

30 septembre 2021

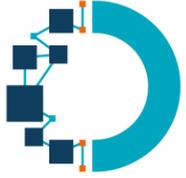
---

**les Ateliers, Poitiers**

---

**Pr Lucie Karayan-Tapon**

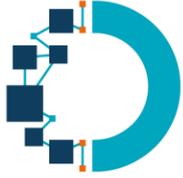
Les métiers méconnus de la cancérologie



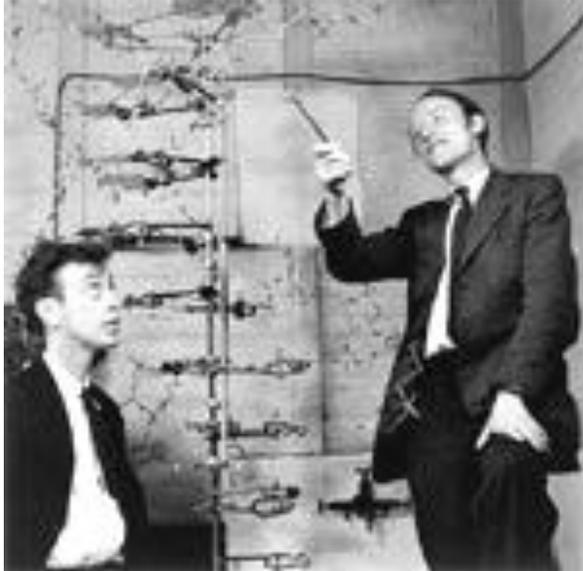
## Qu'est-ce la Biologie Moléculaire

La **biologie moléculaire** est apparue **au XX siècle**. C'est une discipline scientifique au croisement de la génétique, de la biochimie et de la physique, dont l'objet est la compréhension des mécanismes de fonctionnement de la cellule au niveau moléculaire.

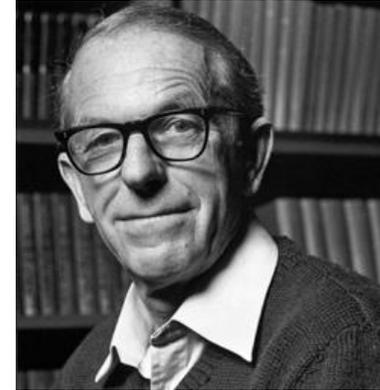
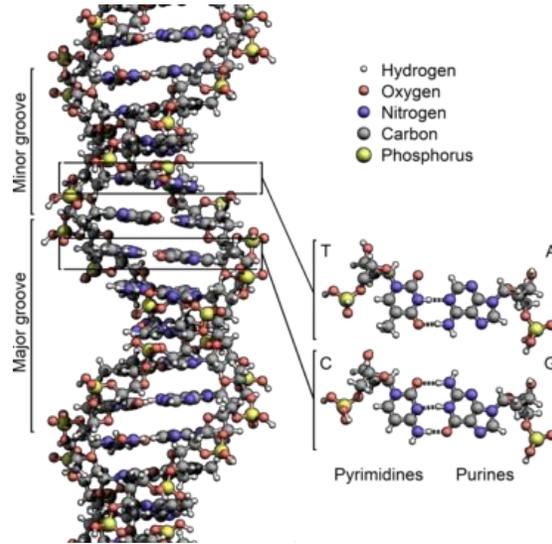
Désigne également l'ensemble des techniques de manipulation d'acides nucléiques (ADN, ARN), appelées aussi techniques de génie génétique.



