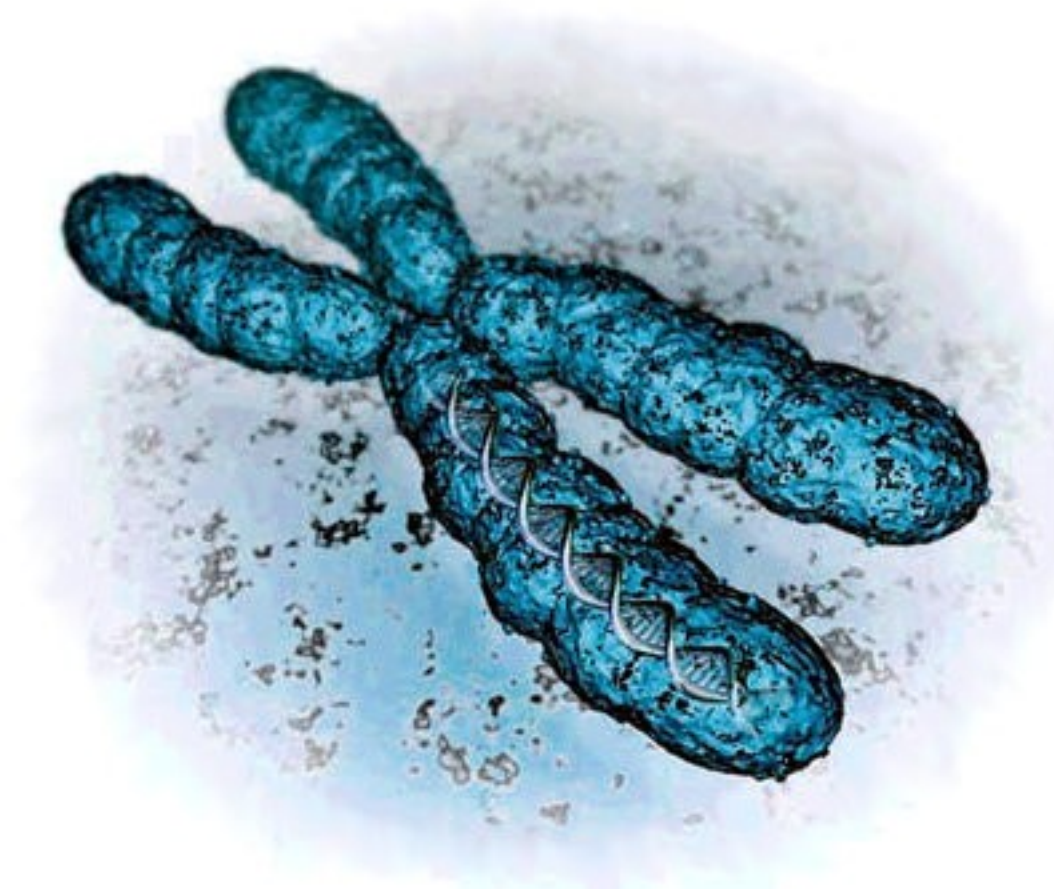


# Anomalies chromosomiques

## 2. Translocations



# 2. Translocations

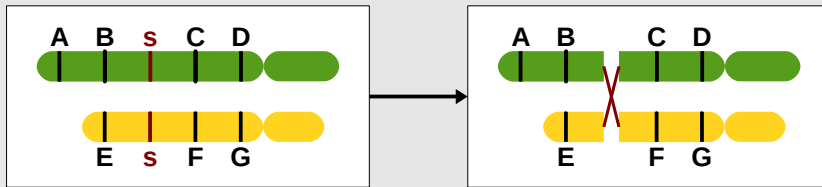
## 2.1. Mécanismes : cassures et recombinaison

### Crossing-overs

Voir cours sur les altérations du nombre de copies

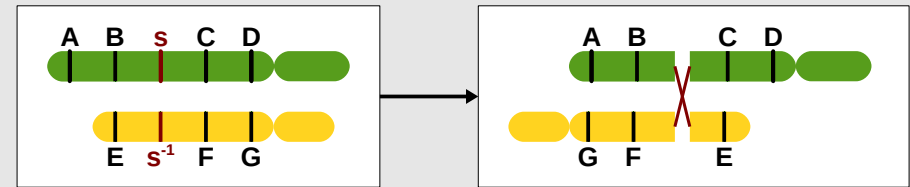
### Recombinaison non-homologue

Entre 2 chromatides de 2 chromosomes différents  
 Durant la mitose (somatique) ou la méiose (constitutionnel)

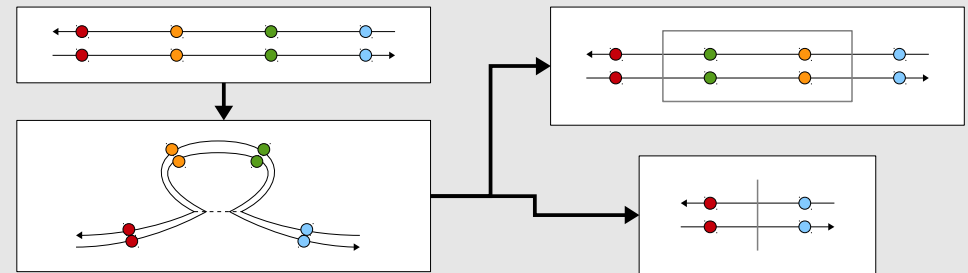


### Inversions

#### Translocation inversée



#### Auto-recombinaison



### Translocation déséquilibrée

Crossing-over équilibré en théorie

Second événement :

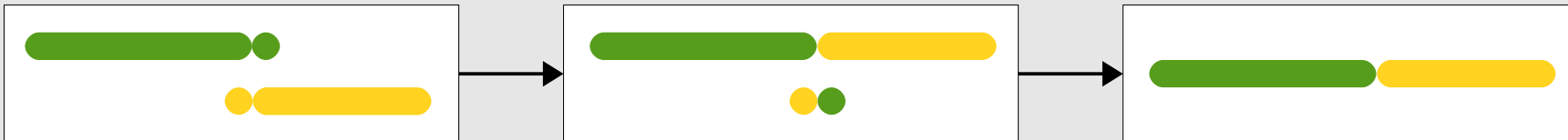
- méiose et fécondation
- perte d'un des deux chromosomes réarrangés

