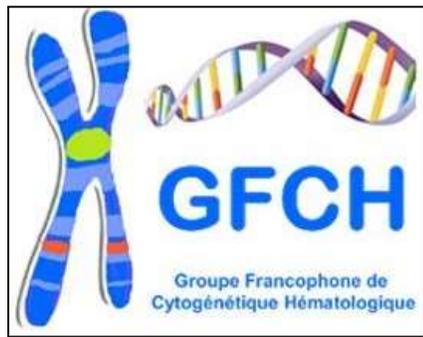


Retour d'expérience :

Utilisation de la cartographie optique du génome au CHU de Brest

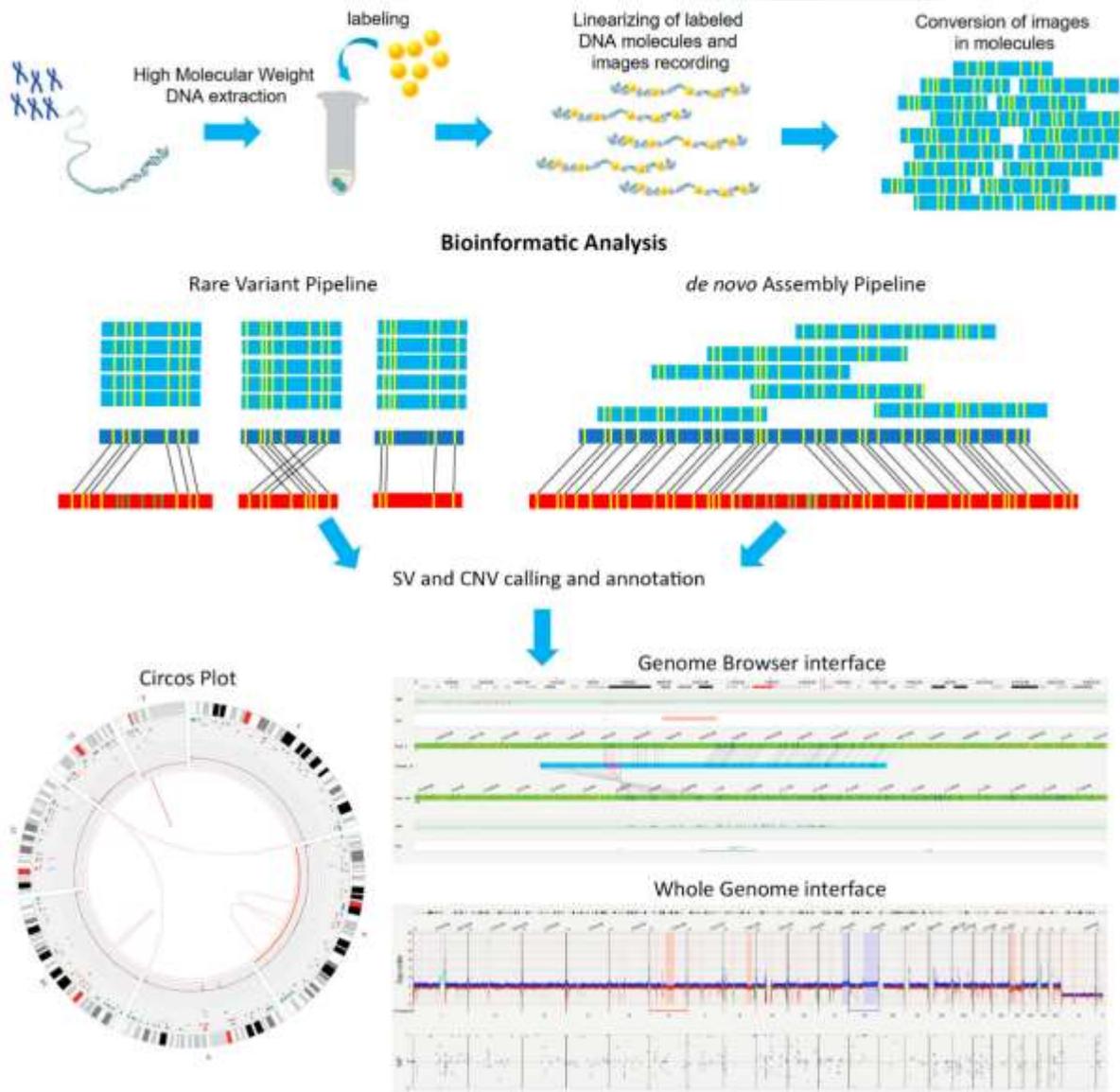
Nathalie Douet-Guilbert, Marie-Bérengère Troadec



**Faculté de Médecine
& Sciences de la Santé**

13 novembre 2024

Principe de la COG (OGM optical genome mapping)



Isolement d'ADN de poids moléculaire élevé (grands fragments) à partir de cellules de patients (extraction, marquage)

Linéarisation de l'ADN et marquage sur une puce et saisie des images avec un instrument appelé Spahyr*

Conversion des images en « molécule » et assemblage en pipelines bioinformatiques

Assemblage de novo : création d'une carte consensuelle cible (bleue) qui est comparée à l'assemblage de référence (rouge).

