

Transposition de l'index génomique de la méthodologie Agilent/SurePrint G3 vers Affymetrix/Oncoscan CNV : comparaison d'outils bioinformatiques

Elie Bordron

Stage au sein du département de Biopathologie, unité de pathologie
moléculaire

Co-encadrement par:

Élodie Darbo, PhD, Ingénieure de recherche

Claire Larmonier, PhD, Ingénieure biologiste

Environnement de stage



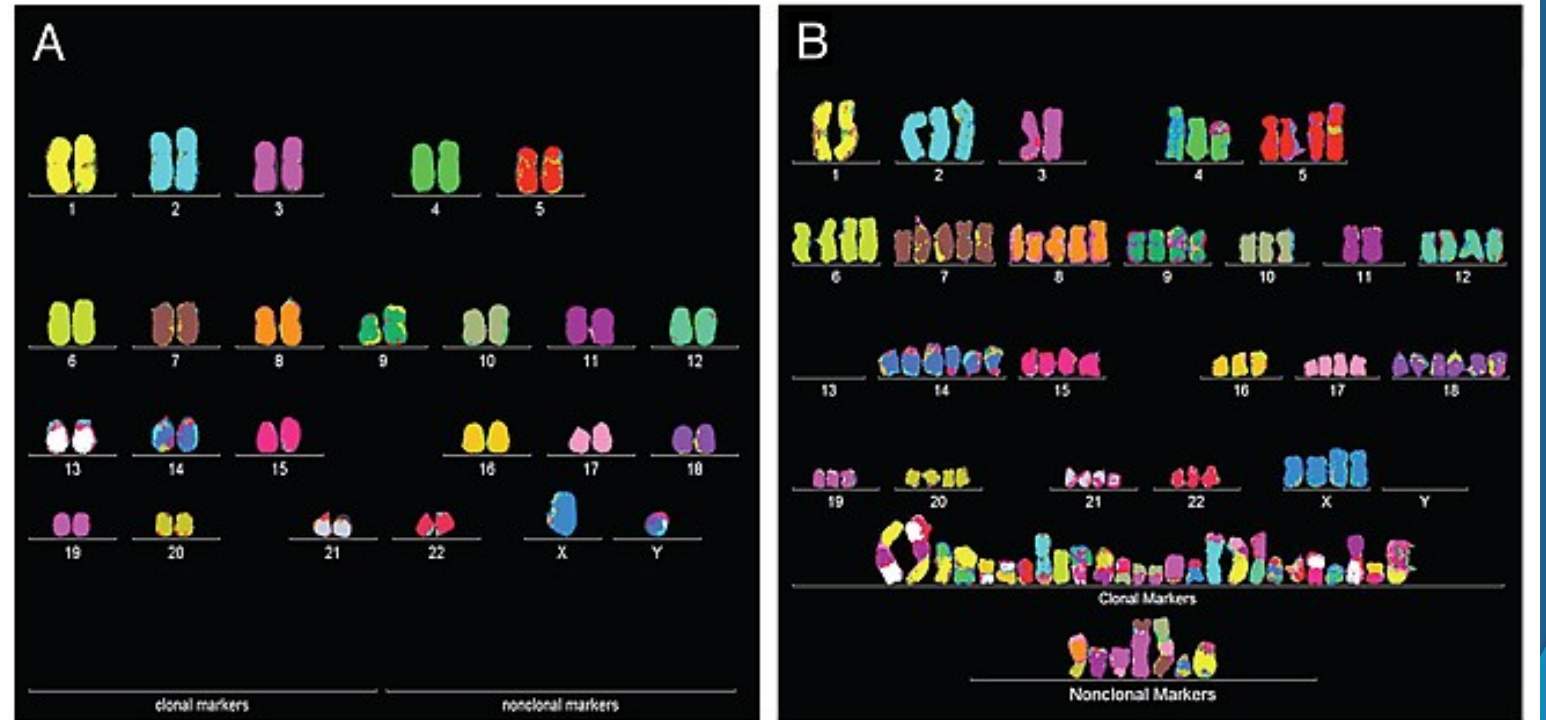
Introduction - traitement des lésions tumorales

Unité d'anatomocytopathologie



Tumeur

- Extraction de la tumeur
- Fixation en formol
- Inclusion en paraffine



<https://www.berkeley.edu/>

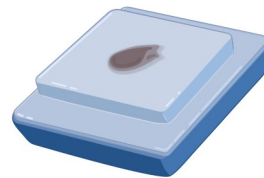
Un caryotype anormal: cellule normale (à gauche) et cancéreuse (à droite, cancer de la vessie). Caryotypes obtenus avec la technique de FISH

Introduction - traitement des lésions tumorales

Unité d'anatomocytopathologie



Tumeur



Tumeur fixée (FFPE)

- Extraction de la tumeur
- Fixation en formol
- Inclusion en paraffine

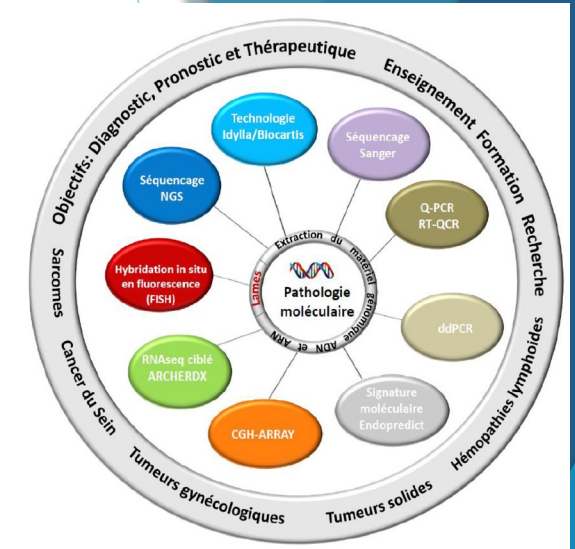


ADN extrait du bloc



- Forage dans le bloc FFPE
- Extraction de l'ADN

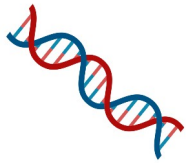
Unité de pathologie moléculaire



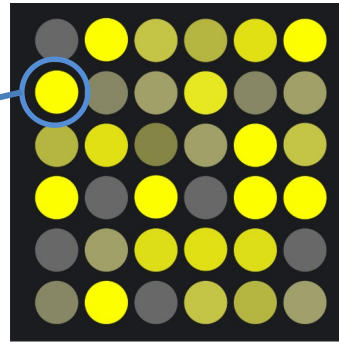
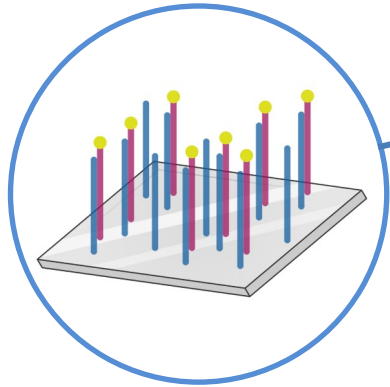
- Utilisation dans différentes techniques

Introduction - CGH

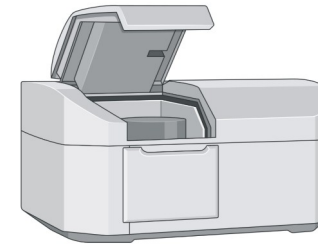
Principe de l'Hybridation génomique comparative (CGH)



ADN extrait du bloc



Puce à ADN



Scanner de
puce à ADN



signal

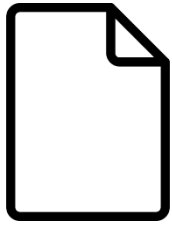
- Fragmentation
- Marquage par biotine ou fluorochrome

- Hybridation sur un support

- Quantification du signal

Introduction - CGH

Principe de l'Hybridation génomique comparative (CGH)



Signal de l'échantillon



Signal de référence

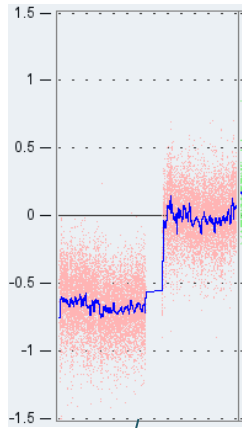


- Comparaison avec le signal d'un ADN de référence

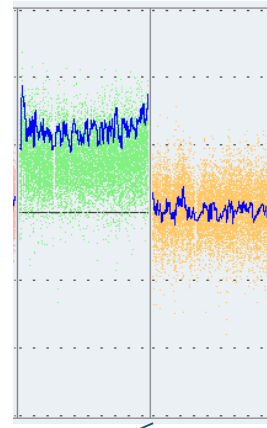
- Calcul des Log2 Ratios Relatifs (LRR)
- Alignement des LRR selon leur position génomique pour analyser les anomalies de continuité



