

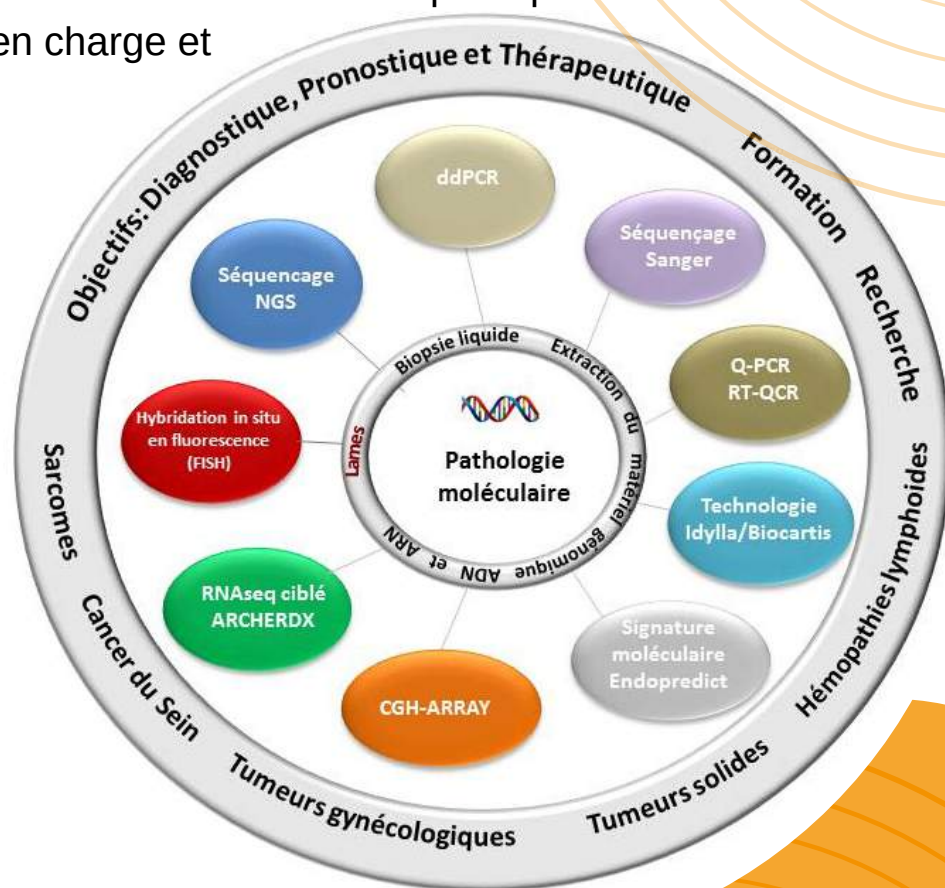
# Pathologie Moléculaire

L'unité de pathologie moléculaire recherche des anomalies génétiques au niveau des tumeurs. Pour effectuer cette caractérisation moléculaire, différentes techniques sont déployées et nécessitent un travail collaboratif et complémentaire entre différents corps de métiers. L'unité dispose de technologies de screening moléculaire, permettant l'identification d'altérations génétiques spécifiques du diagnostic, de signature pronostique ou l'identification de cibles thérapeutiques permettant d'orienter la prise en charge et le traitement des patients.

**LES TECHNIQUES PERMETTENT DE RECHERCHER DES ALTÉRATIONS AU NIVEAU DES GÈNES (ADN ET ARN), À PARTIR DES PRÉLÈVEMENTS TISSULAIRES OU SANGUINS (BIOPSIES LIQUIDES)**

L'unité de pathologie moléculaire est constitué de :

- Médecins anatomopathologistes
- Médecins biologistes
- Ingénieurs
- Techniciens
- Assistantes Médicales



# Techniques

Les techniques sont réalisées à partir de prélèvements biopsiques ou de pièces opératoires. Le médecin anatomo pathologiste identifie la zone la plus riche en cellules tumorales sur la lame HES. Les examens seront réalisés à partir de cette zone. Plus récemment, les techniques utilisant des biopsies liquides ont été développées, représentant une voie d'avenir prometteuse moins invasive pour rechercher les anomalies moléculaires tumorales à partir d'une simple prise de sang.

Le laboratoire a mis en place des techniques ciblées permettant d'identifier un nombre restreint d'anomalies bien définies et des techniques à haut débit permettant d'identifier plusieurs centaines d'anomalies connues ou inconnues (NGS, CGH-Array, RNAseq, ARCHER).



## EXTRACTION ADN / ARN

L'extraction permet de récupérer le matériel génétique contenu dans les cellules tumorales. Un forage est réalisé sur le bloc de paraffine au niveau de la zone d'intérêt. L'isolement des acides nucléiques, ADN et ARN est ensuite réalisé.

