Genomic and epigenomic in cancers

Sa préoccupation depuis 25 ans est d'essayer de mieux comprendre ce qui se passe dans les cancers, ce qui permettrait de mieux guérir. Il s'occupe surtout de l'aspect génomique, tout ce qui est ADN, la régulation de l'expression au niveau transcriptomique, et aussi un peu l'aspect épigénomique.

Les grands principes sont dans les diapos, de plus il y a surtout des exemples, à ne pas apprendre. On va suivre une démarche scientifique, comme pour construire une maison, on va poser les fondations et mettre les briques les unes après les autres.

A) Les cancers

- Fréquence et gravité
  - Env. 240 000 cas/an en France (~ 30 cas/h)
  - Env. 150 000 décès/an (~ 15 décès/h)
    - ⇨ **1ère cause de décès en France**
- Problème cliniques majeurs => à résoudre
  - Dépistage, traitement préventif insuffisants
    - ➔ *marqueur de prédisposition*
  - Diagnostic tardif
    - ➔ *marqueur diagnostique*
  - Traitements inefficaces et/ou toxiques
    - Hétérogénéité évolutive des tumeurs
      - ➔ *marqueur pronostique*
      - ➔ *marqueur prédictif de réponse*
    - Anticancéreux non spécifiques
      - ➔ *cible thérapeutique (spécifique à chaque patient)*

⇨ **Problématique du typage moléculaire des cancers**

Typage moléculaire des cancers plus complexe dans les tumeurs solides que dans les leucémies.

B) Pourquoi au niveau moléculaire ?

Car le typage histo-clinique est insuffisant face à l'hétérogénéité des tumeurs (hétérogénéité tissulaire et moléculaire des tumeurs solides → plus difficile à caractériser) Dans une leucémie, la majorité des cellules présente la même anomalie, ce qui n'est pas forcément le cas dans les tumeurs solides.

- Facteurs pronostiques et/ou prédictifs de réponses (=> critères histo-cliniques)
  - **Cliniques** : âge, sexe, stade d'extension, …
  - **Histologiques** : ganglions (=> métastases), taille, grade, récepteurs hormonaux, vascularisation, …
    - ⇨ **Classification** des tumeurs
- Progrès, mais insuffisants (Bon pronostic : % d'échecs / Mauvais pronostic : % d'échecs)
  - ⇨ Sous-classes non identifiées → à définir (par ex, pour le cancer du sein, 25% d'échecs, qu'il faut mieux comprendre)

  - ⇨ Niveau d'**hétérogénéité** et niveau de **complexité**
  - Au niveau de l'ADN (altération, cassure, translocation, perte de matériel, gain de matériel, des mutations simples, … => réarrangements)
  - Au niveau de la régulation de certains gènes
  - Au niveau transcriptomique
  - Au niveau épigénomique => importance du code épigénomique
  - Au niveau post-traductionnel, … : un cancer peut être causé par la modification de l'ubiquitination de protéines

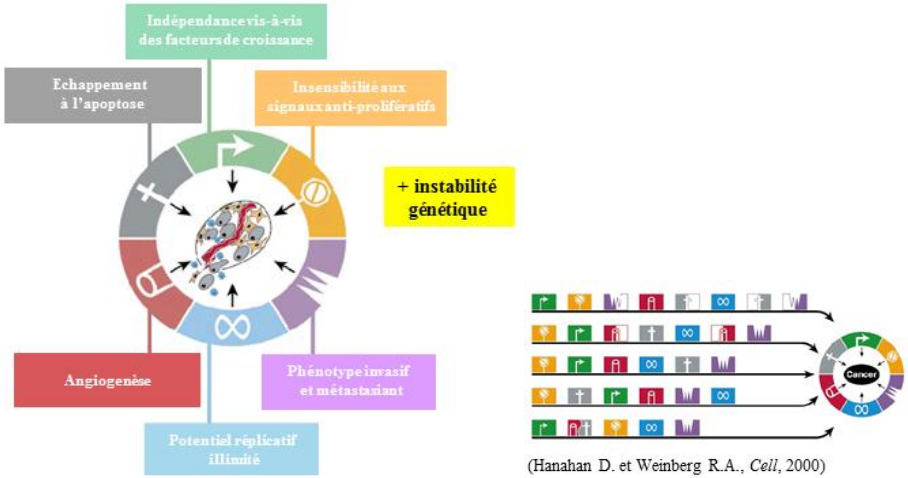
Chacun à sa tumeur et chaque tumeur va être différente, donc nécessité d'identifier de nouvelles cibles thérapeutiques spécifiques à chaque patient, malgré l'apparition d'une accumulation progressive de ces altérations sur les différentes strates de complexité, difficilement à ce jour contrôlables dans leur totalité. Donc il n'existe pas un cancer, mais **des** cancers (chaque tumeur aura des anomalies différentes des autres)

⇨ **Hétérogénéité moléculaire**

Donc il faudrait une analyse tumorale à tous les niveaux de complexité pour une « carte d'identité de la tumeur ».

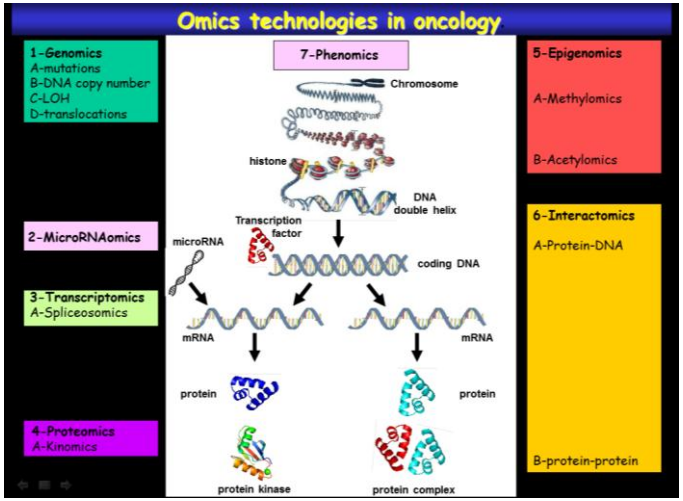
Pour mieux comprendre la complexité des tumeurs …

