

LES CHROMOSOMES

PASS

UE la cellule et les tissus

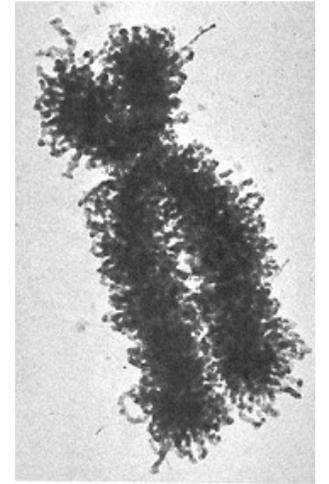
Dr Nathalie DOUET-GUILBERT

PLAN

- INTRODUCTION**
- HISTORIQUE**
- FORMATION D'UN CHROMOSOME**
- STRUCTURE D'UN CHROMOSOME**
- TECHNIQUE D'OBTENTION DES CHROMOSOMES**
- LE CARYOTYPE**
- LA CYTOGENETIQUE MOLECULAIRE**

Définition

Les chromosomes sont constitués
d'une molécule d'ADN
associée à de nombreuses protéines



Les chromosomes

- corpuscules issus de la **chromatine**
- visibles pendant une courte période du cycle cellulaire = la mitose

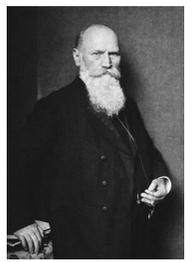
Fonction = **transmission de l'information génétique**

Histoire des chromosomes



Fig. 5 Photomicrograph to show the normal human 46XY chromosome number, as sent to colleagues by Joe-Hin Tjic (Courtesy of Professor Patricia Jacobs)

1888 : Proposition du terme « **chromosomes** » : éléments colorés visibles au cours de la division cellulaire (Waldeyer)



1956 : **46 chromosomes** dans les cellules humaines (Tijo et Levan)



Fig. 5 Photomicrograph to show the normal human 46XY chromosome number, as seen in collages by Joe-Hua Tin (Courtesy of Professor Patricia Jacobs)

1959 : **Découverte des anomalies de nombre** :

Découverte de la trisomie 21 (Gautier, Lejeune, et Turpin)

Découverte du syndrome de Klinefelter : 47,XXY (Jacobs et Strong)

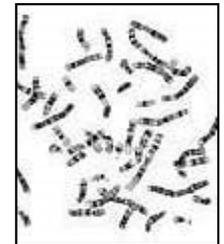
Découverte du syndrome de Turner : 45,X (Ford)



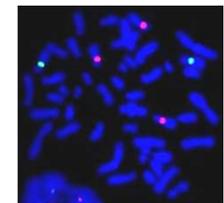
1960 : **Découverte de la 1ere anomalie chromosomique dans un tissu cancéreux** : le chromosome Philadelphie (Nowell et Hungerford)



Années 1970 : Technique de marquage en bandes (Caspersson) : **découverte de nombreuses anomalies de structure**



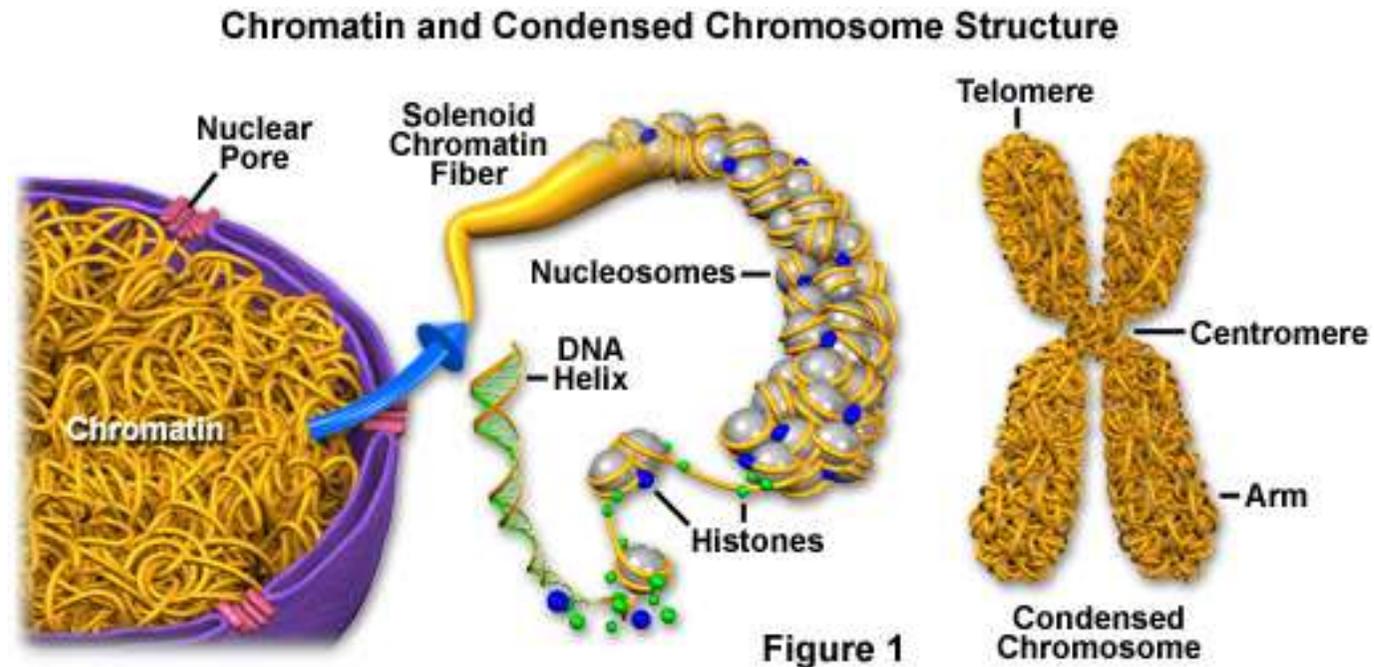
Années 1980 : Hybridation *in situ* avec des sondes radioactives, puis avec des sondes fluorescentes (FISH : fluorescent *in situ* hybridization) : **anomalies de taille de plus petite taille**



Formation des chromosomes

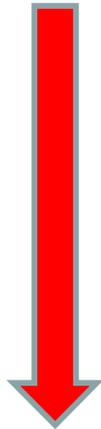
La chromatine

- Structure complexe : ADN+protéines
- Structure dynamique
- Localisée dans le noyau, Compaction importante
- Accessibilité pour les différentes fonctions de l'ADN

