

Chromosome et caryotype

Définition et généralités

L'étude du caryotype « classique » humain est l'étude des chromosomes à un stade maximum de condensation (chromosomes mitotiques en métaphase).

Caryotype sur des espèces diploïdes (2n chromosomes) ou haploïdes (n chromosomes).

Chez l'homme, $2n = 46$ chromosomes (22 paires d'autosomes + 1 paire de gonosomes)

Techniques d'étude

Le caryotype est réalisé sur **cellules somatiques**.

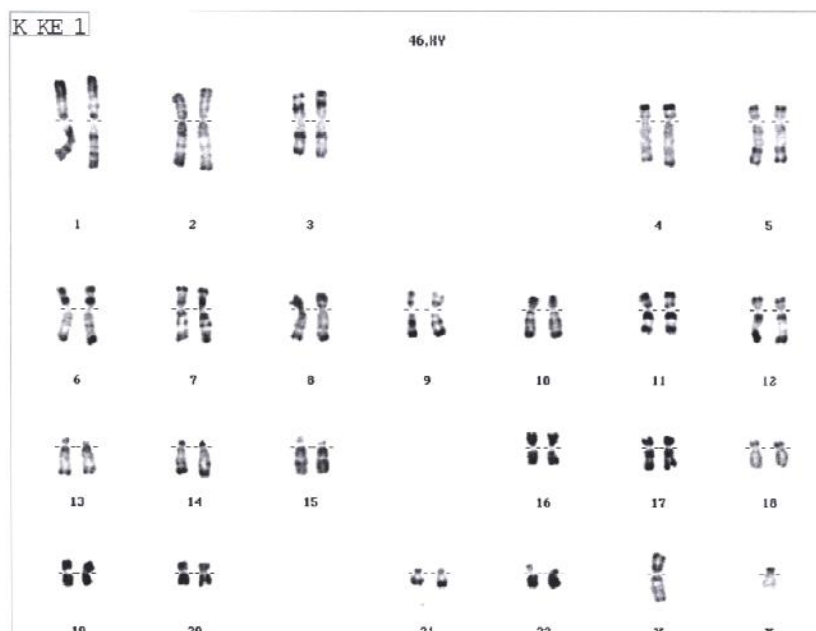
Les cellules sont isolées en mitose, généralement à la métaphase.

En biologie humaine :

- Réalisation sur lymphocytes
- Réalisation sur cellules fœtales : cellules amniotiques (amniocentèse, diagnostic prénatal)

Exemple d'un caryotypage sur lymphocytes

- Prélèvements de sang
- Mise en culture en présence de phytohémagglutinine (P.H.A.) : lectine se fixant sur les lymphocytes et provoquant leur différenciation en lymphoblastes (cellules en division)
- Synchronisation des cultures : blocage des cellules en métaphase avec de la colchicine
- Rupture des membranes cellulaires
- Coloration giemsa
- Photographie
- Appariement par paires des chromosomes et classement par taille décroissante

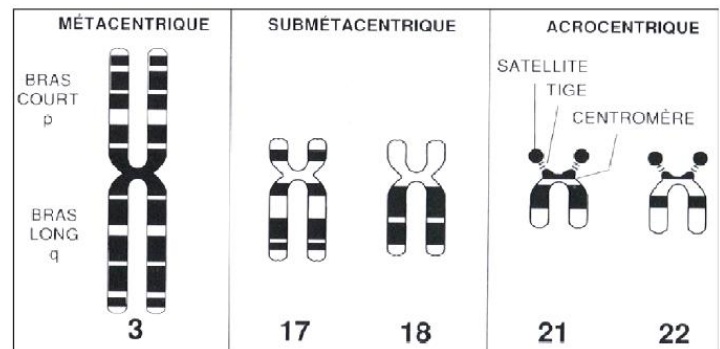
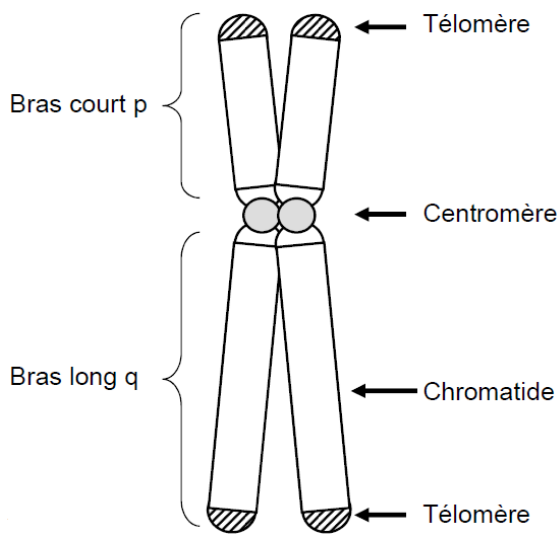


