

ANALYSES CYTOGÉNÉTIQUES CHEZ DES PATIENTES ATTEINTES D'INSUFFISANCE OVARIENNE PRÉMATURÉE (IOP)



LABORATOIRE DE CYTOGÉNÉTIQUE ET BIOLOGIE CELLULAIRE

CHU RENNES - PR JAILLARD S. - PR BELAUD-ROTUREAU MA.

TECHNICIENNES DE LABORATOIRE : ALIX S. - BELLEC M. - GUICHAOUA M. - LEROUX D.



- Introduction
- Historique de la cytogénétique
- Résolution des techniques de cytogénétique
- Techniques
 - Caryotype
 - FISH (Hybridation *In Situ* en Fluorescence)
 - ACPA (Analyse Chromosomique sur Puce à ADN)
 - Séquençage à Haut Débit : Exome
- Conclusion



Pôle de Biologie

Chef de Pôle : Pr Jean-Pierre GANGNEUX (PU-PH)

Service de Cytogénétique et Biologie Cellulaire

Chef de Service : Pr Marc-Antoine BELAUD-ROTUREAU (PU-PH)

UF 3039 – Recherche et Valorisation CYGAP

Responsable : Pr Marc-Antoine BELAUD-ROTUREAU (PU-PH)

Ingénieur: Bénédicte NOUYOU

UF 3040 – Moyens communs

Responsable : Pr Marc-Antoine BELAUD-ROTUREAU (PU-PH)

UF 3045 – Cytogénétique constitutionnelle

Responsable : Pr Sylvie JAILLARD (PU-PH)

Biologistes : Pr Marc-Antoine BELAUD-ROTUREAU (PU-PH)

Dr Frédéric DUGAY (MCU-PH)

Dr Catherine HENRY (PH)

Dr Saloua TOUJANI (PH)

Dr Erika LAUNAY (PH)

Dr Laura MARY (PH)

Dr Anna LOKCHINE (AHU)

UF 3047 – Cytogénétique des tumeurs

Responsable : Dr Catherine HENRY (PH)

Biologistes : Pr Marc-Antoine BELAUD-ROTUREAU (PU-PH)

Dr Florian CABILLIC (MCU-PH)

Dr Frédéric DUGAY (MCU-PH)

Dr Saloua TOUJANI (PH)

Dr Erika LAUNAY (PH)

UF 3049 – Biologie Cellulaire

Responsable : Dr Florian CABILLIC (MCU-PH)

Encadrement

Cadre Supérieure de Santé : Fanny PREVILLE

Cadre gestionnaire : Valentine DRUILLET

Faisant-fonction cadre de proximité : Bastien LARRIBOT

Responsable des secrétariats médicaux : Stéphanie POUSSET

Ingénieur

Bénédicte NOUYOU

Secrétaires

Isabelle MEURIEL

Claudine PERRUGAULT

Aide de laboratoire

Marjory LAFERTE

Techniciens de laboratoire

Sylvia ALIX

Marie BELLEC

Marie-Odile CALVAR

Maité FERRAND

Marc FLABEL

Delphine GEFFARD

Muriel GERVOIS

Hélène GOURDET

Nadine HAPIPI

Laurence HAUDEBERT

Delphine LEROUX

Maryse MADIGOU-CAUDAL

Loïc QUINTON

Stéphanie SOULET-GUERIN

Structures transversales du Pôle de Biologie

- UF 3145 : Plateforme ACPA
- UF 3144 : Plateforme de Génétique Moléculaire des Cancers
- UF 3218 : Plateforme NGS
- UF 3531 : Centre de Ressources Biologiques (CRB)- Santé

Cytogénétique et Biologie cellulaire



Cytogénétique

Biologie
Cellulaire

Constitutionnelle

Acquise (tumeurs)

Postnatal

Prénatal

Hémopathies

Tumeurs
solides



Troubles du cycle



Pathologies endocriniennes



SOPK



Insuffisance ovarienne prématurée

Défauts de production



Pathologies endocriniennes



Origine testiculaire

Troubles mécaniques



Pathologies tubaires



Pathologies utérines



Endométriose

Défauts de migration



Lésions des voies génitales



ABCD



Insuffisance ovarienne prématurée IOP

- Arrêt de la fonction ovarienne avant 40 ans
- Aménorrhée, \nearrow FSH
- Non-syndromique ou syndromique
- Infertilité et comorbidités
- Etiologie génétique 25%

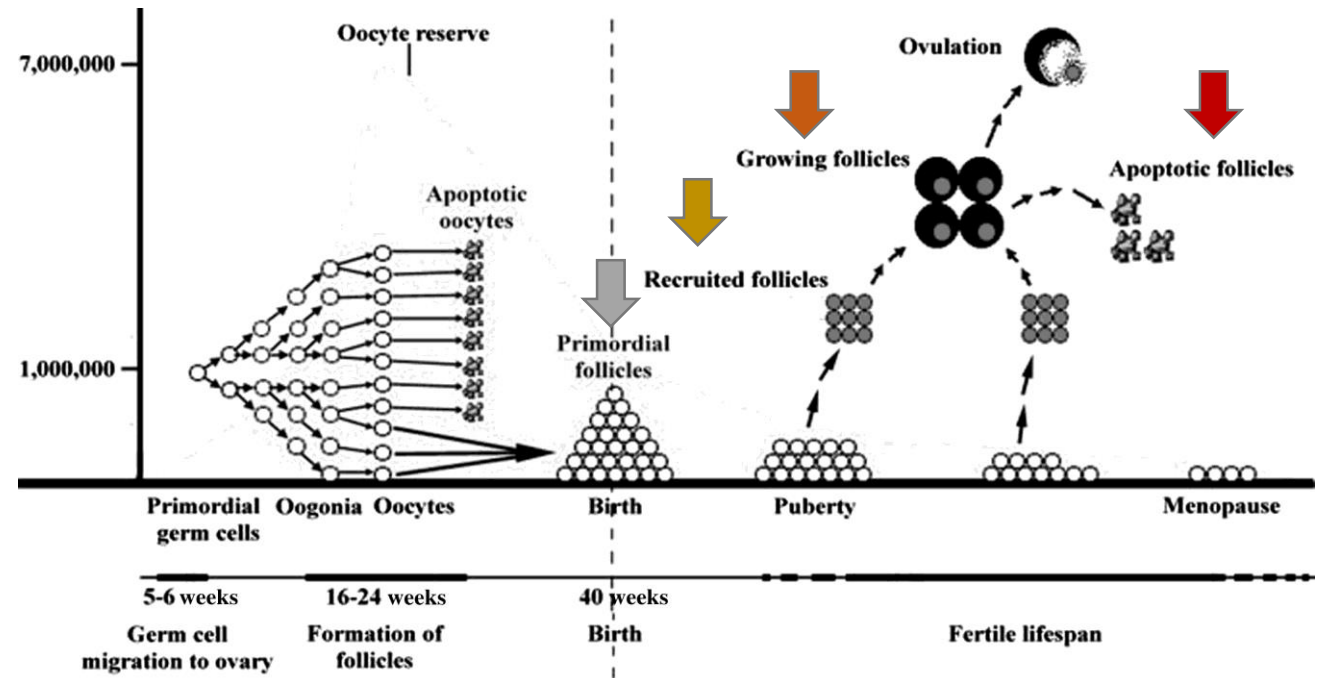


Déplétion du stock de follicules primordiaux

Recrutement folliculaire

Arrêt de la maturation folliculaire

Atrésie folliculaire augmentée

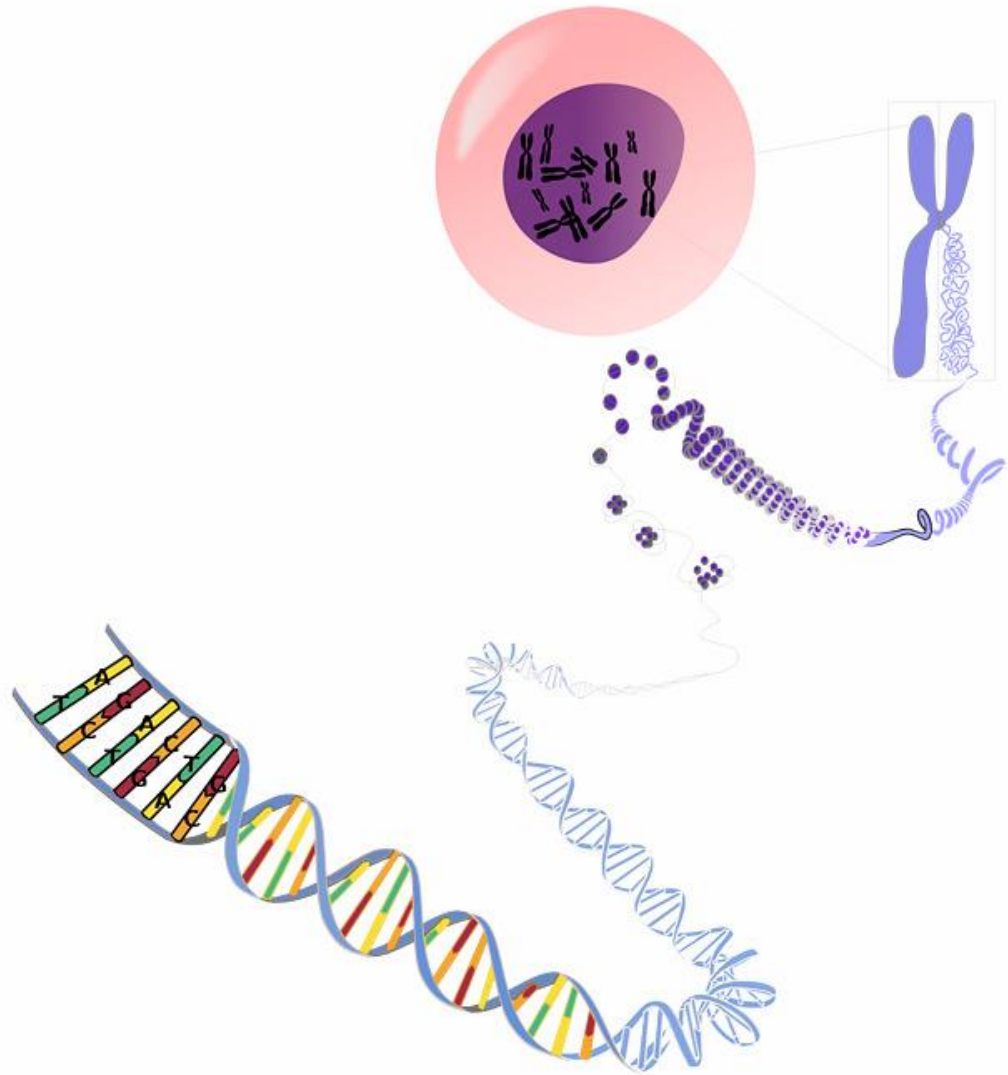




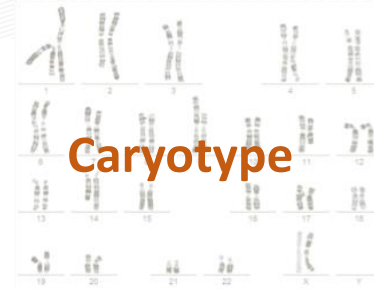
- **1956** : 46 chromosomes chez l'homme
- **1959** : anomalies de nombre → trisomie 21
- **1968** : marquage en bandes
- **1976** : techniques de synchronisation (haute résolution)
- **Années 1980** : Hybridation *in situ* en fluorescence FISH
- **Années 1990** : Hybridation génomique comparative CGH
- **Années 2000** : Séquençage haut débit SHD
- **Années 2010 - 2020** : SHD, une technique unique ?

