

Analyse des CNVs de tumeurs hypophysaires obtenus par ACPA : Attention à la centralisation automatique

Eudeline ALIX

Laboratoire de Cytogénétique Constitutionnelle, Hospices Civils de Lyon

Contexte

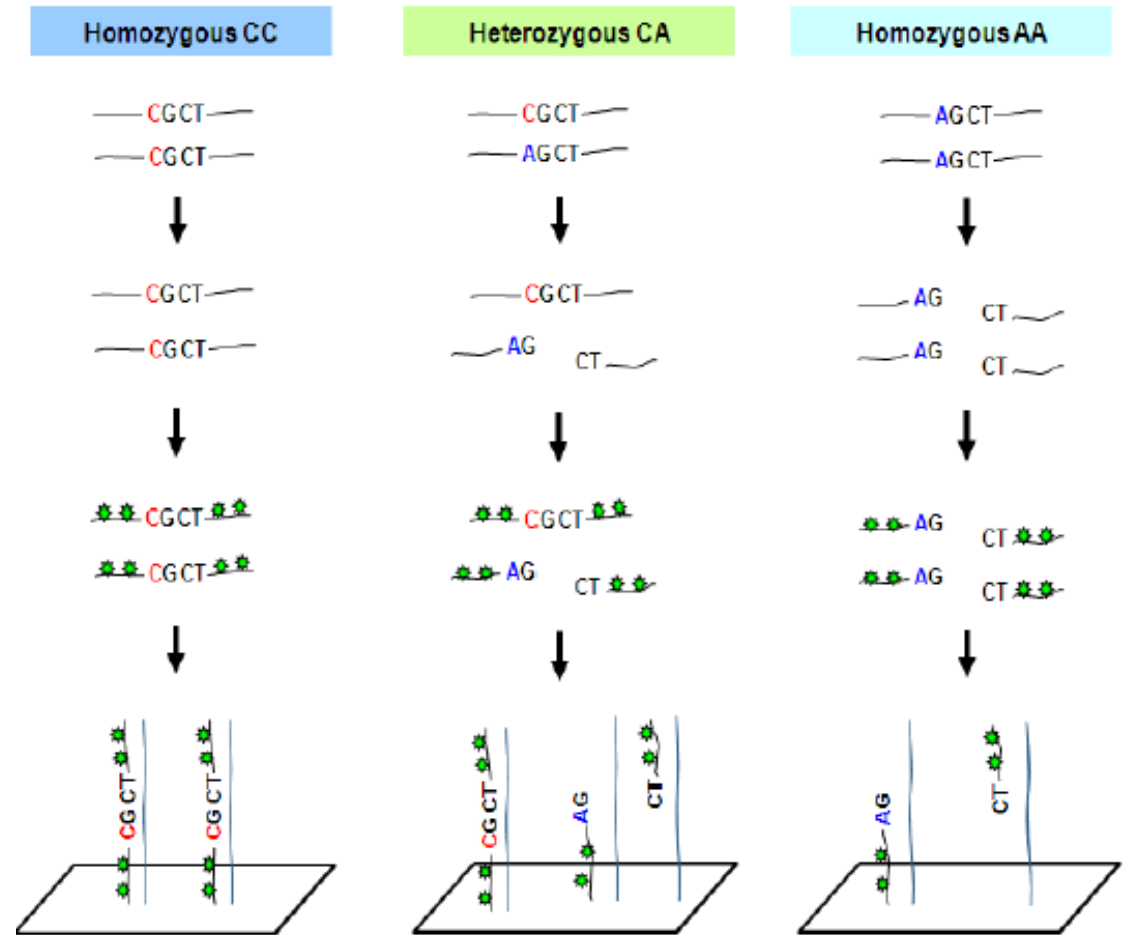
- PHRC PITUIGENE (Pr Gérald Raverot)
 - « *Identification de marqueurs d'agressivité tumorale et de malignité des tumeurs hypophysaires par analyse génomique comparative par hybridation sur puces à ADN (CGH)  * »
 - 209 tumeurs  tudi es par ACPA
- Choix technique
 - Accessibilité à une plateforme Agilent
 - Lame SurePrint G3 Cancer CGH+SNP Microarray 4x180K
 - 110 000 sondes « ACPA » =>  valuation du nombre de copies
 - 60 000 sondes « SNP » =>  valuation des LOH
 - Espacement moyen entre les sondes = 25 kb
 - Enrichissement au niveau des gènes de cancer (1 sonde / 0,5-1 kb)
 - Logiciel d'analyse = Cytogenomics[®], Agilent

