

LA GÉNÉTIQUE POUR TOUS



- **L'exploration du chromosome : Caryotype, Fish, CGH** Dr Lucile PINSON
Centre de Référence des Anomalies du Développement CHRU de Montpellier

5^{ème} Journée organisée par le Réseau V.A.D.L.R. - Modérateur : Béatrice BOLLAERT

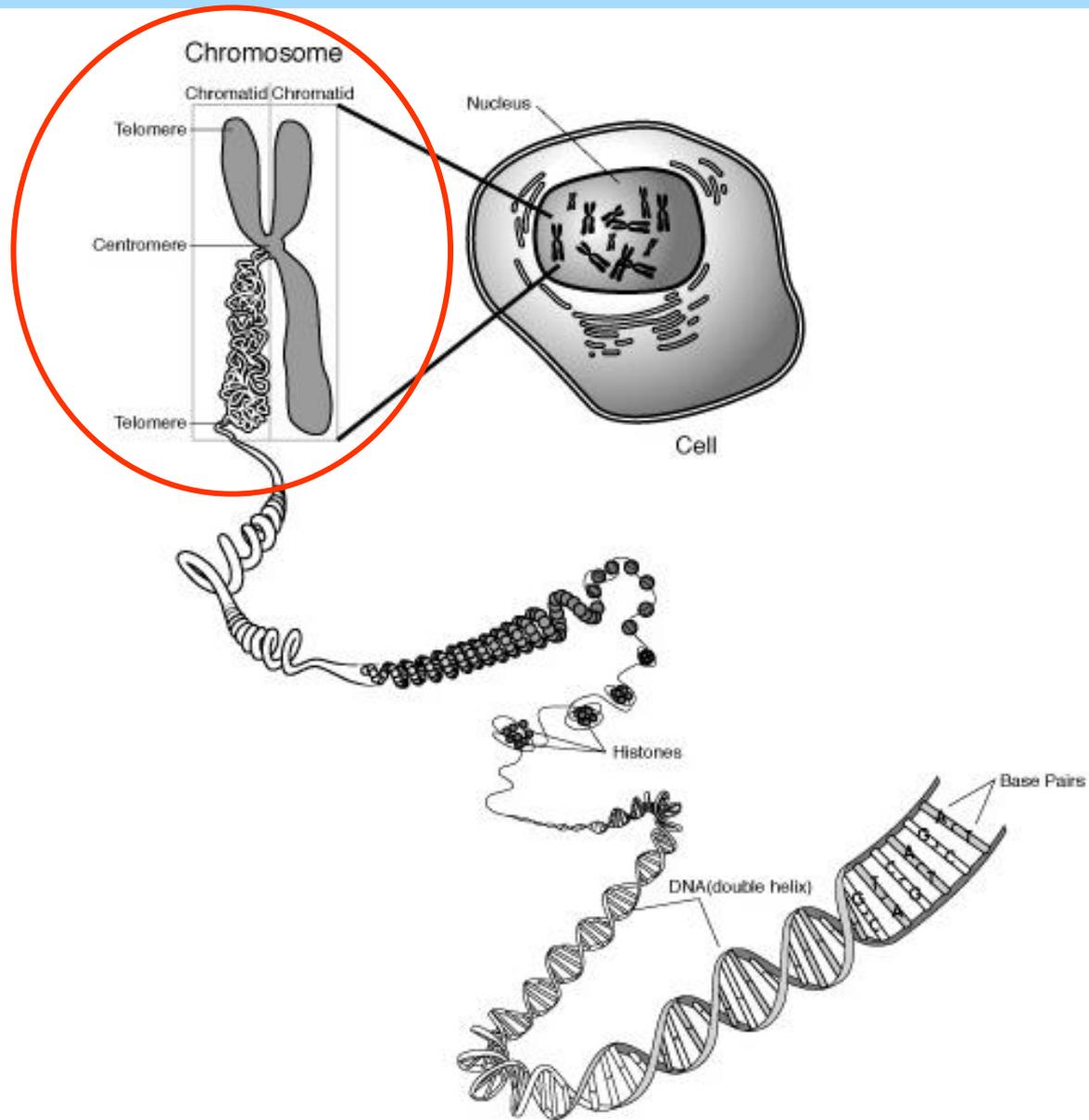


ANOMALIES DU DÉVELOPPEMENT
ET SYNDROMES MALFORMATIFS



CENTRE DE RÉFÉRENCE SUD

Les Supports de l'hérédité :



Les échelles en génétique:

Planète



cellule



Cellulaire

États Unis



chromosome



Chromosomique

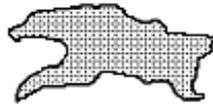
Etat



Fragment de chromosome



Ville



Gène



Moléculaire

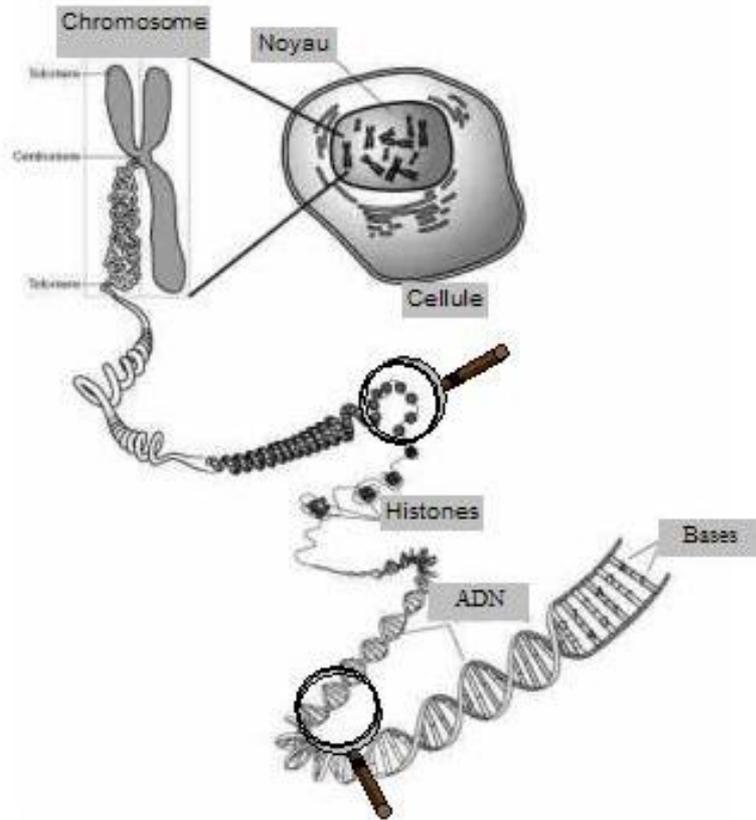
Individu



Paires de nucléotides



Les outils en génétique :



Cytogénétique
conventionnelle

Cytogénétique
moléculaire

Biologie
moléculaire

Les années 60 ...

caryotype

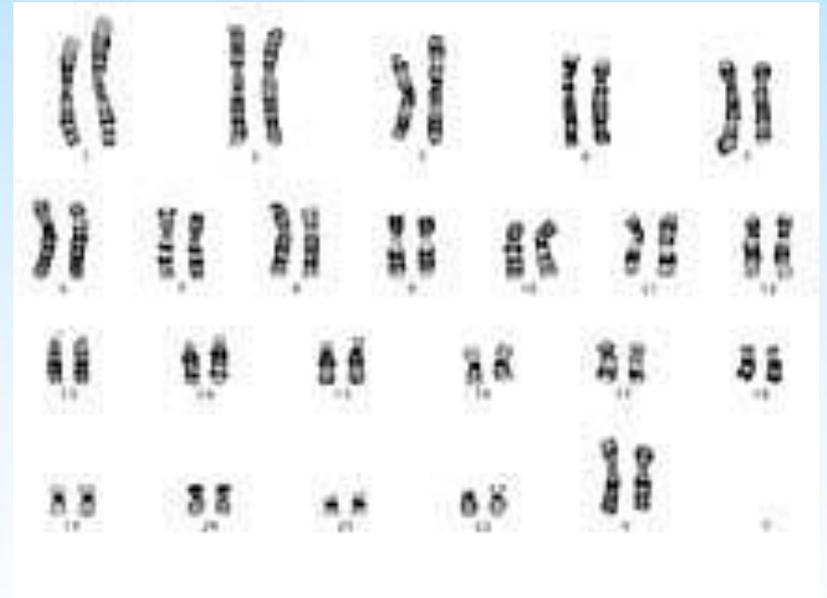
L'exploration du chromosome : le caryotype

Le caryotype : classement **par paire** des chromosomes **en métaphase (division cellulaire)** en fonction de leur taille, de leur indice centromérique et de leur marquage en bande.

Alternance, le long des chromosomes, de **bandes** transversales claires et sombres **spécifiques de chaque paire chromosomique**.