# Progrès du 20<sup>ème</sup> siècle

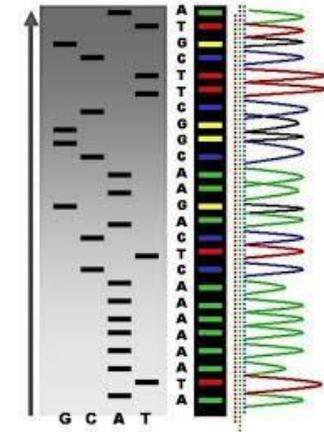


Watson et Crick  
La double hélice (1953) Nobel médecine 1962

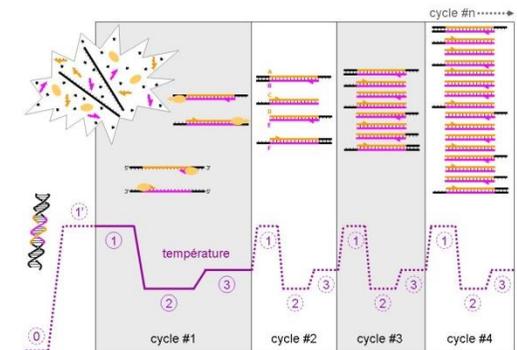


Frederick Sanger  
Nobel de Chimie 1958 et 1980

```
1 atgtaccaac ctgtcgtct atttatggc ctgctgtaca tgcgtggcg tgcagcggat
61 cgcttcggtc gtttcgtctc ctggctttc accatcgga ttaccctggc ggtgatggcg
121 ctggtcacag tattgtcagt gatgaacggc ttgagcgcg agctgcaaaa caaatcctct
181 ggctgatgc cacaggcaat tctctctct gagcagcgt ctcttaacc gcagcaactc
241 cgggaaacgg cagtcaaac ggacggcgtt aatcgcgtc cacttattc tacctgggat
301 gtgtaactgc aaagcgcgcg cagcgtggcg gtcggggtga tgcgggatc cgatccggcg
361 caaaaagatc cactaacgcc gtatctggtc aatgtgaac aaactgacct cgagccgggg
421 aaataataag tcatctcgg cgaacaactt gcctcacagc taggcgttaa tcgctggat
481 caaatcgcg tgaatgtgc atctgacagc cagtcacgc cgatggggcg tattcaagt
541 cagcgcctgt tcaatgtgat tggtaactt gccgtaaca gtgaagtca tggctatgaa
601 atgctggtga atattgagga tgcctcgcgt ctgatcgct atccggcag caattatacc
661 ggctggcgtt tgtggctgga tgagccgctg aaagtgaact cttaagtc gcaaaaactg
721 cctgaaggca gcaaatggca ggactggcgt gatcgtaag gcgagctgt ccagccgcta
781 cgatggaata aaaaatgat gggcttacg ctgagcctga ttgtcgcgt tcgcgctctt
841 aacattatta cctcgtggg gctgatggg atggagaagc agggcgaagt agcgatcctg
901 caaacgcaag gcttaactcc gcgacaatc atgatggtc ttatggtgca agggccagc
961 gccgggatta tcggtgcgat cctcggagcg gcgctggcg cactgctgc cagccagtta
1021 aataactga tgccgataat cggctcctg cttgatggcg cggcgtgccc ggtggtatc
```

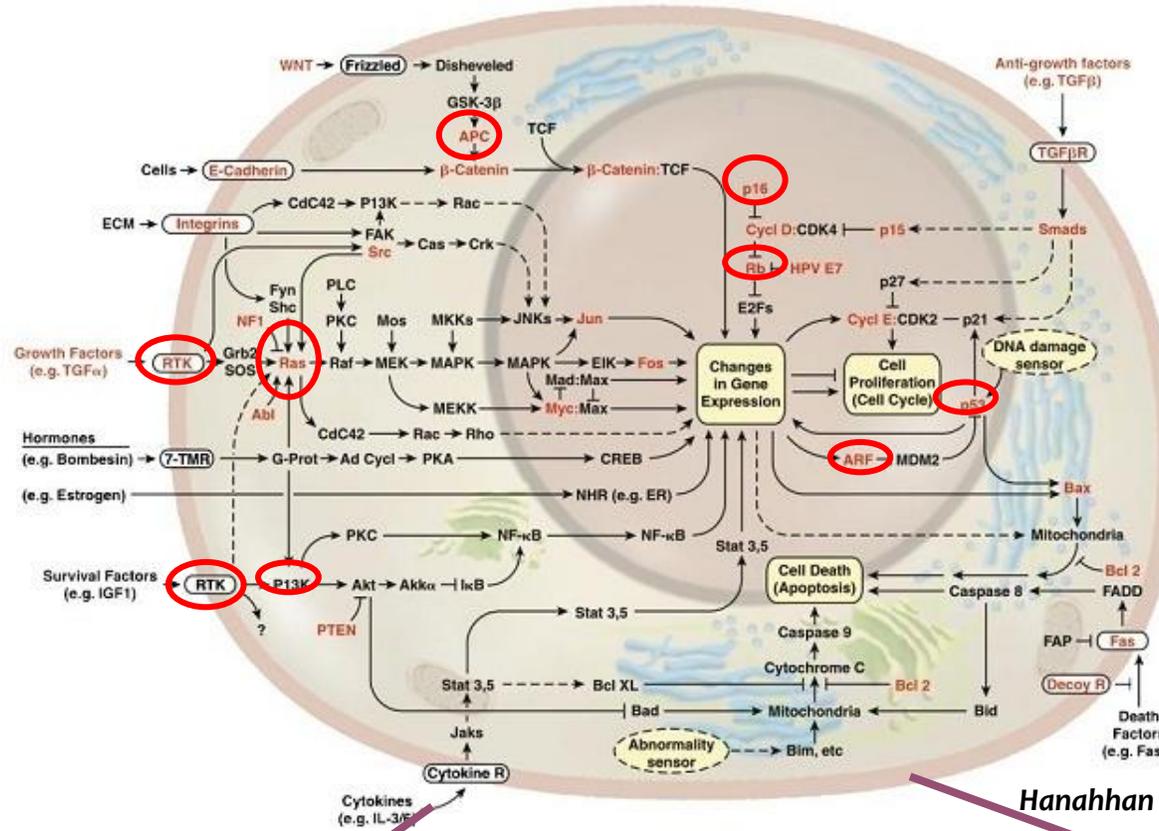


Kary Mullis  
PCR (1984) Nobel chimie 1993



# Biologie Moléculaire pour le diagnostic des cancers

Fréquence mutations:  $10^3$  à  $10^5$ /tumeur



Une accumulation de mutations  
Mutations ponctuelles  
Amplifications  
Délétions  
Translocations

