



Université A.MIRA Bejaia
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie Physico-Chimique
Licence Génétique

Génétique des Eucaryotes

Chargée du module:
Dr. OURABAH A. epse BOUDJOUAN

2024-2025



Chapitre VI
Cytogénétique et mécanique
chromosomique



I. Marquages cytogénétiques

La cytogénétique est une discipline médicale et biologique qui étudie le matériel génétique organisé sous forme de chromosomes structurés, visibles et individualisés. Cette branche de la génétique a un intérêt double : fondamental pour comprendre l'organisation de la chromatine et la ségrégation du matériel génétique, et un intérêt pratique pour la caractérisation, par la réalisation du caryotype, des anomalies chromosomiques de nombre ou de structure, associées à certaines maladies génétiques comme des malformations congénitales, retard mental, troubles de la reproduction et cancers.

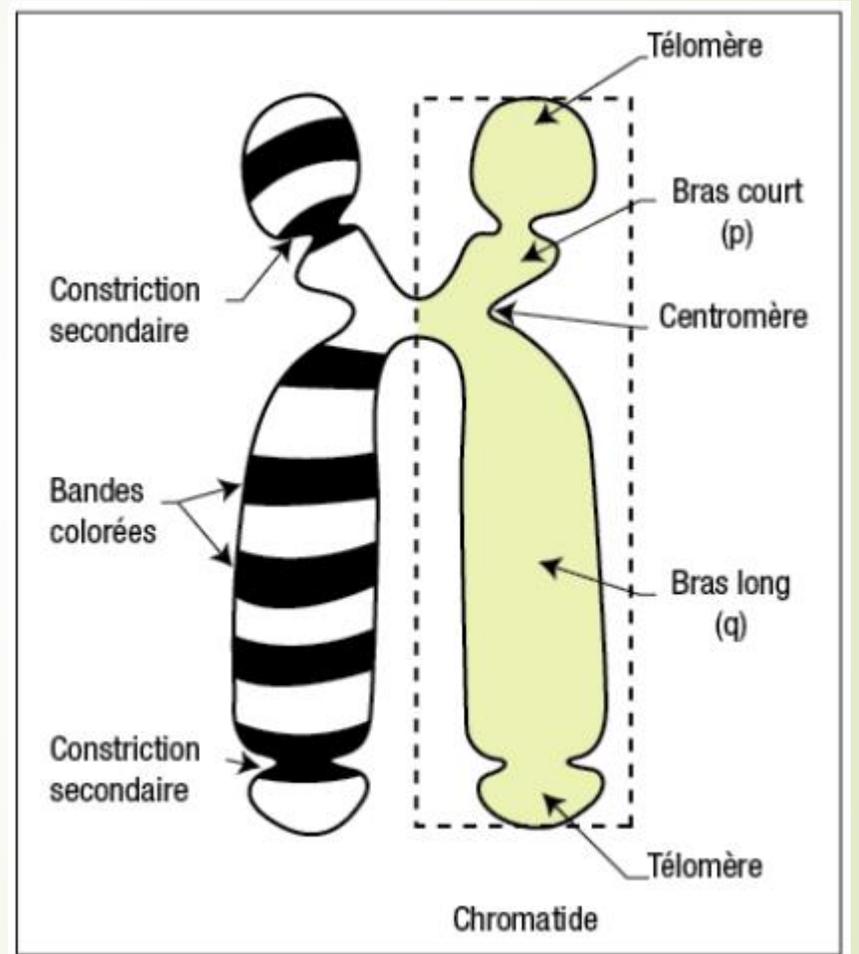
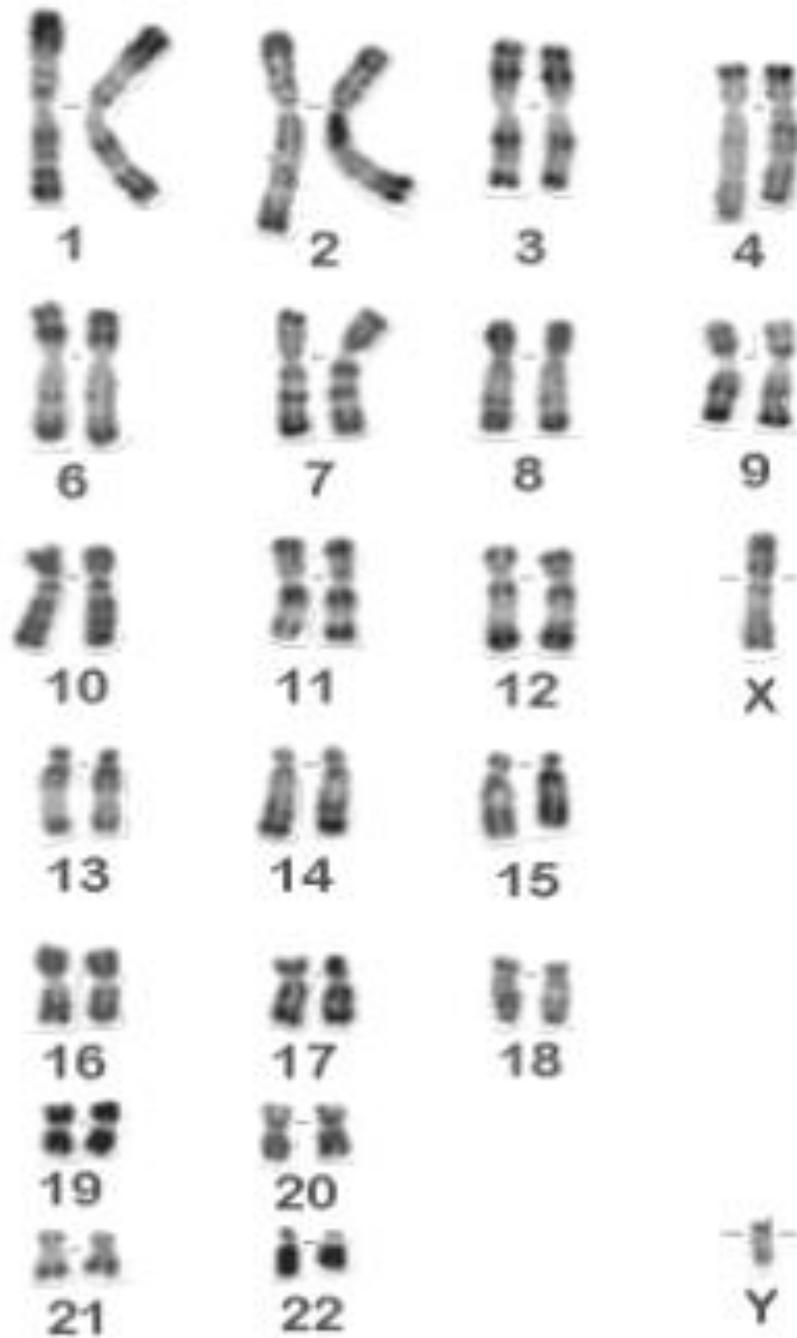


Les différentes catégories de la cytogénétique:

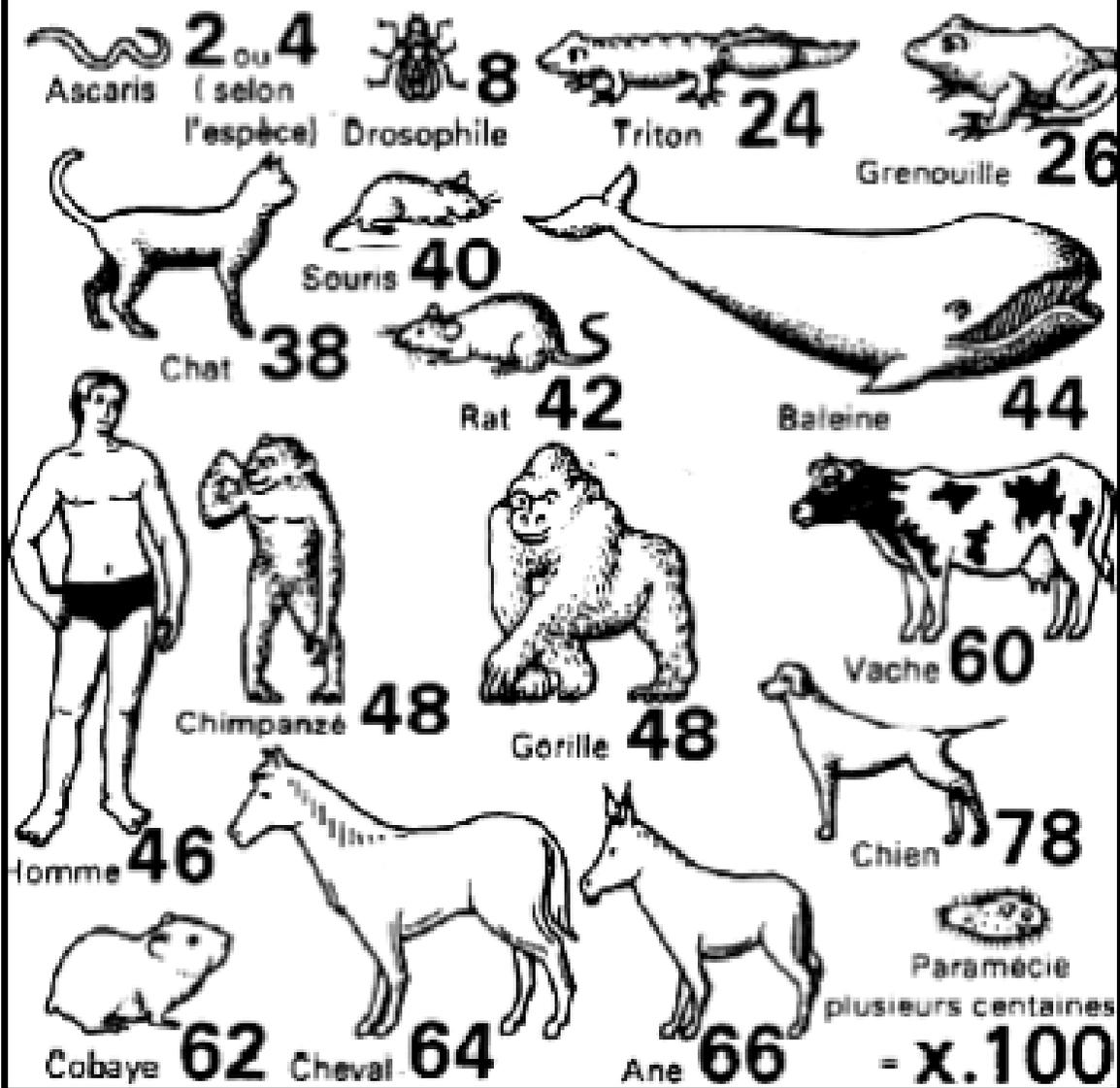
- **Cytogénétique conventionnelle ou classique** : elle étudie la totalité du génome de manière globale.
- **Cytogénétique moléculaire** : elle étudie les anomalies quantitatives ou structurales de l'ADN constituant les chromosomes. La cytogénétique moléculaire est représentée principalement par l'**Hybridation In Situ en Fluorescence (FISH)**.
- **Cytogénomique** : elle étudie quantitativement le génome entier après extraction de l'ADN, via la réalisation d'une **Hybridation Génomique Comparative sur micro réseaux « CGH array »** ou **puces ADN**.