De la cytogénétique
conventionnelle à la
cytogénétique
moléculaire

Résolution des techniques de cytogénétique



5-10 Mb



150 kb



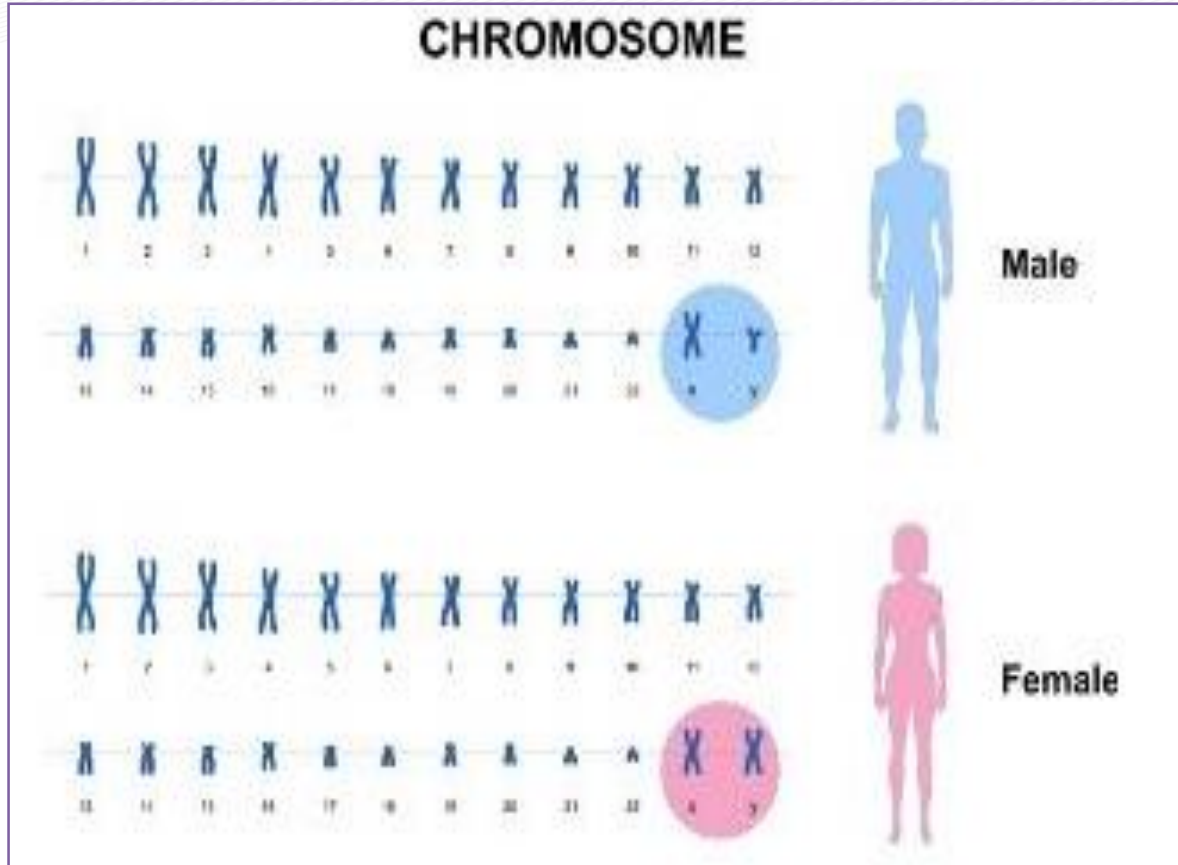
FISH

5 kb

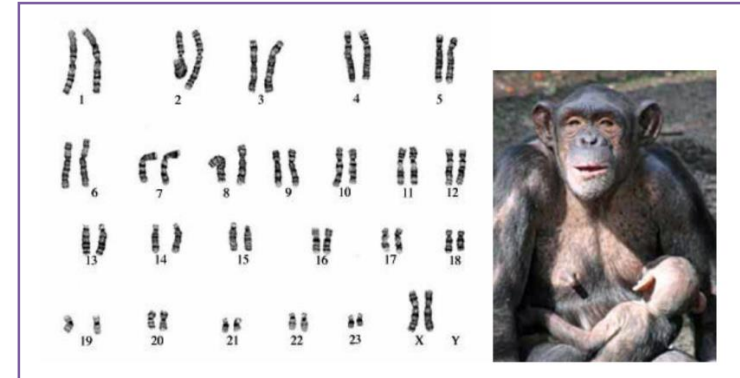


1 pb

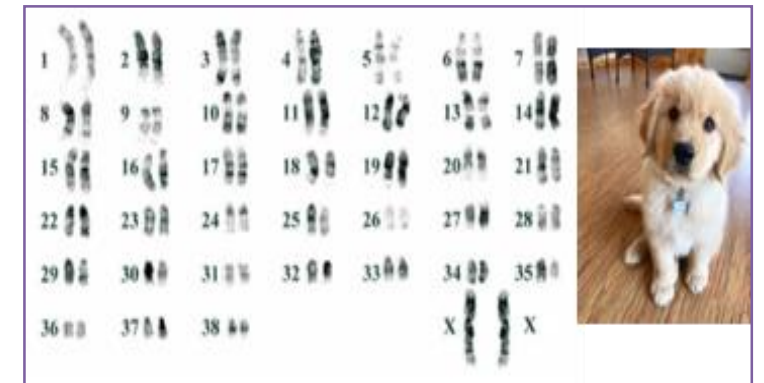




Spécificité de l'espèce humaine : 46 chromosomes

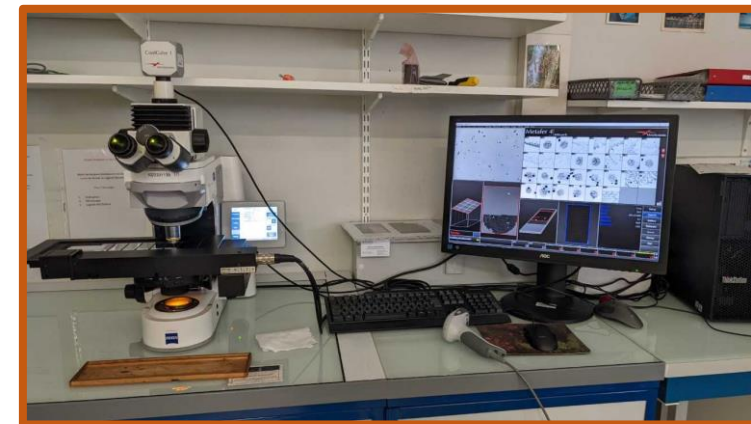
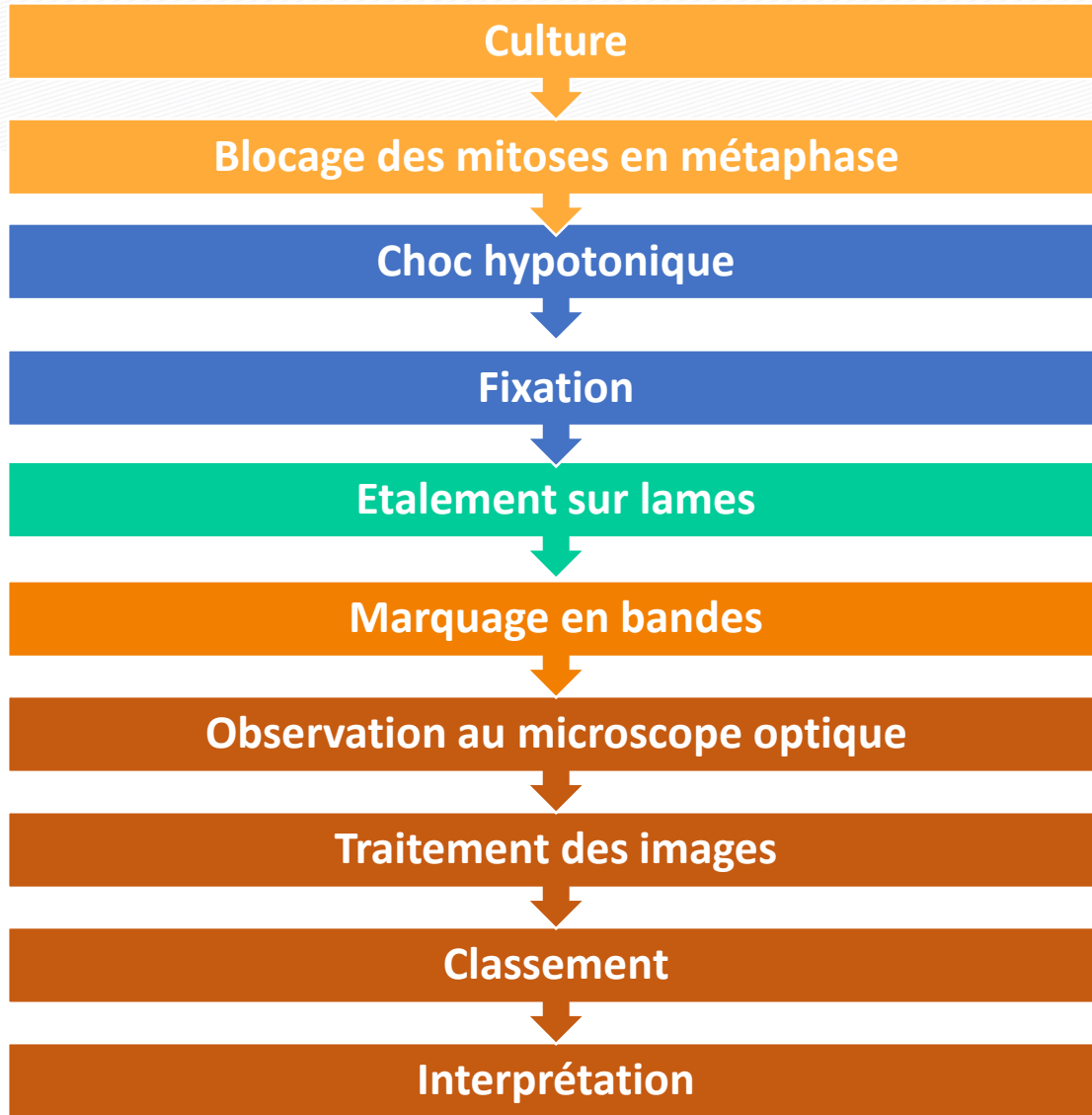