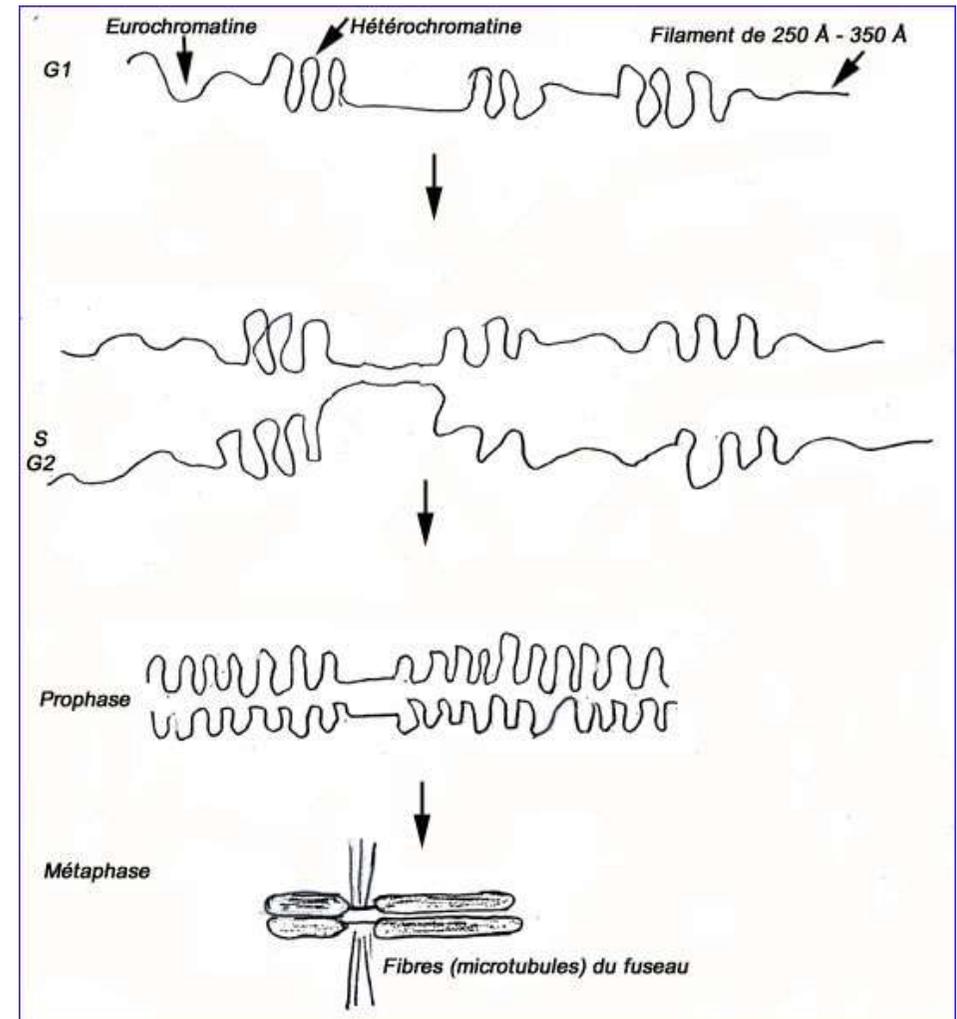


La chromatine

Nucléosome : unité fondamentale
1^{er} niveau de compaction dans le noyau

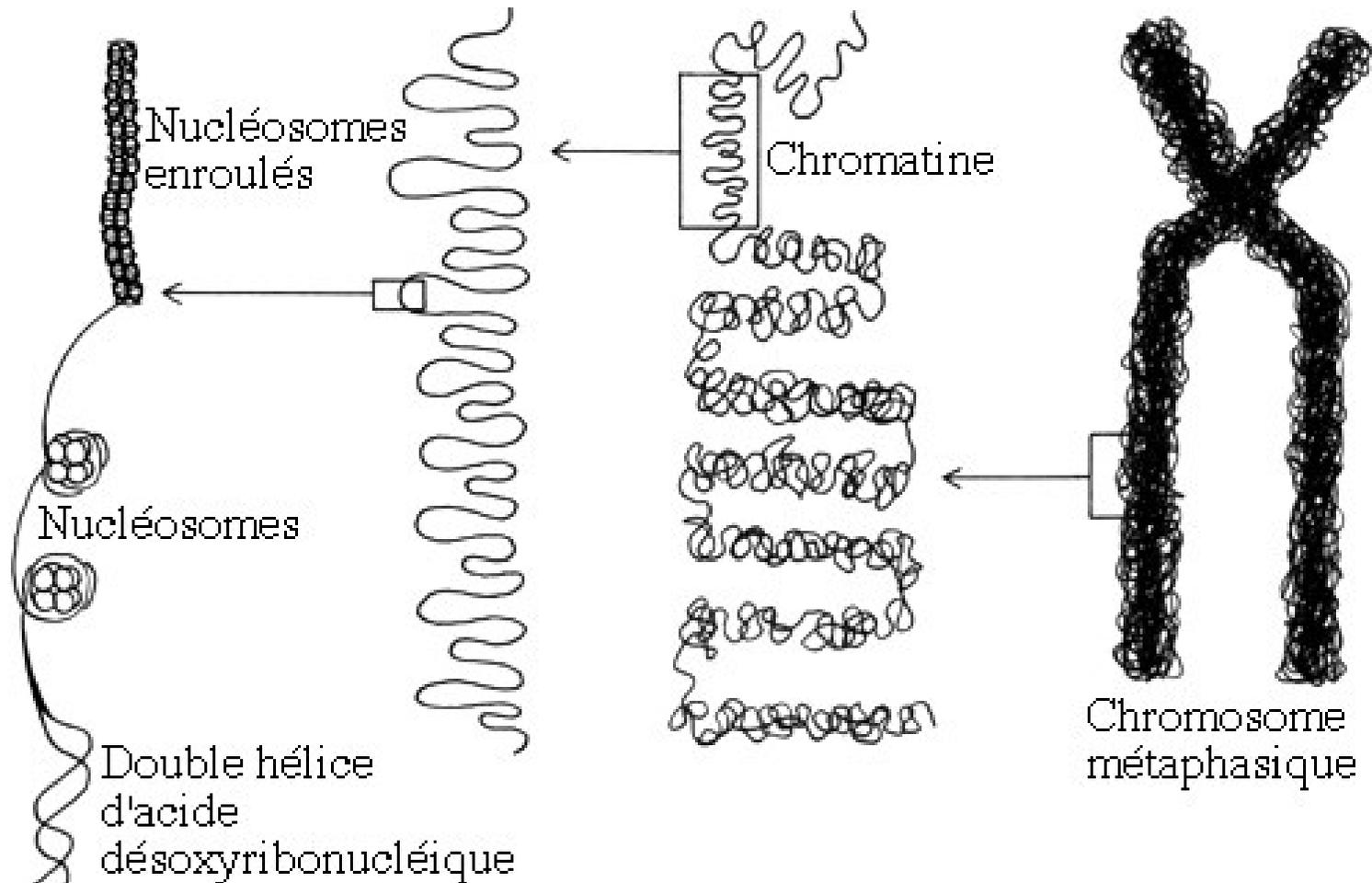


Chromosome métaphasique :
dernier niveau de condensation



Compaction de la chromatine en plusieurs étapes :

- Formation du **nucléosome** (ADN + 8 protéines d'histones H3, H4 et H2A, H2B)
- Formation du **nucléofilament**
- Formation de **la fibre de 30 nm**
- Empaquetage hélicoïdal de chromatine en **fibre de 300** puis **700 nm**