Caryotype: ensemble complet diploïde des chromosomes d'une espèce, d'une cellule, classés par paires et par ordre décroissant de taille. Dans la majorité des cas, le caryotype standard est établi sur des cellules somatiques à partir de chromosomes métaphasiques. Le caryotype humain normal comporte 46 chromosomes : 22 paires d'autosomes, notés de 1 à 22 en fonction de leur taille décroissante et 1 paire de gonosomes (ou chromosomes sexuels) : XX chez le sujet féminin, XY chez le sujet masculin. Un caryotype normal en nombre est dit euploïde. Un caryotype anormal avec un chromosome en plus (trisomie) ou un chromosome en moins (monosomie) est dit aneuploïde.

L'étude du caryotype correspond au **dénombrement et à l'identification** de tous les chromosomes d'une cellule. Il est pratiqué le plus souvent sur des cellules en métaphase.



ANIMAUX



VEGETAUX

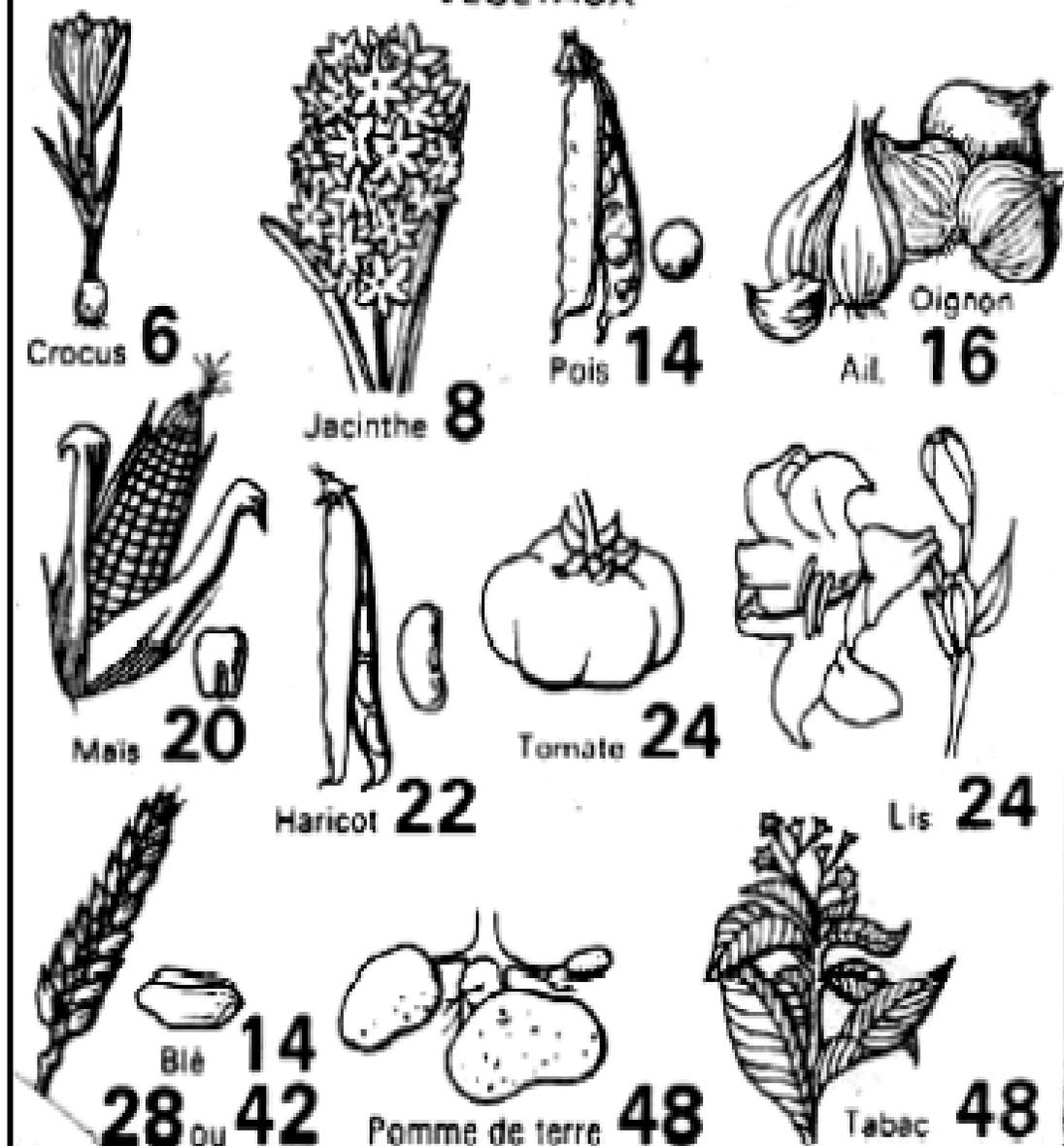


Tableau comparatif

| Critère | Mitose | Méiose |
|---|--------------------------------------|--|
| Type de cellule | Somatiques | Germinales (gamètes) |
| Nombre de divisions | 1 | 2 |
| Nombre de cellules filles | 2 | 4 |
| Nombre de chromosomes des cellules filles | Diploïde ($2n$) | Haploïde (n) |
| Rôle | Croissance, réparation, remplacement | Reproduction sexuée, diversité génétique |

Réalisation du caryotype

La réalisation d'un caryotype passe par les étapes suivantes:

1. Prélèvement des cellules

Différents prélèvements peuvent être utilisés :

- sang circulant (lymphocytes) ;
- moelle osseuse ;
- prélèvement de cellules foetales qui se fait soit dans le liquide amniotique, soit, via une ponction dans le placenta ou le cordon ombilicale ;
- biopsies cutanées.

2. Mise en culture

Le prélèvement est placé dans un milieu de culture constitué de diverses substances dont des substances **mitogènes** pour activer les mitoses et des antibiotiques (pour éviter une contamination bactérienne). Le prélèvement en culture est incubé dans une étuve à 37°C.

3. Blocage des cellules en métaphase.

Après multiplication des cellules, l'ajout de la colchicine au milieu de culture inhibe la formation du fuseau mitotique. Les cellules en division sont bloquées alors en métaphase : le meilleur stade pour étudier les chromosomes, car ils sont au maximum de condensation à ce stade.

4. Choc hypotonique.

Les cellules sont placées dans milieu hypotonique (constitué en majorité de sérum dilué ou KCl). Le choc hypotonique fait gonfler puis éclater les cellules. Ce qui permettra aux chromosomes de se disperser et de s'étaler.

5. Fixation.

Les chromosomes sont fixés par des mélanges d'alcool éthylique et d'acide acétique.

6. Coloration: La coloration des préparations chromosomiques avec du Giemsa, donne aux chromosomes un aspect rose violacé à peu près homogène sur toute leur longueur. Après coloration, les chromosomes sont classés et analysés.

Critères d'établissement du caryotype :

Les chromosomes colorés uniformément ne peuvent être distingués que par catégories **de taille**, ou par groupes en fonction de **la position du centromère**.

Dans la majorité des cas, le caryotype standard est établi à partir de chromosomes métaphasiques.

La position du centromère permet de distinguer un bras court et un bras long :

- Chromosomes **médiocentriques** ou **métacentriques** (centromères médians).
- Chromosomes **submétacentriques** (centromère au $\frac{1}{4}$ de la longueur).
- Chromosomes **acrocentriques** (bras courts quasi virtuels).

