

Cytogénétique en hématologie biologique



*Vous avez quitté la plateforme de France Université Numérique.
Aucune donnée personnelle ne sera récupérée.*

Pour démarrer cette séquence, veuillez cliquer sur "Ecran suivant" ➤

Certaines diapositives facultatives sont signalées par une croix orange :
leur contenu est un peu plus complexe et ne sera pas au programme des évaluations.



Cytogénétique en hématologie biologique



Bienvenue !

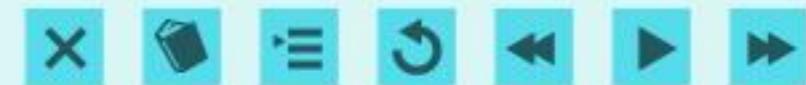


Cytogénétique en hématologie biologique

Docteur Alexis Talbot
Hématologue
Hôpital Saint Louis
Université Paris Diderot
Avec l'aide du Docteur Stéphanie Mathis
Hémato-biologiste
Hôpital Saint Louis
Université Paris Diderot

Cliquez sur le bouton "Ecran suivant" pour continuer votre formation

Cytogénétique en hématologie biologique



Objectif du module

1

A l'issue de ce module, vous serez capable de comprendre comment la cytogénétique intervient dans l'hématologie biologique



La durée de votre formation est estimée à 10 minutes

Cliquez sur le bouton "Ecran suivant" pour continuer votre formation

L'étude cytogénétique

Définition de l'étude cytogénétique :



Étude morphologique du matériel chromosomique se présentant sous la forme de chromosomes dans les cellules.

L'étude du **caryotype** correspond au dénombrement et à l'identification de tous les chromosomes cellules en métaphase : identification des anomalies de **nombre** et anomalies de **structure**.

Technique de l'étude cytogénétique:

Technique de cytogénétique conventionnelle : réalisation du caryotype (vision globale de l'ensemble des chromosomes)

Technique de cytogénétique moléculaire : techniques d'hybridation *in situ* en fluorescence (technique ciblée) : analyse ciblée sur un gène donné

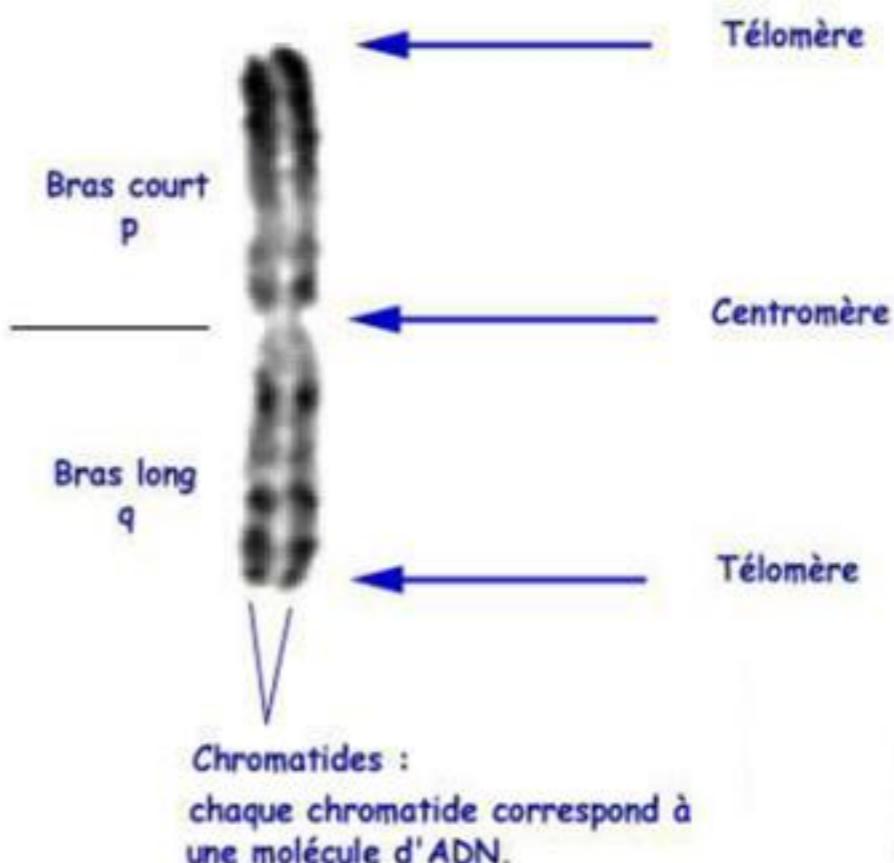
Cliquez sur le bouton "Ecran suivant" pour continuer votre formation

Qu'est ce qu'un chromosome?



