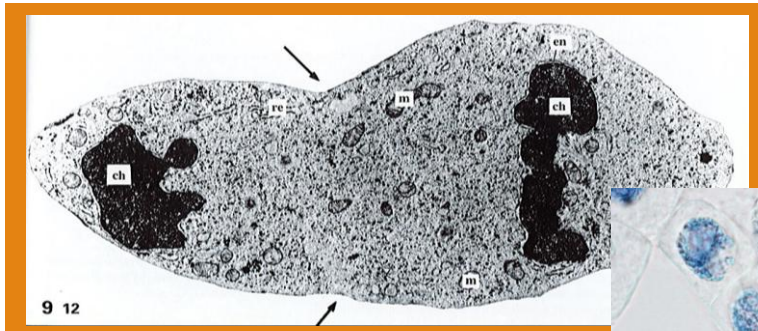
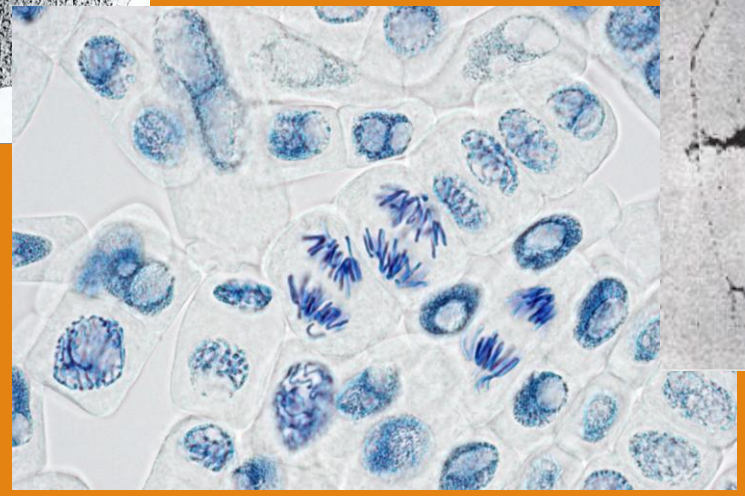
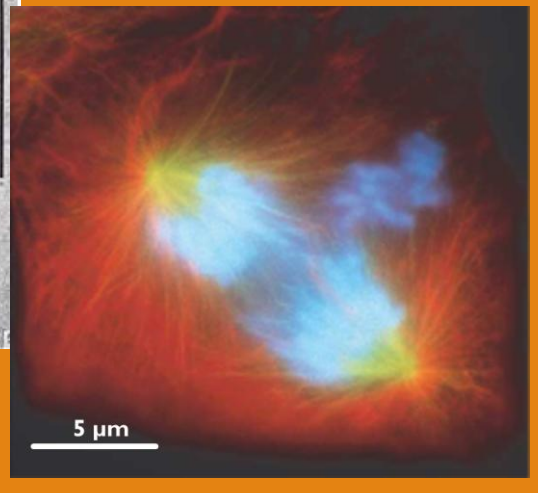
SV-F-1-2 LA TRANSMISSION DE L'INFORMATION GÉNÉTIQUE AU COURS DES DIVISIONS CELLULAIRES CHEZ LES EUCARYOTES

SV-F-1 GÉNOME DES CELLULES ET DES VIRUS, TRANSMISSION DE L'INFORMATION GÉNÉTIQUE







SV-F-1-2 La transmission de l'information génétique au cours des divisions cellulaires chez les Eucaryotes

OBJECTIFS D'APPRENTISSAGE

Savoirs visés	Capacités exigibles
Chez les Eucaryotes, le matériel génétique est dupliqué au cours de la phase S interphasique qui précède toute division cellulaire. **La réplication semi-conservative de l'ADN est assurée par des ADN polymérases. C'est un processus avec un faible taux d'erreur qui assure la conservation globale de l'information génétique.** **Les connaissances sur les ADN polymérases ont permis d'élaborer des méthodes d'amplification in vitro de l'ADN.** **Le cycle cellulaire des cellules eucaryotes comprend une interphase et une mitose. Le matériel génétique est dupliqué pendant la phase S (réplication). Le matériel génétique est réparti équitablement entre les 2 cellules filles au cours de la phase M. Le cycle cellulaire est contrôlé.** **Le passage d'une étape à une autre est sous le contrôle de signaux extracellulaires et de facteurs internes notamment liés à l'intégrité de l'information génétique.** **Les chromosomes répliqués, à 2 chromatides, se condensent progressivement au cours des prophases de mitose et de méiose I.** **Le processus mitotique assure une égale répartition des chromosomes entre les deux cellules-filles grâce à l'intervention de protéines (notamment du cytosquelette). La cytocinèse permet la séparation des deux cellules filles.** **La méiose est une série de deux divisions successives précédée par une interphase. Elle permet de passer d'une phase diploïde à une phase haploïde. C'est une des étapes de la formation des gamètes et des méiospores chez les organismes à reproduction sexuée.**	- Expliquer le principe de polymérisation par l'ADN polymérase. - En se basant sur le fonctionnement des ADN polymérases, expliquer le principe de la PCR. - Estimer l'ordre de grandeur de la durée des différentes phases d'un cycle cellulaire à partir de résultats expérimentaux. - Interpréter des résultats mettant en évidence un contrôle du cycle cellulaire. - Représenter la structure d'un chromosome métaphasique (centromère, télomère, kinétochore). - Expliquer comment le processus mitotique, et en particulier le fonctionnement du fuseau de division, permet l'égale répartition des chromosomes, donc de l'information génétique. - Illustrer le processus de cytocinèse chez les Métazoaires et les Embryophytes. - À l'aide de différentes techniques microscopiques, repérer les différentes phases de la mitose, l'organisation des chromosomes et du fuseau de division. - Expliquer comment le processus méiotique permet d'aboutir à 4 cellules-filles haploïdes à partir d'une cellule-mère diploïde. - Représenter schématiquement les caractéristiques cytologiques et chromosomiques de la méiose. - À l'aide de différentes techniques microscopiques, repérer les différentes phases de la méiose, l'organisation des chromosomes et du fuseau de division.

SV-F-1-2 La transmission de l'information génétique au cours des divisions cellulaires chez les Eucaryotes

PLAN DU COURS

I. Le cycle cellulaire des Eucaryotes

A. Le rôle des divisions au sein du cycle cellulaire

B. La particularité des cellules souches

C. Les phases G1 et G2 du cycle cellulaire

D. La phase S, réplication de l'ADN

E. La phase M du cycle cellulaire

F. La quantité d'ADN au cours du cycle

G. L'existence de points de contrôle du cycle cellulaire

II. Les mécanismes moléculaires de la réplication, une reproduction plus ou moins conforme

A. La réplication de l'ADN, un processus semi-conservatif

B. L'observation d'œil de réplication chez les eucaryotes et les procaryotes

C. Les étapes de la réplication

D. Les erreurs de copies et les mécanismes de corrections

E. Le principe de la PCR et ses applications

III. La mitose et la méiose: des divisions conduisant à une répartition de l'information génétique

A. Les différentes étapes de la mitose et de la méiose

B. Le rôle du cytosquelette dans la division cellulaire

SV-F-1-2 La transmission de l'information génétique au cours des divisions cellulaires chez les Eucaryotes

PLAN DU COURS

I. Le cycle cellulaire des Eucaryotes

A. Le rôle des divisions au sein du cycle cellulaire

B. La particularité des cellules souches

C. Les phases G1 et G2 du cycle cellulaire

D. La phase S, réplication de l'ADN

E. La phase M du cycle cellulaire

F. La quantité d'ADN au cours du cycle

G. L'existence de points de contrôle du cycle cellulaire

II. Les mécanismes moléculaires de la réplication, une reproduction plus ou moins conforme

A. La réplication de l'ADN, un processus semi-conservatif

B. L'observation d'œil de réplication chez les eucaryotes et les procaryotes

C. Les étapes de la réplication

D. Les erreurs de copies et les mécanismes de corrections

E. Le principe de la PCR et ses applications

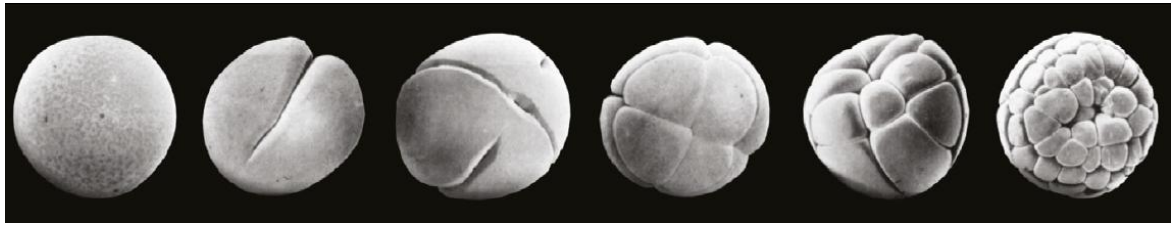
III. La mitose et la méiose: des divisions conduisant à une répartition de l'information génétique

A. Les différentes étapes de la mitose et de la méiose

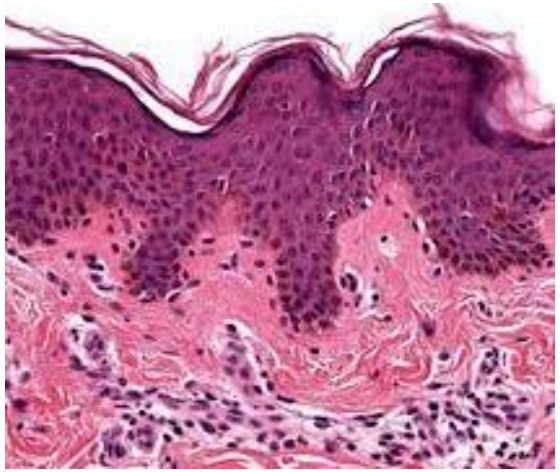
B. Le rôle du cytosquelette dans la division cellulaire

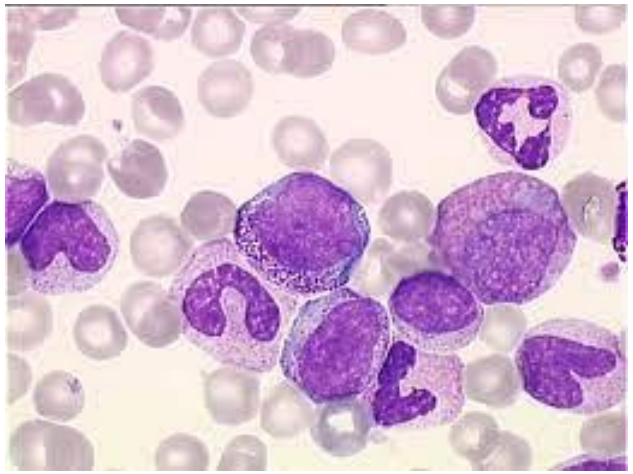
I. LE CYCLE CELLULAIRE DES EUCARYOTES
A. LE ROLE DES DIVISIONS AU SEIN DU CYCLE CELLULAIRE

- Les 3 grands rôles des divisions cellulaires chez les eucaryotes :
  - Reproduction
  - Développement et croissance
  - Renouvellement tissulaire

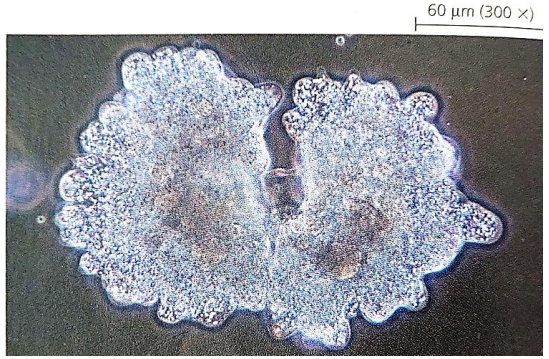


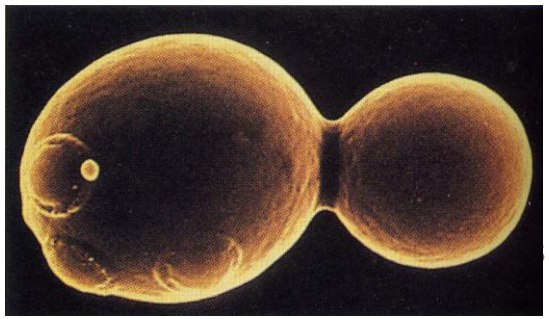
Divisions et développement : embryon de Xénope (MEB)





Divisions et renouvellement tissulaire : épiderme et cellules sanguines (MO, colorations)





Divisions et reproduction : amibe (MO) et levure (MEB)

I. LE CYCLE CELLULAIRE DES EUCARYOTES
A. RÔLES DES DIVISIONS

- La **régénération** chez certains pluricellulaires.
  Ex : axolotl, végétaux…

Milieu de vie naturel des axolotls : lac de haute altitude (ex: lac Xochimilco, Mexique) ou lacs de cratères volcaniques

Axolotl (Ambystoma mexicanumi), amphibien urodèle (gardant une queue à l'âge adulte)

Régénération d'un membre chez l'axolotl

SV-F-1-2 La transmission de l'information génétique au cours des divisions cellulaires chez les Eucaryotes

PLAN DU COURS

I. Le cycle cellulaire des Eucaryotes

A. Le rôle des divisions au sein du cycle cellulaire

B. La particularité des cellules souches

C. Les phases G1 et G2 du cycle cellulaire

D. La phase S, réplication de l'ADN

E. La phase M du cycle cellulaire

F. La quantité d'ADN au cours du cycle

G. L'existence de points de contrôle du cycle cellulaire

II. Les mécanismes moléculaires de la réplication, une reproduction plus ou moins conforme

A. La réplication de l'ADN, un processus semi-conservatif

B. L'observation d'œil de réplication chez les eucaryotes et les procaryotes

C. Les étapes de la réplication

D. Les erreurs de copies et les mécanismes de corrections

E. Le principe de la PCR et ses applications

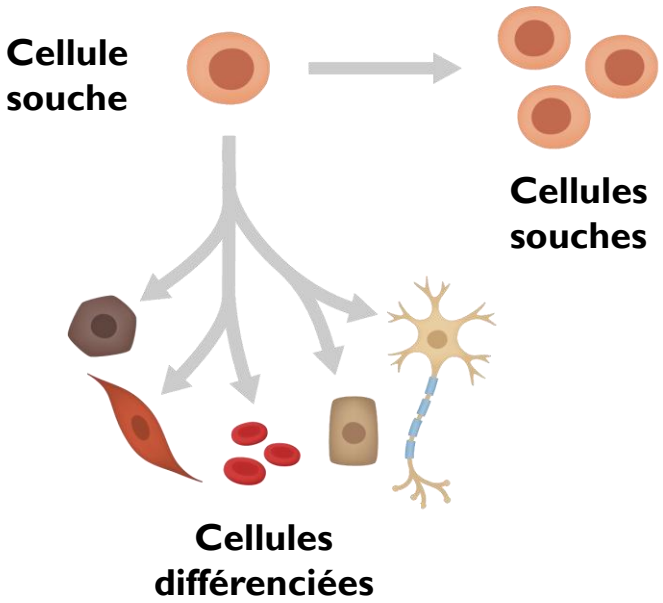
III. La mitose et la méiose: des divisions conduisant à une répartition de l'information génétique

A. Les différentes étapes de la mitose et de la méiose

B. Le rôle du cytosquelette dans la division cellulaire

I. LE CYCLE CELLULAIRE DES EUCARYOTES
B. LA PARTICULARITÉ DES CELLULES SOUCHES

- Les cellules capables de se diviser sont **majoritairement** des **cellules souches** (CS).



Cellule souche : n.f. cellule indifférenciée capable de se diviser pour donner une cellule identique à elle-même + une cellule capable de se différencier

- Il existe différents types de cellules souches aux capacités de différenciation +/- grandes.

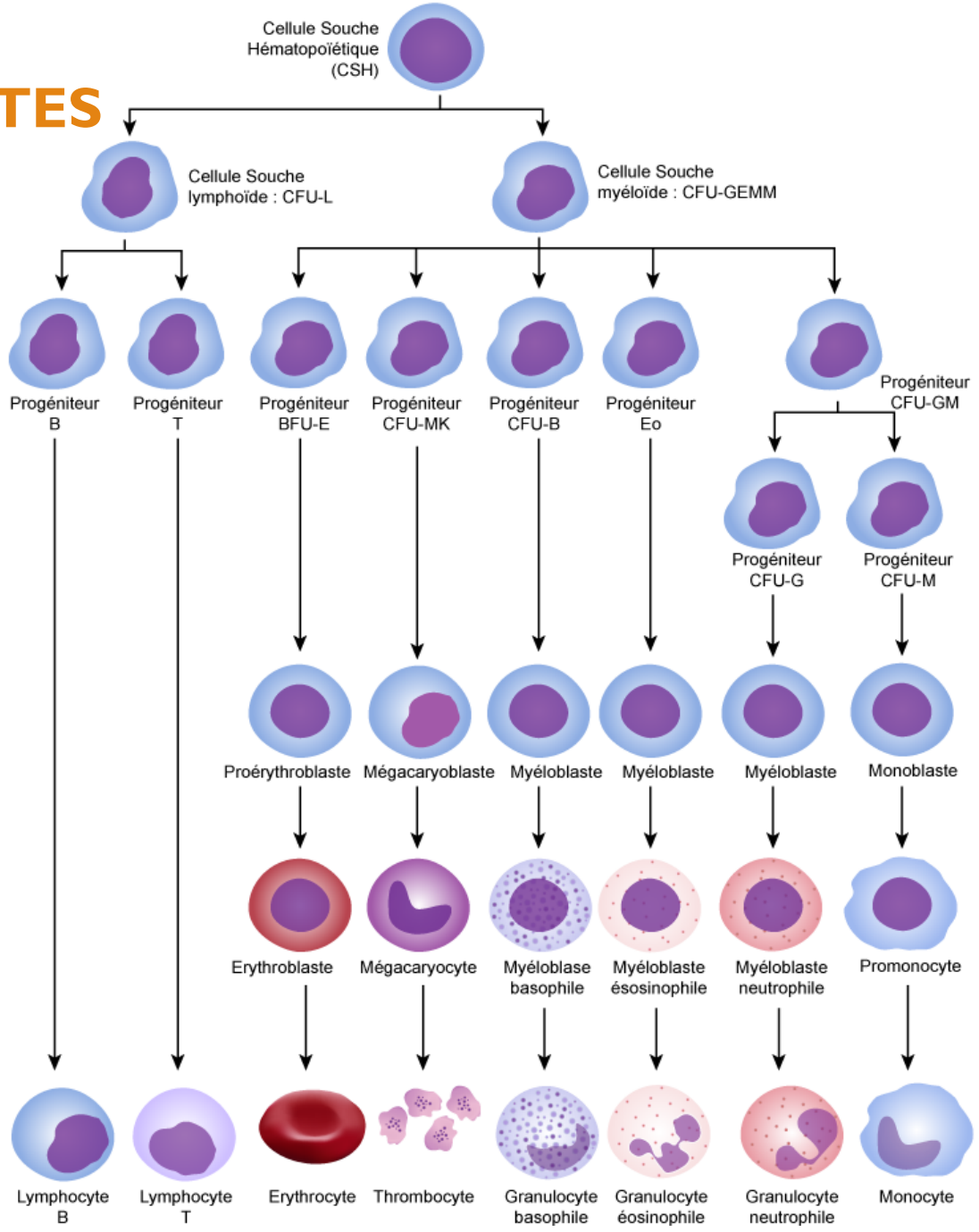
CS totipotente (zygote)	CS capable de donner tous les types cellulaires de l'organisme
CS pluripotente	CS capable de donner plusieurs types cellulaires de l'organisme
CS unipotente	Cellule capable de donner un seul type cellulaire

I. LE CYCLE CELLULAIRE DES EUCARYOTES
B. LA PARTICULARITÉ DES CELLULES SOUCHES

Exemple : la lignée hématopoïétique et le renouvellement des cellules du sang

- **Lignée hématopoïétique** : ensemble des cellules dérivant d'une CS hématopoïétique, qui donnent les différentes **cellules du sang.**

- **L'hématopoïèse** (production des cellules sanguines): lieu dans la moelle spinale (épinière)
  - CSH: pluripotentes
  - CS lymphoïdes et myéloïdes : pluripotentes
  - Les progéniteurs = cellules déterminées
  - Les cellules du sang = cellules différenciées.



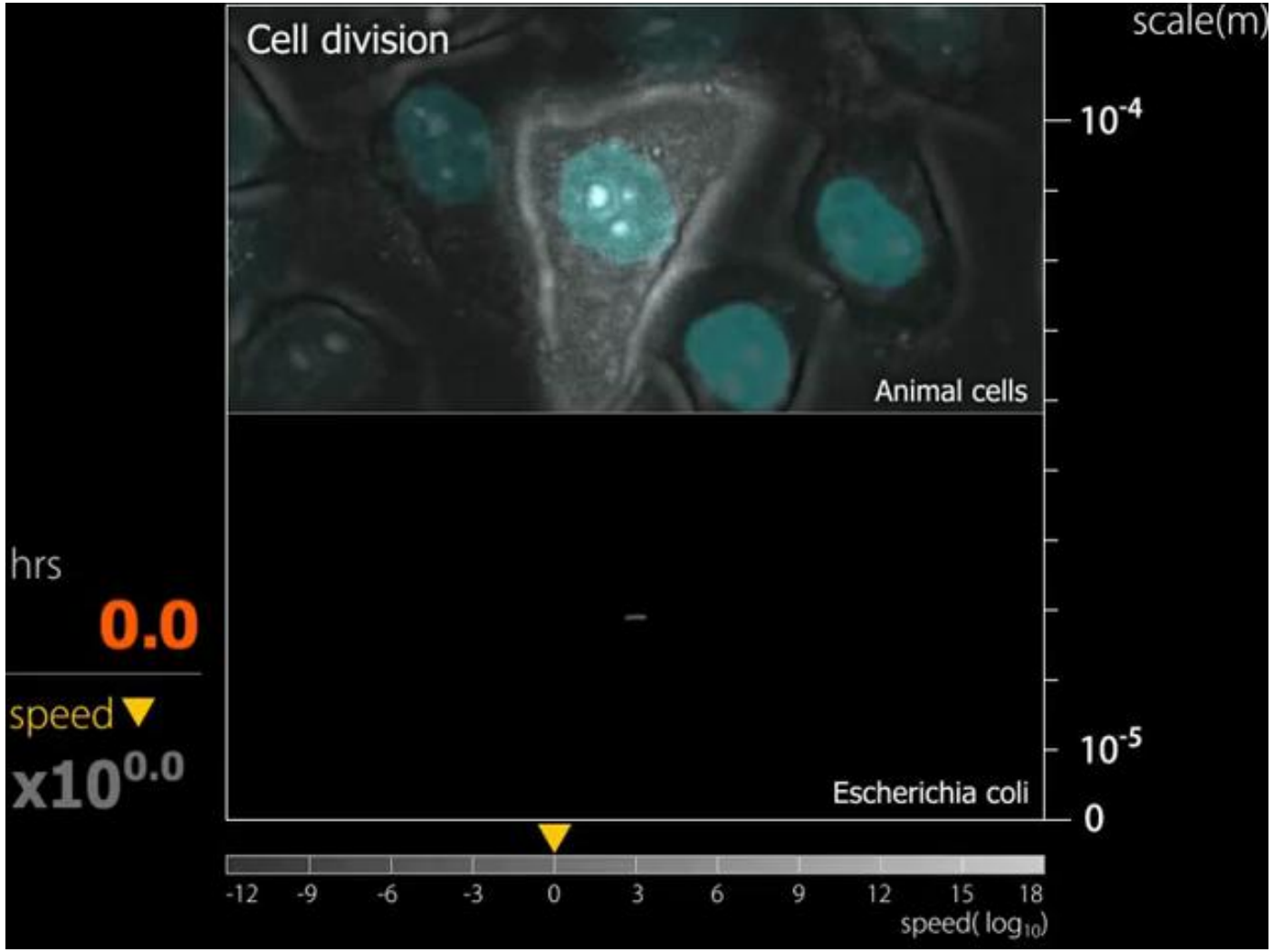
B. LA PARTICULARITÉ DES CELLULES SOUCHES

Vidéo : National Institute of Genetics

- Suivi de division cellulaire au cours du temps par MO, chez :
  - Un fibroblaste (en haut)
  - une bactérie *Escherichia coli* (en bas)

- Divisions cellulaires beaucoup plus rapides chez les bactéries (~20 min) que chez les eucaryotes (~2h)

- Certaines cellules différenciées peuvent aussi se diviser mais cela passe par une dédifférenciation



SV-F-1-2 La transmission de l'information génétique au cours des divisions cellulaires chez les Eucaryotes

PLAN DU COURS

I. Le cycle cellulaire des Eucaryotes

A. Le rôle des divisions au sein du cycle cellulaire

B. La particularité des cellules souches

C. Les phases G1 et G2 du cycle cellulaire

D. La phase S, réplication de l'ADN

E. La phase M du cycle cellulaire

F. La quantité d'ADN au cours du cycle

G. L'existence de points de contrôle du cycle cellulaire

II. Les mécanismes moléculaires de la réplication, une reproduction plus ou moins conforme

A. La réplication de l'ADN, un processus semi-conservatif

B. L'observation d'œil de réplication chez les eucaryotes et les procaryotes

C. Les étapes de la réplication

D. Les erreurs de copies et les mécanismes de corrections

E. Le principe de la PCR et ses applications

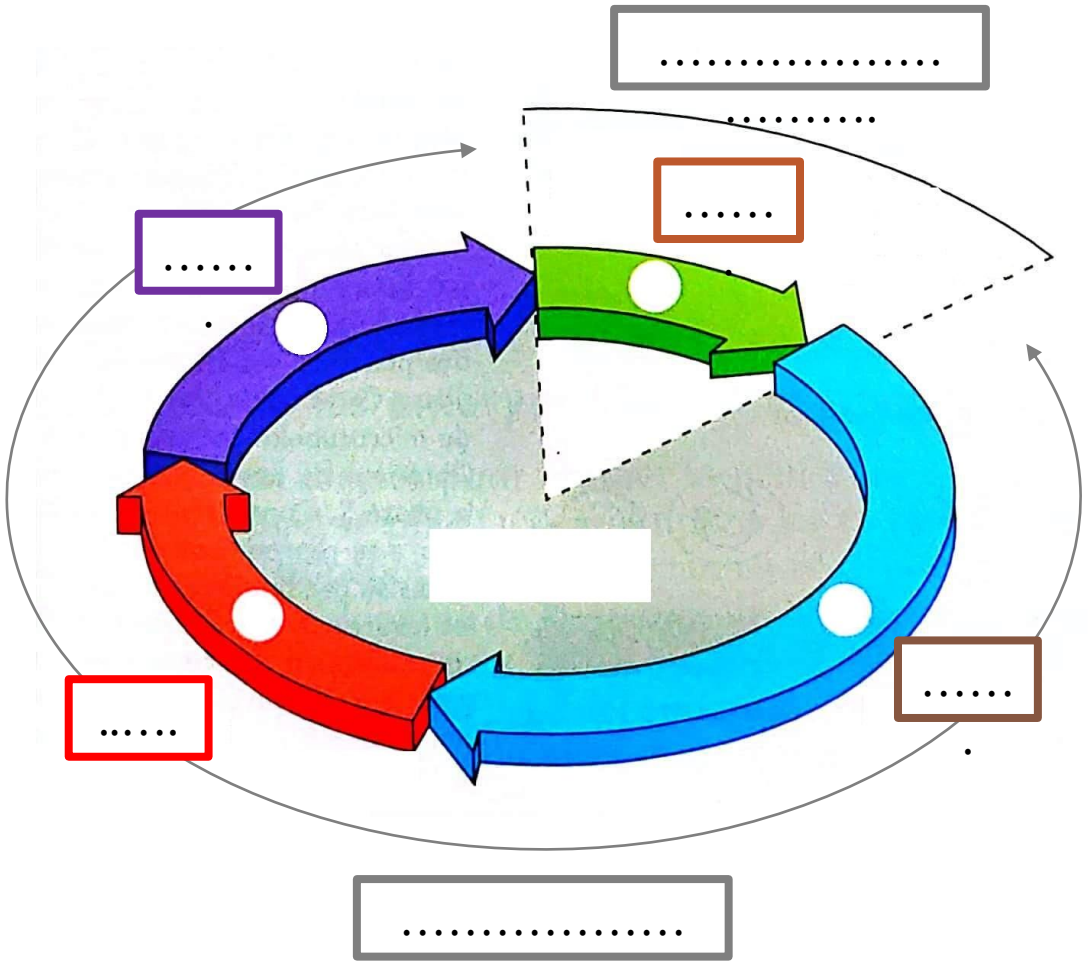
III. La mitose et la méiose: des divisions conduisant à une répartition de l'information génétique

A. Les différentes étapes de la mitose et de la méiose

B. Le rôle du cytosquelette dans la division cellulaire

TEST

Replacez les noms des différentes phases du cycle cellulaire

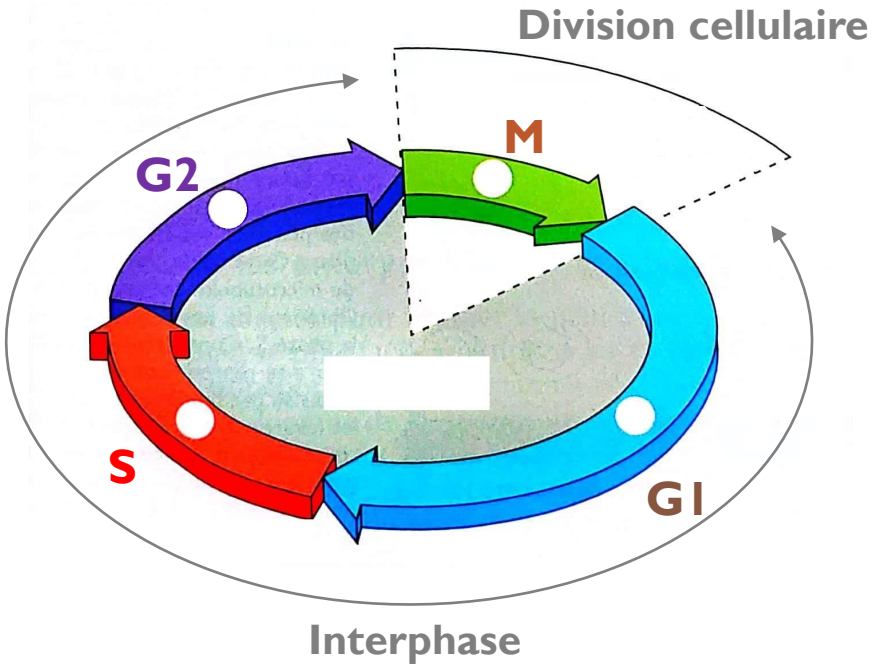


I. LE CYCLE CELLULAIRE DES EUCARYOTES
C. LES PHASES G1 ET G2 DU CYCLE CELLULAIRE

Introduction

Associez les évènements aux phases correspondantes

1. Séparation équitable du matériel génétique
2. Division des organites
3. Croissance
4. Synthèse de protéines
5. Transcription des gènes
6. Séparation +/- équitable du cytoplasme
7. Duplication des centrosomes
8. Réplication de l'ADN

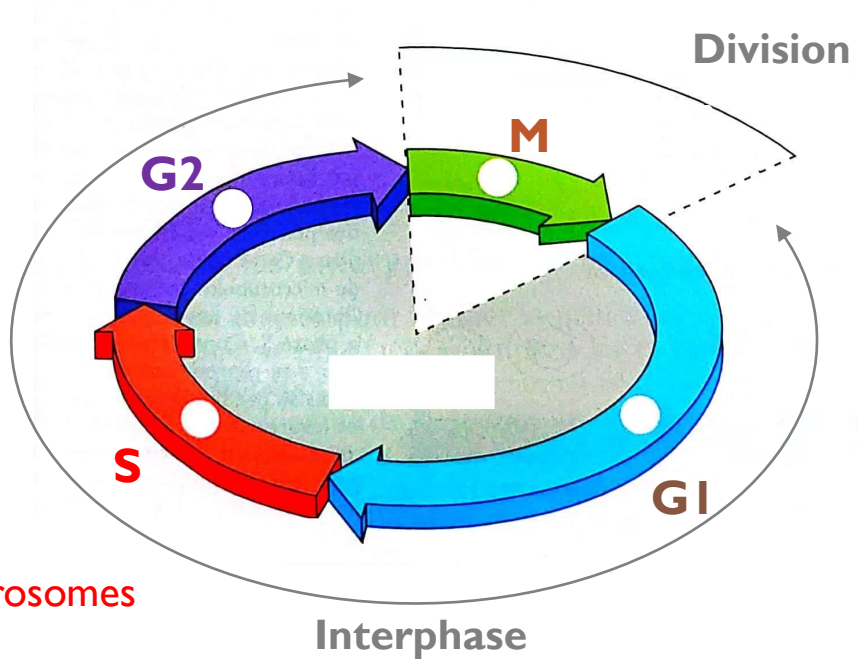


I. LE CYCLE CELLULAIRE DES EUCARYOTES
C. LES PHASES G1 ET G2 DU CYCLE CELLULAIRE

Introduction

- Séparation équitable du matériel génétique
- Séparation +/- équitable du cytoplasme

- Transcription des gènes
- Synthèse de protéines
- Croissance
- Division des organites



- Réplication de l'ADN
- Duplication des centrosomes

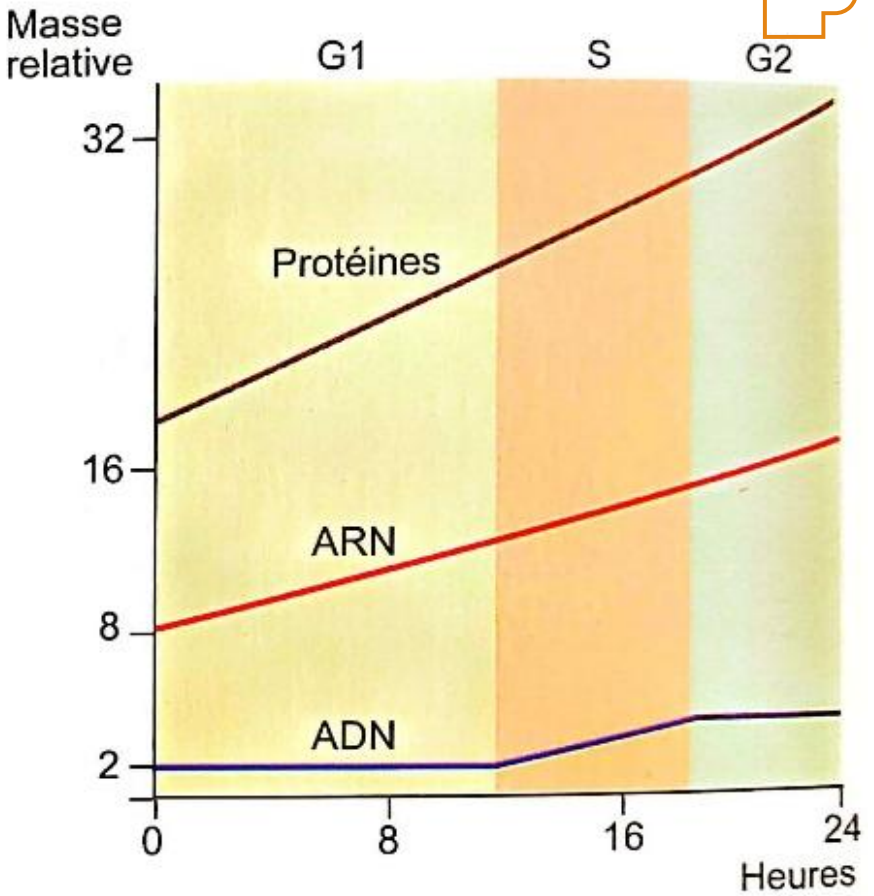
- Transcription des gènes
- Synthèse de protéines
- Croissance
- Division des organites

I. LE CYCLE CELLULAIRE DES EUCARYOTES

C. LES PHASES G1 ET G2 DU CYCLE CELLULAIRE

1. Présentation générale des phases G1 et G2

- Phases G1 et G2 = Phases de **croissance**, **synthèses de protéines** utiles pour la réplication d'ADN
- Historiquement, études concentrées sur phases S et M
  - phases intermédiaires peu étudiées
  - phases apparemment silencieuses « Gap » (= intervalle), G1 avant la réplication et G2 entre la réplication et la mitose.
- En réalité, tout au long des phases G1, S et G2, la cellule subit des **modifications** → préparation aux futures étapes du cycle.
- Phases G1 et G2:
  - cellule augmente de volume durant ces phases.
  - Production de nouvelles molécules (lipides membranaires , protéines structurales, protéines impliquées durant la réplication de l'ADN (ex : ATP synthase) et des histones, synthétisés en fin de G1
  - **organites** (mitochondries, réticulum endoplasmique) se dupliquent.

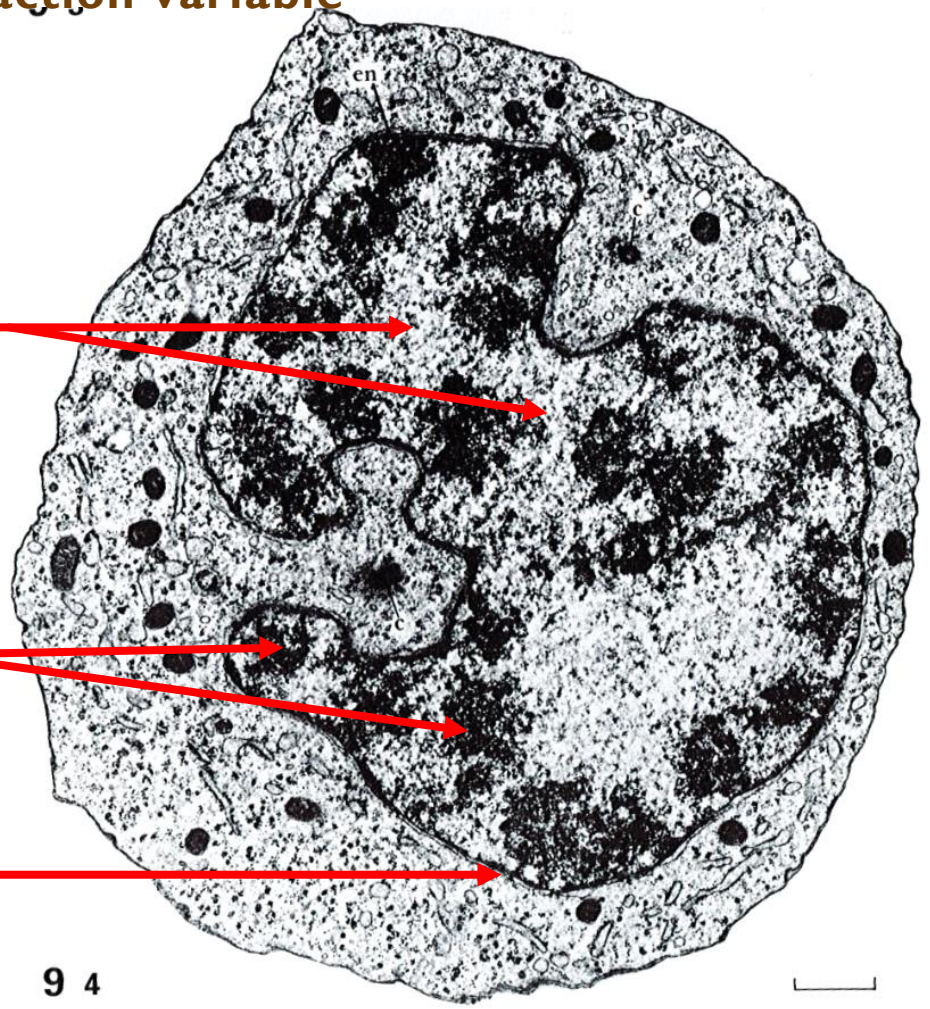


Modifications des quantités de protéines, ARN et ADN au cours de l'interphase (G1, S, G2) (d'après Richard, 2012)

I. LE CYCLE CELLULAIRE DES EUCARYOTES

C. LES PHASES G1 ET G2 DU CYCLE CELLULAIRE

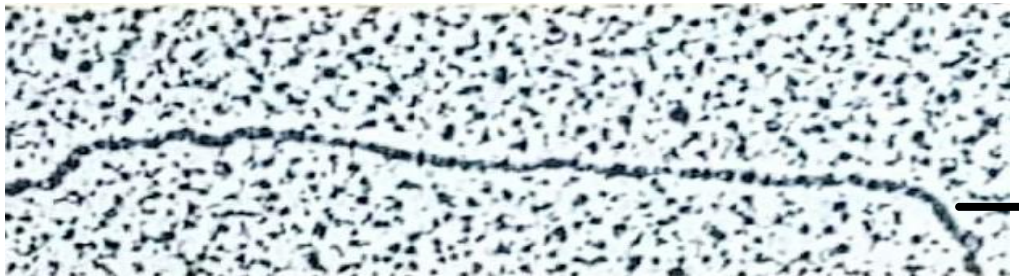
2. Le chromosome interphasique, un état de compaction variable

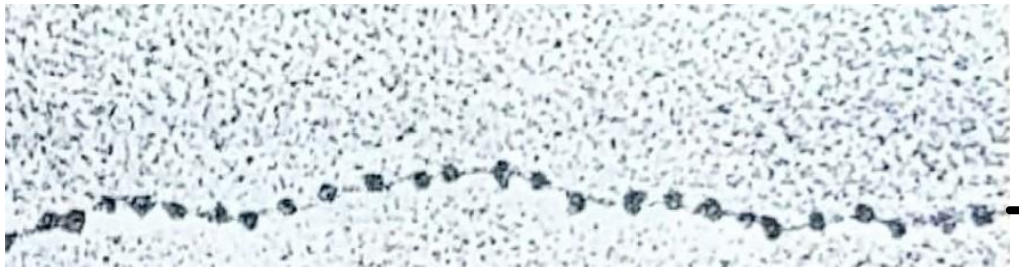


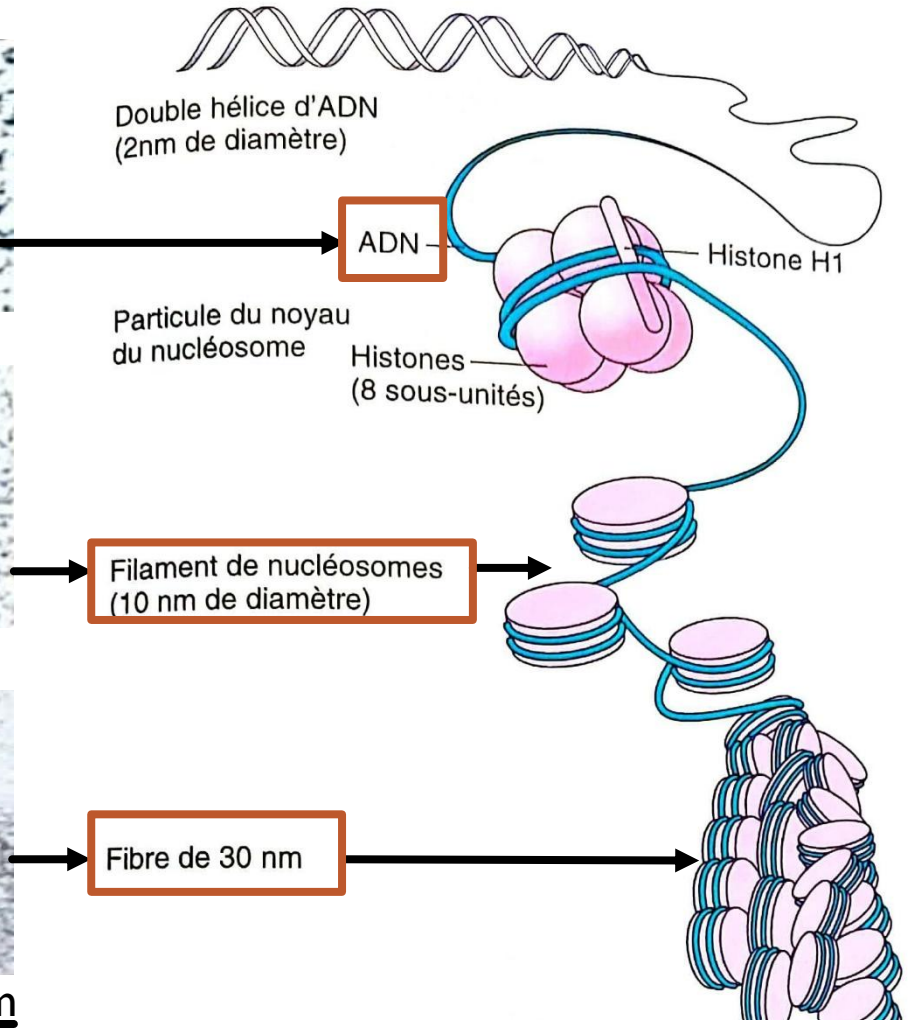
I. LE CYCLE CELLULAIRE DES EUCARYOTES

C. LES PHASES G1 ET G2 DU CYCLE CELLULAIRE

2. Le chromosome interphasique, un état de compaction variable







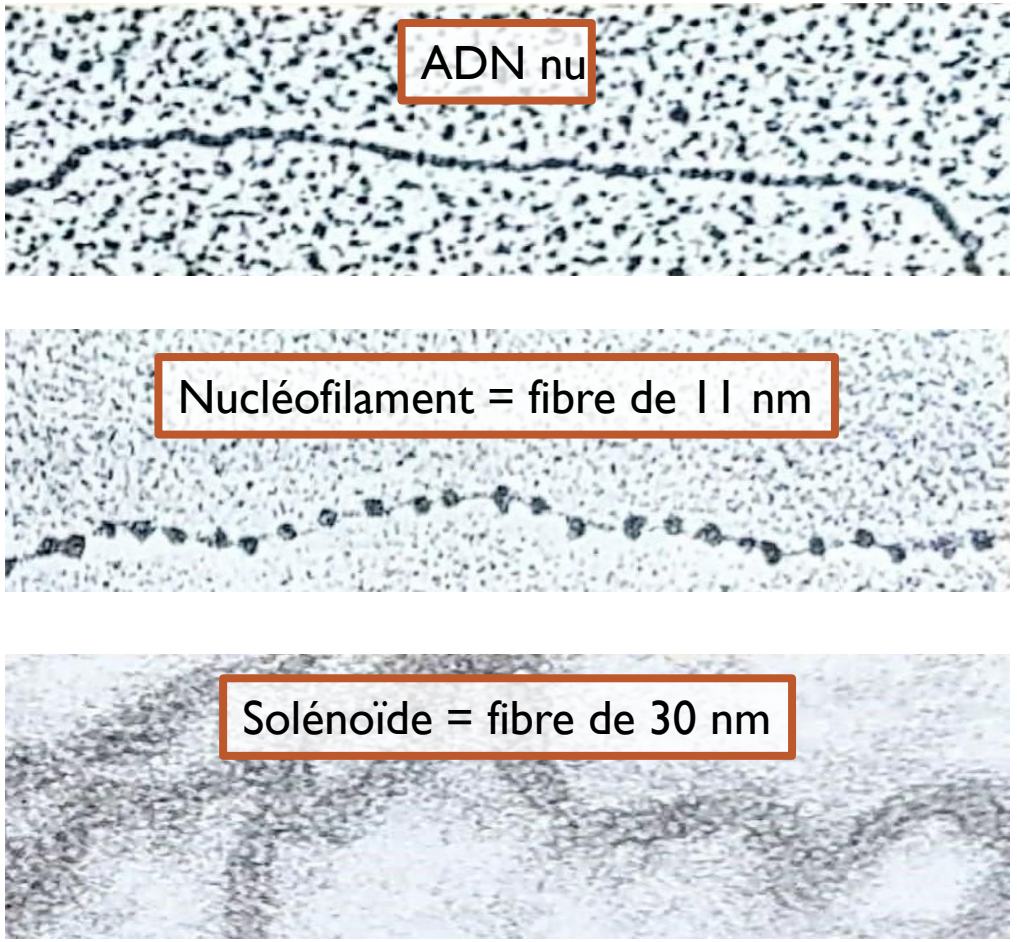
100 nm

Roland J-C. Atlas de biologie cellulaire. Masson ; 1996

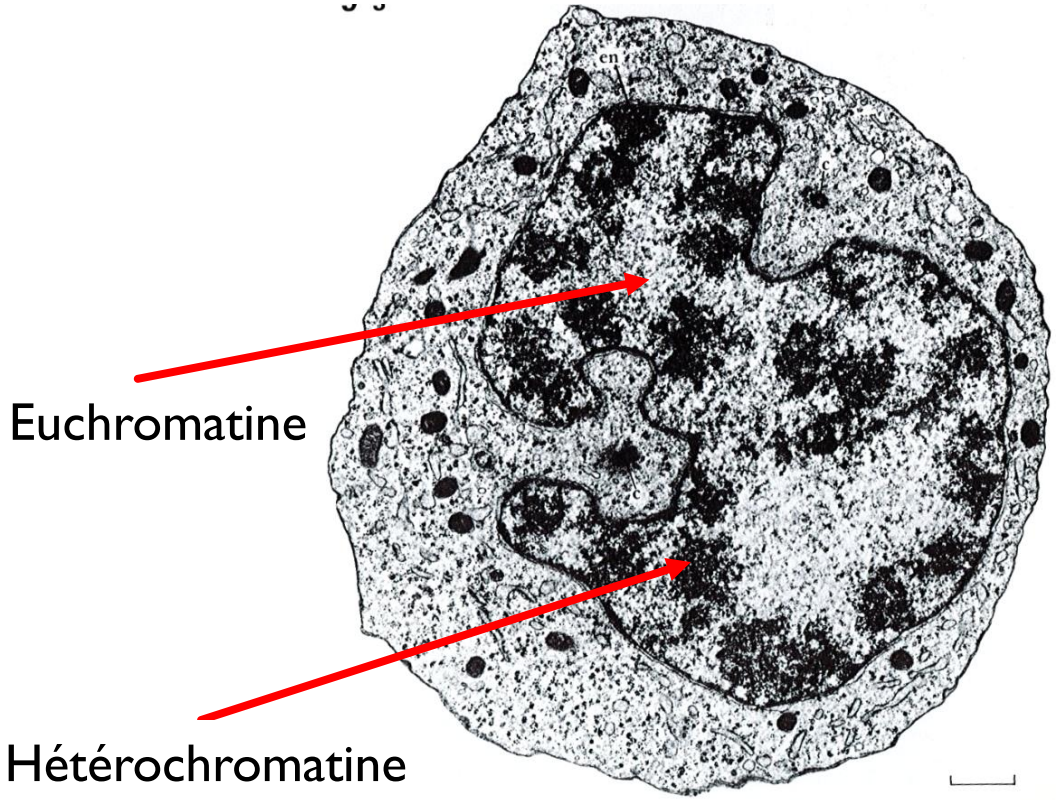
I. LE CYCLE CELLULAIRE DES EUCARYOTES

C. LES PHASES G1 ET G2 DU CYCLE CELLULAIRE

2. Le chromosome interphasique, un état de compaction variable



Roland J-C. Atlas de biologie cellulaire. Masson ; 1996

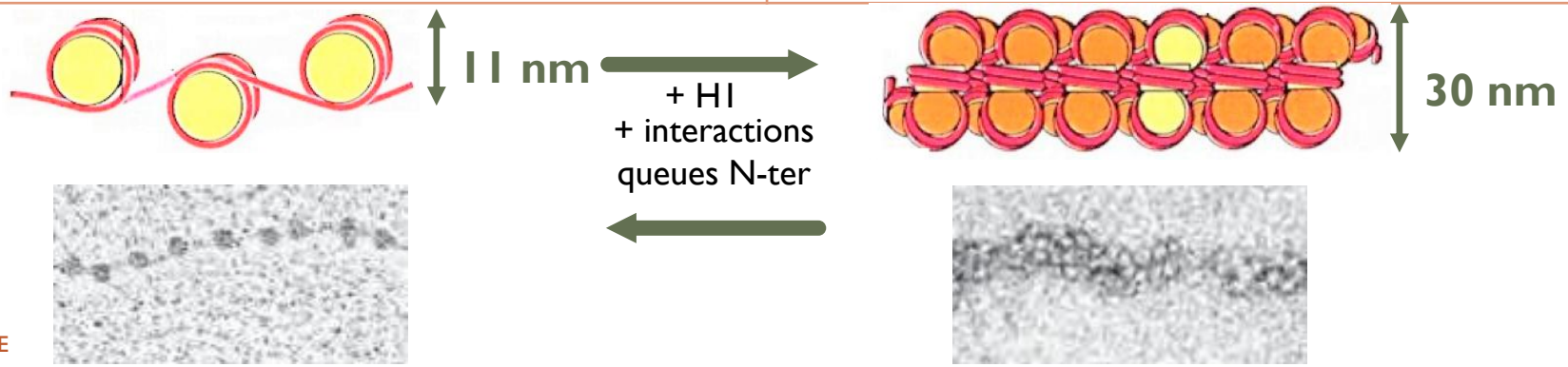


I. LE CYCLE CELLULAIRE DES EUCARYOTES

C. LES PHASES G1 ET G2 DU CYCLE CELLULAIRE

2. Le chromosome interphasique, un état de compaction variable

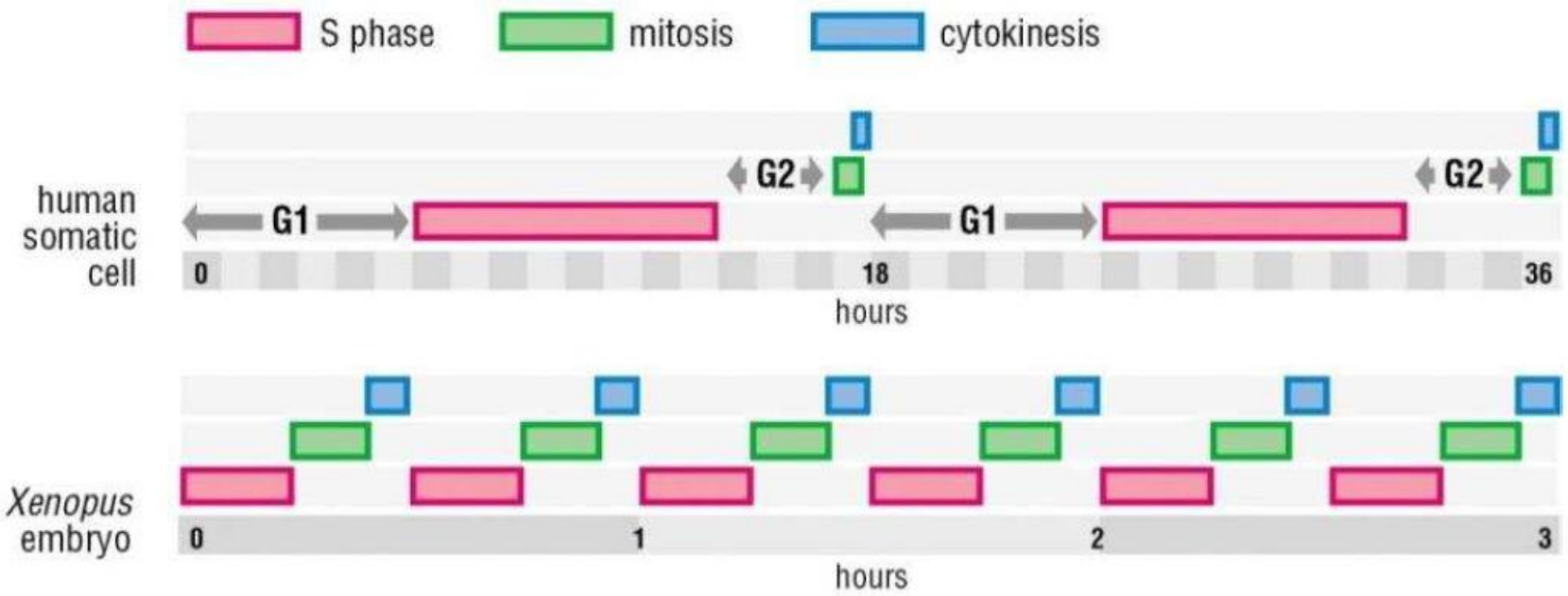
	Euchromatine forme active	Euchromatine forme inactive ou hétérochromatine	
Type	_	Euchromatine inactive	Hétérochromatine facultative vs constitutive
Structure	Nucléofilament = collier de perle = fibre de 11 nm	Solénoïde = fibre de 30 nm	
Aspect MET	clair	sombre	
Diamètre	ϕ11 nm	ϕ30 nm	
Condensation	+	++	++
Localisation	dispersée dans le noyau	dispersées dans le noyau	position périphérique dans le noyau
Expression	Expression des gènes (forme active)	Répression des gènes (forme inactive)	
Réplication	précoce en S	tardive en S	



I. LE CYCLE CELLULAIRE DES EUCARYOTES

C. LES PHASES G1 ET G2 DU CYCLE CELLULAIRE

3. Comparaison des cycles cellulaires de différentes espèces, cas des phases G1 et G2



- Divisions beaucoup plus rapides pour des cellules d'embryon de Xénope que pour des cellules somatiques humaines car :
  - Durée de S et M plus courte
  - Pas de G1/G2

→ Chez l'embryon de Xénope : multiplication rapide des cellules sans expression des gènes zygotiques (avant la transition blastuléenne cf BCPST2)

SV-F-1-2 La transmission de l'information génétique au cours des divisions cellulaires chez les Eucaryotes

PLAN DU COURS

I. Le cycle cellulaire des Eucaryotes

A. Le rôle des divisions au sein du cycle cellulaire

B. La particularité des cellules souches

C. Les phases G1 et G2 du cycle cellulaire

D. La phase S, réplication de l'ADN

E. La phase M du cycle cellulaire

F. La quantité d'ADN au cours du cycle

G. L'existence de points de contrôle du cycle cellulaire

II. Les mécanismes moléculaires de la réplication, une reproduction plus ou moins conforme

A. La réplication de l'ADN, un processus semi-conservatif

B. L'observation d'œil de réplication chez les eucaryotes et les procaryotes

C. Les étapes de la réplication

D. Les erreurs de copies et les mécanismes de corrections

E. Le principe de la PCR et ses applications

III. La mitose et la méiose: des divisions conduisant à une répartition de l'information génétique

A. Les différentes étapes de la mitose et de la méiose

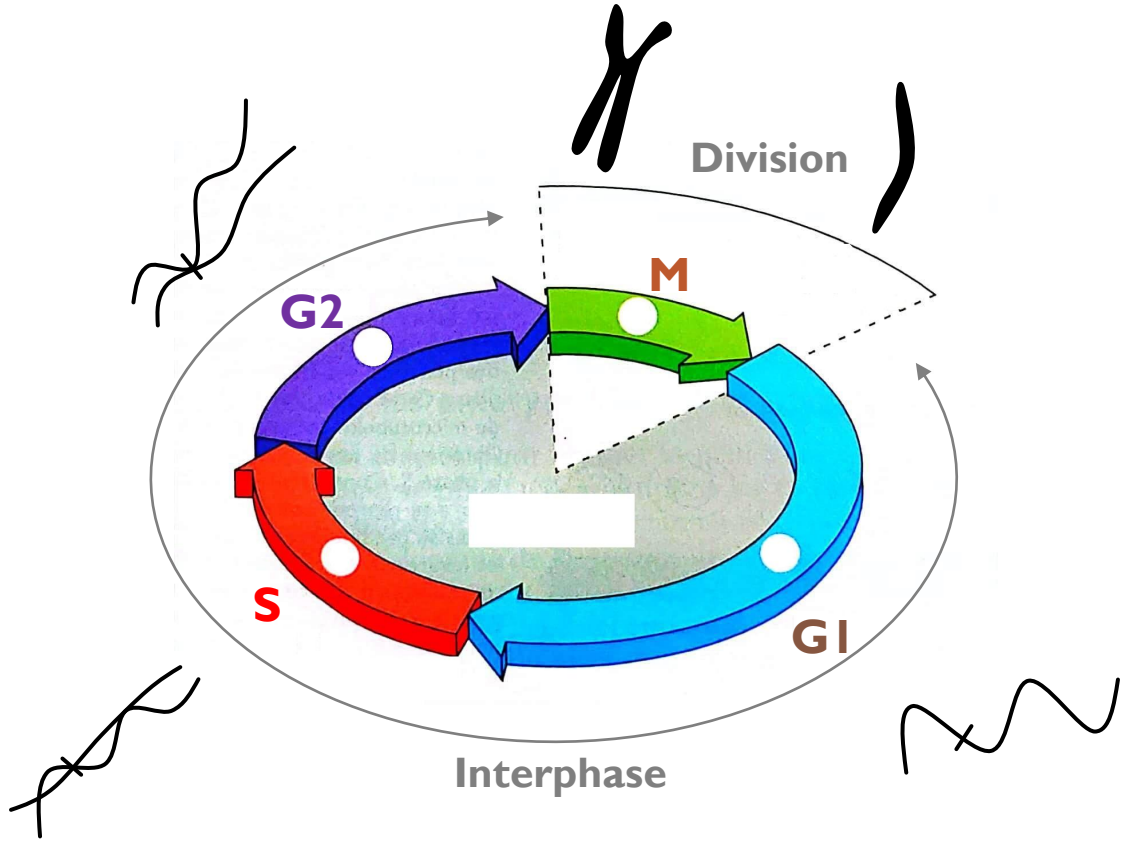
B. Le rôle du cytosquelette dans la division cellulaire

I. LE CYCLE CELLULAIRE DES EUCARYOTES

D. LA PHASE S, RÉPLICATION DE L'ADN

1. Présentation générale

- Phase S = synthèse d'ADN
- ADN répliqué → deux copies de l'information initiale.
- Chez les **eubactéries** à ADN circulaire → **une seule origine de réplication** (appelée Ori C)
- Chez les **eucaryotes** (à chromosomes linéaires) → les **origines de réplication** sont **multiples**
  - ⇨ limiter le temps de réplication
- **Protéines histones** liées à l'ADN
  - ➢ celles de l'ADN initial réparties dans les deux cellules filles
  - ➢ d'autres histones néo synthétisées (phase G1) s'y ajoutent ensuite.
- Réplication des centrioles
  - ➢ deux centrosomes



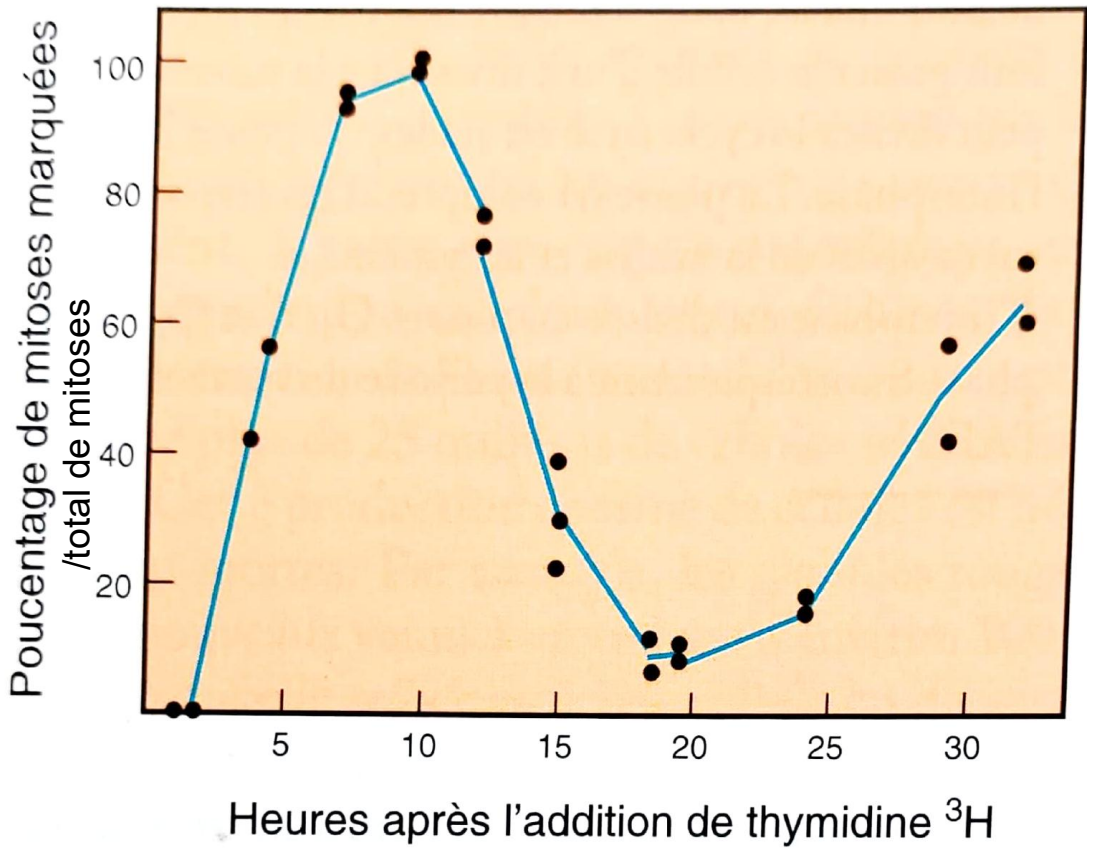
I. LE CYCLE CELLULAIRE DES EUCARYOTES

D. LA PHASE S, RÉPLICATION DE L'ADN

2. Analyse de document, traçage avec la thymidine tritiée

Protocole :

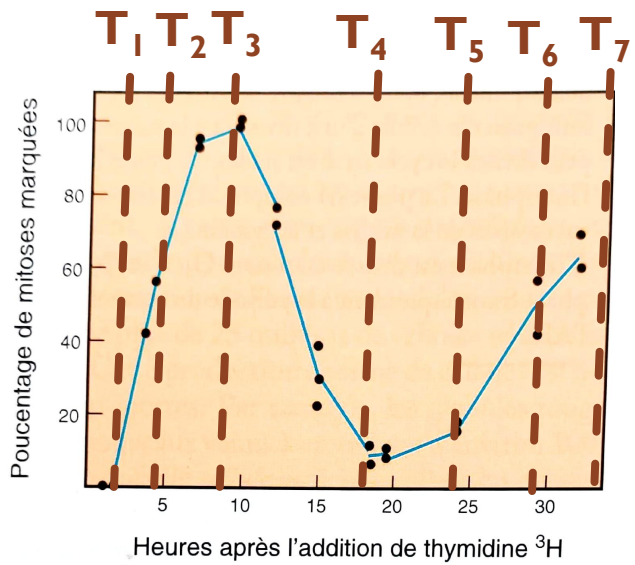
- Des cellules HeLa en culture ont été soumises à un pulse-chase :
  - **Pulse** : incubation 30 min dans un milieu contenant de la thymidine tritiée (^{3}H-Thymidine)
  - **Chase** : incubation dans un milieu non marqué de durée variable.
- Elles sont ensuite fixées et préparées pour autoradiographie.
- La boîte de culture a été balayée pour identifier les cellules qui étaient en mitose au moment de la fixation.
- Le graphique représente le pourcentage de ces cellules contenant des chromosomes marqués.

