

Université de Montréal
Faculté des études supérieures

**L'implication de la peptide-déformylase (PDF) dans la leucémie
aiguë lymphoblastique de l'enfant**

Par
Camille Jimenez Cortes

Programmes en biologie Moléculaire
Faculté de médecine

Mémoire présenté à la Faculté des études supérieures en vue
de l'obtention du grade de Maître ès sciences (M. Sc.) en Biologie Moléculaire

Décembre 2017
© Camille Jimenez Cortes, 2017

Résumé

La leucémie aiguë lymphoblastique (LAL) est le cancer pédiatrique le plus fréquent, comptant pour 25% de toutes les tumeurs pédiatriques. Les thérapies actuelles permettent d'obtenir des taux de survie d'environ 90%. Cependant, les patients qui ne répondent pas aux traitements actuels représentent la cause principale de mortalité liée au cancer chez l'enfant. Afin d'approfondir nos connaissances sur les causes de cette maladie et de comprendre l'architecture génétique sous-jacente de la LAL de l'enfant, nous proposons d'identifier les mutations conductrices de la leucémogénèse, dites mutations « drivers ». L'utilisation du séquençage de nouvelle génération sur la cohorte QcALL du CHU Sainte-Justine, 389 enfants atteints de la LAL de type pré-B, nous a permis d'identifier des mutations somatiques. Certaines de ces mutations possèdent un haut potentiel d'avoir un impact fonctionnel et sont ainsi considérées comme des candidats « drivers » de la leucémie. Nous avons ainsi mis en évidence une mutation somatique faux-sens c.t697a dans le gène *PDF* (peptide-deformylase mitochondrial) partagée par trois patients. Notre hypothèse de recherche est que cette mutation est conductrice de la leucémogénèse. Dans le but de déterminer le potentiel conducteur (driver) de la nouvelle mutation récurrente c.t697a dans *PDF*, nous avons évalué son effet dans des cellules leucémiques grâce à des tests de mesure de l'activité métabolique, de l'apoptose et de la prolifération cellulaire. Il s'est avéré que cette mutation, lorsqu'elle était surexprimée dans les cellules leucémiques, menait notamment à une baisse de la production d'ATP et à une augmentation de l'apoptose. Ainsi, la mutation c.t697a dans le gène *PDF* n'est pas une mutation conductrice de la leucémogénèse. L'identification de nouvelles mutations conductrices permet de mieux comprendre l'étiologie de la LAL et éventuellement d'élaborer des approches personnalisées pour la gestion et le soin des enfants atteints de cette maladie.

Mots-clés : cancer pédiatrique, leucémie aiguë lymphoblastique, mutations drivers, peptide-deformylase mitochondrial, Validation fonctionnelle

Abstract

Acute lymphoblastic leukemia (ALL) is the most common childhood cancer, representing 25% of all pediatric tumors. With the current therapies the survival rate is about 90%. However, the remaining patients who do not respond to current treatments still represent the principal cause of mortality related to children's cancer. To deepen our knowledge on the causes of this disease and to understand the underlying genetic architecture of ALL, we performed a depth study of childhood ALL by characterizing mutations that can drive to leukemogenesis, called driver mutations. The use of high throughput sequencing on a cohort of 389 ALL pre-B pediatric patients led us to identify somatic mutations. Several of these mutations had strong predicted functional impact and were thus considered as putative driver mutations of leukemia. One of these mutations, the non-sense somatic mutation c.t697a on the *PDF* (peptide deformylase, mitochondrial) gene was shared by three patients. Our research hypothesis is that this mutation is a driver of leukemogenesis. In order to determine the driver potential of the new recurrent mutation c.t697a in *PDF*, we evaluated its effect in leukemic cells by measuring metabolic activity, apoptosis, and cellular proliferation. It was found that this mutation, when overexpressed in leukemic cells, led to a decrease in ATP production and an increase in apoptosis. Thus, the c.t697a mutation in the *PDF* gene is not a driver mutation of leukemia. Identification of novel driver mutations will further increase our understanding of the ALL etiology and eventually allow personalized approaches for the management of children attained by this disease.

Keywords: pediatric cancer, acute lymphoblastic leukemia, driver mutations, peptide-deformylase mitochondrial, Functional validation

Table des matières

| | |
|---|----------|
| Résumé..... | i |
| Abstract | ii |
| Table des matières | iii |
| Liste des tableaux | vi |
| Liste des figures | vii |
| Liste des abréviations | x |
| Remerciements | xiii |
| | |
| Chapitre 1. Introduction | 1 |
| 1.1. La leucémie | 2 |
| 1.2. La leucémie aiguë lymphoblastique de l'enfant..... | 6 |
| 1.2.1. Incidence, survie et diagnostic..... | 6 |
| 1.2.2. Traitements | 9 |
| 1.2.3. Les causes | 11 |
| 1.3. Mutations conductrices (dites drivers) | 14 |
| 1.4. Les caractéristiques du cancer | 17 |
| 1.5. Les bases génétiques de la LAL..... | 19 |
| 1.6. La peptide deformylase mitochondriale (PDF)..... | 23 |
| 1.6.1. Structure et fonction | 23 |
| 1.6.2. La chaîne de respiration mitochondriale..... | 25 |
| 1.6.3. Le stress mitochondrial..... | 27 |
| 1.6.4. Les ROS, des médiateurs de voies de signalisation..... | 29 |
| 1.6.5. L'implication de PDF dans le cancer..... | 31 |
| 1.7. Hypothèse de recherche et but du projet..... | 31 |
| 1.8. Objectifs du projet..... | 32 |

| | |
|--|-----------|
| Chapitre 2. Matériel et Méthode | 33 |
| 2.1. Culture des lignées cellulaires..... | 34 |
| 2.2. Expériences de surexpression de la mutation c.t697a sur le gène <i>PDF</i> dans des lignées cellulaires..... | 34 |
| 2.2.1. Mutagenèse dirigée..... | 36 |
| 2.2.2. Sous-clonage dans un vecteur Gateway..... | 39 |
| 2.3. Réduction de l'expression de <i>PDF</i> à l'aide de shRNAs..... | 41 |
| 2.4. Production de lentivirus..... | 41 |
| 2.5. Analyse de qRT-PCR en temps réel..... | 42 |
| 2.6. Infection des lignées cellulaires 697 et Reh..... | 43 |
| 2.7. Test apoptose..... | 43 |
| 2.8. Test de prolifération cellulaire..... | 44 |
| 2.9. Test de production d'ATP..... | 44 |
| 2.10. Test de production mROS..... | 45 |
| | |
| Chapitre 3. Résultats | 46 |
| 3.1. Identification de mutations potentiellement conductrice (drivers mutations)..... | 47 |
| 3.2. Les mutations sur le gène <i>PDF</i> | 48 |
| 3.3. Constructions plasmidiques..... | 49 |
| 3.4. Détermination de l'impact de <i>PDF</i> dans la LAL de l'enfant | 52 |
| 3.4.1. Inhibition..... | 52 |
| 3.4.2. Déplétion de la production d'ATP | 54 |
| 3.4.3. Apoptose | 56 |
| 3.4.4. Production de mROS..... | 58 |
| 3.4.5. Prolifération cellulaire | 59 |
| 3.5. Validation fonctionnelle de la mutation c.t697a sur le gène <i>PDF</i> | 61 |
| 3.5.1. Surexpression de <i>PDF</i> | 62 |
| 3.5.2. Production d'ATP..... | 63 |
| 3.5.3. Apoptose | 66 |
| 3.5.4. Production de mROS | 67 |
| 3.5.5. Prolifération cellulaire | 68 |

| | |
|---|-----------|
| Chapitre 4. Discussion, conclusion et perspectives | 69 |
| 4.1. Le rôle de PDF dans la LAL..... | 70 |
| 4.1.1. Inhibition de PDF..... | 70 |
| 4.1.2. Stress mitochondrial | 73 |
| 4.2. Caractérisation de la mutation PDF p.F233I..... | 75 |
| 4.2.1. PDF p.F233I, une mutation potentiellement passagère..... | 75 |
| 4.2.2. Un avantage sélectif potentiel | 75 |
| 4.3. Perspectives de recherche | 77 |
| 4.3.1. Limites du projet | 77 |
| 4.3.2. Résultats lignée-spécifique..... | 79 |
| 4.3.3. Travaux futurs..... | 80 |
| 4.3.4. Retombées potentielles..... | 81 |
| Chapitre 5. Bibliographie | 82 |
| Chapitre 6. Annexes | 93 |
| Annexe A | 94 |
| Annexe B | 97 |
| Annexe C | 98 |
| Annexe D..... | 102 |

Liste des tableaux

| | |
|---|-----|
| Tableau I : Facteurs pronostics associés à leurs groupes de risque | 7 |
| Tableau II ; Fréquence et pronostic des anomalies génétiques observées dans la LAL pré-B pédiatrique..... | 8 |
| Tableau III : Liste des amorces utilisées pour la mutagenèse dirigée (mutation c.t697a sur le gène PDF)..... | 37 |
| Tableau IV. Liste des amorces utilisées pour les expériences de qPCR..... | 43 |
| Tableau V : Caractéristiques des trois patients partageant la mutation c.t697a sur le gène PDF..... | 47 |
| Tableau VI : Liste des mutations candidates identifiées à partir du séquençage des exomes des patients de la cohorte QcALL | 102 |

Liste des figures

| | |
|--|----|
| Figure 1. Distribution des nouveaux cas de cancer par groupe d'âge, Canada, 2009-2013 | 3 |
| Figure 2. Schéma de l'hématopoïèse | 5 |
| Figure 3. Aperçu du traitement de la LAL | 10 |
| Figure 4. Les causes de la LAL de l'enfant | 13 |
| Figure 5. Stratégie pour l'identification de mutations conductrices | 16 |
| Figure 6. Les caractéristiques du cancer | 18 |
| Figure 7. Les caractéristiques émergentes du cancer et les caractéristiques qui leur en donnent la capacité | 19 |
| Figure 8. Anomalies cytogénétiques et moléculaire de la LAL de l'enfant | 21 |
| Figure 9. Position et transcrit du gène PDF | 23 |
| Figure 10. Structure tridimensionnelle de la peptide deformylase mitochondriale..... | 24 |
| Figure 11. La chaîne de respiration mitochondriale localisée à l'intérieur de la membrane mitochondriale | 26 |
| Figure 12. « Cross talk » entre les ROS et les voies de signalisation des MAPK | 30 |
| Figure 13. Structure du plasmide pCMV-SPORT6 | 35 |
| Figure 14. Schéma de l'approche mise en place pour générer les formes sauvage et mutée (mutation c.t697a) du gène PDF..... | 36 |
| Figure 15. Illustration du principe de mutagenèse dirigée à l'aide de la trousse QuickChange II Site-directed Mutagenesis..... | 38 |
| Figure 16. Schéma du mécanisme de la technologie Gateway..... | 40 |

| | |
|--|----|
| Figure 17. Les différentes altérations du gène PDF | 48 |
| Figure 18. Les mutations connues sur le gène PDF | 49 |
| Figure 19. Construction plasmidique de PDF_pLenti obtenue à l'aide du logiciel SnapGene Viewer | 50 |
| Figure 20. Résultats du séquençage Sanger..... | 51 |
| Figure 21. Migration sur gel après digestion enzymatique par KpnI de PDF_pLenti..... | 52 |
| Figure 22. Niveaux d'expression de PDF après infection avec des shRNAs..... | 53 |
| Figure 23. Quantité d'ATP par cellule après infection avec un shRNA | 54 |
| Figure 24. Quantité d'ATP par cellule après un traitement à l'actinonin | 55 |
| Figure 25. Pourcentage d'apoptose après infection avec un shRNA, dans des conditions basales et après un traitement à l'H ₂ O ₂ | 56 |
| Figure 26. Pourcentage d'apoptose après un traitement à l'actinonin, dans des conditions basales et après un traitement à l'H ₂ O ₂ | 57 |
| Figure 27. Quantité de mROS après infection avec un shRNA | 58 |
| Figure 28. Quantité de mROS après un traitement à l'actinonin | 59 |
| Figure 29. Courbes de prolifération après infection avec un shRNA | 60 |
| Figure 30. Courbes de prolifération après un traitement à l'actinonin | 61 |
| Figure 31. Expression de PDF après infection avec des lentivirus | 62 |
| Figure 32. Quantité d'ATP par cellule après infection avec des lentivirus | 63 |
| Figure 33. Quantité d'ATP par cellule après infection avec des lentivirus lorsque cultivées dans un milieu contenant du pyruvate | 65 |
| Figure 34. Pourcentage d'apoptose dans les cellules après infection avec des lentivirus dans les conditions basales et après un traitement à l'H ₂ O ₂ | 66 |

| | |
|--|----|
| Figure 35. Quantité de mROS dans les cellules après infection avec des lentivirus | 67 |
| Figure 36. Courbes de prolifération après infection des cellules avec des lentivirus | 68 |
| Figure 37. Schéma du modèle hypothétique de l'inhibition de PDF | 72 |
| Figure 38. Schéma du modèle hypothétique de la surexpression de PDF p.F233l. | 76 |
| Figure 39. Schéma du plasmide d'emballage de 3 ^{ème} génération pMD2.G utilisé pour produire des lentivirus | 94 |
| Figure 40. Schéma du plasmide d'emballage de 3 ^{ème} génération pRSV-Rev utilisé pour produire des lentivirus | 95 |
| Figure 41. Schéma du plasmide d'emballage de 3 ^{ème} génération pMDLg/pRRE utilisé pour produire des lentivirus..... | 96 |
| Figure 42 : Expression de PDF dans les cellules Reh et 697. Mesure au qPCR de la quantité d'ARNm de PDF. | 97 |
| Figure 43 : Caractéristiques cliniques et cytogénétiques de la cohorte QcALL | 98 |

Liste des abréviations

ADN : acide désoxyribonucléique
ADNc : ADN complémentaire
ARN : acide ribonucléique
ARNm : acide ribonucléique messenger
AnV : annexin V
AIF : Apoptosis-inducing factor
BMK1/ERK5 : big MAP kinase 1/ extracellular-signal-regulated kinase 5
CEB/P : CCAAT-enhancer-binding proteins
CHOP : transcription factor CCAAT-enhancer-binding protein homologous protein
CHU : centre hospitalier universitaire
CHUL : centre hospitalier de l'Université Laval
CNV : copy number variation
COSMIC : Catalogue Of Somatic Mutations In Cancer
CR : complexe respiratoire
CSH : cellule souche hématopoïétique
DAG : diacylglycerol
DMEM : Dulbecco's Modified Eagle's medium
dNTPs : deoxyribonucleotides
DTT : dithiothréitol
EBV : Epstein Barr virus
ERK : extracellular signal-related kinase
FAB : French-American-British
FACS : fluorescence-activated cell sorting
FBS: foetal bovine serum
FMT : formyltransferase methionyl-tRNA
GAPDH : glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase
GSH : glutathion réduit
H₂O₂ : peroxyde d'hydrogène
HEK 293T : human embryonic kidney 293 transformed with T antigen
HIV : Human immunodeficiency virus
IP3 : inositol triphosphate
JNK : c-Jun N-terminal kinase

KCL : chlorure de potassium
LAL : Leucémie aiguë lymphoblastique
LAL pré-B : leucémie aiguë lymphoblastique de type pré-B
LB : lysogeny broth
MAPKKK : MAP kinase kinase kinase
MAPKK : MAP kinase kinase
MAPK : Mitogen-activated protein kinase
MEC : Matrice extracellulaire
MgCl₂ : chlorure de magnésium
M-MLV : Moloney Murine Leukemia Virus
MMPs : metalloproteases
MPP : multipotent progenitor
MRD : Minimal Residual Disease
mROS : mitochondrial reactive oxygen species
mtDNA : ADN mitochondrial
mtTERM : terminateur de la transcription mitochondrial
MTX : methotrexate
NADH : nicotinamide adénine dinucleotide
NGS : Next-generation sequencing
NO• : oxide nitrique
NT : non traité
O₂ : oxygen
O₂•- : anion superoxide
OH• : radical hydroxyl
OH- : ion hydroxyl
OMS : Organisation Mondiale de la Santé
PCR : polymerase chain reaction
PDF : peptide deformylase, mitochondrial
PI : propidium iodide
PLC : phospholipase c
QcALL : Québec childhood ALL
qPCR : quantitative polymerase chain reaction
qRT-PCR : quantitative reverse transcription polymerase chain reaction
ROS : Reactive oxygen species
RPMI : Roswell Park Memorial Institute medium
RNase : ribonuclease

rRNA : ARN ribosomal

RT-PCR : reverse transcription polymerase chain reaction

SNC : Système nerveux central

SOD : superoxide dismutase

tRNA :ARN transfert

UV : Ultraviolet

WES : Whole-exome sequencing

WGS : Whole-genome sequencing

WT : wild type

Remerciements

Je remercie en tout premier lieu mon directeur de recherche, le Dr Daniel Sinnett, pour la confiance qu'il m'a témoignée en m'offrant l'opportunité d'effectuer ma Maîtrise au sein de son laboratoire, mais aussi pour m'avoir mis à disposition le temps nécessaire à sa réalisation. Ses conseils et son aide m'ont été précieux au cours de ces deux dernières années. Je remercie également les membres du jury, qui ont accepté de donner de leur temps précieux pour l'examen de ce modeste travail, et de l'enrichir par leurs propositions. Avec autant de respect que de gratitude, je souhaite remercier un grand nombre de mes professeurs qui m'ont accompagnée, formée, et alimenté ma soif d'apprendre.

Je remercie chaleureusement toutes les personnes avec qui j'ai eu le plaisir de travailler et discuter au laboratoire : Manon, Thomas, Romain, Alexandre, Claire, Maxime, Lucas, Pascal, Simon, Patrick et Haytham. Merci à Chantal et Sylvie d'avoir été les meilleures voisines de bureau possible, toujours positives et attentives à mes besoins. Merci Jasmine pour l'encadrement et l'aide que tu m'as apportée, ainsi que pour ta douceur et ta sympathie. Merci Fida de m'avoir soutenue depuis le début, pour ton amitié, tes encouragements, et les bons soupers. Merci à Pauline qui m'a inculqué son savoir-faire tout à fait précieux, qui m'a encadrée de façon exceptionnelle, et pour qui j'ai beaucoup d'affection. Merci infiniment Benjamin pour l'aide personnelle et professionnelle que tu m'as apporté et pour ta rigueur.

Je remercie du fond du cœur mes amis de Montréal : Anouar, Anaïs, Fanny, et Jade d'illuminer ma vie au quotidien. Je tiens également à remercier mes plus proches amis de France : Oriane, Naomi Ariel, Jordan, Marc, Emma, Audrey et Stéphane. Malgré le temps qui passe et la distance, nos liens sont toujours aussi forts, et je vous aime toujours autant.

Un grand merci à mes parents que j'aime très fort, et qui ont toujours fait preuve d'un soutien inconditionnel. Vos encouragements m'ont fait surmonter tous les obstacles. Vous avez fait ce que je suis aujourd'hui et je ne vous en remercierai jamais assez. Enfin, merci à mon petit frère Nicolas, qui est non seulement un pilier pour moi, mais aussi mon meilleur ami, et qui m'accompagne tous les jours dans les bons comme les mauvais moments.

Chapitre 1. Introduction

1.1. La leucémie

Le cancer est un groupe de maladies pouvant toucher n'importe quelle partie de l'organisme. Il apparaît à partir de la transformation de cellules normales en cellules tumorales qui prolifèrent rapidement, et lorsqu'elles envahissent d'autres organes, forment des métastases. Ces dernières sont la principale cause de décès par cancer.

Le cancer touche des personnes de tout âge et de tout sexe. Les cancers pédiatriques représentent moins de 1% de l'ensemble des cancers [1]. Au Canada, environ 850 nouveaux cas de cancer sont diagnostiqués chaque année chez les enfants. Parmi eux, environ un enfant sur cinq décèdera de cette maladie. Contrairement aux cancers adultes, les cas pédiatriques présentent une plus grande proportion de tumeurs hématopoïétiques, surtout des cas de leucémie. Avec 32% du total de cancers diagnostiqués, la leucémie est le type de cancer pédiatrique le plus fréquent chez les enfants de 0 à 14 ans, suivie des cancers du système nerveux central (SNC) (23,7%) et des lymphomes (13,4%) [2] (fig. 1).

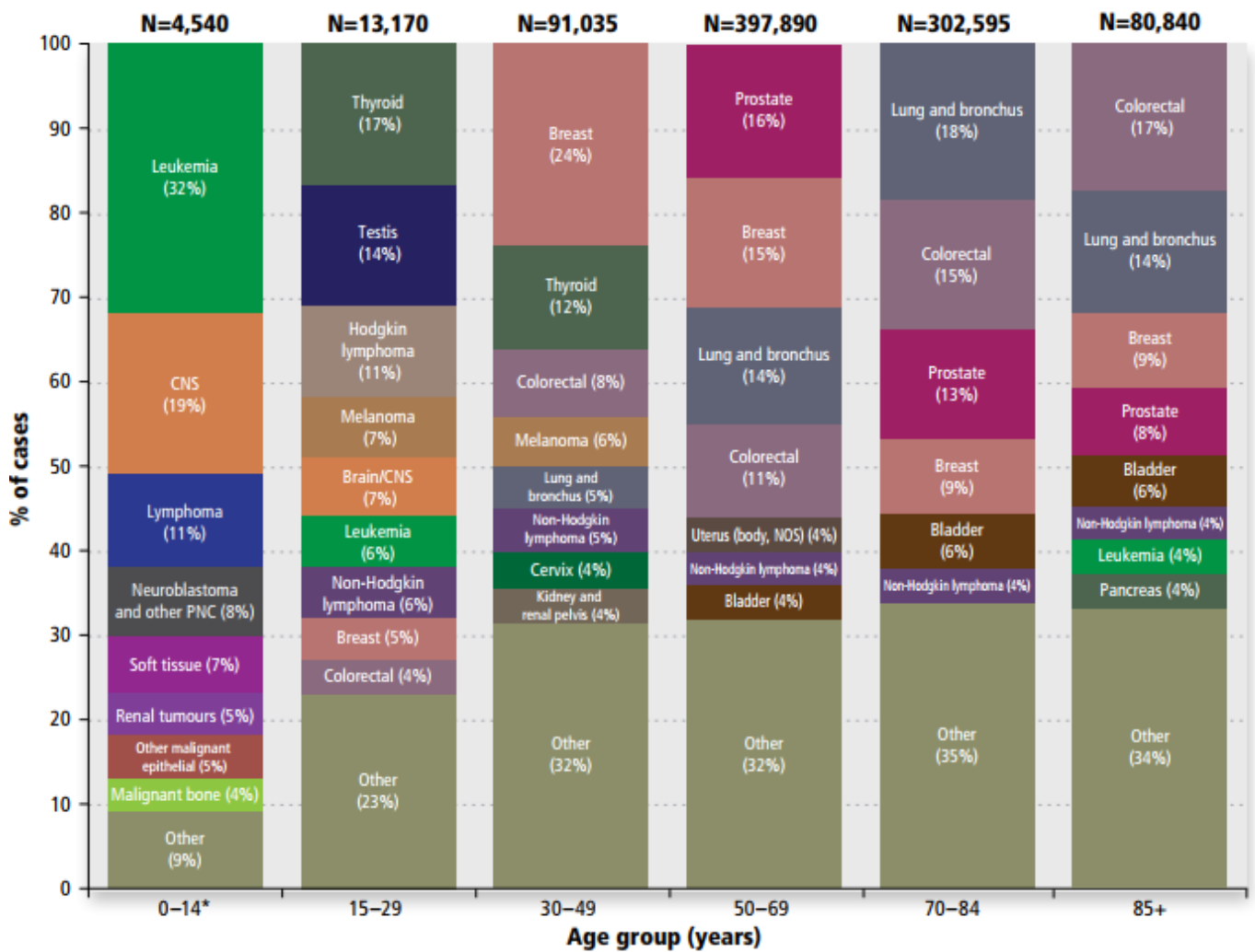


Figure 1. Distribution des nouveaux cas de cancer par groupe d'âge, Canada, 2009–2013. Données tirées de Statistiques canadiennes sur le cancer 2017 [2].

Une leucémie se développe lorsqu'une cellule souche hématopoïétique (CSH) acquiert des altérations génétiques qui la transforment en cellule néoplasique. La CSH arrête de se différencier et est capable d'auto-renouvellement à l'origine de la prolifération clonale maligne [3]. Les cellules cancéreuses s'accumulent dans le sang et la moelle osseuse et sont souvent répandues dans tout le corps au diagnostic [2]. Il existe de nombreux types de leucémies, qui sont classées selon la lignée de cellules sanguines à partir desquelles elles se développent. La leucémie lymphoïde prend naissance dans les cellules souches lymphoïdes anormales qui, dans l'hématopoïèse, se différencient en lymphocytes de type B ou T. Elle représente 75 à 80% des cas de leucémie chez l'enfant [3]. La leucémie myéloïde débute dans les cellules souches myéloïdes anormales, qui elles, se différencient lors de l'hématopoïèse, en neutrophiles, en éosinophile, en basophile, en globules rouges, en plaquettes, et en granulocytes. [2] (fig. 2). Elle représente, quant à elle, 20% des cas de leucémie chez l'enfant [4].

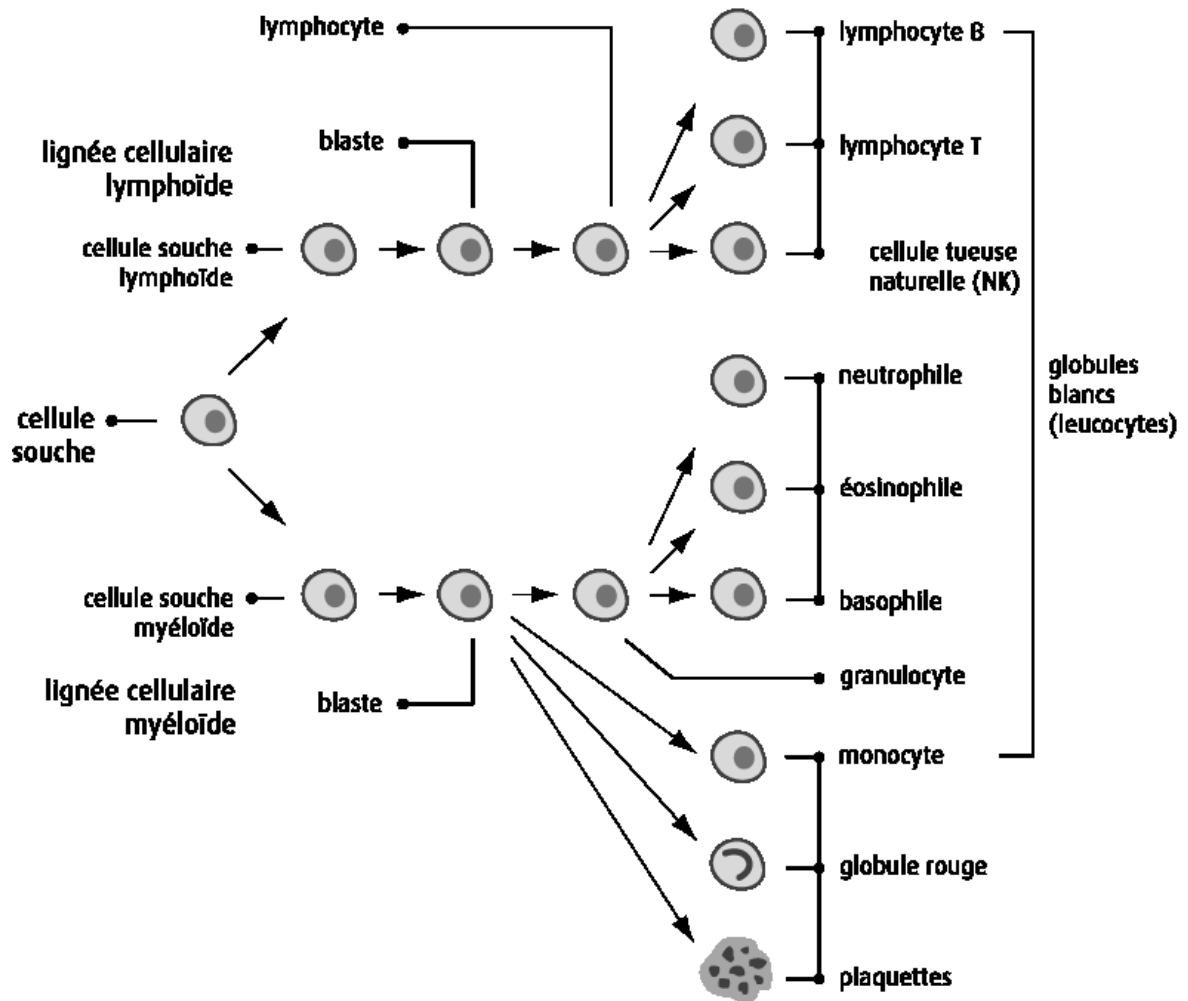


Figure 2. Schéma de l'hématopoïèse. Figure reproduite de Comité consultatif de la Société canadienne du cancer : Statistiques canadiennes sur le cancer 2017 [2].

Les types de leucémies sont ensuite subdivisés en fonction de la rapidité à laquelle la maladie se développe et évolue. La leucémie aiguë débute de manière soudaine et se développe en quelques jours ou quelques semaines. La leucémie chronique se développe lentement en plusieurs mois ou même années [2].

1.2. Leucémie aiguë lymphoblastique de l'enfant

1.2.1 Incidence, survie et diagnostic

La leucémie aiguë lymphoblastique (LAL) est la leucémie la plus commune chez les enfants de 0 à 14 ans. Elle affecte davantage les garçons que les filles [5].

Au cours des dernières décennies le développement de thérapies pour le traitement du cancer de l'enfant a permis d'atteindre des taux de survie de 90% [6]. Pour la LAL, le taux de survie globale est passé de 10% il y a 50 ans à presque 90% aujourd'hui [5]. Et pourtant, environ 70% des survivants subiront des complications à long terme. On observe chez les survivants d'une LAL, une incidence élevée de syndrome métabolique, et d'ostéonécrose [7, 8].

Les différents types de leucémie aiguë lymphoblastique (LAL) prennent naissance dans différents types de lymphocytes. Près de 85 % des cas de LAL proviennent des précurseurs de lymphocytes B (lymphoblastes), et 15 % proviennent des précurseurs de lymphocytes T [2].

La classification des LAL pré-B ou pré-T est basée sur la morphologie des cellules, en utilisant des caractéristiques cytologiques (taille de la cellule, chromatine nucléaire, forme du noyau, importance du cytoplasme) référencées par le système de classification French-American-British (FAB) [9] ainsi que des marqueurs immunophénotypiques qui peuvent révéler les antigènes présents à la surface des cellules cancéreuses grâce à la cytométrie en flux [10].

Les enfants atteints de certains syndromes génétiques et immunitaires (syndrome de Down, anémie de Fanconi, neurofibromatose de type 1, syndrome de Bloom, ataxie télangiectasie) ont un risque accru de développer une LAL [11]. Un âge supérieur à 10 ans, présentant un compte de leucocytes $\geq 50 \times 10^9$ /Litre au diagnostic, de groupe ethnique hispanique ou africain, de sexe masculin, et d'immunophénotype pré-T sont de mauvais facteurs pronostiques [12-16] (tableau I). Les enfants possédant un réarrangement KMT2A, avec un compte de leucocytes $> 300 \times 10^9$ /L au diagnostic, ont eux aussi un mauvais pronostic (tableau I). Les patients atteints d'une LAL dont le sous-groupe est hyperdiploïde (i.e. qui présentent des chromosomes surnuméraires) ou présentant la translocation t(12 ;21) , qui comptent chacun pour environ 1/3 des LAL, ont, quant à eux, un pronostic favorable [5] (tableau II).

| Facteur pronostic | Groupe de risque |
|---|-------------------------|
| Âge ≥ 1 et < 10 ans | Pronostic favorable |
| Trisomie 4, 10, 17 | Pronostic favorable |
| Absence d'envahissement du SNC au diagnostic | Pronostic favorable |
| Âge ≥ 10 et < 15 ans | Mauvais pronostic |
| MRD à la fin de la phase d'induction | Mauvais pronostic |
| Hispanique ou africain | Mauvais pronostic |
| Sexe masculin | Mauvais pronostic |
| Immunophénotype pré-T | Mauvais pronostic |
| Âge ≥ 15 ans | Très mauvais pronostic |
| compte de leucocytes $\geq 50 \times 10^9$ /Litre | Très mauvais pronostic |
| BCR/ABL1 | Très mauvais pronostic |
| Pas de rémission complète après l'induction | Très mauvais pronostic |

Tableau I : Facteurs pronostics associés à leurs groupes de risque. MRD :

Minimal residual disease. Données tirées de Lee and Cho, 2017 [17].

| Anomalies génétiques | Protéine de fusion | Fréquence | Pronostic |
|--|-------------------------------------|-----------|-------------|
| t(12 ;21)(p13 ;q22) | ETV6-RUNX1 | 25% | favorable |
| Hyperdiploïdie (> 50) | N/A | 20-30% | favorable |
| Réarrangements de <i>CRLF2</i> | P2RY8-CRLF2 IGH-CRLF2 | 6-7% | défavorable |
| Amplification intra-chromosomique du chr21 | N/A | 2-3% | défavorable |
| t(9 ;22)(q34 ;q11.2) (chromosome de Philadelphie) | BCR-ABL1 | 2-4% | défavorable |
| Réarrangements de <i>KMT2A</i> | KMT2A-AF4 KMT2A-AF9 KMT2A-ENL | 1-2% | défavorable |
| Hypodiploïdie (< 44) | N/A | 1-2% | défavorable |

Tableau II : Fréquence et pronostic des anomalies génétiques observées dans la LAL pré-B pédiatrique. N/A : non-applicable. Données tirées de Pui et al. , 2011 [18].

Afin d'évaluer le pronostic des patients durant leur traitement de chimiothérapie on peut mesurer les Minimal Residual Disease (MRD). Ce sont des petits nombres de cellules leucémiques qui restent dans le patient pendant le traitement, ou après lorsqu'il est en rémission. C'est la principale cause des rechutes dans le cancer. Aujourd'hui, nous disposons de tests moléculaires basés sur l'AND, l'ARN ou les protéines qui peuvent les mesurer dans un échantillon de sang. Cela permet d'évaluer la réponse de chaque patient à la thérapie initiale et permet de modifier le traitement en temps réel [19]

1.2.2. Traitements

Le traitement de la LAL est adapté en fonction du risque de rechute. Ce dernier est déterminé lors du diagnostic à l'aide d'un ensemble de critères cliniques génétiques et moléculaires incluant l'âge, le sexe, le taux de globules blancs, les anomalies chromosomiques, etc (tableaux I et II).

La première phase est l'induction. Elle dure 4 à 6 semaines et elle comprend l'administration de quatre à cinq agents. Classiquement, un glucocorticoïde (prednisone ou dexaméthasone), de l'asparaginase, de la vincristine. Eventuellement, on rajoute une anthracycline comme la doxorubicine (un agent intercalant et inhibiteur de la topoisomérase II). Cette étape éradique l'essentiel des cellules leucémiques initiales et restaure l'hématopoïèse dans 96 à 99% des enfants. Ils sont alors considérés en rémission [5, 15, 16] (fig. 3).

La deuxième phase du traitement dure 6 à 8 mois et est appelée consolidation ou intensification. Elle permet d'éliminer les cellules leucémiques résiduelles pouvant provoquer une rechute [17, 20]. Durant cette phase, on administre de hautes doses de méthotrexate (MTX) (un antimétabolite), d'asparaginase, de vincristine et de glucocorticoïdes [5] (fig. 3).

La dernière phase du traitement est la phase d'entretien et peut durer jusqu'à trois ans. Elle vise à maintenir la rémission et prévenir une rechute (fig. 3). Cette phase nécessite l'administration de doses moins élevées de médicaments mais sur une période beaucoup plus longue. On y combine du méthotrexate (MTX), ainsi que de la vincristine et de la prednisone. Lors d'une rechute, les patients ayant un mauvais pronostic peuvent recevoir une transplantation de cellules souches hématopoïétiques (fig. 3). On peut également avoir recours à la radiothérapie pour traiter la LAL de l'enfant. On peut l'administrer pour traiter la propagation de la maladie au système nerveux central (SNC), ou une leucémie qui s'est propagée aux testicules. Il est possible d'y avoir recours également pour préparer l'enfant à une greffe de cellules souches [2].

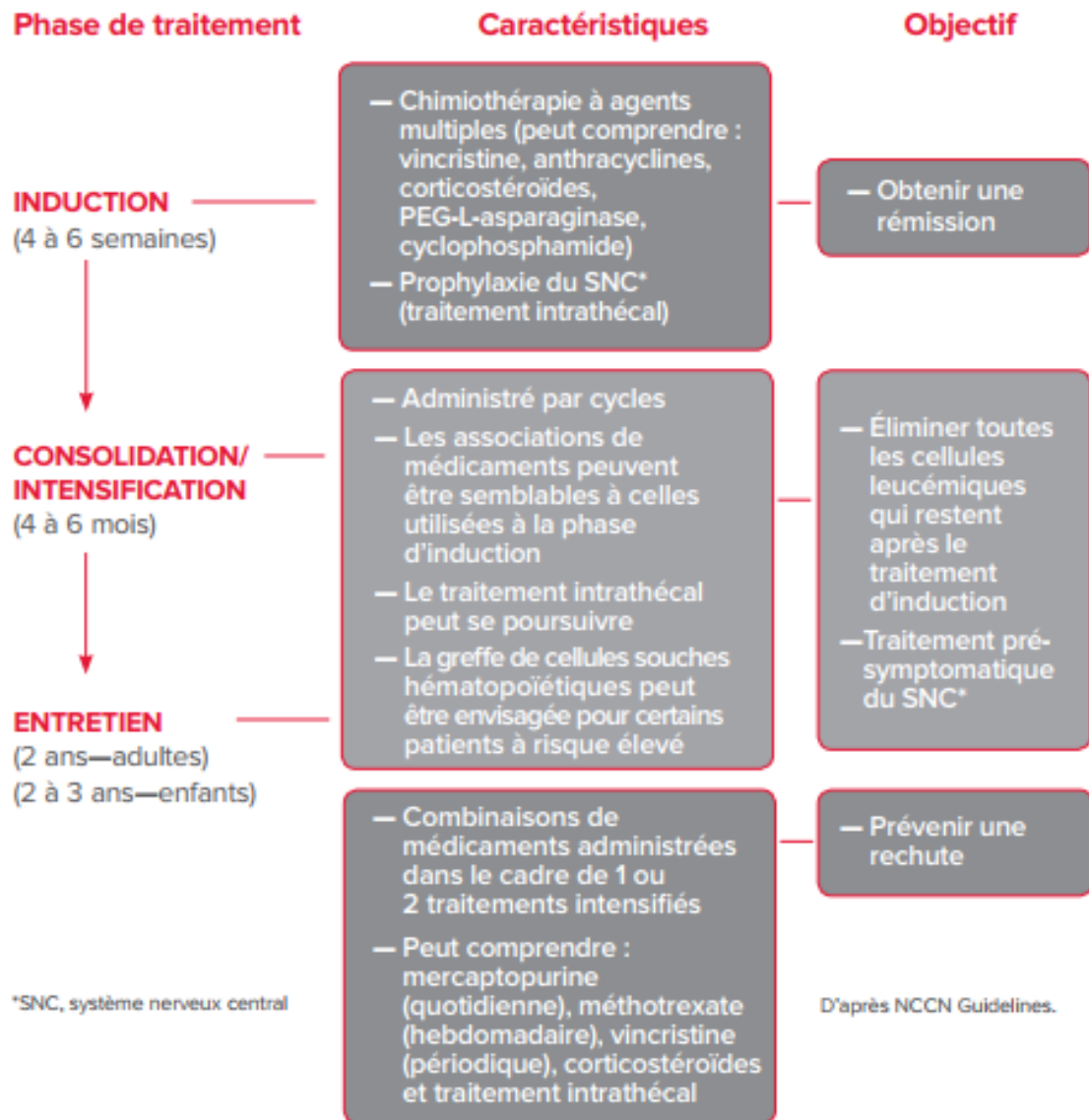


Figure 3. Aperçu du traitement de la LAL. Figure reproduite de Société de leucémie & lymphome du Canada (SLLC), 2017 [20].

Parfois, on peut administrer un traitement ciblé pour traiter la LAL. En effet, chaque patient présente une sensibilité à la chimiothérapie, ainsi qu'une susceptibilité à la toxicité du traitement, différentes. C'est ce qui a mené à développer des traitements plus personnalisés notamment en mesurant les MRD ou en utilisant des techniques de biologie moléculaire pour identifier des mutations dans les cellules leucémiques qui peuvent être ciblées par des drogues [13, 19].

1.2.3. Les causes

Un cancer commence à se développer lorsque le génome d'une cellule subit des modifications comme des mutations génétiques qui lui donnent la capacité de se multiplier de façon anarchique [21]. Les causes de la LAL sont encore peu connues mais on soupçonne que des facteurs environnementaux influenceraient le développement de la maladie. Parmi eux, les cancérogènes physiques (rayonnement ultraviolet (UV) [22] et les radiations ionisantes, mais aussi les cancérogènes chimiques (amiante, arsenic et les composants de la fumée de tabac [23]). Enfin, nous avons les cancérogènes biologiques comme des infections dues à certains virus (Epstein Barr virus (EBV), Human immunodeficiency virus (HIV)) [24], bactéries ou parasites.

La LAL est donc une maladie complexe, son développement impliquant des facteurs environnementaux et des événements génétiques. Une autre complexité s'ajoute à cause des variations héritées, des interactions gène-gène et gène-environnement, et des interactions entre la tumeur et son microenvironnement [25].

Dans le cas des LAL, le temps d'exposition à l'environnement extérieur est très court puisque la plus grande incidence a lieu au cours de la période de 2 à 5 ans. L'aspect génétique est donc important. [5]. La LAL est la résultante de multiples altérations somatiques acquises successivement par un progéniteur anormal en suivant une chronologie particulière. Ces événements perturbent des voies de signalisation multiples : il s'agit de mutations ponctuelles, de délétions et des altérations chromosomiques, notamment des translocations [26 - 28].

Certains de ces événements génétiques apparaissent in utero, lors de l'hématopoïèse foétale. Par exemple, les réarrangements du gène *KMT2A*, qui sont retrouvés chez 80% des nourrissons atteints de LAL, ont été rapportés comme étant influencés par l'exposition de la mère pendant sa grossesse à des agents chimiques qui inhibent la topoisomérase II tels que les bioflavonoïdes ou

certaines agents chimiothérapeutiques. Cette inhibition de la topoisomérase II favoriserait des coupures dans le gène *KMT2A* et permettrait l'apparition de réarrangements comme des translocations qui sont très fréquentes dans les leucémies pédiatriques [29, 30]. D'autre part, de plus en plus d'évidences démontrent que la translocation t(12 ;21) est déjà présente avant la naissance de l'enfant [31, 32]. Certaines évidences laissent croire que cette translocation serait causée par des bris d'ADN double-brin mal réparés [33]. On en connaît peu sur les facteurs qui augmenteraient les risques d'occurrence des bris d'ADN menant à des réarrangements génomiques, mais on soupçonne que la carence en folate et certains carcinogènes chimiques pouvant traverser la barrière placentaire pourraient contribuer à augmenter la fréquence d'erreurs dans la réplication et la réparation de l'ADN durant le stade fœtal [26, 33-39].

Toutefois, des expériences ont démontré que ces réarrangements ne sont pas suffisants à la transformation cellulaire conduisant à l'apparition d'une leucémie. La période postnatale conduit à la transformation complète et l'émergence de la leucémie par le biais de l'acquisition d'évènements génétiques secondaires. C'est l'initiation de la leucémogénèse (fig. 4) [5, 33].

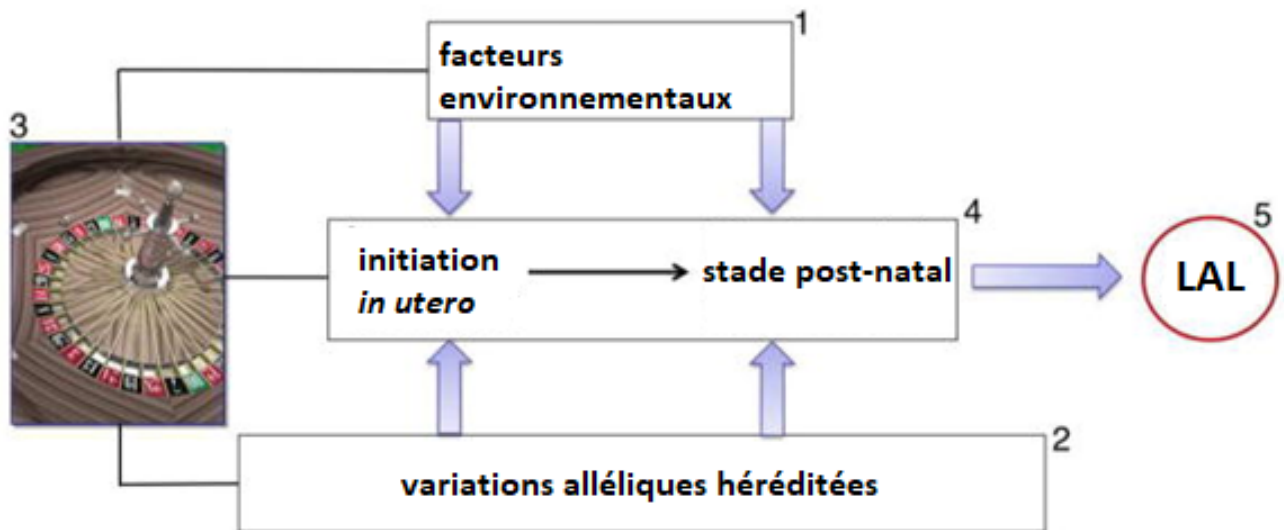


Figure 4. Les causes de la LAL de l'enfant. 1) facteurs environnementaux exogènes (infection) et endogènes (inflammation, stress oxydatif) 2) Les variations alléliques héréditées 3) et le hasard est impliqué dans le développement de la maladie. Par exemple, les expositions « accidentelles » peuvent endommager un oncogène important dans une cellule progénitrice importante, et à la conception de l'enfant, les recombinaisons de gènes ce sont faites aléatoirement. 4) La progression de l'initiation *in utero* d'un clone leucémique à un stade post-natal où le clone accumule les altérations génétiques, le menant ultimement à 5) la maladie complète. Figure reproduite de Inaba, Greaves, and Mullighan, 2013 [5].