46, XY



46, XX

Traitement d'un prélèvement

MISE EN CULTURE



MISE A L'ETUVE

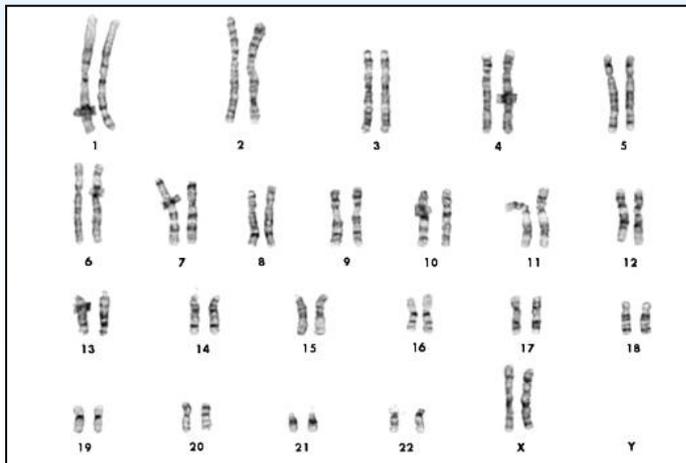


Traitement d'un prélèvement

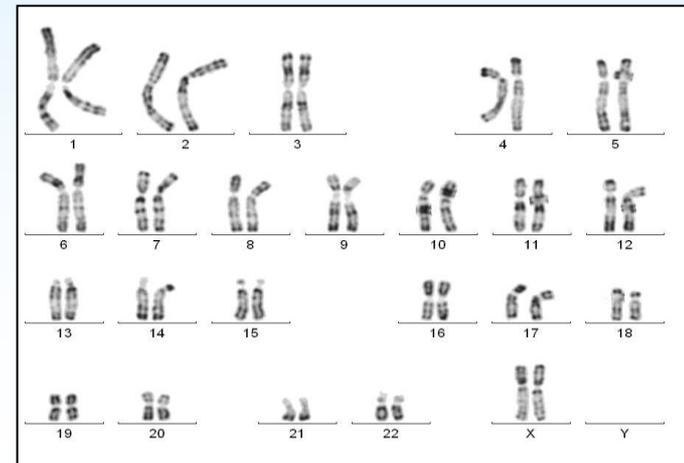
- **Blocage des cellules en mitoses**
Inhibition du passage en anaphase,
Utilisation de Colchicine : poison du fuseau
- **Choc hypotonique**
Gonflement des cellules (KCl)
- **Fixation**
- **Etallement** : éclatement des cellules
- **Coloration Giemsa et banding**