CGH + SNP

Digestion par enzyme de restriction
AluI et RsaI

Marquage par des cyanines

Hybridation compétitive ADN patient / ADN témoin



Homozygotie

Hétérozygotie

Homozygotie

Nbr de "non coupure "

2

1

0

Intensité de signal

Forte

Intermédiaire

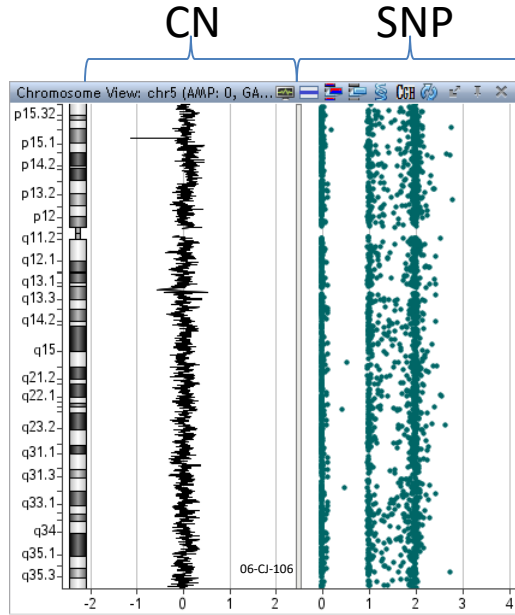
Faible

CGH + SNP : profils types

Disomie

Log ratio = 0

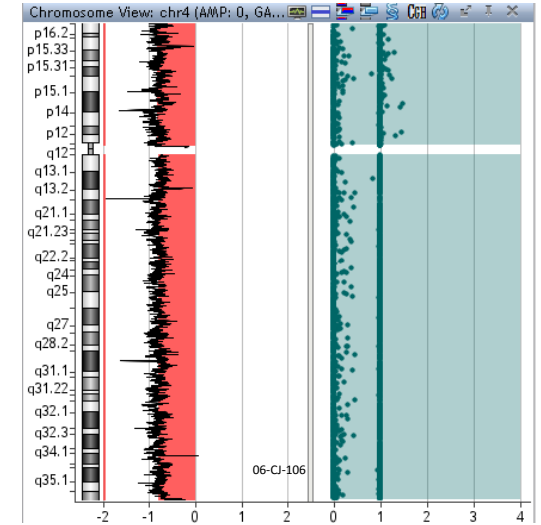
