

CHAPITRE 5 CYTOGENETIQUE

1. Définition

La **cytogénétique** est l'étude des phénomènes génétiques au niveau de la cellule, plus précisément au niveau des chromosomes sans la nécessité d'extraire l'ADN :

- anomalies chromosomiques: nombre, structure
- recombinaison de chromosomes

2. Techniques de cytogénétique

Les techniques utilisées sont principalement

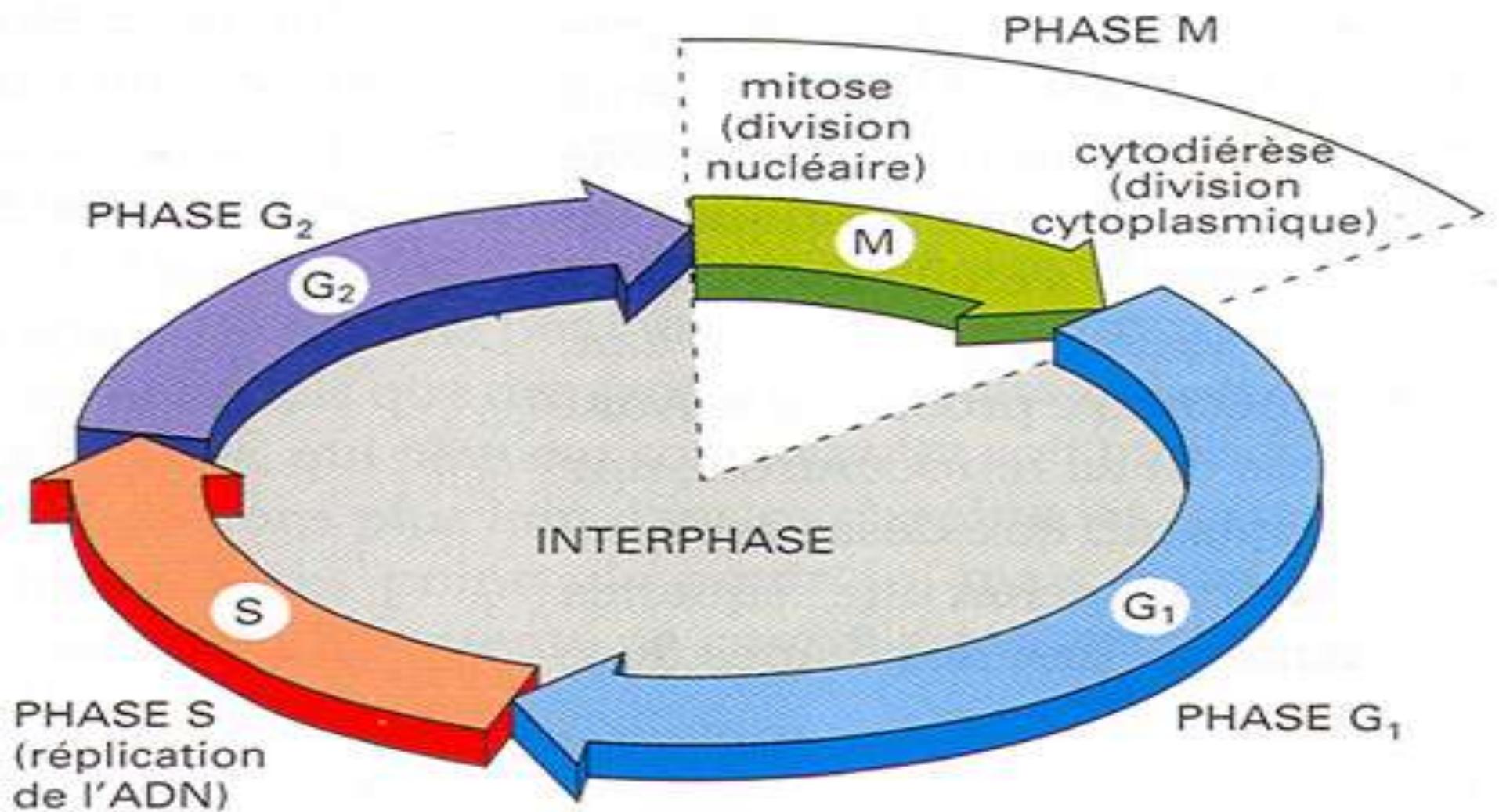
- ▶ la réalisation de caryotype

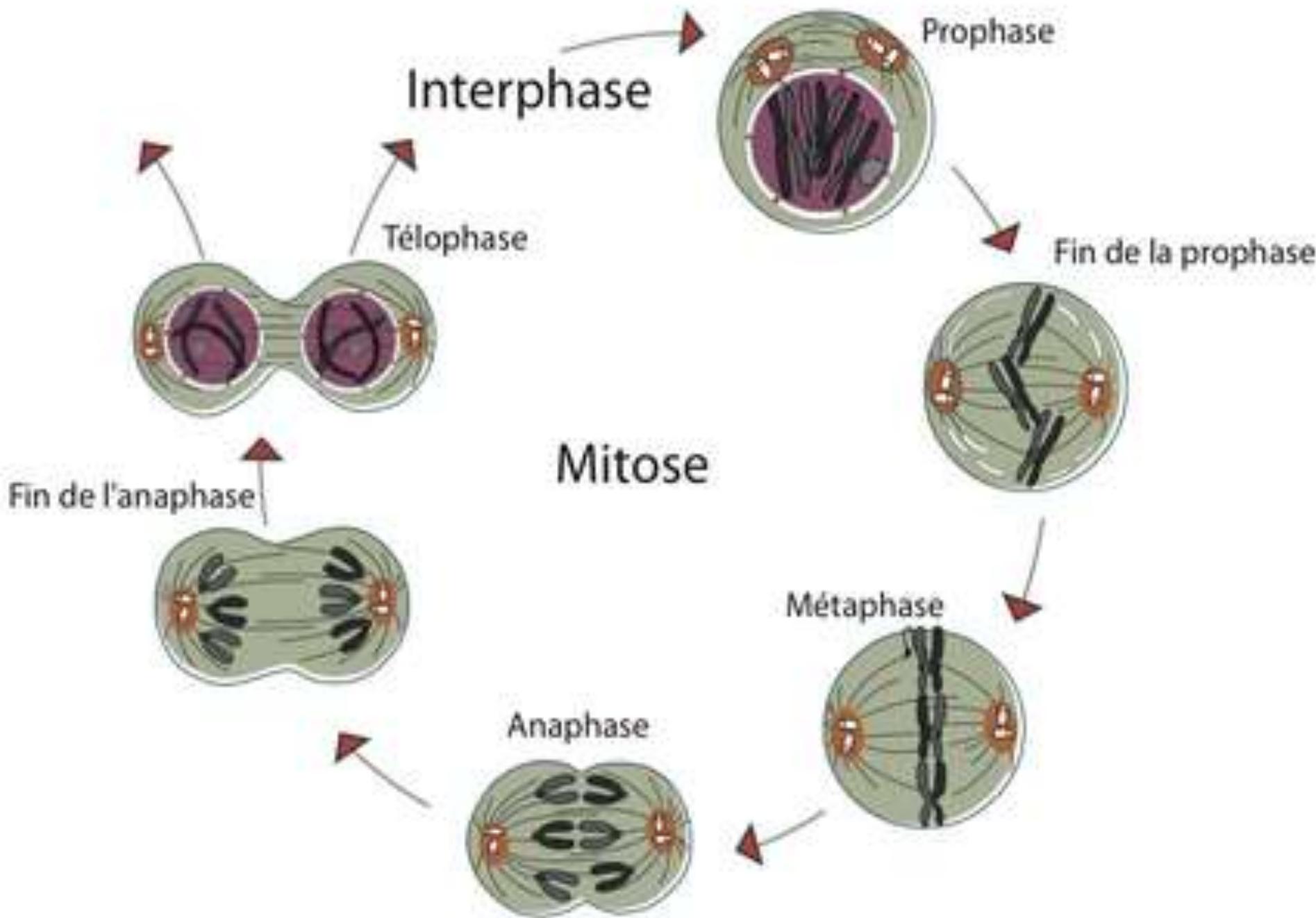
- ▶ les méthodes de FISH

(Fluorescent *In-Situ* Hybridation : hybridation in-situ par des sondes fluorescentes),

