

UE 1B :
Biomolécules, génome, bioénergétique,
métabolisme

ACTUALISATION
Fiche de cours n°22

**Les chromosomes, le caryotype et ses
anomalies**

- Notion tombée 1 fois au concours
- Notion tombée 2 fois au concours
- Notion tombée 3 fois ou plus au concours

INTRODUCTION

	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Existent dans toutes les cellules de tous les êtres vivants ▪ Nombre variable et spécifique à chaque espèce ▪ Structure cellulaire microscopique ▪ Représentent le support physique de l'information génétique ▪ Compaction d'ADN et de protéines histones et non-histones formant la chromatine
	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Structure dynamique : l'apparence de la chromatine change en fonction des phases du cycle cellulaire ☺ ▪ La compaction est maximale lors de la métaphase de la mitose ☺ ▪ La métaphase est l'étape de la mitose choisie pour visualiser les chromosomes
	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Le caryotype est le classement de l'ensemble des chromosomes d'une cellule ▪ Le caryotype permet d'étudier la structure et le nombre de chromosomes d'une cellule ▪ La discipline étudiant le caryotype est la cytogénétique ▪ Le caryotype classique nécessite des cellules en division

STRUCTURE DU CHROMOSOME METAPHASIQUE

	<ul style="list-style-type: none"> ▪ En métaphase, le chromosome présente deux molécules d'ADN identiques appelées chromatides sœurs ▪ Ces chromatides sont reliées au niveau du centromère 	<p>centromère</p> <p>2 chromatides sœurs</p> <p>telomère</p>						
	<ul style="list-style-type: none"> ▪ La position du centromère permet de séparer le chromosome en deux bras : ◦ Le bras court p ◦ Le bras long q ☺ 	<p>bras court p</p> <p>bras long q</p> <p>centromère</p> <p>telomère</p>						
	<ul style="list-style-type: none"> ▪ En fonction de la position du centromère et de la longueur des bras courts et longs 	<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="padding: 5px; vertical-align: top;"> Métacentrique </td> <td style="padding: 5px; vertical-align: top;"> <ul style="list-style-type: none"> ▪ longueur p et longueur q sensiblement égales ☺ </td> </tr> <tr> <td style="padding: 5px; vertical-align: top;"> Submétacentrique </td> <td style="padding: 5px; vertical-align: top;"> <ul style="list-style-type: none"> ▪ longueur 2p = longueur q ☺☺ </td> </tr> <tr> <td style="padding: 5px; vertical-align: top;"> Acrocentrique </td> <td style="padding: 5px; vertical-align: top;"> <ul style="list-style-type: none"> ▪ p très court par rapport à q ☺☺ </td> </tr> </table> <p style="text-align: right; margin-top: -20px;">métacentrique submétacentrique acrocentrique</p>	Métacentrique	<ul style="list-style-type: none"> ▪ longueur p et longueur q sensiblement égales ☺ 	Submétacentrique	<ul style="list-style-type: none"> ▪ longueur 2p = longueur q ☺☺ 	Acrocentrique	<ul style="list-style-type: none"> ▪ p très court par rapport à q ☺☺
Métacentrique	<ul style="list-style-type: none"> ▪ longueur p et longueur q sensiblement égales ☺ 							
Submétacentrique	<ul style="list-style-type: none"> ▪ longueur 2p = longueur q ☺☺ 							
Acrocentrique	<ul style="list-style-type: none"> ▪ p très court par rapport à q ☺☺ 							