### Translocation de Robertson

#### Définition

Translocation centromérique

Implique 2 chromosomes acrocentriques (13, 14, 15, 21, 22, Y)



### Translocation déséquilibrée

Le chromosome issu des bras courts est rapidement perdu

### Génomique constitutionnelle

Phénomène à l'origine de trisomies chez la descendance

## 2. Translocations

### 2.2. Exemple : t(9;22) dans les LMC

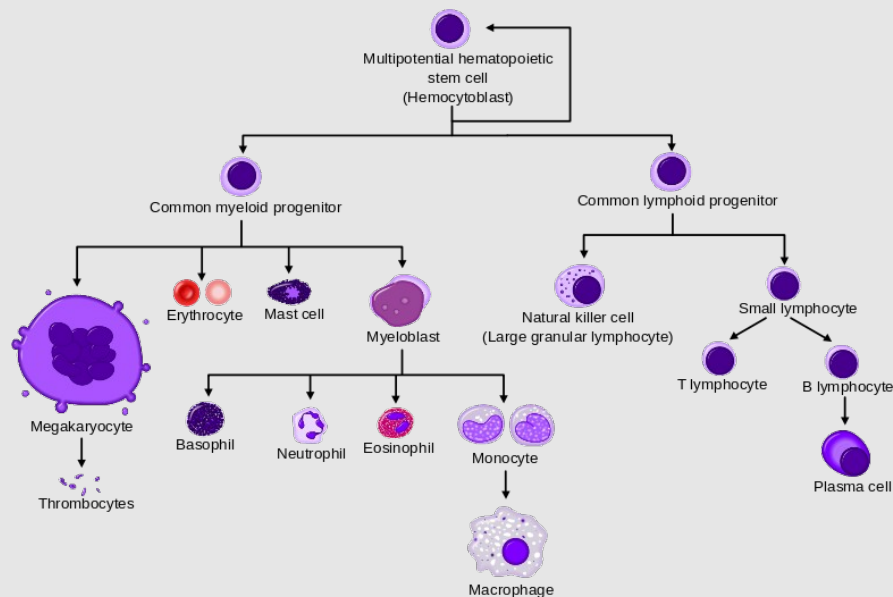
#### 2.2.1. Contexte clinico-biologique

# Leucémie Myeloïde Chronique (CML)

## Deux lignées

### Cellule Souche Hématopoïétique

Lignée myeloïde majoritairement (~70%)



[http://en.wikipedia.org/wiki/File:Hematopoiesis\\_simple.svg](http://en.wikipedia.org/wiki/File:Hematopoiesis_simple.svg)  
Original by A. Rad, modified by Mikael Häggström (CC by-sa)

## Epidémiologie

Age median : 60 ans

CML 1 à 2 pour 100 000 personnes (USA 2003)  
tous cancers 143 pour 100 000 personnes (USA 2008)

Sans traitement survie médiane de 2 à 3 ans  
Depuis le Glivec survie à 5 ans ~ 90%

## Phase chronique (CP)

### Leucocytose

Neutrophiles, basophiles, eosinophiles  
Quantités élevées de cellules normales (sang et moelle)  
Modérée, asymptomatique dans 30% des cas

### Splénomégalie

## Phase accélérée (AP)

### Aggravation des symptômes

Critères de numération  
Annonce la phase blastique

### Clonalité

Apparition de clones dominants

## Phase blastique (BP)

### Envahissement de blastes

Apparition de cellules non-différenciées

### Envahissement extra-médullaire

Ossature, peau, système nerveux central

### Progression rapide

# 2. Translocations

## 2.2. Exemple : t(9;22) dans les LMC

### 2.2.2. Le chromosome de Philadelphie

#### Chromosome de Philadelphie

#### 1845 : description clinique de la LMC

Dr David Craigie, Edinburgh Medical and Surgical Journal

#### 1960 : un nouveau chromosome (Ph1)

Confusion avec le chromosome 21 (Syndrome de Down)

Novell & Rutherford (1960) Science 132, 1497

*A minute chromosome in human chronic granulocytic leukemia.*

#### 197- : chromosome banding

Q-banding (1970), G-banding (1971) ...

Identification du chromosome 22

#### 1973 : translocation 9;22

J Rowley (1973) Nature 243, 290

Translocation réciproque

#### 1982 : ABL

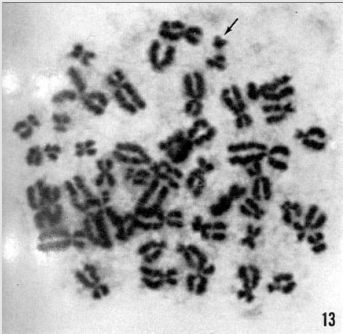
De Klein (1982) Nature 300, 765

#### 1984 : BCR

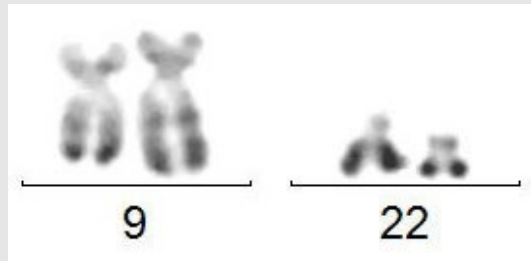
Grofen (1984) Cell 36, 93

#### 1993 : développement de l'imatinib

#### 1998 : premiers tests cliniques du Glivec



Novell & Rutherford (1960)



Centre Henri Becquerel

Gaery (2000) BJH 110, 2 - *The story of chronic myeloid leukaemia*

#### Translocation 9:22 (BCR-ABL1)

90 % des LMC, outil diagnostique [cf 2.2.5]

#### BCR : Breakpoint Cluster Region

Kinase, rôle inconnu

#### ABL1 : Abelson's oncogene #1

Kinase, division / différenciation cellulaire, réparation de l'ADN ...

