

**TP
F2**
DIVISIONS CELLULAIRES DES EUCARYOTES

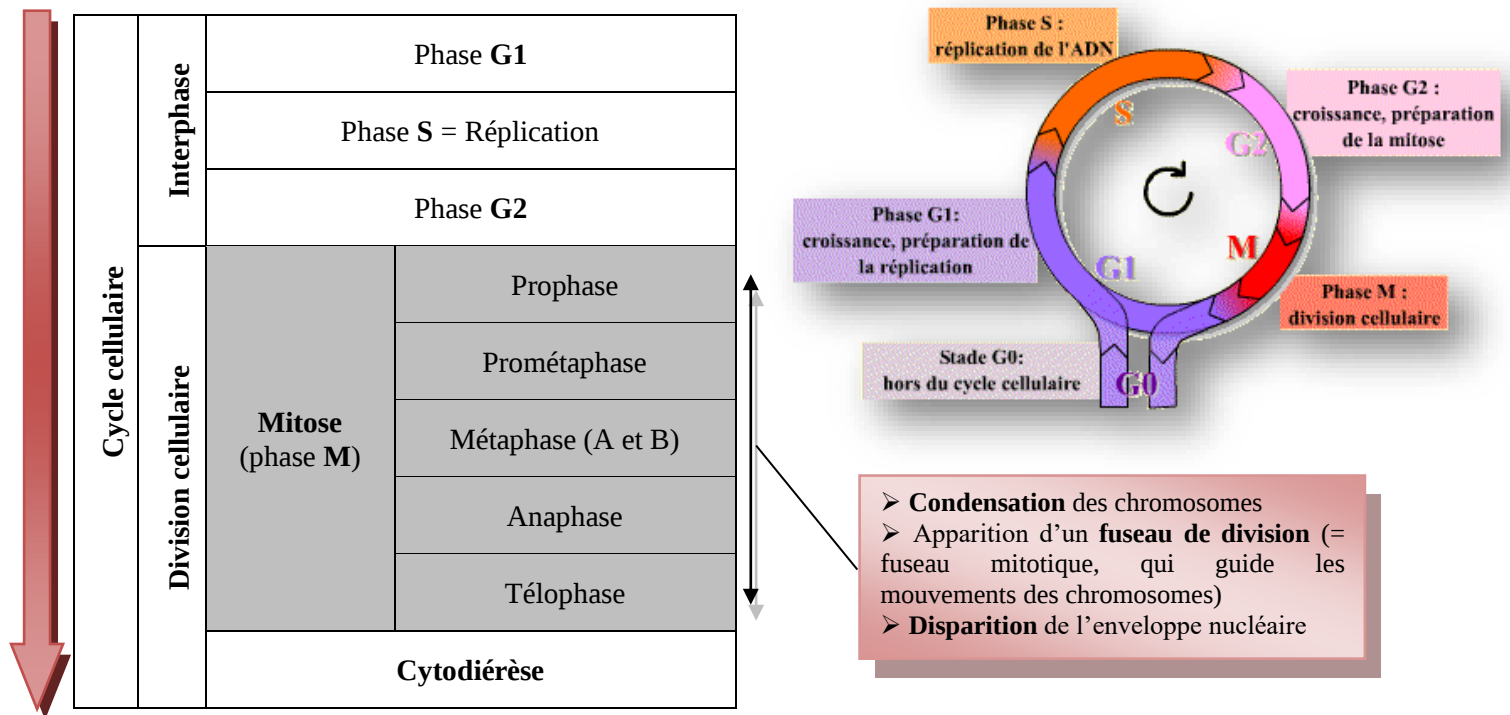
COURS : SV-F-1.1, SV-F-3, SV-D-2.3, SV-G TP : SV-G1, SV-G2



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 cytotéière).