Critère d'identification des chromosomes

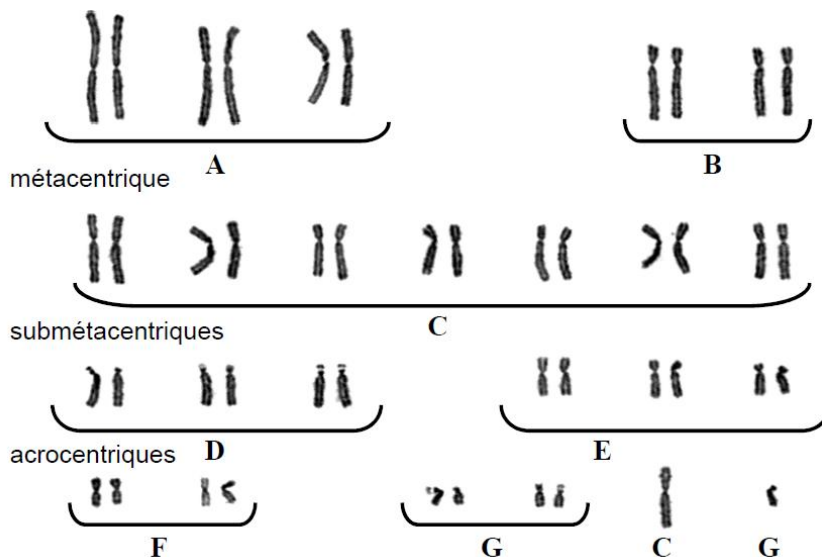
Après coloration standard (Giemsa)

Identification des chromosomes selon :

- La taille
- La place occupée par le centromère
 - Bras court (p) et bras long (q)
 - Indice centromérique : $Ic = \frac{p}{p + q}$
- Les constriction secondaires, région NOR
- Les séquences satellites
- Les télomères



Classement d'après la longueur et l'index centromérique



Les gonosomes

- **Le chromosome X**

Il contient beaucoup de gènes.

Chez la femme (XX), il se comporte comme un autosome et un des deux X est sous forme d'hétérochromatine (corpuscule de Bahr).

- **Le chromosome Y**

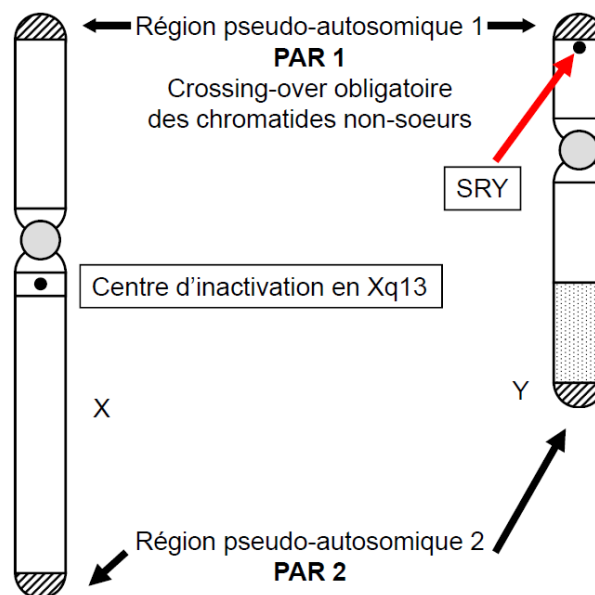
Il contient très peu de gène.

