

**TP SV
F2**
DIVISIONS CELLULAIRES DES EUCARYOTES

COURS : SV-F-1.1, SV-F-3, SV-D-2.3, SV-G

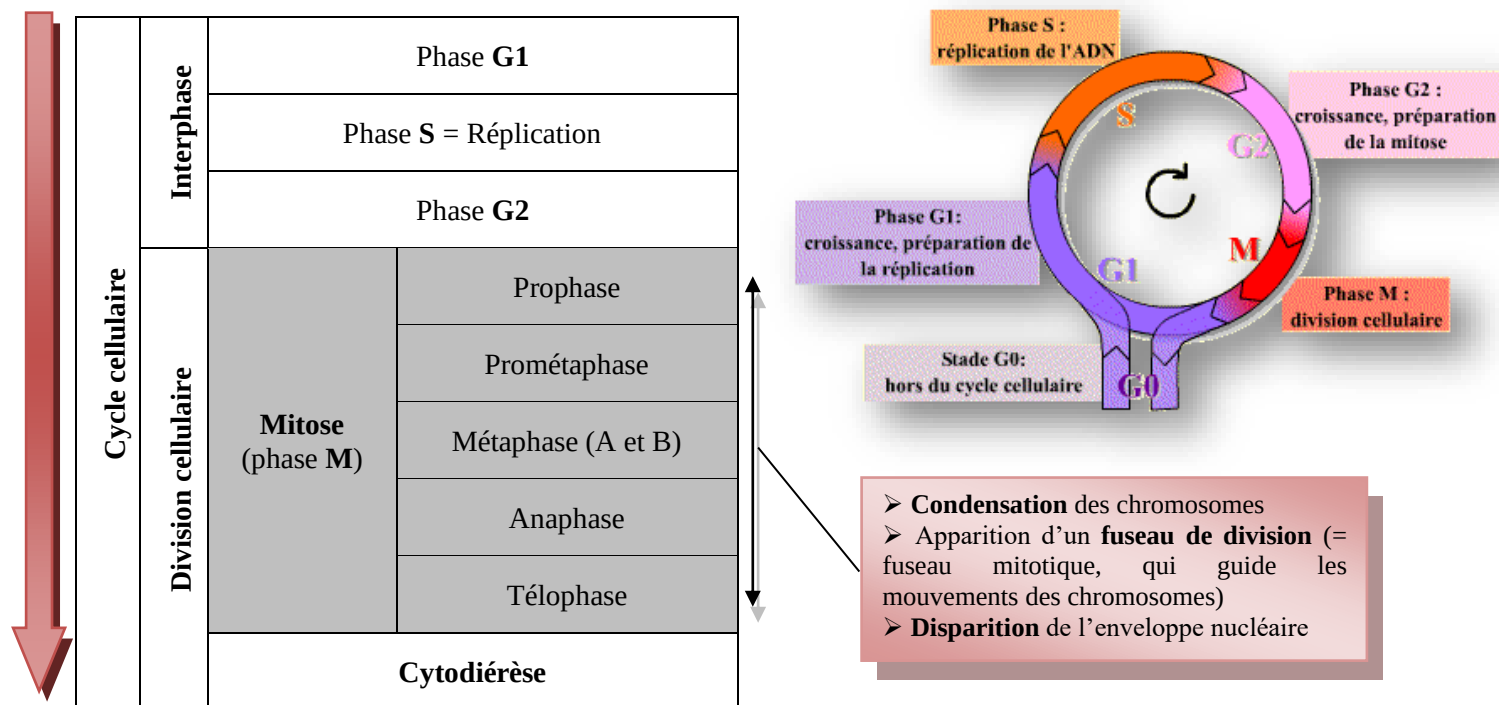
TP : SV-G1, SV-G2



L'identité biologique d'un organisme résulte de l'information génétique contenue dans son génome, identique dans toutes ses cellules (à l'exception des cellules reproductrices en particulier). Chez les eucaryotes, ce génome est réparti entre plusieurs chromosomes linéaires, et transmise de génération cellulaire en génération cellulaire au cours des divisions cellulaires (**mitoses** = divisions conformes).

La mitose s'inscrit dans le cadre plus général du cycle cellulaire, qui comporte ainsi une étape de duplication de l'information génétique (réplication – phase S), et une étape de partage équitable de cette information au cours de la division cellulaire (formée de la mitose et de la cytotédière).

La **méiose** permet, chez eucaryotes, le passage d'une cellule diploïde à quatre cellules haploïdes.



