The Classical Breakage-Fusion-Bridge (BFB) Model Fails to Explain Chromosome 21 Amplification in B-ALL: Evidence for Involvement of Both Homologs

Cancer Genomics Lab

BACKGROUND

- B-cell acute lymphoblastic leukemia (B-ALL) is a malignancy of immature B-cell precursors. The iAMP21 subtype is characterized by extensive amplification and complex structural rearrangements of chromosome 21.
- Breakage-fusion-bridge (BFB) cycles are thought to contribute to chromosome 21 amplification in iAMP21 B-ALL. Loss of a chromosome end followed by sister-chromatid fusion generates a dicentric chromosome, which forms a chromatin bridge during cell division (Fig.1).
- Chromatin bridges can persist for hours and undergo nuclear envelope rupture, allowing TREX1-mediated degradation of bridge DNA and extensive ssDNA formation (Fig.2). Subsequent bridge resolution can produce fragmented and rearranged chromosome arms.

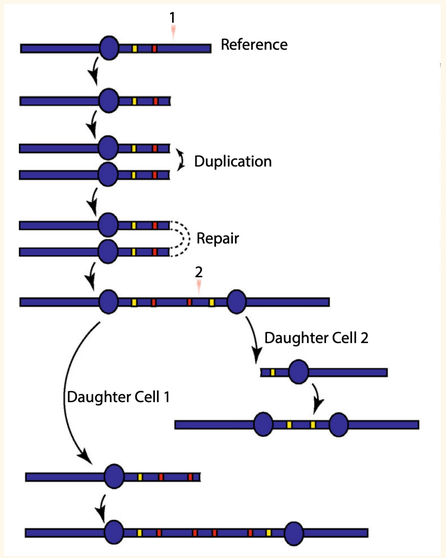


Figure 1. Classical breakage–fusion–bridge (BFB) cycle leading to chromosome amplification.

- В-клеточный острый лимфобластный лейкоз (B-ALL) – злокачественное заболевание, характеризующееся неконтролируемой пролиферацией незрелых предшественников В-клеток. Подтип iAMP21 характеризуется выраженной амплификацией и сложными структурными перестройками хромосомы 21.
- Предполагается, что циклы «разрыв-слияние-мост» (BFB) вносят вклад в амплификацию хромосомы 21 при iAMP21 B-ALL. Потеря конца хромосомы с последующим слиянием сестринских хроматид приводит к образованию дицентрической хромосомы, которая во время деления клетки формирует хроматиновый мост (рис. 1).
- Хроматиновые мосты могут сохраняться в течение нескольких часов и подвергаться разрыву ядерной оболочки, что обеспечивает доступ TREX1 к ДНК моста, ее деградацию и образование протяженных участков одноцепочечной ДНК (ssDNA) (рис. 2). Последующее разрешение моста может приводить к фрагментации и перестройкам плеча хромосомы.

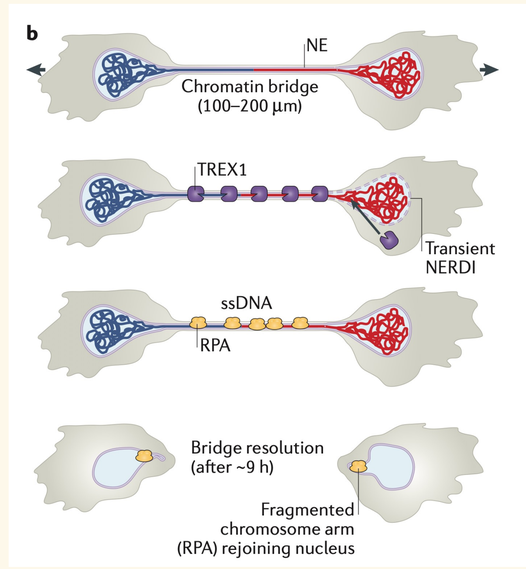


Figure 2. TREX1-mediated processing and resolution of an anaphase chromatin bridge.