nbr de non-coupeure
= 0, 1 et 2



Monosomie

Log ratio = -1

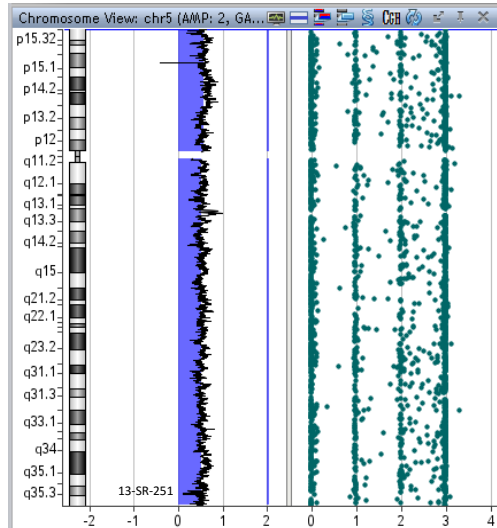
nbr de non-coupeure
= 0 et 1



Trisomie

Log ratio = +0,58

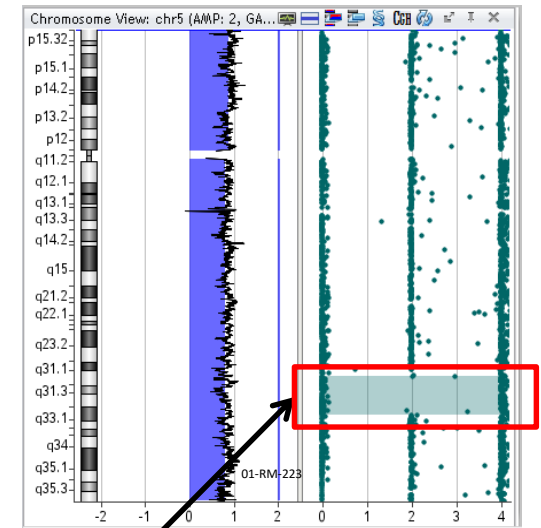
nbr de non-coupeure
= 0, 1, 2 et 3



Tétrrasomie

Log ratio = +1

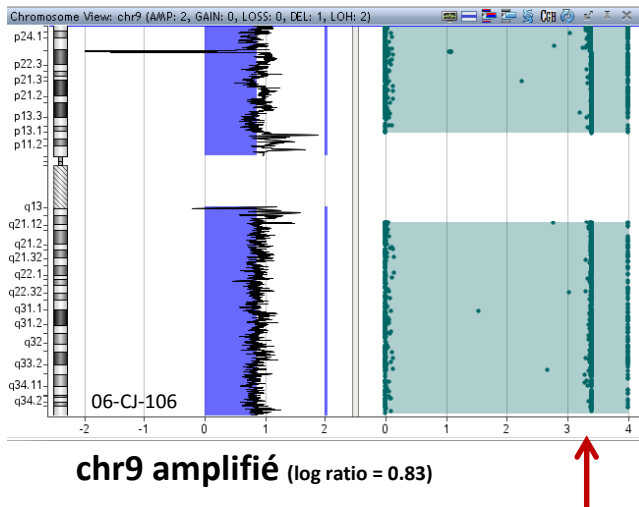
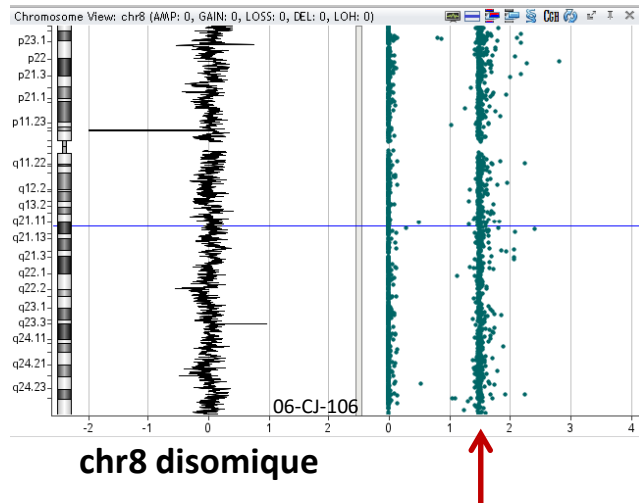
nbr de non-coupeure
= 0, 2 et 4
Ou
0, 1, 3 et 4



