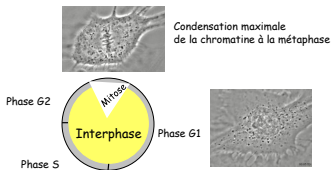


## Les chromosomes, le caryotype et ses anomalies

### I- Le chromosome

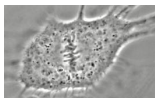
Au cours du cycle c, le degré de repliement de la chromatine est maximal lors de la métaphase. C'est à ce stade que les chromosomes sont les mieux visibles et de ce fait les + facilement analysables par conséquent c'est à ce stade de la mitose que les chromosomes sont étudiés.



### Le cycle cellulaire

Le classement des chromosomes dans le caryotype, permet d'étudier le nombre et la structure du contenu chromosomique d'une cellule. Ces études sont à la base d'une discipline que l'on appelle cytogénétique. En cytogénétique la réalisation du caryotype, il est nécessaire de posséder des cellules qui se divisent activement.

#### 1- La structure du chromosome métaphasique



Chromosomes sur la plaque équatoriale

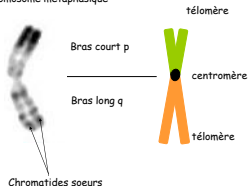
Au cours de la phase S du cycle cellulaire, le chromosome qui était formé jusque là d'une seule molécule d'ADN est dupliqué. Il présente ainsi deux molécules d'ADN identiques, que l'on appelle chromatides sœurs. Les chromatides sœurs sont reliées entre elles au niveau du centromère. La position du centromère permet de définir la morphologie du chromosome.

- Un chromosome est métacentrique si ses deux bras ont des longueurs sensiblement égales.
- Un chromosome est submétacentrique si il possède un bras court qui est environ deux fois plus petit que le bras long.
- Un chromosome est acrocentrique si son bras court est très bref.

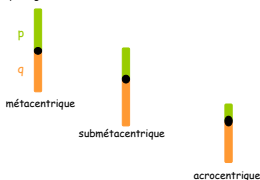
La position du centromère permet aussi de séparer le chromosome en deux bras : vers le haut le bras court : P, vers le bas le bras long noté Q.

A l'extrémité des chromosomes se trouvent les télomères.

### Chromosome métaphasique



### Morphologie des chromosomes



## 2- Le centromère



Le centromère permet d'attacher le chromosome au fuseau mitotique pendant la mitose. Il est indispensable au mvmt des chromosomes ou des chromatides soeurs lors de l'anaphase. La région du centromère est composée d'hétérochromatine constitutive, l'ADN est caractérisé par de longues séquences répétées en tandem. Chaque séquence comprend 170 nucléotides répétés plusieurs milliers de fois. L'ensemble de ses séquences d'ADN est appelé ADN satellite.

Cet ADN centromérique a la particularité de fixer des protéines spécifiques, comme par exemple les protéines du kinétochore. Le kinétochore est un complexe protéique qui s'assemble sur les deux faces du centromère et qui sert de lien entre les microtubules du fuseau et le chromosome.

## 3- Les télomères



Photo : INRA Montpellier

Ce sont les segments terminaux des bras chromosomiques, ils sont constitués par des répétitions en tandem d'un motif de 6 paires de bases. La taille des télomères varie non seulement d'une espèce à une autre, mais aussi entre les individus, et aussi entre les chromosomes d'un même individu.

Séquences télomériques marquées en vert. En fonction des chromosomes les signaux sont plus ou moins intenses, on peut même avoir disparition des signaux fluorescents.

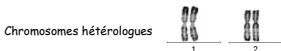
Cet ADN télomérique s'associe à des protéines. Les télomères protègent l'extrémité des chromosomes de la dégradation, de la fusion à d'autres chromosomes, de la recombinaison et ils assurent la réplication de la partie extrême du chromosome.

