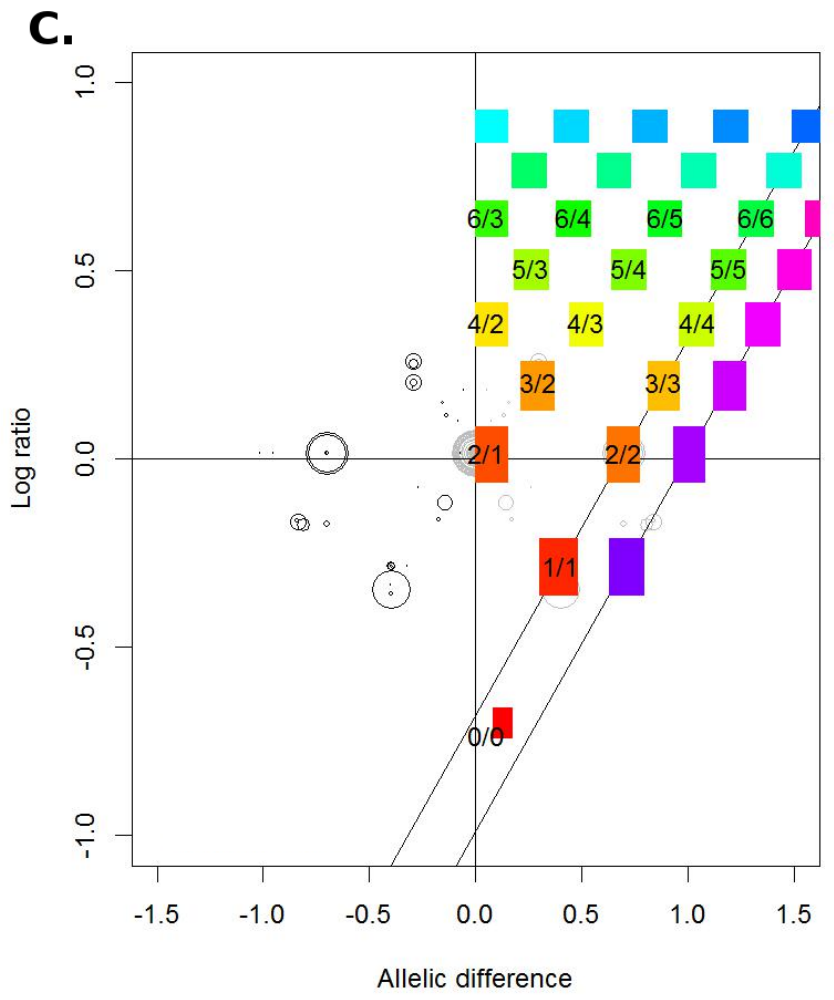
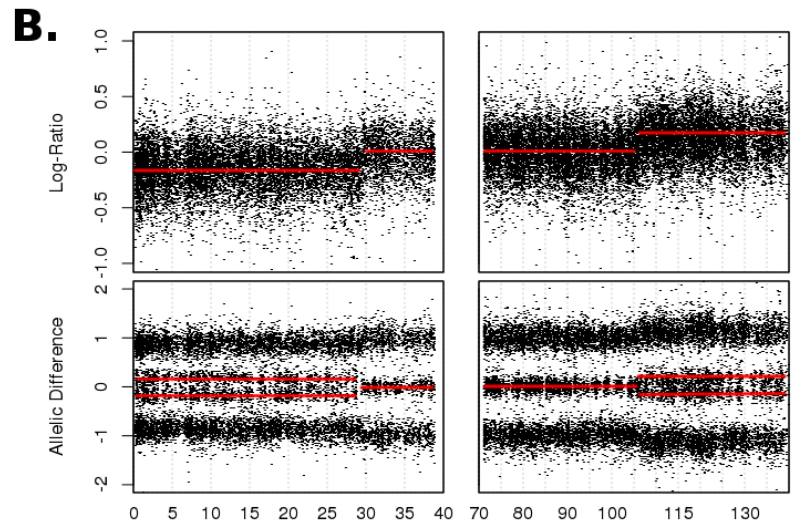
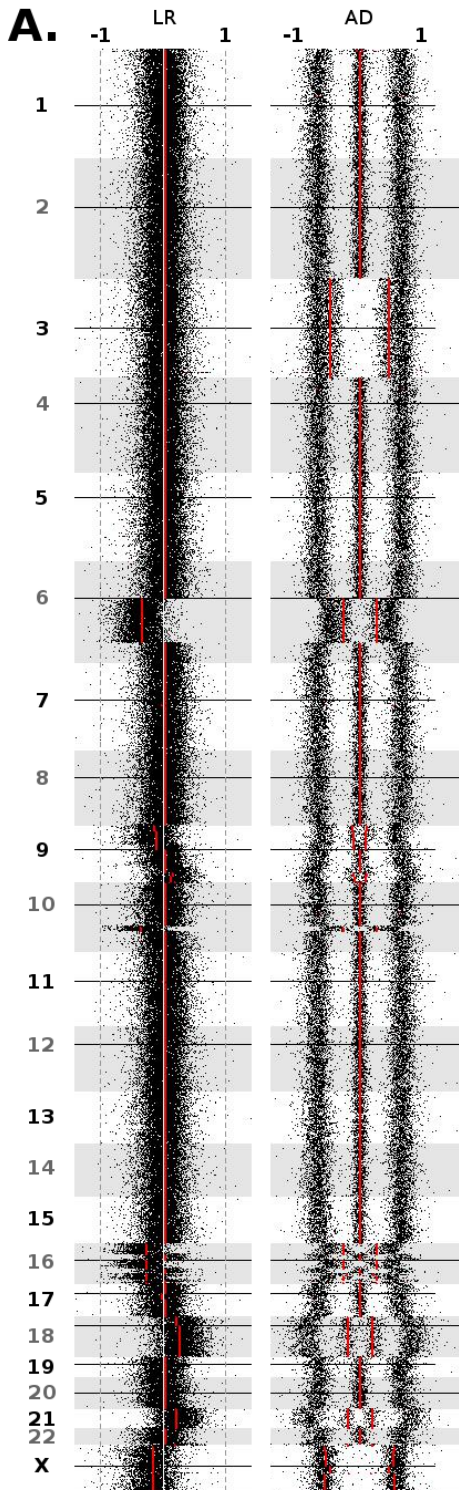


