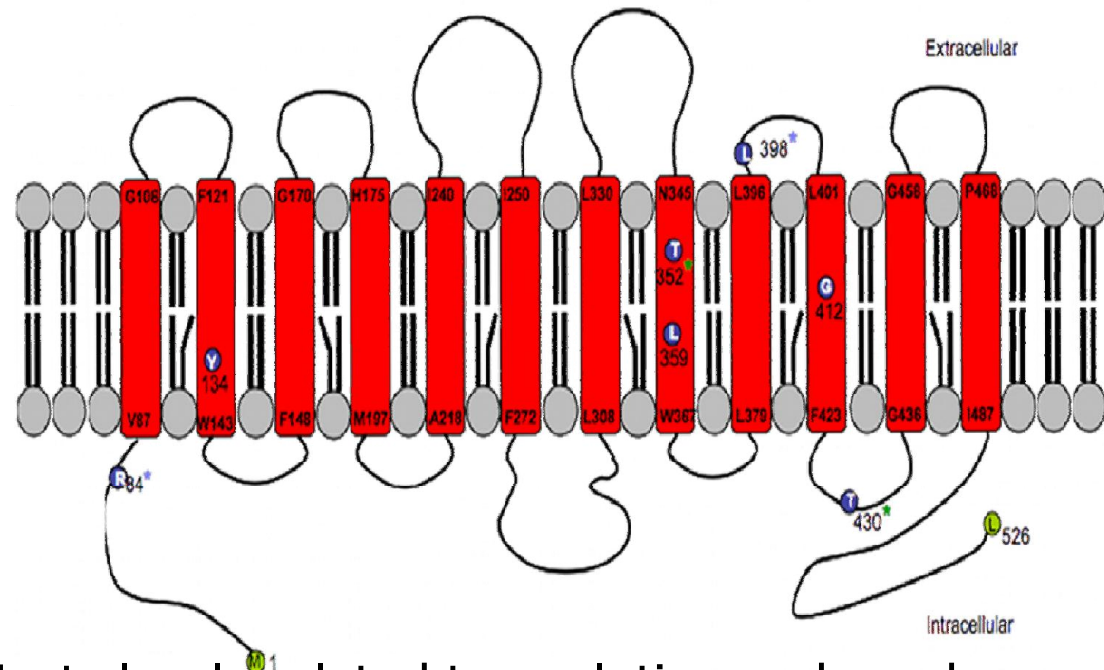
- Au moins une en direction opposée



FLVCR2: **MFS** transporter (major-facilitator superfamily)

		Similarity Score
human FLVCR	T W L L D T R G L R L	45
C-elegans	A W L L D K W G L R L	45
GlucarateT	G W L L D R F G S K T	63
G3PT	G F I S D K V N A R I	30
ACS	G Y L L D K K G A K K	49
OPA	G T L G D H Y N P R R	41
MCP	S Y L L D K K G A K K	38
MFS consensus	G ₁₁ X L ₁₁ X D ₁₂ R ₇ F ₇ G ₁₅ R ₉ R ₇ X	

Taylor et al., J of Virology, 1999



Most closely related to evolutionary branches that transport the organic anions

Transporter for a calcium-chelator complex ?

Brasier et al, Exp Cell Res, 2004

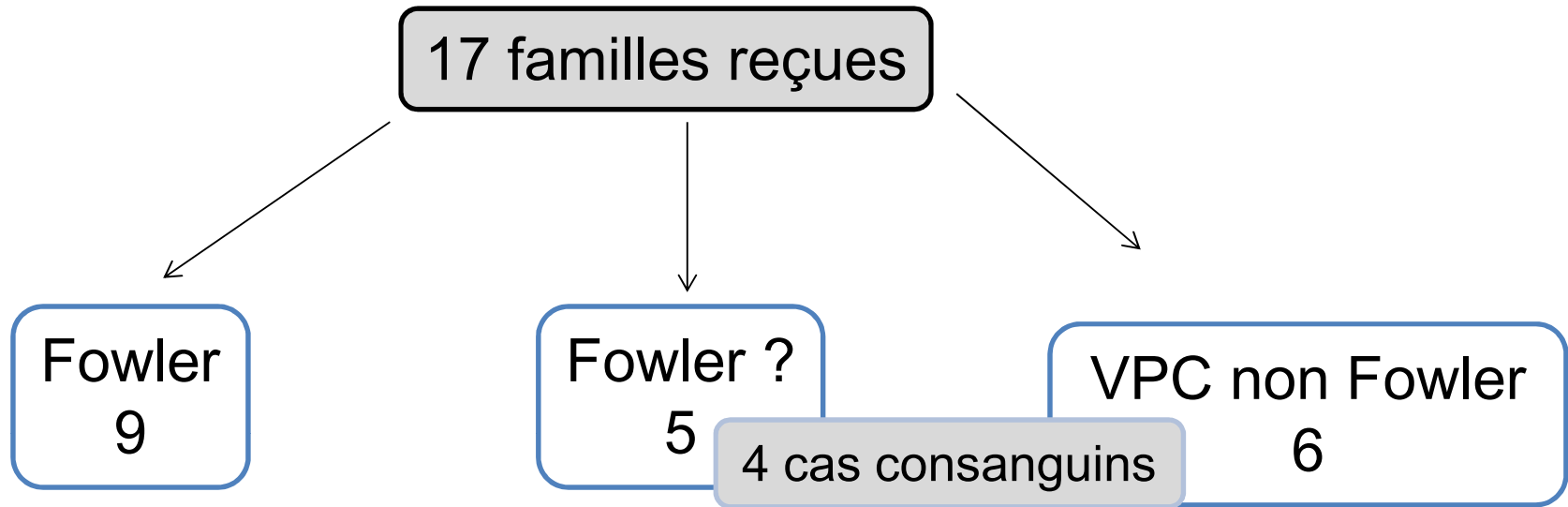
FLVCR2 Is an Importer of Heme

Duffy et al, MCB 2010

Conclusion (1)

- **Mutations de *FLVCR2* sont responsables de syndrome de Fowler, avec ou sans atteinte médullaire**
Thomas et al. Hum Mutat, 2012
- **Pas d'hétérogénéité génétique**
Meyer et al., AJHG 2010; Lalonde et al. Hum Mut 2010
- **Sous estimé ?** pertes foetales, sans examen neuropathologique
- **Fonction de *FLVCR2*?** CIRC 2011
- **Nombre de familles et l'homogénéité génétique ont compensé la faible couverture du NGS**
- **Capture locus ?**

Série analysée / décembre 2012



Mutation *FLVCR2* ?

9

0

0

exomes

2

2

Parents, trio

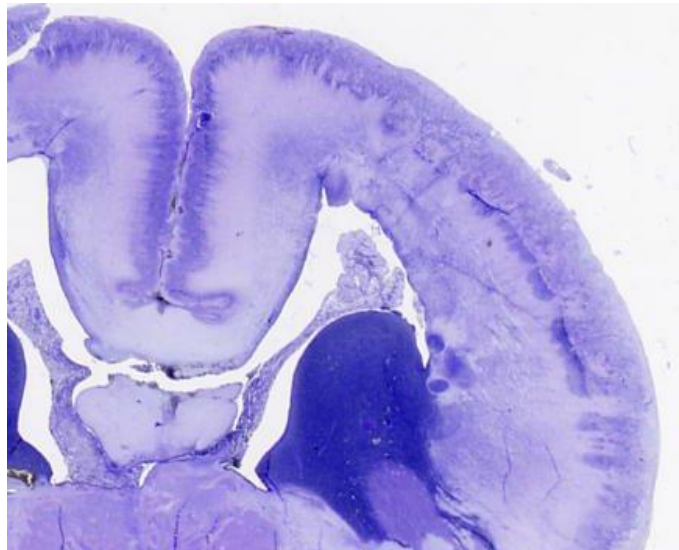
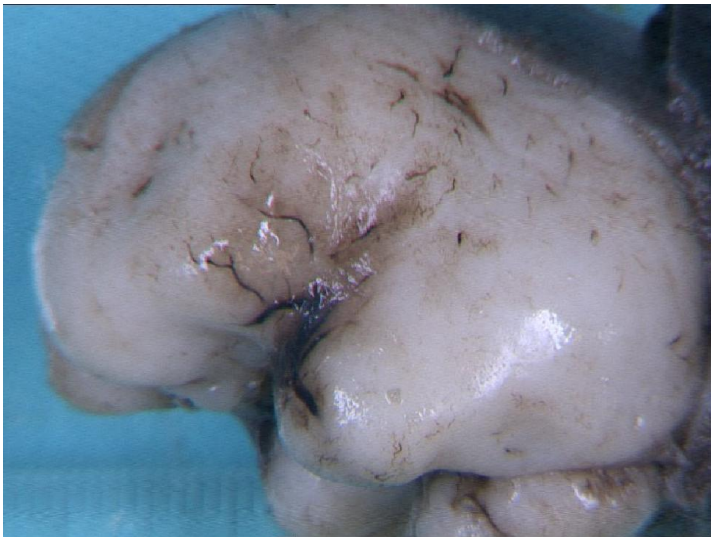
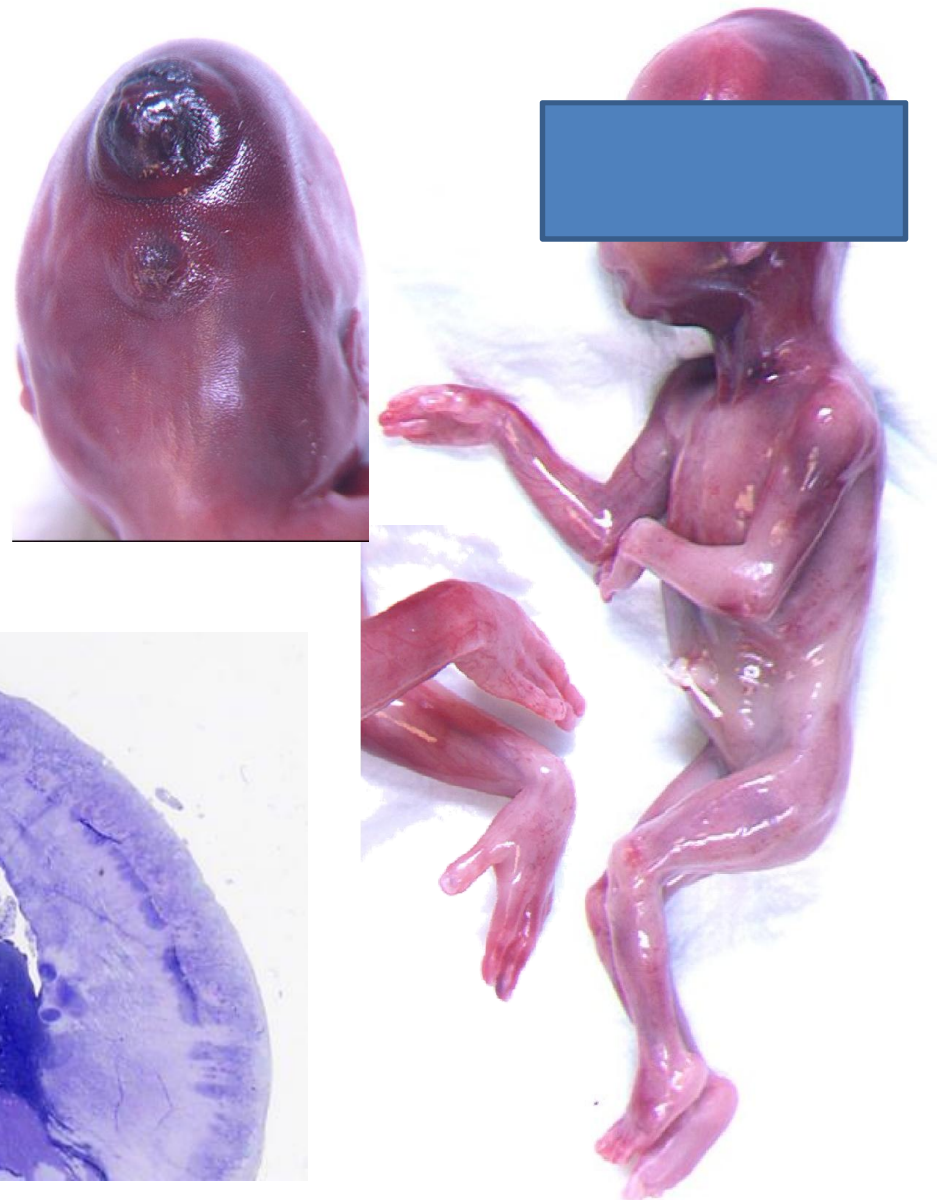
1 foetus, 1 trio