Double hélice d'ADN



ADN

2 nm

Protéines



30 nm



300 nm



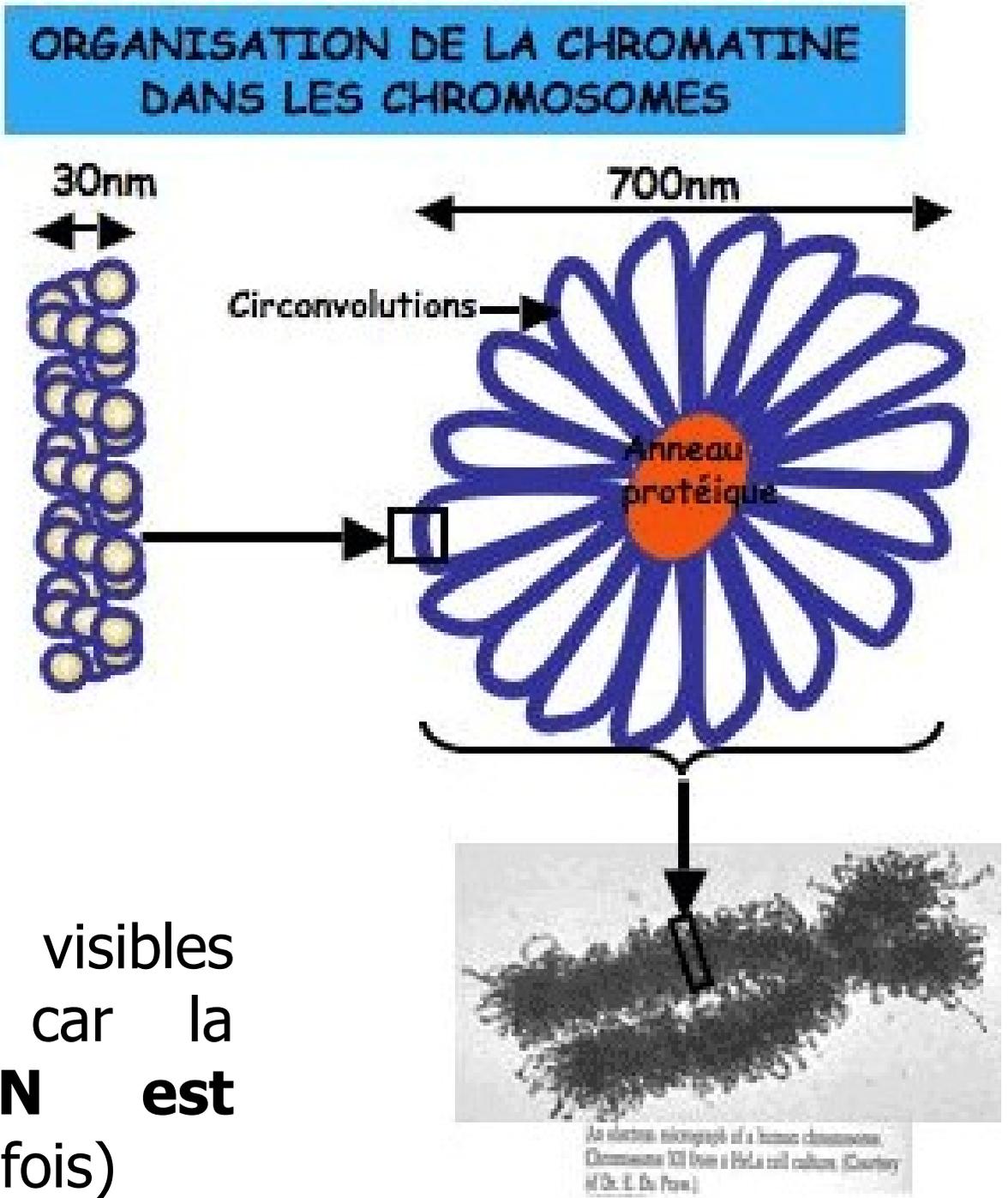
Chromosome

700 nm

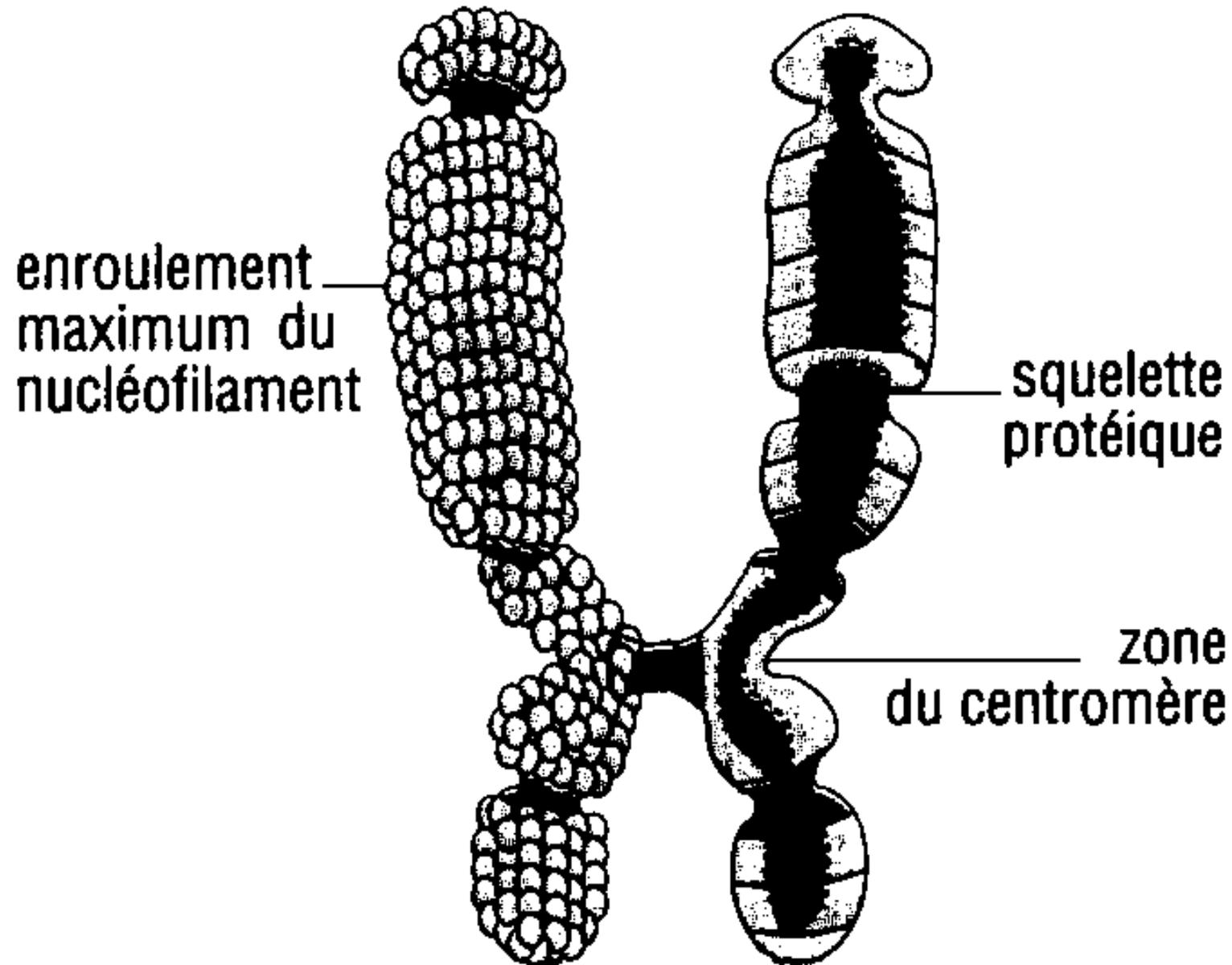
1400 nm

La chromatine se condense en chromosomes pendant la mitose ou la méiose

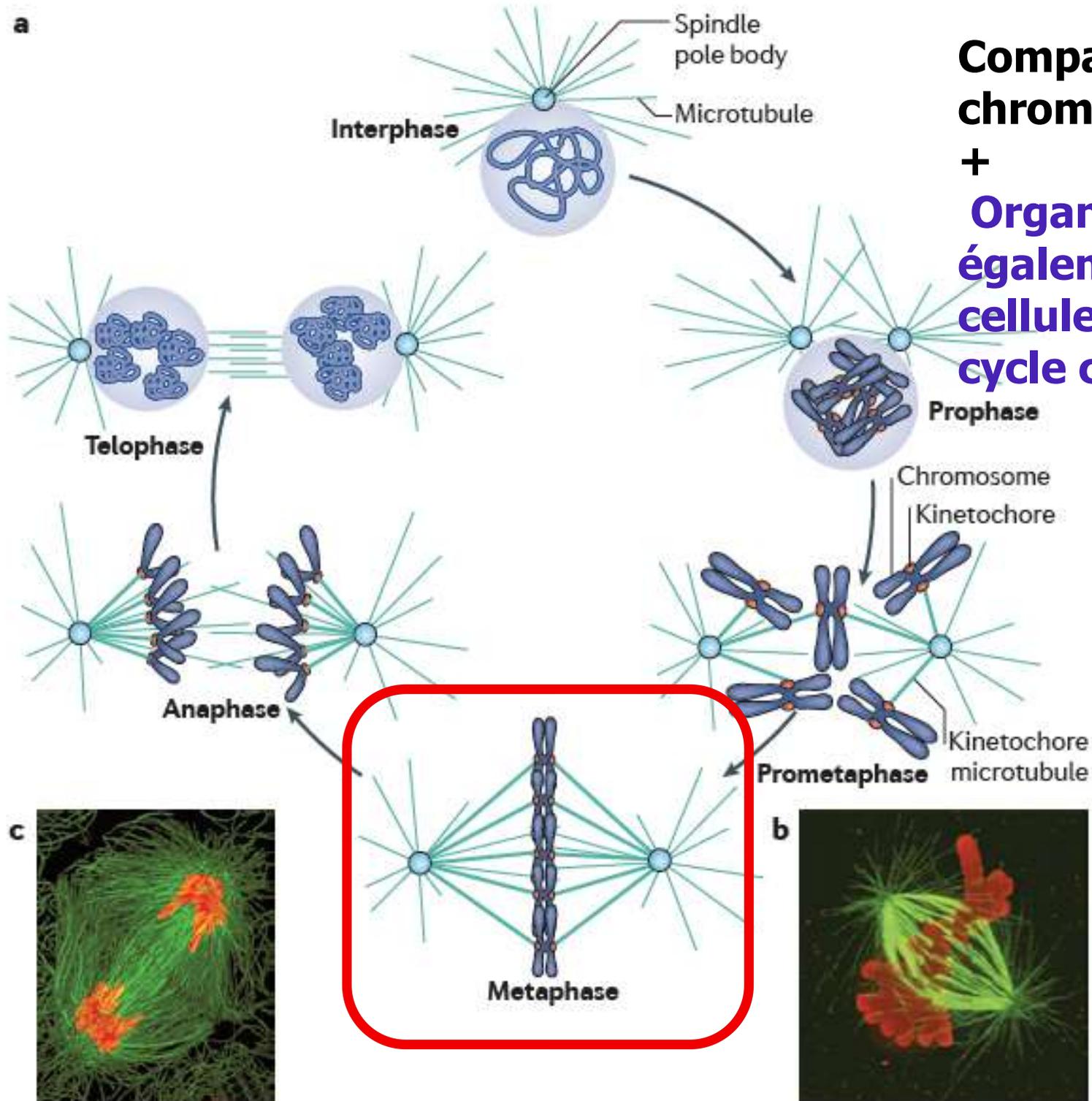
Les chromosomes sont visibles pendant la métaphase car la **compaction de l'ADN est maximale** (jusqu'à 10 000 fois)



Formation de boucles autour d'un axe protéique



a

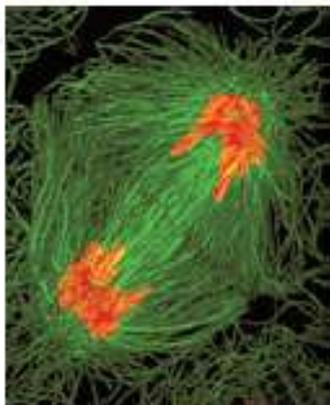


Compaction de la chromatine

+

Organisation également au sein de la cellule, au cours du cycle cellulaire

c



b

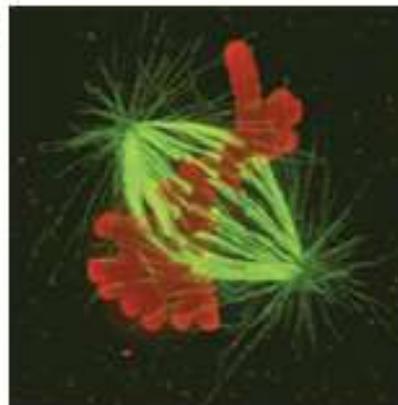


Figure 1 | Chromosome segregation in the cell cycle. a | The various stages of the cell

Condensation de la chromatine et sa régulation

Pendant la mitose :