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

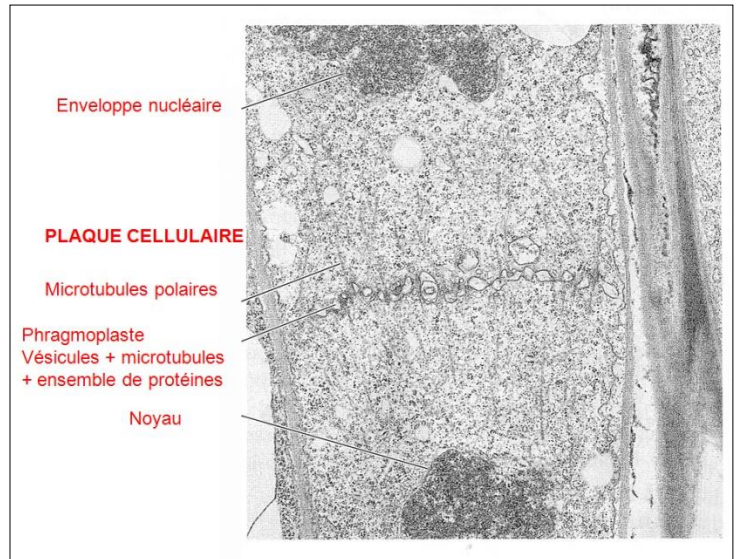
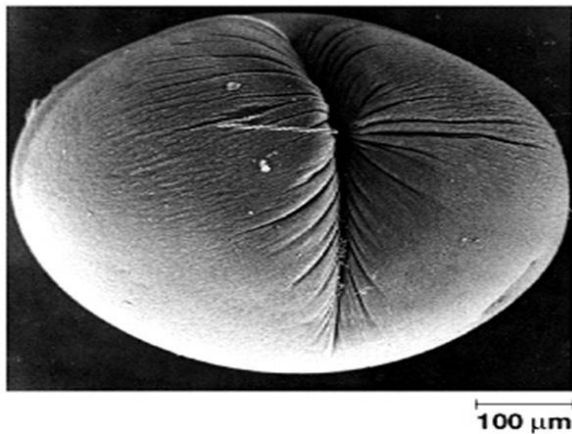
Réaliser un dessin d'observation

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

Voir poly 1 - préparation

La division d'une cellule végétale présente quelques particularités :

- **Absence de centrosome**, donc d'asters (mitose 'anastrale')
- **Pas de sillon de division**, mais formation d'une nouvelle paroi par migration de vésicules le long des microtubules de la région centrale : ces vésicules contiennent le matériel polysaccharidique de la future lamelle moyenne. Leur association dans le plan médian forme la plaque cellulaire, ou **phragmoplaste**, ébauche de la nouvelle paroi. (voir 3.2)



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

Voir poly 1 - préparation

Le brassage intrachromosomique

En prophase I, les chromosomes homologues s'apparient sur toute leur longueur.

Cet appariement permet la réalisation d'échanges équilibrés de fragments de chromatides : les **crossing-over**.

Un crossing-over ne modifie pas les gènes présents ni leur ordre, mais il permet d'échanger des allèles (en cas d'hétérozygotie). Ceci permet de former des **nouvelles combinaisons d'allèles** sur les chromatides recombinés.

Suite au crossing-over, les chromatides recombinés sont entrecroisés : On observe un « enjambement » entre les chromatides, ou **chiasma**.

Le chiasma, observable en microscopie, et donc la conséquence du crossing-over, dont il « révèle » l'existence.

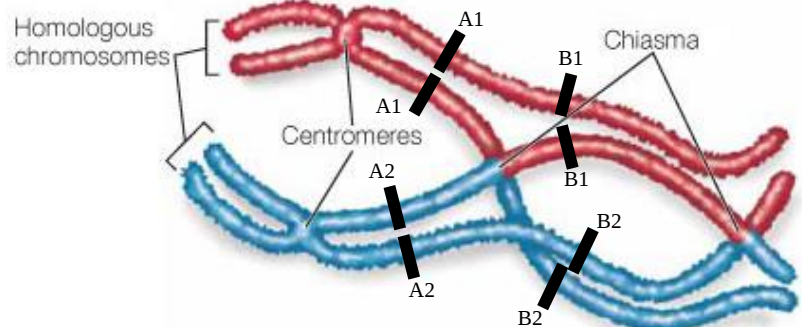


Génotype parental :

$\frac{A1, B1}{A2, B2}$

Chromosomes :

A1, B1
A2, B2



Chromatides après crossing-over :