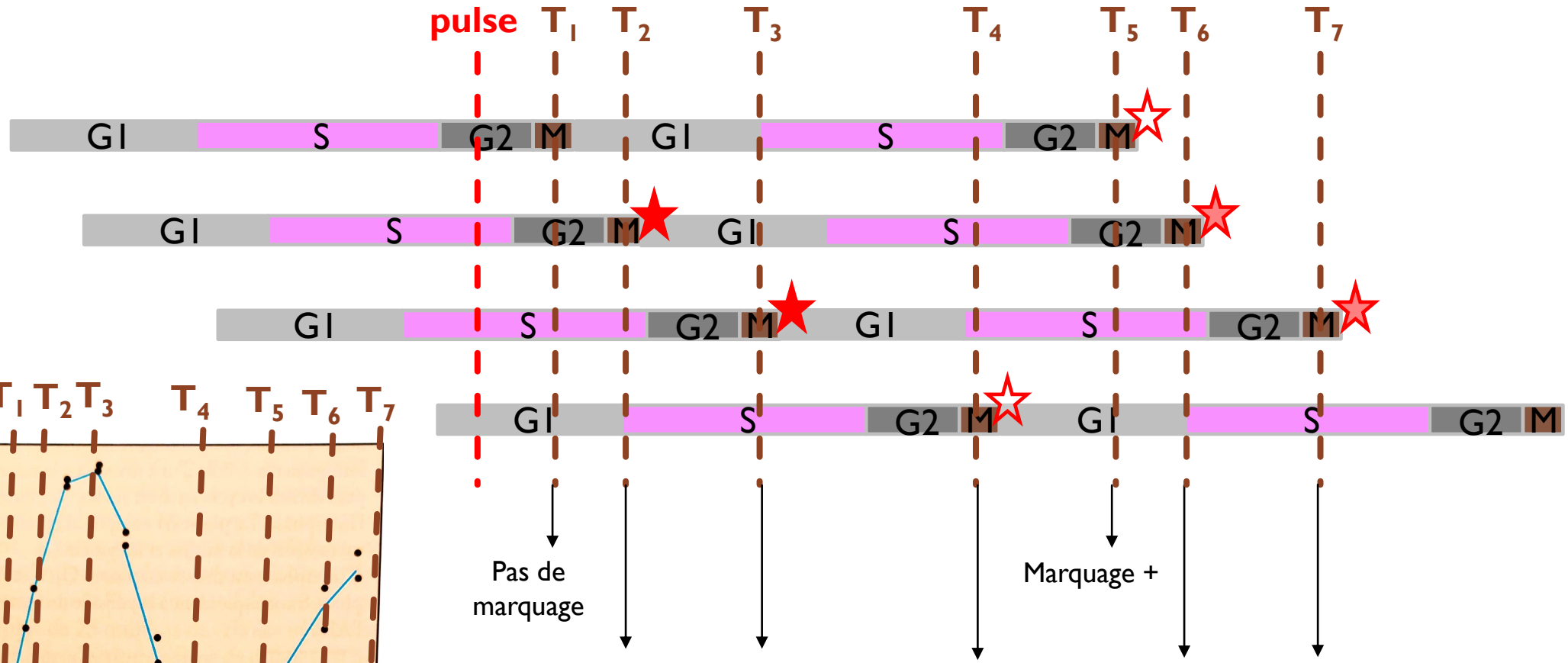


Cellules HeLa : lignée de cellules cancéreuses (« immortelles »). Elles proviennent du prélèvement d'une tumeur effectué en 1951 chez une patiente afro-américaine, Henrietta Lacks, sans son consentement.

D. LA PHASE S, RÉPLICATION DE L'ADN

2. Analyse de document, traçage avec la thymidine tritiée





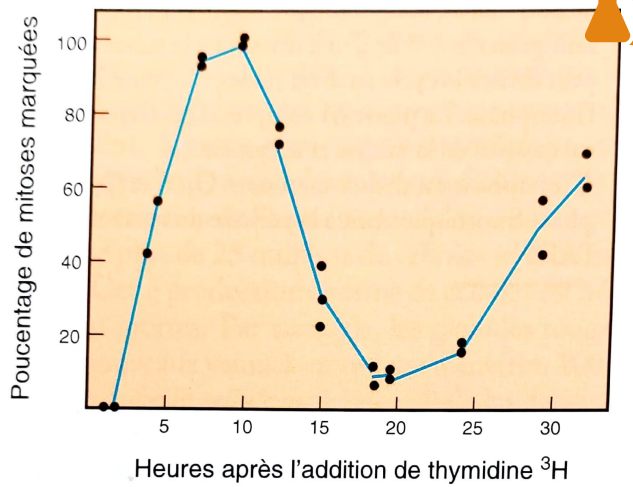
2. Analyse de document, traçage avec la thymidine tritiée

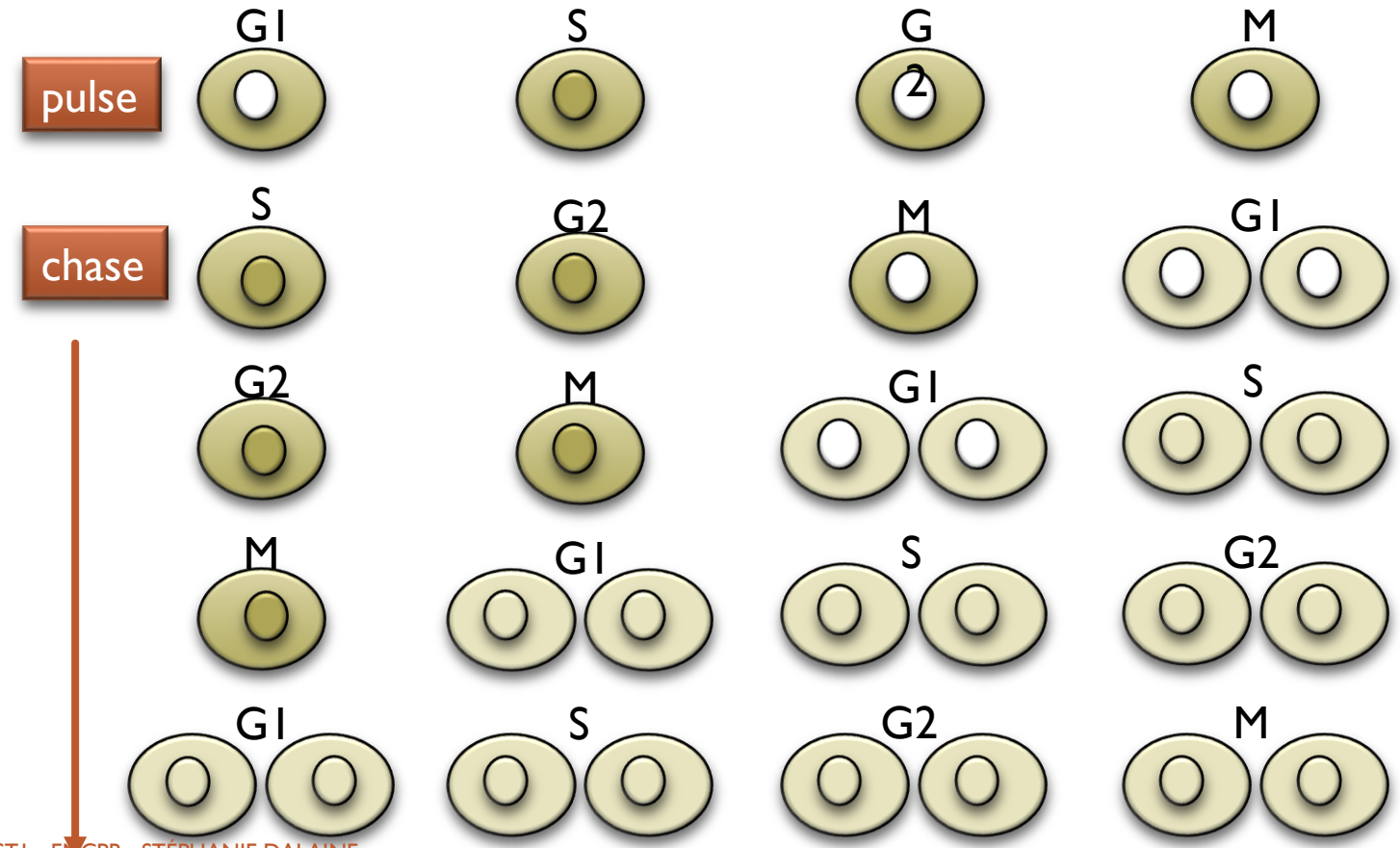
Intensité de marquage des chromosomes ou [H^3-Thymine] dans le cytoplasme

noyau

cytoplasme

Cellule non marquée, avant le pulse





Cellules en M / non marquées

Cellules en M / marquage +++

Cellules en M / marquage ++

Cellules en M / marquage +

SV-F-1-2 La transmission de l'information génétique au cours des divisions cellulaires chez les Eucaryotes

PLAN DU COURS

I. Le cycle cellulaire des Eucaryotes

A. Le rôle des divisions au sein du cycle cellulaire

B. La particularité des cellules souches

C. Les phases G1 et G2 du cycle cellulaire

D. La phase S, réplication de l'ADN

E. La phase M du cycle cellulaire

F. La quantité d'ADN au cours du cycle

G. L'existence de points de contrôle du cycle cellulaire

II. Les mécanismes moléculaires de la réplication, une reproduction plus ou moins conforme

A. La réplication de l'ADN, un processus semi-conservatif

B. L'observation d'œil de réplication chez les eucaryotes et les procaryotes

C. Les étapes de la réplication

D. Les erreurs de copies et les mécanismes de corrections

E. Le principe de la PCR et ses applications

III. La mitose et la méiose: des divisions conduisant à une répartition de l'information génétique

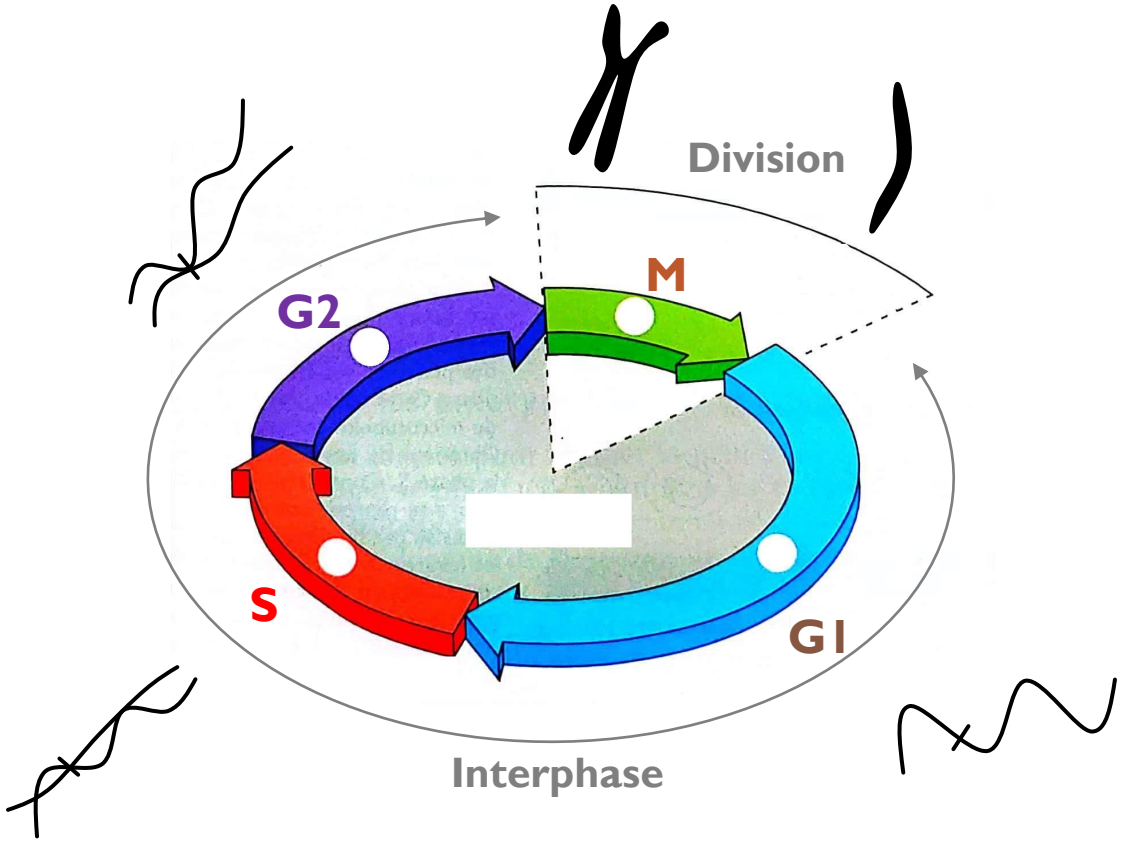
A. Les différentes étapes de la mitose et de la méiose

B. Le rôle du cytosquelette dans la division cellulaire

E. LA PHASE M DU CYCLE

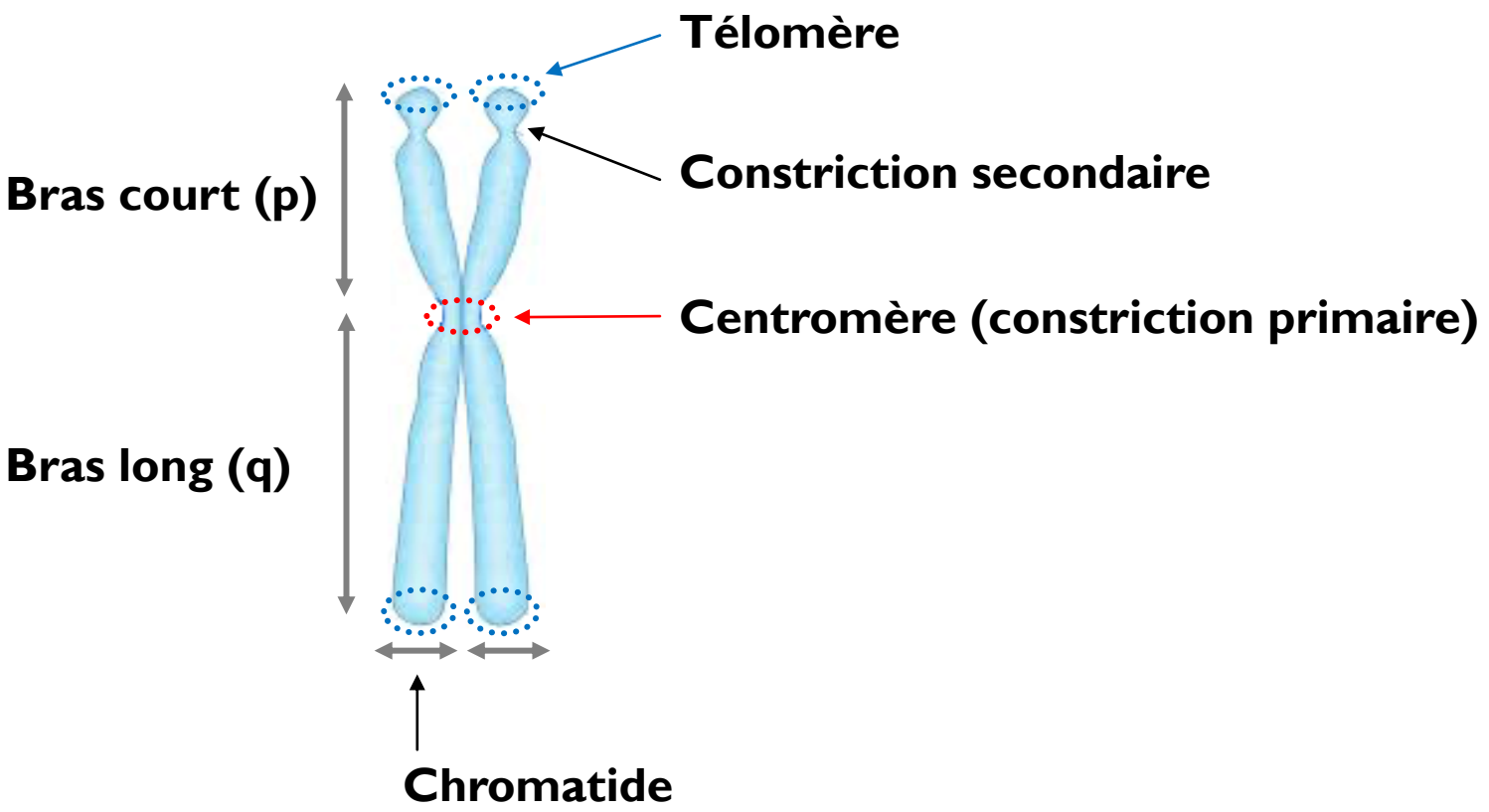
1. Place de la phase M dans le cycle cellulaire

- Phase M = séparation du matériel génétique (mitose au sens strict ou **caryocinèse**) puis séparation des cellules filles **(cytocinèse**)
- Mitose = division cellulaire → transmission **conforme de l'information génétique à deux cellules filles**.
- Etape temporellement **plus courte** que les autres phases du cycle cellulaire
    - réplication préalable nécessaire à la transmission équivalente de cette information.
- La mitose comprend plusieurs étapes, qui permettent successivement de :
    - Prophase
    - Prométaphase
    - Métaphase
    - Anaphase
    - Télophase
    - Cytocinèse



E. LA PHASE M DU CYCLE

2. Le chromosome métaphasique



E. LA PHASE M DU CYCLE

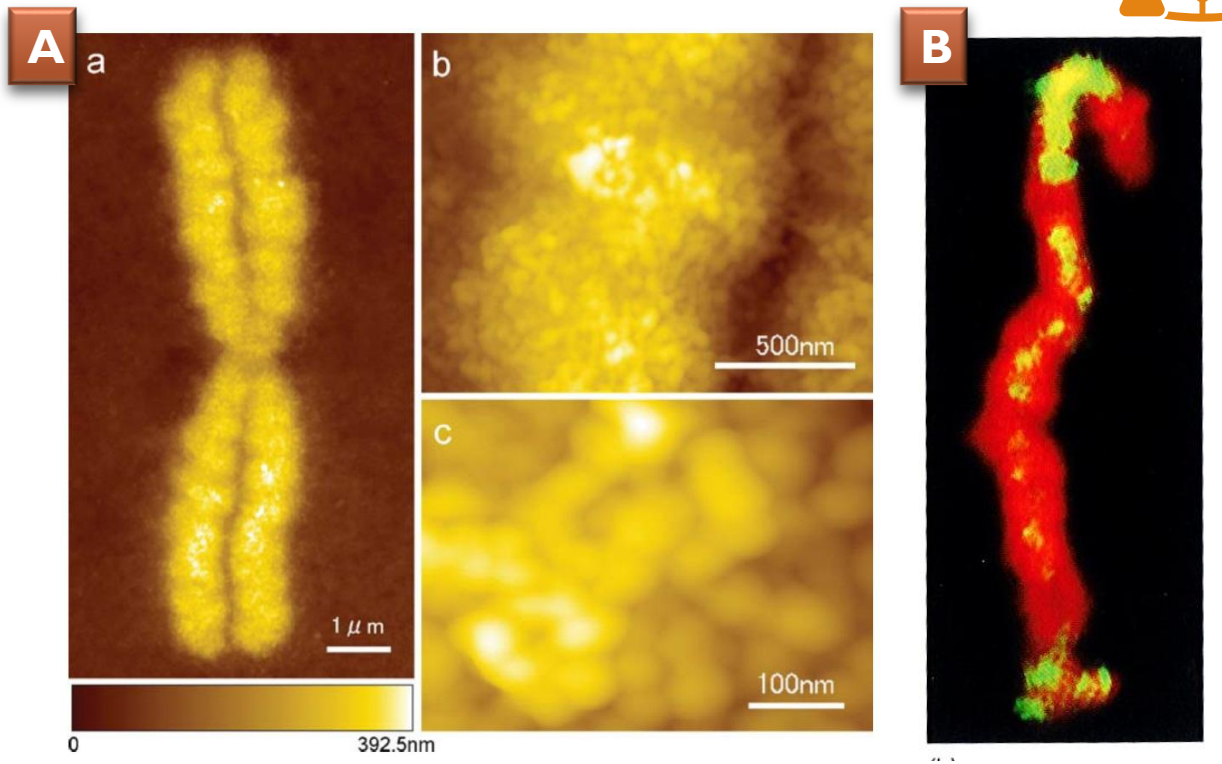
2. Le chromosome métaphasique

- Doc A : Chromosome 1 humain métaphasique observé en microscopie électronique à divers grossissements

- Doc B : chromosome métaphasique de Xenopus condensé *in vitro*, puis marquage de la **cohésine** en vert. Les **chromatides** sœurs apparaissent en rouge.

- **Image A-a :**
  - On note la structure générale du chromosome bichromatidien, avec le centromère bien visible.
  - La condensation est variable le long du chromosome, mais équivalente d'une chromatide à l'autre.
- **Image A-c :**
  - Des replis en boucle de la fibre de chromatine sont visibles = **microconvules**

- **Image B :**
  - La cohésine est présente tout le long du chromosome et semble située entre les 2 chromatides sœurs

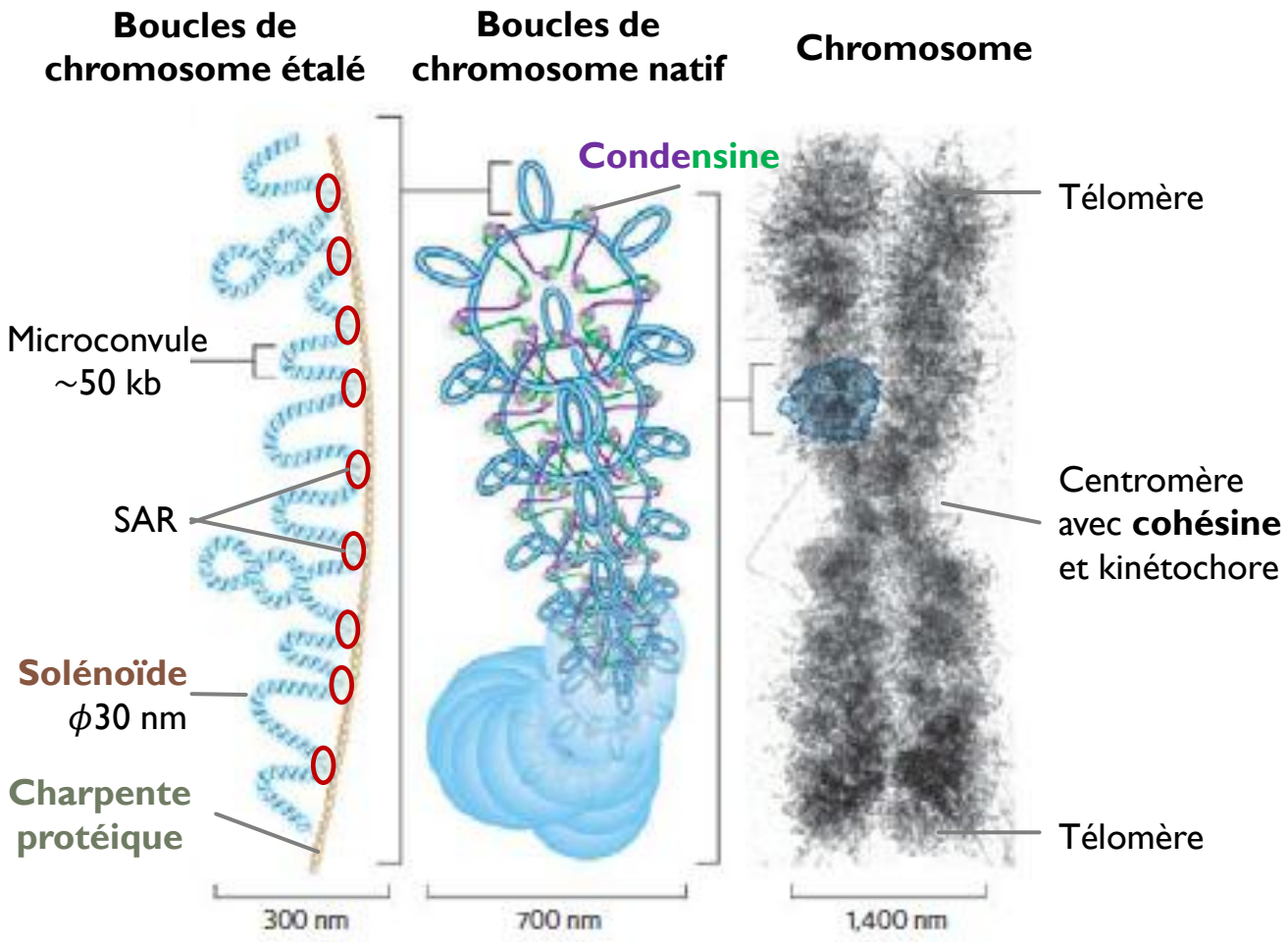


→ **La cohésine permet de maintenir les 2 chromatides sœurs collées l'une à l'autre**
→ **In vivo, elle est présente uniquement au niveau du centromère**

E. LA PHASE M DU CYCLE

2. Le chromosome métaphasique

Rappel



Modèle de l'organisation du chromosome métaphasique (in Lehninger)

SV-F-1-2 La transmission de l'information génétique au cours des divisions cellulaires chez les Eucaryotes

PLAN DU COURS

I. Le cycle cellulaire des Eucaryotes

A. Le rôle des divisions au sein du cycle cellulaire

B. La particularité des cellules souches

C. Les phases G1 et G2 du cycle cellulaire

D. La phase S, réplication de l'ADN

E. La phase M du cycle cellulaire

F. La quantité d'ADN au cours du cycle

G. L'existence de points de contrôle du cycle cellulaire

II. Les mécanismes moléculaires de la réplication, une reproduction plus ou moins conforme

A. La réplication de l'ADN, un processus semi-conservatif

B. L'observation d'œil de réplication chez les eucaryotes et les procaryotes

C. Les étapes de la réplication

D. Les erreurs de copies et les mécanismes de corrections

E. Le principe de la PCR et ses applications

III. La mitose et la méiose: des divisions conduisant à une répartition de l'information génétique

A. Les différentes étapes de la mitose et de la méiose

B. Le rôle du cytosquelette dans la division cellulaire

F. LA QUANTITÉ D'ADN AU COURS DU CYCLE

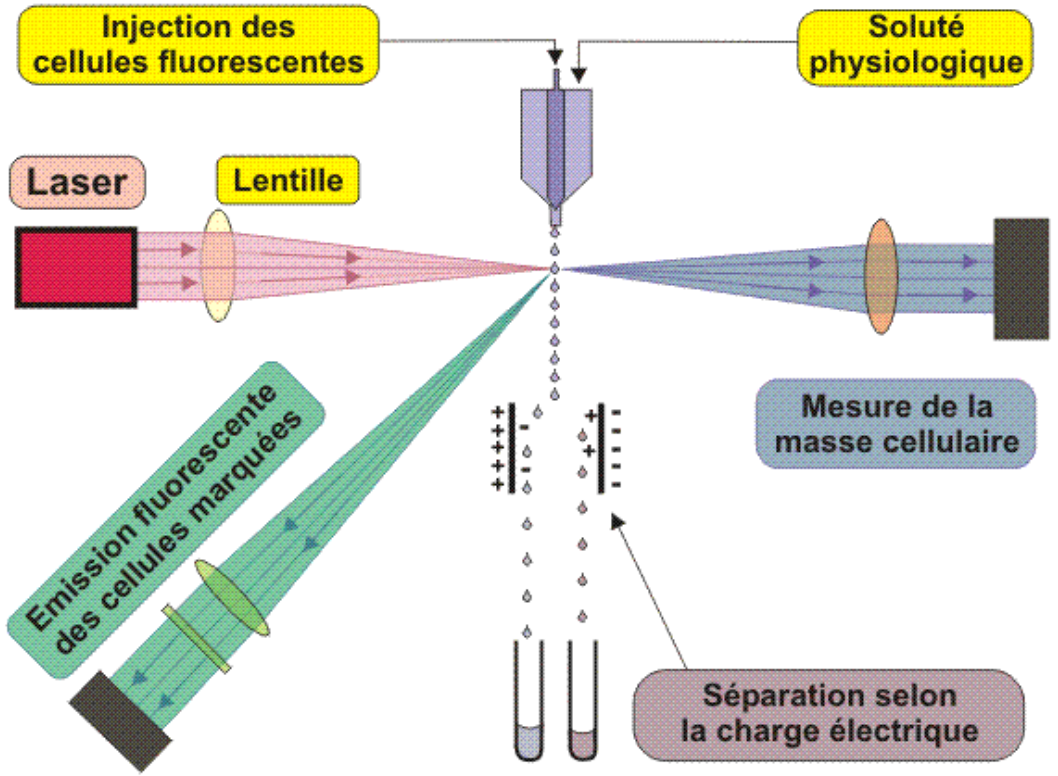
1. Données apportées par la cytométrie en flux

La cytométrie en flux (*flow cytometry*) : technique qui permet d'étudier rapidement certaines caractéristiques d'un grand nombre de cellules (plusieurs dizaines de milliers).

Principe :

- Passage d'un flux de cellules (en suspension) devant un laser.
- Déviation (+/-) du rayon du laser → en fonction des propriétés des cellules (taille, densité…)
- Analyse des rayons lumineux modifiés par l'échantillon
- Certains appareils permettent également de trier les cellules en fonction de leurs propriétés

Applications : tri cellulaire par FACS (fluorescence-activated cell sorting)



Principe du FACS (fluorescence-activated cell sorting), un type de cytométrie de flux

Intérêt : étude d'un grand nombre de cellules → statistiques fiables

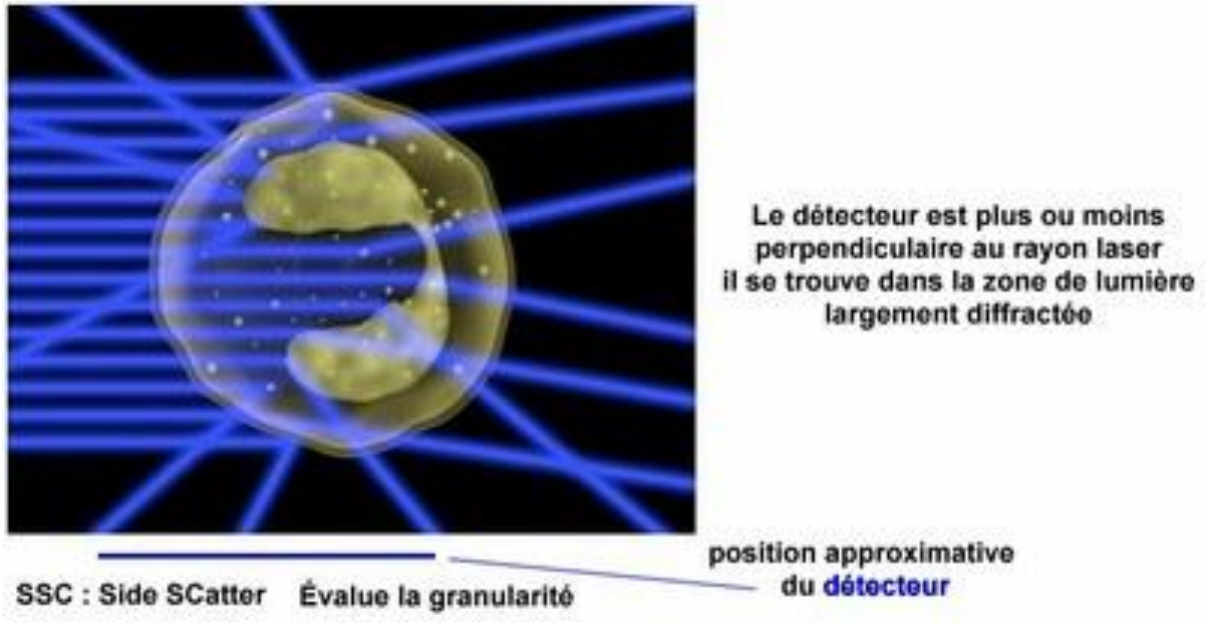
F. LA QUANTITÉ D'ADN AU COURS DU CYCLE

1. Données apportées par la cytométrie en flux

Paramètres mesurés :

- **FSC :** lumière diffractée mesurée en face du rayon laser
  - → **taille** des cellules
- **SSC** : lumière diffractée, mesurée sur le côté
  - **granularité** de la cellule (~densité)
- **Fluorescence**

Paramètre FSC



Paramètre SSC

F. LA QUANTITÉ D'ADN AU COURS DU CYCLE

2. Résultats de cytométrie de flux

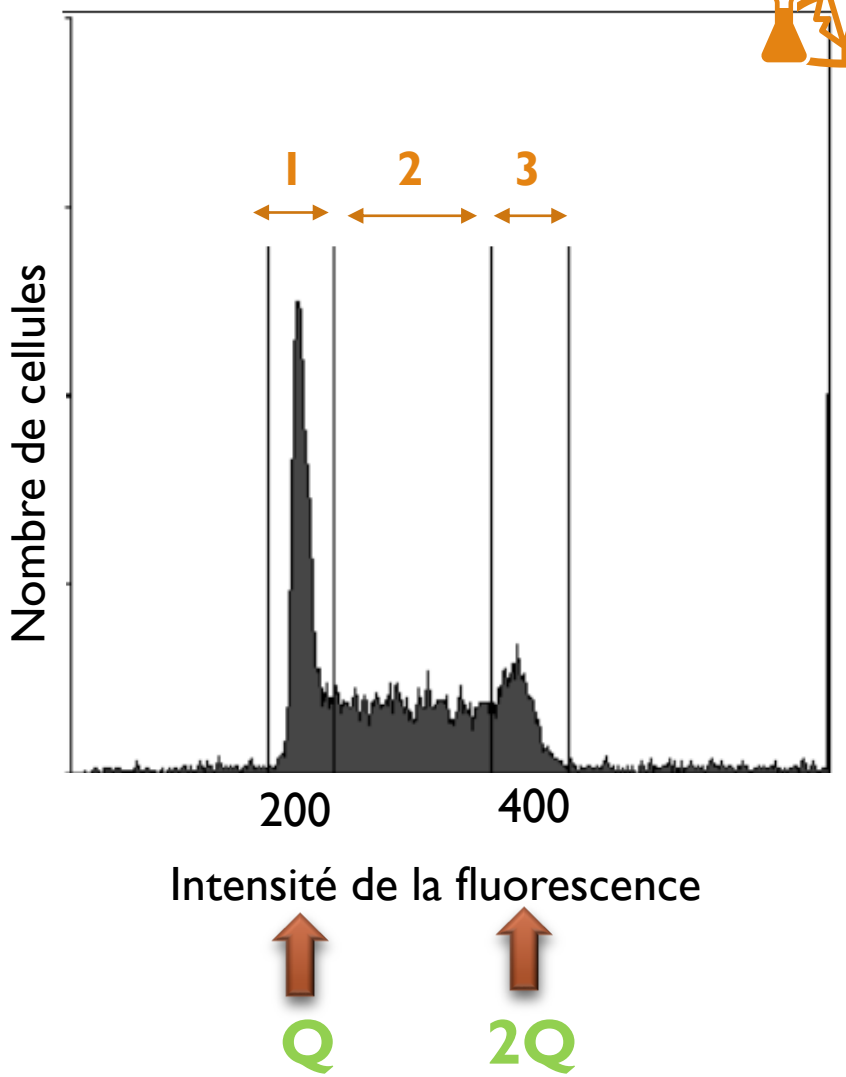
Protocole

- Marquage de cellules humaines à cycle cellulaire asynchrone par de l'iodure de propidium (petite molécule fluorescente s'intercalant entre les bases de l'ADN)

- Mesure de l'intensité de la fluorescence pour l'ensemble des cellules.

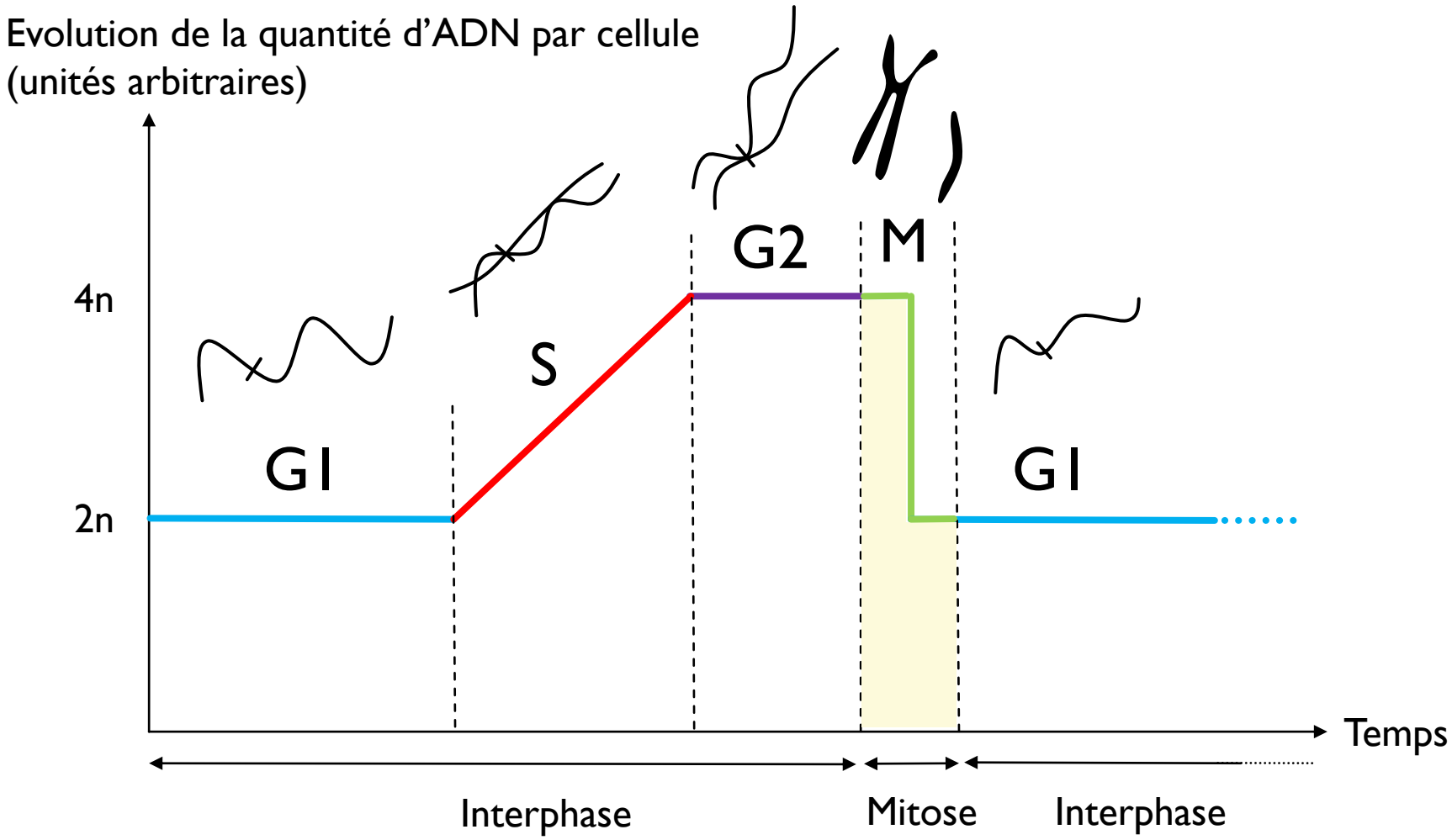
- Les 3 zones indiquent des quantités d'ADN/cellule différentes ; elles correspondent aux différentes phases du cycle cellulaire

- La différence d'abondance en cellules pour chaque phase donne une indication de la durée de chaque phase.



F. LA QUANTITÉ D'ADN AU COURS DU CYCLE

3. Bilan sur la quantité d'ADN au cours du cycle cellulaire

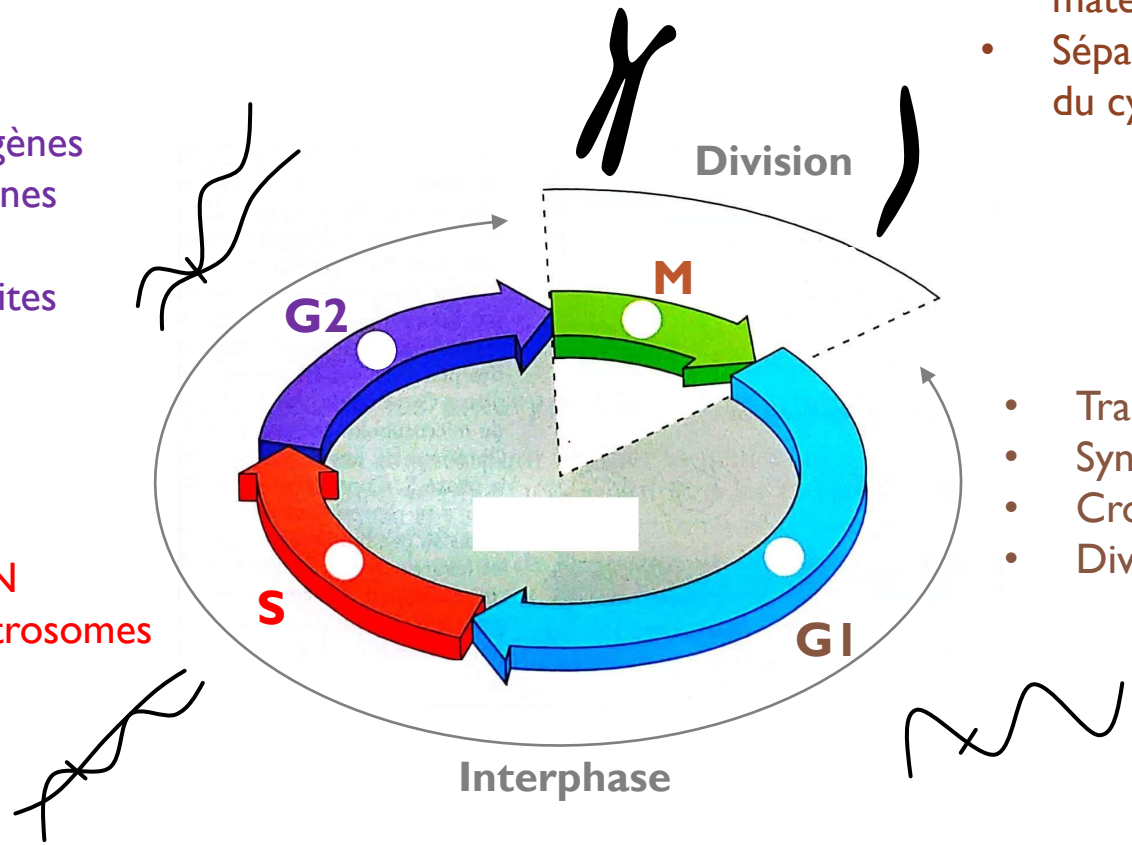


F. LA QUANTITÉ D'ADN AU COURS DU CYCLE

3. Bilan sur la quantité d'ADN au cours du cycle cellulaire

- Séparation équitable du matériel génétique
- Séparation +/- équitable du cytoplasme

- Transcription des gènes
- Synthèse de protéines
- Croissance
- Division des organites



- Transcription des gènes
- Synthèse de protéines
- Croissance
- Division des organites

- Réplication de l'ADN
- Duplication des centrosomes

SV-F-1-2 La transmission de l'information génétique au cours des divisions cellulaires chez les Eucaryotes

PLAN DU COURS

I. Le cycle cellulaire des Eucaryotes

A. Le rôle des divisions au sein du cycle cellulaire

B. La particularité des cellules souches

C. Les phases G1 et G2 du cycle cellulaire

D. La phase S, réplication de l'ADN

E. La phase M du cycle cellulaire

F. La quantité d'ADN au cours du cycle

G. L'existence de points de contrôle du cycle cellulaire

II. Les mécanismes moléculaires de la réplication, une reproduction plus ou moins conforme

A. La réplication de l'ADN, un processus semi-conservatif

B. L'observation d'œil de réplication chez les eucaryotes et les procaryotes

C. Les étapes de la réplication

D. Les erreurs de copies et les mécanismes de corrections

E. Le principe de la PCR et ses applications

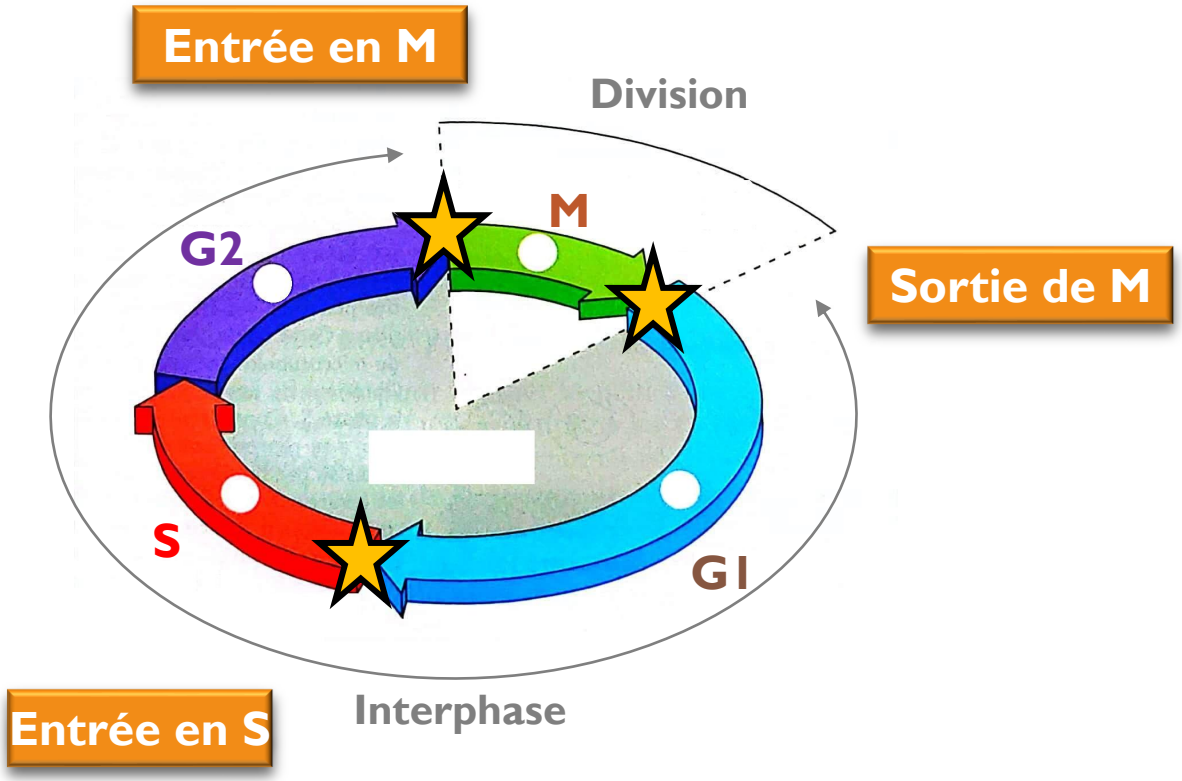
III. La mitose et la méiose: des divisions conduisant à une répartition de l'information génétique

A. Les différentes étapes de la mitose et de la méiose

B. Le rôle du cytosquelette dans la division cellulaire

INTRODUCTION

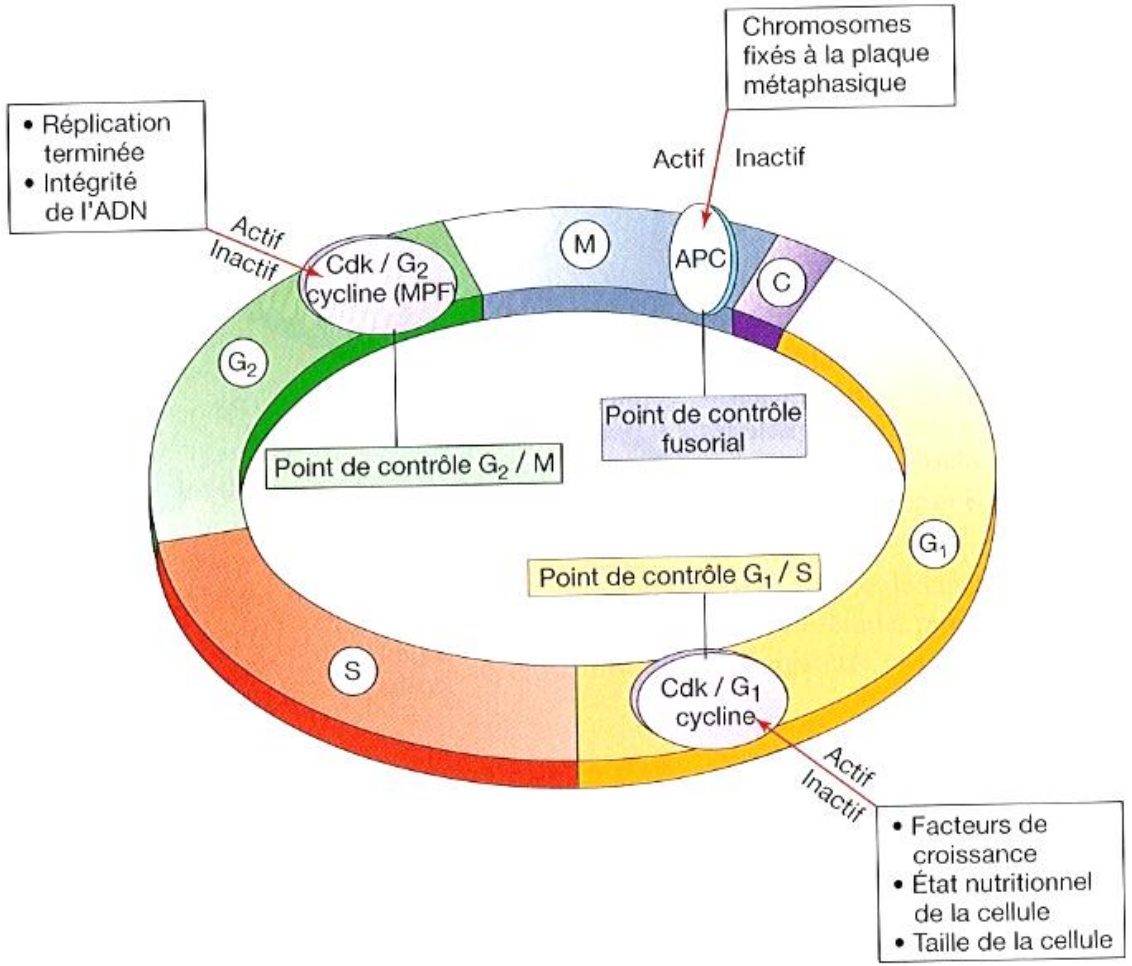
Points de contrôle du cycle



G. L'EXISTENCE DE POINTS DE CONTRÔLE DU CYCLE CELLULAIRE

1. Présentation générale des différents points de contrôle

- Plusieurs points de contrôle peuvent interrompre le passage à la phase suivante du cycle cellulaire:
  - **Intégrité de l'ADN** : si lésion de l'ADN → pas transition G1/S L'ADN → ADN peut être réparé
  - Fin de la réplication : si défaut de réplication → pas de transition G2/M → transmission correcte de l'information génétique.
  - Attachement des chromosomes métaphasiques au fuseau de division : si mauvais alignement → interruption de la mitose , pas de transition M/G1

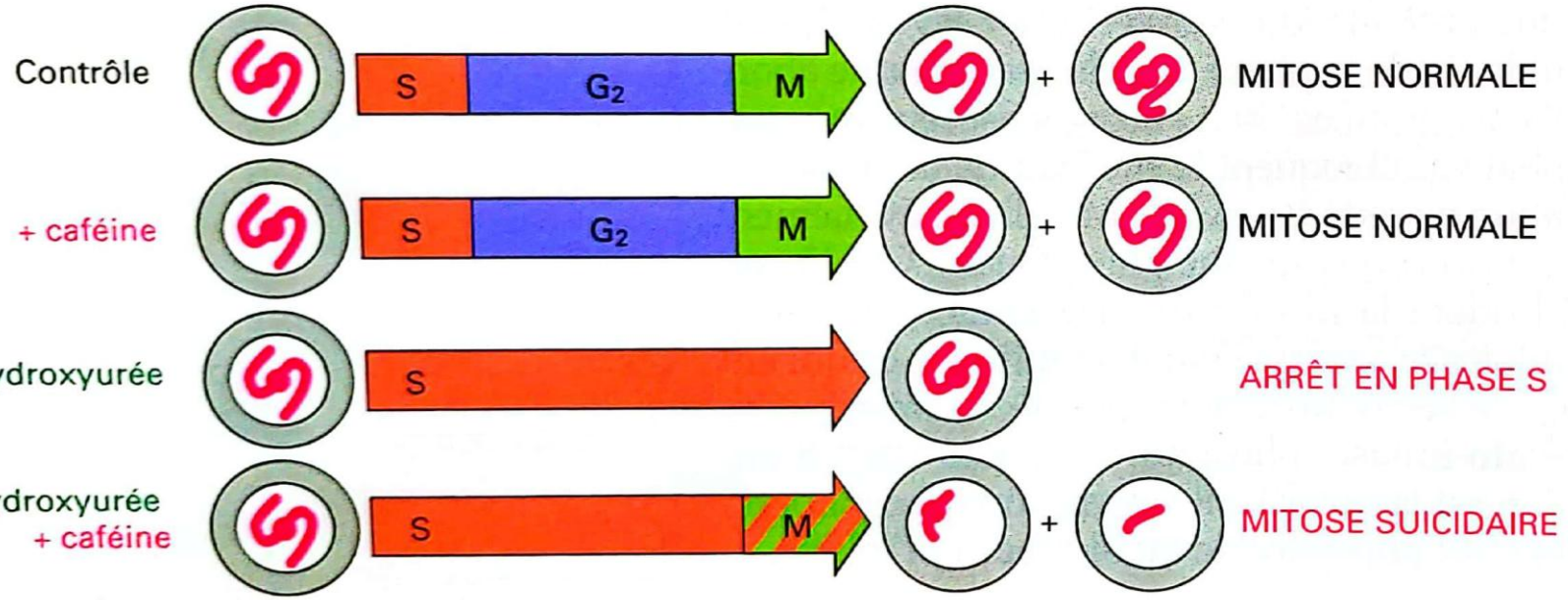


Exemples de points de contrôle du cycle cellulaire

G. L'EXISTENCE DE POINTS DE CONTRÔLE DU CYCLE CELLULAIRE

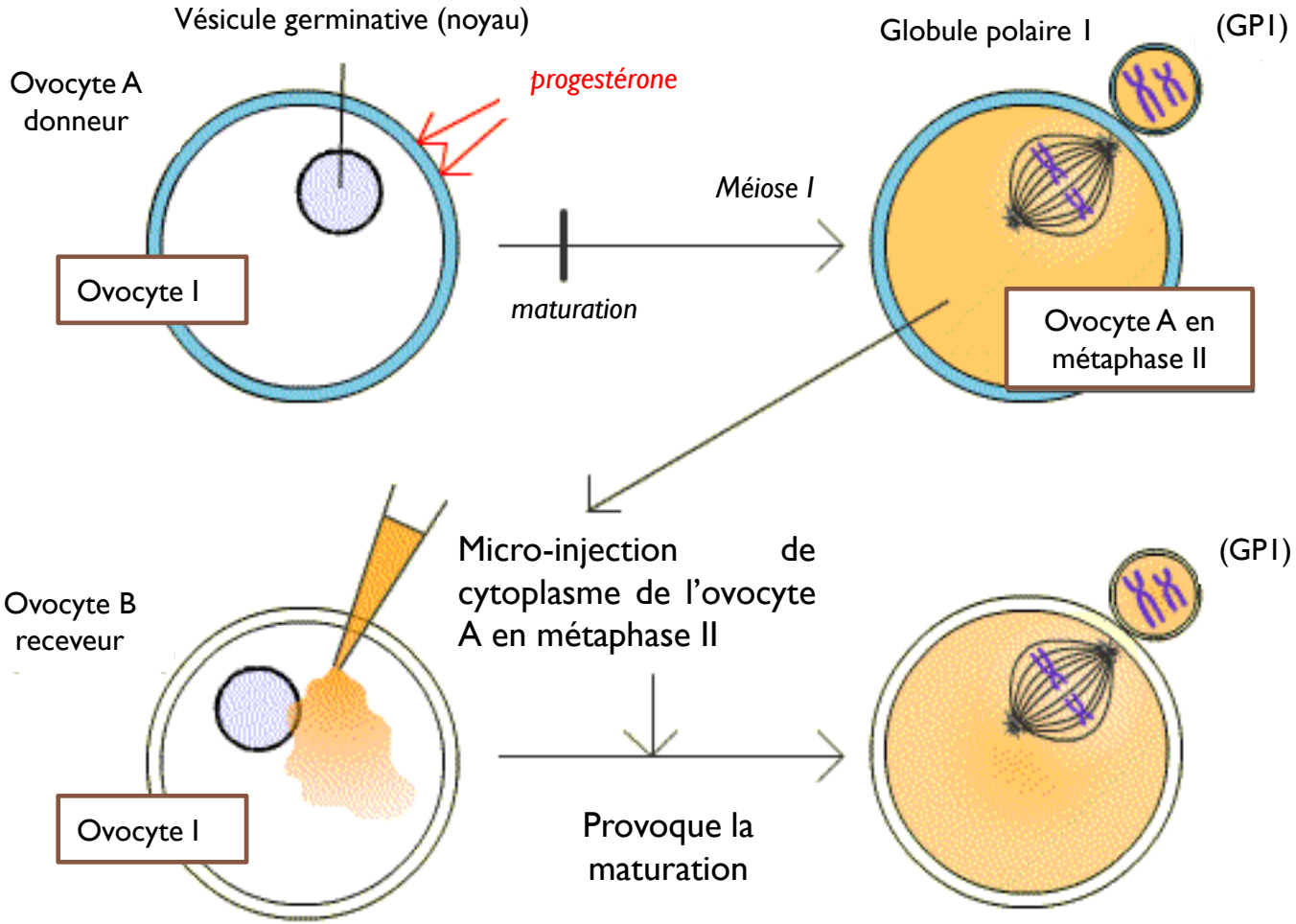
2. Mise en évidence expérimentale d'un point de contrôle S

Des cellules de mammifère en culture ont été traitées par de la caféine, de l'hydroxyurée, ou les deux associées. L'hydroxyurée bloque la synthèse d'ADN.