- ▶ l'utilisation de puce à DNA

3. Rappel du cycle cellulaire



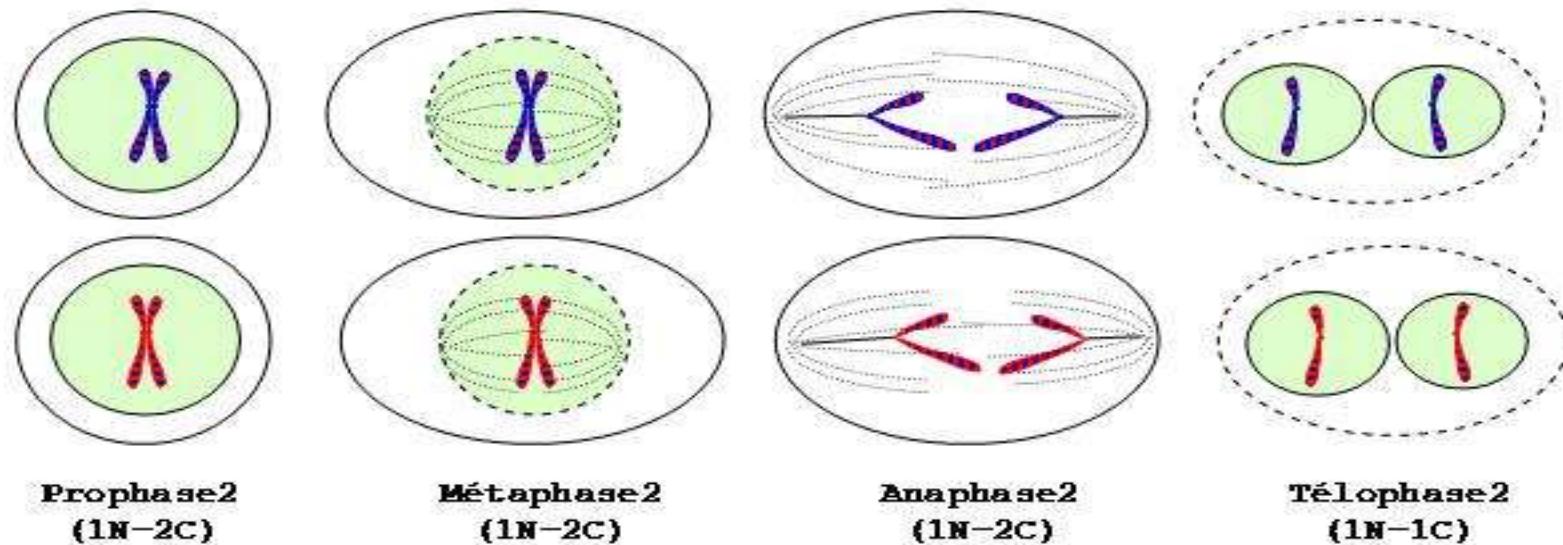
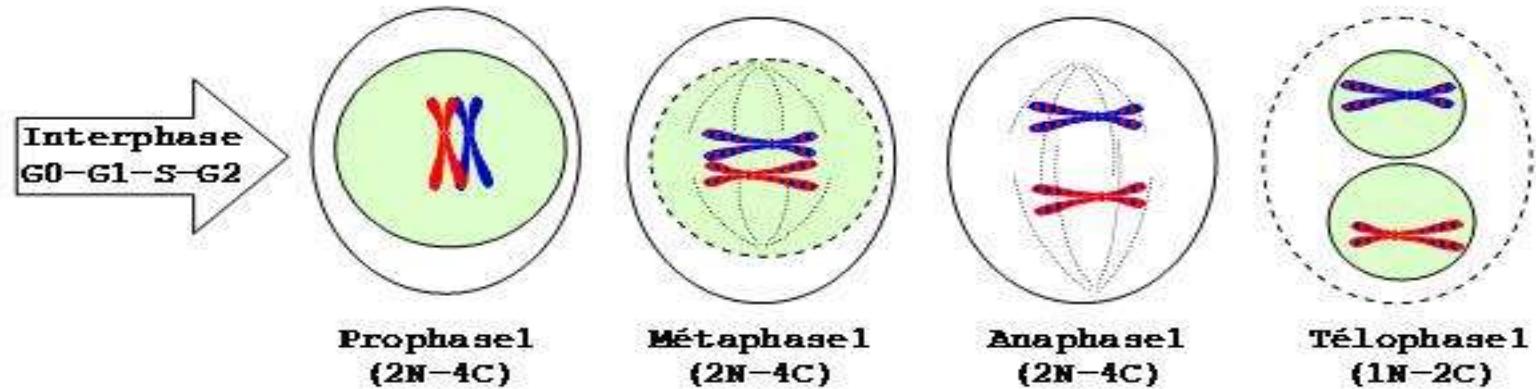