A1, B1
A1, B2
A2, B1
A2, B2

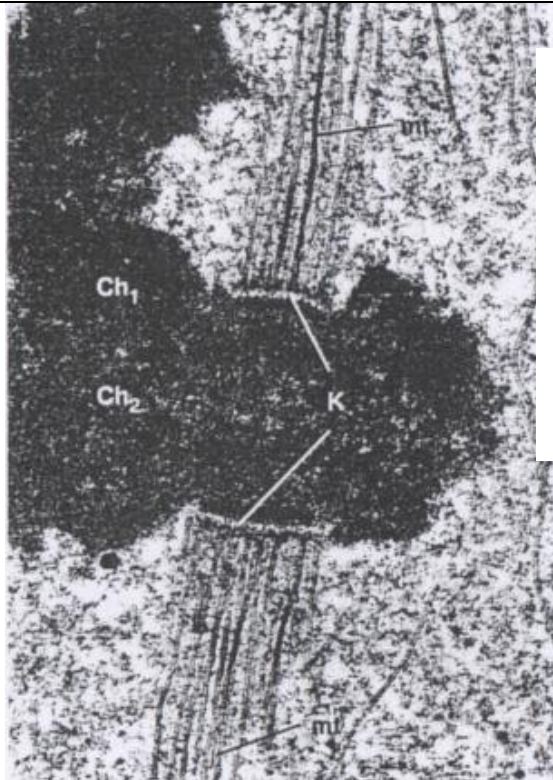
Recombinées
Parentales

3. Divisions et cytosquelette

3.1. Chromosomes et fuseau mitotique

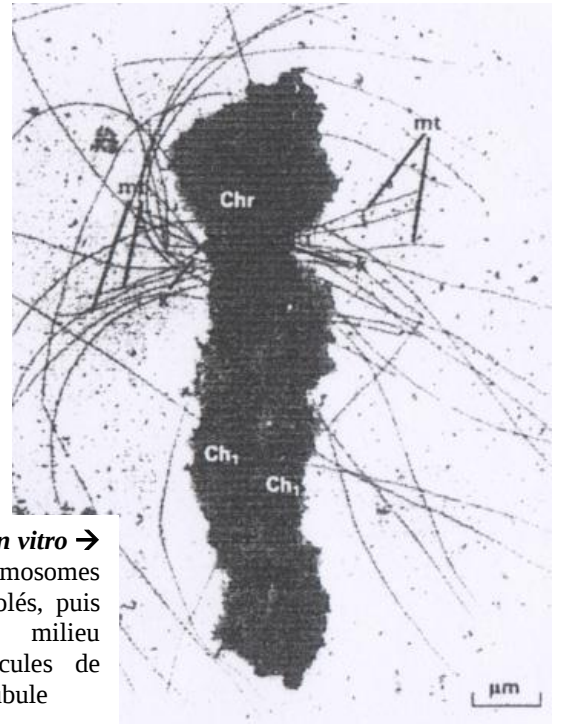
L'étude précise de la structure des chromosomes montre la présence d'une structure particulière au niveau du centromère : le kinétochore, qui est un complexe macromoléculaire. En mitose, on observe deux kinétochores sur chaque chromosome, un de chaque côté du centromère.

➡ **Rappeler** la structure des microtubules. Puis, à partir de l'analyse des documents suivant, **déterminer** le rôle des kinétochores.



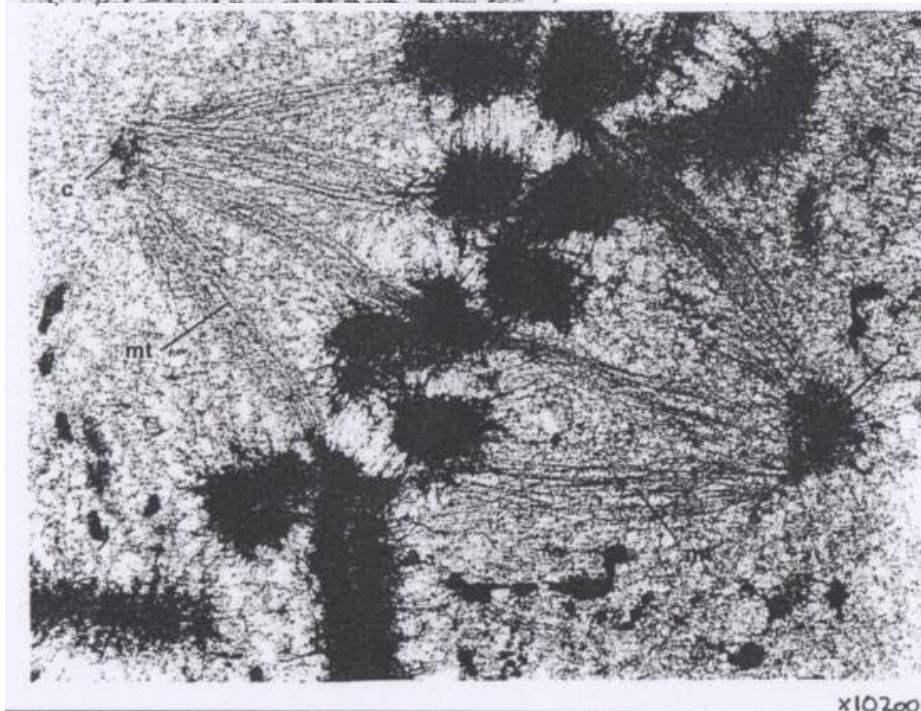
← **Microtubules et kinétochores chez une algue.**