L'infection virale serait une autre des causes de la LAL. L'hypothèse a été proposée pour la première fois en 1917 et reste une des plus plausibles [5, 40, 41]. La LAL est favorisée indirectement par une réponse immunitaire dérégulée lors d'une infection (virale ou bactérienne) dans un individu susceptible durant la période post-natale. Les enfants susceptibles sont ceux qui n'ont encore eu que peu d'exposition à des infections, et qui possèdent un clone pré-leucémique persistant généré *in utero* [41]. Les virus de l'Influenza sont des candidats potentiels [42]. En 2006, Greaves propose le mécanisme suivant : Une réponse dérégulée des cellules T à l'infection conduit à une forte réponse inflammatoire et à un relâchement de cytokines et chimiokines qui inhibent l'hématopoïèse et/ou

induit l'apoptose. Dans ce contexte, l'inflammation offre un microenvironnement où le clone pré-leucémique a un avantage dans son potentiel de survie et de prolifération. Une expansion de ces cellules peut résulter ensuite par l'acquisition de mutations secondaires, aléatoirement ou à travers l'influence d'un stress oxydatif engendré par l'inflammation [41 - 44].

1.3. Mutations conductrices (dites drivers)

Les mutations conductrices (dites drivers) sont des altérations génomiques qui confèrent un avantage sélectif à la cellule cancéreuse. Un séquençage nouvelle génération couplé à une analyse bioinformatique nous permet aujourd'hui de les repérer en comparant l'ADN tumoral et normal des patients atteints d'un cancer [45].

Les mutations conductrices sont différentes des mutations dites passagères dans le sens où ces dernières ne confèrent pas d'avantage sélectif à la cellule cancéreuse [46]. Elles peuvent également se distinguer par leur récurrence, les mutations conductrices étant plus fréquentes dans un échantillon (après correction de la taille des gènes) ; Mais aussi par la prédiction de l'impact fonctionnel via des algorithmes [47-51] (fig. 5). Les mutations conductrices apparaissent souvent dans les régions qui codent pour des protéines et au sein d'importants domaines fonctionnels de la protéine [46]. Cependant, il est de plus en plus reconnu que les mutations dans les régions non-codantes du génome, comme une mutation par site d'épissage ou dans les régions promotrices peuvent également être des mutations conductrices. Ainsi, l'information de la localisation de la mutation dans le génome n'est pas un facteur discriminatoire pour indiquer si une mutation est conductrice ou passagère [47]. La sélection qui s'effectue au sein même de la tumeur permet de sélectionner celles qui avantagent la cellule en la rendant notamment plus proliférative, moins prône à la mort cellulaire et moins différenciée [46].

Nous savons qu'il y a plusieurs classes de gènes qui ont besoin d'être mutés pour la progression du cancer. Il y a les tumeurs-suppresseurs, les gènes qui protègent nos cellules du cancer, qui ont donc besoin d'être inactivés ou supprimés par des mutations, ainsi que les oncogènes qui favorisent le développement du cancer. Ces gènes ont besoin d'être suractivés par des mutations ou par des amplifications du même gène pour l'initiation ou la progression du cancer [48]. Donc les mutations conductrices dans les tumeurs-suppresseur mènent généralement à une perte de fonction : mutations non-sens, des délétions ou des insertions alors que les mutations dans les oncogènes mènent à un gain de fonction [48]. Dans la LAL on retrouve des gènes tumeurs-suppresseurs majeurs comme : *CDKN2A*, *WT1*, *RB1*, *p53*, *IKZF1*, *PAX5* [52 – 56]. Au niveau des oncogènes on retrouve principalement : *BCR-ABL*, *TEL-AML1*, *MLL-AF4*, *E2A-PBX*, *SIL-TAL1*, *MYC*, *JAK1*, *HOX11*, *STAT5*, *NOTCH1*, *FLT3* [53, 55, 57 -60].

La construction d'un répertoire de mutations impliquées dans la susceptibilité aux cancers, l'initiation et la progression de la maladie, a été entrepris dans de nombreux laboratoires [61]. De nouvelles mutations conductrices ont été identifiées dans les cancers de la prostate [62], du sein [63], et des leucémies [64]. Le next-generation sequencing (NGS) est ainsi devenu un outil majeur pour ces laboratoires qui tentent de les identifier. Des méthodes bioinformatiques peuvent ensuite les prioriser en fonction de la récurrence et de l'impact prédit (fig. 5). Ensuite, il est possible de valider l'impact de la mutation à l'aide d'analyses fonctionnelles ciblant des caractéristiques d'une cellule cancéreuse telles que la prolifération, la résistance à la mort cellulaire, ou l'invasion par exemple [65].

Ce répertoire de mutations pourrait aider, au point de vue clinique, à identifier de nouvelles cibles thérapeutiques, et offrir ainsi un traitement personnalisé pour les patients atteints d'un cancer. Une tumeur étant hétérogène, le risque est de proposer une thérapie ciblée efficace uniquement sur la sous-population de cellules cancéreuses que l'on a prélevées [66].

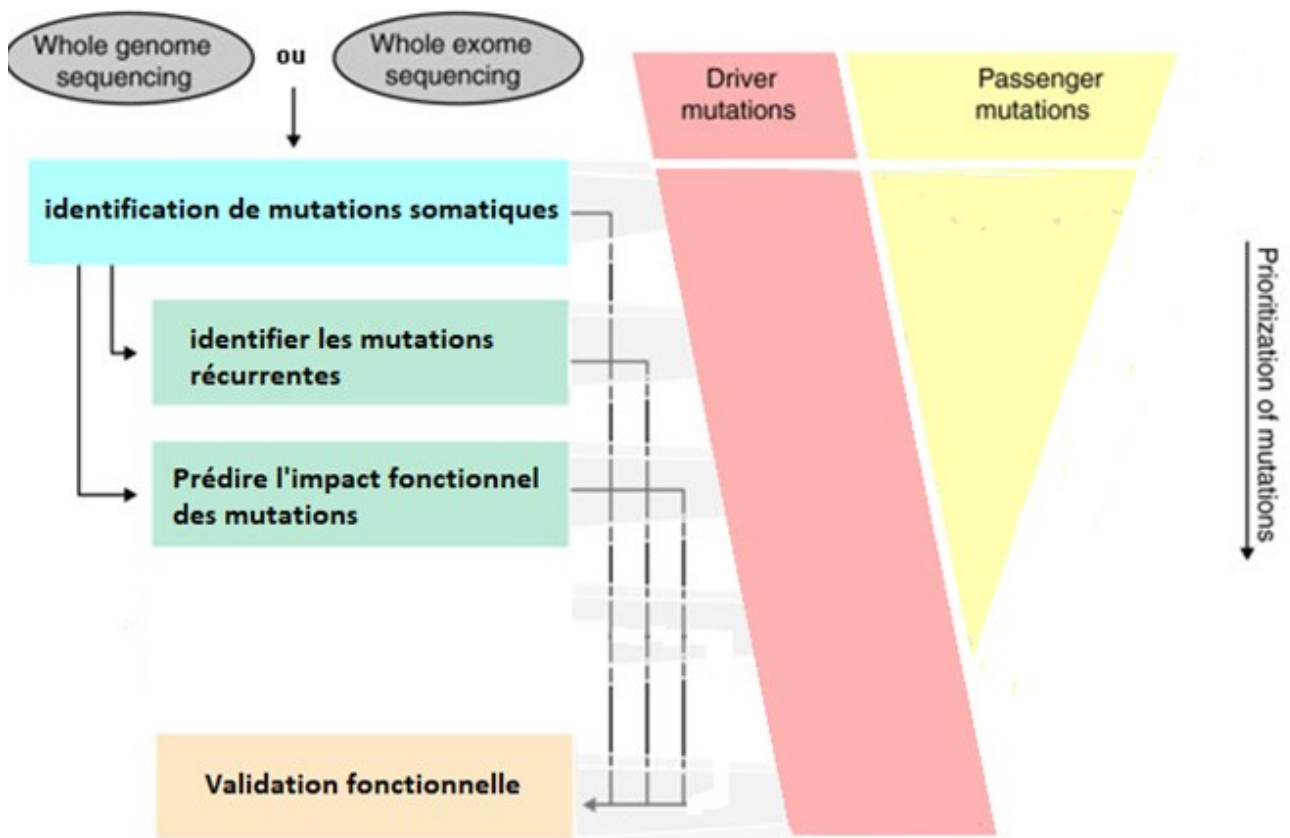


Figure 5. Stratégie pour l'identification de mutations conductrices. Un projet de séquençage du génome du cancer commence par un whole-genome sequencing (WGS) ou un whole-exome sequencing (WES). Différentes méthodes sont utilisées pour détecter les mutations somatiques (exemple : VarScan 2). Ensuite, plusieurs stratégies peuvent être employées afin de prioriser ces mutations pour les valider fonctionnellement. Ces stratégies incluent la détection des mutations récurrentes et la prédiction de l'impact fonctionnel. Aucune de ces approches n'est parfaite et on se retrouve à la fin avec une liste de mutations conductrices et passagères. Pour les discriminer, on peut valider l'effet de la mutation grâce à des techniques expérimentales. Figure reproduite de Vandin, 2014.

1.4. Les caractéristiques du cancer

Des modèles mathématiques estiment que 5 à 8 mutations conductrices sont requises pour développer un cancer [67, 68]. Les cancers acquièrent, via ces mutations conductrices, une variété de phénotypes qui vont leur permettre de progresser jusqu'au développement de métastases. Ces phénotypes sont les caractéristiques du cancer [69]. Ils incluent l'auto-suffisance en signaux de croissance, l'insensibilité aux signaux inhibiteurs de la croissance, l'évasion de l'apoptose, le potentiel réplicatif illimité, l'angiogénèse, la capacité d'invasion des tissus et de formation de métastases [69] (fig.6), ainsi que la reprogrammation métabolique, et la capacité d'évader le système immunitaire (fig. 7) [70]. En effet, l'acquisition de ces 8 caractéristiques du cancer dépend en large partie d'une succession d'altérations dans le génome de cellules néoplasiques [70]. On parle alors d'un modèle de formation du cancer en plusieurs étapes nécessitant de multiples altérations (donc étapes) touchant des processus cellulaires distincts pour qu'un cancer se développe [71].

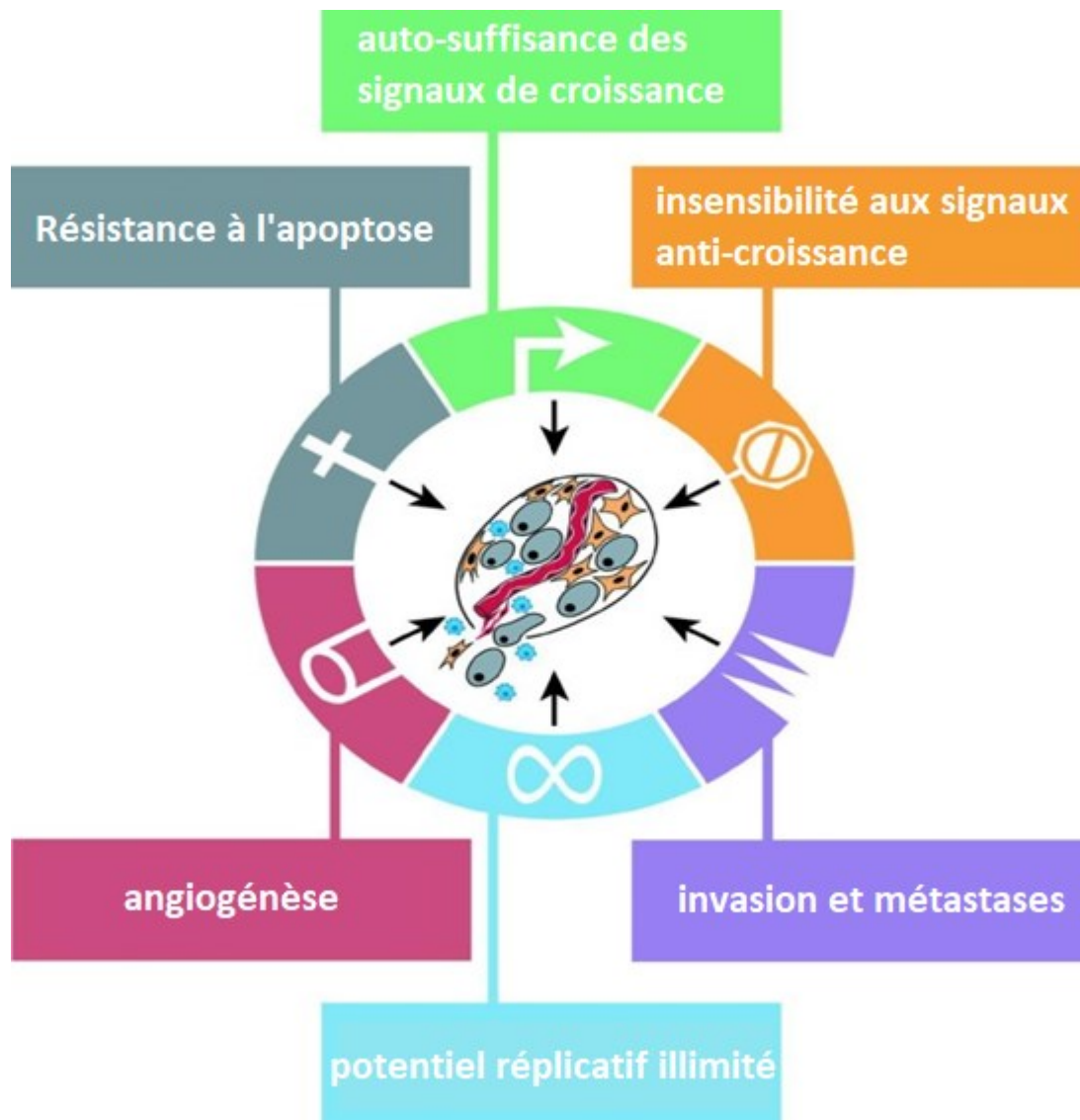


Figure 6. Les caractéristiques du cancer. Figure reproduite de Hanahan and Weinberg, 2000 [69].

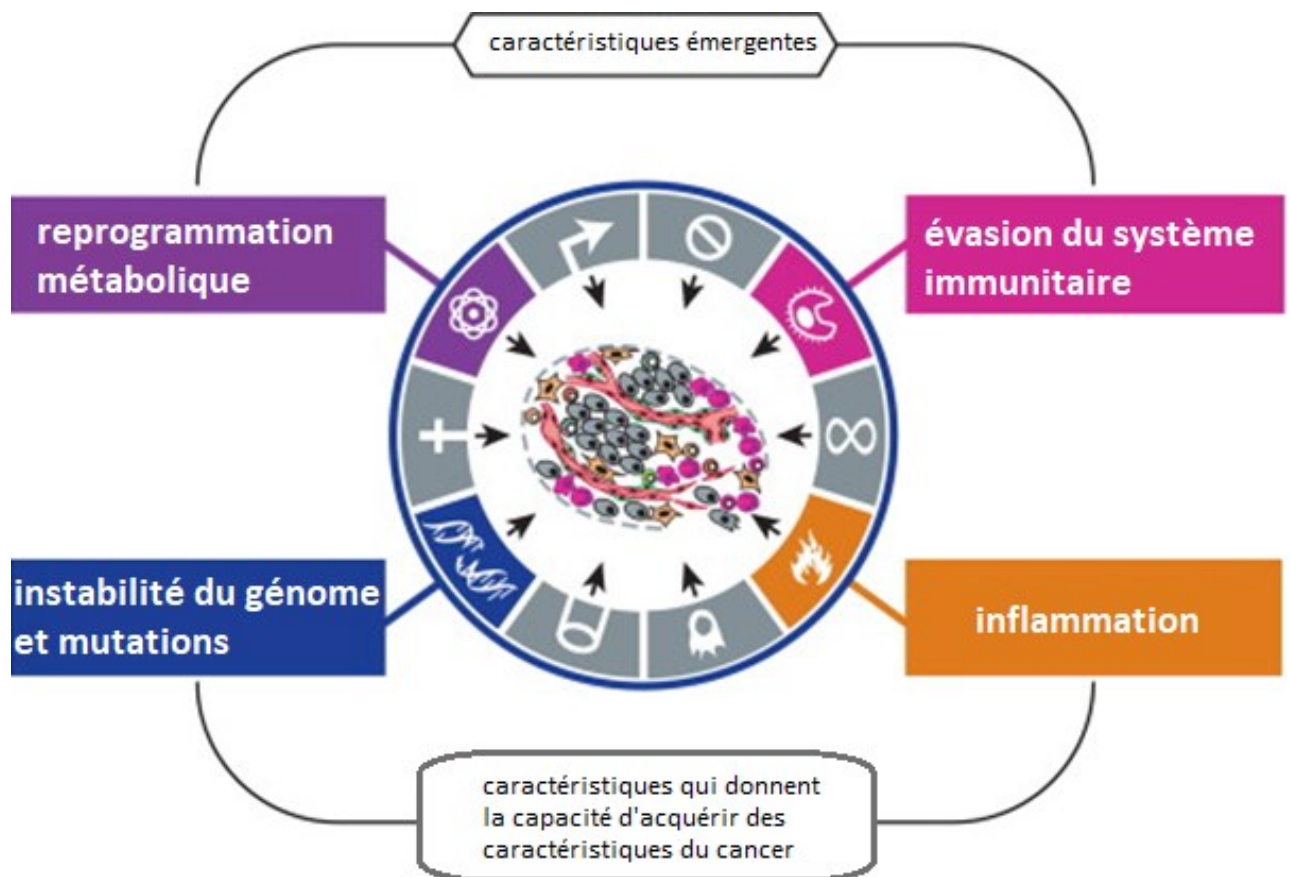


Figure 7. Les caractéristiques émergentes du cancer et les caractéristiques qui leur en donnent la capacité. Figure reproduite de Hanahan and Weinberg, 2011 [71].

1.5. Les bases génétiques de la LAL

La majorité des cas de LAL de l'enfant présente des anomalies chromosomales communes.

Dans la LAL pré-B, on retrouve des hyper et hypodiploidies et des translocations récurrentes incluant la t(12;21), codant pour la fusion ETV6-RUNX1 (TEL-AML1); la t(1;19), codant pour la fusion TCF3-PBX1 (E2A-PBX1); la t(9;22), codant pour la fusion BCR-ABL1. Beaucoup de réarrangements chromosomiques touchent

des gènes qui régulent l'hématopoïèse (exemples : *ETV6* et *RUNX1*), qui activent des oncogènes (exemple *ABL1*). Egalement, environ 20% des cas de LAL pré-B présentent des altérations génétiques qui activent constitutivement la voie des tyrosines kinases et qui peuvent être traités par un traitement incluant des inhibiteurs de tyrosine kinase (exemple : *ABL1*) [5, 43] (fig. 8).

Alors que dans la LAL pré-T, on retrouve des mutations activatrices de *NOTCH1* et des réarrangements des facteurs de transcription *HOX11*, *LYL1*, *TAL1* et *KMT2A* [44] (fig. 8).

On observe, de manière générale, de nombreuses mutations au niveau des voies régulatrices du cycle cellulaire (*TP53*, *RB1* et *CDKN2A*), des récepteurs de cytokines et de la voie de signalisation RAS/MAPK et JAK/STAT (*ABL1*, *ABL2*, *CRLF2*, *CSF1R*, *EPOR*, *FLT3*, *IL2RB*, *IL7R*, *JAK1*, *JAK2*, *JAK3*, *NTRK3*, et *PDGFRB*) et de régulateurs épigénétiques (*EZH2*, *CREBBP*, *SETD2*, *MLL2/KMT2D* et *WHSC1/NSD2*) [43, 50].

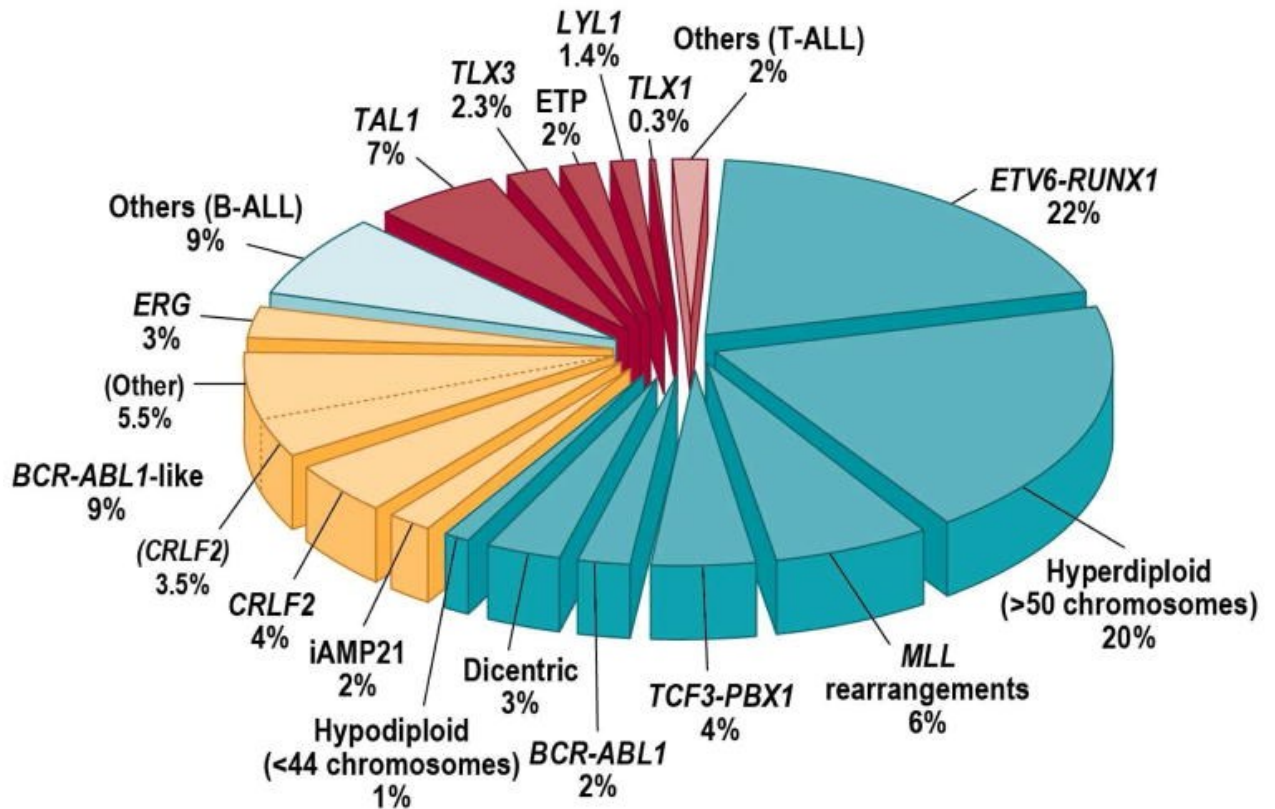


Figure 8. Anomalies cytogénétiques et moléculaire de la LAL de l'enfant. Les segments en bleu et jaune représentent celles retrouvées dans la LAL pré-B. Les segments en rouge concernent, eux, les anomalies retrouvées dans la LAL pré-T. Figure reproduite de Inaba, Greaves, and Mullighan, 2013 [5].

Malgré ces évènements mutationnels impliqués dans la LAL qui ont été identifiés, il reste encore des efforts à faire afin de mieux diagnostiquer et donner un meilleur pronostic pour les patients atteints de la maladie en particulier ceux qui ont un risque élevé de rechutes.

Aujourd'hui, le séquençage de nouvelle génération (Next-generation sequencing) (NGS) offre la possibilité de déterminer le paysage génomique spécifique aux cancers. Le NGS est à l'origine d'avancées extraordinaires dans la compréhension de la biologie des cancers. Il représente cependant un défi d'analyse majeur étant donné la masse d'information générée [43]. Ils permettent d'identifier des gènes et des mutations ayant le potentiel de jouer un rôle conducteur (driver) dans le cancer étudié. De nombreuses études ont ainsi contribué à la construction d'un répertoire d'altérations concernant des centaines de gènes impliqués dans la LAL [50, 64, 72-75]. De plus, par l'intégration de données d'expression et de méthylation, nous avons pu identifier les voies de signalisation dérégulées au niveau de la LAL-B [76, 77].

Dans notre laboratoire, nous avons réalisé le séquençage des exomes provenant de 389 enfants atteints de la LAL pré-B (figure 43 –Annexe C). La comparaison des données génomiques provenant du matériel normal et tumoral des patients à l'aide de notre pipeline bio-informatique a permis d'identifier 485 mutations candidates potentiellement impliquées dans la leucémogénèse [78] (figure 44 – Annexe D). Ceci a mené, entre autres, à la caractérisation de nouveaux drivers des LAL pré-B [79, 80] et LAL pré-T pédiatriques [78]. Dans ce répertoire de mutations potentiellement conductrices, une mutation était récurrente. La mutation faux-sens c.t697a dans le gène *PDF* a été retrouvée chez trois patients atteints de la LAL pré-B avec hyperdiploïdie (Tableau V). Cette mutation n'avait jamais été répertoriée et s'avérait intéressante à être étudiée dans le cadre de la maîtrise.

1.6. La peptide deformylase mitochondriale (PDF)

1.6.1. Structure et fonction

Le gène *PDF* sur lequel on a retrouvé la mutation c.t697a se trouve sur le chromosome 16 (à la position 16q22.1). Ce gène compte deux exons séparés par un intron de 780 pb il est composé en tout de 1975 pb (fig.9).

Le gène *PDF* code pour la protéine peptide deformylase mitochondriale qui est composée de 243 acides aminés. C'est une métalloenzyme essentielle qui s'exprime ubiquitairement. La structure de cette enzyme mitochondriale est connue [81]. Elle possède un domaine fonctionnel de 147 résidus et une queue en C-terminal de 21 résidus qui contient le motif caractéristique HEXXH des métalloenzymes qui est crucial à leur activité [81,82] (fig. 10). La structure tridimensionnelle du domaine fonctionnel a été déterminée par cristallographie et par spectrophotométrie de masse [81]. La structure est formée d'une série de brins beta antiparallèles qui entourent deux hélices alpha perpendiculaires (fig. 10).

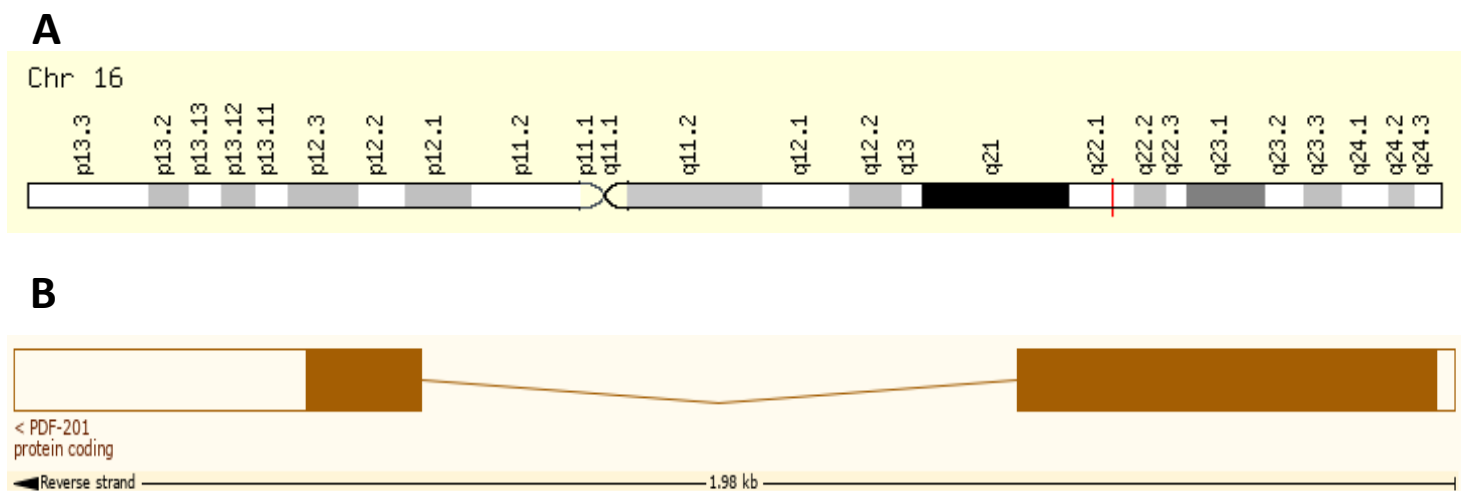


Figure 9. Position et transcrit du gène *PDF*. A) Position du gène *PDF* (16q22.1).

Figure obtenue à partir de GeneCard 2016 [82] B) Transcrit du gène *PDF* de 1975 pb composé de deux exons séparés par un intron. Figure obtenue à partir de Ensembl 2017 [83].



Figure 10. Structure tridimensionnelle de la peptide deformylase mitochondriale. On peut distinguer les deux hélices alpha perpendiculaires entourées de brins beta antiparallèles. En haut, la queue en C-terminal de 21 résidus Figure obtenue à partir de Pfam 2016 [84].

La synthèse des protéines se produit après la formylation de la méthionine par la méthionyl-tRNA formyl transferase (FMT) et le transfert de l'initiateur chargé f-met tRNA au ribosome. La peptide deformylase agit dans la voie excision de la méthionine N-terminale (N-terminal methionine excision pathway). Son rôle est de cliver le groupe formyl sur la méthionine initiatrice des peptides en cours de traduction dans la mitochondrie afin de rendre la méthionine initiatrice accessible pour que la Methionine aminopeptidase puisse la cliver [83].

1.6.2. La chaîne de respiration mitochondriale

La mitochondrie joue un rôle central dans la production d'énergie pour la cellule. Les maladies mitochondriales ont comme caractéristique commune une perturbation de la chaîne de respiration (CR) mitochondriale. La chaîne respiratoire (CR) a pour rôle essentiel la synthèse d'ATP, véritable source d'énergie pour les cellules. Cette synthèse se fait à partir de cinq complexes multi-enzymatiques localisés dans la membrane interne de la mitochondrie [85].

La CR est constituée de 4 complexes enzymatiques dont chacun est constitué de plusieurs sous-unités. Le Complexe I (NADH-déshydrogénase), le Complexe II (succinate-déshydrogénase), le Complexe III (coenzyme Q–cytochrome c réductase cytochrome b, parfois appelé coenzyme Q), le Complexe IV (cytochrome c-oxydase). Il y a également deux porteurs d'électrons mobiles : l'ubiquinone et le cytochrome c. Ainsi que l'ATP synthase (complexe V). Les quatre complexes ainsi que les porteurs d'électrons mobiles forment le système de phosphorylation oxydative [85] (fig. 11). La chaîne de respiration transfère des électrons à travers un gradient d'énergie. L'énergie relâchée est utilisée par les complexes I, III, et IV pour pomper les protons à circulant dans l'espace intermembranaire. Un gradient électrochimique de protons est par conséquent généré à travers l'espace intermembranaire. Cette force proton-motrice est exploitée par l'ATP synthase (complexe V) (fig. 11) [85].

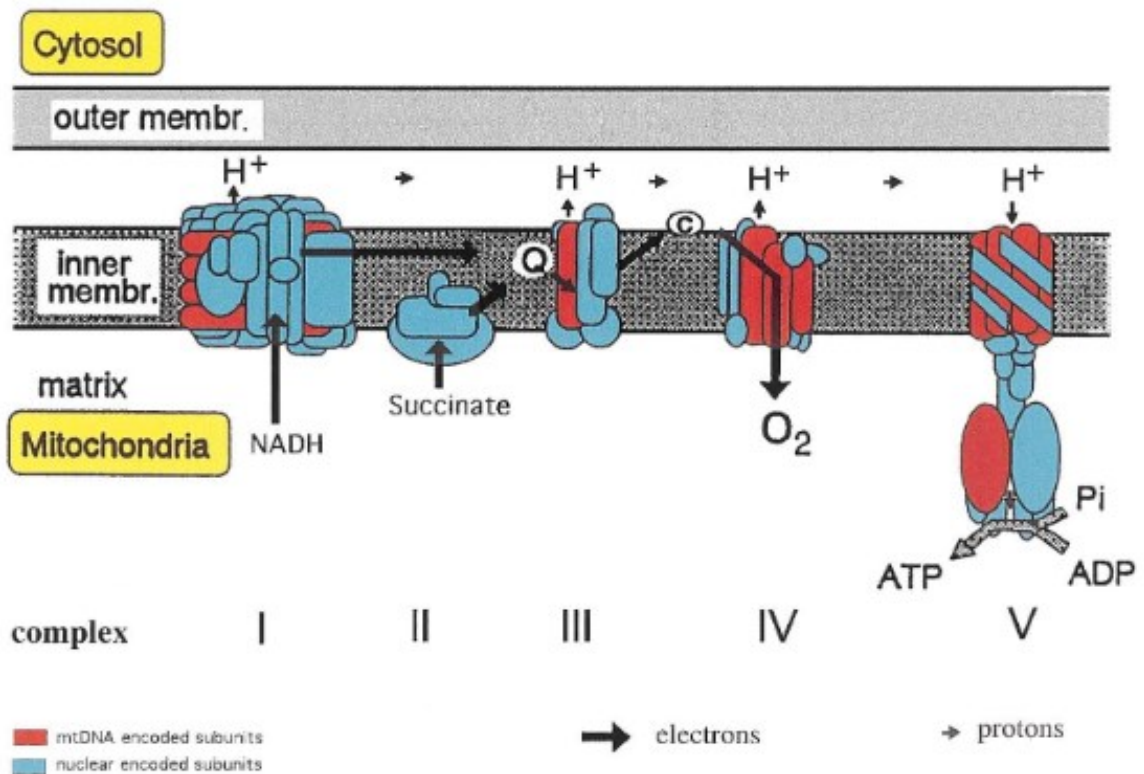


Figure 11. La chaîne de respiration mitochondriale localisée à l'intérieur de la membrane mitochondriale. Q, quinone; c, cytochrome c. La direction du flux d'électrons et la capacité de pomper les protons des complexes I, III et IV sont indiqués par des flèches. Figure reproduite de Hanna and Nelson, 1998 [86].

La plupart des processus cellulaires essentiels à la survie de la cellule dépend de l'adénosine triphosphate (ATP). Il n'est donc pas surprenant que l'altération de l'activité de la chaîne de respiration mitochondriale soit associée à des dysfonctions cellulaires.

1.6.3. Le stress mitochondrial

Dans des conditions physiologiques normales, 1 à 5% de l'oxygène est converti en ROS [87]. La production de radicaux ROS mitochondriaux (mROS) se passe à deux endroits de la chaîne de transport d'électrons : le complexe I et le complexe III [88]. Les ROS mitochondriaux (mROS) incluent l'oxygène (O_2), l'anion superoxyde ($O_2^{\bullet-}$), le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), l'oxide nitrique (NO^{\bullet}), le radical hydroxyl (OH^{\bullet}), et l'ion hydroxyl (OH^-). Le stress mitochondrial est caractérisé par la surproduction de mROS qui peuvent, d'une part, altérer la perméabilité membranaire et d'autre part, causer des dommages dans la mitochondrie, incluant des lipides, protéines et de l'ADN [89]. Ils peuvent donc mener à une instabilité génomique, qui est une des caractéristiques donnant la capacité à la cellule de présenter des phénotypes caractéristiques du cancer [71] (fig. 8). Les dommages dans l'ADN mitochondrial peuvent mener à la perturbation de la fonction des complexes I et III [90-92].

Pour prévenir les dommages causés par les ROS, les cellules ont un système de défense antioxydant qui inclut notamment la glutathione, la thioredoxine et la superoxyde dismutase (SOD) [88]. Ces dernières permettent la réduction des oxydants afin de garder un équilibre ROS/antioxydants stable. Dans la mitochondrie, la peroxydase GSH détoxifie la cellule en réduisant le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) en eau (H_2O). Un dosage de GSH ou de SOD permet de mettre en évidence un stress mitochondrial [89].

L'augmentation de mROS est une caractéristique observée dans les cellules cancéreuses qui est généralement attribuée à une inefficacité du transport d'électron dans la chaîne respiratoire mitochondriale, à un métabolisme accru, à un stress réplcatif induit par un oncogène, ou à une dynamique mitochondriale altérée [93].

Plusieurs études ont démontré que la perturbation de la fonction mitochondriale, sous des conditions de stress oxydatif, contribue à l'apoptose [96 - 101]. Sous des conditions de stress oxydatif sévère, la membrane mitochondriale subit une transition la menant vers la perméabilité. Ainsi les pores de la membrane mitochondriale s'ouvrent à des molécules plus grosses (cytochrome c, procaspases, et facteurs d'induction de l'apoptose (apoptosis inducing factor (AIF)), qui peuvent perturber la chaîne de respiration mitochondriale, causer l'arrêt de la synthèse d'ATP, et générer des ROS en surplus. Afin de corriger la balance osmotique, la diffusion de molécules d'eau (H₂O), résulte en un gonflement de la mitochondrie [96]. Ceci fera chuter le potentiel de membrane de la mitochondrie, et va relâcher du cytochrome C et les autres protéines pro-apoptotiques (AIF, ou le facteur apoptotique 1 activateur de protéase (APAF-1) dans le cytoplasme). Le complexe que forme le cytochrome c, APAF-1 et la caspase 9 active d'autres caspases et mène à l'apoptose [100, 101].

Dans des conditions de stress oxydatif, les gènes qui contrôlent le cycle cellulaire sont réprimés afin de prolonger la phase G₁. Un arrêt du cycle cellulaire est requis afin d'évaluer la quantité d'altérations des macromolécules, et si nécessaire, entrer en apoptose [99].

1.6.4. Les ROS, des médiateurs de voies de signalisation

Les ROS jouent également un rôle de médiateur dans des voies de signalisation telles que la prolifération, la différenciation et la mort cellulaire [92 – 97, 101-103]. Les voies de signalisation des Mitogen-activated protein kinases (MAPK), comme ERK, JNK, p38 kinase, ou BMK1/ERK5, consistent en une cascade d'activation par phosphorylation de différentes kinases, servant à activer certains facteurs de transcription dans le noyau de la cellule [104-108]. De cette façon, les MAPK jouent des rôles dans la prolifération, la différenciation, le développement, le cycle cellulaire, la survie et la mort cellulaire. Les ROS agissent comme des activateurs des récepteurs EGF et PDGF, qui peuvent stimuler Ras une MAPK, et peuvent mener à l'activation de la voie de signalisation ERK [102, 105, 108] (fig. 12). De plus, il a été démontré que les ROS pouvaient également activer les voies de signalisation JNK, p38 kinase, BMK1/ERK5 [101, 105] (fig. 12).

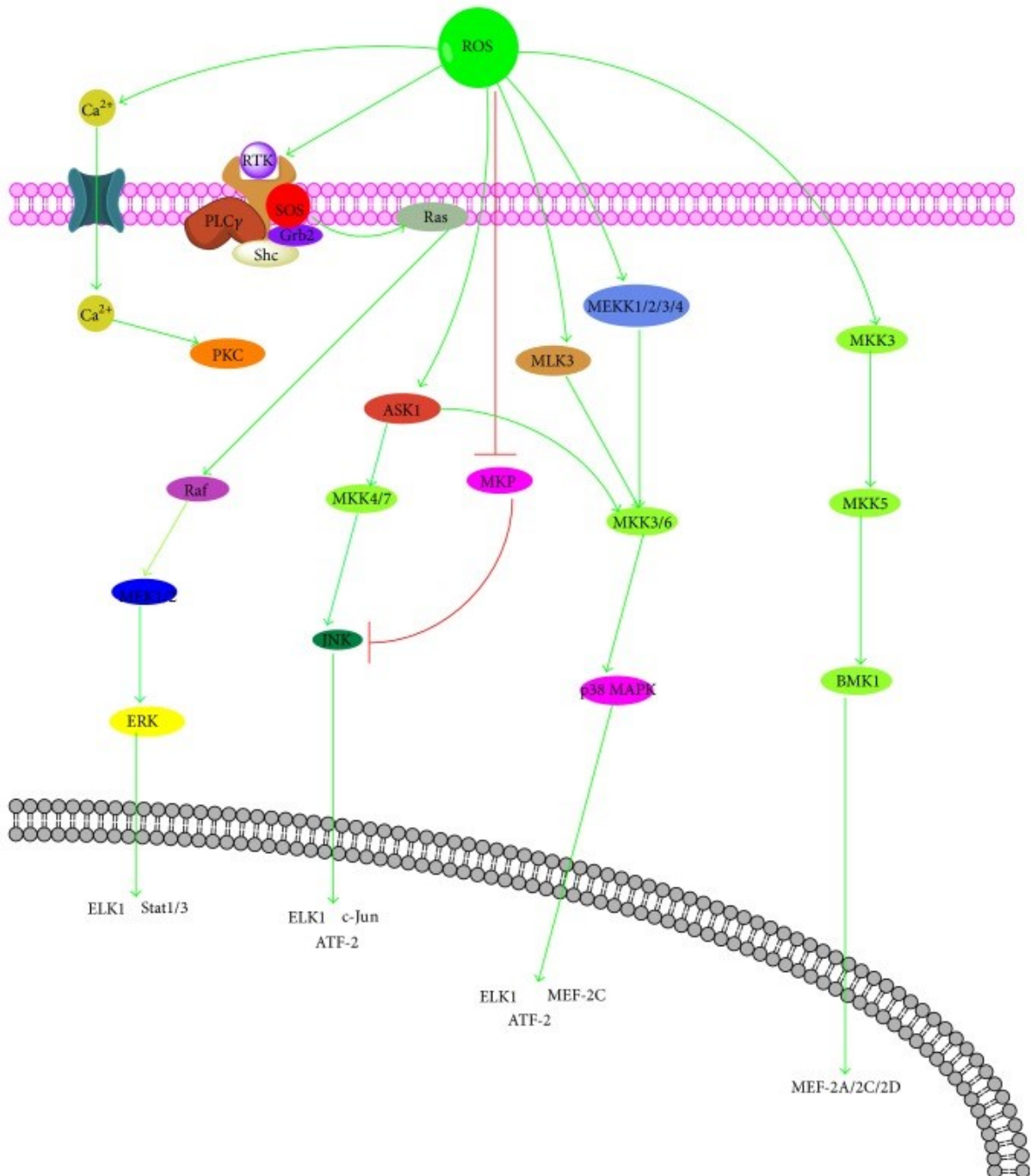


Figure 12. “Cross talk” entre les ROS et les voies de signalisation des MAPK. MAPK (mitogen-activated protein kinase), ERK (extracellular signal-related kinases), JNK (c-Jun N-terminal kinases), p38 (p38 kinase), BMK1/ERK5 (big MAP kinase 1), MAPKKK (MAP kinase kinase kinase), MAPKK (MAP kinase kinase), MAPK (MAP kinase), PLC (phospholipase C), IP3 (inositol trisphosphate), DAG (diacylglycerol). Figure reproduite de Dong, 2016 [94].

1.6.5. L'implication de PDF dans le cancer

Plusieurs articles ont soulevé l'implication de la peptide déformylase dans le cancer. Cette protéine a été retrouvée sur-représentée dans des cellules cancéreuses de sein, du colon, du poumon et dans des échantillons de leucémies aiguës myéloïdes. [115, 116]. Ces données suggèrent que *PDF* peut être un potentiel oncogène qui favorise le développement de la tumeur. Ainsi, l'inhibition de *PDF* est possiblement une nouvelle approche dans la thérapie des cancers. Toutefois, son implication dans la LAL n'a jamais été étudiée.

1.7. Hypothèse de recherche et but du projet

Bien que des avancées thérapeutiques ont permis une augmentation de la survie des patients atteints de la LAL pré-B, cette dernière demeure le cancer pédiatrique le plus fréquent et l'une des causes principales de mortalité par maladie chez les enfants de moins de 14 ans. De plus, environ 20% des enfants continuent de rechuter et le pronostic post-rechute demeure pauvre. Les rechutes peuvent même toucher des cas de LAL avec cytogénétique favorable telles que les leucémies hyperdiploïdes ou porteuse de la translocation t(12 ;21) [109].

Afin d'optimiser les traitements et leurs issues à l'aide d'une thérapie personnalisée il faut identifier les mutations conductrices de la leucémogénèse. Dans le cadre de notre programme de recherche sur l'étude des déterminants génomiques de la LAL de l'enfant, nous avons identifié une mutation récurrente dans le gène *PDF*. Mon hypothèse de recherche est que cette mutation récurrente p.F233I sur *PDF* est une mutation conductrice de la leucémogénèse. Ainsi, le but de mon projet est de déterminer le potentiel conducteur (driver) de la nouvelle mutation récurrente p.F233I dans *PDF*. Ceci permettrait de mieux comprendre l'étiologie de la LAL.

1.8. Objectifs du projet

Mes principaux objectifs sont :

- 1) de déterminer le rôle de la peptide deformylase mitochondriale dans la LAL et
- 2) de valider fonctionnellement la mutation PDF p.F233I dans des modèles cellulaires de LAL.

Comme il était difficile de prévoir le sens de l'impact fonctionnel de cette mutation i.e. perte ou gain de fonction, j'étais confrontée à deux possibilités : la peptide deformylase joue un rôle de suppresseur de tumeur et la mutation mène à une perte de fonction ou *PDF* possède un potentiel oncogène et ainsi la mutation mènerait à un gain de fonction. J'ai donc opté pour deux stratégies différentes :

- 1) étude d'inhibition de la protéine peptide deformylase à l'aide de l'actinonin, un inhibiteur compétitif et réversible ou par répression à l'aide de shRNAs
- 2) étude de l'impact de la mutation par des analyses de surexpression des formes sauvage et mutante de *PDF*.

Pour ces 2 stratégies, j'ai effectué une série de tests fonctionnels sur le métabolisme, l'apoptose et la prolifération cellulaire.