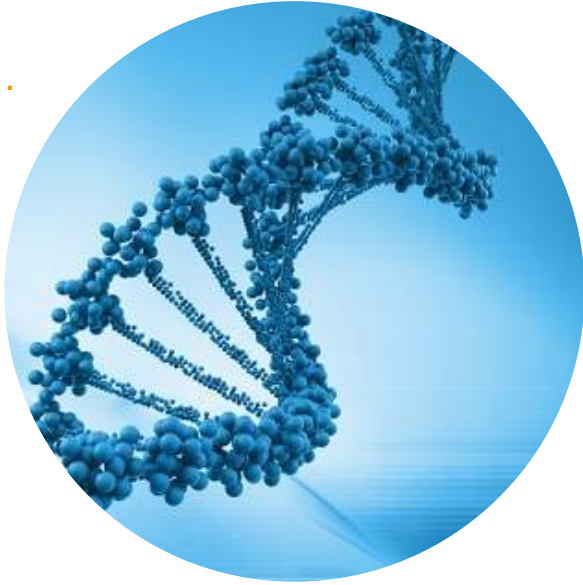
## SEQUENÇAGE DE NOUVELLE GÉNÉRATION (NGS) TECHNOLOGIE ION TORRENT

Le séquençage de nouvelle génération (NGS) est une méthodologie à haut débit qui permet de séquencer ADN et ARN, matériel génétique présent dans les cellules.

Pour ce faire, il est nécessaire d'enrichir en séquences d'intérêt par PCR et de constituer une librairie. Le matériel génétique ainsi amplifié, est ensuite séquencé. Cette technologie permet le séquençage de multiples fragments d'ADN en parallèle et d'établir une cartographie moléculaire de la tumeur identifiant des cibles qui permettent aux cliniciens de définir la meilleure stratégie thérapeutique, incluant les thérapies ciblées.



# Techniques



## SEQUENÇAGE SANGER

Le séquençage Sanger permet d'identifier la séquence nucléotidique d'un fragment d'ADN sélectionné par PCR. Chaque produit de PCR est séquencé individuellement. En comparant la séquence obtenue à une séquence normale, il est alors possible d'identifier des mutations caractérisées par la perte d'une partie des nucléotides dans la séquence, d'un changement de nucléotide ou d'un ajout de nucléotides. Il s'agit historiquement de la technique de séquençage de référence.

## CGH ARRAY

La CGH array permet d'explorer simultanément et sur tout le génome les déséquilibres chromosomiques. L'objectif est de déterminer si la tumeur présente des gain/amplification ou des pertes de matériel génétique. Le matériel génétique de la tumeur est comparé à une référence. Cette technologie permet de déterminer le profil génomique de la tumeur, de connaître le statut allélique ou bien encore l'index génomique. Ces informations sont utilisées pour confirmer un diagnostic, identifier des cibles thérapeutiques ou évaluer le degré de complexité de la tumeur.



Le laboratoire est doté de 3 technologies de CGH Array : technologies Oncoscan et Cytoscan d'Affymetrix et technologie SurePRINT d' Agilent

# Techniques



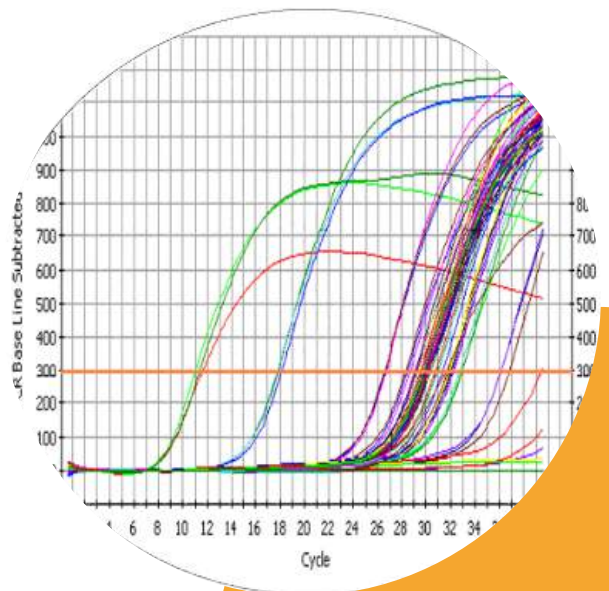
## PCR DIGITAL (ddPCR/BIORAD)

La PCR digitale est une technologie récente, très résolutive. Elle permet d'accéder à la quantification absolue d'un ADN en le partitionnant en nombreuses sous unités (environ 20 000), sous forme de gouttelettes d'émulsion. La détection en point final de plusieurs produits PCR simultanément permet de déterminer l'amplification de fragments d'ADN ciblé. Elle permet ainsi d'évaluer le degré de représentation de gènes d'intérêts.