II. Séquençage d'exome

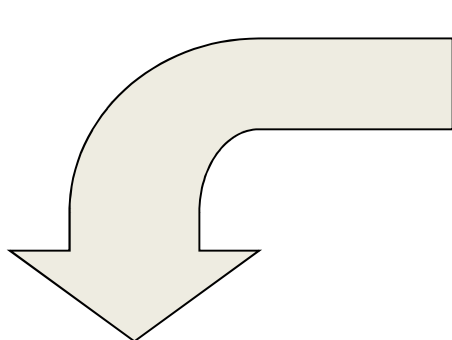
ISPD et TMEM5 et Syndrome de Walker-Warburg

Walker-Warburg: anomalies du SNC

- Lissencéphalie de type II (cobblestone)
- Malformations cervelet
- Malformations rétiniennes
- Dilatation ventriculaire
- Macrocéphalie ou microcéphalie
- Méningocèle occipitale
- Hypoplasie des structures médianes
- Microphthalmie
- Fente P
- Contractures congénitales



RESEARCH ARTICLE



2007

Molecular Heterogeneity in Fetal Forms of Type II Lissencephaly

C. Bouchet,¹ M. Gonzales,^{2,3} S. Vuillaumier-Barrot,^{1,4} L. Devisme,⁵ C. Lebizet,¹ E. Alanio,⁶ A. Bazin,⁷ B. Bessières-Grattagliano,⁸ N. Bigi,⁹ P. Blanchet,⁹ D. Bonneau,¹⁰ M. Bonnières,¹¹ D. Carles,¹² S. Delahaye,¹³ C. Fallet-Bianco,¹⁴ D. Figarella-Branger,¹⁵ D. Gaillard,⁶ B. Gasser,¹⁶ E. Guimiot,¹⁷ M. Joubert,¹⁸ N. Laurent,¹⁹ A. Liprandi,¹⁵ P. Loget,²⁰ P. Marcorelles,²¹ J. Martinovic,^{7,11} E. Menez,¹⁷ S. Patrier,²² E. Pelluard-Nehmé,¹² M.J. Perez,²³ C. Rouleau-Dubois,²⁴ S. Triau,²⁵ A. Laquerrière,²² E. Encha-Razavi,¹¹ and N. Seta^{1*}

¹Assistance Publique-Hôpitaux de Paris (APHP), Bichat-Claude Bernard Hospital, Biochimie Métabolique, Paris, France; ²Assistance Publique-Hôpitaux de Paris (APHP), Armand Trousseau Hospital, Génétique et Embryologie Médicale, Paris, France; ³Université Pierre et Marie Curie, Paris 6, Paris, France; ⁴INSERM U773, Centre Recherche (CRB3), Paris, France; ⁵Centre Hospitalier Régional et Universitaire (CHR-U) Lille, Anatomie Pathologique, Lille, France; ⁶Centre Hospitalier Universitaire (CHU) Reims, Génétique, INSERM U514, Reims, France; ⁷Laboratoire Pasteur Cerba, Foetopathologie, Pontotze, France; ⁸ADHMI, Institut de Pédiatrie, Anatomie-foeto-pathologie, Paris, France; ⁹CHU Arnaud de Villeneuve, Génétique, Montpellier, France; ¹⁰CHU Angers, Génétique, Angers, France; ¹¹Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, France; ¹²Hôpital Pellegrin, Anatomie et Cytologie Pathologique, Bordeaux, France; ¹³Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, Hôpital Cochin, Anatomie Pathologique, Paris, France; ¹⁴Centre Hospitalier Sainte Anne, Marseille, France; ¹⁵Hôpital E. Müller, Pathologie, Madhouse, France; ¹⁶CHU de Poitiers, Anatomie Pathologique, Poitiers, France; ¹⁷CHU de Nancy, Anatomie Pathologique, Nancy, France; ¹⁸CHU de Clermont-Ferrand, Anatomie Pathologique, Clermont-Ferrand, France; ¹⁹CHU Dijon, Anatomie Pathologique, Dijon, France; ²⁰Centre Hospitalier General de Brest, Anatomie Pathologique, Brest, France; ²¹CHU Brest, Anatomie Pathologique, Brest, France; ²²CHU de Rouen, Anatomie et Cytologie Pathologique, Rouen, France; ²³CHU de Montpellier, Anatomie et Cytologie Pathologique, Montpellier, France; ²⁴CHU de Montpellier, Anatomie et Cytologie Pathologique, Montpellier, France; ²⁵CHU de Montpellier, Anatomie et Cytologie Pathologique, Montpellier, France

doi:10.1093/brain/awr357

Brain 2012; Page 1 of 14 | 1

BRAIN
A JOURNAL OF NEUROLOGY

Cobblestone lissencephaly: neuropathological subtypes and correlations with genes of dystroglycanopathies

2012

Louise Devisme,¹ Céline Bouchet,² Marie Gonzalès,³ Elisabeth Alanio,⁴ Anne Bazin,⁵ Bettina Bessières,⁶ Nicole Bigi,⁷ Patricia Blanchet,⁷ Dominique Bonneau,⁸ Maryse Bonnières,⁶ Martine Bucourt,⁹ Dominique Carles,¹⁰ Bénédicte Clarisse,¹¹ Sophie Delahaye,¹² Catherine Fallet-Bianco,¹³ Dominique Figarella-Branger,¹⁴ Dominique Gaillard,¹⁴ Bernard Gasser,¹⁵ Anne-Lise Delezoide,¹⁶ Fabien Guimiot,¹⁶ Madeleine Joubert,¹⁷ Nicole Laurent,¹⁸ Annie Laquerrière,¹⁹ Agnès Liprandi,¹⁴ Philippe Loget,²⁰ Pascale Marcorelles,²¹ Jelena Martinovic,^{5,6} Françoise Menez,¹⁶ Sophie Patrier,³ Fanny Pelluard,¹⁰ Marie-José Perez,⁷ Caroline Rouleau,²² Stéphane Triau,²³ Tania Attié-Bitach,⁶ Sandrine Vuillaumier-Barrot,² Nathalie Seta² and Férehté Encha-Razavi⁶

65 foetus/53 familles

Mutations dans 2/3 des cas

SOFFOET (F. Razavi, L.Devisme)
Hôpital Bichat (N. Seta / C. Bouchet)

1 Institut de Pathologie, Centre de Biologie-Pathologie, CHU Lille, 33.3.20446983, France

2 The Assistance Publique-Hôpitaux de Paris (APHP), Hôpital Bichat-Claude Bernard, Biochimie, Paris, 33.1.40258541, France

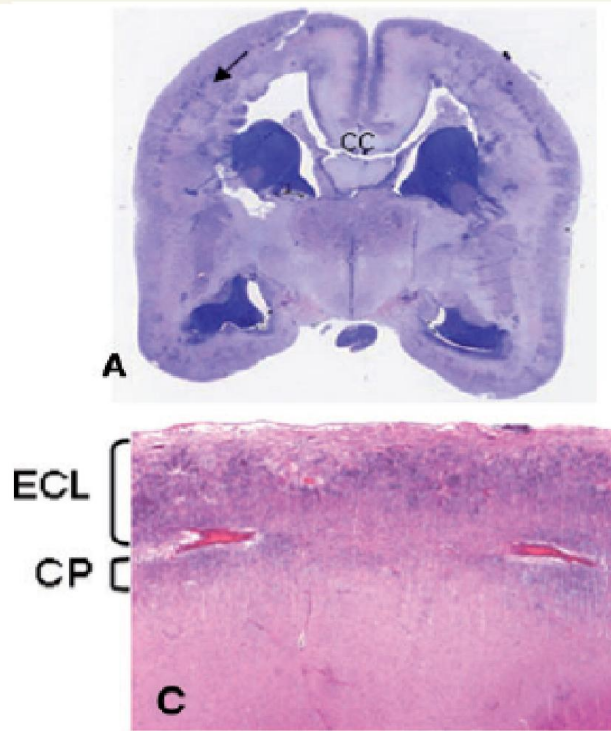
3 The Assistance Publique-Hôpitaux de Paris (APHP), Hôpital Armand Trousseau, Génétique et Embryologie Médicales, Université Pierre et Marie Curie, Paris, 33.1.44735488, France

Walker-Warburg

Corrélations phénotypes génotypes

L. Devisme et al., Brain, 2012, 469-82

LISII-A	LISII-B	LISII-C
Ectopies neurogliales massives Dysplasie rétinienne majeure	Intermédiaire	Ectopies neurogliales focales Dysplasie rétinienne variable
<i>POMT1 , POMT2 , FKR</i>	<i>LARGE</i>	<i>POMGNT1</i>



Ratio > 1

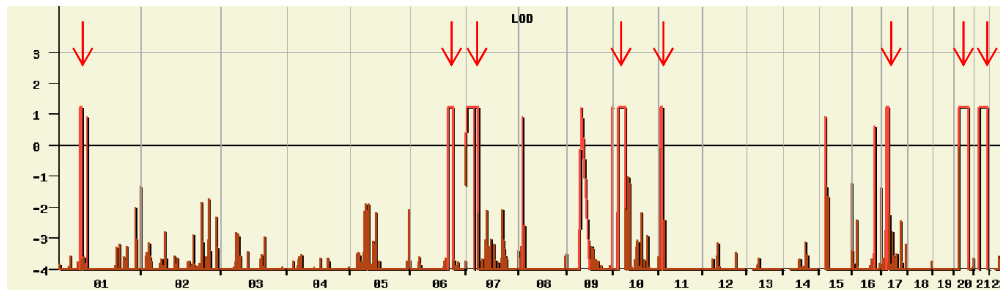
ECL: Extracortical layer
CP: Cortical plate

