

**PROJET DE RECHERCHE 2007 :****FISH sur myélomes****K. Rack**

Les anomalies chromosomiques associées aux myélomes sont importants comme facteurs de pronostic. Plusieurs études ont montré que la perte ou délétion du chromosome 13 et certaines translocations impliquant IgH en 14q32 (t(4;14),t(14;16)) sont associées à un pronostic réservé, tandis qu'un caryotype hyperdiploïde comportant essentiellement des trisomies pour les chromosomes impairs est associé à un bon pronostic. La détection de ces anomalies par caryotype standard est difficile en raison à la fois du faible pourcentage de plasmocytes dans la moelle et du faible taux de prolifération. Malgré l'introduction de nouvelles techniques de culture, le taux de détection des anomalies reste très bas dans cette pathologie.

Etant donné les limitations de l'analyse directe des chromosomes, celle-ci peut être remplacée par une analyse FISH. Cette analyse doit être effectuée sur les plasmocytes car :

- 1- Les plasmocytes ont une grande tendance à ne pas se diviser en culture et leur présence est noyée dans les cellules normales proliférantes
- 2- Le taux de plasmocytes est souvent faible dans la moelle, rendant la détection d'une anomalie difficile par FISH si elle se situe au niveau du seuil de détection (+/- 10% pour une délétion ou un gain).

**Isolement des plasmocytes**

La mise en place de cette technique sera réalisée en collaboration avec les équipes de biologie clinique et d'hématologie de Gilly qui fournira les échantillons de moelle myélomateuse.

Les plasmocytes (CD138+) seront d'abord isolés en utilisant le « EasySep purification system » (voir annexe 1). Ensuite, les cytopins seront préparées pour la technique FISH.

**Analyses ultérieures**

Les plasmocytes non utilisés pour l'analyse FISH seront congelés en vue d'un futur projet de microarray.

**Investissement***Personnel*

Un(e) technicien(ne) à mi-temps pour la mise au point de la technique. Dans un premier temps, ce travail sera effectué par un technicien faisant partie des services cytogénétique et FISH. Une évaluation sera faite pendant cette période pour déterminer l'ampleur de la technique ainsi que le nombre de cas à analyser par an. Si jugé nécessaire, une demande sera introduite en cours de 2007.

*Equipement*

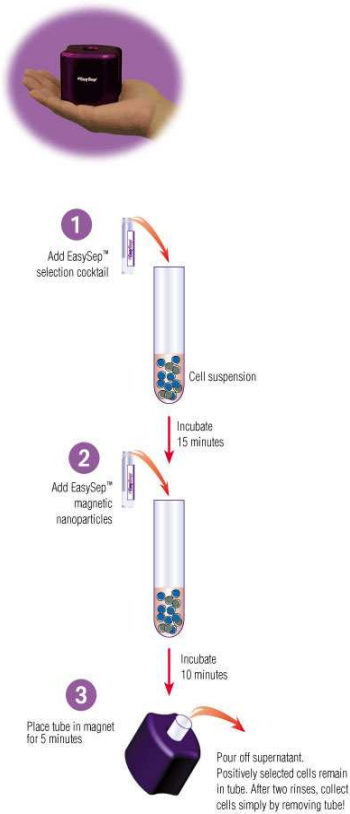
Easysep magnetic system 4.000,00

*Reactifs*

EASYSEP kit de marquage CD138 (469,00<sup>E</sup>) x3 1.407,00

TOTAL 5.407,00

## FISH in myeloma



EasySep<sup>®</sup> is a powerful immunomagnetic cell selection procedure that uses specific antibodies and tiny FACS-compatible magnetic nanoparticles in a column-free magnetic system. Cells are targeted for selection or depletion using monoclonal antibodies directed against specific cell surface antigens. These labeled cells are then crosslinked to EasySep<sup>®</sup> magnetic nanoparticles in a standard FACS tube. The tube is then placed directly in the specially designed EasySep<sup>®</sup> magnet. This handheld magnet is gently inverted to remove the cells that are not bound to the magnetic nanoparticles. The unique EasySep<sup>®</sup> magnet generates a high gradient magnetic field in the interior cavity that is strong enough to separate cells labeled with EasySep<sup>®</sup> nanoparticles without the additional magnetic field gradients provided by a column matrix.

For Positive Cell Selection: Cells of interest remain in the tube after pouring off the cells that are not bound to the magnetic nanoparticles. To obtain a highly pure population, these cells are rinsed twice or more, then easily collected by removing the tube from the magnet.