

# GÉNÉTIQUE CHROMOSOMIQUE ET GÉNÉTIQUE MOLÉCULAIRE : UNE HYBRIDATION RÉUSSIE

---

**Simone Gilgenkrantz**

---

## RÉFÉRENCES

1. Artavanis-Tsakonas S. Alagille syndrome : a notch up for the Notch receptor. *Nature Genet* 1997 ; 16 : 212-3.
2. Gilgenkrantz S, Schrock E, Liyanage M, du Manoir S, Reid T. Tout ce que la FISH peut faire pour vous. *Med Sci* 1997 ; 13 : 1294-8.
3. Chelloug N, Arnould C, Koeler N, Jonveaux P. La microdissection chromosomique ou le paradigme de la cytogénétique moléculaire : de la caractérisation des anomalies chromosomiques complexes à l'identification des gènes. *Med Sci* 1997 ; 13 : 1312-6.
4. Nilsson M, Malmgren H, Samiotaki M, Kwiatowski M, Chowdhary BP, Landegren U. Padlock probes : circularizing oligonucleotides for localized DNA détection. *Science* 1994 ; 265 : 2085-8.

## ADRESSE

S. Gilgenkrantz : *professeur émérite de la faculté de Nancy, ancien chef du laboratoire de génétique, CHU de Nancy*. 9, rue Basse, 54330 Clercy/Brenon, France.

**D**epuis l'explosion des techniques de biologie moléculaire et les succès spectaculaires remportés par cette discipline dans la découverte des gènes, de leur conservation dans l'évolution et de leurs implications en pathologie humaine, la cytogénétique est apparue comme une science contemplative et légèrement obsolète. Les cytogénéticiens semblaient définitivement confinés à des tâches obscures et laborieuses : recherche d'anomalies constitutionnelles, diagnostic prénatal chromosomique, et tentative de recensement et d'identification des innombrables et complexes remaniements acquis en oncologie.

Toutefois, les généticiens moléculaires s'aperçurent très vite du bénéfice qu'ils pouvaient tirer de l'assistance des cytogénéticiens pour l'établissement de la cartographie physique des gènes : tel remaniement *de novo* apparemment équilibré, associé à une maladie mendélienne, avait des chances d'indiquer le locus du gène en cause au sein d'un des points de cassure de ce remaniement. Et, de fait, dans plus de 80 % des maladies liées à l'X (à commencer par la myopathie de Duchenne) et transmises en dominance (la dernière en date étant sans doute le syndrome d'Alagille [1]), le gène fut isolé grâce à cette « pathologie du point de cassure » désignant une région candidate,

à vérifier ultérieurement par analyse de ségrégation dans les familles à caryotype normal, puis à cloner en isolant le point de cassure dans un YAC (*yeast artificial chromosome*). A charge donc, pour le cytogénéticien, d'explorer « à l'aveuglette et au petit bonheur » (en anglais *serendipity*) les caryotypes des malades, pour avoir la chance d'en trouver au moins un, porteur d'une translocation équilibrée ou d'une inversion péri- ou paracentrique recelant (mais encore faut-il le vérifier) le point de cassure révélateur.

Il eut été dommage d'en rester là. Rapidement, une collaboration s'établit entre molécularistes et chromosomistes pour localiser *in situ*, sur le caryotype, un segment d'ADN d'intérêt dont le généticien moléculaire qui l'avait isolé ignorait la situation. Grâce à la FISH (hybridation *in situ* en fluorescence), bien nommée puisqu'elle ressemble un peu à la pêche à la ligne, un signal lumineux s'allume à l'endroit du locus de cette séquence unique transformée en sonde et, en multipliant les colorants fluorescents, l'ordonnancement sur un chromosome de plusieurs séquences voisines apporte une lumineuse contribution à la cartographie physique. Il est même possible de déceler, *in situ*, des expansions de triplets répétés (*m/s* n° 5, vol. 12, p. 653). A l'inverse, l'absence de signal est révélateur d'une délétion et les sondes

spécifiques de la plus petite région commune sont utilisées en routine pour le diagnostic des syndromes microdélétionnels (*m/s n° 6-7, vol. 12, p. 836 et n° 12, vol. 12, p. 1441*) en attendant de dénombrer les gènes contigus responsables de ces maladies, ou de s'apercevoir qu'un seul gène est peut-être en cause.

En FISH, qui peut le moins peut le plus. Si la trop petite taille d'une séquence unique (à moins de 1 kb pour l'ADN des chromosomes métaphasiques) limite l'hybridation et le repérage du signal, il n'est pas impossible de marquer un chromosome entier, voire la totalité du génome humain afin d'identifier, par « peinture », tout ou partie d'un chromosome, ou d'analyser le contenu d'hybrides somatiques interspécifiques. Par isolement de chacune des paires chromosomiques, en cytométrie de flux ou à l'aide de la technique de microdissection, la FISH est désormais capable de réaliser le vieux rêve que les cytogénéticiens jugèrent longtemps puéril et utopique : le coloriage du caryotype en un ravissant nuancier (le caryotype spectral) où chaque paire devient identifiable et à partir duquel toute reconnaissance (de remaniements, chromosomes marqueurs, fragments surnuméraires...) devient possible [2].