48 chromosomes



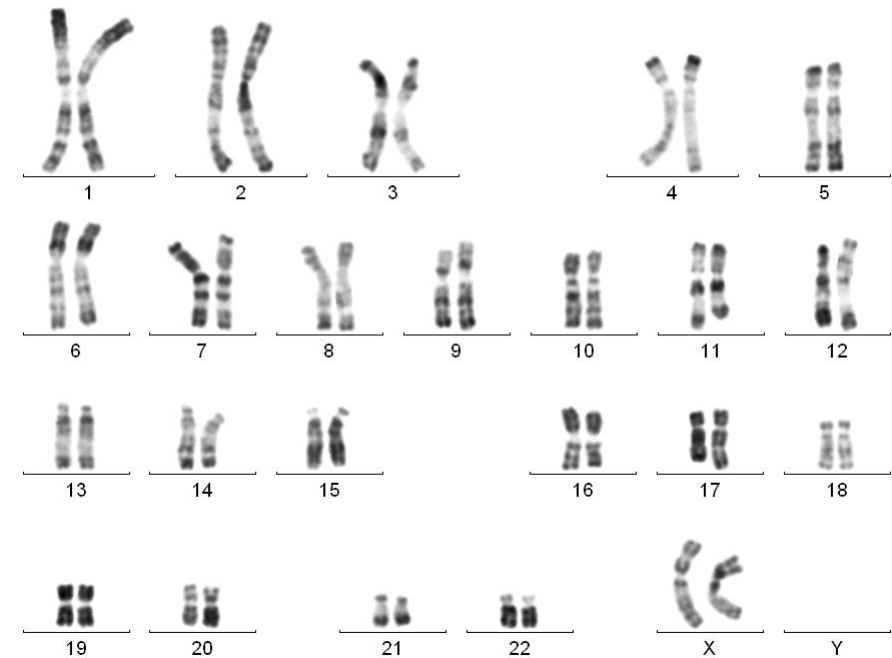
78 chromosomes

Caryotype





Les chromosomes sont numérotés et rangés par paires par ordre de taille décroissante



