**Les techniques de marquage**

**Introduction**

 Les techniques de marquage des chromosomes sont apparues dans les années 70. Les chromosomes en métaphase peuvent êtres identifiés en utilisant certains techniques de coloration appelées bandes.

Les cellules sont cultivées puis arrêtées en métaphase pour maximiser le nombre de cellules appropriées. Elles sont en suite étalées sur une lame, colorée avec un colorant approprié et visualisées dans le microscope.

La plupart des analyses cytogénétiques convontielles dépend du caryotype des chromosomes métaphasiques.

Une bande est définie comme la partie d’un chromosome qui se distingue nettement de ses segments adjacents en apparaissant plus sombre ou plus claire avec une ou plusieurs techniques de banding.

Les chromosomes sont visualisés comme étant constitués d’une série continue de bandes claires et foncées.

Les techniques de bandingue se répartissent en deux principaux groupes :

* Celles qui donnent des bandes réparties sur toute la longueur du chromosome, tel que G, Q et R
* El celles qui donnent un nombre restreint de bandes ou de structures spécifiques.

Ces dernies comprend des méthodes qui réveillent des bandes centromériques ou les bandes C et les régions NOR.

Les bandes G et R peuvent êtres lumineuses ou florissantes. Ces bandes R sont approximativement l’inverse des bandes G (R : reverse) les régions sombres sont euchromatine et les régions claires sont l’hétérochromatine.

Le nombre de bandes visibles est variable d'une mitose à l'autre et dépend du niveau de condensation du chromosome. Plus les chromosomes sont condensés, moins on peut observer de bandes et moins l'analyse permet de dépister des anomalies de petite taille. Le nombre de bandes par lot haploïde permet de définir la résolution de l'analyse cytogénétique.

 Ces techniques de haute résolution sont de réalisation et d’interprétation plus délicate que le caryotype standard, mais permettent la mise en évidence d'anomalies de taille beaucoup plus réduite.

Le **giemsa**

[Gustav Giemsa](https://fr.wikipedia.org/w/index.php?title=Gustav_Giemsa&action=edit&redlink=1)  ([1867](https://fr.wikipedia.org/wiki/1867) – [1948](https://fr.wikipedia.org/wiki/1948)) était à la fois chimiste et pharmacien. C'est dans les années 1900 qu'il développe la technique de coloration qui fut utile pour identifier dans les [frottis sanguins](https://fr.wikipedia.org/wiki/Sang) le parasite de la [malaria](https://fr.wikipedia.org/wiki/Malaria), [*Plasmodium falciparum*](https://fr.wikipedia.org/wiki/Plasmodium_falciparum).

Le **giemsa** est un [colorant](https://fr.wikipedia.org/wiki/Colorant) spécifique des [chromosomes](https://fr.wikipedia.org/wiki/Chromosome), constitué d'un mélange de deux colorants ([bleu de méthylène](https://fr.wikipedia.org/wiki/Bleu_de_m%C3%A9thyl%C3%A8ne) et [éosine](https://fr.wikipedia.org/wiki/%C3%89osine)) rose violacé. Le giemsa permet notamment de mettre en évidence les territoires chromosomiques

**Bandes G :**

(La coloration Giemsa par dénaturation enzymatique par la trypsine (ou *GTG banding*). Le G-Banding ou technique de marquage des bandes G utilise un colorant chimique, le Giemsa (après traitement des chromosomes) qui engendre des bandes sombres sur les chromosomes métaphasiques.

Ce colorant à la particularité de se fixer sur les thymines et les adénines, les bandes ainsi révélées indiquent les régions riches en AT.

**Bandes Q** :

Provient du fait qu’ils utilisent la quinacrine moutarde aux chromosomes ; ensuite ces derniers sont examinés en utilisant un microscope à fluorescence.

Certaines bandes seront affecté brillement fluorescent et d’autres apparaitront dime.

Les bandes sombres sont appelées les bandes Q et correspond très étroitement aux bandes G. La technique est utile pour détecter l’hétéromorphisme, qui est une variation normale de l’apparition des chromosomes.

**Bandes R :**

Les bandes R sont les bandes obtenues après coloration des [chromosomes](https://fr.wikipedia.org/wiki/Chromosome) au [Giemsa](https://fr.wikipedia.org/wiki/Giemsa) et dénaturation thermique. Elles sont riches en bases G et C. Elles contiennent de nombreux gènes, leur [chromatine](https://fr.wikipedia.org/wiki/Chromatine) est peu condensée, leur condensation est tardive en prophase et la réplication de ces bandes a lieu très tôt en phase S. les bandes R (reverse) révélées par l'acridine orange (fluorescence).

**Bandes C :**

Les techniques de C banding sont utilisées pour colorer différentiellement les chromosomes en métaphase chez les organismes possédant des quantités appréciables d'hétérochromatine constitutive. Ses principaux avantages sont qu’il s’agit d’une méthode peu coûteuse et relativement rapide d’identification des chromosomes individuels et des variations morphologiques ou caryotypiques, notamment de grands réarrangements chromosomiques et des aneuploïdies. Nous employons actuellement cette technique avec un effet considérable dans l'analyse du génome de l'avoine (Avena sativa) et des espèces de graminées apparentées, bien qu'elle ait été plus largement utilisée pour l'analyse chromosomique du blé (Triticum aestivum) et de ses espèces apparentées, Triticeae.

Ce type de bande est réveillé par l’oxyde de baryum et le Giemsa, il colore précisément les centromères.

**NOR :**

 Cette technique consiste en un dépôt de nitrate d'argent qui met en évidence les organisateurs nucléolaires. Ces structures correspondent aux régions du génome contenant les gènes qui codent pour les ribosomes