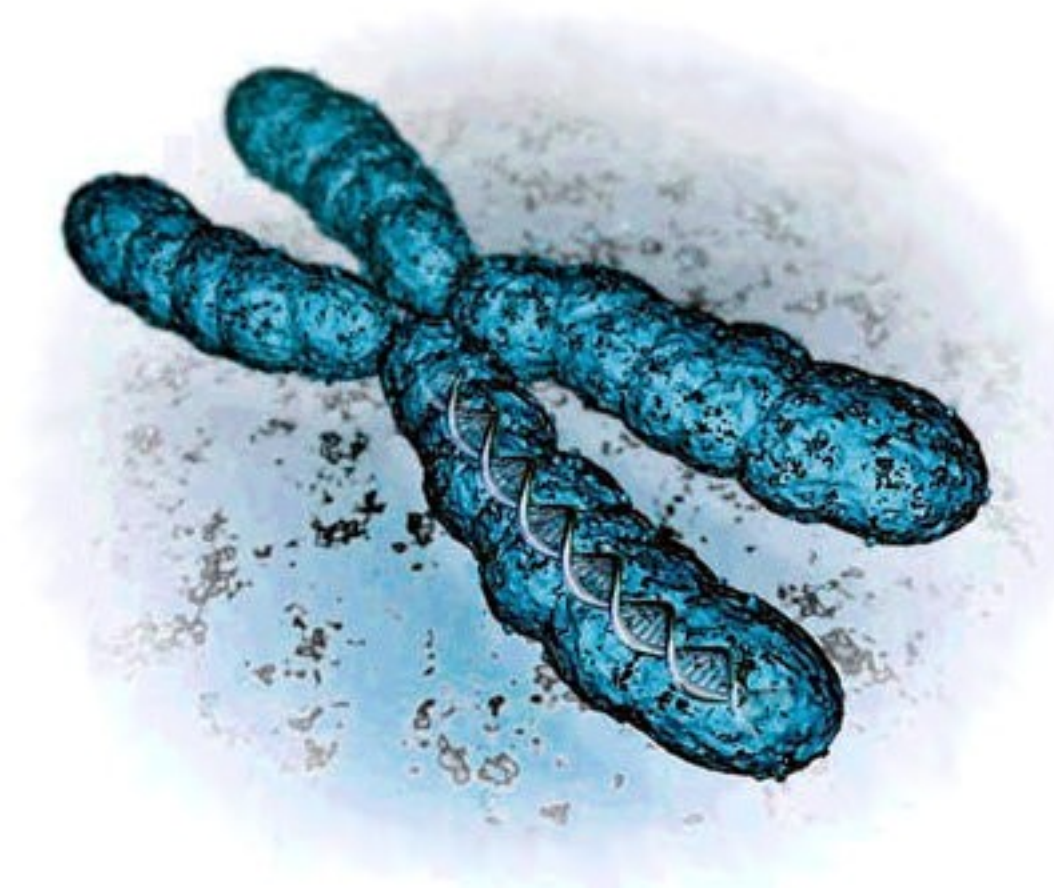


Anomalies chromosomiques

3. Pertes d'hétérozygotie



3. Pertes d'hétérozygotie

3.1. Disomie Uni-Parentale (UPD)

3.1.1. Isodisomie

Isodisomie

Robinson, Bioessays (2000)

Mechanisms leading to uniparental disomy and their clinical consequences.

Définition

UPD : perte d'hétérozygotie sans perte de copie

Isodisomie : 2 chromosomes identiques

A. Compensation

Duplication du chromosome restant après une perte

B. Recombinaison homologue

Crossing-over durant la mitose = régions en situation d'isodisomie

Hypothèse « two-hits »

Corrolaire à « l'hypothèse de Knudson »

Une anomalie ponctuelle touche un seul chromosome

Inactivation d'un GST : 2 versions à inactiver (récessivité)

UPD : extension d'une mutation au 2^{ème} allèle

Note : une délétion donnera le même résultat

JAK2 et MPD

Kralovics et al (2005) NEJM 352(17):1779-90

Syndromes Myelo-prolifératifs (MPD)

Excès d'hématocytes (\neq MDS)

JAK 2 : Janus Kinase #2

Kinase : ajout d'un phosphate (transmission du signal)

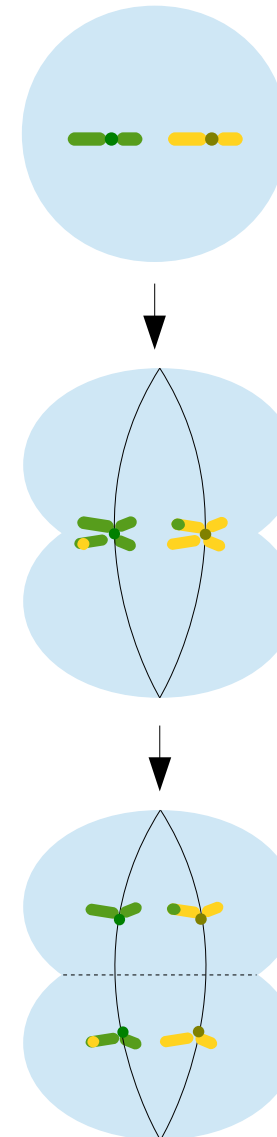
Cascade de réponse à l'erythropoïétine (EPO), THPO, IL3 ...