46 chromosomes

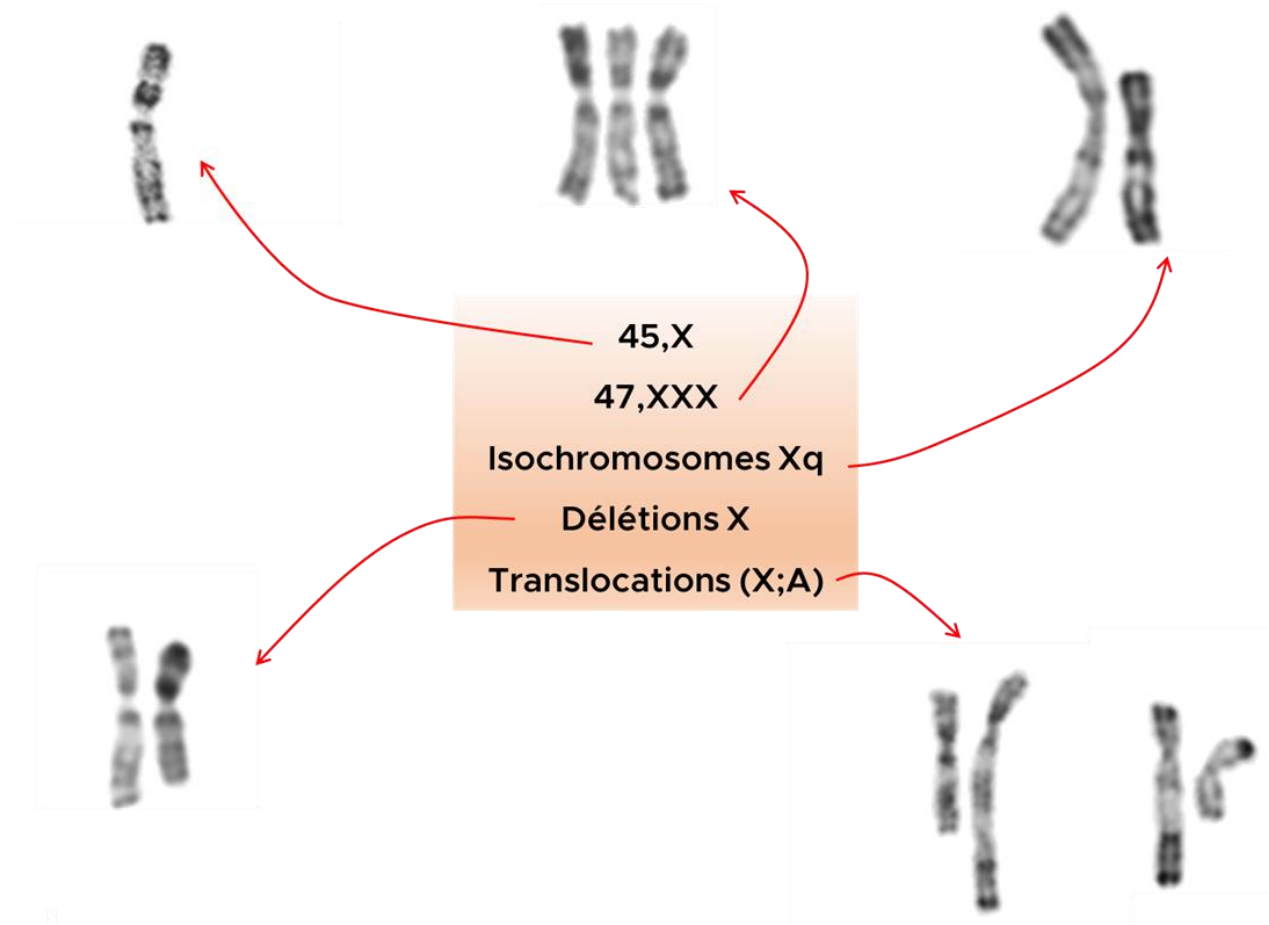
22 paires d'autosomes

1 paire de gonosomes : XX ou XY

→ IOP : 10 à 13% de remaniements chromosomiques

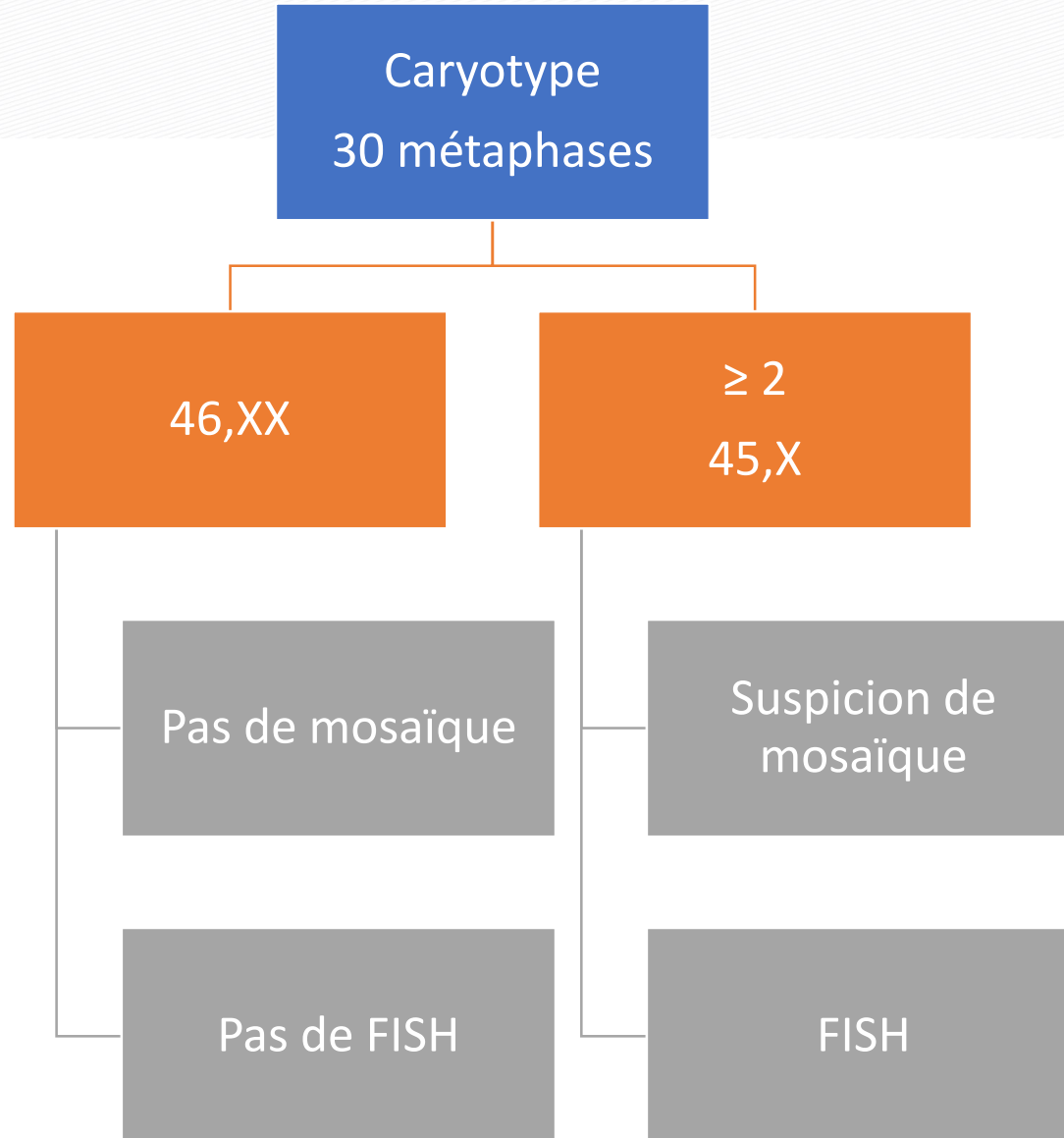


→ La majorité implique le chromosome X



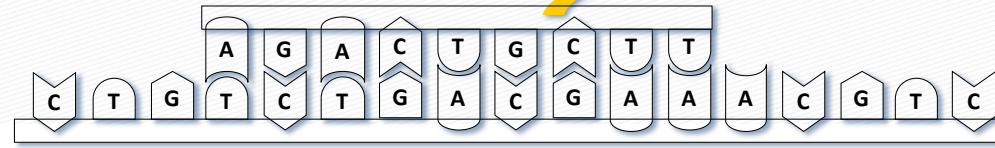


Enquête sur les pratiques des laboratoires de Cytogénétique



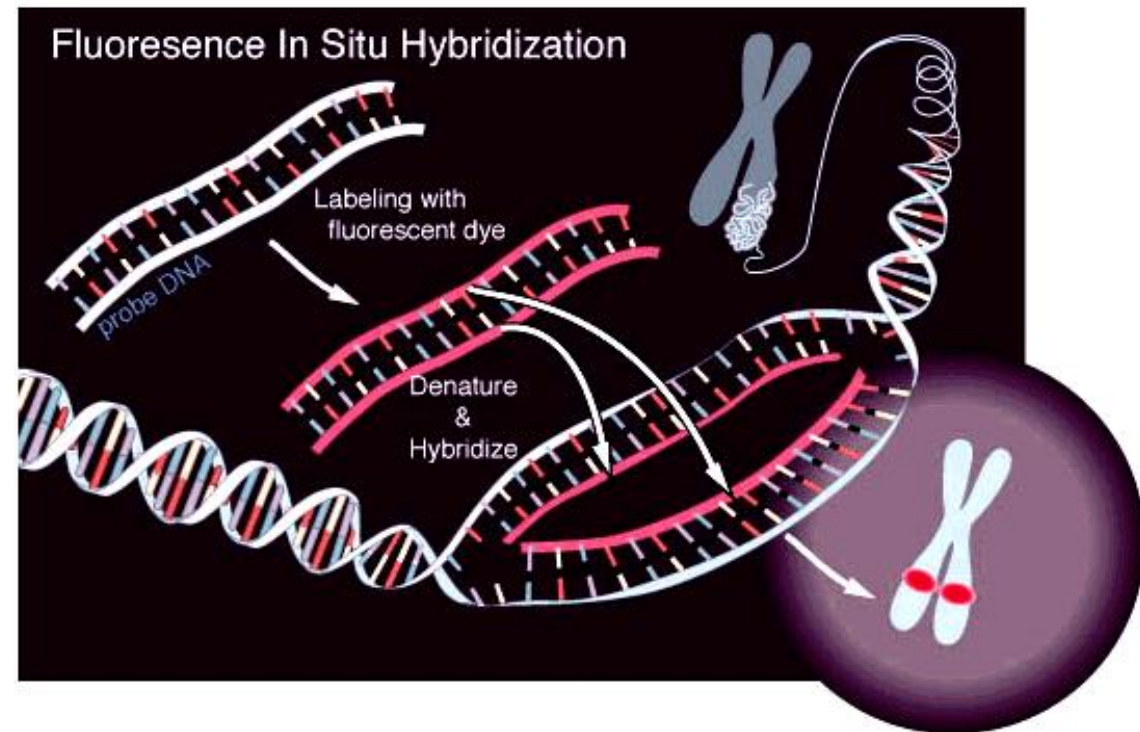
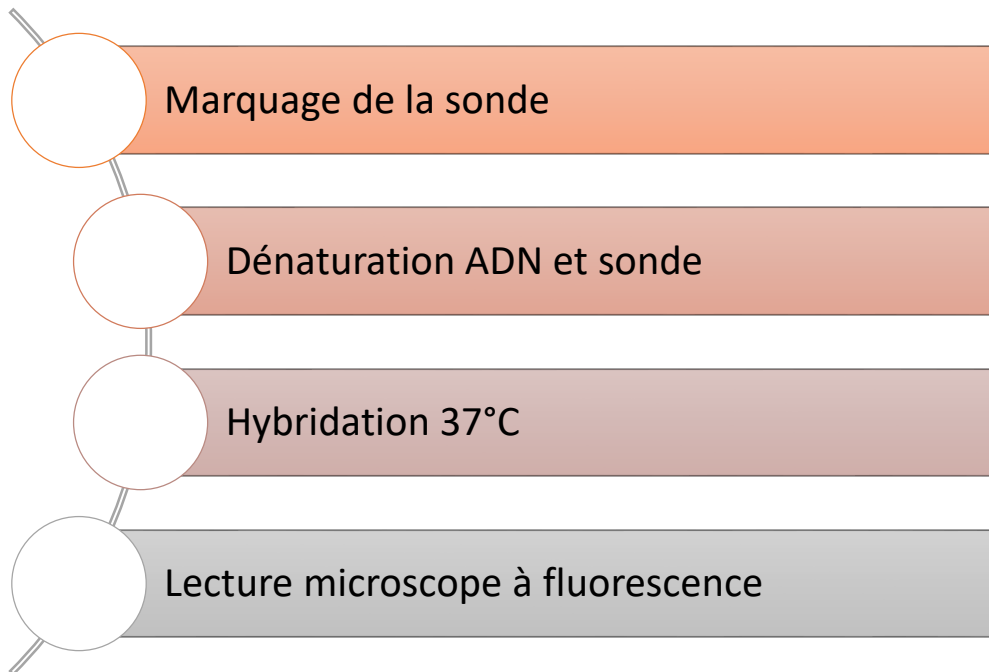
Hybridation *In Situ* Fluorescente (FISH)

Fluorochrome

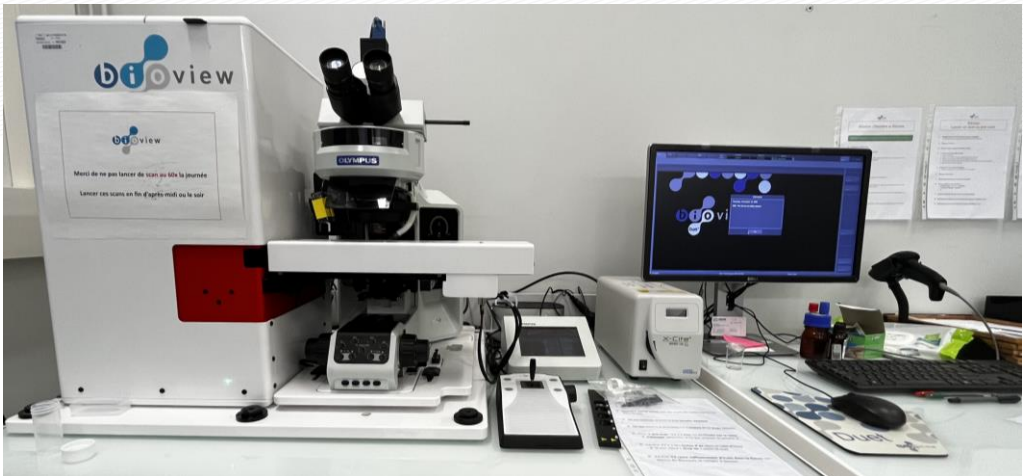


→ Propriétés de complémentarité de l'ADN

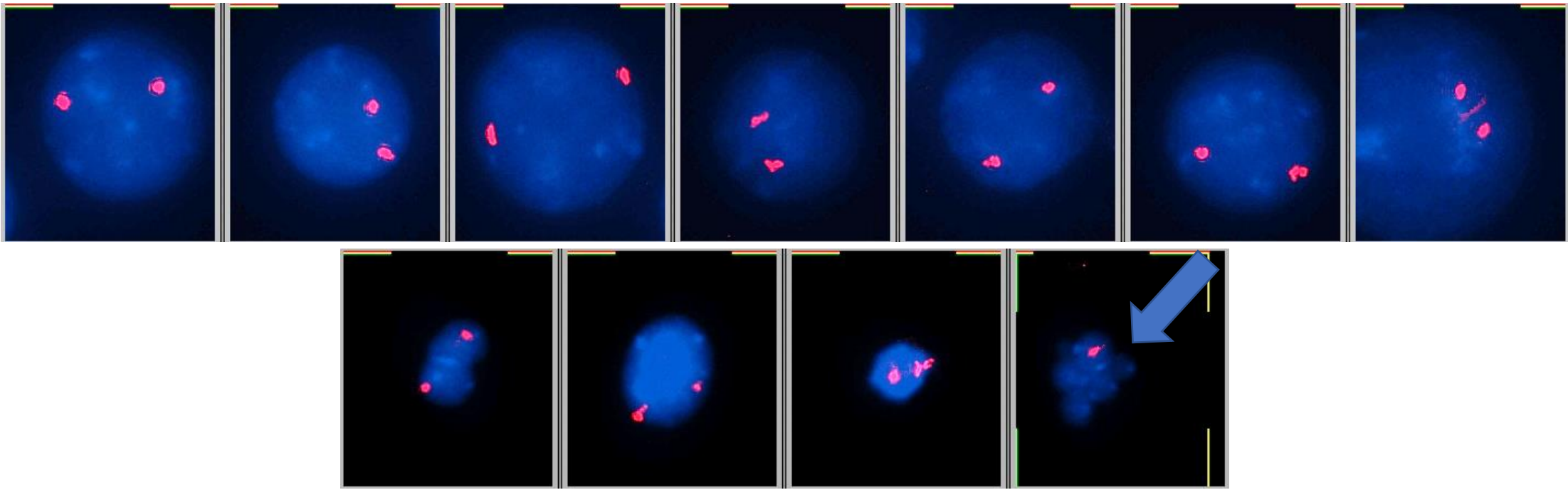
→ Hybridation spécifique d'une séquence d'ADN cible par un fragment d'ADN marqué par un fluorochrome (sonde)



Hybridation *In Situ* Fluorescente (FISH)



200 noyaux
Sonde centromérique de l'X (DXZ1)





