

## Caryotype

### I- Définition du caryotype :

- Le terme de caryotype désigne la représentation photographique des chromosomes d'une cellule.
- Le caryotype humain normal comporte 46 chromosomes, dont 22 paires d'autosomes et une paire de gonosomes appelés chromosomes sexuels notés XX chez la femme et XY chez l'homme.
- L'étude du caryotype correspond au dénombrement et à l'identification de tous les chromosomes d'une cellule en métaphase ou en prométaphase. Il permet aussi de dépister d'éventuelles anomalies chromosomiques de nombre et structure.

### II- Technique de réalisation d'un caryotype :

#### A- Technique conventionnelle : (cellules en métaphase)

**1- Prélèvement :** se fait à partir de plusieurs types cellulaires : les lymphocytes, les fibroblastes, les cellules amniotiques, les villosités choriales et du sang fœtal. Le prélèvement peut se faire au niveau de la moelle osseuse et du tissu tumoral.

**2- Cultures cellulaires :** le milieu de culture doit être stérile (antibiotiques + antifungiques), enrichi en sels minéraux, glucose, acides aminés, en CO<sub>2</sub>. Le pH compris entre 7.2 et 7.4 et une température stable de 37°C. On rajoute à ce milieu la phytohémagglutinine ou PHA (stimulation des divisions cellulaires). Le temps de culture est variable en fonction du prélèvement, en moyenne 72 heures à l'étuve.

**3- Arrêt de la culture :** grâce à un agent qui bloque le fuseau mitotique : la colchicine qui permet de bloquer les cellules en métaphase.

**4- Choc hypotonique :** (KCl ou MgCl<sub>2</sub>) permet la dispersion des chromosomes, qui est indispensable à l'obtention d'un étalement correct des chromosomes.

**5- Fixation des préparations métaphasiques :** grâce à un mélange éthanol/acide acétique on obtient un culot de cellules.

**6- Etalement des préparations chromosomiques sur lame :** se fait dans une enceinte thermostable, l'étalement a pour but d'obtenir des chromosomes métaphases bien séparés.

**7- Technique de coloration des chromosomes métaphasiques :**

a/**Coloration de routine:** c'est la coloration au Giemsa qui permet de compter les chromosomes et leur classement en fonction de leur taille et la position du centromère.

b/ **Coloration spéciale: techniques de marquage des chromosomes:** c'est l'individualisation de chaque chromosome par bandes, ces méthodes permettent de visualiser 300 à 500 bandes par lot haploïde de chromosomes.

- **Les bandes G :** coloration au Giemsa après dénaturation des protéines chromosomiques à la trypsine. Les bandes intensément colorées (régions riches en Adénine et Thymine) /bandes faiblement colorées.

**Avantage :** technique rapide

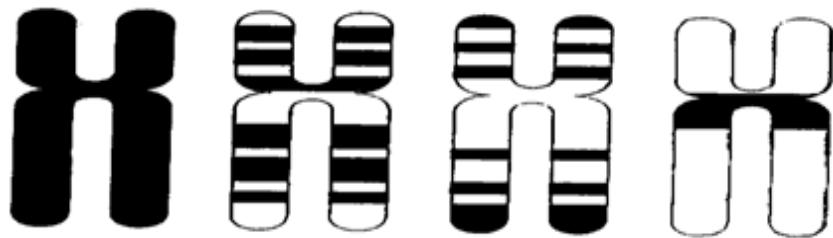
**Inconvénients :** les télomères apparaissent peu colorés.

- **Les bandes R :** coloration au Giemsa après dénaturation thermique, montre une distribution inverse des bandes G (d'où le nom de reverse R), elle colore ainsi les régions riches en Cytosine et Guanine.

**Avantage :** les télomères sont bien colorés

**Inconvénients :** technique longue et dépendante de nombreux paramètres.

- **Les bandes C :** colore spécifiquement certaines régions des chromosomes notamment le centromère et les constrictions secondaires.
- **La coloration NOR :** colore spécifiquement certaines régions des chromosomes notamment organisateurs nucléolaires (constriction secondaire des chromosomes acrocentriques) par imprégnation argentique.



Technique de routine

les Bandes G

les Bandes R

les Bandes C

### B- Technique de haute résolution : (cellules en prométaphase)

Réalisée sur des chromosomiques en prométaphase (despiralisés ou moins condensés), par l'incorporation d'analogues de bases (bromodésoxyuridine ou BrdU) qui modifie les propriétés tinctoriales des bandes. Cette technique permet la visualisation de plus de 1000 bandes par lot haploïde de chromosomes (recherche de microdélétion).

