**Hybridation *in situ***

**PRINCIPES** L’hybridation *in situ*(HIS) est une technique ayant pour but de**localiser des cibles d’acides nucléiques mono-brins spécifiques** sur des cellules fixées ou une coupe de tissu. Cette technique est basée sur l’utilisation d’une sonde fluorescente qui correspond à une séquence d’acide nucléique spécifique d’un gène cible.

**DESCRIPTION**  Cette technique repose sur la complémentarité des bases nucléiques entre elles. Ainsi, pour localiser une molécule d'ADN ou ARN, on doit : 

1. Préparer le tissus pour rendre les acides nucléiques disponibles pour l’hybridation
2. Fusion ou dénaturation, la séquence double brin, en hélice devient mono-brin (in vitro avec agent chimique ou physique capable de déstabiliser les liaisons H, comme le pH, la T etc..
3. Choisir une sonde complémentaire de la séquence cible.
4. Marquer la sonde, pour qu'on puisse la repérer et la visualiser, par des

isotopes radioactifs, des produits fluorescents etc..

|  |  |
| --- | --- |
| **AVANTAGES** | **INCONVENIENTS** |
| * Information quantitative et visuelle sur les ARNm étudiés
 | * Nécessité de la dénaturer avantson utilisation
* Possibilité de ré hybridation surelle-même
* Séquence longue (prétraitements,Tm élevée (température de fusion))
 |
|  |  |

**APPLICATIONS** Visualisation de l’expression de gènes, de la co-expression de miRNA et de leurs gènes cibles ainsi que visualisation de la cinétique du profil d’expression de gènes. Validation de biomarqueurs dans un type cellulaire donné et d’expérience de knock-out.

**INFORMATIONS COMPLEMENTAIRES**

Il existe 2 types de techniques d’hybridation*in situ,* la FISH (“Fluorescent *In Situ*Hybridization”) dans laquelle la sonde est marquée avec un fluorochrome (technique la plus utilisée) et d’autre part la CISH (“Chromogenic*In Situ*Hybridization”) dans laquelle la sonde est marquée avec un chromogène (substance pouvant produire un pigment).