**CHAPITRE 1 : STRUCTURE ET ULTRASTRUCTURE DES CHROMOSOMES**

**Introduction**

 Dans les cellules eucaryotes, le matériel génétique est organisé en une structure complexe constituée d'ADN (35%) et de protéines (histones 35% et protéines non histones 10 à 25%) et il est localisé dans un compartiment spécialisé, le noyau. Cette structure a été baptisée chromatine (du grec khroma : couleur et sôma : corps). C’est donc la chromatine qui porte le message héréditaire.

Chez l’homme, on estime la longueur de l’ADN à 3.109 paires de bases (un mètre par génome haploïde). Environ deux mètres d'ADN dans chaque cellule doivent être contenus dans un noyau de quelques μm de diamètre. En plus de cet énorme degré de compaction, l'ADN doit être rapidement accessible afin de permettre son interaction avec les machineries protéiques régulant les fonctions de la chromatine : la réplication, la réparation et la recombinaison.

**I- La chromatine**

Support de l’information génétique, elle correspond à la substance nucléaire qui fixe les colorants basiques. Dans le noyau interphasique, elle représente un mélange de fibres irrégulières dont le diamètre est variable en fonction du degré d’empilement.

L’unité structurale de la chromatine est le nucléosome et représente le premier niveau de compaction de l’ADN. Cette structure est ensuite régulièrement répétée pour former le nucléofilament qui peut, lui-même, adopter des niveaux d'organisation plus compacts, le niveau de condensation le plus élevé étant atteint au sein du chromosome métaphasique.

A partir d’observation histologiques, il est apparu que la chromatine avait une structure hétérogène faite d’un enchevêtrement de fibres dont le diamètre varie non seulement au cours du cycle cellulaire mais aussi en fonction des régions chromosomiques observées.

Au sein du noyau interphasique, la chromatine est organisée en territoires fonctionnels et divisée en :

 euchromatine et hétérochromatine. (figure 1)

1. **L’euchromatine**

L’euchromatine peut se présenter sous deux formes :

Une forme active (transcriptionnellement). Elle est alors constituée d’une fibre dont le diamètre est de 10 à 11nm (diamètre du nucléosome).

Une forme inactive. Elle s’enroule en un solénoïde sous la contrainte d’une histone (H1) qui va relier deux nucléosomes consécutifs. Son diamètre est de 30nm. D’autres protéines, non histones interviennent pour replier la fibre de chromatine en boucles.

L’euchromatine est décondensée pendant l’interphase du noyau.

Elle représente la majeure partie du génome et contient les gènes structuraux (gènes codant pour les protéines et les ARN non traduits). Elle est localisée à l’intérieur du nucléoplasme et représente la forme transcriptionnellement active de l’ADN.

1. **L’hétérochromatine**

L'hétérochromatine a été définie comme une structure qui ne change pas d'état de condensation au cours du cycle cellulaire tandis que l'euchromatine apparaît décondensée pendant l'interphase.

L'hétérochromatine est localisée principalement en périphérie du noyau et du nucléole tandis que l'euchromatine est répartie à l'intérieur du nucléoplasme.

On distingue :

· **L’hétérochromatine constitutive** qui contient peu de gènes, formée principalement de séquences répétées et dont les plus grandes régions sont situées à proximité des centromères et des télomères, de

· **L’hétérochromatine facultative** qui contient des régions codantes pouvant adopter les caractéristiques structurale et fonctionnelle de l'hétérochromatine, comme le chromosome X inactif chez la femelle des mammifères.



Figure 1 : localisation de la chromatine

**a- Le nucléosome (figure 2) :**

La microscopie électronique a révélé que la chromatine est constituée de particules régulièrement espacées dont l’aspect rappelle celui d’un ‘’collier de perle’’, les nucléosomes.

Chaque nucléosome est constitué :

**- d’une partie centrale (cœur)** : composée de 146 paires de bases (pb) d’ADN enroulés selon environ 1.7 tour autour d’un octamère protéique comprenant les histones H2A, H2B, H3 et H4 en deux exemplaires chacune (octamère d’histones). Cette structure est très conservée parmi les espèces.

- **d’une région de liaison** (ou région internucléosomale) qui relie les particules cœurs adjacentes et où les histones se lient à l’ADN. Ces histones sont de types variables et peu conservées parmi les espèces. Elles auraient un rôle dans l’espacement des unités nucléosomales et dans la compaction de l’ADN en créant une région d’interaction entre les nucléosomes adjacents.

La longueur de cette région varie selon l’espèce et le type cellulaire. En conséquence, la longueur d’ADN d’un nucléosome peut varier selon l’espèce entre160 et 241pb.