#### Fusion BCR-ABL1

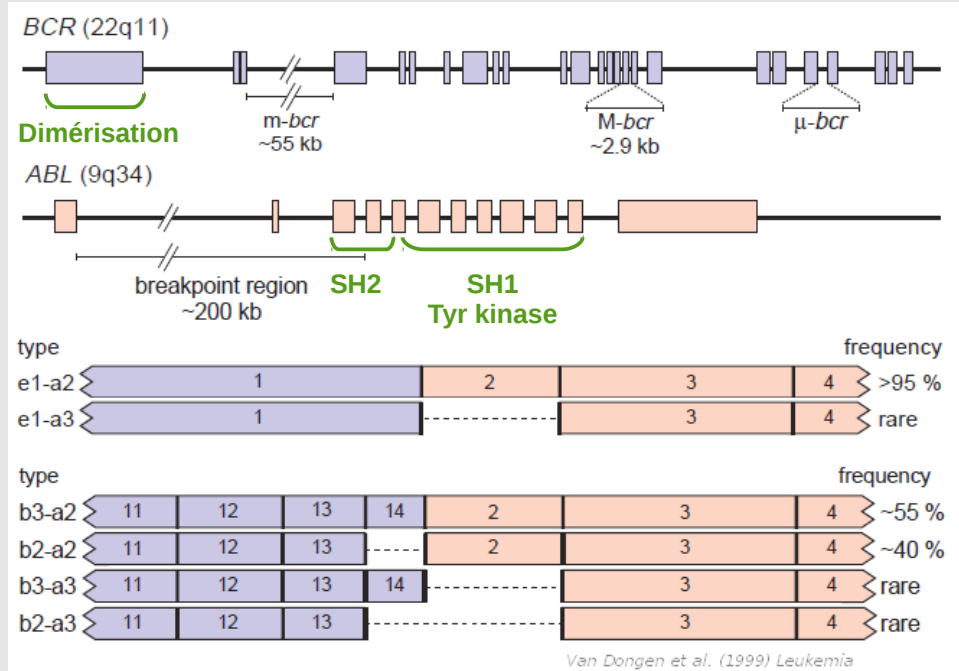
Dimérisation grâce à l'exon 1 de BCR

Auto-phosphorylation par le domaine SH1

Activation permanente de la cascade

#### Cible thérapeutique

Développement de l'imatinib par criblage



## 2. Translocations

### 2.2. Exemple : t(9;22) dans les LMC

#### 2.2.3. Mise en évidence par FISH en métaphase

##### Caryotype conventionnel

Culture cellulaire, blocage en métaphase

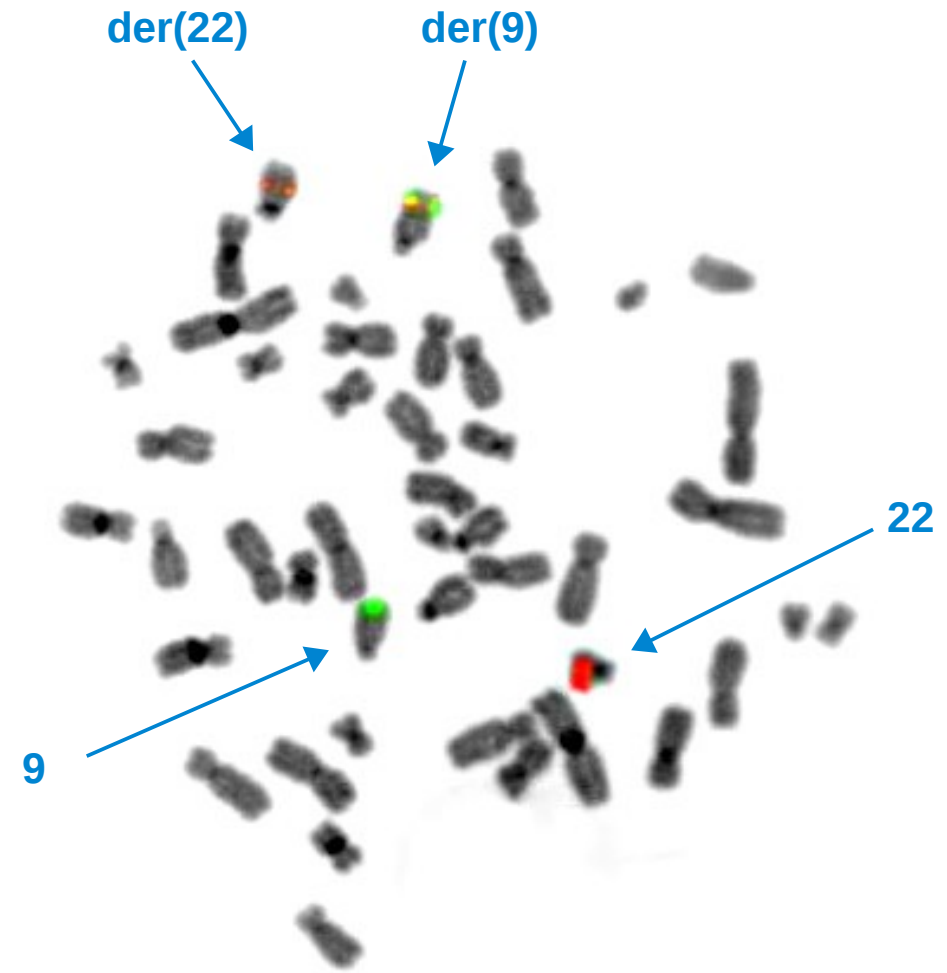
##### Sondes fluorescentes

BCR en rouge

ABL en vert

##### Différence avec l'interphase

- culture cellulaire
- + identification du chromosome hôte



## 2. Translocations

### 2.2. Exemple : t(9;22) dans les LMC

#### 2.2.4. Au delà de la FISH en métaphase : FISH multiplex

#### Caryotype conventionnel

Culture cellulaire, blocage en métaphase

#### Mélange de Sondes fluorescentes

4 ou 5 couleurs, différentes combinaisons

#### Précise les caryotypes

Moins de « marqueurs »