JAK2 V617F

Activation permanente de la cascade

~90% des Polycythaemia Vera

~50% des Primary MyeloFibrosis et Essential Thrombocythaemia



3. Pertes d'hétérozygotie

3.1. Disomie Uni-Parentale (UPD)

3.1.2. Hétérodisomie

Hétérodisomie (constitutionnel)

Robinson, Bioessays (2000)

Mechanisms leading to uniparental disomy and their clinical consequences.

Définition

2 chromosomes homologues issus du même parent

A. Anomalie de méiose

Non-disjonction durant la méiose

Fécondation complémentaire (2 + 0)

B. Trisomie mal résolue

Avortement spontané si non résolue

Perte aléatoire d'un des 3 chromosomes

18% des oocytes / 3% des spermocytes en aneuploïdie

Combinaison iso / hétéro disomies

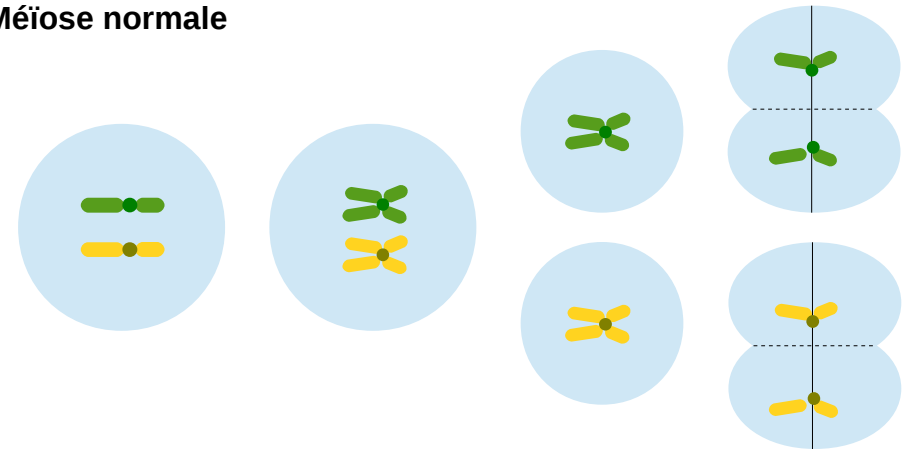
Non-disjonction + crossing-over

= (hétéro + iso) disomies

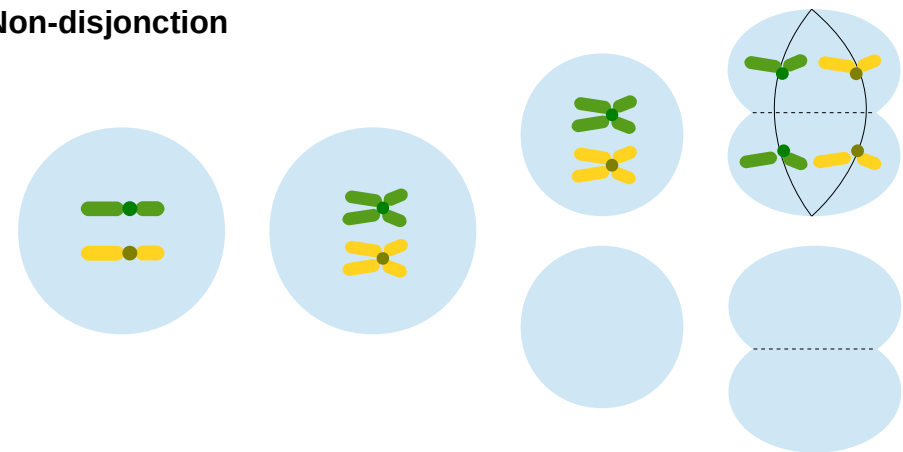
Effets peu étudiés

Régulation transcriptomique par effet d'empreinte