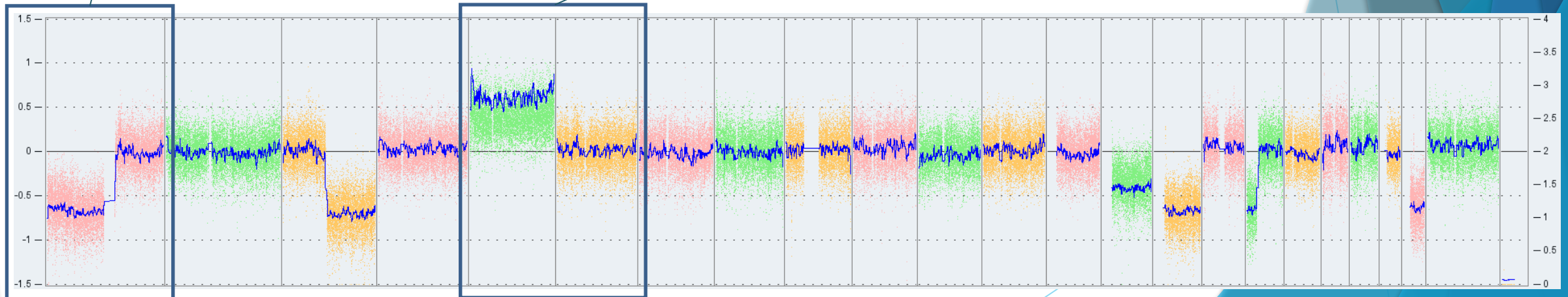
Données de CGH - Log2 Relative Ratio



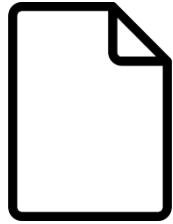
- -0,7: Perte de copie(s) sur la première moitié de la région
- 0: Niveau normal de deux copies



- 0,6: gain de copie(s) sur la première région
- 0: Niveau normal de deux copies



Données de CGH - B Allele Frequency (BAF)



Signal de l'échantillon



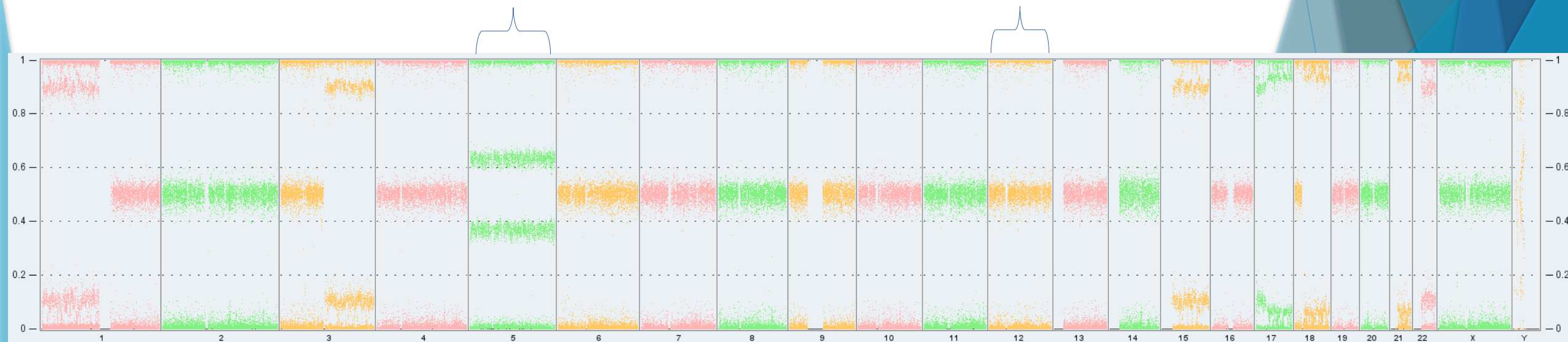
Signal de référence



Calcul de la fréquence de l'allèle B (B Allele Frequency, BAF)

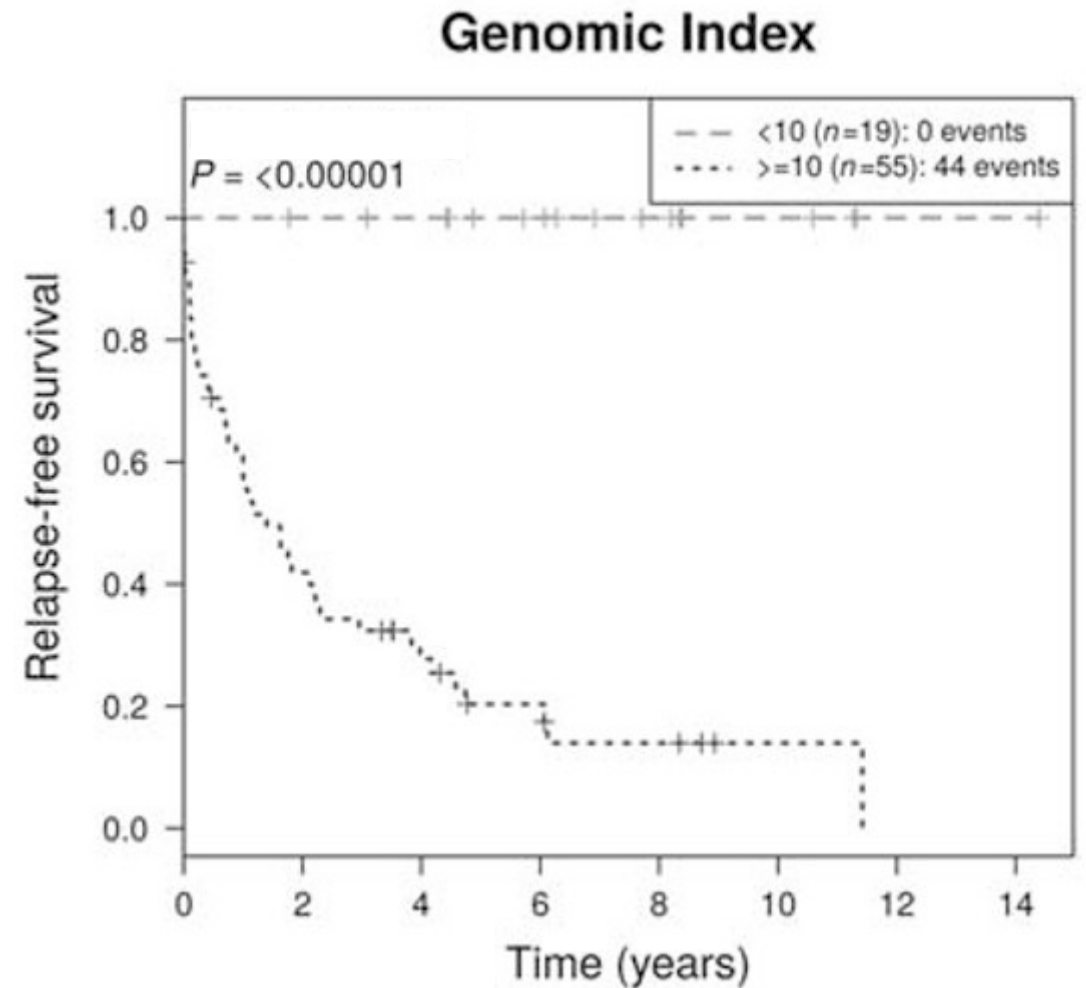
66 % d'allèle B

50 % d'allèle B



Introduction - échantillons GIST

- GIST : Tumeur stromale gastro-intestinale
- L'Index Génomique a un intérêt dans le pronostic de l'évolution des GISTs