- Chromosome constitué d'une molécule d'ADN associée à de nombreuses protéines
- Les chromosomes servent de support à l'information génétique
- Nombre de chromosomes par cellule caractéristique d'une espèce :
 - chez l'homme **46 chromosomes** (2 jeux **haploïdes** de 23 chromosomes)

Aspect morphologique d'un chromosome métaphasique



- Chromosomes visibles pendant une courte période du cycle cellulaire : **division en métaphase**
- Toutes les techniques visent à obtenir un maximum de cellules bloquées à ce stade de métaphase



Prélèvements en hématologie

- Moelle osseuse
- Sang
- Tissu tumoral ou ganglionnaire

Cultures cellulaires



- Stérilité +++ (hotte)
- **Milieu de culture stérile** : milieu synthétique enrichi en sels minéraux, glucose et acides aminés, des antibiotiques, auquel on additionne du sérum de veau fœtal
- Temps de culture variable en fonction du type cellulaire et de la quantité de matériel biologique



Sources : Hôpital Saint-Louis

Cliquez sur le bouton "Ecran suivant" pour continuer votre formation

Sang et moelle : hémopathies malignes



Numérisation cellulaire



Mise en culture en Falcon
+/- mitogènes en fonction
des différentes
pathologies plus
prolifératives
spontanément



Mise en étuve à 37°C

Cliquez sur le bouton "Suite" pour continuer cet écran.

Comment obtenir les chromosomes à partir de cette culture ?



Source : Hôpital Saint-Louis



1

Arrêt de la culture

Agent bloquant du fuseau mitotique (colchicine) permet de bloquer les cellules en métaphase

2

Choc hypotonique

Indispensable à l'obtention d'un étalement correct des chromosomes (KCl) éclatement des membranes cellulaires et dispersion des chromosomes

3

Fixation des préparations métaphasiques

Fixation avec un mélange méthanol/acide acétique pour obtenir un **culot de cellules fixées** que l'on remettra en suspension pour l'étape suivante : étalement sur lame



Cliquez sur suite pour découvrir l'étape suivante





L'étalement a pour but d'obtenir des métaphases avec

des chromosomes **bien séparés et non réfringents**

→ Faire tomber une ou 2 gouttes de suspension cellulaire sur une lame



→ Etape dépendantes des conditions atmosphériques
enceinte thermostable



Sources : Hôpital Saint-Louis



Bandes R ou G

R : Coloration au Giemsa des lames après **dénaturation thermique** en milieu salin à pH déterminé