3.1 Etapes de la mitose

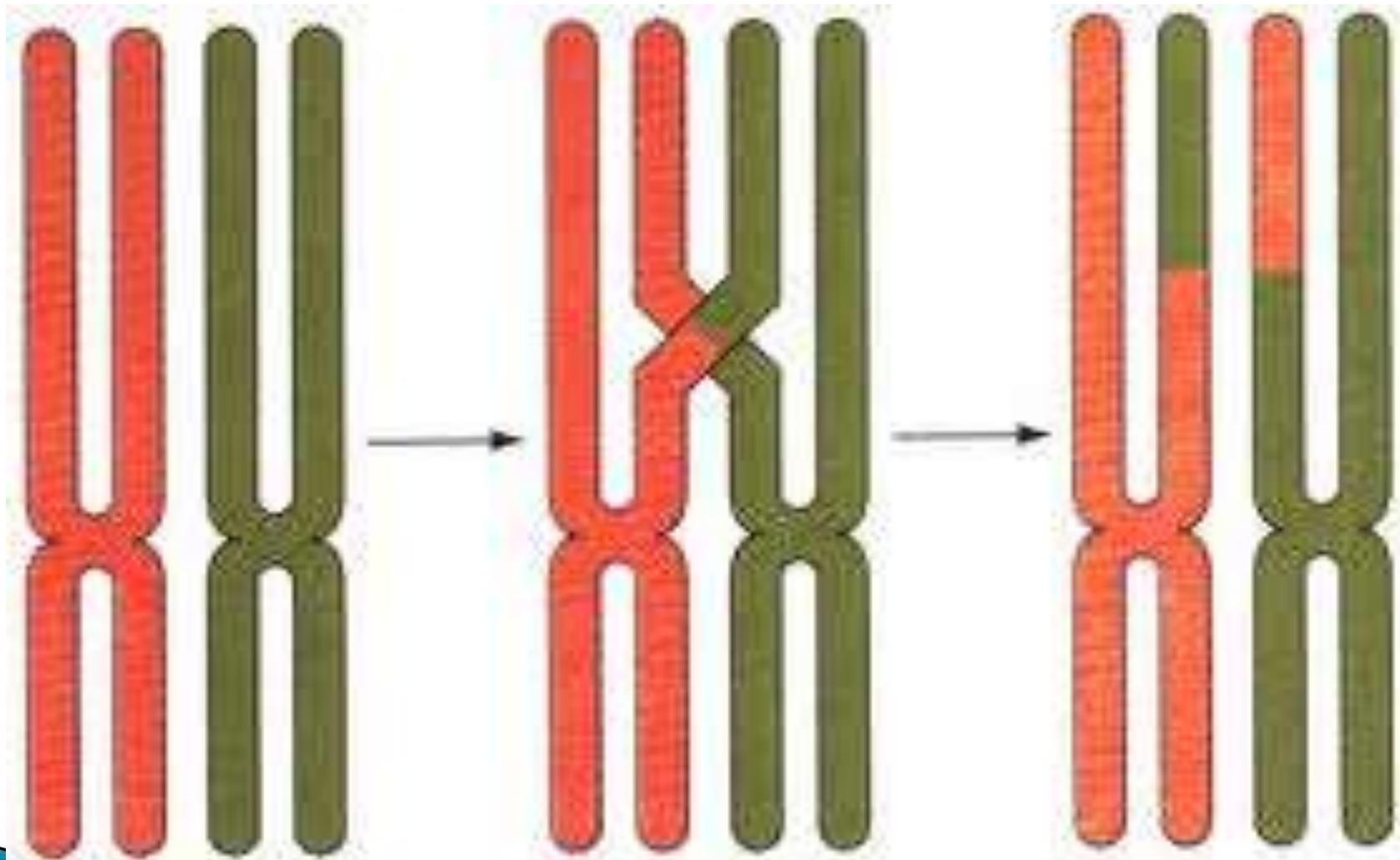
- ▶ **La prophase** : chaque chromosome dupliqué précédemment se condense, laissant voir ses 2 chromatides identiques liées par un centromère; la double membrane nucléaire disparaît; des microtubules s'assemblent et constituent un réseau en forme de fuseau.
- ▶ **La métaphase** désigne le moment où les chromosomes sont alignés et les centromères sont attachés au fuseau qui est complet.
- ▶ **L'anaphase** : les 2 chromatides de chacun des chromosomes se séparent et le fuseau permet leur migration vers chaque pôle de la cellule.
- ▶ **Télophase**: les chromosomes redeviennent des filaments, le fuseau se désorganise, l'enveloppe nucléaire se reforme autour de chaque groupe de chromosomes. La division s'achève par la séparation du cytoplasme entre les 2 cellules filles.