Les critères de classification permettent de distinguer 7 groupes de chromosomes :

- **Groupe A** : chromosomes **1, 2 et 3** (**chromosomes 1 sont les plus grands du caryotype**).
- **Groupe B** : chromosomes **4 et 5**.
- **Groupe C** : chromosomes **6 à 12** + le ou les chromosome(s) **X** dont la taille est voisine de celle d'un chromosome 6.
- **Groupe D** : chromosomes **13,14 et 15** (chromosomes acrocentriques).
- **Groupe E** : chromosomes **16, 17 et 18**.
- **Groupe F** : chromosomes **19 et 20**.
- **Groupe G** : chromosomes **21 et 22** (chromosomes les plus petits du caryotype, auxquels on adjoint le chromosome **Y**).

Principes d'identification chromosomique

Les chromosomes colorés uniformément ne peuvent être distingués que par catégories **de taille**, ou par groupes en fonction de **la position du centromère**. Cependant, ces critères sont insuffisants pour assurer la reconnaissance et l'interprétation correcte des anomalies chromosomiques.

Les méthodes d'identifications chromosomiques permettent de distinguer les chromosomes des uns des autres.

On distingue :

1. Les méthodes conventionnelles (cytogénétique conventionnelle).
2. Les méthodes moléculaires (cytogénétiques moléculaires).

1. Méthodes d'identification conventionnelles

Les préparations chromosomiques sont dénaturées afin d'obtenir la visualisation de bandes sur les chromosomes. Ces techniques, permettent la mise en évidence d'une striation en bandes transversales (alternance de bandes sombres et de bandes claires).

Le principe consiste à séparer les 2 chaînes d'ADN par des agents physico-chimiques ou enzymatiques. L'arrêt de ces traitements entraîne une réassociation des 2 chaînes en des points particuliers (renaturation). Puis on colore les lames au Giemsa.

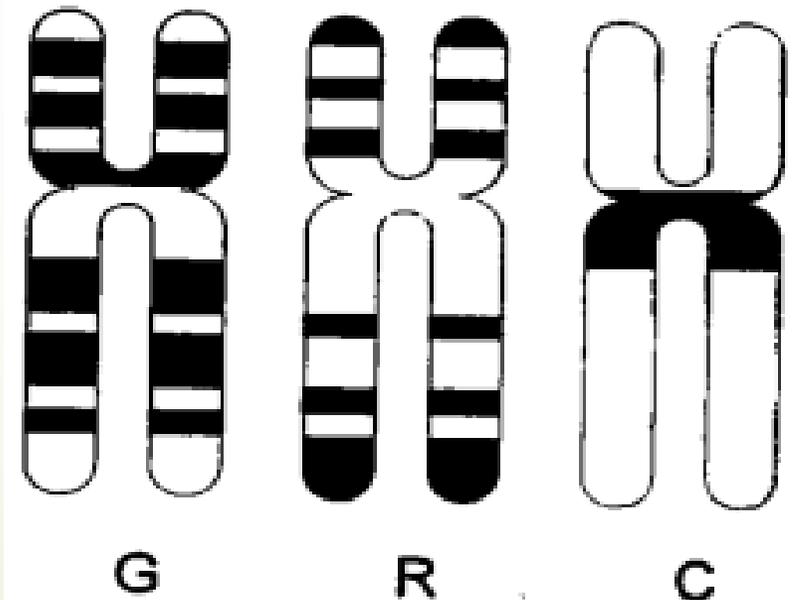
Cette méthode permet de classer les chromosomes selon leur taille, leur forme et leur nombre ainsi que la détection d'anomalie.

Il existe plusieurs types de techniques de marquage chromosomique en fonction du traitement utilisé:

-**Technique de bandes G** : les préparations chromosomiques sont traitées par la trypsine (une protéase) puis coloré avec Giemsa (bande claire puis foncé en alternance).

- **Technique de bandes R** : Lorsque les chromosomes sont prétraités par la chaleur avant la coloration au Giemsa, les bandes sombres et claires obtenues (bandes R) ont une distribution inverse de celle produite par les techniques de bandes G (bande foncé puis claire en alternance).

-**Technique de bandes C** : Les chromosomes sont dénaturé par l'hydroxyde de barium, puis coloré par le Giemsa. Cette méthode colore de façon spécifique les régions centromériques et d'autres régions contenant également l'hétérochromatine.



2. Méthodes d'identification moléculaires = cytogénétique moléculaire

Le seuil de résolution des techniques conventionnelles ne permet pas d'identifier des anomalies de petites tailles (inférieures à 5-10 Mb). Les méthodes de cytogénétique moléculaires sont basées sur la visualisation d'un chromosome donné ou d'une partie de chromosome donné en utilisant des sondes spécifiques rendues fluorescentes et qui s'hybrident avec leur cible selon le principe de complémentarité des bases.

2.1. L'hybridation in situ fluorescente (FISH):

Cette technique est utilisée pour détecter les anomalies chromosomiques.

Le principe de la FISH est basé sur l'hybridation efficace et spécifique de sondes d'ADN marquées aux fluorochromes avec des séquences nucléotidiques complémentaires dans l'ADN des chromosomes à étudier.

Les principales étapes de réalisation de la FISH :

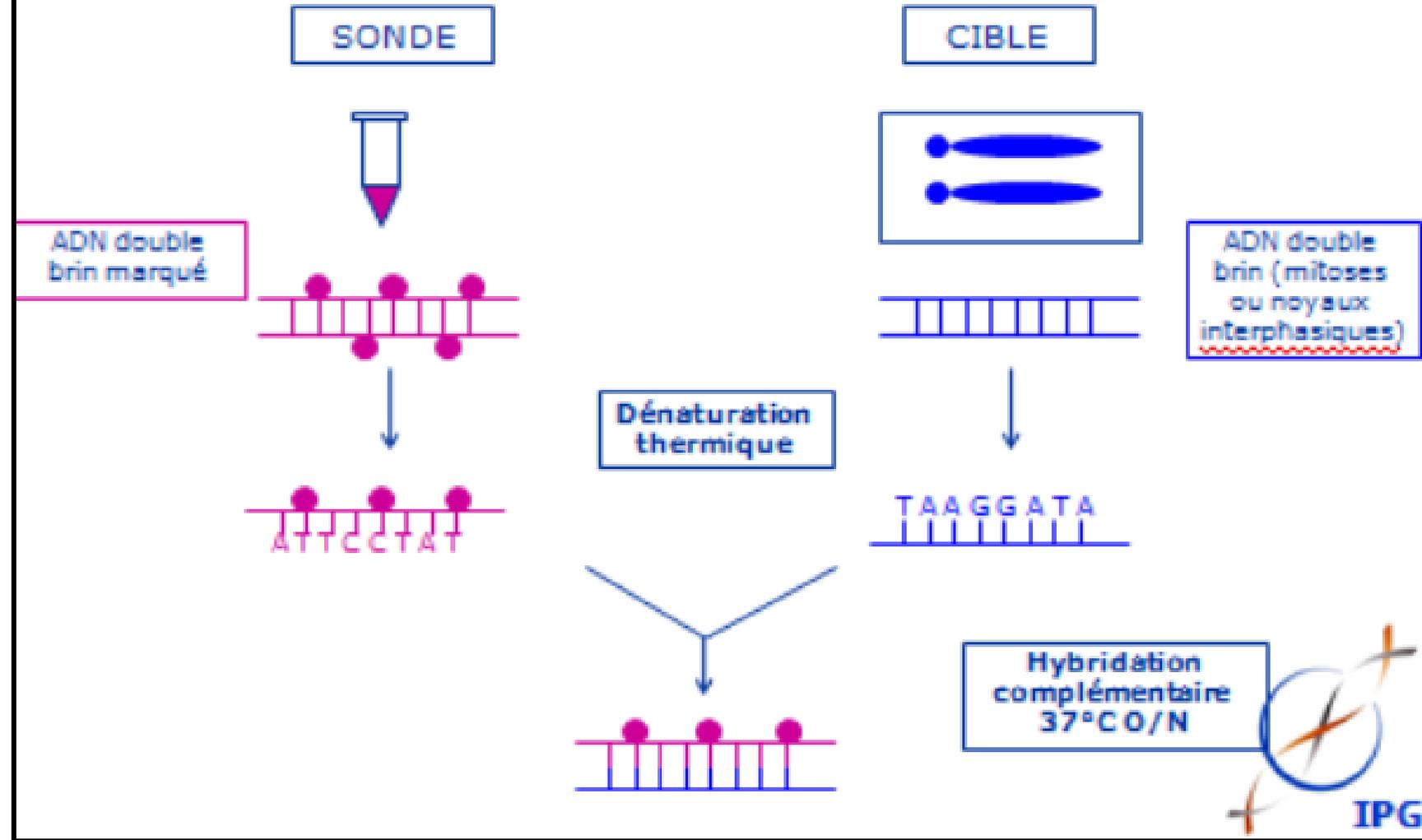
- Préparation chromosomique (techniques du caryotype classique)
- Dénaturation de la sonde et de l'ADN chromosomique
- Hybridation
- Détection des hybrides par une analyse microscopique



Différents types de sondes sont utilisées:

- **Sondes centromériques** : elles s'hybrident au niveau des centromères des chromosomes.
- **Sondes de peinture chromosomique** : elles sont constituées d'un ensemble de sondes de petite taille qui couvrent l'ensemble du chromosome. Après hybridation, on observe un marquage de tout le chromosome WCP (Whole Chromosome Painting).
- **Sondes locus spécifique** : comme leur nom l'indique, ces sondes de petite taille permettent d'identifier une région très précise du génome.