STRUCTURE DU CHROMOSOME MÉTAPHASIQUE

	<ul style="list-style-type: none">■ Constriction primaire<ul style="list-style-type: none">○ Visible du stade de prophase à celui de métaphase■ Composé d'hétérochromatine constitutive formée essentiellement d'ADN satellite<ul style="list-style-type: none">○ Caractérisé par des séquences d'ADN répétées en tandem○ Répétitions plus ou moins longues selon les chromosomes○ ADN associé à des protéines : histones particulières, CENP-A, et non-histones : les protéines du kinétochore qui sont recrutées par CENP-A■ Structure d'attachement des chromatides sœurs entre elles■ Structure d'attachement aux microtubules du fuseau■ Indispensable à la ségrégation des chromatides lors de la mitose
	<ul style="list-style-type: none">■ Séquence d'ADN relativement bien conservée chez les eucaryotes■ Courtes séquences répétées de 6 à 8 nucléotides riches en G■ Chez l'homme motif de répétition (TTAGGG)_n pour une taille de télomères de 10 à 15kb■ Le nombre de répétition est spécifique de l'espèce, de l'état physiologique et du type cellulaire■ Ils se raccourcissent au cours des divisions cellulaires■ Le brin riche en G forme une extrémité simple brin 3'■ Séquence d'ADN associé à des protéines pour former une structure tridimensionnelle dynamique avec une boucle et une région à 3 brins■ Assurent la protection de l'extrémité des chromosomes■ Assurent la protection de l'ensemble de l'information génétique

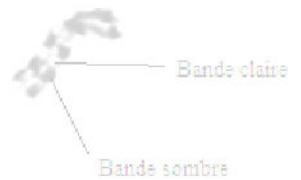
ETABLISSEMENT D'UN CARYOTYPE

	<ol style="list-style-type: none">1. Prélèvement des cellules : à partir de sang périphérique, de liquide amniotique, des villosités choriales, cellules tumorales...2. Culture des cellules <i>in vitro</i> car besoin de cellules en division3. Blocage des cellules en métaphase  et fixation des cellules → préparation d'un culot cytogénétique4. Étalement sur une lame de microscopie5. Application d'une technique de coloration6. Observation au microscope : acquisition d'images de métaphases, analyse et classement des chromosomes
--	--

LE RANGEMENT DES CHROMOSOMES DANS LE CARYOTYPE

	<ul style="list-style-type: none">■ Le caryotype humain normal comprend 46 chromosomes :<ul style="list-style-type: none">○ 22 paires d'autosomes○ 1 paire de gonosomes : chromosomes sexuels XX ou XY selon le sexe		
	<ul style="list-style-type: none">■ Chromosomes homologues : 2 chromosomes de la même paire<ul style="list-style-type: none">○ Un chromosome d'origine maternelle○ Un chromosome d'origine paternelle■ Chromosomes hétérologues : 2 chromosomes de paires différentes		
	Groupe A	Chromosomes 1, 2, 3	Grands Métacentriques
	Groupe B	Chromosomes 4 et 5	Grands Submétacentriques ☀
	Groupe C	Chromosomes 6 à 12 + X	Moyens Submétacentriques ☀
	Groupe D	Chromosomes 13, 14, 15	Grands Acrocentriques ☀
	Groupe E	Chromosomes 16, 17 et 18	Petits Submétacentriques
	Groupe F	Chromosomes 19 et 20	Petits Métacentriques
	Groupe G	Chromosomes 21, 22 + Y	Petits Acrocentriques On ne parle pas de chromosome acrocentrique pour le Y, c'est un chromosome sexuel
	<ul style="list-style-type: none">■ Variations inter-individuelles■ Au niveau de régions d'hétérochromatine■ Sans conséquence phénotypique■ Notamment au niveau des centromères des chromosomes 1, 9, 16■ Également bras long du chromosome Y		