G: Coloration au Giemsa après **dénaturation à la trypsine**



Bandes R

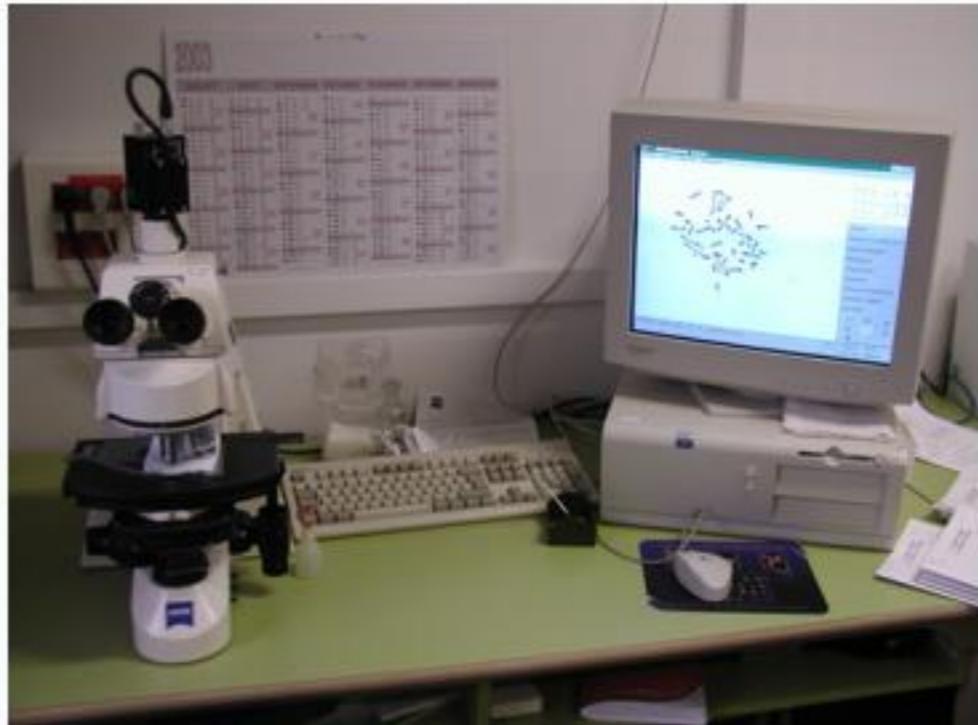
Sources : Hôpital Saint-Louis



Bandes G

Observation au microscope

- Visualisation des lames au microscope optique
- 20 métaphases au moins sont saisies et analysées dans une logiciel d'analyse de caryotype



Sources : Hôpital Saint-Louis

Cliquez sur le bouton "Ecran suivant" pour continuer votre formation

Classement du caryotype



Caryotype humain : 46 chromosomes

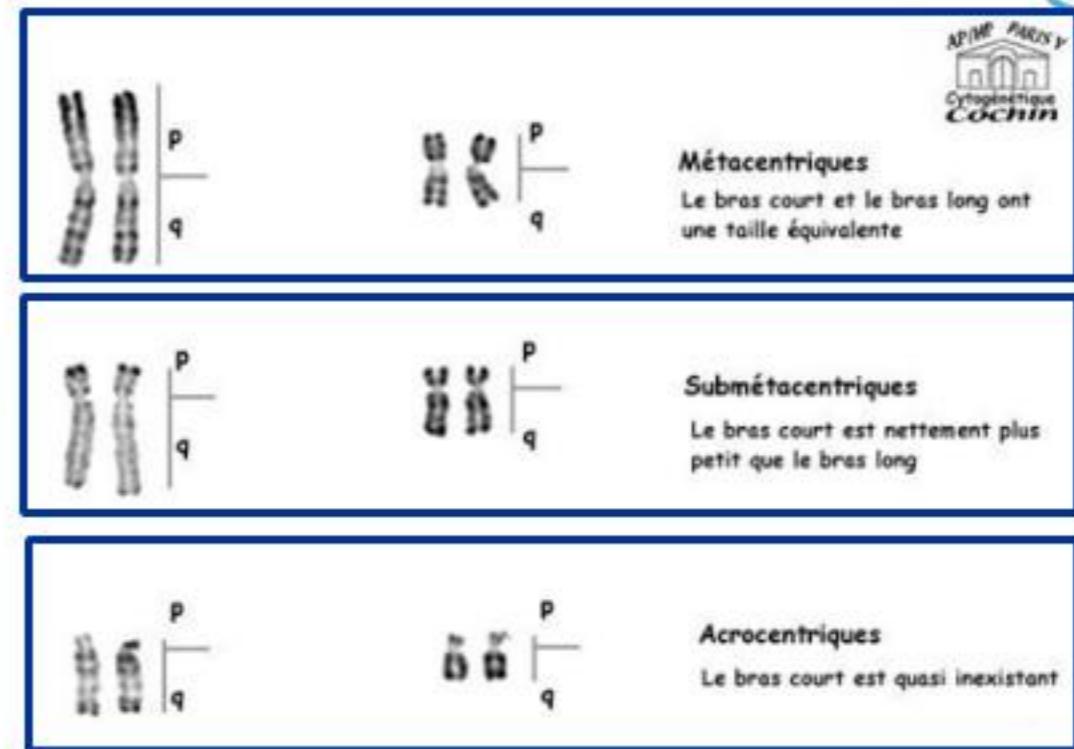


- Autosomes : 1 au 22
- Gonosomes : X et Y
 - femme : 46,XX
 - homme : 46,XY

- Index centromérique rapport $p/(p+q)$



- Reconnaissance après marquage de chaque chromosome dont le nombre et la répartition des bandes sont spécifiques à chaque paire chromosomique