Cancer = *accumulation progressive d'un grand nombre d'altérations moléculaires dont les effets se combinent pour aboutir à l'apparition de la tumeur et son évolution vers un phénotype de plus en plus agressif et résistant aux traitements*



(Hanahan D. et Weinberg R.A., *Cell*, 2000)

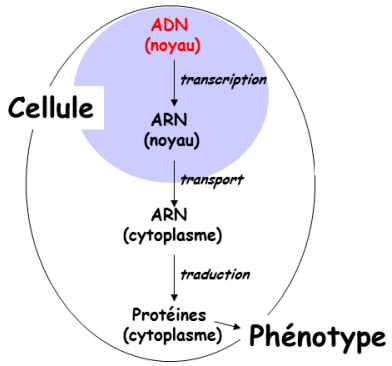
… et identifier de nouvelles cibles thérapeutiques



C) Qu'entend-on par moléculaire ?

Macromolécules d'ADN, ARN et protéines

Rappel : 60 x 10^{12} cellules : même ADN, mais ARN et protéines différents (régulation de l'expression génique) ; 200 types cellulaires différents



~ 30.000 gènes ; ~ 120.000 ARNm différents, ~ 15.000 ARNm/cellule ;

~ 150.000 protéines différentes, ~ 30.000 protéines/cellule

En fait, il existe environ 42.000 ARN messagers différents, mais grâce à des splicing alternatifs (= épissage alternatif), on peut avoir pour un seul gène jusqu'à 15 transcrits isoformes différents => niveau de complexité (modification selon le type de tissu et parfois activation de certaines voies)

Toutes les protéines ne sont pas produites par la même cellule, car il y des différenciations. On ne parle pas encore des possibles modifications post-traductionnelles (phosphorylation, glycosylation,…). Il peut exister un subtil équilibre dans les translocations entre noyau et cytoplasme, juste par le degré de modification d'une phosphorylation, de certaines modifications post-traductionnelles.

D) Le typage moléculaire classique

Tissu, cellules (sains ou pathologiques)

- Broyage et lyse cellulaire == extraction ADN, ARN, protéines ==> **ADN** (séquençage, PCR, southern blot, CGH conventionnel, …) ; **ARN** (northern blot, RT-PCR, …) ; **protéines** (western-blot)
  - *Recherche de mutations dans l'ADN par **séquençage**, recherche d'isoformes par **PCR**,…*
  - ***Southern blot** = digestion par enzyme de restriction, puis migration sur un gel pour séparer l'ADN en fonction de son poids moléculaire (ADN = chargé -) ➔ potentiellement on peut avoir des réarrangements dans une tumeur, donc pas la même taille après migration*
  - ***CGH** = hybridation génomique comparée, pour définir s'il existe des amplifications ou des délétions, c'est-à-dire des déséquilibres génomiques de l'ADN tumoral par rapport à l'ADN normal*
  - ***Northern blot** = pas de digestion enzymatique, migration des ARNm, transfert sur membrane, hybridation* ➔ surexprimation d'un gène comparée à du tissu normal
  - **RT-PCR** *(ou RT-qPCR) = quantification possible des transcrits*
  - ***Western-blot** pour les protéines = migration sur un gel PAGE (Poly-Acrylamide Gel Electrophoresis), en présence de SDS (même charge net), donc migration par électrophorèse en fonction de leur poids moléculaire, puis transfert sur membrane, et ensuite révélation avec un anticorps du poids moléculaire*

- Coupes ==> **analyse morphologique** ; **ADN** (FISH) ; **ARN** (ISH) ; **protéines** (IHC)
  - ***FISH** = Hybridation In Situ en présence de sonde Fluorescente*
  - ***ISH** = Hybridation In Situ sur tissu (pour l'ARN), avec des ribochromes, des oligochromes ➔ localisation tissulaire de l'expression des ARNm*
  - ***IHC** = ImmunoHistoChimie, avec utilisation d'anticorps ➔ expression et localisation de la protéine dans un cancer, sur une coupe de tumeur*

- Etalements chromosomiques (et coloration au Giemsa, caryotypage) ==> **ADN** (FISH)

***Recherche de marqueurs pronostiques** : corrélation entre les paramètres cliniques d'intérêt d'abord dans des études rétrospectives, puis prospectives avant d'éventuelles applications cliniques*

- **ADN** : anomalies de structure ou de nombre des chromosomes ou des gènes
  ⇨ Génomique structurelle et fonctionnelle (ex : méthylation)
- **ARN** et **protéines** : anomalies d'expression
  ⇨ Génomique fonctionnelle
- Approches **classiques** (« gène-à-gène », « protéine-à-protéine », « tissu-à-tissu »)
  ⇨ **Un seul** paramètre moléculaire sélectionné par échantillon et par expérience

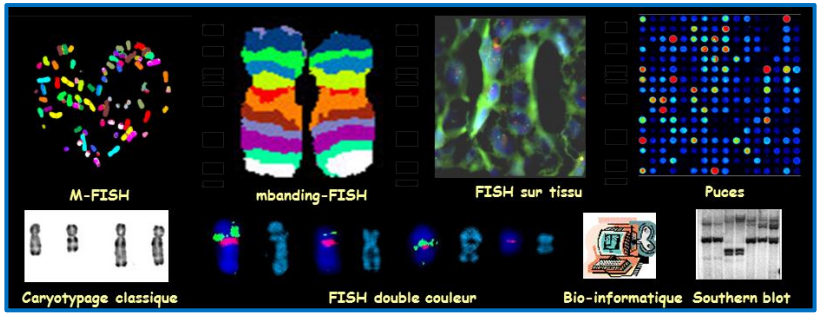
Cependant, un cancer est **polygénétique**. Dans les cancers héréditaires, les gènes affectés codent pour des protéines garantes de l'intégrité de l'ADN, de l'information génétique. Quand ils ne sont plus là ou quand ils sont mutés, les conséquences font que le risque d'avoir un cancer est plus important (**50%**), car dans l'évolution de la cellule, le risque de créer d'autres altérations ailleurs dans le génome est très important. Donc c'est seulement un gain de prise de risque, mais c'est vraiment du polygénétique, c'est-à-dire qu'il faut tenir compte de l'**accumulation** des événements.

