

Page de garde

Résumé

Table des matières

Table des figures

Liste des abréviations utilisées

Liste des logiciels et bases de données utilisés (avec numéros de versions)

TNBC

MpBC

Section Principale

I. Introduction

- A. Contexte et état de l'art
- B. Présentation des MpBC
- C. Problématique(s)

II. Matériels et méthodes

A. Echantillons MpBC

1. Prélèvement/Collecte et fixation
 - a) *Provenance des échantillons*
 - b) *FFPE fixation*
 - c) *H&E coloration*
2. Séquençage
 - a) *Référence de la techno, profondeur ?, kit use*
3. Annotation phénotypique des spots
 - a) *Annotations via clustering k-means (Loupe Browser)*
 - b) *Annotations expert anatomopathologiste*

B. Software et packages

1. RStudio et langage R
 - a) *Version du logiciel*
2. Analyse des marqueurs phénotypiques
 - a) *Loupe Browser*
 - (1) Version du logiciel
 - b) *Seurat*
 - (1) Version du package
 - (2) Contrôle qualité et filtrage des spots
 - (a) UMI & Features count,
 - (b) % gènes mitochondriaux
 - (c) ...
 - (3) Normalisation et Scaling
 - (a) Nombre de gène sélectionné
 - (4) Déterminations des paramètres UMAP de façon empirique
 - (5) Clustering
 - (a) Type de l'algorithme use (=Louvain)
 - c) *Harmony*
 - (1) Version du package
 - (2) Paramètres de la correction batch-effect
3. Analyse des marqueurs génotypiques
 - a) *InferCNVPlus*
 - (1) Constitution du groupe de cellule de références
 - (2) Normalisation
 - (3) Tests statistiques

III. Résultats

A. Analyse des marqueurs phénotypiques

1. Réduction PCA harmony
 - a) *Figure 1 : Réduction PCA après correction Harmony*
2. Projection UMAP (après Clustering)
 - a) *Figure 2 : Projection UMAP (après épuration des spots contradictoires entre annotations expert et clustering seurat)*
3. Feature Plot
 - a) *Figure 3 : Illumination de la UMAP selon les gènes marqueurs*
 - (1) Rajouter sur les figures, des * avec les termes GO (fonctions) pour les gènes représentés
4. Dot Plot
 - a) *Figure 4 : Features selon types cellulaires*
 - b) *Figure 5 : Features selon les patients*

B. Analyse des marqueurs génotypiques

1. Visualisation des différences de score CNA entre compartiment
 - a) *Figure 6 : Shift Plot*
 - b) *Figure 7 : Effect_size en fonction p_val*
 - (1) Modifier la figure pour la mettre sous forme de VolcanoPlot (abscisse = Size Effect, ordo = Log10(Pval_adj), Différence sans val absolue)
 - c) *Figure 8 : P_val barplot par bras*
 - d) *Figure 9 : Heatmap Plot*
 - e) *Figure 10 : Correlation Plot*

IV. Discussions

A. Limites de la technologie Visium

1. Risque d'hétérogénéité cellulaire intra-spot
 - a) *Séparation imparfaite des clusters (UMAP)*
 - b) *Trop faible spécificité des marqueurs génétiques pour les sous-types cellulaires*
 - (1) Marqueurs pour le moment trop patient-spécifique plutôt que cluster-spécifique
 - c) *Dilution/Perturbation du signal CNA*
 - (1) Quelques cellules non cancéreuses au sein des spots annotés cancéreux
 - d) *Difficulté pour caractériser des marqueurs génétiques et CNA spécifiques aux sous-types*

B. Perspectives du projet

1. Analyse approfondie via snRNA-seq
 - a) *Création d'un atlas MpBC spécifique*
2. Microdissection des sous-types spécifiques
 - a) *Déterminants génétiques*
 - (1) Mutations drivers de chaque sous-type
 - (2) Mutations clonales à l'origine de tous les MpBC
 - b) *Déterminants non génétiques*
 - (1) Epigénétique & méthylome
 - (2) Microenvironnement & interaction ligand-récepteur
3. Caractérisation des marqueurs et voies de signalisation pour le diagnostic

V. Conclusions

Références bibliographiques

Annexes