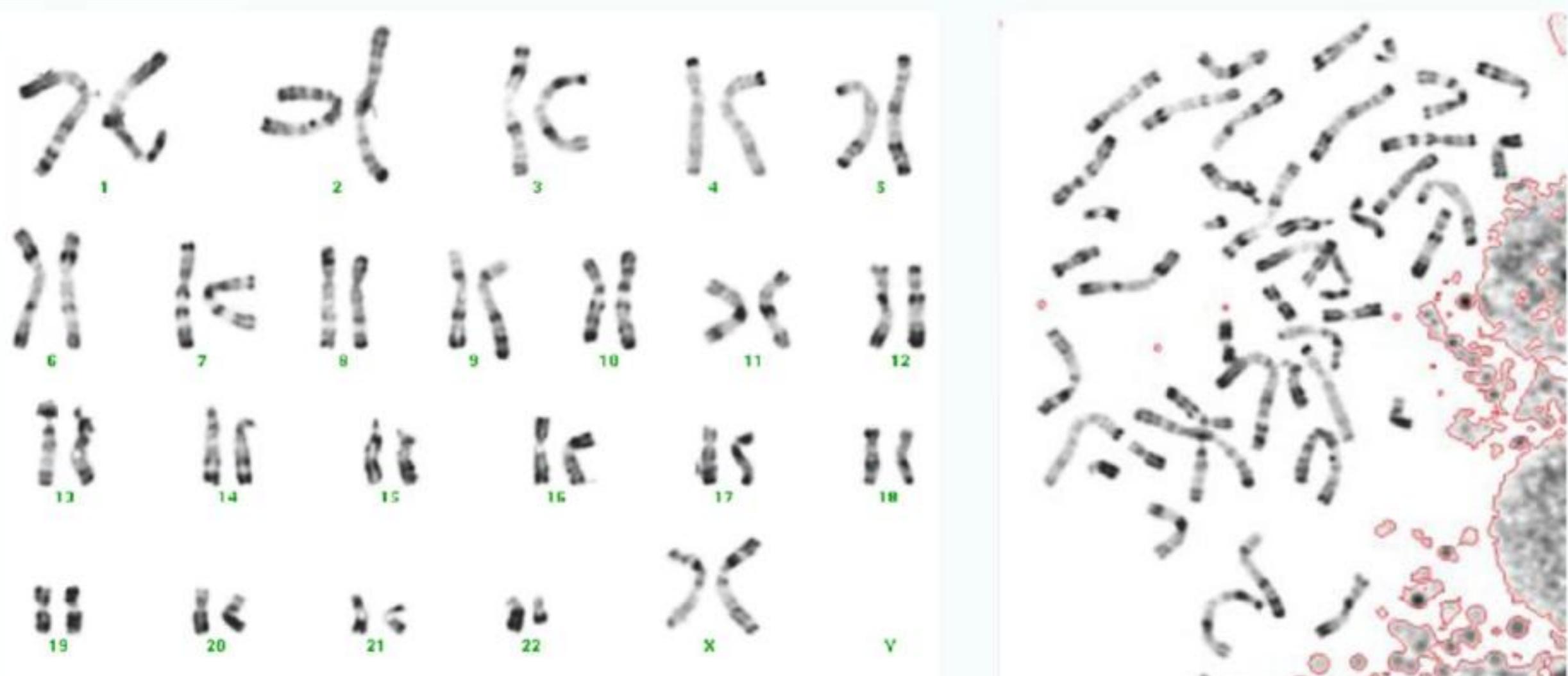
Aspects morphologiques des chromosomes en fonction de l'indice centromérique

Nomenclature internationale (ISCN) définit pour chaque chromosome des régions chromosomiques qui comporte des bandes et des sous-bandes

CARYOTYPE = analyse pan-génomique



Moyen simple et efficace d'avoir en **un seul temps** une **vue d'ensemble du génome** (Speaker icon) les anomalies de nombre et de structure



Cliquez sur le bouton "Ecran suivant" pour continuer votre formation

Cytogénétique conventionnelle : CARYOTYPE

AVANTAGES :

- + Analyse globale du génome
- + Déetecte la majorité des anomalies
 - anomalies de nombre** (trisomies, monosomies ...)
 - anomalies de structure** (translocations, délétions ...)