Bandes R

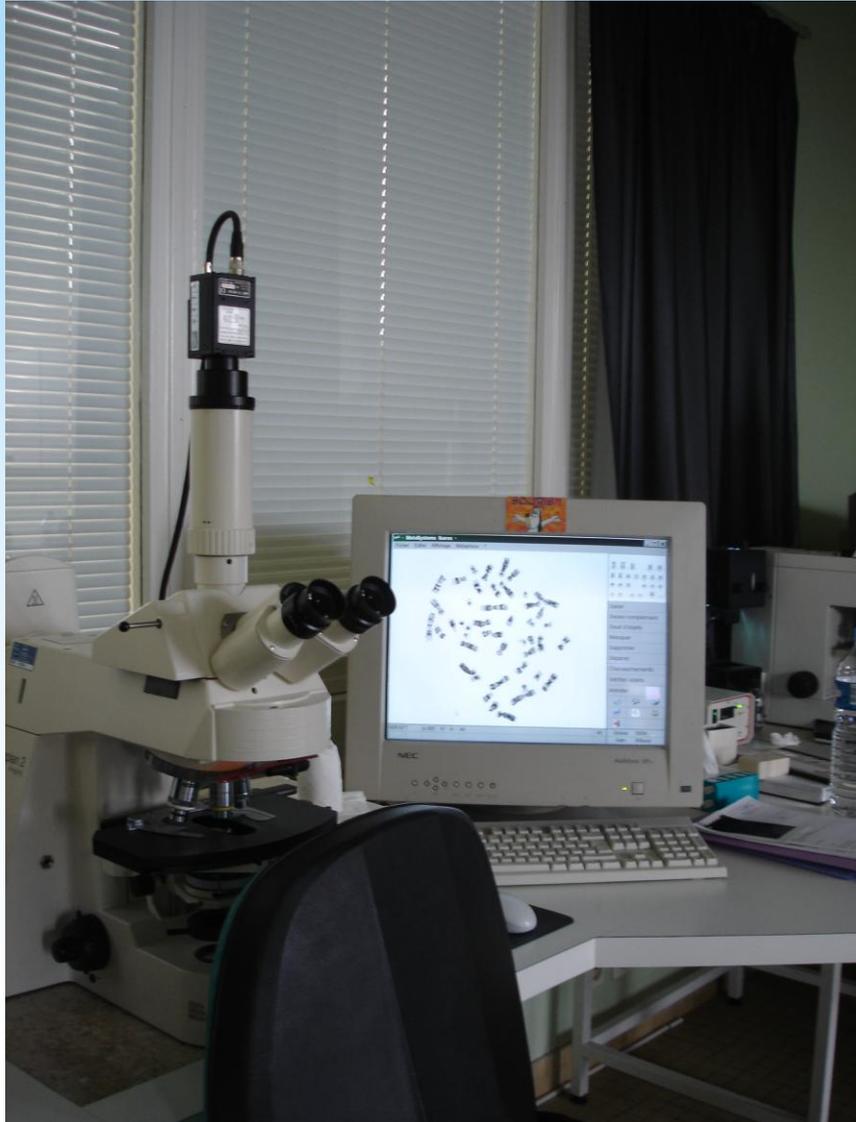


Bandes G



Traitement d'un prélèvement

ANALYSE DES LAMES

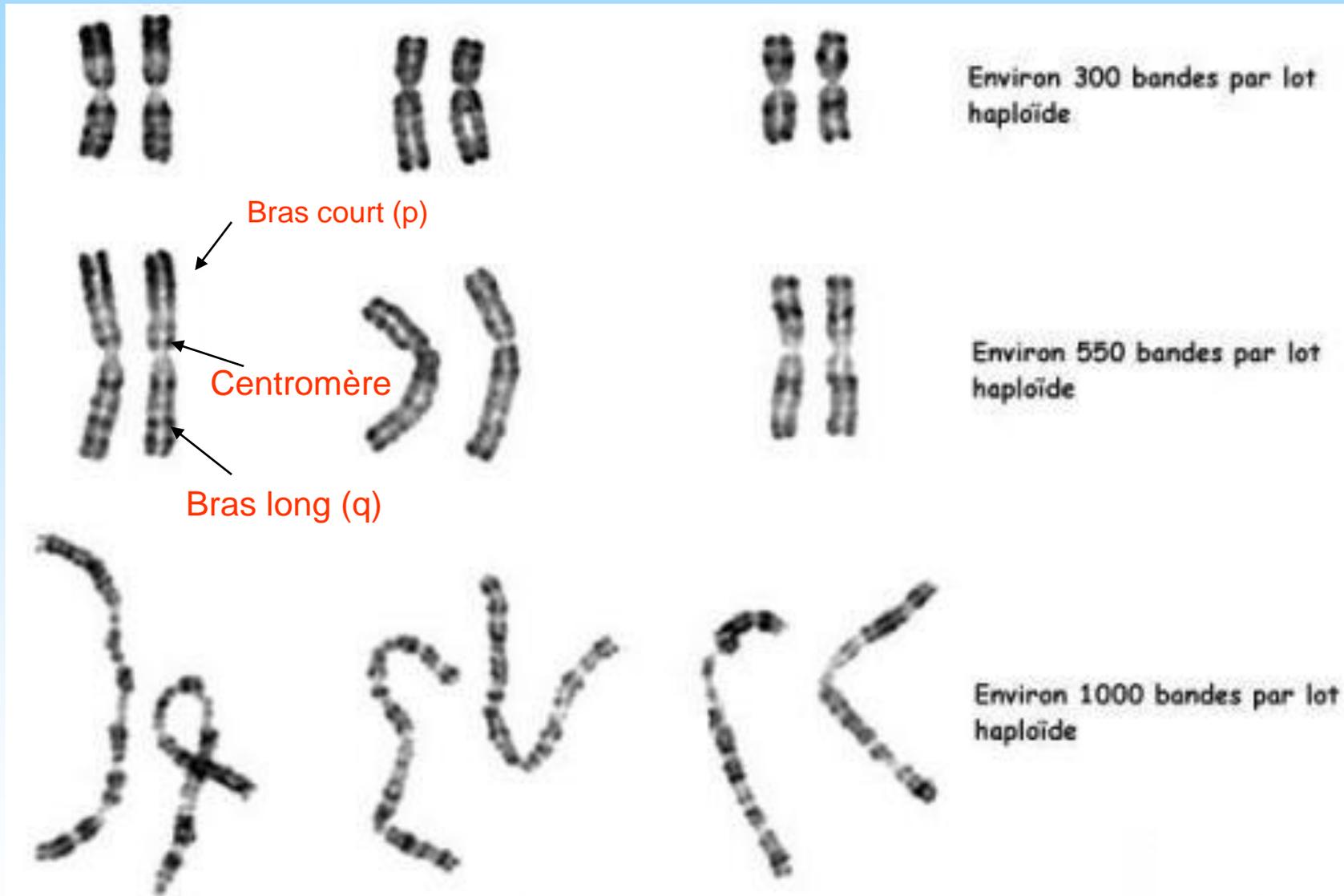


L'exploration du chromosome : le caryotype

- Différentes indications
- Différents tissus
 - Sang, peau, liquide amniotique, villosités chorales ...