Introduction - Calcul de l'Index Génomique

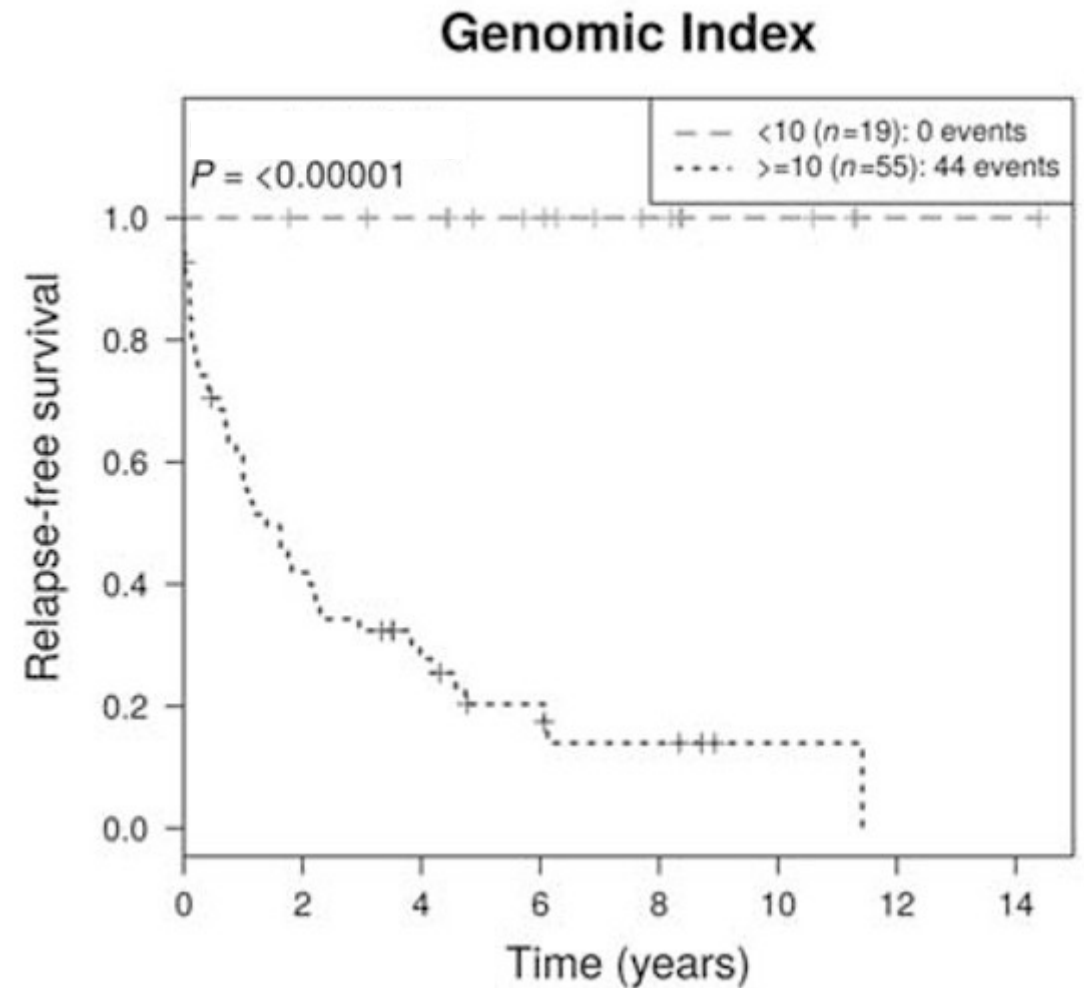
$$\text{GI} = (\text{nombre d'altérations})^2 / (\text{nombre de chromosomes altérés})$$
$$\text{GI} = 7^2 / 7$$
$$\text{GI} = 7$$

- L'index génomique est une mesure du niveau d'altération du génome
- Ce score est défini sur la technologie Agilent/ SurePrint G3



Problématique

- GIST : Tumeur stromale gastro-intestinale
- L'Index Génomique, défini sur la technologie Agilent, a un intérêt dans le pronostic de l'évolution des GISTs
- La technologie Affymetrix/Oncoscan CNV est plus résolutive qu' Agilent
- Peut-on transposer l'Index Génomique de la méthodologie Agilent vers Oncoscan?
- Des outils bioinformatiques peuvent traiter les données OncoScan
- Comparaison de ces outils sur des GISTs

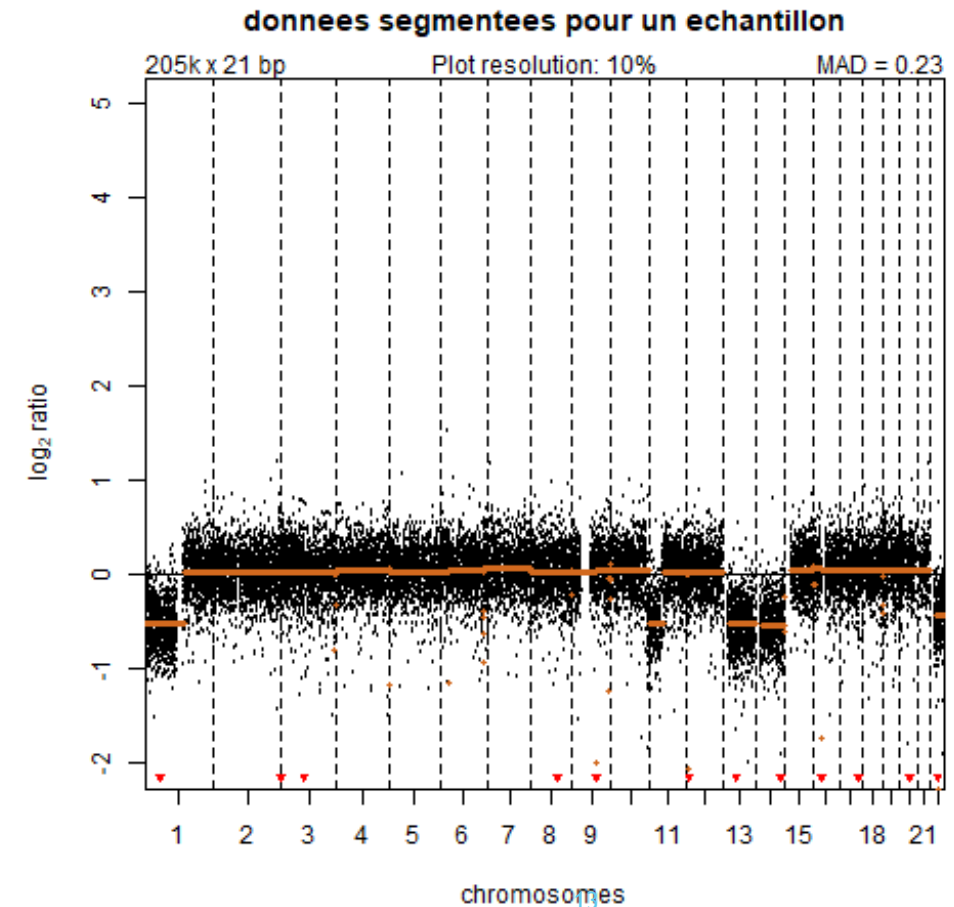
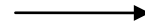
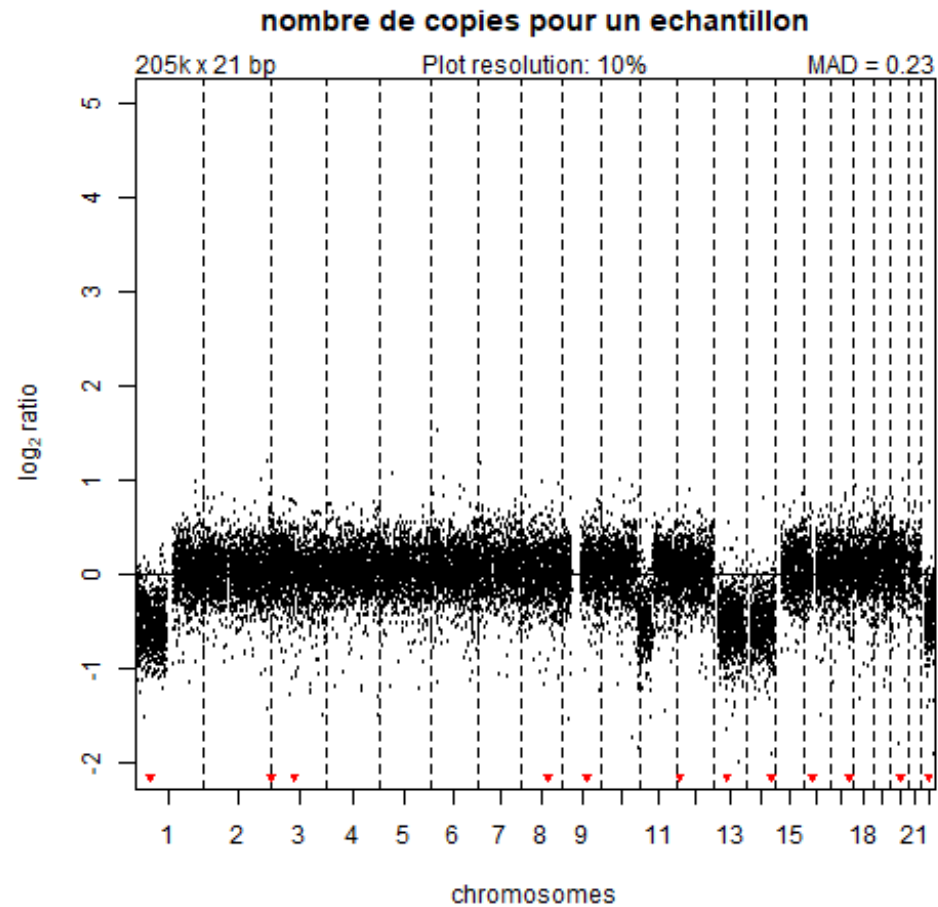