Assemblage en Rare Variant (RVA) : comparer des groupes de molécules (en bleu) au génome de référence (en rouge)

Différents modes de visualisation :

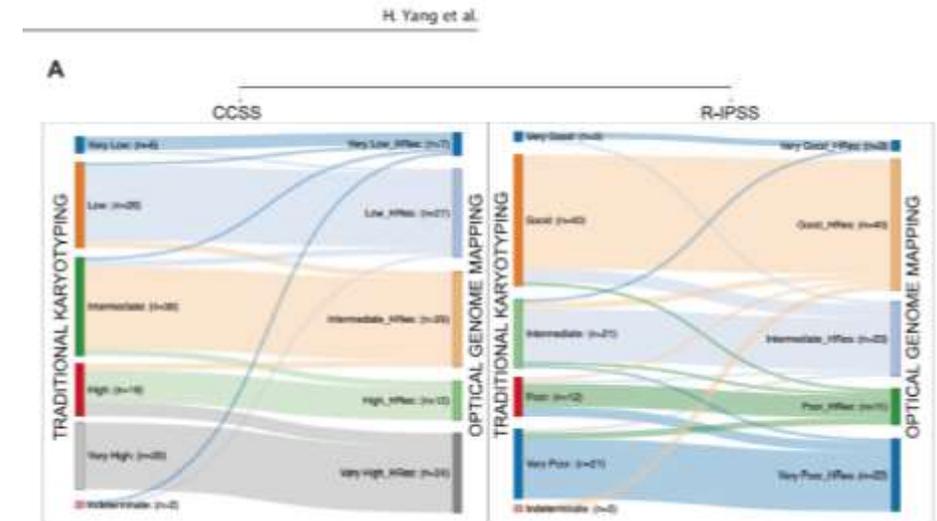
- Circos plot
- Genome browser
- Whole génome

Intérêts dans les hémopathies et dans les SMD....

- Analyse complémentaire de l'analyse chromosomique classique par caryotype ou FISH
- Détection de plus de 90% des anomalies chromosomiques identifiées par caryotype et FISH
- Détection d'anomalies supplémentaires variables selon les pathologies (15-35%)
- En théorie, remplacement des FISH

Les intérêts sont donc :

- Pronostique : meilleure pronostique
- Réinterprétation
- Diagnostique
- Economique



Technique intégrée dans les nouvelles recommandations du GFCH publiées en décembre 2023 : Curr Res Transl Med. 2023

Limites de l'OGM (COG)

- ❑ Régions répétées (télomères, centromères...)
- ❑ Faibles clonalités
- ❑ Anomalies de la ploïdie

- Prélèvements suffisamment riches ou avec une infiltration de cellules malignes suffisantes
- Prélèvements frais ou jusqu'à 24 heures
- ADN le moins fragmenté
- FISH rendue plus rapidement donc persistance de FISH selon degré d'urgence