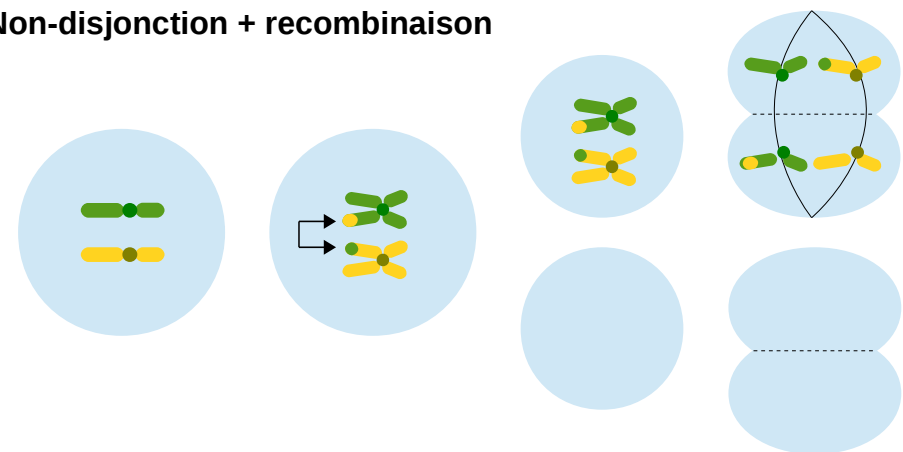
Méiose normale



Non-disjonction



Non-disjonction + recombinaison



3. Pertes d'hétérozygotie

3.2. Mise en évidence

3.2.1. Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP)

Objectif : différencier les deux allèles

Cas normal : un allèle de chaque parent

Recherche d'un polymorphisme variant entre les parents

Enzymes de restriction

Endonucléases, coupent les deux brins d'ADN

Sites de restriction fixes (4 à 8 bp, fréquence ~ 4ⁿ bp)

Nombreuses enzymes disponibles

Southern blot

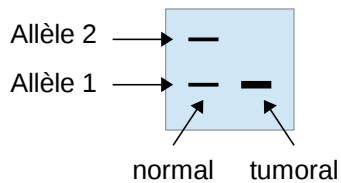
Hybridation d'une sonde complémentaire marquée

Marquage radioactif historiquement

Migration sur gel

Analyse comparative

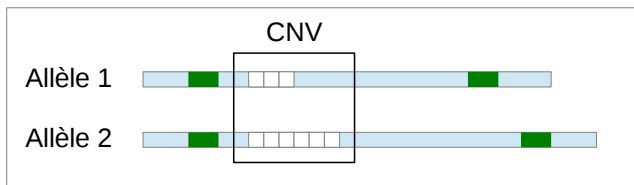
Même locus sur ADN normal et tumoral



Conclusion pour un locus

Variante : CNV

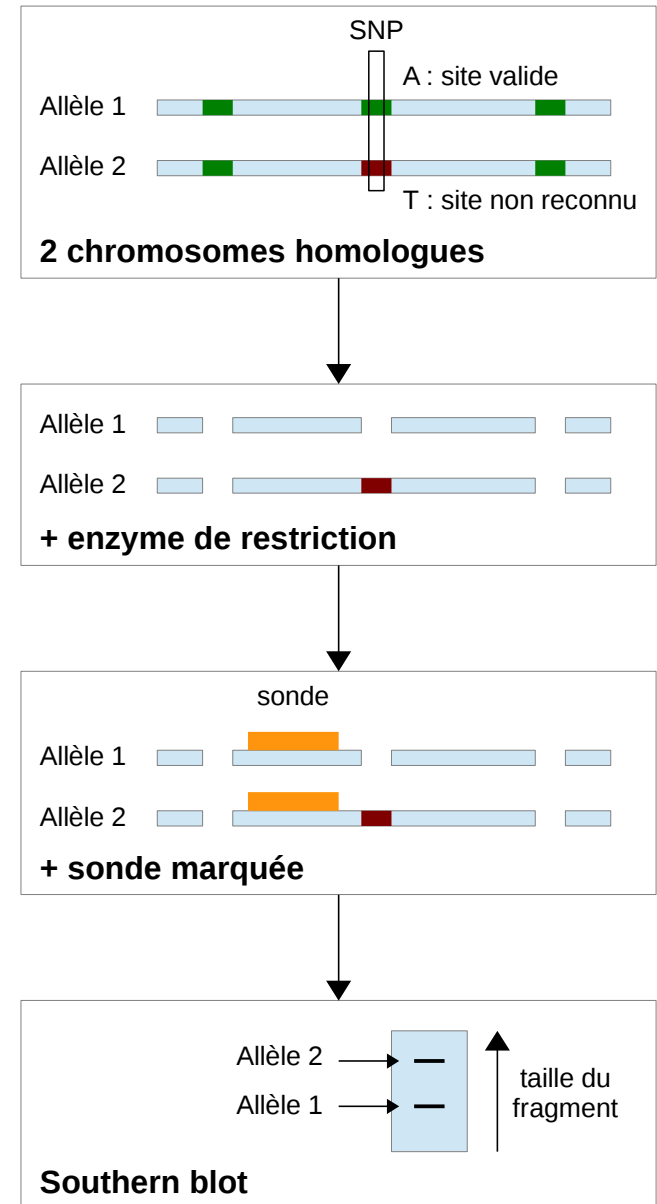
Utilisation d'une répétition en tandem ou d'une délétion