Aperçu des outils

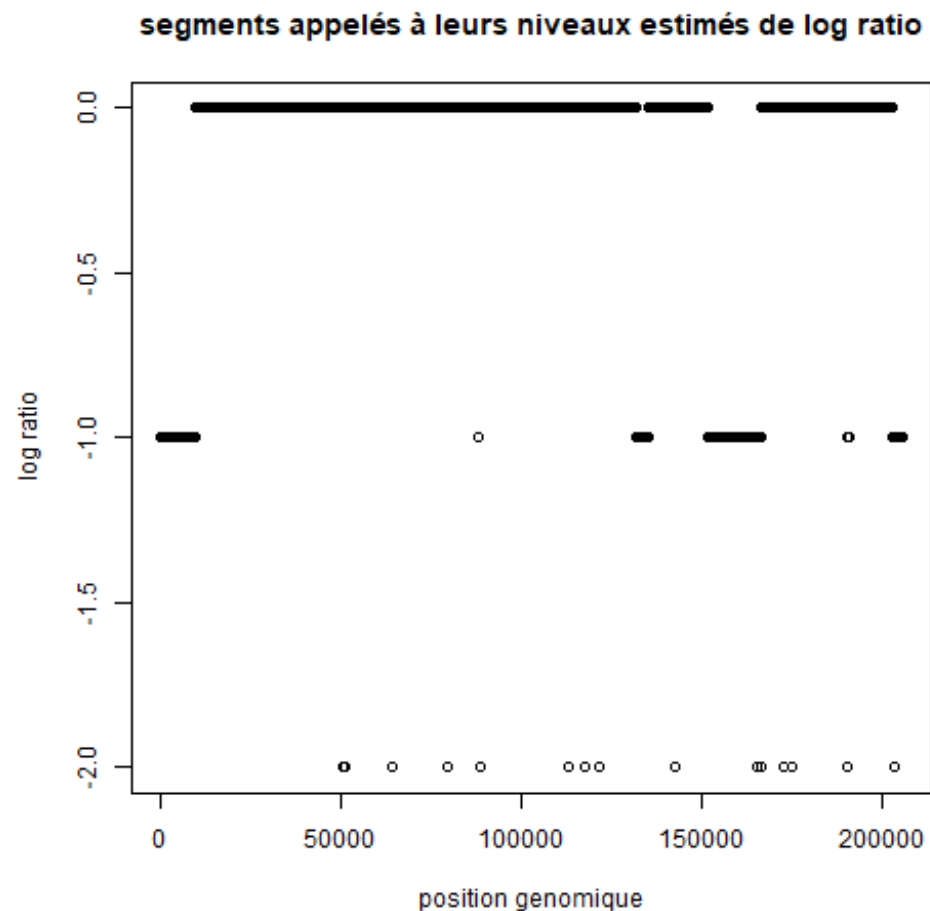
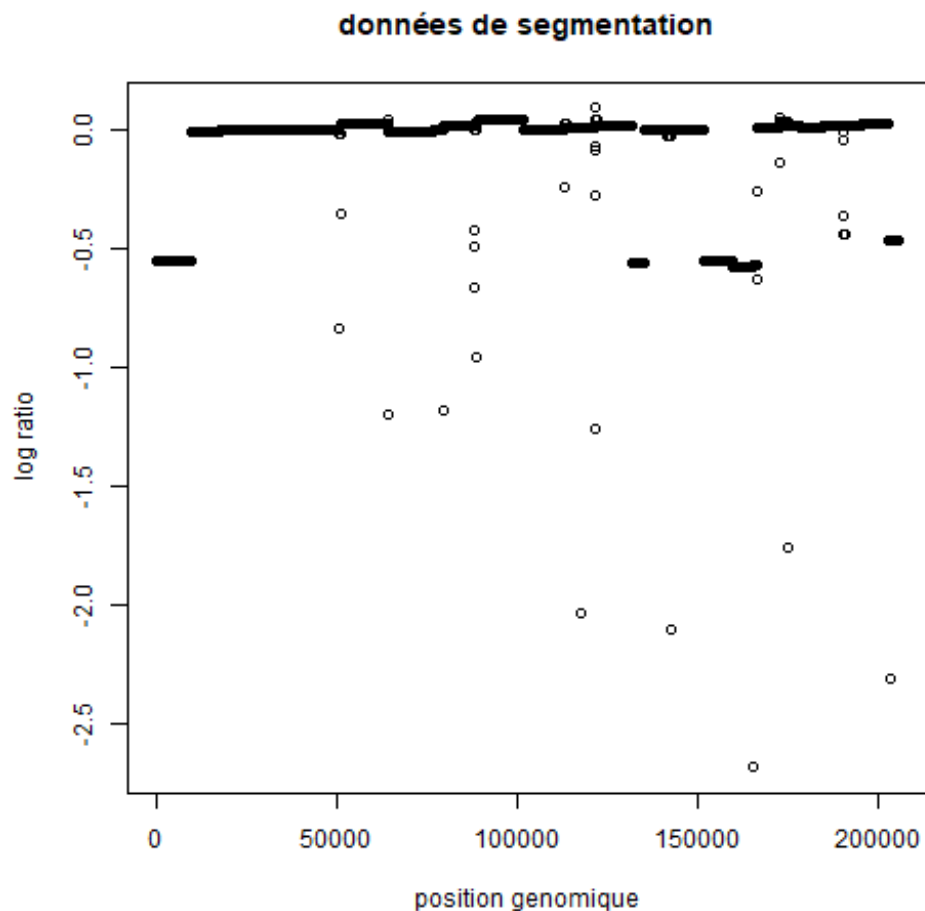
outil	input	Pré-traitement	normalisation	segmentation	calling	altérations	autre
oncoscanR	segments	oui	non	non	non	bras	scores
rCGH	sondes	oui	oui	CBS	oui	segments	GUI
CGHcall	sondes	oui	deux	CBS	Modèle de mélange	segments	non
ASCAT	sondes	non	non	ASPCF	ASCAT	segments	estimation ploïdie et cellularité

Les quatre outils déterminent les altérations, mais pas de la même manière. La comparaison va montrer ce que cela implique.