Expérience Brestoïse

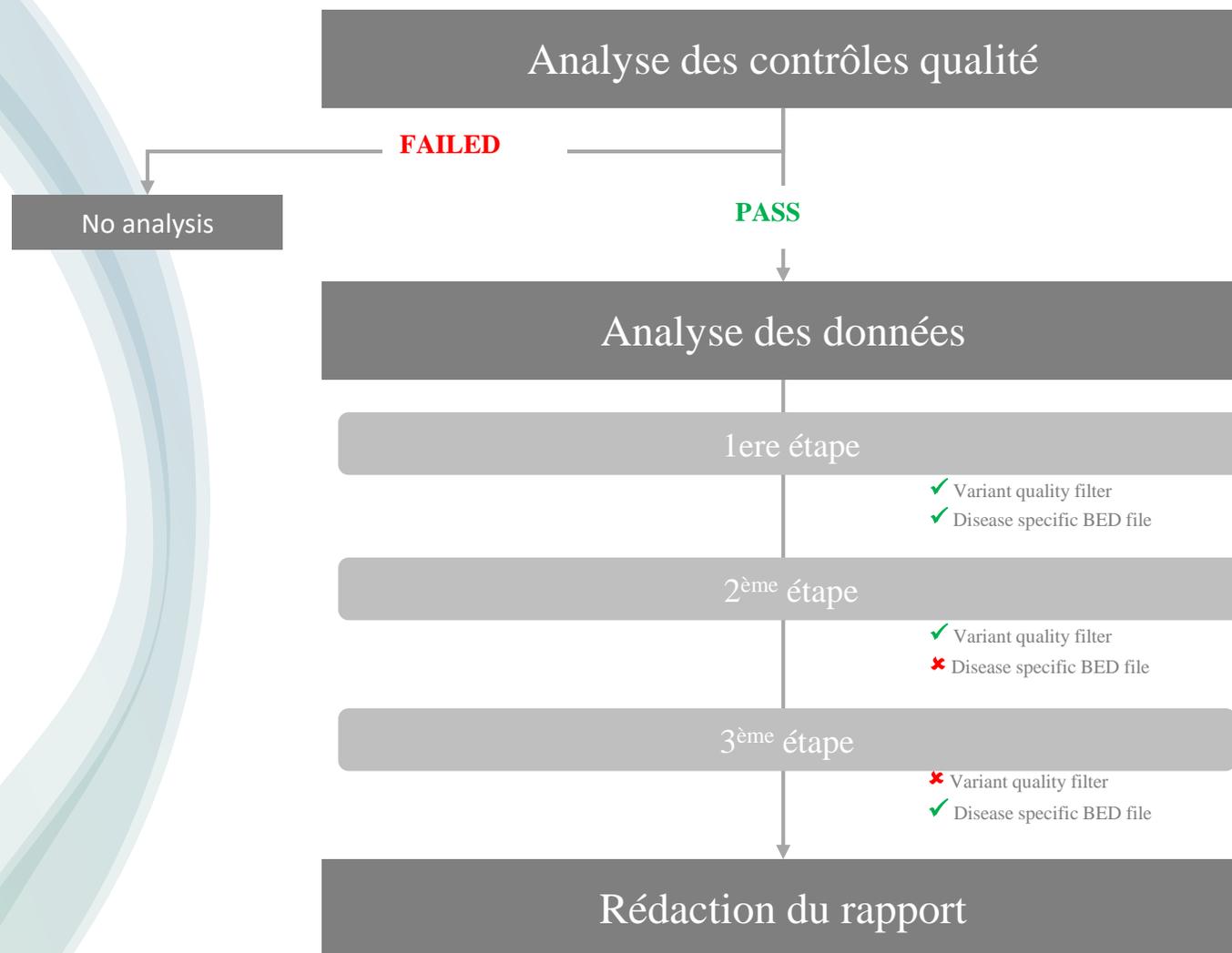
- En 2022 : Acquisition d'un Saphyr sur des financements recherche
- Protocole CARTOGEN décrit avec autorisation du comité d'éthique
- Obtention de financements pour la mise en place (Ligue contre le Cancer, Fondation pour l'avenir)
- **Développement de la cartographie sur les leucémies aiguës (LAL, LAM) et SMD**
- Prélèvements de moelle osseuse sur tube héparine lithium :
Aliquots de 1,5 millions de cellules puis congélation
- Suivi du protocole fournisseur avec améliorations successives
- Protocole pour le Soin et la Recherche sur les hémopathies malignes
- Etude médico-économique au CHU de Brest pour l'étude chromosomique des LAL/LAM :
caryotype+FISH+OGM > caryotype+FISH

Etapes de l'analyse Biologique

I- Vérification des paramètres qualité

1/ du fichier molécule
(N50, effectif coverage, average label density, map rate)