Caryotype +/-FISH

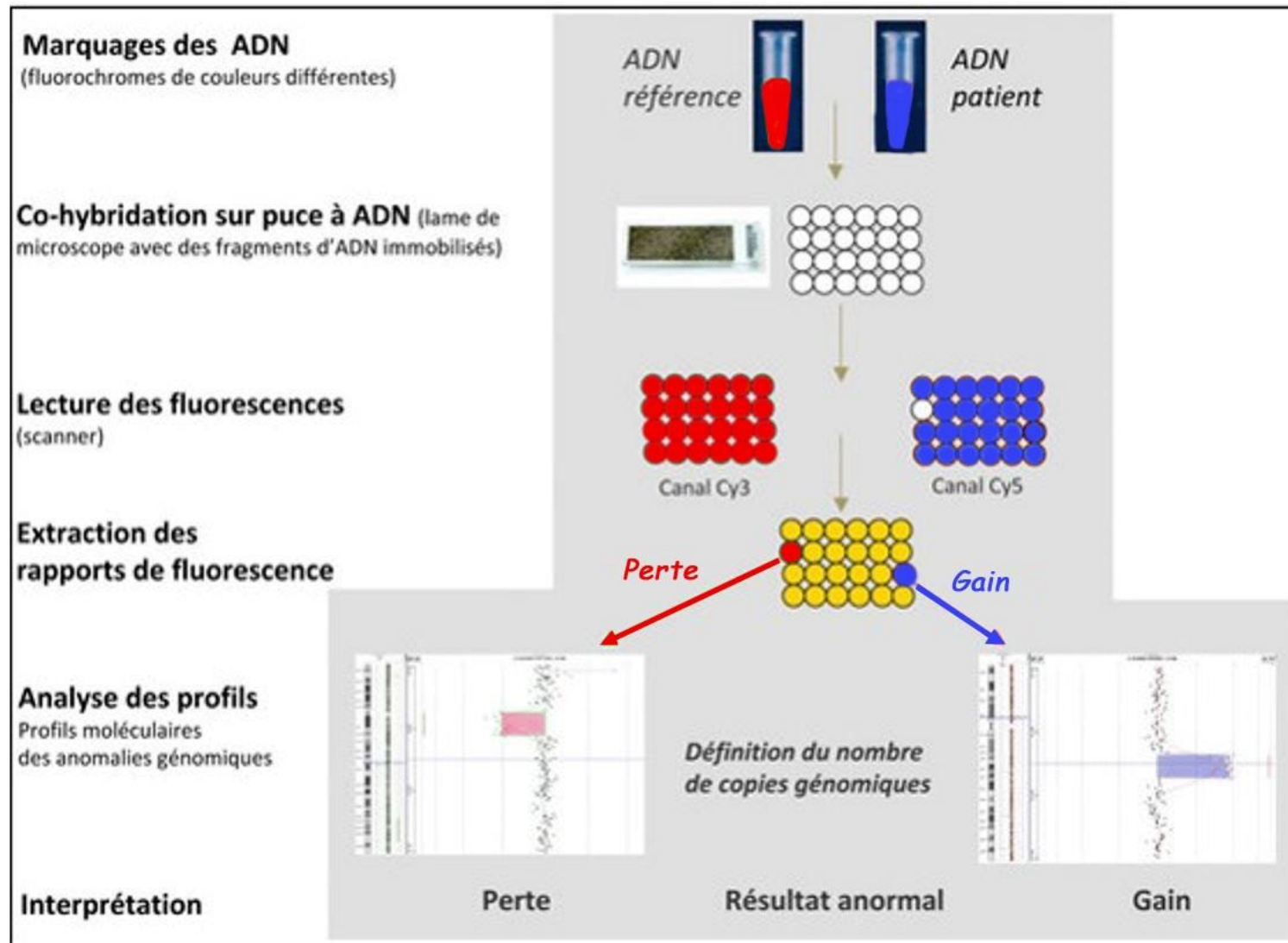
46,XX

Remaniement chromosomique à préciser



ACPA → CNV

Analyse Chromosomique sur Puce à ADN (ACPA)

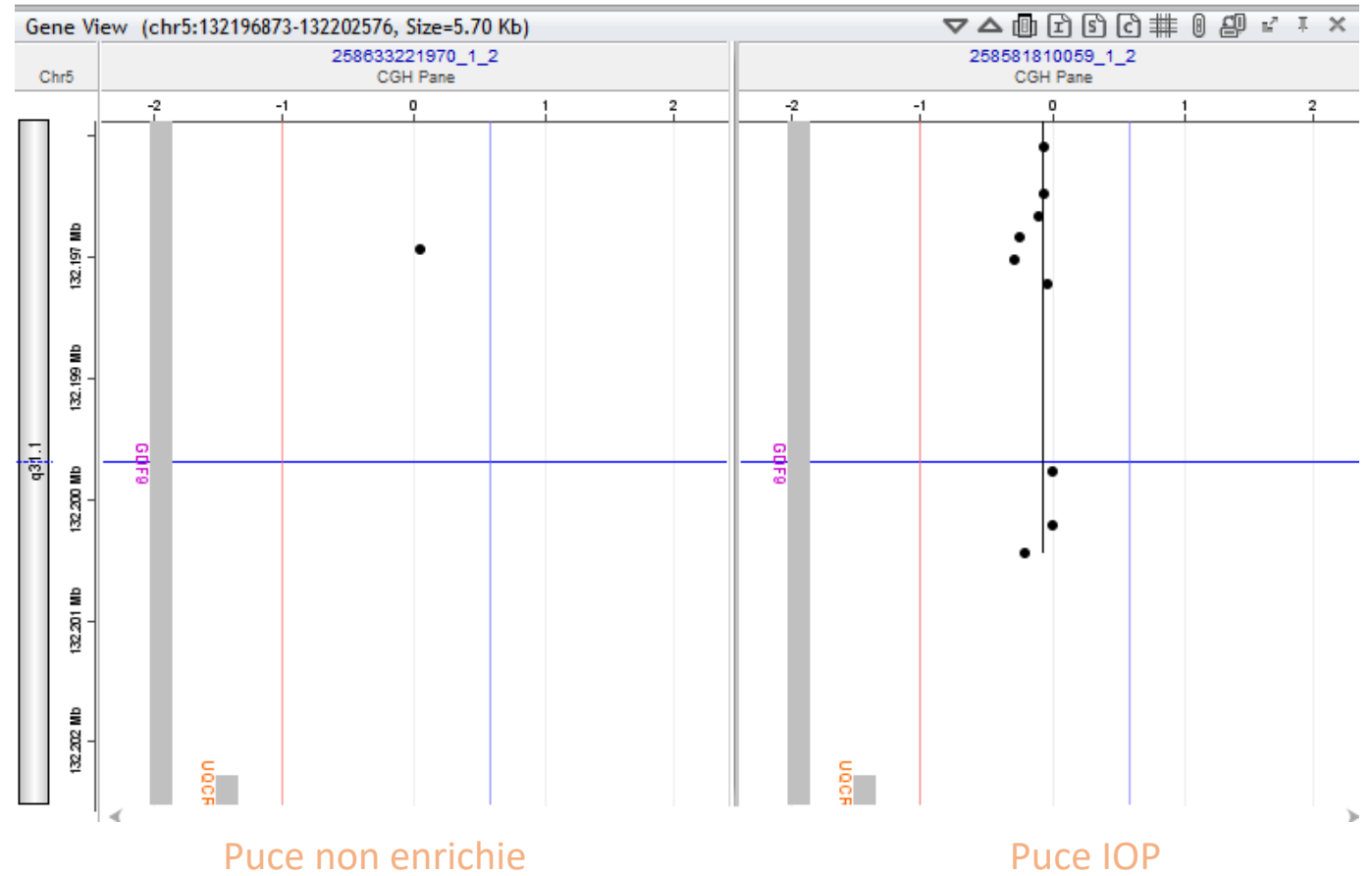


Analyse Chromosomique sur Puce à ADN (ACPA)

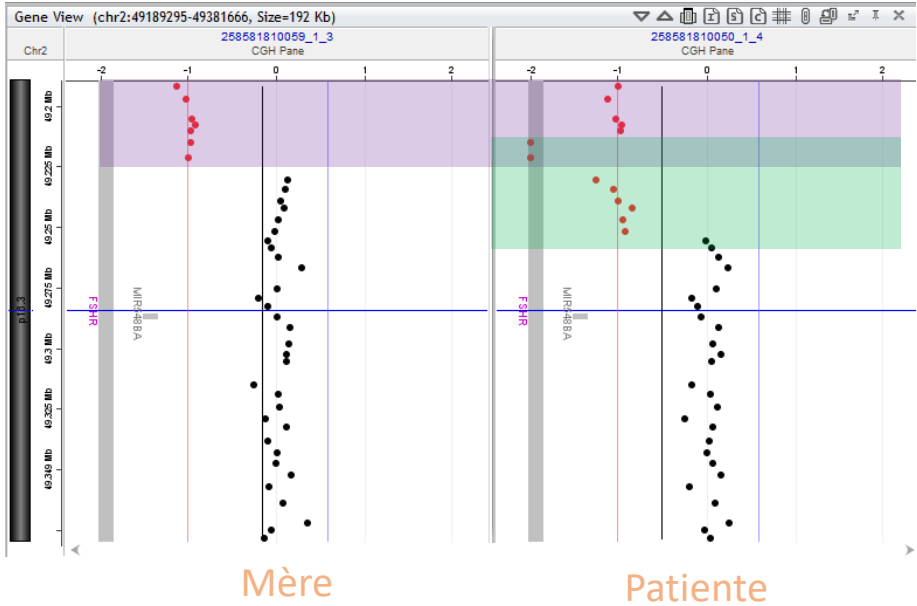
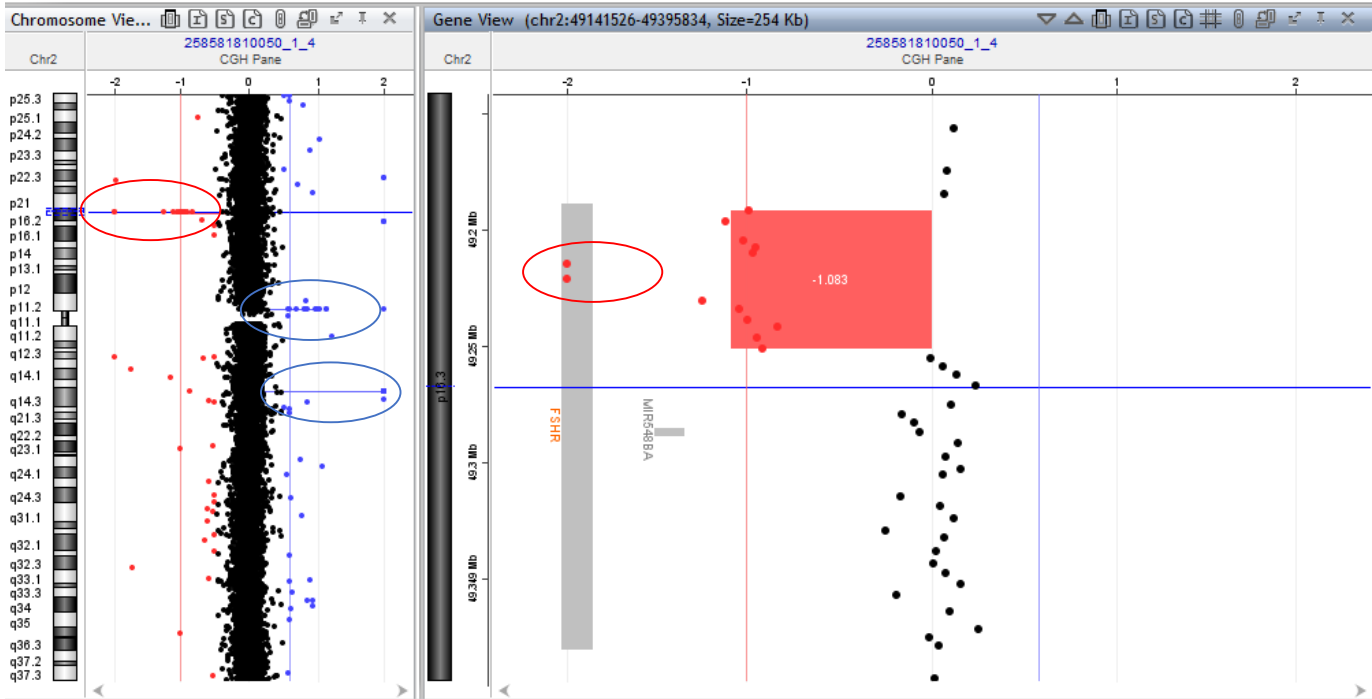