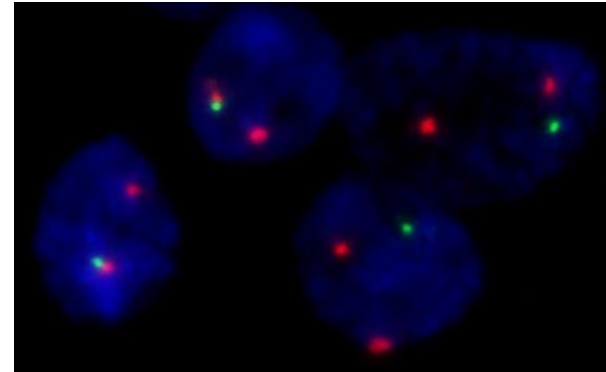
Perte d'hétérozygotie (LOH)

Problématique

Inadéquation entre résultats
du CN et résultats de SNP



Analyse par FISH



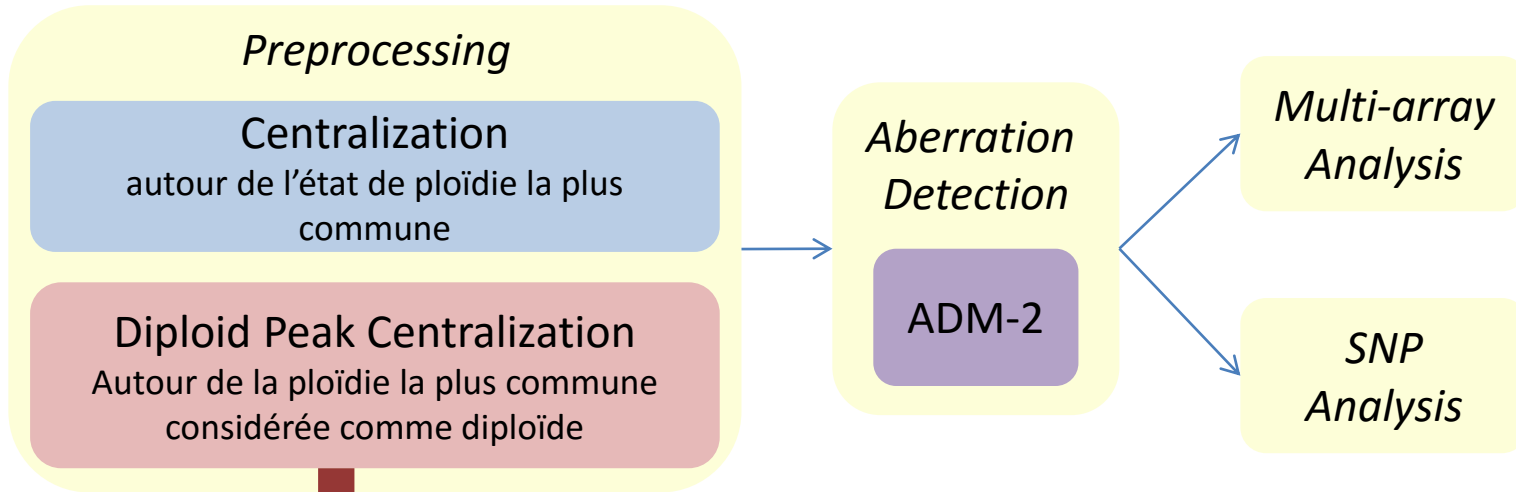
Sondes centromériques

- Chr8 α sat Cytozell vert
- Chr9 α sat Cytozell rouge

chr8 monosomique / chr9 disomique

Problème de centralisation ?