Pipeline typique: segmentation

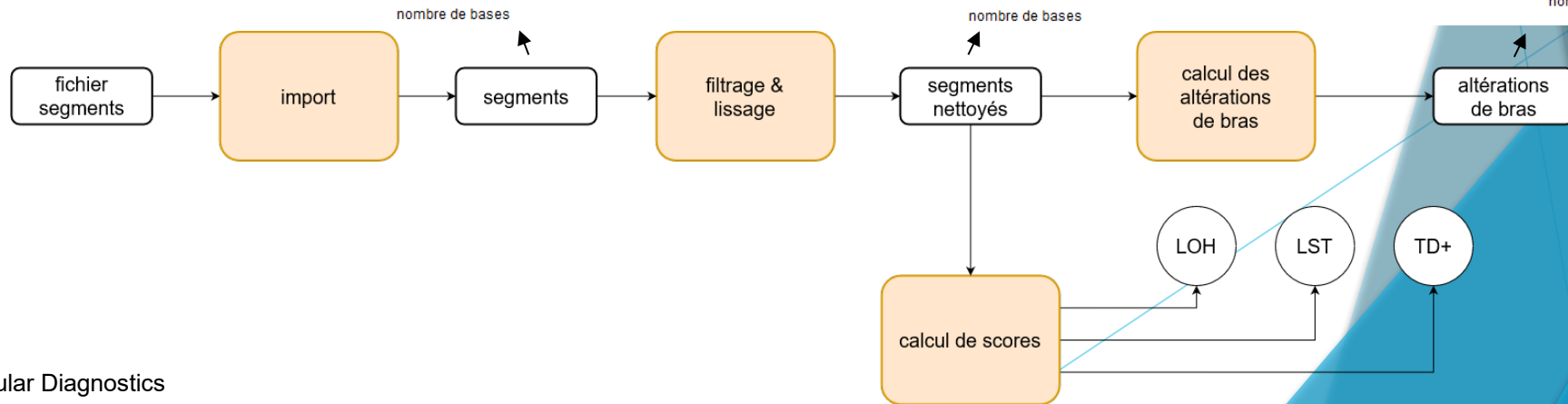
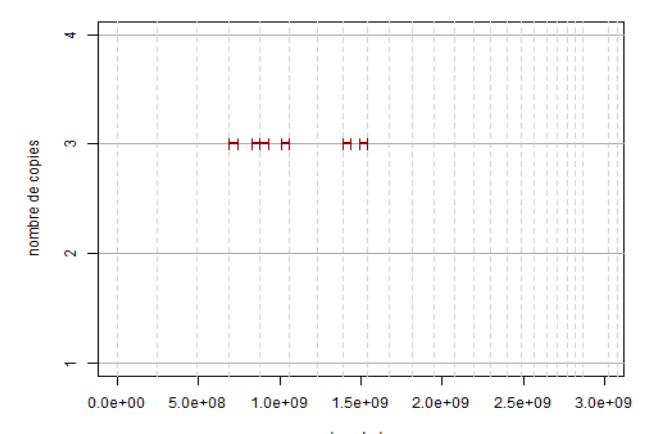
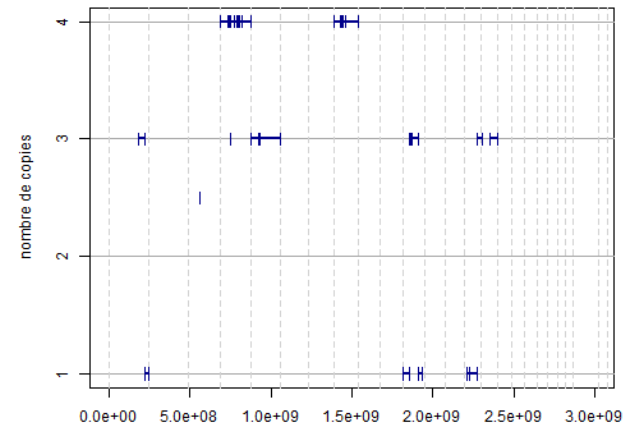
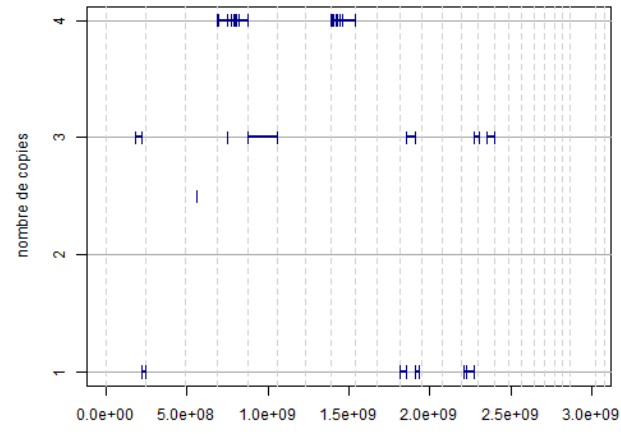
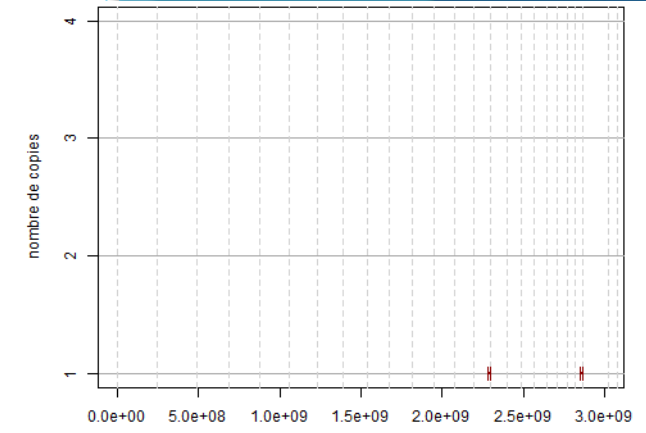
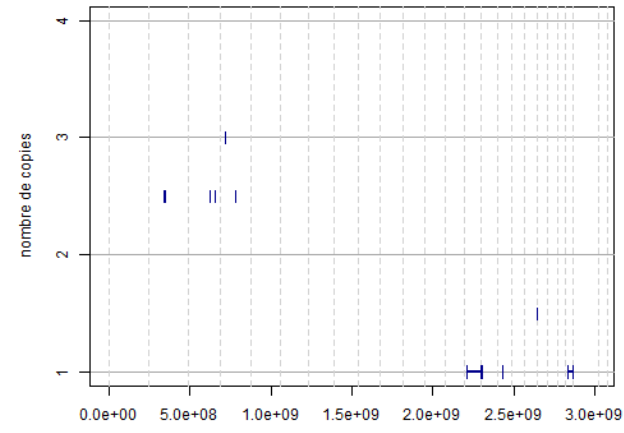
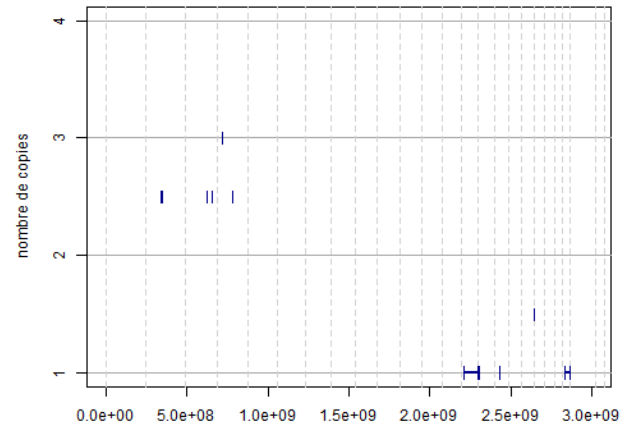