- La caféine n'a pas d'effet sur la mitose
- L'hydroxyurée inhibe la synthèse d'ADN, suite à l'ajout d'hydroxyurée la cellule reste bloquée en phase S
  - ⇨ il existe un point de contrôle S/G2
- La caféine lève l'inhibition du point de contrôle S/G2 alors que la synthèse d'ADN est inachevée, aboutissant à la mort cellulaire
- En temps normal, il existe un point de contrôle (ici inhibé par la caféine) qui empêche la cellule de poursuivre son cycle si l'ADN n'est pas répliqué

G. L'EXISTENCE DE POINTS DE CONTRÔLE DU CYCLE CELLULAIRE

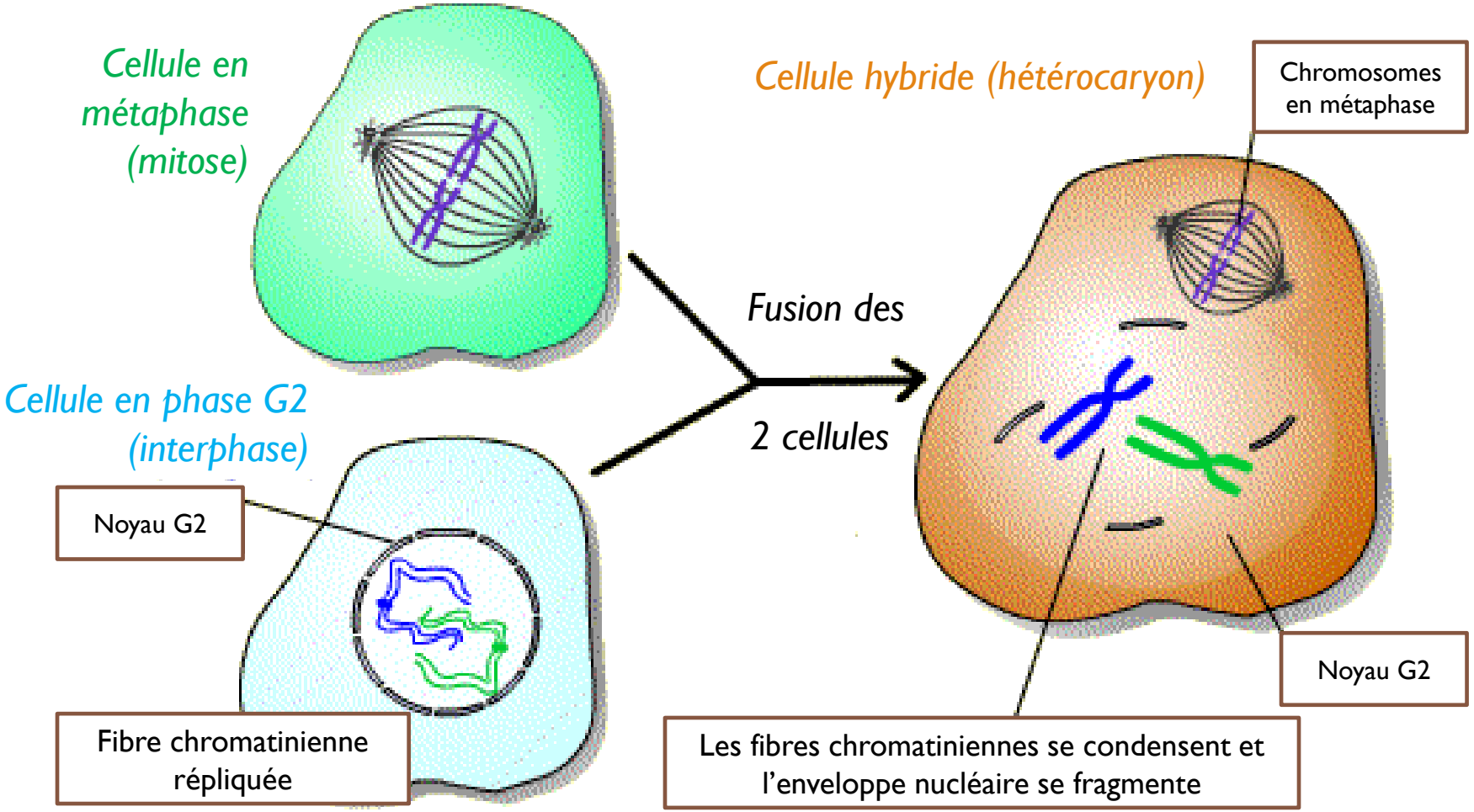


Expérience d'injection de cytoplasme entre des ovocytes de Xénope

L'injection du cytoplasme prélevé dans un ovocyte II maturé (bloqué en métaphase II) dans un ovocyte I, induit l'entrée en méiose de ce dernier. Cette expérience montre que le cytoplasme de l'ovocyte A contient un composé, présent en méiose, et suffisant pour induire le passage en méiose.

https://planet-vie.ens.fr/thematiques/cellules-et-molecules/cycle-cellulaire/la-regulation-du-cycle-cellulaire

G. L'EXISTENCE DE POINTS DE CONTRÔLE DU CYCLE CELLULAIRE

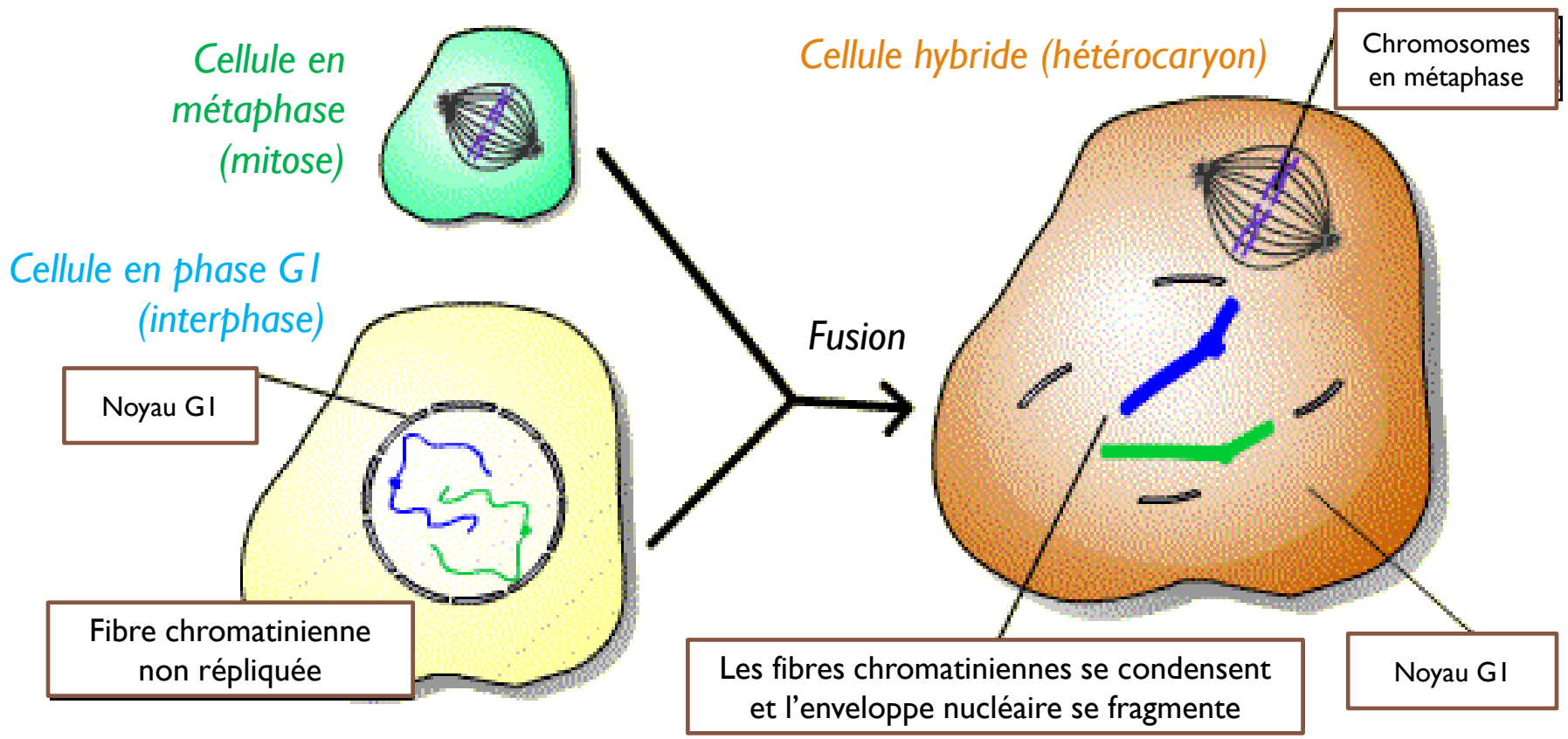


Fusion d'une cellule en interphase (ici phase G2) et d'une cellule en métaphase (phase M)

Un facteur diffusible présent dans la cellule en phase M induit l'entrée en mitose (condensation des chromosomes et disparition de l'enveloppe nucléaire) de la cellule en phase G2. Ce facteur est le MPF.

https://planet-vie.ens.fr/thematiques/cellules-et-molecules/cycle-cellulaire/la-regulation-du-cycle-cellulaire

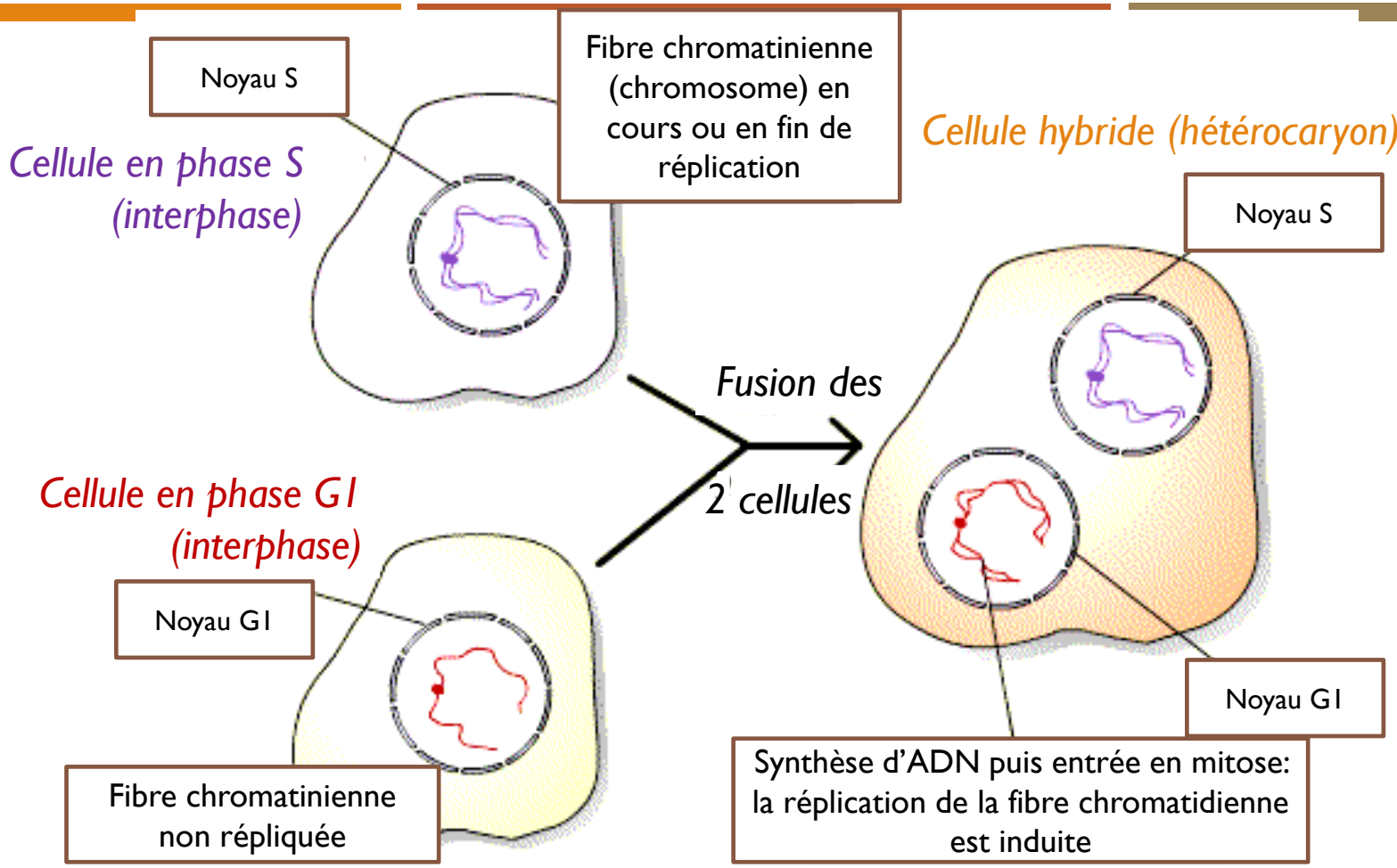
G. L'EXISTENCE DE POINTS DE CONTRÔLE DU CYCLE CELLULAIRE



Fusion d'une cellule en phase G1 avec une cellule en phase M

La fusion de toute cellule en interphase (même en phase G1 ou S) et d'une cellule en phase M induit la condensation des chromosomes et la disparition de l'enveloppe nucléaire.

https://planet-vie.ens.fr/thematiques/cellules-et-molecules/cycle-cellulaire/la-regulation-du-cycle-cellulaire

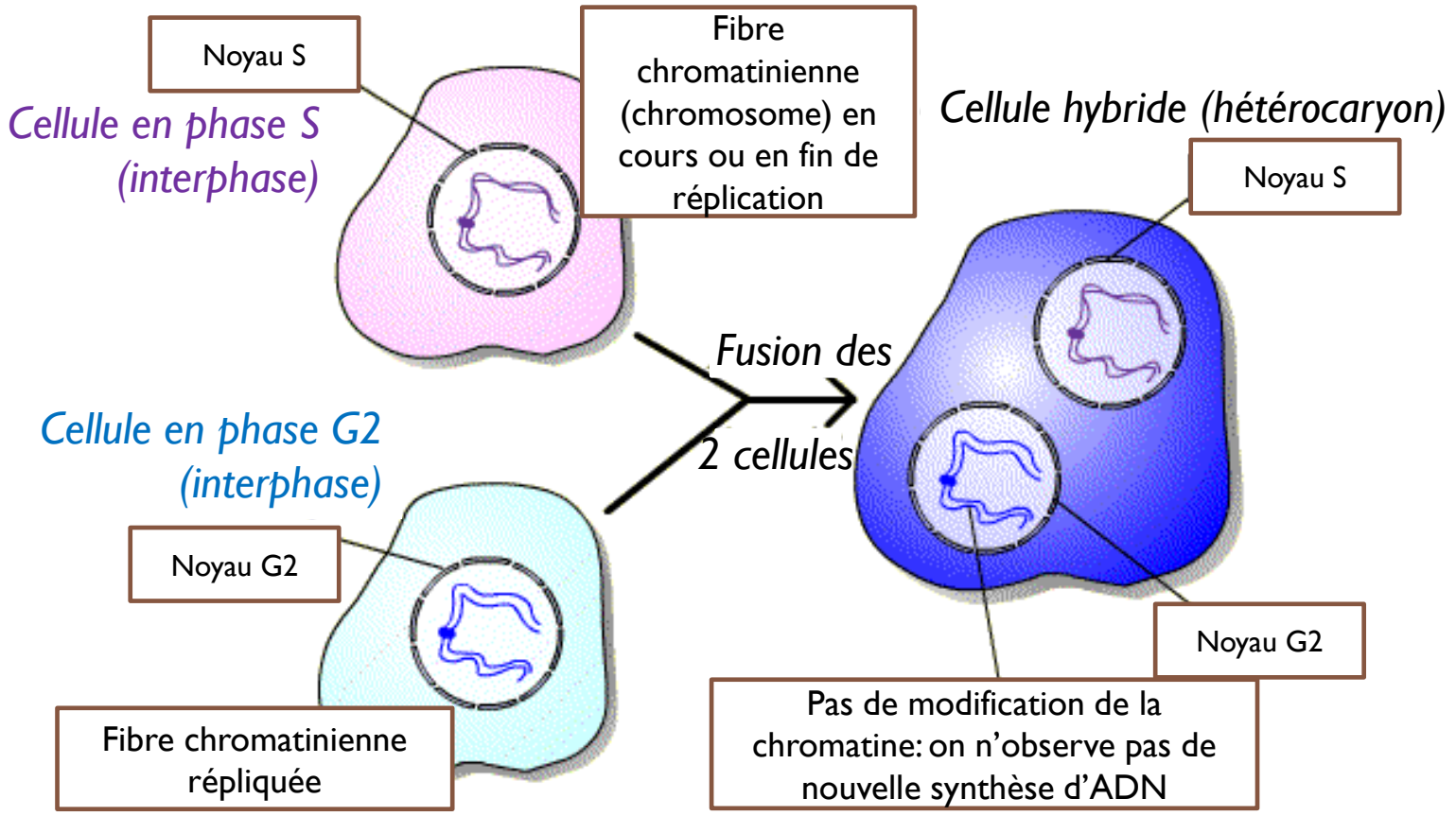


Fusion d'une cellule en phase G1 (avant réplication) et d'une cellule en phase S (en réplication)

Un facteur contenu dans le cytoplasme de la cellule en phase S agit sur les fibres chromatiniennes de la cellule en G1 pour induire la synthèse d'ADN.
Il existe donc, dans le cytoplasme des cellules en phase S, un facteur de stimulation d'entrée en phase S.

https://planet-vie.ens.fr/thematiques/cellules-et-molecules/cycle-cellulaire/la-regulation-du-cycle-cellulaire

G. L'EXISTENCE DE POINTS DE CONTRÔLE DU CYCLE CELLULAIRE

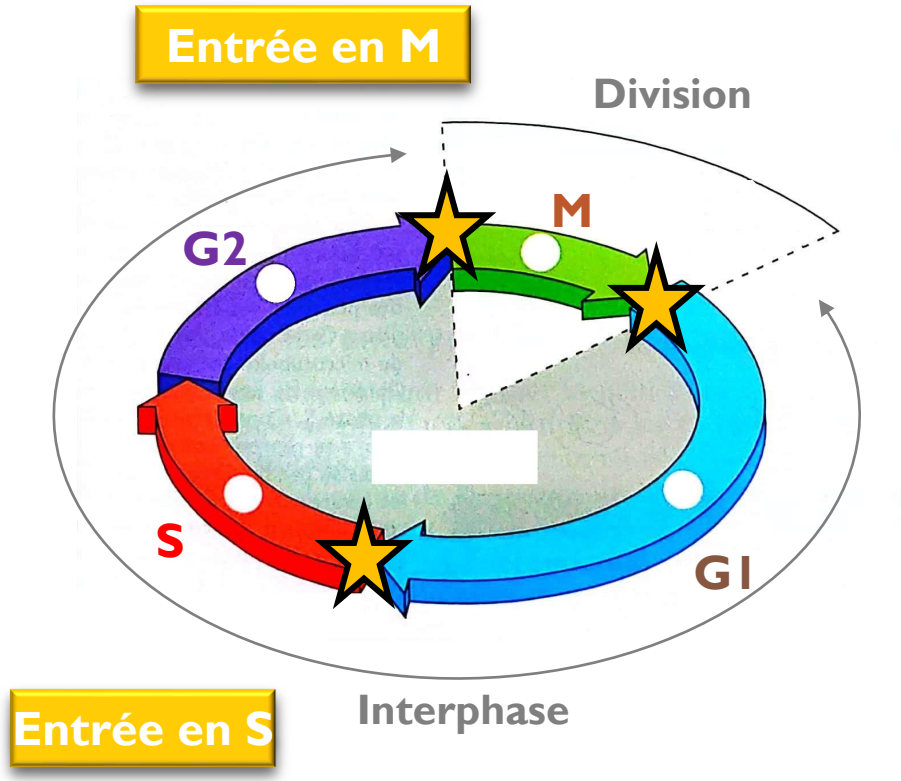


Fusion d'une cellule en phase S et d'une cellule en phase G2 (après la réplication)

Le facteur contenu dans le cytoplasme de la cellule en phase S n'agit pas sur les fibres chromatiniennes déjà répliquées : ce facteur n'est pas actif sur des cellules ayant déjà répliqué leur ADN. Il existe donc un mécanisme qui bloque toute nouvelle réplication tant que la mitose n'a pas eu lieu.

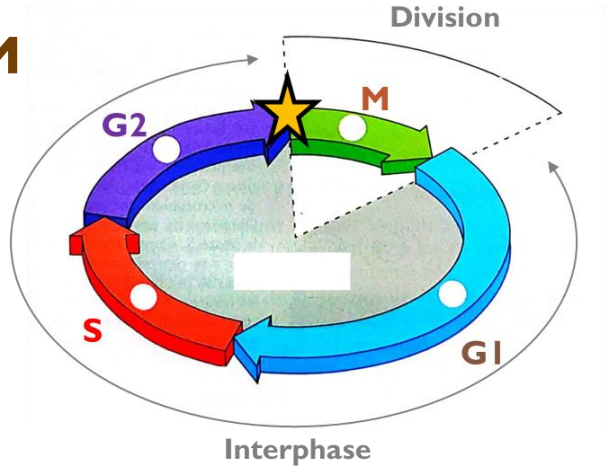
https://planet-vie.ens.fr/thematiques/cellules-et-molecules/cycle-cellulaire/la-regulation-du-cycle-cellulaire

BILAN: DEUX POINTS DE CONTRÔLE IMPORTANTS



G. L'EXISTENCE DE POINTS DE CONTRÔLE DU CYCLE CELLULAIRE

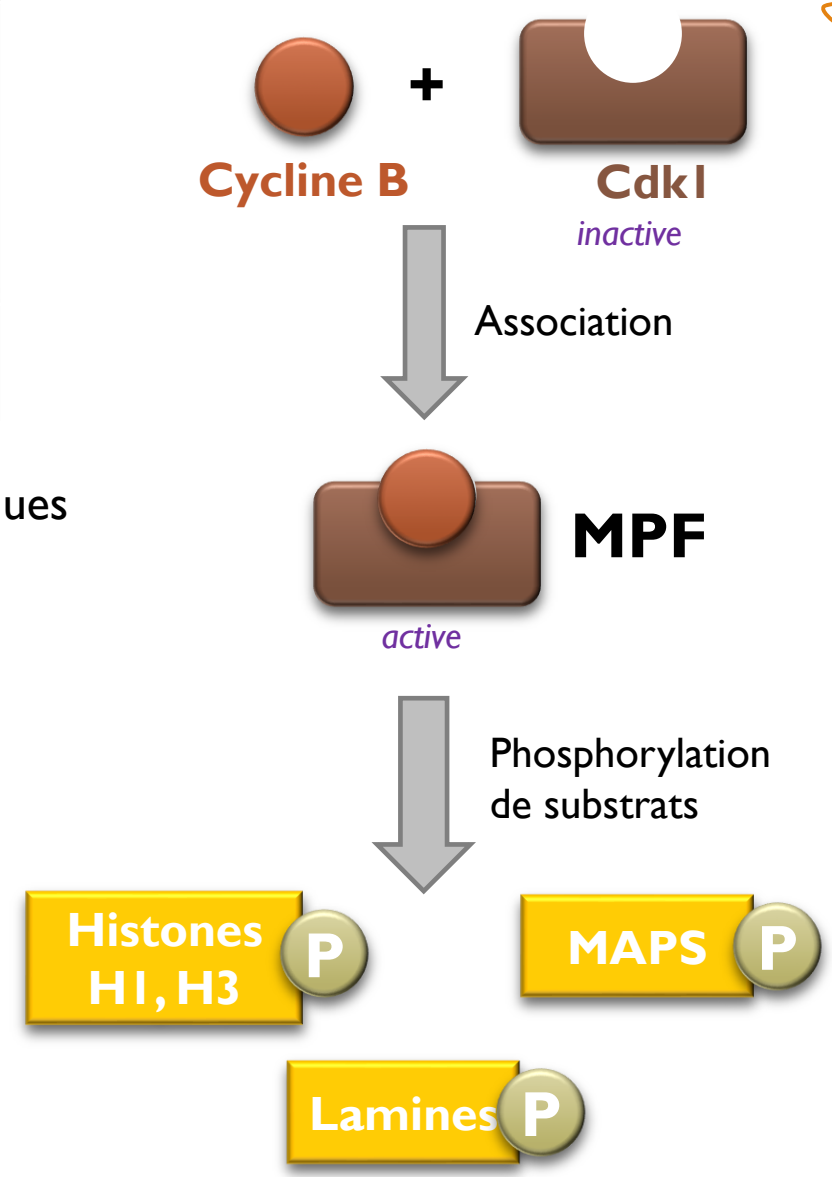
3. Le point de contrôle G2/M



- **Cycle cellulaire** sous **contrôle** de différents **complexes** protéiques constitués de la même manière :
  - une **cycline** de [C] variable au cours du cycle cellulaire
  - une **Cdk**, Cyclin-dependant kinase

- **Entrée en mitose** sous dépendance du **MPF** (Maturation Promoting Factor) constitué du complexe **Cycline B/Cdk1.**

- Le **MPF activé phosphoryle** de nombreux **substrats** :
  - Les **histones H1 et H3** → condensation de l'ADN ;
  - Les **lamines nucléaires** → désagrégation du noyau
  - Des **MAPS** → assemblage du fuseau mitotique.



G. L'EXISTENCE DE POINTS DE CONTRÔLE DU CYCLE CELLULAIRE

3. Le point de contrôle G2/M

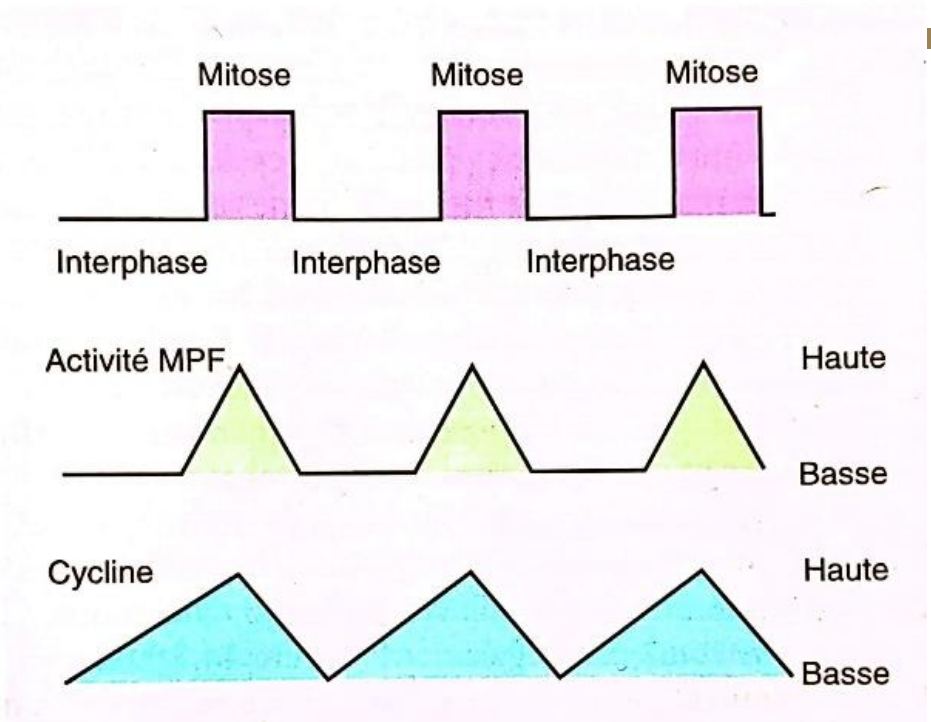
- Evolution de l'activité de certains facteurs au cours des divisions synchrones de l'embryon de xénope.
  - En rose : alternance de mitose et interphase des cellules.
  - En vert : mesure de l'activité du MPF
  - En bleu : concentrations en cycline.

- Le MPF a une **activité cyclique** avec un pic pendant la mitose, une activité basse et constante en interphase

- **Concentration** en cycline **cyclique** : elle augmente progressivement en interphase, atteint un maximum pendant la mitose puis diminue jusqu'en fin de mitose

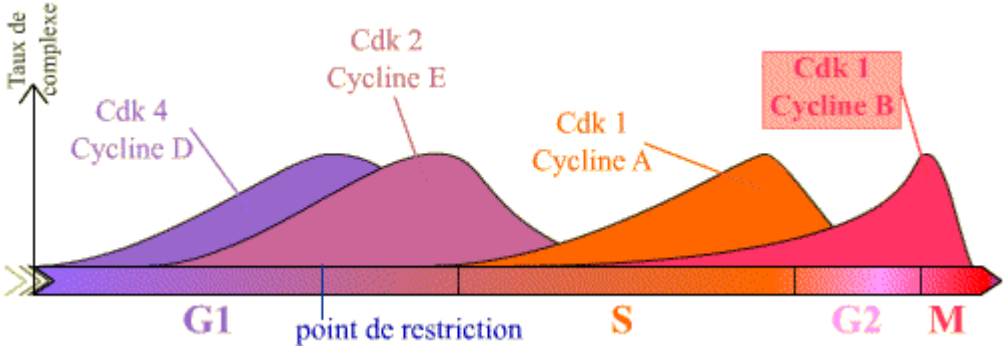
- Or le MPF est constitué en partie de cycline

L'activité du MPF serait liée à son association à la cycline; elle apparaitrait au-dessus d'un certain seuil de [cycline]



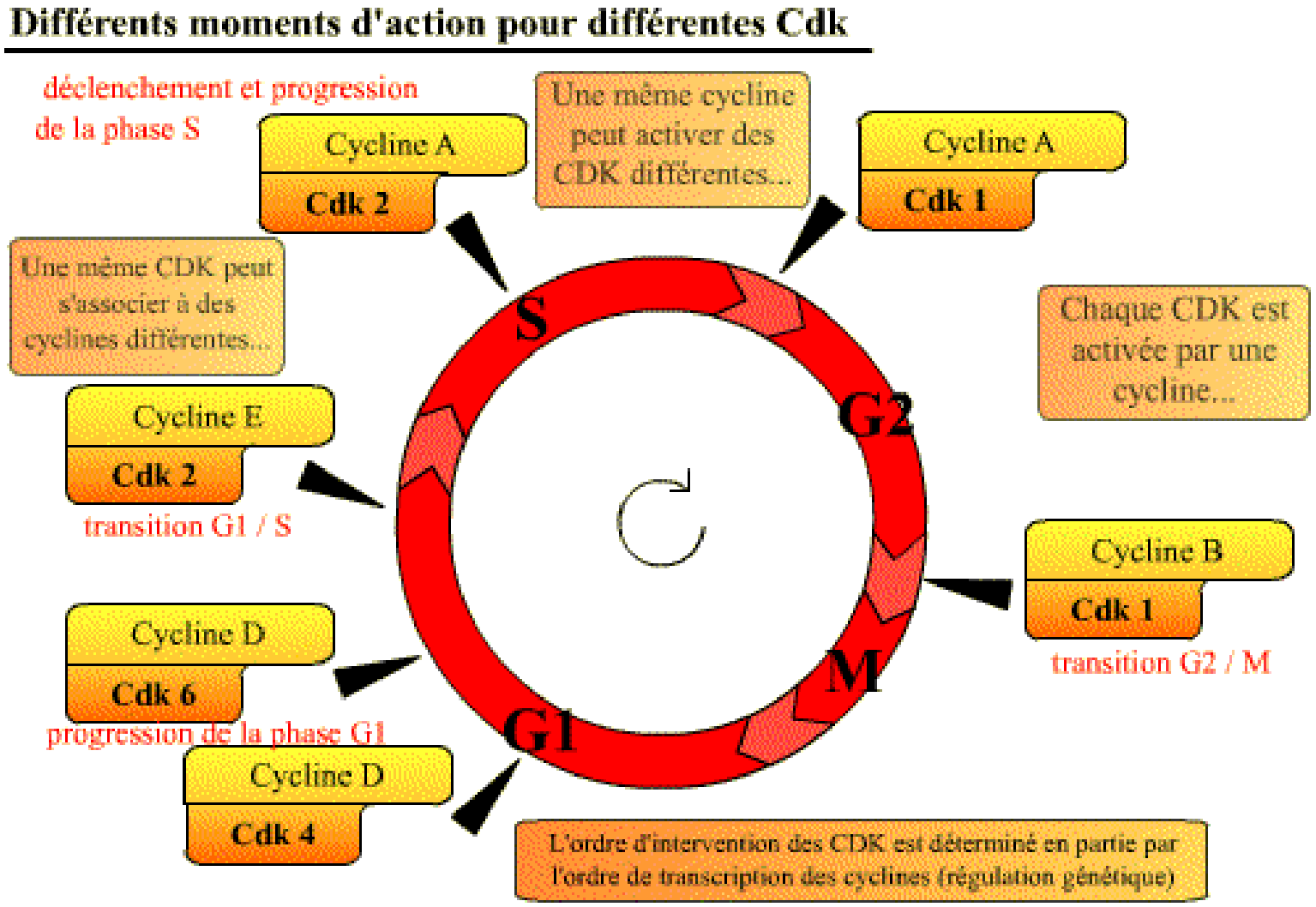
Karp G. Biologie cellulaire et moléculaire 2e édition. De Boeck ; 2004

Le **MPF** (maturation promoting factor), est constitué de deux sous-unités :
- ✓ une sous-unité à activité de kinase
- ✓ une sous-unité appelée cycline.

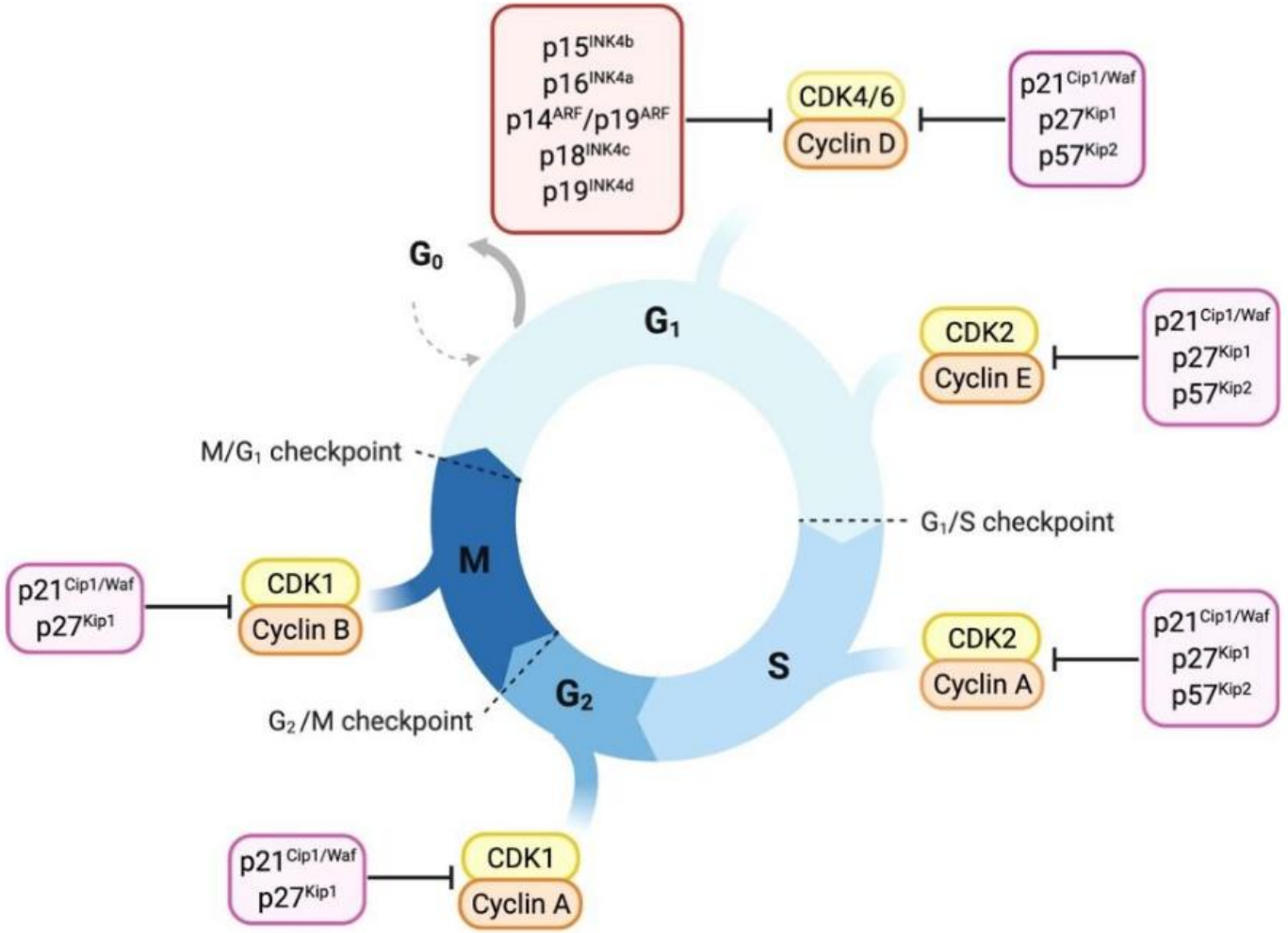


G. L'EXISTENCE DE POINTS DE CONTRÔLE DU CYCLE CELLULAIRE

3. Le point de contrôle G2/M



https://planet-vie.ens.fr/thematiques/cellules-et-molecules/cycle-cellulaire/la-regulation-du-cycle-cellulaire



G_0, G_1, G_2, S, M : phases du cycle cellulaire
CDK, cyclin, p15, p16… : protéines impliquées dans le contrôle du cycle cellulaire
checkpoint : point de contrôle ⊣ *Lien d'inhibition*

Vue générale du cycle cellulaire et des régulateurs des points de contrôle chez les eucaryotes
D'après Schirripa et al., Frontiers in Oncology, 2022.

G. L'EXISTENCE DE POINTS DE CONTRÔLE DU CYCLE CELLULAIRE

3. Le point de contrôle G2/M

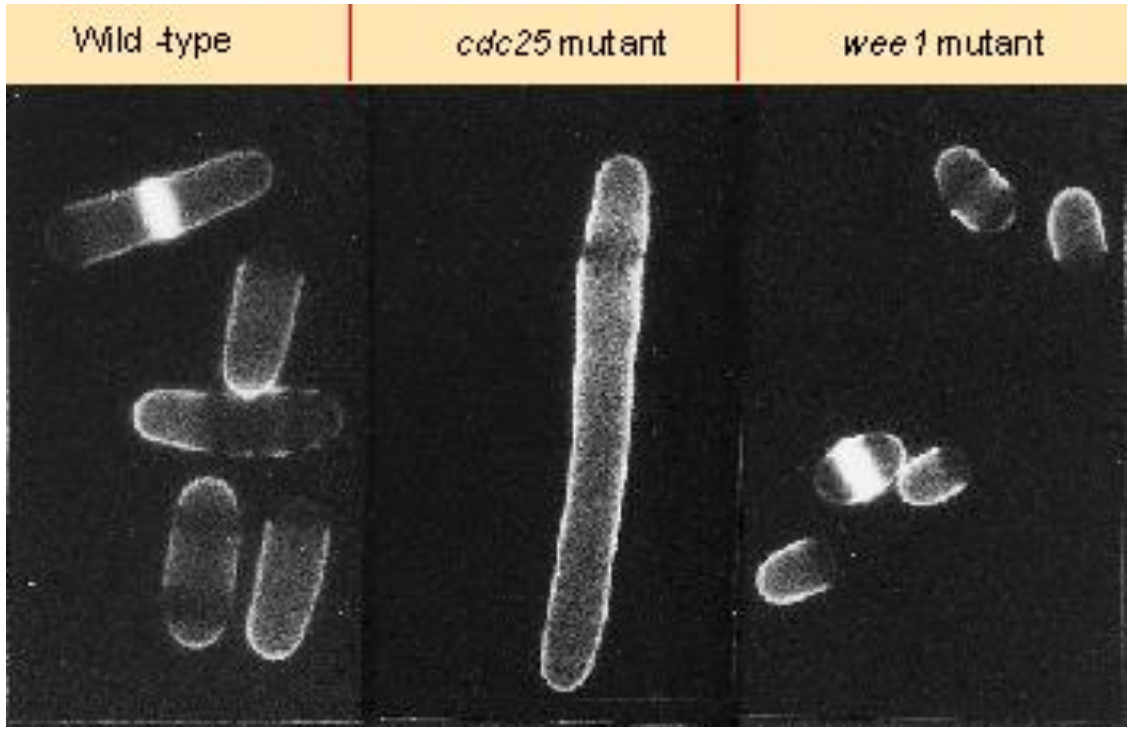
- **Expérience 1 :**

- De nombreuses expériences de mutations sur des levures ont permis d'identifier deux gènes cdc25 et wee1, susceptibles d'intervenir sur le point de contrôle G2/M.

- On suit le devenir de plusieurs populations de levures *Saccharomyces pombe* mutées ou non pour les gènes *cdc25* et *wee1*, puis on marque leur paroi de façon à déterminer leur taille et l'éventuelle présence de septum (paroi transversale se mettant en place lors de la scission en deux cellules filles).

CDC25 promeut l'entrée en mitose alors que WEE1 l'inhibe.
→ Ils jouent des rôles antagonistes

Document 1 : observation de levures S. pombe sauvages et mutantes pour cdc25 et wee1 (microscopie à fluorescence).



Cellules moyennes, avec septum
→ Mitose normale

Cellules allongées, sans septum
→ Mitose bloquée
→ **CDC25 promeut l'entrée en mitose**

Cellules courtes, avec septum
→ Mitose précoce
→ **WEE inhibe l'entrée en mitose**

G. L'EXISTENCE DE POINTS DE CONTRÔLE DU CYCLE CELLULAIRE

3. Le point de contrôle G2/M

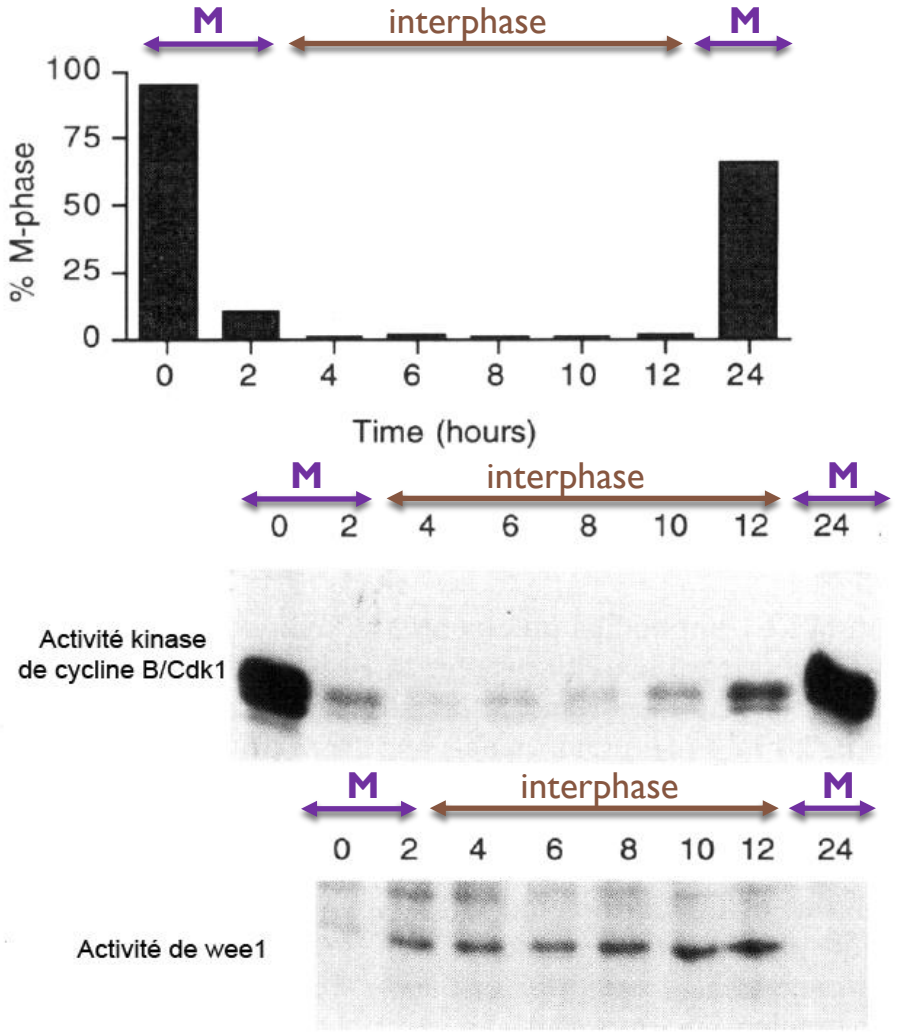
Expérience 2 :

Des cellules humaines de la lignée HeLa sont synchronisées en métaphase par incubation en présence de nocodazol, substance antimitotique dépolymérisant les microtubules.
Elles sont ensuite transférées sur un milieu sans nocodazol puis l'activité du complexe cycline B/Cdk1 et de la protéine wee1 est testée toutes les deux heures par détection de leur produit enzymatique par Western blot.

- Le complexe Cdk1/cycline B est actif pendant la mitose
- WEE1 est actif pendant l'interphase
- **Cdk1/cycline B et WEE1 ont une activité complémentaire dans le temps**
  - **Hypothèse** : ils joueraient des rôles antagonistes

Document 2 : mesure de l'activité de cycline B/Cdk1 et wee1 au cours d'un cycle cellulaire

% M-phase = proportion de cellules en phase M à l'instant donné



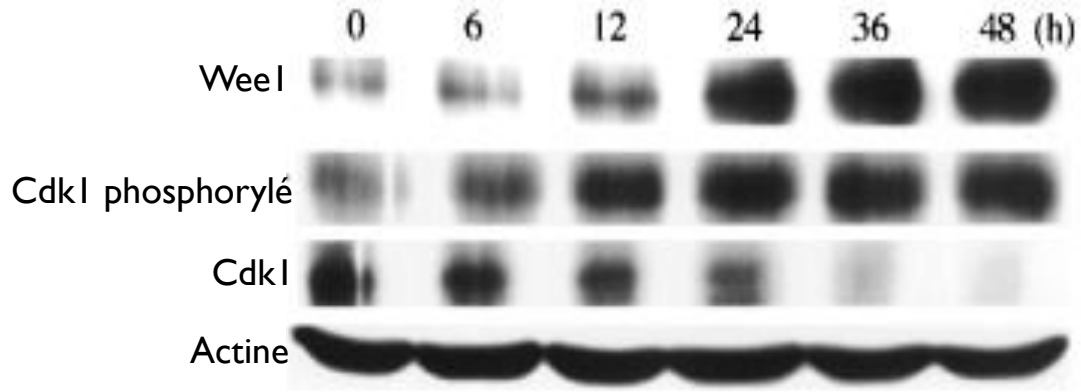
G. L'EXISTENCE DE POINTS DE CONTRÔLE DU CYCLE CELLULAIRE

3. Le point de contrôle G2/M

Expérience 3

L'application sur des kératinocytes de souris d'une forte dose en vitamine D3 diminue la prolifération cellulaire par blocage en phase G2.

On incube des kératinocytes en culture avec une forte dose de vitamine D3 puis on réalise à différents temps d'incubation un Western blot avec des anticorps anti-Wee1, anti-Cdk1 non phosphorylé et anti-Cdk1 phosphorylé.



Document 3 :Western blot de cultures de kératinocytes incubées en présence d'une forte dose de vitamine D3.

Au cours du temps dans des cellules bloquées en G2 :

- WEE1 s'accumule
- La quantité de Cdk1 non phosphorylé diminue
- La quantité de Cdk1-P augmente
  - **Cdk1 est de plus en plus phosphorylé au cours du temps**
  - **Il y a une corrélation entre l'accumulation de Cdk1-P et celle de WEE1**

Hypothèse :
WEE1 serait responsable de la phosphorylation de Cdk1

G. L'EXISTENCE DE POINTS DE CONTRÔLE DU CYCLE CELLULAIRE

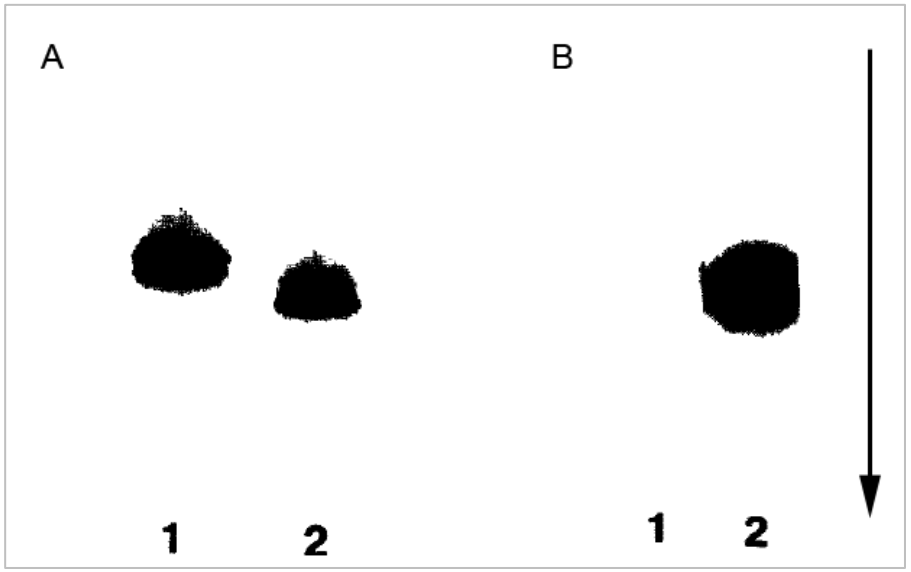
3. Le point de contrôle G2/M

Expérience 4 :

La protéine CDC25 est produite et purifiée à partir d'une souche bactérienne transgénique dans laquelle on a inséré le gène *cdc25*. Les études biochimiques de cette protéine montrent qu'il s'agit d'une phosphatase, enzyme capable de déphosphoryler son substrat.

On incube un extrait cytosolique de cellules humaines HeLa en présence de protéine CDC25 purifiée puis on réalise un Western Blot du produit d'incubation en présence d'un anticorps dirigé contre Cdk1 (protéine totale) et contre l'un des produits de phosphorylation de Cdk1 permettant d'évaluer l'activité de Cdk1.

Décrire et interpréter ces résultats
Réaliser un schéma bilan décrivant les rôles de Wee1 et Cdc25 dans la transition G2/M.



Document 4 : Western blot d'extraits cellulaires HeLa.

Le sens de migration est indiqué par une flèche.
A : anticorps dirigé contre Cdk1 total
•Puits 1, sans CDC25 ;
•Puits 2, en présence de CDC25.
B : anticorps dirigé contre un produit d'activité de Cdk1
•Puits 1, sans CDC25 ;
•Puits 2, en présence de CDC25.