Le but de ce TP est d'observer et de comprendre le comportement des chromosomes au cours des différentes phases de la mitose et de la méiose.

Programme officiel :

A l'aide de différentes techniques microscopiques, repérer les différentes phases de la mitose, l'organisation des chromosomes et du fuseau de division.

A l'aide de différentes techniques microscopiques, repérer les différentes phases de la méiose, l'organisation des chromosomes et du fuseau de division

Compétences :

Réaliser une préparation de microscopie optique, y compris des coupes à main levée, avec ou sans coloration

Mettre en œuvre un protocole de coloration adaptée à la problématique biologique

Réaliser une observation en microscopie optique : objectifs et grossissement, intensité lumineuse, mise au point, utilisation de l'huile à immersion

Déterminer un ordre de grandeur ou la taille d'un objet à partir d'une échelle ou d'un grossissement

Exploiter des clichés de microscopie

Réaliser un dessin d'observation

Plan du TP :
1. La mitose : répartition à l'identique du matériel génétique
2. Méiose : passage de la diploïdie à l'haploïdie
3. Divisions et cytosquelette
3.1. Chromosomes et fuseau mitotique
3.2. Cytodiérèse végétale et microtubules
4. Observations
4.1. Colorations de l'ADN
4.2. A faire

Travail préparatoire :

📖 Réviser la mitose (partie 1) : observation attentive des figures + lecture attentive des paragraphes avec une étoile ☆

📖 Réviser la méiose (partie 2) : observation attentive des figures + lecture attentive

Faire le QCM d'auto-évaluation en ligne : <https://www.quiziniere.com/diffusions/3DDWJ4>

✂ Faire ci-dessous :

- un schéma d'Anaphase de mitose, pour une cellule avec $2n=2$ chromosomes et un génotype $\left(\frac{A_1}{A_2}, \frac{B_1}{B_2}\right)$

- un schéma de Métaphase I (méiose I), pour une cellule avec $2n=2$ chromosomes et un génotype $\left(\frac{A_1, B_1}{A_2, B_2}, \frac{C_1}{C_2}\right)$

1. La mitose : répartition à l'identique du matériel génétique

La mitose comporte plusieurs étapes. Elle débute par la **condensation** des chromosomes, se poursuit par leur **disposition au centre** du fuseau mitotique, puis leur répartition en deux lots **égaux** : on passe d'une cellule avec $2n$ (diploïde) ou n (haploïde) chromosomes **bichromatidiens** (à deux chromatides = deux molécules d'ADN identiques) à deux lots de chromosomes **monochromatidiens**. Enfin, le cytoplasme est divisé en deux : on obtient **deux cellules**.

TP
F2

LES ETAPES DE LA MITOSE

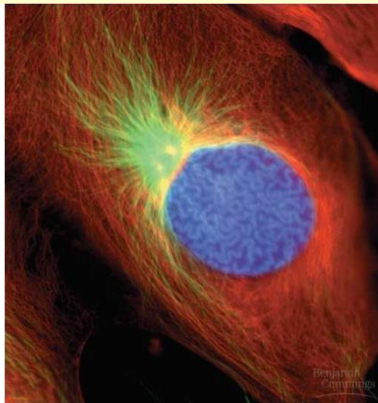
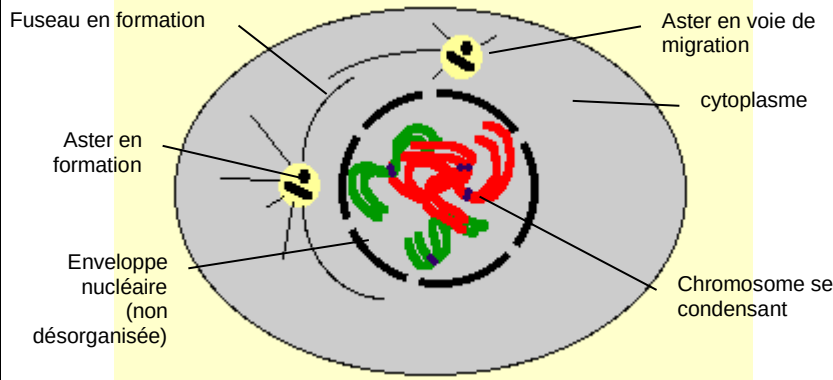
(CELLULE ANIMALE)



Il s'agit ici de schémas et non de dessins attendus en TP. Ces différentes étapes seront précisées dans le cours, dont cette partie du TP est partie intégrante.