Pipeline typique : Calling ou estimation du nombre de copies

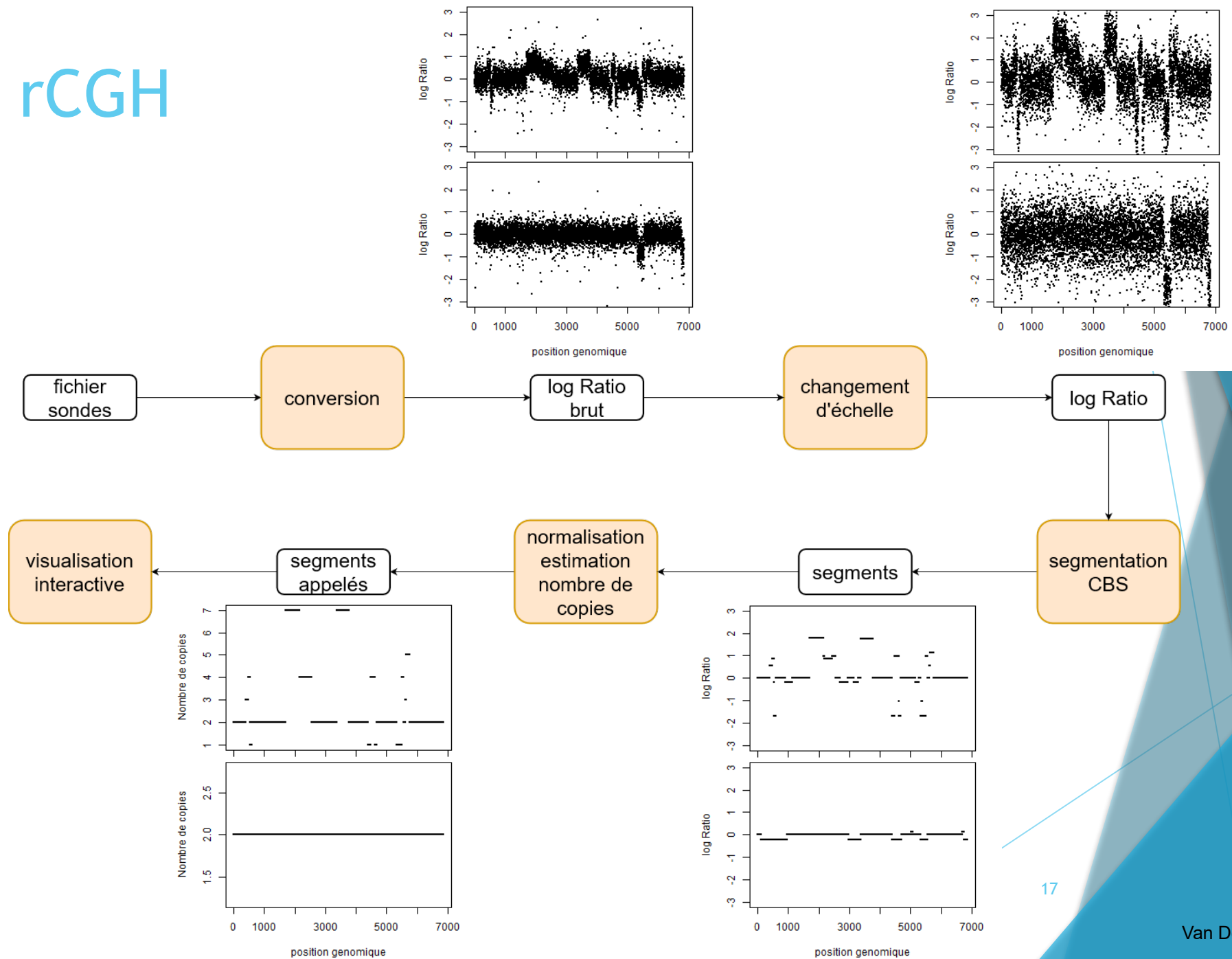


Outil: OncoscanR

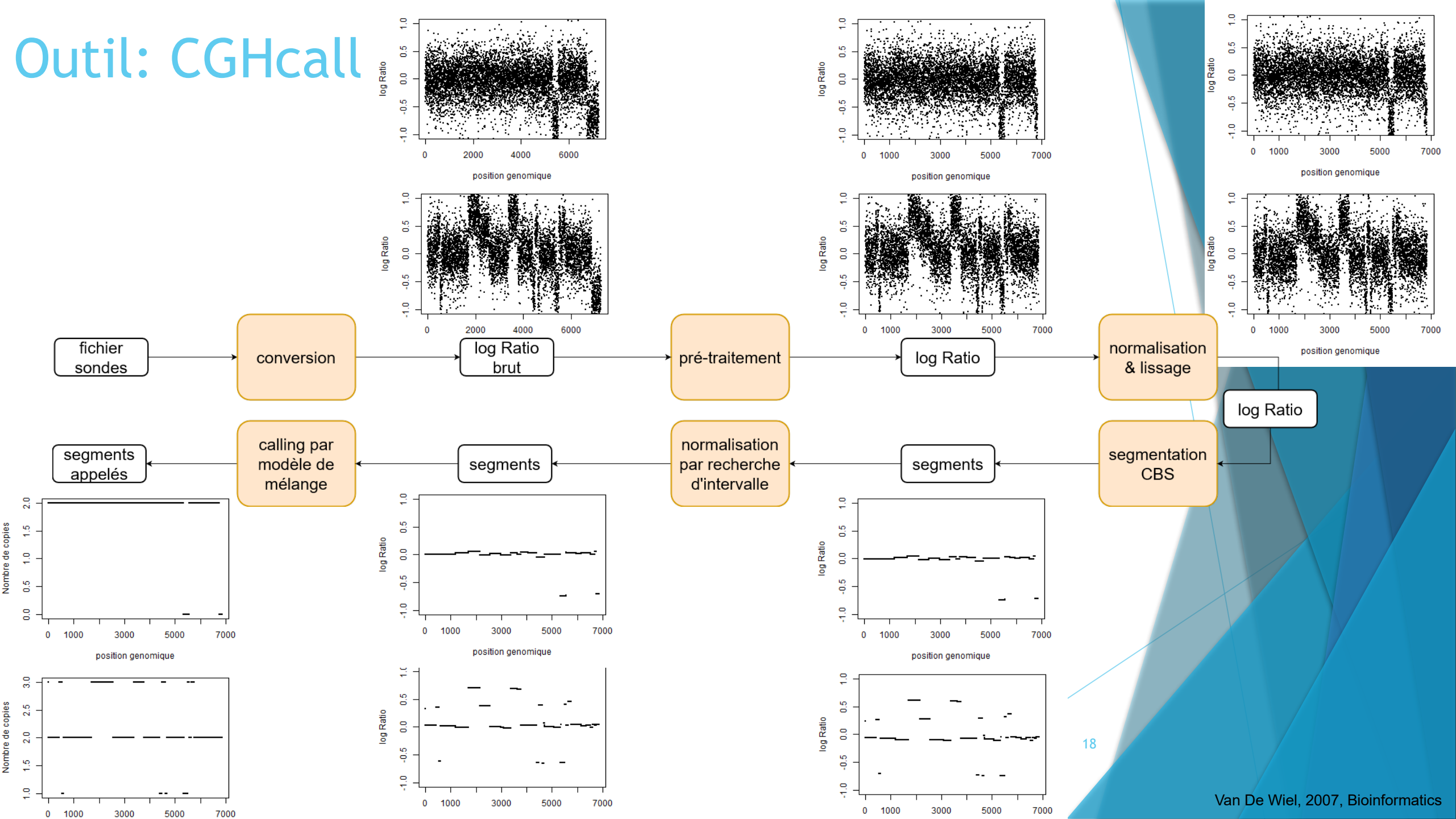
- Input : segments altérés
- Conversion en altérations de bras chromosomiques



Outil: rCGH

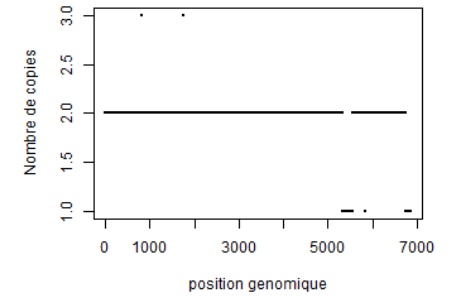
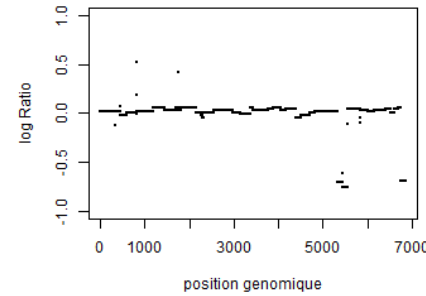
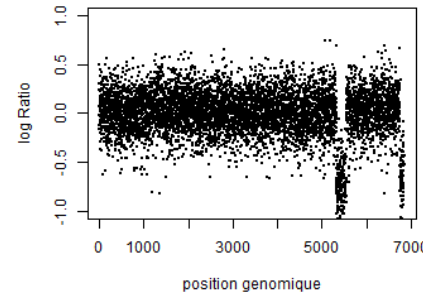