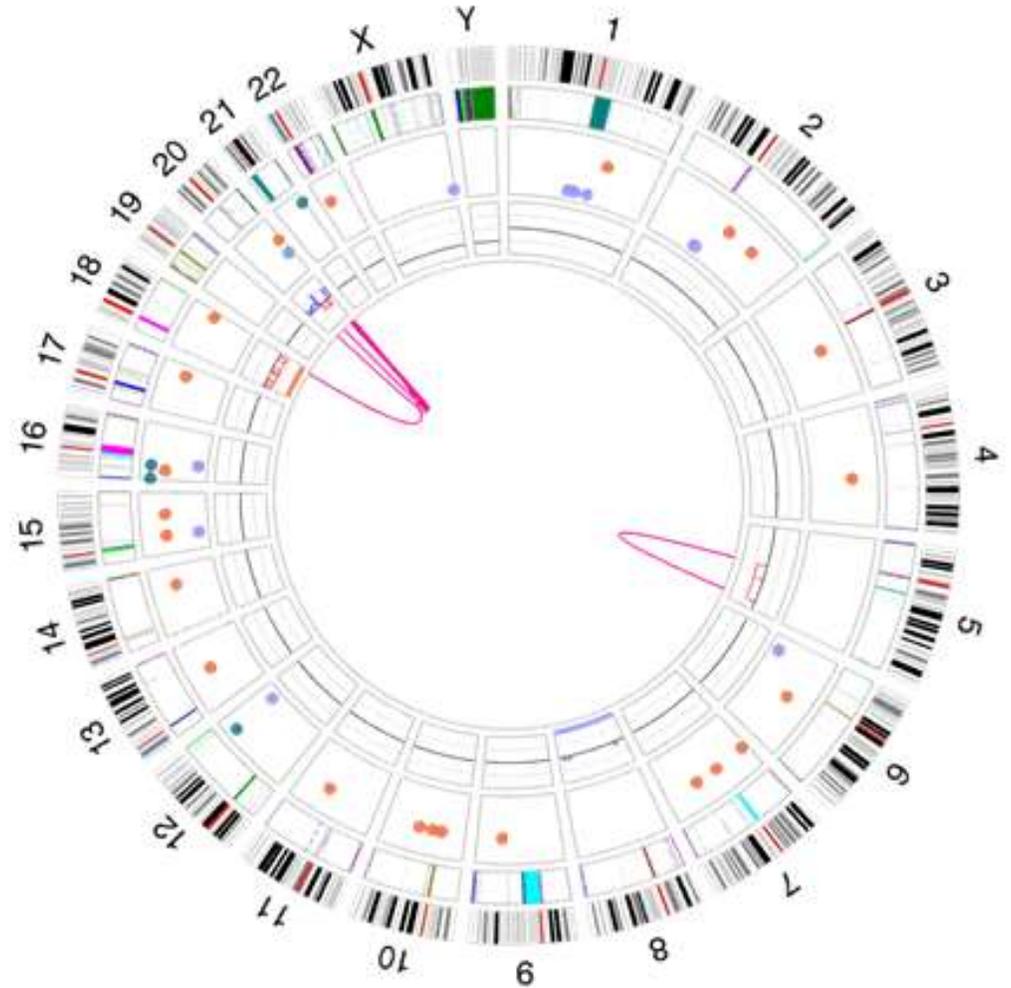
2/ du pipeline d'analyse
RVA dans le cas des SMD
Mêmes critères



II- Interprétation biologique

à partir des données disponibles dans Access et du fichier excel téléchargé

- Vérification des filtres qualité sur Access
- Visualisation globale :
 - Analyse rapide du circus plot



II- Interprétation biologique

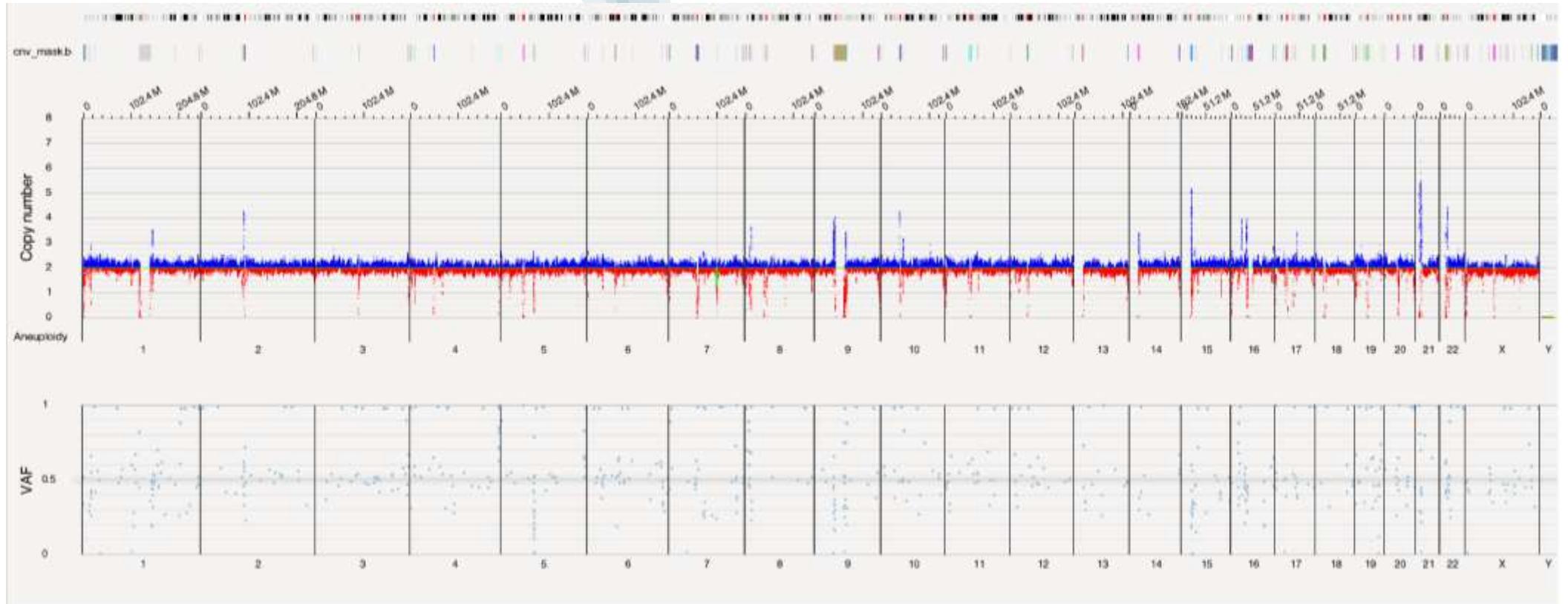
à partir des données disponibles dans Access et du fichier excel téléchargé