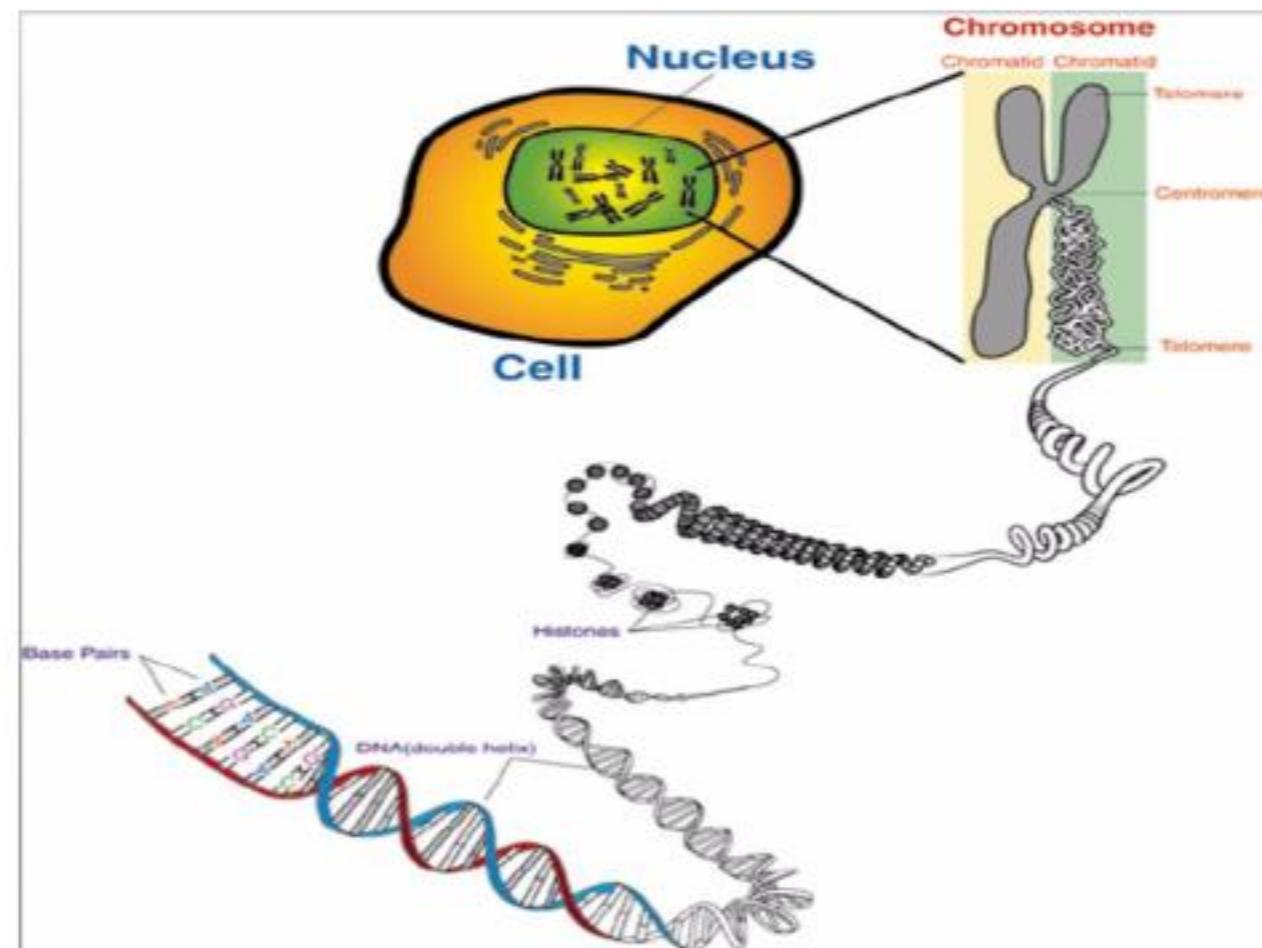
INCONVENIENTS :

- Métaphases seulement
- Ne détecte pas les remaniements cryptiques
 - Limite de résolution : 5 -10 mégabases (Mb)