Schéma : © Biologie et Multimédia www.snv.jussieu.fr/bmedia. Photographies : immunocytochimie montrant le fuseau mitotique (microtubules), les chromosomes et le reste du cytosquelette

La PROPHASE : condensation chromosomique et début de formation du fuseau



☆ **Phénomènes nucléaires** : chaque chromosome, formé de **deux chromatides** sœurs reliés au **centromère**, se **condense** progressivement. Les chromosomes deviennent identifiables. Le **nucléole** disparaît.

☆ L'enveloppe nucléaire se **fragmente** en petites vésicules (par phosphorylation d'une protéine constitutive de la lamina).

Phénomènes cytoplasmiques : les **centrioles** (préalablement dupliqués) s'entourent au niveau du matériel péricentriolaire d'un ensemble rayonnant de microtubules, ce qui conduit à la formation de **deux asters**. Ces asters se séparent et contournent le noyau pour se positionner de manière opposée, définissant les deux pôles de division. Les **microtubules polaires** se mettent en place, hors du noyau, prémices du futur fuseau mitotique.

1 centriole = 9 triplets de microtubules

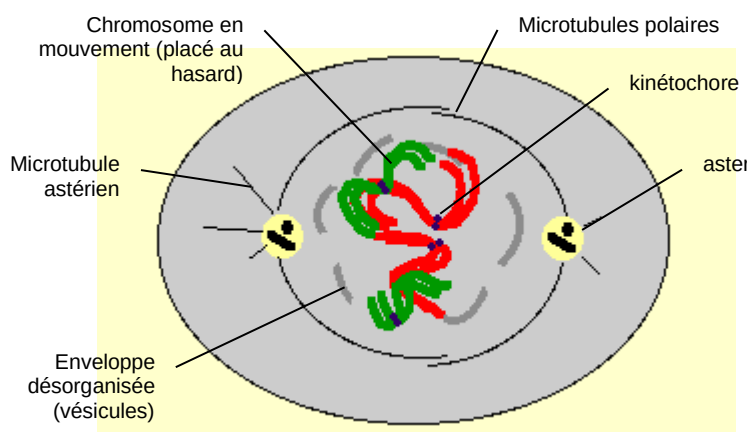
2 centrioles = 1 diplosome

1 diplosome + matériel péricentriolaire = 1 centrosome

Centrosome + microtubules astériens = 1 aster

Aster + microtubules kinétochoriens et polaires = fuseau de division

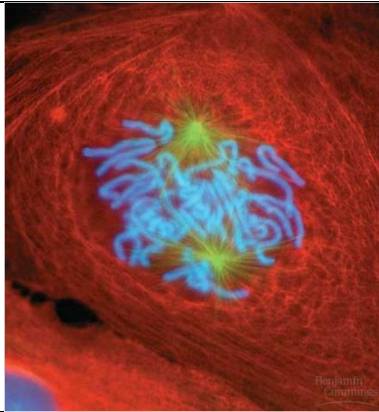
La PREMETAPHASE (PROMETAPHASE) : mise en place de l'appareil mitotique et disposition des chromosomes sur la plaque équatoriale



☆ Elle débute par la **rupture complète** de l'enveloppe nucléaire et la dispersion des vésicules.

Les **kinétochores** se différencient : ce sont des centres organisateurs qui jouent un rôle essentiel dans la différenciation des microtubules. D'un diamètre de $0,5 \mu\text{m}$ et d'une épaisseur de $1 \mu\text{m}$, ils assurent la polymérisation de microtubules dont la direction est perpendiculaire à l'axe du chromosome.

Le **fuseau mitotique**, suite à la disparition de l'enveloppe nucléaire, s'installe au milieu de la cellule. Les chromosomes se disposent **perpendiculairement aux fibres fusoriales**, chaque kinétochore face à un centrosome : ce positionnement est permis par « l'accrochage » de microtubules (les microtubules kinétochoriens) aux kinétochores.