Outil: CGHcall

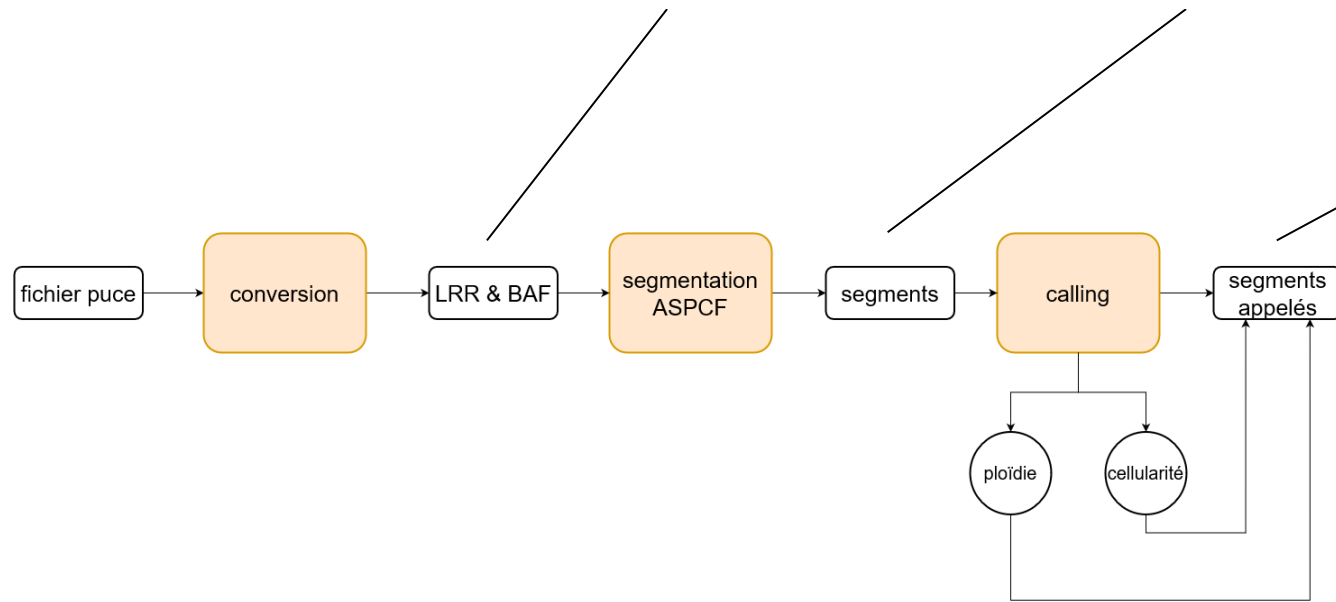
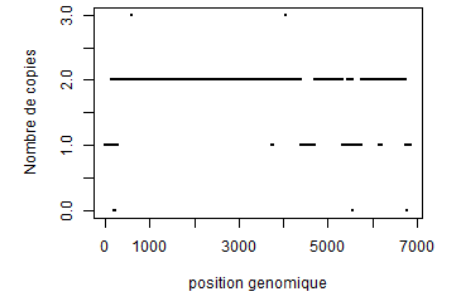
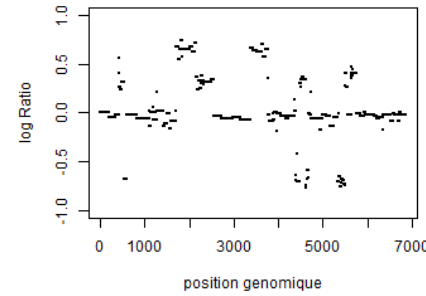
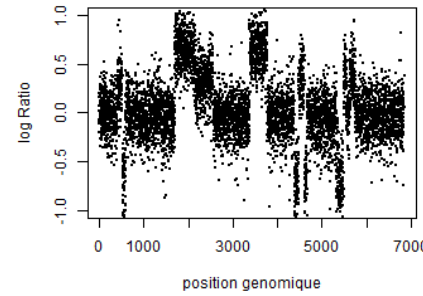