Cliquez sur le bouton "Ecran suivant" pour continuer votre formation

Cytogénétique moléculaire

FISH technique complémentaire du caryotype

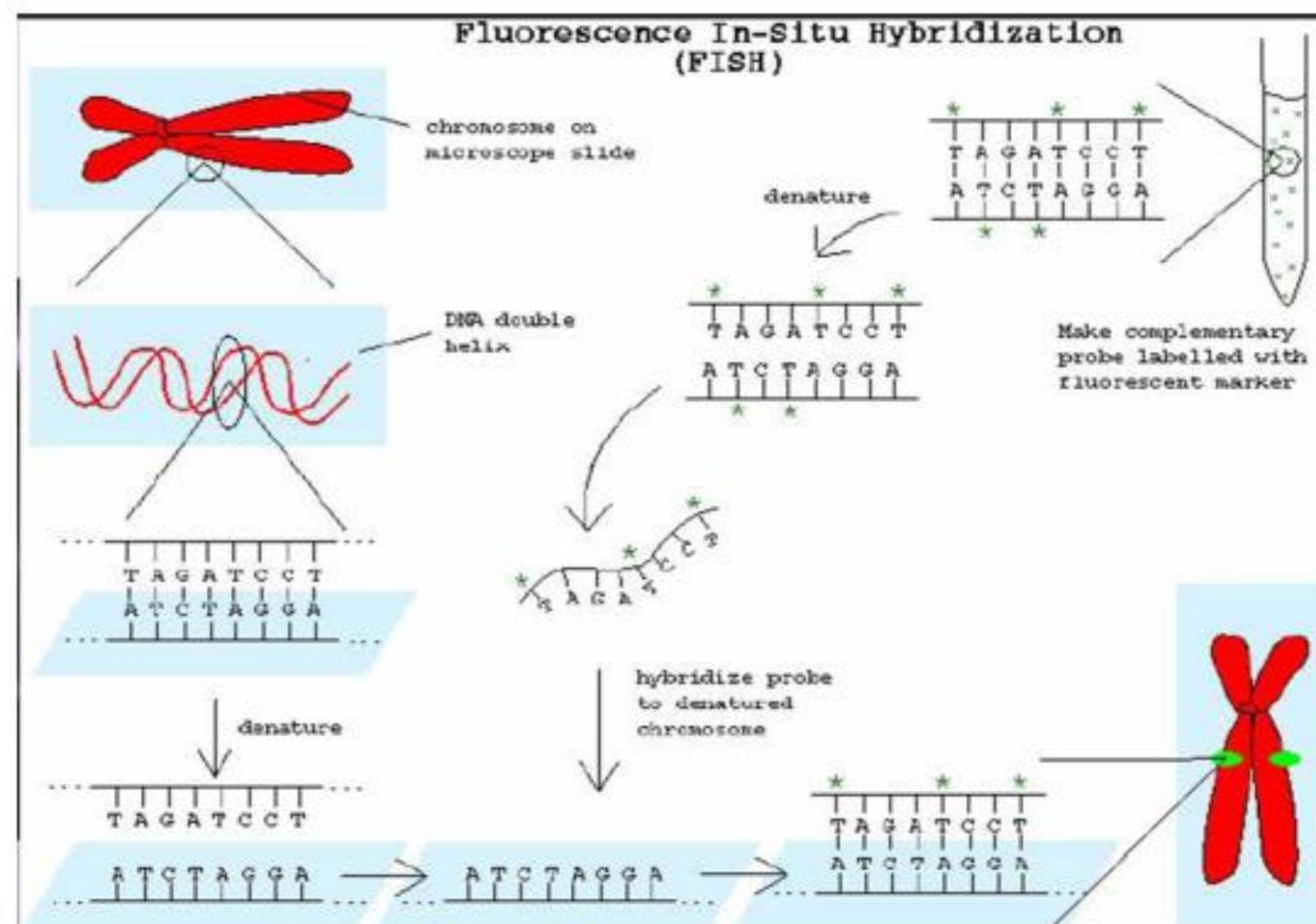


Cliquez sur le bouton "Ecran suivant" pour continuer votre formation

FISH principe



Hybridation in situ en fluorescence (FISH) est une technique de biologie moléculaire d'hybridation in situ utilisant des sondes marquées à l'aide d'un marqueur fluorescent, spécifique d'un locus donné, et utilisées sur lames étalées de culot de cytogénétique