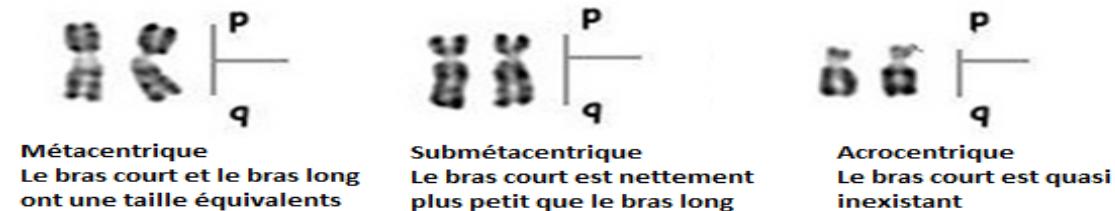
### III- Observation au microscope :

Visualisation des lames au microscope optique connecté à un microordinateur équipé d'un logiciel de saisie d'image et d'un logiciel d'analyse des chromosomes.

### IV- Classement des chromosomes :

Caryotype humain : comprend 46 chromosomes (femme : 46, XX homme : 46, XY)

#### 1- En fonction de l'indice centromérique :



2- En Fonction de la taille des chromosomes : en tenant compte de la taille des chromosomes, du nombre et de la répartition des bandes spécifique et sous bandes à chaque paire chromosomique. Ils sont classés selon la Nomenclature internationale ISCN (international system for human cytogenetic nomenclature)

Groupe A : 1, 2, 3.

Groupe B : 4, 5.

Groupe C : 6 à 12, X.

Groupe D : 13, 14, 15.

Groupe E : 16, 17, 18.

Groupe F : 19, 20.

Groupe G : 21, 22.

**V- Indication du caryotype :**

**1/chez le nouveau-né :**

- Nouveau-né mort-né ou décédant à la naissance.
- Nouveau-né vivant présentant un tableau clinique évocateur d'une aberration chromosomique.
- Nouveau-né vivant présentant un tableau malformatif ou dysmorphique atypique.

**2/ chez l'enfant :**

- Chez le garçon : handicap mental moyen ou profond. Chez la fille : retard de croissance.

**3/ chez l'adolescent :**

- Anomalies de la puberté.

**4/ chez l'adulte :**

- Naissance d'un enfant présentant une anomalie chromosomique, fausses couches spontanées à répétition, stérilité masculine et ménopause précoce.

**5/ Pour certains cancers.**

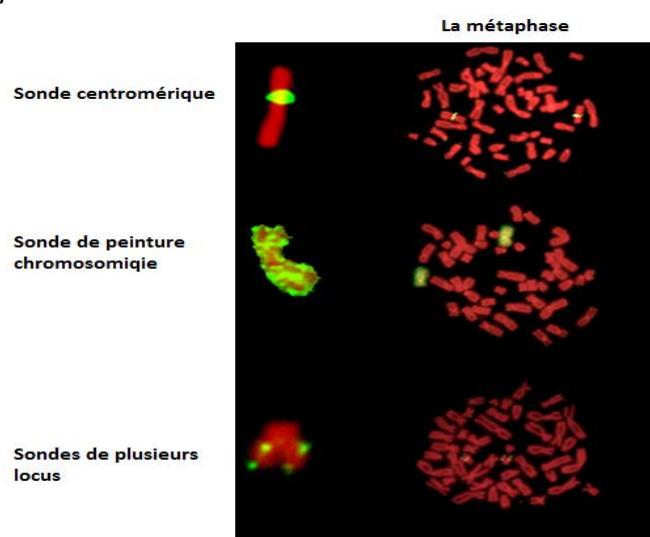
**VI- La cytogénétique moléculaire :**

La cytogénétique moléculaire regroupe un certain nombre de techniques dont la plus connue est l'hybridation in situ révélée par fluorescence.

**A- L'hybridation in situ fluorescente (FISH) :**

Son principe repose sur la propriété de l'ADN (se dénaturer). En pratique, on utilise un ou des fragments d'ADN dans lesquels ont été introduits chimiquement un ou plusieurs fluorochromes « marquage ». Ce fragment d'ADN « marqué », appelé alors sonde, est dénaturé puis hybridé sur des préparations de chromosomes ou noyaux eux même préalablement dénaturés. L'ensemble est mis à hybrider à 37 °C durant 1 heure à 3 jours selon les sondes utilisées. Pour l'observation on utilise un microscope à épifluorescence. On peut analyser :