- Développement des outils d'analyse : **très nombreuses études**
  - Progrès compréhension oncogenèse
  - Retombées cliniques majeures

Quelques applications cliniques

- ADN
  - Amplification du gène HER2 dans les cancers du sein
  - Séquençage du gène BRCA1 dans les cancers du sein héréditaires (0,1 à 5%, majorité de cancers sporadiques)
- ARN : recherche de transcrits de fusion dans les leucémies aiguës
- Protéines : expression des récepteurs hormonaux RE/RP (oestrogènes et progestérone) et de la protéine HER2 dans les cancers du sein

E) Technologies de laboratoire



- **Multi-FISH** (obsolète, car caryotypage suffisant (et très simple)) = chaque région chromosomique pseudo-colorisée pour chaque chromosome (donc identification de la région chromosomique altérée par une translocation) ➔ recherche des altérations chromosomiques dans des lignées cellulaires de tumeurs solides, où les réarrangements sont extrêmement complexes
- **FISH sur tissu** ➔ nb de copies d'un gène (EGFR, ERBB2, … = facteurs de croissance)
  Utilisé en anapath, car peut guider/influencer le traitement
- **Puces à ADN** :
  - Puces pour la **génomique** = nb de copies du gène (perte ou gain de matériel)
  - Puces pour le **transcrit** : sur une lame, des oligonucléotides (de 30 Mbp à 60 Mbp) représentatifs de l'ensemble des transcrits présents dans une cellule ➔ proportion de transcrits s'hybridant sur chaque région = degré de fluorescence = expression de la protéine dans la cellule
- **Caryotypage** classique
- **FISH double couleur** (pour identifier des régions de cassure)
- **Bio-informatique** (en pleine explosion dans labos d'anapath, d'analyse moléculaire,…)

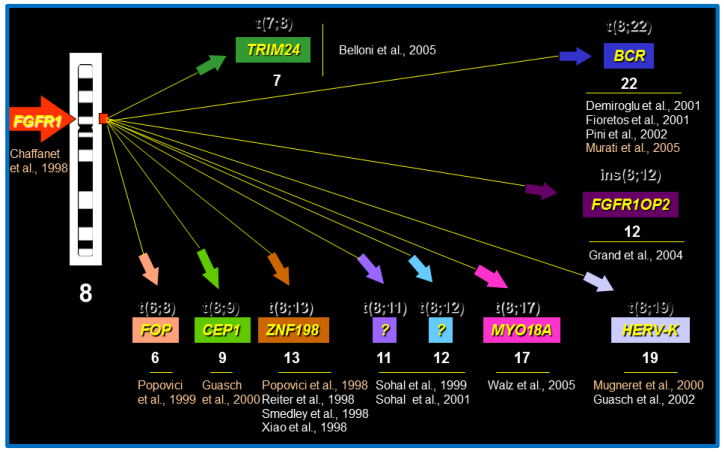
Caractérisation d'une altération génomique (translocations, insertions, délétions, amplifications) ➔ gènes altérés ?

Banques de données ➔ outils pour mieux comprendre la localisation des gènes à travers le génome, à travers les chromosomes, …

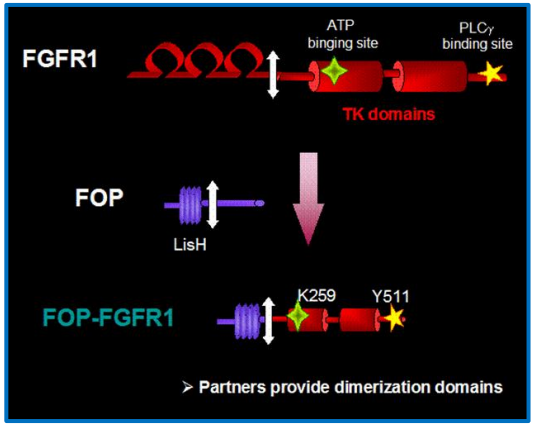
⇨ NCBI (génomique, protéomique, …) = Base de référence pour chaque gène (cf diapo)
http://genome.ucsc.edu/ = cartographie génomique (caractériser une translocation, …)
Information sur l'épigénomique, sur les sites de méthylation, sur les îlots CPG, …

F) Quelques exemples d'analyse de translocation

FGFR1 is targeted in 8p11-12 MPDs



FGFR1-MPD is due to a constitutively active chimeric tyrosine kinase



- Syndrome myélo-prolifératif atypique, impliquant le chromosome 8 (translocation de FGFR1 et fusion avec un autre gène)
  Caractériser ses translocations et comprendre leurs conséquences (avantage sélectif pour la cellule, car elle est sélectionnée, elle prolifère, et, en plus, sans dérive au cours du temps, sinon on ne la verrait pas) ➔ caryotype + conséquence fusion

Aparté :

- **Translocation réciproque** = échange de portions chromosomiques avec fusion de ces portions chromosomiques à l'intérieur d'un gène pour chaque chromosome partenaire (donc pas de **perte <u>apparente</u>** de matériel, car présence des deux dérivatifs)
- **Translocation équilibrée** = translocation réciproque **<u>sans</u>** perte d'un **seul** nucléotide => **aucune** perte de matériel

Des délétions sont possibles au moment de la fusion (donc translocation non équilibrée). On peut démontrer s'il y a ou non perte de matériel par séquençage. Si absence d'un des deux dérivatifs, c'est une translocation non réciproque (perte apparente de matériel).

Le nom du dérivatif chromosomique est le nom donné en fonction du centromère conservé.