### III- Le caryotype

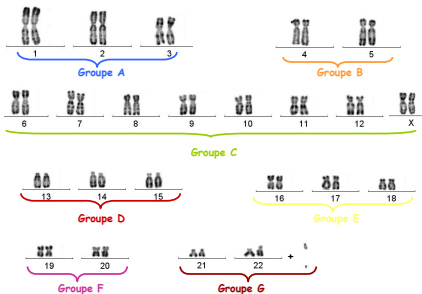
#### 1- Le rangement des chromosomes dans le caryotype

Le caryotype humain normal comprend 46 chromosomes. Ils regroupent les 22 paires d'autosomes qui sont communs aux deux sexes, et qui sont classés de 1 à 22 en fonction de leur taille décroissante. À ces 22 autosomes, on ajoute 2 chromosomes sexuels, ou gonosomes, XY chez l'homme et XX chez la femme. Le caryotype normal masculin est 46, XY et le caryotype normal féminin est 46, XX.

Les chromosomes qui appartiennent à une même paire sont des homologues, et ceux de deux paires différentes sont des hétérologues.

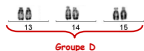


Lors de la réalisation du caryotype, les chromosomes sont répartis en 7 groupes en fonction de leur morphologie



- groupe A (1,2,3) métacentriques grands
  - groupe B (4,5) sub métacentriques grands
  - groupe C (6 à 12 + X) moyens submétacentrique
  - groupe D (13,14,15) acrocentriques moyens/petits
  - groupe E (16,17,18) submétacentriques petits
  - groupe F (19,20) métacentriques petits
  - groupe G (21, 22 + Y) acrocentriques petits, Y n'est pas appelé acrocentrique
- Les chromosomes acrocentriques sont réparties entre les groupes D et G (que 21 et 22)

## Chromosomes acrocentriques



## 2- Le polymorphisme chromosomique

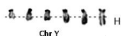
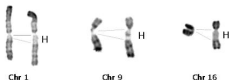
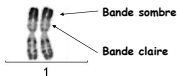


Photo | JM Dupont Atlas Genet Cytogenet Oncol Haematol 2008

H : hétérochromatine

Le nombre et la morphologie générale des chromosomes sont les mêmes pour tous les individus humains. Cependant, les régions d'hétérochromatine peuvent être le site de variations interindividuelles sans conséquences phénotypiques, et transmises selon le mode dominant. Ces polymorphismes chromosomiques portent souvent sur la longueur de l'hétérochromatine des bras longs, des chromosomes 1, 9, 16, et Y et sur les bras courts des acrocentriques. (Au niveau du chromosome Y, partie terminale du chromosome Y sans que ça affecte les individus).

## 3- Les bandes chromosomiques



L'introduction des techniques de marquage en bande des chromosomes a permis d'améliorer la résolution et la sensibilité de l'analyse cytogénétique. Les techniques de marquage en bande des chromosomes reposent sur des techniques biochimiques diverses, qui font intervenir les différents composants du chromosome, à savoir l'ADN, les protéines et la dynamique de condensation de la chromatine. Ces techniques font apparaître sur les chromosomes un profil reproductible de bandes transversales, le long des chromosomes. Chaque paire de chromosome peut être identifiée par cette alternance de bandes claires et de bandes sombres.

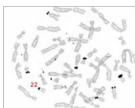
## 4- Les principaux types de marquage en bandes

Marquages en bandes G : Les méthodes qui permettent de révéler les bandes G utilisent soit l'action d'une enzyme protéolytique, soit des conditions douces de dénaturation, suivie d'une coloration par le Giemsa.

Marquages en bandes R (reverse) : Les traitements qui induisent un marquage en bandes R impliquent une dénaturation thermique de l'ADN, suivit d'une coloration par le Giemsa. Le motif en bandes R sombre est l'inverse du motif en bandes G sombres.