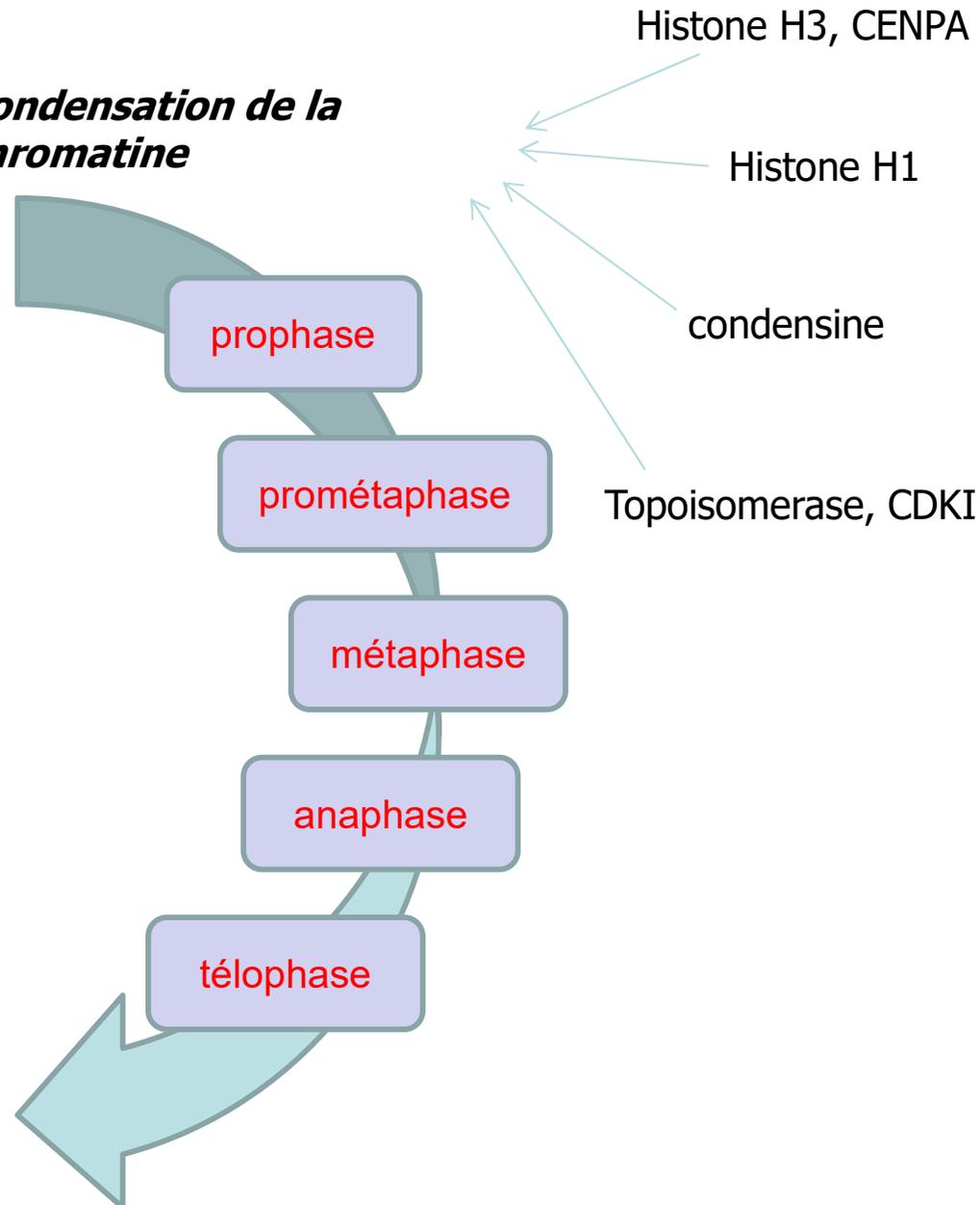
Condensation de la chromatine

Condensine : un complexe constitué de 5 sous-unités, principal responsable du phénomène de condensation chromosomique (sous-unités : hCAP-C, hCAP-E, hCAP-D2, hCAP-G et hCAP-H).

interaction **topoisomérase II/CDK1**

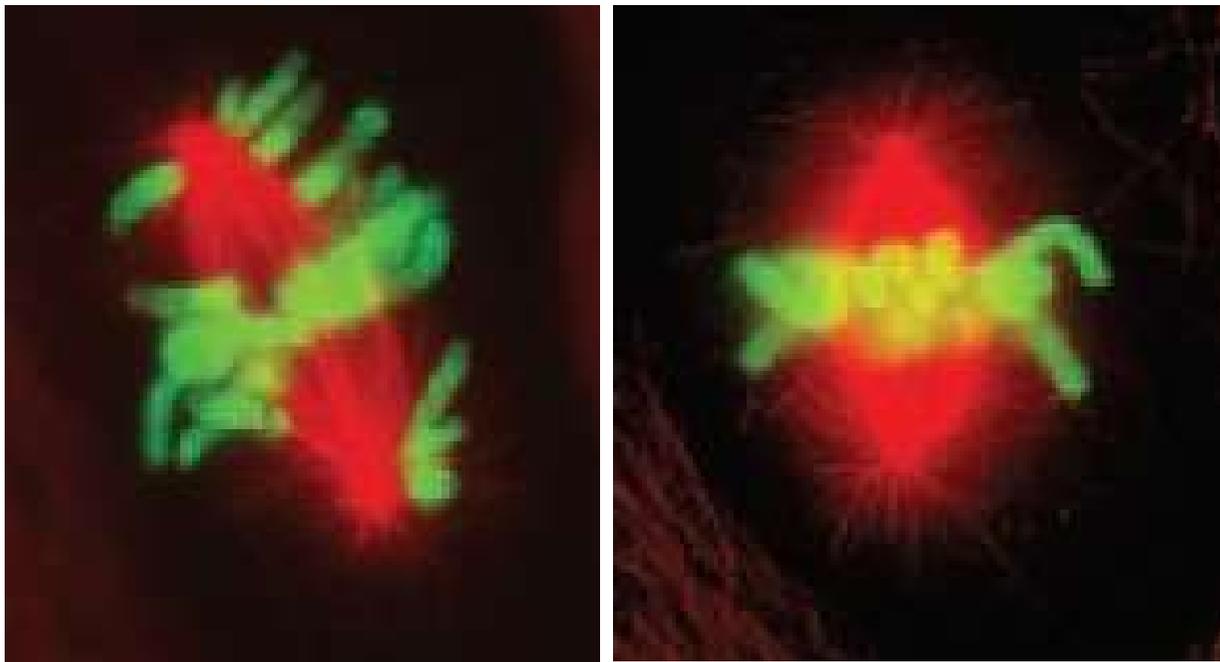
phosphorylation de l'histone H3 (et de CENP-A, son variant au niveau des centromères)

Décondensation de la chromatine



Agencement des chromosomes sur la plaque équatoriale

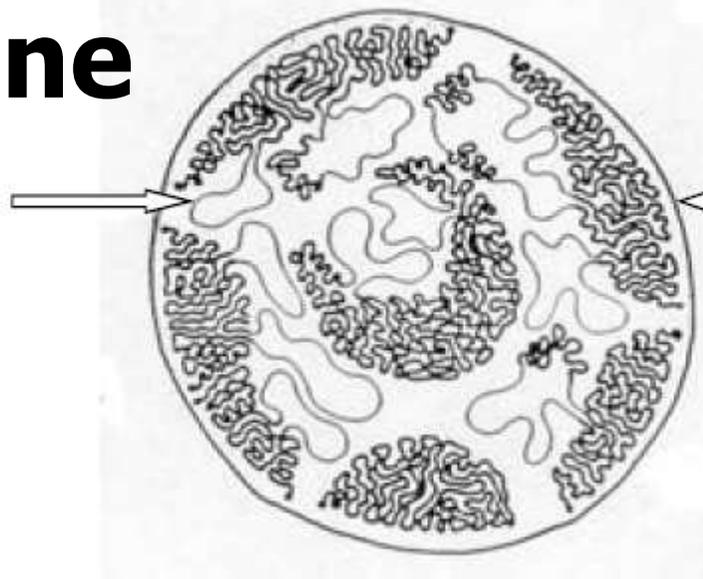
Les chromatides des chromosomes se fixent aux microtubules



Les chromosomes migrent au centre de la cellule pour se fixer à la **plaque équatoriale**

La chromatine

Euchromatine



Hétérochromatine

- **Euchromatine :**

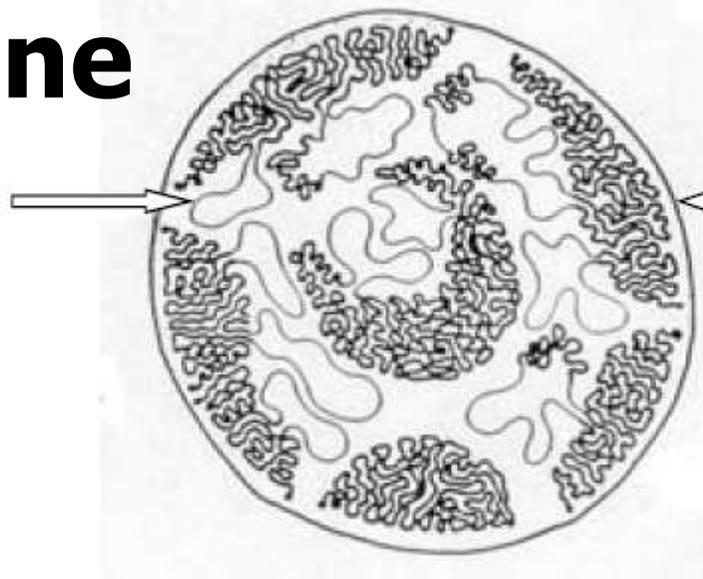
- une structure **qui change d'état de condensation** au cours du cycle cellulaire , position plus centrale en interphase

- partie de **chromatine active** au niveau transcriptionnel (matériel codant + non codant)

ADN non répétitif

La chromatine

Euchromatine



Hétérochromatine

• Hétérochromatine :

- Une structure **qui ne change pas d'état de condensation** au cours du cycle cellulaire
- Principalement en périphérie du noyau et du nucléole , en interphase
- Partie de **chromatine inactive** au niveau transcriptionnel

- **Hétérochromatine => 2 types**

-Hétérochromatine constitutive

- ADN satellite : séquences courtes et répétées **en tandem** un très grand nombre : ADN alpha-satellite, ADN satellite I, II, III => ADN répétitif

- structure stable et conservant ses propriétés à toutes les étapes du développement et dans tous les tissus

- structure polymorphe (taille, localisation)

- colorée par les bandes C

- **Hétérochromatine => 2 types**

- **Hétérochromatine facultative**

- séquences répétées **dispersées** : de type LINE (Longs éléments nucléaires intercalés (LINE)) : ADN non répétitif