G. L'EXISTENCE DE POINTS DE CONTRÔLE DU CYCLE CELLULAIRE

3. Le point de contrôle G2/M

Expérience 4 :

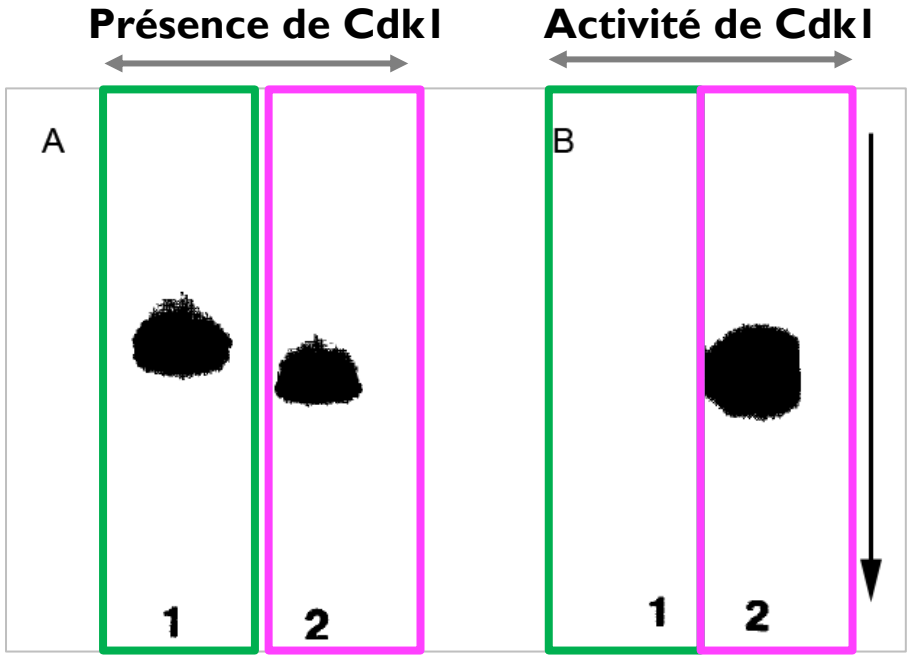
La protéine **CDC25** est produite et purifiée à partir d'une souche bactérienne transgénique dans laquelle on a inséré le gène *cdc25*. Les études biochimiques de cette protéine montrent qu'il s'agit d'une **phosphatase**, enzyme capable de déphosphoryler son substrat.

On incube un extrait cytosolique de cellules humaines HeLa en présence de protéine CDC25 purifiée puis on réalise un Western Blot du produit d'incubation en présence d'un anticorps dirigé contre Cdk1 (protéine totale) et contre l'un des produits de phosphorylation de Cdk1 permettant d'évaluer l'activité de Cdk1.

- En l'absence de CDC25, Cdk1 est présent mais inactif
- En présence de CDC25, Cdk1 est présent et actif
  - **CDC25 promeut l'activité de Cdk1**
  - **Hypothèse :** CDC25 déphosphoryle Cdk1, ce qui l'active

Document 4 :Western blot d'extraits cellulaires HeLa.

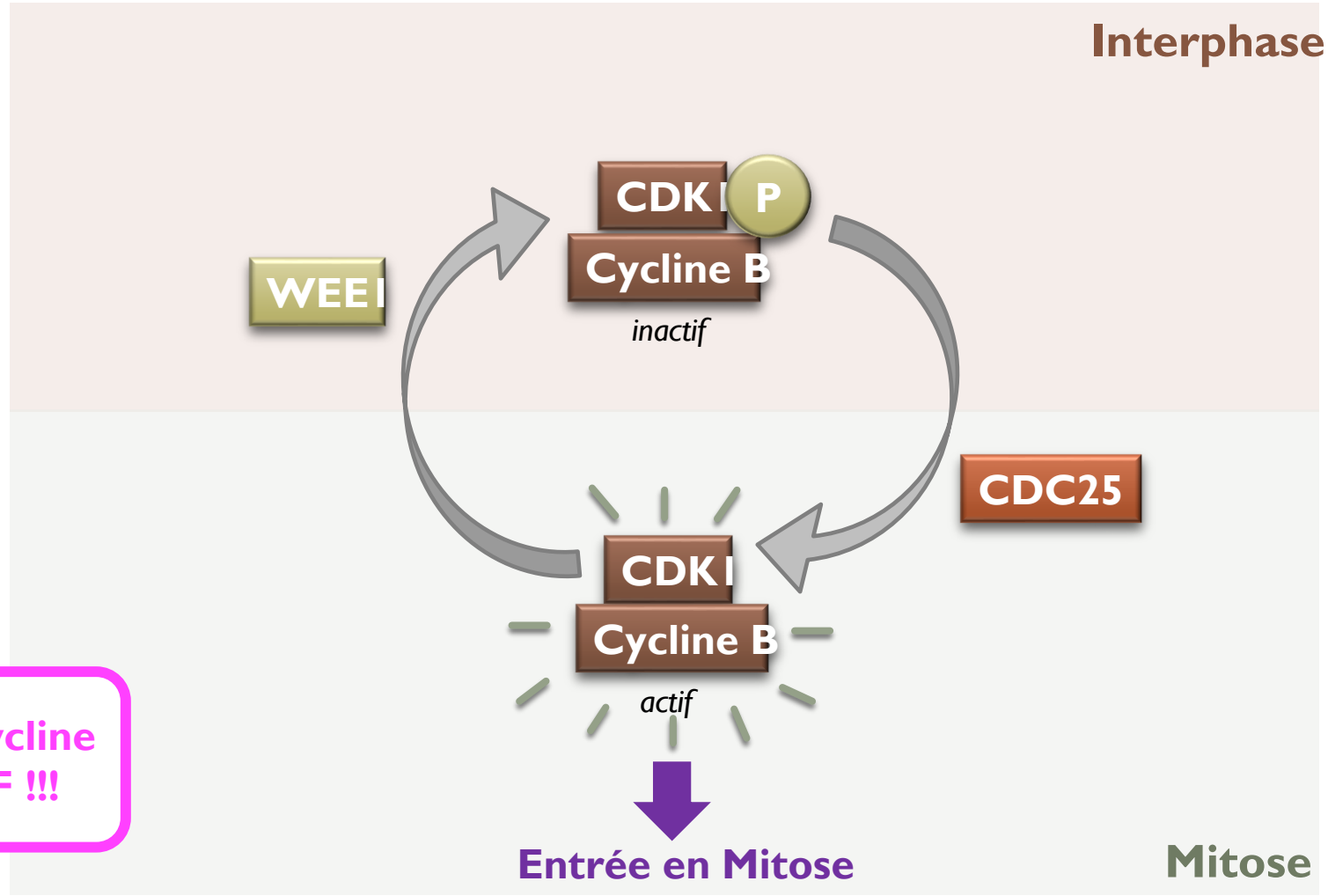
Le sens de migration est indiqué par une flèche.
A : anticorps dirigé contre Cdk1 total
•Puits 1, sans CDC25 ;
•Puits 2, en présence de CDC25.
B : anticorps dirigé contre un produit d'activité de Cdk1
•Puits 1, sans CDC25 ;
•Puits 2, en présence de CDC25.



- CDC25+ CDC25

G. L'EXISTENCE DE POINTS DE CONTRÔLE DU CYCLE CELLULAIRE

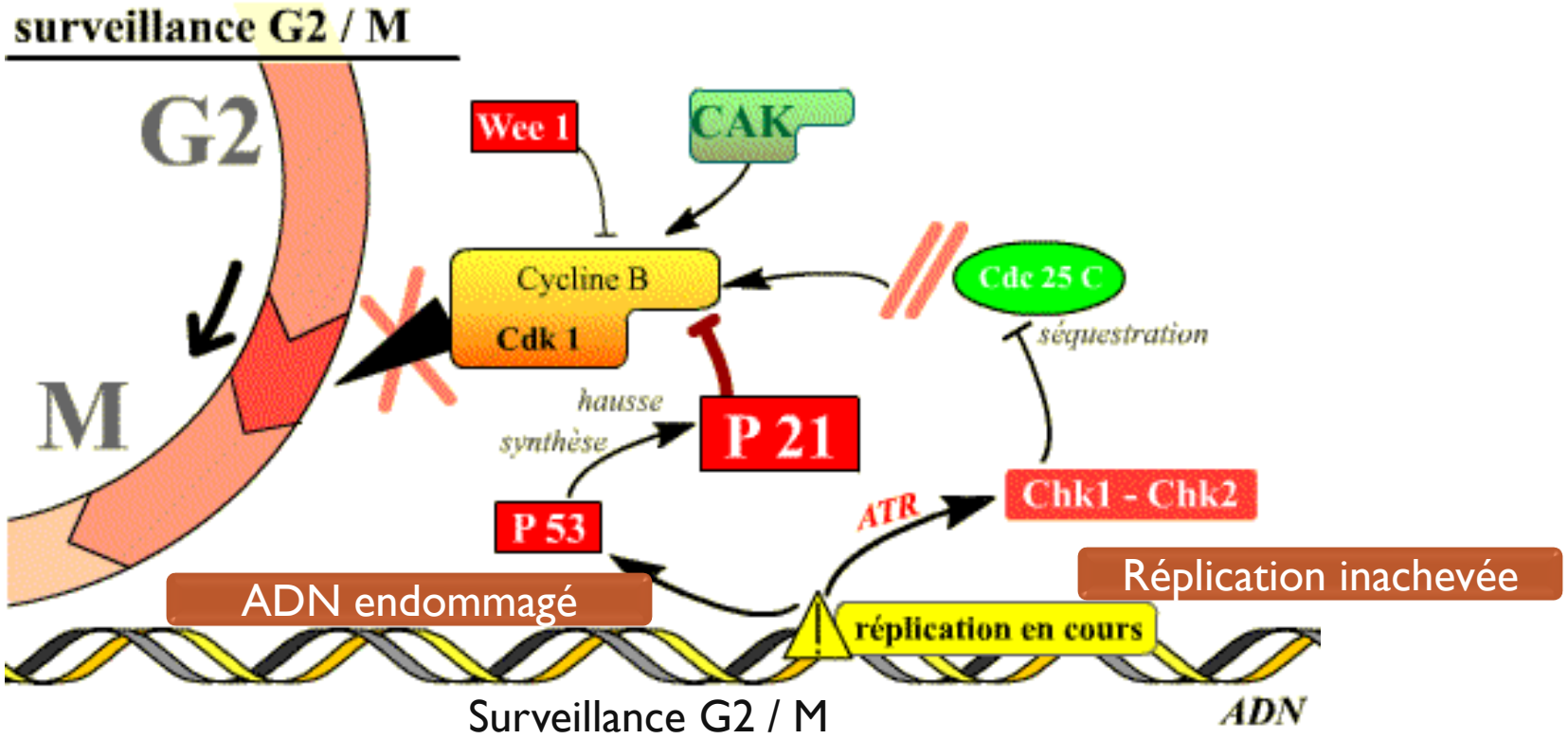
3. Le point de contrôle G2/M



Cdk1 + cycline B = MPF !!!

G. L'EXISTENCE DE POINTS DE CONTRÔLE DU CYCLE CELLULAIRE

3. Le point de contrôle G2/M



Surveillance G2 / M

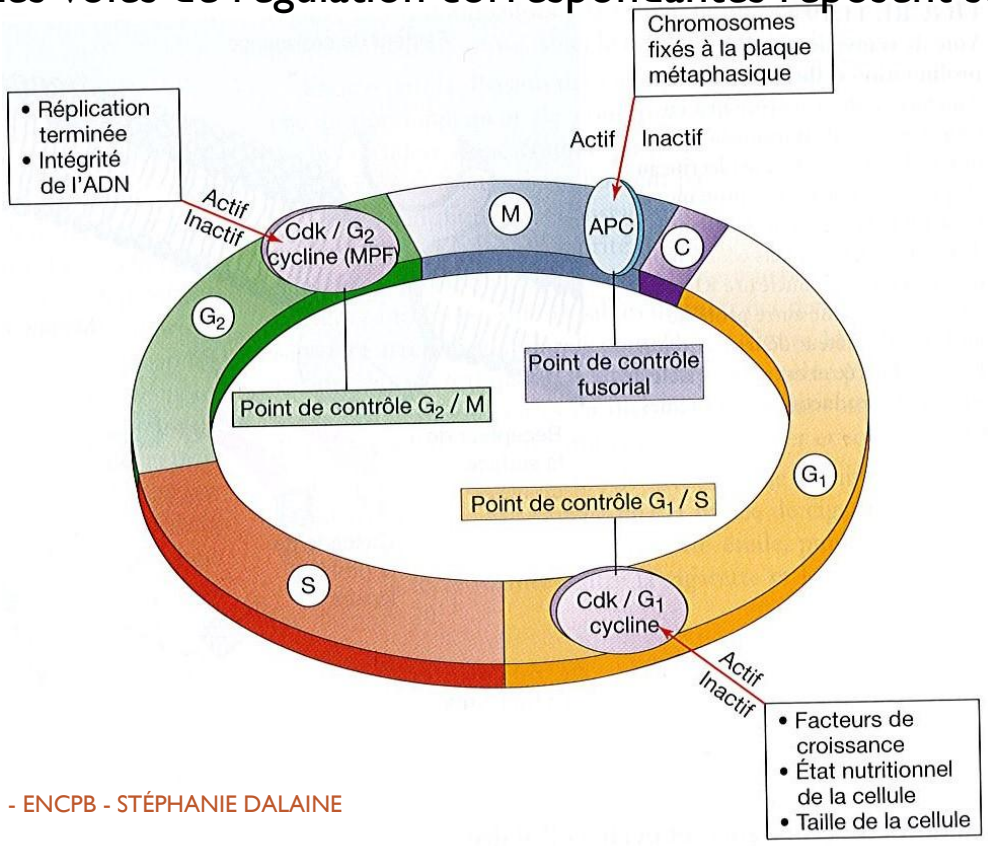
https://planet-vie.ens.fr/thematiques/cellules-et-molecules/cycle-cellulaire/la-regulation-du-cycle-cellulaire

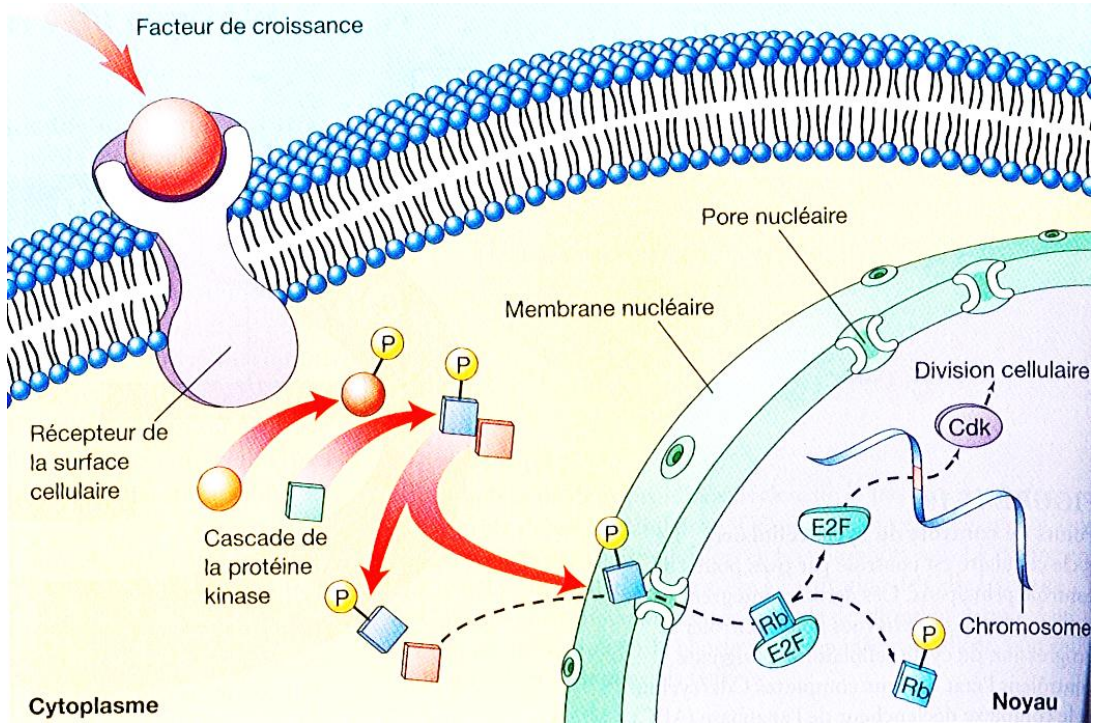
Si l'ADN est lésé, ou si la réplication n'est pas achevée, l'activation de plusieurs voies inhibitrices du complexe Cdk 1 / Cycline B permet d'empêcher l'entrée en mitose. Deux de ces voies sont illustrées ici.

G. L'EXISTENCE DE POINTS DE CONTRÔLE DU CYCLE CELLULAIRE

4. Bilan sur les points de contrôle

- Les différents points d'entrée du cycle cellulaire sont régulés par des couples **Cdk/cycline** à **activité cyclique,** du fait de la **production cyclique** de **cycline.**
- Chaque point de contrôle est associé à un **couple Cdk/cycline différent contrôlé** par d'autres agents (p53, p21, Wee1, Cdc25…).
- Les voies de régulation correspondantes reposent sur des **cascades de phosphorylation.**





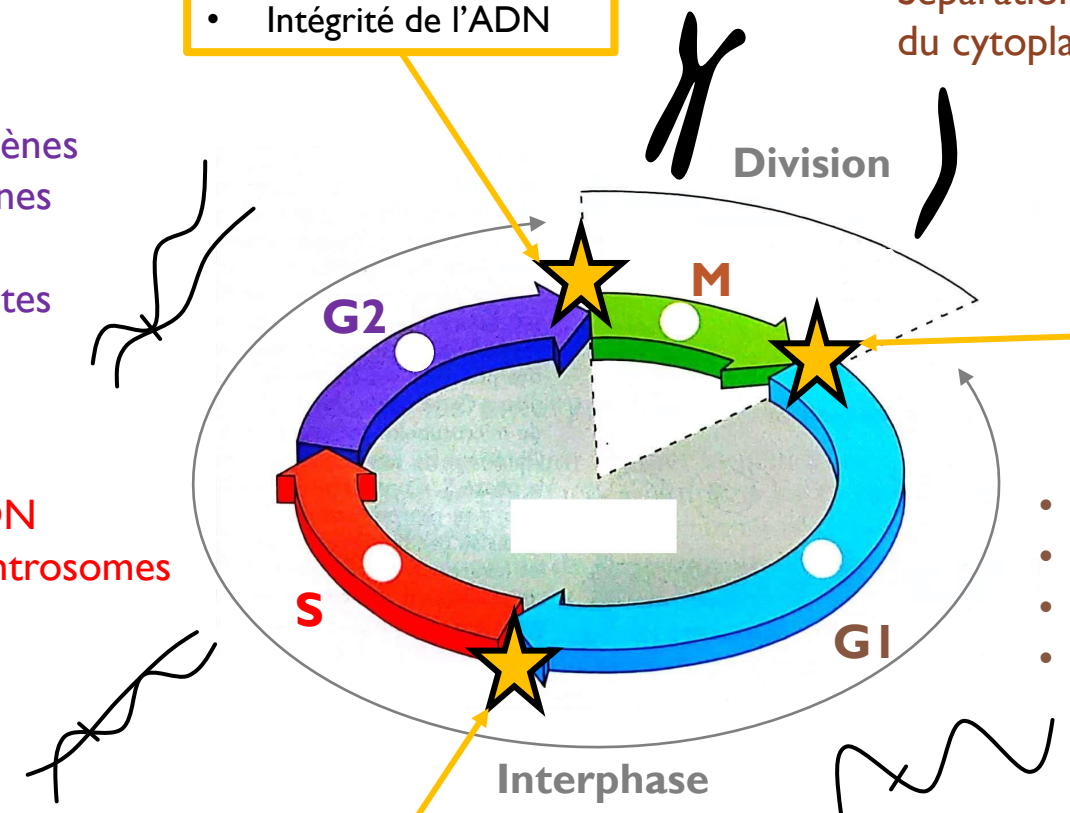
G. L'EXISTENCE DE POINTS DE CONTRÔLE DU CYCLE CELLULAIRE

4. Bilan sur les points de contrôle

Entrée en M
- Réplication terminée
- Intégrité de l'ADN

- Séparation équitable du matériel génétique
- Séparation +/- équitable du cytoplasme

- Transcription des gènes
- Synthèse de protéines
- Croissance
- Division des organites



Sortie de M
- Chromosomes fixés aux microtubules

- Réplication de l'ADN
- Duplication des centrosomes

- Transcription des gènes
- Synthèse de protéines
- Croissance
- Division des organites

Points de contrôle du cycle

Entrée en S
- Taille de la cellule
- Facteurs de croissance
- Etat nutritionnel de la cellule

SV-F-1-2 La transmission de l'information génétique au cours des divisions cellulaires chez les Eucaryotes

PLAN DU COURS

I. Le cycle cellulaire des Eucaryotes

A. Le rôle des divisions au sein du cycle cellulaire

B. La particularité des cellules souches

C. Les phases G1 et G2 du cycle cellulaire

D. La phase S, réplication de l'ADN

E. La phase M du cycle cellulaire

F. La quantité d'ADN au cours du cycle

G. L'existence de points de contrôle du cycle cellulaire

II. Les mécanismes moléculaires de la réplication, une reproduction plus ou moins conforme

A. La réplication de l'ADN, un processus semi-conservatif

B. L'observation d'œil de réplication chez les eucaryotes et les procaryotes

C. Les étapes de la réplication

D. Les erreurs de copies et les mécanismes de corrections

E. Le principe de la PCR et ses applications

III. La mitose et la méiose: des divisions conduisant à une répartition de l'information génétique

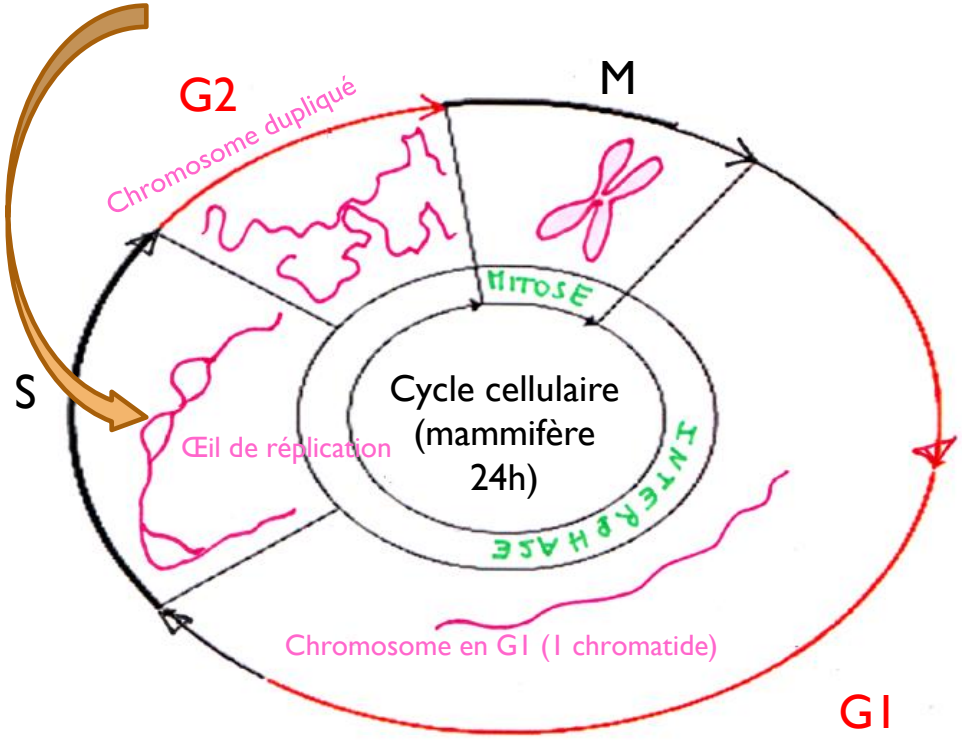
A. Les différentes étapes de la mitose et de la méiose

B. Le rôle du cytosquelette dans la division cellulaire

INTRODUCTION

Toute division cellulaire est précédée d'une réplication, étape durant laquelle le génome est dupliqué à l'identique.
Attention, étude limitée ici aux **Eubactéries**.

Réplication : n.f. ensemble des processus de synthèse de l'ADN à partir d'une matrice d'ADN préexistante.



Comment l'ADN est-il répliqué à l'identique ?

II. LES MÉCANISMES MOLÉCULAIRES DE LA RÉPLICATION, UNE REPRODUCTION PLUS OU MOINS CONFORME

A. LA RÉPLICATION, UN PROCESSUS SEMI-CONSERVATIF

1. Différents modèles

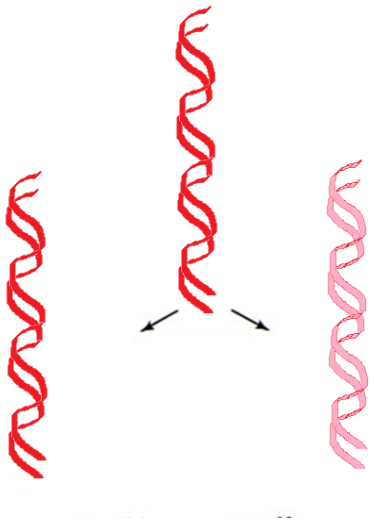
modèle conservatif	modèle semi-conservatif	modèle dispersif
La double hélice parentale reste intacte et une deuxième copie entièrement nouvelle est créée.	Les deux brins de la double hélice parentale se séparent et chacun d'eux sert de modèle pour la synthèse d'un nouveau brin complémentaire.	Chaque brin des deux nouvelles molécules d'ADN contiendrait un mélange de parties de l'ADN père et de parties nouvellement synthétisées.

II. LES MÉCANISMES MOLÉCULAIRES DE LA RÉPLICATION, UNE REPRODUCTION PLUS OU MOINS CONFORME

A. LA RÉPLICATION, UN PROCESSUS SEMI-CONSERVATIF

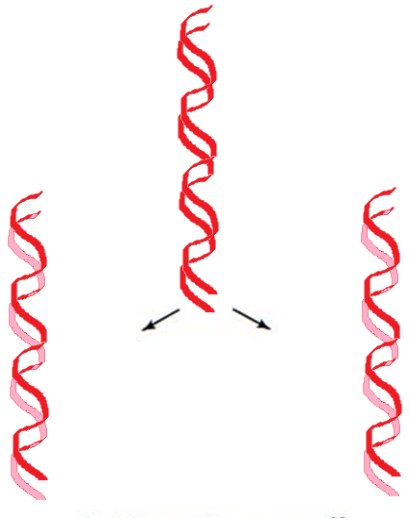
1. Différents modèles

modèle conservatif



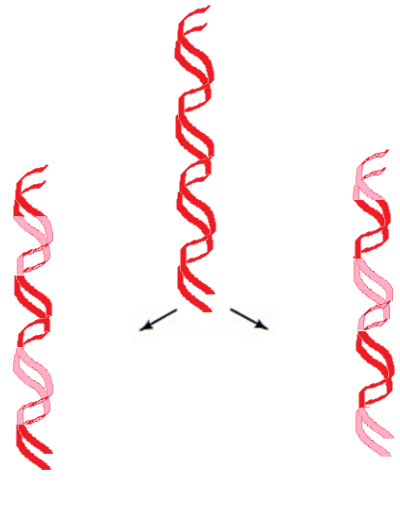
La double hélice parentale reste intacte et une copie entièrement nouvelle est créée.

modèle semi-conservatif



Les deux brins de la double hélice parentale se séparent et chacun d'eux sert de modèle pour la synthèse d'un nouveau brin complémentaire.

modèle dispersif



Chaque brin des deux nouvelles molécules d'ADN contiendrait un mélange de parties de l'ADN père et de parties nouvellement synthétisées.

A. LA RÉPLICATION, UN PROCESSUS SEMI-CONSERVATIF

2. La confirmation expérimentale de Meselson et Stahl (1958)

Matthew Meselson (1930-)
Franklin Stahl (1929-)
Généticiens

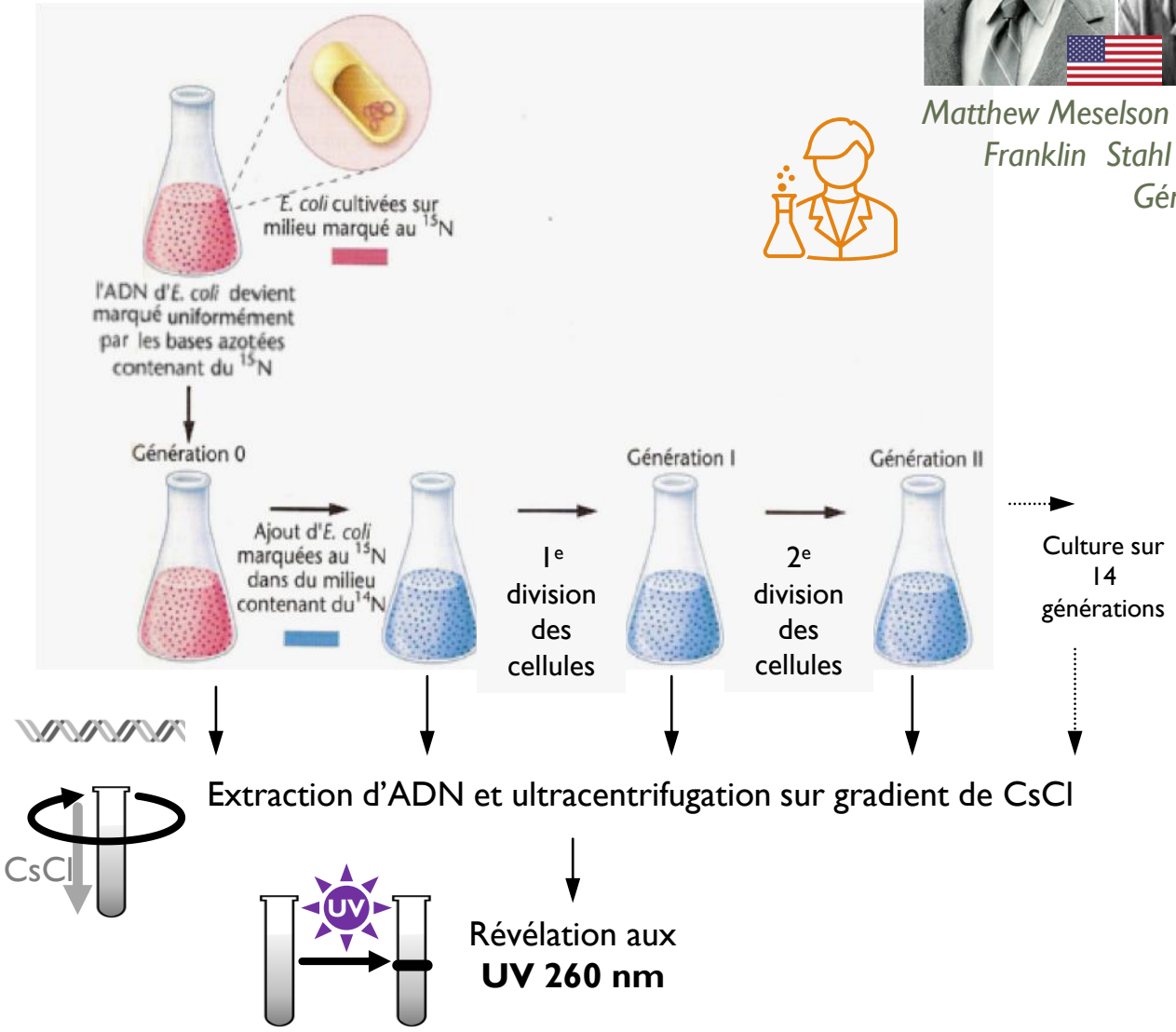
Protocole

- **Objectif** : déterminer lequel des modèles de réplication est correct
- **Modèle** : *E. coli*
- **Méthode** : Meselson & Stahl combinent plusieurs techniques nouvelles …

  1) La **culture** de bactéries sur milieu contenant de **l'azote lourd** ^{15}N ou léger ^{14}N

  + Synchronisation des divisions des bactéries

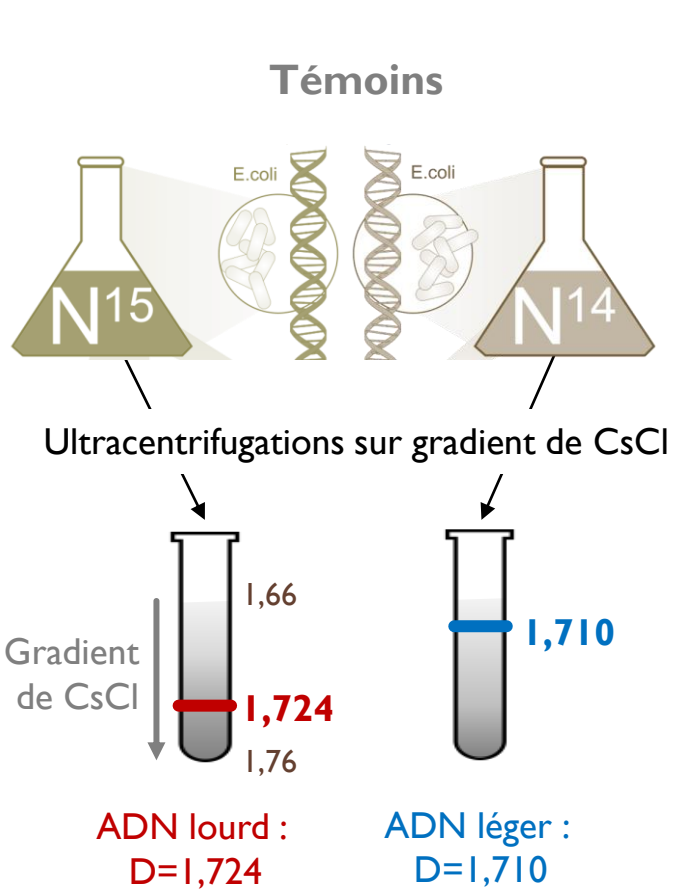
  2) Ultracentrifugation de l'ADN sur **gradient de densité** de chlorure de césium (CsCl)

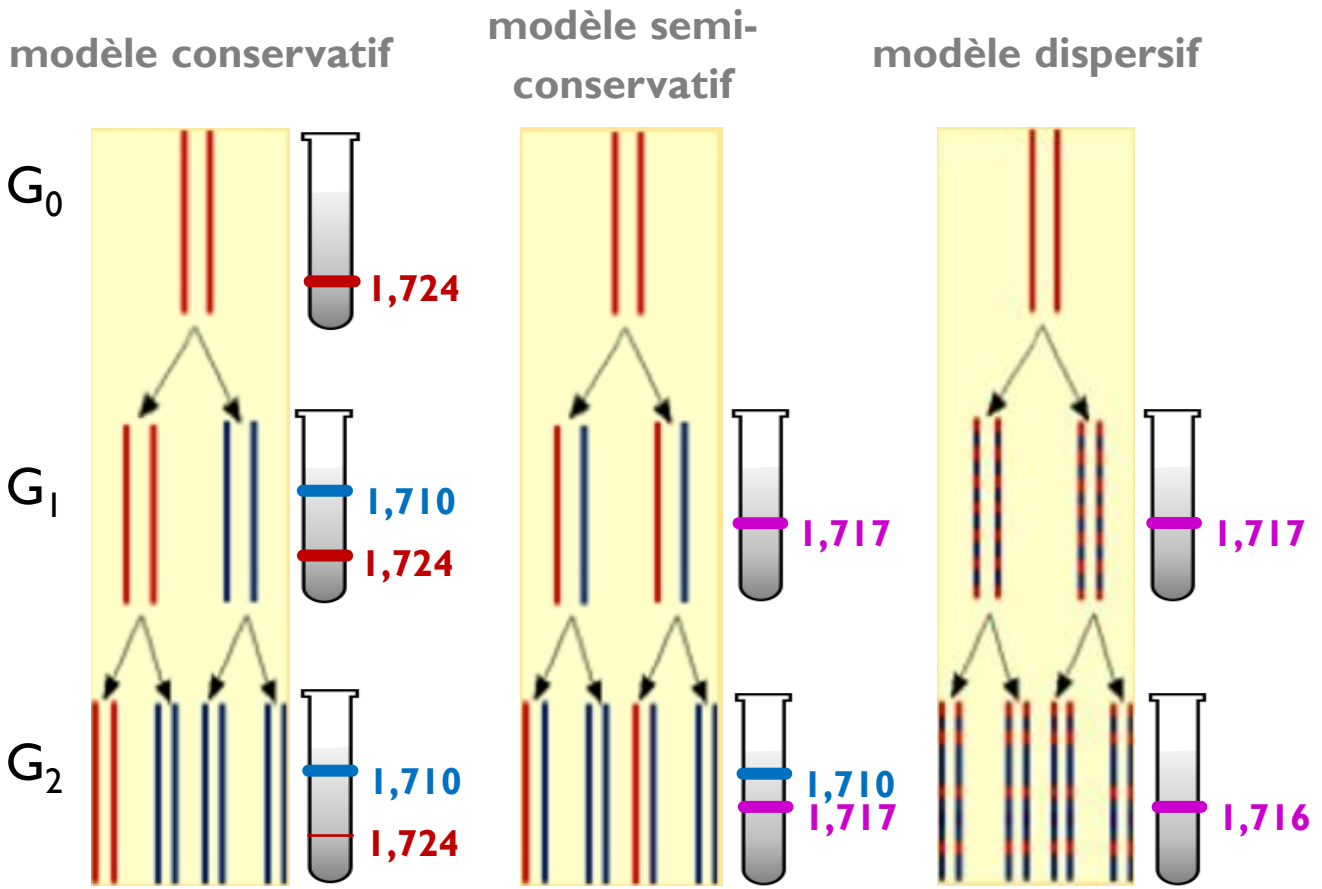


A. LA RÉPLICATION, UN PROCESSUS SEMI-CONSERVATIF

2. La confirmation expérimentale de Meselson et Stahl (1958)

Résultats attendus



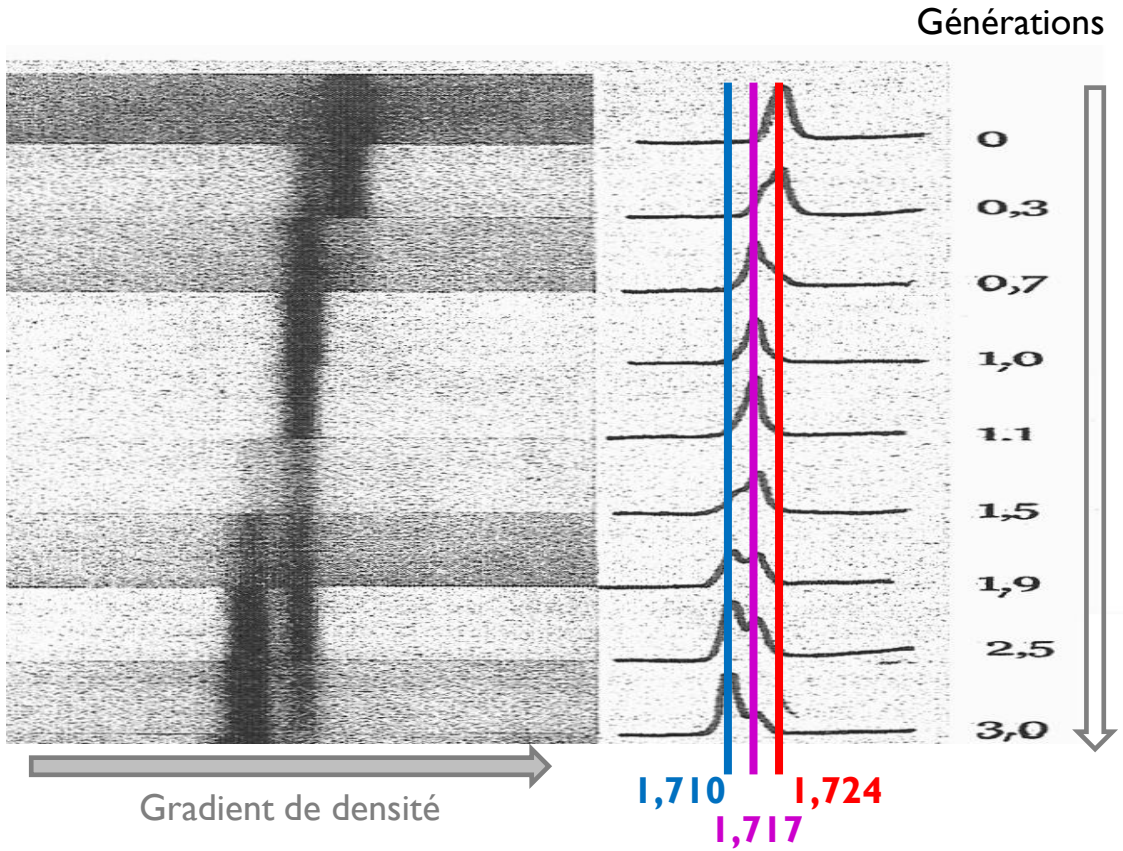


A. LA RÉPLICATION, UN PROCESSUS SEMI-CONSERVATIF

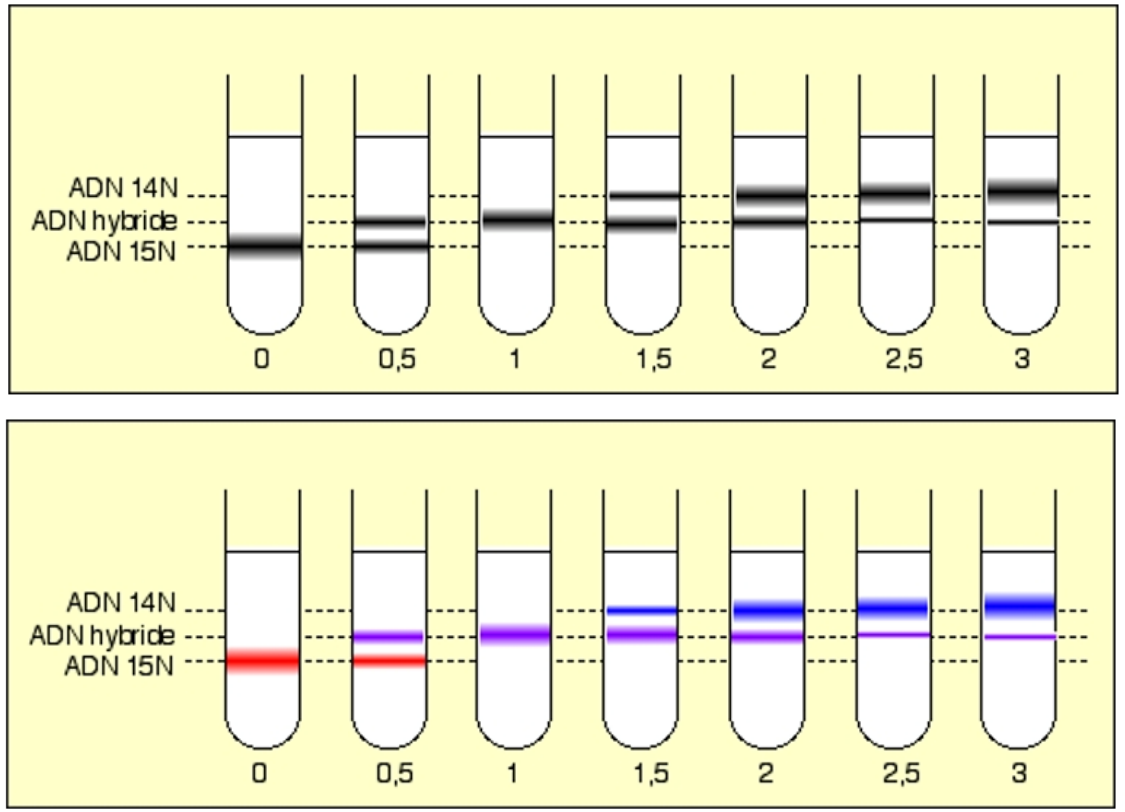
2. La confirmation expérimentale de Meselson et Stahl (1958)

Résultats obtenus

Révélation aux UV de l'expérience de Meselson & Stahl et mesure du profil densitométrique (absorbance à 260 nm)



Schématisation des résultats

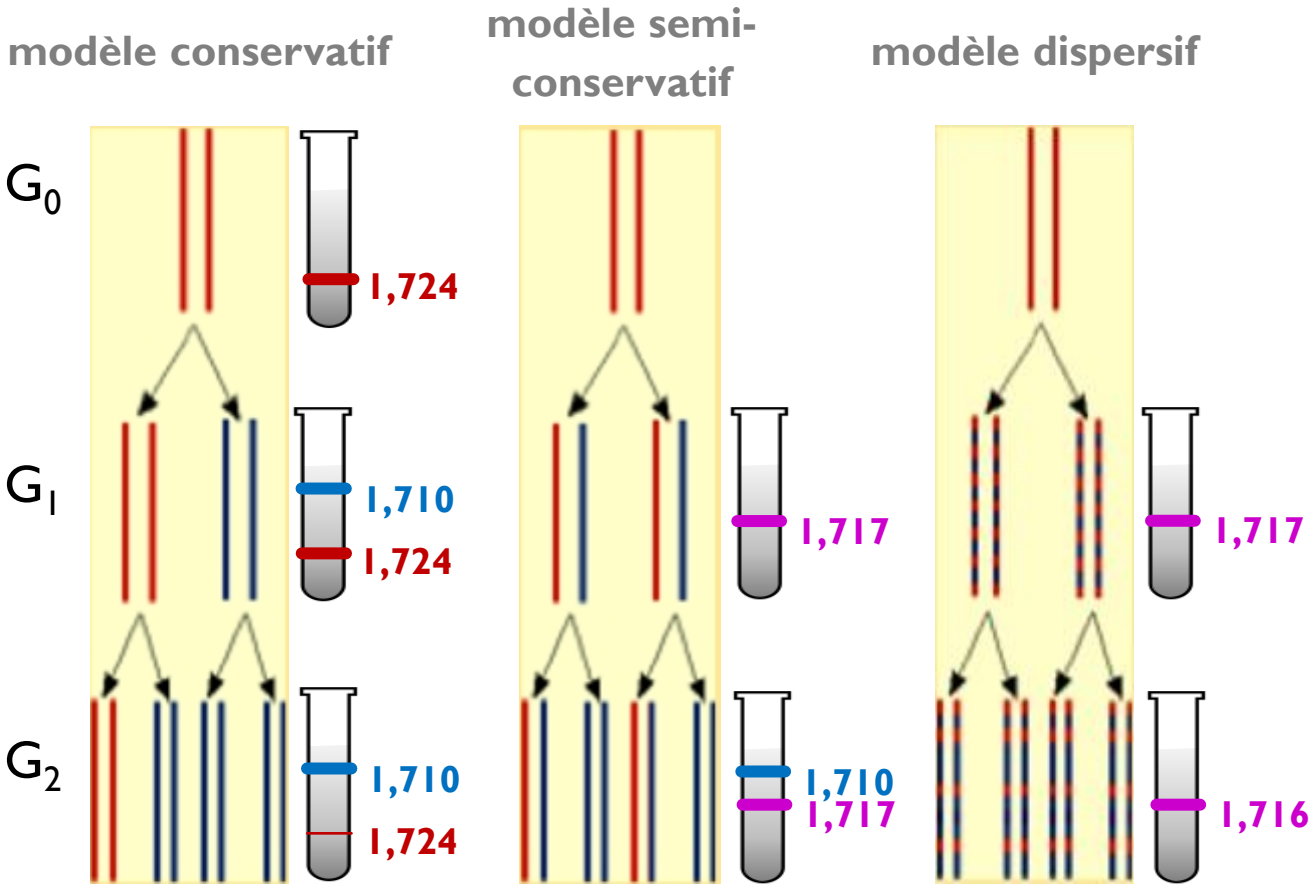


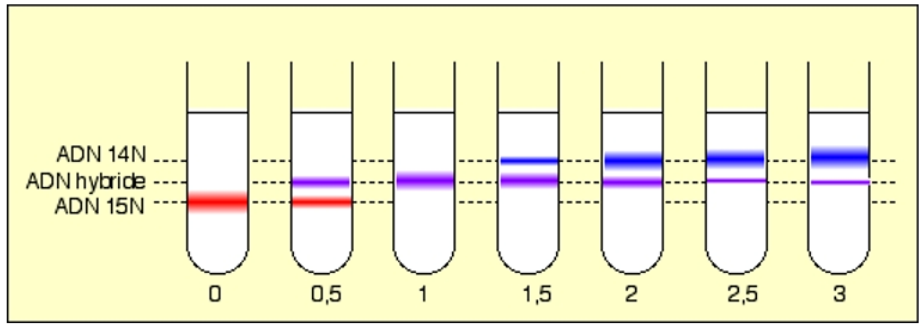
A. LA RÉPLICATION, UN PROCESSUS SEMI-CONSERVATIF

2. La confirmation expérimentale de Meselson et Stahl (1958)

La division bactérienne

3. Résultats obtenus





→ Le modèle semi-conservatif est validé chez les eubactéries

A. LA RÉPLICATION, UN PROCESSUS SEMI-CONSERVATIF

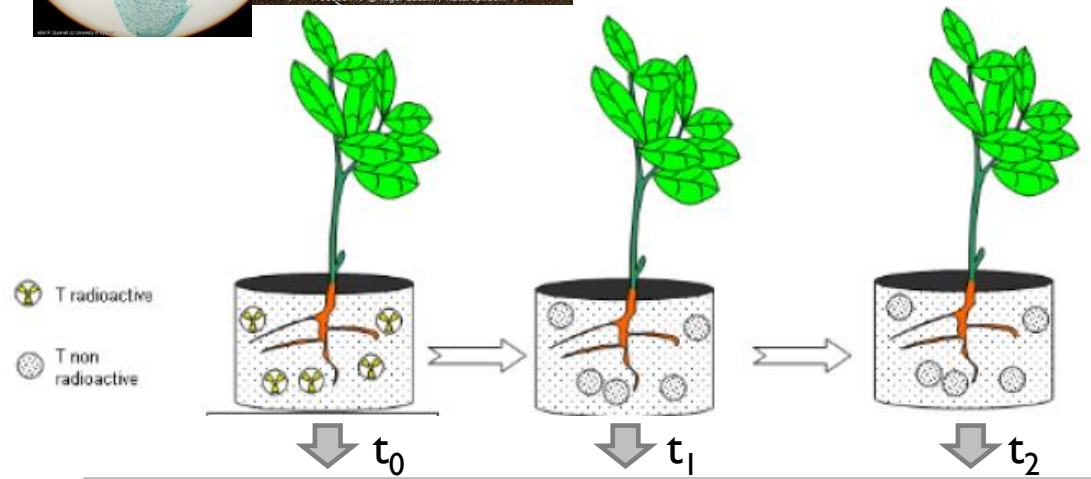
James Taylor (1916-1998)

4. Mise en évidence du semi-conservatisme de la réplication dans des cellules végétales (Taylor en 1957)

Expérience de Taylor (coll. Woods & Hughes)

- **Objectif :** démontrer que la réplication est semi-conservative chez les **eucaryotes**

- **Principe :**
  - Plantules de fève (*Vicia faba*) placées dans une solution de thymidine radioactive → La thymidine pénètre dans les racines dont les cellules se divisent activement et est incorporée à l'ADN en cours de synthèse
  - Transfert sur milieu non radioactif
  - Blocage à la colchicine à intervalle de temps = 1 division cellulaire
  - Observation par autoradiographie



Blocage à la **colchicine**
Observation des chromosomes métaphasique par autoradiographie

A. LA RÉPLICATION, UN PROCESSUS SEMI-CONSERVATIF

4. Mise en évidence du semi-conservatisme de la réplication dans des cellules végétales (Taylor en 1957)

Résultats

Pourcentage de chromatides marquées

100%

t1 : Première métaphase de mitose

50%

t2 : Deuxième métaphase de mitose

25%

t3 : Troisième métaphase de mitose

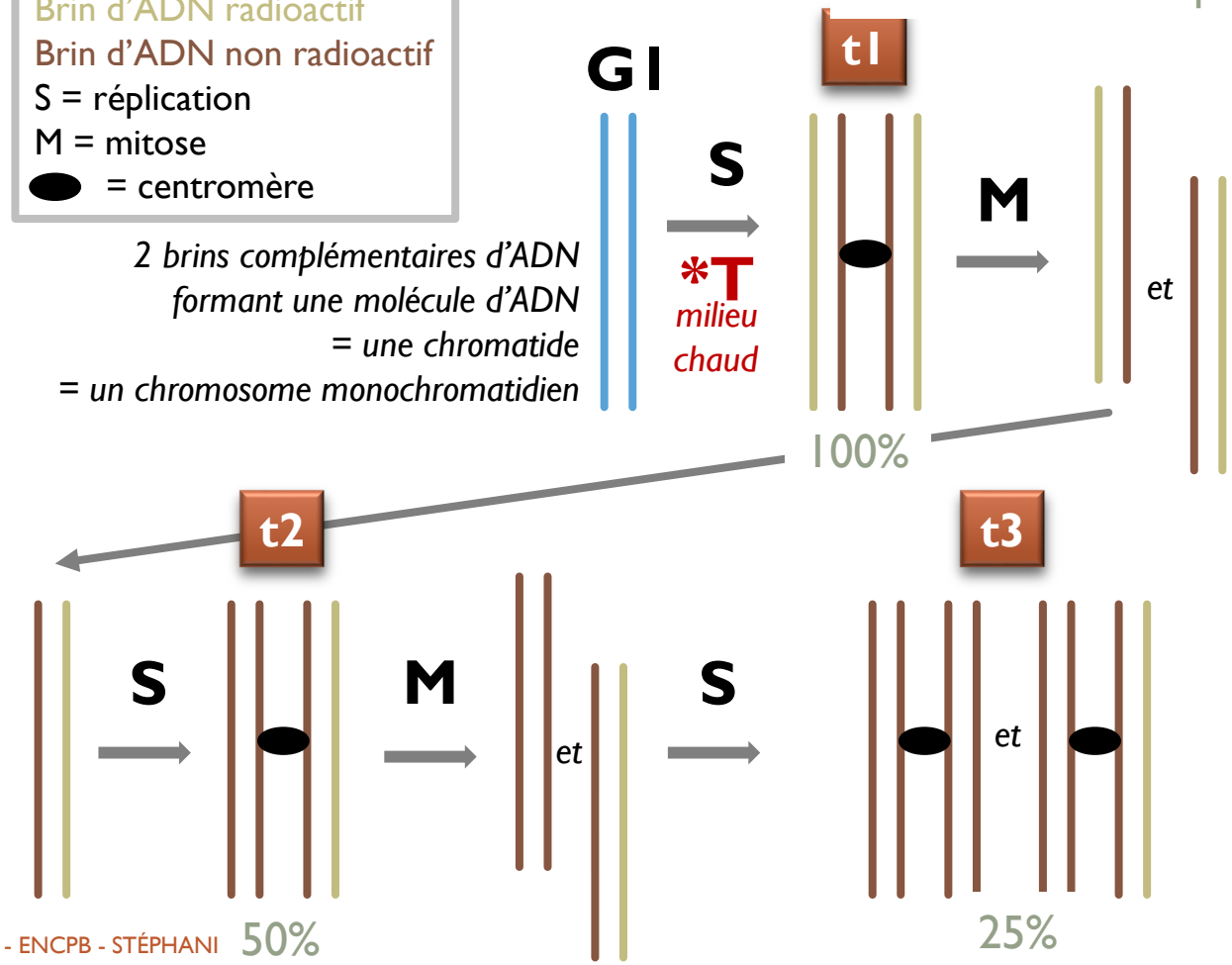
A. LA RÉPLICATION, UN PROCESSUS SEMI-CONSERVATIF

4. Mise en évidence du semi-conservatisme de la réplication dans des cellules végétales (Taylor en 1957)

Résultats

Brin d'ADN radioactif
Brin d'ADN non radioactif
S = réplication
M = mitose
● = centromère

2 brins complémentaires d'ADN formant une molécule d'ADN = une chromatide = un chromosome monochromatidien



t1 : Première métaphase de mitose

t2 : Deuxième métaphase de mitose

t3 : Troisième métaphase de mitose

A. LA RÉPLICATION, UN PROCESSUS SEMI-CONSERVATIF

4. Mise en évidence du semi-conservatisme de la réplication dans des cellules végétales (Taylor en 1957)

Expérience de Taylor (coll. Woods & Hughes)

- **Résultats :**
  - Juste après marquage → tous les chromosomes marqués, sur 2 chromatides
  - Après 1 division : tous les chromosomes marqués mais sur 1 seule chromatide
  - Après 2 divisions : 50% des chromosomes marqués sur 1 seule chromatide

⇨ Résultats en accord avec le modèle semi-conservatif

→ Le modèle semi-conservatif est validé chez les Eucaryotes

Mécanismes moléculaires de la réplication ?

t1 : Première métaphase de mitose

t2 : Deuxième métaphase de mitose

t3 : Troisième métaphase de mitose

SV-F-1-2 La transmission de l'information génétique au cours des divisions cellulaires chez les Eucaryotes

PLAN DU COURS

I. Le cycle cellulaire des Eucaryotes

A. Le rôle des divisions au sein du cycle cellulaire

B. La particularité des cellules souches

C. Les phases G1 et G2 du cycle cellulaire

D. La phase S, réplication de l'ADN

E. La phase M du cycle cellulaire

F. La quantité d'ADN au cours du cycle

G. L'existence de points de contrôle du cycle cellulaire

II. Les mécanismes moléculaires de la réplication, une reproduction plus ou moins conforme

A. La réplication de l'ADN, un processus semi-conservatif

B. L'observation d'œil de réplication chez les eucaryotes et les procaryotes

C. Les étapes de la réplication

D. Les erreurs de copies et les mécanismes de corrections

E. Le principe de la PCR et ses applications

III. La mitose et la méiose: des divisions conduisant à une répartition de l'information génétique

A. Les différentes étapes de la mitose et de la méiose

B. Le rôle du cytosquelette dans la division cellulaire

B. L'OBSERVATION D'ŒIL DE REPLICATION CHEZ LES EUCARYOTES ET AUSSI CHEZ LES BACTERIES

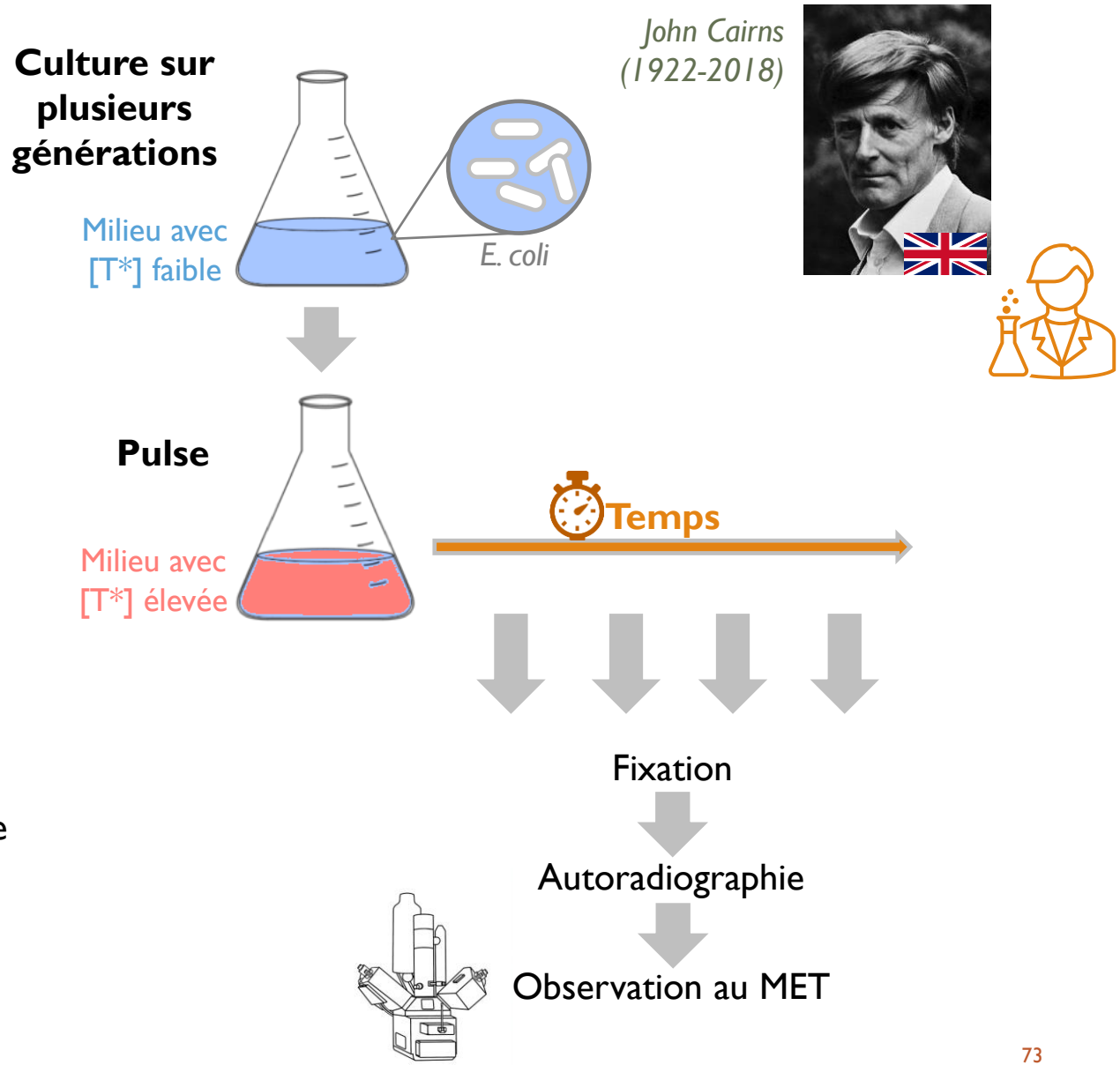
Travaux de Cairns (1963) - principe

- Selon le modèle semi conservatif, chaque brin d'ADN sert de **matrice** pour former un **brin complémentaire** lors de la réplication.