☐ Principaux marquages en bandes des chromosomes

- ✓ Bandes G : colorant le giemsa
- ✓ Bandes R (reverse)
- ✓ Bandes C
- ✓ Bandes NOR révélation des organisateurs nucléolaires situés en 13p, 14p, 15p, 21p et 22p



Principales propriétés biochimiques et fonctionnelles de ces bandes :

Les bandes G sont riches en bases A T, elles renferment peu de gènes, elles se condensent précocement en prophase, leur chromatine est hautement condensée et elles se répliquent tardivement pendant la phase S.

Les bandes R présentent une structure chromatiniennne moins condensée, elles se répliquent tôt au cours de la phase S, elles renferment de nombreux gènes, elles sont riches en bases G C, et elles se condensent tardivement en prophase.

Marquages en bandes C : Ce marquage permet de révéler l'hétérochromatine constitutive des régions centromériques, très abondante au niveau des centromères des chromosomes 1, 9 et 16, il permet aussi de révéler l'hétérochromatine constitutive présente au niveau distale du bras long du chromosome Y. Les bras court des chromosomes acrocentriques sont aussi marqués par ce marquage en bandes C, et a part ces régions, le reste des chromatides est faiblement coloré.

Marquage des bandes NOR (révélation des organisateurs nucléolaires) : Elles correspondent aux régions des organisateurs nucléolaires. Ils sont situés sur les bras court des chromosomes 13, 14, 15, 21 et 22. Ils correspondent à des groupes de gènes qui codent pour des ARNr, qui participent a la formation et au maintient des nucléoles dans le noyau interphasique.

Les nucléoles sont composés par la participation de séquences des bras courts de ces chromosomes : la chromatine est donc dynamique, ses structures peuvent se déplier, se regrouper pour former les nucléoles.

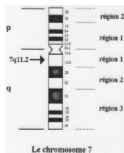
##### 5- La nomenclature internationale

L'alternance des bandes chromosomiques permet de reconnaître individuellement, chacune des 23 paires de chromosomes humains. Les bandes sont donc répertoriées dans une nomenclature internationale. Chaque bras chromosomique est divisé selon sa taille en régions, chaque région est divisée en bandes, numérotées à partir du centromère,

vers le télomère. Chaque bande peut être divisée en sous bandes. L'expression 7q1 1.2 désigne la sous bande 2 de la bande 1, de la région 1, du bras long (q) du chromosome 7.

Le premier chiffre indique le chromosome. La lettre indique le bras chromosomique. Le deuxième chiffre indique une région. Le troisième chiffre indique une bande et si on a un point, on a une sous bande.

#### □ Nomenclature internationale



- ✓ Chaque bras divisé en régions
- ✓ Chaque région divisée en bandes
- ✓ Chaque bande divisée en sous-bandes

Comme la position, la succession, la dimension et l'intensité de chaque bandes sont caractéristiques de chaque chromatides, il est possible de détecter des remaniements qui affectent des segments chromosomiques. Ces remaniements peuvent concerner la perte d'une bande (délétion), le gain d'une bande, ou le transfert d'une bande sur un autre chromosome (translocation). Le marquage en bandes a permis de répertorier les anomalies chromosomiques.

#### IV- Les anomalies chromosomiques

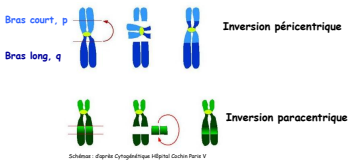
Les anomalies chromosomiques peuvent être présentes dès la naissance, on dit qu'elles sont constitutionnelles. Lorsque les anomalies sont le résultat d'un mécanisme tumoral, elles sont présentes uniquement au niveau des cellules tumorales, et ces anomalies sont dites acquises. Les anomalies chromosomiques sont la conséquence d'un accident survenu soit au cours de la méiose, soit au cours d'une mitose. Elles peuvent impliquer un ou plusieurs chromosomes. Les anomalies chromosomiques sont dites homogènes, quand toutes les cellules examinées portent l'anomalie, et en mosaïque, quand une fraction seulement des cellules est anormale. Les anomalies chromosomiques concernent soit le nombre de chromosomes présents dans les cellules, soit la structure du chromosome.