Ratio = 1

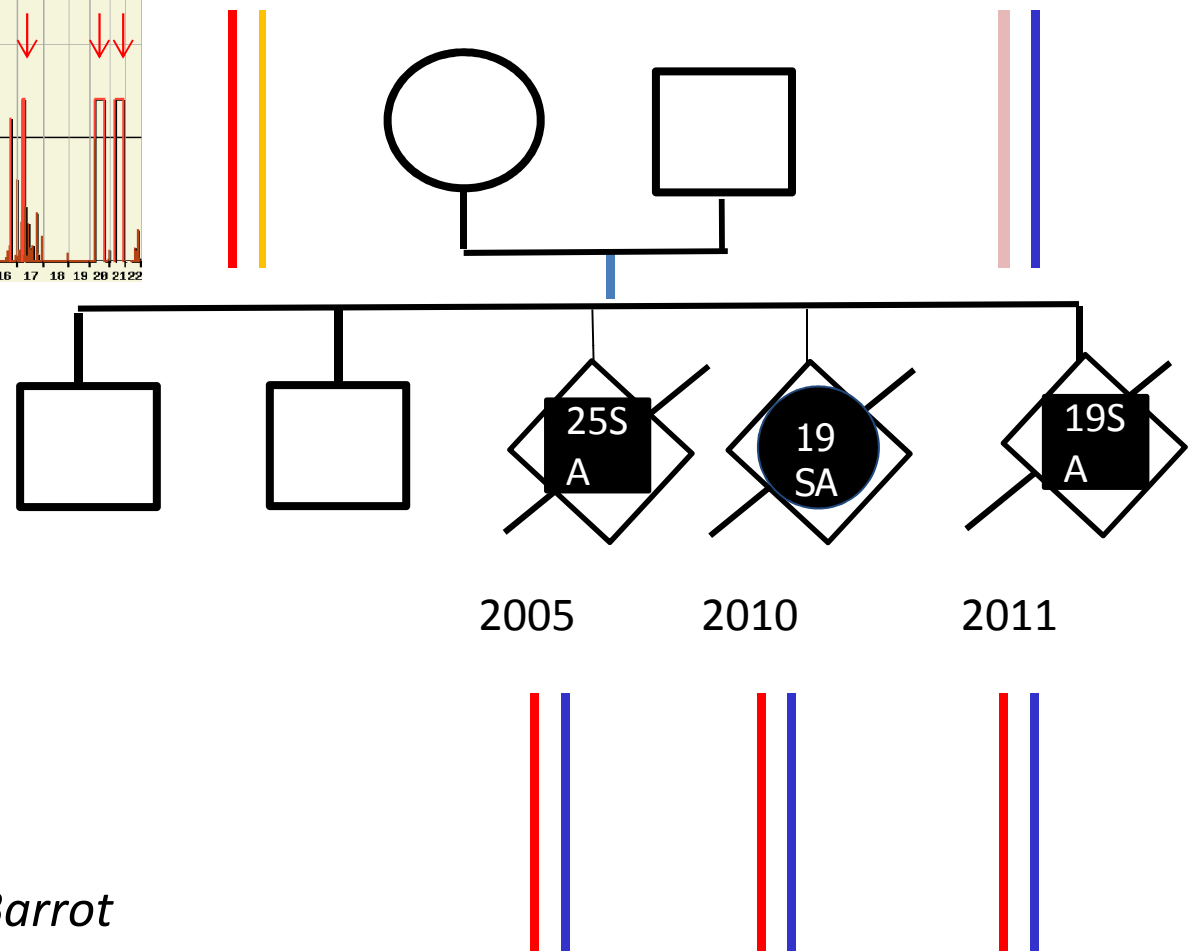


Ratio < 1

Analyse de liaison génétique par puces SNPs 250K Walker - Warburg



- chromosome 1 = 7,8 Mb
- chromosome 6 = 16 Mb
- chromosome 7 = 36 Mb
- chromosome 10 = 21 Mb
- chromosome 11 = 7,3 Mb
- chromosome 17 = 7,9 Mb
- chromosome 20 = 30 Mb
- chromosome 21 = 27 Mb



Séquençage d'exomes

Céline Bouchet, Sandrine Villaumier-Barrot

Nathalie Seta, Hôpital Bichat

SNV	Number of variations F2-1	Number of variations F2-2	Number of common variations (F2-1 & F2-2)
Total variants	203 604	206 683	
Non-synonymous + Essential Splice-sites variants	27 548	28 005	
Unknown variants (dbSNP132/1K genome/EVS and in-house database filtering)	1 028	950	
Quality filtering (Coverage \geq 5 reads)	970	915	
Mapping analysis	46	52	35
Mutated Genes	18	16	12
Gene(s) with two mutated alleles	1	1	1

ISPD

S. Villaumier Barrot, C. Bouchet, AJHG, 2012, sous presse

Indel	Number of variations F1-1	Number of variations F1-2
Total variants	27 506	28 444
Coding disrupted frameshift	831	1 019
Unknown variants (dbSNP132/1K genome/EVS and in-house database filtering)	538	720
Quality filtering (Coverage \geq 5 reads)	455	557
Homozygosity (% reads variation/ref >0.7)	75	57
Mapping analysis	1	1

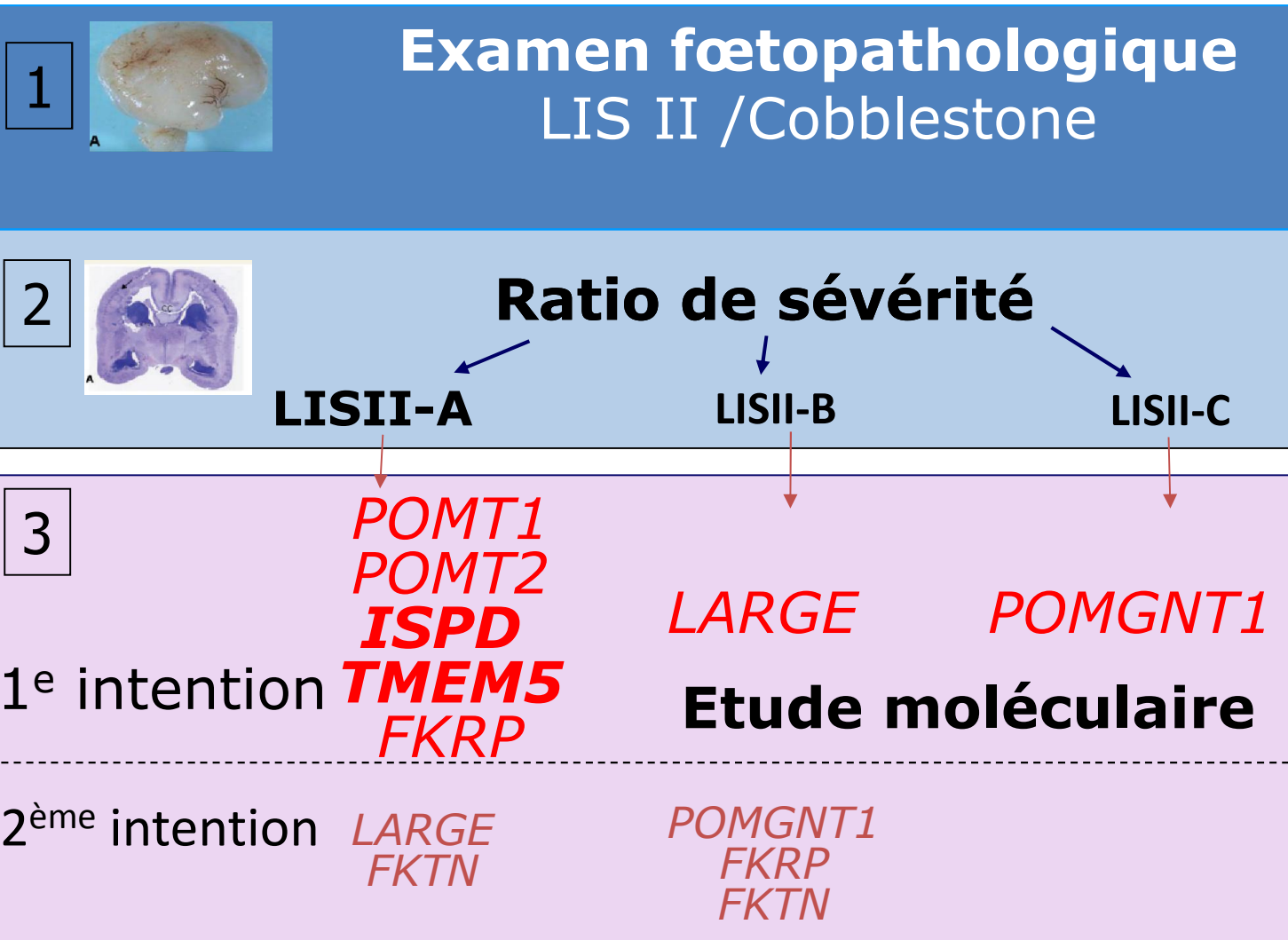
TMEM5

S. Villaumier Barrot, C. Bouchet, AJHG, 2012, sous presse

Hydrocéphalie / Lissencéphalie

(Echographie/IRM)

IMG ou MIU



S. Villaumier Barrot, C. Bouchet, AJHG, 2012, sous presse

Conclusion (2)

Puissance

Etude de liaison (formes familiales / consanguines)