- Interprétation du caryotype :
 - le nombre de chromosomes,
 - la structure des chromosomes,
 - le caractère équilibré ou déséquilibré d'un éventuel remaniement,
 - le caractère homogène ou en mosaïque des anomalies,

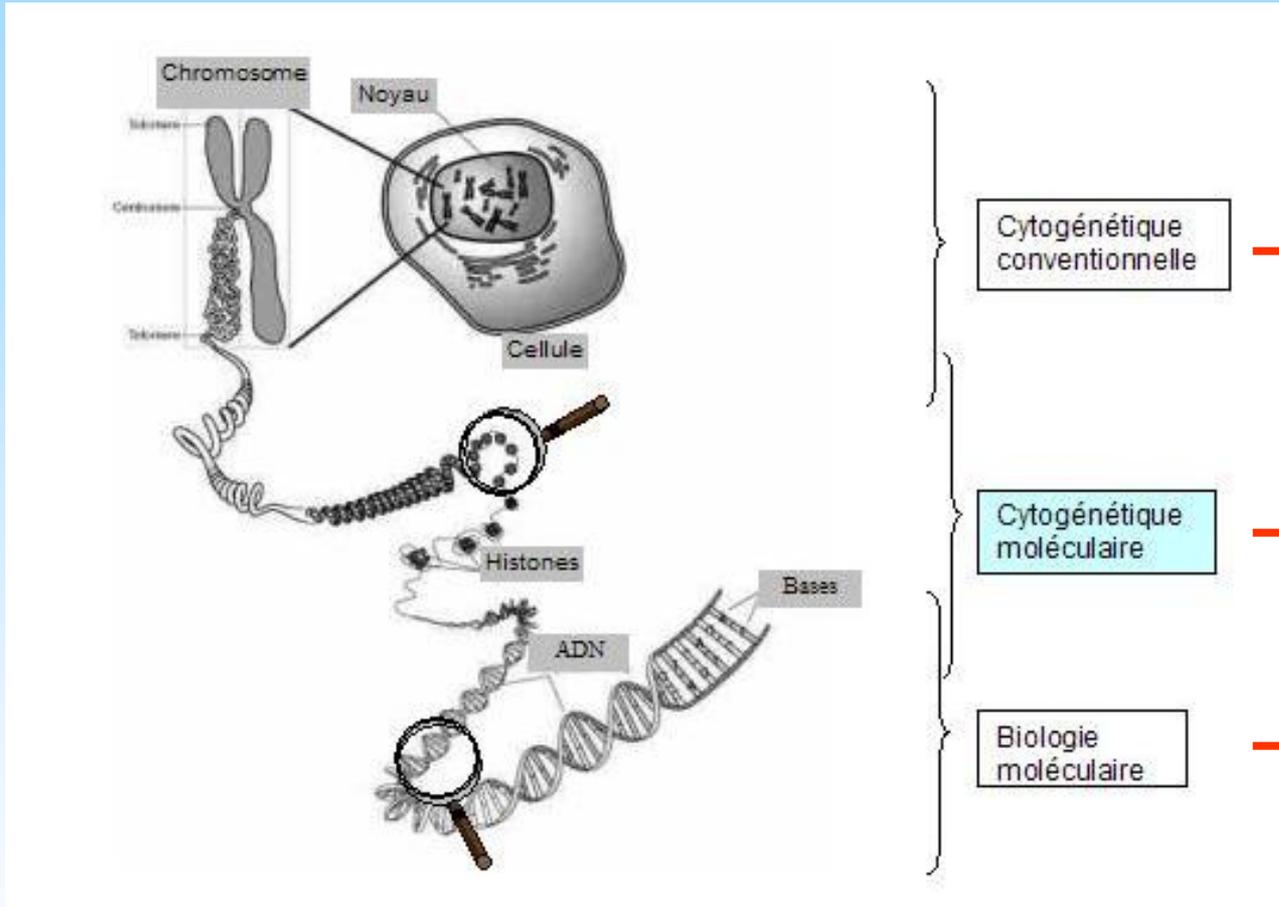
Exploration globale du génome
Degré de résolution variable