  → Le double brin doit donc **s'ouvrir**.

- **Objectif** : visualiser l'ouverture de l'ADN lors de la réplication

- **Moyens** :
  - Culture sur faible [thymidine tritiée] sur plusieurs générations → faible marquage de l'ADN néosynthétisé
  - Pulse = culture sur forte [thymidine tritiée] pendant une courte période → marquage intense de l'ADN néosynthétisé
  - **Observation par autoradiographie**

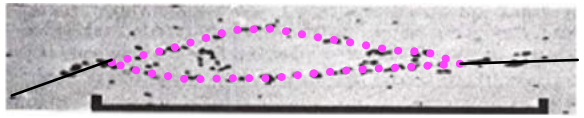


B. L'OBSERVATION D'ŒIL DE REPLICATION CHEZ LES EUCARYOTES ET AUSSI CHEZ LES BACTERIES

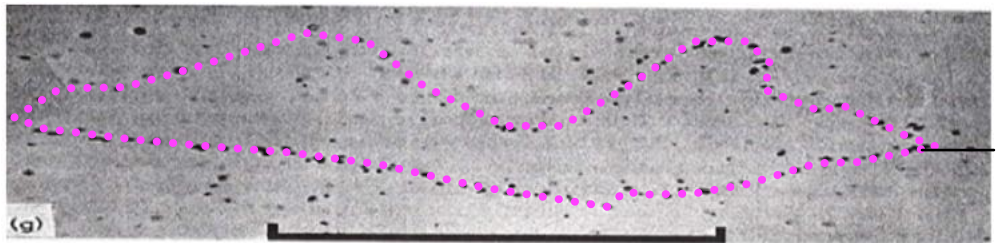
Travaux de Cairns (1963) - résultats

- L'incorporation **thymidine tritiée** dessine un **œil**
- Existence d'un site unique à partir duquel les deux brins se séparent
- L'œil s'agrandit au cours du temps

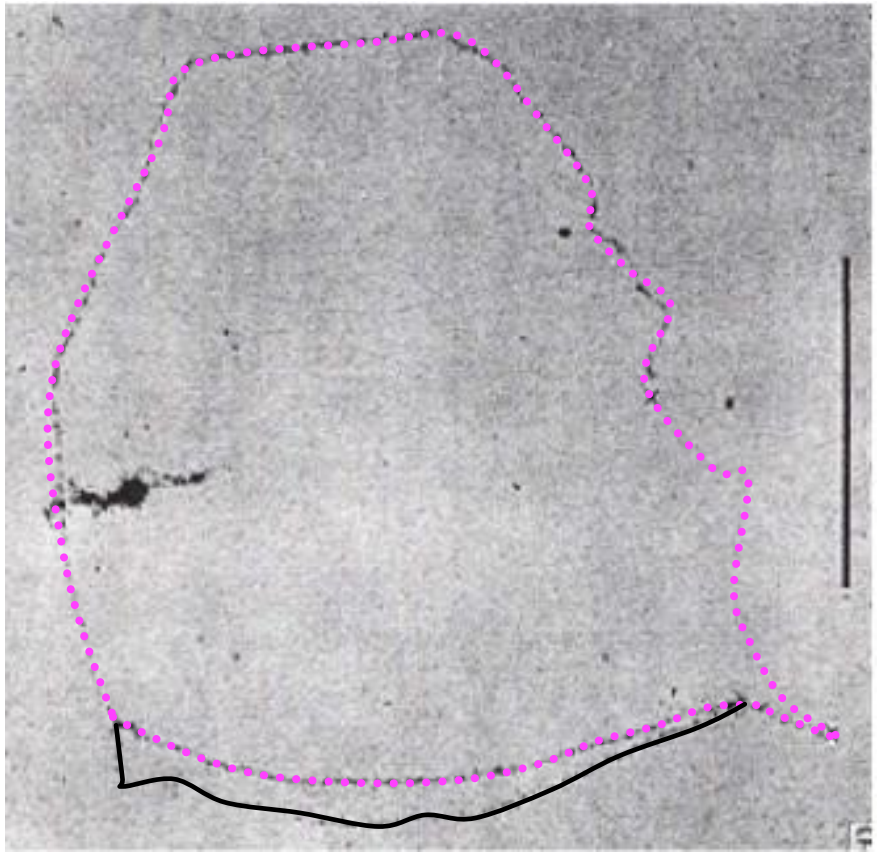
T = 5 min



T = 12 min

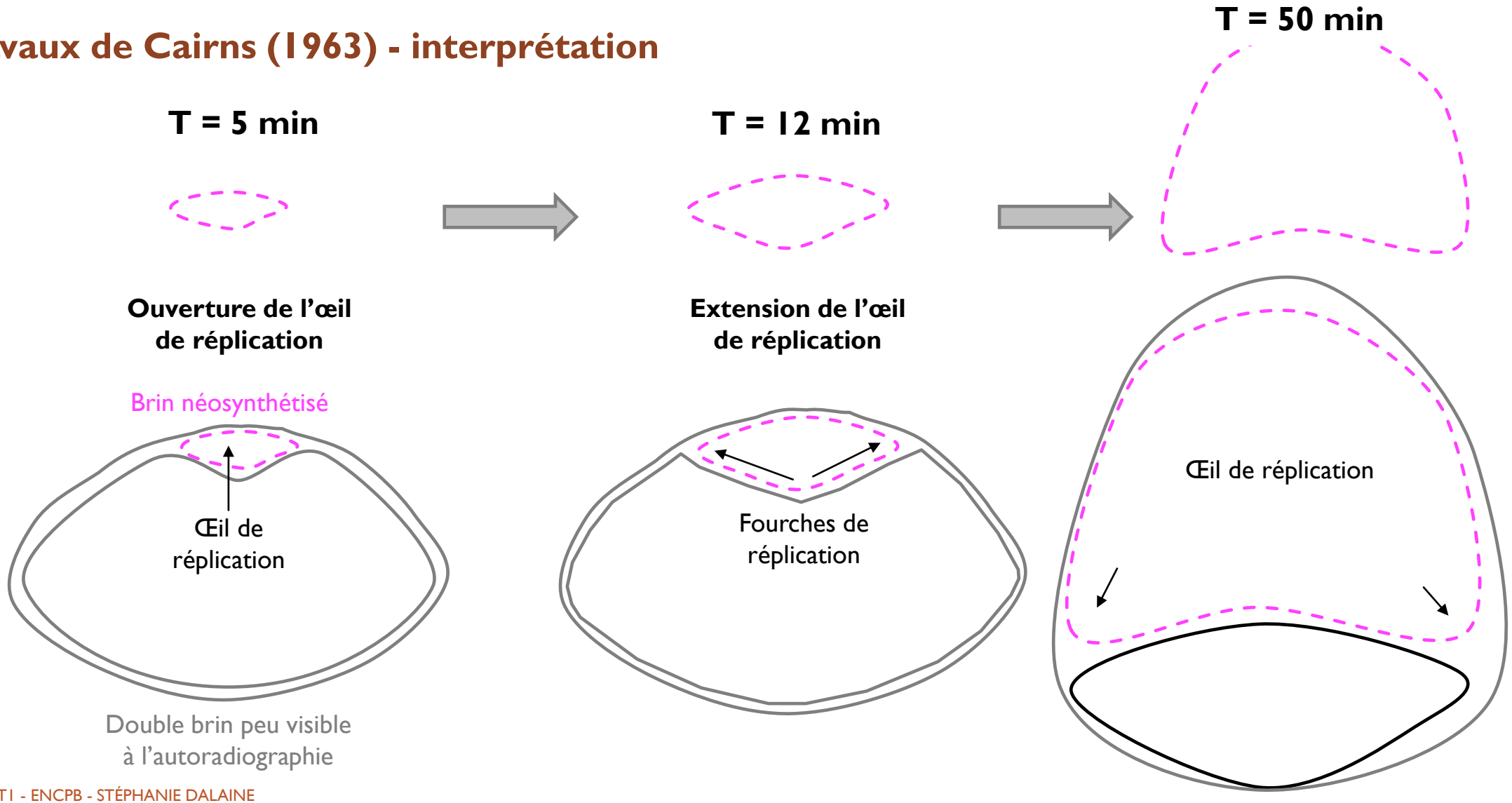


T = 50 min



B. L'OBSERVATION D'ŒIL DE REPLICATION CHEZ LES EUCARYOTES ET AUSSI CHEZ LES BACTERIES

Travaux de Cairns (1963) - interprétation



B. L'OBSERVATION D'ŒIL DE REPLICATION CHEZ LES EUCARYOTES ET AUSSI CHEZ LES BACTERIES

Modèle

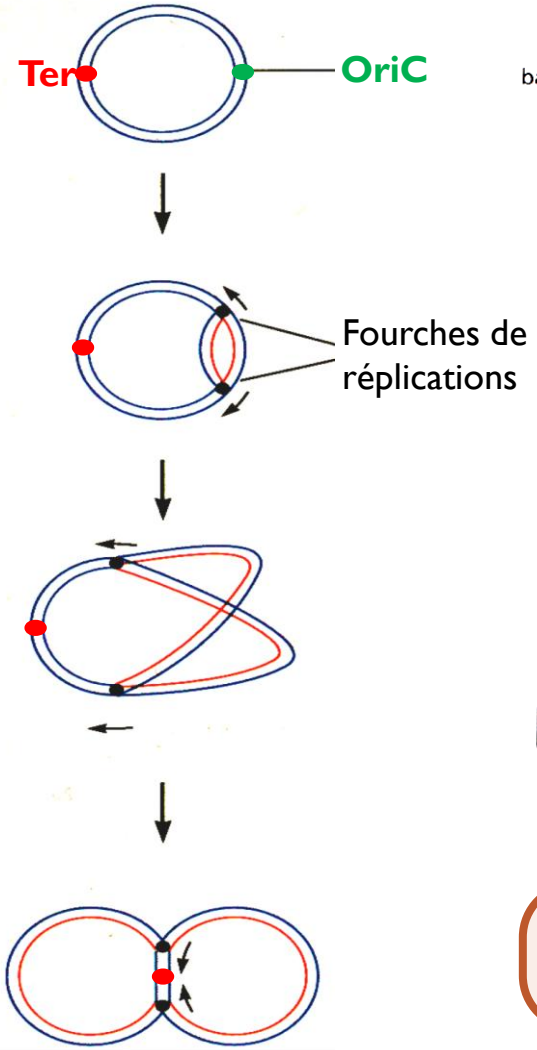
- Chez les Eubactéries, la réplication part d'un unique site : l'origine de réplication = **OriC**
  - 245 pb
  - Séquence riche en AT
  - Située au niveau du mésosome

- L'ouverture de l'ADN crée un **œil** de réplication, constituée de 2 **fourches** de réplication qui progressent en **sens opposé**

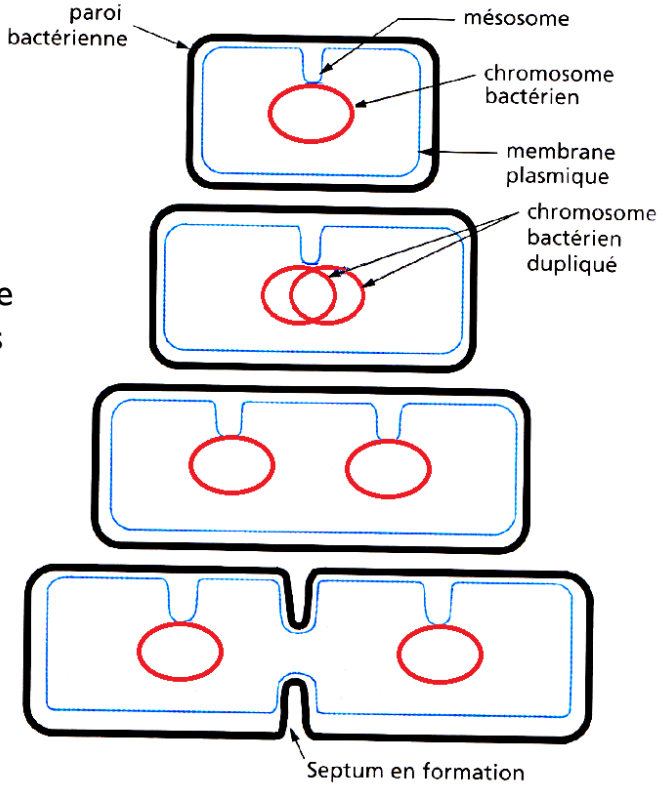
- En fin de réplication, les fourches se rejoignent en un point **TER**, situé à l'opposé de OriC

→ **3 étapes :**
initiation, élongation, terminaison

Modèle de la réplication chez les Eubactéries



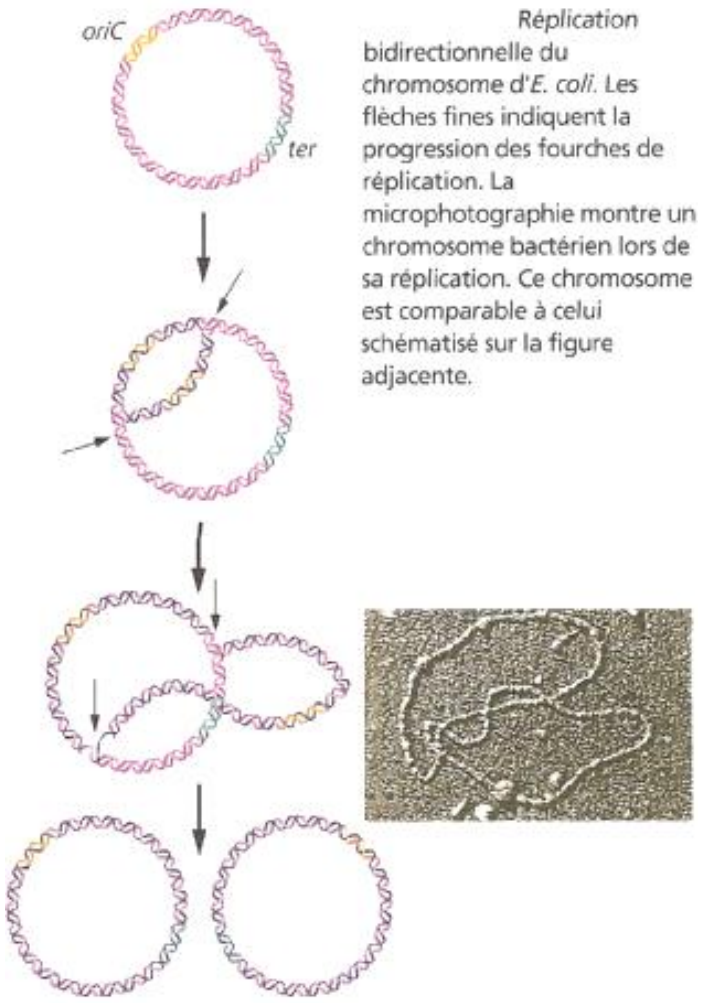
Réplication de l'ADN et division chez les Eubactéries



Chez les Eucaryotes, plusieurs yeux de réplication s'ouvrent en parallèle

B. L'OBSERVATION D'ŒIL DE REPLICATION CHEZ LES EUCARYOTES ET AUSSI CHEZ LES BACTERIES

Modèle



Réplication bidirectionnelle du chromosome d'*E. coli*. Les flèches fines indiquent la progression des fourches de réplication. La microphotographie montre un chromosome bactérien lors de sa réplication. Ce chromosome est comparable à celui schématisé sur la figure adjacente.

→ 3 étapes :
initiation, élongation, terminaison

SV-F-1-2 La transmission de l'information génétique au cours des divisions cellulaires chez les Eucaryotes

PLAN DU COURS

I. Le cycle cellulaire des Eucaryotes

A. Le rôle des divisions au sein du cycle cellulaire

B. La particularité des cellules souches

C. Les phases G1 et G2 du cycle cellulaire

D. La phase S, réplication de l'ADN

E. La phase M du cycle cellulaire

F. La quantité d'ADN au cours du cycle

G. L'existence de points de contrôle du cycle cellulaire

II. Les mécanismes moléculaires de la réplication, une reproduction plus ou moins conforme

A. La réplication de l'ADN, un processus semi-conservatif

B. L'observation d'œil de réplication chez les eucaryotes et les procaryotes

C. Les étapes de la réplication

D. Les erreurs de copies et les mécanismes de corrections

E. Le principe de la PCR et ses applications

III. La mitose et la méiose: des divisions conduisant à une répartition de l'information génétique

A. Les différentes étapes de la mitose et de la méiose

B. Le rôle du cytosquelette dans la division cellulaire

C. LES ÉTAPES DE LA REPLICATION

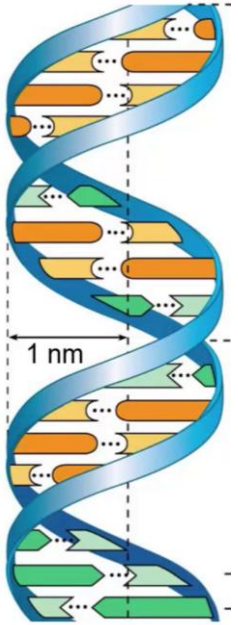
1. L'initiation

1. 1. Contexte

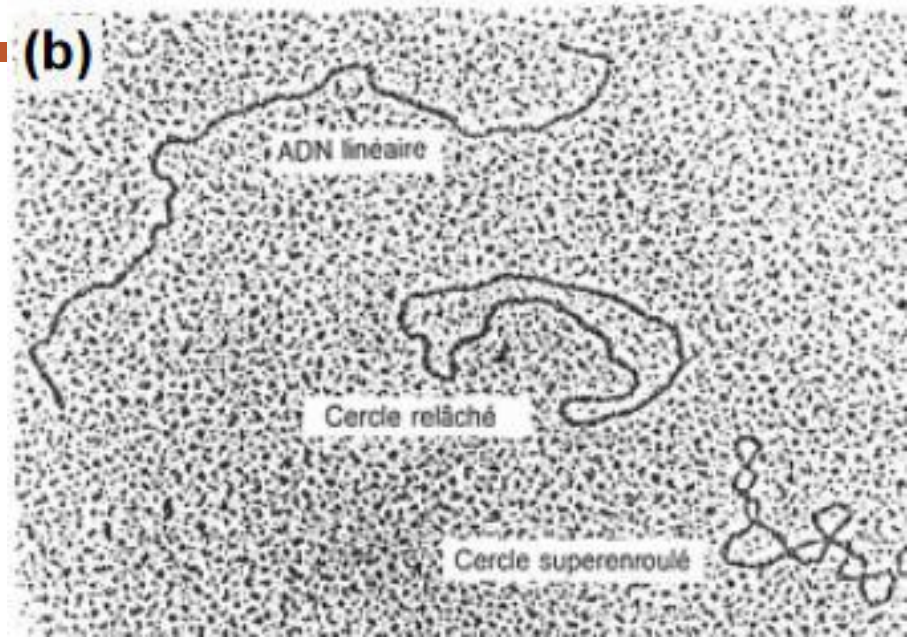
- ADN constitué de 2 brins s'enroulant en une double hélice

- Structure associée à des contraintes mécaniques fortes
  - ➢ Ex Chez les eubactéries, l'ADN est circulaire
    - ✓ extrémités contraintes mécaniquement
    - ✓ → formes superenroulées

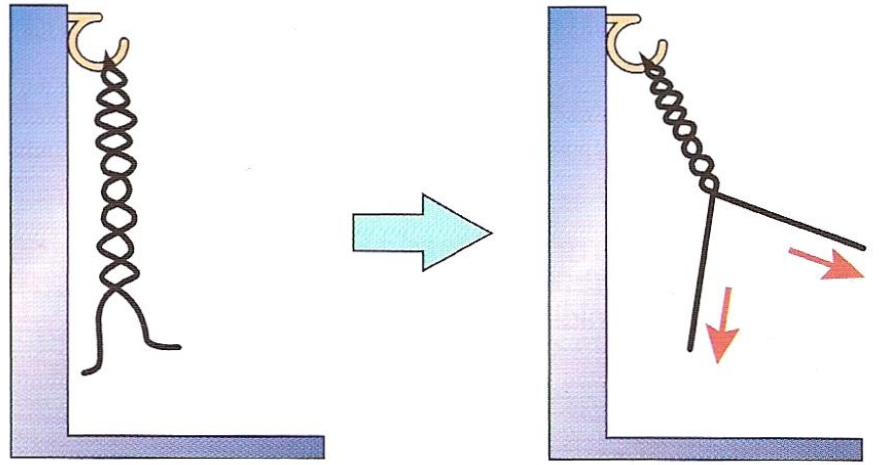
- L'initiation de la réplication s'accompagne du déroulement et de l'ouverture de l'ADN
  - → contraintes mécaniques supplémentaires
  - → surenroulement en aval



Structure en double hélice de l'ADN



L'ADN circulaire peut prendre des formes superenroulées



L'ouverture locale de la double hélice crée un surenroulement

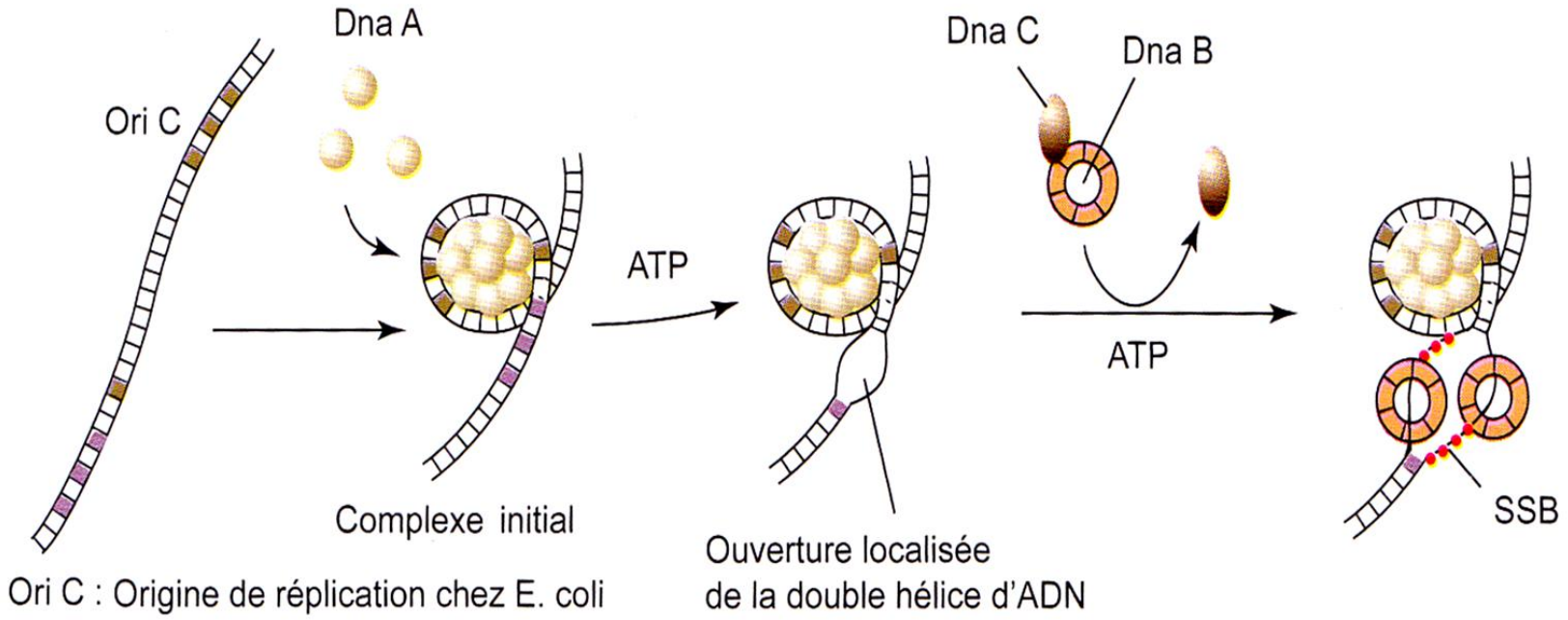
C. LES ÉTAPES DE LA REPLICATION

1. L'initiation

1.2. Mécanisme

- L'initiation débute au niveau de **oriC.**
- Le site oriC est reconnu par un **complexe protéique** contenant une **hélicase**.
- L'**hélicase** permet de **dérouler** la double hélice en dissociant les 2 brins
  - Enzyme ATP-dépendante
- Les **protéines SSB (Single-Stranded Binding Protein)** se fixent ensuite sur chacun des simples brins pour le **maintenir déroulé** et empêcher le ré appariement des bases azotées
  - Affinité 1000x plus grande pour l'ADN sb que db

Le rôle des différents acteurs moléculaires dans l'initiation de la réplication de l'ADN



Ori C : Origine de réplication chez E. coli

C. LES ÉTAPES DE LA REPLICATION

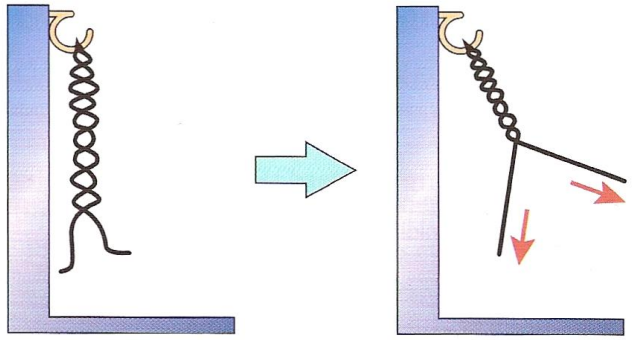
I. L'initiation

I.2. Mécanisme

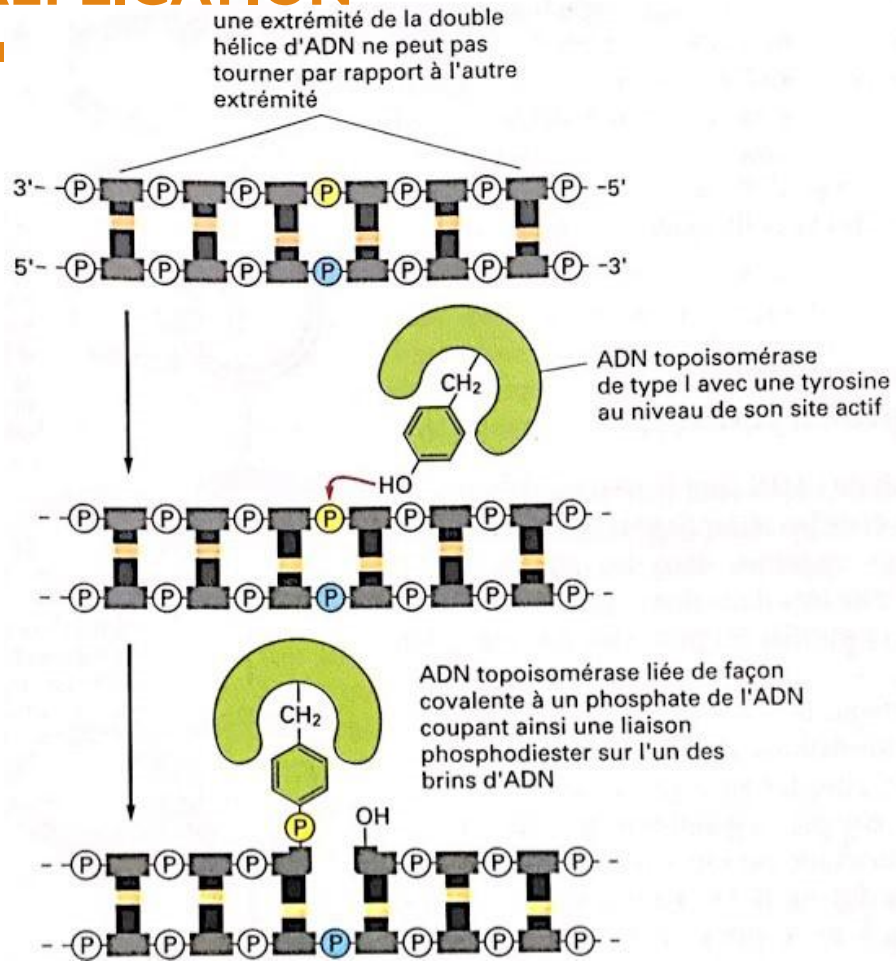
- **topoisomérase I** (famille des gyrases) : en amont du complexe d'initiation

⇨ éviter le surenroulement en aval de la fourche de réplication

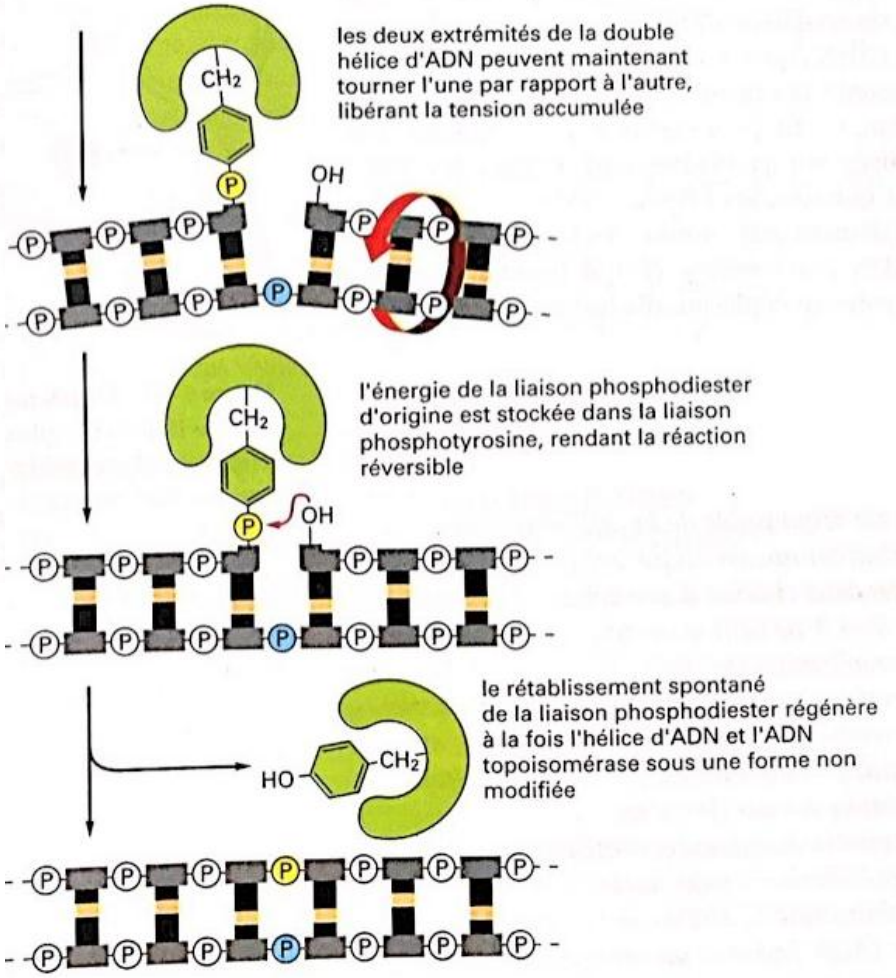
- ➢ cassure provisoire sur un seul brin, permettant la libre rotation de l'autre brin pour relâcher la tension mécanique
- ➢ cassure provisoire ressoudée ultérieurement



L'ouverture locale de la double hélice crée un surenroulement pris en charge par la topoisomérase I



Fonctionnement de la topoisomérase I



C. LES ÉTAPES DE LA REPLICATION

2. L'élongation

2.1. Approche expérimentale; les travaux de Kornberg (1957)

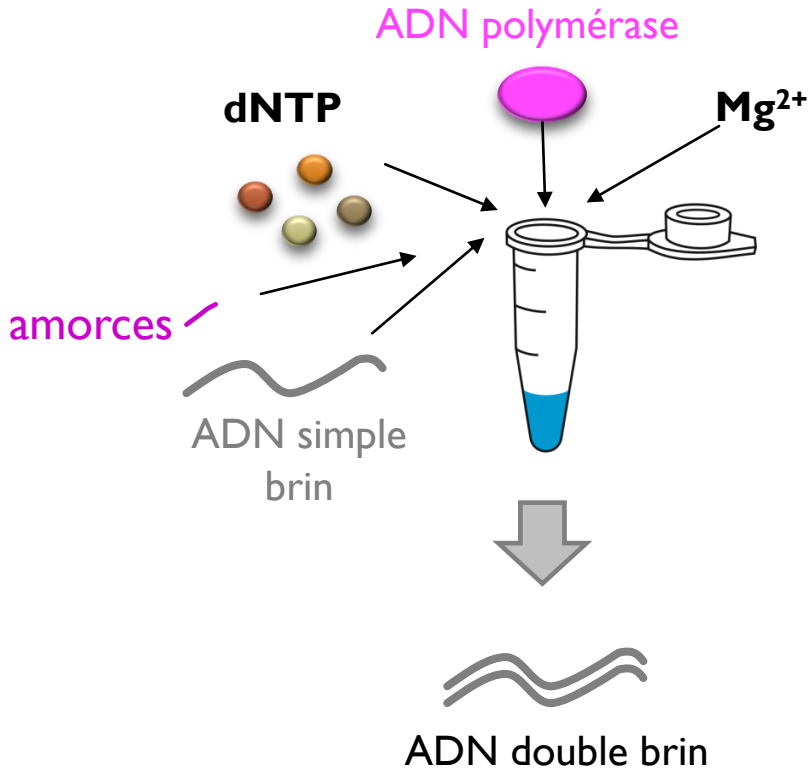
Arthur Kornberg
(1918-2007)
Médecin, biochimiste
Prix Nobel (1959)

- Kornberg réalise la 1e synthèse d'ADN *in vitro* (1958).

- Il extrait d'abord l'enzyme permettant la synthèse d'ADN, à partir d'extraits *d'E. coli* → **ADN polymérase ou ADN pol**

- Synthèse d'ADN *in vitro* en mélangeant :
  - ADN pol
  - 4 dNTP (A,T,C,G)
  - Mg^{2+}
  - ADN chauffé (matrice)
  - amorces

→ *In vitro*, la réplication de l'ADN ne nécessite que 4 éléments



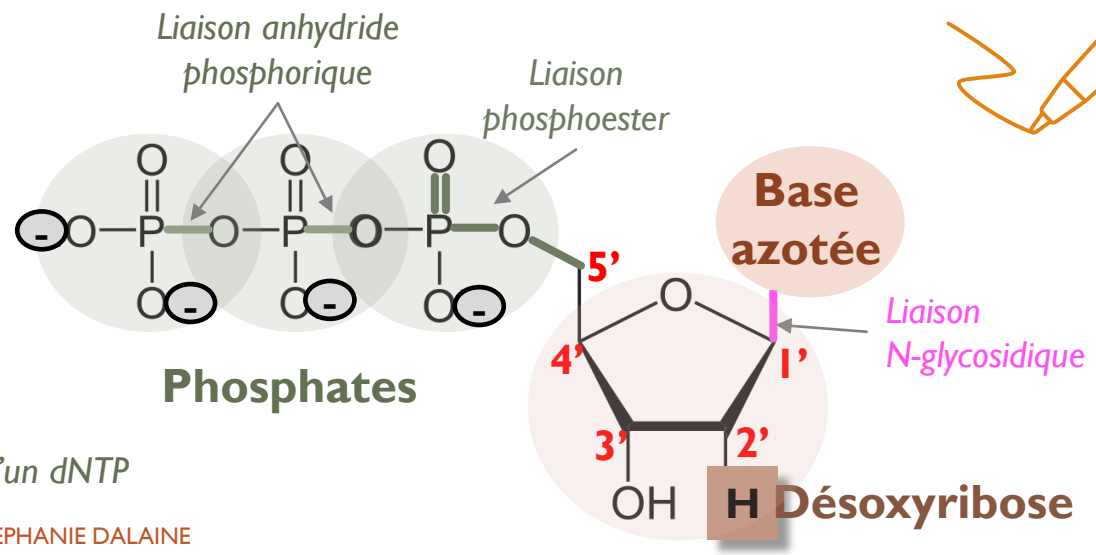
C. LES ÉTAPES DE LA REPLICATION

2. L'élongation

2.2. Les acteurs: dNTP

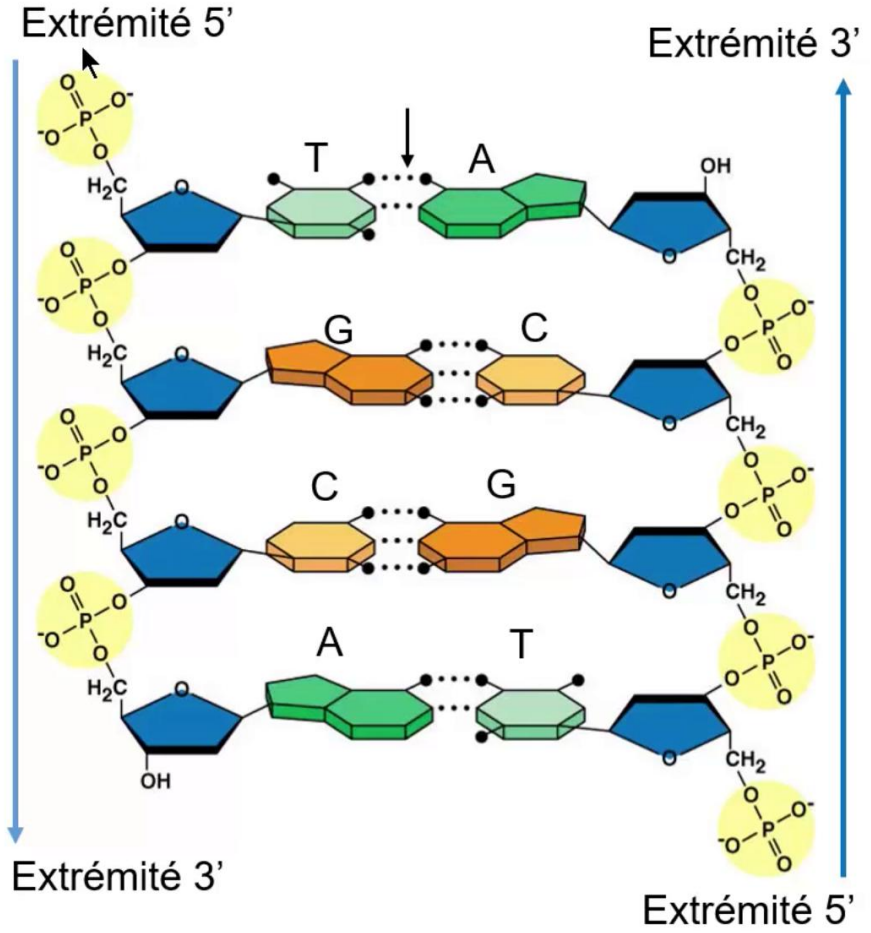
- *Rappel* : ADN = polymère de nucléotides liés entre eux par des **liaisons phosphodiesters**.

- **dNTP** = double rôle :
  - **monomère**
  - **carburant énergétique** (via hydrolyse de la liaison anhydride phosphorique)



Structure d'un dNTP

Structure de l'ADN



Rem : in vitro, Mg^{2+} sert à stabiliser les charges (-) des dNTP

C. LES ÉTAPES DE LA REPLICATION

2. L'élongation

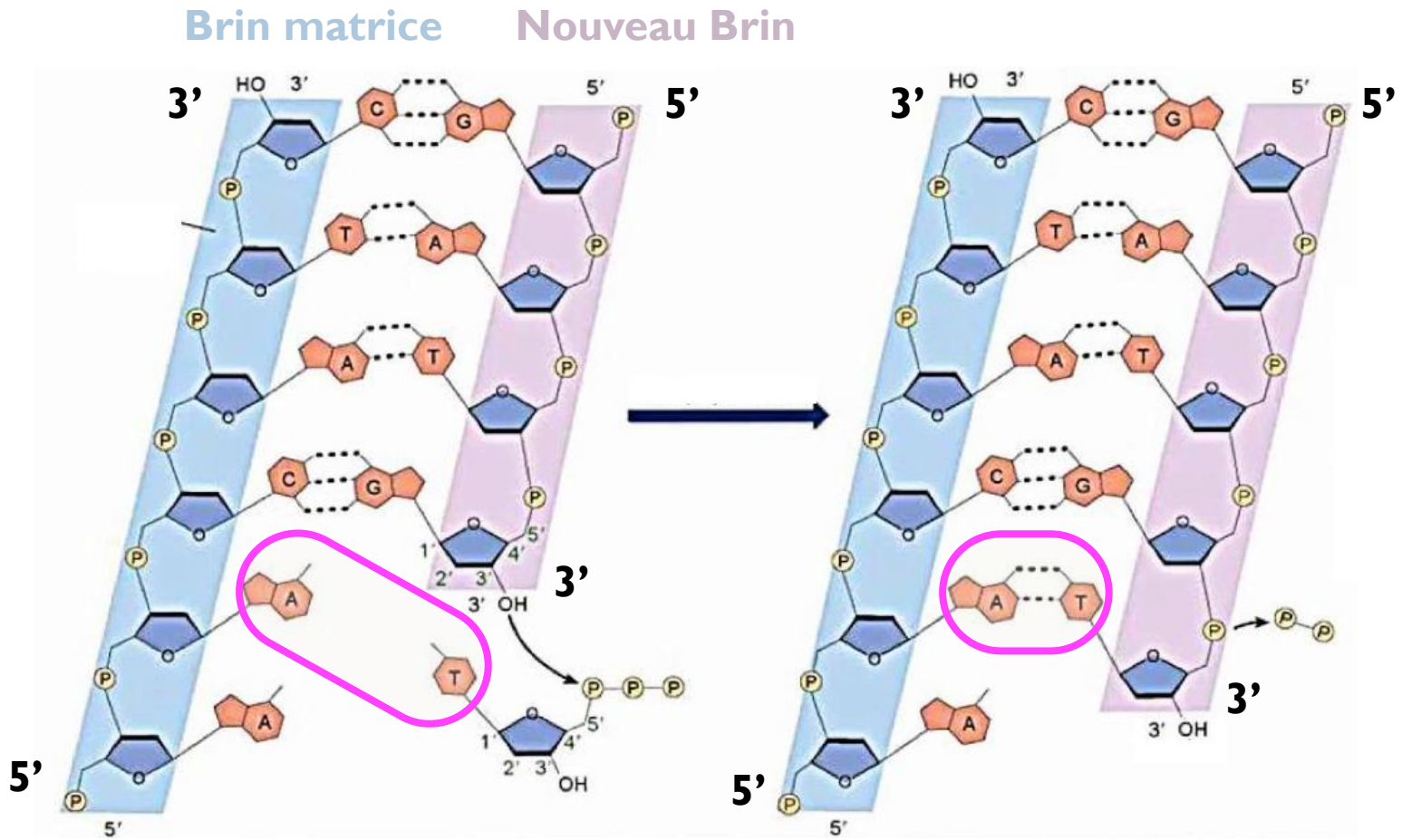
2.3. Les acteurs: la matrice d'ADN

Rappel :

- Deux brins d'ADN associés de façon **complémentaire** et **antiparallèle** par **liaisons faibles**.

- **Matrice d'ADN =** « moule » pour placer correctement les nucléotides dans le nouveau brin
  → Conservation de la séquence

Rem : in vitro, la matrice d'ADN doit être simple brin car absence d'hélicase et de SSB



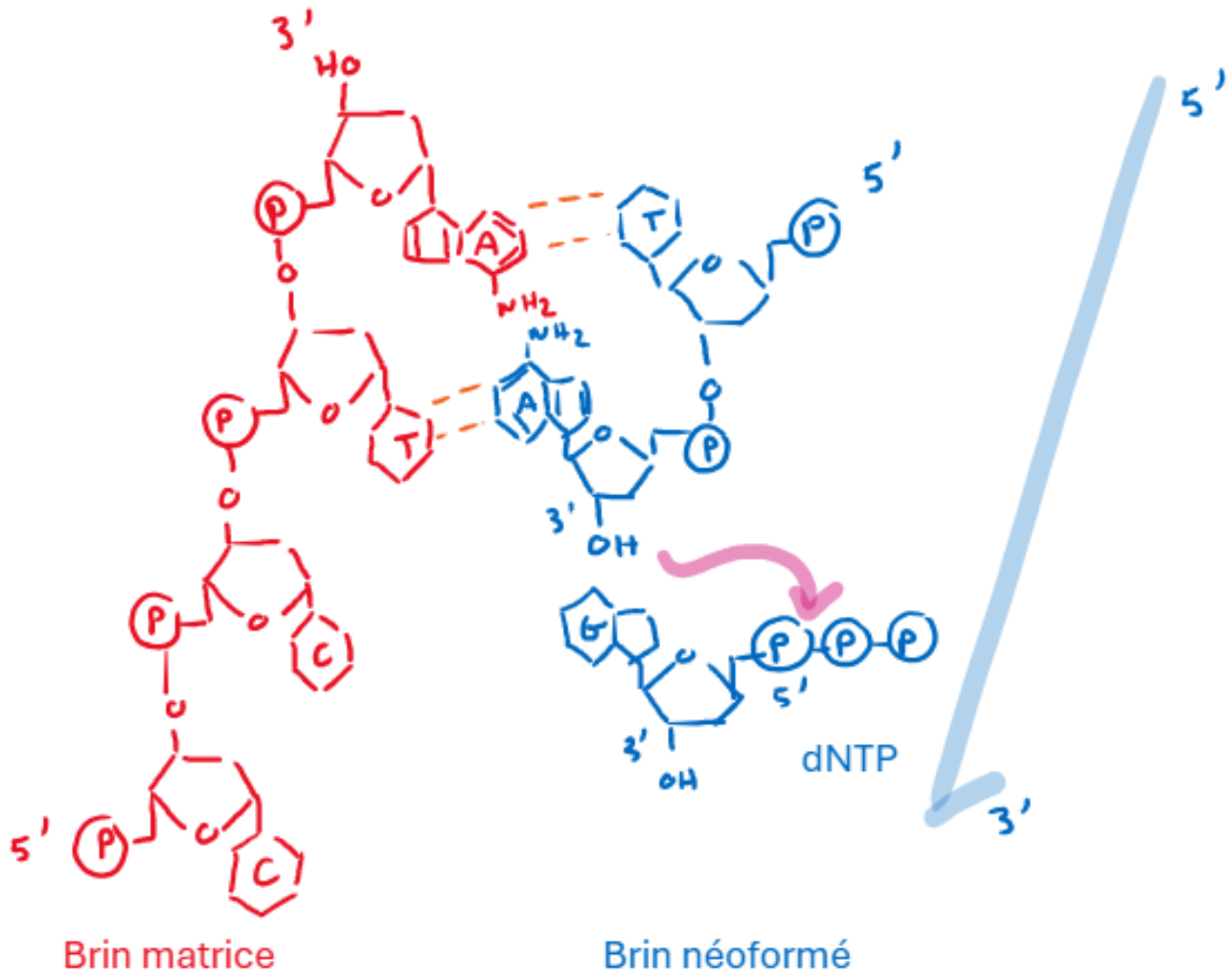


Schéma de la réplication de l'ADN, polymérisation orientée dans le sens 5'→3' (S. Dalaine)

C. LES ÉTAPES DE LA REPLICATION

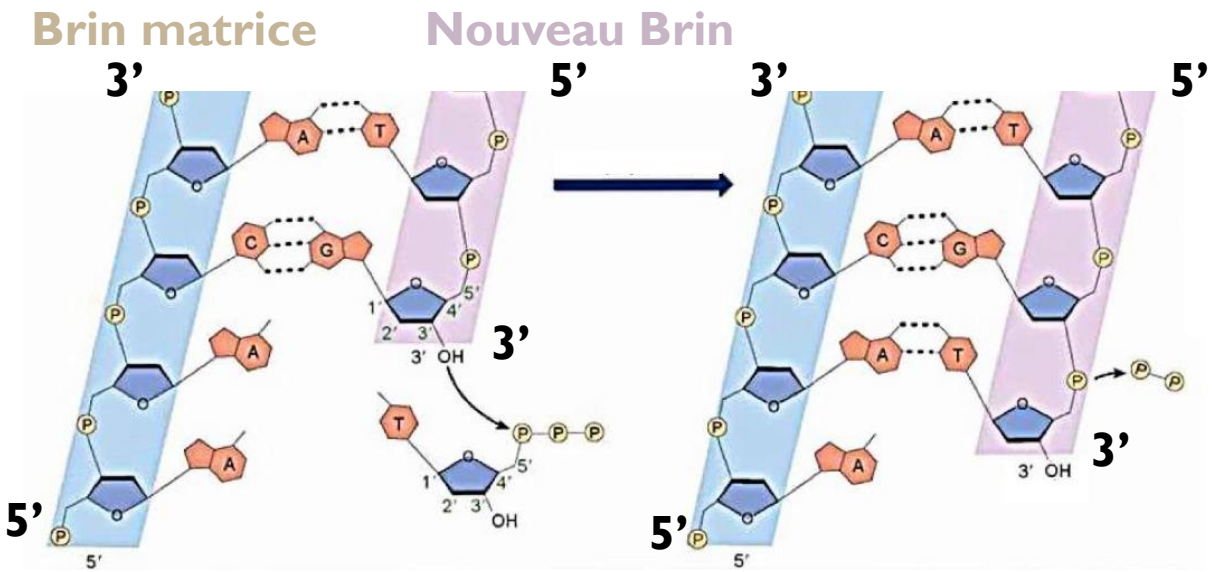
2. L'élongation

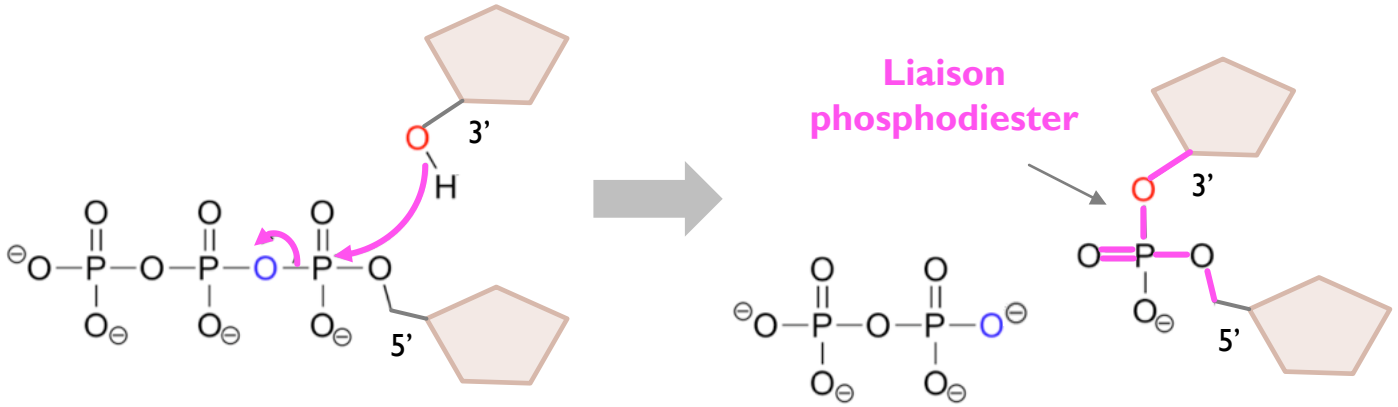
2.4. Les acteurs: ADN polymérase III

- **L'ADN polymérase III =** principale enzyme de la réplication ; catalyse **spécifiquement** la polymérisation des **dNTP**

$$dNTP + (ADN)_n \rightarrow (ADN)_{n+1} + PPi$$

  - ✓ Ajout de dNTP **en 3'** à partir d'une **amorce**
  - ✓ Formation de liaisons **phosphodiester**
  - ✓ Complémentarité des bases par rapport au brin matrice
  - ✓ Vitesse ~ 1 000 $nt.s^{-1}$





C. LES ÉTAPES DE LA REPLICATION

2. L'élongation

2.4. Les acteurs: ADN polymérase III

dNTP + $(ADN)_n$ → $(ADN)_{n+1}$ + PPi

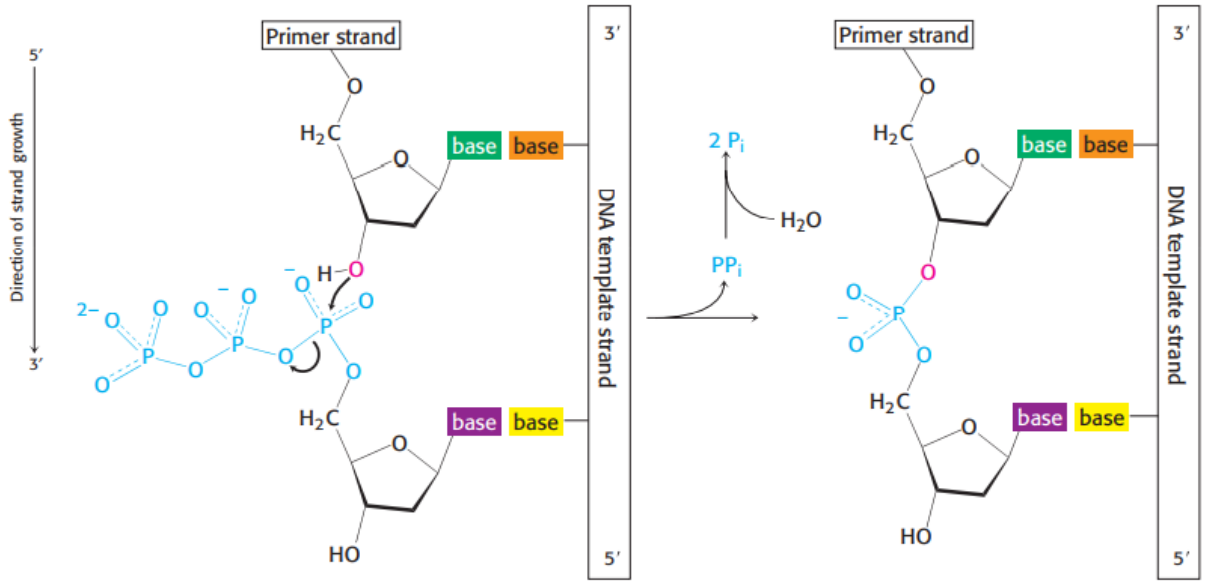
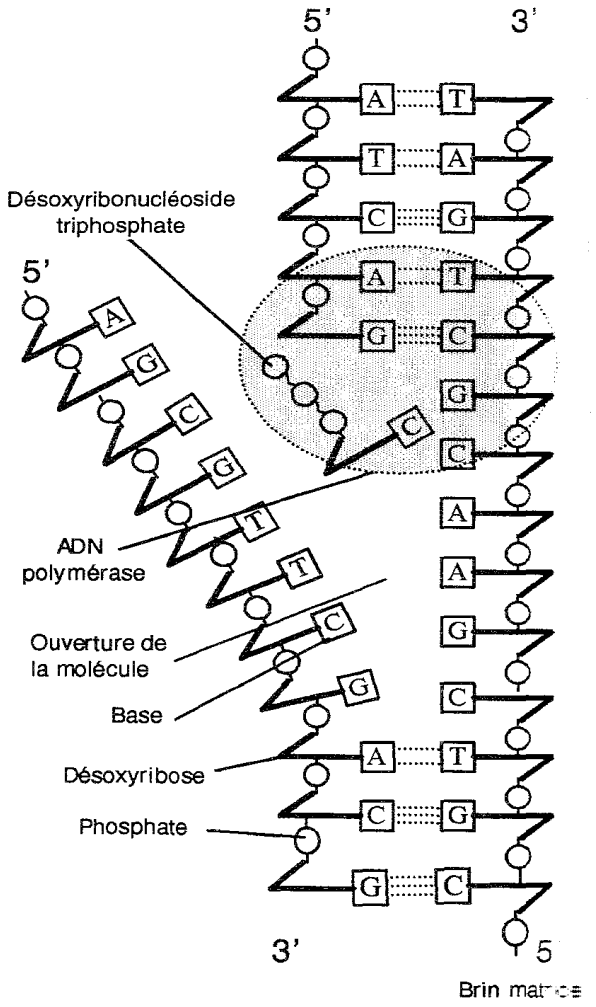


Figure 34.2 Strand-elongation reaction. DNA polymerases catalyze the formation of a phosphodiester bridge. Elongation of the DNA strand proceeds in the 5′-to-3′ direction.