Chapitre 2. Matériel et méthodes

2.1. Culture des lignées cellulaires

Les expériences ont été effectuées sur les lignées cellulaires Reh et 697, deux lignées pré-B leucémiques, cultivées dans du milieu RPMI-1640 (Wisent), avec 100 IU/ml pénicilline et 100 µg/ml streptomycine (Wisent), supplémenté avec 10% de FBS. Ces deux lignées cellulaires partagent le même immunophénotype (pré-B) que les trois patients de la cohorte QcALL qui portent la mutation c.t697a sur *PDF*.

La lignée cellulaire HEK293T a été cultivée dans du milieu DMEM (Wisent) avec 100 IU/ml pénicilline et 100 µg/ml streptomycine, supplémenté avec 10% de FBS (Wisent).

Les cellules ont été cultivées à 37°C dans une atmosphère humidifiée régulée à 5% de CO₂ et dans du milieu frais changé tous les deux à trois jours.

2.2. Expériences de surexpression de la mutation c.t697a sur le gène *PDF* dans des lignées cellulaires

La mutation c.t697a a été induite par mutagenèse dirigée en utilisant comme gabarit le cDNA wild-type du gène *PDF*. Le plasmide contenant le cDNA du gène *PDF* a été commandé à partir de la Harvard PlasmID Database. Le plasmide choisi est pCMV-SPORT6, il contient les séquences attB1 et attB2 nécessaires au clonage Gateway (fig. 13). Après réception du plasmide, il est dosé puis dilué à 10ng/µL.

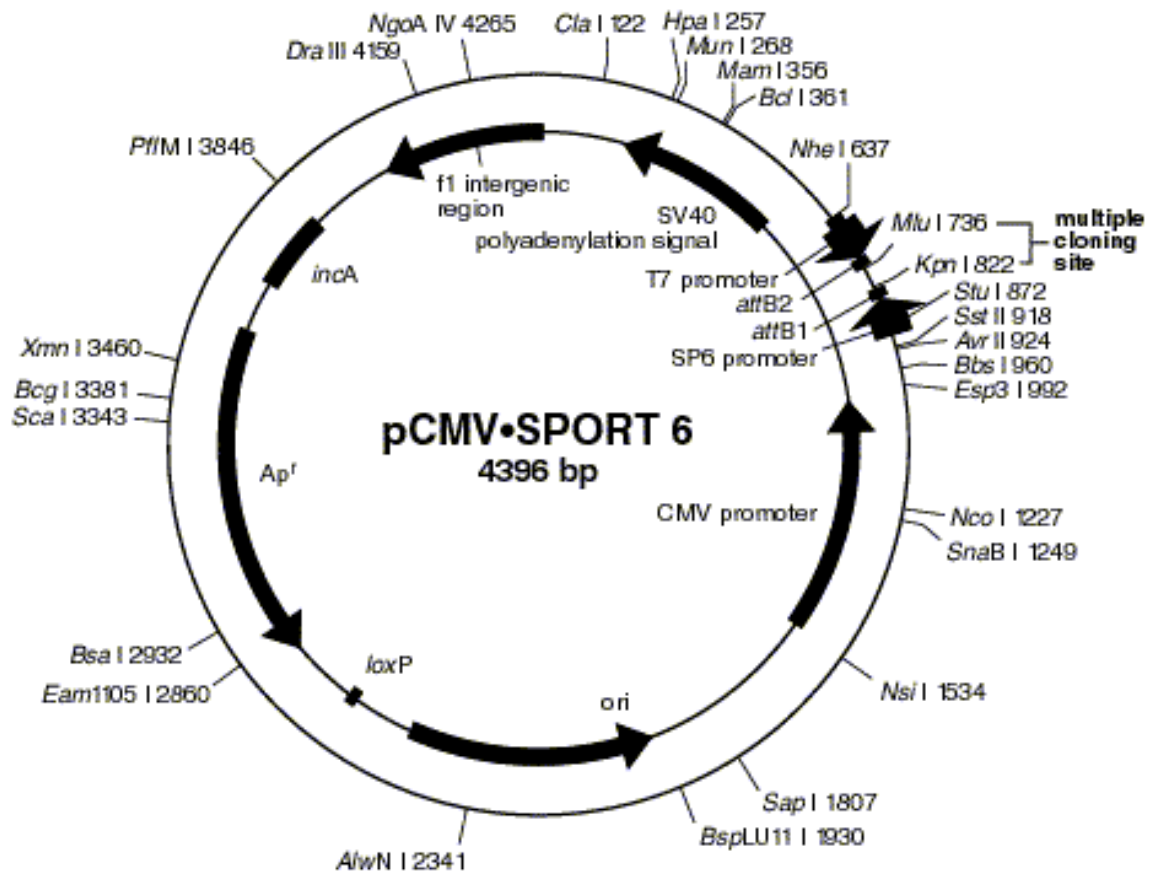
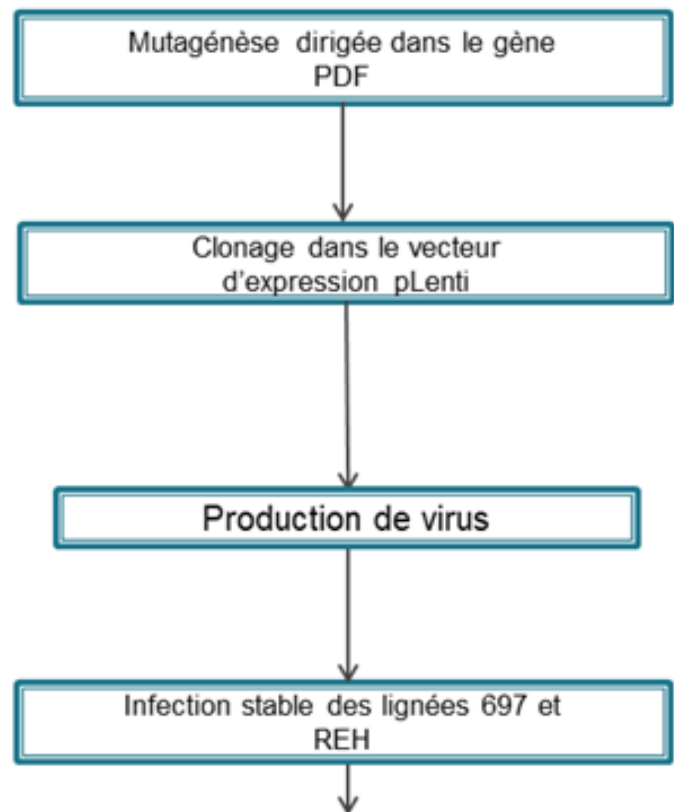
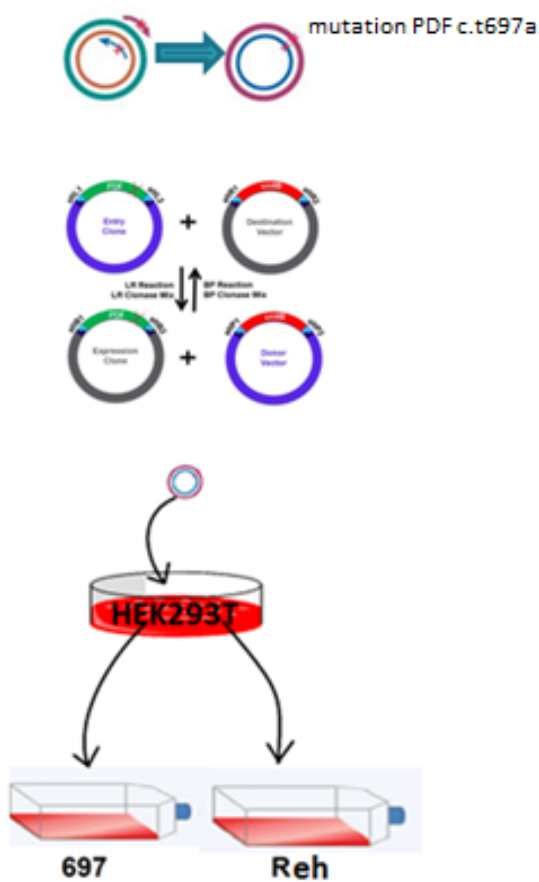


Figure 13. Structure du plasmide pCMV-SPORT6 [125].

Une série de clonages a permis d'obtenir des vecteurs d'expression pLenti contenant le gène *PDF* sous sa forme sauvage (*PDF_WT_pLenti*) et sous sa forme mutée (*PDF_c.t697a_pLenti*). Ces constructions ainsi que des vecteurs d'emballage ont été utilisés pour produire des lentivirus grâce à une transfection dans des cellules HEK293T. Les lentivirus résultants ont été utilisés pour infecter de façon stable les lignées cellulaires leucémiques pré-B 697 et Reh. Plusieurs tests fonctionnels ont été effectués sur ces lignées afin de comparer les effets de la surexpression des formes sauvage et mutée du gène *PDF* (fig. 14).



Validation fonctionnelle de PDF F.233I

Figure 14. Schéma de l'approche mise en place pour générer les formes sauvage et mutée (mutation c.1697a) du gène *PDF*.

2.2.1. Mutagenèse dirigée

La mutation faux sens c.1697a a été introduite dans le gène *PDF* grâce à une mutagenèse dirigée, effectuée par le kit QuickChange II Site-Directed Mutagenesis (Agilent Genomics) en suivant les instructions du fabricant. Le cycle PCR est le suivant : 1minute à 95°C, 18 cycles de 50 secondes à 95°C + 50 secondes à 60°C + 6 minutes à 68°C, et 7 minutes à 68°C.

La procédure consiste à utiliser le vecteur double brin d'ADN PDF_WT_pCMV-SPORT6 et deux amorces synthétiques d'oligonucléotides contenant la mutation c.t697a sur le gène *PDF* (Tableau I). Les amorces d'oligonucléotides, chacune complémentaire au brin opposé du vecteur, sont prolongées pendant les cycles de températures par la *PfuUltra* HF DNA polymérase. L'extension des amorces d'oligonucléotides génère un plasmide muté. Puis le produit est traité à l'enzyme DpnI, une endonucléase spécifique à l'ADN méthylé et hémiméthylé, afin de digérer l'ADN modèle parental (fig. 15). Le vecteur d'ADN contenant la mutation désirée PDF_t697a_pCMV-SPORT6 est ensuite utilisé pour transformer les bactéries XL-Gold Ultracompetent Cells, elles-mêmes étalées sur un pétris d'agar contenant du milieu LB et de l'ampicilline à 100µg/mL. Le lendemain on repique 12 colonies que l'on fait croître indépendamment en suspension dans du milieu de culture LB. On purifie ensuite l'ADN plasmidique de chaque clone à l'aide de la trousse QIAprep Spin Miniprep (Qiagen). L'intégrité des formes mutante et sauvage a été validée par séquençage Sanger au Génome Québec Innovation Centre en utilisant les amorces présentées dans le tableau III. Ceci nous permet de vérifier si la mutagenèse dirigée a bien fonctionné et que le gène *PDF* a conservé son intégrité. On choisit alors un des clones qui remplit ces deux critères.

| Manipulation | Nom de l'amorce | Séquences |
|--------------------------------------|-----------------|--|
| Mutagenèse dirigée | PDF_t697a_sens | 5'-CCA ATA GAC GTT TGT GAT CGT CCT GCT GTC CAT TT -3' |
| | PDF_t697a_as | 5'- AAA TGG ACA GCA GGA CGA TCA CAA ACG TCT ATT GG -3' |
| Séquençage Sanger du gène PDF | PDF_F1 | 5'- ACG GCT GGT CCA GGT GAT GC -3' |
| | PDF_R1 | 5'- CCA CAC CAC CTG TTC TCC AT -3' |

Tableau III. Liste des amorces utilisées pour la mutagenèse dirigée (mutation c.t697a sur le gène *PDF*).

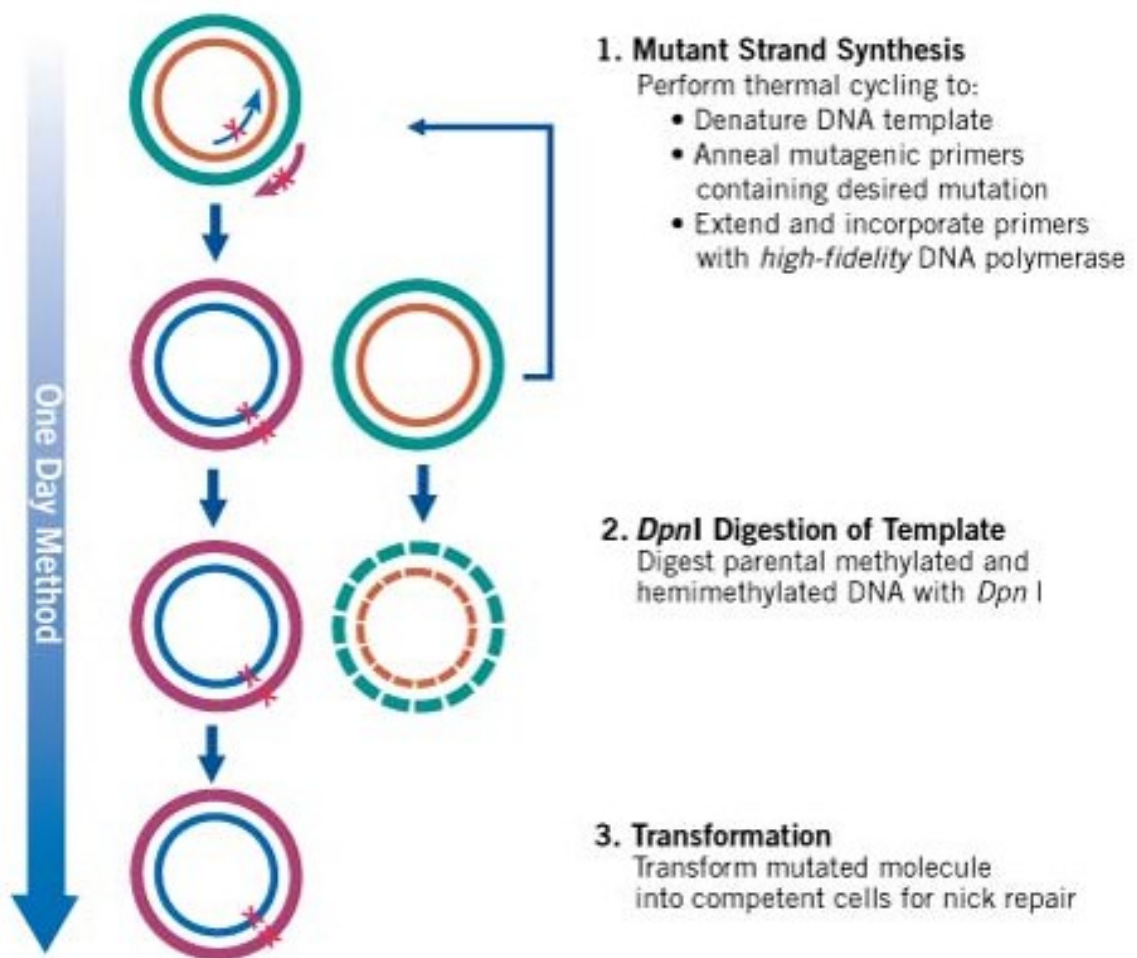


Figure 15. Illustration du principe de mutagénèse dirigée à l'aide de la trousse QuickChange II Site-directed Mutagenesis [110].

2.2.2. Sous-clonage dans un vecteur Gateway

Après avoir séquencé 12 clones issus du sous-clonage Gateway, j'ai choisi le clone #3 qui comportait bien la mutation c.t697a sur le gène *PDF* ainsi que le clone #9 qui contient le gène *PDF* WT. Les clones sélectionnés sont ensuite utilisés pour un sous-clonage dans un vecteur Gateway (Invitrogen). Il s'agit de transférer le gène *PDF* du vecteur pCMV-SPORT6 contenant les séquences (attB) vers le vecteur pDONR221 (attP) (réaction BP). Puis du vecteur pDONR221

(attL) vers le vecteur pLenti (attR) (réaction LR) (fig. 16). Pour cela, on utilise 350ng de PDF_WT_pCMV-SPORT6 ou PDF_t697a_pCMV-SPORT6 avec 150ng de pDONR221 + 6µL TE Buffer, pH8,0 + 2µL BP Clonase 5X (enzyme) qu'on incube à température ambiante pendant 16h. On ajoute par la suite 1µL de protéinase K dans l'échantillon qu'on place pendant 10 minutes à 37°C afin de mettre fin à la réaction. Puis pour la réaction LR on utilise 150ng PDF_WT_pDONR221 ou PDF_t697a_pDONR221 + 6µL TE Buffer, pH8,0 + 2µL LR Clonase 5X (enzyme) + 150ng pLenti qu'on incube à température ambiante pendant 16h.

On utilise ensuite la nouvelle construction PDF_WT_pLenti ou PDF_t697a_plenti pour transformer les bactéries compétentes Stbl3 qu'on étale sur un pétri d'agar contenant du milieu LB et de l'ampicilline à 100µg/mL. Le vecteur pLenti est un vecteur d'expression qui contient une séquence de résistance à la puromycine.

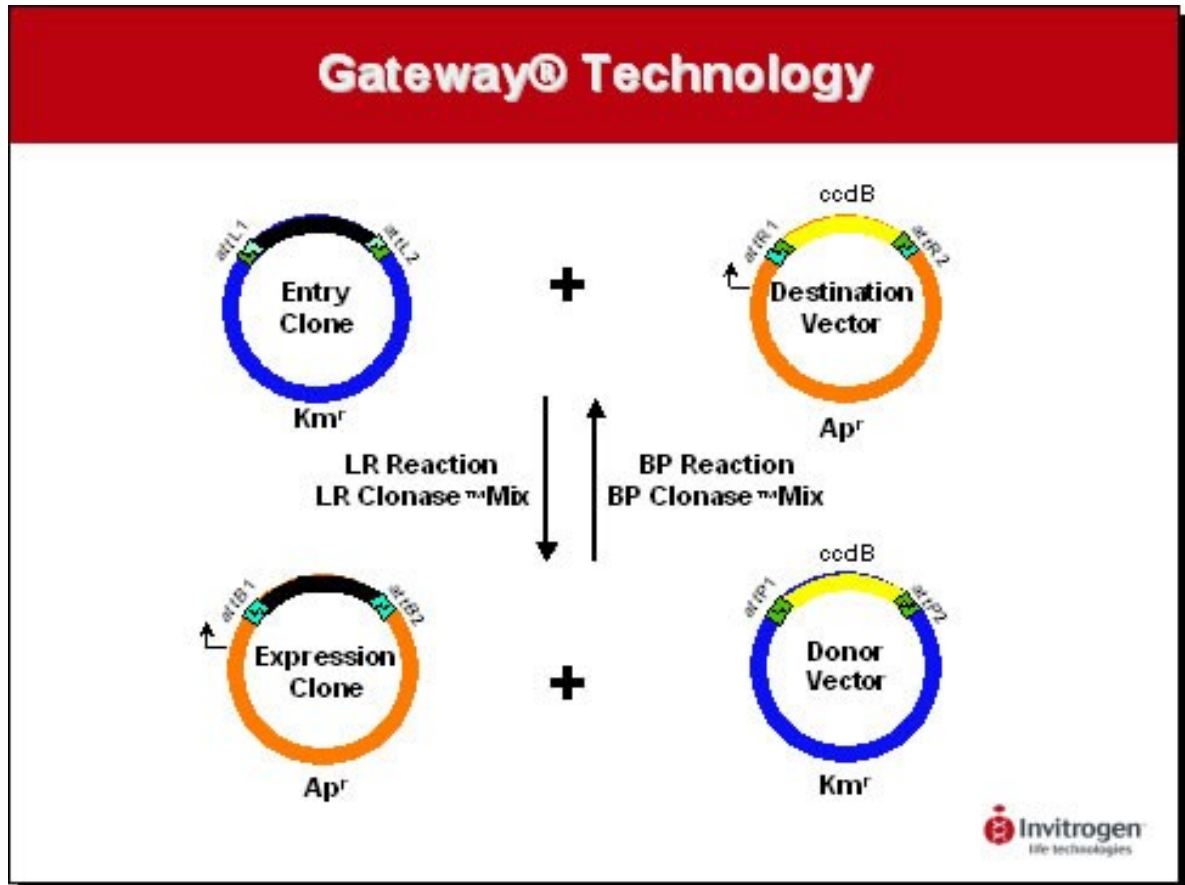


Figure 16. Schéma du mécanisme de la technologie Gateway [111].

Afin de vérifier qu'après la mutagenèse dirigée et le sous-clonage Gateway du plasmide PDF_t697a_pCMV-SPORT6 on a obtenu la bonne construction plasmidique, on effectue une digestion enzymatique sur les clones sélectionnés : le clone #3 (PDF_t697a_pLenti) et le clone #9 (PDF_WT_pLenti) avec l'enzyme KpnI pendant une heure à 37°C. Les différentes tailles moléculaires des fragments d'ADN digérés par KpnI ont été révélées à l'aide d'une électrophorèse sur gel d'agarose 0,8%.

2.3. Réduction de l'expression de *PDF* à l'aide de shRNAs

Quatre shRNAs distincts (shRNAs #23, #24, #25 et #27) ont été utilisés pour inhiber l'expression du gène *PDF*. Nous avons obtenu ces shRNAs grâce à une collaboration avec Dr. Stéphane Gobeil (CHUL, Québec). Ces shRNAs sont contenus dans un plasmide pLKO.1-puro qui possède une résistance à la puromycine.

Comme dans la production de lentivirus, on utilisera ces constructions ainsi que des vecteurs d'emballage pour produire des lentivirus qui serviront à infecter les lignées cellulaires 697 et Reh.

Le sh#C002 contenu dans le plasmide pLKO.1-puro (Sigma) est utilisé comme shRNA contrôle car il ne cible aucune séquence d'ARNm de mammifère et qu'il est contenu dans le même vecteur que les shRNAs ciblant l'ARNm de *PDF*.

2.4. Production de lentivirus

Des particules lentivirales ont été produites à l'aide du système d'encapsulation des plasmides de troisième génération suite à la transfection des cellules HEK293T. On met en culture 15×10^6 de cellules en pétri de 20cm. 24h après, on y distribue 6 μ g de pRSV-Rev, 7.8 μ g de pMD2.G, 15 μ g pMDLg/pRRE (Annexe B), ainsi que 9 μ g de plasmide d'intérêt pLenti (contenant *PDF*_WT, *PDF*_t697a, ou vide utilisé comme contrôle) ou pLKO.1 (contenant le shRNA contre *PDF* #24 ou sh#C002 utilisé comme contrôle), dans 3.5 ml de RPMI contenant 36 μ l de Lipofectamine 2000 (Thermo Fisher Scientific) comme agent de transfection. Le milieu des cellules a été changé 18h après transfection par 20 ml de milieu complet. Le surnageant contenant les particules virales libérées a été récolté après 30h d'incubation. Puis il est centrifugé 5min à 4000rpm, et conservé à -80°C. Ces virus serviront à infecter les lignées cellulaires 697 et Reh pour réaliser des tests fonctionnels.

2.5. Analyse de qRT-PCR en temps réel.

L'ARN des cellules a été extrait avec le RNeasy Mini kit (QIAGEN) en suivant le protocole du fabricant. Une étape de dénaturation de l'ARN est réalisée avant la réaction de transcriptase inverse. Pour cela, les échantillons d'ARN sont incubés 5 minutes à 65°C. Par la suite, la réaction de transcription inverse est réalisée dans chacun des échantillons contenant 175ng d'ARN total, 0,5 mM de chaque dNTPs (dATP, dGTP, dCTP, dTTP à pH neutre), 250ng d'oligo (dT)₁₂₋₁₈, 10 mM DTT, 50 mM Tris-HCl (pH 8,3), 75 mM KCl, 3 mM MgCl₂, 2U d'inhibiteur de RNase et 100 U de M-MLV Reverse Transcriptase (Invitrogen). Les échantillons sont incubés à 37°C pendant 50 minutes et inactivés à 70°C pendant 15 minutes. L'ADNc produit lors de cette réaction est utilisé comme matériel de départ pour une amplification par qPCR en temps réel.

Nous avons utilisé l'appareil ABI PRISM 7000 Sequence Detection System (Applied Biosystems) afin d'amplifier l'ADNc par qPCR. On utilise un volume total de 25µL contenant 0,5µL d'ADNc, 1X SYBR Green PCR Master Mix (Applied Biosystems) et 0,2µM de chaque amorce (Tableau IV). Le SYBR Green est le fluorochrome qui permet la détection des ADN double brins générés pendant le PCR. Cela permet de quantifier cycle par cycle l'amplification de l'ADNc. Le programme PCR est le suivant : 2 minutes à 50°C, 10 minutes à 95°C, 40 cycles de 15 secondes à 95°C suivi d'une minute à 60°C. Une courbe de dissociation est générée afin de contrôler la spécificité de l'amplification. Les valeurs d'expression des gènes ont été normalisées par rapport à l'expression du gène de référence *GAPDH*. La méthode comparative de Livak et al. ($2^{-\Delta\Delta Ct}$) a été utilisée pour calculer l'expression relative des gènes d'intérêt [112].

| Manipulation | Nom de l'amorce | Séquences |
|---------------------------------------|-----------------|------------------------------------|
| qPCR ciblage du gène GAPDH | PDF_RT4_F | 5'- CTT CCC CCT GCG CGT G -3' |
| | PDF_RT4_R | 5'- CAT TGG GGT CCA GCC CTG A -3' |
| qPCR ciblage du gène GAPDH | GAPDH-RT-F1 | 5'- GAT CAT CAG CAA TGC CTC -3' |
| | GAPDH-RT-R1 | 5'- TGT GGT CAT GAG TCC TTC CA -3' |

Tableau IV. Liste des amorces utilisées pour les expériences de qPCR.

2.6. Infection des lignées cellulaires 697 et Reh

L'infection des cellules pré-B leucémiques 697 et Reh se fait dans une plaque 6 puits où on dépose, dans chaque puits, un million de cellules dans 1mL de milieu RPMI + 10% de FBS + 12,5 de polybrène ainsi qu'1mL de lentivirus. 24h après l'infection, on ajoute 1 mL de milieu frais RPMI + 10% de FBS dans chaque puits. Après une incubation de 48h à 37°C et 5% de CO₂, les cellules sont comptées à l'aide d'un compteur Beckman Coulter Z1 Particle Counter (LabX) afin de les diluer à 500 000 cellules/mL dans du milieu frais complet. Au quatrième jour post-infection, les cellules sélectionnées avec 1µg/µL de puromycine, sont diluées à 500 000 cellules/mL dans du milieu frais complet + 1µg/mL de puromycine et transférées dans un T25. 24h après la sélection à la puromycine, les cellules vivantes colorées au bleu de trypan sont comptées afin de déterminer la vitesse de croissance. Trois millions de cellules sont ensuite prélevées et centrifugées afin de garder le culot pour usage ultérieur.

2.7. Test d'apoptose

L'apoptose a été mesurée à l'aide de la trousse Alexa Fluor® 488 Annexin V/Dead Cell Apoptosis (Thermo Fisher) en suivant les instructions du fabricant. Les cellules ont été mises en culture à la concentration de 250 000 cellules/mL dans du milieu complet, avec ou sans actinonin 13µM pendant 24h afin d'inhiber l'action de la peptide déformylase, ou pendant 18h avec ou sans 50µM de peroxide d'hydrogène (H₂O₂) afin d'induire un stress oxydatif. Les cellules ont

ensuite incubées avec 0,3 µg d'Annexin V Alexa Fluor® et 2µg de propidium iodide (PI) à température pièce pendant 25 minutes. Les cellules doublement marquées sont ensuite analysées par cytométrie en flux. Le pourcentage de cellules apoptotiques a été mesuré par le FACS Fortessa en utilisant le logiciel BD FACSDiva (BD Biosciences) et en suivant les instructions du fabricant. Le taux d'apoptose est calculé en regroupant les pourcentages de cellules marquées par l'AnV seulement (phase d'apoptose précoce) et marquées simultanément par l'AnV et le PI (phase d'apoptose tardive ou nécrose). Chaque expérience a été réalisée en triplicata techniques sur deux répliques biologiques (expériences répétées séparément).

2.8. Test de prolifération cellulaire

La prolifération cellulaire a été mesurée à l'aide d'un décompte cellulaire avec le Beckman Coulter Z1 Particle Counter (LabX). Les cellules ont été mises en culture à 200 000 cellules /mL dans 2mL de milieu complet avec ou sans actinonin 13µM. Le compte de cellule a été mesuré à la même heure tous les jours pendant 5 jours. Chaque expérience a été réalisée en triplicata techniques sur deux répliques biologiques (expériences répétées séparément).

2.9. Test de production d'ATP

La production d'ATP a été mesurée à l'aide d'un essai au Titer glo CellTiter-Glo® Luminescent Cell Viability (Promega). Les cellules ont été mises en culture dans une plaque 24 puits à 500 000 cellules /mL dans 2mL de milieu complet avec ou sans actinonin 13µM. Après 24h, chaque puits de cellules est compté au Beckman Coulter Z1 Particle Counter (LabX), et 50µL de solution CellTiterGlo sont ajoutés dans chacun des puits. La plaque a été agitée 2min à 700 rpm pour permettre la lyse des cellules, puis incubée pendant 10 minutes à température pièce. La mesure de la luminescence, issue de la réaction entre l'ATP présente dans les cellules et la solution CellTiterGlo, a ensuite été effectuée grâce au

lecteur de plaque Envision (Perkin-Elmer). Le comptage de cellule réalisé au préalable permet de normaliser les données de luminescence au nombre de cellule dans chaque puit. Cela permet de connaître le niveau d'ATP produit par cellule métaboliquement active dans chaque échantillon. Chaque expérience a été réalisée en triplicata technique sur deux répliques biologiques (expériences répétées séparément).

2.10. Test de production mROS

Pour mesurer le niveau de mitochondrial Reactive Oxygen species (mROS) dans les cellules 697 et Reh, les cellules sont incubées à 250 000 cellules/mL dans 2mL de milieu complet avec ou sans 13 μ M d'actinonin. Les cellules sont marquées au Mitotracker Red 10nM, spécifique aux mROS, pendant 20 minutes à 37°C et 5% de CO₂. La fluorescence est ensuite mesurée par cytométrie en flux avec le FACS Fortessa en utilisant le logiciel BD FACSDiva (BD Biosciences) et en suivant les instructions du fabricant. Chaque expérience a été réalisée en triplicata technique sur deux répliques biologiques (expériences répétées séparément).

Chapitre 3. Résultats

3.1. Identification de mutations potentiellement conductrices (driver mutations).

Dans le contexte du programme de recherche sur les déterminants génomiques de la LAL, nous avons réalisé un séquençage de l'exome de 389 enfants atteints de la LAL de type B. Ces patients provenaient de la cohorte Quebec Childhood ALL (QcALL) [106]. En comparant les données génomiques provenant du matériel normal et tumoral, il a été possible d'identifier une liste de mutations conductrices potentiellement impliquées dans la leucémogénèse. En utilisant une combinaison d'outils bioinformatiques, un processus d'annotation par les biologistes et une validation des anomalies [113], nous avons priorisé une liste de 485 mutations conductrices candidates.

Une de ces mutations, la mutation faux-sens c.t697a dans le gène de la peptide déformylase mitochondriale (*PDF*) a été sélectionné pour mon projet à cause de sa récurrence. Effectivement, cette mutation a été retrouvée chez 3 patients LAL de type pré-B avec hyperdiploïdie (Tableau V) fréquence de 1,05% dans notre cohorte). Cette mutation n'avait jamais été répertoriée. Cette mutation faux-sens est prédite pour avoir un impact fonctionnel. En résumé, la récurrence, la nouveauté et l'impact fonctionnel prédit ont guidé le choix de cette mutation c.t697a dans le gène *PDF* pour mon projet de maîtrise.

| Gene | Sample | Age (yo) | Pos_hg19 | Ref | Var | Type | subgroup | gender | diagnosis | Immuno-phenotype |
|------------|--------|----------|----------|-----|-----|----------------------|---------------|--------|------------|------------------|
| PDF | 65_T | 5 | 69362960 | A | T | nonsynonymous | Hyperdiploidy | F | ALL | Pre-B |
| PDF | 347_T | 3 | 69362960 | A | T | nonsynonymous | Hyperdiploidy | M | ALL | Pre-B |
| PDF | 337_T | 3 | 69362960 | A | T | nonsynonymous | Hyperdiploidy | F | ALL | Pre-B |

Tableau V. Caractéristiques des trois patients LAL partageant la mutation c.T697A sur le gène PDF.

3.2. Les mutations sur *PDF*

PDF est retrouvé muté dans plusieurs cancers (fig. 17) [114]. La mutation *PDF* p.F233I est une mutation faux-sens qui n'a jamais été répertoriée et qui se trouve hors du domaine de fonction de la protéine mais qui pourrait jouer un rôle sur sa structure par exemple (fig. 18).

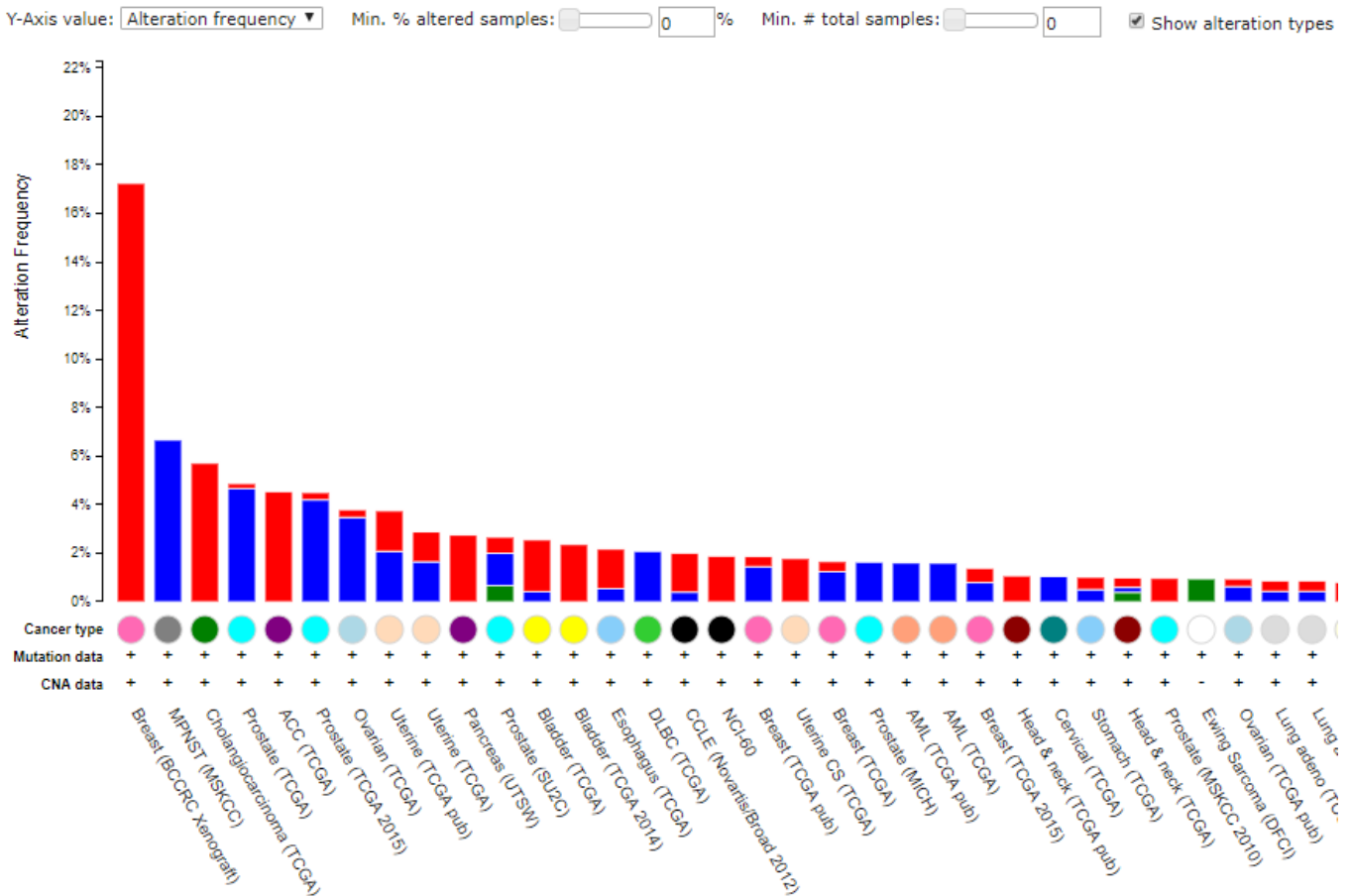


Figure 17. Les différentes altérations du gène *PDF* à travers les cancers. En rouge les amplifications ; En bleu les délétions ; En vert des mutations ponctuelles. Données COSMIC [114].

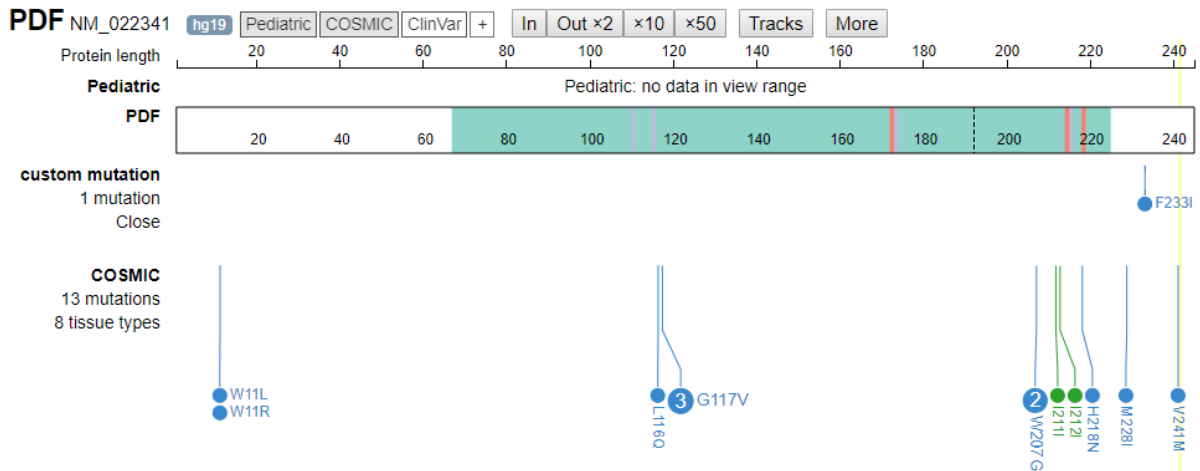


Figure 18. Mutations connues sur la peptide déformylase ainsi que la nouvelle mutation identifiée p.F233I. En bleu les mutations faux-sens ; En vert les mutations silencieuses. Figure obtenue à partir de *Protein Painter*.

3.3. Constructions plasmidiques

Les plasmides PDF_WT_pLenti et PDF_t697a_pLenti sont représentés par la construction PDF_pLenti sur la figure 19. La présence de la mutation c.t697a sur le gène *PDF* dans le vecteur pLenti a été validée par séquençage Sanger (fig. 20) ainsi que par digestion enzymatique avec KpnI (fig. 21) afin de vérifier l'intégrité de la construction. J'ai également vérifié l'intégrité des plasmides PDF_WT_pLenti (clone#3) et PDF_t697a_pLenti (clone#9) à l'aide d'une digestion enzymatique et d'une migration sur gel d'agarose. L'outil NEBcutter V2.0 (New England BioLabs) m'a permis de simuler la digestion enzymatique des constructions plasmidiques avec KpnI (fig. 21) et de la comparer avec la migration sur gel d'agarose.

On peut voir sur les chromatogrammes de la figure 20 que la mutation c.t697a a bien été induite sur mon gène *PDF* WT dans le clone#3 et que le clone#9 a conservé la séquence de *PDF* sauvage. De plus, les tailles des deux fragments obtenus sur mon gel d'agarose pour la migration de mes deux échantillons (clone#3 clone#9) après digestion avec KpnI sont celles attendues.

Donc mes deux plasmides PDF_WT_pLenti et PDF_t697a_pLenti ont conservé leur intégrité après le sous-clonage Gateway. La mutagenèse a donc bien fonctionnée.

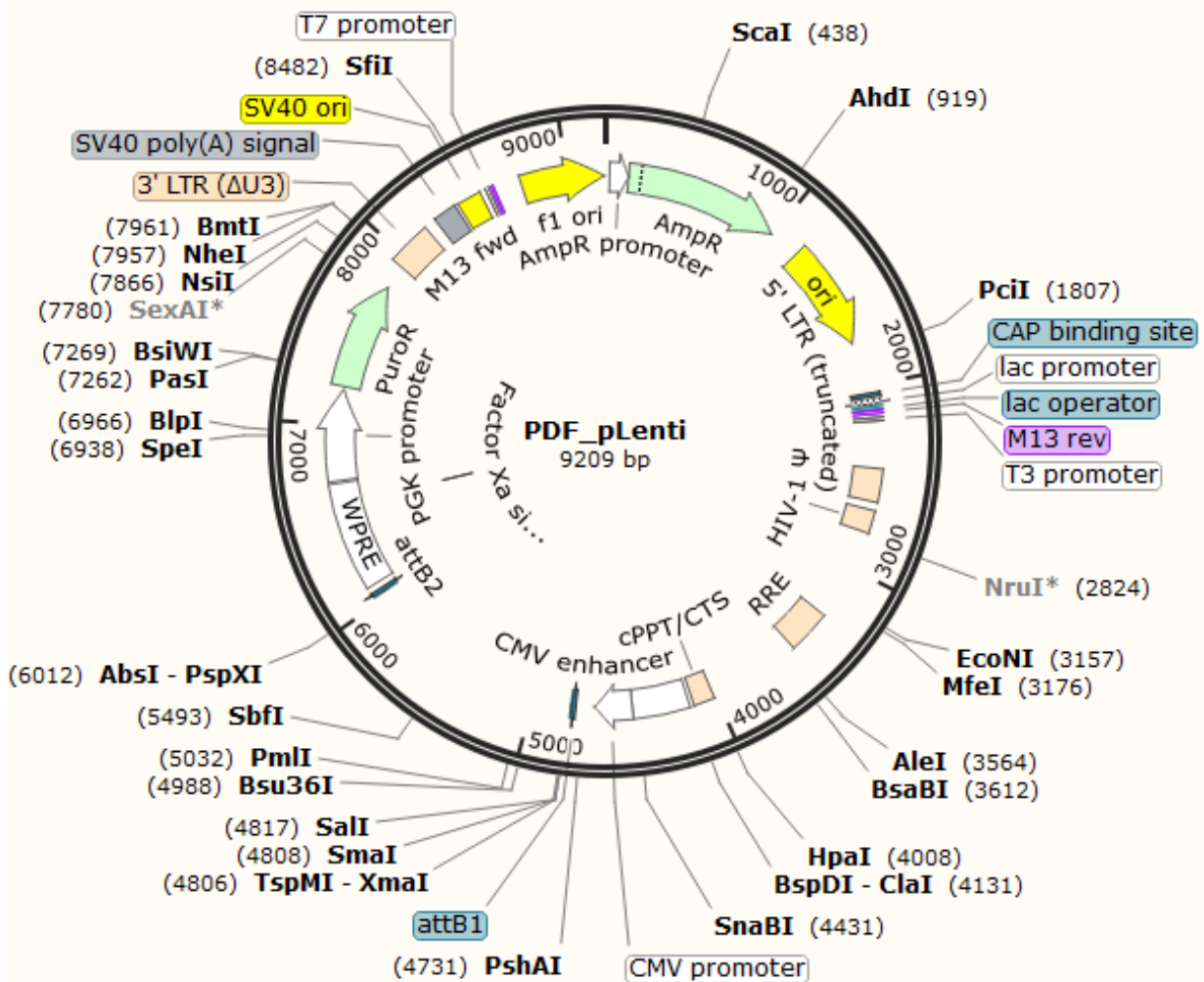


Figure 19. Construction plasmidique de PDF_pLenti obtenue à l'aide du logiciel SnapGene Viewer.


```

GCCIGTTTATTGACAAAATGGACAGCAGGACGTTTCACAAACGICTATTGGATGAAGGTGAATGACTAA
GCCIGTTTATTGACAAAATGGACAGCAGGACGTTTCACAAACGICTATTGGATGAAGGTGAATGACTAAAGCTTTGCTA
GCCIGTTTATTGACAAAATGGACAGCAGGACGATTTCACAAACGICTATTGGATGAAGGTGAATGACTAAAGCTTTGCTA

```

```

| 670 | 680 | 690 | 700 | 710 | 720 | 730 | 74
GCCIGTTTATTGACAAAATGGACAGCAGGACGTTTCACAAACGICTATTGGATGAAGGTGAATGACTAAAGCTTTGCTA

```

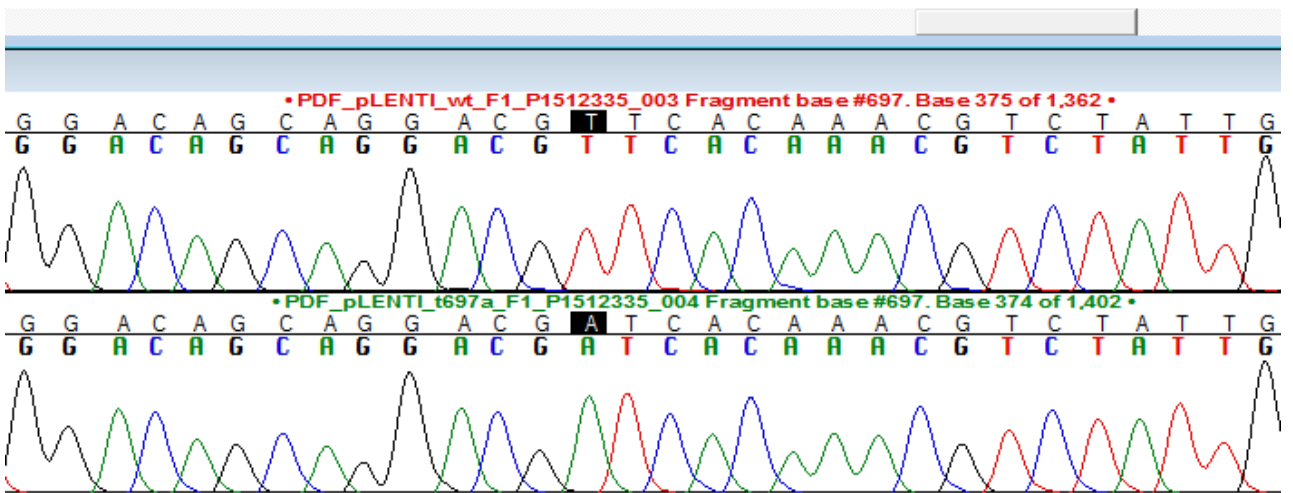


Figure 20. Résultats du séquençage Sanger. Confirmation de la présence de la mutation c.t697a sur le gène *PDF* dans le vecteur pLenti (clone#9 ; chromatogramme du bas), et la version sauvage du gène *PDF* dans le vecteur pLenti (clone#3 ; chromatogramme du haut).