Différentes résolutions



Exemple : chromosomes 1, 2 et 3

Les outils en génétique :



Cytogénétique conventionnelle



Les années 60 ...
caryotype

Cytogénétique moléculaire



Les années 90 ...
HIS (FISH)
CGH

Biologie moléculaire



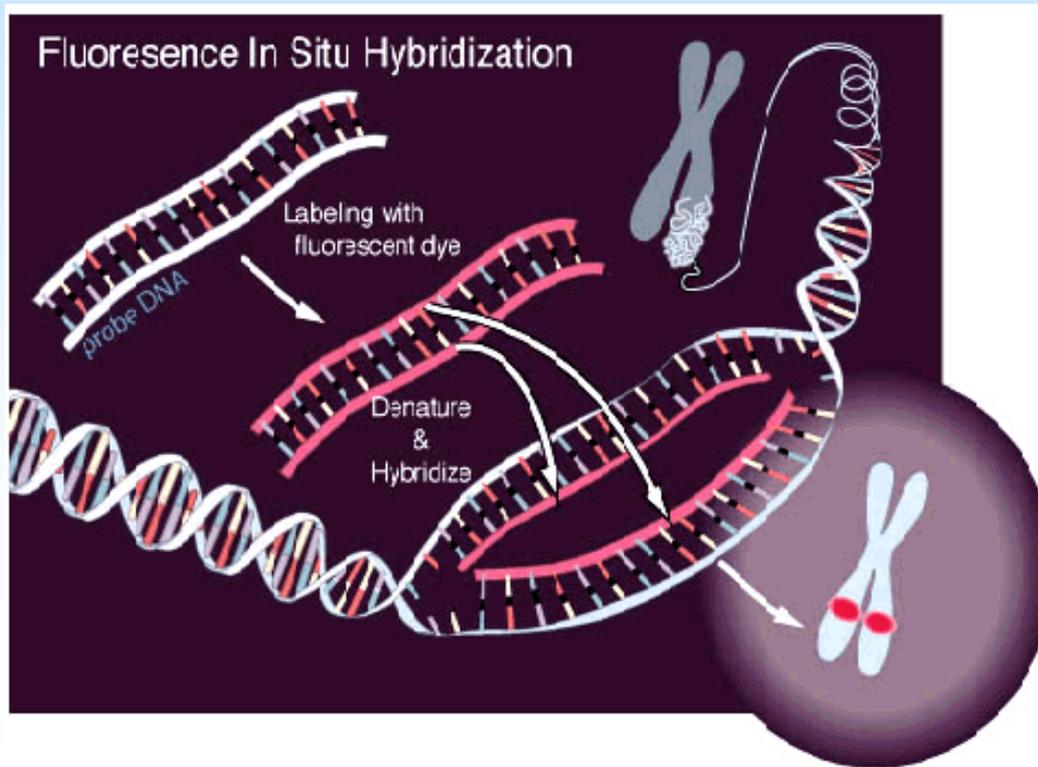
Les années 80 ...
Etude ADN

Les années 2000 ...
Puces à ADN

L'exploration du chromosome : l'hybridation in situ

Technique de FISH (HIS)

- Fondée sur **la propriété de complémentarité des bases nucléotidiques**.
Une sonde dénaturée (ADN simple brin marqué) va **s'hybrider spécifiquement avec sa séquence cible** après dénaturation.
- Les sondes **marquées par des fluorochromes**
- Lecture au microscope à fluorescence grâce à l'utilisation de filtres spécifiques.