On retrouve sur son bras court un gène codant pour le **déterminisme sexuel** : le **gène SRY**

L'appariement XX est identique aux autosomes.

L'appariement XY est **partiel** : appariement au niveau des régions pseudo-autosomiques PAR 1 et PAR 2.

En méiose, crossing over obligatoire en PAR 1 : permet d'éviter de perdre les chromosomes au moment de la 1^{ère} division méiotique.



Mise en évidence de bandes chromosomiques

- **Marquage global des chromosomes**

Traitement au préalable avec une **coloration Giemsa** puis traitements physico-chimiques (AT/GC) des chromosomes.

⇒ Succession de bandes horizontales +/- fortement colorées caractéristiques d'une paire chromosomique

Cette coloration est **reproductible** d'une mitose à une autre.

Elle est **caractéristique d'une espèce donnée**.

Le nombre de bandes est variable selon le degré de condensation de la chromatine :

- En métaphase : **300-500 bandes** soit une résolution de 5-10 Mpb (Méga base)

Mise en évidence des bandes G : par digestion enzymatique ménagée puis coloration Giemsa

Mise en évidence des bandes Q : par fluorescence (quinacrine)

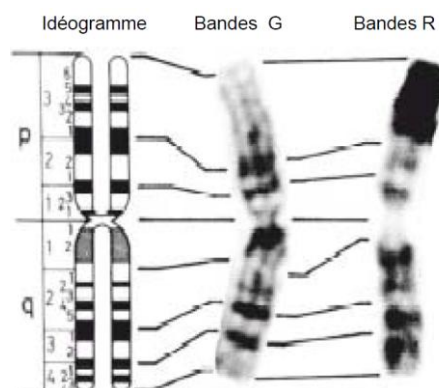
Les bandes G et Q sont équivalentes.

Ce sont des régions riches en A et T et qui présente une réplication tardive.

Mise en évidence des bandes R : par dénaturation thermique ménagée puis coloration Giemsa

« R » pour « Reverse » : coloration inverse des bandes G ou Q.

Ce sont des régions riches en G et C et qui présente une réplication précoce.



Techniques de haute résolution en prophase ou prométaphase : permet de voir plus de bandes

- **Marquage de régions particulières**

Mise en évidence des bandes C : par coloration Baryte + Giemsa

⇒ Marquage spécifique de l'**hétérochromatine** et donc coloration :

- Des centromères et constriction IIaire (1, 9 et 16)
- Des régions satellites des chromosomes acrocentriques
- Du bras long du chromosome Y

Mise en évidence des régions NOR : par coloration au nitrate d'argent

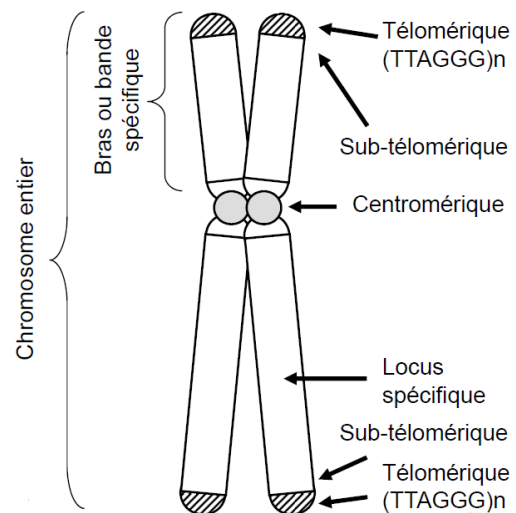
⇒ Marquage des **bras courts des chromosomes acrocentriques**

Cytogénétique moléculaire

- **Technique de FISH** (Fluorescence In Situ Hybridization)

C'est un marquage spécifique qui associe deux techniques : Cytogénétique et biologie moléculaire
Fondée sur l'**hybridation moléculaire** : association de l'ADN avec son brin complémentaire (sonde)
Principe : dénaturation de l'ADN (ouverture) et utilisation de **sondes moléculaires** fluorescentes (ADN ou ARN)

Les différents types de sondes ADN



Avantages

- Ne nécessite pas des cellules en division
- Applicable aux noyaux en métaphase et interphase sur de nombreux tissus
- Bonne résolution
- Bon outil de recherche