La cellule est en métaphase, les deux chromatides Ch1 et Ch2 sont toujours associées au niveau du centromère. De part et d'autre de celui-ci, les kinétochores sont bien visibles



Expérience *in vitro* →

Des chromosomes métaphasiques sont isolés, puis incubés dans un milieu contenant des molécules de tubuline. mt = microtubule



← **Plaque métaphasique (MET).**

Coupe épaisse (0,25 µm) dans une cellule animale.

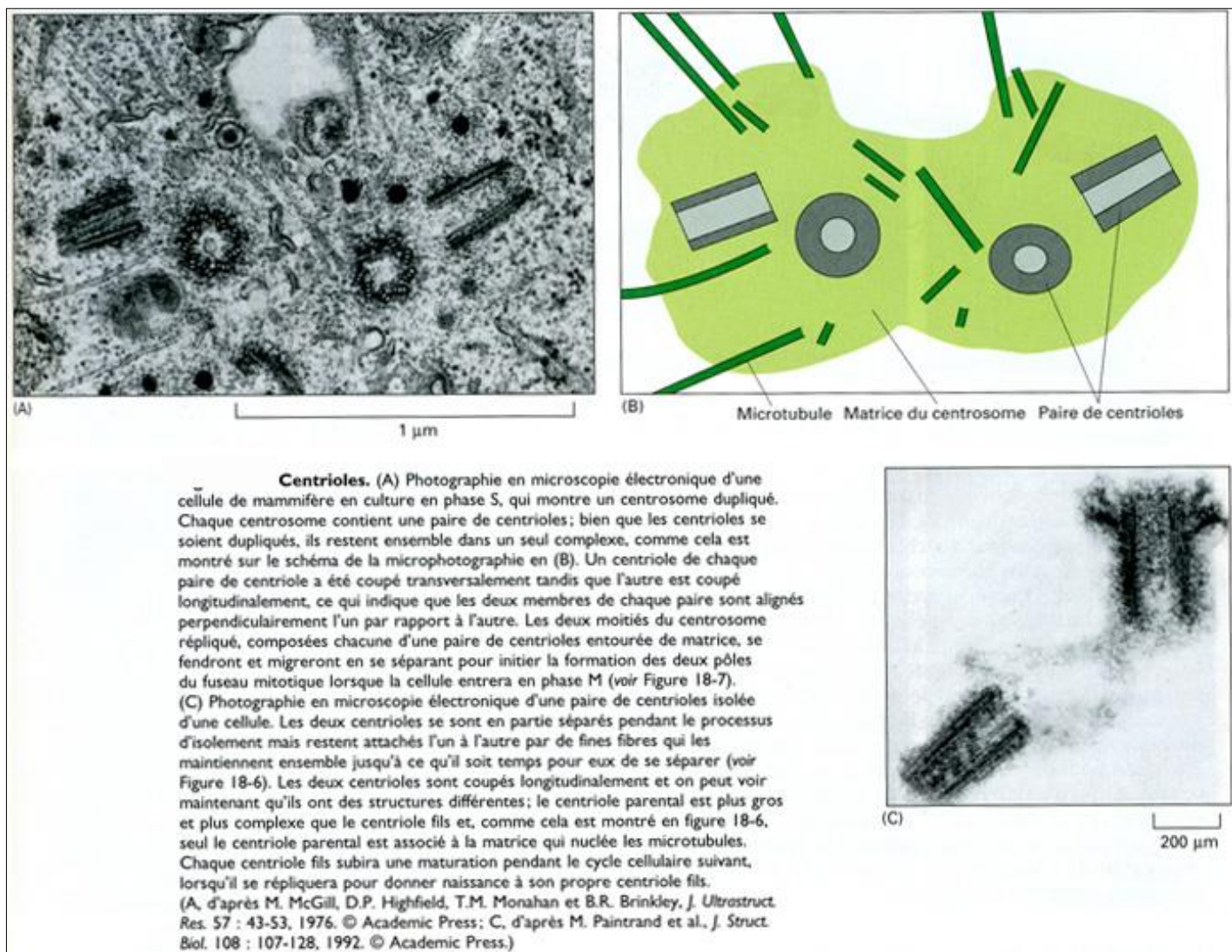
mt = microtubule

C = centriole