3.2 La méiose

La méiose permet de générer des cellules reproductrices à n chromosomes à partir de cellules à $2n$ chromosomes.



Cas d'enjambement : la prophase de la méiose



4.L caryotype humain et ses anomalies

Définition : Le caryotype permet l'identification et le classement des chromosomes d'un individu. C'est donc la configuration chromosomique d'un sujet.

Principe et technique du caryotype: chromosomes visibles que dans les cellules en division, stade métaphase.:

- **Des cellules à haute indice de division**
- • **Des cellules en culture (bas indice de division) : les lymphocytes sanguins**

➤ 4.2 protocole

- **Mise en culture** (après prélèvement veineux) de 5 à 10 gouttes + sérum + un mitogène +antibiotique.
- **Blocage des cellules en métaphase** par la colchicine, après 2 – 3 jours de culture à 37°C.
- **Choc hypotonique** : pour disperser les chromosomes (KCl).
- **Fixation** par un mélange Alcool – Acide acétique.
- **Etalement** sur une lame.
- ▶ **Observation au microscope optique** après marquage en bandes (=coloration). Les meilleures mitoses sont photographiés et les chromosomes sont alors découpés et classés par paires

➤ **4.3 Les techniques de marquage par bandes** : permettent de mettre en évidence 400 à 500 bandes de topographie constante et caractéristiques d'une paire chromosomique donnée :

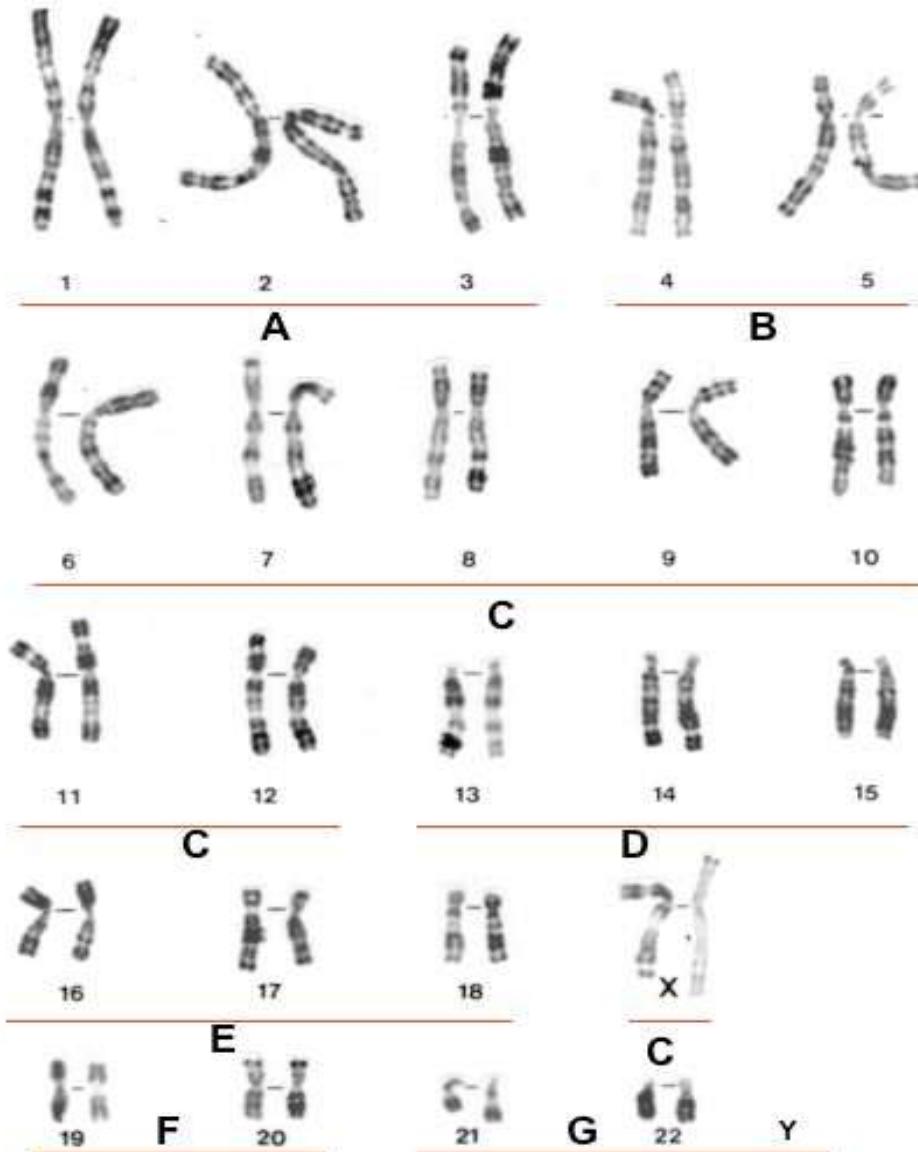
- **Les bandes G (Giemsa)** : obtenues par digestion trypsinique modérée des chromosomes suivie d'une coloration au Giemsa. Elles sont les plus utilisées en raison de leur facilité d'obtention.
- **Les bandes Q** : obtenues après coloration par la moutarde de Quinacrine. Sous UV les chromosomes présentent des bandes fluorescentes, de même que les bandes G.
- **Les bandes R** : dénaturation thermique des chromosomes puis Giemsa.