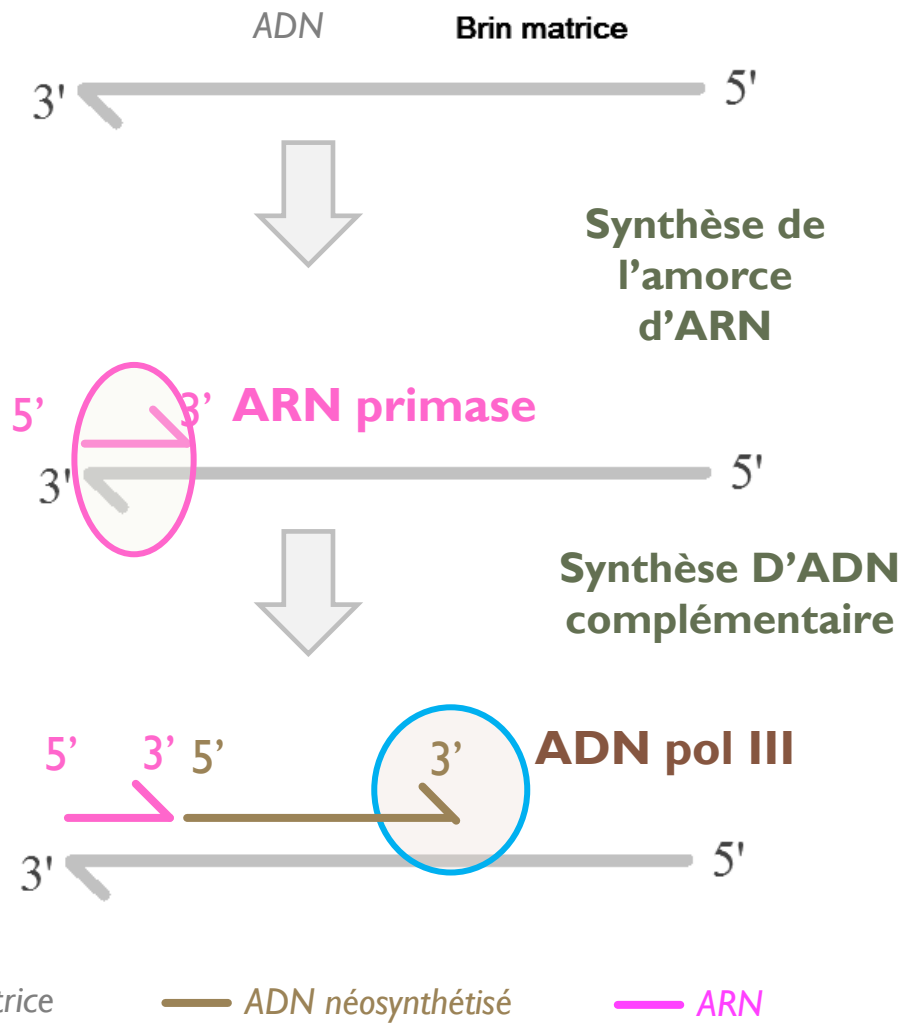


C. LES ÉTAPES DE LA REPLICATION

2. L'élongation

2.5. Les acteurs: ARN primase

- **L'ARN primase** produit les **amorces** nécessaires au fonctionnement de l'ADN polymérase
  - ➢ polymérisation en 3' de l'amorce
- Elle reconnaît des séquences particulières de l'ADN où elle se fixe
- Elle fabrique alors de courtes portions d'ARN complémentaires
  → **ARN amorce** (10-30 nt)
- Ensuite, elle se retire au profit de l'ADN pol III



C. LES ÉTAPES DE LA REPLICATION

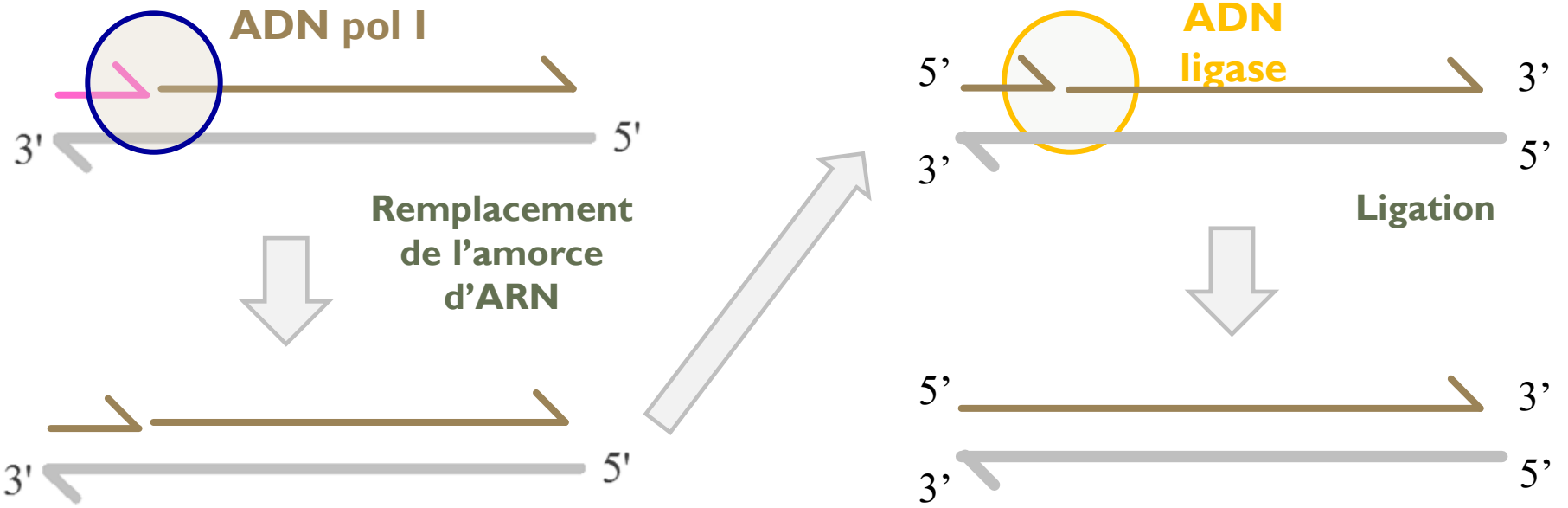
2. L'élongation

2.6. Les acteurs: ADNpol I et ligase

Rem : c'est l'ADN pol I que Kornberg a isolé et utilisé pour la 1ère synthèse in vitro

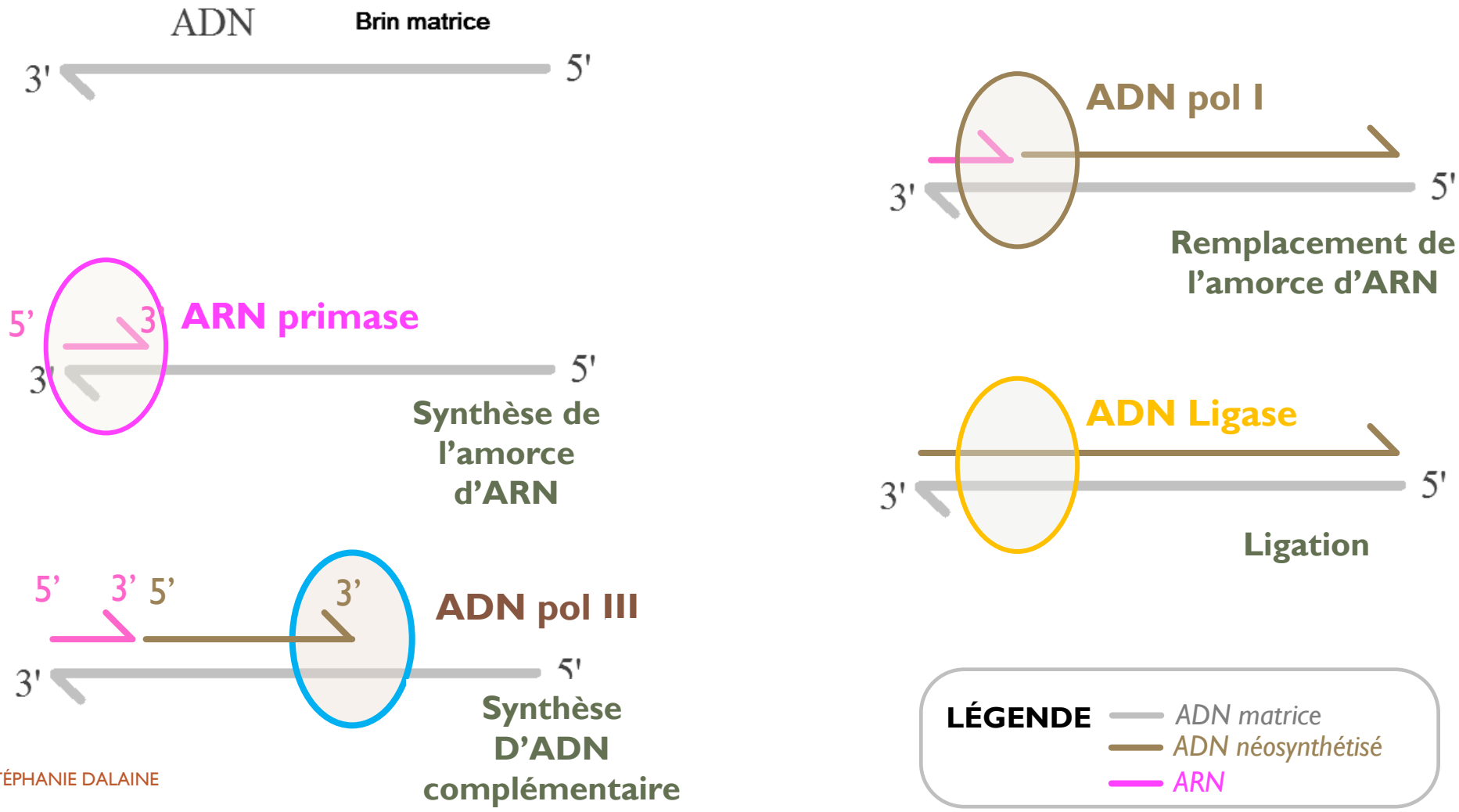
- **L'ADN pol I** remplace l'amorce d'ARN par de l'ADN grâce à 2 fonctions simultanées :
  - Fonction exonucléase 5' → 3' : retire NMP
  - Fonction polymérase: 5' → 3' remplace avec des dNTP

- La **ligase** soude les deux fragments d'ADN juxtaposés



C. LES ÉTAPES DE LA REPLICATION

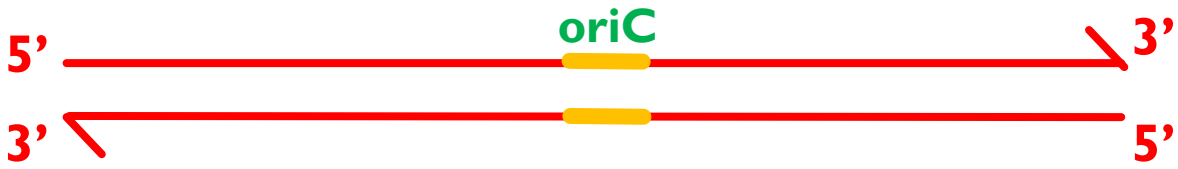
2. L'élongation



C. LES ÉTAPES DE LA REPLICATION

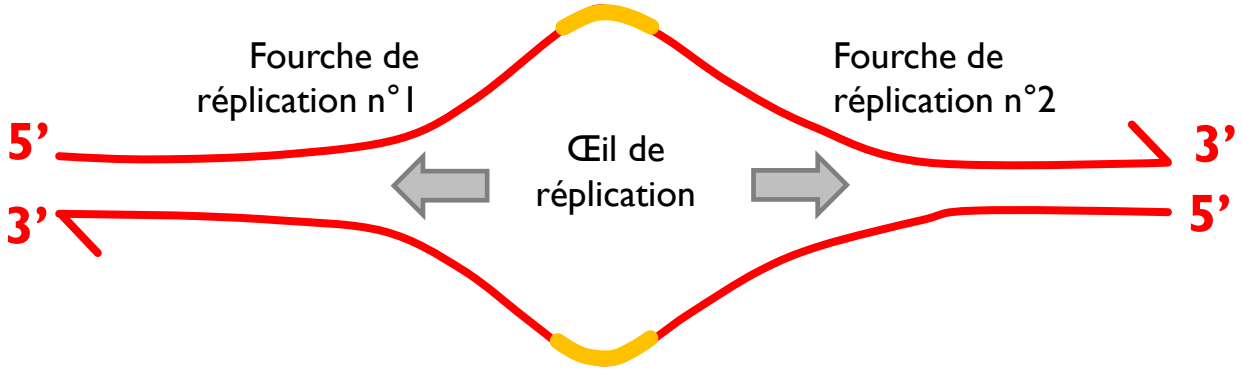
2. L'élongation

2.7. le brin direct et le brin retardé

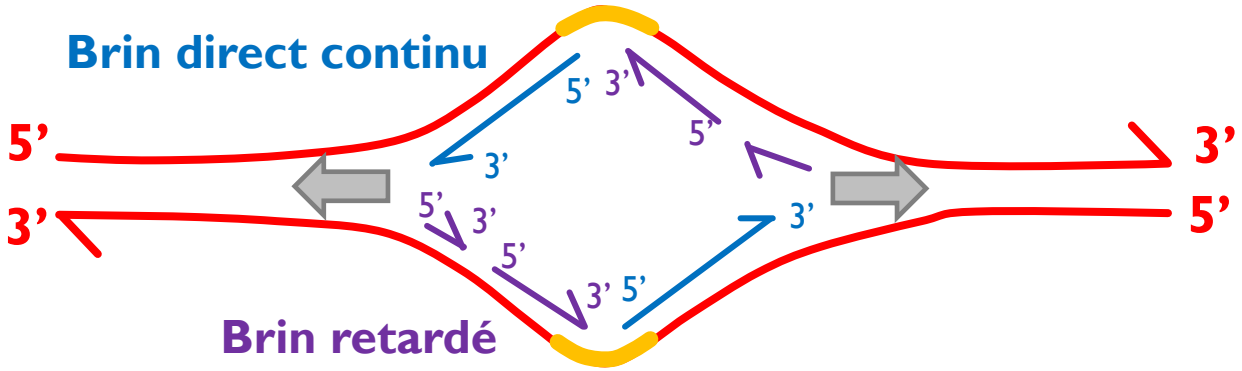


- A partir d'oriC, deux fourches de réplication progressent en sens opposé

- Pour chaque fourche, l'un des brins est synthétisé dans le sens de progression de la fourche (= **brin continu**), l'autre brin est en sens opposé (= **brin retardé**)



Comment se fait la synthèse du brin retardé ?



C. LES ÉTAPES DE LA REPLICATION

2. L'élongation

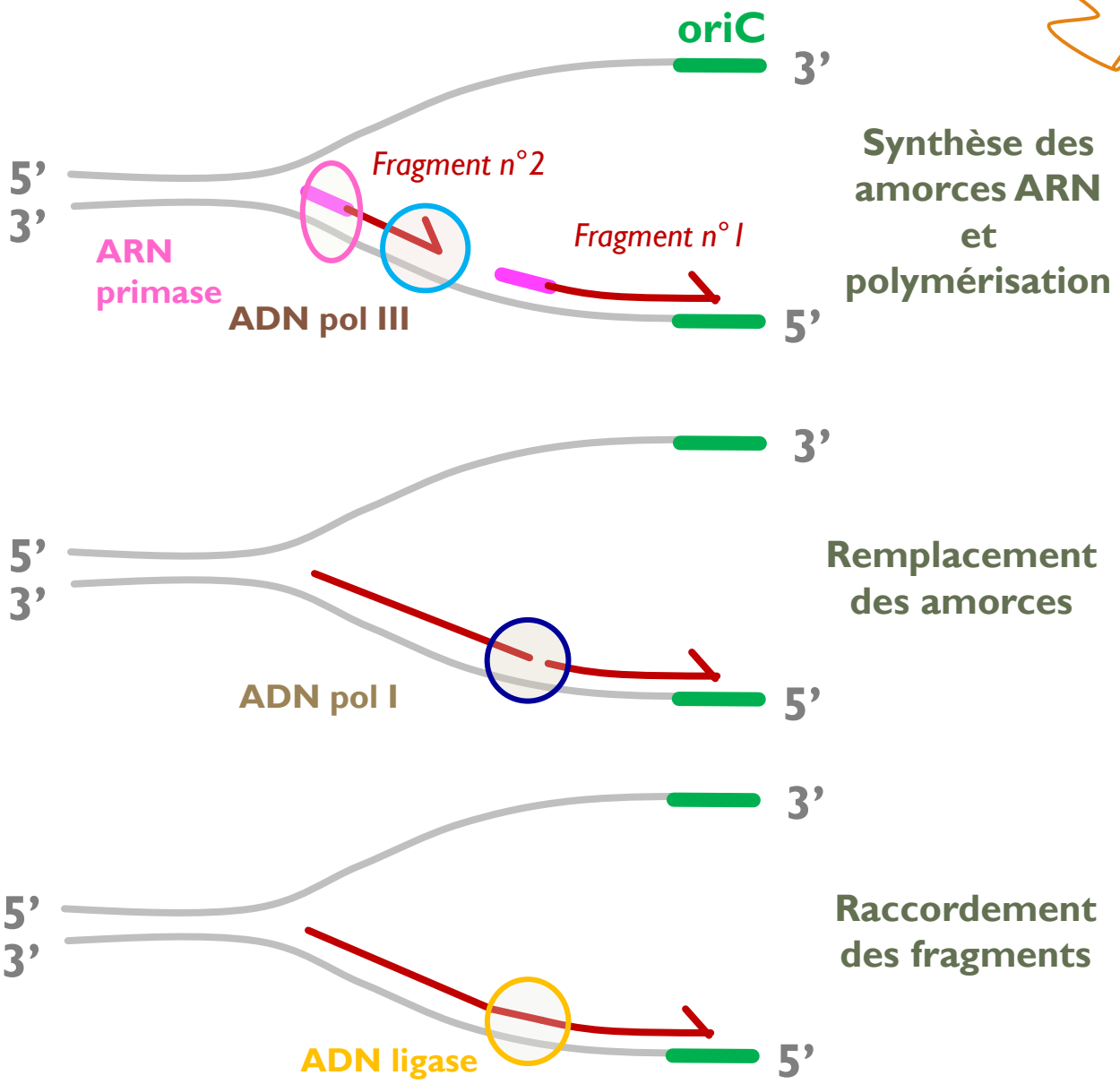
2.7. le brin direct et le brin retardé

- La synthèse du **brin retardé** se fait par fragments de 1000-2000 nt = **fragments d'Okasaki**

  - ✓ L'ARN primase dépose régulièrement des amorces le long du brin retardé
  - ✓ L'ADN pol III synthétise de 5'→ 3'
  - ✓ L'ADN pol I et la ligase raboutent les fragments d'Okasaki entre eux → brin continu

LÉGENDE

- *ADN matrice*
- *ADN néosynthétisé*
- *ARN*



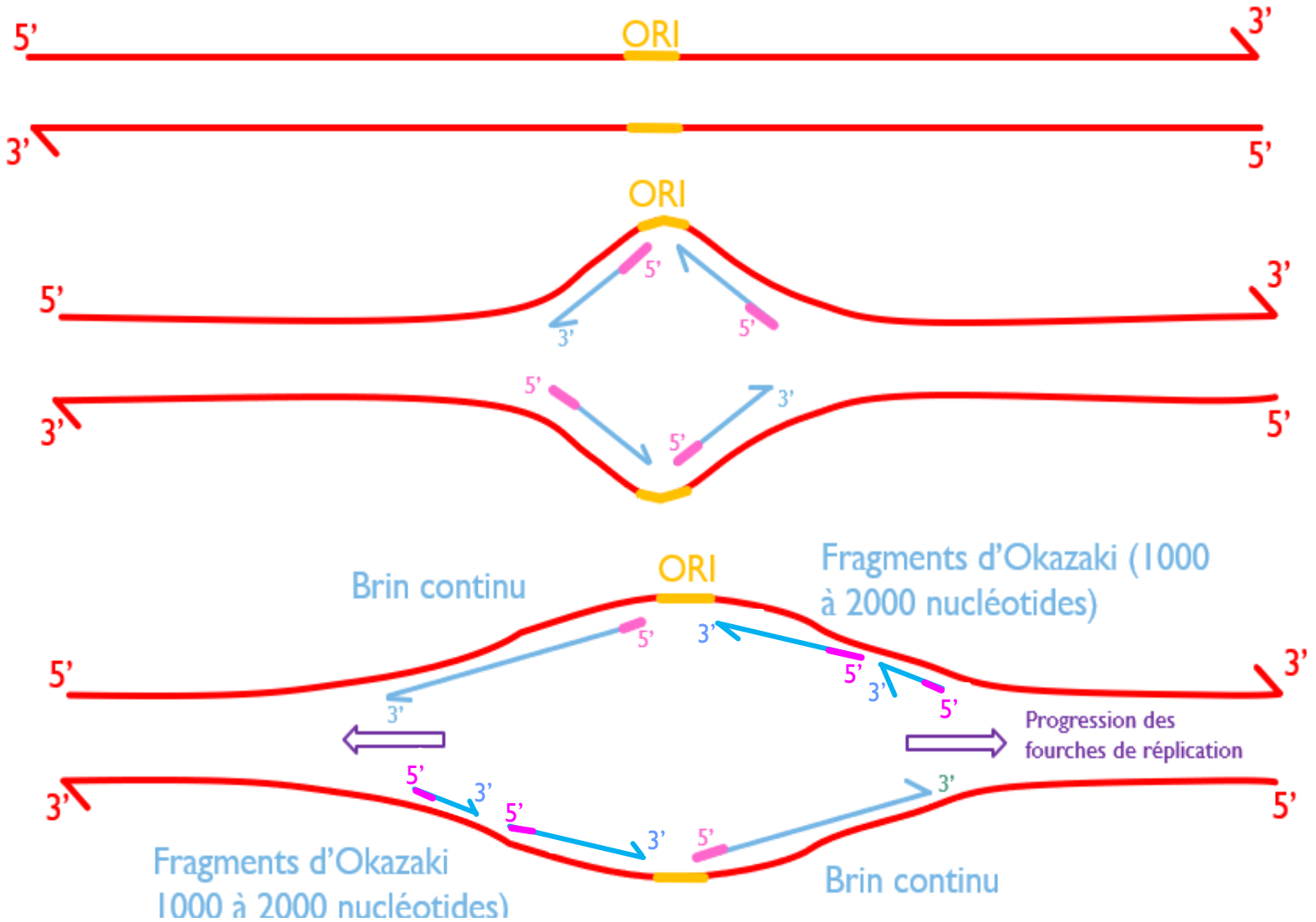
C. LES ÉTAPES DE LA REPLICATION

2. L'élongation

2.7. le brin direct et le brin retardé

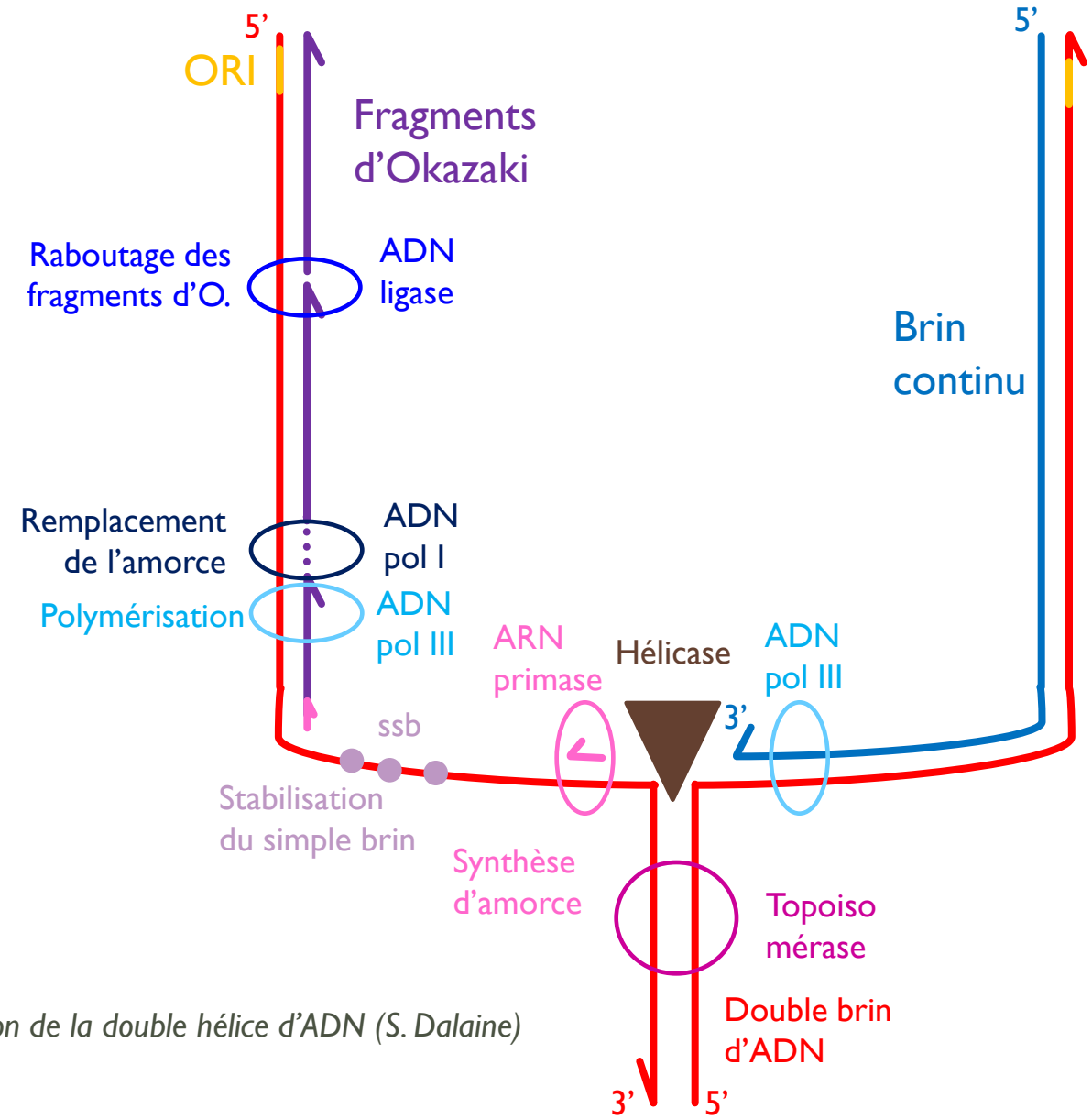
- Pour chaque fourche de réplication, un nouveau brin est synthétisé de façon continue, l'autre discontinue

- Pour un œil de réplication, un nouveau brin est 50% continu et 50% discontinu



Schématisation des deux fourches de progression au sein d'un œil de réplication

SCHÉMA BILAN



Les acteurs de la réplication de la double hélice d'ADN (S. Dalaine)

Réplication de l'ADN en 3D

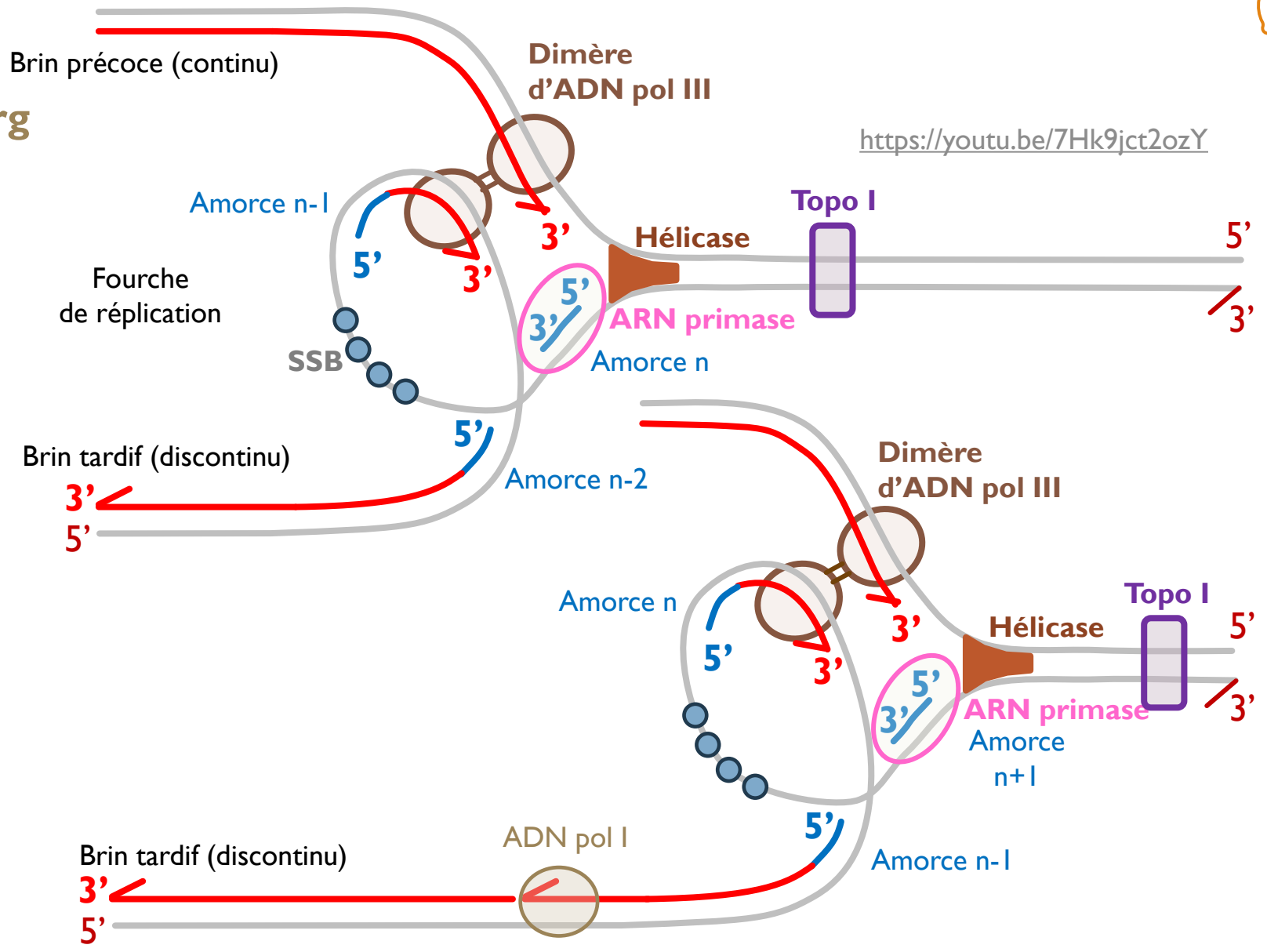
https://youtu.be/TNKWgcFPHqw

C. LES ÉTAPES DE LA REPLICATION

2. L'élongation

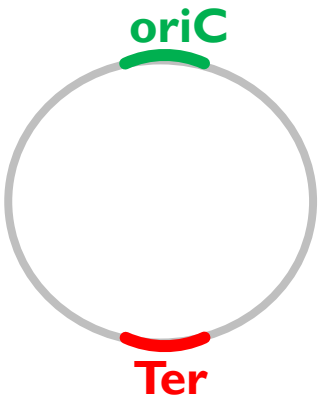
Modèle de Kornberg

→ progression simultanée de deux ADN pol III grâce à une boucle de l'ADN matrice

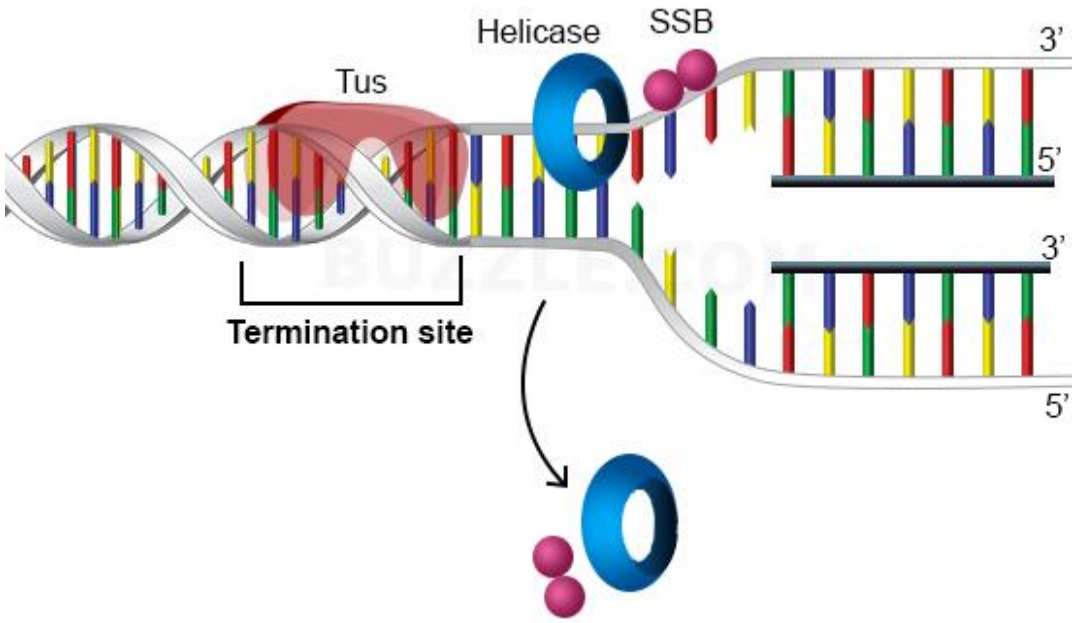


C. LES ÉTAPES DE LA REPLICATION

3. La terminaison



- Terminaison sur site opposé à oriC, appelé Ter.
- Site Ter reconnu par la protéine **Tus**, qui s'y lie → blocage physique du complexe de réplication → décrochage de l'hélicase et des SSB
- L'expulsion de l'hélicase ⇨ dissociation de tout le complexe de réplication (réplisome)
- Des **topoisomérases** permettent de **séparer les deux chromosomes fils**.



C. LES ÉTAPES DE LA REPLICATION

4. Comparaison de la réplication eubactérie vs eucaryote

- La réplication chez les Eucaryotes suit le même principe mais implique plus d'acteurs et est plus complexe.

	Eubactéries	Eucaryotes
Origine de réplication	Unique	Multiple
Œil de réplication	Unique	Multiple
Site de terminaison	Unique	Multiple
Enzyme de démarrage	ARN primase	Polymérase Pol α
Polymérase principale d'élongation	ADN pol III	ADN - δ Pol
Fragments d'Okasaki	1000-2000 nt	100-200 nt

SV-F-1-2 La transmission de l'information génétique au cours des divisions cellulaires chez les Eucaryotes

PLAN DU COURS

I. Le cycle cellulaire des Eucaryotes

A. Le rôle des divisions au sein du cycle cellulaire

B. La particularité des cellules souches

C. Les phases G1 et G2 du cycle cellulaire

D. La phase S, réplication de l'ADN

E. La phase M du cycle cellulaire

F. La quantité d'ADN au cours du cycle

G. L'existence de points de contrôle du cycle cellulaire

II. Les mécanismes moléculaires de la réplication, une reproduction plus ou moins conforme

A. La réplication de l'ADN, un processus semi-conservatif

B. L'observation d'œil de réplication chez les eucaryotes et les procaryotes

C. Les étapes de la réplication

D. Les erreurs de copies et les mécanismes de corrections

E. Le principe de la PCR et ses applications

III. La mitose et la méiose: des divisions conduisant à une répartition de l'information génétique

A. Les différentes étapes de la mitose et de la méiose

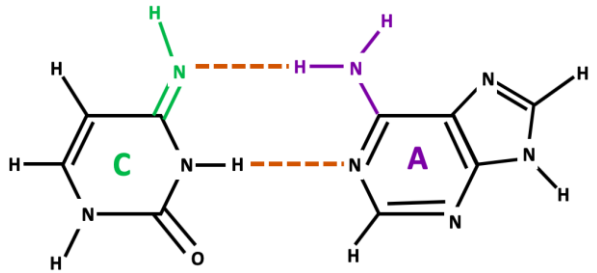
B. Le rôle du cytosquelette dans la division cellulaire

D. LES ERREURS DE COPIES ET LES MÉCANISMES DE CORRECTIONS

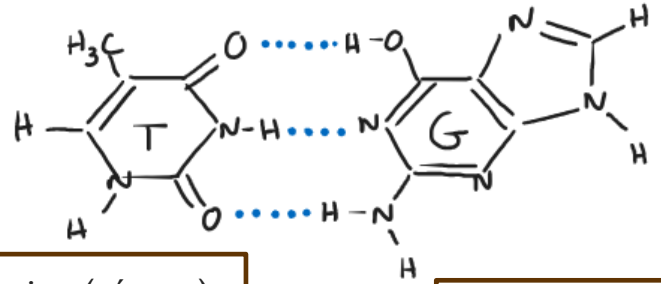
1. Les mésappariements, causés par la tautomérie des bases azotées

- Basculement spontané des bases azotées sous la forme de **tautomères** rares :
  - T et G (cétones) existent sous forme énol
  - A et C (amines) existent sous forme imine

- Formation de **mésappariements** entre bases azotées :



Cytosine (imine) Adénine (amine)

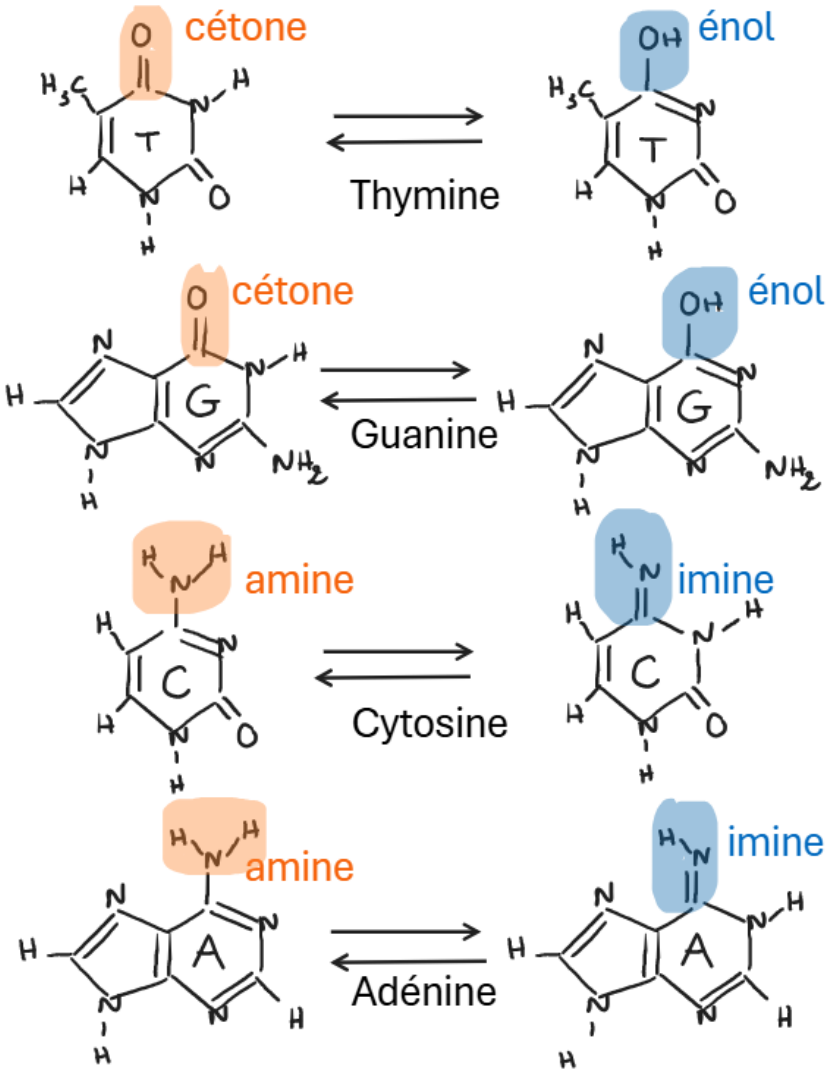


Thymine (cétone) Guanine (énol)

Formes communes
9 999/10 000

C ⋯ A

T ⋯ G



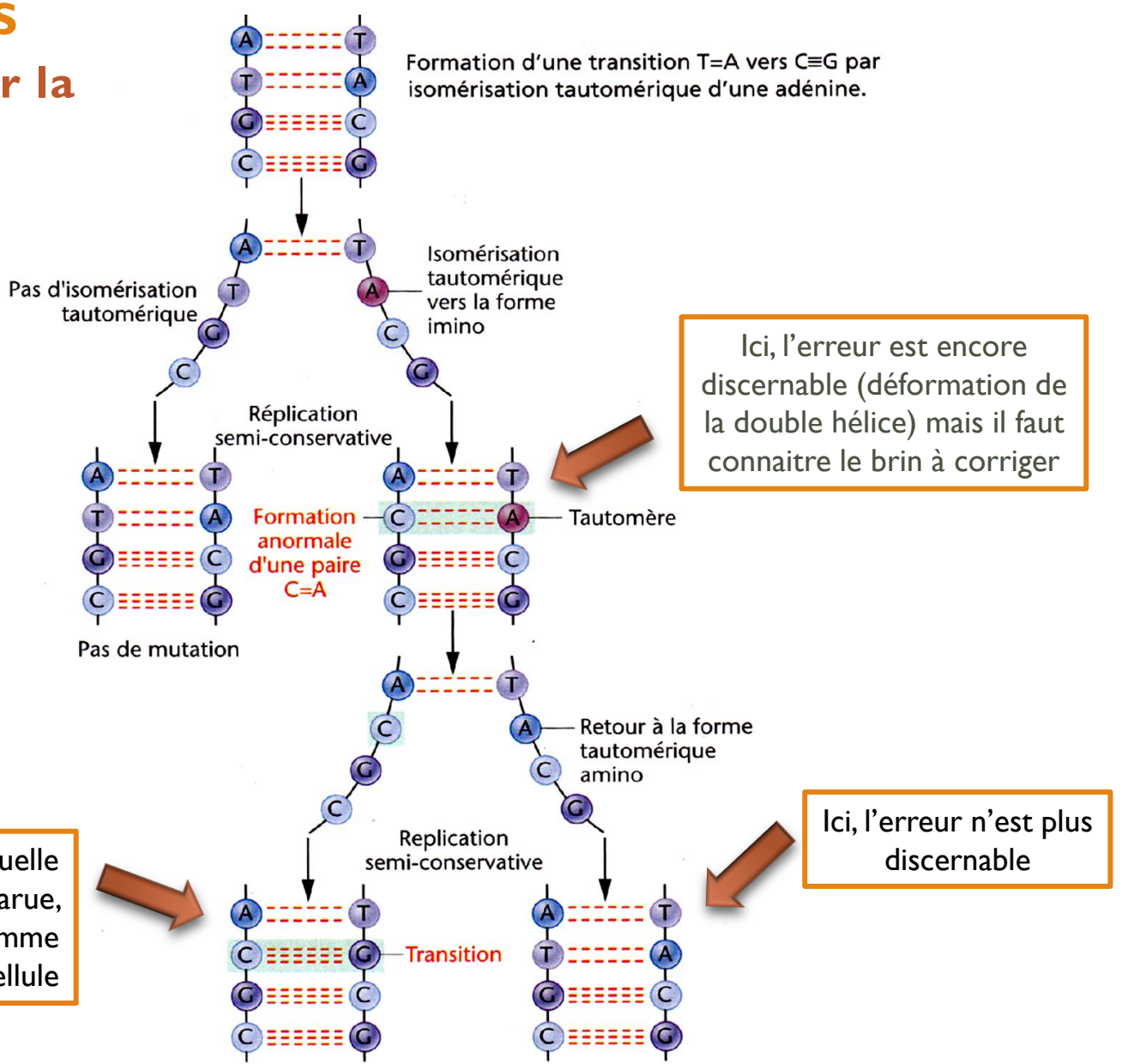
Formes rares
1/10 000

D. LES ERREURS DE COPIES ET LES MÉCANISMES DE CORRECTIONS

1. Les mésappariements, causés par la tautomérie des bases azotées

- Si conversions lors de la réplication de l'ADN ⇨mutations

→ **Nécessité de corriger les erreurs d'appariements**



Ici, l'erreur est encore discernable (déformation de la double hélice) mais il faut connaitre le brin à corriger

Ici, une mutation ponctuelle (substitution) est apparue, non discernable comme « erreur » par la cellule

Ici, l'erreur n'est plus discernable

D. LES ERREURS DE COPIES ET LES MÉCANISMES DE CORRECTIONS

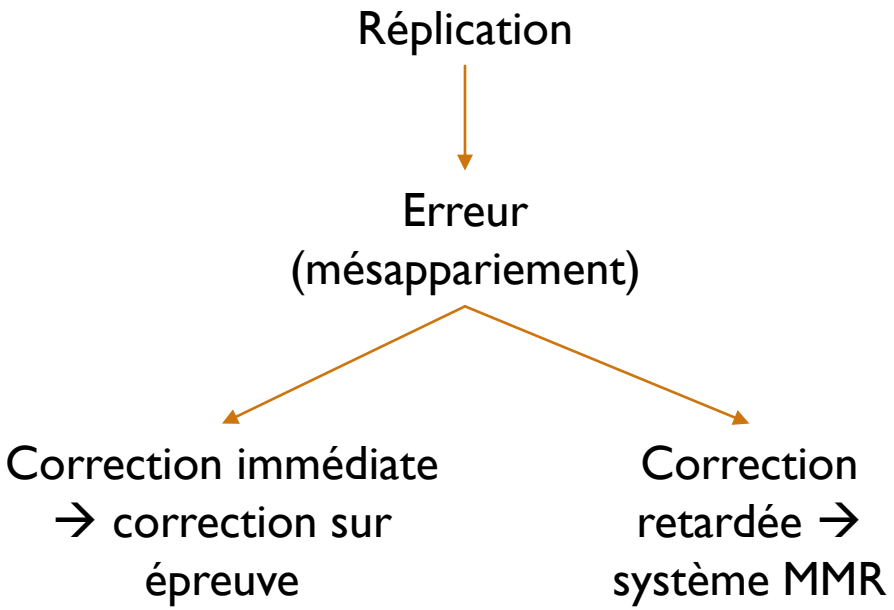
1. Les mésappariements, causés par la tautomérie des bases azotées

- Chez les eubactéries, le taux d'erreurs de réplication lié à la tautomérie devrait être de $\mathbf{10^{-4}}$

- **En réalité,** le taux d'erreurs observées dans la cellule n'est que $\mathbf{10^{-8}}$ **à** $\mathbf{10^{-9}}$ (~1 erreur /1000 cycles de réplication)

  → Il existe des mécanismes qui permettent de limiter ces erreurs

- 2 systèmes de réparation des erreurs de réplication :
  - Correction lors de la réplication par les ADN polymérases
  - Correction post-réplication par le système MMR



D. LES ERREURS DE COPIES ET LES MÉCANISMES DE CORRECTIONS

2. Les systèmes de corrections des mésappariements au cours de la réplication

2.1. Correction sur épreuve

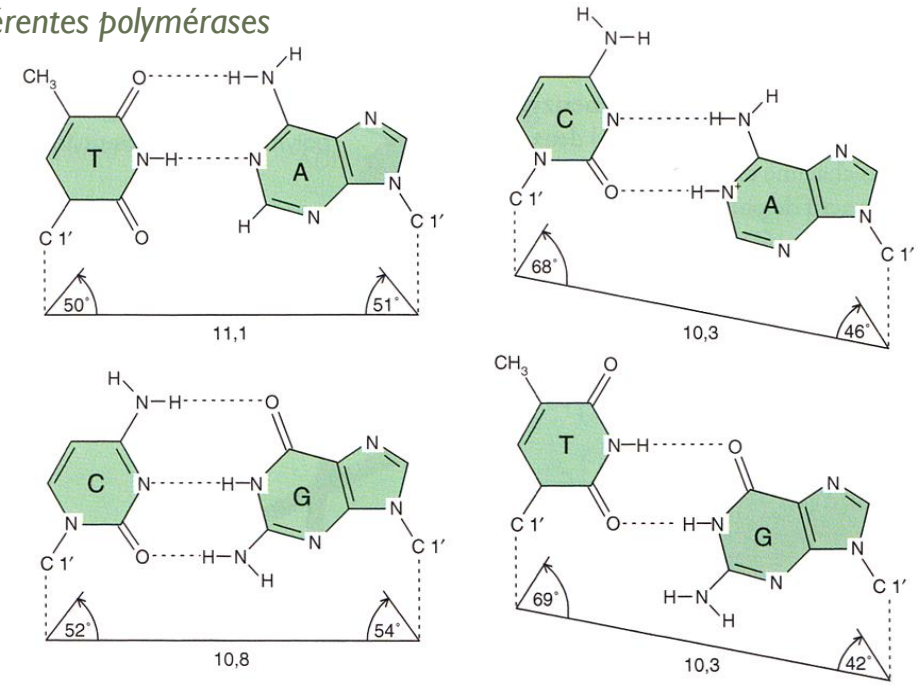
- Chez Eubactéries, 3 principales ADN polymérases (ADN pol I, II et III) → rôles différents.

	ADN pol I	ADN pol II	ADN pol III
Nb / bactérie	300-400	40-50	15
Fonctions	Synthèse d'ADN 5' → 3'		
	Exonucléase 3' → 5'		
	Exonucléase 5' → 3'	_	_
Rôle	Réplication Réparation +++	Réparation +	Réplication Réparation +

Rôle des différentes polymérases

- Moyens d'éviter les erreurs de copie pour ADN pol :
  - Complémentarité des bases N (liaisons H fortes) → ↑ proba de polymérisation
  - Encombrement stérique des bases N
  - Ajustement induit lors de la synthèse

- Si cependant un mésappariement se produit, elles peuvent l'éliminer grâce à leur fonction exonucléase 3' → 5'



Encombrement stérique des bases

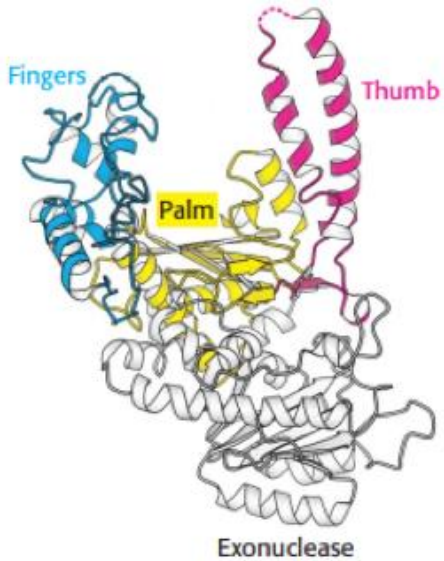
D. LES ERREURS DE COPIES ET LES MÉCANISMES DE CORRECTIONS

2. Les systèmes de corrections des mésappariements au cours de la réplication

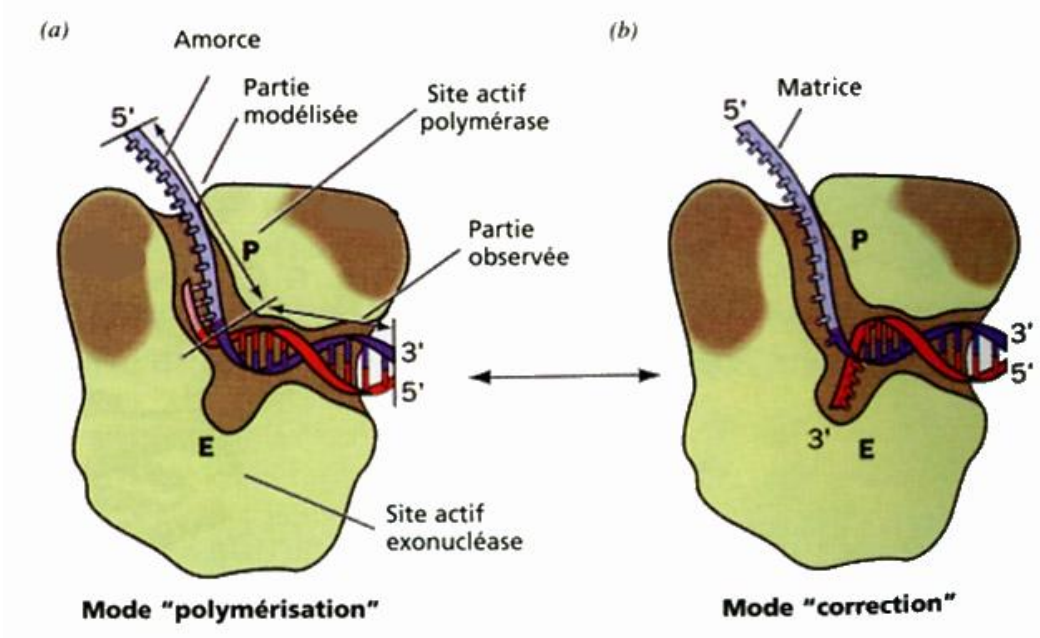
2.1. Correction sur épreuve

- ADN pol I = polymérase la plus active dans la réparation

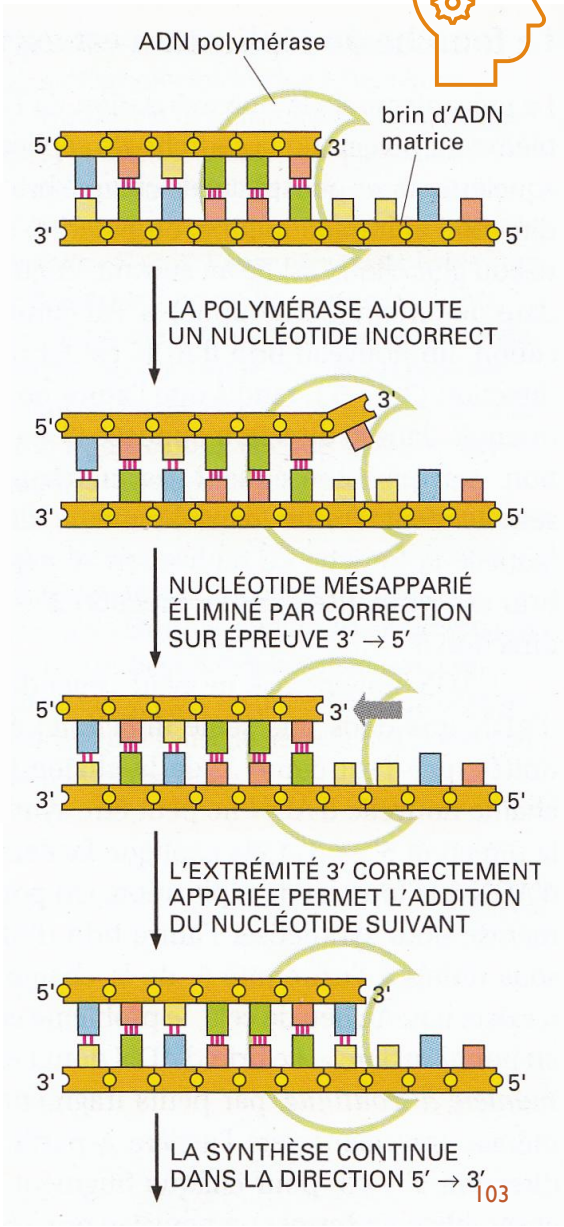
- ADN pol I = plusieurs régions :
  - Une région polymérase 5' → 3'
  - Une région exonucléase 5' → 3'
  - Une région exonucléase 3' → 5'



Structure de l'ADN pol I en forme de main



- Fonctionnement :
  - L'ADN Pol avance pb par pb
  - Si elle tombe sur un mauvais appariement, elle s'arrête et recule pour enlever le mauvais appariement.