+

Exome

Importance

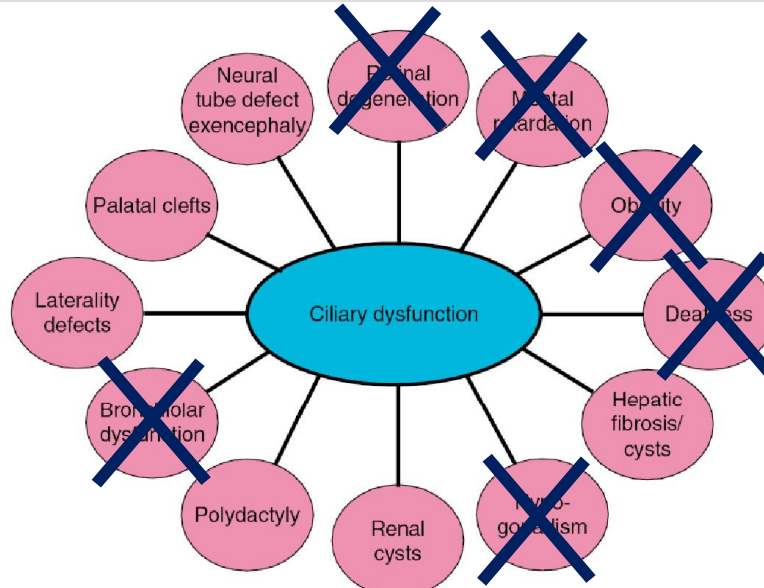
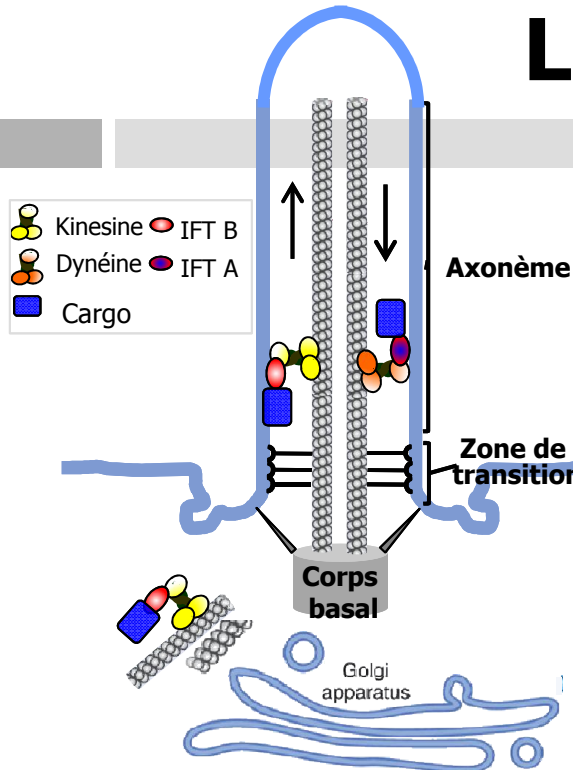
- **Phénotypage précis:**
 - Groupe de pathologie homogène
 - Corrélation génotype-phénotype
- **Cohorte** : validation des gènes

III. Séquençage ciblée : exome ciliaire

***TCTN3* et Syndrome orofaciodigital de type IV (Mohr-Majewski)**

CONTEXTE

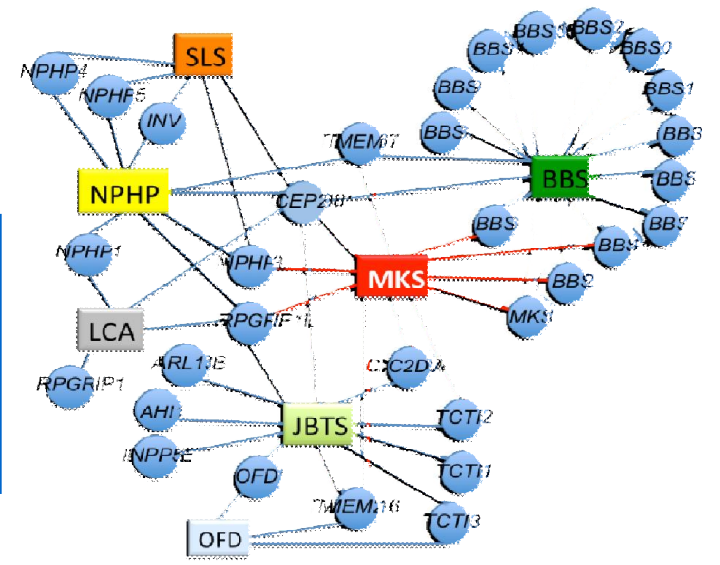
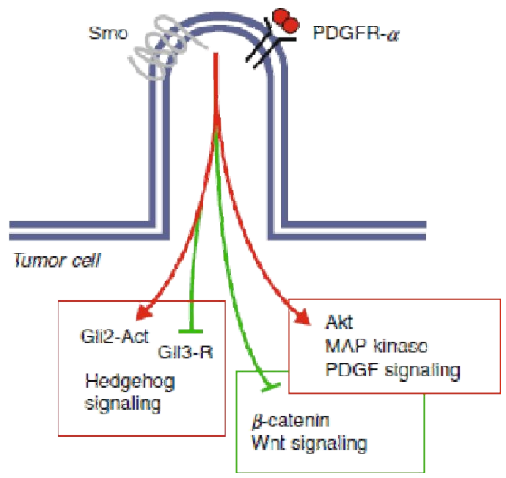
LE CIL PRIMAIRE et CILIOPATHIES



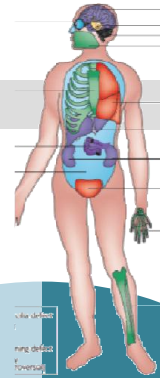
Gibson, Clin Genet 2006: 69: 399-403

Spectre phénotypique
Chevauchement clinique
Hétérogénéité génétique
Allélisme

	Leber	NPHP	SNLS	BBS	JBS	MKS
Anomalies rénales	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
Anomalies rétiniennes	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Polydactylie	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
Obésité	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Anomalies hépatiques	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
Anomalies craniofaciales	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
Anomalies cérébrales	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
Dysplasie squelettique	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>



Banque de capture du "ciliome"

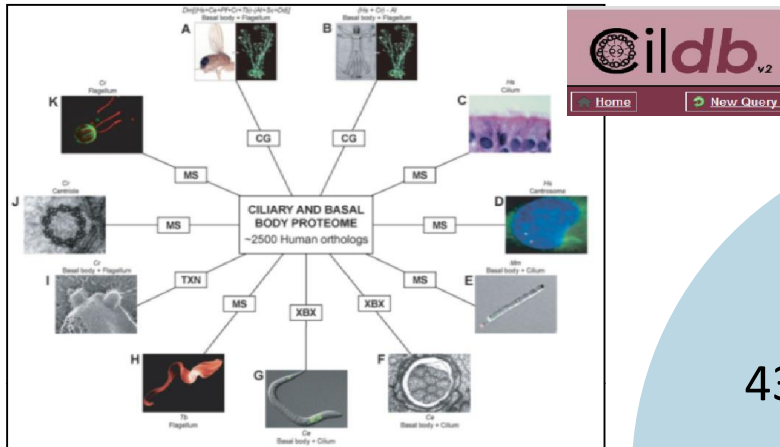
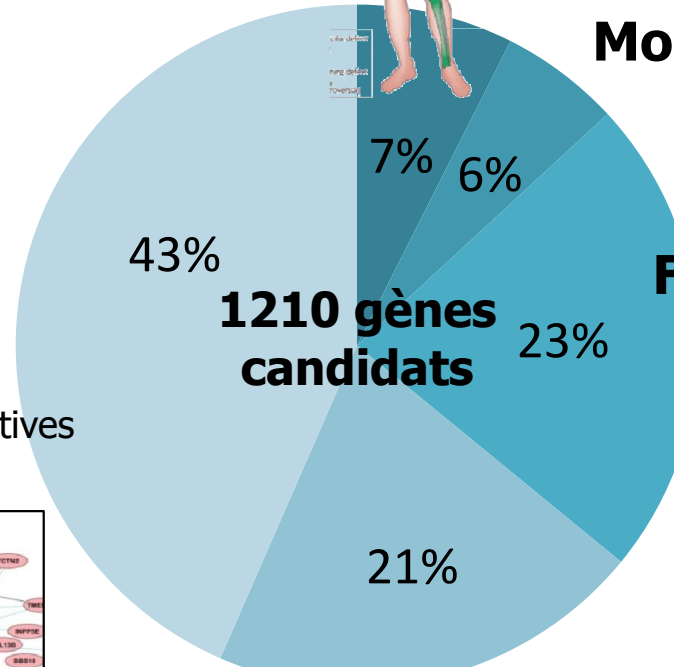
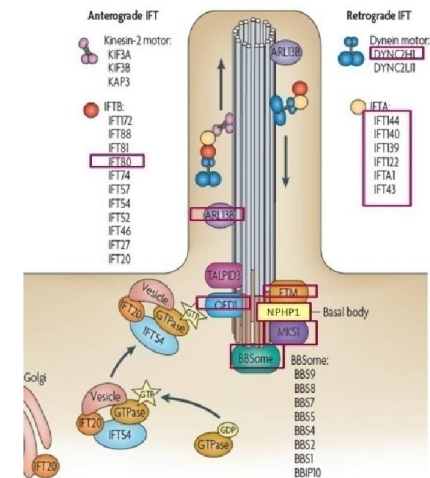


Ciliopathies

Modèles

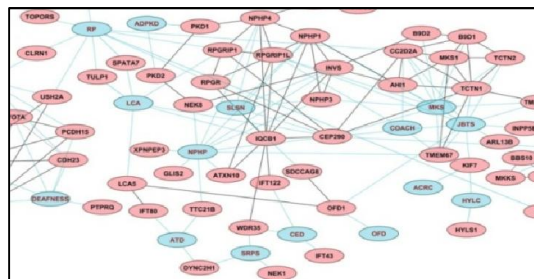


Fonction/structure ciliaire



Candidats ciliaires

génomique et protéomique comparatives



Interactants ciliaires

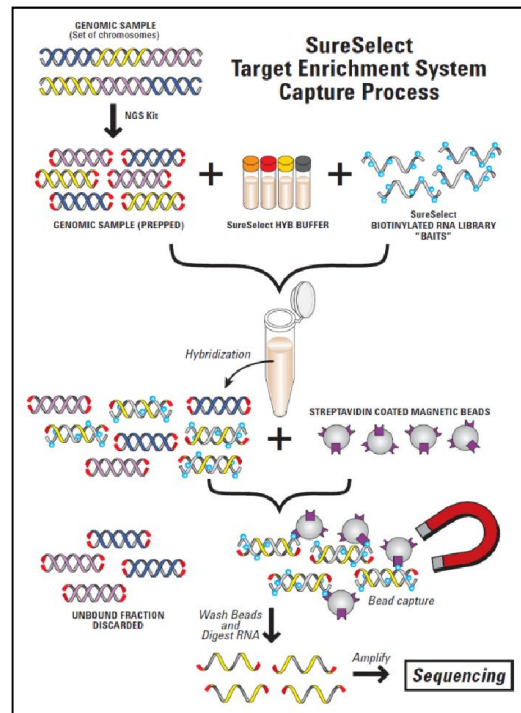
S. Saunier	J.M Rozet	V. Cormier-Daire	T. Attié-Bitach
Néphrologie (NPH)	Rétine (LCA)	Os (SRP)	Foetus (MKS, HLS)

Ciliome: Capture - Séquençage

Capture d'exome ciliaire et séquençage: Plateforme Génomique

Agilent SureSelect™: 1210 gènes
300 euros / individu (100)

Traitement: Plateforme Bioinformatique



Quantité d'ADN
3 µg d'ADN purifié

Analyse

Nombre total de variations

dbSNP
Variations homozygotes
Variations codantes
db exomes

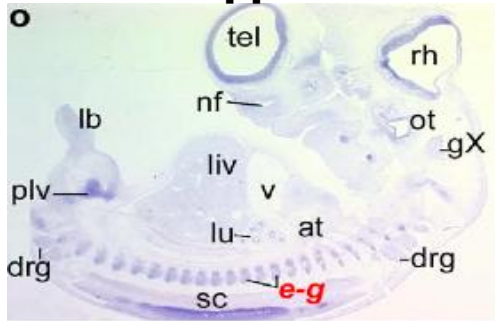
Région d'homozygotie / liaison

Validation des variations

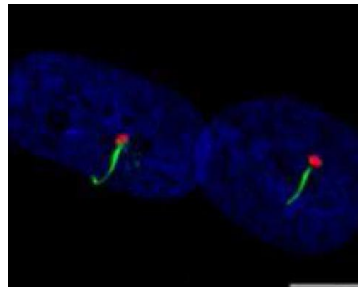
Confirmation : séquençage Sanger
Effet *in silico* / *in vitro*
Etude de ségrégation familiale
Témoins même éthnie

