

Cours de Cytogénétique (pour les étudiants de 2^o Année LMD)

Mme. BECHKRI S et Mme. SEDRATI K

Remarque : les vides dans le texte sont à remplir dans les séances de cours

1- Introduction

La cytogénétique est l'union de la cytologie (science qui étudie les cellules) et de la génétique (science qui étudie la transmission des caractères à travers les générations). Puisque le support de la transmission des caractères au niveau cellulaire sont les gènes qui sont portés par les chromosomes, donc la cytogénétique permet d'étudier le matériel génétique au niveau cellulaire c'est-à-dire étudier les chromosomes.

2- Morphologie des chromosomes :

Pour la taille, les types morphologiques et le nombre, revoir le chapitre 3 (les chromosomes)

- Constriction secondaire : certains chromosomes présentent un étranglement qui correspond au point d'attachement du nucléole, c'est la constriction secondaire (ou organisateur nucléolaire = NOR).

- Les satellites : lorsque la constriction secondaire est si prononcée que la petite région distale du chromosome apparaît déconnectée du corps du chromosome, ceci donne naissance au « satellite chromosomique »

3- Méthode d'étude des chromosomes (Caryotype)

L'étude des chromosomes mitotiques peut se faire de n'importe quel tissu susceptible de se développer *in vitro*. Mais en pratique, les cultures cutanées et surtout les lymphocytes, les cellules du liquide amniotique sont les plus employés.

Exemple : observation des cellules en mitose

- Prélèvement d'échantillon : l'échantillon pourrait être du sang, cellules amniotiques ou biopsies cutanées
 - Culture cellulaire : le prélèvement est placé dans un milieu de culture à 37°C pendant 72h. Ce milieu contient du sérum humain (milieu nutritif), des antibiotiques pour éviter le développement des bactéries et des substances activatrices de mitose comme le PHA (phytohémagglutinine)
 - Blocage des mitoses en métaphase : en ajoutant la colchicine au milieu de culture. Ce produit inhibe la formation du fuseau mitotique en métaphase
 - Choc hypotonique : Les cellules sont placées dans du sérum humain dilué (milieu hypotonique), elles se gorgent d'eau et éclatent sous l'effet de la turgescence. Les chromosomes métaphasiques se dispersent dans le milieu
 - Fixation : les cellules sont pétrifiées (paralysées), fixées par des mélanges d'alcool absolu, de chloroforme et d'acide acétique
 - Coloration, marquage en bandes (banding) : les chromosomes sont colorés avec des substances appropriées comme la fuchsine, le réactif de Schiff, le vert de méthyle.
- Banding : Depuis 1970, on utilise divers produits chimiques qui peuvent marquer spécifiquement certaines régions dans le chromosome. Ainsi, le chromosome n'apparaît plus comme un bâtonnet

sombre et homogène mais comme une suite de bandes sombres séparées par des zones plus claires
Exemple : G-banding

Le traitement le plus utilisé est un traitement préalable doux de la préparation chromosomique par une protéase comme la trypsine. Les bandes traitées sont ensuite fixées par du GIEMSA. Ceci conduit à strier les chromosomes en une série de bandes G sombres et d'interbandes claires. Le profil est unique à chaque paire de chromosomes homologues. En général, les bandes G sont riches en bases A et T alors que les interbandes sont riches en G et C

- Mise en place du caryotype : les chromosomes d'une cellule sont photographiés, le cliché est agrandi et les chromosomes sont découpés. Ils sont classés par ordre décroissant de taille, grâce à l'examen de leur taille, de la position des centromères et la position des bandes

4- Variations chromosomiques

Il se produit parfois des modifications de la distribution correcte du matériel génétique au cours de la division cellulaires : modification du nombre de chromosome ou de la structure d'un ou plusieurs chromosomes. Ces modifications ont des conséquences phénotypiques qui vont de l'apparition d'un nouveau phénotype à la mort du mutant.

4.1- Modification du nombre de chromosomes

Des modifications du nombre de chromosomes peuvent se produire donnant un nombre différent de celui caractéristique l'espèce. On distingue deux types de variations quantitatives : l'euploïdie et l'aneuploïdie.

- **L'euploïdie** (changement qui concerne le lot chromosomique entier) : ce terme est réservé aux organismes possédant un nombre entier de lots de chromosomes variant de 1 à plusieurs exemplaires :

n	Monoploïde	}	Polyploïde
2n.....	Diploïde		
3n.....	Triploïde		
4n.....	Tétraploïde		
5n.....	Pentaploïde		

Exemple chez l'homme :

Nombre de chromosomes	Ploïdie
23	Haploïde
46	Diploïde
69	Triploïde
92	Tétraploïde

• Monoploïdie : Il ne s'agit pas de la phase haploïde normale du cycle vital (baisse du nombre de chromosomes de 2n à n). A l'exception des abeilles mâles et des guêpes mâles, chez les animaux, la survie de monoploïdes est impossible. Les plantes monoploïdes connues sont stériles.

Exemple : mâle de l'abeille

•Triploïdie : Les triploïdes sont obtenus de l'union d'un gamète haploïde (n) provenant d'un individu diploïde avec un gamète diploïde ($2n$) provenant d'un parent tétraploïde

La triploïdie est associée à la reproduction des angiospermes ; Un des noyaux du grain de pollen (haploïde) s'unit à un noyau resté diploïde de l'ovule, et donne naissance à un tissu de réserve de la graine, l'albumen. C'est le phénomène de double fécondation. Chez l'homme, les triploïdes ($3n=69$) ne sont pas viables.