- structure réversible, dépendant du stade de développement ou du type cellulaire étudié

- non colorée par les bandes C

- **Hétérochromatine :**

- **Rôles :**

- Organisation des domaines nucléaires
- Fonction centromérique
- Régulation des gènes

- **Pathologies :**

- **de l'HC constitutive :** syndrome de Roberts, par exemple
- **de l'HC facultative : défaut d'inactivation du chromosome X :** maladies récessives liées à l'X, chez la femme, par exemple

EUCHROMATINE	HETEROCHROMATINE CONSTITUTIVE	HETEROCHROMATINE FACULTATIVE
<p>Zones claires en ME Réplication précoce Active génétiquement ADN non répétitif</p>	<p>Zones condensées en ME Réplication tardive Inactive génétiquement ADN répétitif</p>	<p>Zones condensées en ME Réplication tardive Inactive génétiquement ADN non répétitif</p>
<p>Les bras chromosomiques</p>	<p>Régions centromériques Téломères Satellites Constrictions secondaires Bras long du chromosome Y</p>	<p>Chromosome X inactivé chez les femmes (corpuscule de Barr)</p>

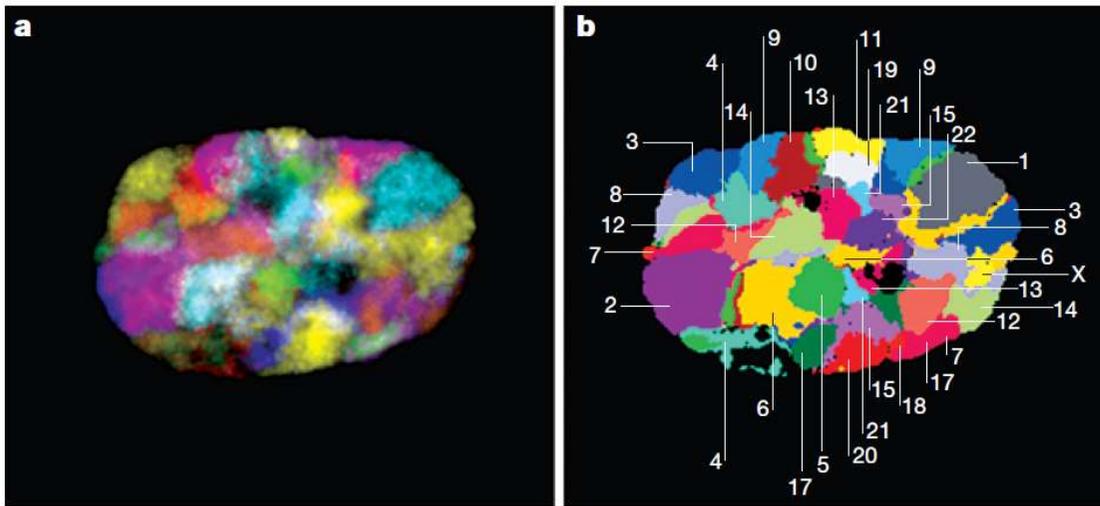
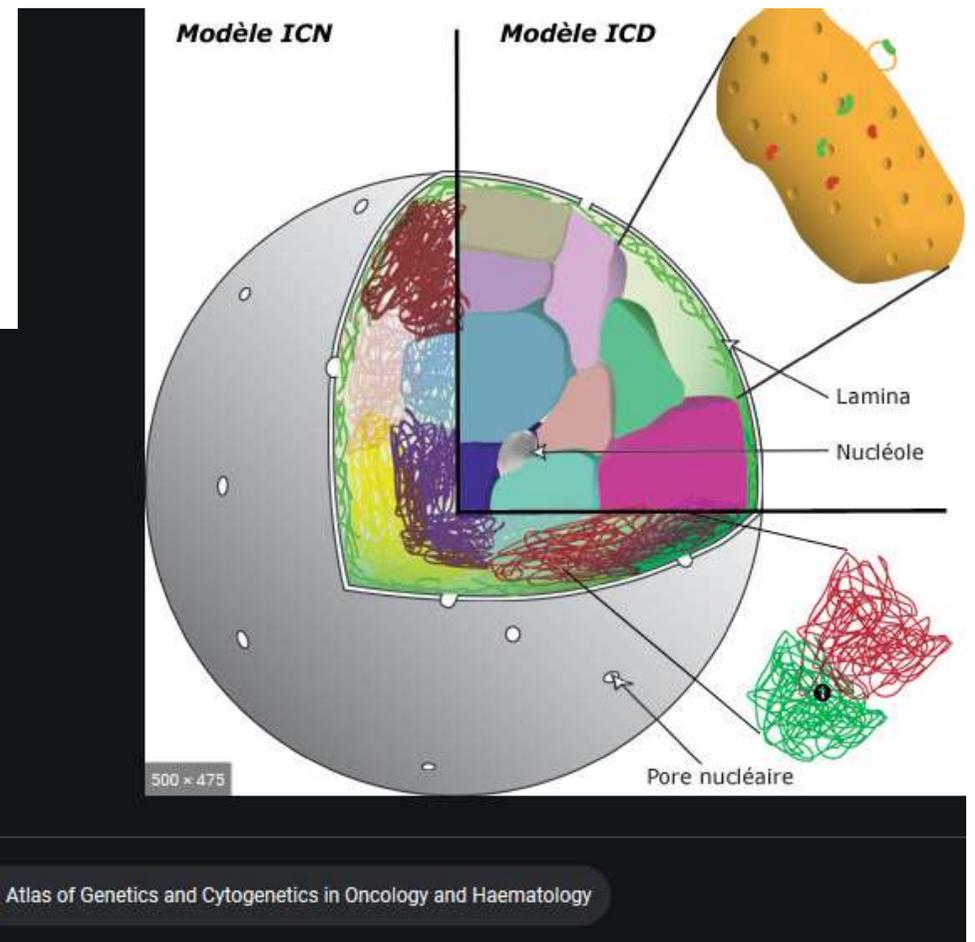


Figure 5 | **Studying genome organization using three-dimensional fluorescence *in situ* hybridization.** All the chromosome territories that make up the human genome can be visualized simultaneously in intact interphase nuclei, each in a different colour. **a** | A red, green and blue image of the 24 labelled chromosomes (1–22, X and Y) was produced from deconvoluted mid-plane nuclear sections from a three-dimensional stack by superposition of the 7 colour channels. **b** | As in 24-colour KARYOTYPING, each chromosome can be identified by using a combination labelling scheme in which each chromosome is labelled with a different set of fluorochromes. In this way, each chromosome territory can be automatically classified using appropriate software, which assigns the corresponding chromosome number to a territory. If a stack of these images is collected throughout the nucleus, a simultaneous three-dimensional reconstruction of all chromosome territories is possible. Some of the dark regions represent unstained nucleoli. For further details see REF. 90.

Speciher *et al.* 2005



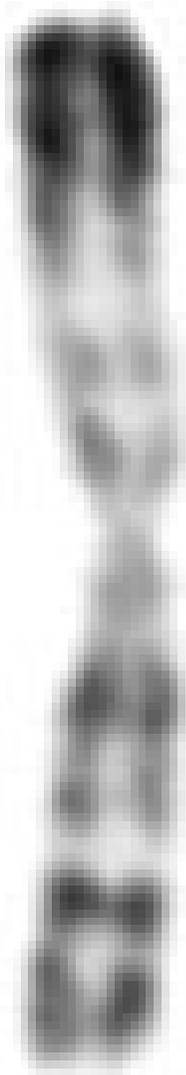
Structure des chromosomes

STRUCTURE D'UN CHROMOSOME

Au stade métaphasique

Un chromosome est formé de :
2 **chromatides** identiques
(chromatides sœurs)

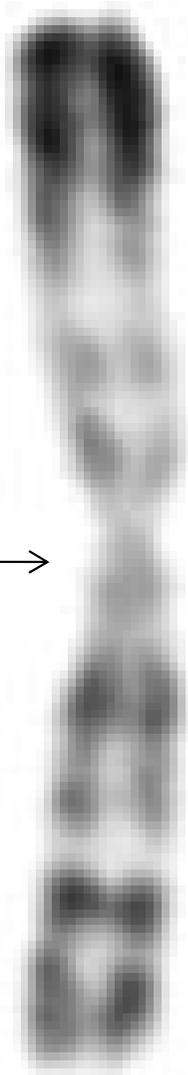
Une chromatide :
élément longitudinal
résultant de la réplication de l'ADN




Chromatides-soeurs

STRUCTURE D'UN CHROMOSOME

centromère →



Un chromosome est séparé en 2 parties par une zone étranglée = **le centromère** (constriction primaire).