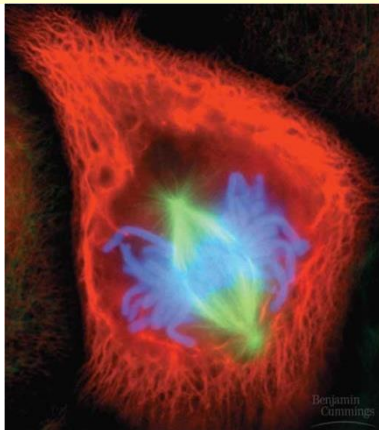
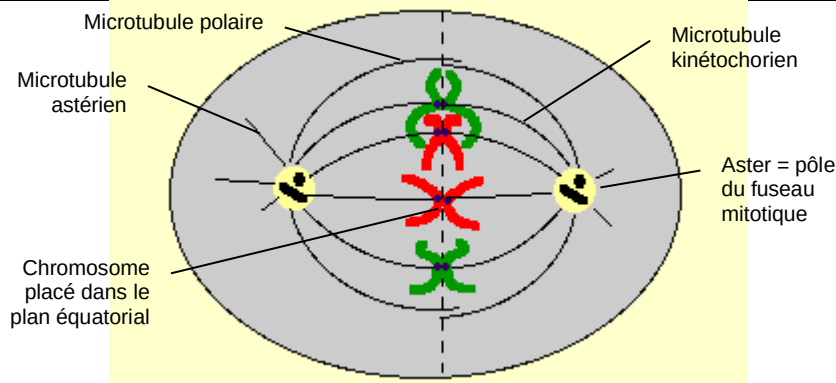


On distingue donc trois types de microtubules dans le fuseau mitotique :

- Les **microtubules kinétochoriens**
- Les **microtubules polaires**, issus d'un centrosome et positionnés en direction de l'autre centrosome sans être fixés à un kinétochore
- Les **microtubules astériens**, plus petits, rayonnant du centrosome dans les autres directions

Voir cadre « métaphase » ci-dessous.

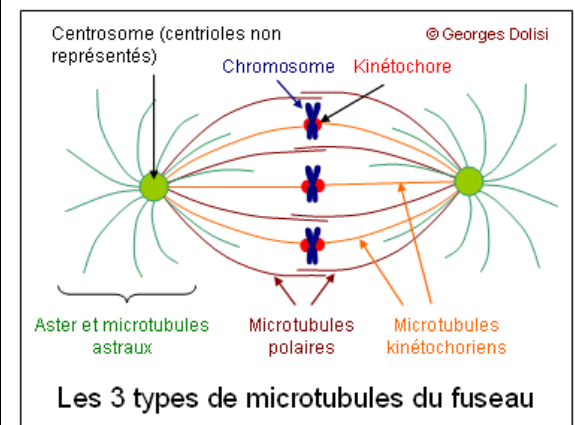
La METAPHASE : équilibre dynamique dans le plan équatorial



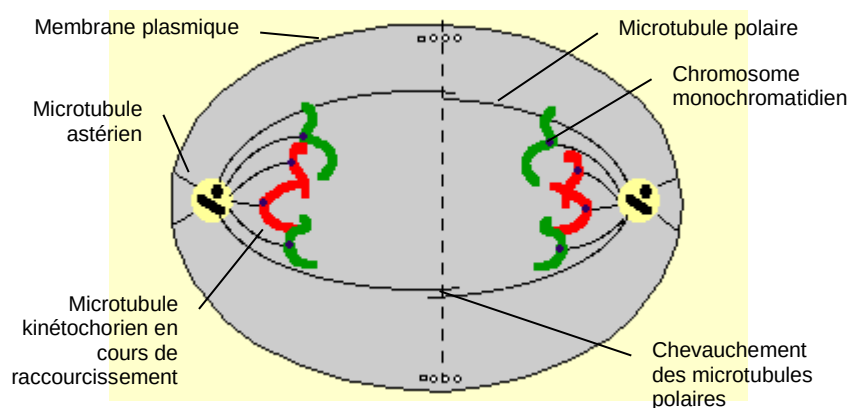
☆ C'est à la métaphase que l'état de **condensation maximale** des chromosomes est atteint.

☆ Les chromosomes se disposent dans le **plan équatorial** sous l'effet du jeu respectif et opposé des **microtubules kinétochoriens** qui exercent une tension équivalente des deux côtés. On a donc un équilibre, faussement statique, car résultant en fait d'une traction bipolaire équilibrée.

Le plan équatorial est en fait « **virtuel** », et existe du fait de l'alignement des chromosomes ; il n'y a aucune structure moléculaire lui correspondant.