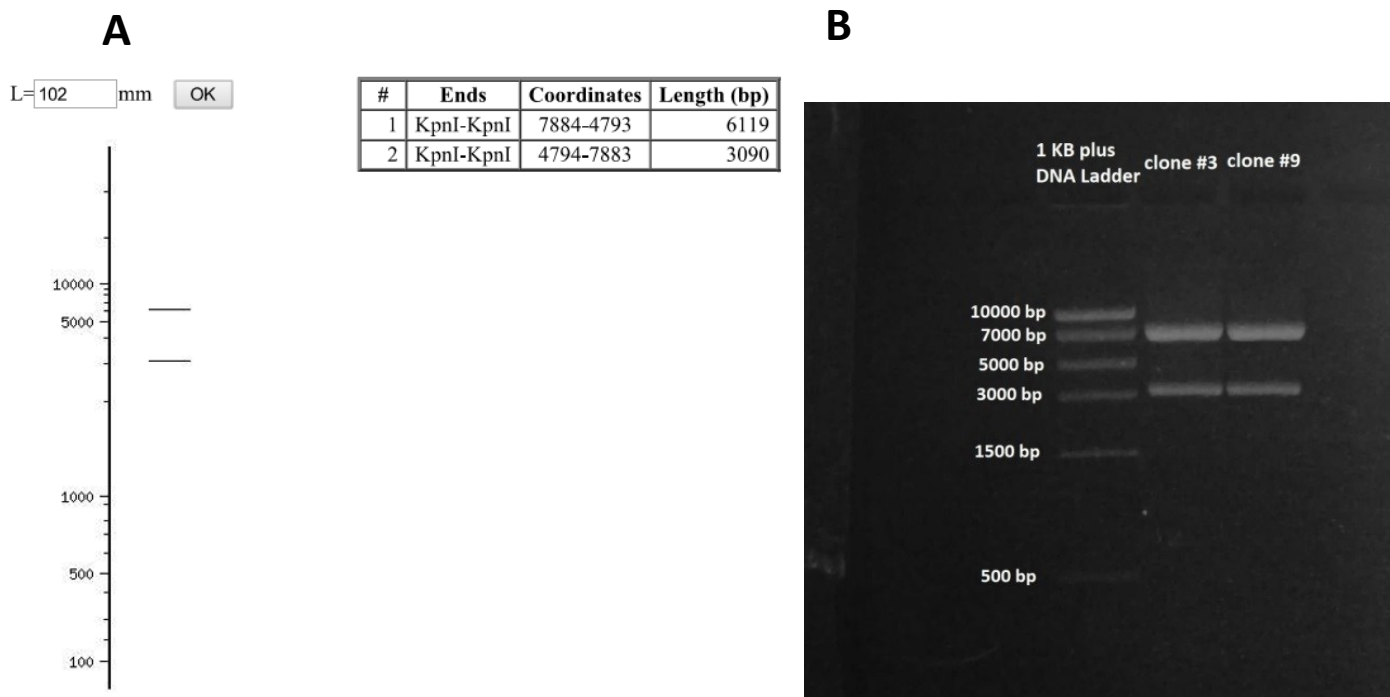


Figure 21. Migration sur gel après digestion enzymatique par KpnI de PDF_pLenti.
A) simulation B) photo.

3.4. Détermination de l'impact de *PDF* dans la LAL de l'enfant

3.4.1. Inhibition

Le rôle de *PDF* dans le contexte de la LAL de l'enfant n'a jamais été étudié. En revanche, il a déjà été identifié comme potentiellement oncogénique dans plusieurs cancers. En effet, la peptide déformylase a été retrouvée sur-représentée dans plusieurs cancers [115, 116]. L'inhibition de *PDF* engendre une augmentation de l'apoptose, une perturbation de l'activité de la chaîne de respiration mitochondriale, et une diminution de la prolifération cellulaire dans différents cancers [115 - 120]. J'ai décidé de vérifier l'impact de *PDF* dans la LAL. L'inhibition de *PDF* dans les cellules leucémiques devrait mener à une augmentation de l'apoptose, une baisse de la production d'ATP et une diminution de la prolifération cellulaire. A l'inverse, la surexpression de *PDF* devrait mener à une diminution de l'apoptose, une augmentation de la production d'ATP et une augmentation de la prolifération cellulaire.

Afin de déterminer les effets de l'inhibition de l'action de la *PDF*, j'ai effectué des études de réduction de l'expression du gène *PDF* à l'aide de shRNAs. Dans un premier temps, j'ai testé l'efficacité de 4 shRNAs en mesurant les niveaux d'expression du gène *PDF* dans les cellules pré-B leucémiques 697 et Reh.

Mes résultats montrent que le shRNA#24 est le plus efficace pour inhiber l'expression de *PDF* dans les deux lignées cellulaires avec environ 52% d'inhibition pour les 697 et environ 74% d'inhibition pour les Reh (fig. 22). C'est donc celui que j'ai choisi d'utiliser pour infecter mes lignées cellulaires et inhiber l'expression du gène *PDF* par la suite.

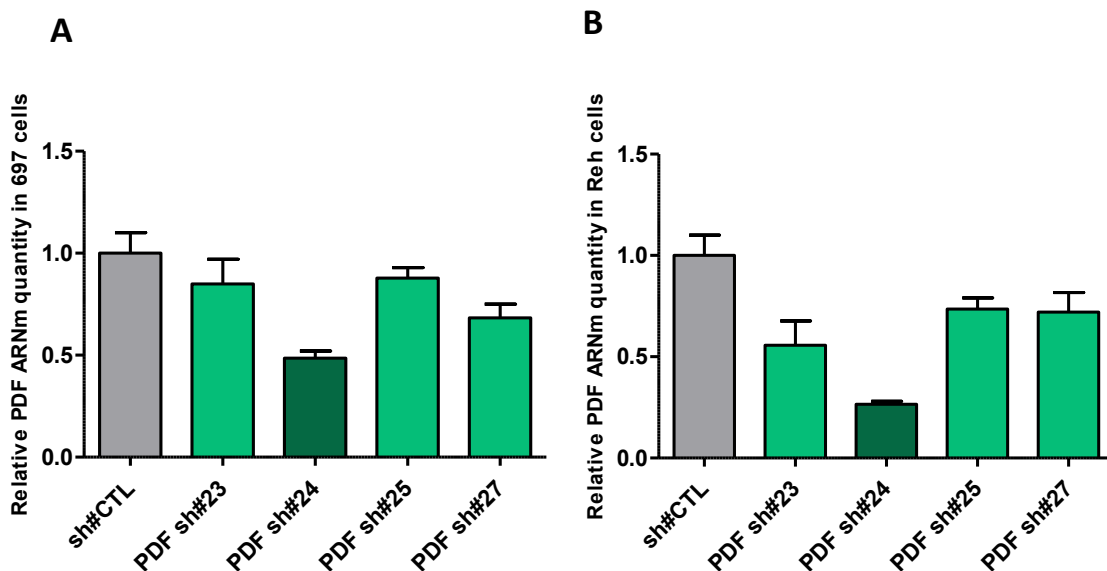


Figure 22. Niveaux d'expression de *PDF* après infection avec des shRNAs. Mesure par qRT-PCR de la quantité relative d'ARNm de *PDF* une semaine après infection avec des shRNAs ciblant l'ARNm de *PDF* dans les 697 (A) et les Reh (B).

Afin de confirmer les effets de l'inhibition de *PDF* dans les cellules pré-B leucémiques 697 et Reh, j'ai utilisé l'actinonin qui est un inhibiteur compétitif et réversible de la *PDF*. L'actinonin agit en occupant le site actif de la *PDF* et l'empêchant ainsi d'effectuer son action de déformylation des peptides traduits dans la mitochondrie [116].

3.4.2. Déplétion de la production d'ATP

Si la peptide deformylase était inhibée, alors les substrats de cette enzyme, soit entre autres, des sous-unités de la chaîne de respiration mitochondriale, ne seraient pas déformylés. Elles se retrouveraient mal modifiées au cours de la traduction. Cela perturberait l'activité de la chaîne de respiration mitochondriale, résultant ainsi en une déplétion de la production d'ATP dans les cellules leucémiques [117]. Le premier test fonctionnel réalisé fut la mesure du taux d'ATP dans les cellules après un traitement à l'actinonin ou après infection avec le sh#24.

Suite à l'infection des lignées cellulaires pré-B leucémiques 697 et Reh par le sh#24, j'ai observé une diminution significative du taux d'ATP par cellule (fig. 23). Les 2 lignées cellulaires montrent la même tendance.

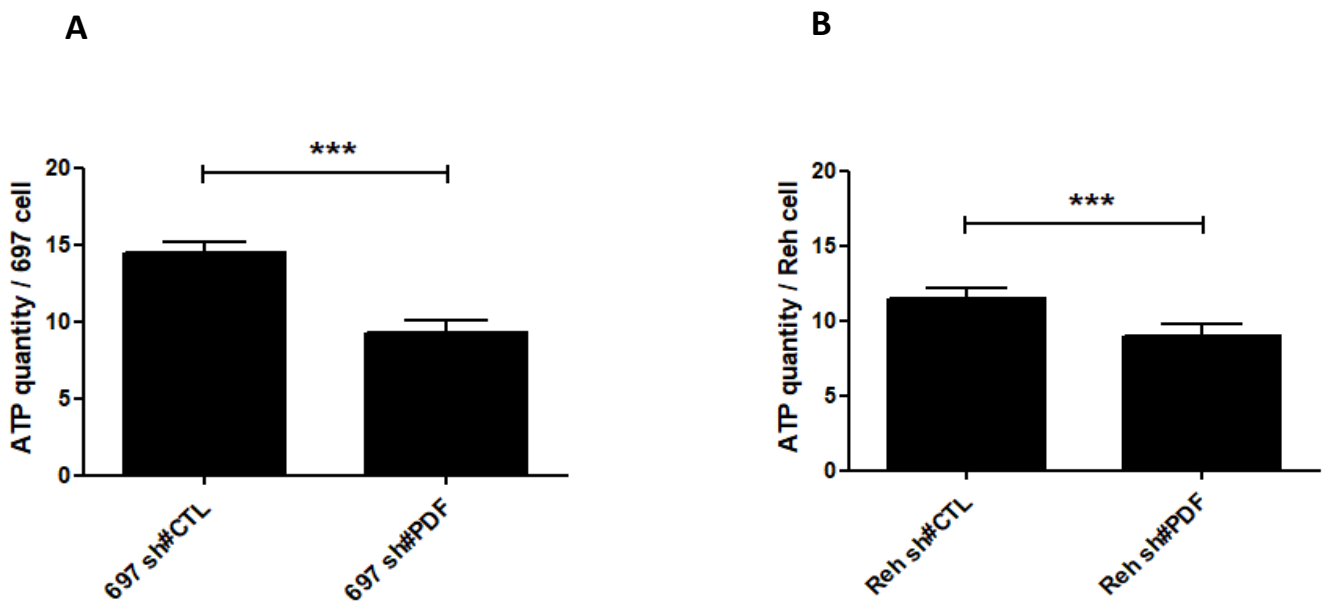


Figure 23. Mesure de la quantité d'ATP par cellule après infection avec un shRNA. Quantité d'ATP mesurée deux semaines après infection avec le sh#24 dans les lignées cellulaires 697 (A) et Reh (B). La luminescence a été mesurée après 10 minutes d'incubation avec le CellTiterGlo. La significativité a été déterminée par un test two-tailed Mann-Whitney U : ***, P-value ≤ 0,001

L'inhibition chimique de PDF avec l'actinonin a mené à une déplétion de la production d'ATP par cellule (fig.24). Ces résultats confirment ceux observés lors de l'inhibition de l'expression de PDF par shRNA.

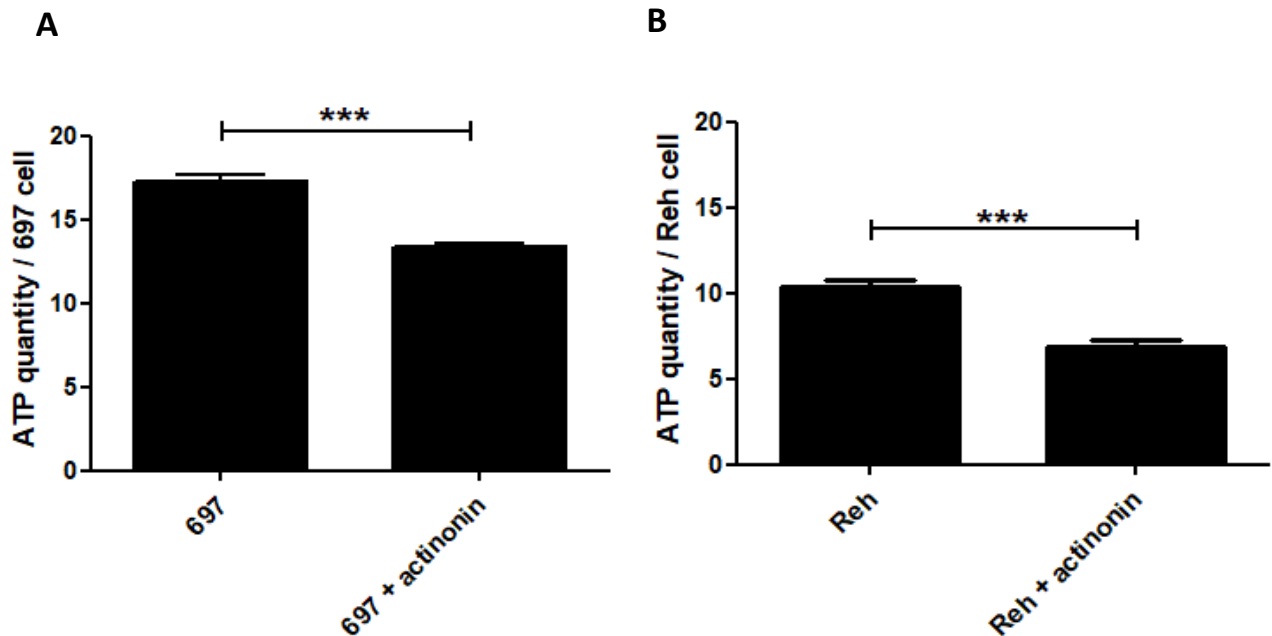


Figure 24. Quantité d'ATP par cellule après un traitement à l'actinonin. Mesure de la quantité d'ATP dans les 697 (A) et les Reh (B) par luminescence après 10 minutes d'incubation avec le CellTiterGlo. Après un traitement de 24h avec 13 μ M d'actinonin, les cellules produisent significativement moins d'ATP. La significativité a été déterminée par un test two-tailed Mann-Whitney U : ***, P-value \leq 0,001.

La combinaison de ces résultats permet de mettre en évidence une perturbation dans l'activité de la chaîne de respiration mitochondriale lorsque PDF est inhibé dans les cellules 697 et Reh. Cela indique également que lorsque PDF est inhibé on observe un dérèglement de la production d'énergie dans la cellule, qui est une des caractéristiques du cancer [71].

3.4.3. Apoptose

Lors de l'inhibition de PDF dans les cellules leucémiques, l'activité de la chaîne de respiration mitochondriale étant perturbée et l'équilibre peptides méthylés et non méthylés étant débalancée dans la mitochondrie, cela peut induire un potentiel stress mitochondrial dans la cellule [119].

J'ai mesuré le taux d'apoptose dans les cellules 697 et Reh infectées par le sh#24. J'ai observé une augmentation significative du pourcentage de cellules en apoptose dans les deux lignées cellulaires lorsqu'on diminue l'expression de PDF. Cette augmentation est valable autant pour les cellules non traitées (NT) que pour les cellules traitées au peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) donc soumises à un stress oxydatif (fig.25).

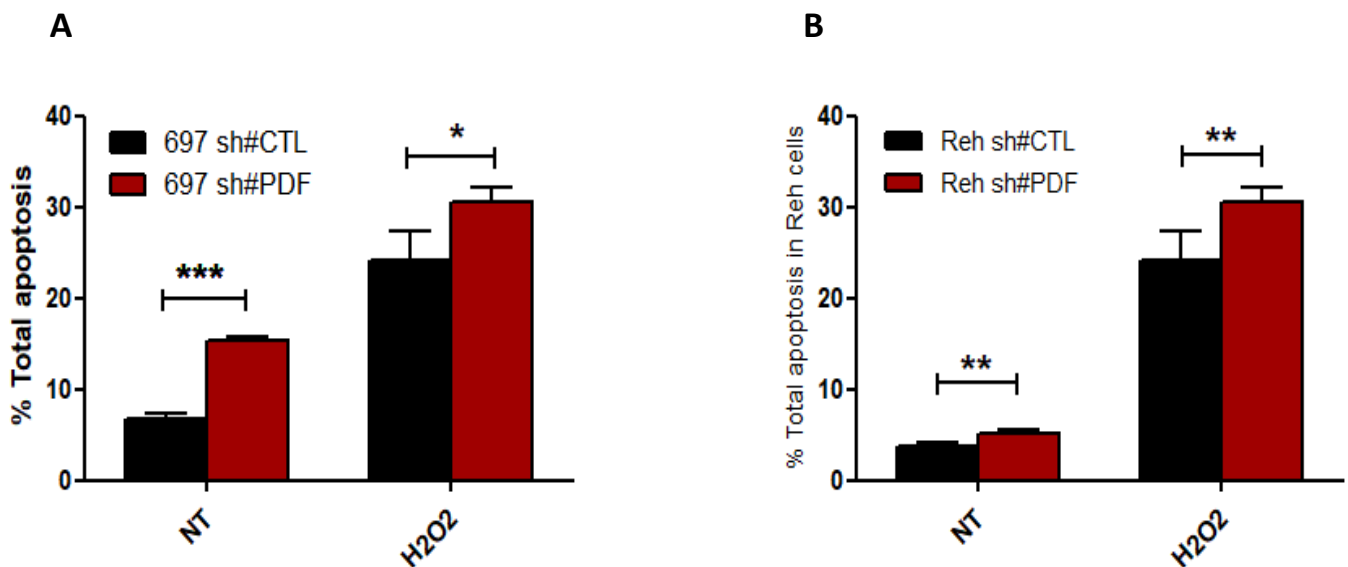


Figure 25. Pourcentage d'apoptose après infection avec un shRNA, dans des conditions basales et après un traitement à l' H_2O_2 . Mesure du pourcentage d'apoptose par cytométrie en flux 18h après le traitement par l' H_2O_2 dans les 697 (A) et les Reh (B). La significativité a été déterminée par un test two-tailed Mann-Whitney U : *, P-value ≤ 0,05 ; **, P-value ≤ 0,01; ***, P-value ≤ 0,001.

J'ai reproduit l'expérience de mesure du niveau d'apoptose dans les lignées cellulaires 697 et Reh traitées à l'actinonin. J'ai ainsi observé une augmentation significative du pourcentage de cellules en apoptose lorsqu'elles inhibaient l'action de la peptide déformylase grâce à l'actinonin. J'ai observé cette augmentation pour les cellules NT et pour celles traitées au peroxyde d'hydrogène (fig. 26). Ces résultats confirment ceux observés pour l'inhibition de l'expression de PDF avec le shRNA.

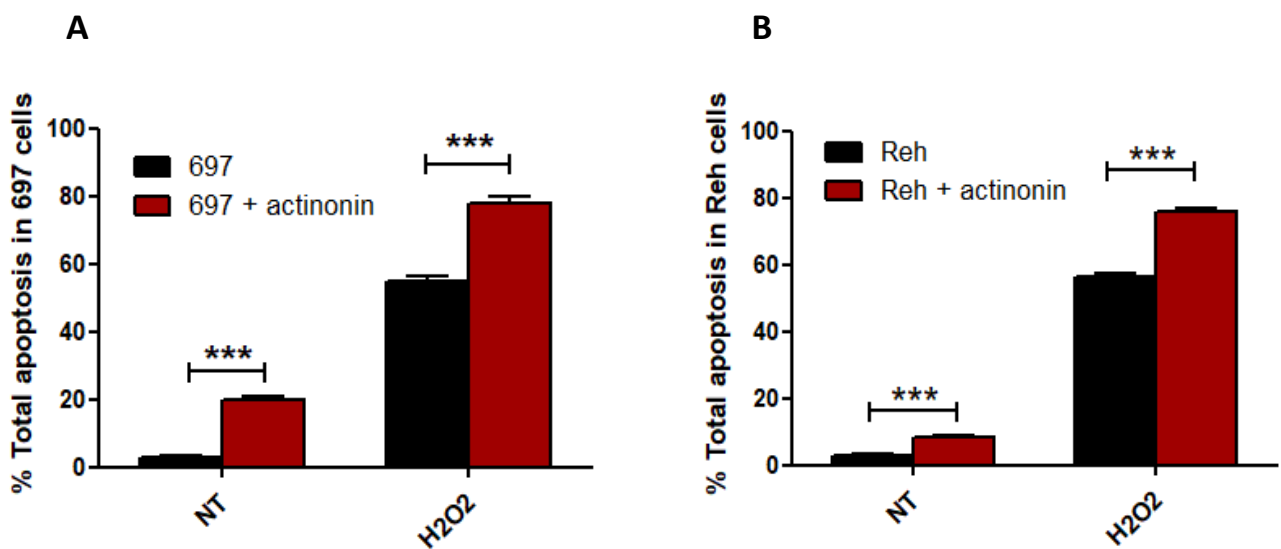


Figure 26. Pourcentage d'apoptose après un traitement à l'actinonin, dans des conditions basales et après un traitement à l'H₂O₂. Mesure du pourcentage d'apoptose dans les 697 (A) et les Reh (B) par cytométrie en flux 18h après le traitement par l'H₂O₂. Le traitement à l'actinonin consiste en une dose de 13µM pendant 24h. La significativité a été déterminée par un test two-tailed Mann-Whitney U : ***, P-value≤0,001.

Ainsi, tout comme dans d'autres lignées cancéreuses, l'inhibition de PDF engendre une augmentation de l'apoptose. Cela indiquerait donc que PDF aurait également un rôle oncogénique dans la LAL.

3.4.4. Production de mROS

Les mROS sont des molécules toxiques pour la cellule. Une augmentation de la production de mROS dans la cellule peut provoquer un stress oxydatif et induire des dommages à l'ADN, ou aux protéines et lipides. De cette façon, les mROS contribuent à l'initiation et à la progression du cancer [93].

J'ai mesuré la quantité de mROS dans les cellules 697 et Reh infectées par le sh#24. J'ai observé une augmentation significative du taux de mROS dans les cellules 697 et Reh exprimant moins *PDF* (fig. 27).

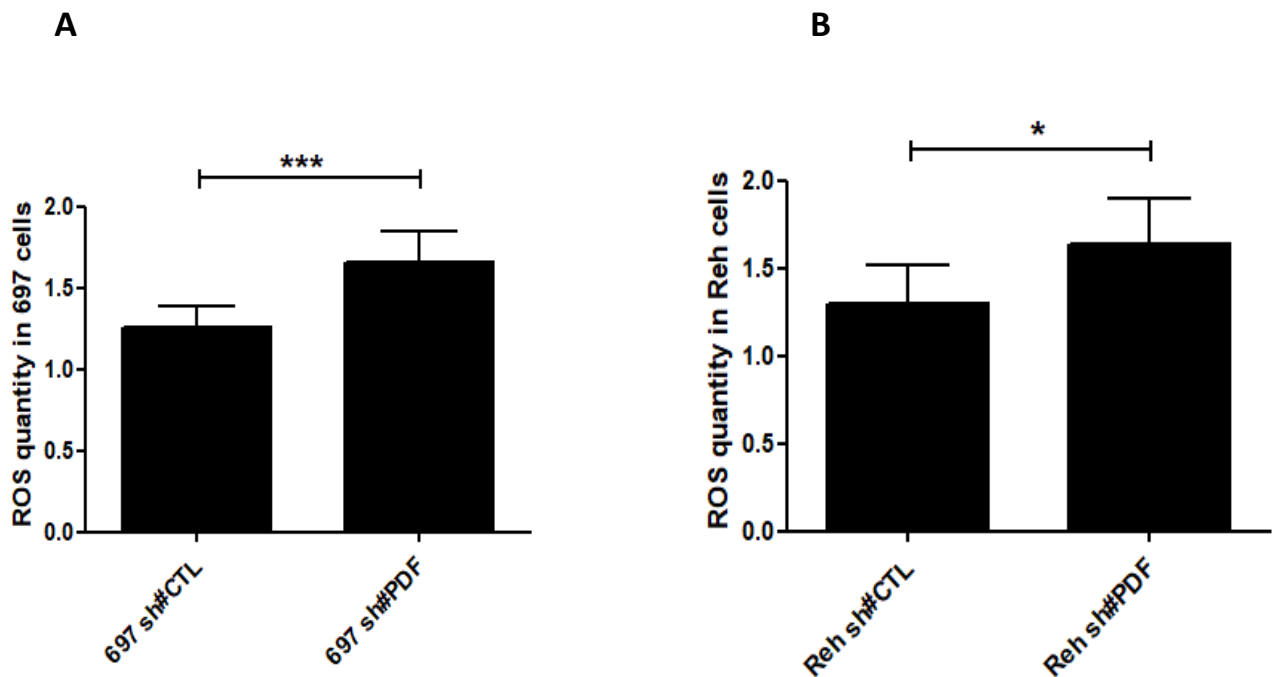


Figure 27. Quantité de mROS après infection avec un shRNA. Mesure par cytométrie en flux de la quantité de mROS après un marquage de 20 minutes au Mitotracker Red dans les 697 (A) et les Reh (B). La significativité a été déterminée par un test two-tailed Mann-Whitney U : *, P-value \leq 0,05 ; ***, P-value \leq 0,001.

Les cellules 697 et Reh traitées à l'actinonin produisent plus de mROS que celles non traitées (fig. 28). J'ai donc confirmé les résultats montrant une élévation de la production de mROS dans les cellules leucémiques infectées par le shRNA ciblant l'ARNm de *PDF*.

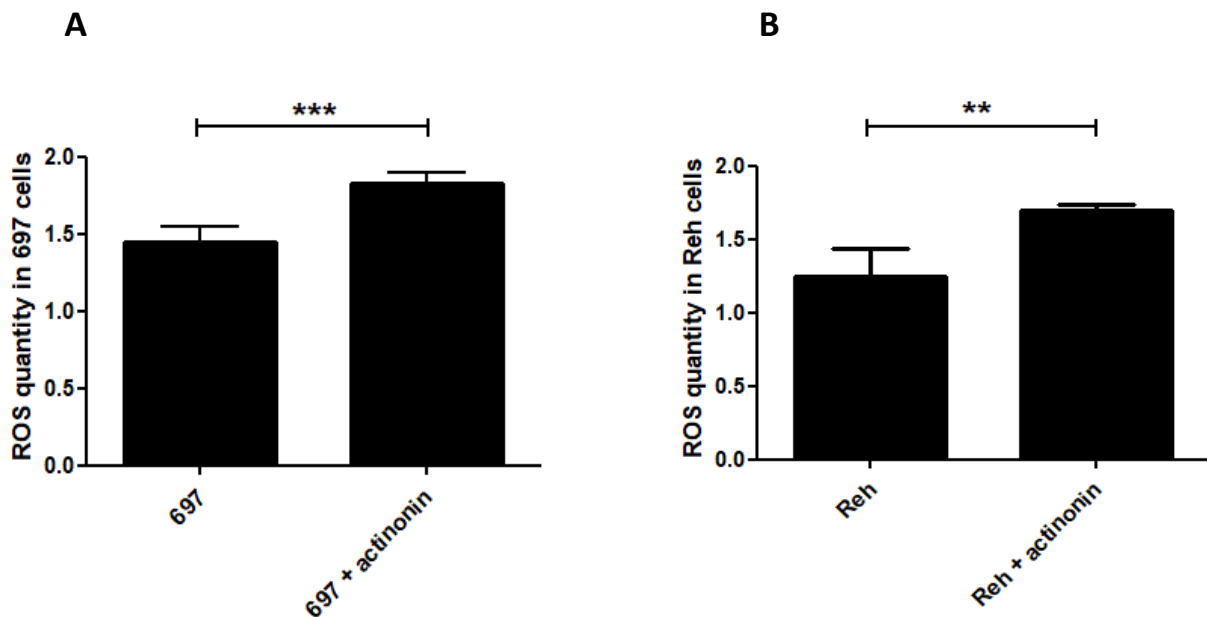


Figure 28. Quantité de mROS après un traitement à l'actinonin. Mesure par cytométrie en flux de la quantité de mROS 20 minutes après un marquage au Mitotracker Red des cellules 697 (A) et Reh (B). Le traitement à l'actinonin consiste en une dose de 13 μ M pendant 24h. La significativité a été déterminée par un test two-tailed Mann-Whitney U : **, P-value \leq 0,01; ***, P-value \leq 0,001.

3.4.5. Prolifération cellulaire

Dans la littérature, l'inhibition de *PDF* engendre un ralentissement de la prolifération de cellules cancéreuses [118]. Le dernier test fonctionnel que j'ai effectué est celui de la mesure de la prolifération cellulaire.

Les cellules 697 et Reh infectées avec le sh#24 montrent un ralentissement de la prolifération cellulaire à partir du 3^{ème} jour (fig. 29).

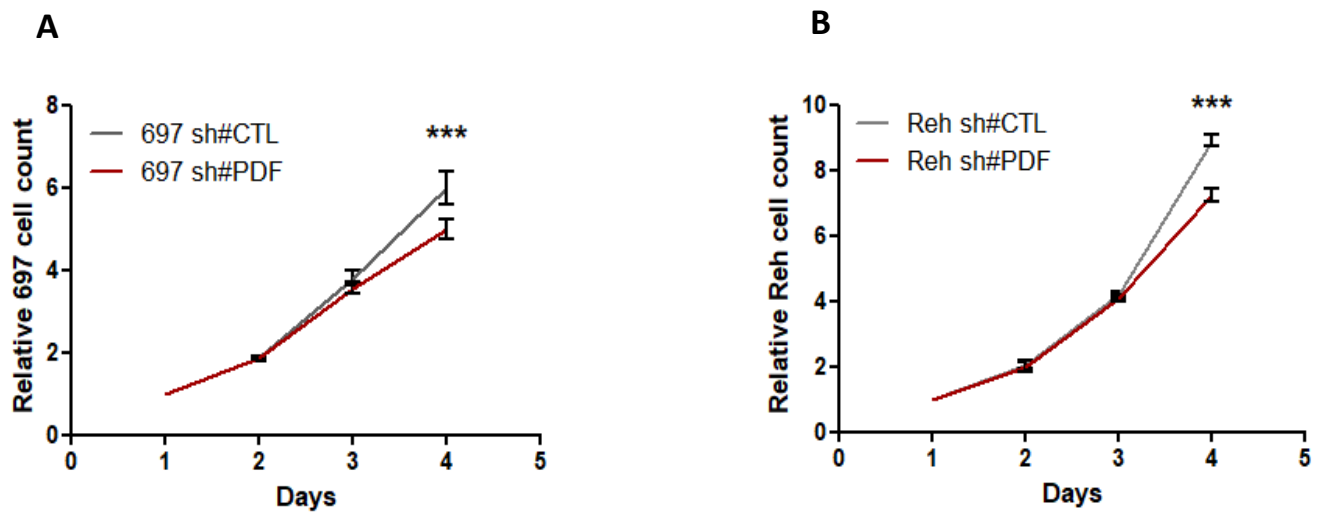


Figure 29. Courbes de prolifération après infection avec un shRNA. Mesure au compteur du nombre de cellules 697 (A) et Reh (B) par mL pendant 4 jours. La significativité a été déterminée par un test two-tailed Mann-Whitney U : ***, P-value \leq 0,001.

Le traitement des lignées cellulaires 697 et Reh à l'actinonin montre un effet un effet antiprolifératif de l'inhibition de PDF (fig. 30).

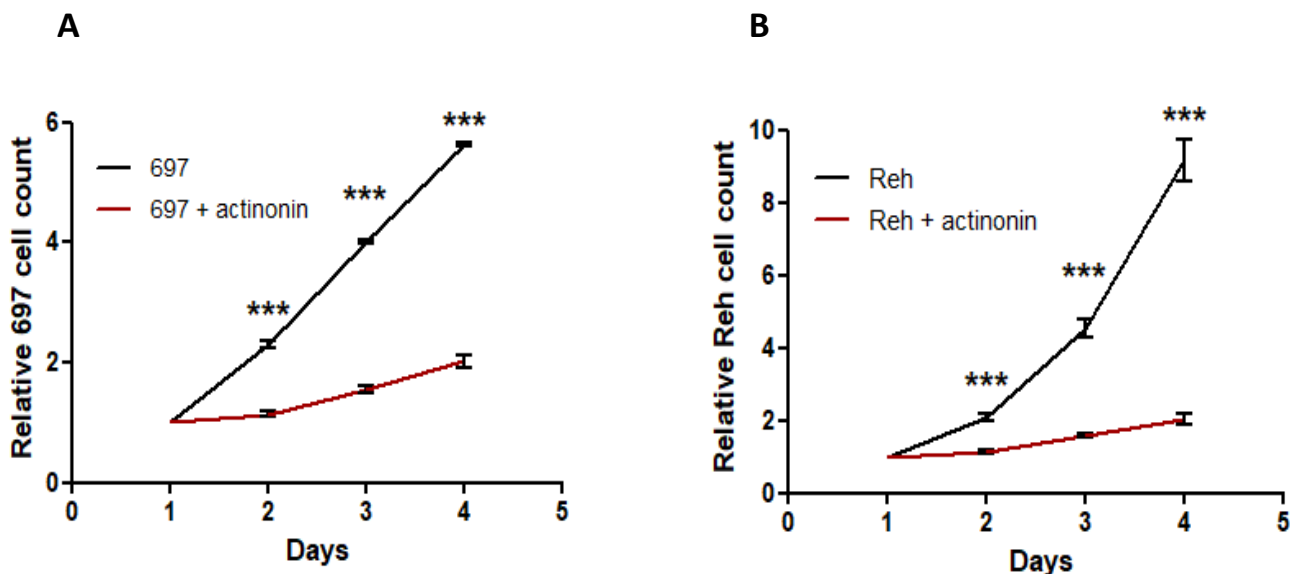


Figure 30. Courbes de prolifération après un traitement à l'actinonin. Mesure au compteur du nombre de cellules 697 (A) et Reh (B) par mL pendant 4 jours. Les cellules sont incubées avec 13 μ M d'actinonin au jour 1. La significativité a été déterminée par un test two-tailed Mann-Whitney U : ***, P-value \leq 0,001.

3.5 Validation fonctionnelle de la mutation c.t697a sur le gène *PDF*

En résumé, les expériences précédentes ont montré que l'inhibition de PDF par shRNAs ou par traitement à l'actinonin, mènent à une augmentation du nombre de cellules en apoptose ainsi que de la quantité de mROS, caractéristiques d'un stress mitochondrial. Un ralentissement de la prolifération ainsi qu'une déplétion de la production d'ATP ont également été observés.

On peut maintenant déterminer l'impact fonctionnel de la mutation c.t697a sur le gène *PDF*. Dans ce but, j'ai réalisé des expériences de surexpression des formes sauvages ou mutés de *PDF* sur les lignées cellulaires pré-B leucémiques 697 et Reh.

3.5.1. Surexpression de PDF

J'ai infecté deux groupes de cellules 697 et Reh avec des lentivirus d'expression pLenti contenant le gène *PDF* wild-type (WT) ou *PDF* p.F233I ou avec un vecteur pLenti simple comme contrôle. Deux semaines après l'infection, on voit que la surexpression de *PDF* a bien fonctionné dans les deux lignées cellulaires 697 et Reh (fig. 31).

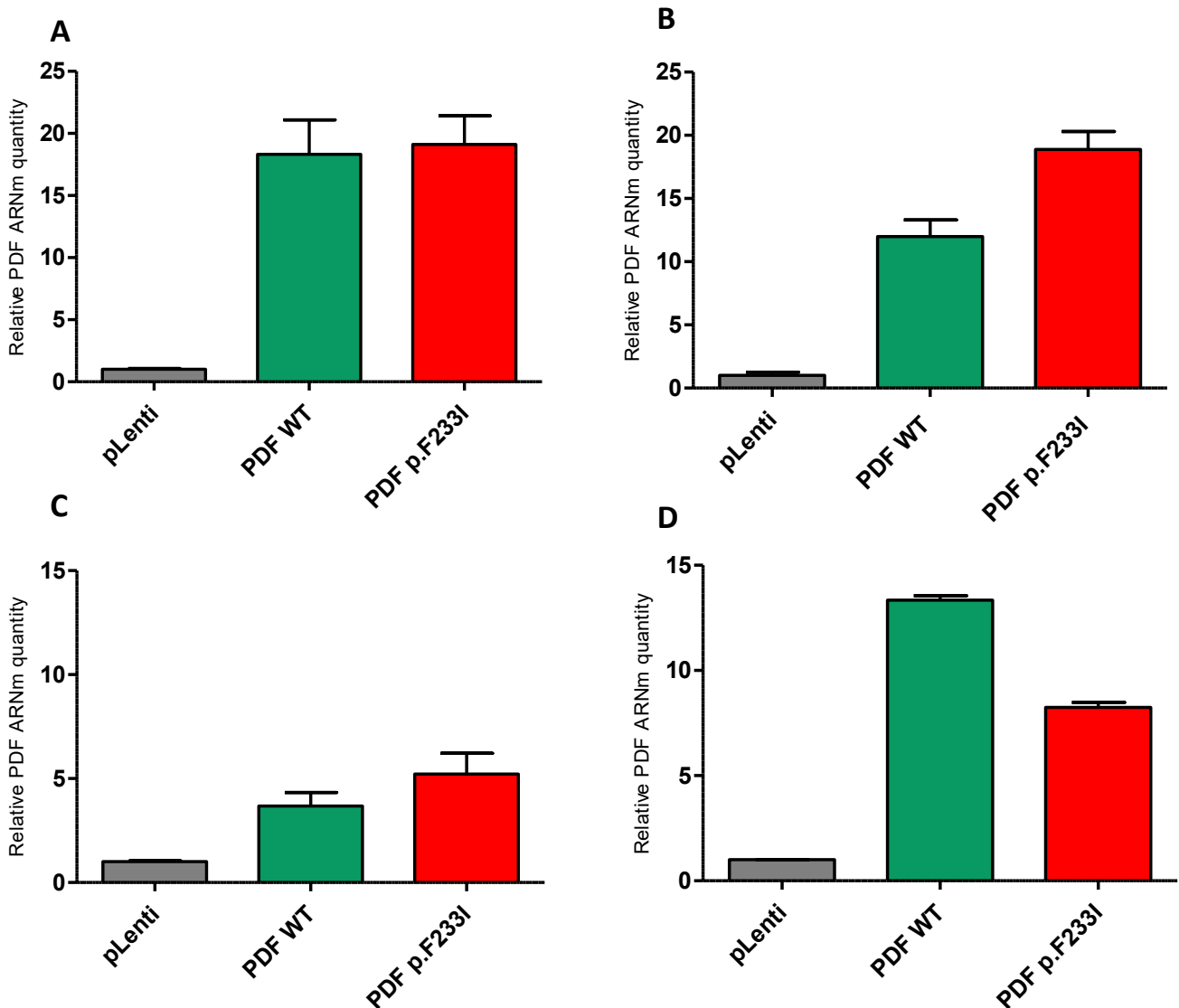


Figure 31. Expression de *PDF* après infection avec des lentivirus. Mesure au qPCR de la quantité relative d'ARNm de *PDF* deux semaines après infection avec les lentivirus pLenti (contrôle), *PDF* WT et *PDF* p.F233I des 697 groupe 1 (A) et groupe 2 (B) et des Reh groupe 1 (C) et groupe 2(D).

3.5.2. Production d'ATP

J'ai testé la production d'ATP dans mes lignées cellulaires 697 et Reh infectées avec le lentivirus pLenti, PDF WT ou PDF p.F233l. On n'observe aucune augmentation significative du niveau d'ATP chez les cellules surexprimant la forme sauvage ou mutée (fig. 32).

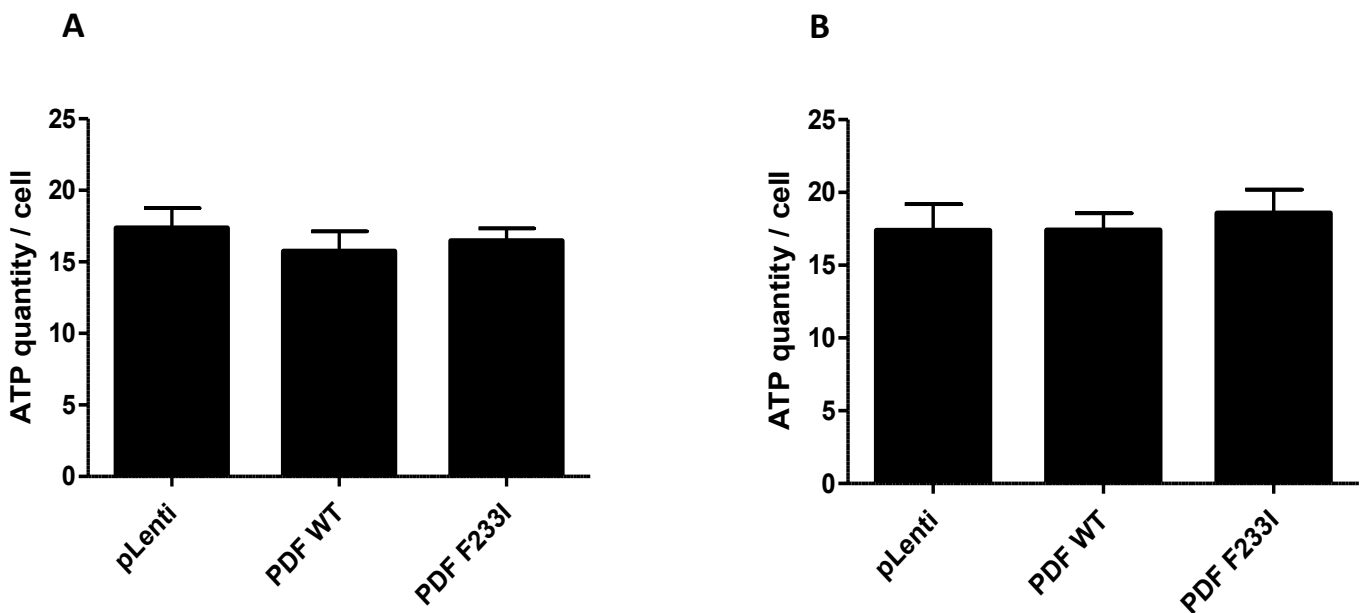


Figure 32. Quantité d'ATP par cellule après infection avec des lentivirus. Mesure de la quantité d'ATP par luminescence après 10 minutes d'incubation avec le CellTiterGlo dans les 697 (A) et dans les Reh (B).

Il est possible que cette absence de corrélation soit due à l'effet Warburg i.e. que la cellule compenserait sa production d'ATP en activant la voie de la glycolyse aérobie. Cette dernière est plus efficace pour la production d'ATP, notamment dans les cellules cancéreuses [121]. Si c'est le cas, les fluctuations de la production d'ATP par la voie de la chaîne de respiration mitochondriale ne seraient pas observables.

Afin de mettre en évidence une perturbation de l'activité de la chaîne de respiration mitochondriale par la surexpression du gène *PDF* sauvage ou muté, j'ai cultivé les cellules dans un milieu contenant du pyruvate au lieu du glucose. Ainsi la cellule n'ayant plus de glucose dans le milieu, elle utilisera le pyruvate comme substrat afin de produire de l'ATP par respiration mitochondriale via le cycle de Krebs et non pas par la glycolyse, le glucose n'étant plus disponible.

Après une incubation de 24h dans le milieu contenant du pyruvate, on n'observe pas de différences significatives dans les deux lignées cellulaires, (fig. 32). En revanche, après une incubation de 92h, les cellules 697 montrent une différence en fonction de la présence de la forme *PDF* mutante ou sauvage. On note une diminution générale de la quantité d'ATP par cellule suite à l'épuisement en pyruvate. Par contre, la diminution de la quantité d'ATP est plus significative lorsque la forme mutante de *PDF* (p.F233I) est surexprimée (fig. 33). Ceci n'est pas un effet attendu pour une mutation conductrice car une diminution de la production d'ATP n'est pas favorable au développement du cancer car la cellule cancéreuse a un métabolisme plus énergivore que la cellule normale.