Hanahan and Weinberg Cell 2000, 2011

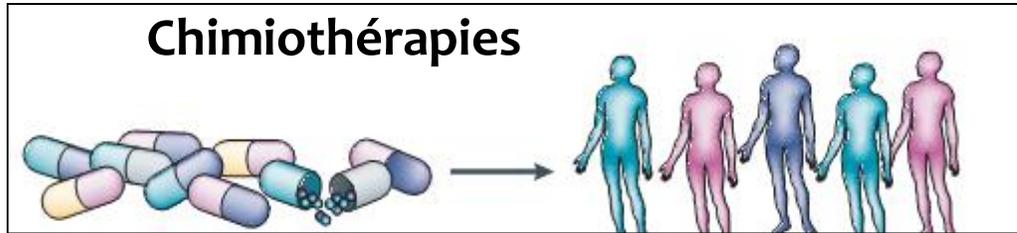
15-20%

80-85%

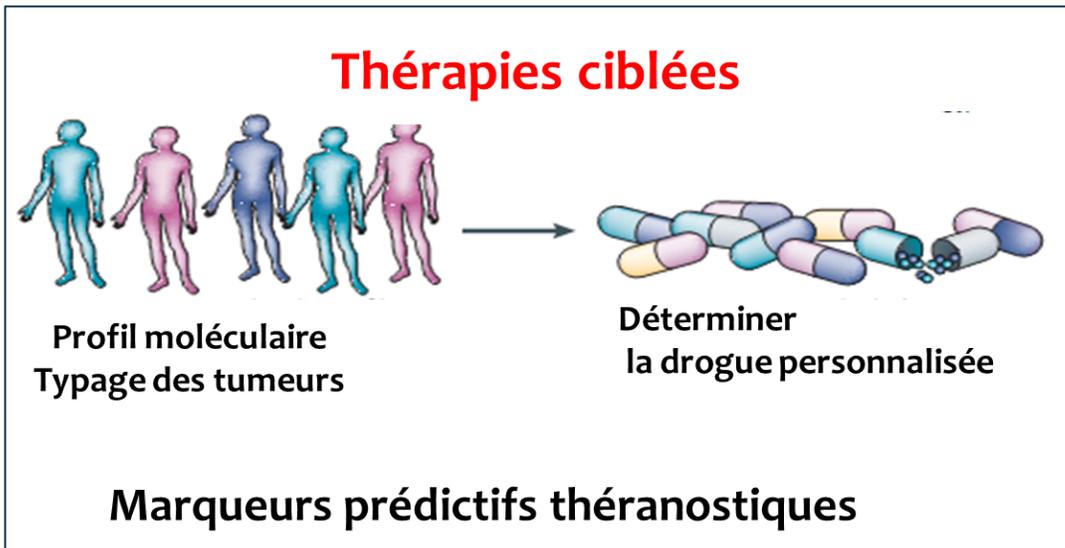
« Mutations Pilotes ou Motrices »  
initiation, progression et survie de la tumeur

« Mutations Passagères »  
Reflets de l'instabilité génétique

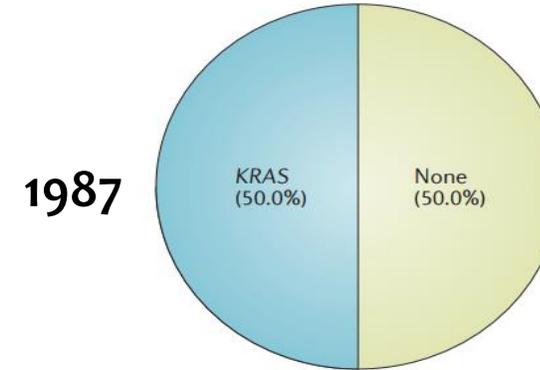
# Biologie Moléculaire et la médecine personnalisée



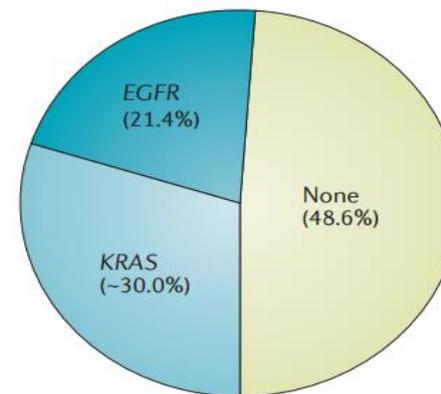
Typier les tumeurs pour trouver une/la cible