Exemple :
Der(3)t(3,20)(p14,q13) = Translocation (non réciproque, non équilibrée)

Der(3) t(3,20)(p14,q13)
Der(20) t(3,20)(p14,q13)
} Translocation réciproque (équilibrée ? => séquençage)

⇨ Résultat pour une translation réciproque : on voit un chromosome 3 normal, un chromosome 20 normal, le 3 avec le centromère du 3 et une portion du 20q qui est venu dessus, le 20p avec le centromère du 20 et la petite portion du centromère dessous (donc en résumé le chromosome 3, le chromosome 20, le dérivatif 3 et le dérivatif 20). Mais on ne sait pas si c'est équilibré ou pas, puisqu'on n'a pas les moyens pour regarder sur un caryotype (séquençage nécessaire).

Fin de l'aparté

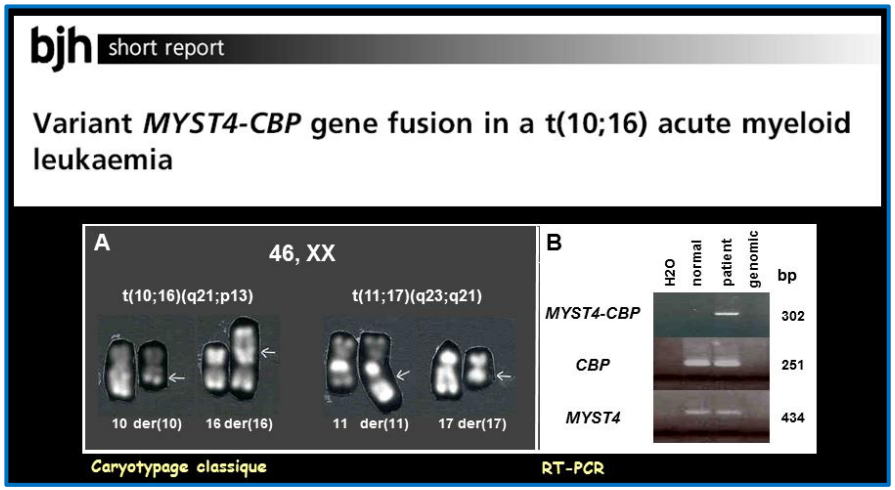
Il ne s'agit pas de regarder que le caryotype, il s'agit aussi de regarder les conséquences de la fusion.

En l'occurrence, dans la translocation réciproque équilibrée présente dans les syndromes myélo-prolifératifs atypiques, on a FOP-FGFR1 et on a FGFR1-FOP, sauf que FGFR1-FOP n'a pas d'activité prolifération.

FGFR1 signifie Factor Growth Fibroblast Receptor. C'est un récepteur tyrosine kinase, avec une partie transmembranaire. Lors de la liaison du ligand, il y a dimérisation, ce qui déclenche la phosphorylation des deux tyrosines kinase, et donc l'activation du récepteur. L'activation du récepteur entraîne l'activation de la prolifération cellulaire, régulée par le ligand qui active FGFR1.

Dans le cas de la fusion FOP-FGFR1, un déséquilibre est créé dans la dimérisation du récepteur, c'est-à-dire que la fusion facilite la dimérisation entre les différents FGFR1 et FOP-FGFR1, et comme cette affinité est bien plus importante, ça va entraîner, in fine, une activation constitutive de la phosphorylation des tyrosines kinase. Cette activation constitutive (sans présence du ligand) aboutit à la prolifération non contrôlée de cette cellule, et donc aboutit au syndrome myélo-prolifératif atypique.

Le syndrome myélo-prolifératif atypique est une forme de leucémie plutôt rare. … …

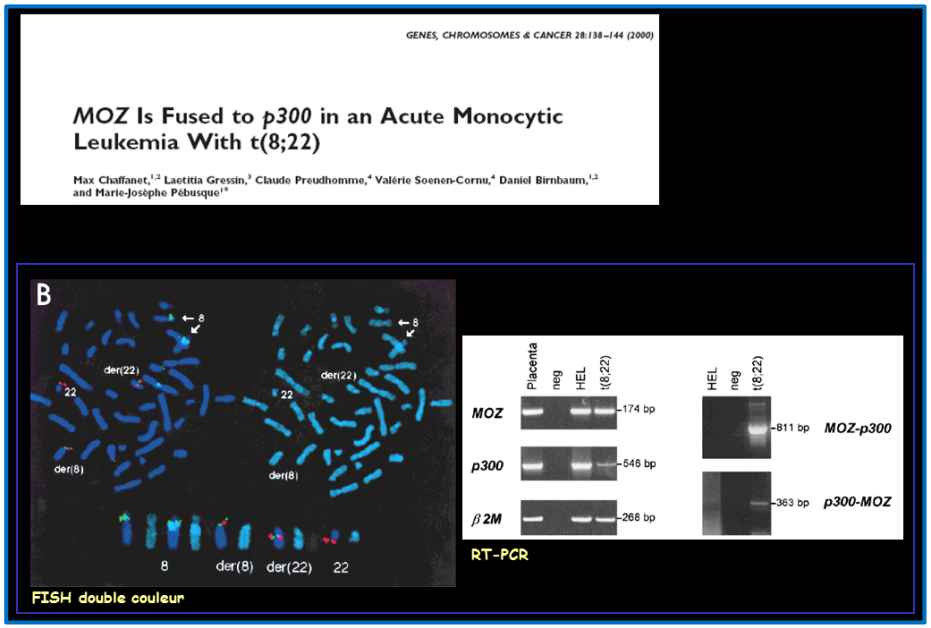


Il existe d'autres translocations et d'autres maladies, qui impliquent aussi la région du QT (?).

Autre translocation (pas la région du QT) impliquant le chromosome 16 et le chromosome 10 : gène de fusion MYST4-CBP, implication d'une protéine histone acétyl-transférase. Donc tout à l'heure l'activation constitutive d'une tyrosine kinase aboutissait à la prolifération cellulaire, et là, on a fusion de 2 histones acétyl-transférase.

L'ADN s'entoure autour de la chromatine, et l'élément unitaire de la chromatine est un noyau histone, avec plusieurs protéines histoniques associées. Les parties N-terminal de ces histones sortent (un peu comme une pelote de laine dont les brins de laine sortent) et ils possèdent des aa, qui sont essentiellement ciblables par des modifications. On parle de **code histonique**, qui est le code **épigénétique**. Donc l'histone acétyl-transférase (= HAT) transfère des groupements acétyle sur les protéines histoniques. Chaque HAT a un site d'**adressage** et un site d'**action**.