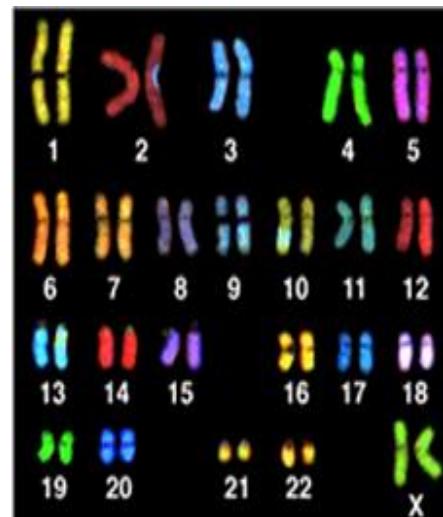
- Un locus chromosomique spécifique : sondes spécifiques centromériques ou téloïmériques.
- L'ensemble d'une paire chromosomique : sonde de peinture chromosomique
- L'hybridation concomitante de plusieurs sondes marquées avec des fluorochromes différents permet d'étudier plusieurs locus. ou chromosomes.



**Différents types de sondes utilisées en hybridation in situ**

**B- Le caryotype en multifluorescence :**

- Speicher et al (1996) ont été capables d'établir un caryotype en multifluorescence en classant des chromosomes d'après leur fluorescence spécifique.
- Deux méthodes sont utilisées, le caryotype multiplex (MFISH) et l'analyse spectrale (SKY). Leur principe repose sur la cohybridation simultanée de sondes de peinture chromosomiques spécifiques de chacun des 24 chromosomes (22 autosomes et les chromosomes X et Y).
- Les chromosomes sont classés sur la base de leur fluorescence spécifique. On obtient alors un caryotype en multifluorescence.



**VII- Etude cytogénétique du noyau en interphase :**

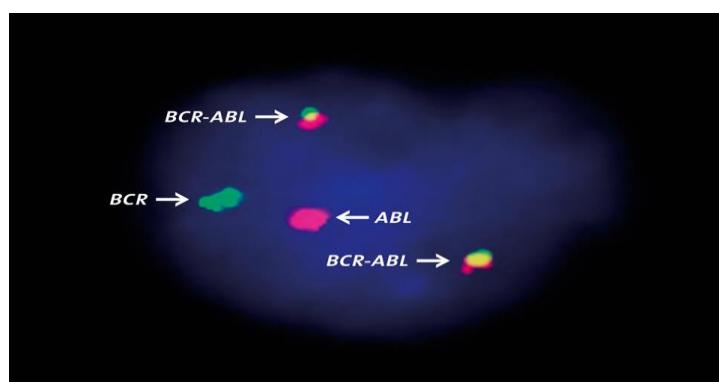
C'est l'étude de la répartition de la chromatine dans le noyau interphasique :

**Exemple : corpuscule de Barr** : c'est une petite masse d'hétérochromatine triangulaire plaquée contre la face interne de la membrane nucléaire. On le recherche dans le syndrome de Turner, klinefelter, ambiguïté sexuelle.



➤ **La FISH interphasique**

La FISH interphasique est une technique qui s'est rapidement imposée. Les sondes sont associées aux cancers.



Translocation BCR/ABL  
Dans la leucémie  
myéloïde chronique par la  
technique de FISH  
interphasique

## Bibliographie

- 1-** Cabry R, Jedraszak G, Scheffler F, et al. Une indication de préservation de fertilité en mosaïque.... Morphologie. 2016;100(330):174. doi:10.1016/j.morpho.2016.07.032
- 2-** Dupont JM. Organisation de la chromatine au sein du noyau interphasique : l'art du rangement fonctionnel. Morphologie. 2004;88(282):127-134. doi:10.1016/S1286-0115(04)98135-0
- 3-** Griffiths, Anthony.J.F.Miller, Jefferey. H. SUZUKI, DAVIDT. 3éd.Introduction à l'analyse génétiqu. Paris: de boeck; 2002,
- 4-** Pelluard-Nehme F, Dupont T, Turmo M, Merlio J-P, Belaud-Rotureau M-A. Application de la technique de FISH interphasique avec des sondes encadrantes dites de «split» à différents types de préparations histologiques et cytologiques. Morphologie. 2007;91(292):52-60. doi:10.1016/j.morpho.2007.03.002
- 5-** Pescia G, Fokstuen S, Thonney F. Applications de l'hybridation in situ fluorescente (FISH) dans le diagnostic prénatal. In: Hochuli E, ed. Verhandlungen der Schweizerischen Gesellschaft für Gynäkologie und Geburtshilfe: Jahresversammlung Lausanne, 29 Juni–2. Juli 1994. Archives of Gynecology and Obstetrics. Springer; 1994:367-371. doi:10.1007/978-3-662-37814-4\_24