Evolution : PCR

Utilisation de primers choisis plutôt que sites de restriction

Plus besoin de marquage spécifique (BEt)



3. Pertes d'hétérozygotie

3.2. Mise en évidence

3.2.2. SNP-array

Génotypage haut débit

HumanOmni illumina 1 à 5 10⁶ SNP

Un fluorochrome par allèle

Un échantillon par puce

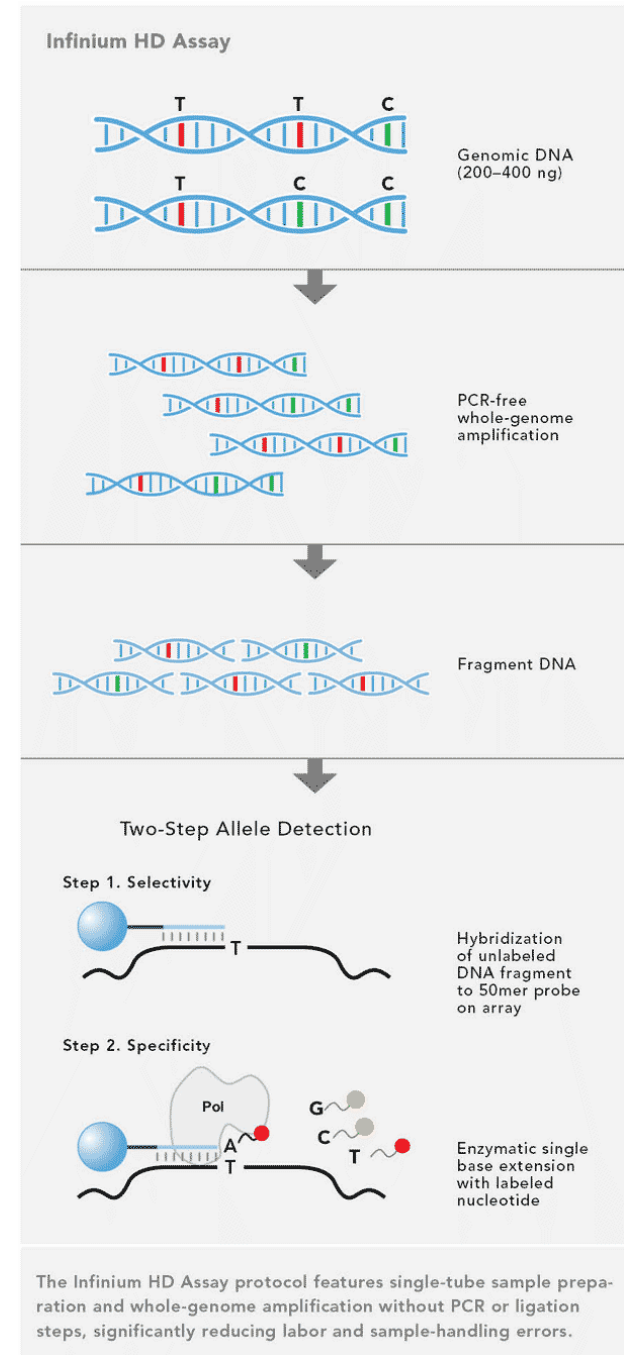
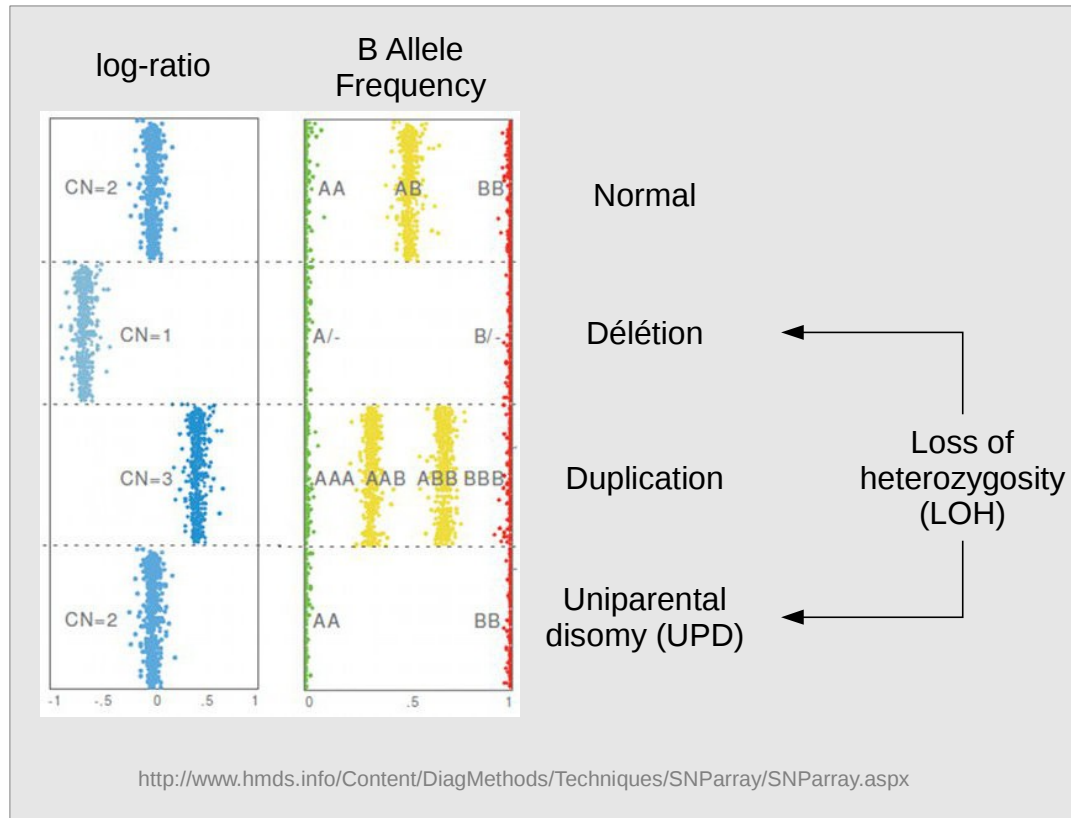
Exemple *illumina Infinium*