4.4. Caryotype humain normal

Nomenclature

- **46 chromosomes**
- **22 paires d'autosomes (1 à 22 par ordre de taille décroissante)**
- **1 paire de chromosome sexuels ou gonosome : XY chez l'homme et XX chez la femme.**
- **chromosomes en fonction de leur taille et de la position du centromère en 7 groupes : A, B, C, D, E, F et G**
- **diviser les chromosomes en régions de 1 à 3, chaque région est divisée en bandes numérotées, et certaines bandes en sous bandes.**

Exemple : Xq2, 7, 3 : bras long du chromosome X, région 2, bande 7, sous bande 3.



A:grands métacentriques

B:grands submétacentriques

C:moyens subméta

D: grands acrocentriques

E: petits subméta,

F: petits métacentriques

G: petits acrocentriques

4.5 Principales anomalies du caryotype en pathologie humaine

- Homogène : présente dans toutes les cellules de l'individu, elle se produit durant la méiose paternelle ou maternelle (gamétogénèse).
- Mosaïque : n'intéresse qu'une partie de la cellule de l'individu, elle se produit lors des premières divisions de l'œuf fécondé.

Les anomalies du caryotype peuvent survenir de novo ou être héritées de l'un des parents.

4.5.1 Anomalies du nombre

- La polyploidie : Absence d'un chromosome ou la présence d'un chromosome surnuméraire du lot haploïde, et elle est due à un accident de la fécondation.

La trisomie 21 : c'est la présence d'un chromosome en 3 exemplaires avec un nombre total de 47 chromosomes.

- Les aneuploidies: Présence d'au moins 3 chromosomes de chaque type.

Syndrome de KLINEFELTER: les hommes atteints ont le caryotype suivant : XXY ou plus rarement XXXY, XXXXY, ou une mosaïque de XY/XXY.