Vérification des filtres qualité sur Access

Visualisation globale :

Analyse rapide du circus plot

Analyse en whole genome



II- Interprétation biologique

à partir des données disponibles dans Access et du fichier excel téléchargé

Vérification des filtres qualité sur Access

Visualisation globale

Analyse fine des variants en 3 étapes

⊗ Analyse avec panel in silico : utilisation d'un bed files « consensuel » en lien avec la pathologie : Bed Files LAM/SMD du FROGG

⊗ Analyse sans panel

⊗ en levant tous les filtres initiaux et uniquement avec un bed Files spécifique à la pathologie, de toutes les hémopathies et/ou cancer

II- Interprétation biologique

à partir des données disponibles dans Access et du fichier excel téléchargé

- Vérification des filtres qualité sur Access
- Visualisation globale
- Analyse fine des variants en 3 étapes

Pour chacune des étapes, on rapporte les éléments suivants :

Variants de structure

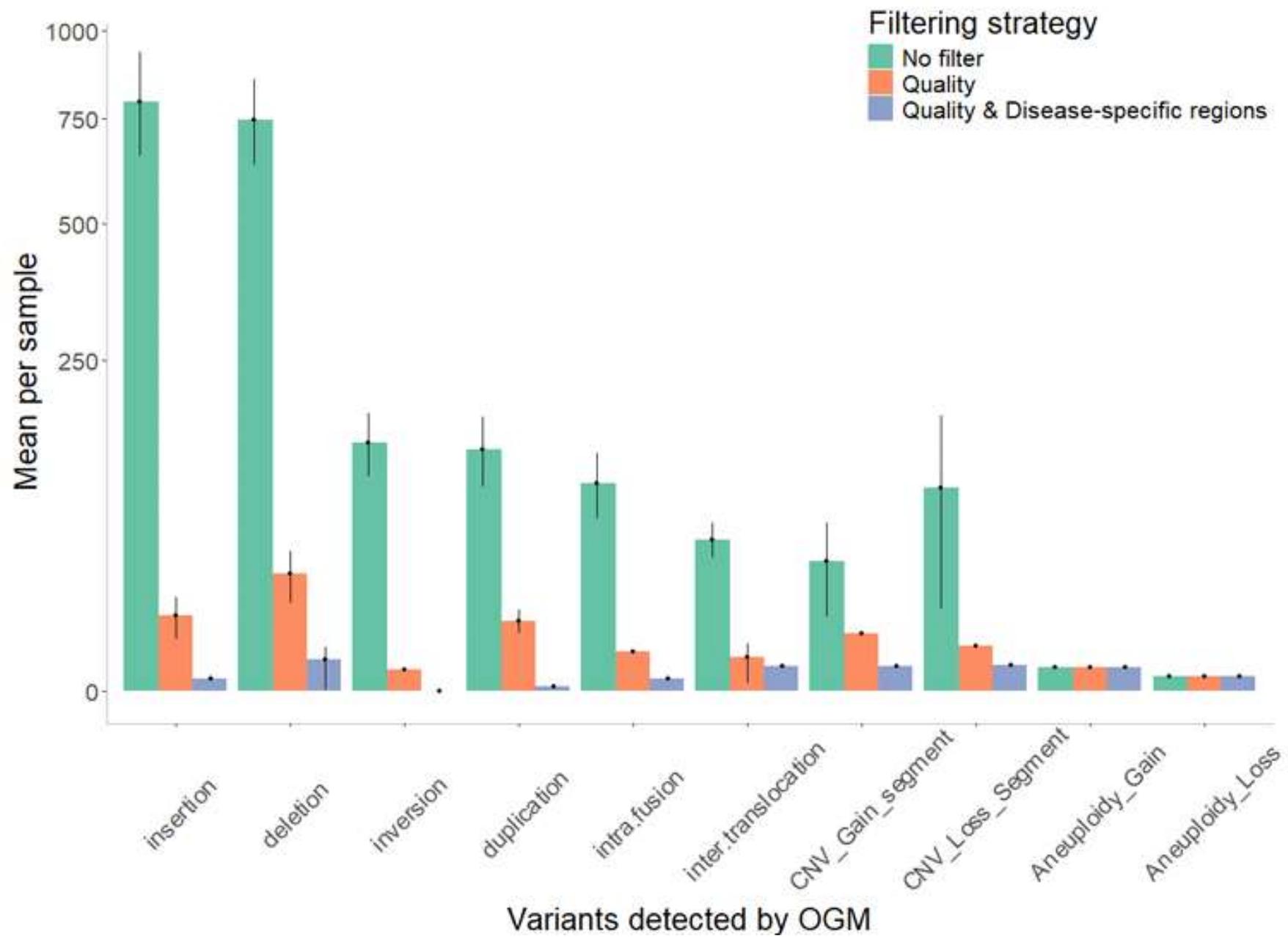
Confidence	Type	VAF	OverlapGenes	Self_molecule_count	ISCN
0,99	t(8;21)	0,3	RUNX1::RUNXT1	99	