Encouragés par ces fructueux échanges, les cytogénéticiens s'initient aux techniques de génétique moléculaire pour analyser le contenu en ADN des régions anormales, comme les *double minute*, ou les régions à coloration homogène (HSR, *homogeneously stained regions*), en les microdisséquant *in situ*, pour ensuite les amplifier par PCR [3], construire des microbanques d'ADN spécifique ou combiner la microdissection à la sélection d'ADNc afin de trouver de nouveaux gènes. Tout récemment, un pas de plus fut franchi avec l'invention des sondes « cadenas » qui évite le risque d'une hybridation trop labile et confère à celles-ci une extrême spécificité [4] : la circularisation par leurs deux extrémités exactement complémentaires des sondes les fixe de façon définitive à leur ADN cible, un peu comme un cadenas qui serait posé *in situ*.

De leur côté, certains molécularistes

s'attaquaient aux chromosomes pour faire des boucles (halo) d'ADN décondensé tout en conservant une structure nucléaire. Ou encore, à partir d'ADN en solution ou de haut poids moléculaire de cellules lysées, de « peigner » des brins d'ADN libérés des complexes nucléoprotéiques par traitements chimiques, afin de les étirer régulièrement et le plus possible, pour pouvoir, par FISH multicolore, ordonner *de visu* une succession de signaux ponctuels qui prennent l'aspect d'un collier de perles espacées les unes des autres d'1 kb environ [5, 6].

Il restait une inconnue de taille : la structure des différents éléments constitutifs du chromosome humain et les mécanismes de maintien et de fonctionnement, lors de la mitose en particulier. Côté télomère, nous avons beaucoup appris ces temps derniers (*m/s n° 4, vol. 13, p. 585*). Nous savons que les séquences télomériques sont contrôlées par la télomérase et nous connaissons les protéines se liant à ces séquences répétées pour régler l'action de cette enzyme (*m/s n° 4, vol. 13, p. 585*), d'une part, et pour séquestrer la molécule d'ADN afin de la soustraire à des réparations intempestives, d'autre part. Côté centromère, en revanche, nous étions loin d'en savoir autant que sur les chromosomes de levure, suffisamment explorés pour être démontés et reconstruits sous forme de YAC, précieux outils de génétique moléculaire depuis bientôt quinze ans ([7] et *m/s n° 3, vol. 12, p. 414*). Or, on vient de s'apercevoir que les centromères des chromosomes humains étaient beaucoup plus complaisants qu'on ne l'imaginait, qu'ils pouvaient se passer de séquences alphaséiques (*m/s n° 11, vol. 13, p. 1357*) et que la construction de MAC/HAC (chromosomes artificiels de mammifères ou d'hommes) ne posait guère de problèmes (*m/s n° 8-9, vol. 13, p. 1066*). Enfin, après la création de souris transgéniques, voici celle des souris transchromosomiques (*m/s n° 8-9, vol. 13, p. 1070*), capables de recevoir (à partir de microcellules) et de transmettre à leurs descendants un segment ou même un chromosome humain entier et fonctionnel.

Ainsi, tandis que les généticiens moléculaires violent le domaine jusqu'alors réservé des cytogénéticiens en isolant « le gène » ... peut-être unique (!) du « mongolisme (*m/s n° 8-9, vol. 13, p. 1069*) ou celui du syndrome de Turner (*m/s n° 8-9, vol. 13, p. 1071*), ces derniers vont jouer à démonter, pièce par pièce, les chromosomes humains pour fabriquer à leur guise des chromosomes artificiels et créer des lignées d'animaux transchromosomiques.

En réalité, tout ceci n'est que bricolage face aux perspectives du troisième millénaire. Déjà, la bio-informatique, qui s'est imposée avec l'isolement des gènes *in silicio*, s'ouvre sur une nouvelle révolution technologique : les puces ADN, fruits de l'union entre les techniques de miniaturisation de l'informatique et les propriétés d'hybridation des brins d'ADN [8]. Sur une surface pas plus grande que la paume de la main, sont tatouées des millions de sondes (UH pour unités d'hybridation) afin de repérer les ADN (ou les ARN) en solution. Déjà, on entrevoit la modélisation du génome et de son rôle dans la régulation cellulaire avec l'exploration du « transcriptome » c'est-à-dire de l'ensemble des ARNm.

Désormais, l'hybridation de la cytogénétique avec la génétique moléculaire est accomplie et il ne nous reste plus qu'à attendre la livraison, clé en main, de ces laboratoires miniatures ■

## RÉFÉRENCES

5. Monier K, Hazzouri M, Mongelard F, Rousseaux S, Yourc'h C, Robert-Nicoud M. Cartographie à haute résolution par hybridation *in situ* fluorescente sur fibres d'ADN décondensées. *Med Sci* 1997 ; 13 : 1306-11.
6. Michalet X, Bensimon A. Peignage moléculaire d'ADN. Cartographie physique du génome et diagnostic génétique. *Med Sci* 1997 ; 13 : 1299-305.
7. Roizès G, Marçais B, Yurov Y. Les centromères des chromosomes de mammifères. *Med Sci* 1994 ; 10 : 282-95.
8. Bellis M, Casellas P. La puce ADN : un multi-réacteur de paillasse. *Med Sci* 1997 ; 13 : 1317-24.

## TIRÉS À PART

S. Gilgenkrantz.