Résultats plus complets

Single Nucleotide Polymorphisms

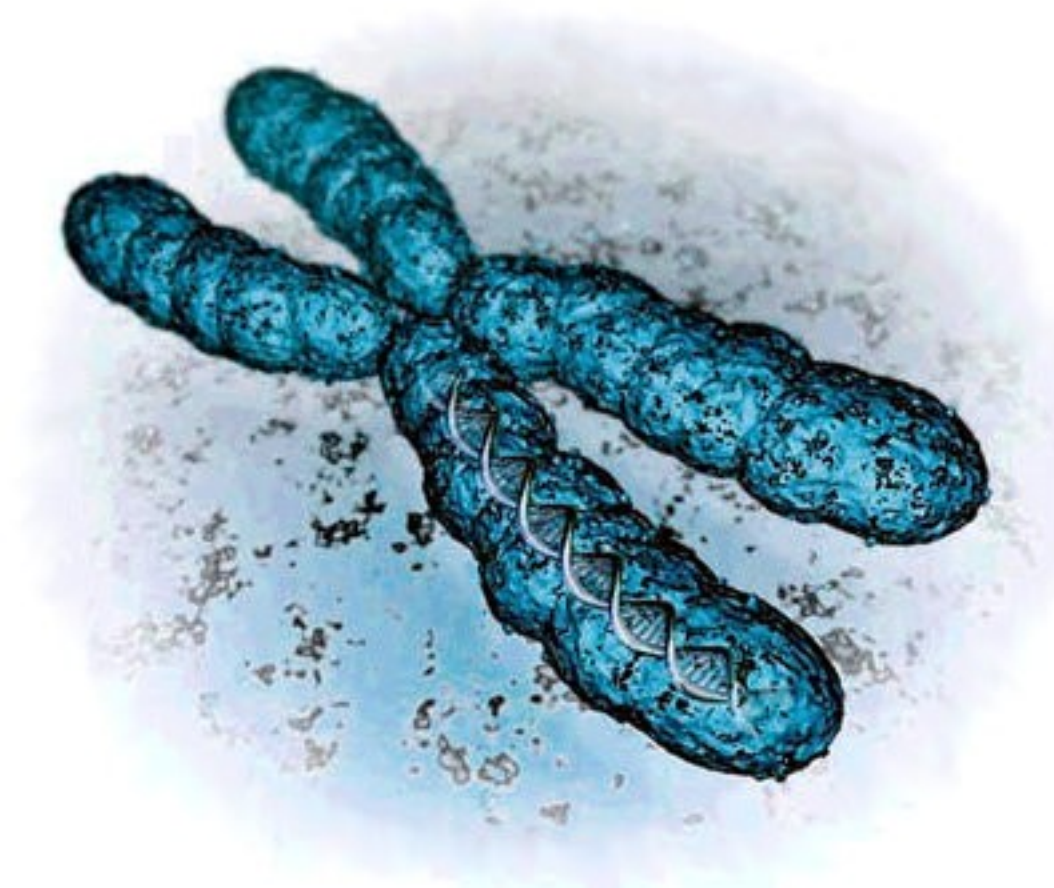
Copy Number Variations

Uniparental disomies



Anomalies chromosomiques

4. Anomalies exotiques



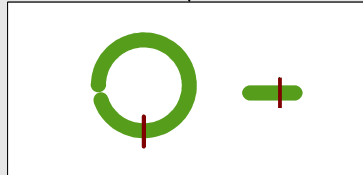
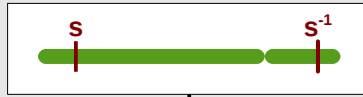
4. Anomalies exotiques