DATA & METHODS

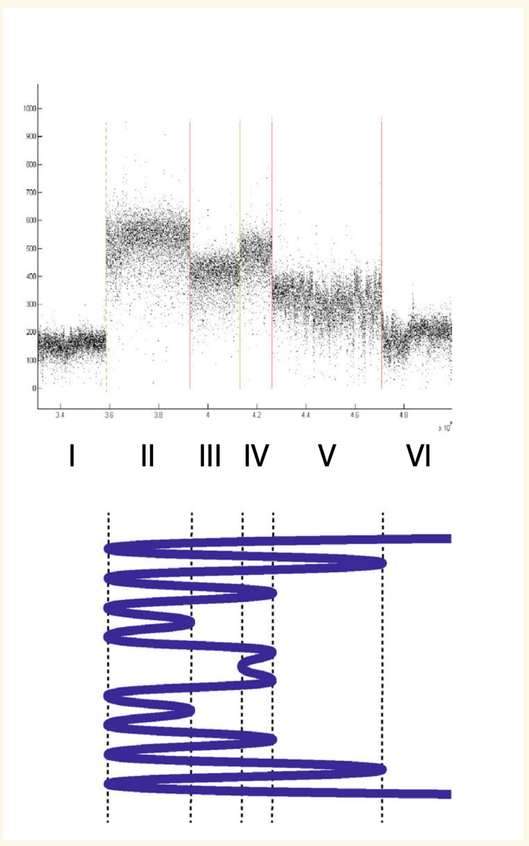
- Whole-genome sequencing data from 12 iAMP21 B-ALL samples, including both short- and long-read sequencing, were analyzed.
- Copy-number profiles, structural variants (SVs), and single-nucleotide variants (SNVs) were characterized, with a primary focus on chromosome 21.
- BFB-associated rearrangements and amplification patterns were investigated by integrating copy-number and structural-variant information.
- Multiple computational approaches for BFB detection and reconstruction were evaluated, including AmpliconSuite (AmpliconArchitect/AmpliconClassifier), GRIDSS–PURPLE–LINX, BFBArchitect, and BFBFinder.

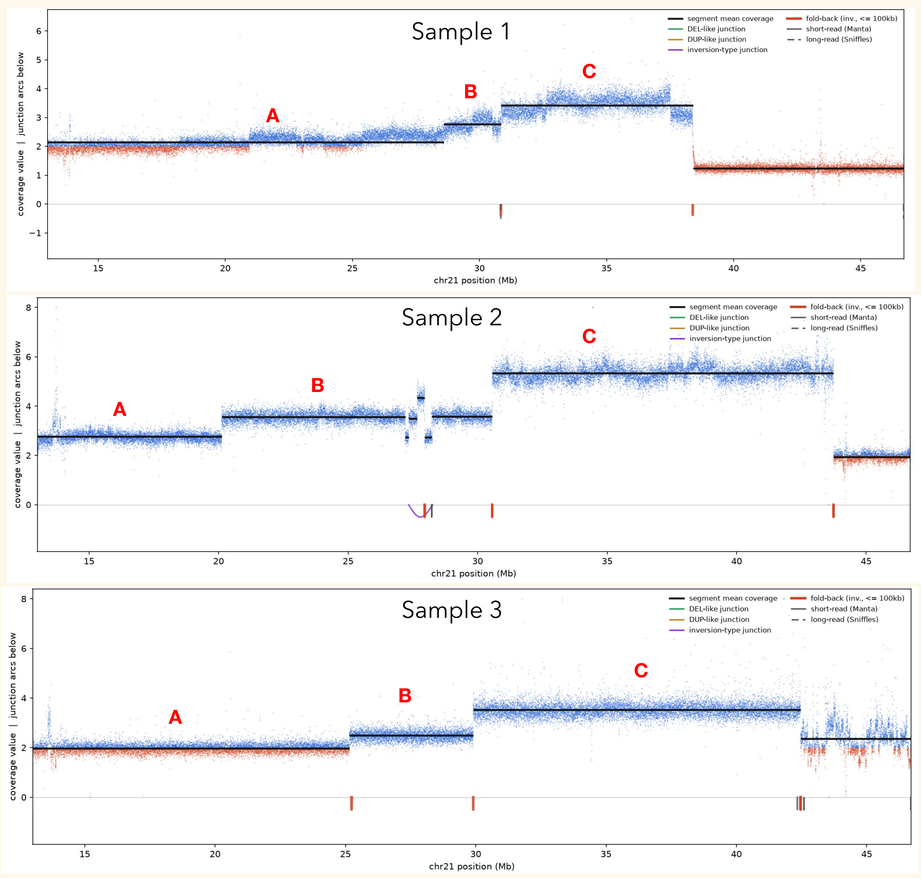
- Были проанализированы данные полногеномного секвенирования 12 образцов iAMP21 B-ALL, полученные с использованием технологий коротких и длинных ридов.
- Были охарактеризованы профили копийности, структурные варианты (SV) и однонуклеотидные варианты (SNV), с основным фокусом на хромосоме 21.
- BFB-ассоциированные перестройки и паттерны амплификации исследовались путем совместного анализа данных о копийности и структурных вариантах.
- Были протестированы различные вычислительные подходы для выявления и реконструкции BFB, включая AmpliconSuite (AmpliconArchitect/AmpliconClassifier), GRIDSS–PURPLE–LINX, BFBArchitect и BFBFinder.