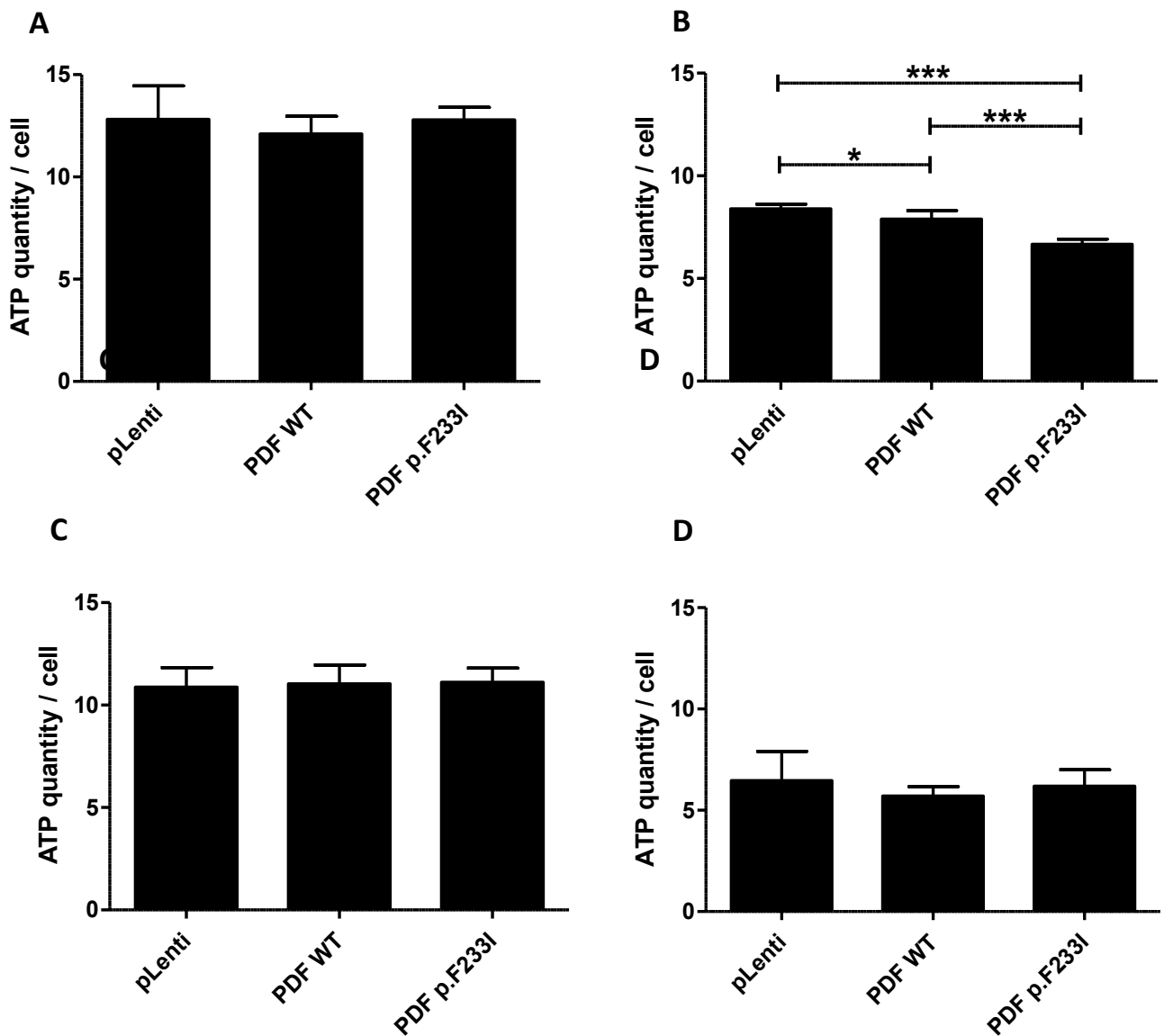


Figure 33. Quantité d'ATP par cellule après infection avec des lentivirus lorsque cultivées dans un milieu contenant du pyruvate. Mesure de la quantité d'ATP dans les 697 après 24h dans un milieu dépourvu de glucose et contenant du pyruvate (A) et après 92h dans ce même milieu (B). La même mesure a été faite sur les Reh après 24h dans le milieu dépourvu de glucose et contenant du pyruvate (C) et après 92h dans ce même milieu (D). La luminescence a été mesurée après 10 minutes d'incubation avec le CellTiterGlo. La significativité a été déterminée par un test two-tailed Mann-Whitney U : *, P-value \leq 0,05 ; ***, P-value \leq 0,001.

3.5.3 Apoptose

J'ai réalisé un test d'apoptose sur les cellules 697 et Reh infectées par le lentivirus pLenti, PDF WT ou PDF p.F233I. La surexpression du gène *PDF* dans les cellules 697 (autant la forme sauvage que mutée) conduit à plus d'apoptose (fig. 34). Lorsque les cellules sont soumises à un stress oxydatif, la différence d'apoptose s'atténue (fig. 34). Je n'ai observé aucun résultat significatif dans les cellules Reh (fig. 34).

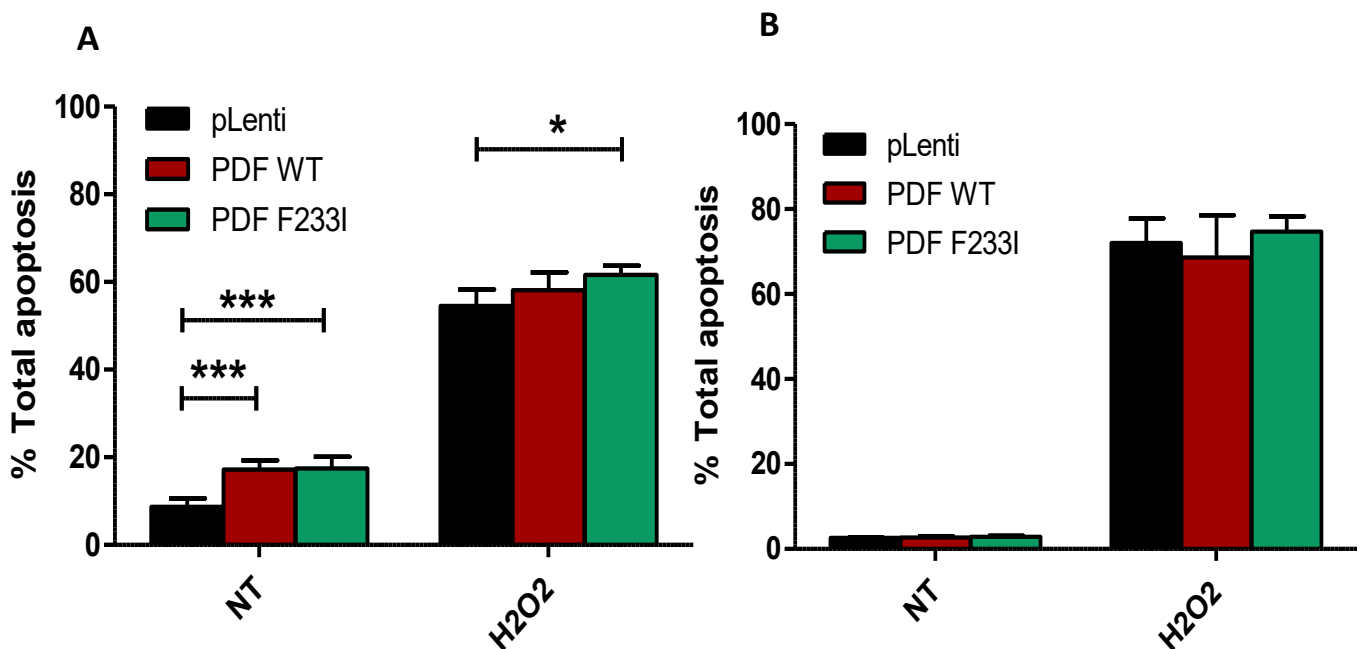


Figure 34. Pourcentage d'apoptose dans les cellules après infection avec des lentivirus dans les conditions basales et après un traitement à l'H₂O₂. Mesure du pourcentage d'apoptose par cytométrie en flux 18h après le traitement par l'H₂O₂ dans les 697 (A) et les Reh (B). La significativité a été déterminée par un test two-tailed Mann-Whitney U : *, P-value≤0,05 ; ***, P-value≤0,001.

3.5.4. Production de mROS

Lorsque j'ai réalisé le test de production de mROS sur les lignées cellulaires 697 et Reh, j'ai observé dans les cellules 697 une légère augmentation du niveau de ROS lorsque le gène *PDF* WT est surexprimé et un retour au niveau basal de production de ROS lorsque les cellules surexpriment la mutation *PDF* p.F233I (fig. 35). La surexpression du gène *PDF* élève légèrement le niveau de mROS dans les cellules 697, parallèlement à l'augmentation du niveau d'apoptose, cela indique un potentiel stress mitochondrial, tout comme celui observé lors de l'inhibition de *PDF*. Quant à la surexpression de *PDF* p.F233I, elle n'augmente pas la production de mROS dans les 697. Je n'ai observé aucun résultat significatif dans les cellules Reh (fig. 35).

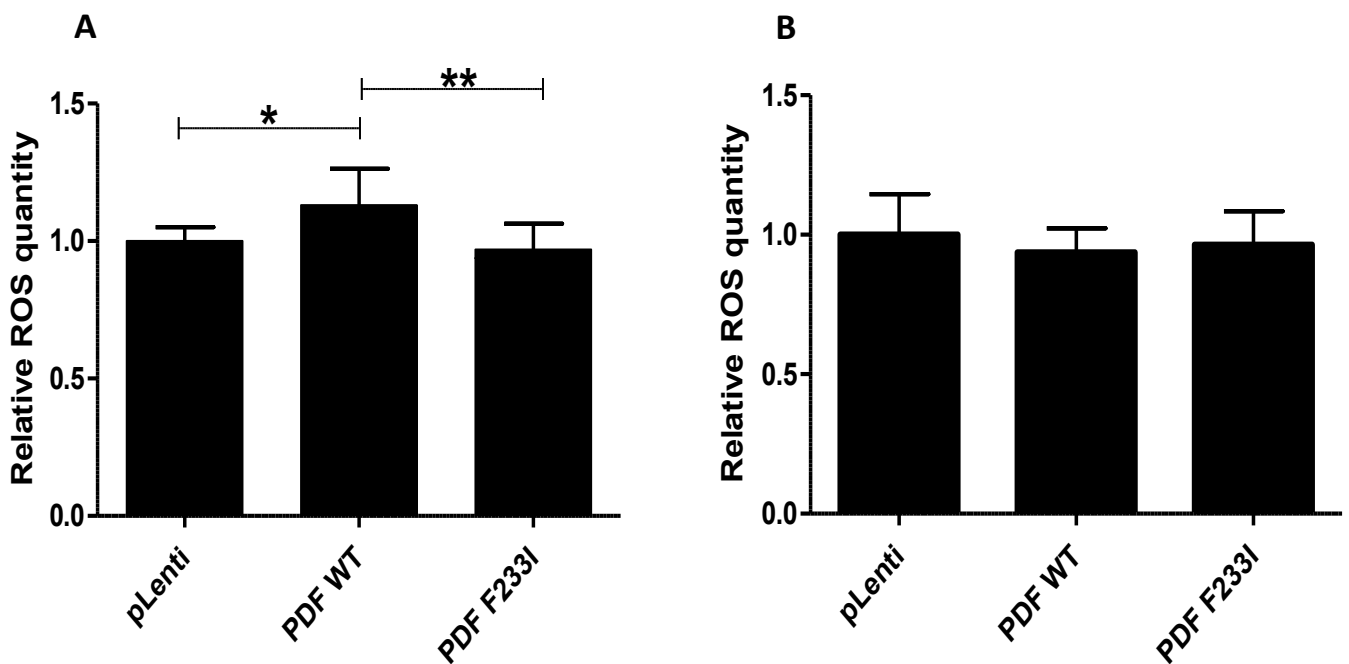


Figure 35. Quantité de mROS dans les cellules après infection avec des lentivirus. Mesure par cytométrie en flux de la quantité de mROS dans les 697 (A) et les Reh (B). Les niveaux de ROS ont été mesurés 20 minutes après un marquage au Mitotracker Red.

3.5.5. Prolifération cellulaire

J'ai effectué un test de prolifération cellulaire sur les deux lignées cellulaires 697 et Reh. Ceci a permis de mettre en évidence un ralentissement de la prolifération des cellules 697 qui surexpriment la forme sauvage par rapport à celles qui surexpriment la mutation p.F233I (fig.36). Quant aux cellules Reh, on n'observe pas de résultats significatifs.

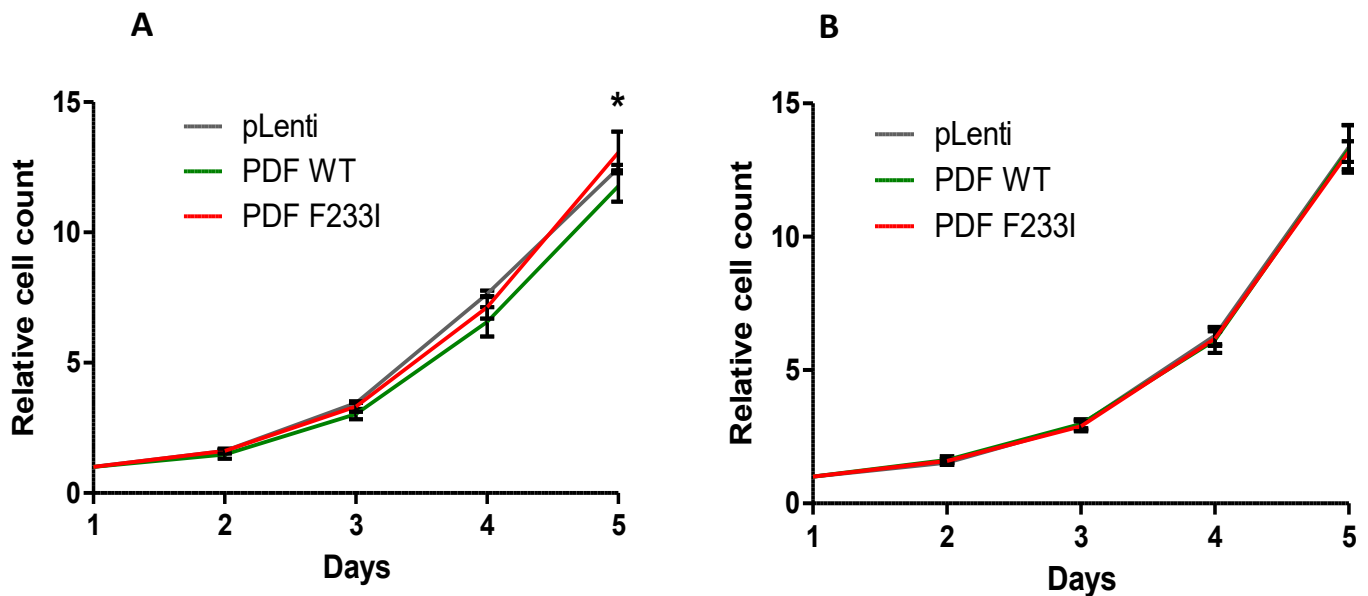


Figure 36. Courbes de prolifération après infection des cellules avec des lentivirus. Mesure au compteur du nombre de cellules 697 (A) et Reh (B) par mL pendant 4 jours. La significativité a été déterminée par un test two-tailed Mann-Whitney U : *, P-value \leq 0,05.

Chapitre 4. Discussion, conclusion et perspectives

4.1. Le rôle de PDF dans la leucémie lymphoblastique aiguë (LAL).

4.1.1. Inhibition de PDF

Plusieurs études ont rapporté le rôle oncogénique de *PDF* dans plusieurs cancers. La méthode de choix utilisée dans ces études est l'inhibition de la peptide deformylase par l'actinonin. C'est, un inhibiteur compétitif et réversible de la peptide deformylase. Il occupe le site actif de la peptide deformylase et l'empêche d'effectuer son action de deformylation des peptides en cours de traduction dans la mitochondrie [116]. Plusieurs études l'ont utilisé afin d'inhiber la peptide deformylase et ont constaté qu'elle provoquait une perturbation de la fonction de la chaîne de respiration mitochondriale [117]. En effet, de bons assemblages des complexes de la CR mitochondriale sont requis afin de la faire fonctionner correctement. L'inhibition de la peptide deformylase a causé une réduction de la fonction de la CR mitochondriale et des niveaux de production d'ATP dans des cellules cancéreuses de poumon [117]. Cela a entraîné la cellule à une dépendance à la glycolyse aérobie pour sa production d'ATP [117]. *PDF* apparaît donc avoir un rôle dans la maintenance de la fonction de la CR mitochondriale.

Son inhibition par l'actinonin, a également inhibé la prolifération cellulaire dans des lignées cellulaires cancéreuses et non-cancéreuses [116, 118]. De plus, l'inhibition de la voie MEK/ERK a provoqué une réduction de l'expression de *PDF*. L'implication d'une voie de signalisation qui régule la prolifération cellulaire dans la modulation de l'expression de *PDF* fournit une preuve que *PDF* favorise la croissance cellulaire [121]. L'inhibition de *PDF* a également résulté en une dépolarisation de la membrane mitochondrial, favorisant la mort cellulaire ou l'arrêt de la prolifération dans plusieurs lignées cellulaires cancéreuses [118, 135].

Cependant, le gène *PDF* n'avait jamais été étudié dans le cadre de la LAL. Dans mon projet de maîtrise, j'ai démontré que l'inhibition de PDF mène à une diminution de la production d'ATP ce qui indique une perturbation de l'activité de la chaîne de respiration mitochondriale. De plus, l'observation d'une augmentation du taux d'apoptose couplée à une élévation de la production de

ROS indiquerait la présence d'un stress mitochondrial dans les cellules [92, 93, 98, 100, 103]. Notons également un blocage de la prolifération cellulaire.

En combinant ces résultats, je suggère que la perturbation de l'activité de la chaîne de respiration mitochondriale dans les cellules leucémiques, a engendré un stress mitochondrial dans la cellule [98]. Ce qui conduit d'une part, à une augmentation de la production de ROS dans la mitochondrie [95], et d'autre part, à une augmentation de l'apoptose [96 -100]. Nous savons que les ROS peuvent jouer le rôle de messagers cellulaires dans plusieurs voies de signalisation, dont la prolifération cellulaire, notamment en jouant sur les voies RAS/MAPK [101, 102, 104-108], et les voies JNK, p38 kinase et BMK1/ERK5 [97, 98]. Ainsi, l'inhibition de *PDF* induirait un stress mitochondrial et une surproduction de ROS, qui activerait des voies de signalisations de MAPK, afin d'activer ou d'inhiber des gènes qui contrôlent le cycle cellulaire et provoquer un arrêt dans ce processus. La prolifération cellulaire se voit alors bloquée (fig. 37).

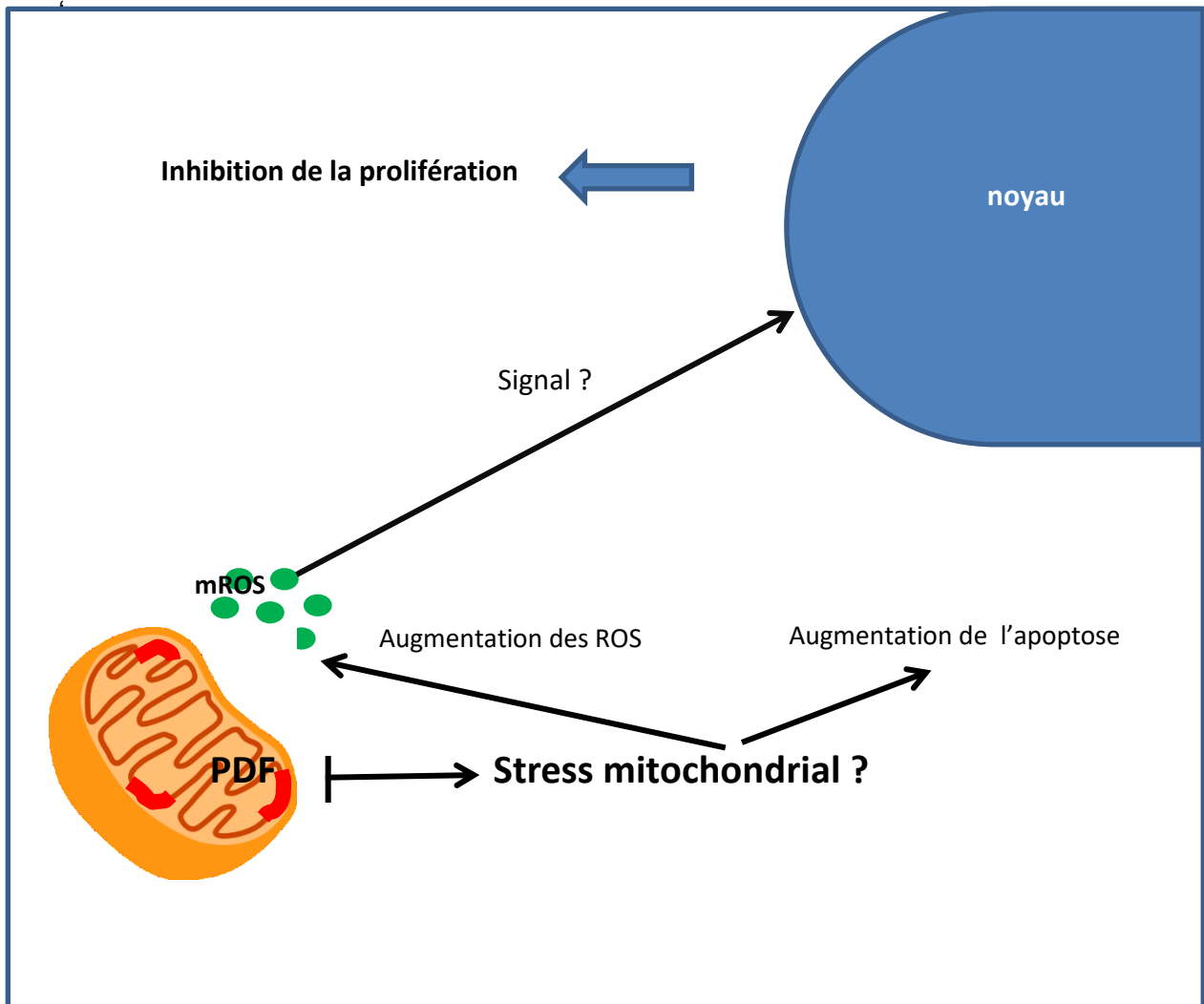


Figure 37. Schéma du modèle hypothétique de l'inhibition de *PDF* dans la LAL. Dans la mitochondrie, les chaînes de respiration mitochondriales sont perturbées (en rouge).

Pour confirmer le rôle oncogénique de *PDF* dans la LAL, il faut que la surexpression du gène *PDF* s'avère donner les effets inverses à son inhibition. Or, la surexpression du gène *PDF* a également provoqué une augmentation de l'apoptose (fig. 34), et une augmentation de la production de mROS dans les cellules 697 et Reh (fig. 35), indiquant également un potentiel stress mitochondrial dans la cellule. Elle a provoqué les mêmes effets que lors de l'inhibition de *PDF*, et s'inscrit dans le même schéma que dans la figure 37. Ainsi, une amplification

du gène *PDF*, ou une mutation activatrice sur *PDF*, ne donne pas de gain de fonction à la peptide déformylase. Le gène *PDF* n'est alors pas un oncogène dans la LAL. C'est un gène qui est exprimé ubiquitairement [124], et qui a besoin d'être exprimé à un niveau précis dans chaque cellule pour pouvoir effectuer correctement son action de déformylation des peptides traduits dans la mitochondrie, et participer ainsi au bon fonctionnement des complexes de la chaîne de respiration mitochondriale.

4.1.2. Stress mitochondrial

Une augmentation de l'apoptose pourrait indiquer que la cellule subit un stress mitochondrial. En effet, les cellules soumises à un stress mitochondrial vont voir leur potentiel de membrane mitochondriale diminuer. [122]. La dépolarisation de la membrane est un événement précoce dans le processus de l'apoptose, qui permet le relargage du cytochrome c et d'autres protéines pro-apoptotiques dans le cytoplasme afin de faire entrer la cellule en apoptose. L'inhibition de la peptide déformylase a causé l'apoptose dans des lymphomes de Burkitt surexprimant le gène *MYC* [119, 135]. La Mitochondrial Unfolded Protein Response (mtUPR) a récemment été découvert comme étant un mécanisme impliqué dans la mort cellulaire [125]. Un marqueur connu de ce phénomène est la régulation positive des facteurs de transcription CHOP et CEB/P [127]. L'inhibition de la peptide déformylase a provoqué une élévation du niveau d'expression de ces facteurs de transcription dans des lymphomes de Burkitt [135].

De plus, une augmentation de la production de mROS est susceptible d'indiquer également un stress mitochondrial dans la cellule. Autre que leur rôle signalétique, les ROS sont des molécules toxiques pour les cellules. En effet, il a longtemps été reconnu que certaines tumeurs sont densément infiltrées par des cellules du système immunitaire [126, 128]. A un stade précoce de progression néoplasique, l'inflammation est dans certains cas évidente et peut être capable de favoriser la progression néoplastique vers un cancer [128, 129]. En effet, les cellules inflammatoires peuvent relâcher des molécules chimiques, notamment des ROS. Les ROS sont des mutagènes pour les cellules cancéreuses

environnantes, en accélérant leur évolution génétique vers une plus grande malignance [129]. Ainsi, l'augmentation de la production de ROS est favorable au cancer.

Cependant, pour confirmer qu'il y a un stress mitochondrial dans la cellule, il faudrait par exemple effectuer un dosage du glutathion réduit (GSH) ou de la superoxyde dismutase (SOD) [123] dans les cellules qui inhibent ou surexpriment PDF.

Selon les données COSMIC, l'expression de *PDF* est parfois amplifiée, parfois diminuée dans différents cancers (fig.17). Sachant que l'oncogène *MYC* régule l'expression de *MZF1*, qui régule lui-même l'expression de PDF [121]. Il est probable que les amplifications observées de *PDF* dans certains cancers soient en partie dû à une activation du facteur de transcription *MYC*. De la même façon, une activation de la voie MEK/ERK pourrait augmenter l'expression de *PDF*. A l'inverse, des mutations faux-sens sur *PDF* pourraient tronquer la peptide deformylase, provoquant des altérations de type délétions du gène *PDF*. L'inhibition ou la surexpression de *PDF* mènent potentiellement à un stress mitochondrial qui fait augmenter la production de mROS et qui favorise la carcinogénèse. C'est probablement pour cela qu'on retrouve ces deux types d'altérations dans plusieurs cancers. Les mutations faux-sens comme PDF p.F233I sont alors soit des mutations qui activent PDF de manière à ce que sa fonction soit amplifiée, soit des mutations qui diminuent la fonction de la PDF.

4.2. Caractérisation de la mutation PDF p.F233I

4.2.1. PDF p.F233I, une mutation potentiellement passager

La mutation PDF p.F233I est récurrente ayant été retrouvée chez trois patients de notre cohorte QcALL (fréquence de 1,05%). Cette mutation est également prédite comme étant dommageable, suggérant un potentiel de mutation conductrice. Malheureusement, mes études fonctionnelles réalisées sur 2 lignées leucémiques n'ont pu valider ce caractère conducteur. En effet, on se serait attendu pour une mutation conductrice qu'elle augmente la production d'énergie (donc d'ATP), résiste à l'apoptose, ne surproduit pas de ROS, et donne un avantage prolifératif à la cellule cancéreuse [47, 51]. Ces caractéristiques auraient donné un avantage sélectif aux cellules cancéreuses, leur permettant d'être potentiellement sélectionnées et de continuer à proliférer. Pourtant, la surexpression de la mutation dans les cellules leucémiques 697 a engendré une diminution de la production d'ATP et une augmentation de l'apoptose. Ainsi, on ne peut pas dire que la mutation PDF p.F233I est conductrice de la leucémogénèse.

4.2.2. Un avantage sélectif potentiel

Si l'on en revient au modèle hypothétique de l'inhibition ou de la surexpression de *PDF* (fig. 37), lors de la surexpression de PDF p.F233I, les cellules n'augmentent pas leur production de mROS et elles ont un léger avantage prolifératif comparé à la surexpression du gène sauvage. Ainsi, la mutation PDF p.F233I pourrait procurer un avantage sélectif à la cellule en empêchant la voie des mROS d'être activée, et d'activer par la suite des voies de signalisation MAPK, dans le but d'inhiber la prolifération (fig. 38).

Pourtant, n'ayant pas de surproduction de mROS, la cellule ne favorise pas l'accumulation de dommages aux protéines, lipides, et à l'ADN dans la mitochondrie, et donc le développement du cancer.

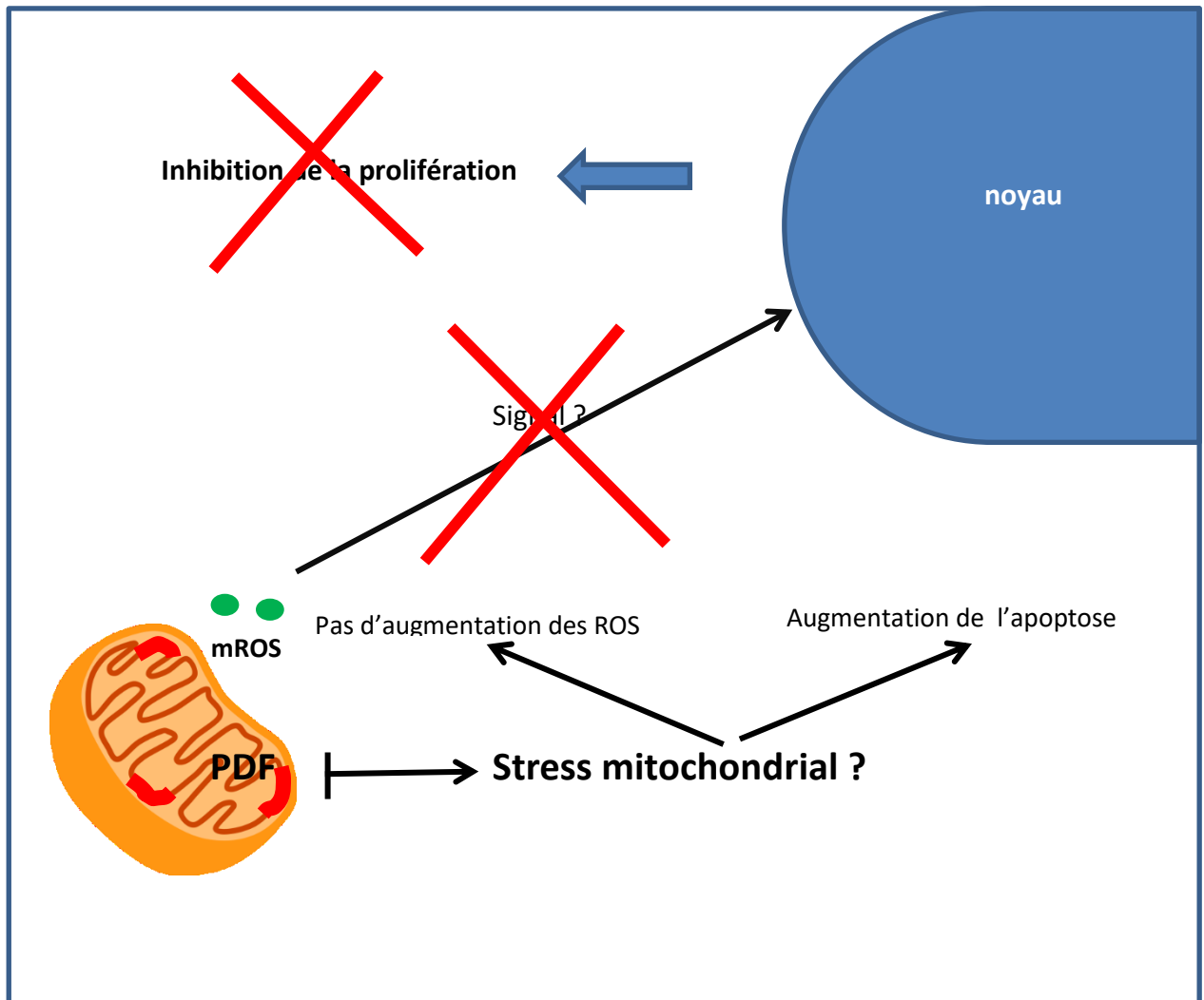


Figure 38. Schéma du modèle hypothétique de la surexpression de PDF p.F233I dans la LAL. Dans la mitochondrie, les chaînes de respiration mitochondriales sont perturbées (en rouge).

4.3. Perspectives de recherche

4.3.1. Limites du projet

Les expériences de réduction de l'expression de *PDF* posent des limites aux conclusions que l'on peut tirer des essais fonctionnels. Après l'infection des lignées cellulaires leucémiques avec le sh#24, il restait environ 26% d'expression résiduelle de *PDF* dans les Reh et encore 48% de cette même expression dans les 697 (fig. 22). Cela indique que le niveau d'ARNm de *PDF* a diminué et par conséquent, le niveau de la peptide déformylase a diminué lui aussi. La protéine est donc présente en moins grande quantité mais elle reste fonctionnelle. Si la mutation faux-sens c.t697a dans le gène *PDF* est une mutation perte de fonction, alors la peptide déformylase sera exprimée à un niveau basal normal mais sa fonction sera perturbée. Il y aurait donc probablement des différences dans les résultats des essais fonctionnels réalisés sur les cellules leucémiques lorsque le niveau d'expression de *PDF* diminue et lorsque la fonction de la peptide déformylase est perturbée. C'est pour cela qu'induire spécifiquement la mutation c.t697a dans le gène *PDF* reste le meilleur modèle pour conclure sur les effets de cette mutation faux-sens dans les cellules leucémiques. Ainsi, les expériences de réduction de l'expression de *PDF* avaient pour but de déterminer le rôle de *PDF* dans les cellules leucémiques, et éventuellement de confirmer son potentiel oncogénique.

La méthode d'inhibition de la peptide deformylase par l'actinonin donne des résultats significativement plus importants au niveau de l'apoptose et de la prolifération cellulaire (fig. 27, 28 et 29, 30). En effet, il est facile d'ajuster et administrer la dose d'actinonin optimale aux cellules leucémiques afin d'obtenir une inhibition efficace de la peptide déformylase (13µM). A l'inverse, le protocole de production des shRNAs limite l'efficacité de l'inhibition de l'expression de *PDF*. En effet, le niveau de réduction de l'expression d'un gène ciblé par un shRNA va être aléatoire et parfois peu efficace [130]. Il est donc recommandé de tester plusieurs shRNAs ciblant des séquences différentes d'un même gène. Cela permet de sélectionner le shRNA qui donne la plus forte réduction d'expression du gène en question. Les niveaux d'expression résiduelle restants après l'infection

des cellules leucémiques par les shRNAs sont non négligeables (fig. 22). Ainsi, cela pourrait expliquer les différences de significativités dans les essais fonctionnels d'apoptose et de prolifération cellulaire avec les deux méthodes d'inhibition. On peut remarquer que pour les tests de production d'ATP et de mROS on observe moins de différences dans la significativité des résultats. L'actinonin semble avoir un effet plus drastique sur la mort cellulaire alors qu'il s'agirait d'un effet indirect suite au stress mitochondrial provoqué par la perturbation de la CR mitochondriale (selon le modèle proposé à la figure 37). Cependant, l'actinonin est aussi un inhibiteur de l'enzyme Aminopeptidase-N/CD13 qui est exprimée à la surface des cellules leucémiques [135, 132, 133]. Il a été démontré que l'inhibition de l'Aminopeptidase N inhibe la prolifération cellulaire [133]. Ainsi, l'actinonin entraîne un arrêt de la prolifération cellulaire en interagissant non seulement avec la peptide deformylase, mais aussi avec l'Aminopeptidase N.

On aurait pu réaliser un Western blot afin de confirmer l'inhibition de la PDF au niveau protéique, lors des infections avec les shRNAs. Cela nous aurait permis de valider la diminution du taux de PDF lors de ces expériences. . Il aurait été intéressant de comparer les taux protéiques de la PDF en fonction des deux méthodes d'inhibition, notamment pour comprendre les différences de significativité lors des mêmes essais phénotypiques. Cependant, nous n'aurions pas pu valider cette inhibition avec la méthode chimique de l'actinonin. En effet, cet inhibiteur compétitif et réversible ne diminue pas la quantité protéique de la PDF mais l'empêche d'effectuer sa fonction de déformylation des peptides traduits dans la mitochondrie en occupant son site actif. La protéine est donc toujours présente. C'est pour cela que je n'ai pas choisi d'effectuer le test de validation des niveaux protéiques de la PDF.

Le paysage génomique des lignées cellulaires joue un rôle important dans la leucémogénèse compte tenu des interactions entre les gènes et le reste du caryotype (épistasies). Les trois patients de la cohorte QcALL qui partagent la mutation c.t697a dans le gène *PDF* sont hyperdiploïdes. Il aurait été donc pertinent d'utiliser des lignées cellulaires leucémiques hyperdiploïdes tel que MUTZ-5 ou NALM-19 comme modèles cellulaires. Il aurait été encore plus

pertinent d'effectuer la validation fonctionnelle sur les cellules des trois patients qui partagent la mutation c.t697a dans le gène *PDF*. Nous avons le matériel ADN de ces trois patients mais il n'y a pas de cellules viables dans les échantillons de sang congelés. Il n'est donc pas possible de mettre ces cellules en culture pour effectuer la validation fonctionnelle.

D'autres essais phénotypiques auraient pu être envisagés. La lignée cellulaire Ba/F3 est de plus en plus utilisée dans le but de valider les mutations conductrices. Ces cellules sont dépendantes de l'interleukine-3 pour leur prolifération. Si l'on surexprime une mutation conductrice dans ces cellules, elles deviennent indépendantes de cette cytokine mais dépendantes de la mutation conductrice pour proliférer. C'est le phénomène d'addiction à l'oncogène. Il suffit alors de cultiver ces cellules dans un milieu dépourvu d'interleukine-3 pour sélectionner celles qui ont intégré une mutation conductrice dans leur génome [134].

4.3.2. Résultats lignée-spécifique

Il serait intéressant de comprendre pourquoi les résultats obtenus lors de la surexpression de *PDF* sont lignée-spécifiques. En effet, nous n'avons observé des effets uniquement dans les cellules 697 et non dans les cellules Reh.

Cela peut être dû aux paysages génomiques différents entre ces lignées cellulaires. En effet, la lignée cellulaire 697 présente une surexpression de *MYC* ainsi que la fusion *TCF3-PBX* (*E2A-PBX*) alors que la lignée cellulaire Reh porte la translocation $t(12 ;21)$ [137]. *MYC* est un facteur de transcription qui joue un rôle central dans la carcinogénèse, le métabolisme des cellules cancéreuses, la prolifération, et la taille de la cellule [137]. C'est également un facteur vital dans l'oncogénèse de la leucémie aiguë myéloïde. *MYC* régule le métabolisme de la mitochondrie, notamment la transcription de l'ADNmt et la réplication de l'ADNmt [138]. *MYC* régule également l'expression de *PDF* indirectement.

Ainsi, l'expression et l'activité de la peptide deformylase pourraient être amplifiées dans les 697. En mesurant l'expression de *PDF* dans les 697 et Reh, je m'attendais à observer une plus grande expression de *PDF* dans les 697 que dans les Reh (Annexe B, fig. 42). Pourtant, je n'ai pas observé de différence significative entre les deux échantillons.

D'autre part, lorsqu'on surexprime un gène (sauvage ou muté) dans une cellule, le niveau d'expression de ce gène sera augmenté de façon aléatoire. En effet, la surexpression du gène *PDF* WT et muté est environ deux fois plus forte dans les 697 que dans les Reh (fig. 31). Cela pourrait donc expliquer les effets lignée-spécifiques de la surexpression du gène PDF dans les 697 et les Reh.

Finalement, comme la significativité de ces résultats (production de mROS et prolifération cellulaire) est faible (fig. 35 et 36), il est également probable que les variations observés dans la lignée cellulaire 697 soient dus à une variation biologique (biais biologique) et non pas à la surexpression de la mutation PDF p.F233I.

4.3.3. Travaux futurs

Plusieurs études ont démontré que l'actinonin inactive des MAPK dans plusieurs lignées cellulaires leucémiques en empêchant la phosphorylation de sérines [139, 140]. De plus, une autre étude a mis en évidence des changements au niveau de l'expression de gènes nucléaires impliqués dans le cycle cellulaire et dans la voie des MAPK après un traitement à l'actinonin [118]. Il serait intéressant, dans un premier temps, d'observer par cytométrie en flux l'inactivation des voies de signalisation MAPK suite à l'inhibition de PDF dans nos lignées cellulaires leucémiques 697 et Reh. Dans un deuxième temps, nous pourrions approfondir le lien entre la surproduction de mROS et l'inhibition de la prolifération cellulaire. Les mROS sont des molécules signalétiques qui peuvent activer des voies de signalisation MAPK et ainsi réguler l'expression de gènes impliqués dans le cycle cellulaire. Afin de prouver que c'est l'augmentation des mROS qui engendre le blocage de la prolifération cellulaire via la régulation de l'expression de gènes du

cycle cellulaire, il faudrait faire un RNA-sequencing pour comparer l'expression de ces gènes lorsqu'on inhibe PDF, qu'on le surexprime ou lorsqu'on surexprime la mutation PDF p.F233I. Du moins, on pourrait mesurer par qPCR l'expression de ces gènes dans les différents échantillons.

4.3.4. Retombées potentielles

L'identification de nouvelles mutations conductrices permettrait de mieux comprendre l'étiologie de la LAL et éventuellement d'élaborer des approches personnalisées pour la gestion et le soin des enfants atteints de cette maladie.

Si le gène *PDF* s'était révélé être un oncogène et que la mutation PDF p.F233I, une mutation conductrice dans la LAL, ils auraient pu être des cibles potentielles dans le traitement des patients atteints de la LAL pré-B, présentant des amplifications de PDF, ou la mutation PDF p.F233I.

Chapitre 5. Bibliographie

1. Comité directeur de la Société canadienne du cancer : Statistiques canadiennes sur le cancer 2011. Toronto : Société canadienne du cancer, 2011
2. Comité consultatif de la Société canadienne du cancer : Statistiques canadiennes sur le cancer 2017. Toronto, ON : Société canadienne du cancer; 2017.
3. Cancer chez les jeunes au Canada: Rapport du système de surveillance accrue du cancer chez les enfants. 2017. Publication santé, gouvernement du Canada.
4. Rooij J.D., Zwaan C.M., van den Heuvel-Eibrink M. (2015). Pediatric AML: From Biology to Clinical Management. *J Clin Med*. doi: 10.3390/jcm4010127.
5. Inaba H., Greaves M., Mullighan C.G. (2013). Acute lymphoblastic leukaemia. *Lancet*, 381(9881). doi : 10.1016/S0140-6736(12)62187-4
6. Incidence SEER18 Research Database, November 2016 submission (Katrina/Rita Population Adjustment).
7. Abu-Ouf N. M., Jan, M.M. (2015) Metabolic syndrome in the survivors of childhood acute lymphoblastic leukaemia, *Obesity Research & Clinical Practice*. doi : <http://dx.doi.org/10.1016/j.orcp.2014.06.004>
8. Bhatia S. (2012). Long-term complications of therapeutic exposures in childhood: lessons learned from childhood cancer survivors, *Pediatrics*, 130(6), 1141–1143. doi: 10.1542/peds.2012-2884
9. Bennett J.M., Catovsky D., Daniel M.T., Flandrin G., Galton D.A., Gralnick H.R., Sultan C. (1985). Proposed revised criteria for the classification of acute myeloid leukemia. A report of the French-American-British Cooperative Group. *Annals of Internal Medicine*, 103(4), 620-5.
10. Rothe G., Schmitz G. (1996). Consensus protocol for the flow cytometric immunophenotyping of hematopoietic malignancies. Working Group on Flow Cytometry and Image Analysis. *Leukemia*, 10(5), 877-95.
11. Hasle H., Clemmensen I.H., Mikkelsen M. (2000). Risks of leukaemia and solid tumours in individuals with Down's syndrome. *Lancet*, 355(9199), 165–69.
12. Pui C.H., Robison L.L., Look A.T. (2008). Acute lymphoblastic leukaemia. *Lancet*, 371(9617):1030-43. doi: 10.1016/S0140-6736(08)60457-2
13. Stanulla M., Schrappe M. (2009). Treatment of childhood acute lymphoblastic leukemia. *Seminars in Hematology*, 46(1):52-63. doi: 10.1053/j.seminhematol.2008.09.007.
14. Société de leucémie & lymphome du Canada (SLLC), La Leucémie lymphoblastique aiguë, 2017.
15. Hunger S.P., Lu X., Devidas M., Camitta B.M., Gaynon P.S., Winick N.J., ..., Carroll W.L. (2012). Improved Survival for Children and Adolescents with Acute Lymphoblastic Leukemia Between 1990 and 2005: A Report From the Children's Oncology Group. *Journal of Clinical Oncology*, 30(14), 1663-9. doi: 10.1200/JCO.2011.37.8018.
16. Bassan R., Hoelzer D. (2011). Modern therapy of acute lymphoblastic leukemia. *Journal of Clinical Oncology*, 29(5), 532-43. doi: 10.1200/JCO.2010.30.1382.

17. Lee J.W. and Cho B. (2017). Prognostic factors and treatment of pediatric acute lymphoblastic leukemia. *Korean journal of pediatric surgery*, 60(5), 129–137. doi: 10.3345/kjp.2017.60.5.129
18. Pui C.H., Campana D., Pei D., Bowmann W.P., Sandlund J.T., Kaste S.C., ..., Relling M.V. (2009). Treating childhood acute lymphoblastic leukemia without cranial irradiation. *The New England Journal of Medicine*, 360(26):2730-41. doi: 10.1056/NEJMoa0900386
19. Tran T.H., Shah A.T., Loh M.L. (2017) Precision medicine in pediatric oncology : Translating genomic discoveries into optimized therapies. *Clinical Cancer Research*. doi: 10.1158/1078-0432.2003-2016.
20. The Leukemia & Lymphoma Society of Canada
21. Hanahan D., Weinberg R.A. (2000). The hallmarks of cancer. *Cell*, 100, 57–70.
22. Oliveria SA, Saraiya M, Geller AC, Heneghan MK, Jorgensen C. (2005). Sun exposure and risk of melanoma. *Archives of Diseases in Childhood*, 91(2), 131–138. doi: 10.1136/adc.2005.086918
23. Biesalski H.K., Bueno de Mesquita B., Chesson A., Chytil F., Grimble R., Hermus R.J., ..., Thurnham D. (1998). European Consensus Statement on Lung Cancer: risk factors and prevention. *Lung Cancer Panel. CA : A Cancer Journal for Clinicians*. doi : 10.3322/canjclin.48.3.167
24. Greaves M.F., Alexander FE. (1993). An infectious etiology for common acute lymphoblastic leukemia in childhood? *Leukemia*, 7(3), 349-60.
25. Ashworth A. et al. (2011). Genetic interactions in cancer progression and treatment. *Cell*, 145, 30–38. doi: 10.1016/j.cell.2011.03.020.
26. Greaves, M. F., and Wiemels, J. (2003) Origins of chromosome translocations in childhood leukaemia, *Nature reviews. Cancer*, vol.3 p.639-649.
27. Ford, A. M., Bennett, C. A., et al. (1998) Fetal origins of the TEL-AML1 fusion gene in identical twins with leukemia, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, vol.95 p.4584-4588.
28. Thomas AE, Halsey C (eds): *Controversies in Pediatric and Adolescent Hematology*. *Pediatr Adolesc Med*. Basel, Karger, 2014, vol 17, pp 98–115 (DOI: 10.1159/000350349)
29. Strick R., Strissel P.L., Borgers S., Smith S.L., Rowley J.D. (2000). Dietary bioflavonoids induce cleavage in the MLL gene and may contribute to infant leukemia. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 97(9), 4790-5.
30. Alexander F.E., Patheal S.L., Biondi A., Brandalise S., Cabrera M.E., Chan L.C., ..., Greaves M. (2001). Transplacental chemical exposure and risk of infant leukemia with MLL gene fusion. *Cancer Research*, 61(6), 2542-6.
31. Ford, A. M., Bennett, C. A., et al. (1998) Fetal origins of the TEL-AML1 fusion gene in identical twins with leukemia, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, vol.95 p.4584-4588.
32. Eguchi-Ishimae, M., Eguchi, M., et al. (2001) Breakage and fusion of the TEL (ETV6) gene in immature B lymphocytes induced by apoptogenic signals, *Blood*, vol.97 p.737- 743.