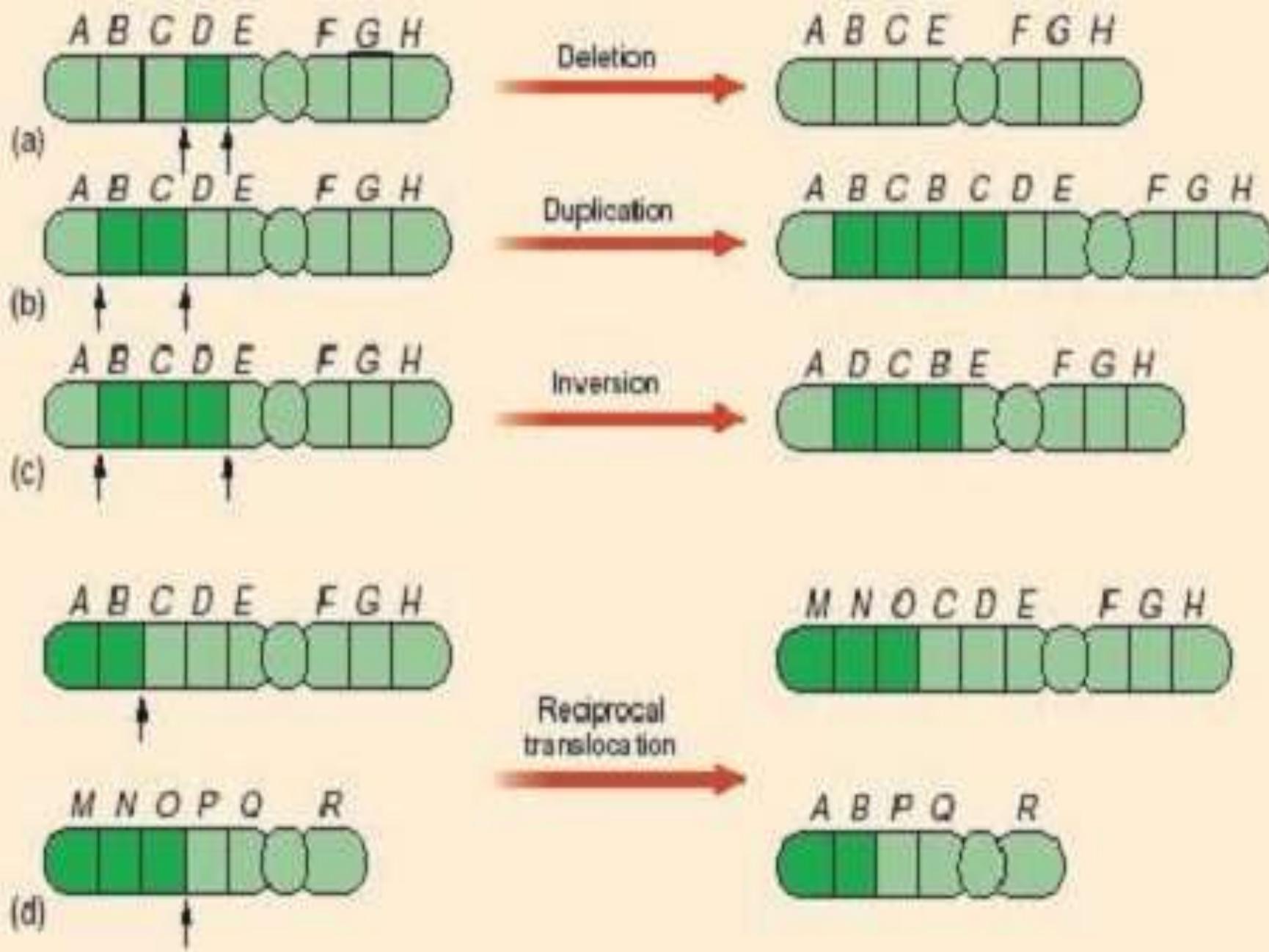
4.5.2 Anomalies de structure

spontanément ou induites mutagènes.

- **La délétion** : la perte d'un segment de chromosome.
:

Syndrome du cri du chat est un syndrome provoqué par une délétion dans le chromosome 5 induisant une déficience intellectuelle et une malformation du larynx.

- **La duplication**: même des chromosomes normaux contiennent des séquences de gène qui se répètent de quelques dizaines à plusieurs milliers de fois.
- **L'inversion** : un segment linéaire d'ADN au sein d'un chromosome s'oriente dans la direction inverse sans perte moléculaire
- **Les translocations** : dans ce cas la partie rompue d'un chromosome s'attache à un chromosome non homologue. La plus part des translocations sont réciproques c'est-à-dire que les deux chromosomes échangent leurs segments rompus.



5- Indication du caryotype

Indication post-natal

➤ Chez le nouveau né

- mort né ou décédé à la naissance**
- présentant un tableau d'une aberration chromosomique.**
- présentant un tableau malformatif.**
- Ambiguïté sexuelle**

➤ Chez l'enfant

- Retard de croissance**
- Dysmorphie**
- Syndrome polymalformatif**
- Handicap mental moyen ou profond**
- Phénotype évocateur d'une anomalie chromosomique.**

➤ Chez l'adolescent

- Anomalie de puberté
- Petite taille
- Pour un bilan avant l'assistance médicale à la procréation.

➤ Chez l'adulte

- Naissance d'un enfant présentant une anomalie chromosomique.
- Fausses couches à répétition.
- Antécédents de morts fœtales
- Stérilité masculine.
- Ménopause précoce.

Caryotype prénatal: examens mis en œuvre pour le dépistage précoce des maladies ou des malformations du fœtus. Il nécessite un prélèvement fœtal,