CILIOPATHIES: APPROCHE FONCTIONNELLE

Expression au cours du développement

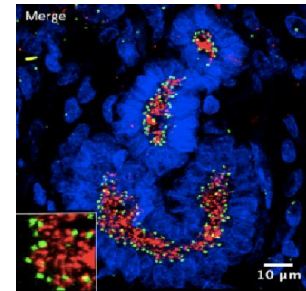


Localisation subcellulaire

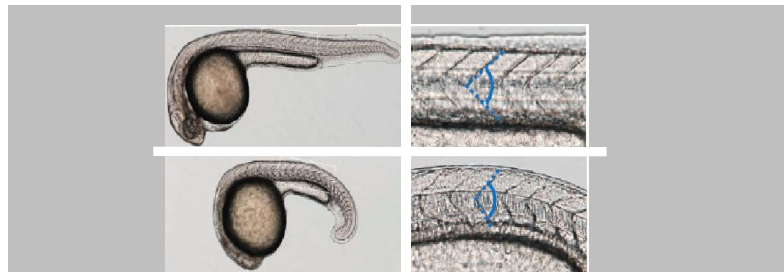
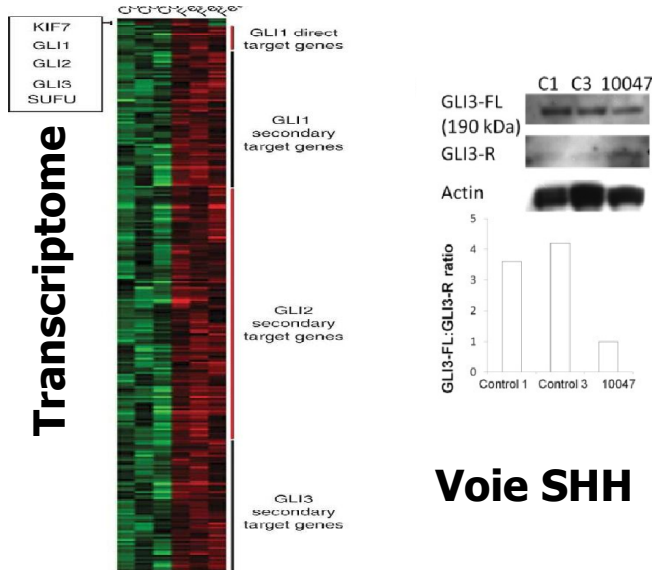
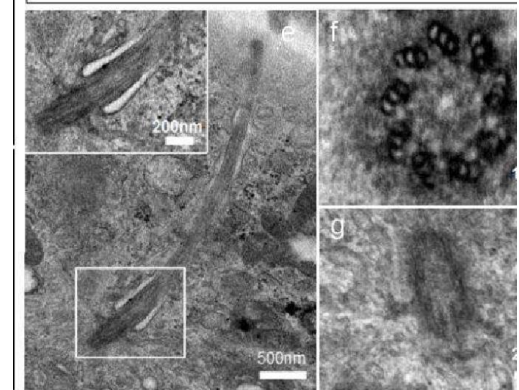