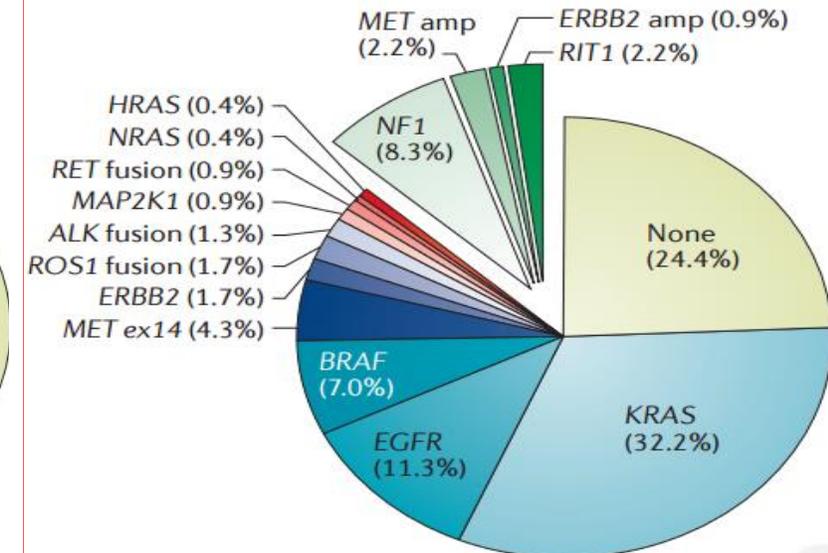
Le cas du cancer du poumon



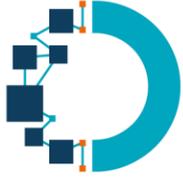
2004



2021



# Aspects organisationnelles



## Plan Cancer 1 (2003-2007) et 2 (2009-2013)

### Mesure 21

Garantir un accès égal aux traitements et aux innovations.

**action 21.2** : Développer les plateformes de génétique moléculaire des cancers et l'accès aux tests moléculaires.

Plateforme hospitalière de **G**énétique **M**oléculaire des **C**ancers de Poitiers (Poitou-Charentes)

Labellisée par l'INCa 2006

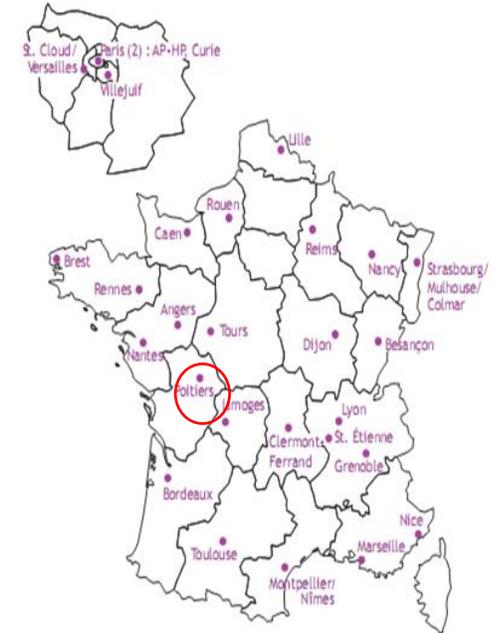
Coordinateur Pr L. Karayan-Tapon



**OBJECTIF 6 : CONFORTER L'AVANCE DE LA FRANCE DANS LA MÉDECINE PERSONNALISÉE**

PERMETTRE UN ACCÈS LARGE AU DIAGNOSTIC INDIVIDUALISÉ

VALIDER ET DÉPLOYER LES NOUVELLES TECHNIQUES D'ANALYSE DES TUMEURS



[www.onco-nouvelle-aquitaine.fr](http://www.onco-nouvelle-aquitaine.fr)

## TYPER LA TUMEUR POUR PREDIRE LE TRAITEMENT



Spécialistes Médicaux  
et Chirurgicaux d'Organe  
Oncologues Médicaux  
Radiothérapeutes

*Prélèvement*



Anatomo-Pathologistes

*Diagnostic histologique du cancer  
Procédure pré-analytique*



Biologistes  
moléculaire

*Recherche  
des mutations*

**Un travail d'équipe multidisciplinaire**

À produire dans des délais compatibles avec les impératifs cliniques

Plateformes hospitalières de génétique moléculaire des cancers Poitiers

Laboratoire de Cancérologie Biologique  
*Pr L. Karayan-Tapon*

**BM**

UM Oncologie Moléculaire  
*Responsable : L. Karayan-Tapon*

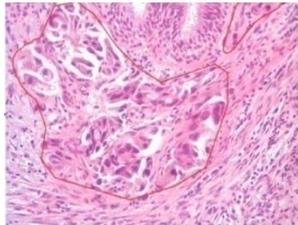


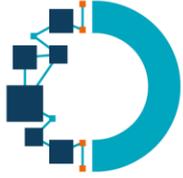
UM Onco-Hématologie Moléculaire.  
*Responsable : J.C. Chomel*