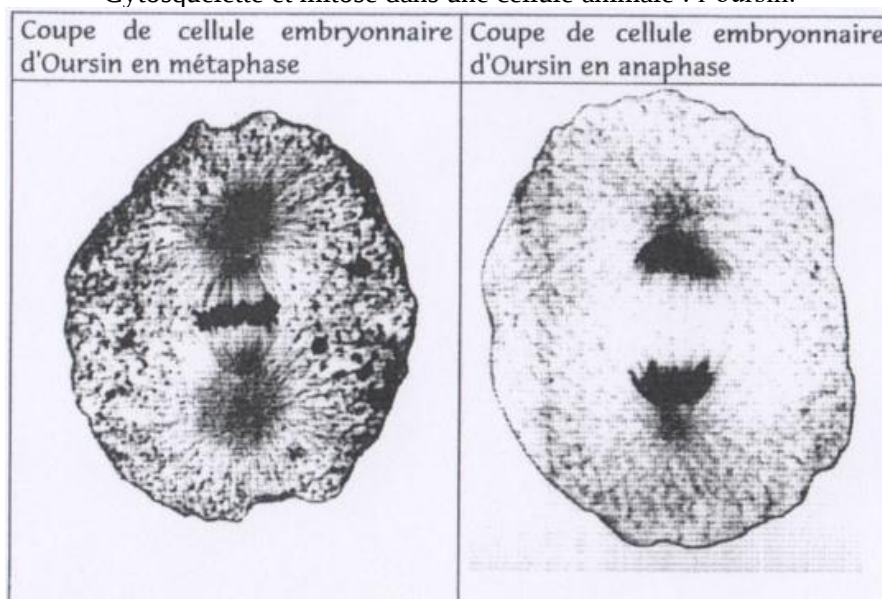
Les microtubules sont organisés dans la cellule à partir des **centrosomes**.

Un centrosome est formé de deux centrioles disposés perpendiculairement, grâce à une matrice. Un centriole est un élément du cytosquelette, formé de neuf triplets de microtubules.

Une cellule présente un seul centrosome au début du cycle cellulaire. Le centrosome est dupliqué pendant la phase S, ce qui permet à la cellule de disposer de deux centrosomes au début de la mitose.