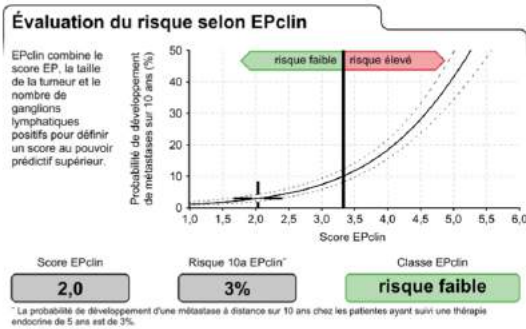
Cette technique est particulièrement adaptée à l'analyse des biopsies liquides car elle est très sensible.

## QPCR ET RT-PCR

Il s'agit d'une technique de PCR permettant le suivi de la réaction d'amplification à chaque cycle, à l'aide d'un fragment nucléotidique fluorescent qui s'hybride sur le produit de PCR. L'hybridation simultanée des deux amorces et de la sonde permet une détection très spécifique du produit de PCR. Il est possible de quantifier une cible choisie par rapport à une condition de référence mais également de détecter une cible (transcrit de fusion par exemple) de façon très spécifique. Cette technique a l'avantage d'être très sensible et est utilisée pour confirmer le diagnostic anatomopathologique.



# Techniques



## ENDOPREDICT (MYRIAD)

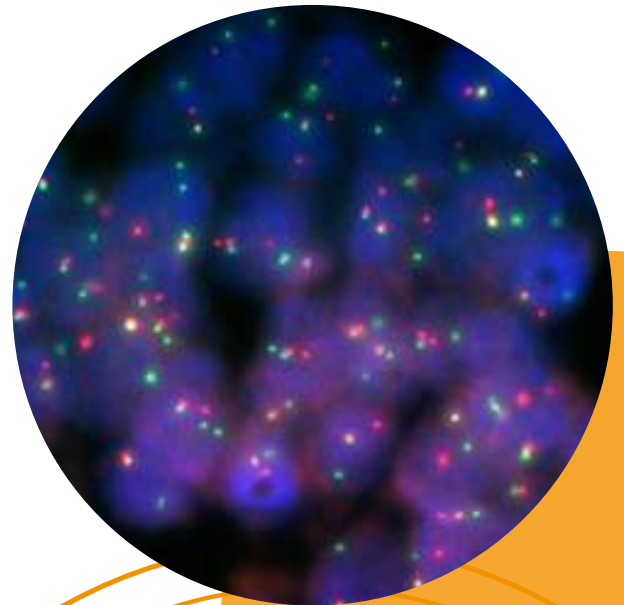
EndoPredict est un test moléculaire qui permet de prédire, chez les patientes atteintes d'un cancer primitif du sein à récepteurs œstrogènes positifs et HER2- négatif, une probabilité de récurrence à distance et le bénéfice absolu de la chimiothérapie.

Le score EndoPredict combine un score moléculaire basé sur l'expression de gènes présents dans la tumeur et des critères anatomopathologiques (taille de la tumeur et envahissement ganglionnaire).

Ces indications permettent d'adapter la meilleure stratégie thérapeutique, la prise en charge et la surveillance de la patiente.

## HYBRIDATION IN SITU EN FLUORESCENCE (FISH)

La FISH est une technique de cytogénétique d'hybridation in situ qui permet, par une lecture au microscope à fluorescence, de mettre en évidence et de localiser dans les noyaux des cellules, des régions spécifiques du génome. Cette technique permet de détecter des anomalies au niveau de séquences d'ADN cible, des amplifications de gènes, des translocations ou des réarrangements chromosomiques. Ces anomalies permettent de confirmer ou infirmer un diagnostic (altération spécifique d'un type tumoral), peuvent être à caractère pronostique (altération liée à une évolution tumorale) et peuvent orienter la stratégie thérapeutique vers un traitement ciblé.



# Techniques



## TECHNOLOGIE IDYLLA (BIOCARTIS)

La méthode Idylla est une PCR en temps réel réalisée à partir du tissu inclus en paraffine ou d'ADN déjà extrait. Tous les réactifs sont contenus dans une cartouche prête à l'emploi. Cette technique permet, en quelques heures, la recherche ciblée de mutation pour orienter ou non le patient vers une thérapie ciblée.

## ARCHERDX

Cette technique innovante de RNA sequencing ciblé sur un panel de plusieurs dizaines de gènes permet un séquençage à partir de l'ARN. La librairie est construite par PCR ancrée avec une amorce spécifique de la cible et une deuxième amorce universelle. Cette technique est particulièrement intéressante car elle permet aussi la détection de nouveaux transcrits de fusion, l'étude de l'expression de gènes ciblés et la recherche de mutations de ces mêmes gènes.