Inconvénient : étude ciblée conditionnée par le choix de la sonde (on ne trouve que ce que l'on cherche)

- **Autres techniques**

Hybridation génomique compétitive (CGH) : comparaison ADN test / ADN témoin

Puces à ADN : identification de nombreux loci (= locus) dans le génome

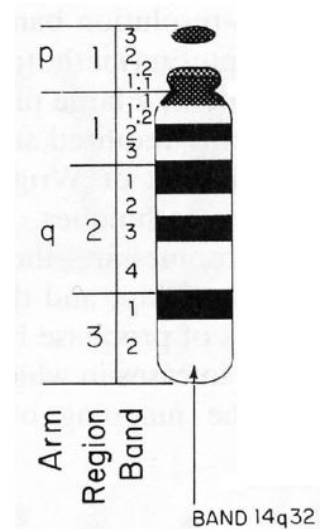
Séquençage du génome

Formulation du caryotype

Caryotype normal : 46 XY ou 46 XX

Caryotype anormal :

- Nombre de chromosomes
- Sexe chromosomique
- Description des anomalies chromosomiques
 - o Type : délétion, translocation, ...
 - o Repère chromosomiques : bras, région, bande



Anomalies chromosomiques

- **Constitutionnelle** (génétique) ou **acquise** (apparue durant la vie)
- **Équilibrée** (même nombre de gènes) ou **déséquilibrée** (nombre de gènes différents)
- **Homogène** (toutes les cellules portent l'anomalie) ou **en mosaïque** (une fraction seulement des cellules sont anormales)

Anomalies de nombre : chromosomes en plus ou en moins

Exemples : 47 XX,+21 ou 45,X ou 45 XX, -21 (monosomie 21)

Anomalies de structure

- **Translocation réciproque** (anomalie équilibrée) : échange entre 2 chromosomes
Exemples : 46 XX, **t**(3;21)(p13;q22)
- **Translocation robertsonienne** : fusion de 2 chromosomes acrocentriques
Exemple : 45 XY, **der**(14;21)(q10;q10)
- **Délétion** : perte d'un fragment chromosomique
Exemple : **del**(13)(q13q22) ou **del**(13)(q13)

Anomalies du caryotype

Anomalies du degré de ploïdie

Triploïdie : 69, XXX ou 69, XXY

⇒ Dispermie (2 spermatozoïdes ont fécondés l'ovocyte) : accident de la fécondation

Tétraploïdie

Anomalies du nombre de certains chromosomes : trisomie et monosomie

Origine de ces anomalies : non-disjonction chromosomique

Méiose : homogène, Mitose : en mosaïque

Trisomie des autosomes

Trisomie 21 ou Syndrome de Down (mongolisme)

Autres : Trisomie 18 et Trisomie 13

Trisomie des gonosomes

- XXY : syndrome de Klinefelter (47, XXY)
- XYY
- XXX

Monosomie 21

Monosomie X : syndrome de Turner (45, X0)

Anomalie de la structure des chromosomes

- **Anomalie d'un seul chromosome**

Délétion

Exemple : maladie du cri du chat (délétion en 5p)

Duplication

Inversion péracentrique (comprend le centromère) ou **paracentrique** (ne comprend pas le centromère)

Isochromosome (anomalie déséquilibrée) : perte d'un bras (et du télomère) et copie d'un autre bras de chromosome différent

- **Anomalie touchant 2 chromosomes ou plus**

Insertion

Translocation

- **Translocation réciproque** (anomalie équilibrée)
- **Translocation robertsionienne** (anomalie équilibrée) : fusion centrique sur des chromosomes acrocentriques

Anomalies cytogénétiques et pathologie humaine

- **Anomalies présentes dans les lignées germinales (constitutionnelles)**

Ces anomalies conduisent à des avortements spontanés, des fausses couches.

Maladies congénitales : anomalies de nombre ou de structure des chromosomes

Anomalies identifiées au niveau génique (mucoviscidose, drépanocytose, ...)

Anomalies congénitales et maladies malignes

- **Anomalies acquises**

Anomalies chromosomiques qui prédisposent à des leucémies et des cancers