hétérochromatine constitutive

Représente 5% du génome

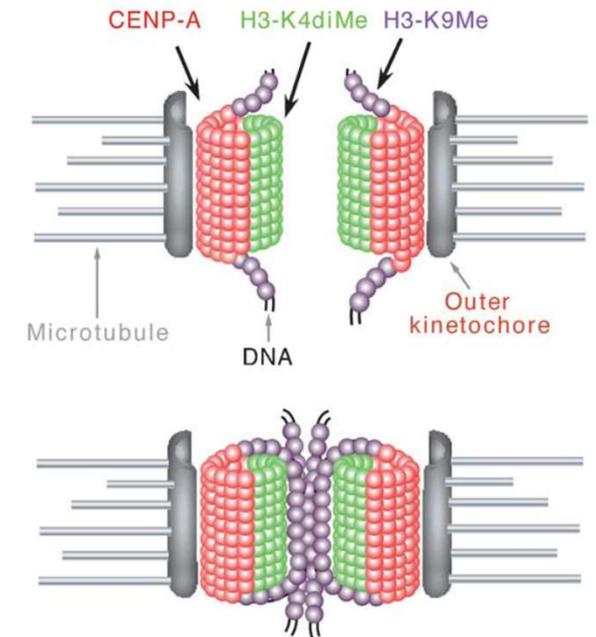
Le centromère

Le centromère est un complexe ADN/protéine associé au kinétochore

Ce complexe centromère se met en place **au moment de la mitose**

Dernier endroit où les chromatides-sœurs restent appariées avant leur séparation

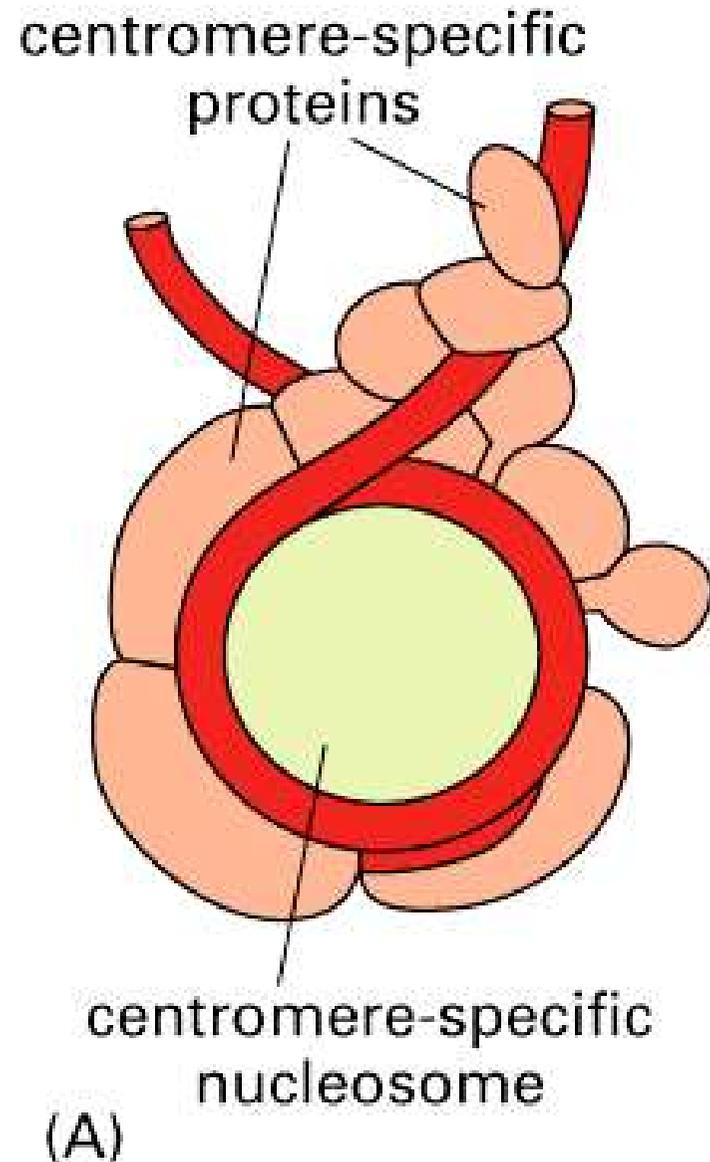
Dernières séquences d'ADN à être répliquées.



Sur le plan moléculaire, le centromère est constitué de séquences d'ADN répétées en tandem un grand nombre de fois (hétérochromatine) associé à un ensemble de protéines spécifiques (CENP : centromeric proteins).

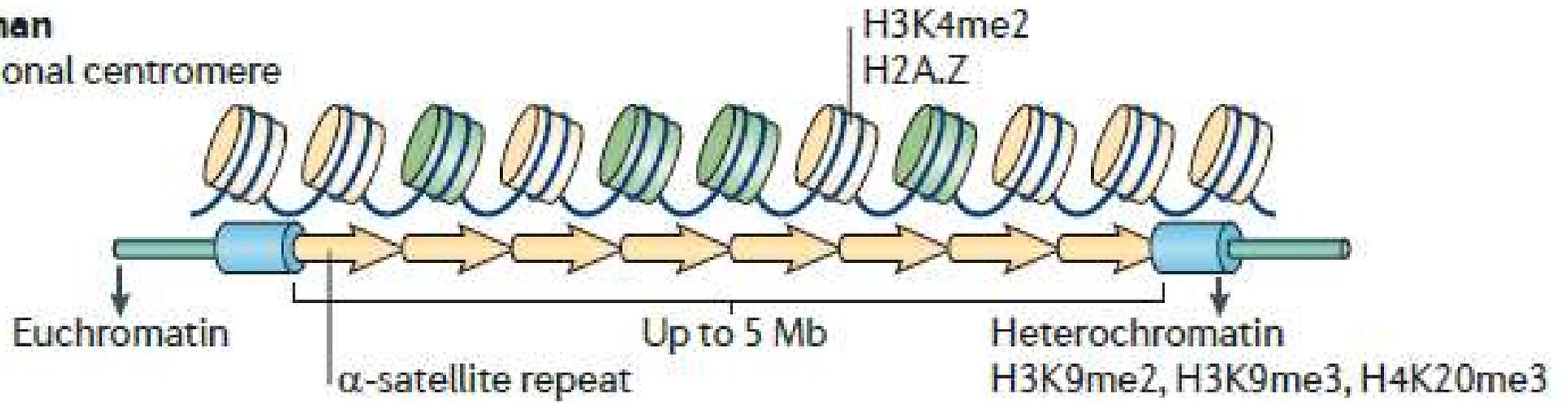
L'ADN du centromère humain constitué **d'ADN satellite** (en particulier alpha-satellite : ADN alphanucléaire)

Cet élément permet d'attacher le chromosome au fuseau mitotique (microtubules)



Human

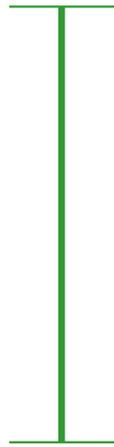
Regional centromere



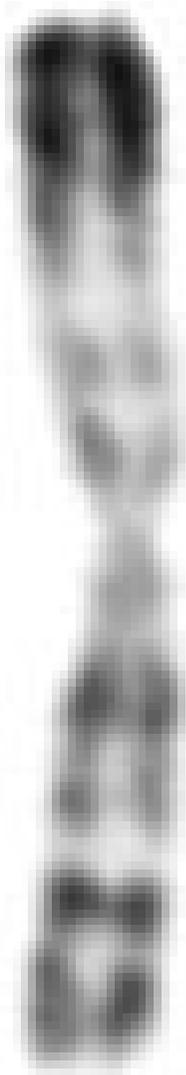
Jolien S. Verdaasdonk Nature Reviews Molecular Cell Biology 2011

STRUCTURE D'UN CHROMOSOME

p = bras court



q = bras long



Le chromosome est constitué de 2 **bras chromosomiques** :

- un bras court, noté « p »
- un bras long, noté « q »

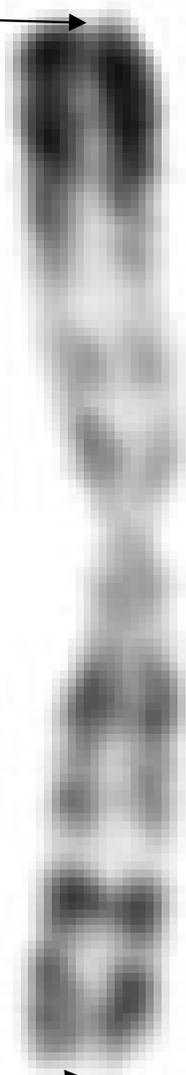
Par convention, p est situé au dessus du centromère et q est situé en dessous du centromère.

Les bras ont une taille variable en fonction des chromosomes.

Structure euchromatique

STRUCTURE D'UN CHROMOSOME

télomère



Les **télomères** sont les **extrémités terminales** des chromosomes.

Il y a 2 télomères / chromosome

télomère



Le télomère

Complexe nucléoprotéique

Sur le plan moléculaire, le télomère est également constitué :