FISH : Principe



Elimination des
sondes non
spécifiquement fixées



Lavages

La sonde moléculaire
se fixe sur sa cible



Pas de sonde fixée
= délétion

Analyse au microscope en
épifluorescence (filtres adaptés
aux différents fluorochromes)



Types de fluorochromes

- **Exemples:**

| | excitation | émission |
|----------------|----------------------|----------------------|
| – Fluorescéine | 495nm (bleu-vert) | 525nm (vert) |
| – Rhodamine | 555nm (vert) | 580nm (orange) |
| – Texas Red | 595nm (rouge orangé) | 615nm (rouge) |
| – Cyanine-5 | 650nm (rouge) | 670nm (rouge sombre) |



Nomenclature des sondes

Il existe des sondes de l'ensemble du génome d'où l'existence d'une nomenclature pour identifier les sondes.

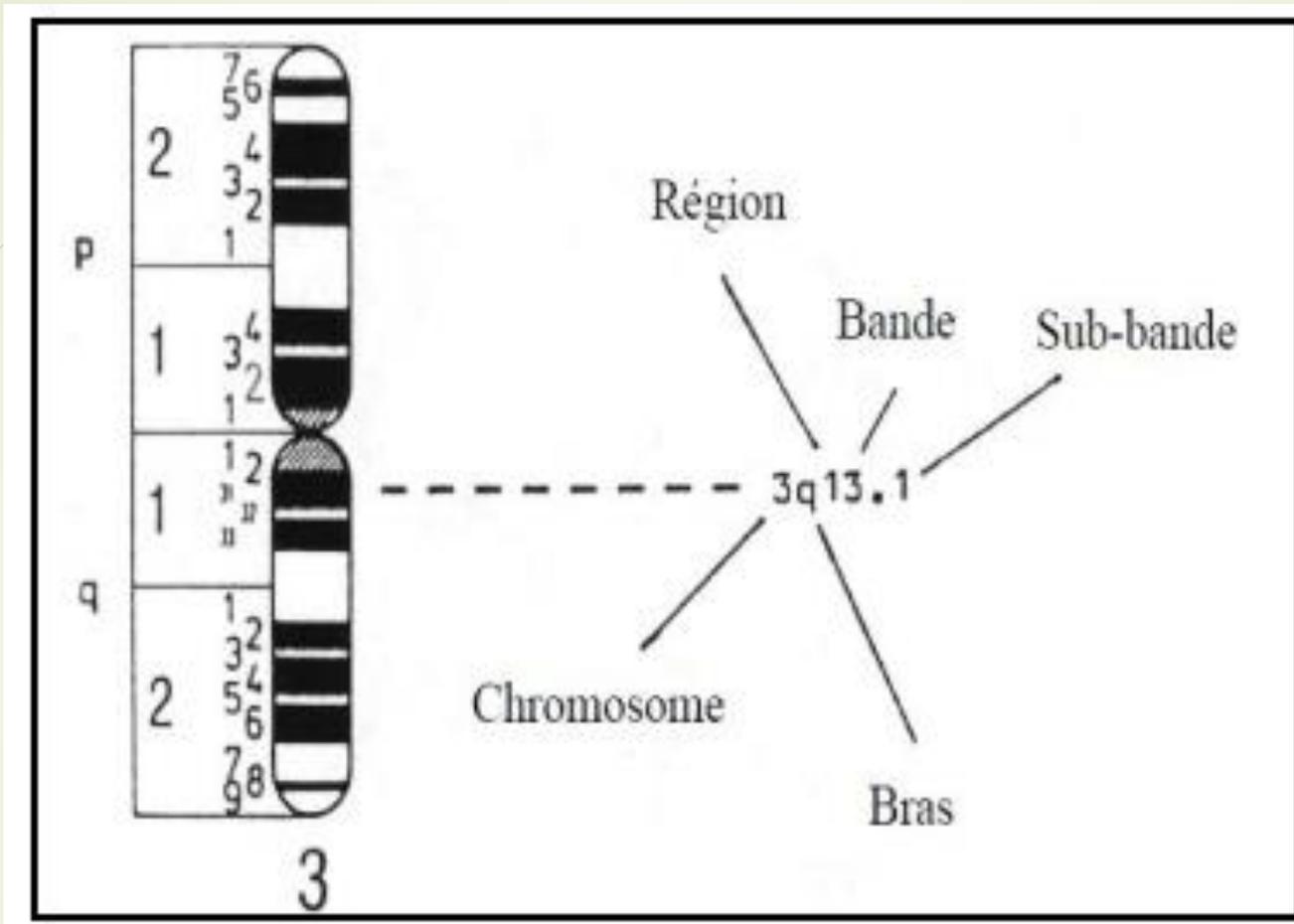
Exp :

Sonde **D22S75**

D = DNA, 22 = chromosome 22, S = DNA Satellite, 75 = n° de locus.

Sonde D15Z1

D = DNA, 15 = chromosome, Z = ADN répétitif, 1 = n° de locus



Idéogramme du chromosome 3

II. Anomalies et mécanique chromosomiques

Les anomalies chromosomiques sont des mutations rares qui entraînent des changements du nombre ou de la structure des chromosomes.

La classification des anomalies chromosomiques se fait:

❖ Selon leur nature :

- **Les anomalies de nombre** : affectent le nombre des chromosomes.
- **Les anomalies de structure** : impliquent une ou plusieurs cassures chromosomiques suivies d'une perte ou d'un réarrangement (recollement anormal) d'une partie du matériel génétique.

❖ Selon l'époque de leur apparition :

- Les anomalies constitutionnelles:

se produisent avant la fécondation, dans l'un des gamètes des parents, ou bien lors des premières divisions du zygote.

- Les anomalies acquises:

l'anomalie chromosomique se produit au cours de la vie d'un individu qui est né avec un caryotype normal

❖ Selon leur répartition dans l'organisme:

- **Les anomalies homogènes** sont présentes dans toutes les cellules de l'organisme.

- **Les anomalies en mosaïque** ne touchent qu'une partie des cellules de l'individu.



❖ **Selon les modifications apportées au phénotype:**

- **Anomalies «non équilibrées»** : perte ou gain de matériel génétique (visible au caryotype classique) dont la conséquence est décelable au niveau du phénotype.

- **Anomalies équilibrées** : on ne constate ni une perte ni un gain de matériel génétique.

Habituellement, ces anomalies n'ont pas d'effet phénotypique; sauf lorsqu'il s'agit d'une anomalie de structure, qui entraîne la cassure du chromosome au niveau d'un gène indispensable au développement normal.

La conséquence est une maladie génétique correspondante (→ = **anomalie équilibrée à phénotype anormal.**



ANOMALIES DE NOMBRE

Les anomalies de nombre affectent le nombre de chromosomes, on distingue :

- **L'aneuploïdie**
- **L'euploïdie**

1. Aneuploïdie

L'**aneuploïdie** est caractérisée par la présence de chromosomes en plus ou en moins dans une paire de chromosomes. Le nombre de chromosomes dans les autres paires reste inchangé. On distingue :

L'aneuploïdie par excès : qui correspond à un gain de chromosomes

- La trisomie [$2n + 1$]
- La tétrasomie [$2n + 2$]
- La pentasomie [$2n + 3$]....etc.

L'aneuploïdie par défaut : qui correspond à une perte de chromosomes

- La monosomie [$2n - 1$]
- La nullisomie [$2n - 2$]