RESULTS

- We aimed to reconstruct the sequence of BFB events underlying chromosome 21 amplification by integrating copy-number changes and structural rearrangements, and to determine whether the observed copy-number patterns could be explained by the classical BFB model.

- Наша цель заключалась в реконструкции последовательности BFB-событий, лежащих в основе амплификации хромосомы 21, путем совместного анализа изменений копийности и структурных перестроек, а также в определении того, могут ли наблюдаемые паттерны копийности быть объяснены классической моделью BFB.





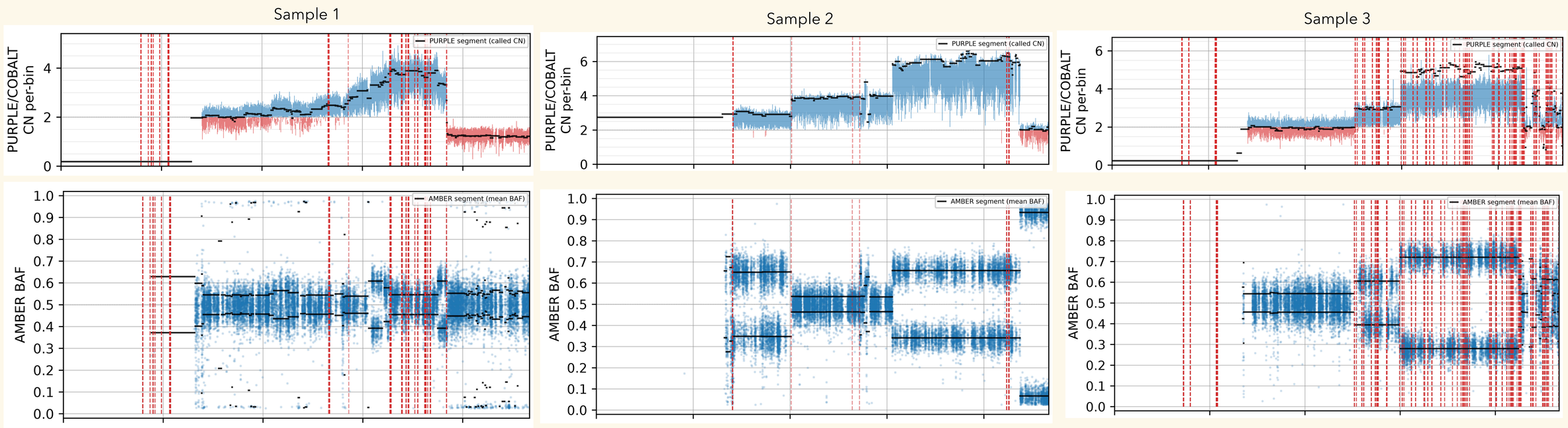
CN (A, B, C) = [2, 3, 4]