⇨ Si on fusionne 2 HAT qui ont des sites d'adressage différents, on va foncièrement modifier la **machinerie transcriptionnelle**, puisque ça intervient dans la transcription.



Translocation t(8;22), avec fusion MOZ-p300 : MOZ (sur 8p12) est cousin avec MYST4 (sur le chromosome 10), ce sont des **gènes paralogues** (MYST4 et MYST3).

Au cours de l'évolution, certains gènes se sont retrouvés répartis à travers le génome (à cause d'un gène ancestral, dupliqué au cours de l'évolution), on les appelle des **gènes paralogues**, c'est-à-dire qu'ils ont conservés la **même activité**, ils peuvent exprimer que dans un type cellulaire, mais malgré tout, ils ont quand même conservés leur spécialité, leur fonction HAT.

MYST3 (= MOZ, sur 8p12) est le paralogue de MYST4 (sur K10), et p300 (sur le chromosome 22) est le paralogue de CBP.

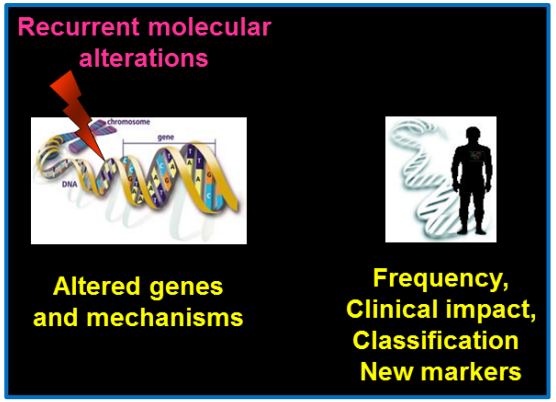
⇨ La fusion MOZ-p300 va également associer deux HAT et entraîner la **même maladie** (leucémie myéloïde aiguë de type N4-N5, très rare).



Différentes translocations avec **fusion de gènes paralogues** aboutissant à la **même maladie**, par un jeu de sélection.

L'idée est de nous illustrer une **démarche scientifique**, c'est-à-dire qu'on a plusieurs maladies, on a des éléments de **translocations** et on se pose la question des gènes impliqués. Par déduction, on peut comprendre ce qui se passe, même sans faire une manip' et **fonctionnellement** parlant c'est la machinerie transcriptionnelle.

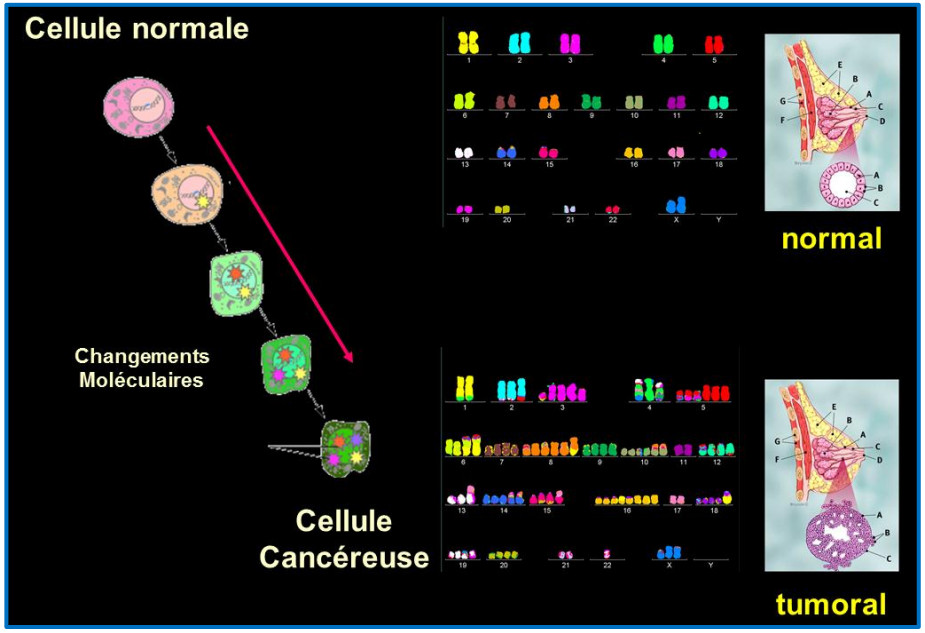
G) Characterization of new candidate cancer genes



Donc on va passer au **cancer du sein**. Dans les cancers du sein, on a beaucoup d'altérations, et l'idée est stratégiquement parlant de travailler sur des **altérations moléculaires** plutôt **récurrentes**, parce que si elles ne sont pas fréquentes, elles peuvent potentiellement être le fruit du hasard et ne seront pas forcément sélectionnées, mais elles viennent juste s'accumuler au hasard d'autres évènements qui constituent peut-être la **sélection** (car ils sont **récurrents**).

Dans cette approche-là, on veut définir des **altérations moléculaires** de type **récurrentes**. Donc, pour ces altérations moléculaires récurrentes, on va essayer de définir des **gènes** qui sont activés, des **mécanismes** qui sont associés. Ensuite, on va définir pour le gène impliquée et le mécanisme associée, c'est-à-dire une **translocation** sur un gène donné, on va regarder la présence d'altération de ce gène sur un grand panel de tumeurs, et on corrèle ça avec les **histoires cliniques** de ces tumeurs, afin de définir ce qu'on appelle **l'impact clinique**, pour voir si ça peut contribuer à établir une nouvelle **classification tumorale** (peut-être nouvelle classification moléculaire, nouveaux marqueurs, voire identification nouveaux gènes altérés (= potentiellement **cibles thérapeutiques**)), or la biologie nous montre qu'il y a une pertinence à cibler ce type de molécules.