33. Yuan Y., Zhou L., Miyamoto T., Iwasaki H., Harakawa N., Hetherington C.J., Burel S.A., ..., Zhang D.E. (2001). AML1–ETO expression is directly involved in the development of acute myeloid leukemia in the presence of additional mutations. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 98(18), 10398-403.
34. Greaves, M. F., Maia, A. T., et al. (2003) Leukemia in twins: lessons in natural history, *Blood*, vol.102 p.2321-2333.
35. Greaves, M. (2003) Pre-natal origins of childhood leukemia, *Reviews in clinical and experimental hematology*, vol.7 p.233-245.
36. Thompson, J. R., Gerald, P. F., et al. (2001) Maternal folate supplementation in pregnancy and protection against acute lymphoblastic leukaemia in childhood: a casecontrol study, *Lancet*, vol.358 p.1935-1940.
37. Smith, M. T., Wang, Y., et al. (2002) Low NAD(P)H:quinone oxidoreductase activity is associated with increased risk of leukemia with MLL translocations in infants and children, *Blood*, vol.100 p.4590-4593.
38. Alexander, F. E., Patheal, S. L., et al. (2001) Transplacental chemical exposure and risk of infant leukemia with MLL gene fusion, *Cancer research*, vol.61 p.2542-2546.
39. Higuchi M., O'Brien D., Kumaravelu P., Lenny N., Yeoh E.J., Downing J.R. (2002). Expression of a conditional AML1–ETO oncogene bypasses embryonic lethality and establishes a murine model of human t(8;21) acute myeloid leukemia. *Cancer Cell*, 1(1), 63-74.
40. Balkwill F., Charles K.A., Mantovani A. (2005). Smoldering and polarized inflammation in the initiation and promotion of malignant disease. *Cancer Cell*, 7, 211–217.
41. Greaves M. (2006). Infection immune responses and the aetiology of childhood leukaemia. *Nature Reviews Cancer*, 6(3), 193-203
42. Kroll M.E., Draper G.J., Stiller C.A., Murphy M.F. (2006). Childhood leukemia incidence in Britain, 1974–2000: time trends and possible relation to influenza epidemics. *Journal of National Cancer Institute*, 98(6), 417–20.
43. Aifantis I., Raetz E., and Buonamici S. (2008). Molecular pathogenesis of T-cell leukaemia and lymphoma. *Nature Reviews Immunology*, 8(5), 380–390.
44. Mullighan C.G. (2012). The molecular genetic makeup of acute lymphoblastic leukemia. *Hematology*. American Society of Hematology. Education Program, 2012, 389-96. doi: 10.1182/asheducation-2012.1.389.
45. Pon J.R., Marra M.A. (2015). Driver and Passenger Mutations in Cancer. *Annual Review of pathology*, 10, 25–50. doi:10.1146/annurev-pathol-012414-040312
46. Vogelstein B., Papadopoulos N., Velculescu V.E., Zhou S., Diaz L., W. Kinzler K.W. (2013). Cancer Genome Landscapes. *Science*, 339(6127), 1546–1558. doi: 10.1126/science.1235122
47. Kaminker J.S., Zhang Y., Watanabe C., Zhang Z. (2007). CanPredict: a computational tool for predicting cancer-associated missense mutations. *Nucleic Acids Research*. doi: 10.1093/nar/gkm405

48. Youn A., Richard Simon R. (2011). Identifying cancer driver genes in tumor genome sequencing studies. *Bioinformatics*, 27(2), 175–181. doi: 10.1093/bioinformatics/btq630
49. Carter H., Chen S., Isik L., Tyekucheva S., Velculescu V.E., Kinzler K.W., ... , Karchin R., (2009). Cancer-specific High-throughput Annotation of Somatic Mutations: computational prediction of driver missense mutations. *Cancer Research*, 69(16), 6660–6667. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-09-1133
50. Mullighan C.G., Goorha S., Radtke I., Miller C.B., Coustan-Smith E., Dalton J.D., ..., Downing J.R. (2007). Genome-wide analysis of genetic alterations in acute lymphoblastic leukaemia. *Nature*, 446(7137), 758-64.
51. Tan J., Ong C.K., Lim W.K., Thike A.A., (2015). Genomic landscapes of breast fibroepithelial tumors. *Nature Genetics*, 47(11), 1341-5.
52. Sulong S., Moorman V., Irving J., Strefford J., Konn Z., Case M., ..., , Harrison C. (2009). A comprehensive analysis of the CDKN2A gene in childhood acute lymphoblastic leukemia reveals genomic deletion, copy number neutral loss of heterozygosity, and association with specific cytogenetic subgroups. *Blood*. doi: <https://doi.org/10.1182/blood-2008-07-166801>
53. Dang J., Wei L., de Ridder J., Xiaoping S., Rust A., Roberts K., ..., Mullighan C.G. (2015). PAX5 is a tumor suppressor in mouse mutagenesis models of acute lymphoblastic leukemia. *Blood*. doi: 10.1182/blood-2015-02-626127
54. Payne K.J., Dovat S., (2011). Ikaros and tumor suppression in acute lymphoblastic leukemia. *Critical Reviews in Oncogenesis*. 16(1-2):3-12.
55. Tsai T, Davalath S, Rankin C, Radich JP, Head D, Appelbaum FR, Boldt DH. (1996). Tumor suppressor gene alteration in adult acute lymphoblastic leukemia (ALL). Analysis of retinoblastoma (Rb) and p53 gene expression in lymphoblasts of patients with de novo, relapsed, or refractory ALL treated in Southwest Oncology Group studies. *Leukemia*, 10(12):1901-10.
56. Kustanovich A., Savitskaja T., Bydanov O., Belevtsev M., Potapnev M. (2005). Aberrant expression of tumor suppressor genes and their association with chimeric oncogenes in pediatric acute lymphoblastic leukemia. *Leukemia Research*, Volume 29, Issue 11, Pages 1271–1276
57. Kees U.R., Heerema N.A., Kumar R., Watt P.M., Baker D.L., La M.K., ..., sather H.N. (2003). Expression of HOX11 in childhood T-lineage acute lymphoblastic leukaemia can occur in the absence of cytogenetic aberration at 10q24: a study from the Children's Cancer Group (CCG). *Leukemia*. 17(5):887-93.
58. Wang Z., Bunting K.D. (2016). STAT5 activation in B-cell acute lymphoblastic leukemia: damned if you do, damned if you don't. *Cancer Cell & Microenvironment*. 3(1)
59. Tosello V., Ferrando A. (2013). The NOTCH signaling pathway: role in the pathogenesis of T-cell acute lymphoblastic leukemia and implication for therapy. *Ther Adv hematol*. doi: 10.1177/2040620712471368

60. Sexauer A., Tasian S. (2017). Targeting FLT3 signaling in childhood acute myeloid leukemia. *Front Pediatr.* doi: 10.3389/fped.2017.00248
61. Mullighan C.G., Goorha S., Radtke I., Miller C.B., Coustan-Smith E., Dalton J.D., ..., Downing J.R. (2007). Genome-wide analysis of genetic alterations in acute lymphoblastic leukaemia. *Nature*, 446(7137), 758-64.
62. Barbieri C.E., Baca S.C., Lawrence M.S., Demichelis F., Blattner M., Theurillat J.P. (2012). Exome sequencing identifies recurrent SPOP, FOXA1 and MED12 mutations in prostate cancer. *Nature Genetics*, 44(6), 685-9.
63. Tan J., Ong C.K., Lim W.K., Thike A.A., (2015). Genomic landscapes of breast fibroepithelial tumors. *Nature Genetics*, 47(11), 1341-5.
64. Kataoka K., Nagata Y., Kitanaka A., Shiraishi Y., Shimamura T., Yasunaga J. (2015) . Integrated molecular analysis of adult T cell leukemia/lymphoma. *Nature Genetics*, 47(11), 1304-15.
65. Parmigiani G., Boca S., Lin J., Kinzler K.W., Velculescu V., Vogelstein B. (2009). Design and analysis issues in genome-wide somatic mutation studies of cancer. *Genomics*, 93(1), 17. doi: 10.1016/j.ygeno.2008.07.005
66. Sun X., Yu Q. (2015). Intra-tumor heterogeneity of cancer cells and its implications for cancer treatment. *Acta Pharmacologica Sinica*, 36(10), 1219–1227. doi: 10.1038/aps.2015.92
67. Mardis ER. (2014). The translation of cancer genomics: time for a revolution in clinical cancer care. *Genome Medicine*, 6(3), 22. doi: 10.1186/gm539
68. Pon J.R., Marra M.A. (2015). Driver and Passenger Mutations in Cancer. *Annual Review of pathology*, 10, 25–50. doi:10.1146/annurev-pathol-012414-040312
69. Hanahan D., Weinberg R.A. (2000). The hallmarks of cancer. *Cell*, 100, 57–70.
70. Miller D.G. (1980). On the nature to susceptibility to cancer. *Cancer*, 46(6), 1307-18.
71. Hanahan D., Weinberg R.A. (2011). Hallmarks of cancer : The Next Generation. *Cell*, 100, 57–70. doi : 10.1016/j.cell.2011.02.013
72. Zhang J., Mullighan C.G., Harvey R.C., Wu G., Chen X., Edmonson M., ..., Hunger S.P. (2011). Key pathways are frequently mutated in high-risk childhood acute lymphoblastic leukemia: a report from the Children's Oncology Group. *Blood*, 118(11), 3080-7. doi: 10.1182/blood-2011-03-341412
73. Mardis E.R. (2016). The challenges of big data. *Disease Models & Mechanisms*, 9(5), 483-5. doi: 10.1242/dmm.025585.
74. Holmfeldt L., Wei L., Diaz-Flores E., Walsh M., Zhang J., Ding L., ..., Mullighan C.G. (2013). The genomic landscape of hypodiploid acute lymphoblastic leukemia. *Nature Genetics*, 45(3), 242-52. doi: 10.1038/ng.2532
75. De Keersmaecker K., Atak Z.K., Li N., Vicente C., Patchett S., Girardi T., ..., Cools J. (2013) Exome sequencing identifies mutation in CNOT3 and ribosomal genes RPL5 and RPL10 in T-cell acute lymphoblastic leukemia. *Nature Genetics*, 45(2), 186-90. doi: 10.1038/ng.2508

76. Quesada V., Conde L., Villamor N., Ordóñez G.R., Jares P., Bassaganyas L., ..., Lopew-Otin C. (2011). Exome sequencing identifies recurrent mutations of the splicing factor SF3B1 gene in chronic lymphocytic leukemia. *Nature Genetics*, 44(1), 47-52. doi: 10.1038/ng.1032.
77. Nordlund J., Bäcklin C.L., Wahlberg P., Busche S., Berglund E.C., Eloranta M.L., ..., Syvanen A.C. (2013). Genome-wide signatures of differential DNA methylation in pediatric acute lymphoblastic leukemia. *Genome Biology*, 14(9), r105. doi: 10.1186/gb-2013-14-9-r105.
78. Spinella J.F., Cassart P., Richer C., Saillour V., Ouimet M., Langlois S., ..., Sinnett D. (2016). Genomic characterization of pediatric T-cell acute lymphoblastic leukemia reveals novel recurrent driver mutations. *Oncotarget*, 7(40), 65485-65503. doi: 10.18632/oncotarget.11796.
79. Spinella J.F., Cassart P., Garnier N., Rousseau P., Drullion C., Richer C., ..., Sinnett D. (2015). A novel somatic mutation in ACD induces telomere lengthening and apoptosis resistance in leukemia cells. *BMC Cancer*, 15, 621. doi: 10.1186/s12885-015-1639-5.
80. Busche S., Ge B., Vidal R., Spinella J.F., Saillour V., Richer C., ..., Pastinen T. (2013). Integration of high-resolution methylome and transcriptome analyses to dissect epigenomic changes in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Cancer Research*, 73(14), 4323-36. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-12-4367.
81. Gao J., Wang T., Qiu S., Zhu Y., Liang L., Zheng Y. (2016). Structure-Based Drug Design of Small Molecule Peptide Deformylase Inhibitors to Treat Cancer. *Molecules*, 21(4), 396. doi: 10.3390/molecules21040396.
82. Stelzer G, Rosen R, Plaschkes I, Zimmerman S, Twik M, Fishilevich S, ..., and Lancet D. The GeneCards Suite: From Gene Data Mining to Disease Genome Sequence Analysis , *Current Protocols in Bioinformatics*(2016), 54:1.30.1 - 1.30.33. doi: 10.1002 / cpbi.5. [PDF]
83. Bronwen L. Aken, Premanand Achuthan, Wasiu Akanni, M. Ridwan Amode, Friederike Bernsdorff, Jyothish Bhai, ... , Paul Flicek.
Ensembl 2017.
Nucleic Acids Res. 2017 45 Database issue: D635-D642.
PubMed PMID: 27899575; PubMed CentralPMCID: PMC5210575.
doi:10.1093/nar/gkw1104
84. The Pfam protein families database: towards a more sustainable future: R.D. Finn, P. Coghill, R.Y. Eberhardt, S.R. Eddy, J. Mistry, A.L. Mitchell, S.C. Potter, M. Punta, M. Qureshi, A. Sangrador-Vegas, G.A. Salazar, J. Tate, A. Bateman *Nucleic Acids Research* (2016) Database Issue 44:D279-D285
85. Berg J.M., Tymoczko J.L., Stryer L. (2002). *Biochemistry*, 5th edition, Section 18.3. The Respiratory Chain Consists of Four Complexes: Three Proton Pumps and a Physical Link to the Citric Acid Cycle, *W H Freeman*.
86. Hanna MG, Nelson IP, Rahman S, Lane RJ, Land J, Heales S, ..., Wood NW. (1998) Cytochrome c oxidase deficiency associated with the first stop-codon point mutation in human mtDNA. *Am J Hum Genet.* 63(1):29-36.

87. Warburg O., Wind F., Negelein, E. (1927). The metabolism of tumors in the body. *The Journal of General Physiology*, 8(6), 519–530.
88. Selivanov V.A., Votyakova T.V., Pivtoraiko V.N., Zeak J., Sukhomlin T., Trucco M., ..., Cascante M. (2011). Reactive oxygen species production by forward and reverse electron fluxes in the mitochondrial respiratory chain. *PLoS Computational Biology*, 7(3), e1001115. doi: 10.1371/journal.pcbi.1001115
89. Hollensworth S.B., Shen C., Sim J.E., Spitz D.R., Wilson G.L., LeDoux S.P. (2000). Glial cell type-specific responses to menadione-induced oxidative stress. *Free Radical Biology and Medicine*, 28(8), 1161–1174.
90. Van Houten B., Woshner V., Santos J.H. (2006). Role of mitochondrial DNA in toxic responses to oxidative stress. *DNA Repair*, 5(2), 145–152.
91. Voets A.M., Huigsloot M., Lindsey P.J., Leenders A.M., Koopman W.J., Willems P.H., ..., Smeets H.J. (2012). Transcriptional changes in OXPHOS complex I deficiency are related to anti-oxidant pathways and could explain the disturbed calcium homeostasis. *Biochimica et Biophysica Acta*. 1822(7), 1161-8. doi: 10.1016/j.bbadis.2011.10.009
92. Guo C., Sun L., Chen X., Zhang D. (2013). Oxidative stress, mitochondrial damage and neurodegenerative diseases. *Neural Regeneration Research*, 8(21). doi: 10.3969/j.issn.1673-5374.2013.21.009
93. Kudryavtseva A.V., Krasnov G.S., Dmitriev A.A., Alekseev B.Y., Kardymon O.L., Sadritdinova A.F., ..., Snezhkina A.V. (2016). Mitochondrial dysfunction and oxidative stress in aging and cancer. *Oncotarget*, 7(29), 44879–44905. doi: 10.18632/oncotarget.9821
94. Zhang J., Wang X., Vikash V., Ye Q., Wu D., Liu Y., Dong W. (2016). ROS and ROS-Mediated Cellular Signaling. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, doi: 10.1155/2016/4350965.
95. Sies H. (1991). Oxidative stress: from basic research to clinical application. *The American Journal of Medicine*, 91(3C), 31S-38S.
96. Zamzami N., Marchetti P., Castedo M., Decaudin D., Macho A., Hirsch T., ..., Kroemer G. (1995). Sequential reduction of mitochondrial transmembrane potential and generation of reactive oxygen species in early programmed cell death. *The Journal of experimental medicine*, 182(2), 367-377.
97. Zamzami N., Susin S.A., Marchetti P., Hirsch T., Gomez-Monterrey I., Castedo M., Kroemer G. (1996). Mitochondrial control of nuclear apoptosis. *The Journal of experimental medicine*, 183(4), 1533-44.
98. Green D.R., Reed J.C. (1998). Mitochondria and apoptosis. *Science*, 281(5381), 1309-12.
99. Morel Y., Barouki R. (1999). Repression of gene expression by oxidative stress, *The Biochemical Journal*, 342, Pt3, 481–496.
100. Fleury C., Mignotte B., Vaussière J.L. (2002). Mitochondrial reactive oxygen species in cell death signaling, *Biochimie*, 84(2-3), 131-41.

101. Sena L.A., Chandel N.S. (2012). Physiological roles of mitochondrial reactive oxygen species. *Molecular Cell*, 48(2), 158–167. doi: 10.1016/j.molcel.2012.09.025
102. Kyriakis J.M., Avruch J (2001). Mammalian mitogen-activated protein kinase signal transduction pathways activated by stress and inflammation. *Physiological Reviews*, 81(2), 807–869.
103. Marzo S.A., Susin P.X., Petit L., Ravagnan C., Brenner N., Larochette N., ... , Kroemer G. (1998). Caspases disrupt mitochondrial membrane barrier function. *FEBS Letters*, 427(2), 198–202.
104. Junttila M.R., Li S.P., Westermarck J. (2008). Phosphatase-mediated crosstalk between MAPK signaling pathways in the regulation of cell survival. *FASEB J*, 22(4), 954–65.
105. León-Buitimea A., Rodríguez-Fragoso L., Lauer F.T., Bowles H., Thompson T.A., Burchiel S.W. (2012). Ethanol-induced oxidative stress is associated with EGF receptor phosphorylation in MCF-10A cells overexpressing CYP2E1. *Toxicology Letters*, 209(2), 161–165. doi: 10.1016/j.toxlet.2011.12.009.
106. Pimienta G., Pascual J. (2007). Canonical and alternative MAPK signaling. *Cell Cycle*, 6(21), 2628–2632. doi: 10.4161/cc.6.21.4930.
107. Chen Z., Gibson T.B., Robinson F., Silvestro L., Pearson G., Xu B., ..., Cobb M.H. (2001). MAP kinases. *Chemical Reviews*, 101(8), 2449–7
108. Lei H., Kazlauskas A. (2009). Growth factors outside of the platelet-derived growth factor (PDGF) family employ reactive oxygen species/Src family kinases to activate PDGF receptor α and thereby promote proliferation and survival of cells. *The Journal of Biological Chemistry*, 284(10), 6329–6336. doi: 10.1074/jbc.m808426200.
109. Nguyen K., Devidas M., Cheng S.C., La M., Raetz A., Carroll W., Loh M. (2008). Factors influencing survival after relapse from acute lymphoblastic leukemia : a children's oncology group study. *Leukemia*. doi: 10.1038/leu.2008.251
110. Agilent Technologies. (2005). *QuikChange II Site-Directed Mutagenesis Kit Instruction Manual*. <https://www.agilent.com/cs/library/usermanuals/public/200523.pdf>
111. Invitrogen Life Technologies. Gateway Technology. <https://tools.thermofisher.com/Content/Online%20Seminars/gateway/7.htm>
112. Livak, K. J., and Schmittgen, T. D. (2001). Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2(-Delta Delta C(T)) Method. *Methods*, volume (25) p.402-408.
113. Spinella J-F., (2017). Paysage génomique de la leucémie aiguë lymphoblastique de l'enfant (Thèse de doctorat inédite, Université de Montréal, Montréal). Repéré à <http://hdl.handle.net/1866/18534>
114. Forbes S., Beare D., Boutselakis H., Bamford S., Bindal N., Tate J., ..., Campbell P.J. (2017) COSMIC : somatic cancer genetics at high-resolution. *Nucleic Acids Research*, Volume 45, Issue D1, Pages D777–D783. cancer.sanger.ac.uk

115. Randhawa H., Chikara S., Gehring D., Yildirim T., Menon J., Reindl K.M. (2013) Overexpression of peptide deformylase in breast, colon, and lung cancers. *BMC Cancer*, 13, 321. doi: 10.1186/1471-2407-13-321
116. Lee D.M., She Y., Soskis M.J., Borella C.P., Gardner J.R., Hayes P.A., ..., Scheinberg D.A. (2004). Human mitochondrial peptide deformylase, a new anticancer target of actinonin-based antibiotics. *The Journal of clinical investigation*, 114(8):1107-16.
117. Escobar-Alvarez S., Gardner J., Sheth A., Manfredi G., Yang G., ..., Scheinberg D.A. (2004). Inhibition of Human Peptide Deformylase Disrupts Mitochondrial Function. *Molecular and Cellular Biology*, 30(21), 5099–5109. doi: 10.1128/MCB.00469-10
118. Richter U., Lahtinen T., Marttinen P., Myöhänen M., Greco D., Cannino G., ..., Battersby B.J. (2013). A mitochondrial ribosomal and RNA decay pathway blocks cell proliferation. *Current Biology*, 23(6), 535-41. doi: 10.1016/j.cub.2013.02.019
119. Grujic, M., Zavasnik-Bergant T., Pejler G., Renko M. (2005). Actinonin induces apoptosis in U937 leukemia cells. *Cancer Letters*, 223(2), 211-218.
120. Escobar-Alvarez S., Goldgur Y., Yang G., Ouerfelli O., Li Y., and Scheinberg D.A. (2009). Structure and Activity of Human Mitochondrial Peptide Deformylase, a Novel Cancer Target. *Journal of molecular biology*, 387(5), 1211-28. doi: 10.1016/j.jmb.2009.02.032.
121. Guha M and Narayan G. A. (2013) Mitochondrial Retrograde Signaling at the crossroads of tumor bioenergetics, genetics and epigenetics. *Mitochondrion*, 13(6). doi: 10.1016/j.mito.2013.08.007.
122. Orrenius S., Gogvadze V., Zhivotovsky B. (2007). Mitochondrial oxidative stress: implication for cell death. *Annual review of pharmacology and toxicology, volume (47)* p143-183.
123. Kryston T.B., Georgiev A.B., Pissis P., Georgakilas A.G. (2011). Role of oxidative stress and DNA damage in human carcinogenesis. *Mutation research*, 711(1-2), 193-201. doi: 10.1016/j.mrfmmm
124. Pereira-Castro I., Costa L.T., da, Amorim A., Azevedo L. (2012). Transcriptional regulation of the human mitochondrial peptide deformylase (PDF). *Biochemical and Biophysical Research Communication*, 421(4), 825-31. doi: 10.1016/j.bbrc.2012.04.097
125. Siegelin M.D., Dohi T., Raskett C.M., Orlowski G.M., Powers C.M., Gilbert C.A., ..., Altieri D.C. (2011). Exploiting the mitochondrial unfolded protein response for cancer therapy in mice and human cells. *The Journal of Clinical Investigation*, 121(4), 1349–1360. doi: 10.1172/JCI44855
126. Dvorak H.F., (1986). Tumors: wounds that do not heal. Similarities between tumor stroma generation and wound healing. *The New England Journal of Medicine*, 25,315(26), 1650-9.
127. Qian B.Z. and Pollard J.W. (2010). Macrophage diversity enhances tumor progression and metastasis. *Cell*, 141(1), 39-51. doi : 10.1016/j.cell.2010.03.014.
128. de Visser K.E., Eichten A., Coussens L.M. (2006). Paradoxical roles of the immune system during cancer development. *Nature Review Cancer*, 6(1), 24-37.

129. Grivennikov S., Greten F.R., Karin M. (2010). Immunity, Inflammation, and Cancer. *Cell*, 140(6): 883–899
130. Ishigaki Y., Nagao A. Matsunaga T. (2010). Optimized gene silencing by co-expression of multiple shRNAs in a single vector. *Methods in molecular Biology*, 623:109-21. doi: 10.1007/978-1-60761-588-0_7.
131. Xu Y., Lai L.T., Gabrilove J.L., Scheinberg D.A. (1998). Antitumor activity of actinonin in vitro and in vivo. *Clinical Cancer Research*, 4(1):171-6.
132. Saito M., Kumagai M., Okazaki T., Nakazawa S., Shapiro L.H., ..., Campana D. (1995) Stromal cell-mediated transcriptional regulation of the CD13/aminopeptidase N gene in leukemic cells. *Leukemia*, 9(9):1508-1516
133. Rosenzweig M., Tailleux L., Gluckman J.C. (2000) CD13/N-aminopeptidase is involved in the development of dendritic cells and macrophages from cord blood CD34+ cells. *Blood*, 95:453-460
134. Kong K., Kwok-Shing P., Scott K. (2017) Ba/F3 transformation assays. *Oncotarget*, 8(22): 35488–35489.
135. Sheth A., Escobar-Alvarez S., Gardner J., Ran L., Heaney M.L., Scheinberg D.A. (2014). Inhibition of human mitochondrial peptide deformylase causes apoptosis in c-myc-overexpressing hematopoietic cancers. *Cell death & disease*, 5, e1152. doi: 10.1038/cddis.2014.112.
136. Berta M.A., Baker C.M., Cottle D.L., Watt F.M. (2010). Dose and context dependent effects of Myc on epidermal stem cell proliferation and differentiation. *EMBO Molecular Medicine*, 2, 16–25. doi: 10.1002/emmm.200900047.
137. Leibniz Institute DSMZ-German Collection of Microorganisms and Cell Cultures. Culture collections : Human and Animal Cell Lines. Repéré à l'URL : <https://www.dsmz.de/catalogues/details/culture/ACC-42.html> et <https://www.dsmz.de/catalogues/details/culture/ACC-22.html>
138. Li F., Wang Y., Zeller K.I., Potter J.J., Wonsey D.R., O'Donnell K.A. (2005). Myc stimulates nuclearly encoded mitochondrial genes and mitochondrial biogenesis. *Molecular and Cellular Biology*, 25(14), 6225–6234. doi: 10.1128/MCB.25.14.6225-6234.2005
139. Sawafuji K., Miyakawa Y. Weisberg E. Griffin J.D., Ikeda Y., Kizaki M. (2003). Aminopeptidase inhibitors inhibit proliferation and induce apoptosis of K562 and STI571-resistant K562 cell lines through the MAPK and GSK-3beta pathways. *Leukemia and Lymphoma*, 44(11):1987-96
140. Chieng-Yane P., Rendu F., Le Bonniec B., Dufilho D. (2009). J010 Thrombin and thrombomodulin activate the epidermal growth factor receptor signalling to modulate monocyte adherence to endothelium. [https://doi.org/10.1016/S1875-2136\(09\)72385-X](https://doi.org/10.1016/S1875-2136(09)72385-X)

Chapitre 6. Annexes

Annexe A

Created with SnapGene®

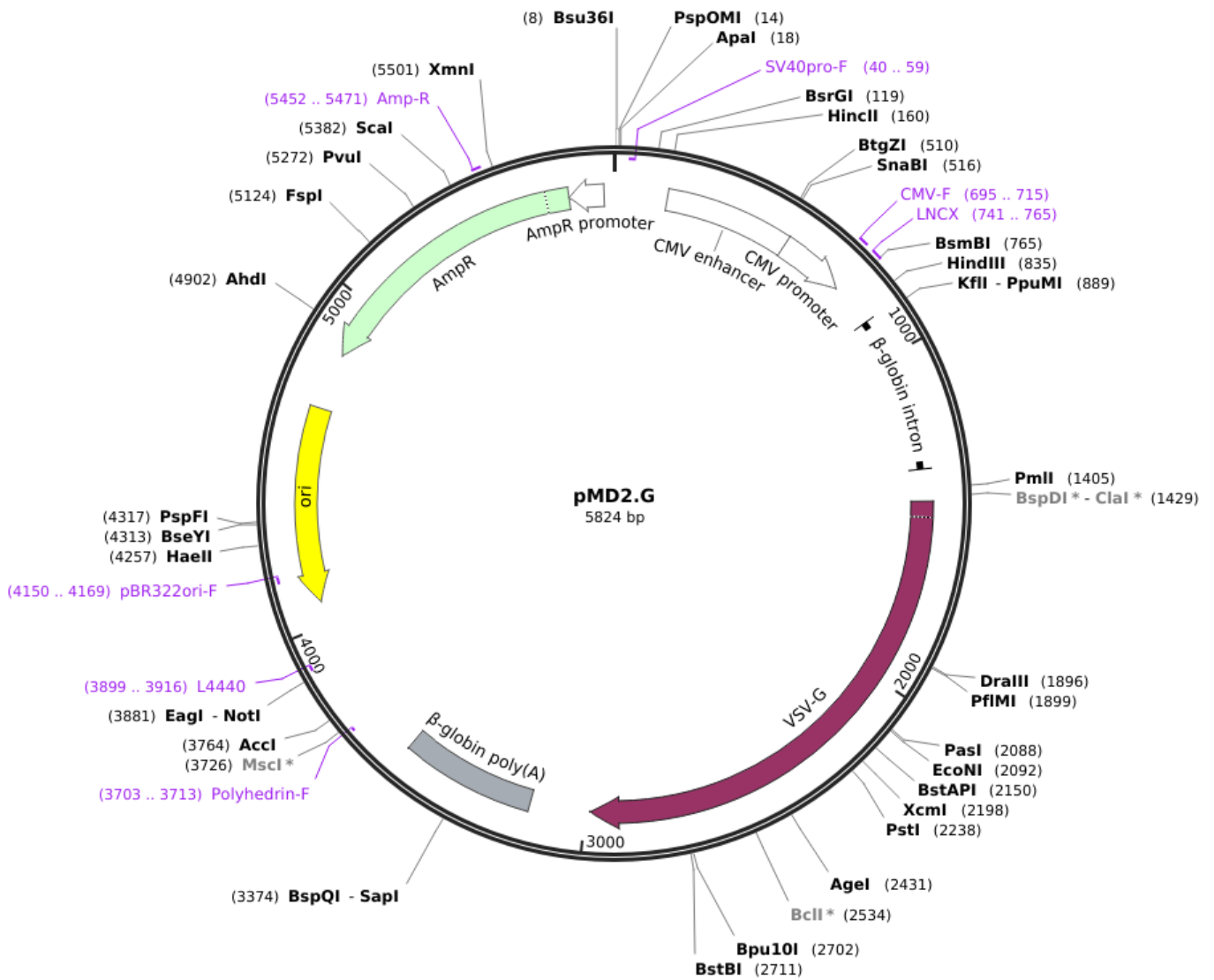


Figure 39. Schéma du plasmide d'emballage de 3^{ème} génération pMD2.G utilisé pour produire des lentivirus.

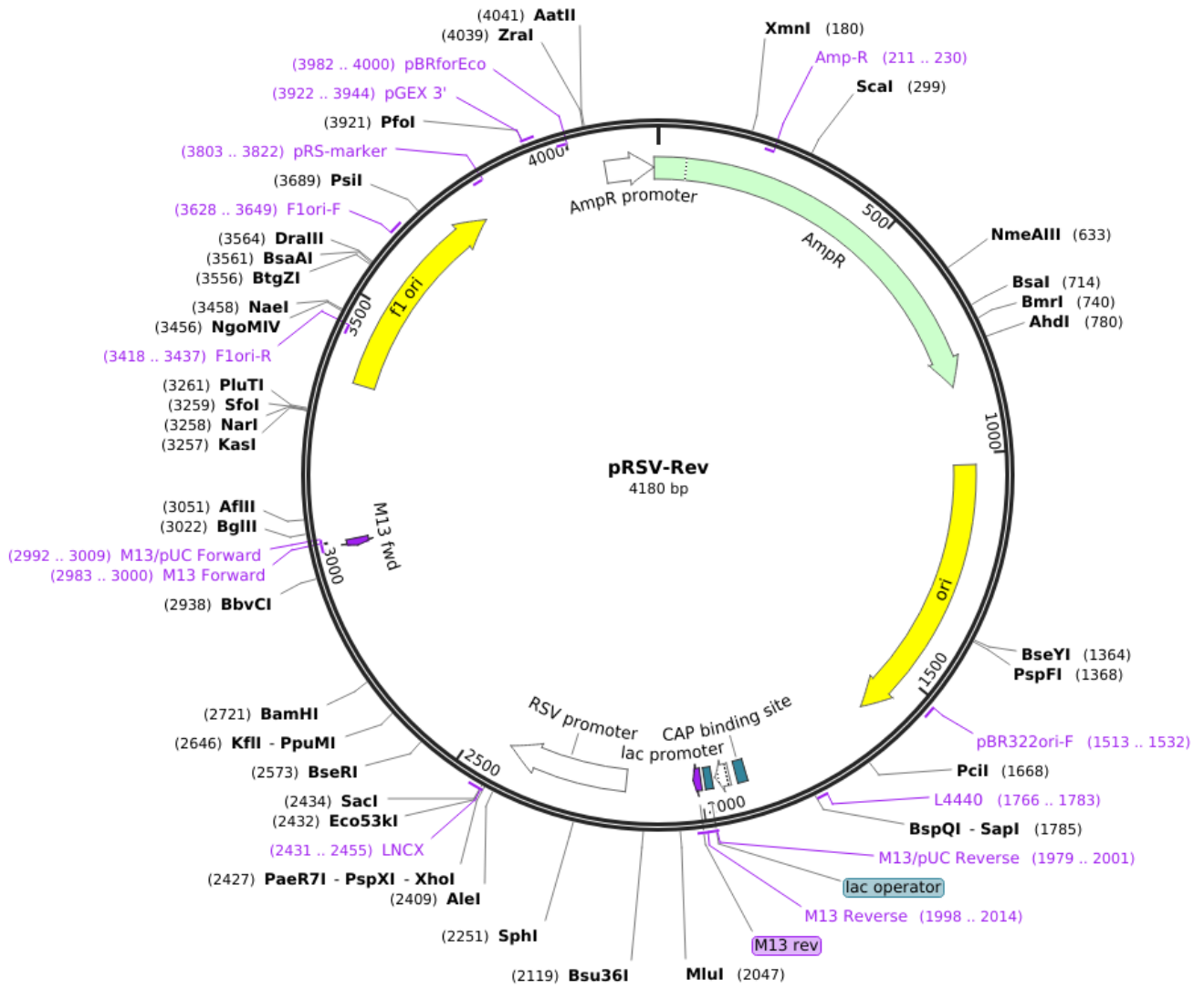


Figure 40. Schéma du plasmide d’empaquetage de 3^{ème} génération pRSV-Rev utilisé pour produire des lentivirus.

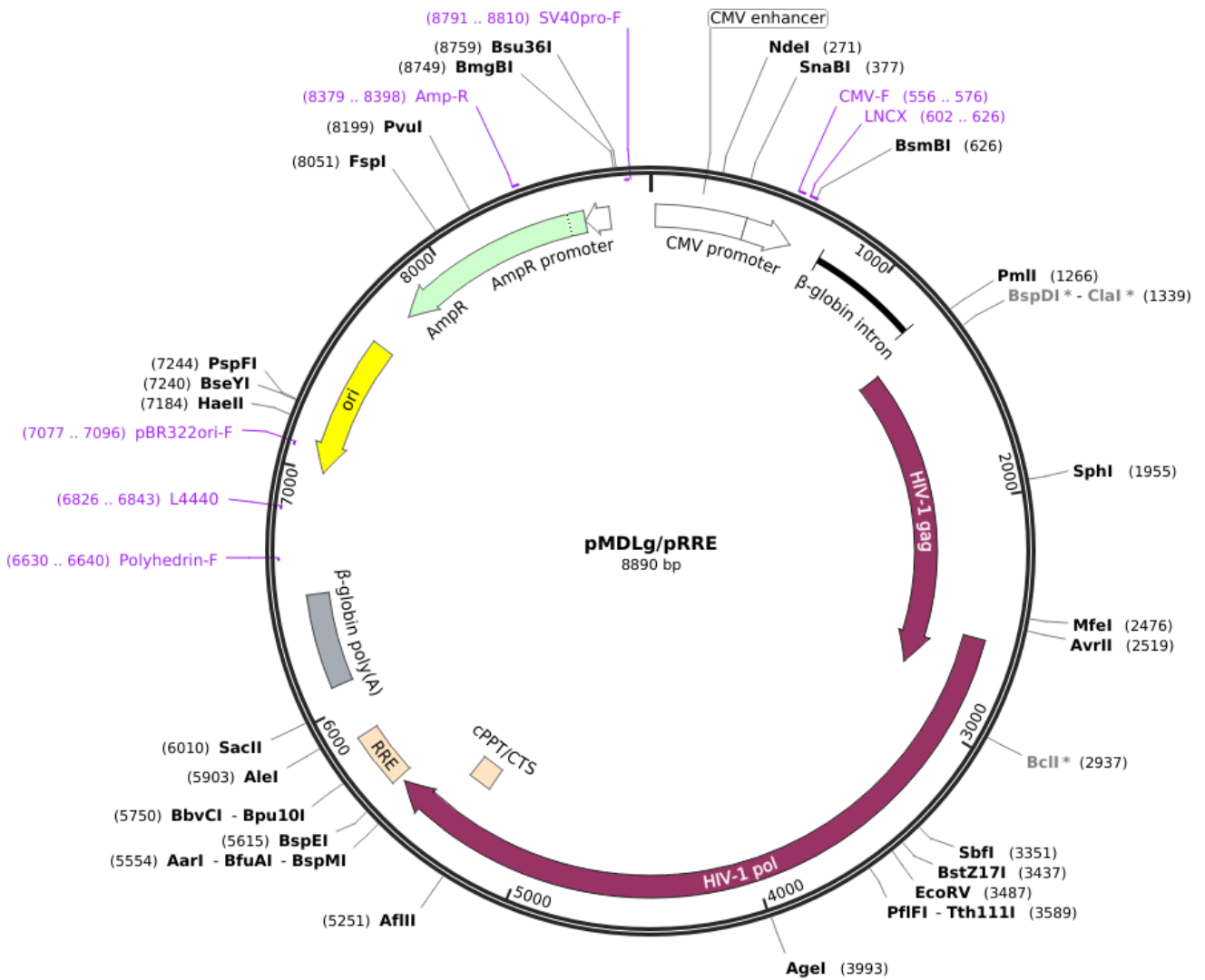


Figure 41. Schéma du plasmide d'emballage de 3^{ème} génération pMDLg/pRRE utilisé pour produire des lentivirus.

Annexe B

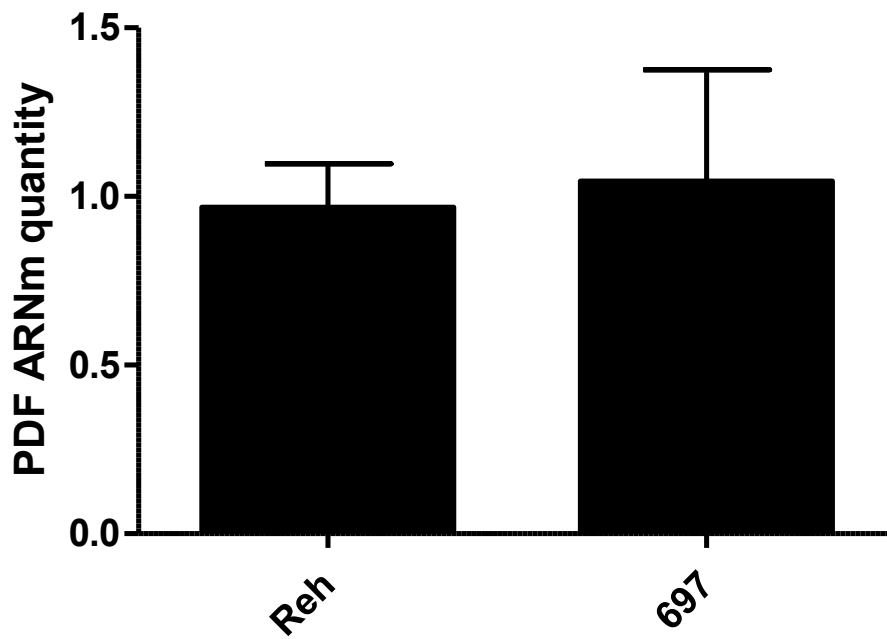
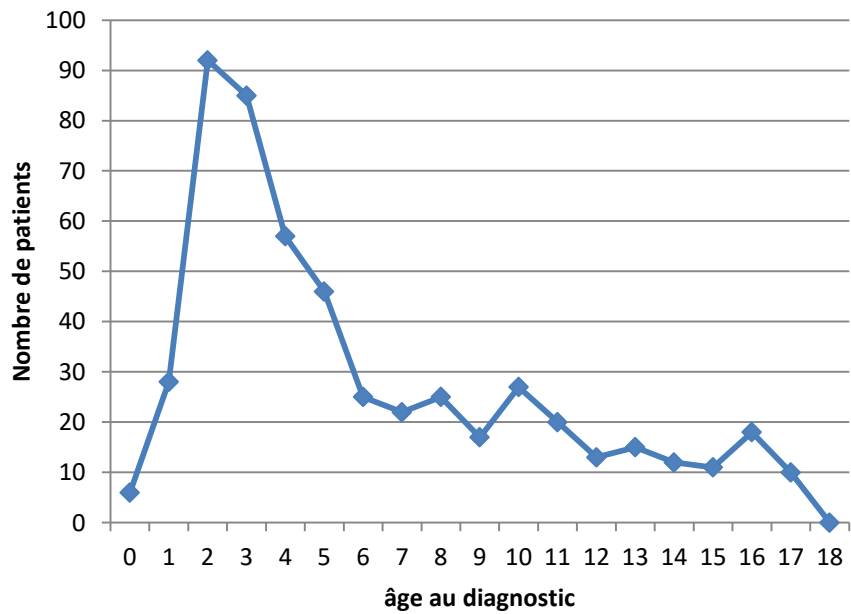
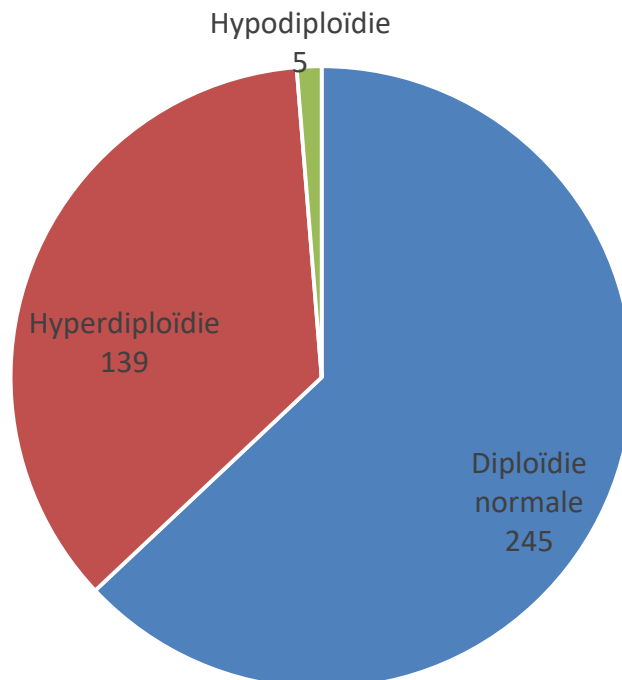


Figure 42 : Expression de PDF dans les cellules Reh et 697. Mesure au qPCR de la quantité d'ARNm de PDF.