8 270 000 RIHN  $\approx$  6500 patients

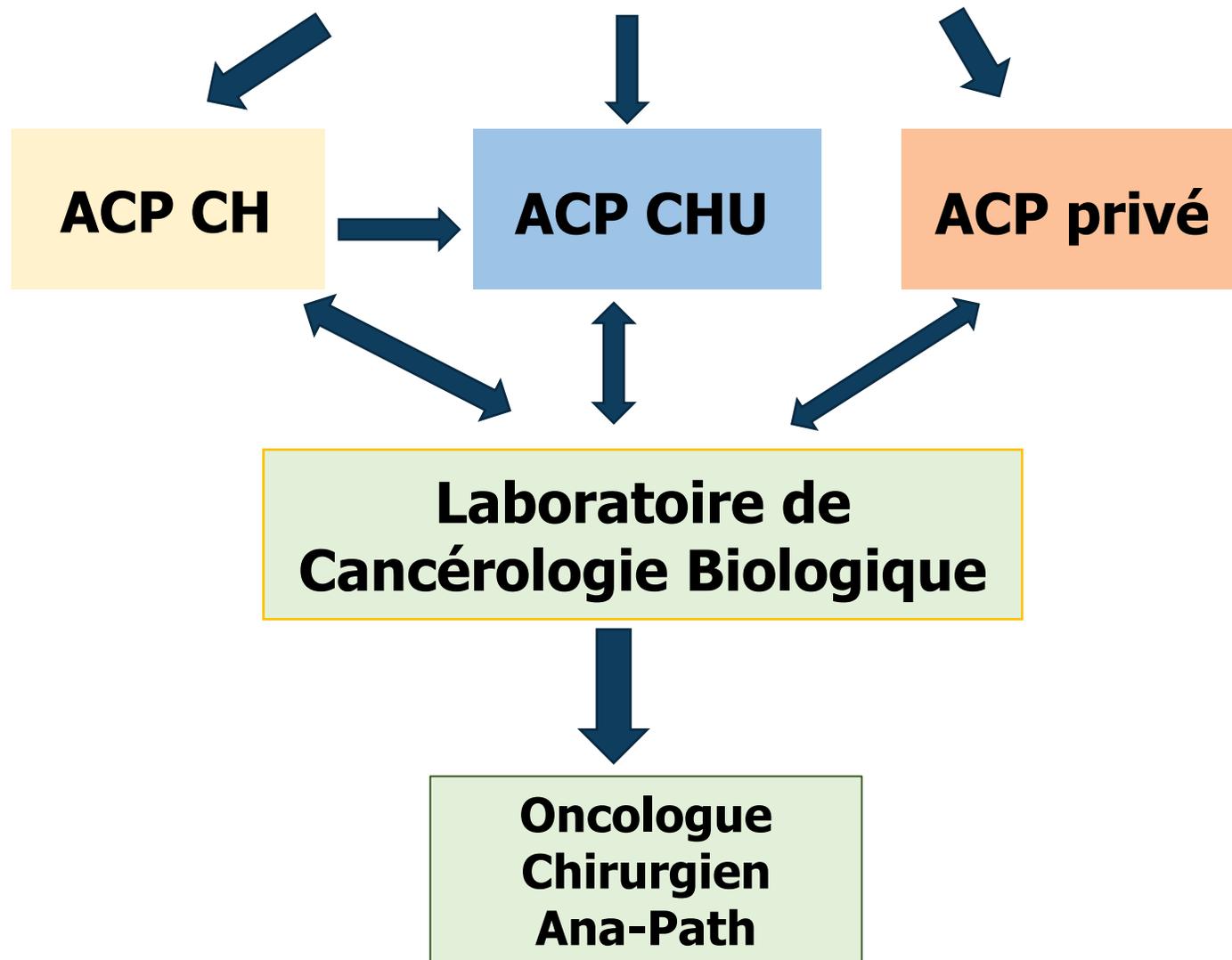
Anatomie Cytologie Pathologiques  
*Dr O. Renaud*