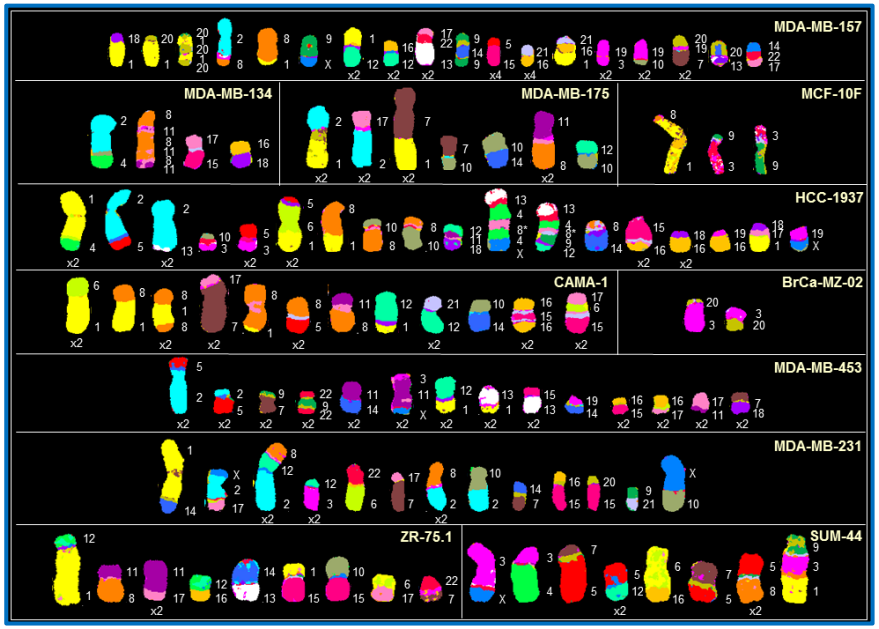
Oncogenèse mammaire
(évolution d'une cellule normale vers la cellule cancéreuse)



La cellule normale présente un *caryotype multi-FISH*, et pour chaque paire de chromosome, on a ce type de **profil uniforme des couleurs**. Au cours des **changements moléculaires** successifs qui se produisent dans la cellule, on arrive à l'instant **t** (= l'instant où on a notre tumeur ou notre lignée cellulaire), et là les modifications sont tellement profondes qu'à la lecture du caryotype multi-FISH, on peut voir toutes les altérations ici présentes.

Elles sont de différentes formes. Par exemple, ici on a translocation entre le chromosome 1 et le chromosome 4, on a un **échange chromosomique**, des **altérations** du type de **structure**, mais on a également un nombre de copies augmenté, donc des **anomalies du nombre de copies**.

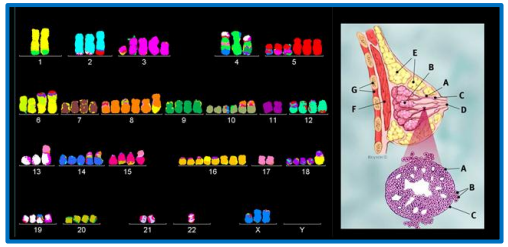
Cela peut être pire …



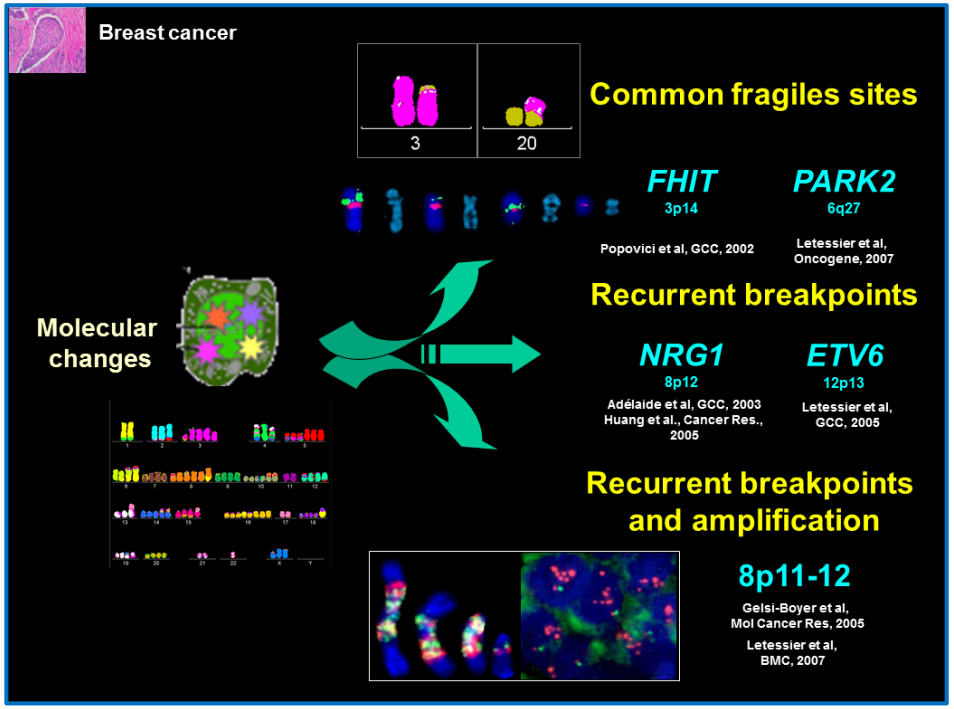
Cela peut être pire en termes de **réarrangements**, comme on peut le voir ici sur la présence des **dérivatifs chromosomiques** observés dans différentes lignées cellulaires de cancer de sein. On peut avoir des **évènements** simples avec un partenaire (par ex entre le chromosome 1 et 8), jusqu'à 5 partenaires différents.

Donc on n'est plus dans la **translocation type leucémie**, où on a juste un évènement qui traîne, une translocation réciproque, ou un petit évènement. Là, c'est le bordel, il y a des réarrangements de partout. Mais en regardant ces lignées cellulaires, on peut remarquer que certains **chromosomes** sont **plus fréquemment altérés** que d'autres, et en l'occurrence, les plus fréquents sont notamment les **chromosomes 8 et 11** (?).

H) Genomic alterations



Deux types **d'altérations** peuvent donc être observés par **multi-FISH** : les altérations du **nombre de copies** et les altérations de **structure**.