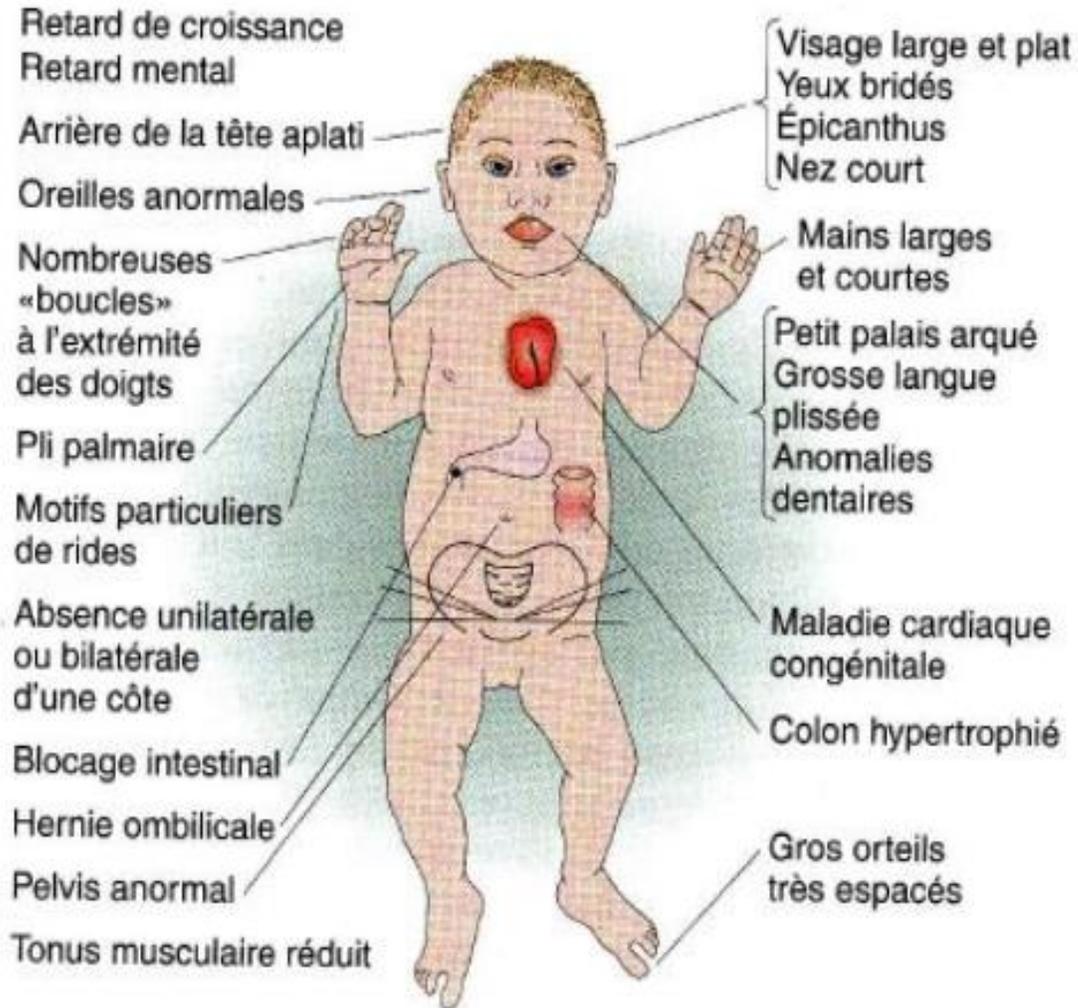
1.1. Fréquences des aneuploïdies

1.1.1. Fréquence des aneuploïdies autosomiques

Chez les humains **les trisomies autosomiques** complètes peuvent exister pour n'importe quel chromosome, mais elles sont rarement compatibles avec la vie. Les anomalies les plus fréquentes à la naissance sont :

- La trisomie 21 (**syndrome de Down**)
- La trisomie 18 (**syndrome d'Edward**)
- La trisomie 13 (**syndrome de Patau**)

Effets phénotypiques des aneuploïdies autosomiques



La trisomie 21 (Syndrome de Down)



La trisomie 13 (syndrome de Patau)

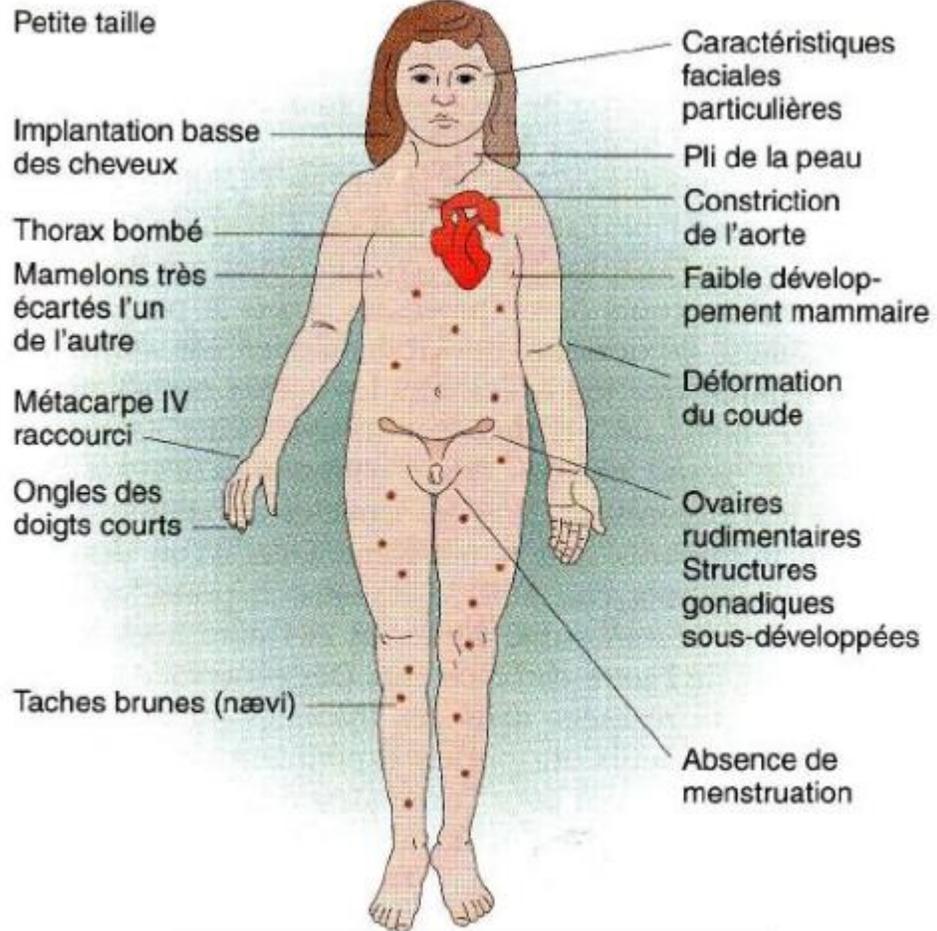
1.1.2. Fréquence des aneuploidies gonosomiques

Beaucoup plus fréquentes que les aneuploidies autosomiques, elles peuvent concerner aussi bien le chromosome X que le chromosome Y.

Chez les humains, les principales anomalies rencontrées à la naissance sont :

- **Le syndrome Triplo X (47, XXX)** L'individu atteint est une femme présentant un chromosome X supplémentaire.
 - **Le syndrome de Klinefelter (47, XXY)** l'individu atteint est un homme présentant un chromosome X supplémentaire.
 - **Le syndrome du double Y (47, XYY)** l'individu atteint est un homme, présentant un chromosome Y supplémentaire.
 - **La monosomie X** est responsable du **syndrome de Turner (45, XO)**, la personne atteinte est une femme ne possédant qu'un seul chromosome X.
 - On peut également avoir des anomalies de nombre plus importantes : 48,XXXX, 49,XXXXX ...etc.
- À noter que le retard mental est proportionnel au nombre d'X (surtout après 3).

Effets phénotypiques des aneuploïdies gonosomiques



Femme 45, X (Syndrome de Turner)

- Grande taille
- Physique légèrement féminisé
- QI légèrement affaibli

Tendance à la perte des poils de la poitrine

Implantation des poils pubiens de type féminins



Homme 47,XXY (Syndrome de Klinefelter)

2. Euploïdie

- On parle d'**euploïdie**, lorsque le nombre de chromosomes est augmenté ou diminué, mais l'équilibre entre lots de chromosomes homologues est conservé.

On peut théoriquement rencontrer des individus **monoploïdes** ou **polyploïdes**.

- **Monoploïdie** ($1n$) : état d'une cellule ou d'un organisme possédant le lot chromosomique de base où chaque chromosome est présent en un seul exemplaire.

- **Polyploïdie** : état d'une cellule ou d'un organisme possédant plus de deux chromosomes dans chacun de ses lots de chromosomes homologues. On peut rencontrer des individus :

- **Triploïde** ($3n$) [$2n + n$]

- **Tétraploïde** ($4n$) [$2n + 2n$]

- **Pentaploïde** ($5n$) [$2n + 3n$]

- **Hexaploïde** ($6n$) ; **heptaploïde** ($7n$) ; **octoploïde** ($8n$) ...etc

3. Mécanisme d'apparition des anomalies de nombres

3.1. Mécanisme d'apparition des aneuploïdies

Les aneuploïdies résultent d'une **non disjonction méiotique** ou **mitotique**. Une non-disjonction est la situation dans laquelle deux chromosomes (ou chromatides) homologues ne se séparent pas lors de l'anaphase, mais passent ensemble dans la même cellule fille, au lieu de migrer chacun dans une cellule fille.

Une non-disjonction méiotique produit des anomalies homogènes, alors qu'une non disjonction mitotiques produit des anomalies en mosaïque.

3.1.1. Non-disjonction méiotique

Cette non-disjonction peut se produire lors d'une division méiotique maternelle ou paternelle. Elle concerne deux chromosomes homologues, lors de la première division méiotique (anaphase I) ; ou deux chromatides-sœurs, lors de la deuxième division méiotique (anaphase II)