Figure 2 : structure du nucléosome

**b- Les histones**

\* Les histones de la particule cœur

Les histones de la particule cœur, H3, H4, H2A et H2B sont de petites protéines basiques très conservées au cours de l’évolution. La région la plus conservée de ces histones est leur domaine central. En revanche, les extrémités N-terminales de ces histones sont plus variables et sont dépourvues de structure secondaire. Ces extrémités sont particulièrement riches en résidus lysine et arginine et donc très basiques. Elles sont la cible de nombreuses modifications post traductionnelles pouvant affecter leurs charges mais aussi l'accessibilité à l'ADN et les interactions protéines/protéines avec le nucléosome.

\* Les histones internucléosomales

Les histones internucléosomales H1 sont les protéines qui s'associent à la région d'ADN de liaison entre deux nucléosomes. Contrairement aux histones de la particule cœur, elles sont peu conservées parmi les espèces. Chez les eucaryotes supérieurs, elles sont composées de trois domaines : un domaine globulaire centra non polaire, essentiel pour les interactions avec l'ADN, et deux extrémités N- et C-terminales non structurées, hautement basiques, et soumises à des modifications post-traductionnelles.

 Les histones inter-nucléosomales joueraient un rôle dans l'espacement des unités nucléosomales et dans la compaction de l'ADN au sein du nucléosome en créant une région d'interaction entre les nucléosomes adjacents.

**c- Les protéines non histones**

Constituent une minorité (environ 10%), leur pH est moins basiques que les histones et peuvent exercer des fonctions régulatrices.

**d- Les niveaux de compaction de la chromatine** (figure 3)

L'assemblage de l'ADN en chromatine comprend plusieurs étapes qui commencent par la formation de son unité fondamentale, le nucléosome, et finissent par des niveaux d'organisation supérieurs en domaines spécifiques dans le noyau.

**1- Formation du nucléosome** : mise en place sur l’ADN d’un tétramère d’histones (H3-H4)2 auquel s’adjoint deux dimères H2A-H2B. Le nucléosome ainsi formé est composé de 146 pb d’ADN enroulées autour un octamère d’histones.

**2**- **Formation du nucléofilament** : étape qui permet un espacement régulier des nucléosomes (11nm de diamètre)

**3- Incorporation d’histones internucléosomales** : étape qui permet le repliement du nucléofilament en fibre de 30nm. Puis, la chromatine forme successivement des fibres de 300 et 700nm. Finalement chaque molécule d’ADN a été empaquetée dans un chromosome mitotique 50000 fois plus court que la molécule déroulée.

Les premières étapes de la compaction de l’ADN peuvent avoir une grande incidence sur la structure (repliement) et l’activité finale de la chromatine.

C’est le résultat de modifications au niveau :

* de l’ADN (exemple : méthylation)
* des histones (modifications post-transcriptionnelles : acétylation, phosphorylation…)
* de l’incorporation d’histones internucléosomales et de protéines non histones



Figure 3 : compaction de la chromatine

**II- Le chromosome**

On peut envisager deux états fonctionnels du génome pendant le cycle cellulaire :

* Un état décondensé pendant l'interphase, où l'ADN est visible en microscopie optique sous la forme de chromatine dans le noyau et permettant l'expression des gènes.
* Un état condensé au moment de la division, où chaque molécule d'ADN est compactée sous la forme d'un chromosome avec perte provisoire de la fonction transcriptionnelle.

De ce point de vue, le chromosome au sens microscopique n'est donc pas un élément stable de la cellule mais une structure dynamique et transitoire.

**a- Morphologie du chromosome métaphasique**

Le chromosome métaphasique est visualisé lors de la métaphase de la mitose, meilleur moment d’analyse des chromosomes où la condensation de la chromatine est maximale.

Il constitué de deux chromatides, chaque chromatide représentant une des deux molécules d'ADN identiques issues de la réplication en phase S. Ces deux chromatides sont étroitement associées au niveau du centromère, qui constitue la constriction primaire du chromosome et correspond à la zone de fixation sur les fibres du fuseau de division.

La constriction centromérique est un repère qui permet de séparer le chromosome en deux régions principales : un bras court (par convention situé au dessus du centromère) et un bras long (en-dessous du centromère).

Les extrémités des bras chromosomiques sont des régions possédant une architecture particulière sur le plan moléculaire et sont appelées télomère. Il y a un télomère pour le bras court et un télomère pour le bras long. (figure 4)



Figure 4 : structure du chromosome métaphasique

En fonction de la taille respective des bras courts et longs, on reconnaît trois groupes morphologiques de chromosomes :

* Les chromosomes métacentriques, (figure 5) dont les bras courts et longs sont de taille semblable. L'index centromérique (rapport de la taille du bras court sur la taille du bras court + la taille du bras long) est autour de 0,5.



figure5 : chromosome métacentrique

* Les chromosomes submétacentriques, (figure 6) dont les bras courts sont franchement plus courts que les bras long. L'index centromérique est très inférieur à 0,5.