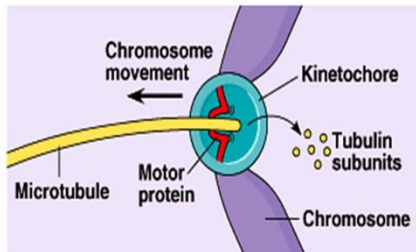
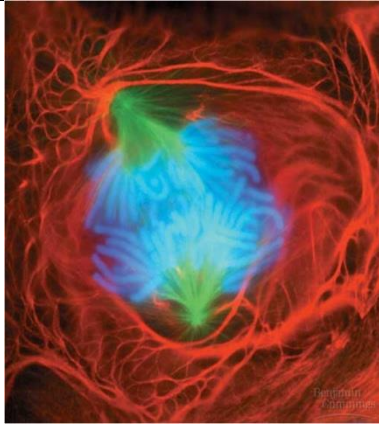
L'ANAPHASE : migration des chromosomes monochromatidiens vers les deux pôles de la cellule



☆ La transition métaphase – anaphase est due à la dégradation des protéines d'attachement, ce qui permet la séparation des **chromatides sœurs**, au niveau du centromère. On passe donc de chromosomes bichromatidiens à des chromosomes monochromatidiens.

Chaque chromatide sœur (ou nouveau chromosome frère...) migre vers un des deux pôles de la cellule : c'est la migration ou **ascension polaire** (vitesse : $1\mu\text{m}.\text{min}^{-1}$). Les microtubules kinétochoriens exercent une **traction sur les centromères** : ceux-ci migrent « en avant », traînant le reste du chromosome vers les pôles.

A la fin de l'anaphase, les deux pôles possèdent un jeu équivalent de chromosomes.

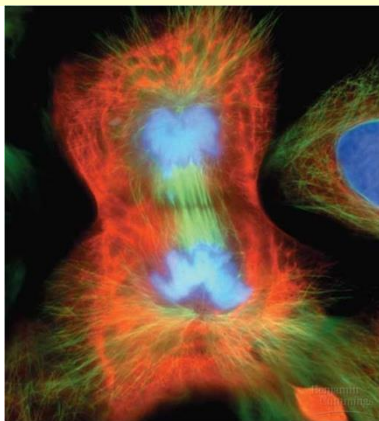
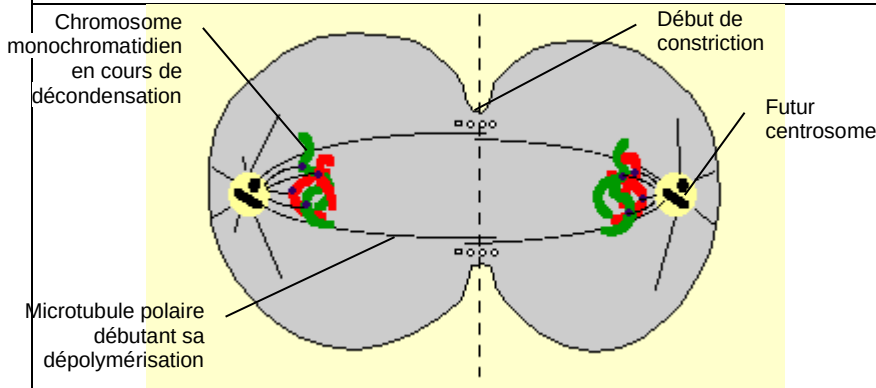


On distingue en réalité deux dynamismes dans l'anaphase :

Anaphase A : raccourcissement des microtubules **kinétochoriens** par **dépolymérisation au niveau des kinétochores**. Ceci conduit à une réduction de longueur de ces microtubules et donc à un entraînement vers les pôles. La chromatide reste attachée au kinétochore, et le kinétochore reste accroché au microtubule en cours de raccourcissement.

Anaphase B : **élongation** des microtubules **polaires** (avec consommation d'ATP) au niveau des extrémités (+), et **glissement** des microtubules polaires entre eux ; ceci conduit à un éloignement des deux pôles, et allonge donc la cellule. La séparation des deux lots chromosomiques est accentuée. Dans le même temps, les microtubules **astériens** exercent une **traction** des centrosomes vers la membrane plasmique, ce qui est encore un facteur d'accentuation des mouvements observés.