La centralisation

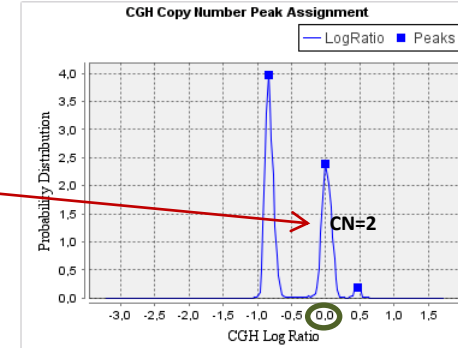
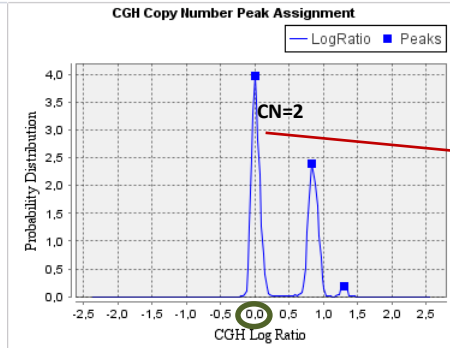


Non adapté aux génomes très remaniés

Comment modifier la centralisation ?

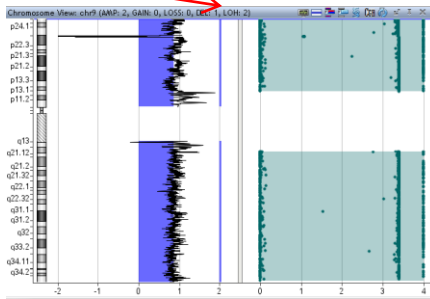
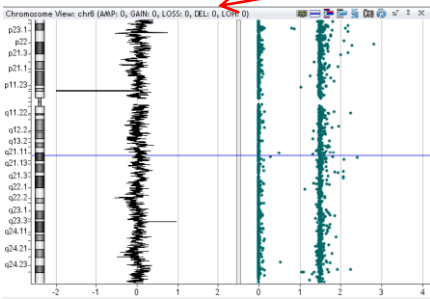
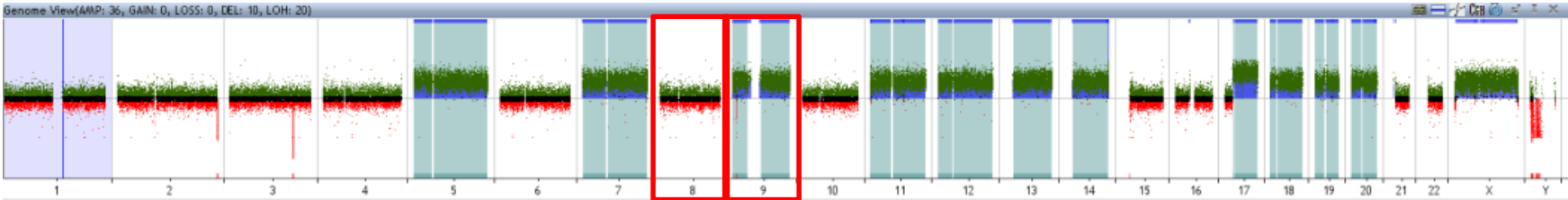
No.	Height	Width	Log Ratio	Copy Number
1	3.9756825	6.0	0.0	2
2	2.381153	8.0	0.8394286	3
3	0.18540089	6.0	1.308521	4

No.	Height	Width	Log Ratio	Copy Number
1	3.9756825	6.0	-0.8394286	1
2	2.381153	8.0	0.0	2
3	0.18540089	6.0	0.46909243	3