Translocations complexes

#### Multiplex FISH (M-FISH)

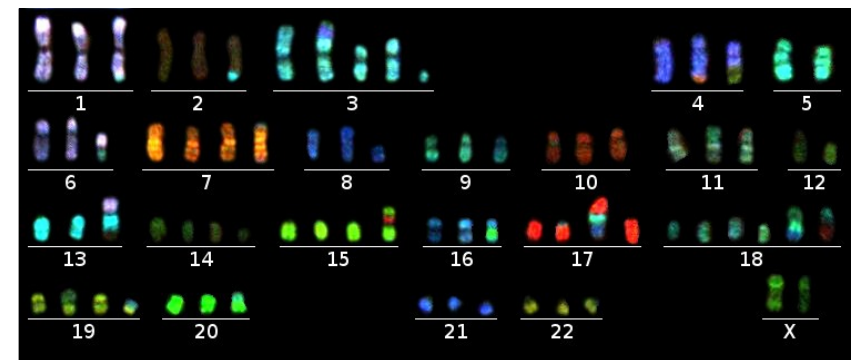
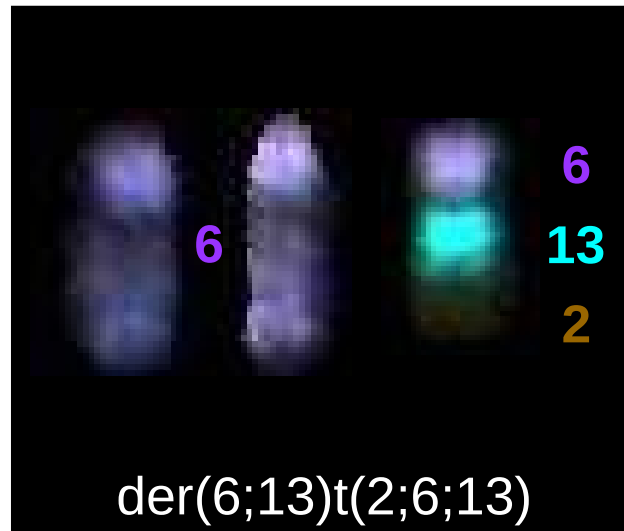
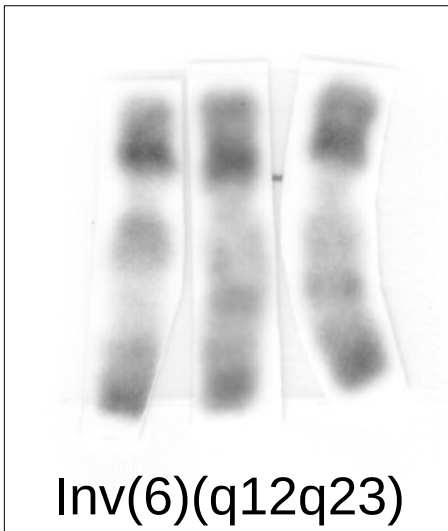
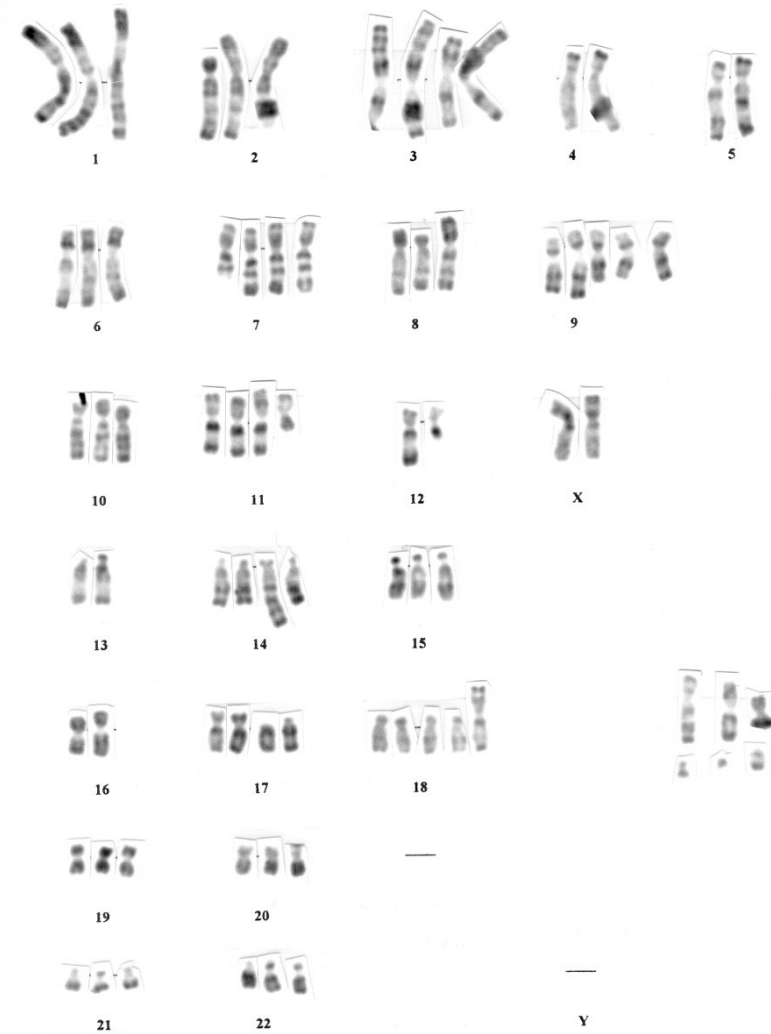
Speicher et al. (1996) Nat Genet. Apr;12(4):368-75.