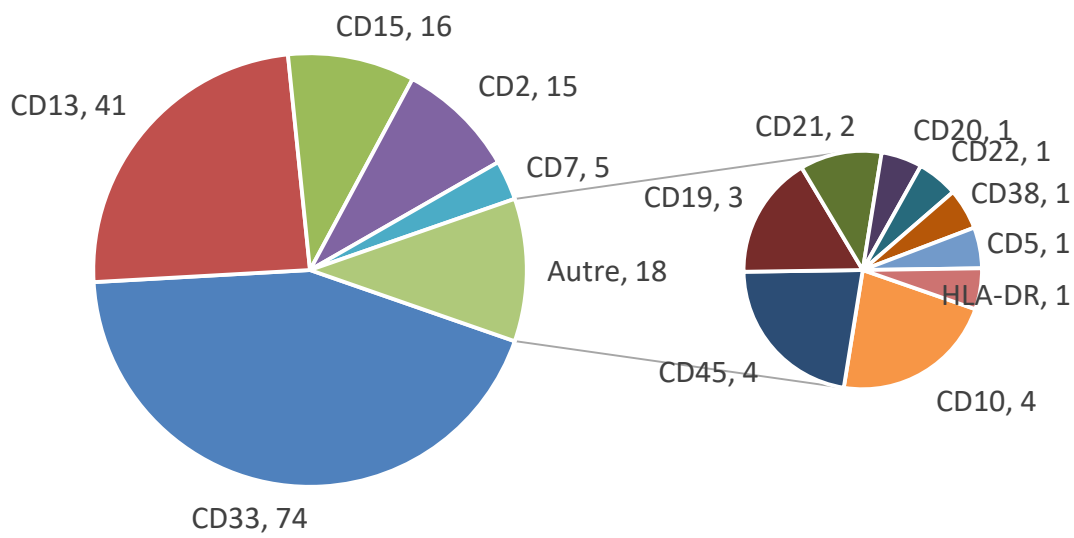
Annexe C : Figures 43 : Caractéristiques cliniques et cytogénétiques de la cohorte QcALL



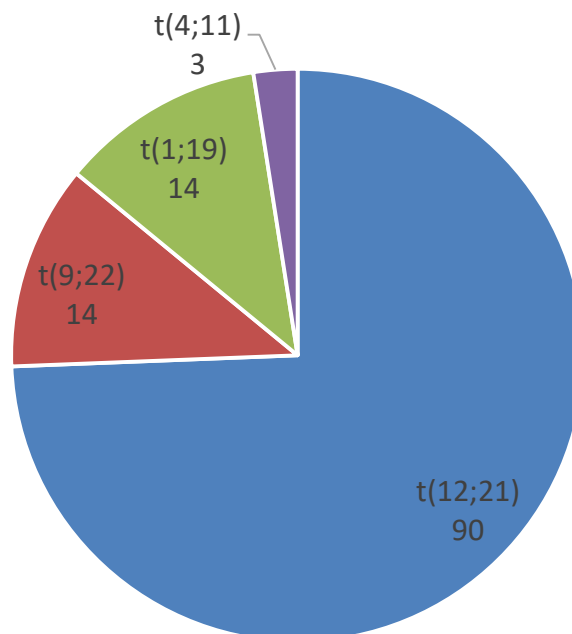
A : Nombre de patients en fonction de leur âge au diagnostic.



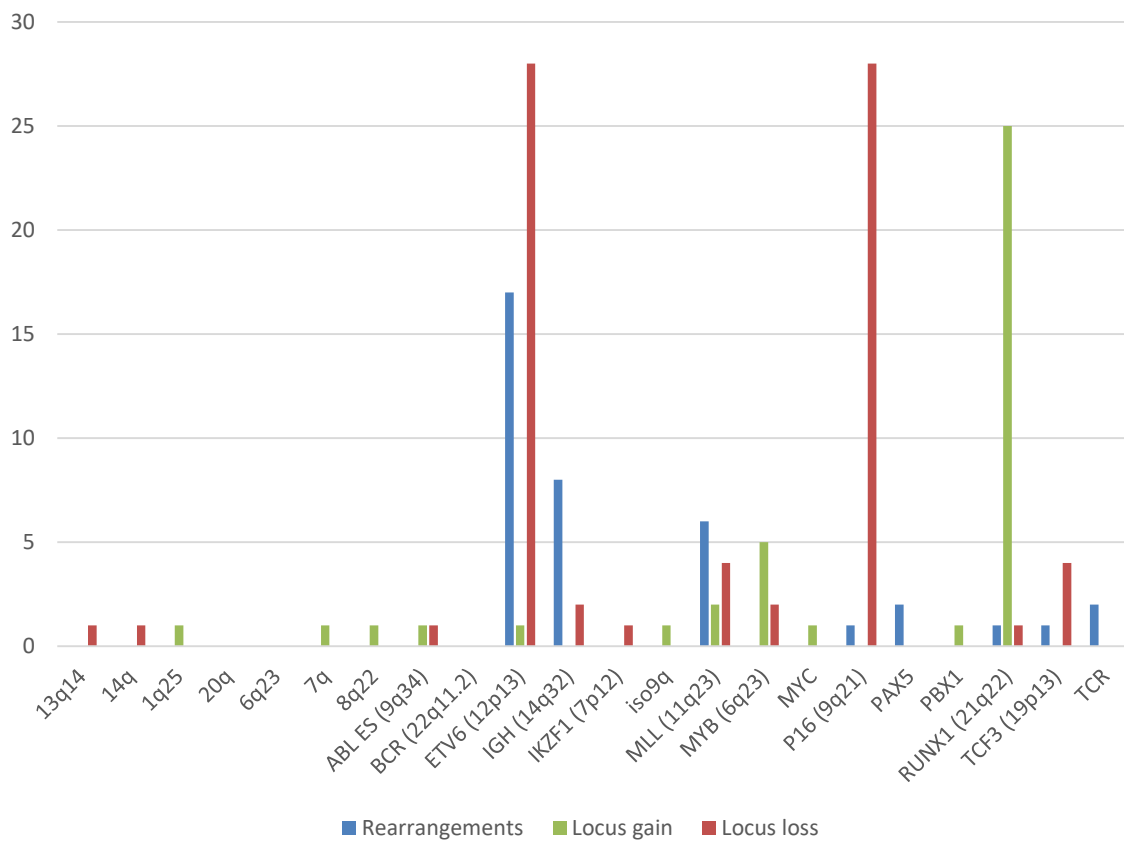
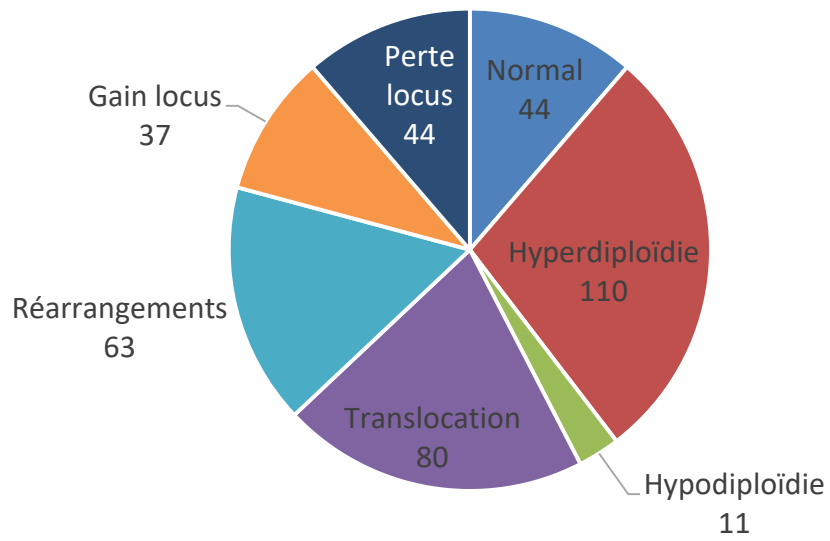
B : Proportions des index ADN des patients de la cohorte QcALL



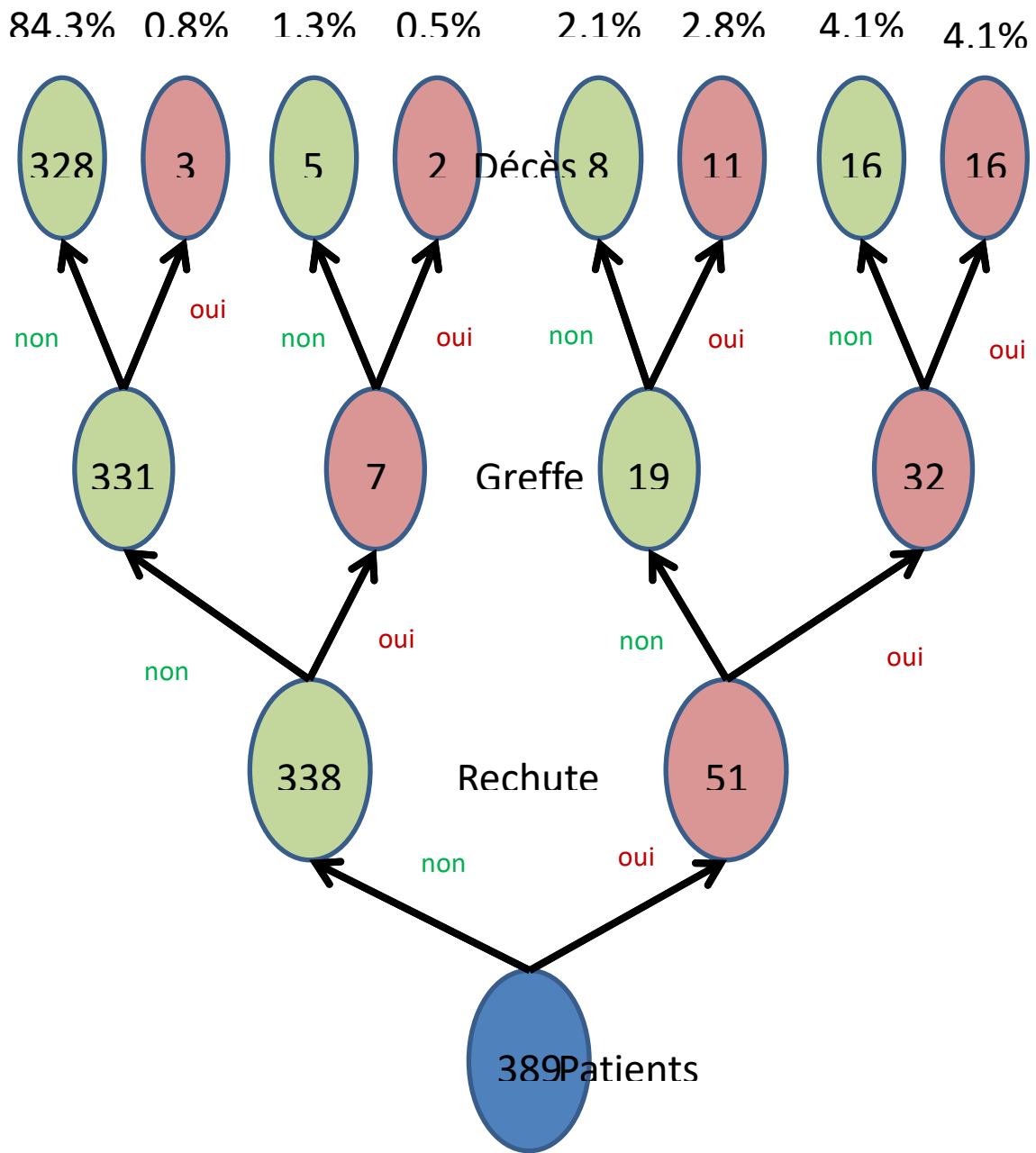
C : Proportion des clusters de différenciation anormaux pour 125 patients de la cohorte QcALL



D : Proportions des différentes translocations retrouvées dans la cohorte QcALL



E : Données cytogénétique des patients de la cohorte QcALL à partir des résultats d'hybridation in situ en fluorescence.



F : Pourcentages des décès dans la cohorte QcALL.

Annexe D : Figure 44 : Liste des mutations candidates identifiées à partir du séquençage des exomes des patients de la cohorte QcALL.

Liste des mutations candidates identifiées à partir du séquençage des exomes des patients de la cohorte QcALL

| #Location | Gene | Chromosome | Start | End | Ref | Var | Sample | Type | Somatic status | Somatic VAF | Somatic status origin | Related germline VAF |
|-----------|---------------------------|------------|-----------|-----------|-----|-----|--------|-------|----------------|-------------|---|----------------------|
| exonic | KRAS | 12 | 25398285 | 25398285 | C | T | 105 | SNP | Somatic | 0,446808511 | Reported as somatic in another sample | NA |
| exonic | SFT2D1 | 6 | 166743055 | 166743055 | G | A | 10 | SNP | Somatic | 0,058823529 | Subclonal | NA |
| exonic | ARHGFE40 | 14 | 21556192 | 21556192 | C | A | 10 | SNP | Somatic | 0,25 | Reported as somatic in another sample | NA |
| exonic | ARHGFE40 | 14 | 21556192 | 21556192 | C | A | 12 | SNP | Somatic | 0,082568807 | Subclonal | NA |
| exonic | KRAS | 12 | 25398284 | 25398284 | C | G | 138 | SNP | Somatic | 0,121212121 | Reported as somatic in another sample | NA |
| exonic | ELN | 7 | 73470666 | 73470666 | G | A | 149 | SNP | Somatic | 0,449345279 | Reported as somatic in another sample | NA |
| exonic | KIAA0754 | 1 | 39879419 | 39879419 | T | C | 149 | SNP | Somatic | 0,155913979 | Reported as somatic in another sample | NA |
| exonic | NRAS | 1 | 115256529 | 115256529 | T | C | 150 | SNP | Somatic | 0,128205128 | Reported as somatic in another sample | NA |
| exonic | DNM2 | 19 | 10940819 | 10940819 | C | T | 159 | SNP | Somatic | 0,345100426 | Reported as somatic in another sample | NA |
| exonic | PCHA2 | 5 | 140176915 | 140176915 | C | G | 15 | SNP | Somatic | 0,248952221 | Confirmed somatic using related germline data | 0,001022255 |
| exonic | ASB13 | 10 | 5693228 | 5693228 | C | G | 15 | SNP | Somatic | 0,431968296 | Confirmed somatic using related germline data | 0,096400705 |
| exonic | KMT2C | 7 | 151859782 | 151859782 | G | C | 15 | SNP | Somatic | 0,264705882 | Confirmed somatic using related germline data | 0 |
| exonic | TNFRSF25 | 1 | 6522945 | 6522945 | C | 0 | 162 | Indel | Somatic | 0,1 | Subclonal | NA |
| exonic | TP53 | 17 | 7578542 | 7578543 | GG | 0 | 162 | Indel | Somatic | 0,111111111 | Reported as somatic in another sample | NA |
| exonic | ARHGFE40 | 14 | 21556192 | 21556192 | C | A | 162 | SNP | Somatic | 0,08045977 | Subclonal | NA |
| exonic | KRAS | 12 | 25398285 | 25398285 | C | T | 170 | SNP | Somatic | 0,25179561 | Confirmed somatic using related germline data | 0,001256281 |
| exonic | KRAS | 12 | 25398284 | 25398284 | C | A | 170 | SNP | Somatic | 0,107913669 | Confirmed somatic using related germline data | 0 |
| exonic | NRAS | 1 | 115258747 | 115258747 | C | T | 17 | SNP | Somatic | 0,135886913 | Confirmed somatic using related germline data | 0,00054615 |
| exonic | SFT2D1 | 6 | 166743055 | 166743055 | G | A | 17 | SNP | Somatic | 0,325590109 | Confirmed somatic using related germline data | 0 |
| exonic | FAM46C | 1 | 118166008 | 118166008 | T | G | 17 | SNP | Somatic | 0,397360704 | Confirmed somatic using related germline data | 0 |
| exonic | ANAPC4 | 4 | 25382101 | 25382101 | C | T | 17 | SNP | Somatic | 0,319829787 | Confirmed somatic using related germline data | 0 |
| exonic | GNAL5 | 19 | 3151833 | 3151833 | G | A | 181 | SNP | Somatic | 0,54318618 | Reported as somatic in another sample | NA |
| exonic | TP53 | 17 | 7578541 | 7578541 | 0 | T | 182 | Indel | Somatic | 0,25 | Reported as somatic in another sample | NA |
| exonic | KRAS | 12 | 25378562 | 25378562 | C | T | 182 | SNP | Somatic | 0,453200569 | Reported as somatic in another sample | NA |
| exonic | ARHGFE40 | 14 | 21556192 | 21556192 | C | A | 182 | SNP | Somatic | 0,141025641 | Reported as somatic in another sample | NA |
| exonic | TNFRSF25 | 1 | 6522945 | 6522945 | C | 0 | 188 | Indel | Somatic | 0,090909091 | Subclonal | NA |
| exonic | ARHGFE40 | 14 | 21556192 | 21556192 | C | A | 188 | SNP | Somatic | 0,15 | Reported as somatic in another sample | NA |
| exonic | KRAS | 12 | 25398284 | 25398284 | C | T | 189 | SNP | Somatic | 0,101851852 | Reported as somatic in another sample | NA |
| exonic | KRAS | 12 | 25398284 | 25398284 | C | T | 18 | SNP | Somatic | 0,249019608 | Reported as somatic in another sample | NA |
| exonic | NRAS | 1 | 115258744 | 115258744 | C | T | 193 | SNP | Somatic | 0,398652476 | Reported as somatic in another sample | NA |
| exonic | USP9X | X | 40994004 | 40994004 | C | T | 194 | SNP | Somatic | 0,909778226 | Confirmed somatic using related germline data | 0,000877578 |
| exonic | FGF1 | 5 | 141933568 | 141933568 | G | A | 194 | SNP | Somatic | 0,4081526 | Confirmed somatic using related germline data | 0,000189825 |
| exonic | FBXW7 | 4 | 153249384 | 153249384 | C | A | 194 | SNP | Somatic | 0,445065177 | Confirmed somatic using related germline data | 0 |
| exonic | PHF6 | X | 133547940 | 133547940 | C | T | 194 | SNP | Somatic | 0,920954163 | Confirmed somatic using related germline data | 0,000654879 |
| exonic | TRAPPC11 | 4 | 184605334 | 184605334 | C | G | 198 | SNP | Somatic | 0,435446009 | Confirmed somatic using related germline data | 0,001540832 |
| exonic | KRAS | 12 | 25398285 | 25398285 | C | T | 199 | SNP | Somatic | 0,322884013 | Confirmed somatic using related germline data | 0 |
| exonic | BTX | X | 100625043 | 100625043 | A | G | 199 | SNP | Somatic | 0,985849057 | Confirmed somatic using related germline data | 0 |
| exonic | U2AF1 | 21 | 44524453 | 44524453 | C | A | 200 | SNP | Somatic | 0,208 | Confirmed somatic using related germline data | 0 |
| exonic | EIF3B | 7 | 2400441 | 2400441 | G | A | 200 | SNP | Somatic | 0,237837838 | Confirmed somatic using related germline data | 0,002118644 |
| exonic | FAM60A | 12 | 31435770 | 31435770 | C | T | 200 | SNP | Somatic | 0,439667129 | Confirmed somatic using related germline data | 0,088370154 |
| exonic | ARHGFE40 | 14 | 21556192 | 21556192 | C | A | 202 | SNP | Somatic | 0,071428571 | Subclonal | NA |
| exonic | NRAS | 1 | 115256530 | 115256530 | G | T | 205 | SNP | Somatic | 0,296432964 | Confirmed somatic using related germline data | 0 |
| exonic | SVZB | 15 | 91769810 | 91769810 | G | A | 205 | SNP | Somatic | 0,563114985 | Confirmed somatic using related germline data | 0,032967033 |
| exonic | KLHL14 | 18 | 30257146 | 30257146 | C | A | 205 | SNP | Somatic | 0,308129856 | Confirmed somatic using related germline data | 0 |
| exonic | KRAS | 12 | 25398281 | 25398281 | C | T | 205 | SNP | Somatic | 0,196969697 | Confirmed somatic using related germline data | 0,001388889 |
| exonic | KIAA0754 | 1 | 39879419 | 39879419 | T | C | 205 | SNP | Somatic | 0,258223684 | Confirmed somatic using related germline data | 0 |
| exonic | DHX8 | 17 | 41570126 | 41570126 | G | A | 205 | SNP | Somatic | 0,40840465 | Confirmed somatic using related germline data | 0,070175439 |
| exonic | HEY2 | 6 | 126080583 | 126080583 | G | C | 206 | SNP | Somatic | 0,230594472 | Confirmed somatic using related germline data | 0 |
| exonic | DYNC2H1 | 11 | 103022998 | 103022998 | T | G | 207 | SNP | Somatic | 0,33405274 | Confirmed somatic using related germline data | 0 |
| exonic | SFT2D1 | 6 | 166743055 | 166743055 | G | A | 20 | SNP | Somatic | 0,055555556 | Subclonal | NA |
| exonic | ARHGFE40 | 14 | 21556192 | 21556192 | C | A | 20 | SNP | Somatic | 0,055345912 | Subclonal | NA |
| splicing | 001282607:exon8:c.920-1G> | | | | | | | | | | | |
| exonic | HECTD3 | 1 | 45474320 | 45474320 | G | A | 211 | SNP | Somatic | 0,491363907 | Confirmed somatic using related germline data | 0,024973545 |
| exonic | KRAS | 12 | 25378562 | 25378562 | C | G | 211 | SNP | Somatic | 0,465346535 | Confirmed somatic using related germline data | 0,000283567 |
| exonic | KRAS | 12 | 25398284 | 25398284 | C | G | 212 | SNP | Somatic | 0,484375 | Reported as somatic in another sample | NA |
| exonic | ARHGFE40 | 14 | 21556192 | 21556192 | C | A | 215 | SNP | Somatic | 0,126213592 | Reported as somatic in another sample | NA |
| exonic | KRAS | 12 | 25398284 | 25398284 | C | T | 217 | SNP | Somatic | 0,216216216 | Confirmed somatic using related germline data | 0 |
| exonic | TGFB2 | 1 | 218614670 | 218614670 | C | G | 218 | SNP | Somatic | 0,237355635 | Confirmed somatic using related germline data | 0 |
| exonic | PFFIA2 | 12 | 81657078 | 81657078 | G | C | 218 | SNP | Somatic | 0,3799458 | Confirmed somatic using related germline data | 0 |
| exonic | GNB1 | 1 | 1737942 | 1737942 | A | C | 218 | SNP | Somatic | 0,197783461 | Confirmed somatic using related germline data | 0 |
| exonic | TMEM126A | 11 | 85361319 | 85361319 | A | G | 220 | SNP | Somatic | 0,518659077 | Confirmed somatic using related germline data | 0,023918575 |
| exonic | C2orf16 | 2 | 27804906 | 27804906 | C | G | 220 | SNP | Somatic | 0,42530728 | Confirmed somatic using related germline data | 0,000492914 |
| exonic | TRIP12 | 2 | 230678652 | 230678652 | G | C | 220 | SNP | Somatic | 0,382834208 | Confirmed somatic using related germline data | 0 |
| exonic | SLC12A7 | 5 | 1085495 | 1085495 | A | G | 220 | SNP | Somatic | 0,226364847 | Confirmed somatic using related germline data | 0 |
| exonic | CREBBP | 16 | 3788618 | 3788618 | G | A | 225 | SNP | Somatic | 0,065868264 | Subclonal | NA |
| exonic | NRAS | 1 | 115258744 | 115258744 | C | T | 225 | SNP | Somatic | 0,301075269 | Reported as somatic in another sample | NA |
| exonic | NRAS | 1 | 115258747 | 115258747 | C | T | 227 | SNP | Somatic | 0,136031851 | Confirmed somatic using related germline data | 0 |
| exonic | INPPE | 9 | 139324840 | 139324840 | T | C | 227 | SNP | Somatic | 0,604166667 | Confirmed somatic using related germline data | 0,03761062 |
| exonic | KRAS | 12 | 25398281 | 25398281 | C | T | 227 | SNP | Somatic | 0,125773196 | Confirmed somatic using related germline data | 0 |
| exonic | GNB1 | 1 | 1737942 | 1737942 | A | C | 231 | SNP | Somatic | 0,318807339 | Reported as somatic in another sample | NA |
| splicing | 1195794:exo | 3 | 150658308 | 150658308 | T | A | 231 | SNP | Somatic | 0,500346021 | Confirmed somatic using related germline data | 0,091776799 |
| exonic | MTOR | 1 | 11174395 | 11174395 | A | C | 232 | SNP | Somatic | 0,44911264 | Confirmed somatic using related germline data | 0,000103767 |
| exonic | NRAS | 1 | 115258744 | 115258744 | C | T | 232 | SNP | Somatic | 0,519982238 | Confirmed somatic using related germline data | 0,000481464 |
| exonic | TAF1A | 1 | 222732096 | 222732096 | T | C | 236 | SNP | Somatic | 0,468613139 | Confirmed somatic using related germline data | 0,000998004 |
| exonic | PAQR3 | 4 | 79845022 | 79845022 | C | T | 236 | SNP | Somatic | 0,322580645 | Confirmed somatic using related germline data | 0 |
| exonic | TRRAP | 7 | 98586392 | 98586392 | G | A | 236 | SNP | Somatic | 0,560278746 | Reported as somatic in another sample | NA |
| exonic | QXCT2 | 1 | 40236014 | 40236014 | C | T | 237 | SNP | Somatic | 0,105263158 | Confirmed somatic using related germline data | 0,022653722 |
| exonic | AKT2 | 19 | 40761117 | 40761117 | G | T | 23 | SNP | Somatic | 0,440340909 | Confirmed somatic using related germline data | 0 |
| exonic | ATM | 11 | 108186556 | 108186556 | C | G | 245 | SNP | Somatic | 0,424657534 | Confirmed somatic using related germline data | 0,000394477 |
| exonic | ARHGFE40 | 14 | 21556192 | 21556192 | C | A | 246 | SNP | Somatic | 0,066666667 | Subclonal | NA |
| exonic | KRAS | 12 | 25378562 | 25378562 | C | T | 246 | SNP | Somatic | 0,091121495 | Subclonal | NA |
| exonic | NRAS | 1 | 115258744 | 115258744 | C | T | 246 | SNP | Somatic | 0,380205517 | Confirmed somatic using related germline data | 0,00064704 |
| exonic | ARHGFE40 | 14 | 21556192 | 21556192 | C | A | 26 | SNP | Somatic | 0,116666667 | Reported as somatic in another sample | NA |
| exonic | NBEA | 13 | 36046596 | 36046596 | A | T | 29 | SNP | Somatic | 0,481413492 | Confirmed somatic using related germline data | 0,045673077 |
| exonic | UNC79 | 14 | 94088240 | 94088240 | C | T | 29 | SNP | Somatic | 0,363333333 | Confirmed somatic using related germline data | 0,001612903 |
| exonic | CHRM3 | 1 | 240070881 | 240070881 | C | T | 29 | SNP | Somatic | 0,450888192 | Confirmed somatic using related germline data | 0 |
| exonic | ARHGFE40 | 14 | 21556192 | 21556192 | C | A | 312 | SNP | Somatic | 0,073170732 | Subclonal | NA |
| exonic | STAT3 | 17 | 40469204 | 40469204 | T | C | 315 | SNP | Somatic | 0,391879131 | Confirmed somatic using related germline data | 0 |
| exonic | RRP12 | 10 | 99133590 | 99133590 | C | A | 315 | SNP | Somatic | 0,361111111 | Confirmed somatic using related germline data | 0,032989691 |
| exonic | FLT3 | 13 | 28608281 | 28608281 | A | G | 315 | SNP | Somatic | 0,175110132 | Confirmed somatic using related germline data | 0,00159936 |
| exonic | TCHH | 1 | 152080244 | 152080244 | G | A | 315 | SNP | Somatic | 0,446640316 | Confirmed somatic using related germline data | 0 |
| exonic | RANBP17 | 5 | 170345754 | 170345754 | G | A | 315 | SNP | Somatic | 0,47638191 | Confirmed somatic using related germline data | 0,000343525 |
| exonic | SKOR1 | 15 | 68117149 | 68117149 | T | G | 315 | SNP | Somatic | 0,407801418 | Reported as somatic in another sample | NA |
| exonic | KRAS | 12 | 25398284 | 25398284 | C | T | 316 | SNP | Somatic | 0,102409639 | Confirmed somatic using related germline data | 0,000930233 |
| exonic | NRAS | 1 | 115258744 | 115258744 | C | T | 316 | SNP | Somatic | 0,337741607 | Confirmed somatic using related germline data | 0,000329598 |
| exonic | ZFH3 | 16 | 72830972 | 72830972 | G | C | 319 | SNP | Somatic | 0,472386588 | Confirmed somatic using related germline data | 0 |
| exonic | MAPK3 | 16 | 30129405 | 30129405 | C | T | 320 | SNP | Somatic | 0,443997317 | Confirmed somatic using related germline data | 0,027027027 |
| exonic | WARS2 | 1 | 119575803 | 119575803 | C | T | 320 | SNP | Somatic | 0,466931217 | Confirmed somatic using related germline data | 0,001572945 |
| exonic | KRAS | 12 | 25398284 | 25398284 | C | T | 323 | SNP | Somatic | 0,44988345 | Reported as somatic in another sample | NA |
| exonic | KIAA0754 | 1 | 39879419 | 39879419 | T | C | 323 | SNP | Somatic | 0,222222222 | Reported as somatic in another sample | NA |

Liste des mutations candidates identifiées à partir du séquençage des exomes des patients de la cohorte QcALL

| #Location | Gene | Chromosome | Start | End | Ref | Var | Sample | Type | Somatic status | Somatic VAF | Somatic status origin | Related germline VAF |
|-----------|---------------------------|------------|-----------|-----------|-----|-----|--------|-------|----------------|-------------|---|----------------------|
| exonic | U2AF1 | 21 | 44524453 | 44524453 | C | A | 324 | SNP | Somatic | 0,32780083 | Reported as somatic in another sample | NA |
| exonic | ARHGFE40 | 14 | 21556192 | 21556192 | C | A | 324 | SNP | Somatic | 0,140625 | Reported as somatic in another sample | NA |
| exonic | NRAS | 1 | 115258744 | 115258744 | C | T | 324 | SNP | Somatic | 0,383357041 | Reported as somatic in another sample | NA |
| exonic | BRIP1 | 17 | 59876513 | 59876513 | T | C | 327 | SNP | Somatic | 0,298407807 | Confirmed somatic using related germline data | 0,001182033 |
| exonic | KRAS | 12 | 25398284 | 25398284 | C | T | 327 | SNP | Somatic | 0,33492823 | Confirmed somatic using related germline data | 0 |
| exonic | TRRAP | 7 | 98586392 | 98586392 | G | A | 327 | SNP | Somatic | 0,478065242 | Reported as somatic in another sample | NA |
| exonic | WHSC1 | 4 | 1962801 | 1962801 | G | A | 328 | SNP | Somatic | 0,153810624 | Reported as somatic in another sample | NA |
| exonic | KRAS | 12 | 25398281 | 25398281 | C | T | 328 | SNP | Somatic | 0,204968944 | Reported as somatic in another sample | NA |
| exonic | NRAS | 1 | 115258744 | 115258744 | C | T | 337 | SNP | Somatic | 0,066666667 | Subclonal | NA |
| exonic | MIA3 | 1 | 222803363 | 222803363 | A | C | 337 | SNP | Somatic | 0,061538462 | Subclonal | NA |
| exonic | TTL4 | 2 | 219603477 | 219603477 | C | G | 337 | SNP | Somatic | 0,0625 | Subclonal | NA |
| exonic | TRIP11 | 12 | 120882712 | 120882712 | A | G | 337 | SNP | Somatic | 0,0875 | Subclonal | NA |
| exonic | ZNF827 | 4 | 146770620 | 146770620 | C | A | 337 | SNP | Somatic | 0,079365079 | Subclonal | NA |
| splicing | 33084:exon35:c.3467-2A>G | | | | | | | | | | | |
| splicing | 01142318:exon5:c.285-2A>G | | | | | | | | | | | |
| exonic | PDF | 16 | 69362960 | 69362960 | A | T | 337 | SNP | Somatic | 0,176470588 | Confirmed somatic using related germline data | 0 |
| splicing | 278544:exon9:c.679-1G>T | | | | | | | | | | | |
| exonic | ACACA | 17 | 35548083 | 35548083 | G | A | 338 | SNP | Somatic | 0,495798319 | Confirmed somatic using related germline data | 0 |
| exonic | WHSC1 | 4 | 1962801 | 1962801 | G | A | 340 | SNP | Somatic | 0,496082272 | Confirmed somatic using related germline data | 0,002864817 |
| exonic | FBXW7 | 4 | 153249384 | 153249384 | C | T | 340 | SNP | Somatic | 0,472876152 | Confirmed somatic using related germline data | 0,000988631 |
| exonic | NRAS | 1 | 115258748 | 115258748 | C | T | 340 | SNP | Somatic | 0,23880597 | Confirmed somatic using related germline data | 0,00345185 |
| exonic | KIAA0754 | 1 | 39879419 | 39879419 | T | C | 341 | SNP | Somatic | 0,064516129 | Subclonal | NA |
| exonic | JAK3 | 19 | 17943438 | 17943438 | A | G | 341 | SNP | Somatic | 0,533636364 | Confirmed somatic using related germline data | 0,003089144 |
| exonic | MED13 | 17 | 60072626 | 60072626 | C | A | 341 | SNP | Somatic | 0,389989573 | Confirmed somatic using related germline data | 0,00207254 |
| exonic | ZIM2 | 19 | 57286853 | 57286853 | C | A | 341 | SNP | Somatic | 0,487038492 | Confirmed somatic using related germline data | 0,0020237 |
| exonic | SIC2A1 | 1 | 43396786 | 43396786 | A | G | 342 | SNP | Somatic | 0,40569395 | Confirmed somatic using related germline data | 0,001899335 |
| exonic | PDF | 16 | 69362960 | 69362960 | A | T | 347 | SNP | Somatic | 0,52991453 | Reported as somatic in another sample | NA |
| splicing | 1280547:exon9:c.911-1G>T | | | | | | | | | | | |
| exonic | FLG2 | 1 | 152329696 | 152329696 | G | T | 349 | SNP | Somatic | 0,45 | Confirmed somatic using related germline data | 0,002165674 |
| exonic | NRAS | 1 | 115258747 | 115258747 | C | T | 34 | SNP | Somatic | 0,413377193 | Confirmed somatic using related germline data | 0 |
| exonic | NRAS | 1 | 115258747 | 115258747 | C | T | 352 | SNP | Somatic | 0,499557653 | Reported as somatic in another sample | NA |
| exonic | WT1 | 11 | 32417943 | 32417943 | C | G | 352 | SNP | Somatic | 0,439144261 | Reported as somatic in another sample | NA |
| exonic | AFF4 | 5 | 132270445 | 132270445 | C | A | 353 | SNP | Somatic | 0,438985099 | Confirmed somatic using related germline data | 0,000286424 |
| exonic | ZNF311 | 6 | 28964205 | 28964205 | C | A | 356 | SNP | Somatic | 0,276702061 | Confirmed somatic using related germline data | 0 |
| exonic | ACD | 16 | 67693443 | 67693443 | C | A | 356 | SNP | Somatic | 0,453703704 | Confirmed somatic using related germline data | 0 |
| exonic | NRAS | 1 | 115258744 | 115258744 | C | T | 356 | SNP | Somatic | 0,436639119 | Confirmed somatic using related germline data | 0,00075494 |
| exonic | KRAS | 12 | 25380275 | 25380275 | T | G | 365 | SNP | Somatic | 0,443637216 | Confirmed somatic using related germline data | 0 |
| exonic | KRAS | 12 | 25398284 | 25398284 | C | A | 36 | SNP | Somatic | 0,127619048 | Confirmed somatic using related germline data | 0,001036269 |
| splicing | 172238:exon6 | 6 | 50686801 | 50686801 | A | C | 36 | SNP | Somatic | 0,409957122 | Confirmed somatic using related germline data | 0 |
| exonic | IRIG3 | 12 | 59279629 | 59279629 | C | A | 372 | SNP | Somatic | 0,363830545 | Confirmed somatic using related germline data | 0,000293772 |
| exonic | NRAS | 1 | 115258744 | 115258744 | C | T | 372 | SNP | Somatic | 0,263975155 | Confirmed somatic using related germline data | 0,001116695 |
| exonic | ZNF17 | 19 | 57929401 | 57929401 | C | A | 375 | SNP | Somatic | 0,390672604 | Confirmed somatic using related germline data | 0 |
| exonic | ROBO4 | 11 | 124766179 | 124766179 | C | G | 375 | SNP | Somatic | 0,450127877 | Confirmed somatic using related germline data | 0 |
| exonic | CPNE8 | 12 | 39069572 | 39069572 | G | C | 376 | SNP | Somatic | 0,40776699 | Confirmed somatic using related germline data | 0 |
| exonic | KRAS | 12 | 25398284 | 25398284 | C | G | 376 | SNP | Somatic | 0,570469799 | Confirmed somatic using related germline data | 0,000977517 |
| exonic | KRAS | 12 | 25398281 | 25398281 | C | T | 377 | SNP | Somatic | 0,362068966 | Reported as somatic in another sample | NA |
| exonic | CD180 | 5 | 66479998 | 66479998 | G | C | 383 | SNP | Somatic | 0,658358927 | Confirmed somatic using related germline data | 0,081555834 |
| exonic | DHX15 | 4 | 24538751 | 24538751 | T | C | 384 | SNP | Somatic | 0,248994516 | Confirmed somatic using related germline data | 0,000942825 |
| exonic | ARHGFE40 | 14 | 21556192 | 21556192 | C | A | 389 | SNP | Somatic | 0,21875 | Reported as somatic in another sample | NA |
| exonic | KRAS | 12 | 25398284 | 25398284 | C | G | 38 | SNP | Somatic | 0,271929825 | Confirmed somatic using related germline data | 0 |
| exonic | KRAS | 12 | 25398284 | 25398284 | C | T | 390 | SNP | Somatic | 0,291139241 | Confirmed somatic using related germline data | 0 |
| exonic | KRAS | 12 | 25398285 | 25398285 | C | A | 391 | SNP | Somatic | 0,262958281 | Confirmed somatic using related germline data | 0 |
| exonic | SFT2D1 | 6 | 166743055 | 166743055 | G | A | 394 | SNP | Somatic | 0,068965517 | Subclonal | NA |
| exonic | KIAA0754 | 1 | 39879419 | 39879419 | T | C | 394 | SNP | Somatic | 0,284848485 | Reported as somatic in another sample | NA |
| exonic | ARHGFE40 | 14 | 21556192 | 21556192 | C | A | 395 | SNP | Somatic | 0,129032258 | Reported as somatic in another sample | NA |
| exonic | TP53 | 17 | 75757538 | 75757538 | C | G | 399 | SNP | Somatic | 0,502597503 | Confirmed somatic using related germline data | 0 |
| exonic | NRAS | 1 | 115258747 | 115258747 | C | T | 39 | SNP | Somatic | 0,299902629 | Confirmed somatic using related germline data | 0,000921659 |
| exonic | CREBBP | 16 | 3788618 | 3788618 | G | A | 39 | SNP | Somatic | 0,494951761 | Confirmed somatic using related germline data | 0,001494955 |
| exonic | CD151 | 11 | 837994 | 837994 | T | C | 3 | SNP | Somatic | 0,433155508 | Confirmed somatic using related germline data | 0,017054264 |
| exonic | ARHGFE40 | 14 | 21556192 | 21556192 | C | A | 400 | SNP | Somatic | 0,105263158 | Reported as somatic in another sample | NA |
| exonic | MAPK3 | 16 | 30129405 | 30129405 | C | T | 400 | SNP | Somatic | 0,352272727 | Reported as somatic in another sample | NA |
| exonic | ARHGFE40 | 14 | 21556192 | 21556192 | C | A | 402 | SNP | Somatic | 0,090909091 | Subclonal | NA |
| exonic | ARHGFE40 | 14 | 21556192 | 21556192 | C | A | 407 | SNP | Somatic | 0,108333333 | Reported as somatic in another sample | NA |
| exonic | CREBBP | 16 | 3788618 | 3788618 | G | A | 407 | SNP | Somatic | 0,281006601 | Reported as somatic in another sample | NA |
| exonic | SFT2D1 | 6 | 166743055 | 166743055 | G | A | 410 | SNP | Somatic | 0,090909091 | Subclonal | NA |
| exonic | AXIN1 | 16 | 354351 | 354351 | G | A | 411 | SNP | Somatic | 0,324891909 | Confirmed somatic using related germline data | 0,000674764 |
| exonic | BRAF | 7 | 140500244 | 140500244 | T | G | 411 | SNP | Somatic | 0,438268793 | Confirmed somatic using related germline data | 0 |
| exonic | NRAS | 1 | 115258747 | 115258747 | C | T | 413 | SNP | Somatic | 0,057692308 | Subclonal | NA |
| exonic | KRAS | 12 | 25398284 | 25398284 | C | T | 413 | SNP | Somatic | 0,095860566 | Subclonal | NA |
| exonic | CYP4A11 | 3 | 47402419 | 47402419 | G | A | 414 | SNP | Somatic | 0,474984167 | Confirmed somatic using related germline data | 0,001689189 |
| exonic | SIC15A2 | 3 | 121615274 | 121615274 | C | A | 414 | SNP | Somatic | 0,452005408 | Confirmed somatic using related germline data | 0 |
| splicing | 1195794:exon3 | 3 | 150658308 | 150658308 | T | A | 415 | SNP | Somatic | 0,463742483 | Confirmed somatic using related germline data | 0 |
| exonic | ELN | 7 | 73470666 | 73470666 | G | A | 416 | SNP | Somatic | 0,403780069 | Confirmed somatic using related germline data | 0,020826953 |
| exonic | TP53 | 17 | 7578542 | 7578543 | GG | G | 41 | Indel | Somatic | 0,166666667 | Confirmed somatic using related germline data | 0 |
| exonic | ARHGFE40 | 14 | 21556192 | 21556192 | C | A | 41 | SNP | Somatic | 0,08 | Subclonal | NA |
| exonic | TNFRSF25 | 1 | 6522945 | 6522945 | C | G | 424 | Indel | Somatic | 0,142857143 | Confirmed somatic using related germline data | 0 |
| exonic | SFT2D1 | 6 | 166743055 | 166743055 | G | A | 424 | SNP | Somatic | 0,076923077 | Subclonal | NA |
| exonic | DHX8 | 17 | 41570126 | 41570126 | G | A | 424 | SNP | Somatic | 0,057142857 | Subclonal | NA |
| exonic | ARHGFE40 | 14 | 21556192 | 21556192 | C | A | 424 | SNP | Somatic | 0,1625 | Confirmed somatic using related germline data | 0,007480891 |
| exonic | KRAS | 12 | 25398284 | 25398284 | C | T | 425 | SNP | Somatic | 0,05915493 | Subclonal | NA |
| exonic | ARHGFE40 | 14 | 21556192 | 21556192 | C | A | 42 | SNP | Somatic | 0,125 | Confirmed somatic using related germline data | 0,007814408 |
| exonic | ARHGFE40 | 14 | 21556192 | 21556192 | C | A | 430 | SNP | Somatic | 0,173076923 | Reported as somatic in another sample | NA |
| exonic | TRIP12 | 2 | 230701656 | 230701656 | C | T | 431 | SNP | Somatic | 0,432164634 | Confirmed somatic using related germline data | 0 |
| exonic | CTCF | 16 | 67650653 | 67650653 | C | T | 431 | SNP | Somatic | 0,935488371 | Confirmed somatic using related germline data | 0,000840689 |
| exonic | GD12 | 10 | 5836937 | 5836937 | A | G | 433 | SNP | Somatic | 0,504307869 | Confirmed somatic using related germline data | 0,000651891 |
| exonic | TOR2A | 9 | 130496581 | 130496581 | G | C | 433 | SNP | Somatic | 0,56 | Confirmed somatic using related germline data | 0 |
| exonic | FYTD1 | 3 | 197505223 | 197505223 | G | A | 433 | SNP | Somatic | 0,485257371 | Confirmed somatic using related germline data | 0,001179245 |
| splicing | 153251:exon | 13 | 21999819 | 21999819 | T | C | 433 | SNP | Somatic | 0,516969995 | Confirmed somatic using related germline data | 0,00062461 |
| exonic | DRG1 | 22 | 31816242 | 31816242 | T | C | 433 | SNP | Somatic | 0,482027319 | Confirmed somatic using related germline data | 0,00277904 |
| exonic | SH2D3A | 19 | 6754655 | 6754655 | G | A | 433 | SNP | Somatic | 0,506585136 | Confirmed somatic using related germline data | 0 |
| exonic | SAMD11 | 1 | 871183 | 871183 | | | | | | | | |

