

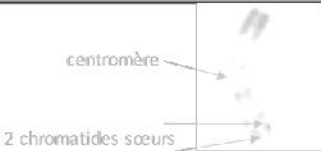


UE 1B :
Biomolécules, génome, bioénergétique,
métabolisme

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 		
	<ul style="list-style-type: none"> ▪ La position du centromère permet de séparer le chromosome en deux bras : <ul style="list-style-type: none"> ○ Le bras court p ○ Le bras long q ⚡ 		
	▪ En fonction de la position du centromère et de la longueur des bras courts et longs		
	Métacentrique	▪ longueur p et longueur q sensiblement égales ⚡	
	Submétacentrique	▪ longueur 2p = longueur q ⚡⚡	
	Acrocentrique	▪ p très court par rapport à q ⚡⚡	

STRUCTURE DU CHROMOSOME MÉTAPHASIQUE

- **Constriction primaire**
 - Visible du stade de prophase à celui de métaphase
- **Composé d'hétérochromatine constitutive formée essentiellement d'ADN satellite**
 - 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**

- 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 associée 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

1. **Prélèvement** des cellules : à partir de sang périphérique, de liquide amniotique, des villosités chorales, cellules tumorales...
2. **Culture** des cellules *in vitro* car besoin de **cellules en division**
3. **Blocage des cellules en métaphase** et **fixation** des cellules → préparation d'un **culot cytogénétique**
4. **Étalement** sur une lame de microscopie
5. Application d'une technique de **coloration**
6. **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

- Fait apparaître sur les chromosomes une alternance de bandes transversales :
 - Faiblement colorées : bandes claires
 - Fortement colorées : bandes sombres
- Profil des bandes :
 - 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...

Bandes G
Giemsa

- Obtenues par dénaturation douce enzymatique suivie d'une coloration Giemsa
- **Bandes G sombres** :
 - Riches en bases AT
 - Zones pauvres en gènes
 - Chromatine condensée
 - Condensation précoce en prophase
 - Réplication tardive en phase S

Bandes R
Reverse

- Obtenues par dénaturation thermique suivie d'une coloration Giemsa
- Motifs inverses aux bandes G
- **Bandes R sombres** :
 - Riches en CG ☼
 - Zones à nombreux gènes ☼
 - Chromatine peu condensée ☼
 - Condensation tardive en prophase
 - Réplication précoce en phase S

Bandes C

- Marquage sélectif de l'hétérochromatine constitutive
- Marquage essentiellement au niveau des centromères
 - Notamment les chromosomes 1, 9, 16
- Marquage du bras long de Y (Yq)

Bandes NOR

- Révélation des régions des organisateurs nucléolaires sur les bras courts des chromosomes acrocentriques :
 - 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 héritées</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 gonosomes ▪ Les anomalies chromosomiques peuvent porter : <ul style="list-style-type: none"> ○ Sur le nombre des chromosomes ○ Sur la structure des chromosomes


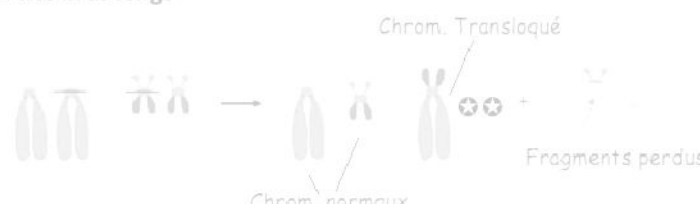
LES ANOMALIES DE STRUCTURE DELETION TERMINALES OU INTERSTITIELLES (DEL)	
	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Perte d'un fragment chromosomique ▪ Anomalie impliquant un seul chromosome ▪ Anomalie déséquilibrée ☹☹
	<div> <div> <ul style="list-style-type: none"> ▪ Délétion interstitielle : perte à l'intérieur d'un bras ☹ ▪ Délétion terminale : perte d'une extrémité d'un bras chromosomique ☹ </div> <div> </div> </div>
	<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
	<div> <div> <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 </div> <div> </div> </div>

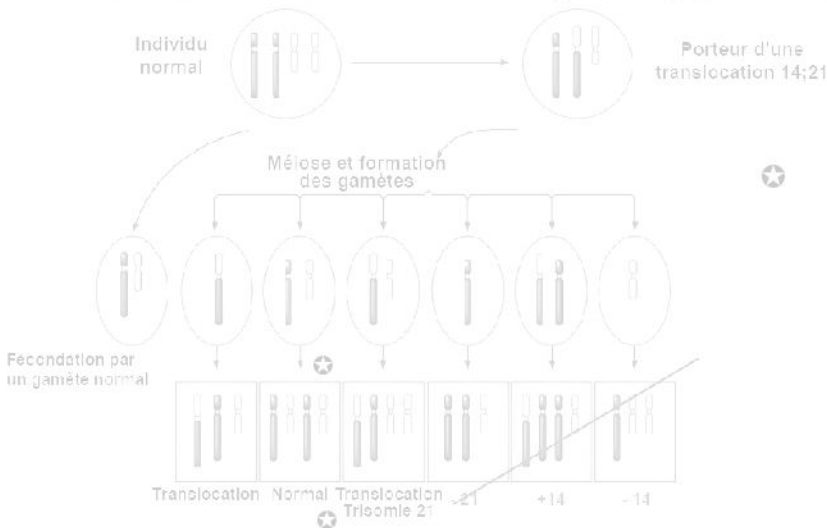
LES ANOMALIES DE STRUCTURE DUPLICATION (DUP)	
	<ul style="list-style-type: none"> Le chromosome subit deux points de cassure Région présente en double exemplaire Anomalie impliquant un seul chromosome Il s'agit d'une anomalie déséquilibrée 2 types : <ul style="list-style-type: none"> duplication en tandem : même orientation duplication en miroir : orientation opposée

LES ANOMALIES DE STRUCTURE CHROMOSOME EN ANNEAU (R)	
<ul style="list-style-type: none"> 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)	
	<ul style="list-style-type: none"> 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
<ul style="list-style-type: none"> Isochromosome de bras court Isochromosome de bras long 	 <p>Isochromosome du bras long ou Isochromosome du bras court</p>
	<ul style="list-style-type: none"> Isochromosome 17q Le caryotype contient : <ul style="list-style-type: none"> 3 copies du bras long 1 copie du bras court Equivalut 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	▪ 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	▪ 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	▪ 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 ☼ 		
	Description	<ul style="list-style-type: none"> Pendant la formation des gamètes ☼ Affectent les autosomes et les gonosomes 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 : 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 ☼ <ul style="list-style-type: none"> Libre car les 3 chromosomes sont individualisés à l'inverse des translocations robertsoniennes 	

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>gonosomes</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 tolérés 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 ○ Dymorphie 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 réassociation 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 réassociation 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"> ▪ Sondes locus-spécifiques : <ul style="list-style-type: none"> ○ Spécifique d'un gène ou d'une région chromosomique ▪ Sondes de séquences répétées sur le chromosome : <ul style="list-style-type: none"> ○ Sonde centromérique ou télomérique ▪ Peinture chromosomique : <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"> ▪ Exemple de dépistage d'une délétion : <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 ⚡ ▪ Exemple de dépistage d'une trisomie 21 : <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"> ▪ Exemple de l'utilisation de sondes de fusion : <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 	<p>Noyau d'une cellule normale</p> <p>Noyau d'une cellule transloquée</p> <p>* Chromosome normal Δ Chromosome transloqué</p>
	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Exemple de dépistage d'une translocation par « Break apart » : <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 	