#### Spectral Karyotyping (SKY)

Schröck et al. (1996) Science. Jul 26;273(5274):494-7.

#### Combined Binary Ratio labelling (COBRA)

Tanke et al. (1999) Eur J Hum Genet. Jan;7(1):2-11.



# 2. Translocations

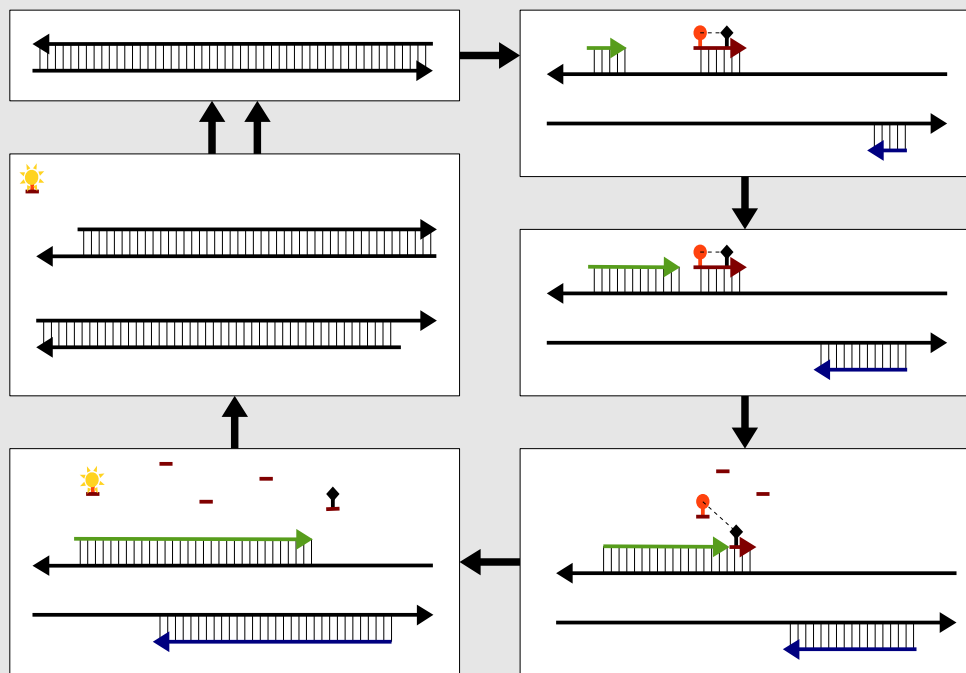
## 2.2. Exemple : t(9;22) dans les LMC

### 2.2.5. Application diagnostique par TaqMan

#### TaqMan

#### RT-PCR quantitative

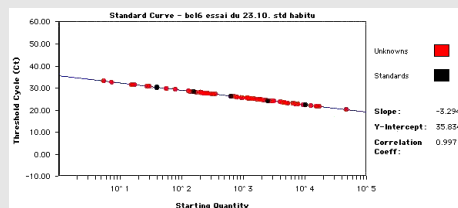
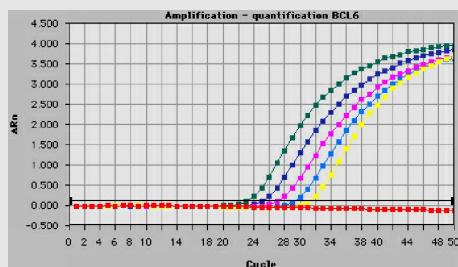
2 primers + sonde (reporter + quencher)



#### Quantification par étalonnage

Ct = nombre de cycles au dépassement du seuil

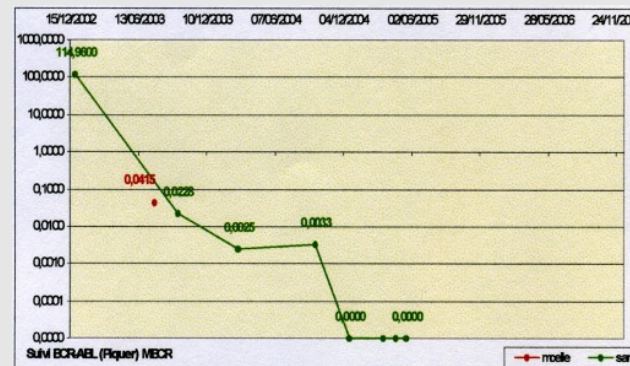
Comparaison à une gamme étalon



#### Suivi de la « maladie résiduelle »

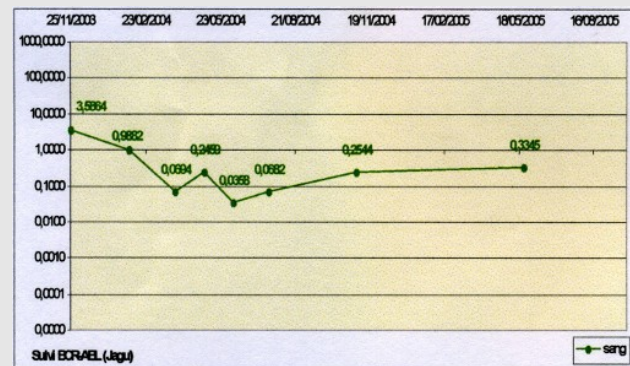
#### Bio-marqueur de la CML

Évaluation de la charge tumorale circulante



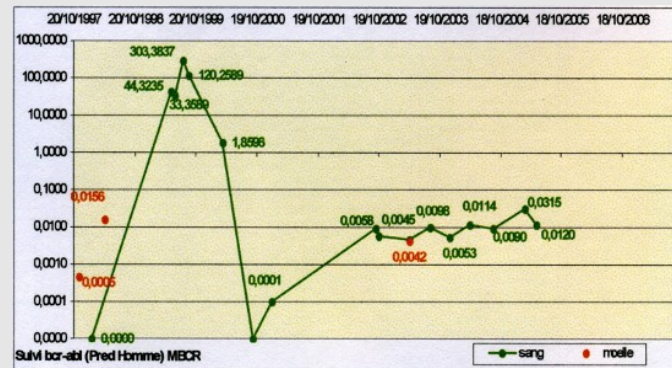
30/12/2002	sang	114,9600
24/07/2003	moelle	0,0415
24/09/2003	sang	0,0228
02/03/2004	sang	0,0025
20/09/2004	sang	0,0033
20/09/2004	moelle	0,0000
20/12/2004	sang	0,0000
18/03/2005	sang	0,0000
20/04/2005	sang	0,0000
20/05/2005	sang	0,0000