Puce à ADN custom IOP → objectif : enrichir en sondes oligonucléotidiques les régions d'une sélection de gènes impliqués dans l'IOP

130 gènes sélectionnés à partir des données de la littérature



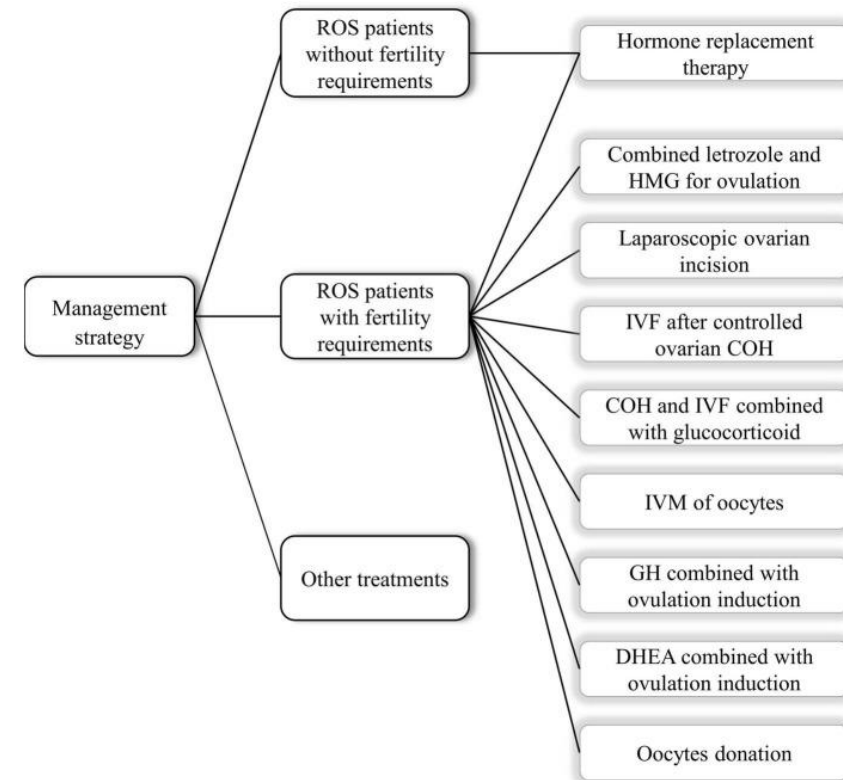
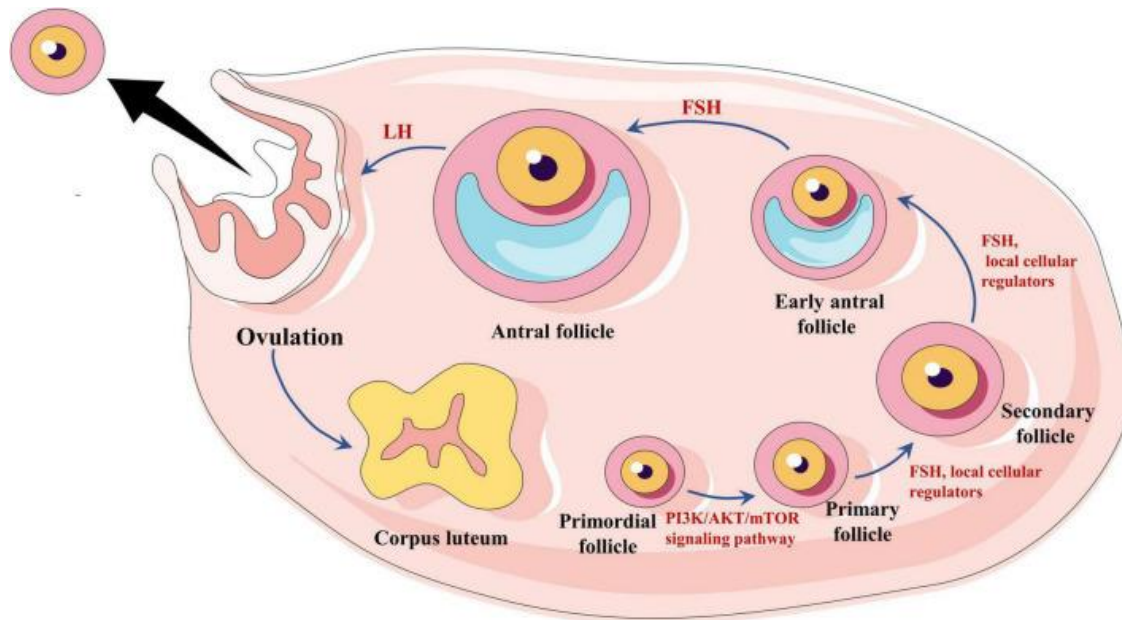
Analyse Chromosomique sur Puce à ADN (ACPA)



Location	Phenotype	Phenotype MIM number	Inheritance	Phenotype mapping key	Gene/Locus	Gene/Locus MIM number
2p16.3	Ovarian dysgenesis 1	233300	AR	3	FSHR	136435

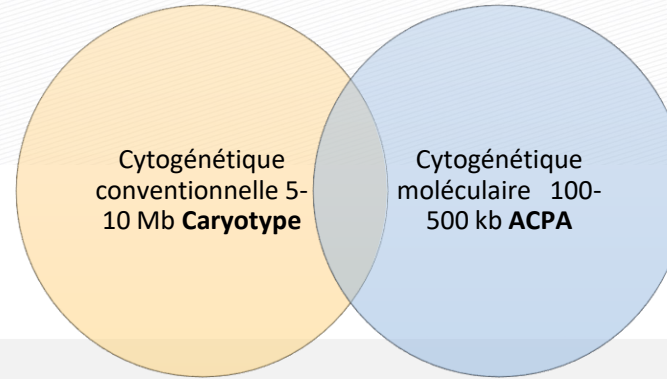


→ **Resistant ovary syndrome (ROS)** : FSH \uparrow , CFA et AMH normaux

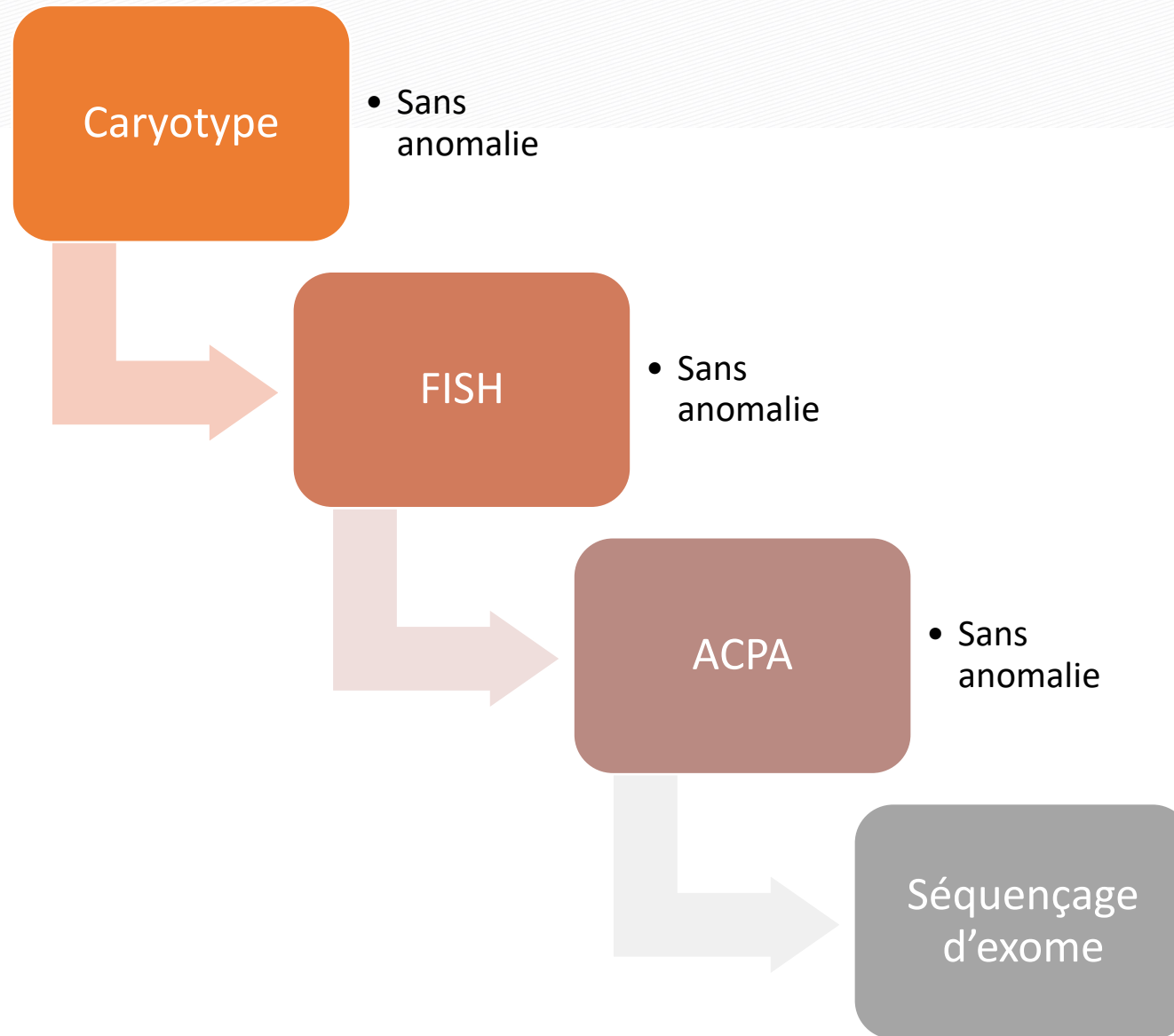


Mu et al. Front Med (Lausanne). 2022

Analyse Chromosomique sur Puce à ADN (ACPA)