Liste des mutations candidates identifiées à partir du séquençage des exomes des patients de la cohorte QcALL

| #Location | Gene | Chromosome | Start | End | Ref | Var | Sample | Type | Somatic status | Somatic VAF | Somatic status origin | Related germline VAF |
|-----------|--------------|------------|-----------|-----------|-----|------|--------|-------|----------------|-------------|---|----------------------|
| exonic | USP9X | X | 41078425 | 41078425 | C | A | 447 | SNP | Somatic | 0,481469115 | Confirmed somatic using related germline data | 0,000580552 |
| exonic | SIC15A2 | 3 | 121615274 | 121615274 | C | A | 447 | SNP | Somatic | 0,46198491 | Confirmed somatic using related germline data | 0,002645503 |
| exonic | NRAS | 1 | 115258744 | 115258744 | C | T | 447 | SNP | Somatic | 0,088857546 | Subclonal | NA |
| exonic | NRAS | 1 | 115258748 | 115258748 | C | T | 447 | SNP | Somatic | 0,06629055 | Subclonal | NA |
| exonic | OKT2 | 1 | 40236014 | 40236014 | C | T | 449 | SNP | Somatic | 0,130434783 | Reported as somatic in another sample | NA |
| exonic | KIAA0754 | 1 | 39879419 | 39879419 | T | C | 449 | SNP | Somatic | 0,189147287 | Reported as somatic in another sample | NA |
| exonic | TRRAP | 7 | 98586392 | 98586392 | G | A | 450 | SNP | Somatic | 0,390365449 | Confirmed somatic using related germline data | 0,005876592 |
| exonic | NRAS | 1 | 115258744 | 115258744 | C | T | 46 | SNP | Somatic | 0,390728477 | Confirmed somatic using related germline data | 0,000472367 |
| exonic | ZNF827 | 4 | 146770620 | 146770620 | C | A | 46 | SNP | Somatic | 0,369804109 | Confirmed somatic using related germline data | 0,000376081 |
| exonic | NRAS | 1 | 115258747 | 115258747 | C | G | 505 | SNP | Somatic | 0,131452581 | Reported as somatic in another sample | NA |
| exonic | NRAS | 1 | 115256529 | 115256529 | T | C | 505 | SNP | Somatic | 0,194087404 | Reported as somatic in another sample | NA |
| exonic | NRAS | 1 | 115258747 | 115258747 | C | T | 510 | SNP | Somatic | 0,179022082 | Confirmed somatic using related germline data | 0,000795229 |
| exonic | NRAS | 1 | 115256530 | 115256530 | G | T | 531 | SNP | Somatic | 0,104615385 | Reported as somatic in another sample | NA |
| exonic | KRAS | 12 | 25398284 | 25398284 | C | T | 53 | SNP | Somatic | 0,383116883 | Reported as somatic in another sample | NA |
| exonic | KRAS | 12 | 25378561 | 25378561 | G | A | 544 | SNP | Somatic | 0,450660451 | Confirmed somatic using related germline data | 0,000714924 |
| exonic | PHF6 | X | 133527636 | 133527636 | C | T | 544 | SNP | Somatic | 0,972251868 | Confirmed somatic using related germline data | 0,000959386 |
| exonic | LAMB1 | 7 | 107618544 | 107618544 | G | C | 544 | SNP | Somatic | 0,458666667 | Confirmed somatic using related germline data | 0 |
| exonic | RUNX1T1 | 8 | 92999138 | 92999138 | C | A | 544 | SNP | Somatic | 0,450337838 | Confirmed somatic using related germline data | 0 |
| exonic | WT1 | 11 | 32417943 | 32417943 | C | T | 544 | SNP | Somatic | 0,959152017 | Confirmed somatic using related germline data | 0,000628536 |
| exonic | DNM2 | 19 | 10940819 | 10940819 | C | T | 544 | SNP | Somatic | 0,488372093 | Confirmed somatic using related germline data | 0,002439024 |
| exonic | ADGRL4 | 1 | 79392638 | 79392638 | G | C | 552 | SNP | Somatic | 0,213983648 | Confirmed somatic using related germline data | 0 |
| exonic | ZNF318 | 6 | 43307235 | 43307235 | G | A | 552 | SNP | Somatic | 0,399416302 | Confirmed somatic using related germline data | 0,00078125 |
| exonic | STX12 | 1 | 28148759 | 28148759 | G | C | 552 | SNP | Somatic | 0,202733485 | Confirmed somatic using related germline data | 0,000759878 |
| exonic | KRAS | 12 | 25398285 | 25398285 | C | G | 552 | SNP | Somatic | 0,18872549 | Confirmed somatic using related germline data | 0 |
| exonic | PHF20 | 20 | 34457377 | 34457377 | C | G | 552 | SNP | Somatic | 0,197309417 | Confirmed somatic using related germline data | 0 |
| exonic | DIAPH3 | 13 | 60616882 | 60616882 | C | G | 552 | SNP | Somatic | 0,244047619 | Confirmed somatic using related germline data | 0,000493097 |
| exonic | NRAS | 1 | 115258748 | 115258748 | C | A | 553 | SNP | Somatic | 0,414599237 | Confirmed somatic using related germline data | 0 |
| exonic | KRAS | 12 | 25398281 | 25398281 | C | T | 570 | SNP | Somatic | 0,388481675 | Reported as somatic in another sample | NA |
| exonic | SNCAIP | 5 | 121767760 | 121767760 | G | T | 579 | SNP | Somatic | 0,276894866 | Confirmed somatic using related germline data | 0,036986301 |
| exonic | KCNMA1 | 10 | 78704719 | 78704719 | G | A | 57 | SNP | Somatic | 0,076923077 | Subclonal | NA |
| exonic | DNT1 | 10 | 98080420 | 98080420 | G | C | 580 | SNP | Somatic | 0,167192429 | Confirmed somatic using related germline data | 0,00022553 |
| exonic | ARHGEF40 | 14 | 21556192 | 21556192 | C | A | 582 | SNP | Somatic | 0,066666667 | Subclonal | NA |
| exonic | KRAS | 12 | 25398284 | 25398284 | C | T | 589 | SNP | Somatic | 0,113207547 | Reported as somatic in another sample | NA |
| exonic | KDM2A | 11 | 67020317 | 67020317 | A | G | 595 | SNP | Somatic | 0,388998035 | Confirmed somatic using related germline data | 0,002325581 |
| exonic | AAMP | 2 | 219130844 | 219130844 | C | A | 595 | SNP | Somatic | 0,359375 | Confirmed somatic using related germline data | 0 |
| exonic | KRAS | 12 | 25398284 | 25398284 | C | T | 596 | SNP | Somatic | 0,050541516 | Subclonal | NA |
| exonic | MDN1 | 6 | 90503600 | 90503600 | G | A | 596 | SNP | Somatic | 0,475147431 | Confirmed somatic using related germline data | 0,08476155 |
| exonic | NPY1R | 4 | 164246673 | 164246673 | T | C | 596 | SNP | Somatic | 0,438987342 | Confirmed somatic using related germline data | 0,002113048 |
| exonic | MYO1E | 15 | 59480342 | 59480342 | G | A | 596 | SNP | Somatic | 0,503202526 | Confirmed somatic using related germline data | 0,062983636 |
| exonic | NRAS | 1 | 115258744 | 115258744 | C | T | 596 | SNP | Somatic | 0,43995098 | Confirmed somatic using related germline data | 0,000748783 |
| exonic | DCTN1 | 2 | 74595111 | 74595111 | G | A | 596 | SNP | Somatic | 0,493985565 | Confirmed somatic using related germline data | 0,072857876 |
| exonic | PCDH18 | 4 | 138442841 | 138442841 | A | T | 599 | SNP | Somatic | 0,51105473 | Confirmed somatic using related germline data | 0 |
| exonic | MCM6 | 2 | 136617008 | 136617008 | C | A | 599 | SNP | Somatic | 0,505005562 | Confirmed somatic using related germline data | 0,067830759 |
| exonic | CEP152 | 15 | 49030823 | 49030823 | G | A | 599 | SNP | Somatic | 0,423529412 | Confirmed somatic using related germline data | 0,078874356 |
| exonic | ARHGEF40 | 14 | 21556192 | 21556192 | C | A | 599 | SNP | Somatic | 0,219512195 | Confirmed somatic using related germline data | 0,007480891 |
| exonic | MRPL55 | 1 | 228294496 | 228294496 | G | A | 599 | SNP | Somatic | 0,457303371 | Confirmed somatic using related germline data | 0,066087796 |
| exonic | ZNF662 | 3 | 42956641 | 42956641 | C | A | 599 | SNP | Somatic | 0,879387939 | Confirmed somatic using related germline data | 0,07106599 |
| exonic | GNB1 | 1 | 1737942 | 1737942 | A | G | 599 | SNP | Somatic | 0,580645161 | Confirmed somatic using related germline data | 0,00314095 |
| exonic | KMT2C | 7 | 151873650 | 151873650 | C | T | 599 | SNP | Somatic | 0,461587101 | Confirmed somatic using related germline data | 0,055900621 |
| exonic | KRAS | 12 | 25398284 | 25398284 | C | T | 59 | SNP | Somatic | 0,085501859 | Subclonal | NA |
| exonic | ARHGEF40 | 14 | 21556192 | 21556192 | C | A | 59 | SNP | Somatic | 0,109756098 | Reported as somatic in another sample | NA |
| exonic | KCNMA1 | 10 | 78704719 | 78704719 | G | A | 601 | SNP | Somatic | 0,438821752 | Confirmed somatic using related germline data | 0,002382087 |
| exonic | CALM1 | 14 | 90870812 | 90870812 | G | T | 601 | SNP | Somatic | 0,324361629 | Confirmed somatic using related germline data | 0 |
| exonic | HTR3B | 11 | 113803103 | 113803103 | C | T | 605 | SNP | Somatic | 0,387545345 | Confirmed somatic using related germline data | 0,001331263 |
| exonic | NRAS | 1 | 115258748 | 115258748 | C | A | 605 | SNP | Somatic | 0,179827472 | Confirmed somatic using related germline data | 0 |
| exonic | PKP2 | 12 | 32994029 | 32994029 | C | A | 608 | SNP | Somatic | 0,28796709 | Confirmed somatic using related germline data | 0 |
| exonic | NPNT | 4 | 106848565 | 106848565 | C | A | 608 | SNP | Somatic | 0,387932961 | Confirmed somatic using related germline data | 0,000320564 |
| exonic | NRAS | 1 | 115258747 | 115258747 | C | T | 608 | SNP | Somatic | 0,295050761 | Confirmed somatic using related germline data | 0,000422654 |
| exonic | MKI67 | 10 | 129906035 | 129906035 | C | G | 608 | SNP | Somatic | 0,397123894 | Confirmed somatic using related germline data | 0,007958773 |
| exonic | NRAS | 1 | 115258744 | 115258744 | C | T | 610 | SNP | Somatic | 0,06030745 | Subclonal | NA |
| exonic | KRAS | 12 | 25398281 | 25398281 | C | T | 610 | SNP | Somatic | 0,058282209 | Subclonal | NA |
| exonic | PTGDR | 14 | 52741626 | 52741626 | C | T | 610 | SNP | Somatic | 0,237317221 | Confirmed somatic using related germline data | 0,001319842 |
| exonic | KRAS | 12 | 25398284 | 25398284 | C | T | 611 | SNP | Somatic | 0,432432432 | Reported as somatic in another sample | NA |
| exonic | NRAS | 1 | 115258747 | 115258747 | C | T | 612 | SNP | Somatic | 0,086618705 | Subclonal | NA |
| exonic | NRAS | 1 | 115258744 | 115258744 | C | T | 612 | SNP | Somatic | 0,171223022 | Confirmed somatic using related germline data | 0,000628536 |
| exonic | ARHGEF11 | 1 | 156914887 | 156914887 | C | T | 614 | SNP | Somatic | 0,413707993 | Confirmed somatic using related germline data | 0,000743494 |
| exonic | BRAF | 7 | 140481411 | 140481411 | C | G | 614 | SNP | Somatic | 0,156816391 | Confirmed somatic using related germline data | 0 |
| exonic | FOXN2 | 2 | 48573708 | 48573708 | C | G | 614 | SNP | Somatic | 0,479589343 | Confirmed somatic using related germline data | 0 |
| exonic | ADAD1 | 4 | 123336551 | 123336551 | G | C | 614 | SNP | Somatic | 0,605263158 | Confirmed somatic using related germline data | 0 |
| exonic | ZNF502 | 3 | 44763757 | 44763757 | G | T | 614 | SNP | Somatic | 0,474264706 | Confirmed somatic using related germline data | 0 |
| exonic | NRAS | 1 | 115258747 | 115258747 | C | T | 616 | SNP | Somatic | 0,415909091 | Reported as somatic in another sample | NA |
| exonic | FHOD1 | 16 | 67271242 | 67271242 | G | A | 617 | SNP | Somatic | 0,448648649 | Confirmed somatic using related germline data | 0 |
| exonic | FLT3 | 13 | 28608309 | 28608309 | D | AGGC | 620 | Indel | Somatic | 0,201636051 | Confirmed somatic using related germline data | 0 |
| splitting | MRRF | 9 | 125033142 | 125033142 | G | A | 620 | SNP | Somatic | 0,410872974 | Confirmed somatic using related germline data | 0 |
| exonic | KDM3B | 5 | 137762666 | 137762666 | C | T | 620 | SNP | Somatic | 0,171998906 | Confirmed somatic using related germline data | 0,000952511 |
| exonic | GNB1 | 1 | 1737942 | 1737942 | A | G | 620 | SNP | Somatic | 0,159687069 | Confirmed somatic using related germline data | 0,001907877 |
| exonic | ZKSCAN1 | 7 | 99631155 | 99631155 | G | T | 622 | SNP | Somatic | 0,471919358 | Confirmed somatic using related germline data | 0,00099108 |
| exonic | DDX52 | 17 | 35990076 | 35990076 | C | T | 622 | SNP | Somatic | 0,426700465 | Confirmed somatic using related germline data | 0,001796324 |
| exonic | NRAS | 1 | 115258747 | 115258747 | C | G | 628 | SNP | Somatic | 0,180087848 | Reported as somatic in another sample | NA |
| exonic | ARHGEF40 | 14 | 21556192 | 21556192 | C | A | 628 | SNP | Somatic | 0,088235294 | Subclonal | NA |
| exonic | KRAS | 12 | 25398284 | 25398284 | C | T | 62 | SNP | Somatic | 0,377643505 | Confirmed somatic using related germline data | 0 |
| exonic | KRAS | 12 | 25398284 | 25398284 | C | G | 632 | SNP | Somatic | 0,305210918 | Confirmed somatic using related germline data | 0 |
| exonic | NRAS | 1 | 115258747 | 115258747 | C | T | 635 | SNP | Somatic | 0,413070284 | Reported as somatic in another sample | NA |
| exonic | DLGAP1 | 18 | 3508639 | 3508639 | C | T | 636 | SNP | Somatic | 0,477449456 | Confirmed somatic using related germline data | 0,001367054 |
| exonic | SPRIN1 | 1 | 231489070 | 231489070 | G | A | 636 | SNP | Somatic | 0,435031483 | Confirmed somatic using related germline data | 0,000277085 |
| exonic | PHF6 | X | 133551273 | 133551273 | C | G | 636 | SNP | Somatic | 0,472961373 | Confirmed somatic using related germline data | 0 |
| splitting | 001074:exon5 | 4 | 69974041 | 69974041 | G | A | 636 | SNP | Somatic | 0,433418151 | Confirmed somatic using related germline data | 0,000434028 |
| exonic | TNFRSF25 | 1 | 6522945 | 6522945 | C | D | 643 | Indel | Somatic | 0,1 | Subclonal | NA |
| exonic | ARHGEF40 | 14 | 21556192 | 21556192 | C | A | 643 | SNP | Somatic | 0,2 | Reported as somatic in another sample | NA |
| exonic | SFT2D1 | 6 | 166743055 | 166743055 | G | A | 643 | SNP | Somatic | 0,068965517 | Subclonal | NA |
| exonic | KRAS | 12 | 25378562 | 25378562 | C | T | 645 | SNP | Somatic | 0,32195301 | Reported as somatic in another sample | NA |
| exonic | TUBGCP6 | 22 | 50659141 | 50659141 | C | A | 646 | SNP | Somatic | 0,251308901 | Confirmed somatic using related germline data | 0 |
| exonic | CAMSAP1 | 9 | 138713767 | 138713767 | C | T | 646 | SNP | Somatic | 0,243902439 | Confirmed somatic using related germline data | 0,004504505 |
| exonic | ACAP2 | 3 | 195027986 | 195027986 | G | A | 646 | SNP | Somatic | 0,383221477 | Confirmed somatic using related germline data | 0,001226492 |
| exonic | RRF1 | 6 | 7182223 | 7182223 | G | A | 646 | SNP | Somatic | 0,132315522 | Confirmed somatic using related germline data | 0 |
| splitting | 1195794:exon | 3 | 150658308 | 150658308 | T | A | 646 | SNP | Somatic | 0,368804665 | Confirmed somatic using related germline data | 0 |
| exonic | SFMBT2 | 10 | 7244458 | 7244458 | C | A | 646 | SNP | Somatic | 0,409851746 | Confirmed somatic using related germline data | 0,000512952 |
| exonic | CEP85 | 1 | 26586156 | 26586156 | A | C | 646 | SNP | Somatic | 0,429885058 | Confirmed somatic using related germline data | 0,00027933 |
| exonic | GPR153 | 1 | 6314633 | 6314633 | C | | | | | | | |

Liste des mutations candidates identifiées à partir du séquençage des exomes des patients de la cohorte QcALL

| #Location | Gene | Chromosome | Start | End | Ref | Var | Sample | Type | Somatic status | Somatic VAF | Somatic status origin | Related germline VAF |
|-----------|---------------------------|------------|-----------|-----------|-----|-------|--------|-------|----------------|-------------|---|----------------------|
| exonic | NRAS | 1 | 115258744 | 115258744 | C | T | 646 | SNP | Somatic | 0,430555556 | Confirmed somatic using related germline data | 0,001055409 |
| exonic | LEF1 | 4 | 108999383 | 108999383 | C | T | 647 | SNP | Somatic | 0,484829721 | Confirmed somatic using related germline data | 0 |
| exonic | UBE3C | 7 | 156974944 | 156974944 | G | C | 657 | SNP | Somatic | 0,48923342 | Confirmed somatic using related germline data | 0 |
| exonic | WHSC1 | 4 | 1962801 | 1962801 | G | A | 657 | SNP | Somatic | 0,3 | Confirmed somatic using related germline data | 0,003367003 |
| exonic | FMR1 | X | 147011546 | 147011546 | C | A | 657 | SNP | Somatic | 0,40530303 | Confirmed somatic using related germline data | 0 |
| exonic | ZNF460 | 19 | 57803158 | 57803158 | G | C | 657 | SNP | Somatic | 0,345852895 | Confirmed somatic using related germline data | 0 |
| exonic | NRAS | 1 | 115258747 | 115258747 | C | G | 659 | SNP | Somatic | 0,404594468 | Confirmed somatic using related germline data | 0 |
| exonic | UMODL1 | 21 | 43547201 | 43547201 | C | T | 659 | SNP | Somatic | 0,21259532 | Confirmed somatic using related germline data | 0,000555864 |
| spliting | 033084:exon35:c.3467-2A>G | | | | | | | | | | | |
| exonic | KDM8 | 16 | 27221665 | 27221665 | A | G | 65 | SNP | Somatic | 0,389105058 | Confirmed somatic using related germline data | 0,004094166 |
| spliting | 01142318:exon5:c.285-2A>G | | | | | | | | | | | |
| exonic | TRAP1 | 12 | 120882712 | 120882712 | A | G | 65 | SNP | Somatic | 0,464140731 | Confirmed somatic using related germline data | 0 |
| exonic | KRAS | 12 | 25378562 | 25378562 | C | G | 65 | SNP | Somatic | 0,341126461 | Confirmed somatic using related germline data | 0 |
| exonic | TIAM1 | 21 | 32617946 | 32617946 | C | T | 65 | SNP | Somatic | 0,648044693 | Confirmed somatic using related germline data | 0 |
| exonic | TTL4 | 2 | 219603477 | 219603477 | C | G | 65 | SNP | Somatic | 0,441558442 | Confirmed somatic using related germline data | 0 |
| exonic | MIA3 | 1 | 222803363 | 222803363 | A | C | 65 | SNP | Somatic | 0,236158192 | Confirmed somatic using related germline data | 0,000578035 |
| exonic | PDF | 16 | 69362960 | 69362960 | A | T | 65 | SNP | Somatic | 0,611185087 | Confirmed somatic using related germline data | 0 |
| exonic | CATSPERB | 14 | 9205917 | 9205917 | T | C | 662 | SNP | Somatic | 0,387364921 | Confirmed somatic using related germline data | 0,000695894 |
| exonic | CTCF | 16 | 67654718 | 67654718 | C | G | 662 | SNP | Somatic | 0,179090029 | Confirmed somatic using related germline data | 0,000372162 |
| exonic | WHSC1 | 4 | 1962801 | 1962801 | G | A | 662 | SNP | Somatic | 0,155015198 | Confirmed somatic using related germline data | 0 |
| exonic | NRAS | 1 | 115256529 | 115256529 | T | A | 663 | SNP | Somatic | 0,29969419 | Confirmed somatic using related germline data | 0 |
| exonic | KIAA0754 | 1 | 39879419 | 39879419 | T | C | 668 | SNP | Somatic | 0,241738066 | Confirmed somatic using related germline data | 0,05 |
| exonic | NRAS | 1 | 115258744 | 115258744 | C | T | 668 | SNP | Somatic | 0,488899614 | Confirmed somatic using related germline data | 0,000534474 |
| exonic | JAK3 | 19 | 17949108 | 17949108 | C | T | 669 | SNP | Somatic | 0,624789916 | Reported as somatic in another sample | NA |
| exonic | KRAS | 12 | 25398284 | 25398284 | C | T | 670 | SNP | Somatic | 0,418732782 | Confirmed somatic using related germline data | 0 |
| exonic | TBC1D8 | 2 | 101675978 | 101675978 | G | A | 670 | SNP | Somatic | 0,449066051 | Confirmed somatic using related germline data | 0,087401762 |
| exonic | CADP5 | 3 | 62518628 | 62518628 | G | A | 674 | SNP | Somatic | 0,351612903 | Confirmed somatic using related germline data | 0,001874163 |
| exonic | PROS1 | 3 | 93629474 | 93629474 | C | G | 676 | SNP | Somatic | 0,445045045 | Confirmed somatic using related germline data | 0,000806452 |
| exonic | TUBGCP2 | 10 | 135099032 | 135099032 | A | G | 679 | SNP | Somatic | 0,244897959 | Confirmed somatic using related germline data | 0,013297872 |
| exonic | RBL2 | 16 | 53496491 | 53496491 | C | T | 679 | SNP | Somatic | 0,441988895 | Confirmed somatic using related germline data | 0,076290464 |
| exonic | DYNC1L2 | 16 | 66757693 | 66757693 | C | G | 679 | SNP | Somatic | 0,36374502 | Confirmed somatic using related germline data | 0 |
| exonic | ARHGEF40 | 14 | 21556192 | 21556192 | C | A | 67 | SNP | Somatic | 0,140625 | Confirmed somatic using related germline data | 0 |
| exonic | UNC13C | 15 | 54685251 | 54685251 | G | C | 67 | SNP | Somatic | 0,291929382 | Confirmed somatic using related germline data | 0 |
| exonic | WHSC1 | 4 | 1962801 | 1962801 | G | A | 680 | SNP | Somatic | 0,302558956 | Reported as somatic in another sample | NA |
| exonic | NRAS | 1 | 115258748 | 115258748 | C | G | 680 | SNP | Somatic | 0,104861773 | Reported as somatic in another sample | NA |
| exonic | BTRC | 10 | 103239186 | 103239186 | C | G | 682 | SNP | Somatic | 0,536721312 | Confirmed somatic using related germline data | 0,082343189 |
| exonic | ABC3 | 16 | 2358472 | 2358472 | T | C | 685 | SNP | Somatic | 0,389155052 | Confirmed somatic using related germline data | 0,010840108 |
| exonic | BEX2 | X | 102564841 | 102564841 | C | G | 685 | SNP | Somatic | 0,379743453 | Confirmed somatic using related germline data | 0 |
| exonic | ARHGAP12 | 10 | 32141474 | 32141474 | C | T | 687 | SNP | Somatic | 0,440704741 | Confirmed somatic using related germline data | 0,002583979 |
| exonic | FCGR3A | 1 | 161518318 | 161518318 | G | A | 687 | SNP | Somatic | 0,288971615 | Confirmed somatic using related germline data | 0,015365318 |
| exonic | IRIG3 | 12 | 59279644 | 59279644 | C | A | 687 | SNP | Somatic | 0,405273438 | Confirmed somatic using related germline data | 0 |
| exonic | TPR11 | 3 | 188933118 | 188933118 | G | A | 690 | SNP | Somatic | 0,58217498 | Confirmed somatic using related germline data | 0 |
| exonic | NRAS | 1 | 115258748 | 115258748 | C | A | 690 | SNP | Somatic | 0,388368984 | Confirmed somatic using related germline data | 0 |
| exonic | WHSC1 | 4 | 1962801 | 1962801 | G | A | 691 | SNP | Somatic | 0,188617886 | Reported as somatic in another sample | NA |
| exonic | SMC6 | 2 | 17844459 | 17844459 | G | C | 691 | SNP | Somatic | 0,117663578 | Confirmed somatic using related germline data | 0 |
| exonic | ZMYM3 | X | 70467282 | 70467282 | A | C | 692 | SNP | Somatic | 0,526344981 | Confirmed somatic using related germline data | 0 |
| exonic | FBXW7 | 4 | 153249384 | 153249384 | C | T | 693 | SNP | Somatic | 0,475445459 | Confirmed somatic using related germline data | 0,000894855 |
| exonic | TNFRSF25 | 1 | 6522944 | 6522944 | D | GGCCC | 699 | Indel | Somatic | 0,125 | Reported as somatic in another sample | NA |
| exonic | ARHGEF40 | 14 | 21556192 | 21556192 | C | A | 699 | SNP | Somatic | 0,090163934 | Subclonal | NA |
| exonic | ECEL1 | 1 | 21551780 | 21551780 | T | C | 6 | SNP | Somatic | 0,466472303 | Confirmed somatic using related germline data | 0,004291846 |
| exonic | TNFRSF25 | 1 | 6522945 | 6522945 | C | D | 702 | Indel | Somatic | 0,4 | Reported as somatic in another sample | NA |
| exonic | ARHGEF40 | 14 | 21556192 | 21556192 | C | A | 702 | SNP | Somatic | 0,108108108 | Reported as somatic in another sample | NA |
| exonic | MDN1 | 6 | 90503600 | 90503600 | G | A | 703 | SNP | Somatic | 0,508330248 | Reported as somatic in another sample | NA |
| exonic | SNCAP | 5 | 121776356 | 121776356 | G | A | 706 | SNP | Somatic | 0,363899614 | Confirmed somatic using related germline data | 0 |
| exonic | SAMD11 | 1 | 871183 | 871183 | A | G | 707 | SNP | Somatic | 0,536512668 | Confirmed somatic using related germline data | 0 |
| exonic | CD1A | 1 | 158226021 | 158226021 | C | T | 707 | SNP | Somatic | 0,433579336 | Confirmed somatic using related germline data | 0,079545455 |
| exonic | KRAS | 12 | 25398281 | 25398281 | C | T | 708 | SNP | Somatic | 0,549317147 | Reported as somatic in another sample | NA |
| exonic | SEMAGA | 5 | 115823843 | 115823843 | G | T | 712 | SNP | Somatic | 0,587091951 | Confirmed somatic using related germline data | 0,088578089 |
| exonic | TFFD1 | 13 | 114287476 | 114287476 | G | A | 712 | SNP | Somatic | 0,525477707 | Confirmed somatic using related germline data | 0 |
| exonic | SFXN3 | X | 102794475 | 102794475 | C | G | 712 | SNP | Somatic | 0,195294118 | Confirmed somatic using related germline data | 0 |
| exonic | BCAP31 | 10 | 152988662 | 152988662 | T | C | 712 | SNP | Somatic | 0,202811245 | Confirmed somatic using related germline data | 0 |
| exonic | UNC45A | 15 | 91488235 | 91488235 | G | T | 712 | SNP | Somatic | 0,372392211 | Confirmed somatic using related germline data | 0,097103918 |
| exonic | KRAS | 12 | 25398285 | 25398285 | C | G | 712 | SNP | Somatic | 0,24028777 | Confirmed somatic using related germline data | 0 |
| exonic | TP53 | 17 | 7578542 | 7578543 | GG | G | 715 | Indel | Somatic | 0,2 | Reported as somatic in another sample | NA |
| exonic | KRAS | 12 | 25398284 | 25398284 | C | A | 715 | SNP | Somatic | 0,105454546 | Reported as somatic in another sample | NA |
| exonic | RRP12 | 10 | 99133590 | 99133590 | C | A | 716 | SNP | Somatic | 0,485319516 | Confirmed somatic using related germline data | 0,067990074 |
| exonic | DCTN1 | 2 | 74595111 | 74595111 | G | A | 717 | SNP | Somatic | 0,51921988 | Reported as somatic in another sample | NA |
| spliting | 1195794:exon3 | | | | | | | | | | | |
| exonic | NRAS | 1 | 150658308 | 150658308 | T | A | 718 | SNP | Somatic | 0,498875899 | Confirmed somatic using related germline data | 0,076706286 |
| exonic | NRAS | 1 | 115256530 | 115256530 | G | T | 71 | SNP | Somatic | 0,336842105 | Confirmed somatic using related germline data | 0,002579536 |
| exonic | FLT3 | 13 | 28608281 | 28608281 | A | G | 71 | SNP | Somatic | 0,143279658 | Confirmed somatic using related germline data | 0,002709503 |
| exonic | NRAS | 1 | 115258744 | 115258744 | C | T | 71 | SNP | Somatic | 0,145833333 | Confirmed somatic using related germline data | 0,000359583 |
| exonic | KRAS | 12 | 25398284 | 25398284 | C | T | 720 | SNP | Somatic | 0,138095238 | Reported as somatic in another sample | NA |
| exonic | KRAS | 12 | 25398281 | 25398281 | C | T | 721 | SNP | Somatic | 0,508474576 | Confirmed somatic using related germline data | 0,000938086 |
| exonic | GPR68 | 14 | 91701112 | 91701112 | G | A | 721 | SNP | Somatic | 0,376923077 | Confirmed somatic using related germline data | 0,082694635 |
| exonic | FLT1 | 13 | 28877332 | 28877332 | A | G | 721 | SNP | Somatic | 0,575268817 | Confirmed somatic using related germline data | 0,002721088 |
| exonic | NRAS | 1 | 115258747 | 115258747 | C | T | 722 | SNP | Somatic | 0,284477427 | Reported as somatic in another sample | NA |
| exonic | ZNF7 | 8 | 146068428 | 146068428 | C | T | 724 | SNP | Somatic | 0,349797571 | Confirmed somatic using related germline data | 0,000988631 |
| exonic | KRAS | 12 | 25398281 | 25398281 | C | T | 724 | SNP | Somatic | 0,251968504 | Confirmed somatic using related germline data | 0 |
| exonic | NRAS | 1 | 115256529 | 115256529 | T | C | 724 | SNP | Somatic | 0,108843537 | Confirmed somatic using related germline data | 0,002782931 |
| exonic | JAK1 | 1 | 65306942 | 65306942 | G | A | 727 | SNP | Somatic | 0,05 | Subclonal | NA |
| exonic | PHF6 | X | 133547928 | 133547928 | G | T | 727 | SNP | Somatic | 0,079069767 | Subclonal | NA |
| exonic | KDM6A | X | 44928974 | 44928974 | C | T | 727 | SNP | Somatic | 0,073770492 | Subclonal | NA |
| spliting | 105120:exon2 | | | | | | | | | | | |
| exonic | PHF6 | X | 133547940 | 133547940 | C | T | 727 | SNP | Somatic | 0,772093023 | Confirmed somatic using related germline data | 0,001310616 |
| exonic | CREBBP | 16 | 3788618 | 3788618 | G | A | 72 | SNP | Somatic | 0,063045202 | Subclonal | NA |
| exonic | IGFBP3 | 7 | 45954541 | 45954541 | G | A | 732 | SNP | Somatic | 0,431640625 | Confirmed somatic using related germline data | 0,001021798 |
| exonic | KIAA0754 | 1 | 39879419 | 39879419 | T | C | 732 | SNP | Somatic | 0,246546227 | Confirmed somatic using related germline data | 0,024896266 |
| exonic | WHSC1 | 4 | 1962801 | 1962801 | G | A | 732 | SNP | Somatic | 0,326775956 | Confirmed somatic using related germline data | 0,003072197 |
| exonic | LAMA2 | 6 | 129637089 | 129637089 | G | A | 732 | SNP | Somatic | 0,336344086 | Confirmed somatic using related germline data | 0,001148106 |
| exonic | RBL2 | 16 | 53496491 | 53496491 | C | T | 732 | SNP | Somatic | 0,445392087 | Confirmed somatic using related germline data | 0,096065508 |
| exonic | ARHGEF40 | 14 | 21556192 | 21556192 | C | A | 736 | SNP | Somatic | 0,25 | Reported as somatic in another sample | NA |
| exonic | WHSC1 | 4 | 1962801 | 1962801 | G | A | 739 | SNP | Somatic | 0,40855323 | Reported as somatic in another sample | NA |
| exonic | MCM6 | 2 | 136617008 | 136617008 | C | A | 73 | SNP | Somatic | 0,504418522 | Confirmed somatic using related germline data | 0,068871463 |
| exonic | RSF1 | 11 | 77412049 | 77412049 | C | T | 73 | SNP | Somatic | 0,497848537 | Confirmed somatic using related germline data | 0,063214931 |
| exonic | MED15 | 22 | 20922811 | 20922811 | C | T | 73 | SNP | Somatic | 0,374054054 | Confirmed somatic using related germline data | 0,003177966 |
| exonic | PHF6 | X | 133547928 | 133547928 | G | T | 744 | SNP | Somatic | 0,9875467 | Confirmed somatic using related germline data | 0,001412429 |
| spliting | 105120:exon2 | | | | | | | | | | | |
| exonic | NID1 | 1 | 236201538 | 236201538 | G | A | 744 | SNP | Somatic | 0,141396934 | Confirmed somatic using related germline data | 0,001545595 |
| exonic | JAK1 | 1 | 65306942 | 65306942 | G | A | 744 | SNP | Somatic | 0,515954244 | Confirmed somatic using related germline data | 0,000465333 |
| exonic | JAK3 | 19 | 17949108 | 17949108 | C | T | 744 | SNP | Somatic | 0,4944841 | | |

Liste des mutations candidates identifiées à partir du séquençage des exomes des patients de la cohorte QcALL

| #Location | Gene | Chromosome | Start | End | Ref | Var | Sample | Type | Somatic status | Somatic VAF | Somatic status origin | Related germline VAF |
|-----------|----------|------------|-----------|-----------|-----|-----|--------|-------|----------------|-------------|---|----------------------|
| exonic | KDM6A | X | 44928974 | 44928974 | C | T | 744 | SNP | Somatic | 0,990180033 | Confirmed somatic using related germline data | 0,000738007 |
| exonic | TNFRSF25 | 1 | 6522945 | 6522945 | C | T | 745 | Indel | Somatic | 0,111111111 | Reported as somatic in another sample | NA |
| exonic | ARHGFE40 | 14 | 21556192 | 21556192 | C | A | 745 | SNP | Somatic | 0,115384615 | Reported as somatic in another sample | NA |
| exonic | KRAS | 12 | 25378562 | 25378562 | C | T | 749 | SNP | Somatic | 0,363295988 | Reported as somatic in another sample | NA |
| exonic | PHF6 | X | 133551305 | 133551305 | T | C | 74 | SNP | Somatic | 0,575111111 | Confirmed somatic using related germline data | 0,001252348 |
| exonic | FLT3 | 13 | 28592620 | 28592620 | T | C | 752 | SNP | Somatic | 0,120371358 | Confirmed somatic using related germline data | 0,000931966 |
| exonic | NRAS | 1 | 115258747 | 115258747 | C | T | 753 | SNP | Somatic | 0,053851907 | Subclonal | NA |
| exonic | CFTR | 7 | 117292962 | 117292962 | G | T | 756 | SNP | Somatic | 0,315982263 | Confirmed somatic using related germline data | 0 |
| exonic | NRAS | 1 | 115258747 | 115258747 | C | T | 757 | SNP | Somatic | 0,083933518 | Subclonal | NA |
| exonic | NRAS | 1 | 115258748 | 115258748 | C | T | 757 | SNP | Somatic | 0,12132964 | Confirmed somatic using related germline data | 0 |
| exonic | CALN1 | 7 | 71252771 | 71252771 | C | T | 759 | SNP | Somatic | 0,305703849 | Confirmed somatic using related germline data | 0,001093494 |
| exonic | PNPT1 | 2 | 55912087 | 55912087 | G | A | 759 | SNP | Somatic | 0,302574257 | Confirmed somatic using related germline data | 0,000697599 |
| exonic | PCNT | 21 | 47817273 | 47817273 | G | T | 761 | SNP | Somatic | 0,344280501 | Confirmed somatic using related germline data | 0,005926511 |
| exonic | PGAM5 | 12 | 133295383 | 133295383 | T | G | 761 | SNP | Somatic | 0,467987487 | Confirmed somatic using related germline data | 0,094552929 |
| exonic | KRAS | 12 | 25378562 | 25378562 | C | T | 761 | SNP | Somatic | 0,121666667 | Confirmed somatic using related germline data | 0,00664746 |
| exonic | NRAS | 1 | 115256530 | 115256530 | G | T | 764 | SNP | Somatic | 0,250629723 | Confirmed somatic using related germline data | 0 |
| exonic | CEP290 | 12 | 88519037 | 88519037 | A | C | 764 | SNP | Somatic | 0,517182131 | Confirmed somatic using related germline data | 0,012110727 |
| exonic | RHBDD1 | 2 | 227771594 | 227771594 | G | C | 764 | SNP | Somatic | 0,504115226 | Confirmed somatic using related germline data | 0,005703422 |
| exonic | RUSC1 | 1 | 155291952 | 155291952 | G | A | 764 | SNP | Somatic | 0,526090343 | Confirmed somatic using related germline data | 0,003755548 |
| exonic | ATG12 | 5 | 115177099 | 115177099 | T | C | 764 | SNP | Somatic | 0,693166592 | Confirmed somatic using related germline data | 0,010242086 |
| exonic | PTPRS | 19 | 5208389 | 5208389 | C | T | 766 | SNP | Somatic | 0,237697877 | Confirmed somatic using related germline data | 0,000510009 |
| exonic | FLT3 | 13 | 28608309 | 28608309 | C | T | 768 | SNP | Somatic | 0,407251765 | Confirmed somatic using related germline data | 0,001641737 |
| exonic | NRAS | 1 | 115258747 | 115258747 | C | A | 772 | SNP | Somatic | 0,592660551 | Reported as somatic in another sample | NA |
| exonic | KRAS | 12 | 25398284 | 25398284 | C | G | 775 | SNP | Somatic | 0,287878788 | Confirmed somatic using related germline data | 0 |
| exonic | SKOR1 | 15 | 68117149 | 68117149 | T | G | 775 | SNP | Somatic | 0,418918919 | Confirmed somatic using related germline data | 0,005340454 |
| exonic | PNISR | 6 | 99858664 | 99858664 | G | A | 775 | SNP | Somatic | 0,309045226 | Confirmed somatic using related germline data | 0,02997365 |
| exonic | KRAS | 12 | 25398284 | 25398284 | C | T | 777 | SNP | Somatic | 0,131756757 | Confirmed somatic using related germline data | 0,001342282 |
| exonic | NRAS | 1 | 115258744 | 115258744 | C | T | 777 | SNP | Somatic | 0,082122552 | Subclonal | NA |
| exonic | ARHGFE40 | 14 | 21556192 | 21556192 | C | A | 777 | SNP | Somatic | 0,063492064 | Subclonal | NA |
| exonic | ARHGFE40 | 14 | 21556192 | 21556192 | C | A | 78 | SNP | Somatic | 0,142857143 | Confirmed somatic using related germline data | 0,006529851 |
| exonic | U2AF1 | 21 | 44524453 | 44524453 | C | A | 791 | SNP | Somatic | 0,070247934 | Subclonal | NA |
| exonic | JAK3 | 19 | 17949108 | 17949108 | C | T | 791 | SNP | Somatic | 0,096140951 | Subclonal | NA |
| exonic | NRAS | 1 | 115258747 | 115258747 | C | T | 794 | SNP | Somatic | 0,320987654 | Confirmed somatic using related germline data | 0,001694915 |
| exonic | PTPRS | 19 | 5208389 | 5208389 | C | T | 795 | SNP | Somatic | 0,09375 | Subclonal | NA |
| exonic | NRAS | 1 | 115258747 | 115258747 | C | T | 7 | SNP | Somatic | 0,074074074 | Subclonal | NA |
| exonic | KRAS | 12 | 25398281 | 25398281 | C | T | 7 | SNP | Somatic | 0,182130584 | Reported as somatic in another sample | NA |
| exonic | NRAS | 1 | 115258744 | 115258744 | C | T | 801 | SNP | Somatic | 0,459639498 | Confirmed somatic using related germline data | 0,00066313 |
| exonic | NRAS | 1 | 115258744 | 115258744 | C | T | 803 | SNP | Somatic | 0,506815366 | Reported as somatic in another sample | NA |
| exonic | KRAS | 12 | 25398284 | 25398284 | C | T | 808 | SNP | Somatic | 0,379925651 | Reported as somatic in another sample | NA |
| exonic | TP53 | 17 | 7578542 | 7578543 | GG | G | 80 | Indel | Somatic | 0,125 | Reported as somatic in another sample | NA |
| exonic | ARHGFE40 | 14 | 21556192 | 21556192 | C | A | 80 | SNP | Somatic | 0,12037037 | Reported as somatic in another sample | NA |
| exonic | NRAS | 1 | 115258747 | 115258747 | C | A | 80 | SNP | Somatic | 0,5078125 | Reported as somatic in another sample | NA |
| exonic | ARHGFE40 | 14 | 21556192 | 21556192 | C | A | 813 | SNP | Somatic | 0,120689655 | Confirmed somatic using related germline data | 0,014404497 |
| exonic | CREBBP | 16 | 3788618 | 3788618 | G | A | 813 | SNP | Somatic | 0,581612903 | Confirmed somatic using related germline data | 0,001705162 |
| exonic | KRAS | 12 | 25398285 | 25398285 | C | G | 814 | SNP | Somatic | 0,378934625 | Confirmed somatic using related germline data | 0 |
| exonic | TNFRSF25 | 1 | 6522945 | 6522945 | C | T | 815 | Indel | Somatic | 0,2 | Confirmed somatic using related germline data | 0,002051564 |
| exonic | ARHGFE40 | 14 | 21556192 | 21556192 | C | A | 815 | SNP | Somatic | 0,115384615 | Confirmed somatic using related germline data | 0,014404497 |
| exonic | KRAS | 12 | 25398281 | 25398281 | C | G | 819 | SNP | Somatic | 0,51827957 | Reported as somatic in another sample | NA |
| exonic | TNFRSF25 | 1 | 6522945 | 6522945 | C | T | 820 | Indel | Somatic | 0,166666667 | Reported as somatic in another sample | NA |
| exonic | ARHGFE40 | 14 | 21556192 | 21556192 | C | A | 820 | SNP | Somatic | 0,235294118 | Reported as somatic in another sample | NA |
| exonic | ADAD1 | 4 | 123366551 | 123366551 | G | C | 825 | SNP | Somatic | 0,115384615 | Reported as somatic in another sample | NA |
| exonic | KRAS | 12 | 25398285 | 25398285 | C | T | 831 | SNP | Somatic | 0,356020942 | Reported as somatic in another sample | NA |
| exonic | TNFRSF25 | 1 | 6522945 | 6522945 | C | T | 836 | Indel | Somatic | 0,125 | Reported as somatic in another sample | NA |
| exonic | ARHGFE40 | 14 | 21556192 | 21556192 | C | A | 836 | SNP | Somatic | 0,205882353 | Reported as somatic in another sample | NA |
| exonic | SFT2D1 | 6 | 166743055 | 166743055 | G | A | 836 | SNP | Somatic | 0,08 | Subclonal | NA |
| exonic | NRAS | 1 | 115258748 | 115258748 | C | T | 837 | SNP | Somatic | 0,195995785 | Reported as somatic in another sample | NA |
| exonic | ARHGFE40 | 14 | 21556192 | 21556192 | C | A | 837 | SNP | Somatic | 0,119047619 | Reported as somatic in another sample | NA |
| exonic | NRAS | 1 | 115258747 | 115258747 | C | T | 837 | SNP | Somatic | 0,08166491 | Subclonal | NA |
| exonic | KRAS | 12 | 25378562 | 25378562 | C | T | 848 | SNP | Somatic | 0,115789474 | Reported as somatic in another sample | NA |
| exonic | RUSC1 | 1 | 155291952 | 155291952 | G | A | 854 | SNP | Somatic | 0,500570386 | Reported as somatic in another sample | NA |
| exonic | GNA15 | 19 | 3151833 | 3151833 | G | A | 858 | SNP | Somatic | 0,459991793 | Reported as somatic in another sample | NA |
| exonic | FBXW7 | 4 | 153249384 | 153249384 | C | T | 866 | SNP | Somatic | 0,426409904 | Reported as somatic in another sample | NA |
| exonic | NRAS | 1 | 115258747 | 115258747 | C | T | 868 | SNP | Somatic | 0,340567613 | Reported as somatic in another sample | NA |
| exonic | NRAS | 1 | 115256529 | 115256529 | T | G | 872 | SNP | Somatic | 0,857995227 | Reported as somatic in another sample | NA |
| exonic | KRAS | 12 | 25398284 | 25398284 | C | T | 873 | SNP | Somatic | 0,068656716 | Subclonal | NA |
| exonic | NRAS | 1 | 115258747 | 115258747 | C | G | 873 | SNP | Somatic | 0,181818182 | Reported as somatic in another sample | NA |
| exonic | KIAA0754 | 1 | 39879419 | 39879419 | T | C | 873 | SNP | Somatic | 0,182186235 | Reported as somatic in another sample | NA |
| exonic | CREBBP | 16 | 3788618 | 3788618 | G | A | 881 | SNP | Somatic | 0,455147951 | Reported as somatic in another sample | NA |
| exonic | U2AF1 | 21 | 44524453 | 44524453 | C | A | 882 | SNP | Somatic | 0,344827586 | Reported as somatic in another sample | NA |
| exonic | JAK3 | 19 | 17943438 | 17943438 | A | G | 882 | SNP | Somatic | 0,259213759 | Reported as somatic in another sample | NA |
| exonic | KRAS | 12 | 25398281 | 25398281 | C | T | 889 | SNP | Somatic | 0,051612903 | Subclonal | NA |
| exonic | KRAS | 12 | 25398284 | 25398284 | C | A | 889 | SNP | Somatic | 0,070967742 | Subclonal | NA |
| exonic | CDC4A | 14 | 105478256 | 105478256 | C | T | 88 | SNP | Somatic | 0,561766087 | Confirmed somatic using related germline data | 0,020996295 |
| exonic | NRAS | 1 | 115258747 | 115258747 | C | G | 891 | SNP | Somatic | 0,241557651 | Reported as somatic in another sample | NA |
| exonic | NRAS | 1 | 115258747 | 115258747 | C | T | 895 | SNP | Somatic | 0,48019802 | Reported as somatic in another sample | NA |
| exonic | NRAS | 1 | 115258744 | 115258744 | C | T | 897 | SNP | Somatic | 0,07082153 | Subclonal | NA |
| exonic | FLT3 | 13 | 28608281 | 28608281 | A | T | 897 | SNP | Somatic | 0,359564165 | Reported as somatic in another sample | NA |
| exonic | SH2D3A | 19 | 6754655 | 6754655 | G | A | 897 | SNP | Somatic | 0,464128843 | Reported as somatic in another sample | NA |
| exonic | KRAS | 12 | 25378562 | 25378562 | C | T | 899 | SNP | Somatic | 0,304635762 | Reported as somatic in another sample | NA |
| exonic | DCTN1 | 2 | 74595111 | 74595111 | G | A | 899 | SNP | Somatic | 0,490981432 | Reported as somatic in another sample | NA |
| exonic | ARHGFE40 | 14 | 21556192 | 21556192 | C | A | 92 | SNP | Somatic | 0,068627451 | Subclonal | NA |
| exonic | NRAS | 1 | 115258747 | 115258747 | C | G | 92 | SNP | Somatic | 0,504557641 | Confirmed somatic using related germline data | 0 |
| exonic | DHX8 | 17 | 41570126 | 41570126 | G | A | 94 | SNP | Somatic | 0,717748241 | Reported as somatic in another sample | NA |
| exonic | TP53 | 17 | 7577538 | 7577538 | C | T | 95 | SNP | Somatic | 0,174487773 | Reported as somatic in another sample | NA |
| exonic | NRAS | 1 | 115258747 | 115258747 | C | T | 95 | SNP | Somatic | 0,393627955 | Reported as somatic in another sample | NA |