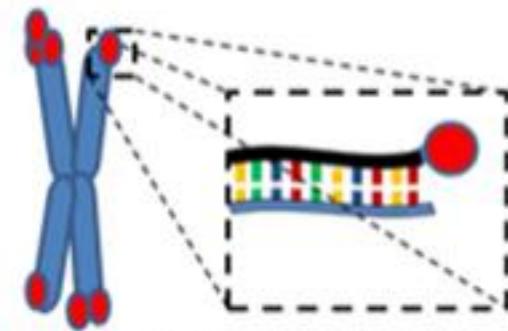


Cliquez sur le bouton "Ecran suivant" pour continuer votre formation

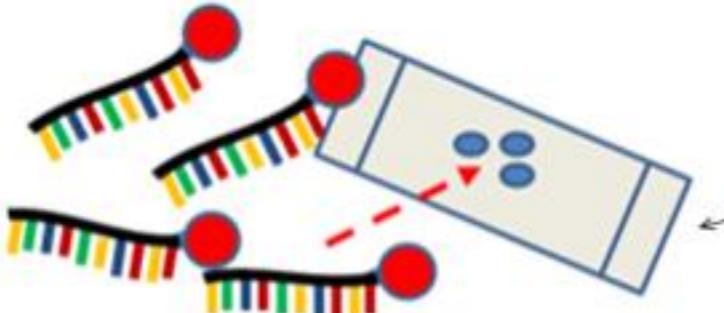
FISH technique



Dénaturation par chaleur >65°C

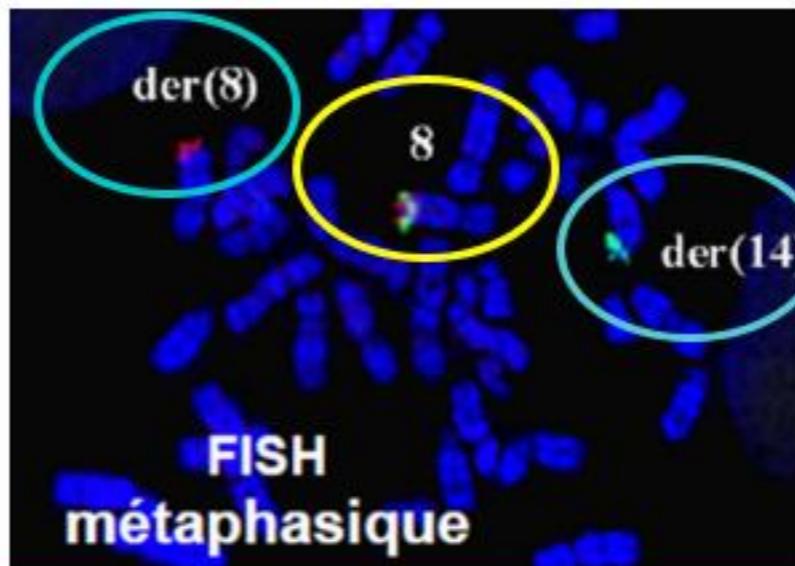


Hybridation de la séquence

 Heat denature
chromosomal
DNALame étalée avec
culot de
cytogénétique

Sondes spécifiques marquées

Contre coloration au DAPI (bleu)

**Image capture
& Analysis**

Cliquez sur le bouton "Ecran suivant" pour continuer votre formation



Anomalies Acquises = anomalies chromosomiques apparues au cours de la vie et ne touchant qu'un seul organe

Intérêt du caryotype en hématologie cancérologie

- Diagnostique
- Pronostique
- Prise en charge thérapeutique

Cliquez sur le bouton "Ecran suivant" pour continuer votre formation

Cytogénétique en hématologie biologique



Merci d'avoir suivi cette séquence !

Maintenant rendez-vous pour la séquence "**Vers la semaine 3**"
pour un résumé des éléments essentiels de cette semaine et un
descriptif de ce que vous allez voir la semaine prochaine.

*Et n'oubliez pas de remplir le questionnaire "Votre avis" qui ne vous
prendra que 5 minutes.*

Tous droits réservés