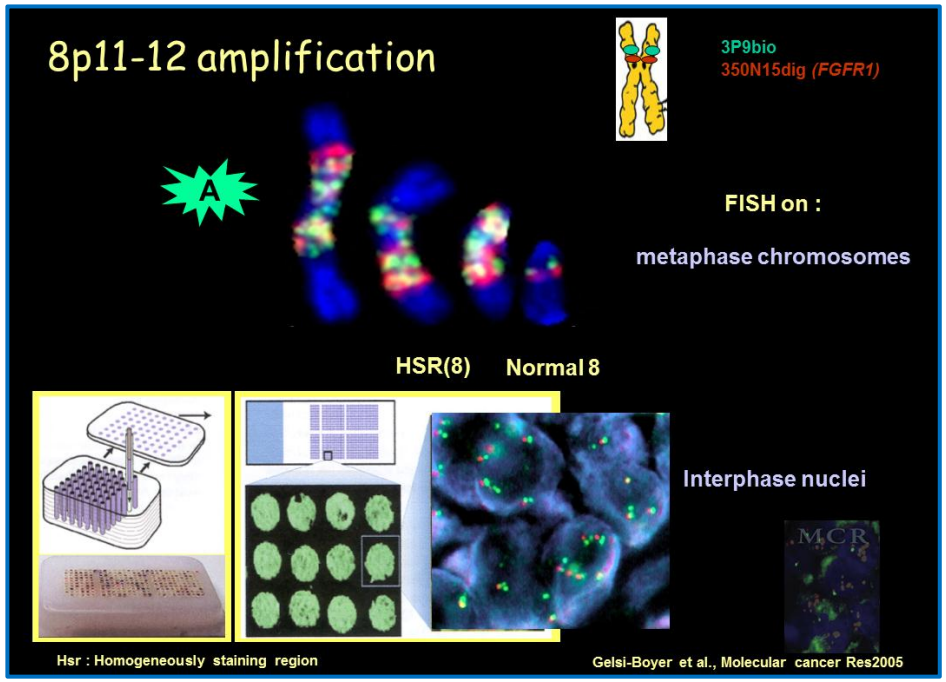
On peut constater que certaines de ces **translocations** vont cibler des gènes comme FHIT ou PARK2, qui sont des gènes localisés dans les **sites fragiles communs** du génome. Les sites fragiles communs (comparaison de l'ADN avec un élastique) ont été défini de manière très précise en utilisant certaines méthodes particulières qui créent des coupures sur le génome et qui ne coupent que sur un côté de l'ADN.

Et en fait, ce sont des **zones de fragilité**, et on n'a pas l'explication de leurs existences, mais en l'occurrence **FHIT** est l'un des tous premiers sites où l'on trouve la plus grosse **fréquence d'altérations**, dans les cancers du sein, dès les stades **les plus précoces** des cancers du sein. Et on en trouve d'autres comme ça, il est donc important d'étudier ces sites fragiles (comparaison avec un élastique : quand on tire une élastique, c'est toujours aux mêmes endroits que les élastiques ont tendance à se casser).

Un principe : des cartographies ont localisé précisément la localisation des sites fragiles, et il peut y avoir des **breakpoints** dans les sites fragiles, donc l'analyse des translocations.

Des translocations ont été caractérisées dans les gènes des **sites fragiles**, dans **certains gènes** comme NRG1 et ETV6 (qui ne sont pas répertoriés comme sites fragiles), et aussi des **points de cassure récurrents** associés à des **amplifications**. Il a été démontré que les sites fragiles avaient tendance à casser au moment des **stress de réplication**, c'est-à-dire au moment les boucles de réplication de l'ADN sont engagés, ça crée un niveau de tension tel que à un moment donné ça casse.

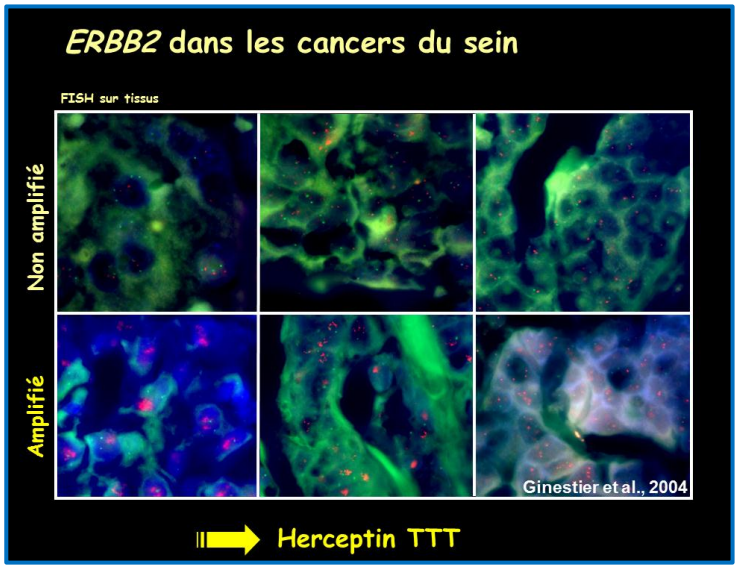
Hypothèse (dans une démarche scientifique) : Ces sites fragiles ont pu contribuer à un moment donné à **l'évolution génomique**. Et dans un cancer, comme la cellule se met à proliférer sans arrêt, la vitesse de **prolifération** (et donc de réplication) est telle, que ça doit créer un **stress** au niveau de l'ADN, et il n'est donc pas étonnant que dans ces zones de fragilité, ça casse.



Donc les points de cassure sont au niveau des **sites fragiles**, au niveau de gènes comme **NGR1 et ETV6**, mais également des points de cassure associés à des **amplifications** (comme sur cette lignée cellulaire de cancer du sein).