Outil: ASCAT

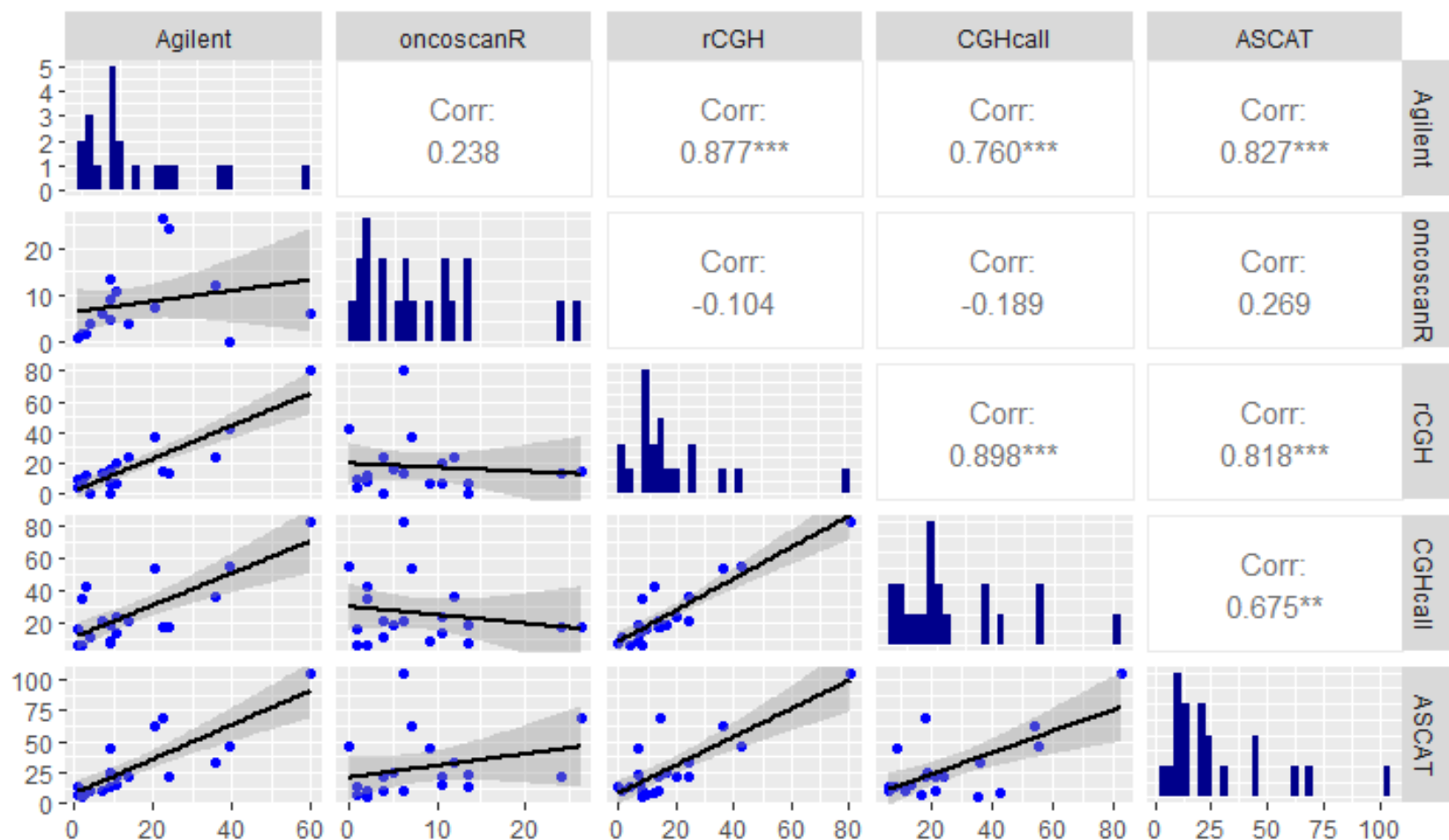
- Échantillon 1-RV



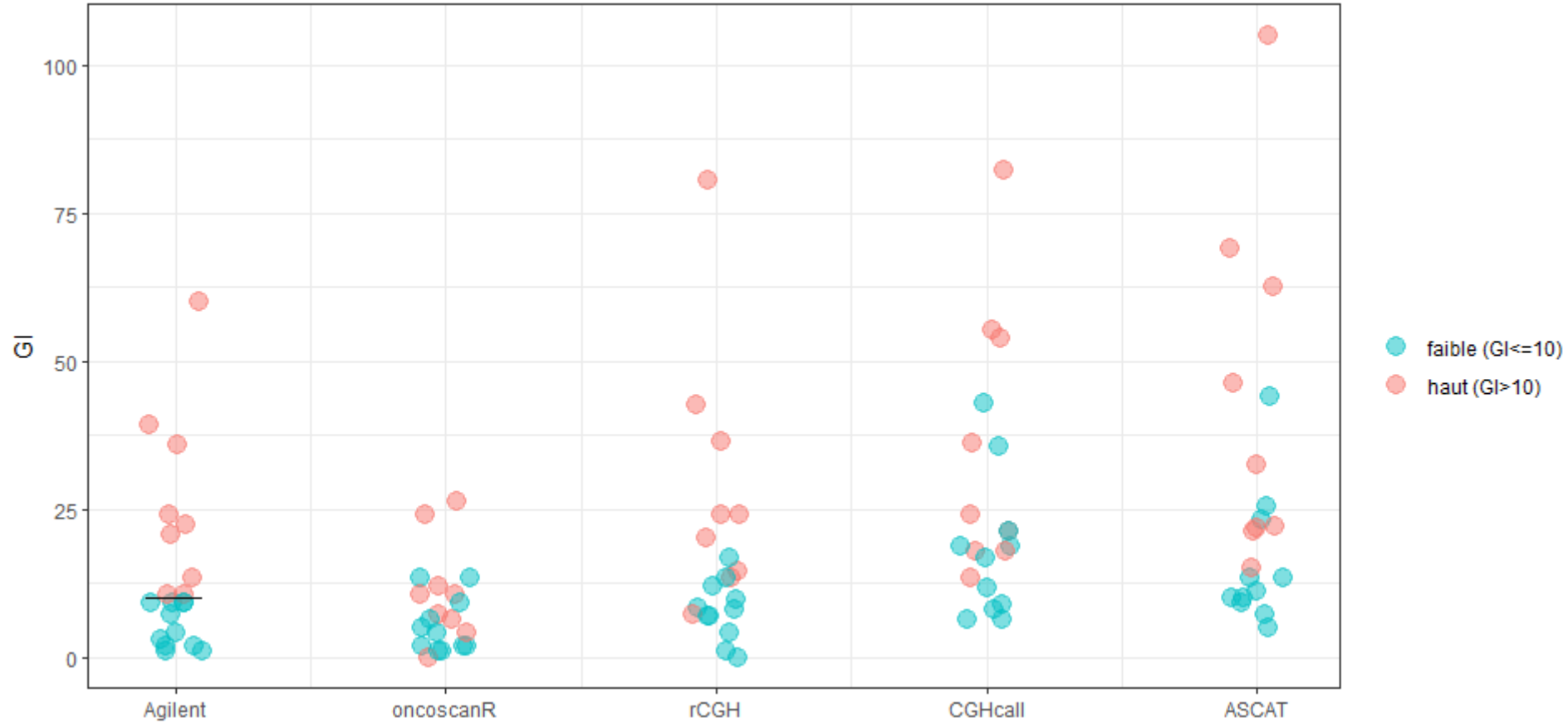
- Échantillon 11-BG



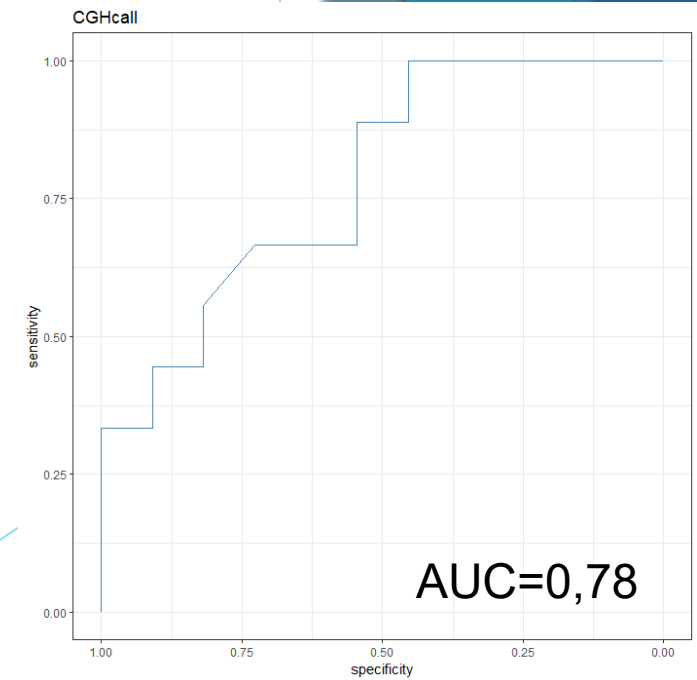
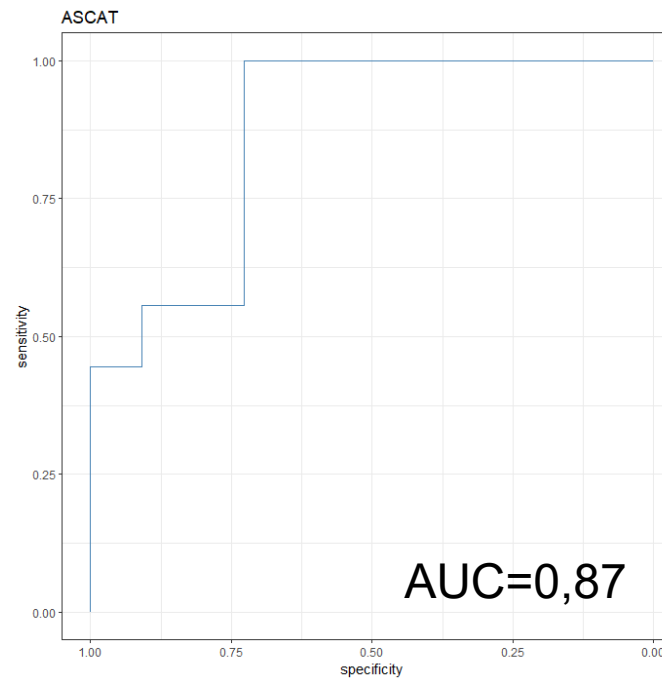
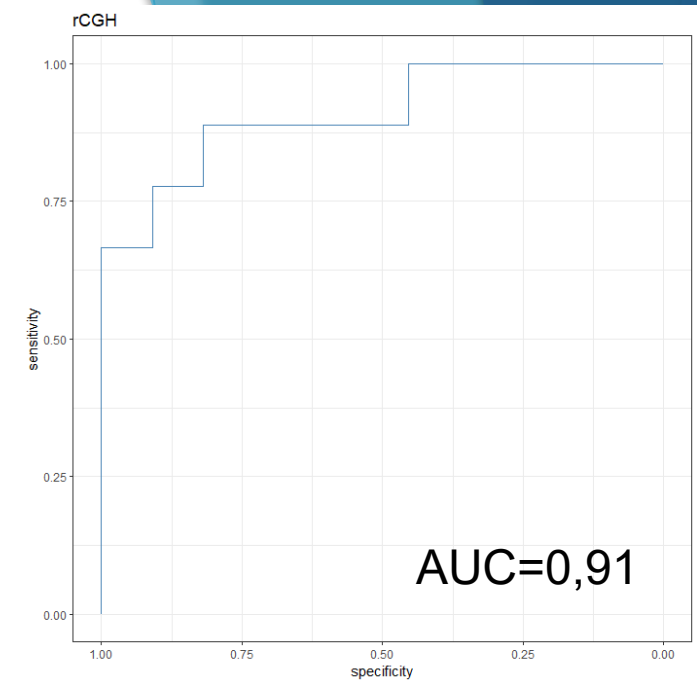
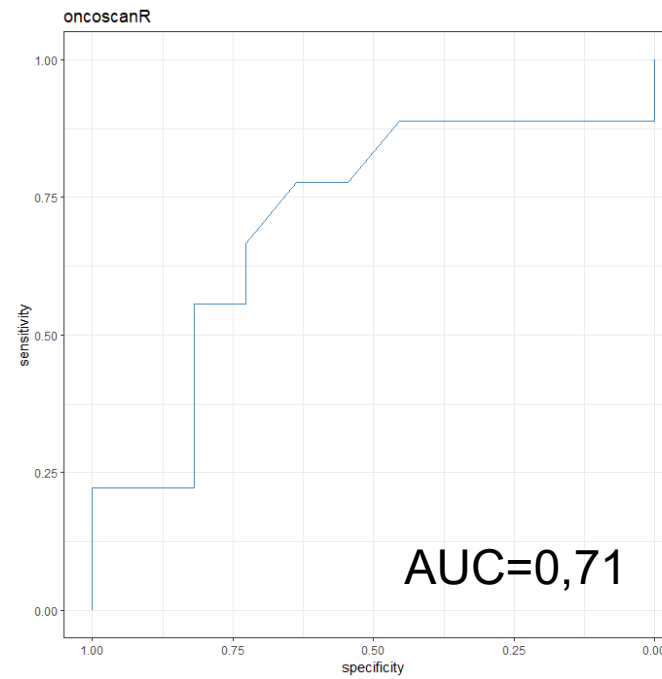
Corrélations



Distribution des valeurs



Courbes ROC



Conclusion

outil	corrélation	distribution	Courbes ROC	Autre fonctionnalité		
oncoscanR	✗	✗	✓	✓		
rCGH	✓	✓	✓	✗		
CGHcall	✓	✓	✓	✗		
ASCAT	✓	✓	✓	✓		

Conclusion

- Le nombre d'échantillons utilisés ne permet pas de choisir un outil pour répondre à la problématique.
- CGHcall, rCGH et ASCAT présentent un intérêt mais pas OncoscanR

Interaction Bioinformatique - Biologie

- Intégration dans l'unité de pathologie moléculaire
- Suivi des échantillons de leur réception à l'analyse
- Compréhension des préoccupations des biologistes
- Vulgarisation des outils étudiés
- Participation à la formation dispensée par Affymetrix

Merci pour votre attention

Références

- Les figures ont été créées à l'aide de BioRender et appDiagrams.net
- [1] CROCE, Sabrina, DUCOULOMBIER, Agnes, RIBEIRO, Agnes, *et al.* Genome profiling is an efficient tool to avoid the STUMP classification of uterine smooth muscle lesions: a comprehensive array-genomic hybridization analysis of 77 tumors. *Modern pathology*, 2018, vol. 31, no 5, p. 816-828.