4.1. Chromosome en anneau

Apparition

A. Auto-recombinaison

Cassure aux 2 extrémités
Fusion (avec ou sans homologie)



B. Dysfonction télomérique

Perte des protections télomériques
Recombinaison

~ « épisomes », « double minute »

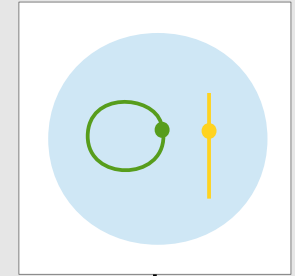


Centre Henri Becquerel

Evolution

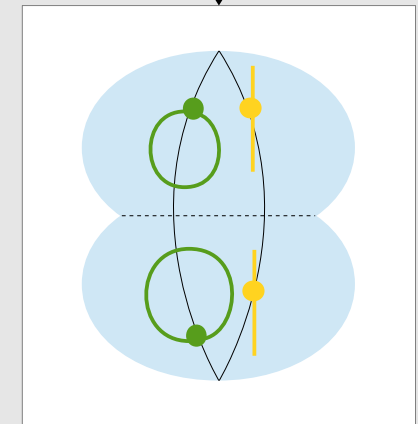
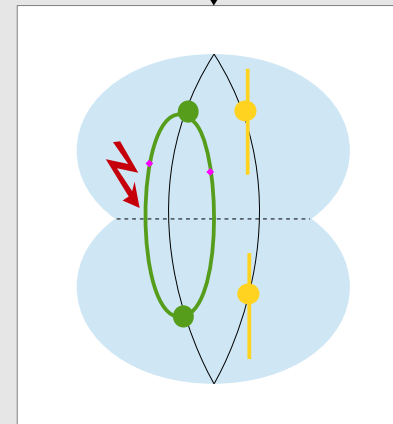
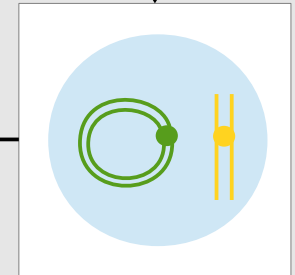
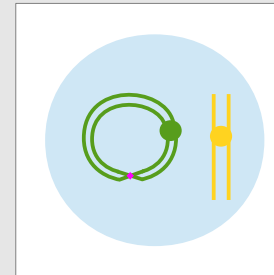
Sans recombinaison

Transmission normale via la mitose



Avec recombinaison

Jonction des chromatides
- Cassure aléatoire, recircularisation
- Non-disjonction
Accumulation au fil des mitoses