LES MARQUAGE EN BANDES CHROMOSOMIQUES

		<ul style="list-style-type: none">■ Fait apparaître sur les chromosomes une alternance de bandes transversales :<ul style="list-style-type: none">○ Faiblement colorées : bandes claires○ Fortement colorées : bandes sombres■ Profil des bandes :<ul style="list-style-type: none">○ Non aléatoire○ Reproductible○ Chromosome spécifique■ Ce marquage a permis d'améliorer la résolution et la sensibilité de l'analyse cytogénétique■ Techniques qui reposent sur divers principes biochimiques : ADN, protéines associées, compaction de la chromatine...	 <p>Bande claire</p> <p>Bande sombre</p>
	Bandes G Giemsa	<ul style="list-style-type: none">■ Obtenuées par dénaturation douce enzymatique suivie d'une coloration Giemsa■ <u>Bandes G sombres</u> :<ul style="list-style-type: none">○ Riches en bases AT○ Zones pauvres en gènes○ Chromatine condensée○ Condensation précoce en prophase○ Réplication tardive en phase S	
	Bandes R Reverse	<ul style="list-style-type: none">■ Obtenuées par dénaturation thermique suivie d'une coloration Giemsa■ Motifs inverses aux bandes G■ <u>Bandes R sombres</u> :<ul style="list-style-type: none">○ Riches en CG ○ Zones à nombreux gènes ○ Chromatine peu condensée ○ Condensation tardive en prophase○ Réplication précoce en phase S	
	Bandes C	<ul style="list-style-type: none">■ Marquage sélectif de l'hétérochromatine constitutive■ Marquage essentiellement au niveau des centromères<ul style="list-style-type: none">○ Notamment les chromosomes 1, 9, 16■ Marquage du bras long de Y (Yq)	
	Bandes NOR	<ul style="list-style-type: none">■ Révélation des régions des organisateurs nucléolaires sur les bras courts des chromosomes acrocentriques :<ul style="list-style-type: none">○ 13p, 14p, 15p, 21p et 22p○ Ces régions forment le nucléole en interphase	

LA NOMENCLATURE INTERNATIONALE

	<ul style="list-style-type: none">▪ Conséquence de la mise au point du marquage en bandes▪ Chaque bande est caractéristique de chaque chromatide :<ul style="list-style-type: none">○ Position○ Succession○ Dimension○ Intensité▪ Possible de détecter des remaniements qui affectent des segments chromosomiques par modification de ces caractéristiques
	<ul style="list-style-type: none">▪ Le centromère permet de délimiter les bras chromosomiques p et q▪ Chaque bras est divisé en régions▪ Chaque région est divisée en bandes▪ Chaque bande peut être divisée en sous-bandes▪ Parfois les sous-bandes sont divisées en sous-sous-bandes
	<ul style="list-style-type: none">▪ Exemple : 1p36.1 → chromosome 1, bras court, région 3, bande 6, sous-bande 1

DEFINITIONS DES ANOMALIES CHROMOSOMIQUES

	<ul style="list-style-type: none">▪ <u>Anomalies constitutionnelles</u> : présentes dès la naissance▪ <u>Anomalies acquises</u> : apparues au cours de la vie
	<ul style="list-style-type: none">▪ <u>Anomalies homogènes</u> : toutes les cellules de l'organisme ou de l'organe portent l'anomalie▪ <u>Anomalies en mosaïque</u> : une fraction des cellules porte l'anomalie  <ul style="list-style-type: none">○ Il existe plusieurs populations cellulaires à caryotype différent issues du même zygote
	<ul style="list-style-type: none">▪ <u>Anomalies équilibrées</u>▪ <u>Anomalies déséquilibrées</u>
	<ul style="list-style-type: none">▪ <u>Anomalies « de novo »</u> : l'anomalie se crée dans l'individu lui-même▪ <u>Anomalies hérétées</u> : les parents ont transmis l'anomalie
	<ul style="list-style-type: none">▪ Conséquences d'un accident de méiose ou de mitose▪ Elles peuvent impliquer un ou plusieurs chromosomes, autosomes ou gonoosomes▪ Les anomalies chromosomiques peuvent porter :<ul style="list-style-type: none">○ Sur le nombre des chromosomes○ Sur la structure des chromosomes

LES ANOMALIES DE STRUCTURE DELETION TERMINALES OU INTERSTITIELLES (DEL)

	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Perte d'un fragment chromosomique ▪ Anomalie impliquant un seul chromosome ▪ Anomalie déséquilibrée ☺☺ 	
	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Délétion interstitielle : perte à l'intérieur d'un bras ☺ ▪ Délétion terminale : perte d'une extrémité d'un bras chromosomique ☺ 	
	<ul style="list-style-type: none"> ▪ La maladie du cri du chat : del 5p : délétion du bras court du chromosome 5 	
	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Délétions de petites tailles, inférieure à 5Mb ▪ Non visibles sur le caryotype standard ☺ ▪ Concernent au plus une sous-bande chromosomique ▪ La délétion peut couvrir plusieurs gènes délétères ▪ La mise en évidence de ces microdélétions nécessite des techniques de plus haute résolution ☺ : l'hybridation <i>in situ</i> en fluorescence par exemple ▪ Exemple : Syndrome de Di George : 22q11 	