Travaux Dirigés

Exercice 7



Travaux Dirigés

Une technique de génotypage à haut débit a été mise en œuvre chez un patient atteint de lymphome. La partie **A** correspond à l'ensemble des sondes, pour lesquelles sont reportées des valeurs de log-ratios (LR) et différences alléliques (AD). La partie **B** détaille ces mêmes informations sur les bras court et long du chromosome 9.

La partie **C** correspond au modèle proposé par l'algorithme d'analyse utilisé (GAP), chaque segment du génome étant représenté par un cercle dont les coordonnées correspondent aux valeurs de LR et d'AD moyennes au sein du segment, et dont le rayon est proportionnel au nombre de sondes consécutives formant le segment. Les positions théoriques des segments dans ce modèle sont matérialisées par des rectangles de couleur sur lesquels sont reportés le nombre de copies et le nombre d'allèles « B » estimés pour de telles valeurs de LR et d'AD.

- 1. De quelle technique ces résultats sont-ils issus ? Rappelez son principe.**
- 2. Utilisez les données du graphique A pour proposer un génotype détaillé le long du chromosome 6.**
- 3. Localisez les 3 segments du chromosome 6 sur le graphique C.**
- 4. Déduisez en le génotype le plus probable pour chacun de ces segments dans le modèle proposé. Le modèle est-il en accord avec vos conclusions ?**
- 5. Observez les données présentées sur le graphique B pour le chromosome 9. Quelle incohérence vous empêche d'appliquer le même raisonnement que précédemment ?**
- 6. En vous aidant du graphique B, localisez les différents segments du chromosome 9 sur le graphique C, et déduisez-en les génotypes les plus probables pour chacun d'entre eux dans le modèle.**
- 7. Les résultats proposés par le modèle vous semblent-ils satisfaisant ? Proposez une explication au phénomène observé sur le chromosome 9, et à l'incohérence relevée à la question 4.**
- 8. Observez les coordonnées des rectangles violets sur le graphique C. Pouvez vous en déduire leur génotype et leur utilité ?**

Exercice 8

Lors de vos recherches sur les lymphomes B diffus à grandes cellules, vous remarquez chez un certain nombre de patients une délétion interstitielle dans le bras court du chromosome 9, que vous souhaiteriez mieux caractériser.