CN (A, B, C) = [3, 4, 5]

CN (A, B, C) = [2, 3, 4]

Figure 3. Reconstruction of BFB events from the chromosome 21 copy-number profile. Copy-number transitions define genomic segments (I–VI), while fold-back rearrangements were used to infer the order of BFB events and reconstruct the resulting chromosome structure.

Figure 4. Three B-ALL samples show stepwise copy-number patterns on chromosome 21, characteristic of BFB cycles. The observed copy-number profiles — [2,3,4], [3,4,5], and [2,3,4] — cannot be explained by the classical BFB model assuming BFB evolution of a single chromosome homolog.



Adjusted CN (скорректированная копийность) = [2, 3, 4]
Homolog-specific CN decomposition: [2, 3, 4] = [1, 2, 2] + [1, 1, 2]
Two homolog BFB reconstruction: [1, 2, 2] → ABCCB & [1, 1, 2] → ABCC
Homolog 1 BFB sequence: ABC → ABCCBA → ABCCB
Homolog 2 BFB sequence: ABC → ABCCBA → ABCC

Adjusted CN = [3, 4, 6]
Homolog-specific CN decomposition: [3, 4, 6] = [2, 2, 4] + [1, 2, 2]
Two homolog BFB reconstruction: [2, 2, 4] → ABCCCCBA & [1, 2, 2] → ABCCB
Homolog 1 BFB sequence: ABC → ABCCBA → ABCC → ABCCCCBA
Homolog 2 BFB sequence: ABC → ABCCBA → ABCCB

Adjusted CN = [2, 3, 5]
Homolog-specific CN decomposition: [2, 3, 4] = [1, 2, 4] + [1, 1, 1]
Two homolog BFB reconstruction: [1, 2, 4] → ABCCCCB & [1, 1, 1] → ABC
Homolog 1 BFB sequence: ABC → ABCCBA → ABCC → ABCCCCBA → ABCCCCB
Homolog 2 BFB sequence: ABC

Figure 5. Two-homolog BFB reconstruction of chromosome 21 copy-number profiles. Adjusted copy numbers were obtained using PURPLE/COBALT, accounting for tumor purity and ploidy. The relative copy-number contribution of the two homologs was inferred from AMBER B-allele frequencies (BAF). The resulting homolog-specific CN profiles were then used to reconstruct independent BFB sequences for each homolog.

CONCLUSIONS

- The classical single-homolog BFB model cannot account for the observed chromosome 21 copy-number profiles in iAMP21 B-ALL.
- Allele-specific copy-number analysis suggests amplification of both chromosome 21 homologs.
- Decomposition into homolog-specific CN profiles allows each homolog to be independently explained by a plausible sequence of BFB cycles.
- Thus, BFB-driven chromosome 21 amplification in iAMP21 may involve parallel evolution of both homologs, extending the classical BFB model.

- Классическая модель BFB, предполагающая вовлечение одного гомолога, не может объяснить наблюдаемые профили копийности хромосомы 21 при iAMP21 B-ALL.
- Анализ аллель-специфической копийности указывает на амплификацию обоих гомологов хромосомы 21.
- Разложение общего профиля копийности на профили отдельных гомологов позволяет объяснить каждый из них независимо с помощью правдоподобной последовательности BFB-циклов.
- Таким образом, BFB-обусловленная амплификация хромосомы 21 при iAMP21 может включать параллельную эволюцию обоих гомологов, расширяя классическую модель BFB.