•Tétraploïdie : une cellule somatique ($2n$) subit un dédoublement du nombre de chromosomes aboutissant à une cellule tétraploïde ($4n$). Ce dédoublement peut être spontané ou artificiel. Un tétraploïde peut également résulter de l'union de deux gamètes diploïdes.

•Polyploïdie : Ce terme est appliqué à tout individu ayant un nombre de ploïdie supérieur à 2. Les polyploïdes d'un degré supérieur à 4 sont rares dans les populations naturelles à l'exception de certaines plantes. Certains triploïdes et tétraploïdes présentent un phénotype plus robuste que leurs correspondants diploïdes. Ils sont souvent plus développés (fruits, grains, tiges, feuilles, fleurs) d'où l'intérêt des agronomes pour les polyploïdes.

On distingue deux types de polyploïdie :

- Autopolyploïdie : Obtenue par multiplication du lot chromosomique d'une même espèce (répétition d'un même lot haploïde de la même espèce).
- Allopolyploïdie : Obtenue par multiplication des garnitures chromosomiques de deux espèces différentes.

Exemple1 : allopolyploïdie spontané (Tabac = *Nicotiana tabacum* $2n=48$). Il provient de l'hybridation, suivie d'un doublement de chromosomes entre les 2 espèces *Nicotiana sylvestris* et *Nicotiana tomentosiformis* à $2n=24$.

Exemple 2 : association du chou (pour ses feuilles) et du radis (pour ses racines)

- **L'aneuploïdie** : On parle d'aneuploïdie lorsqu'il existe un ou plusieurs chromosomes en plus ou en moins dans la garniture chromosomique normale. La variation ne porte pas sur le lot complet de chromosomes mais sur seulement une partie de ce lot. Ces mutations résultent de la non-disjonction d'un ou de plusieurs couples de chromosomes au cours de l'anaphase I de la méiose. Ces mutations peuvent également survenir lors d'une anaphase mitotique par non-disjonction d'une ou de plusieurs paires de chromatides. L'aneuploïdie porte aussi bien sur les autosomes que sur les chromosomes sexuels.

- Nullisome : perte de deux chromosomes homologues ($2n - 2$)
- Monosomie : perte d'un chromosome ($2n - 1$)
- Trisomie : présence de trois chromosomes homologues ($2n + 1$)
- Tétrassomie : présence de quatre chromosomes homologues ($2n + 2$)
- Trisomie double : deux chromosomes en triple exemplaire ($2n + 1 + 1$)

Exemples d'aneuploïdies chez l'homme :

- Anomalies portant sur les chromosomes sexuels :

Femme		Homme
Monosomie XO ($2n - 1 = 45$) : syndrome de TURNER		Trisomie XXY : syndrome de KLEINFELTER
Trisomie XXX ($2n + 1 = 47$)		Tétrassomie XXXY
Tétrassomie XXXX ($2n + 2 = 48$)	} Très rares	Pentassomie XXXXY
Pentassomie XXXXX ($2n + 3 = 49$)		Trisomie XYY
		Tétrassomie XXYY

Remarque : Seuls les mutants monosomiques et trisomiques sont viables. L'augmentation du nombre de chromosomes X accentue l'arriération mentale. L'augmentation du nombre de chromosomes Y augmente le degré d'agressivité

- Anomalies portant sur les autosomes : Pour les autosomes, aucune monosomie n'est viable. Parmi les trisomies touchant les autosomes, les plus fréquentes sont : Trisomies 21 (syndrome de DOWN ou mongolisme), Trisomie 13 (syndrome de PATAU) et Trisomie 18 (syndrome d'Edwards)

4-2- Variations de la structure des chromosomes

- **Délétion** : C'est la perte d'un fragment plus ou moins long du chromosome. Une petite délétion (délétion d'un gène) entraîne l'inactivation du gène. Une délétion plus importante peut entraîner l'élimination de plusieurs milliers de gènes. La délétion d'un fragment d'importance vitale entraîne la létalité. Exemples : délétion du bras court (p) ou du bras long (q) sur le chromosome 18 (débilité mentale). Délétion du bras court (p) du chromosome 5 (maladie du cri du chat = malformations gastro-intestinales, malformations cardiaques, retard mental...).
- **Duplication** : Présence à l'intérieur du génome de doubles ou de multiples exemplaires d'un fragment chromosomique. Exemple : le gène Bar chez la drosophile. Dans un œil normal, le nombre de facettes est égal à 779. Au fur et à mesure que le nombre de gènes Bar augmente (par effet de duplication), le nombre de facettes de l'œil diminue.
- **Translocation** : Lorsqu'un segment chromosomique se fixe, après cassure, à un chromosome non-homologue, on parle de translocation simple.

Il y a translocation réciproque lorsque deux chromosomes non-homologues échangent des segments. Il en résulte un changement de la taille des chromosomes et des nouvelles interactions entre les gènes.

Exemple : translocation 13-21

- **Inversion** : Retournement de 180° d'un segment de chromosome. Il y a une double cassure chromosomique, sans la perte de matériel chromosomique car le segment cassé est « recollé » après rotation. Les inversions ne concernent qu'un seul chromosome.
Selon, l'implication ou non du centromère dans l'inversion, on distingue :
 - Les inversions paracentriques : le centromère n'est pas inclus dans l'inversion

- Les inversions péricentriques : le centromère est inclus dans l'inversion. Dans ce cas-là, un chromosome acrocentrique peut se transformer en chromosome métacentrique et inversement.