Traitement efficace



25/11/2003	sang	3,5864
03/02/2004	sang	0,9882
30/03/2004	sang	0,0694
04/05/2004	sang	0,2459
08/06/2004	sang	0,0358
20/07/2004	sang	0,0682
02/11/2004	sang	0,2544
24/05/2005	sang	0,3345

Résistance au traitement



01/10/2002	sang	0,0090
14/10/2002	sang	0,0058
15/04/2003	sang	0,0045
15/04/2003	moelle	0,0042
18/08/2003	sang	0,0098
16/12/2003	sang	0,0053
13/04/2004	sang	0,0114
01/09/2004	sang	0,009
08/03/2005	sang	0,0315
18/05/2005	sang	0,012

Rechute

## 2. Translocations

### 2.3. Exemple : t(MYC) et DLBCL

#### 2.3.1. Contexte clinico-biologique

P. Bertrand et al (2007) Leukemia 21, 515

#### **Observation : t(8q24) dans les DLBCL**

Mis en évidence par G-banding [cf §1.2.3]

Lymphomes B diffus à grandes cellules [cf §1.3.1]

#### **Translocation de MYC connues**

t(8;14)(q24;q32) entre MYC et IGH

Même schéma que pour la t(14;18)

~90% des lymphomes de Burkitt

#### **MYC : MYelocytomatosis viral onCogene homolog**

Facteur de transcription

Cycle cellulaire, apoptose, différenciation

#### **Quels partenaires ?**

Loci partenaire inconnus (9p13, 2p15, 7p12 ...)

Précision par FISH et LDI-PCR

Leukemia (2007) 21, 515–523

© 2007 Nature Publishing Group All rights reserved 0887-6924/07 \$30.00

[www.nature.com/leu](http://www.nature.com/leu)



## ORIGINAL ARTICLE

### **Mapping of MYC breakpoints in 8q24 rearrangements involving non-immunoglobulin partners in B-cell lymphomas**

P Bertrand, C Bastard, C Maingonnat, F Jardin, C Maisonneuve, M-N Courel, P Ruminy, J-M Picquenot, H Tilly

*Groupe d'Etude des Proliférations Lymphoïdes, Centre Henri Becquerel, INSERM U614, IFRMP23, Rouen, France*