##### 1- Les anomalies de structure

Ces anomalies de structure sont la conséquence d'un réarrangement du matériel chromosomique. Ces réarrangements peuvent impliquer un ou plusieurs chromosomes

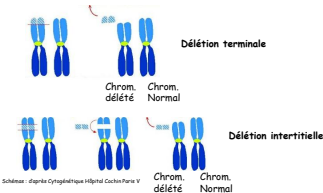
## a- Les anomalies impliquant le seul chromosome

### - Inversion (Inv)



L'inversion résulte de deux cassures sur le chromosome, suivi du recollement après retournement à  $180^\circ$  du segment chromosomique impliqué. Il existe des inversions péracentriques si le segment cassé comporte le centromère, et des inversions paracentriques lorsque la cassure survient sur le même bras chromosomique. Cette anomalie ne peut être détectée que par la modification de l'alternance des bandes chromosomiques.

### - Délétion (Del)



La délétion correspond à la perte d'un segment de chromosome, et il s'agit toujours d'une anomalie déséquilibrée. La délétion est interstitielle quand il y a une perte d'un fragment intermédiaire. La délétion est terminale quand l'extrémité d'un bras chromosomique est concerné.

### - Micro-délétions

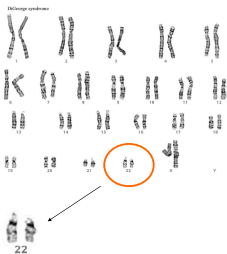
Délétions de petite taille, dont la caractéristique principale est de ne pas être visible sur le caryotype standard, car les pertes de matériel chromosomique concernent au plus une sous bande chromosomique (très petit). Pour les détecter, il faut utiliser des techniques de hautes résolution ou des techniques autres que le caryotype comme l'hybridation in situ en fluorescence qui utilise des sondes moléculaires spécifiques. Certaines régions chromosomiques riches en séquences répétées sont des localisations préférentielles de survenue des micro-délétions. Il existe différents syndromes cliniques qui sont la conséquence de micro-délétions.

Par exemple, le syndrome de Di George, due à une microdélétion sur le chromosome 22 (en 22q 1 1), le segment de chromosome manquant porte des gènes qui interviennent dans le développement du cœur, du cerveau, du thymus et de la glande para-thyroïde. Cette glande para-thyroïde régule le taux de calcium dans le sang. Il est important de souligner que les

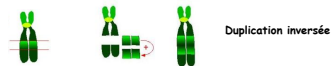
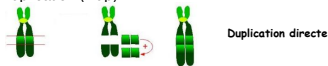
conséquences de cette anomalie génétique sont très variables d'un individu à l'autre. La fréquence de cette micro-délétion est de 1/4000 à 1/6000 naissances. Dans 70% des cas, il s'agit de cas de novo cad survenus accidentellement dans la famille. Dans 10% des cas la micro-délétion est héritée d'un des parents. La micro-délétion 22 q 1 se transmet selon un mode dominant.

☐ Syndrome de Di George

- ✓ Fréquence : 1/4000 -1/6000
- ✓ 90% survenue de novo
- ✓ 10% hérité d'un des parents



- Duplication (Dup)



Schémas : d'après Cytogénétique Hôpital Cochin Paris V

Lors d'une duplication, une région chromosomique est présente en double exemplaire. Cette anomalie est toujours déséquilibrée. La duplication est directe si le fragment dupliqué conserve la même orientation que le fragment d'origine. La duplication est inversée si le fragment dupliqué a une orientation inverse.

Caryotype d'une femme, qui présente sur son chromosome 10 au niveau du bras long, une duplication. Cela rallonge le chromosome 10, on a une anomalie déséquilibrée.