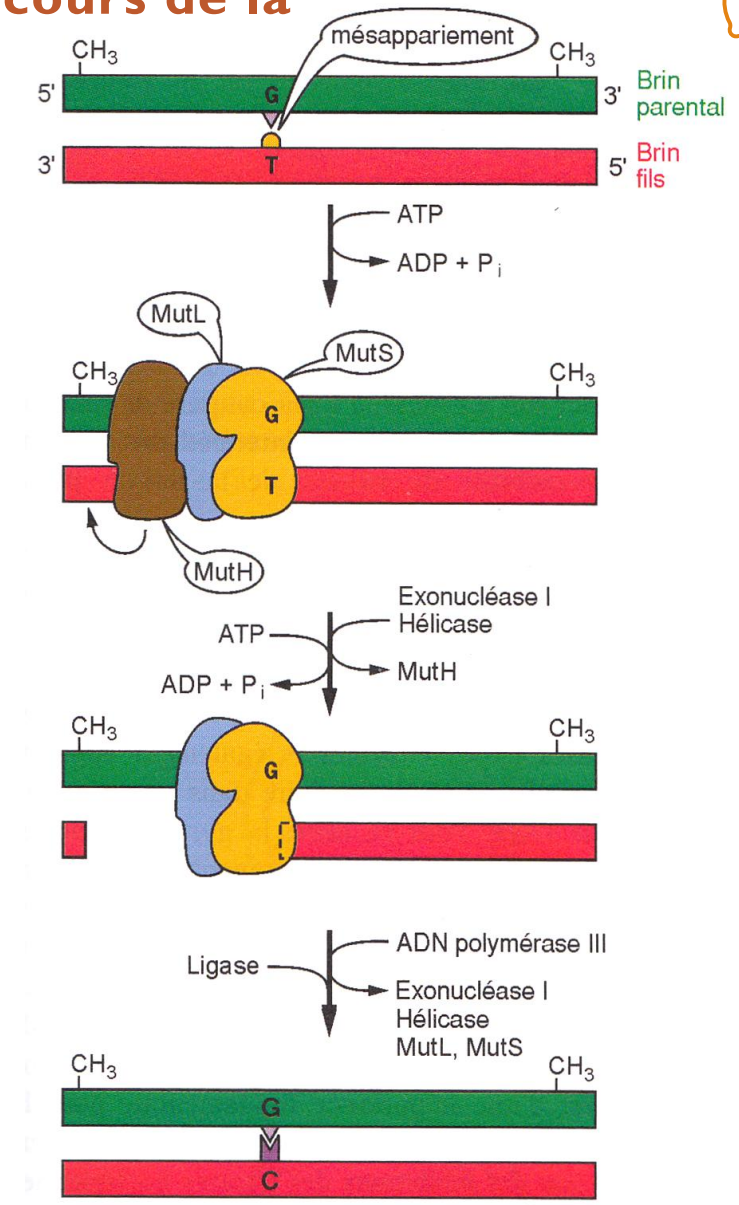


D. LES ERREURS DE COPIES ET LES MÉCANISMES DE CORRECTIONS

2. Les systèmes de corrections des mésappariements au cours de la réplication

2.2. la correction des mésappariements persistants : MMR

- **MMR** = **DNA M**is**M**atch **R**epair
- Système MMR intervient quand une erreur persiste malgré la correction sur épreuve.
- Il suit le complexe de réplication de près pour intervenir
- Trois protéines : Mut S, Mut L, Mut H
- **Fonctionnement**
  - Reconnaissance du mésappariement
  - Identification du brin néosynthétisé (par le moindre degré de méthylation des séquences GATC)
  - Clivage du brin néosynthétisé qq nt autour du mésappariement
  - Resynthèse et ligation



SV-F-1-2 La transmission de l'information génétique au cours des divisions cellulaires chez les Eucaryotes

PLAN DU COURS

I. Le cycle cellulaire des Eucaryotes

A. Le rôle des divisions au sein du cycle cellulaire

B. La particularité des cellules souches

C. Les phases G1 et G2 du cycle cellulaire

D. La phase S, réplication de l'ADN

E. La phase M du cycle cellulaire

F. La quantité d'ADN au cours du cycle

G. L'existence de points de contrôle du cycle cellulaire

II. Les mécanismes moléculaires de la réplication, une reproduction plus ou moins conforme

A. La réplication de l'ADN, un processus semi-conservatif

B. L'observation d'œil de réplication chez les eucaryotes et les procaryotes

C. Les étapes de la réplication

D. Les erreurs de copies et les mécanismes de corrections

E. Le principe de la PCR et ses applications

III. La mitose et la méiose: des divisions conduisant à une répartition de l'information génétique

A. Les différentes étapes de la mitose et de la méiose

B. Le rôle du cytosquelette dans la division cellulaire

E. LE PRINCIPE DE LA PCR ET SES APPLICATIONS

1. Le principe de la PCR

1.1. Définition

PCR = polymerase chain reaction
(réaction en chaine de la polymerase)

Prix Nobel 1993

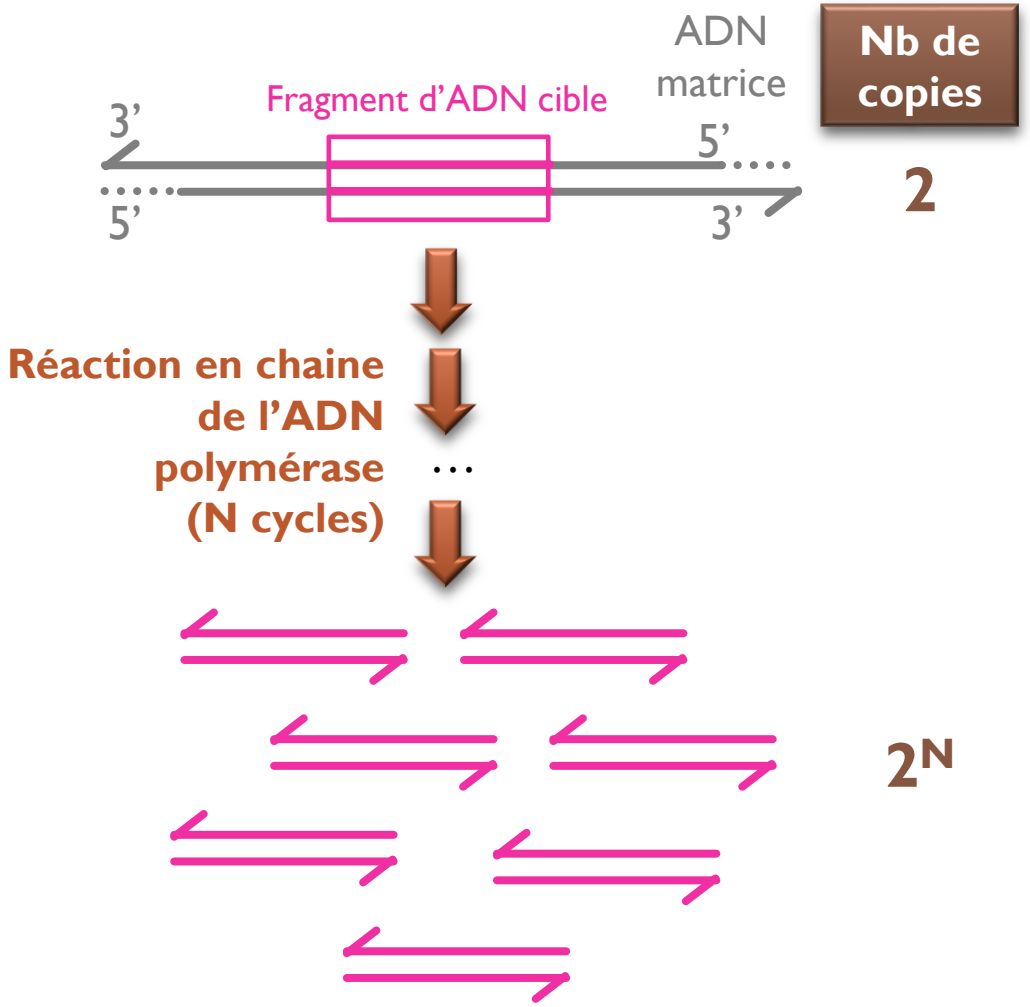
Objectif :

- Amplifier (répliquer en de nombreuses copies) spécifiquement un fragment d'ADN donné sur un ADN matrice

Principe :

- *In vitro*, réaliser plusieurs cycles successifs de réplication du fragment d'ADN cible jusqu'à en obtenir une quantité suffisante
- Les produits de chaque cycle de synthèse sont utilisés au cycle suivant comme matrice

→ **Amplification d'une suite géométrique de raison 2 de la qté d'ADN**



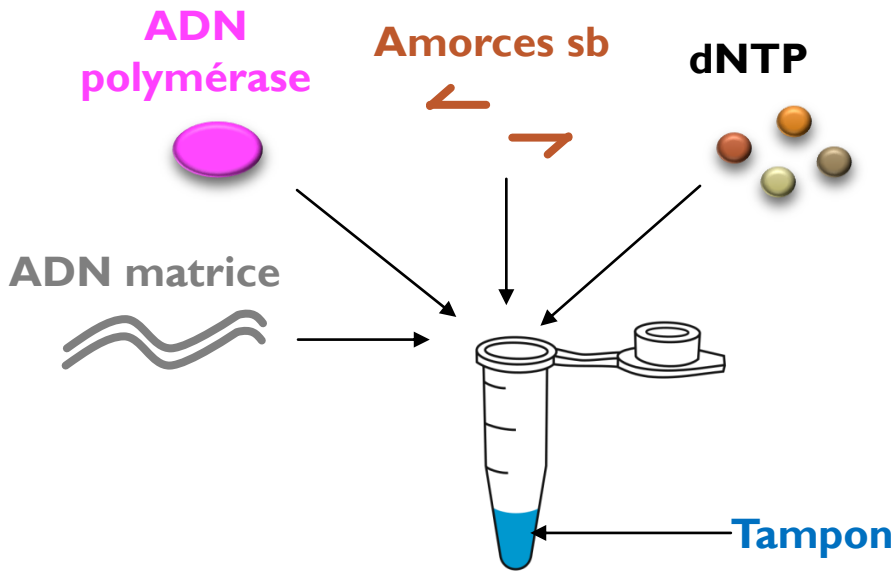
E. LE PRINCIPE DE LA PCR ET SES APPLICATIONS

1. Le principe de la PCR

1.2. Choix des amorces

Pour réaliser une PCR, il faut :

- L'ADN matrice (à copier)
- Une ADN polymérase et donc…
  - ✓ Les 4 dNTP (A,T,C G)
  - ✓ Des amorces d'ADN sb, spécifiques de l'ADN cible
  - ✓ Un tampon approprié (Mg^{2+}, pH, sels…)



Choix de l'enzyme :
On utilise souvent la Taq polymérase (*Thermophilus aquaticus polymerase*)
- ✓ Résiste aux hautes températures
- ✓ Active vers 70-80°C

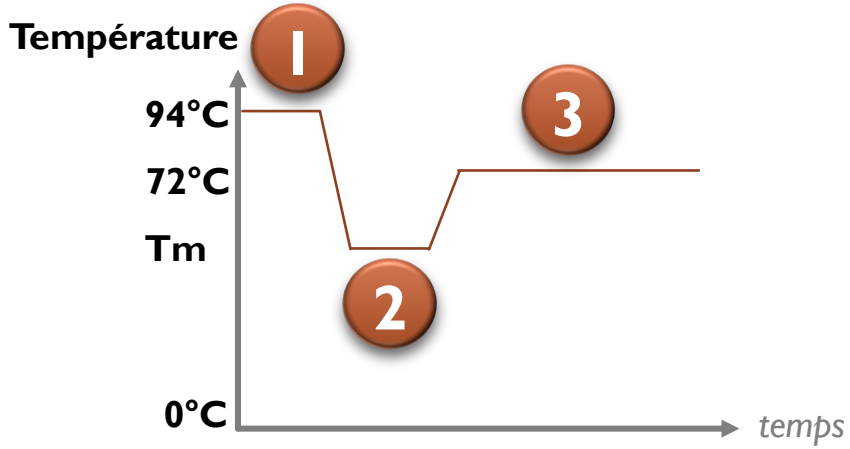
Choix des amorces :
- ✓ Spécifique du fragment à amplifier
- ✓ Sans structures secondaires
- ✓ GC% semblables

E. LE PRINCIPE DE LA PCR ET SES APPLICATIONS

1. Le principe de la PCR

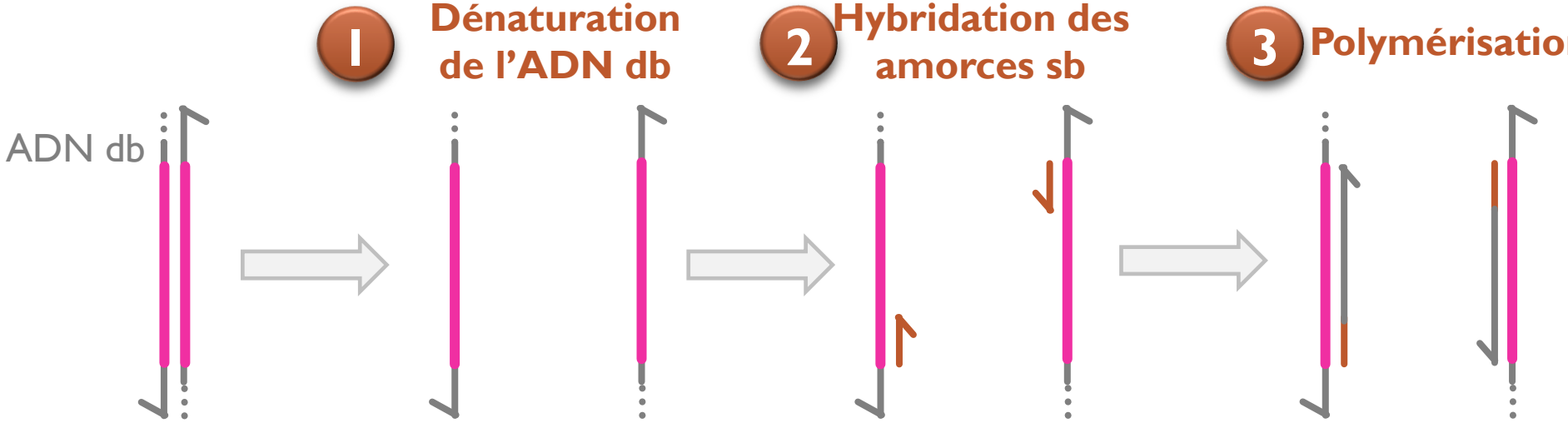
1.3. choix de la T°C d'hybridation des amorces

- Chaque cycle comprend 3 étapes.
- On passe d'une étape à l'autre par changement de température



Tm dépend des amorces (GC%)

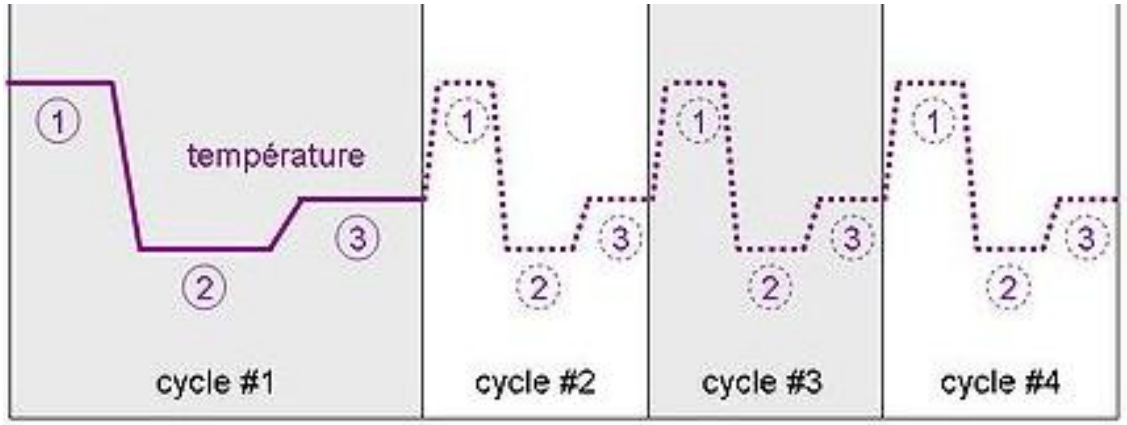
Le temps d'élongation dépend de la taille du fragment à amplifier



E. LE PRINCIPE DE LA PCR ET SES APPLICATIONS

2. Les étapes d'une PCR

- Lors d'une PCR, on réalise à la chaine **20-50 cycles de réplication**

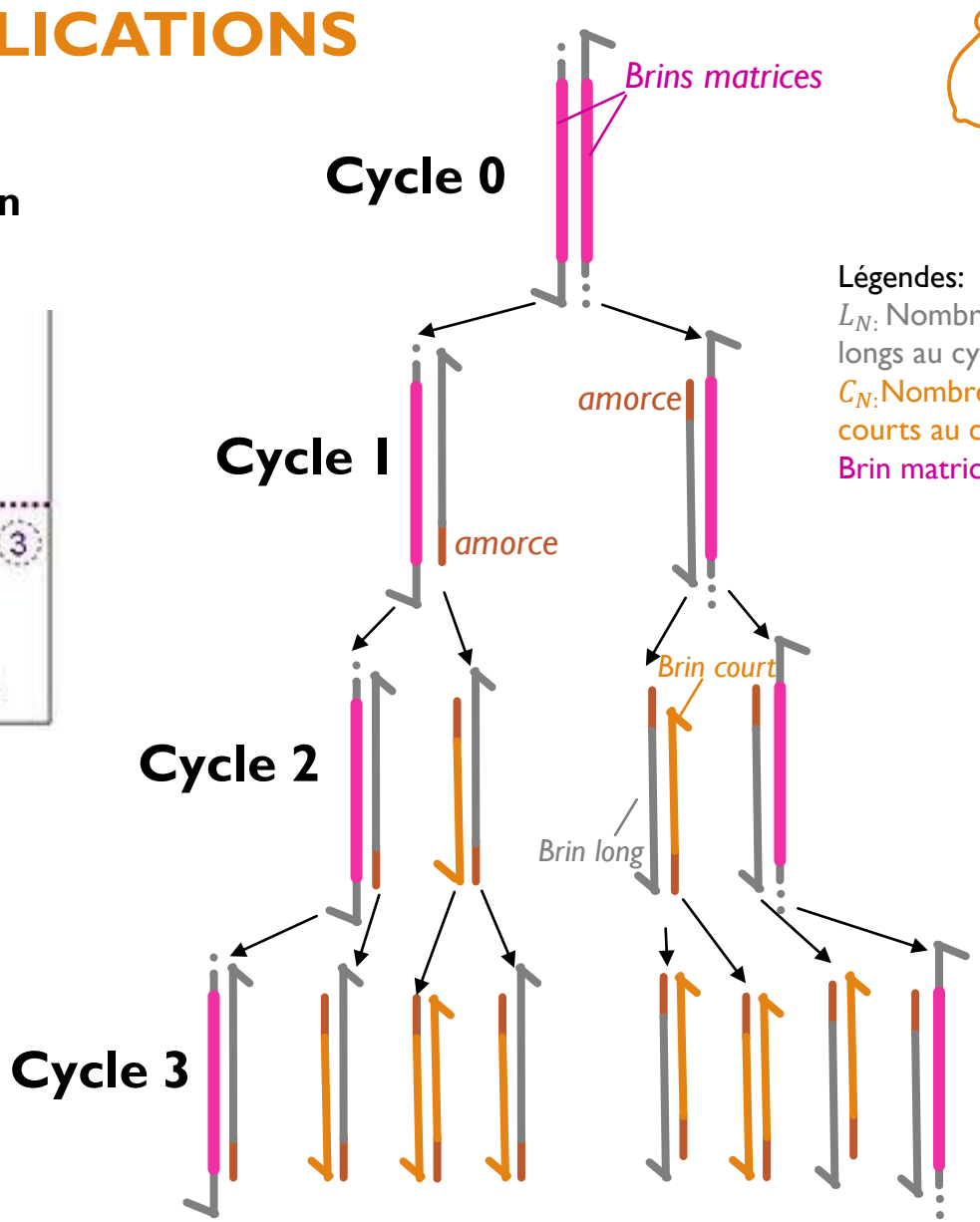


- Plus le nombre de cycle augmente, plus la quantité d'ADN correspondant juste à la séquence cible augmente.

Soit L : nombre de brins longs
Soit C : nombre de brins courts

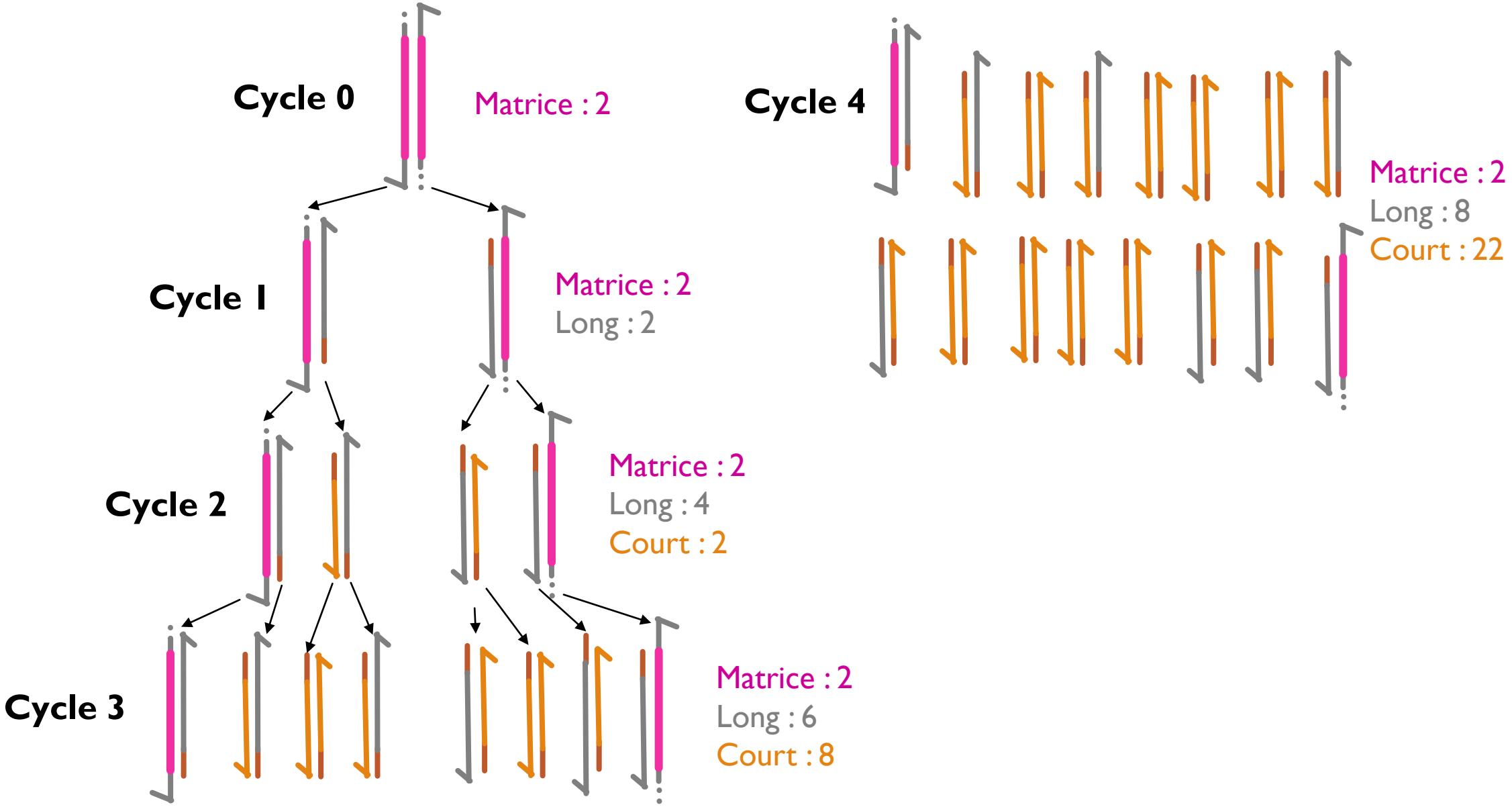
$L_{N+1} = L_N + 2 \Rightarrow L_N = 2N$

$C_{N+1} = 2xC_N + L_N \Rightarrow C_N = 2^{N+1} - 2(N+1)$



E. LE PRINCIPE DE LA PCR ET SES APPLICATIONS

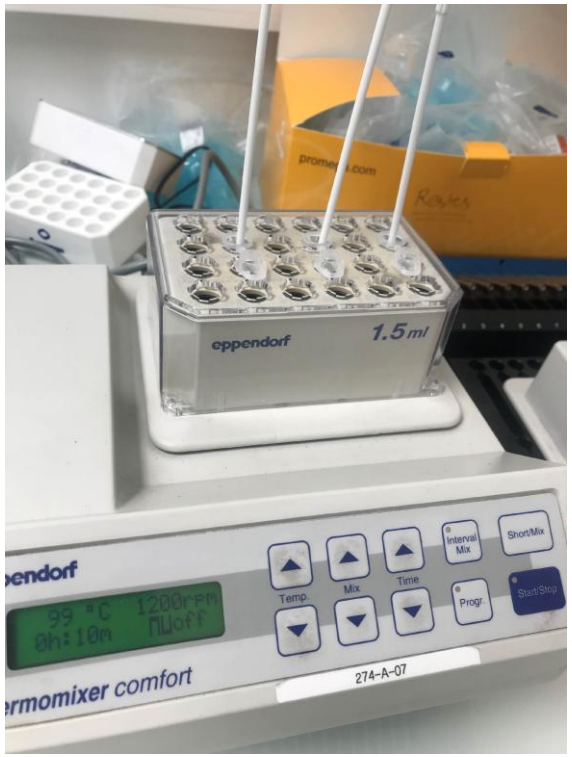
2. Les étapes d'une PCR



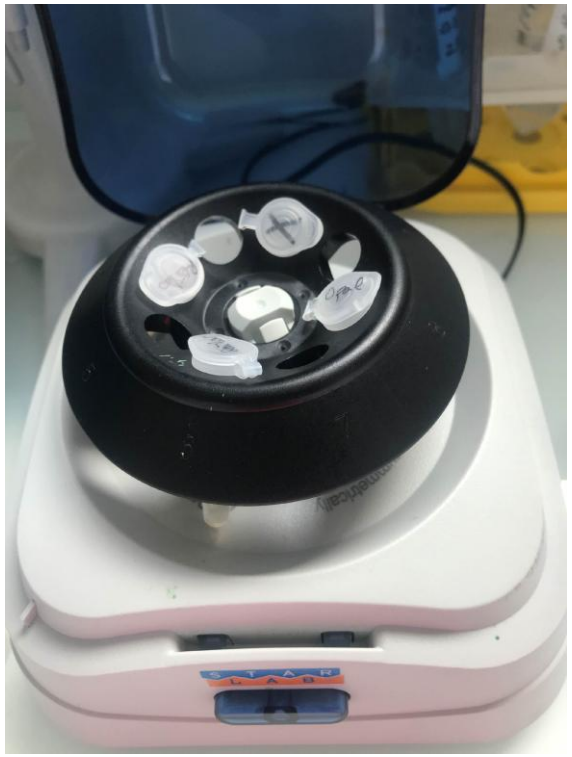
E. LE PRINCIPE DE LA PCR ET SES APPLICATIONS

3. Mise en pratique de la PCR

1 Prélèvement de cellules buccales (par écouvillonnage)



2 Extraction de l'ADN (par chauffage dans NaOH)

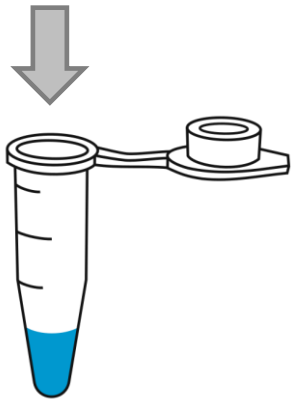


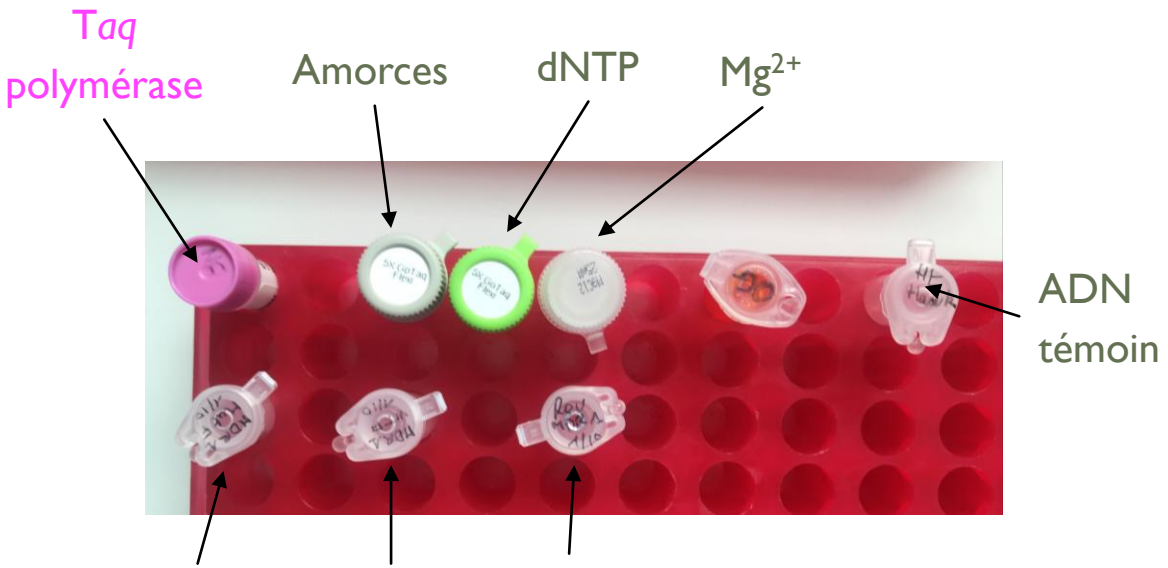
3 Isolement de l'ADN par centrifugation (culot)

E. LE PRINCIPE DE LA PCR ET SES APPLICATIONS

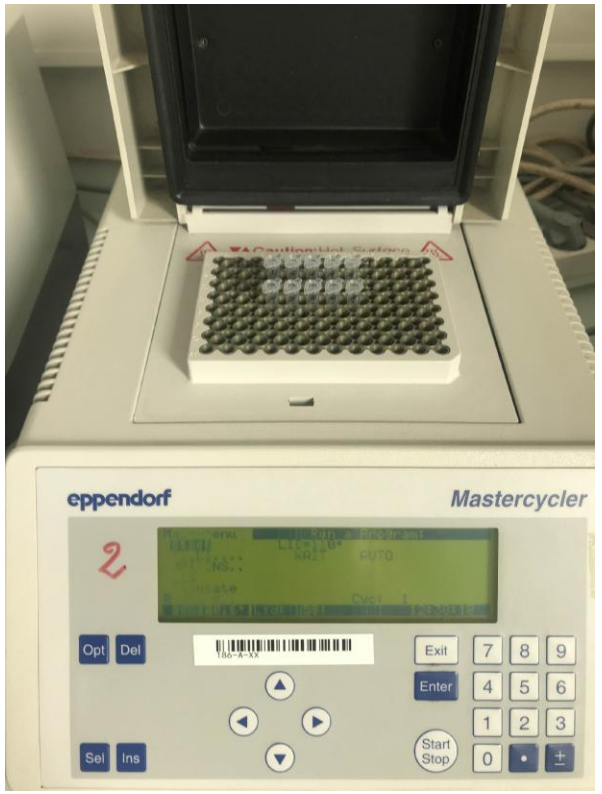
3. Mise en pratique de la PCR

4 Préparation du mélange réactionnel





5 Réalisation de la PCR dans un thermocycleur



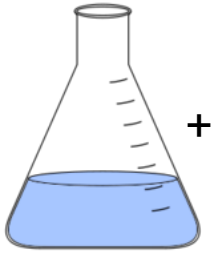
Thermocycleur programmé pour 40 cycles pour une longueur prédéfinie d'ADN à amplifier

E. LE PRINCIPE DE LA PCR ET SES APPLICATIONS

3. Mise en pratique de la PCR

6

Préparation du gel d'agarose pour électrophorèse



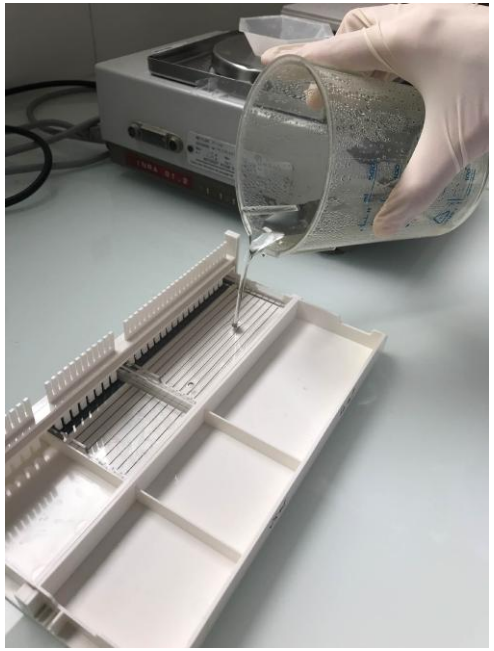
Tampon + agarose (poudre)

Chauffage au microonde

Refroidissement

7

Coulage du gel d'agarose et attente jusqu'à solidification

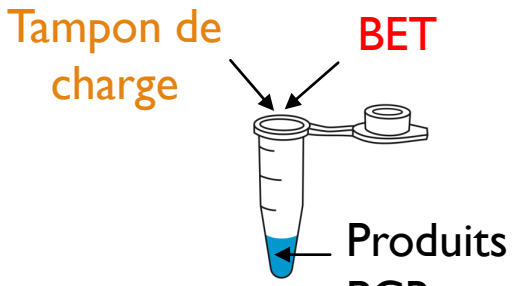


8

Transfert du gel dans la cuve d'électrophorèse

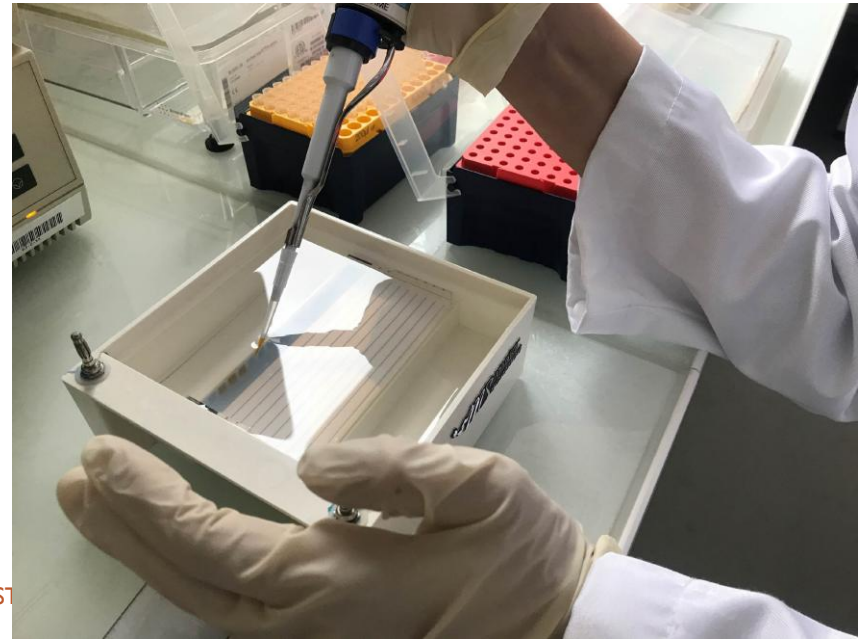
E. LE PRINCIPE DE LA PCR ET SES APPLICATIONS

3. Mise en pratique de la PCR



9 Mélange avec un marqueur d'ADN (BET, intercalant, fluo aux UV) + tampon de charge

10 Dépôt sur gel :
- produits de PCR
- marqueur de taille

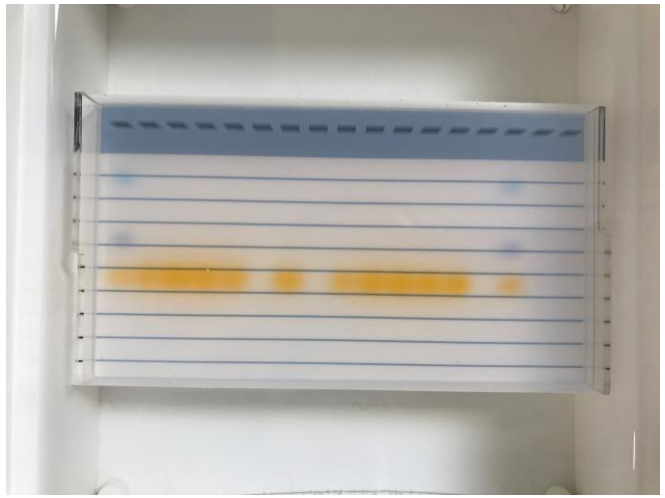


11 Réalisation de l'électrophorèse

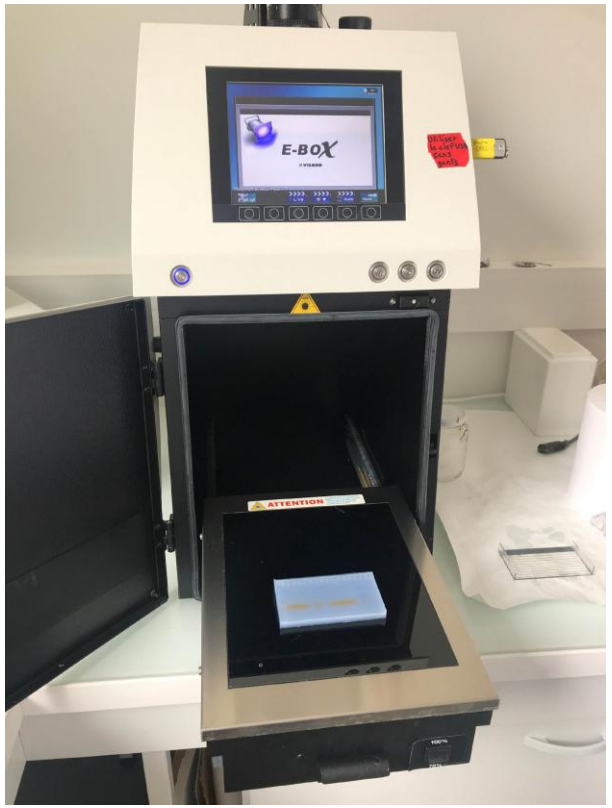
E. LE PRINCIPE DE LA PCR ET SES APPLICATIONS

3. Mise en pratique de la PCR

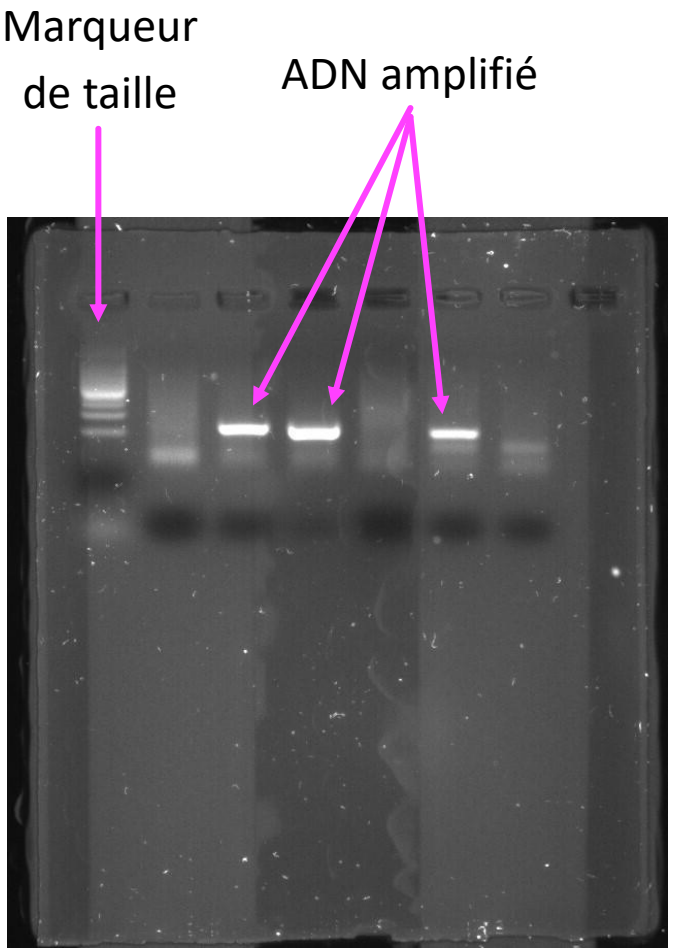
12 Révélation du gel aux UV



Gel à l'issue de l'électrophorèse, avant révélation aux UV



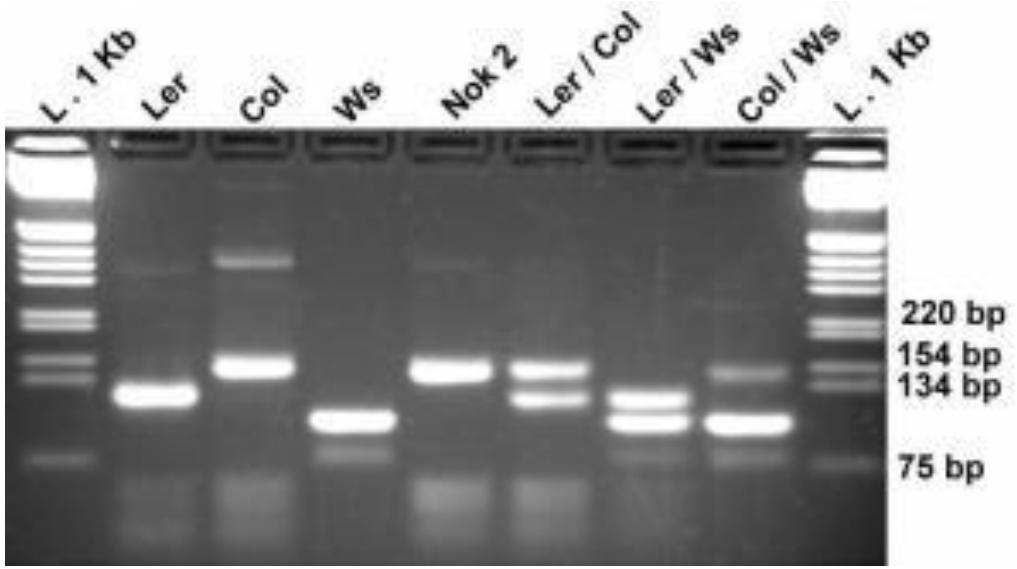
Exposition du gel aux UV pour révélation



E. LE PRINCIPE DE LA PCR ET SES APPLICATIONS

3. Mise en pratique de la PCR

3.1. Le produit de la PCR s'observe par électrophorèse



Génotypage chez *Arabidopsis thaliana*

Identifiez les homozygotes et hétérozygotes du gène considéré

E. LE PRINCIPE DE LA PCR ET SES APPLICATIONS

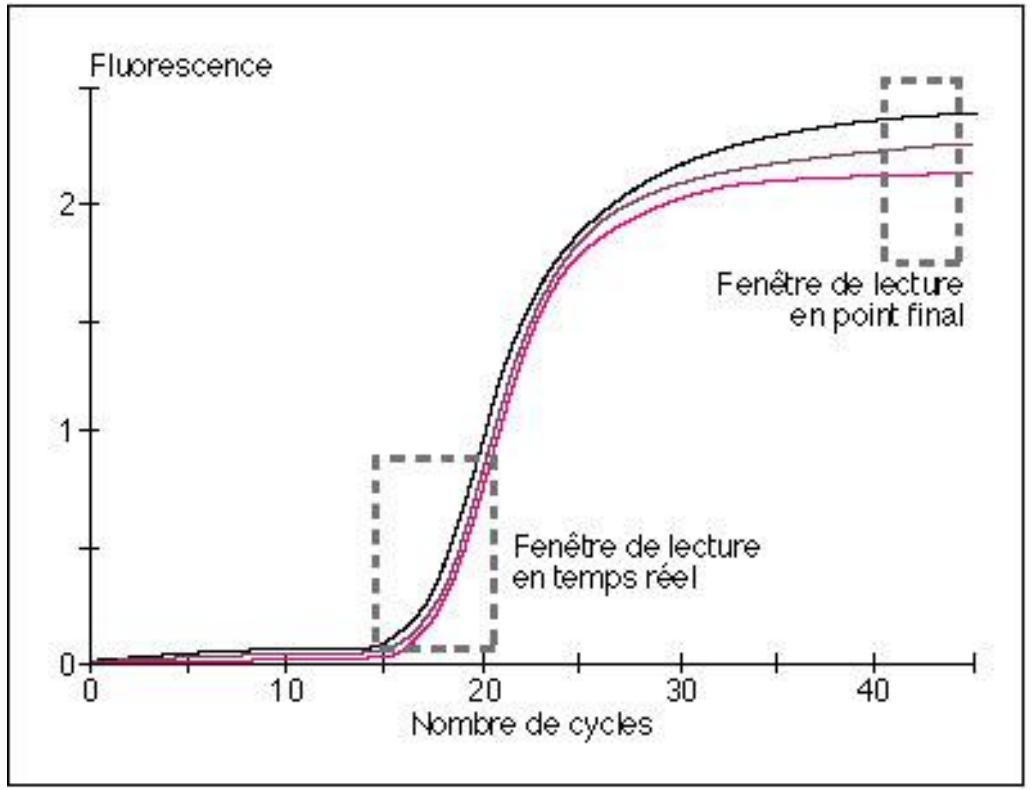
3. Mise en pratique de la PCR

3.2. RT-PCR et détection de SARS-CoV2

- Détection du SARS-Cov2 à partir d'un prélèvement nasal (par écouvillonnage)
- Tests génétiques (paternité)
- Identification de mutations
- Amplification d'ADN pour une utilisation ultérieure en biologie moléculaire (clonage, séquençage…)

Variantes :

- PCR quantitative (RT-PCR)
- PCR multiplexe
- …



Dans le cas d'une observation exponentielle des réplicons d'ADN, on conclut que l'ADN amplifié est celui supposé (déterminé par le choix des primers).

https://www.jle.com/fr/revues/vir/e-docs/quantification_par_pcr_en_temps_reel_technologie_taqman_et_applications_en_virologie_260020/article.phtml

SV-F-1-2 La transmission de l'information génétique au cours des divisions cellulaires chez les Eucaryotes

PLAN DU COURS

I. Le cycle cellulaire des Eucaryotes

A. Le rôle des divisions au sein du cycle cellulaire

B. La particularité des cellules souches

C. Les phases G1 et G2 du cycle cellulaire

D. La phase S, réplication de l'ADN

E. La phase M du cycle cellulaire

F. La quantité d'ADN au cours du cycle

G. L'existence de points de contrôle du cycle cellulaire

II. Les mécanismes moléculaires de la réplication, une reproduction plus ou moins conforme

A. La réplication de l'ADN, un processus semi-conservatif

B. L'observation d'œil de réplication chez les eucaryotes et les procaryotes

C. Les étapes de la réplication

D. Les erreurs de copies et les mécanismes de corrections

E. Le principe de la PCR et ses applications

III. La mitose et la méiose: des divisions conduisant à une répartition de l'information génétique

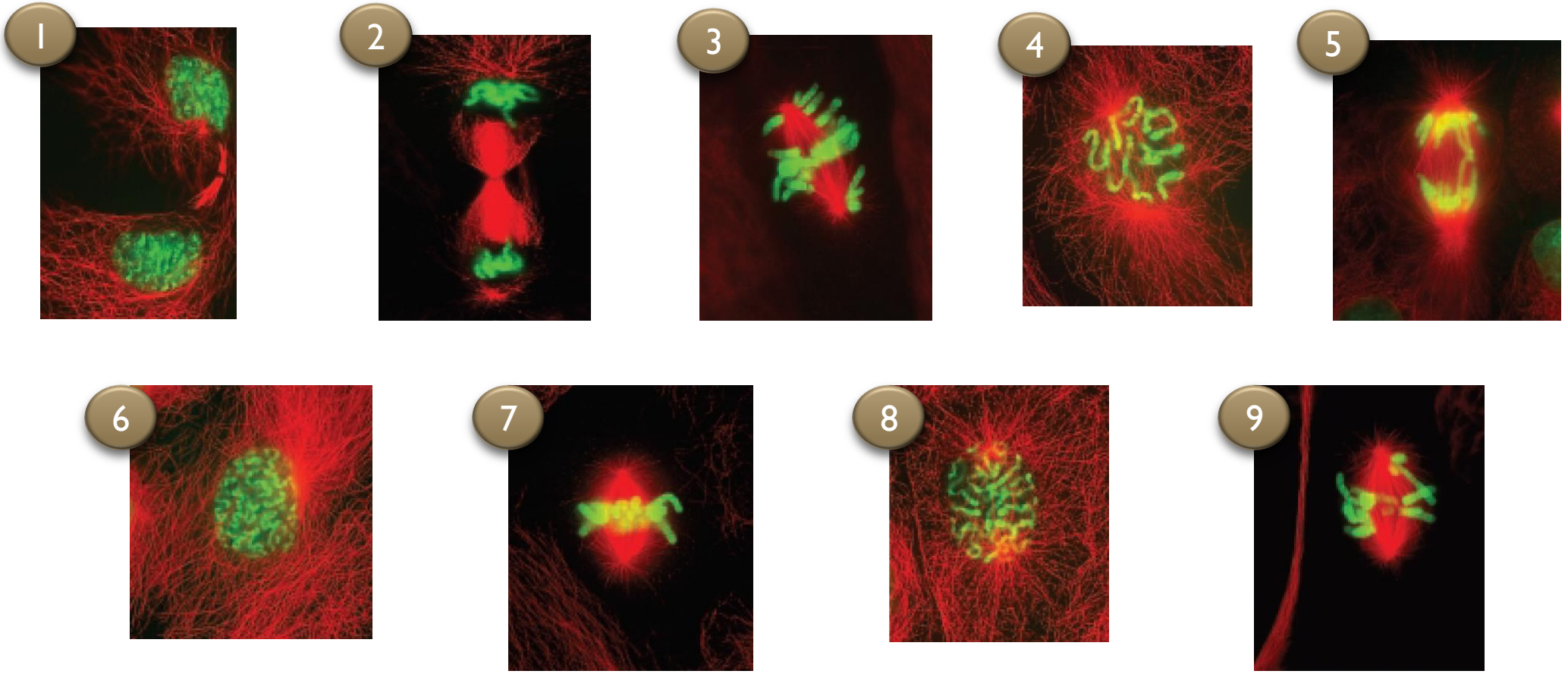
A. Les différentes étapes de la mitose et de la méiose

B. Le rôle du cytosquelette dans la division cellulaire

III. LA MITOSE ET LA MEIOSE : DES DIVISIONS CONDUISANT A UNE REPARTITION DE L'INFORMATION GENETIQUE

INTRODUCTION

Nommer et replacer les étapes de la mitose dans l'ordre



INTRODUCTION

6-8-4 : Prophase

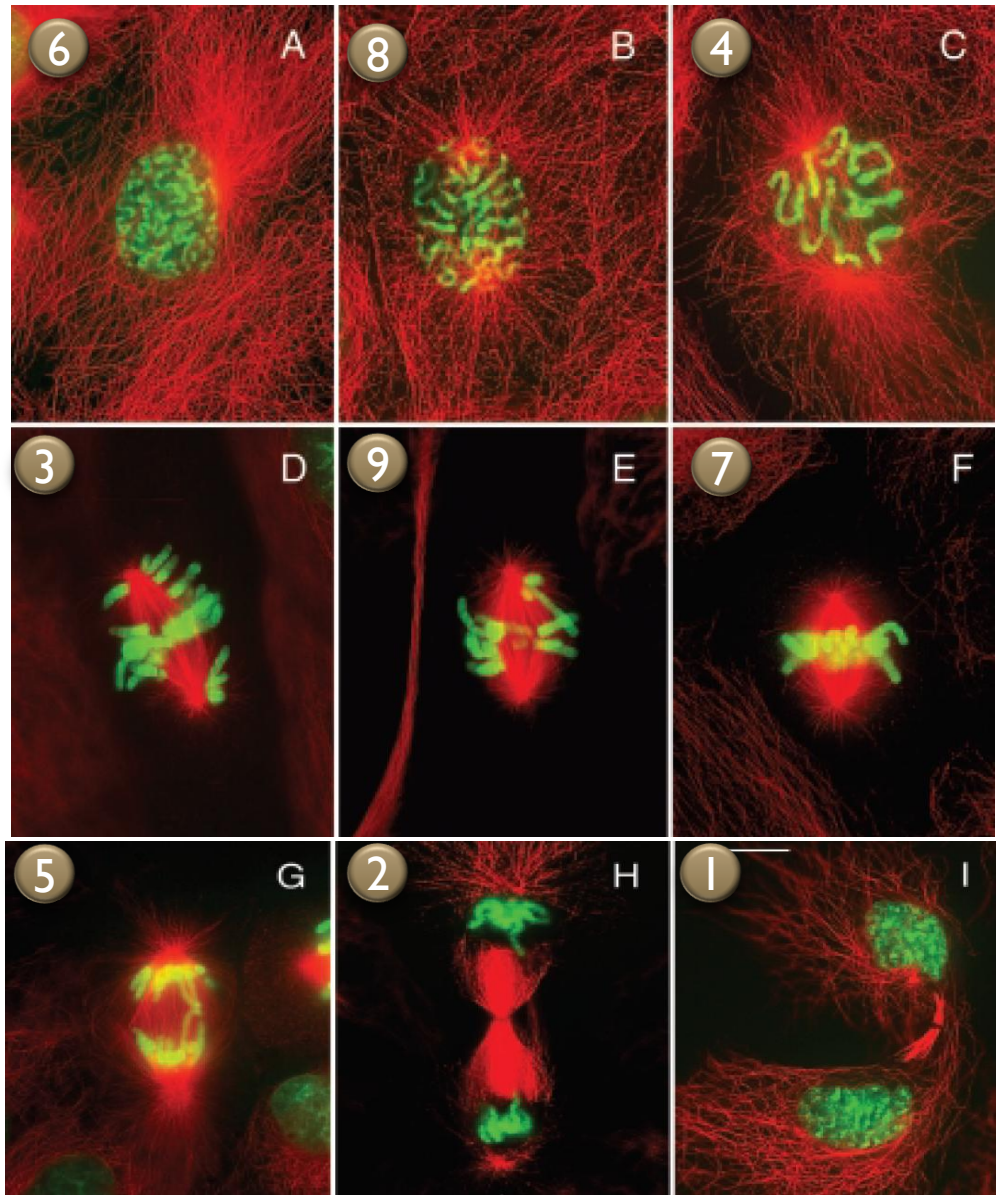
3 : Prométaphase

9-7 : Métaphase

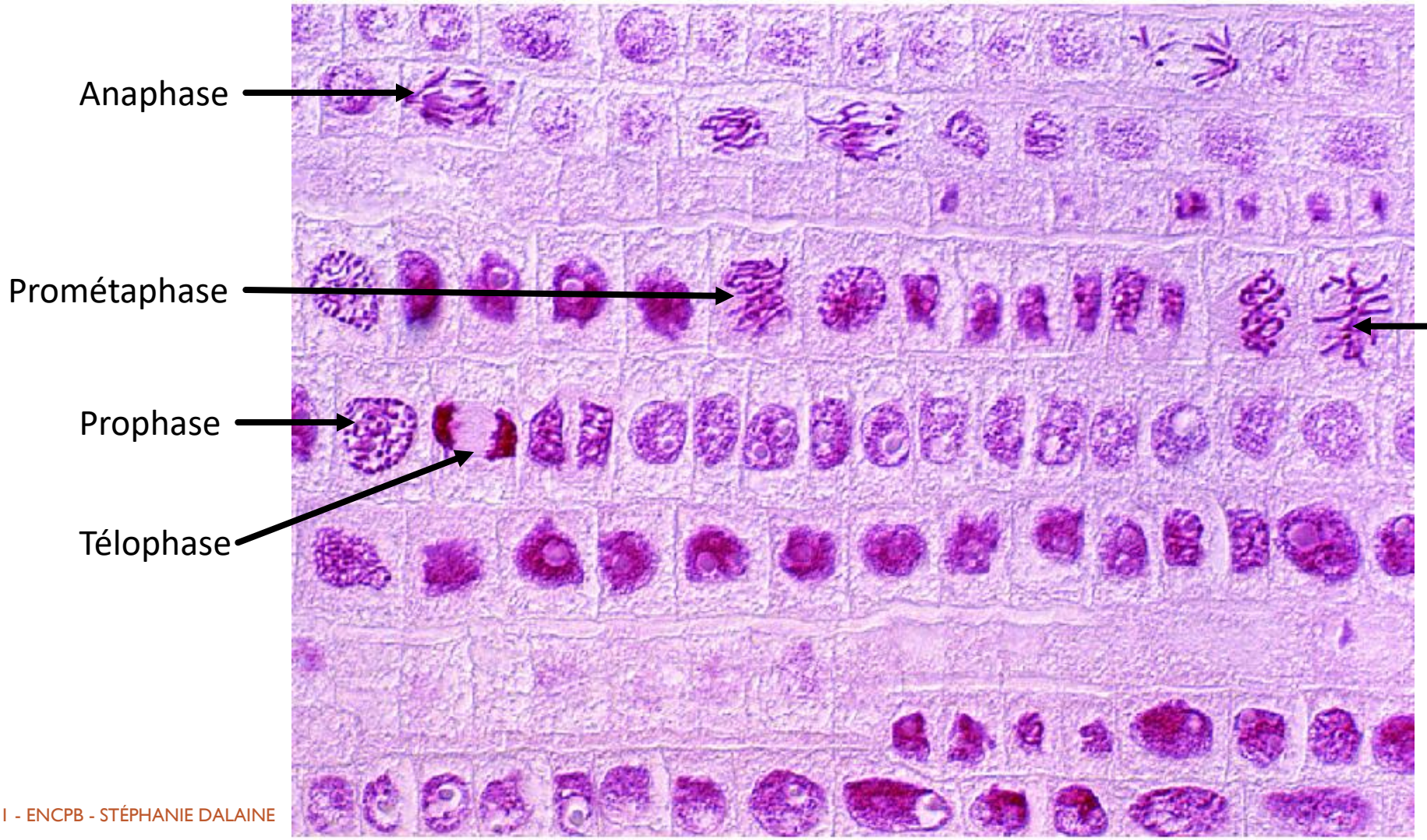
5 : Anaphase

2 : Télophase

1 : Cytocinèse



INTRODUCTION

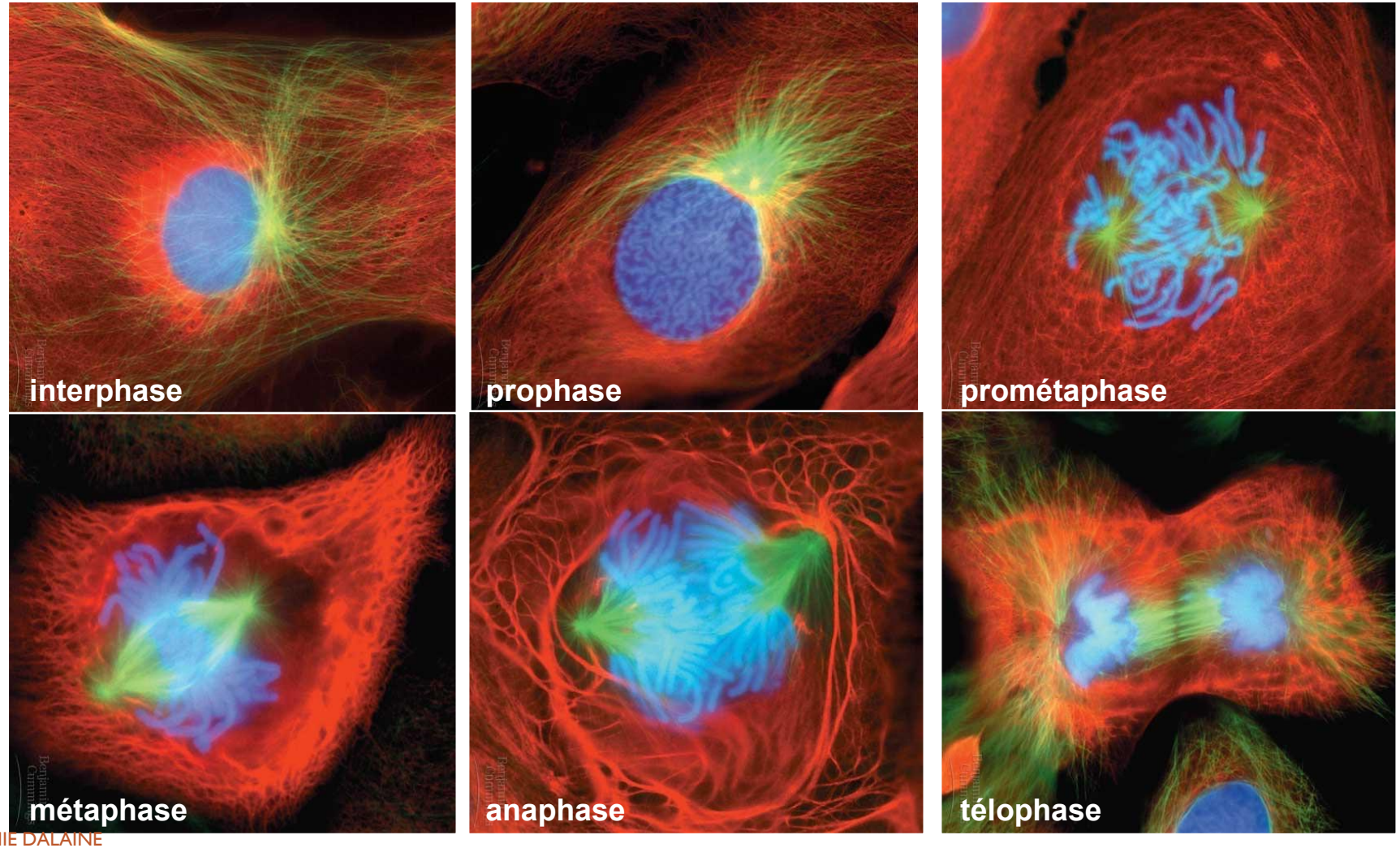


Coupe longitudinale de racine de Jacinthe, coloration Feulgen (MO)

VUE D'ENSEMBLE

Des cellules en division ont été fixées et incubées avec :

- un anticorps **anti-kératine** couplé à un fluorochrome rouge
- un anticorps **anti-tubuline**, couplé à un fluorochrome vert
- le DAPI qui s'intercale dans **l'ADN**