Culture cellulaire Approche morphologique		Pas de culture cellulaire Approche quantitative
😊	Pangénomique	😊
😞	Haute résolution	😊
😊	Remaniements équilibrés	😞
😊	Remaniements déséquilibrés	😊
😞	Déséquilibres chromosomiques de « petite taille » CNV	😊
😊	Mosaïques faibles <10-15%	😞





- Analyse de l'ensemble des parties codantes du génome
- 85% des mutations mises en cause dans les maladies génétiques



Séquençage haut débit : exome



Fragmentation de l'ADN

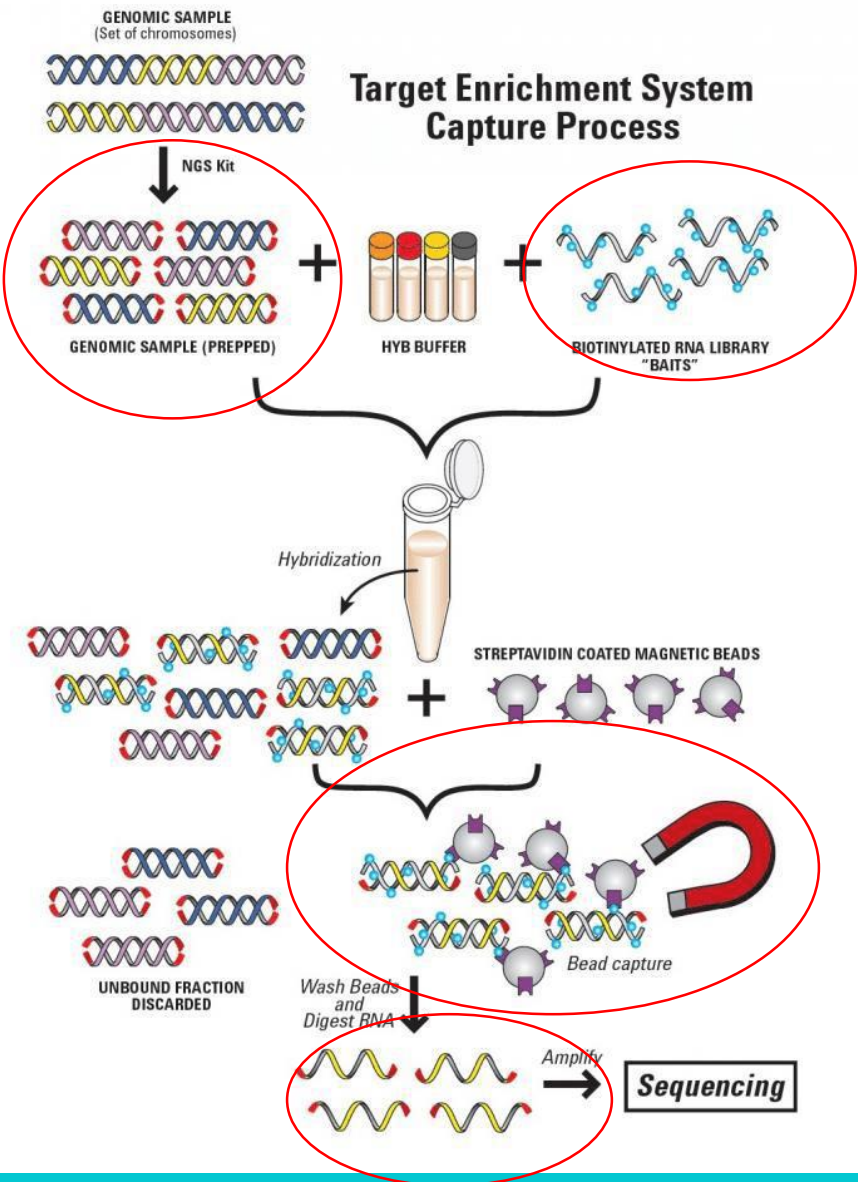
Fixation des adaptateurs et codes-barres

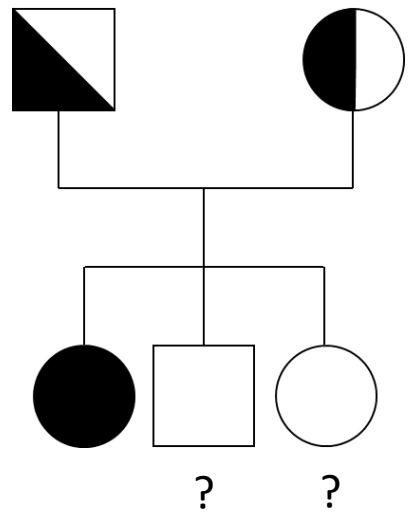
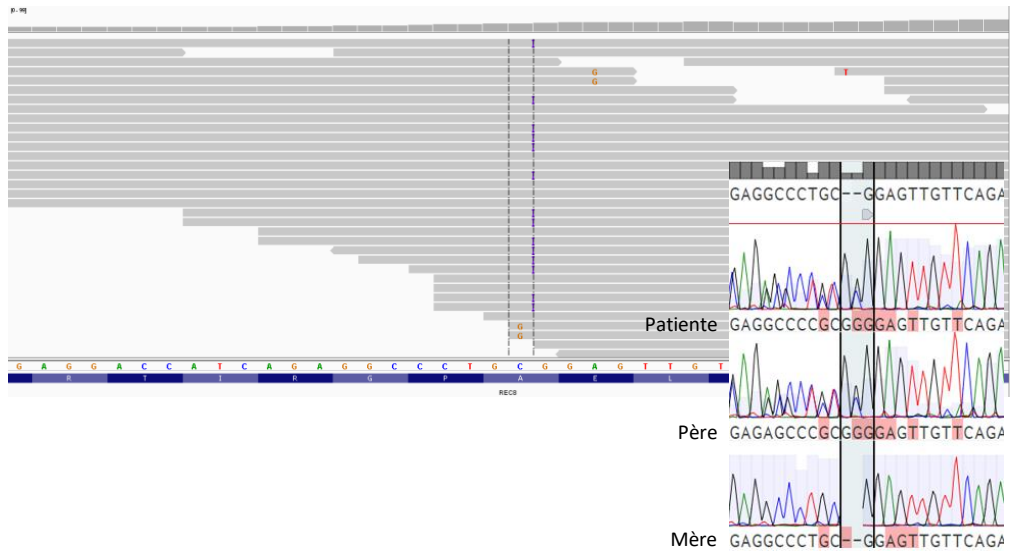
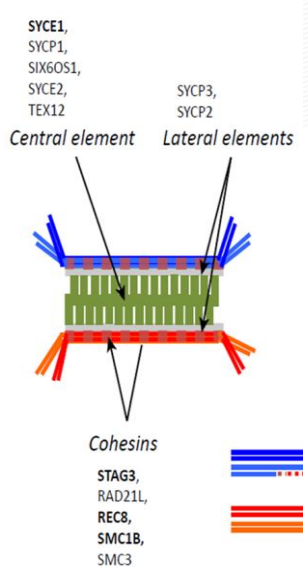
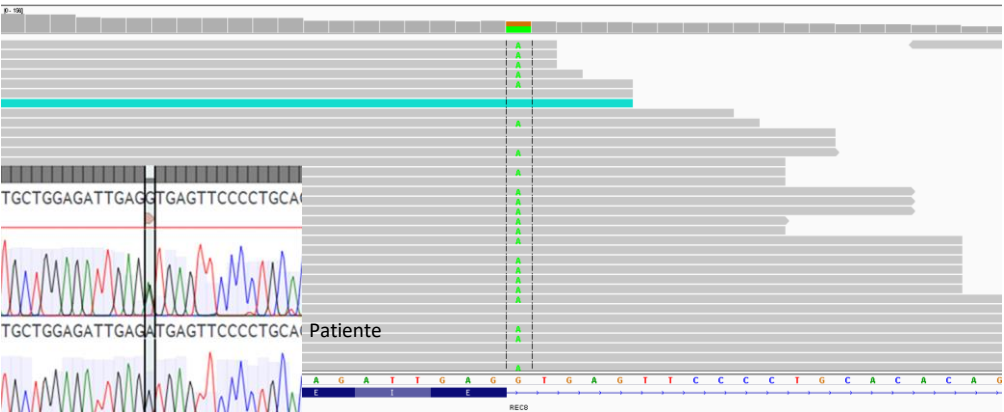
Capture des exons