# 2. Translocations

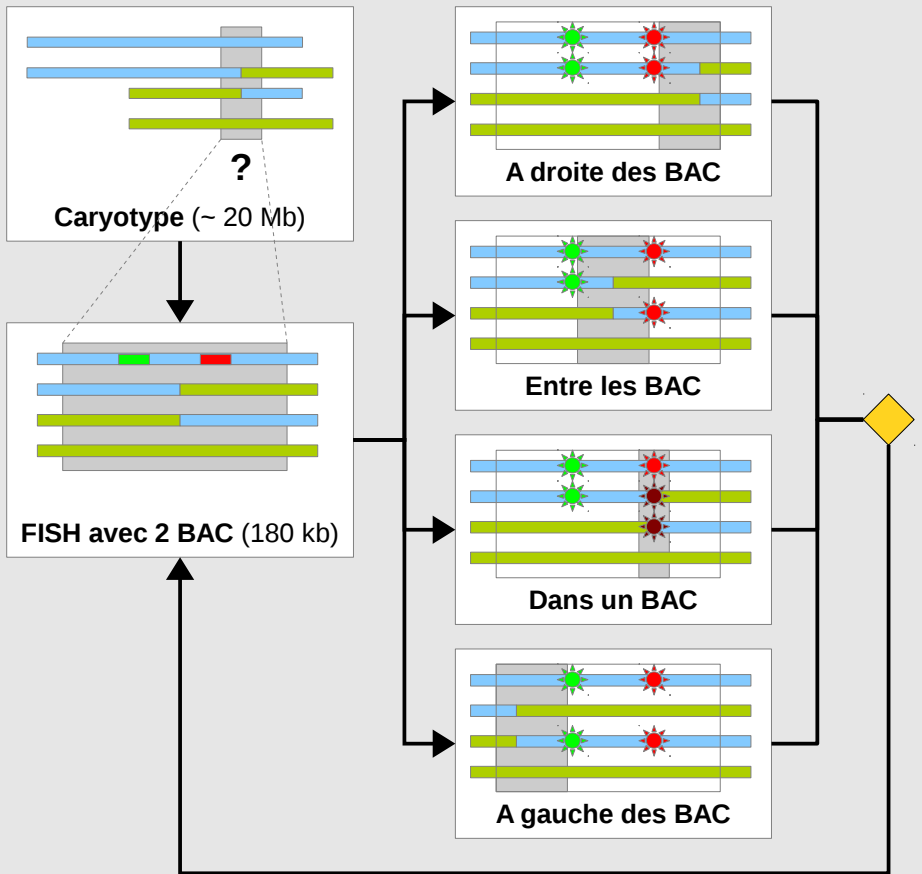
## 2.3. Exemple : t(MYC) et DLBCL

### 2.3.2. Marche cytogénétique

#### Principe

**Objectif : préciser la cassure**

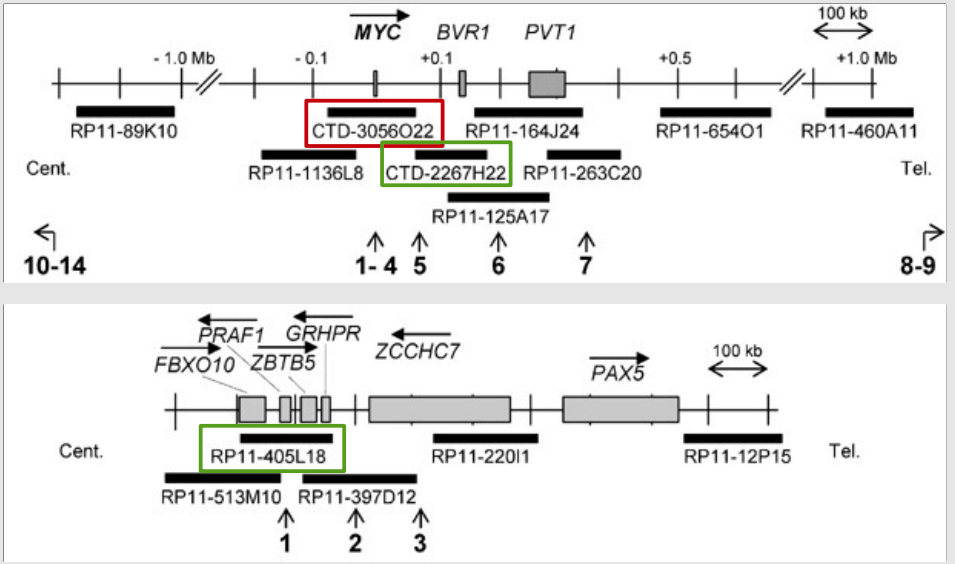
Travail sur un partenaire à la fois (bleu ici)  
 Utilisation de sondes « break apart » en FISH  
 Rapprochement progressif des sondes



Réduction de la région par cycles (~ 3 semaines)  
 Utilisation de FOSMID (40 kb)  
 Utilisation de sondes chevauchantes

#### Résultats

Figures extraites de P. Bertrand et al (2007) Leukemia 21, 515

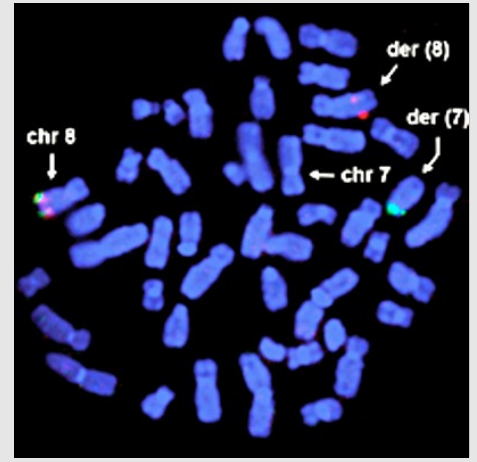
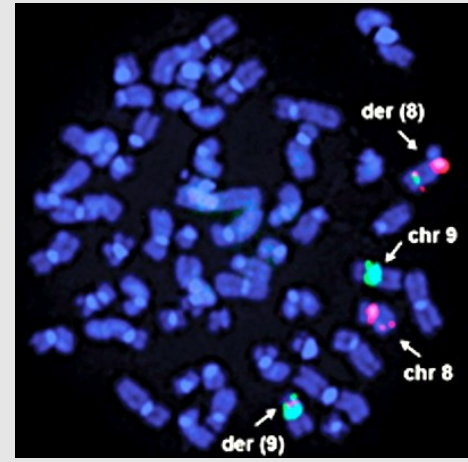


#### Cas #1 : une sonde

- centromère 8
- **CTD-3056O22 (MYC)**
- centromère 9
- RP11-405L18 (PAX5)

#### Cas #5 : deux sondes

- **CTD-3056O22 (MYC)**
- **CTD-2267H22 (MYC)**



# 2. Translocations

## 2.3. Exemple : t(MYC) et DLBCL

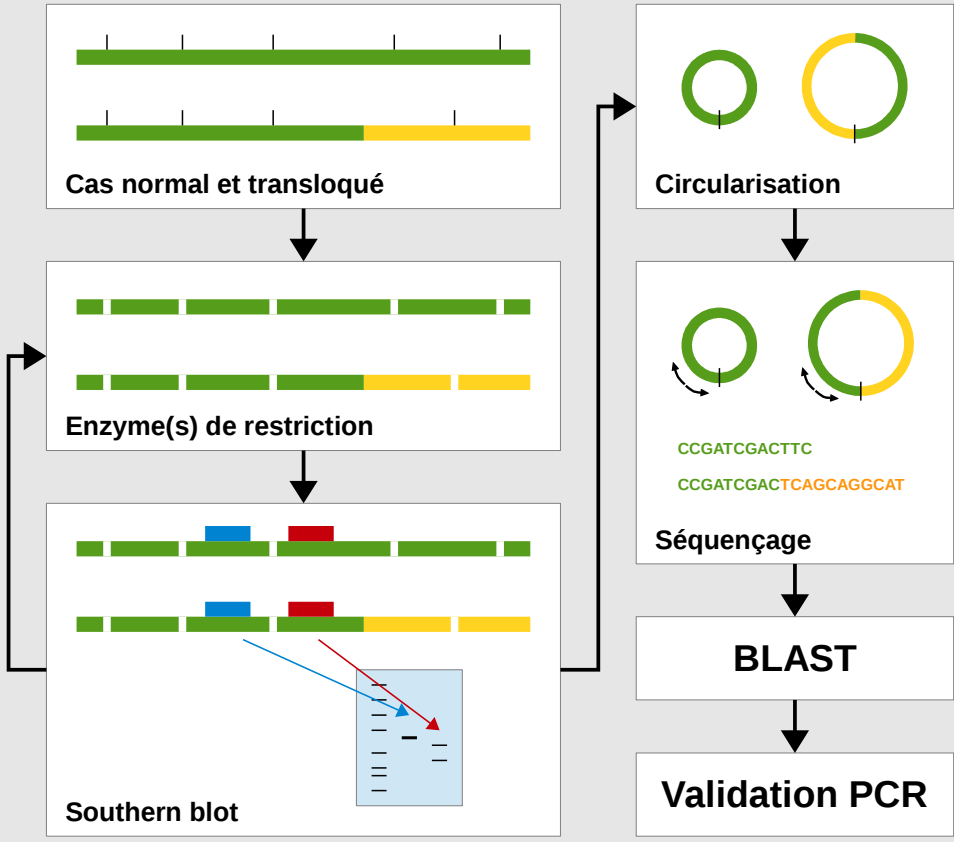
### 2.3.3. LDI-PCR

#### Long-Distance Inverse PCR

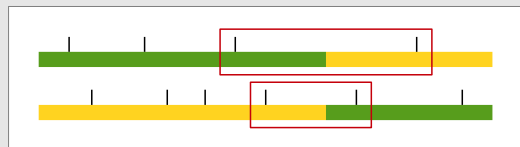
#### A la recherche du second partenaire