- Chromosome en anneau (R)

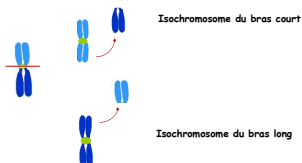


Un tel chromosome résulte d'une cassure sur chacun des deux bras du chromosome, suivi d'une fusion des extrémités libres du bras court et du bras long. Les deux fragments distaux sont perdus, il s'agit donc toujours d'une anomalie déséquilibrée.



Exemple d'un individu féminin : L'individu de sexe féminin présentait des symptômes cliniques qui faisaient penser à un syndrome de Turner. On a une perte du matériel chromosomique d'un des deux chromosomes X.

- Isochromosomes (I)

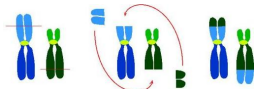


C'est le résultat de la duplication d'un bras chromosomique et de la perte de l'autre bras du même chromosome. Il existe donc des isochromosomes pour le bras court (perte du bras long et duplication du bras court) et des isochromosomes pour le bras long (perte du bras court et duplication du bras long). Anomalie déséquilibrée.

Exemple : on retrouve souvent cela dans les cellules cancéreuses. Iso 17: perte du bras court du chromosome 17, et duplication du bras long.

b- Les anomalies impliquant plusieurs chromosomes

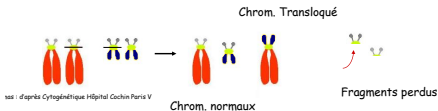
- Translocation réciproque (Trcp)



Elle consiste en un échange de matériel, entre deux chromosomes non homologues, après cassure sur chacun des chromosomes impliqués. Si cet échange s'accompagne d'une perte de matériel génétique, il devient déséquilibré, sinon la translocation est équilibrée. Ce n'est pas parce que l'anomalie est équilibrée d'un point de vue quantité d'ADN que le phénotype sera normal.

Exemple: chromosome 5 et 20 : Translocation réciproque équilibrée. Le bras court du chromosome 20, se met à la place du bras long du chromosome 5 et le bras long du chromosome 5 se met à la place du bras court du chromosome 20.

## - Translocation roberstonnienne (Trob)



Cette translocation implique deux chromosomes acrocentriques (13,14,15,21 et 22). Elle correspond à la fusion de bras longs de deux chromosomes acrocentriques avec perte des bras courts des deux chromosomes impliqués dans la translocation. La perte des bras courts n'a pas d'incidence directe sur le sujet porteur de l'anomalie (car peu de gènes sur le fragment perdu). Mais lors de la formation des gamètes il y a des soucis. Le chromosome transloqué peut générer des gamètes anormaux.

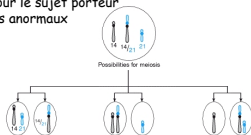
3 chromosomes 21 par translocation roberstonnienne.  
Les anomalies devaient venir de ses deux parents.

## 2- Les conséquences des anomalies de structure

Ces conséquences sont variables en fonction du remaniements considéré. Si le réarrangement ne s'accompagne ni de perte, ni de gain de matériel génétique, le réarrangement est équilibré. Dans le cas contraire, l'anomalie est déséquilibrée. Les conséquences cliniques d'une anomalie de structure déséquilibrée, dépendent en général du nombre, et de l'importance fonctionnelle des gènes impliqués dans le segment chromosomique en excès ou en défaut. Une anomalie de structure équilibrée n'a habituellement pas de traduction clinique pour le sujet porteur, toutefois, cette anomalie peut entraîner une diminution de la fécondité et/ou, induire l'apparition d'une anomalie dans sa descendance, en favorisant les non disjonctions méiotiques.