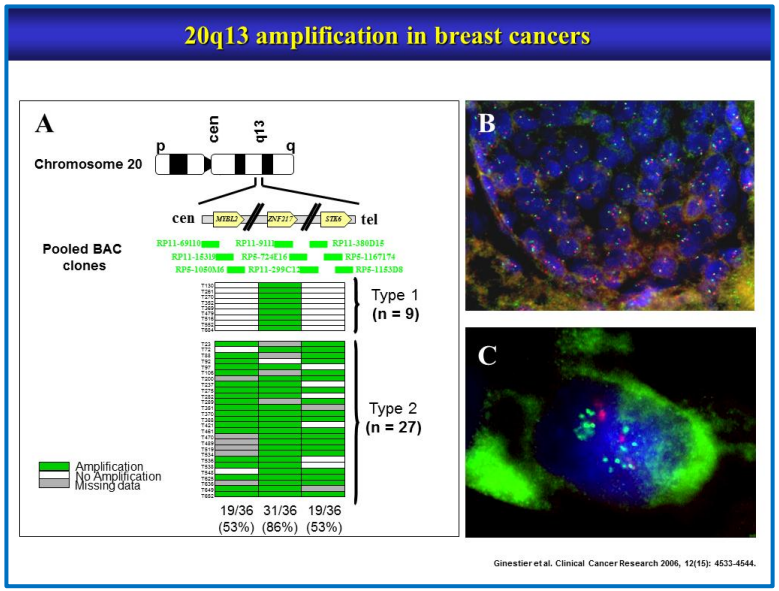
On a l'utilisation de **deux sondes FISH**, dont un 8p12. Normalement, le rouge est centromérique sur les deux chromatides et le vert est télomérique, c'est-à-dire juste au-dessus côté télomère sur un 8p normal.

Or là, on a rouge-vert-rouge-vert-rouge-vert, et on a donc une **amplification**, et ce type d'amplification aussi intense se retrouvent dans des régions appelées **HSR** (**Homogeneously staining region**). Si on fait une coloration au Giemsa, on peut avoir une région **colorée de façon homogène** résultante d'une amplification, sur le plan moléculaire (on n'en voit jamais dans les leucémies).



Cette diapo illustre l'observation d'une **amplification** au niveau d'une coupe de tissu. Ça illustre également …… **tissu microorien** (?).

Quand les tumeurs arrivent en **anapath**, on récupère cette tumeur, on définit les bornes et on inclut une partie en bloc de paraffine. Ensuite, sur les coupes, on fait de **l'immuno-histochimie**, pour définir le **niveau d'expression** des récepteurs oestrogéniques, HERB2, … et en même temps regarder sur ces différentes coupes, l'invasion, la vascularisation, donc définir les **critères histo-cliniques** normaux d'une tumeur.



Maintenant, si on veut analyser **l'expression d'une protéine** sur 500 tumeurs, soit on prend 500 lames qu'on fait une à une (très très très très long), soit l'anapath regarde tous les jours la localisation de la tumeur, puis on prélève dans ce bloc paraffiné dans la tumeur une carotte correspond à la tumeur, puis on dépose cette tumeur sur un bloc de paraffine vierge selon un plan orthonormé pour les 500 tumeurs.

On obtient donc un **bloc de paraffine** contenant 500 tumeurs différentes, pour lesquels on connait toute **l'histoire clinique** pour chaque patient. On fait une coupe transversale, on dépose ça sur une lame, et ensuite, traitement, **immuno-histochimie** et en une seule manip, on fait la recherche de **l'expression de la protéine** avec notre anticorps. Ensuite on analyse, aidé par un logiciel qui repère les carottes et les coordonnées.

On corrèle l'analyse de **l'expression de la protéine** avec le **tableau clinique** des patients. On peut aussi faire du **FISH** avec en vert la sonde d'intérêt (en l'occurrence FGFR1) et en rouge le centromère. On peut voir une multiplication des spots verts qui signe une **amplification**. Normalement, on a deux chromosomes 8, mais là non seulement on a plus que deux chromosomes 8, mais associés aux autres dérivatifs on a des **amplifications intra-chromosomiques**.

Donc le **nombre de copies** de ces gènes-là peut aller jusqu'à plusieurs centaines. On peut voir ça sur des coupes de **tissu microrée** ? (cf dessus). Sur la coupe, le bleu correspond au noyau de chaque cellule. Ici, on mesure **l'altération du nombre de copies** (pas l'expression), mais en même temps, on constate aussi les **translocations successives** (en plus de l'amplification) par exemple avec l'alternance jaune-rouge-jaune-rouge … C'est spécifique d'une **HSR**.

Diapo ? : Un autre type d'amplification (ERBB2) : on a les noyaux avec les deux spots jaunes qui correspondent aux centromères du chromosome 17. ERBB2 se trouve sur le chromosome en q13 et que 2 spots rouges par noyau, le noyau étant coloré en bleu au dacine (?). Et on a des noyaux de tumeurs qui présentent des amas rouges, ce qui signifie que le nombre de copies accumulées est énorme donc il y a bien une amplification.

Petit mot du Pr Pedeutour sur le contrôle continu : petit test comptant pour 1/3 de la note, portant sur l'ensemble des cours de techniques (jusqu'à aujourd'hui inclus). Quelque chose de simple, pour vérifier si on a compris les principes des principales techniques. Soit des questions rédactionnelles, soit des petits qcms. Il faut voir les notions simples, élémentaires, elle ne va pas aller nous piéger sur des détails, mais elle a besoin d'être sûr qu'on a compris et appris les grands principes des techniques, pour qu'on puisse suivre la suite de son cours. Ne pas connaître le détail infime sur la température exacte …, mais par exemple, savoir quand on fait la technique de cytogénétique, quelles sont les principales étapes, quelles sont leur ordre, …

Le grain de sel du Pr Chaffanet : il faut avoir un raisonnement scientifique, une démarche scientifique pour caractériser l'étiologie des tumeurs, un type de cancer. Ça ne sera pas sur la complexité, ni sur une approche technologique, mais plutôt sur savoir à quoi ça sert.

Le petit mot de la fin du Pr Pedeutour : ça tombe sur une partie restreinte du programme, et ça nous aidera. C'est indispensable que nous maîtrisions les grands principes des techniques, avant de commencer l'étude des tumeurs en elle-même.