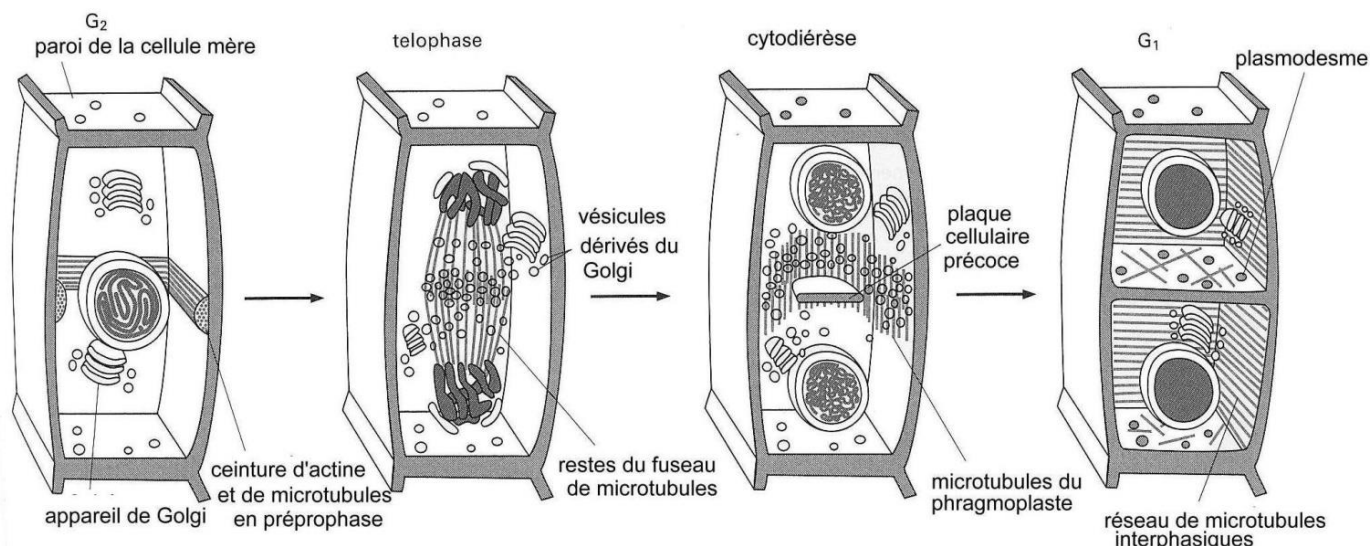


Cytosquelette et mitose dans une cellule animale : l'oursin.



3.2. Cytodiérèse végétale et microtubules

La cytotdiérèse d'une cellule végétale implique la mise en place d'une nouvelle paroi cellulaire. Ceci est réalisé grâce à la migration de vésicules golgiennes, utilisant les microtubules du fuseau mitotique : la fusion de ces vésicules au niveau du plan équatorial permet la mise en place de la lamelle moyenne.



4. Observations

4.1. Colorations de l'ADN

⇒ Coloration de Feulgen

La réaction de Feulgen colore spécifiquement l'ADN en rouge. Elle consiste en une hydrolyse partielle de l'ADN par l'acide chlorhydrique, ce permet de rendre réactives les fonctions aldéhydes des désoxyriboses ; ces fonctions sont ensuite révélées par réduction du réactif de Schiff. L'hydrolyse est suffisamment ménagée pour que l'ADN ne soit pas désorganisé et conserve donc sa localisation.

- ① Prélever 0,5 cm de l'extrémité des jeunes racines comportant le méristème. Si elles sont trop épaisses, recouper dans le sens de la longueur avec une lame, ou dilacérer avec des pinces fines ou des aiguilles.
- ② Placer dans l'acide chlorhydrique 1M pendant 10 à 12 minutes à 60°C. *L'hydrolyse ménagée permet le ramollissement des tissus et la libération de fonctions aldéhydes par destruction des liaisons entre les bases puriques et le désoxyribose.*
- ③ Jeter l'acide et récupérer les racines dans un panier métallique. Laisser quelques minutes dans de l'eau distillée froide pour arrêter l'hydrolyse.
- ④ Transférer les racines dans un verre de montre contenant du réactif de Schiff pendant 8 à 10 minutes. *Le réactif de Schiff se fixe sur les groupements aldéhyde libérés, conduisant à une coloration rouge des chromosomes.*
- ⑤ Rincer à l'eau. Déposer la racine sur une lame dans une goutte d'acide acétique 50%, puis recouvrir d'une lamelle. Etaler les cellules en exerçant une pression sur la lamelle avec un instrument (par exemple : manche d'une aiguille montée).

⇒ Coloration à l'orcéine acétique

L'orcéine réalise une coloration préférentielle des chromosomes : c'est donc une méthode simple de coloration utilisable.

- ① Prélever des extrémités de racine (1 cm).
- ② Incuber 5 minutes dans l'acide chlorhydrique 1M.
- ③ Incuber 15 minutes dans l'orcéine acétique.
- ④ Monter entre lame et lamelle dans de l'acide acétique et réaliser un étalement en exerçant une pression avec un instrument.

4.2. A faire

- ⇒ Coloration d'extrémité de racines et observation après coloration
- ⇒ Si disponible : coupe d'anthère jeune et observation après coloration
- ⇒ Observation de lames de mitose (végétale ; œuf d'ascaris) et de méiose (anthères jeunes)
- ⇒ Faire au minimum un dessin d'observation et un schéma explicatif