Ex: translocation roberstonnienne, entre les chromosomes 14 et 21  $t(14;21)$

- ✓ Translocation robertsonnienne  $t(14;21)$   
Pas de conséquence pour le sujet porteur  
Production de gamètes anormaux



En prophase de première division de méiose, au stade pachytène, le chromosome transloqué (14,21), doit s'apparier avec les chromosomes 14 et 21 normaux. Ce qui fait qu'au lieu d'avoir un bivalent, nous avons une association à 4 partenaires. Et en anaphase de première division de méiose, plusieurs gamètes peuvent être produits, on peut avoir des gamètes normaux, des gamètes déséquilibrés avec un chromosome en trop, ou des gamètes déséquilibrés avec un chromosome en moins. En fonction du gamète déséquilibré engagé dans une fécondation, le zygote peut présenter soit une monosomie, soit une trisomie. On dit que la trisomie n'est pas libre car le chromosome surnuméraire est engagé dans une translocation.

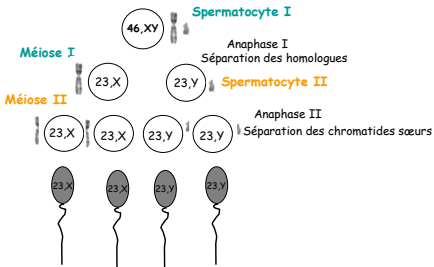
### 3- Les anomalies de nombre

Elles sont aussi appelées aneuploïdies, elles résultent de non disjonctions chromosomiques survenues soit au cours de la gaméto-genèse (anomalie de méiose) soit après fécondation (anomalie de mitose). Selon le moment de survenue, les aneuploïdies réalisent des anomalies homogènes ou des anomalies en mosaïque. Tous les chromosomes peuvent être impliqués dans les aneuploïdies cepdt la plupart sont incompatibles avec la survie de l'oeuf et aboutissent à des FCS. Ainsi seuls un nombre limité d'aneuploidie sont viable.

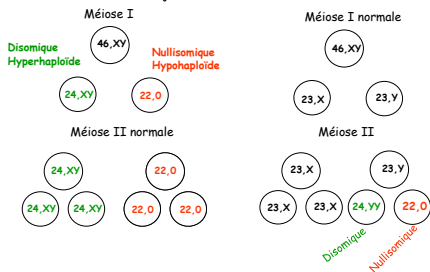
Les non disjonctions de chromosomes au cours de la méiose aboutit à la formation de gamètes paternels et maternels, elles vont être l'origine d'aneuploïdie qui s'expriment chez les enfants. Elles peuvent survenir chez deux méioses. Le nombre de gamètes déséquilibrés dépend du moment de survenue de la non disjonction. Ainsi une non disjonction de 1<sup>ère</sup> division de méiose a pour conséquences que toutes les filles issues de cette lignée sont déséquilibrées et une non disjonction de seconde division de méiose a pour conséquence que seul 50% des cellules filles issues de cette lignée sont déséquilibrées. Le gamète qui possède les deux chromosomes est dit disomique. L'autre gamète qui présente l'absence du chromosome impliqué dans la non-disjonction est dit nullisomique pour ce chromosome.

Dans le cas de la méiose masculine, la non disjonction des chr sexuels au cours de la première division de méiose aboutit à la formation d'un gamète disomique qui possède les deux chromosomes sexuels, il est 24 XY et d'un gamète nullisomique pour les chromosomes sexuels il est 22 O. La non disjonction des chromosomes sexuels au cours de la seconde division de méiose aboutit à la formation d'un gamète disomique qui possède deux exemplaires du même chromosome sexuel. Il peut être soit 24 XX, soit 24 YY. L'autre gamète est nullisomique 22 O.

#### Ségrégation normal des gonosomes dans la méiose masculine

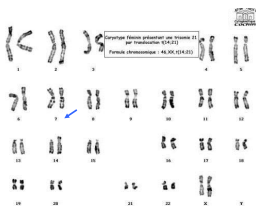
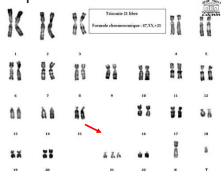


## Non-disjonctions méiose masculine



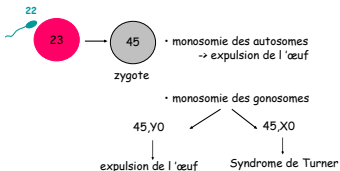
Conséquences des non disjonctions méiotiques : elles conduisent à des monosomies homogènes et à des trisomies libres et homogènes. La trisomie est libre car les 3 chro sont indépendants et homogène car toutes les c de l'organisme possèdent l'anomalie.