**ACP**



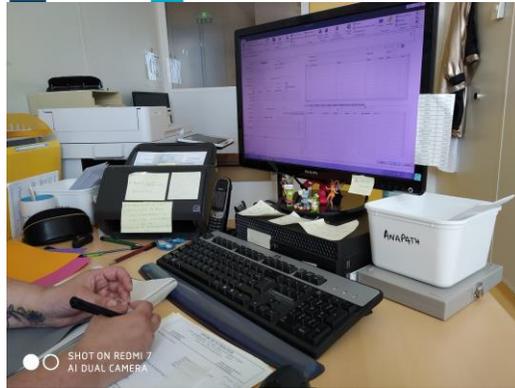


## Chirurgien/Oncologue fait la demande



# La procédure : Le circuit du prélèvement

## SECRÉTAIRE



Enregistrement

## TECHNICIEN(NE)S



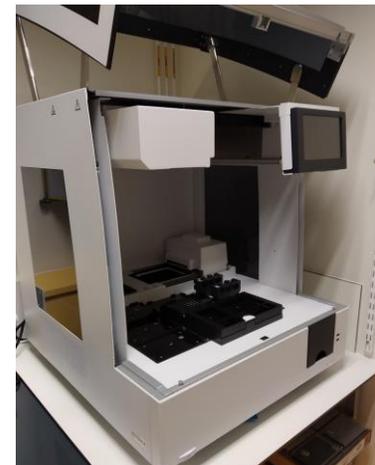
Extraction des acides nucléiques



Préparation PCR



PCR

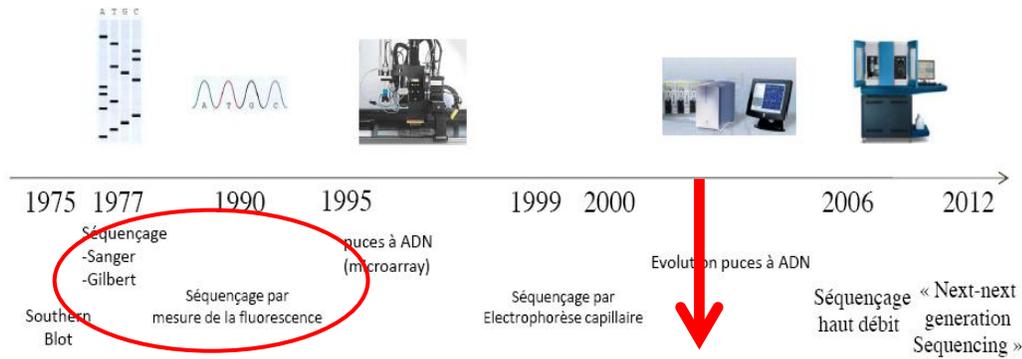
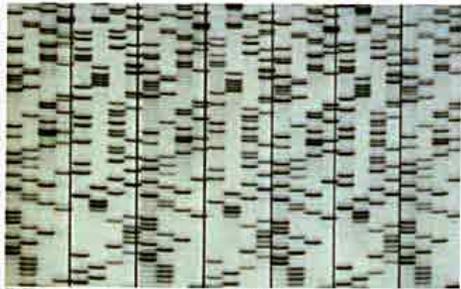
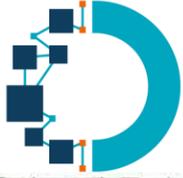


Préparation de Libraire



Séquençage à haut débit

# Séquençage à Haut débit : NGS



Projet du génome humain génome  
 15 ans (1990-2003)  
 3.2 Milliards de pb  
 26 000 gènes  
 Dernier séquence 2006  
 2 milliards €

```

1 @HWI-ST1136:117:HS055:3:1101:1134:2244 1:N:0:GCCAAT
2 GCCGCGCGAGCCGGGCCCGTGGCCCGCGTCCCGTCCCGGGGGTTGG
3 +
4 @CCFFFDHJHHHJJIGIJJJGGICHEBB-<067=BBB2-<@DD6@BB5-<@D
5 @HWI-ST1136:117:HS055:3:1101:1250:2246 1:N:0:GCCAAT
6 CCTCCAGCAACTTCTGATGGTTCTGTGAGGCCGGGAACACAGTGTAGTT
7 +
8 CC@FFDDEFHJHHJJJJJJIEHIEGGHHIIGIJGIEEHGHD@?FBGIHI
9 @HWI-ST1136:117:HS055:3:1101:1159:2247 1:N:0:GCCAAT
10 ATCAAAACAAAAGCCAGAGAACCACAACCGCATTGCATAGTCACAGTGT
11 +
12 @@FDDDEFHJHHJJJJJJIEHIEGGHHIIGIJGIEEHGHD@?FBGIHI
13 @HWI-ST1136:117:HS055:3:1101:1432:2218 1:N:0:GCCAAT
14 CCAGNCTGGAGTGCAGTGGCTATTACAGGCGCGATCCCACTACTGATCA
15 +
16 CCCF#2ADHHDHJIHJIIIIIGIEHIGIIGGGHIEF;CGGCHGDI
    
```