Amplification

Séquençage

Analyse bio-informatique



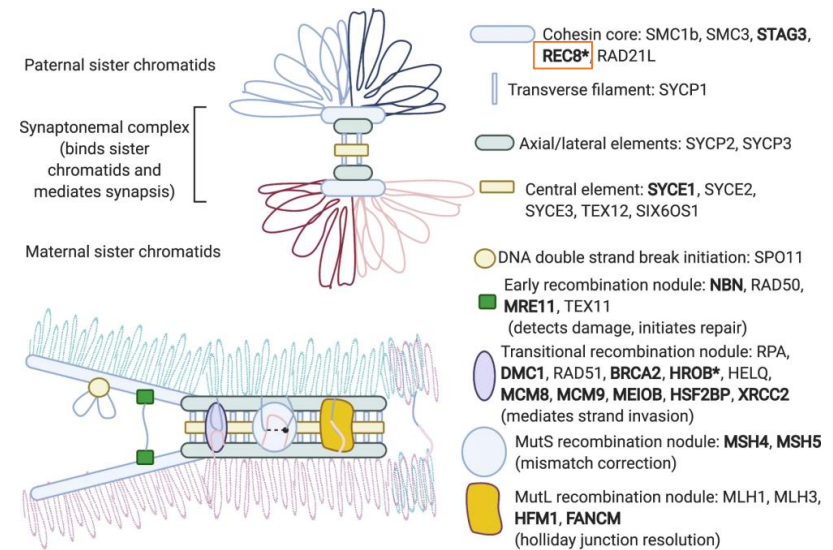
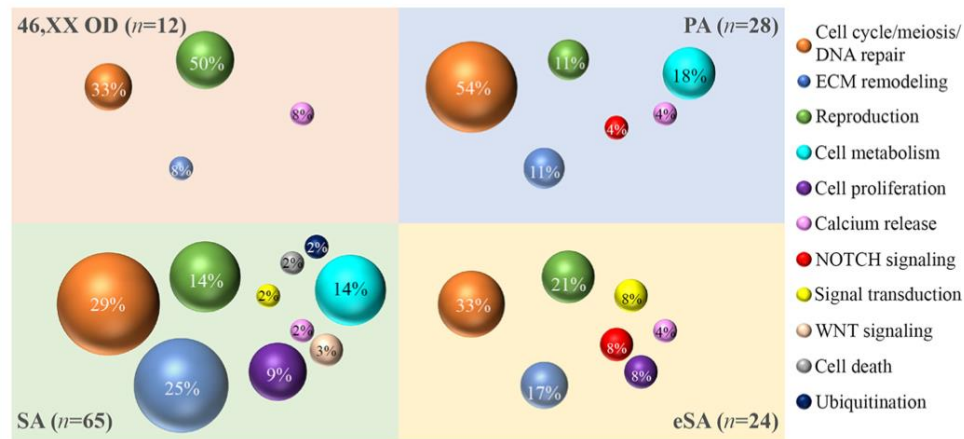
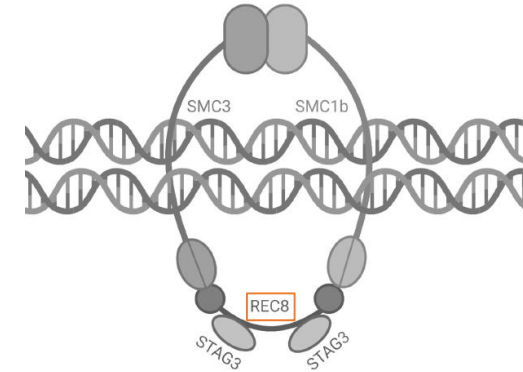


Meiotic genes in premature ovarian insufficiency: variants in *HROB* and *REC8* as likely genetic causes

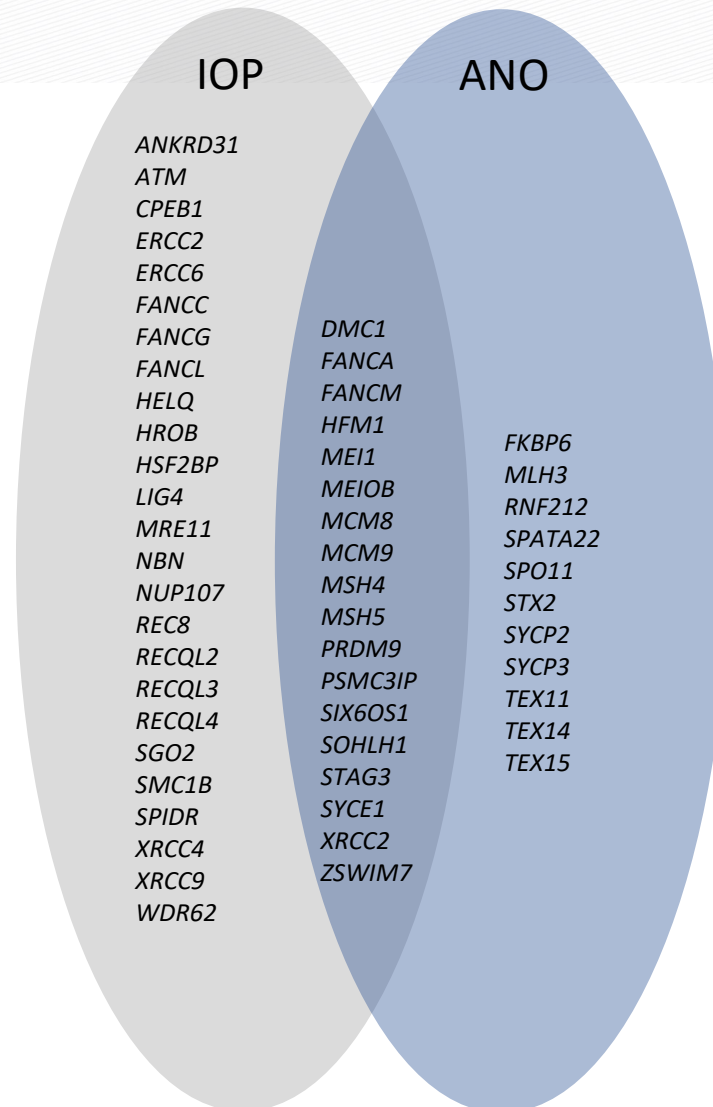
Elena J. Tucker ^{1,2}, Katrina M. Bell¹, Gorjana Robevska¹, Jocelyn van den Bergen¹, Katie L. Ayers^{1,2}, Nurin Listyari^{1,3}, Sultana MH Faradz³, Jérôme Dulong⁴, Shabnam Bakhshalizadeh^{1,2}, Rajini Sreenivasan^{1,2}, Benedicte Nouyou⁵, Wilfrid Carre⁶, Linda Akloul⁷, Solène Duros⁸, Mathilde Domin-Bernhard⁸, Marc-Antoine Belaud-Rotureau^{5,9}, Philippe Touraine^{4,10}, Sylvie Jaillard ^{5,9,10} and Andrew H. Sinclair^{1,2,10}



- ➔ **REC8** : composant du complexe cohésine spécifique de la méiose
- ➔ Liaison des chromatides sœurs
- ➔ Indispensable au bon déroulement de la méiose
- ➔ Infertilité masculine ?



Tucker et al. Eur J Hum Genet. 2021 ; Rosetti et al. Front Endocrinol (Lausanne). 2021

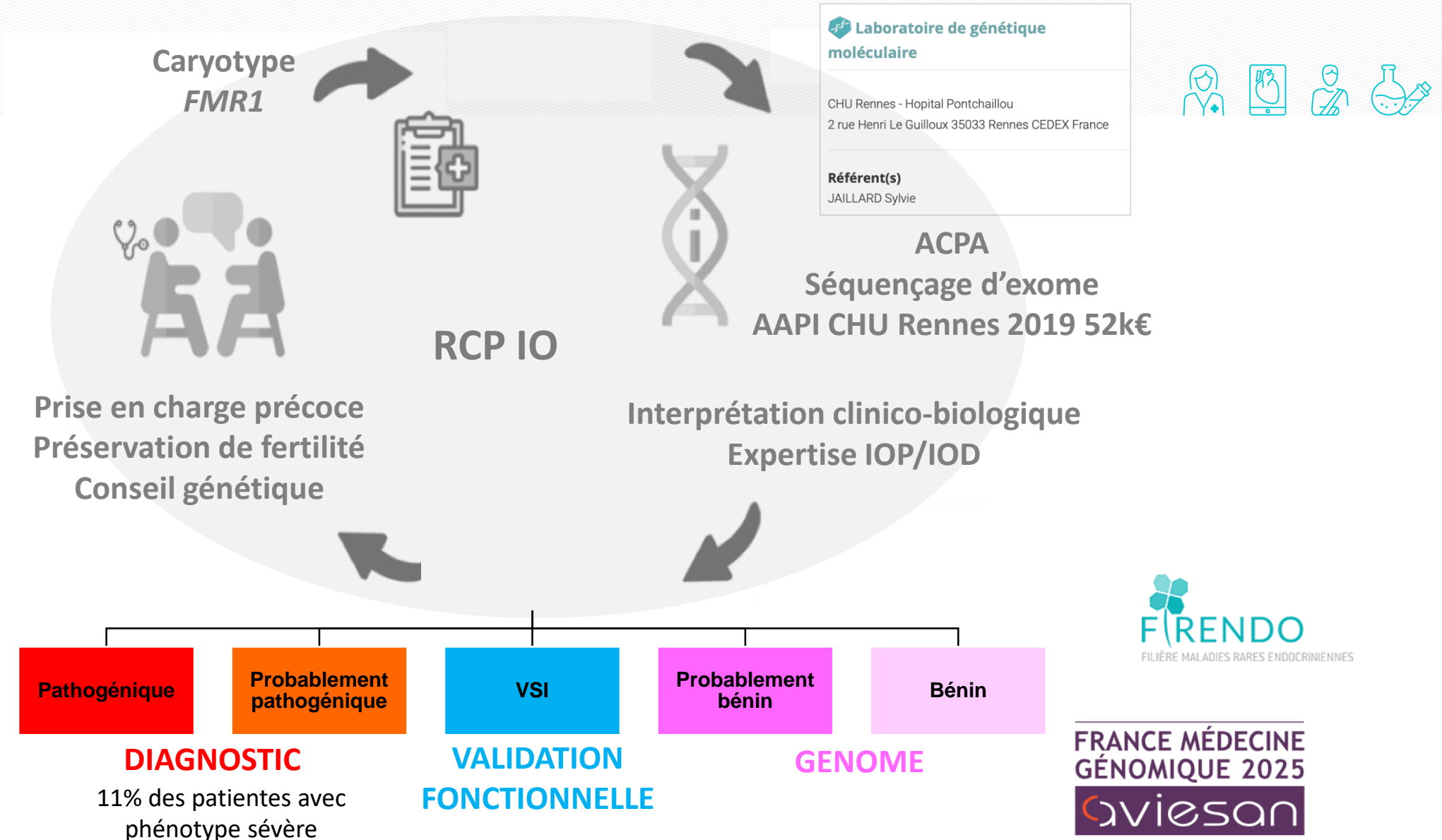


2021



Shared genetics between nonobstructive azoospermia and primary ovarian insufficiency

Lauren Verrilli, M.D.,^a Erica Johnstone, M.D., M.H.S.,^a Kristina Allen-Brady, Ph.D., M.S.P.H, M.P.T.,^b and Corrine Welt, M.D.^c





Complexité génétique

Prise en charge optimisée : don d'ovocytes, préservation de la fertilité, conseil génétique

Nouvelles stratégies diagnostiques : évolution et complémentarité des techniques

Evolution des compétences techniques : habilitation, accréditation

Nouvelles perspectives thérapeutiques : édition du génome

Merci pour votre attention