### Exemple :



Les monosomies : Au moment de la fécondation un gamète anormal à 22 chromosomes qui s'unie avec un gamète normal à 23 chromosomes donne un zygote à 45 chromosomes porteur d'une monosomie pour le chromosome manquant. Les monosomies concernent aussi bien les autosomes que les gonosomes. Lorsque la monosomie concerne les autosomes, il y a dans la plupart des cas interruption du dév et expulsion de l'oeuf de façon très précoce sans véritable gestation. On parle alors de FCS car la grossesse n'est même pas repérée. Lorsque la monosomie concerne les gonosomes deux cas se présentent : un zygote 45 Y 0 n'est pas viable en conséquence il y a expulsion précoce de l'oeuf. En revanche un zygote 45 X 0 est viable, une poursuite de la gestation est possible, cepdt la plupart des embryons n'arrivent pas à terme. Lorsque la gestation arrive à terme, l'enfant 45 X 0, est un individu de sexe féminin atteint par le syndrome de Turner. Les signes cliniques en rapport direct avec la monosomie apparaissent à l'âge de la puberté.

#### Les monosomies

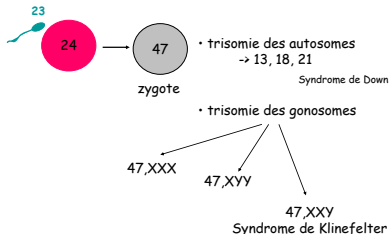


Les trisomies : Au moment de la fécondation si un gamète anormal à 24 chromosomes s'unie avec un gamète normal à 23 chromosomes, le zygote a 47 chromosomes et il est porteur d'une trisomie. L'œuf va se dév, s'implanter, et commencer son embryogenèse. La trisomie peut conserver les autosomes ou les gonosomes. Si la trisomie concerne les autosomes n'importe quelle paire peut être impliquée, toutefois elle aboutit généralement à une FCS, entre le 2<sup>ème</sup> et le 4<sup>ème</sup> mois de grossesse. Seuls les trisomies 13, 18 et 21 peuvent arriver à terme.

La trisomie 21 ou syndrome de Down est la trisomie la moins éliminée et donc la plus fréquente. Son incidence est de 1/650, actuellement en Fr le nombre de conception d'enfants trisomique augmente avec l'âge plus tardif de la maternité. Mais grâce au diagnostic prénatal, il naît moins d'un enfant trisomique 21 pour 1000 naissances. 92% des trisomies 21 sont des trisomies libres et homogènes conséquences de non disjonctions méiotiques.

Si la trisomie concerne les gonosomes, dans tous les cas il y a naissance. Une trisomie 47 XXX donne un ind de sexe féminin, il s'agit de l'anomalie chromosomique féminine la plus fréquente avec une prévalence à la naissance de filles d'environ 1/1000. Une trisomie 47 XYY correspond à un individu de sexe masculin, la fréquence est d'environ 1/1000. Une trisomie 47 XXY appelé aussi syndrome de Klinefelter correspond à un indiv de sexe masculin et la fréquence est environ 1/1000.

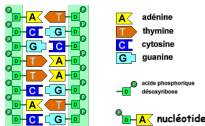
#### Les trisomies



## V- L'hybridation in situ en fluorescence (FISH)

L'hybridation in situ en fluorescence est un moyen d'investigation du contenu cytogénétique des cellules. Elle permet de visualiser des séquences d'acides nucléiques au niveau cellulaire. L'hybridation in situ ADN/ADN repose sur les propriétés d'appariement spécifiques et de dissociation que possèdent deux séquences nucléiques complémentaires et mono brin.