LES ANOMALIES DE STRUCTURE INVERSION (INV) ☺

	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Résulte de deux points de cassures sur le même chromosome ☺, suivies du recollement après retournement à 180° du segment impliqué ▪ Remaniement équilibré ▪ Provoque des difficultés d'appariement lors de la méiose <ul style="list-style-type: none"> ◦ Formation de gamètes anormaux par duplication / délétion 	
	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Inversion péricentrique : concerne le centromère avec changement de bras des séquences concernées ▪ Inversion paracentrique : ne concerne pas le centromère 	

LES ANOMALIES DE STRUCTURE DUPLICATION (DUP)

- Le chromosome subit deux points de cassure
- Région présente en double exemplaire
- Anomalie impliquant un seul chromosome
- Il s'agit d'une anomalie déséquilibrée
- 2 types :
 - duplication en tandem : même orientation
 - duplication en miroir : orientation opposée

LES ANOMALIES DE STRUCTURE CHROMOSOME EN ANNEAU (R)

- Cassure sur chacun des deux bras suivie d'une **fusion des extrémités libres** des bras courts et longs
- Anomalie impliquant un seul chromosome
- Les deux extrémités sont perdues : **anomalie déséquilibrée avec double délétion**



LES ANOMALIES DE STRUCTURE ISOCHROMOSOME (I)

- Résultat de la duplication d'un bras et de la perte de l'autre bras du même chromosome
- Anomalie impliquant un seul chromosome
- Anomalie déséquilibrée

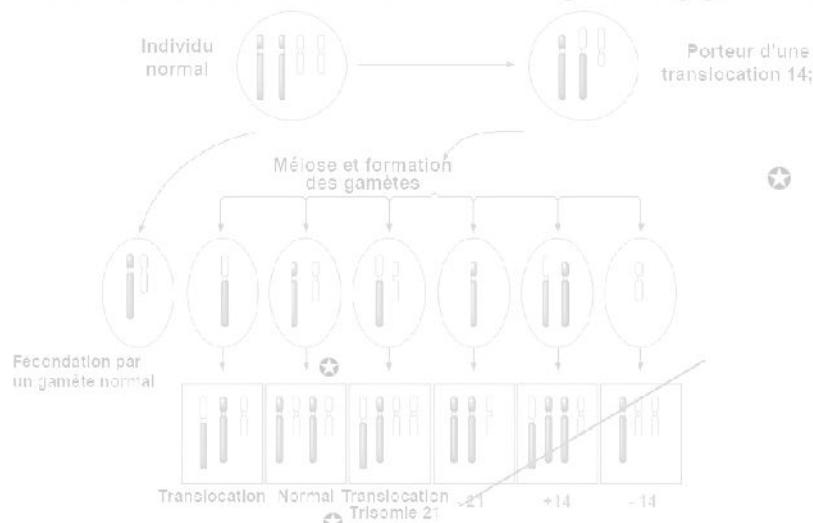
- Isochromosome de bras court
- Isochromosome de bras long



- Isochromosome 17q
- Le caryotype contient :
 - 3 copies du bras long
 - 1 copie du bras court
 - Equivaut à un gain 17q et une perte 17p

LES ANOMALIES DE STRUCTURE LES TRANSLOCATIONS			
	Description	<ul style="list-style-type: none"> Échange de segments chromosomiques entre deux chromosomes non homologues Cassure sur les deux chromosomes Anomalie équilibrée ou déséquilibrée 	
	Exemple	<ul style="list-style-type: none"> Translocation réciproque équilibrée entre 5q et 20q 	
	Description	<ul style="list-style-type: none"> Implique deux chromosomes acrocentriques Perte des bras courts des deux chromosomes non homologues Fusion des bras longs 	
	Conséquence	<ul style="list-style-type: none"> Pas de conséquence directe pour le sujet porteur de la translocation car les bras courts des autres acrocentriques compensent la perte d'un bras court 	
	Exemple	<ul style="list-style-type: none"> Translocation entre les chromosomes 14 et 21 : 45, XX, t(14;21) 	