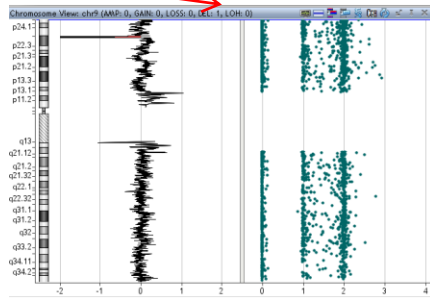
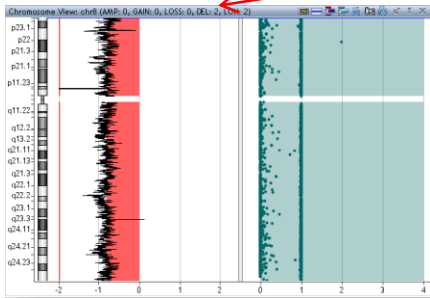
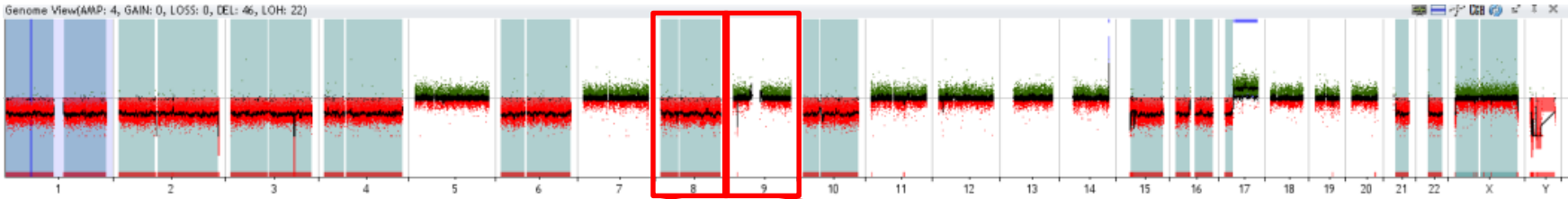


Comparaison des profils avant / après recentralisation

Profil ACPA initial

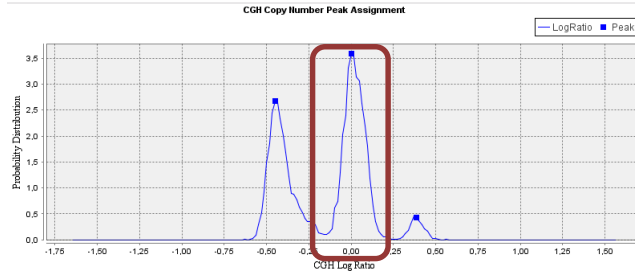
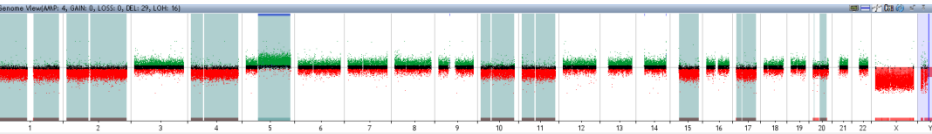


Profil ACPA après recentralisation



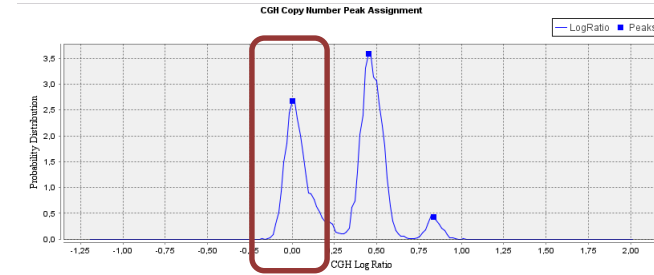
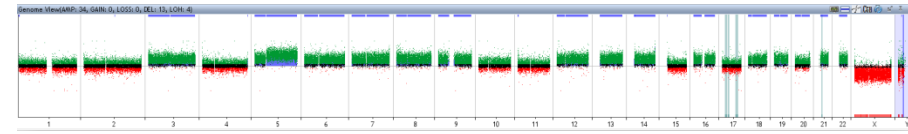
Autre exemple