Point de cassure connu chez un partenaire (vert ici)

Pas d'a priori sur le second partenaire

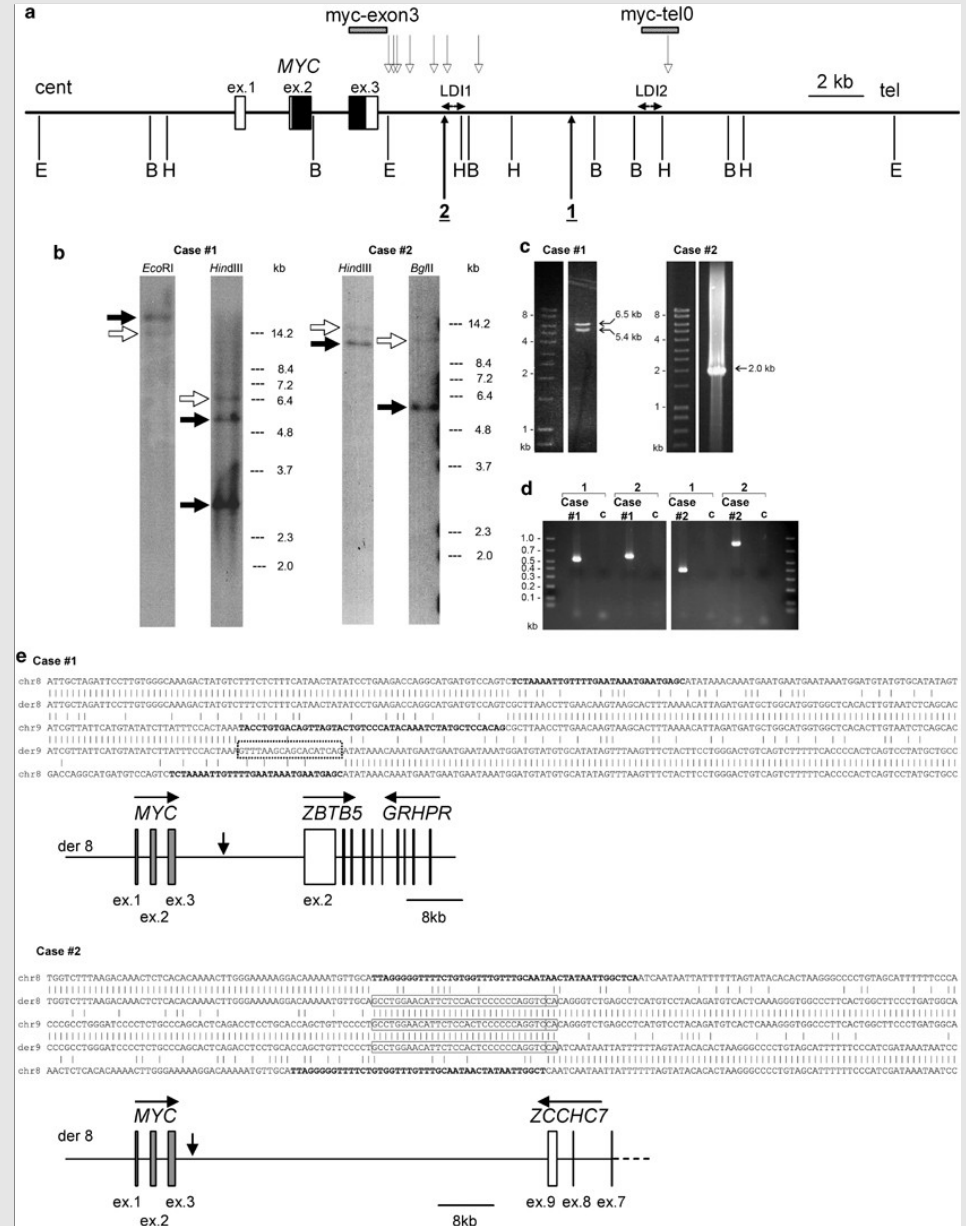


#### Deux fragments à disposition



#### Résultats

Figure extraite de P. Bertrand et al (2007) Leukemia 21, 515



# 2. Translocations

## 2.4. NGS et translocation d'IGH

Walker et al (2013) Genes Chrom. Cancer 52, 817  
*Identification of a novel t(7;14) translocation in multiple myeloma resulting in overexpression of EGFR*

### Myelome multiple

Prolifération de plasmocytes anormaux  
 Accumulation et dépôts d'IgM  
 Incurable (rechutes), survie médiane 3-4 ans

### Observations : t(IGH)

Mis en évidence par G-banding [cf §1.2.3]  
 Fréquent dans le myelome : 4, 6, 11, 16, 20 ...  
 Substitution de promoteur IGH [cf §2.2]  
 Partenaire non identifié ici

### Agilent SureSelect (MSA-Cap)

Capture des fragments transloqués par IGH

### Illumina HiSeq 2000

Séquençage paired-end (2 x 76 bp)  
 Assemblage des reads  
 Identification du partenaire par alignement

### Partenaire identifié : EGFR

Epidermal Growth Factor Receptor  
 Kinase, prolifération cellulaire