La TELOPHASE : rassemblement des chromosomes et reformation des enveloppes nucléaires



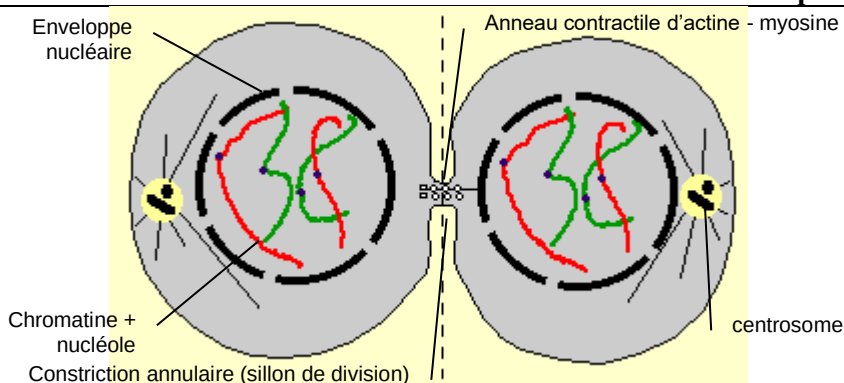
☆ Les chromosomes monochromatidiens se rassemblent à chaque pôle en **deux lots identiques**, et commencent à se décondenser.

Les fragments de l'enveloppe nucléaire commencent à se réassocier : la lamina se reconstitue par déphosphorylation puis polymérisation des protéines la constituant ; ceci permet l'ancrage des molécules d'ADN, et la réassociation des vésicules du REG au niveau de cette lamina.

☆ Le nucléole se reforme et un noyau interphasique est progressivement reconstitué.

La dépolymérisation de plus en plus prononcée des microtubules du fuseau mitotique conduit à une réorganisation du cytosquelette.

La CYTODIERESE : achèvement de la séparation en deux cellules filles



☆ La cytotéièrese débute dès la fin de l'anaphase, et conduit à la bipartition de la cellule. Un **anneau contractile** (chez les cellules animales), formé de l'association de filaments d'actine et de molécules de myosine II, se constitue dans le plan équatorial. Il conduit à la formation d'un **sillon de division** qui progresse rapidement (en quelques minutes) vers le centre, comprimant les derniers microtubules polaires.

La fusion des membranes plasmiques permet la séparation définitive des **deux cellules filles**, possédant le même patrimoine génétique.

2. Méiose : passage de la diploïdie à l'haploïdie

La méiose comporte deux divisions successives, permettant de passer d'une cellule **diploïde** (à chromosomes bichromatidiens) à quatre cellules **haploïdes** (à chromosomes monochromatidiens).

La **première division** (méiose I) est aussi appelée **réductionnelle** : c'est elle qui permet le passage de la diploïdie à l'haploïdie. Elle est marquée par une très longue prophase (prophase I), pendant laquelle les chromosomes homologues s'apparient et échangent des fragments de chromatide (crossing-over) : il s'agit du **brassage intrachromosomique**.

Ce brassage crée de nouvelles combinaisons d'allèles au niveau des chromatides remaniés.