Résultats initiaux

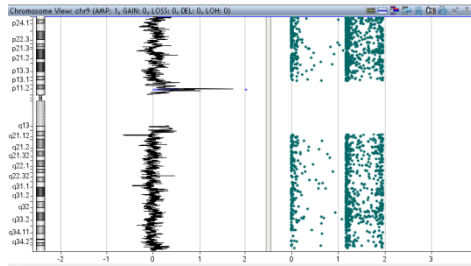


CN=2

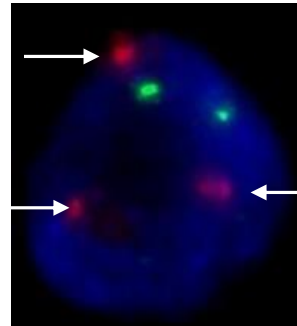
Résultats après recentralisation



CN=2



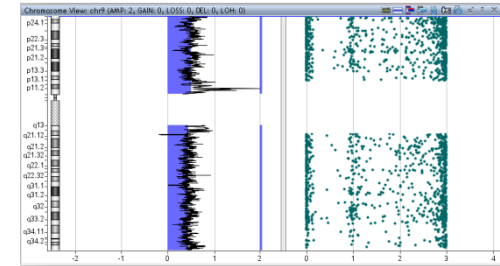
chr9 disomique



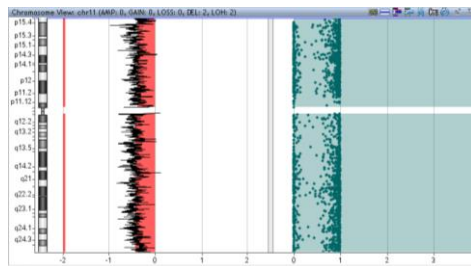
Sondes centromériques

Chr9 α sat Cytocell rouge

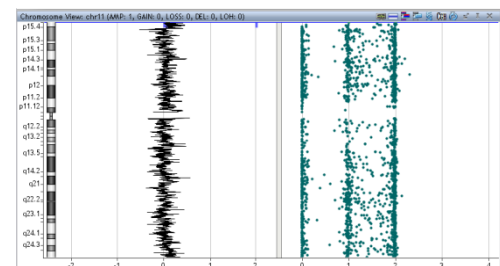
Chr11 α sat Cytocell vert



chr9 trisomique



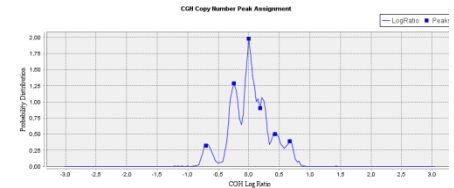
chr11 monosomique en mosaïque



chr11 disomique

Conclusion

- 17 % des profils recentralisés (11/64 tumeurs étudiées par FISH)
- **Etude combinée CN et SNP indispensable**
- Détection d'erreur de centralisation :
 - Inadéquation des résultats ACPA et SNP
 - Si $DLRS > 0.30$, SNP ininterprétables
 - Profil de distribution des log ratios très complexe
- Observation dans d'autres tumeurs : mélanomes uvéaux
- Technique de validation nécessaire : FISH



Remerciements

Equipe du PHRC PITUIGENE

Pr Gérald Raverot

Hélène Lasolle
Mad-Helenie Elsensohn
Claire Bardel-Danjean

Pr Pascal Roy

Marine Dupuis
Emmanuelle Dantony
Laurent Villeneuve

Laboratoire de Cytogénétique Constitutionnelle, Service de Génétique, HCL

**Clément Bonnefille
Jessica Michel
Brice Fayolle**

Christelle Angei	Laura Lehmann
Chantal Beche	Chantal Lavert
Christine Bel	Marie Luino
Laurence Caine	Michelle Martin
Flavie Diguët	Isabelle Morin
Anne Fautrelle	Caroline Perbet
Hélène Gilbert	Pierre-Antoine
Audrey Guillaud	Rollat-Farnier
Catherine Hempel	Christine Valex
Brigitte Jelassi	Céline Vernin
Sylvie Josue	

Audrey Labalme
Nicolas Chatron
Caroline Schluth-Bolard
Marianne Till
Pr Damien Sanlaville