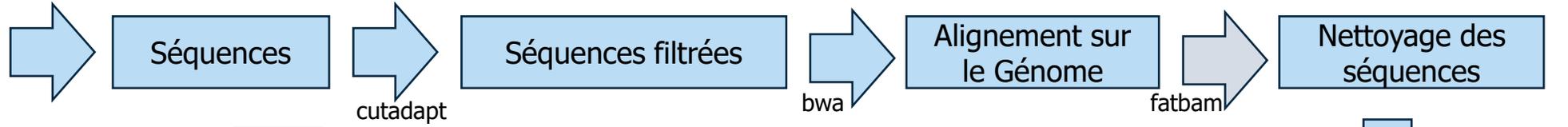
**BIOINFORMATICIEN**

# INGENIEURS ET BIOINFORMATICIEN



```

1 @HWI-ST1136:117:HS085:3:1101:1134:2244 1:N:0:GCCAAT
2 CCGCGCCGAGCCGGGCCCTGCGCCGCGTCCCGCCGGGTTGG
3 +
4 @CCFFDFDHHHJJJJJJGGICHEBB-067-BBB2-0DD@BBS-0D
5 @HWI-ST1136:117:HS085:3:1101:1250:2246 1:N:0:GCCAAT
6 CTTCCAGCACTTCTGATGGTCTGTGAGGCCGGGAACACAGTGTAGTT
7 +
8 CC@FFDFDHHHJJJJJJJEHIEGGHIIJIGIEBHGHD?FBGITHI
9 @HWI-ST1136:117:HS085:3:1101:1159:2247 1:N:0:GCCAAT
10 ATCAACAAGAGCCAGAGAACCCACACCCGATTGATAGTACAGGTGT
11 +
12 @00FDDDFGFFGIIJIIICGGHIGHIGHIGHIIJGGJIIIIIECHG
13 @HWI-ST1136:117:HS085:3:1101:1432:2218 1:N:0:GCCAAT
14 CCAGNCTGGAGTGCAGTGGCTATTCACAGGCCGATCCCACTACTGATCA
15 +
16 CCCF#2ADHGHGHIJIIIIIIIGIEHIGIIGGHIIEF;CGGCHGGI
    
```



cutadapt

bwa

fatbam



Qphred moyenne min = 30  
Read length min = 80



DP min = 50  
AF min = 0.01  
Phred Qual min = 10

grvc

Recherche des Mutations

snpeff

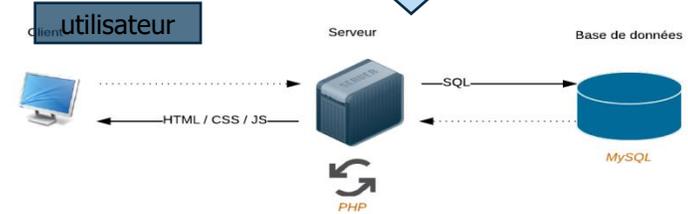
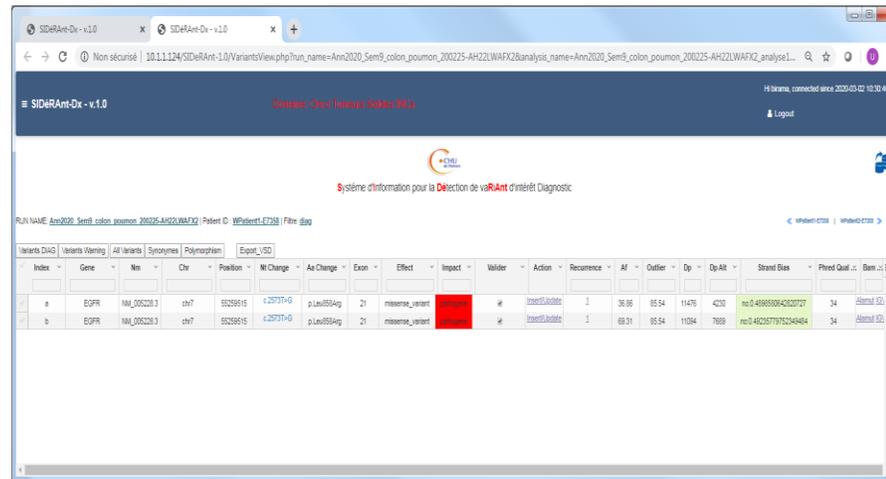
Annotation des mutations

Mise en base

## INGENIEURS

Validation Technique

### Interface Web de validation biologique



## BIOLOGISTES



# BIOLOGISTES

## Validation Biologique

### Etablissement d'un Compté rendu envoyé aux cliniciens et aux Ana-Path

Dossier N°: 2109\_151822

Edité le :24 septembre 2021 à 17:28

Statut : Complet

Copie à : Dr AURIAULT ML. - Dr DE LA TORRE Y.

CH LA ROCHELLE-RE-AUNIS - SERVICE PATHOLOGIE

RUE DU DR SCHWEITZER

17019 LA ROCHELLE CEDEX 1

#### Laboratoire de Cancérologie Biologique : Pr. Lucie KARAYAN-TAPON

#### Plateforme hospitalière de génétique moléculaire des cancers (INCA)

#### Recherche de mutations somatiques dans les tumeurs solides (tel:05 49 44 31 83)

Date de prélèvement et de fixation : 7 septembre 2021

Date de prescription : 14 septembre 2021

Date de réception du prélèvement : 15 septembre 2021

Numéro d'identification du bloc dans le laboratoire d'origine : 21.10822 A

Pathologiste initial : Dr AURIAULT M. Luce

Prescripteur : Dr DE LA TORRE - CH LA ROCHELLE

Site du prélèvement :Pulmonaire

Type de prélèvement :Biopsie

Type histologique :Adénocarcinome acinaire

Nature Echantillon :Copeaux issus d'un prélèvement fixé et inclus en bloc de paraffine.