a) Non disjonction au cours de l'anaphase de la 1er division méiotique

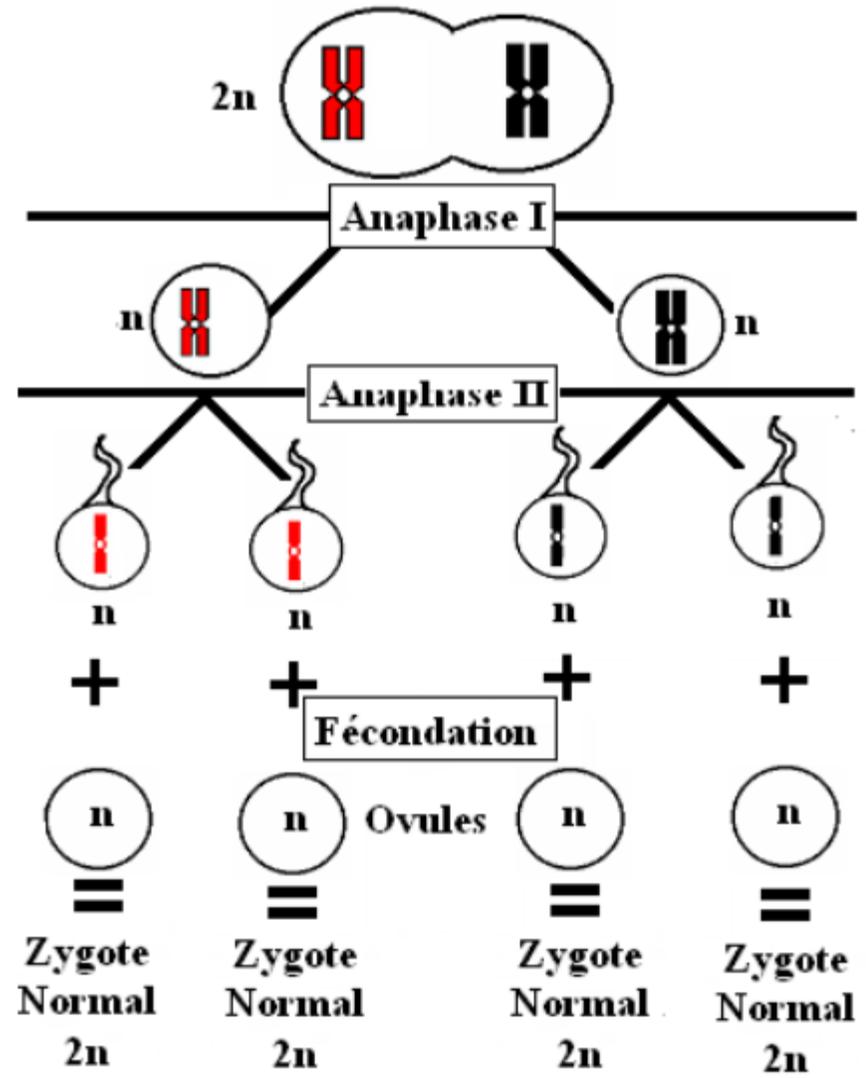
-Deux chromosomes homologues migrent ensemble vers un même pôle cellulaire = un gamète reçoit toute une paire de chromosomes homologues (un chromosome paternel et son homologue maternel).

b) Non disjonction au cours de l'anaphase de la 2ème division méiotique

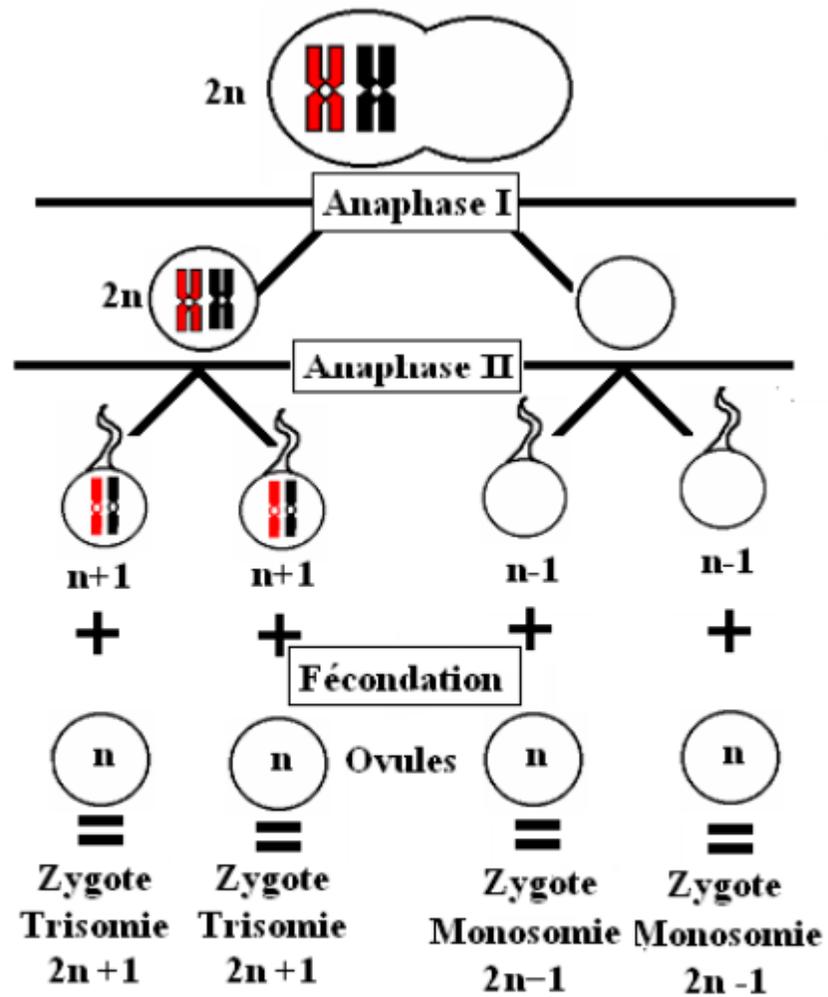
-Deux chromatides-sœurs migrent ensemble vers un même pôle cellulaire = un gamète reçoit les deux chromatides d'un même chromosome parental (maternel ou paternel).

Dans les deux types de non disjonction :

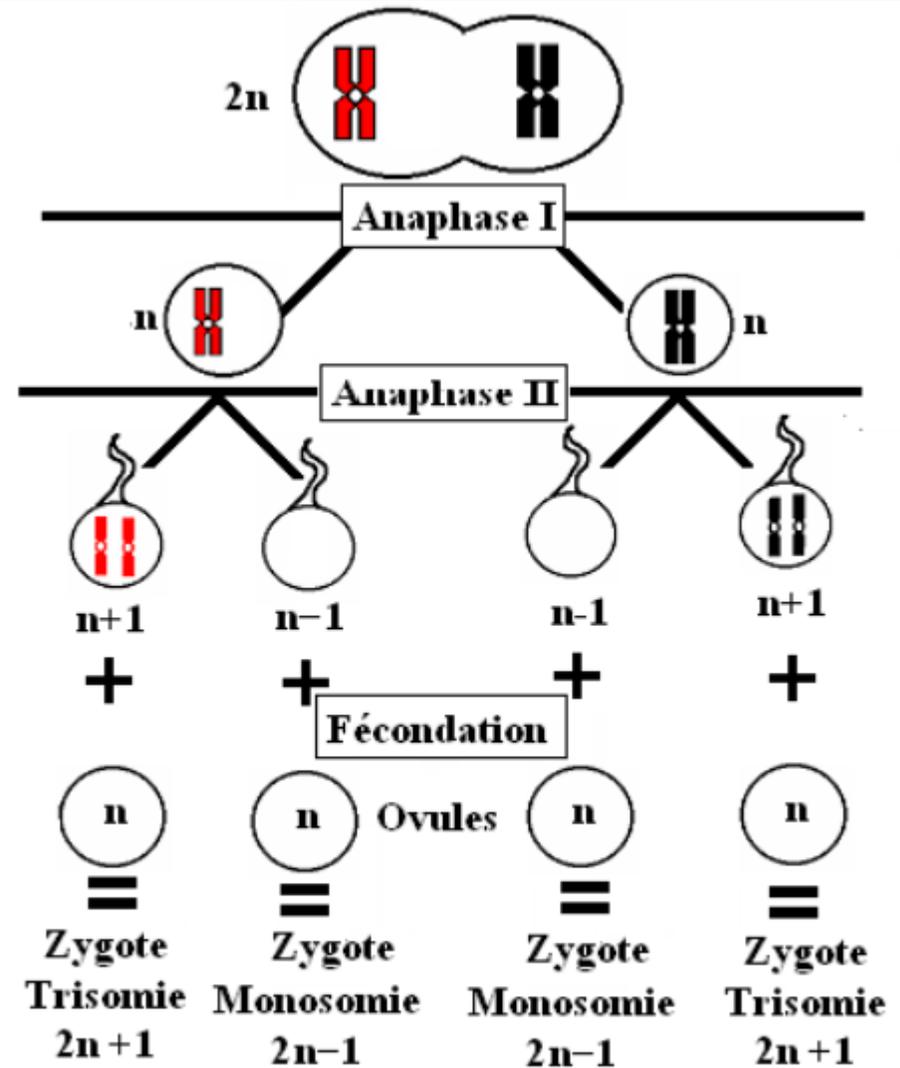
- Les gamètes possédant un chromosome (ou une chromatide) en excès produisent un zygote trisomique.
- Les gamètes possédant un chromosome (ou une chromatide) en moins produisent un zygote monosomique.