Phénotype ciliaire

Nombre taille forme



Ultra-structure du cil

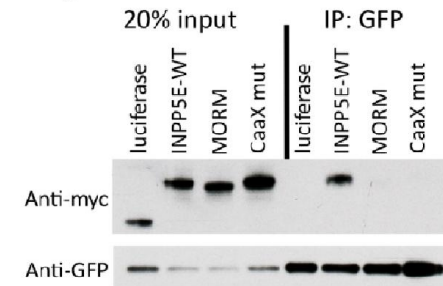


Modélisation chez le poisson-zèbre

- Phénotype
- Pathogénicité des mutations
- Interaction génique

Modélisation cellulaire
(si/shRNA): RPE1, IMCD

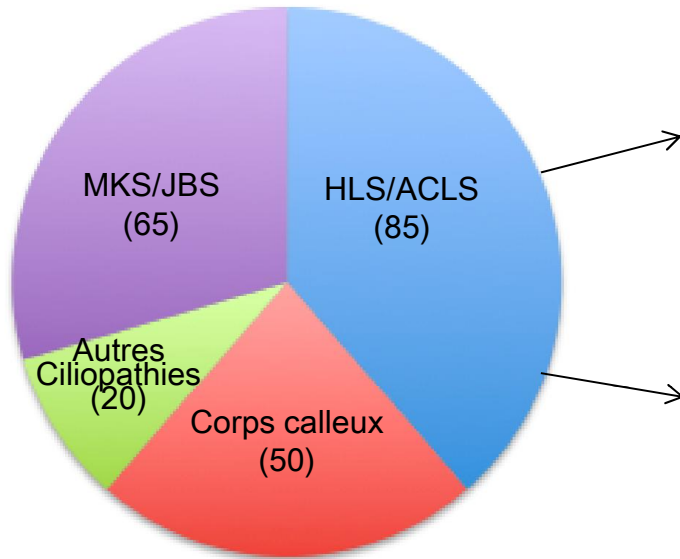
Cellules, tissus patients



Interactome

- LAP-Tag
- Co-IP

NGS ciliome/exome

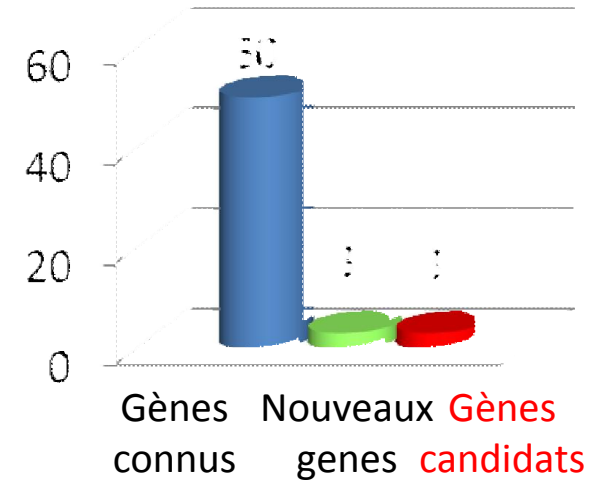


**Cohorte
foetale**

**Exome
>20000 genes**

**Ciliome
1221genes**

140

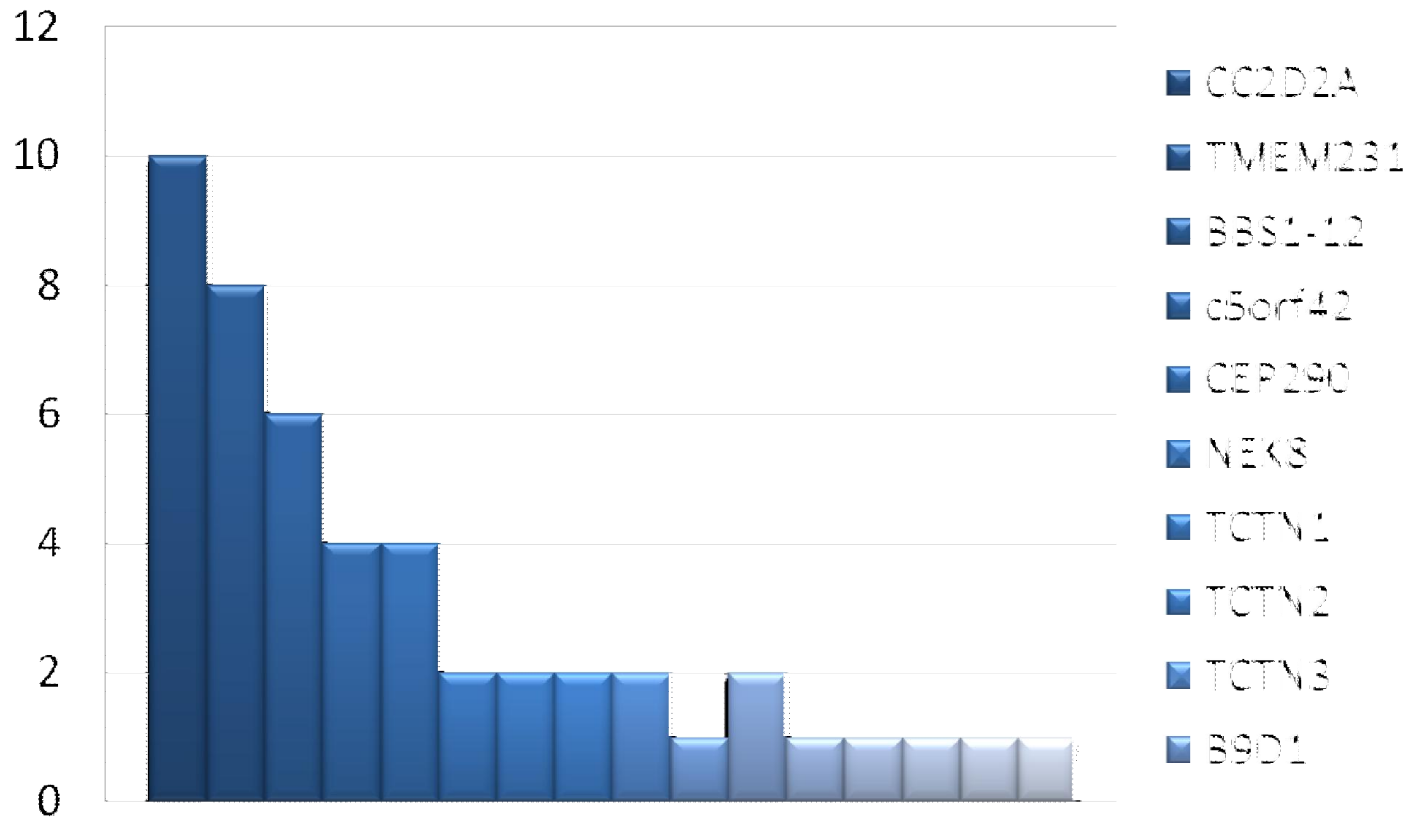


Genomic and Bio-Informatic

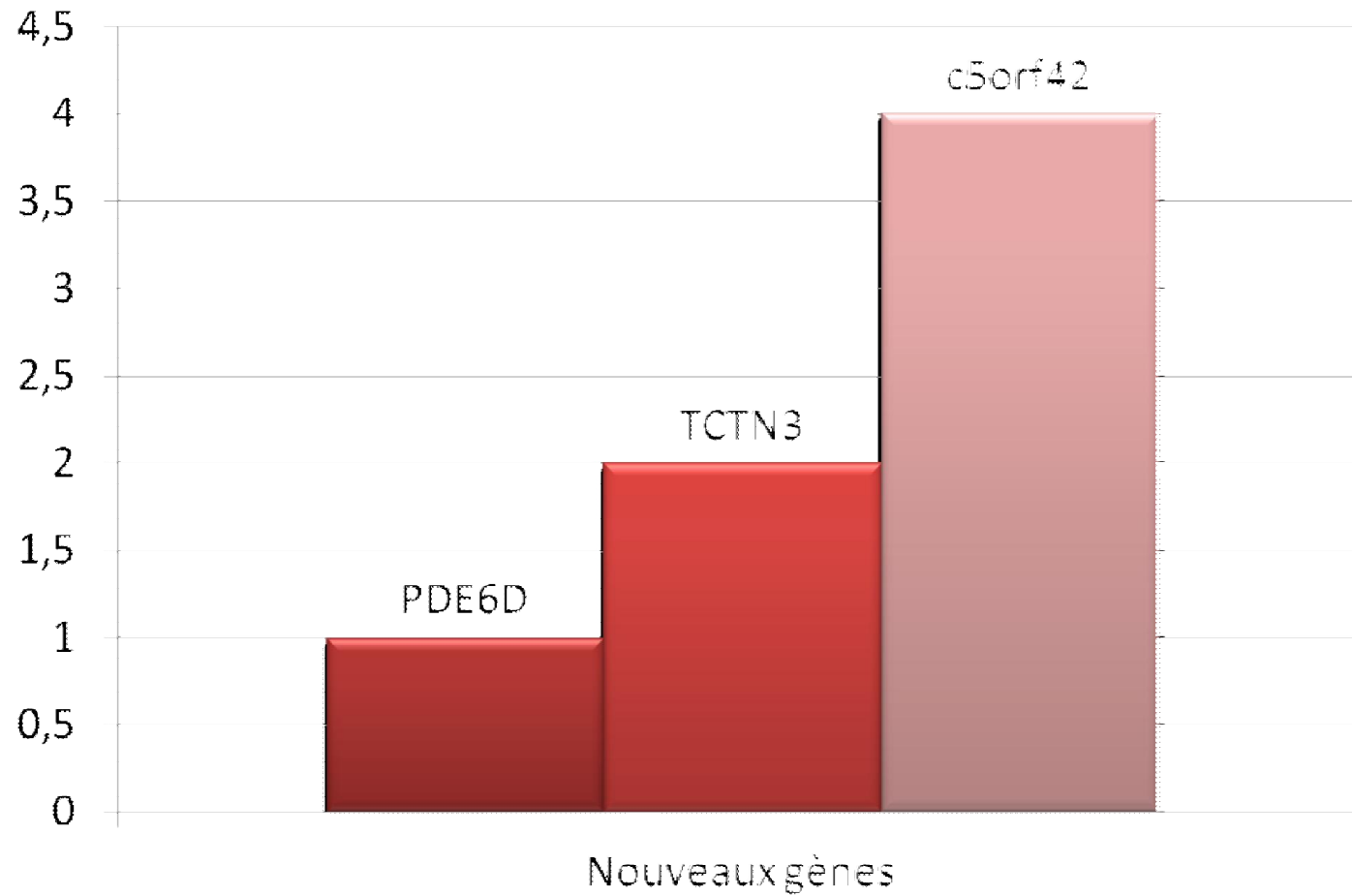


NGS ciliome/exome

Chart Title



NGS ciliome/exome

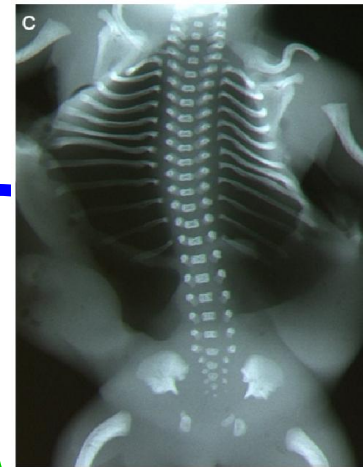


EFP100056



OFD II
Mohr

Anomalies OF
Polydactylie x4

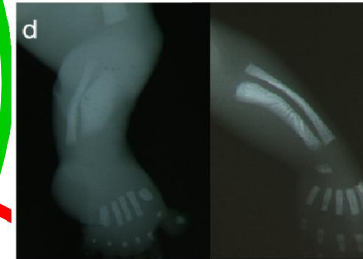


Cotes-courtes

SRP II
Majewski

Dysplasie
squelettique

Anomalies tibiales
Anomalies bassin



OFD IV

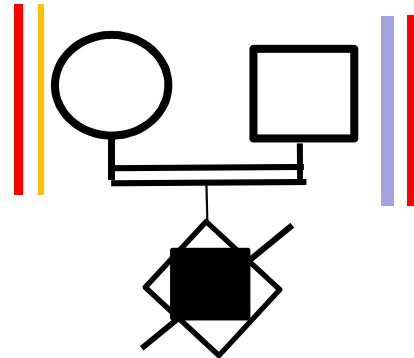


Encéphalocèle occipitale
Agénésie vermis, ACC
Reins kystiques
Fibroadénomatose biliaire

Meckel

Cartographie par homozygotie + exome ciliaire

MKS-E1047: Consanguine, sénégalaise

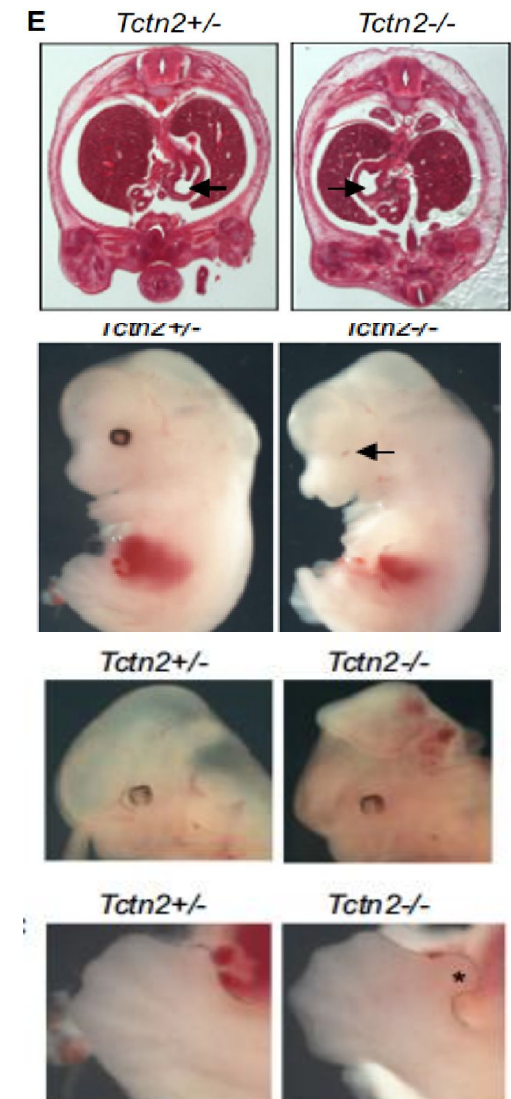
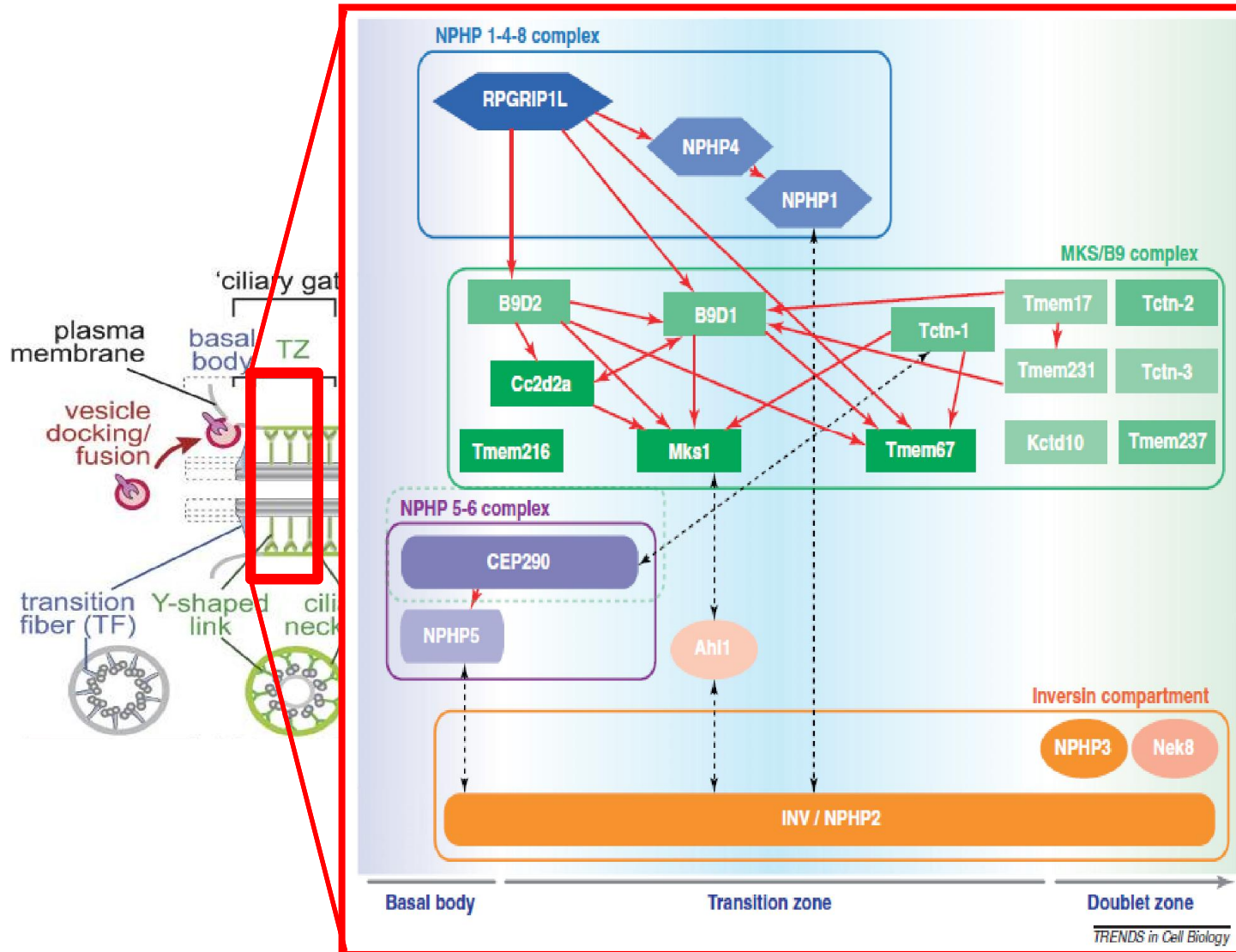


chromosome 1 = 10 Mb
 chromosome 2 = 31 Mb, 24Mb, 22 Mb
 chromosome 4 = 10 Mb, 8 Mb
 chromosome 6 = 7 Mb
 chromosome 8 = 6 Mb, 13 Mb
 chromosome 10 = 22 Mb, 42Mb
 chromosome 11 = 16 Mb
 chromosome 13 = 7 Mb
 chromosome 21 = 12 Mb