Variations du nombre de copies

Type	FCN	Confidence	VAF	OverlapGenes	ISCN

Aneuploïdies

chr	type	fractChrLen	score	fractCN
Y	loss	0,90	1	0,125

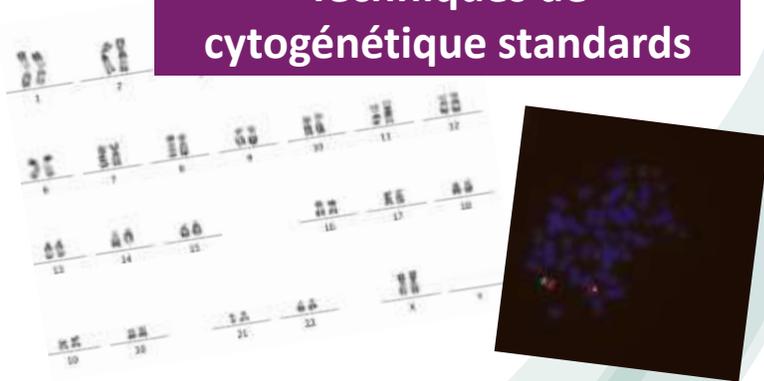


III- Rédaction du rapport

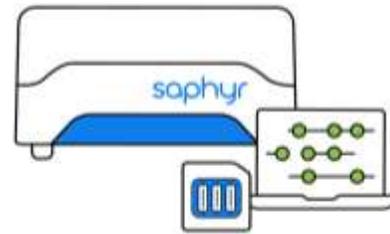
Écriture de la formule de l'OGM selon ISCN en vigueur
Réinterprétation par rapport au caryotype et FISH