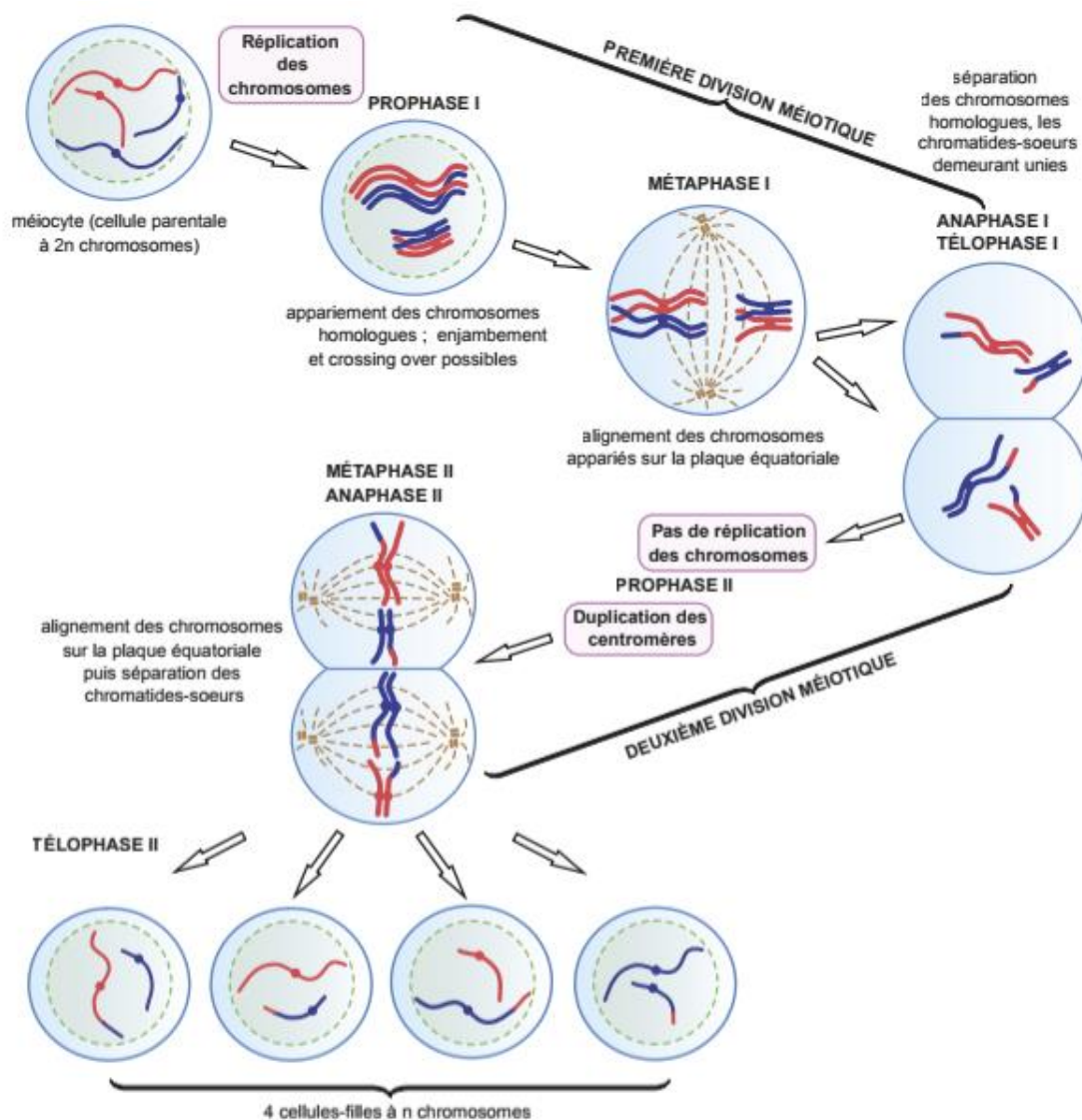
Le phénomène moléculaire et génétique intervenant est nommé **crossing-over**. Il se traduit par un chevauchement des chromatides remaniés pendant les étapes suivantes de la méiose I : ce chevauchement, conséquence du crossing-over, est nommé **chiasma**.

A la métaphase I, les bivalents (paires de chromosomes homologues) se positionnent au niveau de la plaque équatoriale. Chaque chromosome est fixé à un faisceau de microtubules provenant d'un pôle du fuseau (les kinétochores sont en effet en position syntélique, c'est-à-dire regroupés du même côté de chaque chromosome). Cette disposition permet une séparation des bivalents : on forme deux jeux de chromosomes bichromatidiens. La disposition des chromosomes homologues à la métaphase étant réalisée de manière aléatoire, on procède ici à un deuxième brassage, le **brassage interchromosomique**.