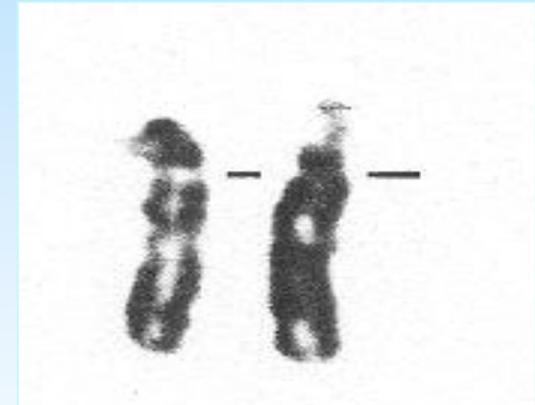


L'exploration du chromosome : l'hybridation in situ ou FISH

BAC RP11 759A24

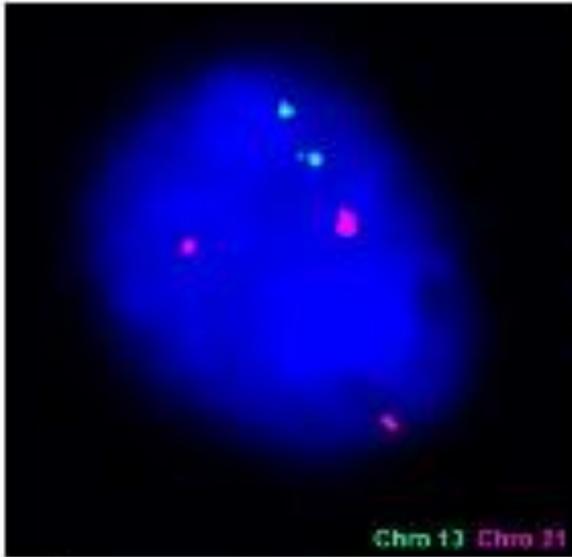
Sonde du
BAC RP 11
759A24

Sonde centromérique du
chromosome 15



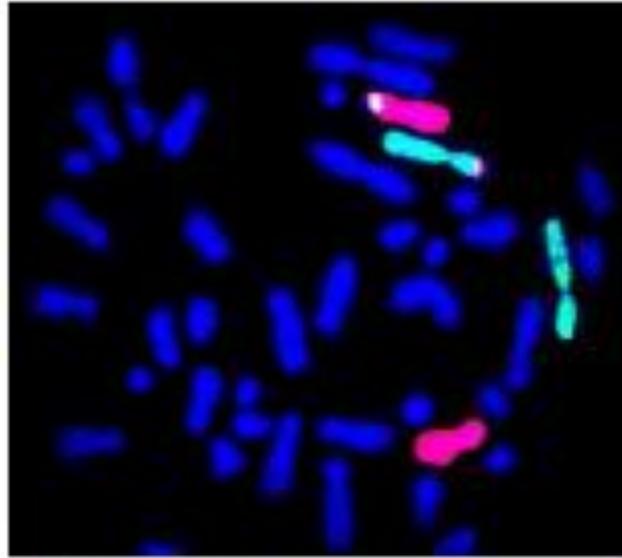
Chromosome 15

L'exploration du chromosome : l'hybridation in situ



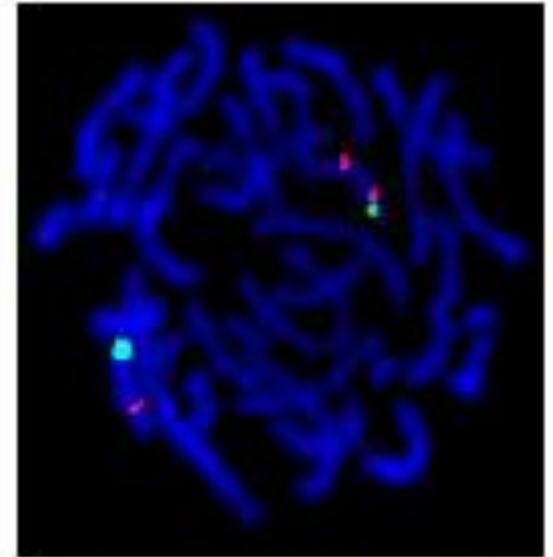
FISH
chromosome spécifique

Compter nombre
chromosomes



FISH
peinture chromosomique

Caractériser
remaniements



FISH
locus spécifique

Micro-remaniements

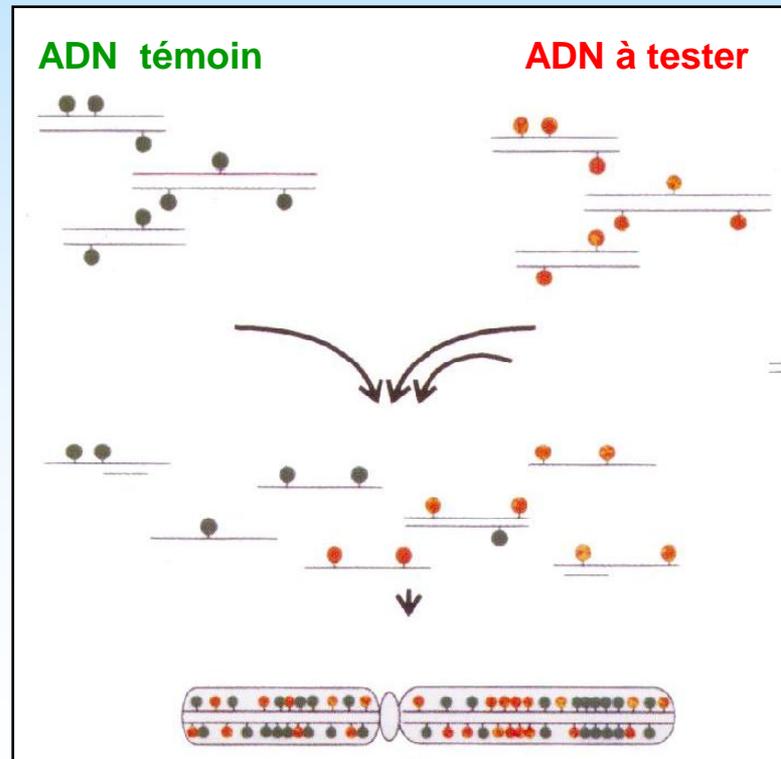
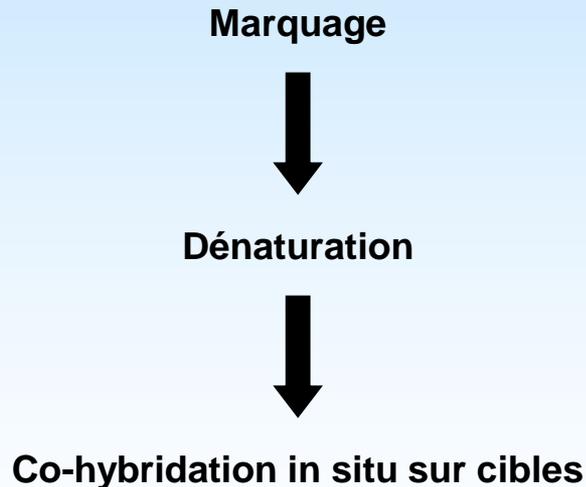
Etude de régions chromosomiques **spécifiques**.
L'HIS est un examen ciblé d'étude du génome.

L'exploration du chromosome : la CGH

- **Principe :**

Technique d'analyse des **déséquilibres chromosomiques**
Détection d'**anomalies quantitatives**

- de chromosomes entiers (gains / pertes)
- de régions chromosomiques (amplifications / délétions)



L'exploration du chromosome : la CGH

- Cibles variables :

Chromosomes entiers (CGH)

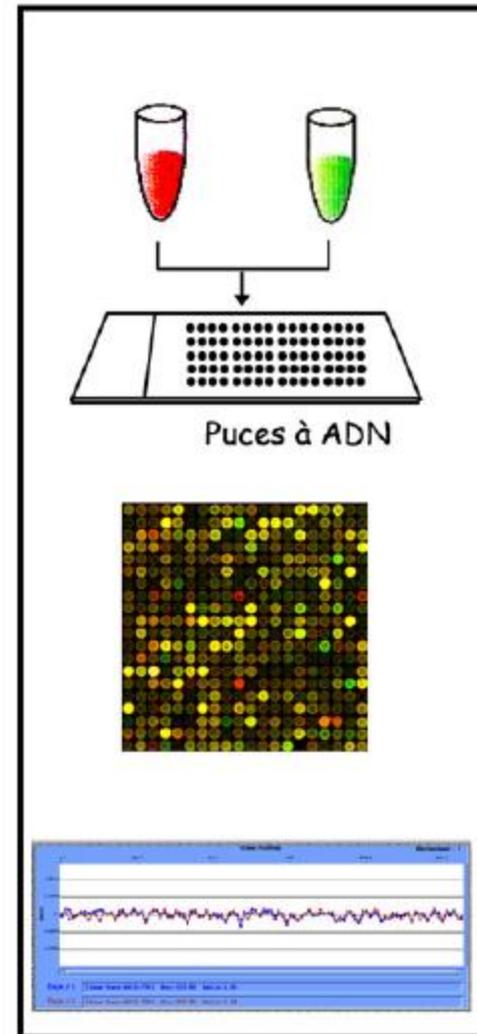
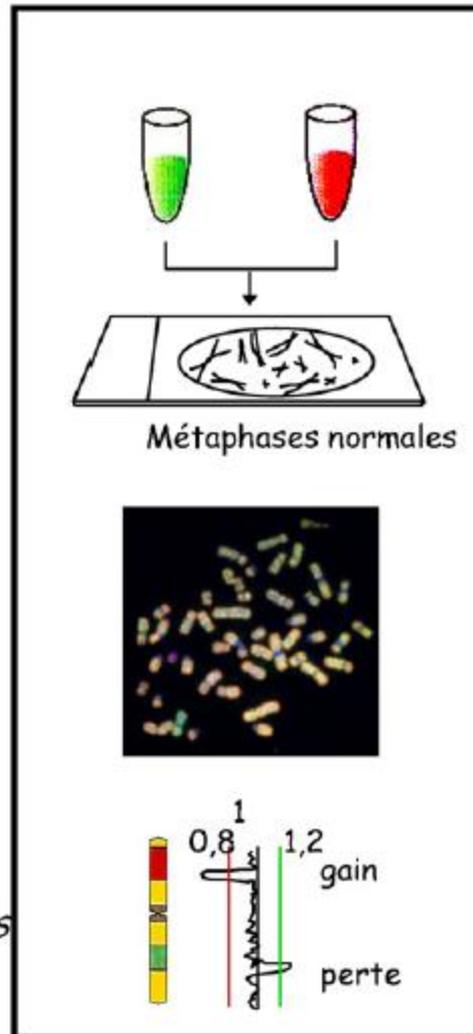
puces (CGH-array)