Rédaction de la conclusion en fonction de la pathologie

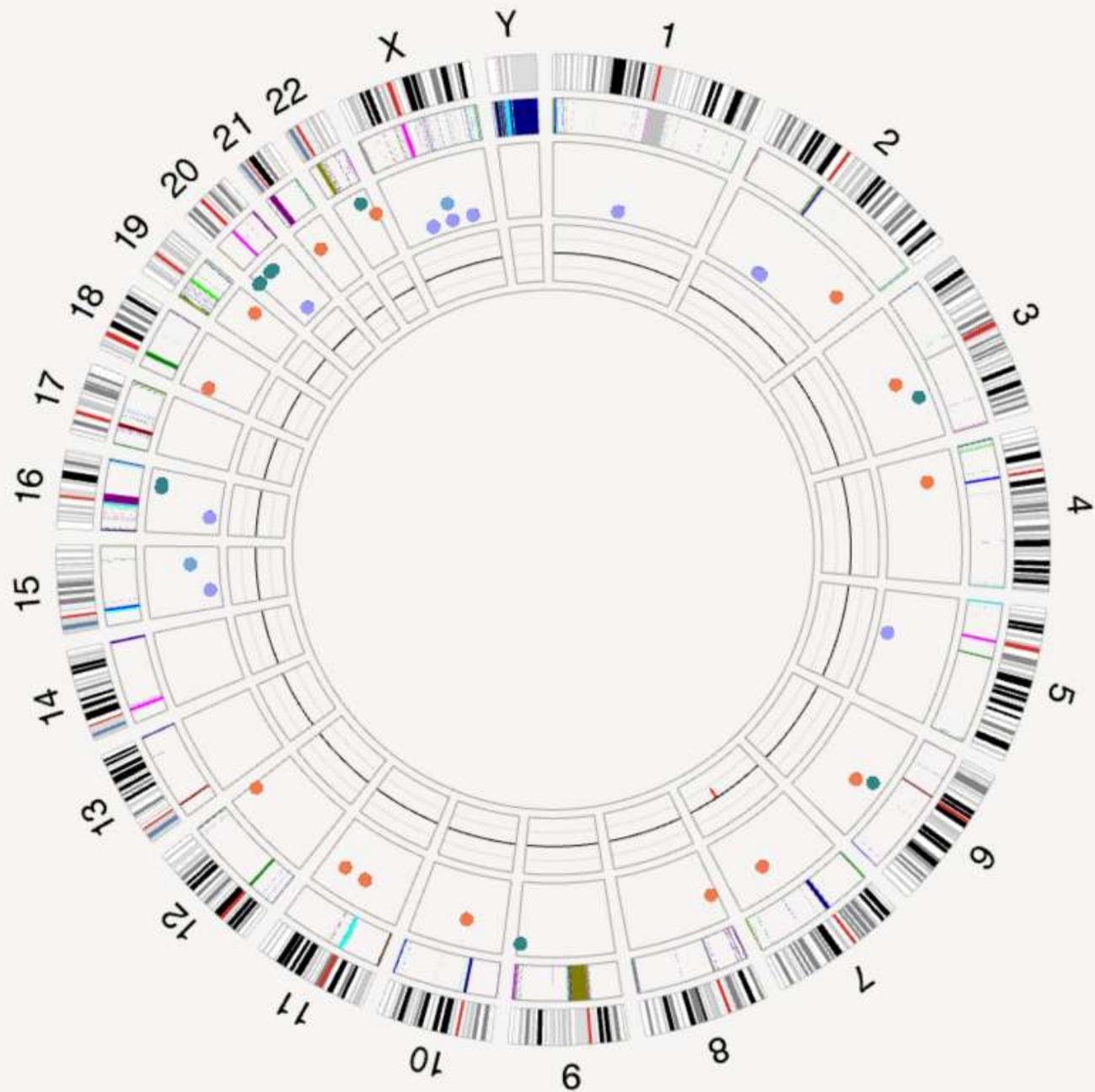
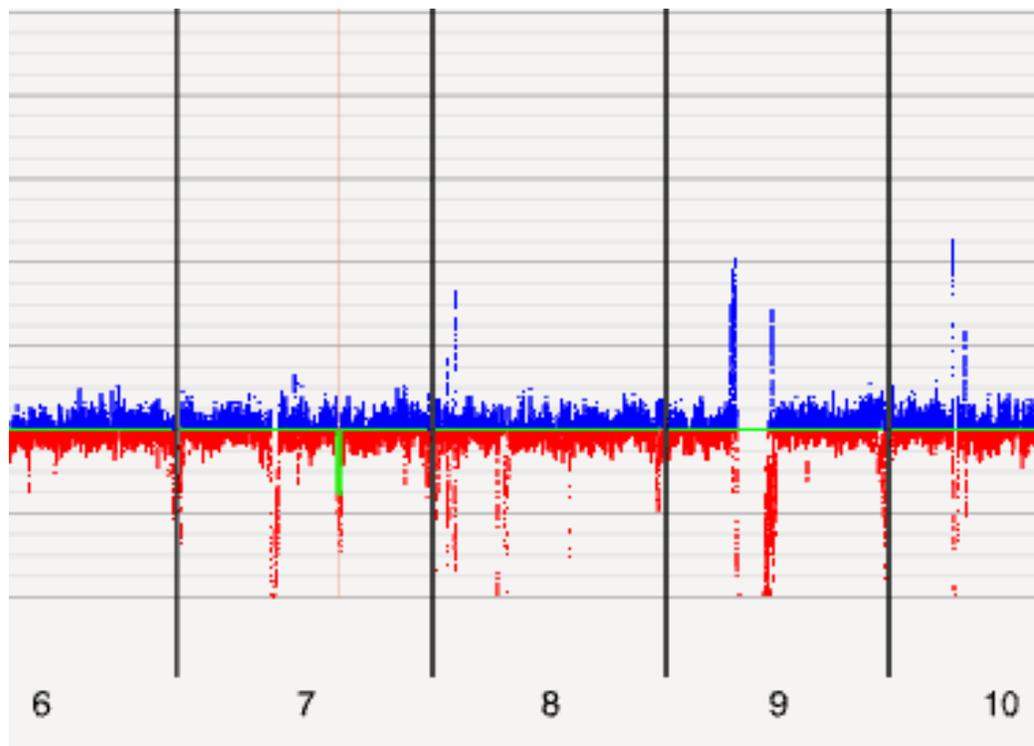
Techniques de
cytogénétique standards