Fixateur utilisé : Formol

Pourcentage de cellules tumorales dans l'échantillon analysé : 50% (Dr AURIAULT)

Motif de l'analyse :Recherche de mutations somatiques dans le cadre de la prise en charge thérapeutique d'un patient atteint d'une tumeur pulmonaire.

#### Recherche de mutations somatiques dans les tumeurs solides en séquençage haut débit panel INCA

#### Conclusion

Présence de la mutation p.(L858R) du gène EGFR conférant une sensibilité aux inhibiteurs de tyrosine kinase de l'EGFR. Il n'a pas été détecté de mutations au niveau des gènes KRAS, BRAF, ERBB2, PIK3CA ni de mutations d'épissage de l'exon 14 de MET. Par ailleurs, aucune mutation n'a été détectée dans les régions (dont les hot-spots) des autres gènes étudiés.

L'exon 20 du gène EGFR, l'exon 10 du gène ESR1, les exons 7 et 9 du gène FGFR3, l'exon 4 du gène GNA11 et l'exon 9 du gène POLE n'ont pas pu être analysés en raison d'une profondeur de séquençage insuffisante.

Date de validation

24 septembre 2021

Dr Claire AURIAULT  
(MG)

Pr Lucie KARAYAN-TAPON  
(MG)

CENTRE HOSPITALIER UNIVERSITAIRE DE BORDEAUX

#### Variants dont l'impact théranostique ou diagnostique est connu dans cette pathologie

Gène	Variants	Altération protéique
EGFR	c.2573T>G	p.Leu858Arg

#### Variants dont l'impact théranostique est connu dans une autre pathologie et/ou pour lequel il peut exister des thérapies ciblées en essais cliniques.

Gène	Variants	Altération protéique
Absence de variants détectés		

#### Variants sans effet théranostique connu mais avec un effet potentiel activateur ou perte de fonction.

Gène	Variants	Altération protéique
Absence de variants détectés		

#### Autres variants dont la valeur prédictive est inconnue

Gène	Variants	Altération protéique
Absence de variants détectés		

#### METHODES

Recherche de mutations somatiques dans les tumeurs solides en séquençage haut débit panel INCA ( Acces Array, Fluidigm )

Analyse réalisée à partir d'un prélèvement fixé au formol tamponné et inclus en paraffine.

Extraction de l'ADN génomique tumoral avec le kit Maxwell (Promega) et/ou KAPA Express DNA extraction (Clinisciences)

Analyse par séquençage sur MiSeq Illumina en double librairie.

Sensibilité analytique : 5%, profondeur minimale 300X. Pipeline bioinformatique: SIDéRant

Gènes analysés avec le génome de référence hg19 :

AKT1 exon3, NM\_001014431.1 / ALK exon 20 à 25, NM\_004304.4 / BRAF exons 11 et 15, NM\_004333.4 / CTNNB1 exon 3, NM\_001904.3 / EGFR exons 18 à 21, NM\_005228.3 / ERBB2 exon 20, NM\_004448.3 / ERBB4 exons 10 et 12, NM\_005235.2 / ESR1 exons 7,9 et 10, NM\_001122742.1 / FGFR2 exons 7,12 et 14, NM\_000141.4 / FGFR3 exons 7,9 et 14, NM\_000142.4 / GNA11 exons 4 et 5, NM\_002067.4 / GNAQ exon 4, NM\_002072.4 / H3F3A exon 2, NM\_002107.4 / HIST1H3B exon 1, NM\_003537.3 / HRAS exons 2,3 et 4, NM\_005343.3 / IDH1 exon 4, NM\_005896.3 / IDH2 exon 4, NM\_002168.3 / KIT exons 8,9,11,13,17 et 18, NM\_000222.2 / KRAS exons 2 à 4, NM\_033360.3 / MAP2K1 exon 2, NM\_002755.3 / MET exons 2,14 à 19, jonctions intron-exon 13-14 et 14-15, NM\_000245.3 / NRAS exons 2 à 4, NM\_002524.4 / PDGFRA exons 12,14,18 , NM\_006206.4 / PIK3CA exons 9 et 20, NM\_006218.3 / POLE exons 9,11,13 et 14, NM\_006231.3 / RET exon 16, NM\_020975.4 / ROS1 exons 38 et 41, NM\_002944.2



MERCI

[www.onco-nouvelle-aquitaine.fr](http://www.onco-nouvelle-aquitaine.fr)