Disjonction normale des chromosomes



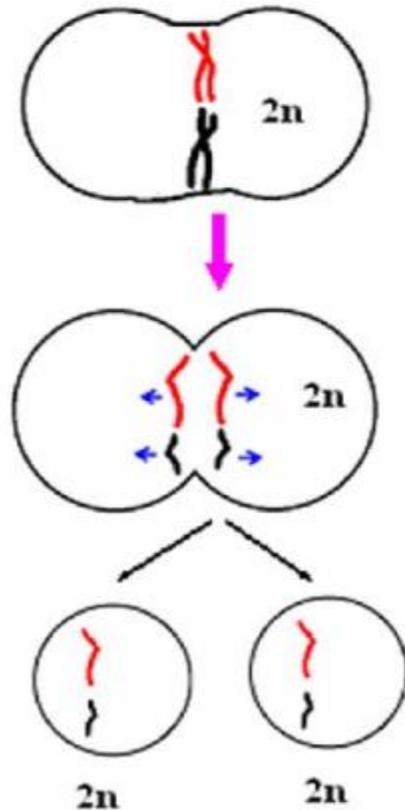
Non disjonction au cours de l'anaphase de méiose I



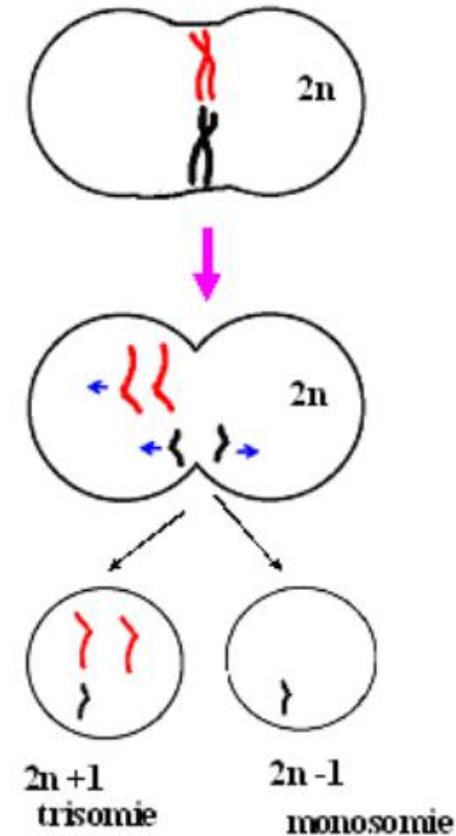
Non disjonction au cours de l'anaphase de méiose II

3.1.2. Non-disjonction mitotique

Lors de l'anaphase d'une mitose anormale, deux chromatide sœurs (appartenant à un même chromosome) migrent ensemble vers un même pôle cellulaire. La cellule fille qui reçoit les deux chromatides (une chromatide normale + une chromatide en excès) sera trisomique [$2n + 1$]. L'autre cellule fille qui ne reçoit pas la chromatide du chromosome en question sera monosomique [$2n - 1$]



Disjonction normale au cours de la mitose



Non disjonction au cours de la mitose

3.2. 1. Mécanismes d'apparition des polyploïdies

Les polyploïdies présentent un dédoublement naturel ou artificiel de leurs chromosomes suite à :

- la non-disjonction méiotique ;
- les accidents de la fécondation

a) Non-disjonction méiotique

Lors d'une méiose, la non-disjonction de tous les chromosomes homologues d'un parent, produit un gamète $2n$ qui donnera après fécondation un zygote polyploïde.

b) Accidents de la fécondation

Les triploïdies sont la conséquence fréquente d'accidents lors de la fécondation. On distingue deux mécanismes essentiels:

- La diandrie
- la digynie

La triploïdie par diandrie est plus fréquente (80 % des cas).

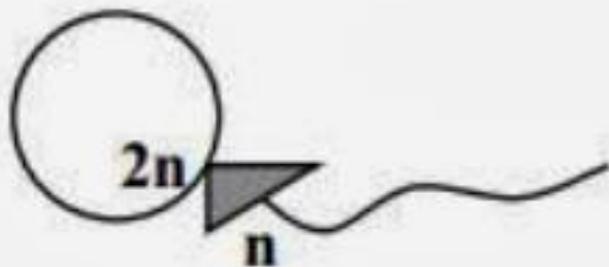
- **Triploïdie par diandrie** Le lot de chromosomes surnuméraires provient du père, deux mécanismes sont présentés :

- **La diplospermie** : fécondation de l'ovule haploïde ($1n$) par un spermatozoïde diploïde ($2n$).
- **La dispermie** : fécondation d'un ovocyte I par 2 spermatozoïdes haploïdes (n).

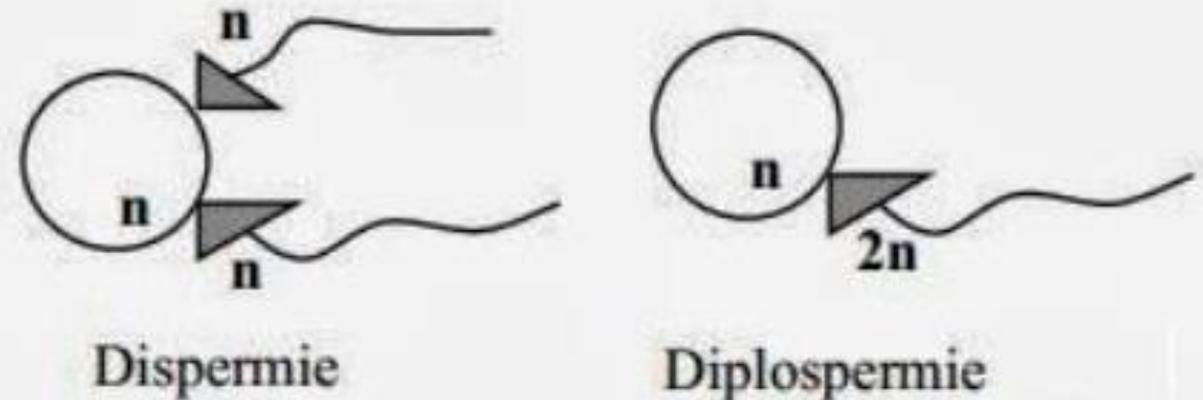
- **Triploïdie par digynie**

Le lot de chromosomes excédentaires est d'origine maternelle ; cette situation résulte souvent de l'absence d'émission du premier ou du deuxième globule polaire, aboutissant à la formation d'un ovocyte diploïde ($2n$) ; sa fécondation avec un spermatozoïde normal (n) donne un zygote triploïde ($3n$).

Dygénie



Diandrie



ANOMALIES DE STRUCTURE

1. Mécanisme d'apparition

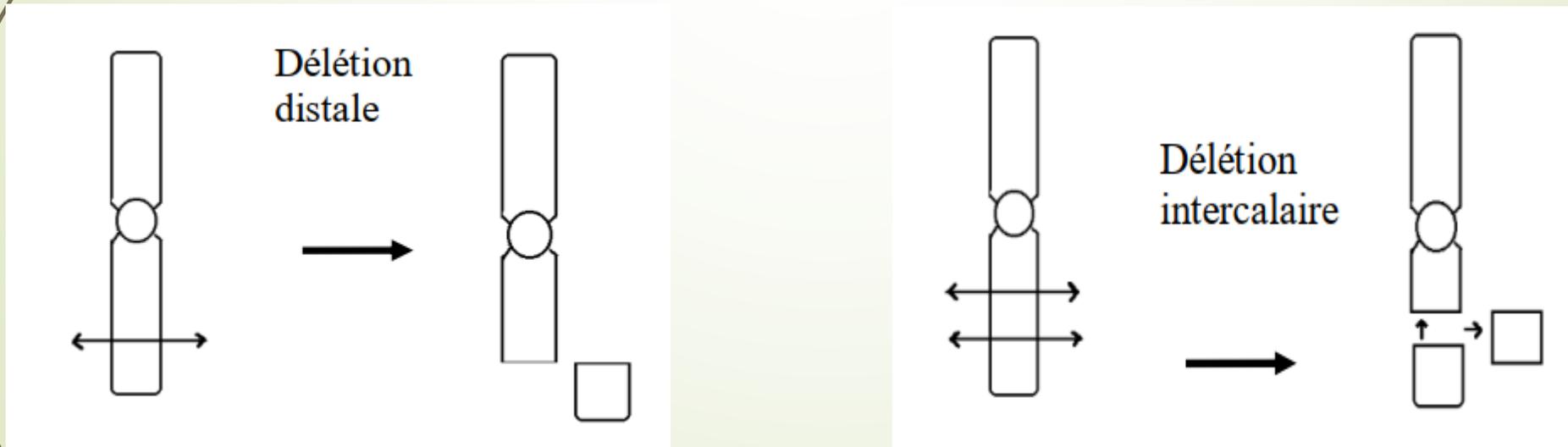
Les anomalies de structure sont des mutations qui résultent de cassures chromosomiques suivies par un ou plusieurs recollements anormaux. Elles peuvent affecter un chromosome ou deux chromosomes, parfois davantage.

2. Anomalies portant sur un seul chromosome

2.1. Délétion

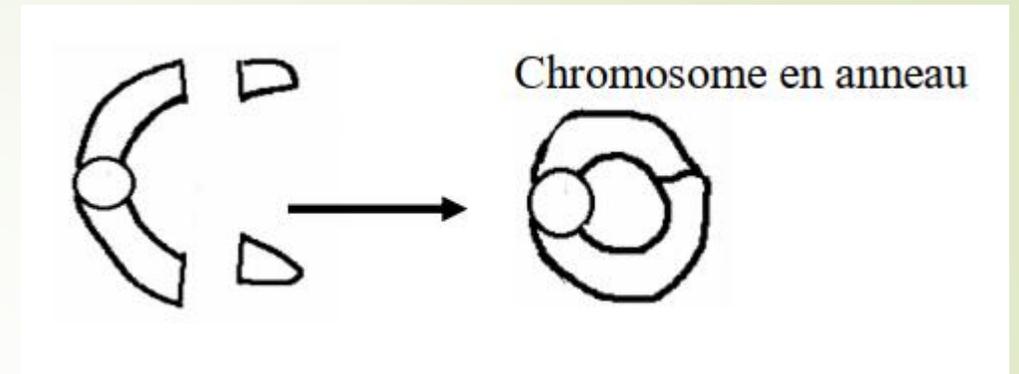
On distingue :

- La délétion terminale** : elle résulte d'un seul point de cassure entraînant la perte d'un segment distal du chromosome.
- Délétion intercalaire** : elle résulte de deux points de cassures sur un même bras chromosomique entraînant la perte du segment intercalaire.