	Number of variations	Number of genes
Total variants called	7718	2638
Exonic + Splice-sites (SS) variants	1621	772
Non-synonymous (NS) + SS + frameshifts	948	552
Unknown variants (dbSNP132/1K genome/in-house database filtering)	53	51
Homozygous variations	13	13
Quality filtering (Coverage \geq 5 reads)	2	2
Mapping analysis	1	1

TCTN3
p.Gln408X

TCTN3 appartient à un complexe de la zone de transition



Sang et al. *Cell* 145, 2011

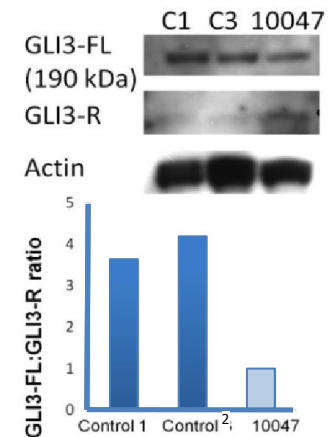
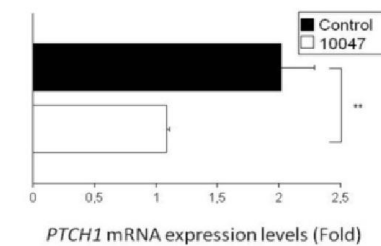
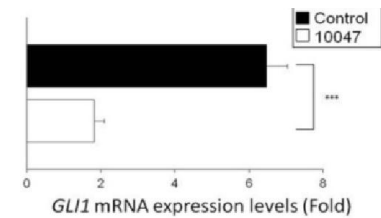
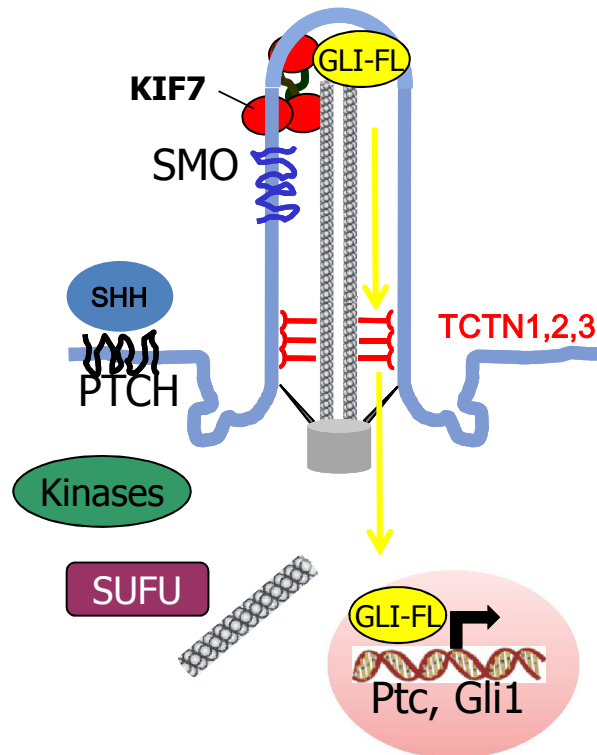
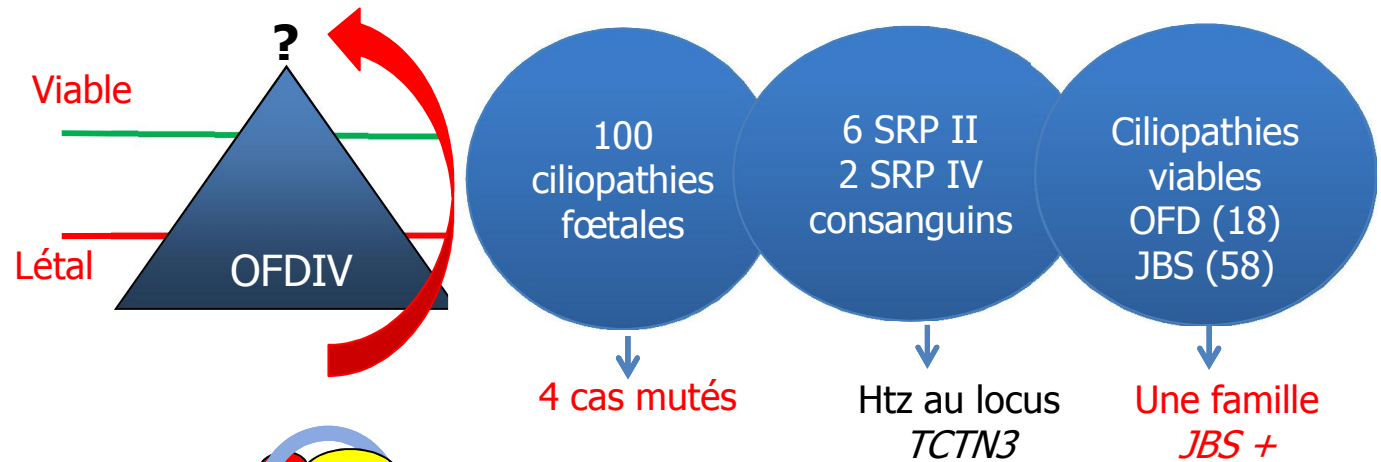
Mutations de *TCTN3* : effet et spectre phénotypiques



Etude de liaison
+
Exome ciliaire

TCTN3

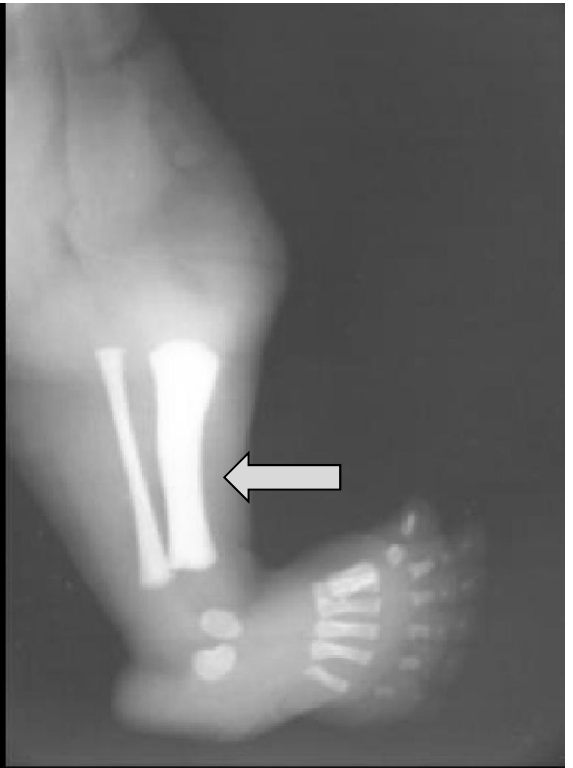
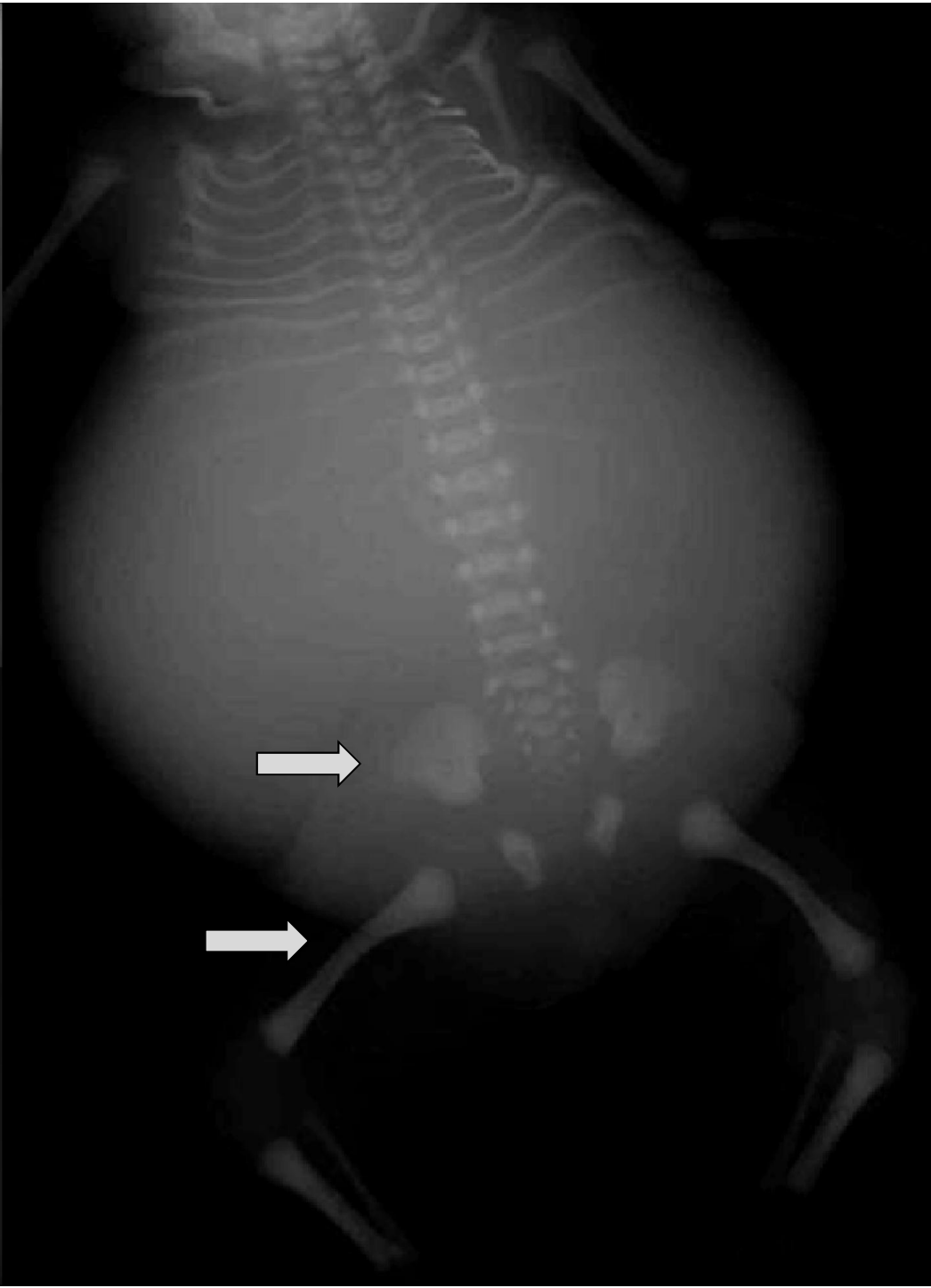
Thomas et al, *AJHG* 2012