CONSEQUENCES DES ANOMALIES DE STRUCTURE	
	<ul style="list-style-type: none"> Les conséquences cliniques dépendent : <ul style="list-style-type: none"> Du nombre de gènes impliqués De l'importance fonctionnelle des gènes impliqués
	<ul style="list-style-type: none"> Translocation réciproque entre les chromosomes 9 et 22 → chromosome Philadelphie <ul style="list-style-type: none"> Gènes impliqués ABL sur chromosome 9 et BCR sur chromosome 22 Produit de la fusion des gènes ABL-BCR : protéine kinase anormale Clinique : leucémie myéloïde chronique
	<ul style="list-style-type: none"> Pas de conséquence pour le sujet porteur Production de gamètes normaux et anormaux <ul style="list-style-type: none"> Possibilité de trisomie ou de monosomie en fonction du gamète engagé dans la fécondation



LES ANOMALIES DE NOMBRE DES CHROMOSOMES

LES ANEUPLOÏDIES

	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Les aneuploïdies peuvent impliquer tous les chromosomes, mais seul un nombre limité est compatible avec la vie ▪ Conséquence de non-disjonctions chromosomiques de méiose  ou de mitose ▪ Homogènes ou en mosaïque 
	<p>Description</p> <ul style="list-style-type: none"> ▪ Pendant la formation des gamètes  ▪ Affectent les autosomes et les gonoosomes ▪ Les non-disjonctions chromosomiques peuvent survenir durant les deux divisions de la méiose
Non-disjonction de méiose I :	<ul style="list-style-type: none"> ▪ 100% des gamètes anormaux ▪ 50% seront disomiques ou hyperhaploïdes ▪ 50% seront nullisomiques ou hypohaploïdes <p>Méiose I</p> <p>Non disjonction</p> <p>Méiose II</p> <p>Disomique Nullisomique</p>
Non-disjonction de méiose II :	<ul style="list-style-type: none"> ▪ 50% de gamètes anormaux ▪ 25% seront disomiques ▪ 25% seront nullisomiques <p>Méiose I</p> <p>Non disjonction</p> <p>Méiose II</p> <p>Disomique Nullisomique Normal</p>
Conséquences après fécondation	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Monosomies homogènes ▪ Trisomies libres et homogènes  ○ Libre car les 3 chromosomes sont individualisés à l'inverse des translocations robertsonniennes

LES ANOMALIES DE NOMBRE : LES ANEUPLOÏDIES

LES MONOSOMIES

	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Au moment de la fécondation, un gamète anormal à 22 chromosomes qui s'unit avec un gamète normal à 23 chromosomes donne un zygote à 45 chromosomes porteur d'une monosomie pour le chromosome manquant
	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Concernant les <u>autosomes</u> : expulsion de l'œuf : fausses couches spontanées  ▪ Concernant les <u>gonoosomes</u> : <ul style="list-style-type: none"> ○ Un zygote 45, Y0 : expulsion de l'œuf ○ Un zygote 45, X0 : Syndrome de Turner

LES ANOMALIES DE NOMBRE : LES ANEUPLOÏDIES
LES TRISOMIES

	<ul style="list-style-type: none">■ Si un gamète anormal à 24 chromosomes s'unit avec un gamète normal à 23 chromosomes, il y a formation d'un zygote anormal à 47 chromosomes porteur d'une trisomie■ Les trisomies des autosomes les mieux tolérées concernent les chromosomes 13, 18 et 21
	<ul style="list-style-type: none">■ Syndrome de Down■ La plus fréquente : incidence 1/650■ 92% de trisomies libres homogènes■ Tableau clinique :<ul style="list-style-type: none">○ Malformations cardiaques○ Malformation de la face○ Retard mental○ Pli palmaire médian○ Écartement caractéristique au niveau du pied
	<ul style="list-style-type: none">■ Incidence moindre que la trisomie 21 : 1/8000 – 1/15000■ 95% des fœtus décèdent <i>in utero</i> : fausses couches spontanées■ Survie de quelques jours après la naissance■ Tableau clinique :<ul style="list-style-type: none">○ Malformations cérébrales○ Dysmorphie faciale○ Anomalies oculaires○ Polydactylie postaxiale○ Malformations viscérales○ Retard psychomoteur
	<ul style="list-style-type: none">■ Incidence plus faible que la trisomie 21 : 3/10000 – 1/6000■ 95% aboutissent à des avortements spontanés■ Survie relativement courte après la naissance
	<ul style="list-style-type: none">■ Chez la femme, une trisomie 47, XXX : sans signe particulier, développement normal■ Chez l'homme : une trisomie 47, XYY : sans signe particulier, développement normal■ Chez l'homme : une trisomie 47, XXY : syndrome de Klinefelter ☀<ul style="list-style-type: none">○ Incidence importante : 1/1000○ Les signes cliniques apparaissent à la puberté○ Atrophie testiculaire○ Gynécomastie○ Azoospermie ☀○ Anomalie homogène dans 85% des cas, sinon en mosaïque■ Dans ces trisomies, les chromosomes X surnuméraires sont inactivés sous forme de corpuscules de Barr ☀