<http://atlasgeneticsoncology.org/Deep/RingChromosID20030.html>

4. Anomalies exotiques

4.2. Un « chromosome baladeur »

Patiente de 63 ans

Leucémie Aiguë Myéloblastique

45,XX,<2n>,-9,-18,add(?),+mar

G-banding

Matériel répété et transloqué

Mitoses différentes : chromosomes différents

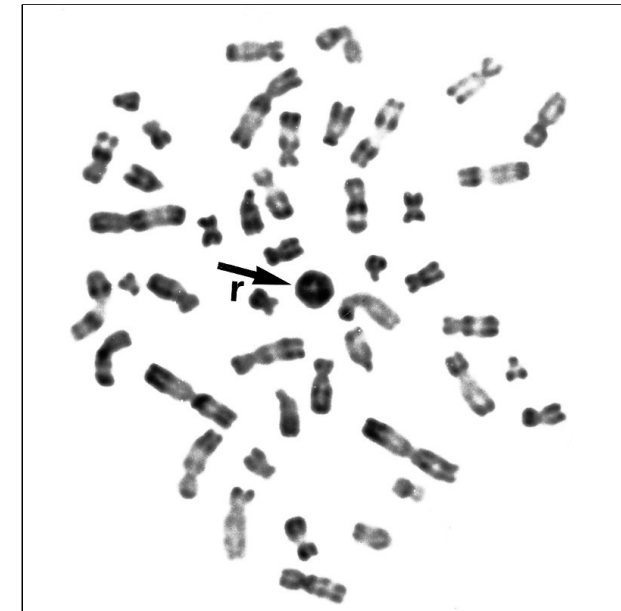
Nombre de répétitions variable

Fractionnement et épisodes

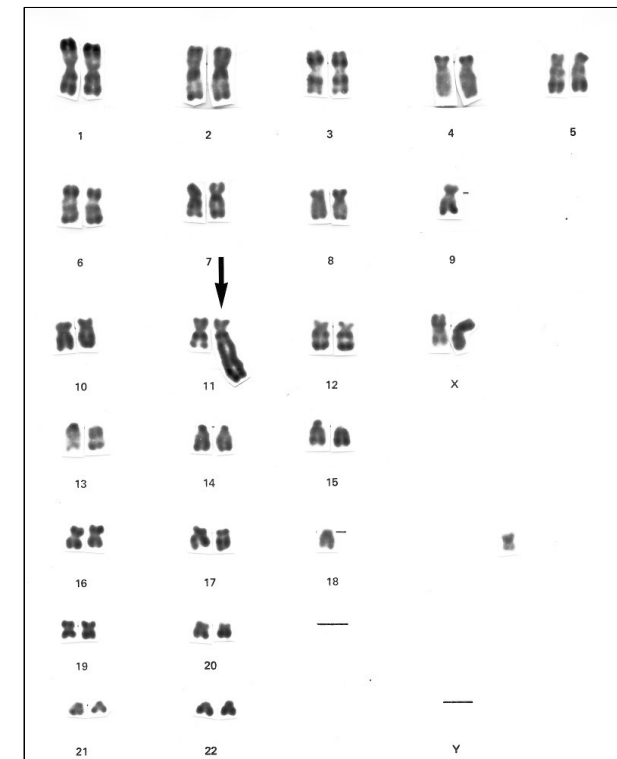
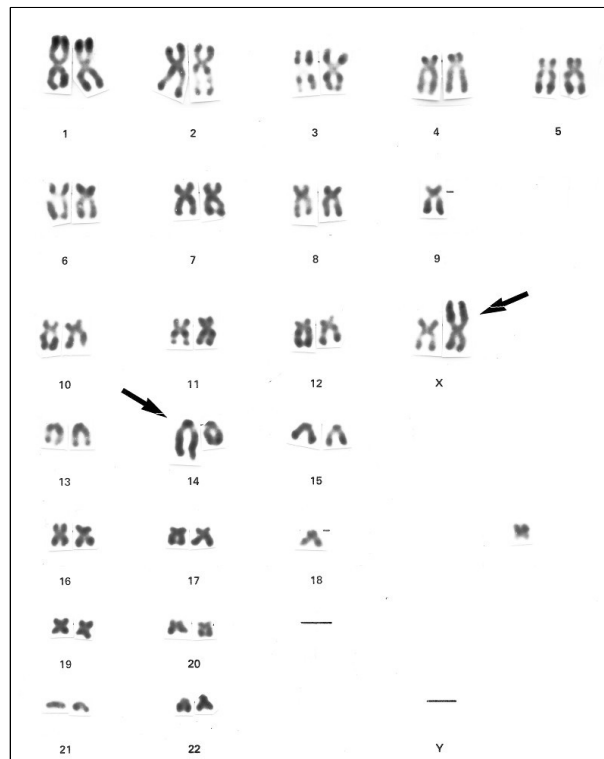
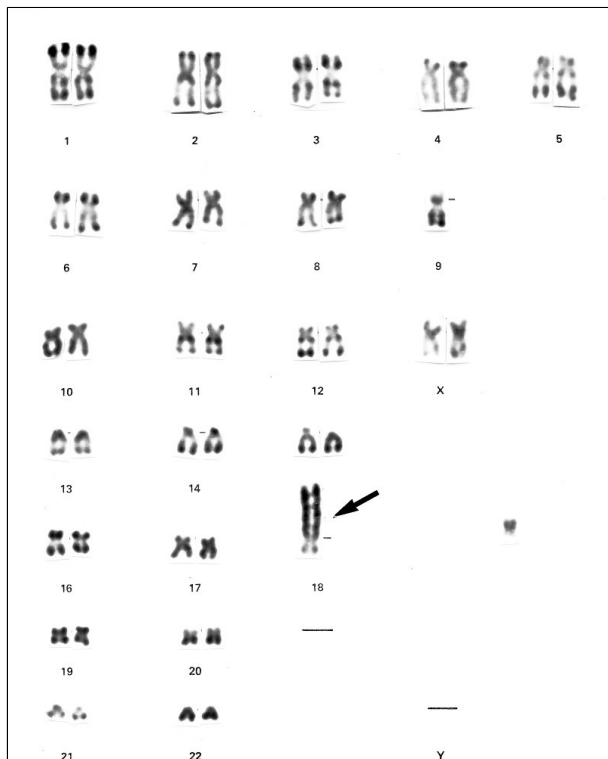
Matériel non identifié

1984, avant avènement de la FISH (PNAS 1982)

Chromosome 9q (plutôt délété qu'amplifié usuellement) ?