1) PREPARATION DE L'ADN

2) HYBRIDATION

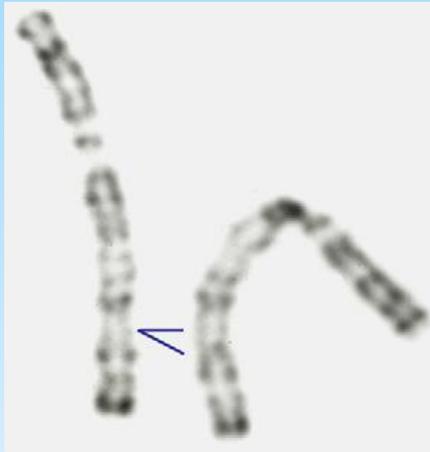
3) ACQUISITION
DES SIGNAUX
D'HYBRIDATION

4) ANALYSE DES DONNÉES



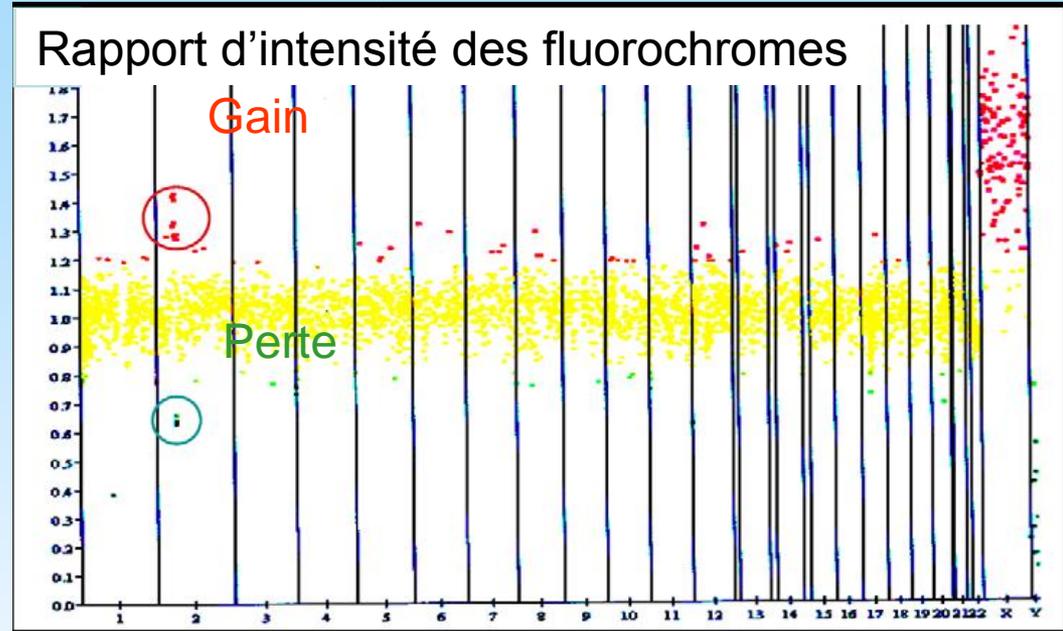
L'exploration du chromosome : méthodes complémentaires

Caryotype



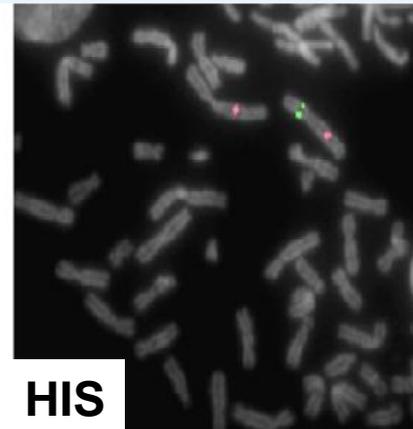
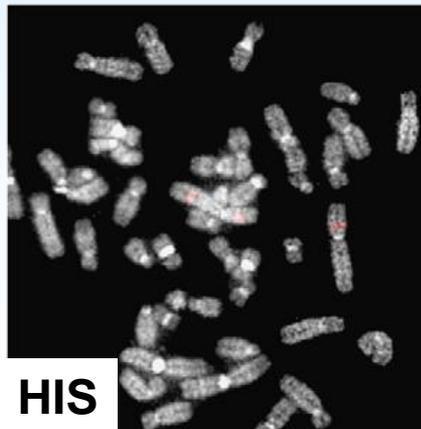
Insertion

Puce à ADN



3 spots

Hybridation in situ



1 spot

LA GÉNÉTIQUE POUR TOUS



● L'exploration du chromosome : Caryotype, Fish, CGH Dr Lucile PINSON
Centre de Référence des Anomalies du Développement CHRU de Montpellier

Merci de votre attention

A vos questions ...



ANOMALIES DU DÉVELOPPEMENT
ET SYNDROMES MALFORMATIFS