Hybridation *in situ* en fluorescence, FISH

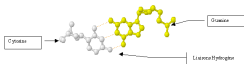


complémentarité de séquences est due aux bases azotées

Adénine - Thymine  
Guanine - Cytosine

La complémentarité des séquences est due aux bases azotées. L'appariement entre les bases azotées est assuré par des liaisons hydrogènes (2 entre A et T, 3 entre C et G).

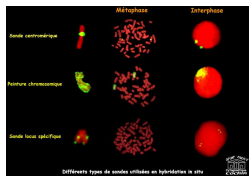
Appariement assuré par les liaisons hydrogènes



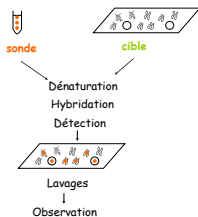
3 liaisons entre C et G  
2 liaisons entre A et T

La rupture des liaisons hydrogènes entraîne la séparation des deux brins, on parle de dénaturation de l'ADN. L'hybridation consiste à appairer, donc à reformer des liaisons hydrogènes entre deux séquences simples brins d'acide nucléiques complémentaires, dans des conditions physico-chimiques précises. Le brin d'ADN dont on connaît une partie de la séquence est appelé sonde, l'autre brin, que l'on souhaite caractériser constitue la cible. Le brin sonde est marqué par couplage chimique avec une molécule pouvant générer un signal. La sonde est un fragment d'ADN. Les sondes sont principalement de 3 types:

- spécifiques d'une séquence répétée sur le chromosome: sonde centromérique et sonde télomérique
- spécifiques d'une région chromosomique : sondes locus spécifiques (elles correspondent à un petit fragment chromosomique).
- spécifiques d'un chromosome entier, ou d'un bras chromosomique : peinture chromosomique

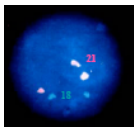


Dans le cas de FISH, la sonde va être modifiée par incorporation de nucléotides fluorescents, la sonde et la cible sont dénaturés, de manière à être monobrin, puis la sonde est hybridée sur sa cible, avant d'être révélée et observée à l'aide d'un microscope équipé en fluorescence. La cible correspond à des chromosomes métaphasique ou à des noyaux de cellules en interphase.



FISH permet sur des chromosomes en métaphase, de déterminer l'origine d'un fragment d'ADN. Elle est utilisée pour visualiser des translocations. Il est aussi possible de faire cette observation directement dans le noyau de la cellule, lorsque celle-ci est en interphase, ainsi la sonde renferme le point de cassure; dans le noyau des cellules normales, deux signaux d'hybridation sont présents, alors que dans le noyau des cellules transloquées, 3 signaux d'hybridation sont observés.

Dépistage par FISH d'une trisomie 21 sur un amniocyte



Dépistage par FISH d'une translocation à l'aide de sondes situées de part et d'autre du point de cassure

noyau d'une cellule normale



chromosomes normaux



noyau d'une cellule transloquée



chromosomes transloqués



L'hybridation in situ en fluorescence est aussi utilisée pour la recherche d'anomalies de nombres. Dans ce cas, il est nécessaire de posséder la sonde spécifique du chromosome ou de la région du chromosome d'intérêt. Par exemple, en diagnostic anté-natal, la recherche d'une trisomie se fait sur des noyaux de cellules prélevées par ponction de liquide amniotique.

Dans le noyau de cellules normales, deux signaux de fluorescence sont détectés alors que dans une cellule trisomique, 3 signaux de fluorescence sont visualisés. Dans la cellule, on voit 3 signaux du chromosome 21. On a un témoin de ploïdie (chromosome 18). Cette technique, comparée au caryotype, permet de visualiser des anomalies que l'on suspect, alors que le caryotype permet de révéler l'ensemble des anomalies présentes dans une cellule. Cependant, FISH permet une analyse plus fine des chromosomes et de leur structure. Les deux techniques sont complémentaires.

Dépistage par FISH d'une translocation à l'aide de sondes situées de part et d'autre du point de cassure