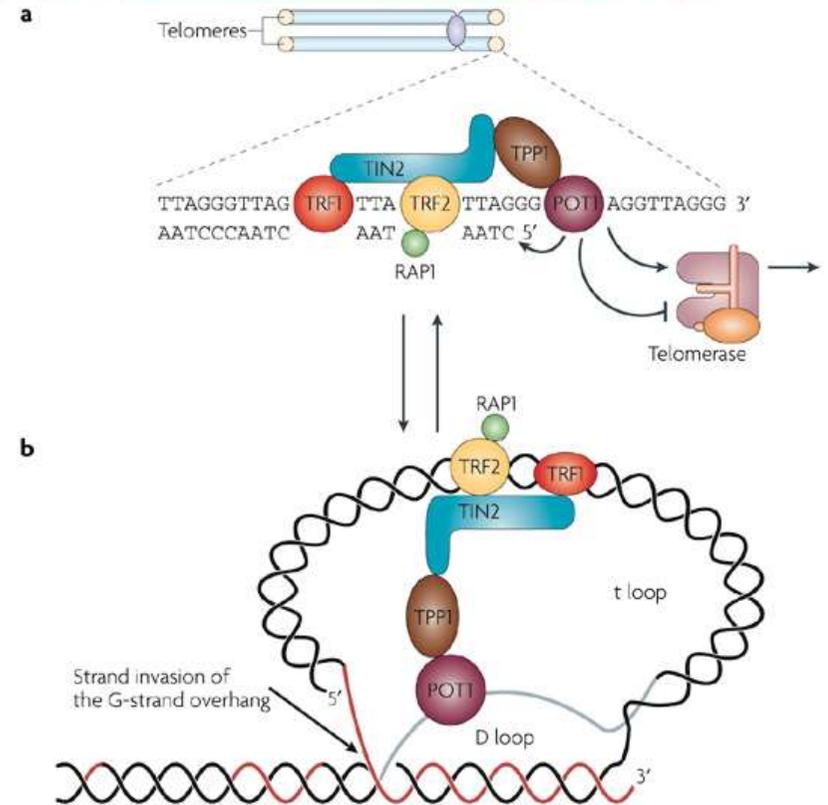
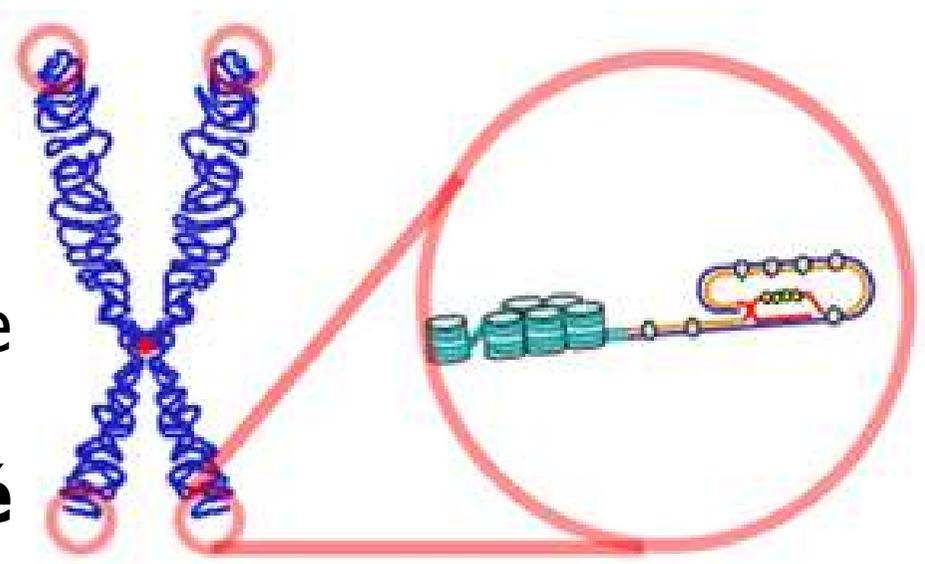
- d'**ADN non codant et répété** (TTAGGG) $_n$ (n=250 à 1500).

Taille de 5 à 15 Kilobases

- d'un complexe protéique :

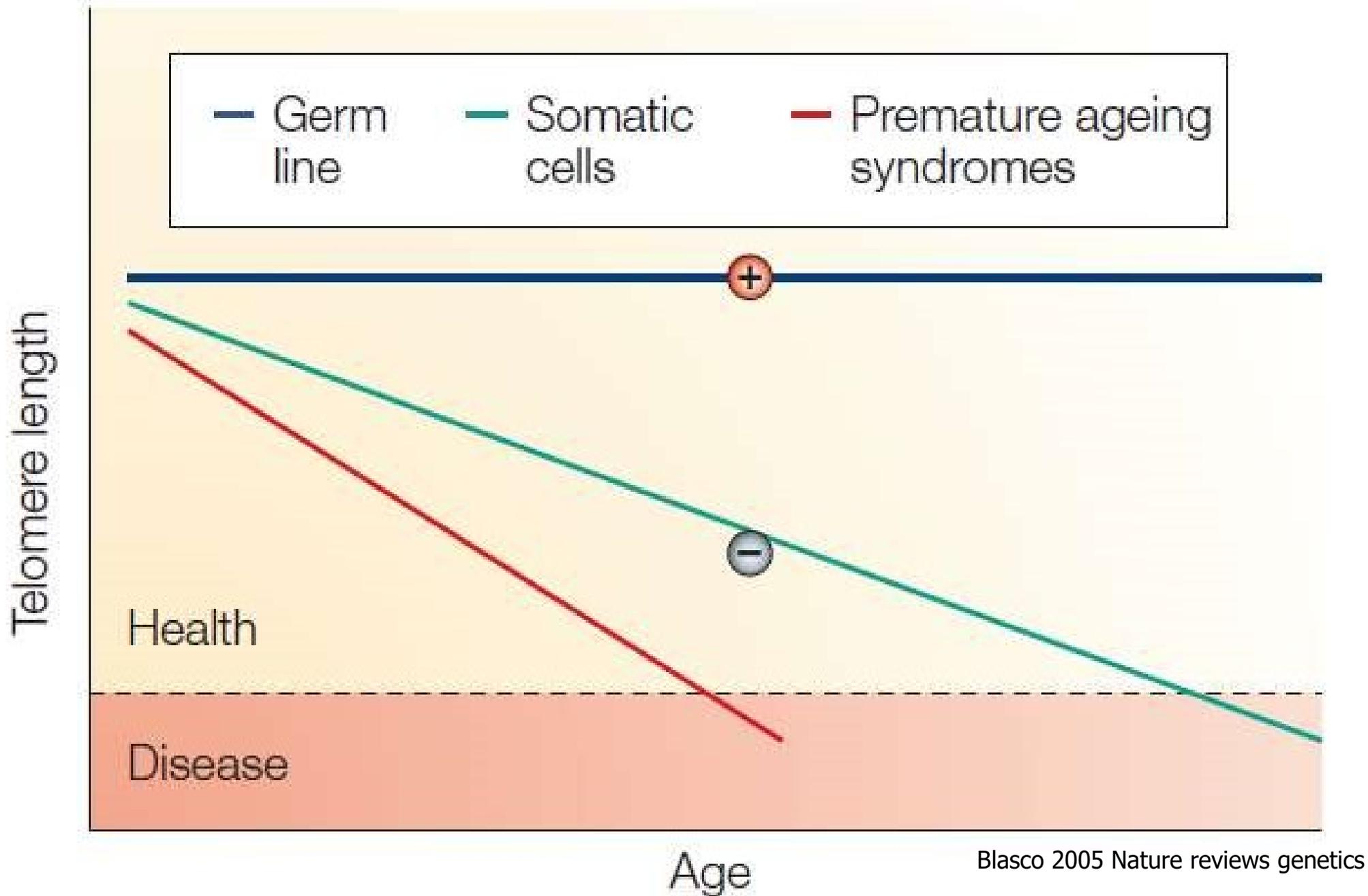
Téломérase

Protéines abondantes spécifiques des télomères (TRF1, TRF2, POT1, TIN2, PIP1 et hRap1...)



Rôle «protecteur» des terminaisons chromosomiques

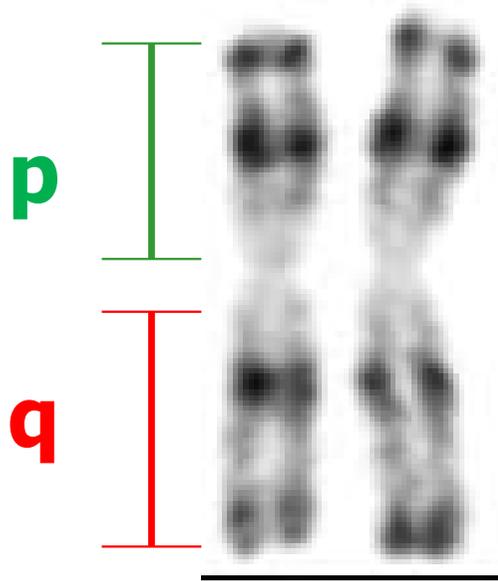
=> Contrôle de la prolifération cellulaire et de la stabilité du génome



Diminution de la taille des télomères au cours du vieillissement

STRUCTURE D'UN CHROMOSOME

Les chromosomes sont classés selon la position du centromère ou **l'INDEX CENTROMERIQUE (IC)**



$$IC = \frac{p}{p + q}$$

Rapport entre :

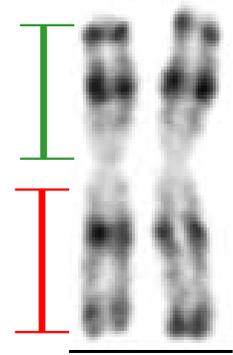
- la taille du bras court (**p**)
- la taille totale du chromosome (**p+q**)

3 groupes de chromosomes :