Figure 6 : chromosome submétacentrique

* Les chromosomes acrocentriques, (figure 7) dont le bras court est peu ou pas visible. L'index centromérique est proche de 0. La particularité essentielle de ce groupe de chromosomes est qu'ils hébergent les mêmes gènes sur leur bras courts, qui ont tous une structure identique. Il s'agit des gènes responsables de la synthèse des ARN ribosomiques, présents à plusieurs centaines d'exemplaires dans la cellule.



Figure7 : chromosome acrocentrique

Le nombre et l'aspect général des chromosomes sont caractéristiques de chaque espèce, et sont donc identiques chez tous les individus d'une espèce donnée.

Il existe cependant certaines régions dont la morphologie peut présenter des variations de taille non pathologiques, appelés polymorphismes.

Ces variations sont liées à la présence de séquences répétées en nombre variable, non codantes.

En dehors de ces zones polymorphes, les régions d'ADN répété non codantes qui forment l'hétérochromatine constitutive se retrouvent également au niveau des centromères de tous les chromosomes. (figure 8)



H : hétérochromatine

Figure 8 : régions hétérochromatiques

**b- Le centromère**

C’est le site de fixation des microtubules de tubulines formés au cours de la division cellulaire. Cela aboutit à l’alignement correct des chromosomes en métaphase et leur ségrégation correcte au cours de l’anaphase.

La perte de cette structure aboutit à une instabilité chromosomique.

Le domaine centromérique englobe le centromère proprement dit et la région adjacente. Ce domaine est constitué d’ADN satellites (séquences répétées), les plus abondantes sont les séquences alpha-satellites.

NB : la faible homologie des séquences alphoides de deux chromosomes différent est utilisée en FISH via les sondes centromériques. Ceci ne s’appliquent pas aux chromosomes acrocentriques qui présentent une homologie importante des séquences alphoides ce qui expliquent leur implications dans les translocations robertsoniennes.

**c- Le télomère**

Localisé à chacune des extrémités de chaque chromatides, il permet le maintien de l’intégrité du chromosome lors des divisions cellulaires.

L’ADN télomérique est riche en séquences répétées en tandem. D’autres séquences moyennement répétées subtélomériques sont riches en cytosine et guanine (CG) constituent un polymorphisme de longueur spécifique de chaque chromosome.

**d- Composition de l’axe protéique du chromosome**

Deux principales protéines sont constitutives du “squelette” interne du chromosome : la Topoisomérase II et les Condensines I et II.

**\*\* La topoisomérase :**

La Topoisomérase est une protéine dont la fonction est de supprimer les super tours au niveau de la molécule d'ADN et de supprimer les nœuds créés par l'activité des différentes enzymes actives au niveau de l'ADN.

La Topoisomérase II a la capacité de couper la molécule d'ADN, de faire passer le brin coupé en dehors de la boucle et de ressouder les deux extrémités. Cette fonctionnalité est essentielle pour permettre une séparation correcte des deux chromatides sœurs pendant l'étape de condensation des chromatides en prophase.

Un déficit en Topoisomérase II se traduit alors par un défaut de condensation des chromosomes, avec pour conséquence une séparation incomplète des deux lots chromosomiques en anaphase et la persistance de masse de chromatine au niveau du plan de division cellulaire. Cette protéine n'est cependant pas un composant fixe de l'axe protéique, elle en constitue au contraire un élément dynamique en renouvellement permanent

**\*\* La condensine**

Le deuxième constituant essentiel de l'axe chromosomique est la Condensine, dont il existe deux sous types, Condensine I et II.

Ces protéines sont en fait des complexes multi protéiques associant 2 sous unités SMC (SMC2 et SMC 4 pour Structural Maintenance of Chromosome) et 3 sous unités non SMC (CAP H/H2, CAP D2/D3, CAP G/G2). Les deux sous unités SMC s'associent pour former un V porteur d'un site de fixation pour l'ATP à l'extrémité de chacune des deux branches. (Figure 9)



Figure 9 : constituants de la condensine

Les sous-unités non SMC permettent de contrôler l'ouverture de la pince constituée par les deux protéines SMC. Grâce à l'énergie libérée par l'hydrolyse de l'ATP, les Condensines ont la capacité de se lier à l'ADN et de générer des super tours et des boucles, ce qui entraîne une condensation de la chromatine.

De manière surprenante au regard du rôle présumé des Condensines, leur inactivation n'entraîne pas une abolition de la compaction, qui survient malgré tout mais de façon retardée et incomplète. Cette compaction imparfaite entraîne cependant une morphologie anormale des chromosomes en raison d'une désorganisation de l'axe protéique des chromatides, ainsi qu'une ségrégation anormale en raison de masses chromatiniennes persistantes au niveau de la plaque équatoriale en fin d'anaphase