L'HYBRIDATION *IN SITU* EN FLUORESCENCE FISH

	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Méthode de base de la cytogénétique moléculaire ▪ Permet de visualiser des séquences d'acides nucléiques au niveau cellulaire ▪ Basée sur les propriétés de la molécule d'ADN
	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Basé sur la propriété de réassocation spécifique des acides nucléiques : <ul style="list-style-type: none"> ○ Molécule d'ADN double brin ○ Associée par complémentarité de bases ○ Appariement assuré par les liaisons hydrogène : A=T ; G≡C ○ Possibilité de dissociation et de réassocation des deux brins : <ul style="list-style-type: none"> – Séparation des deux brins par cassure des liaisons hydrogène entre les bases – Réassociation dans certaines conditions avec hybridation d'une sonde sur sa cible ▪ Cible : fragment d'ADN que l'on souhaite caractériser ▪ Sonde : petit fragment d'ADN de séquence connue portant une molécule fluorescente
	<ul style="list-style-type: none"> ▪ <u>Sondes locus-spécifiques</u> : <ul style="list-style-type: none"> ○ Spécifique d'un gène ou d'une région chromosomique ▪ <u>Sondes de séquences répétées</u> sur le chromosome : <ul style="list-style-type: none"> ○ Sonde centromérique ou télomérique ▪ <u>Peinture chromosomique</u> : <ul style="list-style-type: none"> ○ Sonde spécifique d'un chromosome entier ○ Sonde spécifique d'un bras
	<ol style="list-style-type: none"> 1. Dénaturation de la sonde et de la cible 2. Hybridation de la sonde avec la cible 3. Lavages pour éliminer les fixations non spécifiques 4. Observation au microscope à fluorescence : le nombre et la localisation des signaux sont analysés
	<ul style="list-style-type: none"> ▪ <u>Exemple de dépistage d'une délétion</u> : <ul style="list-style-type: none"> ○ Noyau normal : 2 signaux verts locus A témoin + 2 signaux rouges locus B étudié ○ Absence de signal = absence de locus = délétion chromosomique ⓘ <ul style="list-style-type: none"> – Un signal rouge : délétion hétérozygote – Aucun signal rouge : délétion homozygote ⓘ ▪ <u>Exemple de dépistage d'une trisomie 21</u> : <ul style="list-style-type: none"> ○ Utilisation d'une sonde rouge spécifique du chromosome 21 ⓘ ○ Utilisation d'une sonde verte spécifique du chromosome 13 ⓘ ○ On observera 3 signaux rouges et 2 signaux verts dans les cellules trisomiques
	<ul style="list-style-type: none"> ▪ <u>Exemple de l'utilisation de sondes de fusion</u> : <ul style="list-style-type: none"> ○ Utilisation de sondes situées de part et d'autre du point de cassure ○ Cellules normales : 2 signaux pour chaque locus distinct ○ Lors d'une translocation : fusion des signaux au niveau des chromosomes transloqué ▪ <u>Exemple de dépistage d'une translocation par « Break apart »</u> : <ul style="list-style-type: none"> ○ Utilisation de sondes situées de part et d'autre du point de cassure ○ Les cellules normales présentent 2 signaux de fusion ○ Une translocation sépare les signaux : signal dit split ○ Avantage : pas de nécessité de connaître le partenaire de translocation