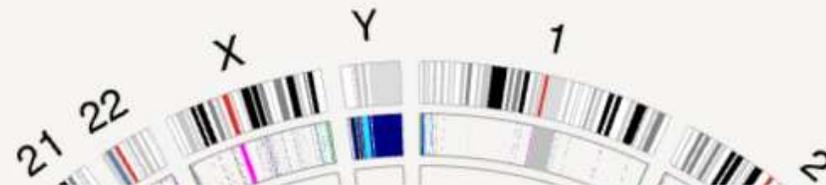
Cartographie optique du
génom



**Exemple d'une analyse chez
Patiente SMD-IB2
Caryotype normal**



Patiente SMD-IB2
Caryotype normal



Confidence	Type	size	VAF	OverlapGenes	Self_molecule_count	ISCN
0,99	Délétion 7q	2523078.4	0,42	CUX1	85	ogm[GRCh38] 7q22.1(100547550_103077122)x1



Formule : ogm[GRCh38] del(7)(q22.1q22.1)(100,547,550_103,077,122x1)[0.4]

L'analyse par COG révèle un prélèvement de sexe féminin et met en évidence une délétion de bras long d'un chromosome 7 interstitielle en 7q22.1 incluant notamment le gène *CUX1* de 2,5 mégabases environ dans 80% de l'ADN extrait.

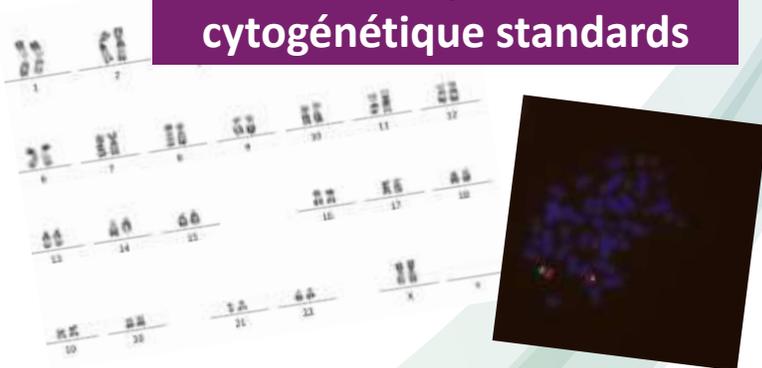


Indications de l'OGM au CHU de Brest

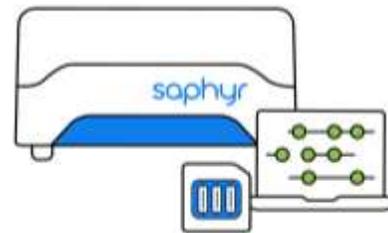
Dans les SMD

- OGM réalisée systématiquement en parallèle du caryotype + FISH chez les patients SMD-IB2 de plus de 70 ans
- OGM en 2^{ème} intention selon les circonstances pathologiques
- OGM utilisée en recherche (protocoles recherche)

Techniques de
cytogénétique standards

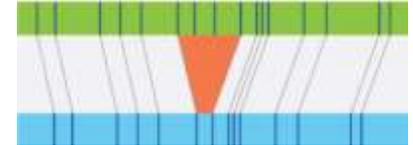
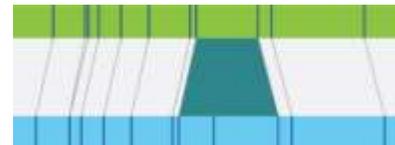
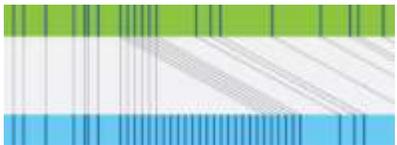


Cartographie optique du
génom



Perspectives au CHU de Brest

- Formation en cours de plus de personnel
- Automatisation de l'extraction, marquage?
- Etendre à d'autres hémopathies malignes que les LAL, LAM, SMD : NMP, LLC, myélome...
- Etendre sur les troubles de la fertilité
- Remboursements des analyses



Remerciements

Ariane MAHIEUX

Marie-Bérengère
TROADEC

Frédéric MOREL

Audrey BASINKO

Steven RICHEBOURG

Corinne TOUS

Séverine COMMET

Nadia GUEGANIC