2.2. Chromosome en anneau (r) (ring en anglais)

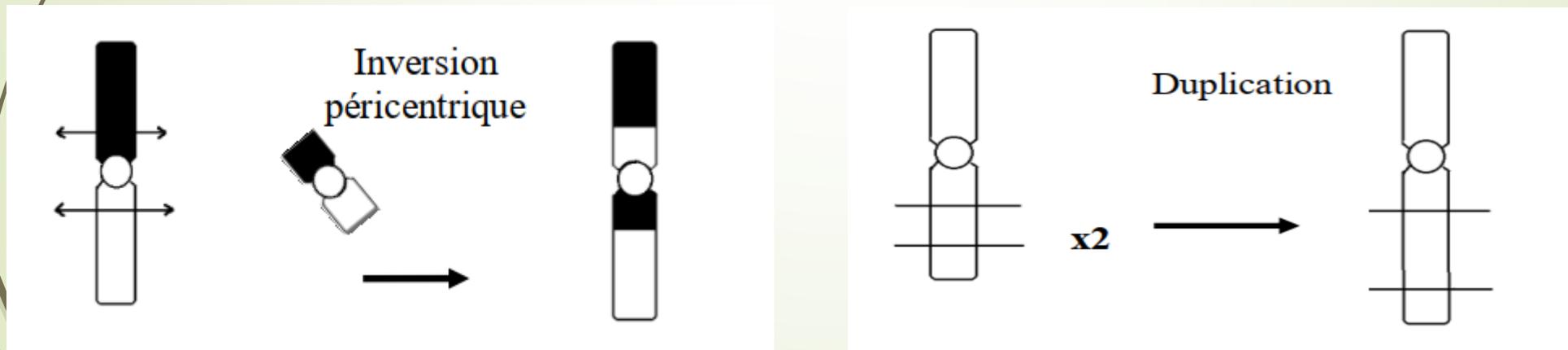
Il s'agit d'un chromosome anormal de forme circulaire qui résulte de la délétion des segments distaux du chromosome, suivi d'une fusion des extrémités libres du bras court et du bras long (par absence de télomères)



2.3. Inversion

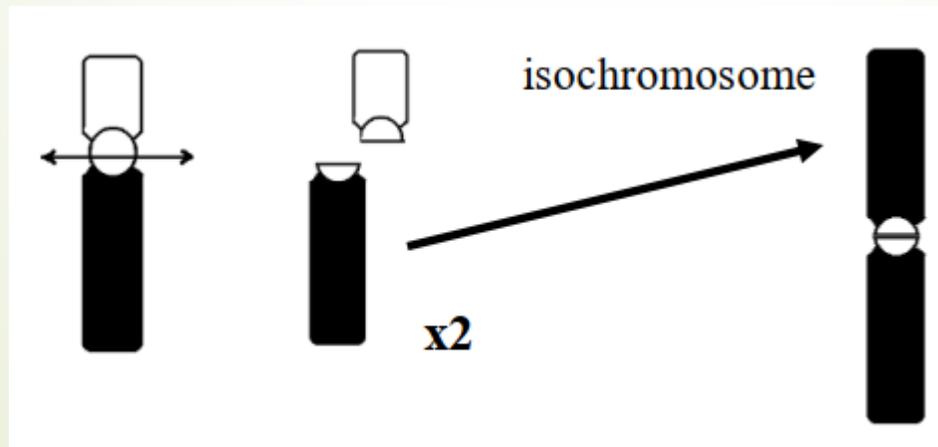
Elle est due à deux cassures sur un même chromosome, suivies du recollement après inversion du segment intermédiaire. On distingue :

- **Inversions péricentrique** : les deux cassures se produisent de part et d'autre du centromère.
- **Inversions paracentrique** : les deux cassures se produisent sur le même bras chromosomique.



3. Isochromosome

Chromosome qui a perdu l'un de ses bras qui sera "remplacé" par la duplication de l'autre bras. Ainsi un isochromosome est un chromosome anormal formé de deux bras longs ou de deux bras courts d'un même chromosome.



3. Anomalies portant sur deux chromosomes

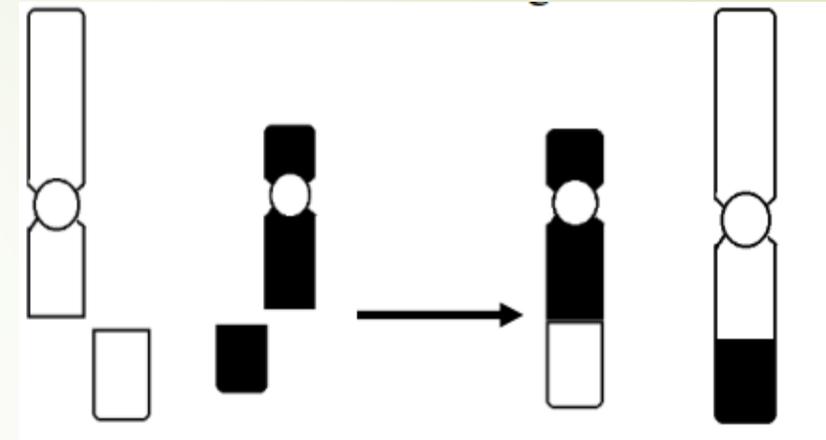
3. 1. Translocation

On distingue deux formes majeures de translocations :

- Translocation réciproque
- Translocation robertsonienne

→ **Translocation réciproque**

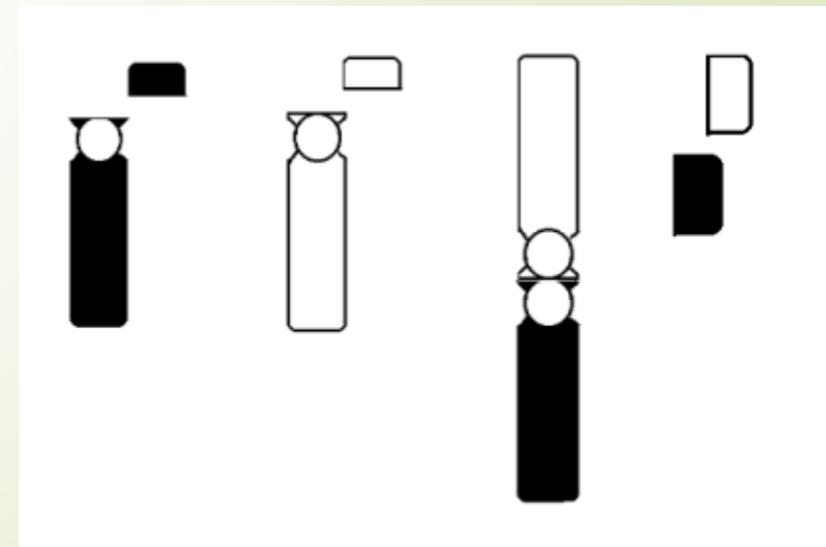
Échanges de segments distaux entre deux chromosomes non homologues.



→ **Translocation robertsonienne**

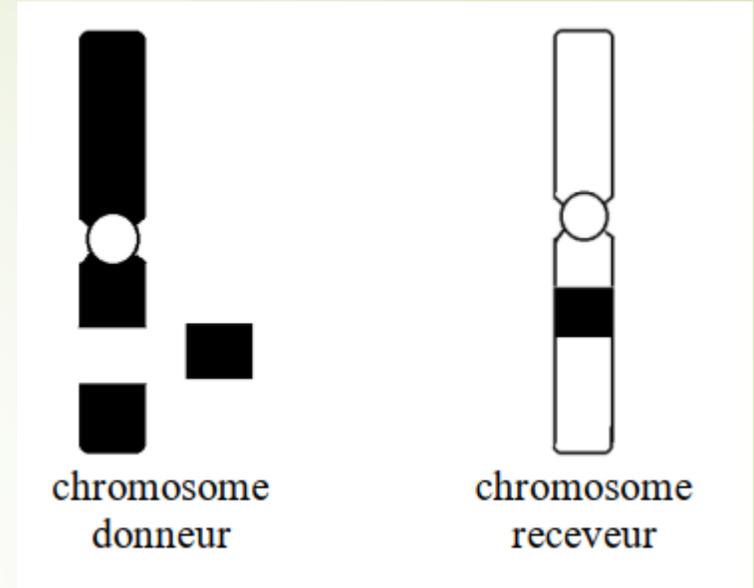
Fusion de deux chromosomes acrocentriques à proximité des centromères. Le chromosome qui en résulte comporte les bras longs des 2 acrocentriques fusionnés, alors que leurs bras courts sont perdus. On obtient alors un chromosome dicentrique (dic), possédant 2 centromères. L'un des 2 centromères est généralement inactivé afin d'éviter les problèmes de ségrégation lors de l'anaphase.

Les bras courts des chromosomes acrocentrique sont de très petite taille, et ils ne codent que pour des gènes répétés. Leur perte au cours de la translocation robertsonienne n'entraîne aucune conséquence clinique directe pour l'individu porteur.



3. 2. Insertion

Un fragment de chromosome se casse et se réinsère à un autre endroit, soit sur le même chromosome (**insertion intrachromosomique**), soit sur un autre chromosome.



3. 3. Chromosomes dicentriques ou pseudodicentriques

Chromosomes possédant deux centromères qui résultent le plus souvent de la fusion, entre deux chromosomes au niveau de leurs régions télomériques.

Lorsque les deux centromères sont suffisamment éloignés, l'un d'entre eux perd sa fonction.