- Chromosomes métacentriques :

$$p \approx q, IC \approx 0.5$$

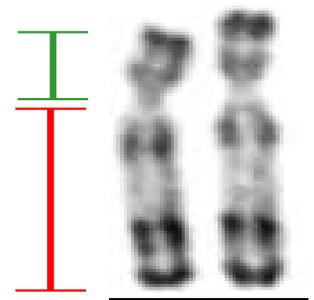
exemple : chromosomes 3



- Chromosomes submétacentriques :

$$p < q, IC < 0.5$$

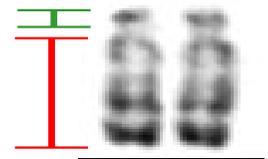
exemple : chromosomes 5



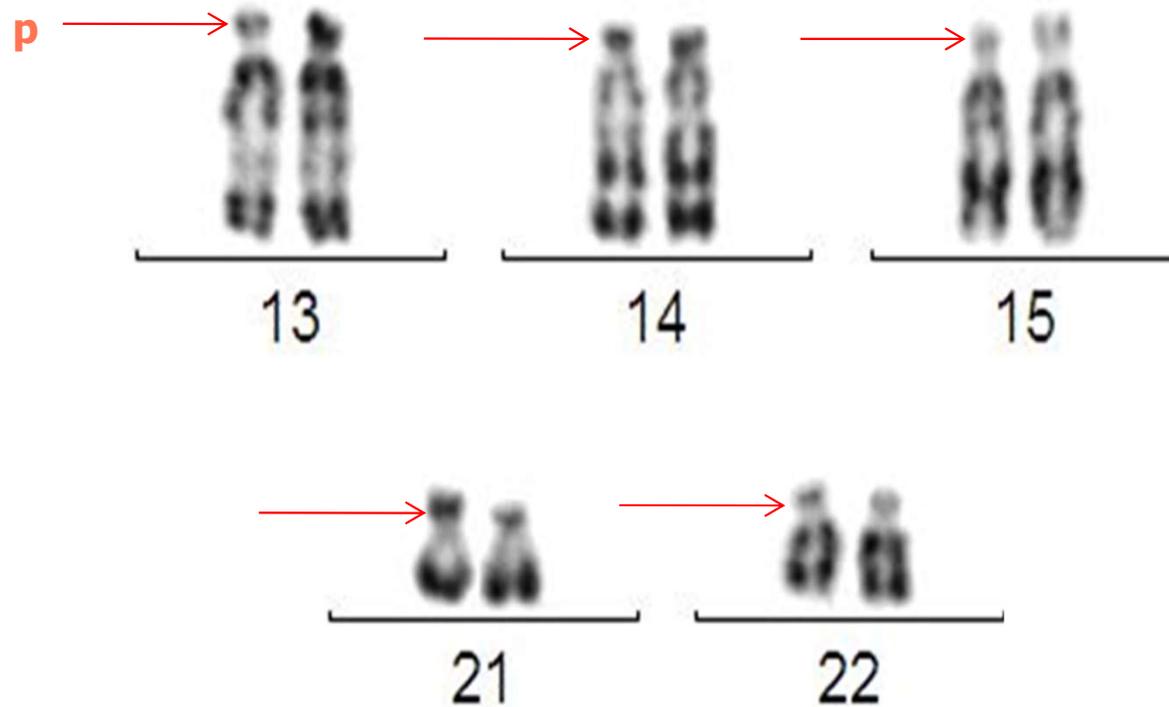
- Chromosomes acrocentriques :

$$p \ll q, IC \text{ proche de } 0$$

exemples : chromosomes 13, 14, 15, 21 et 22



Les chromosomes acrocentriques



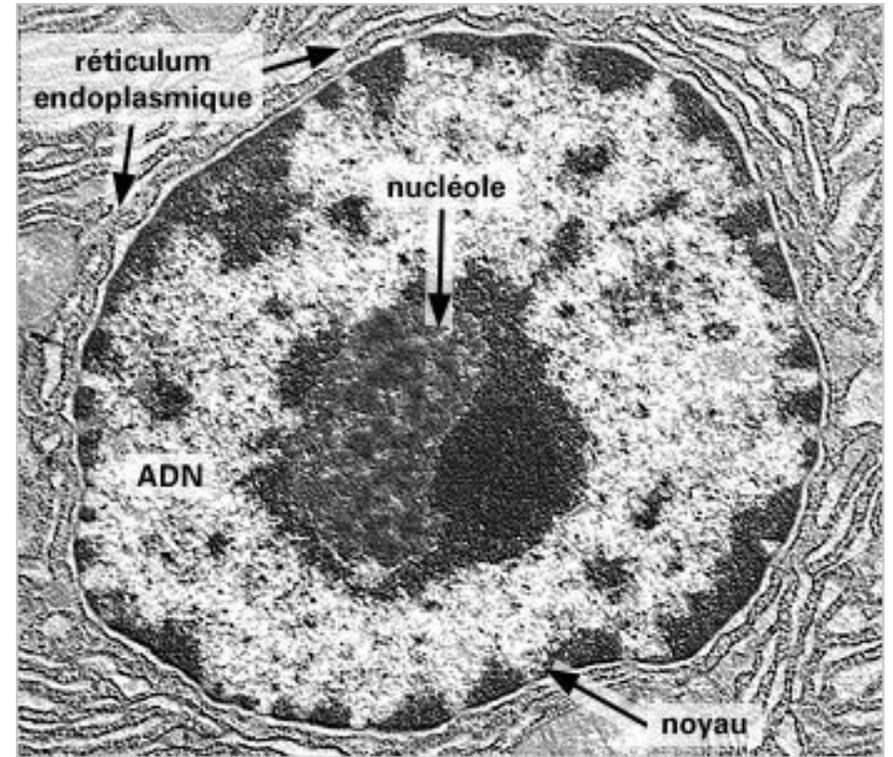
Attention : ne pas confondre les satellites et l'ADN satellite

Les **satellites situés sur les bras courts des chromosomes acrocentriques** se présentent sous forme de sphères de taille variable.

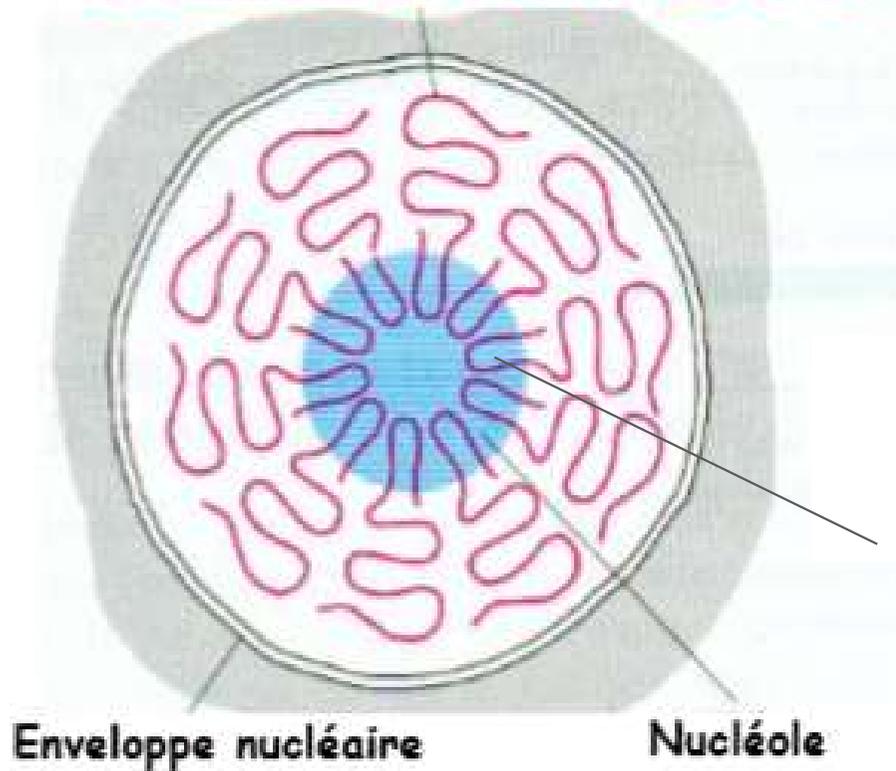
Sur le plan moléculaire, les satellites contiennent les gènes qui codent pour les ARN ribosomiaux.

Ce sont les **organisateurs nucléolaires (NOR)**.

Rôle dans la composition du nucléole



Chromosomes 13, 14, 15, 21 et 22

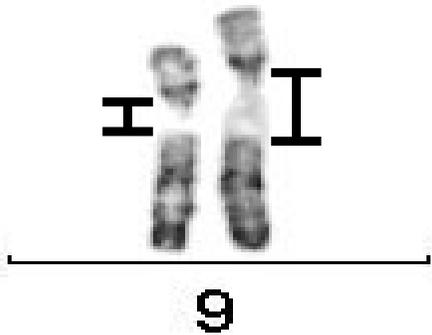


Bras courts des acrocentriques

Enveloppe nucléaire

Nucléole

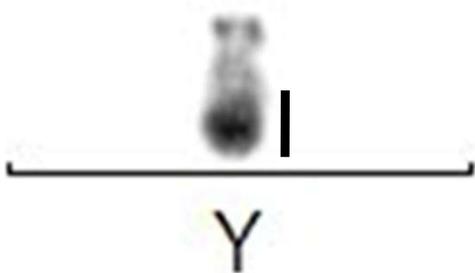
Les constriction secondaires



Les **constrictions secondaires** sont situées sur les chromosomes 1, 9 et 16. Ce sont des zones sous-centromériques.

La taille de ces constriction est variable (Hétérochromatine).

La partie terminale du chromosome Y



La partie terminale du chromosome Y est de taille variable (Hétérochromatine).

Technique d'obtention des chromosomes

TECHNIQUE D'OBTENTION DES CHROMOSOMES

Les chromosomes sont visibles lors de la division cellulaire.

culture cellulaire = cellules mises en division

(lymphocytes, les cellules du liquide amniotique, les cellules du trophoblaste, les fibroblastes, les cellules tumorales...)

blocage des cellules en métaphase (colchicine)

choc hypotonique (entrée d'eau dans les cellules)

fixation (solution de Carnoy) **et étalement**

coloration des préparations chromosomiques

- coloration homogène au **Giemsa**
- coloration inhomogène
= **marquage des bandes des chromosomes**
(bandes G, R, C, T, Nor)