- 1. Proposez un plan d'expérience faisant appel aux NGS pour localiser (à la base près) les points de cassure chez un patient. Vous détaillerez le principe des techniques utilisées et la méthodologie employée dans l'analyse des données.**
- 2. Selon les mêmes consignes, proposez un plan d'expérience reposant uniquement sur des techniques de biologie moléculaire (PCR, séquençage Sanger, PCR quantitative ...) ou cellulaire (fluorescence ...) classiques.**
- 3. Quel gène candidat suspectez-vous à cette position ? Justifiez.**

Travaux Dirigés

Exercice 9

Diagnostic Ganglion	Sang	Rechute à 3 ans Ganglion	Rechute à 5 ans Ganglion	Rechute à 8 ans Ganglion													
		217T>G	217T>G		<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr style="background-color: #cccccc;"> <th style="text-align: center;">IUPAC</th> </tr> </thead> <tbody> <tr><td>R = [AG]</td></tr> <tr><td>B = [CTG]</td></tr> <tr><td>D = [ATG]</td></tr> <tr><td>H = [ATC]</td></tr> <tr><td>K = [TG]</td></tr> <tr><td>M = [AC]</td></tr> <tr><td>N = [ACTG]</td></tr> <tr><td>S = [CG]</td></tr> <tr><td>V = [ACG]</td></tr> <tr><td>W = [AT]</td></tr> <tr><td>Y = [CT]</td></tr> </tbody> </table>	IUPAC	R = [AG]	B = [CTG]	D = [ATG]	H = [ATC]	K = [TG]	M = [AC]	N = [ACTG]	S = [CG]	V = [ACG]	W = [AT]	Y = [CT]
IUPAC																	
R = [AG]																	
B = [CTG]																	
D = [ATG]																	
H = [ATC]																	
K = [TG]																	
M = [AC]																	
N = [ACTG]																	
S = [CG]																	
V = [ACG]																	
W = [AT]																	
Y = [CT]																	
228T>Y																	
316T>Y	316T>C	316T>C	316T>C	316T>C													
368A>R		368A>G	368A>S														
	394A>T																
429T>K	429T>G	429T>G	429T>G	429T>G													
			479A>C														
535C>M		535C>A	535C>A														
576T>K	576T>G	576T>G	576T>G	576T>G													
		602A>T	602A>T														
			629G>A														
697G>R	697G>A	697G>A	697G>A	697G>A													
702C>S																	
				771G>A													
830A>R		830A>G	830A>G														
898A>C																	
			918G>A														
	959A>T																
1009C>T		1009C>T	1009C>T														
	1016A>C																
				1020A>T													
		1021G>T	1021G>T														
			1034A>G														
1086G>A		1086G>A	1086G>A														
	1142G>C																

Afin d'étudier l'évolution de la clonalité d'un lymphome folliculaire chez un même patient au fil des rechutes, plusieurs échantillons sont séquencés par séquençage Sanger : au diagnostic (sang périphérique et ganglion tumoral), et lors de rechutes survenues 3 ans, 5 ans et 8 ans après le diagnostic (ganglion tumoral seul).

Le couple d'amorces de séquençage utilisé pour cette expérience consiste en un primer « sens » placé sur l'oncogène *BCL2* (18q21), et un primer « anti-sens » placé dans la partie constante μ du gène *IGH* codant pour les chaînes lourdes d'immunoglobulines (14q32), l'une des régions cibles du phénomène d'hyper-mutation somatique (SHM).

Inspiré de Ruminy et al, Blood. 2008 Sep 1;112(5):1951-9

1. Justifiez le choix de primers fait dans cette étude.
2. Comparez les mutations observées au diagnostic et à la première rechute. Proposez un arbre phylogénétique expliquant l'ordre d'apparition des clones observés, ainsi que d'éventuels précurseurs non observés ici.
3. Comment expliquez vous cette première rechute ?
3. Placez la rechute à 5 ans dans cet arbre. Comment expliquez vous cette seconde rechute ?
4. Placez la rechute à 8 ans dans cet arbre.