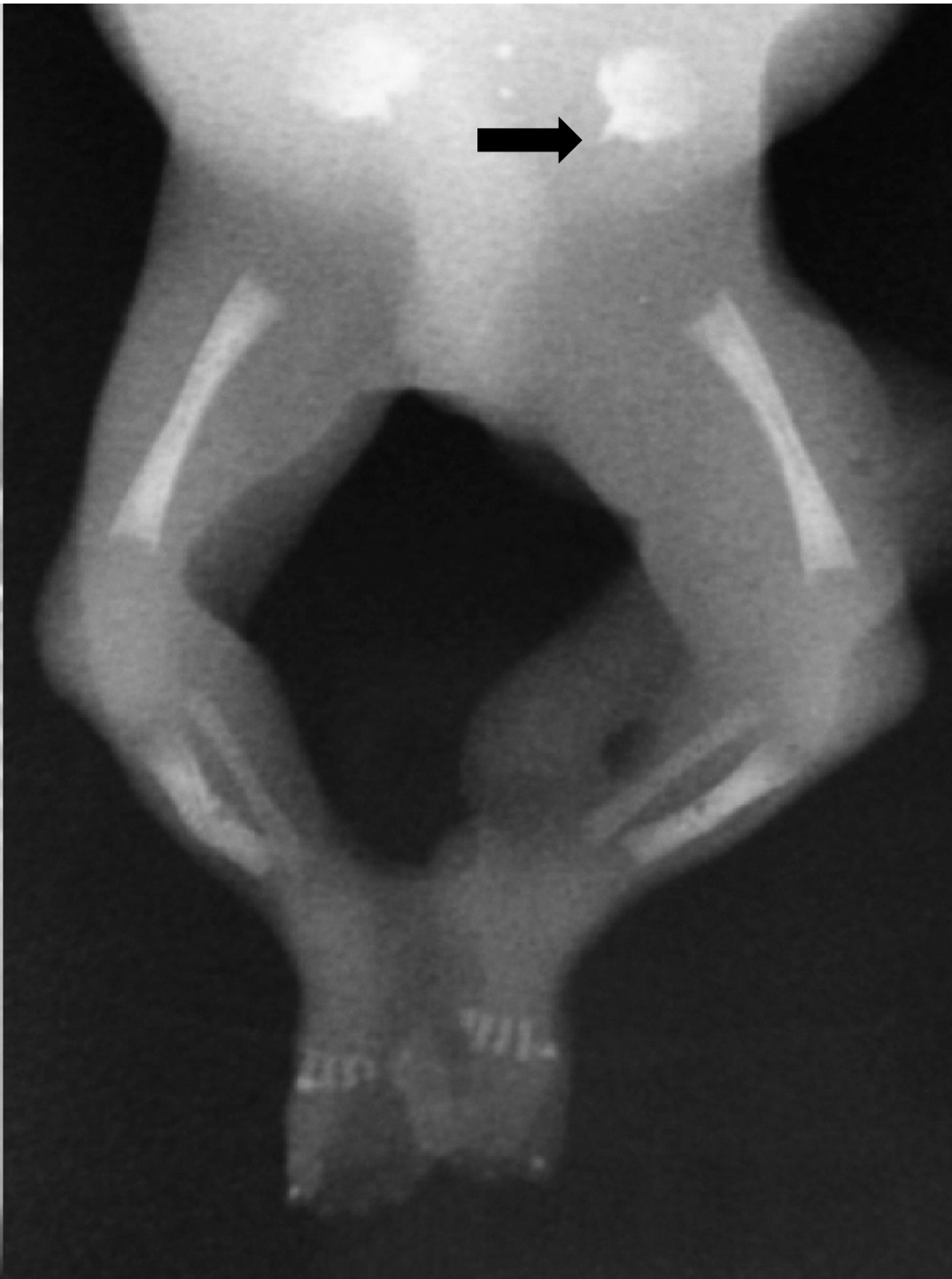
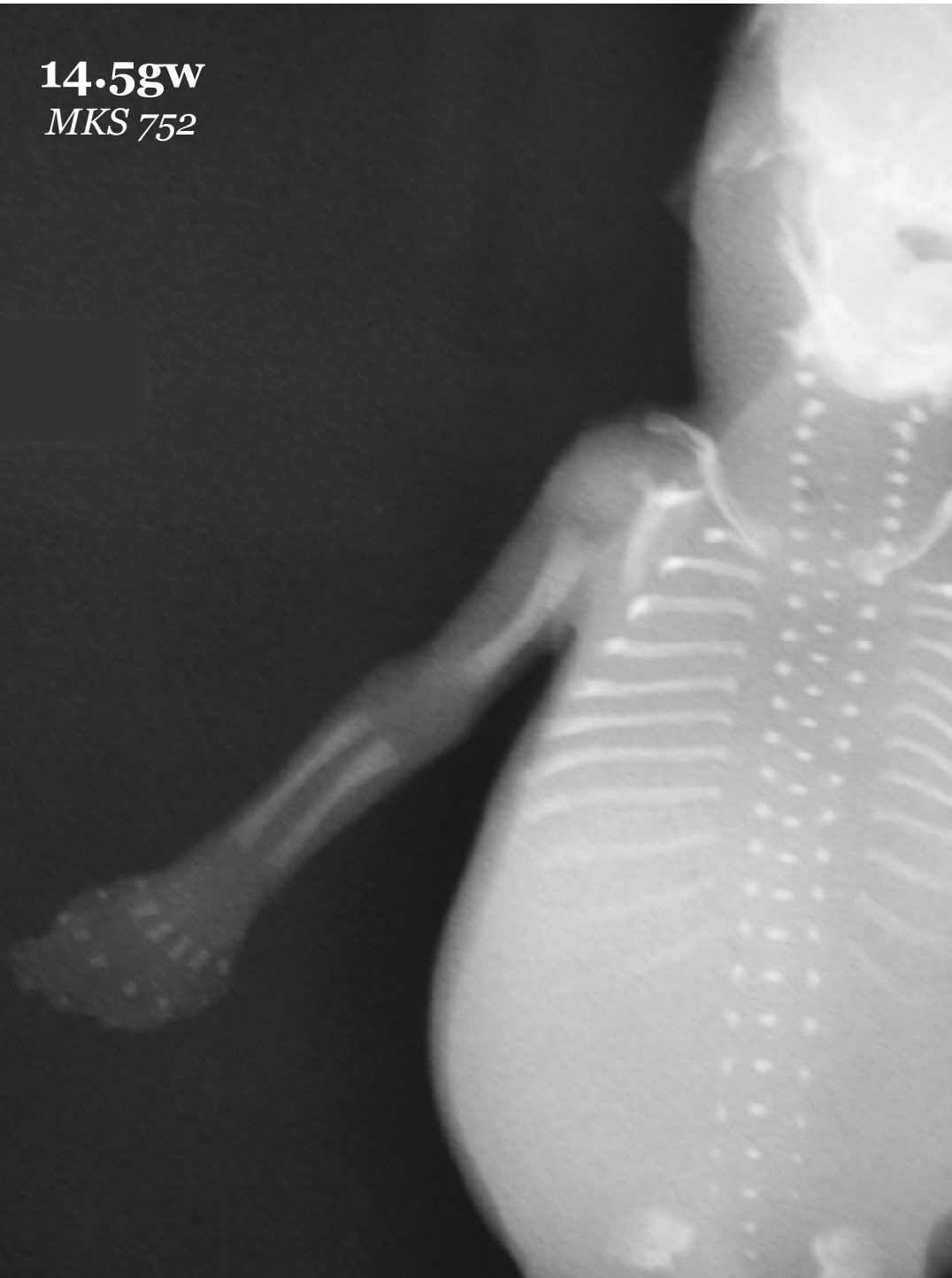
31,5gw
11385



31,5gw
11385



14.5gw
MKS 752



Conclusions(3)

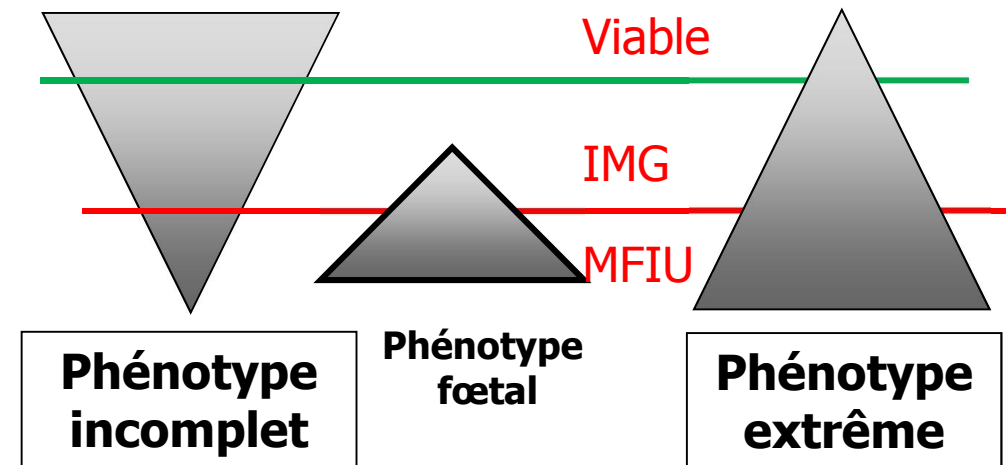
- **Mutations *TCTN3* : MKS + OFD IV** (Mohr-Majewski)
 - Anomalies OF : variables
 - Dysplasie des tibias: sévérité variable
 - Sans raccourcissement des côtes
- **Corrélations génotype/phénotype :**
 - Mutations tronquantes : formes sévères létales d'OFD IV
 - Mutations faux-sens: Joubert
- **TCTN3 et transduction du signal SHH**
 - Perte d'activation de la voie en réponse à un agoniste
 - Processing GLI3 altéré
- **Implication de la zone de transition** dans les ciliopathies sévères

Séquençage nouvelle génération application en pathologie foetale ?

- Sélection et séquençage d'un groupe de gènes
Utopie ou réalité ?

- « Ciliopathies »
- « Immobilisme »
- « Corps calleux »

- « Anasarque ».....□



Conclusion NGS et foetopathologie

- On en rêvait...le **séquençage nouveau est arrivé !**
- **Exome / Ciliome + filtre**
 - Liaison / Gènes candidats / Plusieurs individus
 - Parents + enfant (*de novo*)

Cohorte

Validation des gènes identifiés

Phénotypage précis

Groupe de pathologie homogène
Conforter les données

INSERM U1163 (A. Munnich)

Caroline Alby
Kevin Piquand
Camille Maillard
Stanislas Lyonnet
Michel Vekemans
Sophie Thomas

Embryologie moléculaire

Nadia El Khartoufi
Amale Ichkou
Joffrey Martoglio
Lucile Boutaud

Fœtopathologie

Bettina Bessières
Charlotte Mechler
Maryse Bonnière
Ferechté Razavi
Judite De Oliveira
Leila Hakkakian

Plateforme génomique

Christine Boyle-Feysot

Plateforme Bioinformatique

Patrick Nitschke

Référents généticiens / FECLAD

Biochimie/Génétique Bichat:

C. Bouchet, S. Villaumier-Barrot, N. Seta

Centre National de Génotypage

G. Guapay, V. Meyer

Collaborations

C. Thauvin-Robinet (CHU Dijon)
L. Burglen (Trousseau)
V. Cormier –Daire (Imagine)
S. Saunier (Imagine)
C. Johnson (St. James's Hospital)