Centre Henri Becquerel

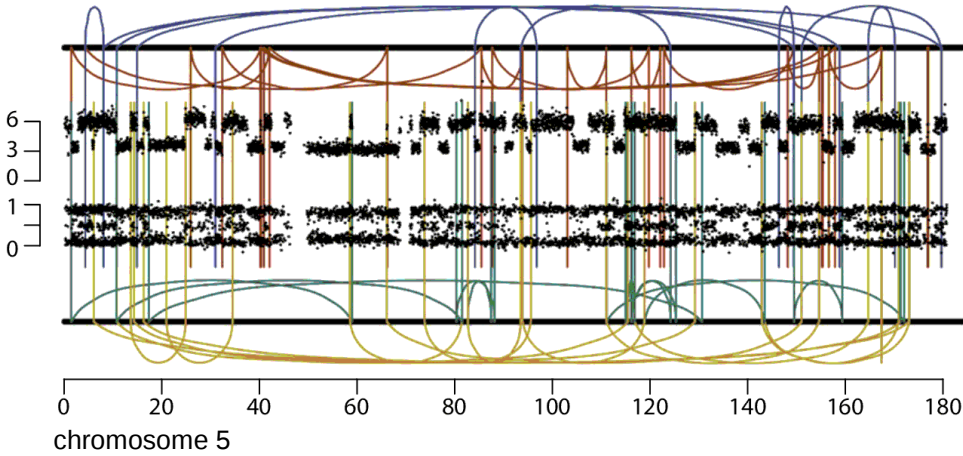


4. Anomalies exotiques

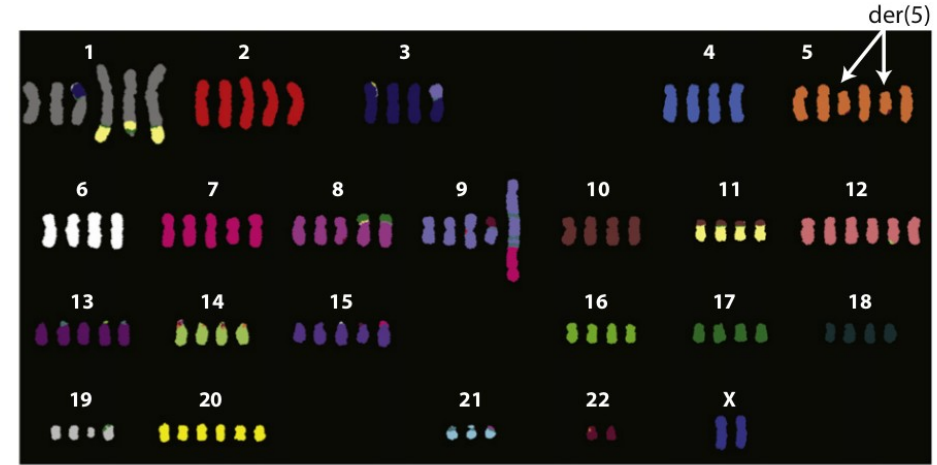
4.3. Chromothripsis

Stephens et al (2011) Cell 144, 27
Massive genomic rearrangement acquired in a single catastrophic event during cancer development.

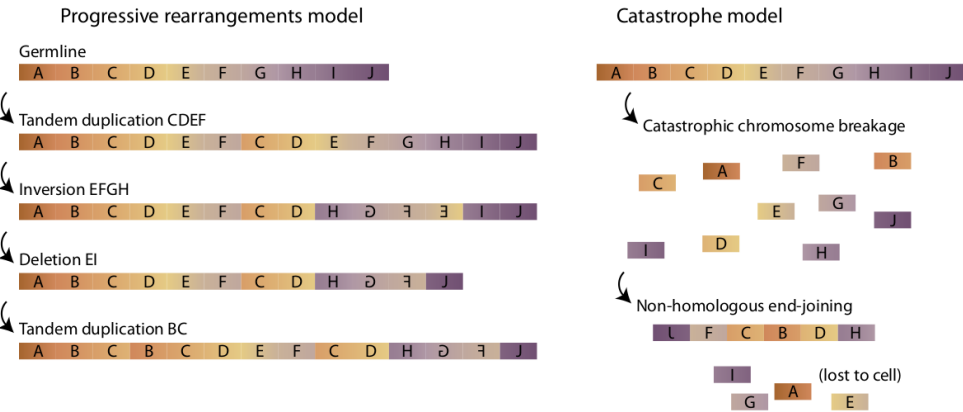
Réarrangements multiples (GAIx 2x37 bp)
 Alternance de 2 nombres de copies (4 et 6 ici, Affymetrix SNP6)



4 chromosomes 5 normaux
 2 chromosomes 5 réarrangés de manière interne



Modèle progressif classique peu probable dans ce cas de figure
 Fréquence estimée : 25% des cancers osseux, 2% tous cancers



Resulting copy number & rearrangements graph