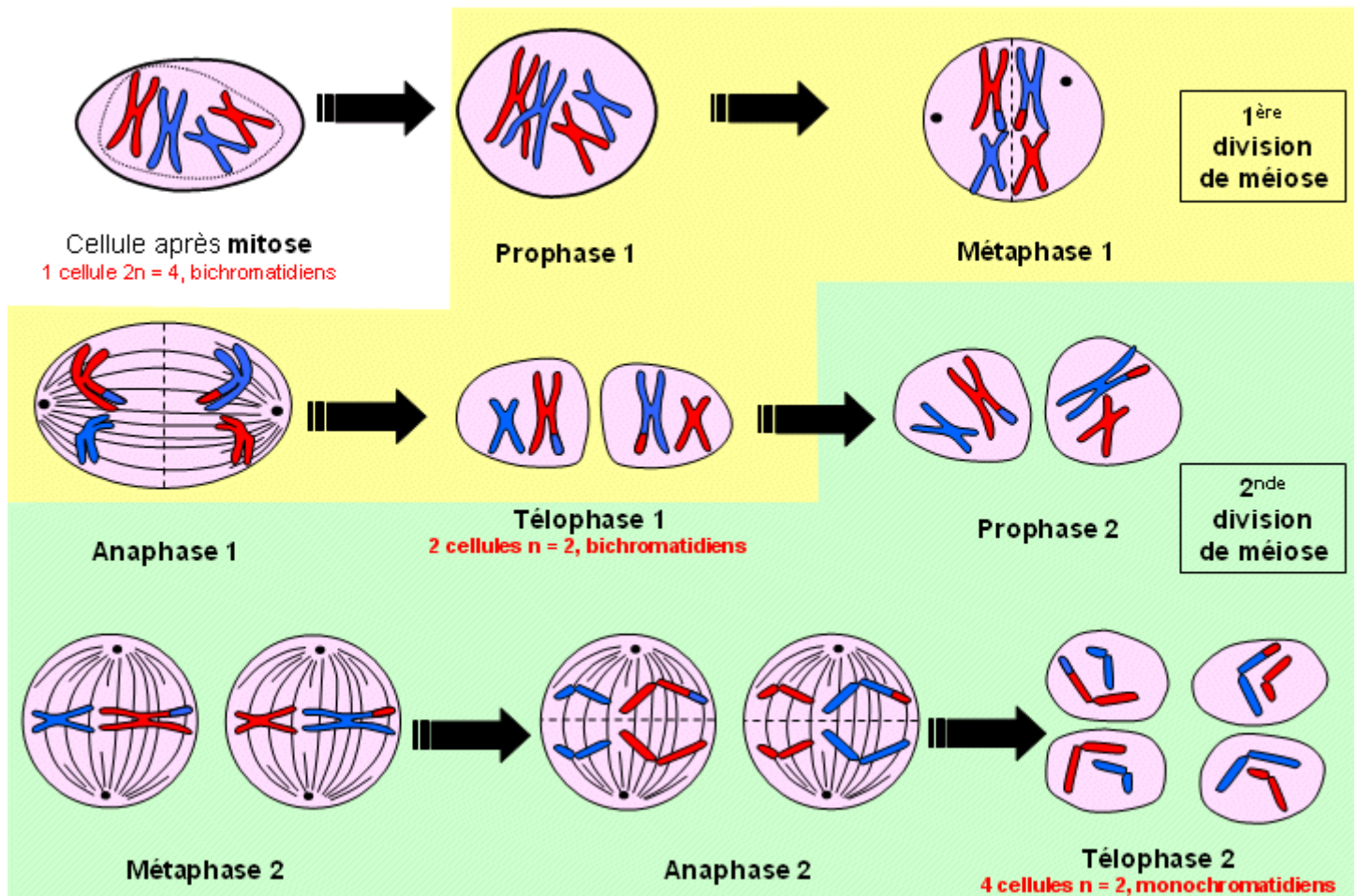
Pour une cellule à $2n$ chromosomes, on a 2^n possibilités pour ce seul brassage.

La **deuxième division** (méiose II) est semblable à une mitose d'une cellule haploïde. Elle permet la séparation des chromatides (remaniés lors du brassage interchromosomique).

La méiose II n'est pas une mitose, car du fait des crossing-over réalisés en Prophase I, les chromatides de chaque chromosome ne portent pas obligatoirement les mêmes allèles !



Les transformations cytologiques lors de la méiose



On peut ainsi résumer et comparer la mitose et la méiose :

- Dans les deux cas, on est face à une division cellulaire, qui est précédée d'une **réplication** de l'ADN : une division cellulaire débute toujours avec des chromosomes **bichromatidiens**, possédant donc **deux chromatides identiques**.
- La **mitose** permet de répartir les chromatides de chaque chromosome dans les deux cellules filles. Les chromosomes bichromatidiens ayant des chromatides identiques, cette répartition est donc **équilibrée** (même nombre de chromosomes dans les cellules filles et la cellule mère) et **égale** (même information).

La mitose **respecte la ploïdie** :

- Si la cellule mère est diploïde, les cellules filles sont diploïdes ;
- Si la cellule mère est haploïde, les cellules filles sont haploïdes

- La **méiose** permet de **répartir les chromatides de chaque bivalent** (= paire de chromosomes) **dans les quatre cellules**, en commençant par répartir les deux chromosomes homologues entre les deux cellules formées suite à la méiose I, puis en séparant les chromatides de chaque chromosome (de manière similaire à la mitose) entre les cellules formées suite à la méiose II.

La méiose I permet de passer d'une cellule diploïde à une cellule **haploïde**.

La prophase I est marquée par les **crossing-over** (*voir poly 2*), qui permettent d'obtenir des **chromatides différents** (mêmes gènes, mais allèles possiblement différents) pour chaque chromosome bichromatidien : Les quatre cellules filles haploïdes obtenues sont ainsi **différentes** entre elles (elles héritent chacune d'une chromatide différente, pour chaque paire de chromosomes) et par rapport à la cellule mère.

Voir poly 2 – séance, pour :

Complément au 1. Mitose
Complément au 2. Méiose
Suite du TP