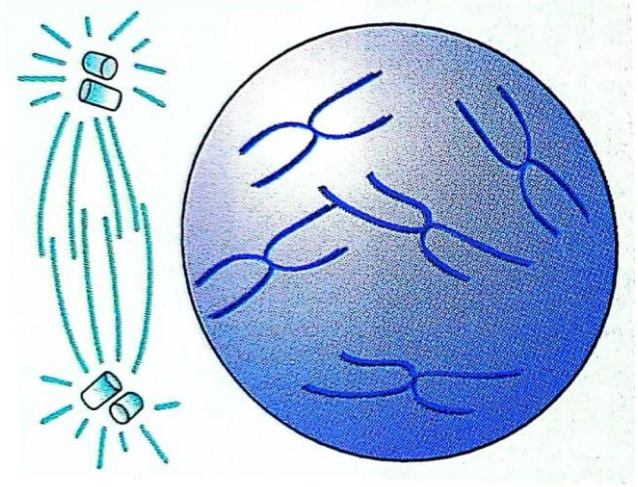


A. LES DIFFERENTES ÉTAPES DE LA MITOSE ET DE LA MÉIOSE

1. Prophase

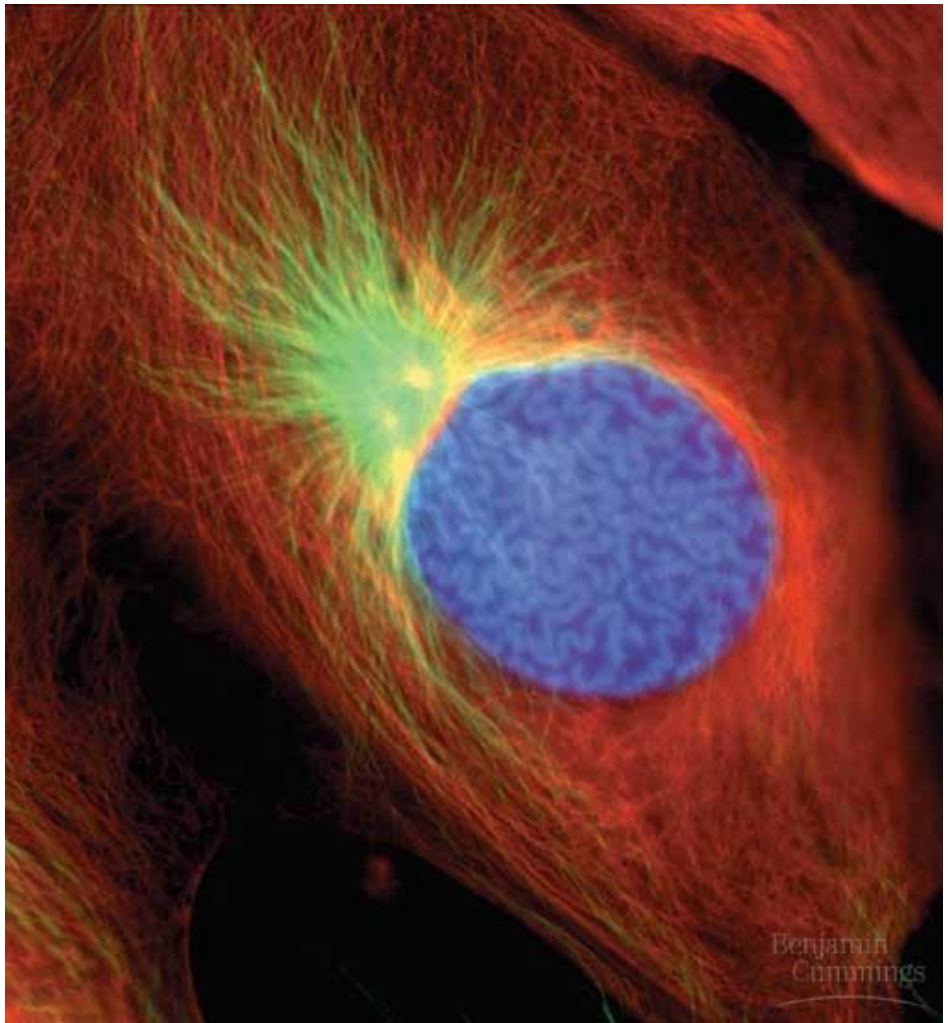
Observations :

- Chromosomes visibles
  - ➢ Début de condensation
- Forme du noyau visible
  - ➢ Enveloppe nucléaire toujours présente
- Microtubules concentrés d'un côté du noyau
- Deux centrosomes sont visibles
  - → Début de formation du fuseau mitotique



Des cellules en division ont été fixées et incubées avec :

- un anticorps **anti-kératine** couplé à un fluorochrome rouge
- un anticorps **anti-tubuline**, couplé à un fluorochrome vert
- le DAPI qui s'intercale dans **l'ADN**



A. LES DIFFERENTES ÉTAPES DE LA MITOSE ET DE LA MÉIOSE

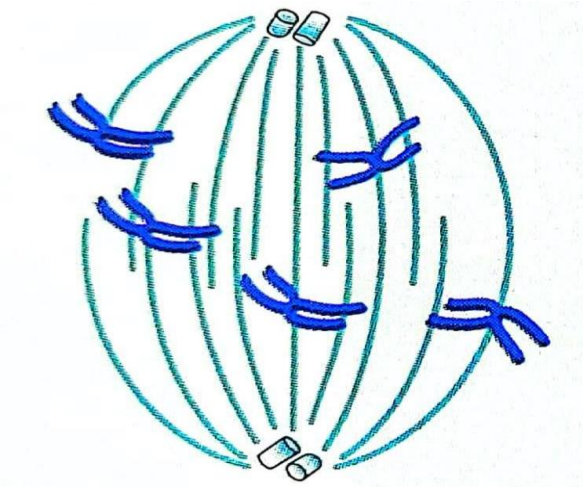
2. Prométaphase

Observations :

- Chromosomes bien individualisés
  → Condensation ↑

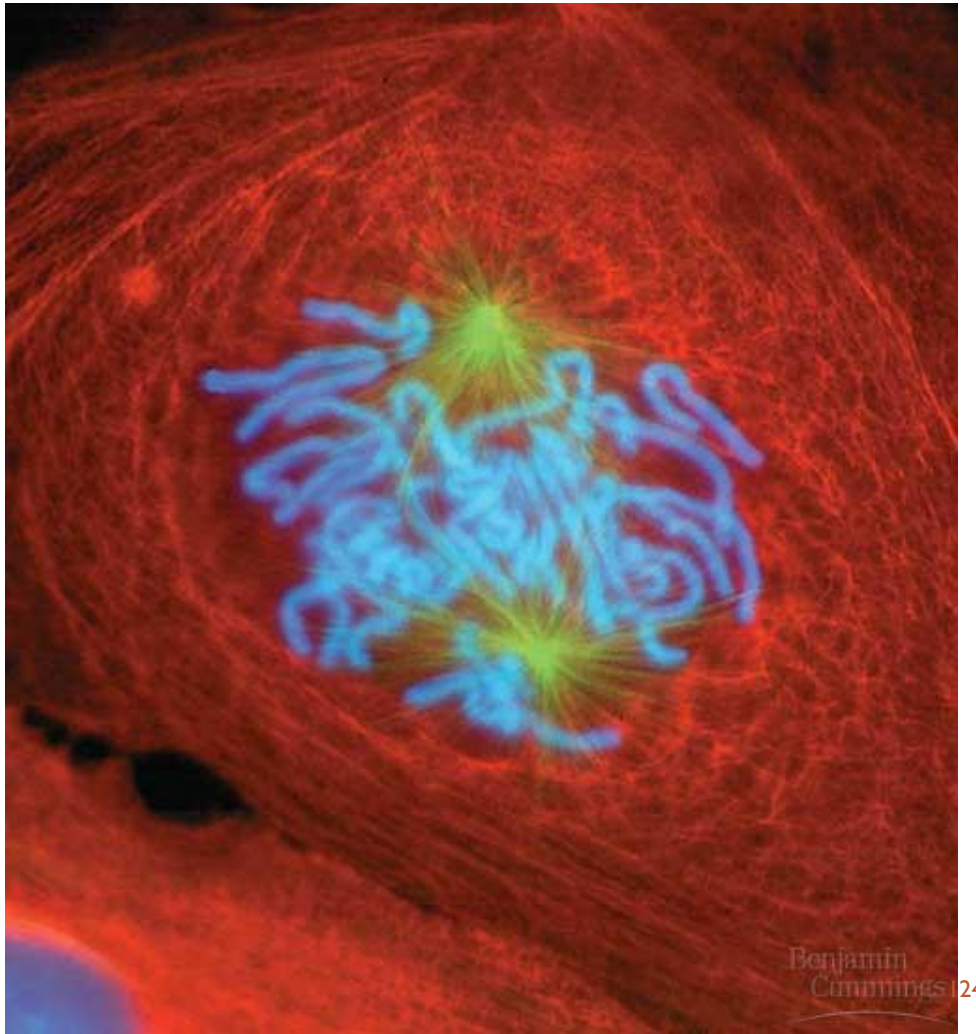
- Noyau non discernable
  - ➢ Disparition de l'enveloppe nucléaire

- Centrosomes aux pôles de la cellule
- Microtubules rayonnant depuis les centrosomes
  - ➢ Fuseau mitotique en place grâce à la polymérisation des microtubules (côté +)
  - ➢ Fixation des microtubules sur les chromosomes



Des cellules en division ont été fixées et incubées avec :

- un anticorps **anti-kératine** couplé à un fluorochrome rouge
- un anticorps **anti-tubuline**, couplé à un fluorochrome vert
- le DAPI qui s'intercale dans **l'ADN**

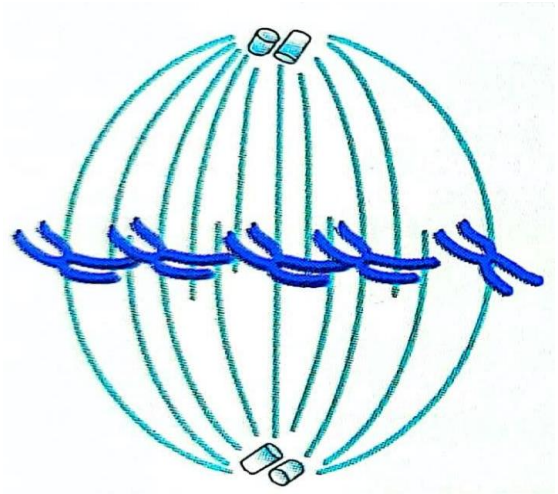


A. LES DIFFERENTES ÉTAPES DE LA MITOSE ET DE LA MÉIOSE

3. Métaphase

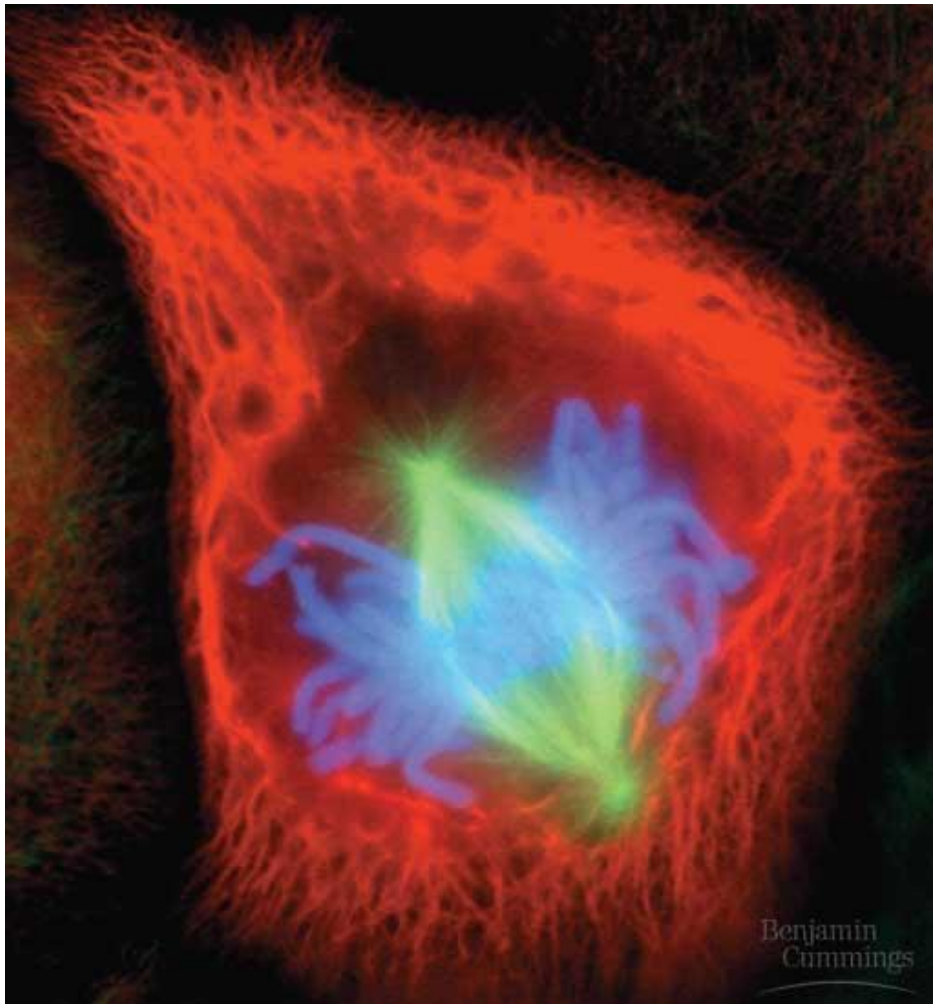
Observations :

- Centromères alignés
- Microtubules formant un réseau dense de part et d'autre des chromosomes
  - → Alignement des chromosomes sur la plaque équatoriale de la cellule sous l'influence des microtubules



Des cellules en division ont été fixées et incubées avec :

- un anticorps **anti-kératine** couplé à un fluorochrome rouge
- un anticorps **anti-tubuline**, couplé à un fluorochrome vert
- le DAPI qui s'intercale dans **l'ADN**



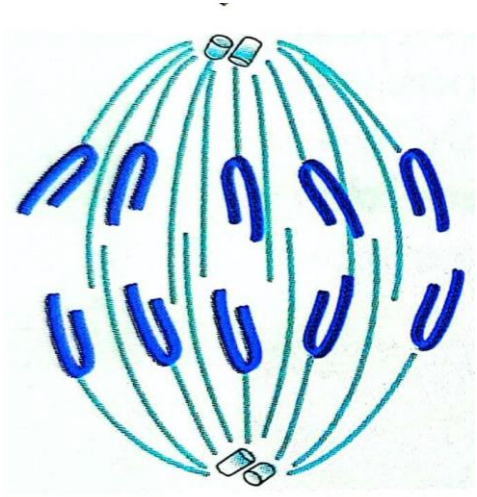
A. LES DIFFERENTES ÉTAPES DE LA MITOSE ET DE LA MÉIOSE

4. Anaphase

Observations :

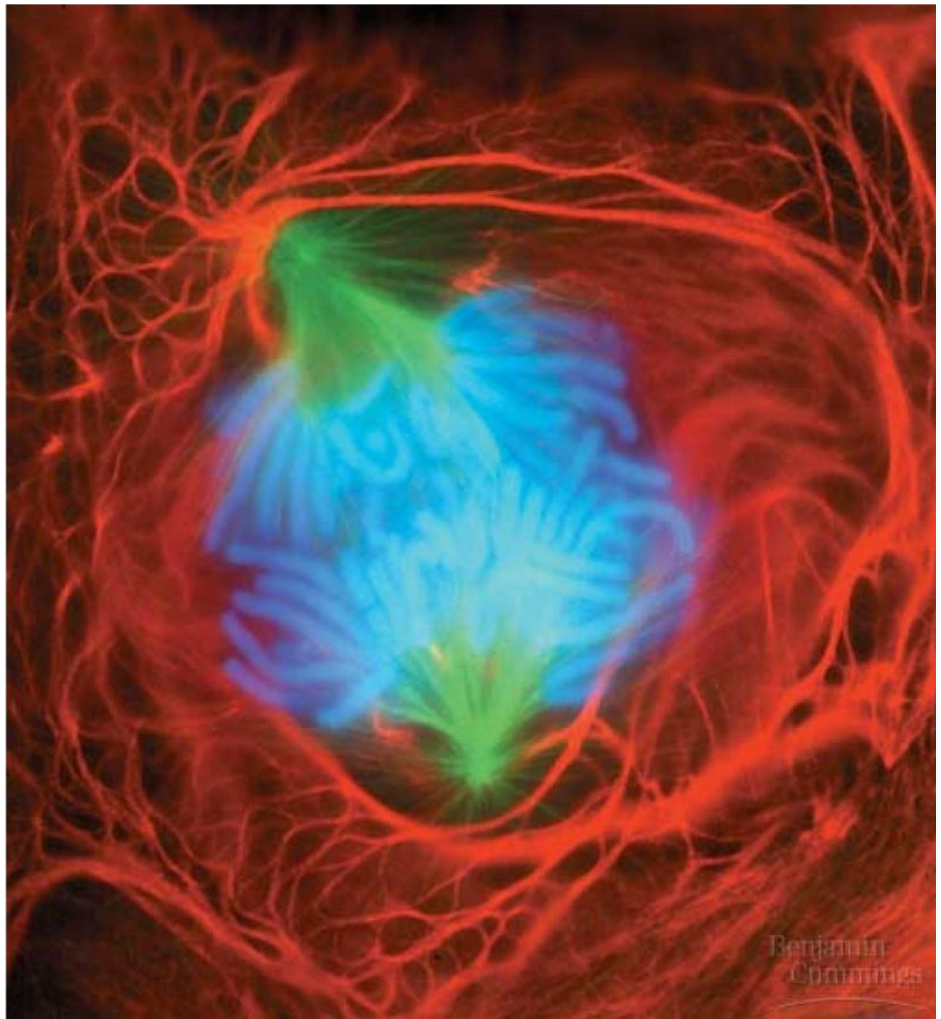
- Chromosomes séparés en 2 lots
- Disjonction au niveau des centromères
- Microtubules formant un réseau d'un côté de chaque lot de chromosomes

  → Séparation des 2 chromatides de chaque chromosome sous l'influence des microtubules



Des cellules en division ont été fixées et incubées avec :

- un anticorps **anti-kératine** couplé à un fluorochrome rouge
- un anticorps **anti-tubuline**, couplé à un fluorochrome vert
- le DAPI qui s'intercale dans **l'ADN**



A. LES DIFFERENTES ÉTAPES DE LA MITOSE ET DE LA MÉIOSE

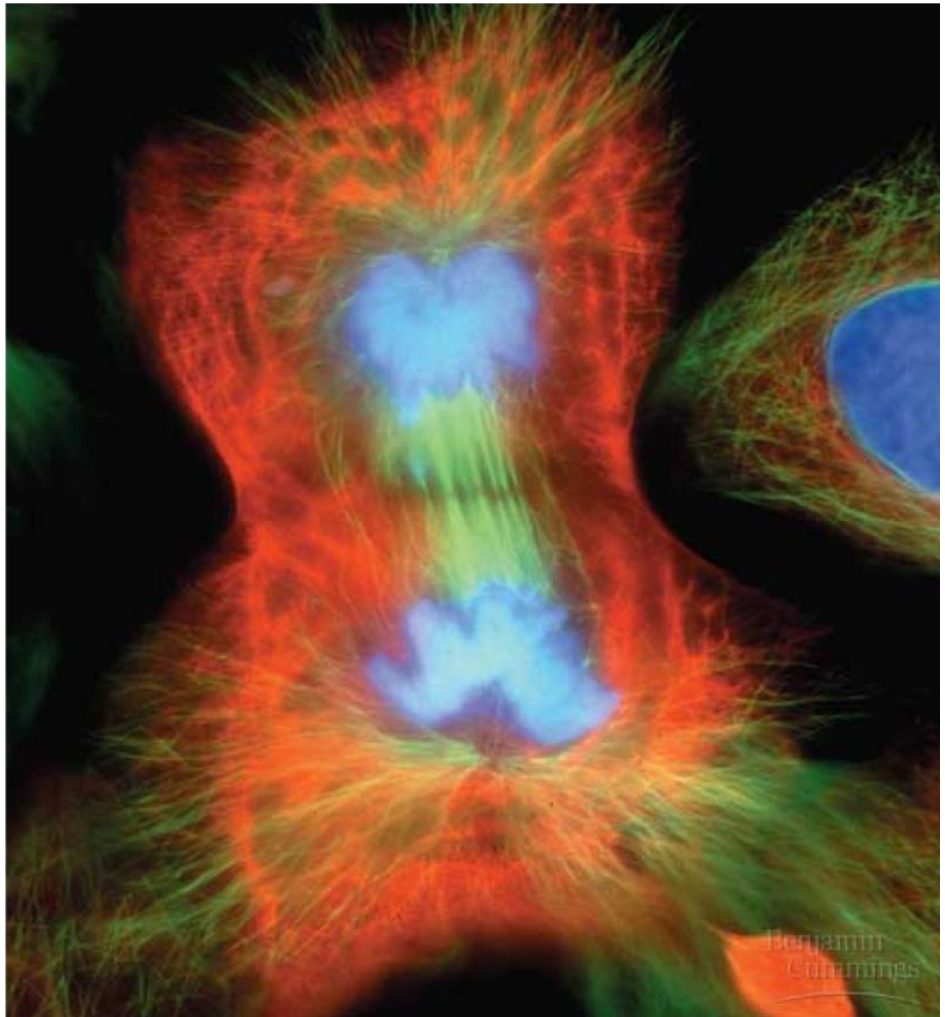
5. Télophase

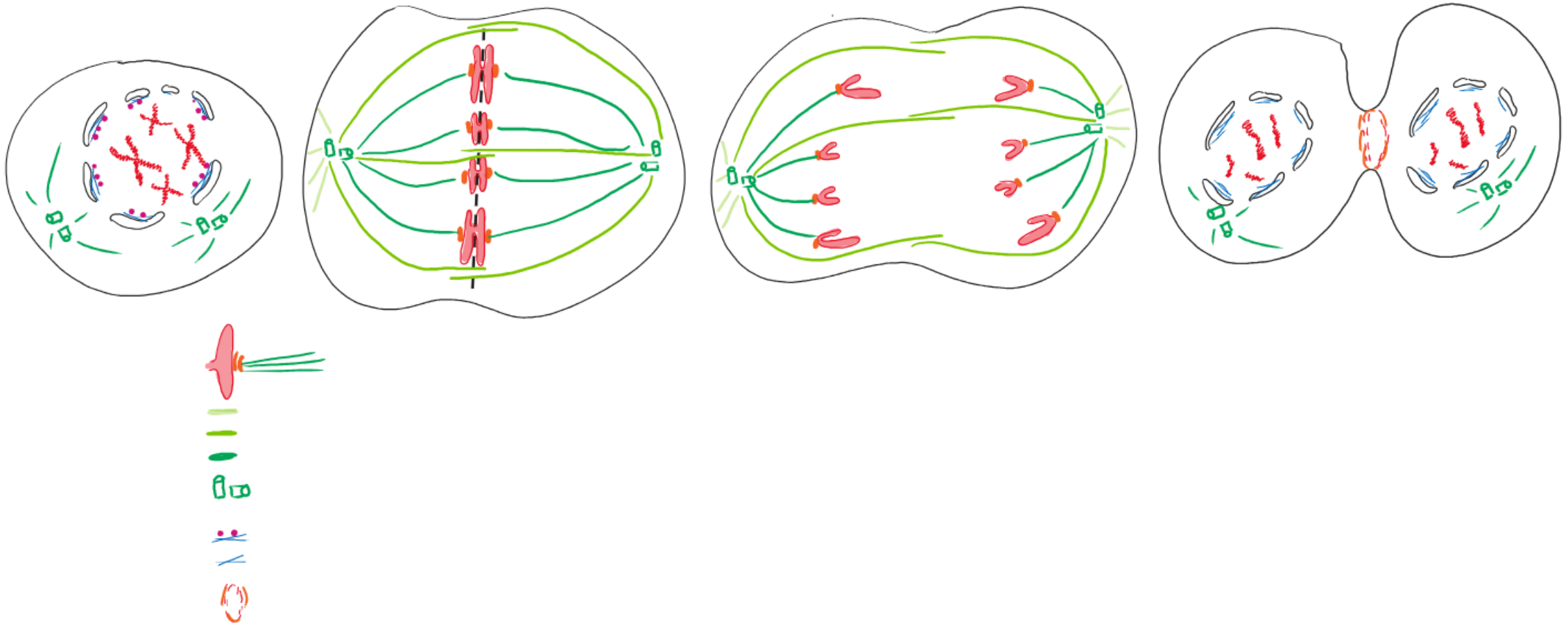
Observations :

- Chromosomes moins visibles
  - ➢ Début de décondensation
- Forme du noyau +/- visible
  - ➢ Reconstitution de l'enveloppe nucléaire
- Microtubules concentrés entre les 2 lots de chromosomes
- Début de constriction du cytoplasme visible (grâce à la kératine)
  - → Séparation du cytoplasme : c'est cytocinèse (ou cytokinèse ou cytodiérèse)

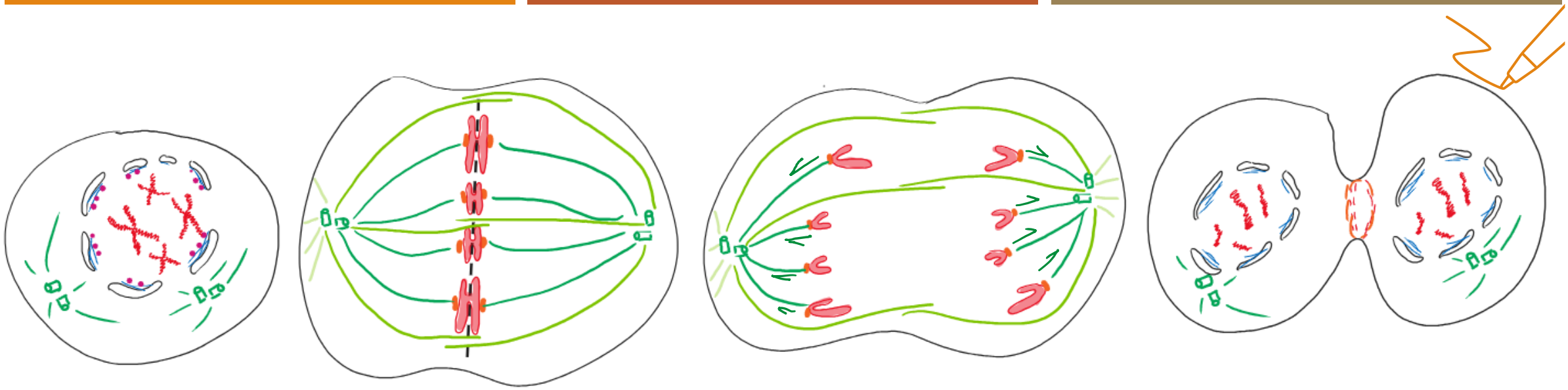
Des cellules en division ont été fixées et incubées avec :

- un anticorps **anti-kératine** couplé à un fluorochrome rouge
- un anticorps **anti-tubuline**, couplé à un fluorochrome vert
- le DAPI qui s'intercale dans **l'ADN**





Les étapes de la mitose cellule d'un métazoaire, 2n = 4



Prophase
Phosphorylation des lamines → désagrégation de l'enveloppe nucléaire
Condensation de l'ADN
Réorganisation des MT

Métaphase
Alignement des centromères sur la plaque équatoriale
Fuseau mitotique

Anaphase
Disjonction des chromatides sœurs au niveau du centromère riche en AT
Migration polaire des chromosomes monochromatidiens

Télophase + cytodiérèse
Déphosphorylation des lamines→ reconstitution de l'enveloppe nucléaire
Décondensation des chromosomes
Mise en place de l'anneau contractile d'actine – myosine séparation des cytoplasmes = cytodiérèse

Lamine phosphorylée

Lamine déphosphorylée

Anneau contractile d'actine-myosine

MT kinétochoriens sur sa plaque associée au centromère

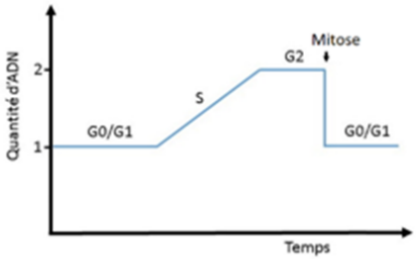
MT astériens

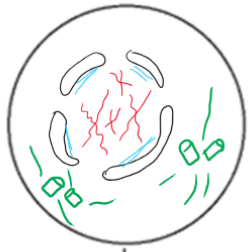
MT polaires

MT kinétochoriens

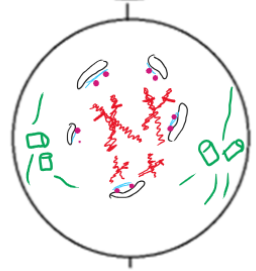
Paire de centrioles = centrosome

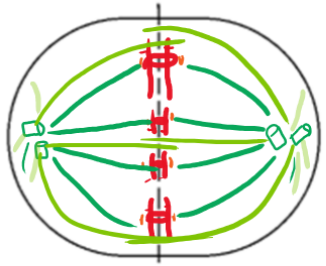
Les étapes de la mitose cellule d'un métazoaire, 2n = 4

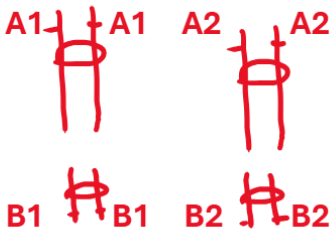


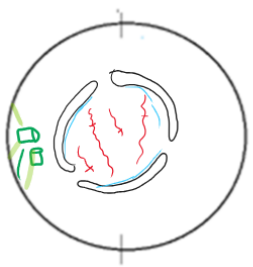


$\left\{ \frac{A_1}{A_2} ; \frac{B_1}{B_2} \right\}$

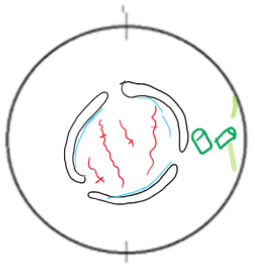








$\left\{ \frac{A_1}{A_2} ; \frac{B_1}{B_2} \right\}$

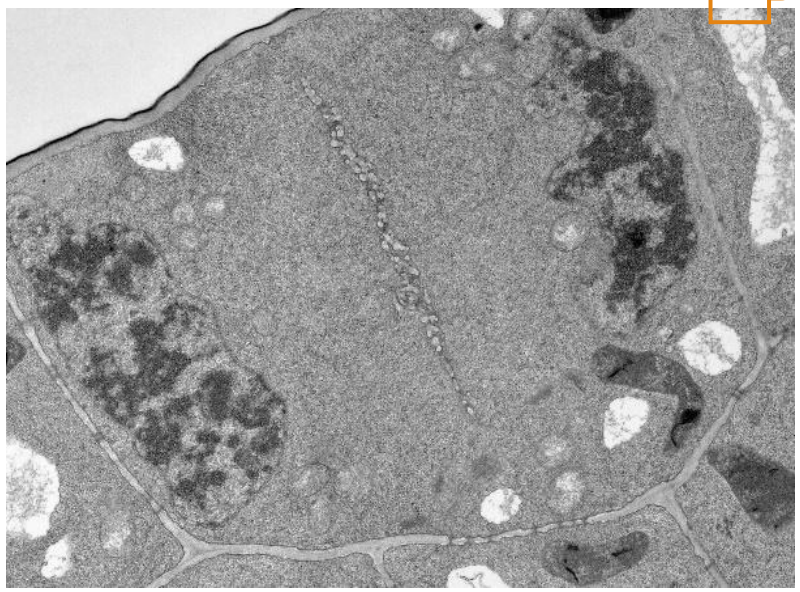


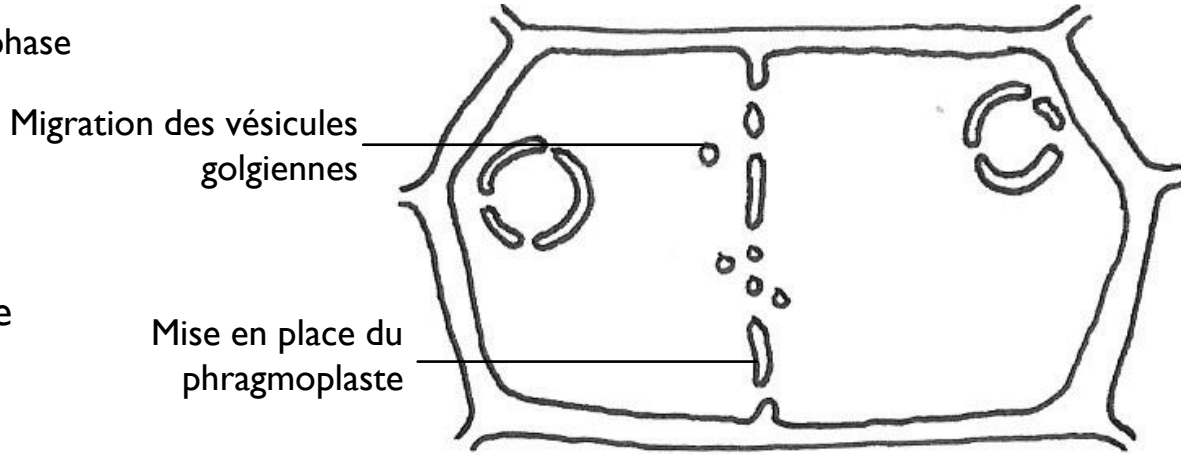
$\left\{ \frac{A_1}{A_2} ; \frac{B_1}{B_2} \right\}$

A. LES DIFFERENTES ÉTAPES DE LA MITOSE ET DE LA MÉIOSE

7. Comparaison avec une cellule végétale

- étapes similaires avec celles de la mitose animale
- MAIS **cytodiérèse** très différente
  - Dès fin de anaphase et tout au long de télophase → **vésicules golgiennes** confluent dans partie médiane des faisceaux de **microtubules**
  - d'abord dans région centrale puis de façon **centrifuge** → pour atteindre ses bords → fusion → **phragmoplaste** (cf. cours sur les MEC)
  - contenu des vésicules = ébauche de la paroi pectocellulosique (**lamelle moyenne avec pectine**)
  - ↗ paroi grâce à apport de matière lors de la phase G1 de l'interphase suivante
  - De minces ponts cytoplasmiques ou **plasmodesmes** subsistent les deux cellules filles
- Différences avec la mitose des cellules animales :
  - les cellules végétales ne présentent **pas d'asters** lors de l'élaboration de leur fuseau mitotique
  - les organisateurs des microtubules ne sont pas visibles





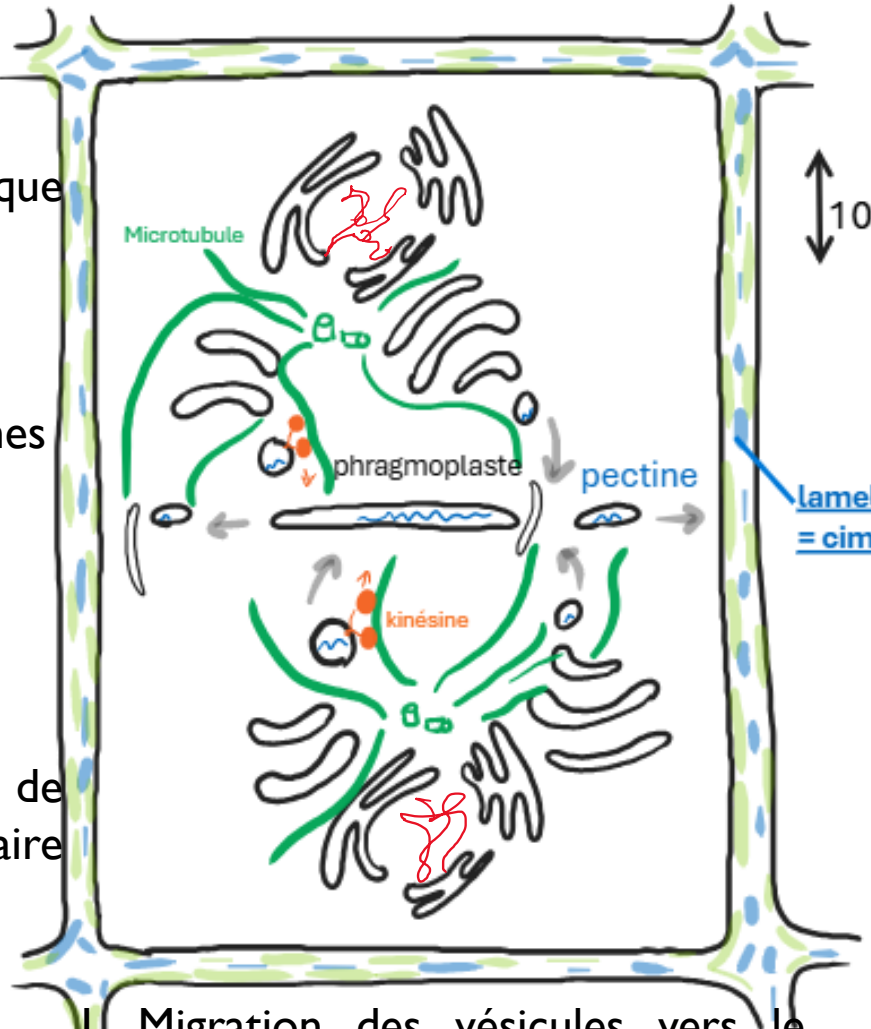
Cytodiérèse dans une cellule végétale

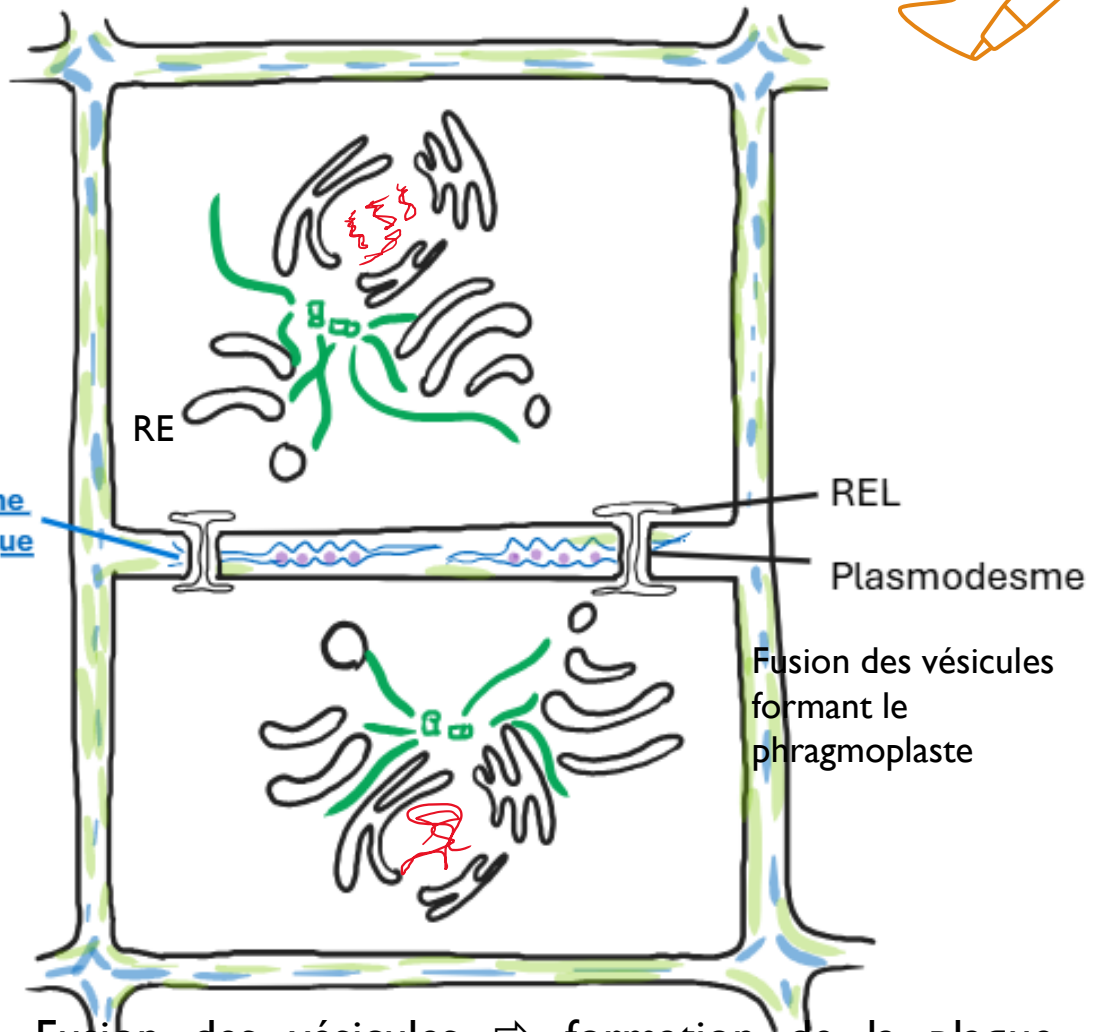
paroi

Membrane plasmique

Vésicules golgiennes

Formation de l'enveloppe nucléaire





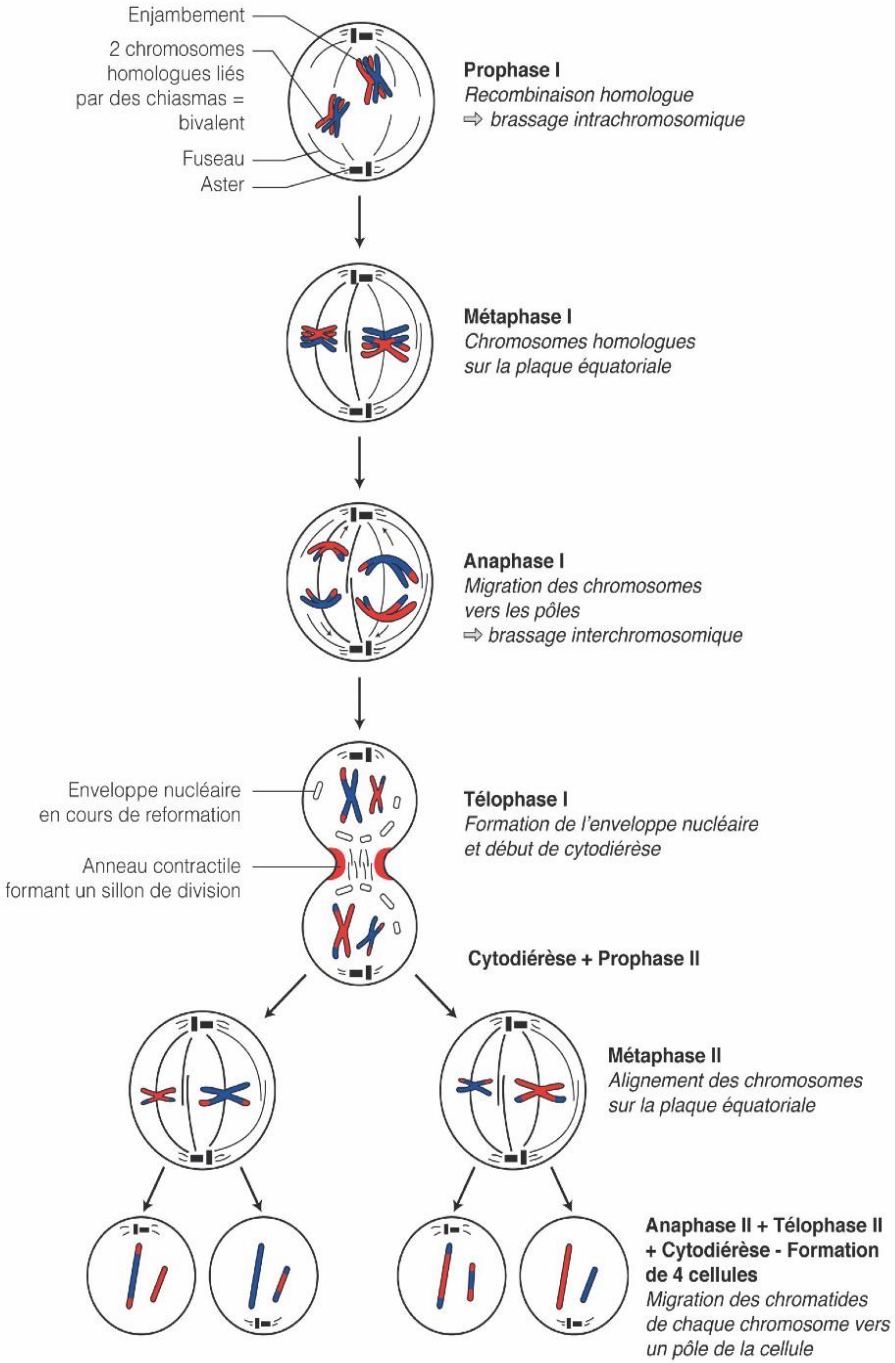
1. Migration des vésicules vers le centre de la plaque équatoriale

2. Fusion des vésicules ⇨ formation de la plaque cellulaire et mise en place des 2 membranes + lamelle moyenne + paroi primaire

Figure 63b : Cytodiérèse dans une cellule végétale

A. LES DIFFERENTES ÉTAPES DE LA MITOSE ET DE LA MÉIOSE

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



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

INTRODUCTION

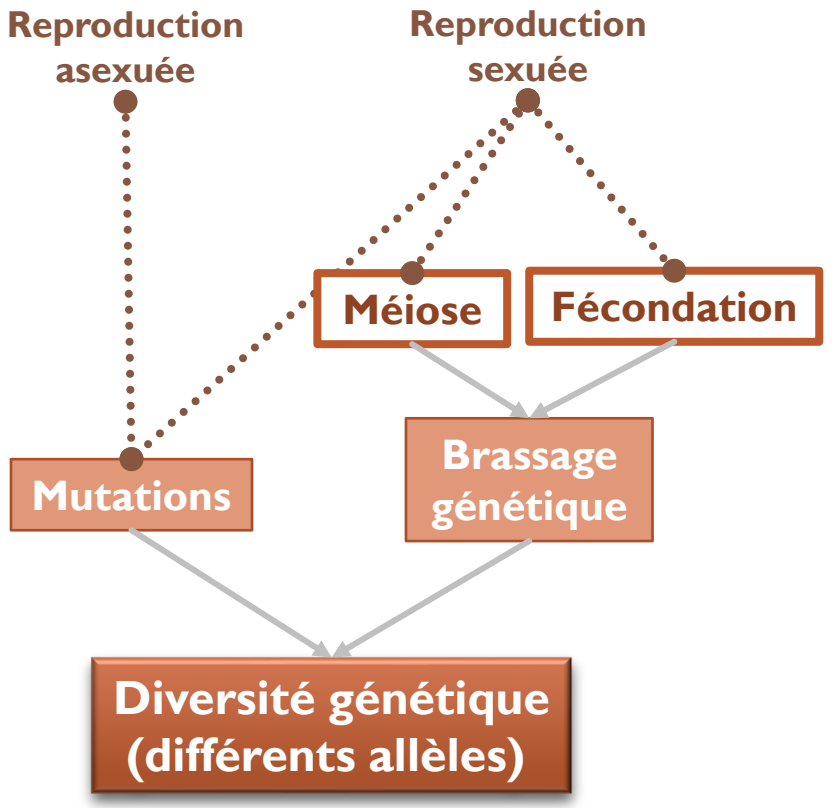
- Dans une population, chaque gène peut exister sous différentes versions : les **allèles**

- Les génomes de différents individus sont différents.
  → **diversité des génomes**

- Cette diversité des génomes repose sur 2 processus :
  - les **mutations** (= nouveaux allèles)
  - les **brassages génétiques** (= nouvelles combinaisons d'allèles)

- La diversité des génomes est liée au mode de reproduction des organismes.
  → 2 modes de **reproduction** : **sexuée** et **asexuée**.

- Dans le cas de la **reproduction sexuée**, deux phénomènes complémentaires interviennent :
  - la **méiose** (= production de gamètes)
  - la **fécondation** (= réunion de gamètes)
  - **La méiose et la fécondation participent à la diversification des génomes**



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

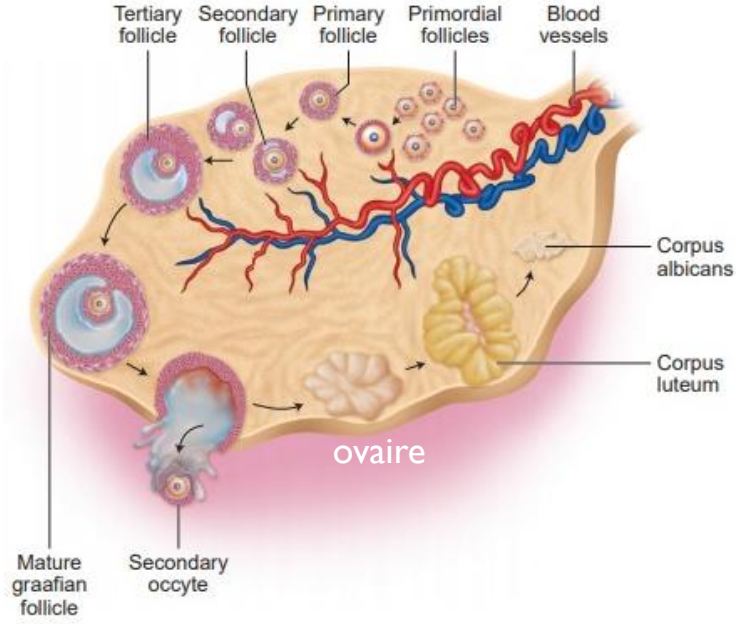
INTRODUCTION

- La **méiose** = processus qui ne concerne que les cellules mères de la **lignée germinale.**

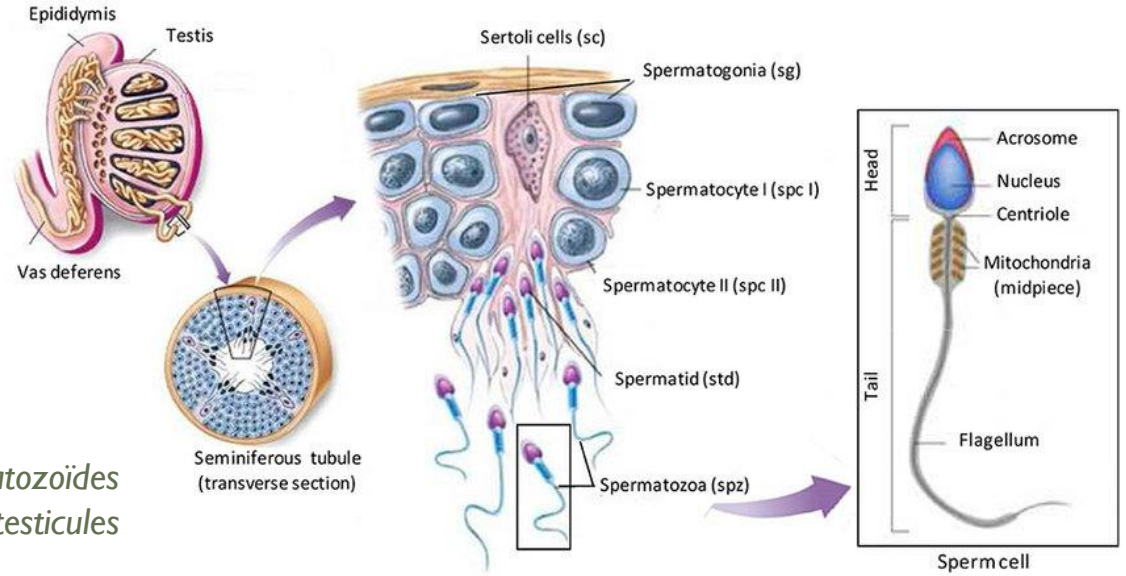
- Chez les animaux, la méiose produit des **gamètes** :
  - Gamètes femelles = **ovules (ou ovocytes)**
  - Gamètes mâles = **spermatozoïdes**

- Chez les animaux, la méiose se déroule dans des **organes spécialisés :**
  - Chez les femelles → **ovaires**
  - Chez les mâles → **testicules**

Production cyclique d'ovocytes dans les ovaires



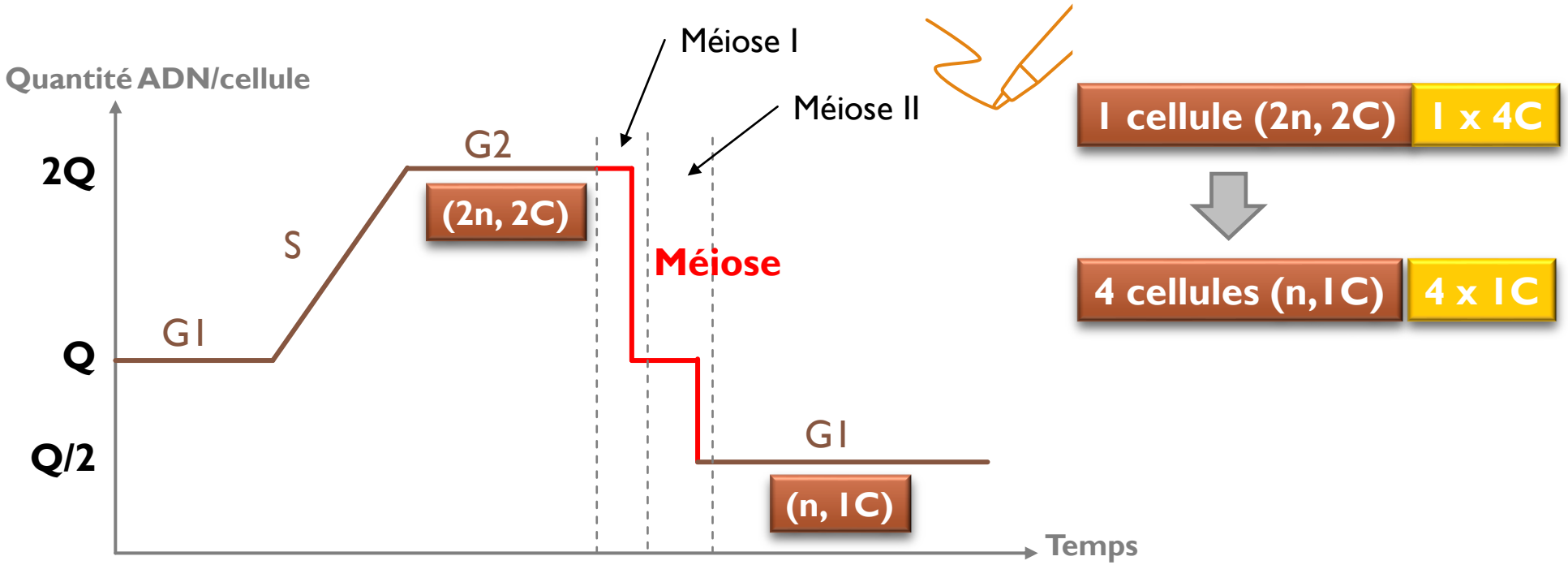
Production continue de spermatozoïdes dans les testicules



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

8.1. Evolution de la quantité d'ADN au cours de la méiose

- **Méiose** = passage de **1 cellule diploïde** à **4 cellules haploïdes**
- Précédée d'une phase de **réplication** et se déroule en **2 divisions** (sans réplication intermédiaire) → **division par 4 de la quantité d'ADN**
- **Durée** : variable selon l'espèce, le sexe, l'environnement… (ex - Homme : 24 jours, souris : 12 jours)

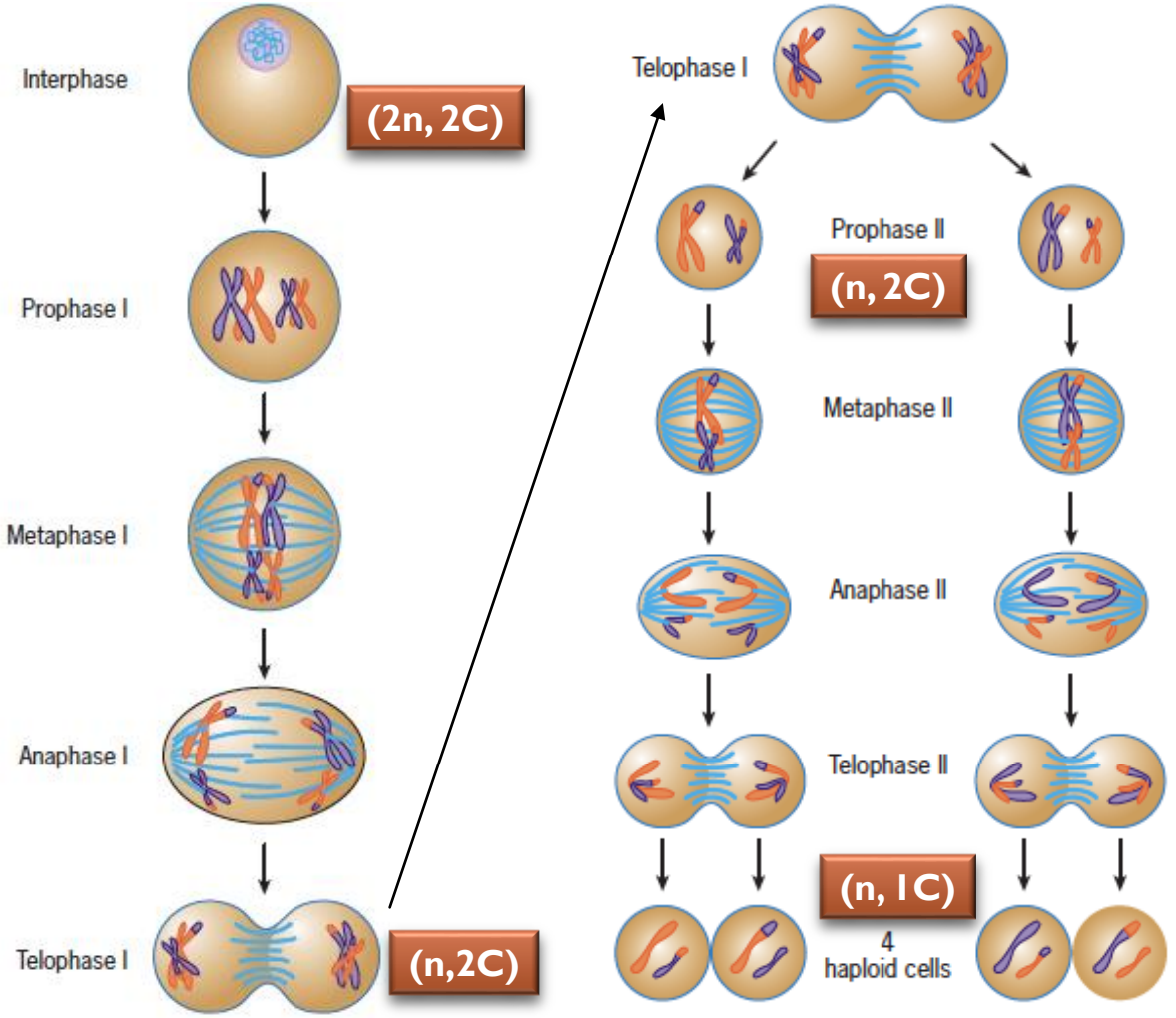


8. La méiose permet de passer d'une cellule diploïde à une cellule haploïde

Méiose I

Séparation des chromosomes homologues

→ **Division réductionnelle**



Méiose II

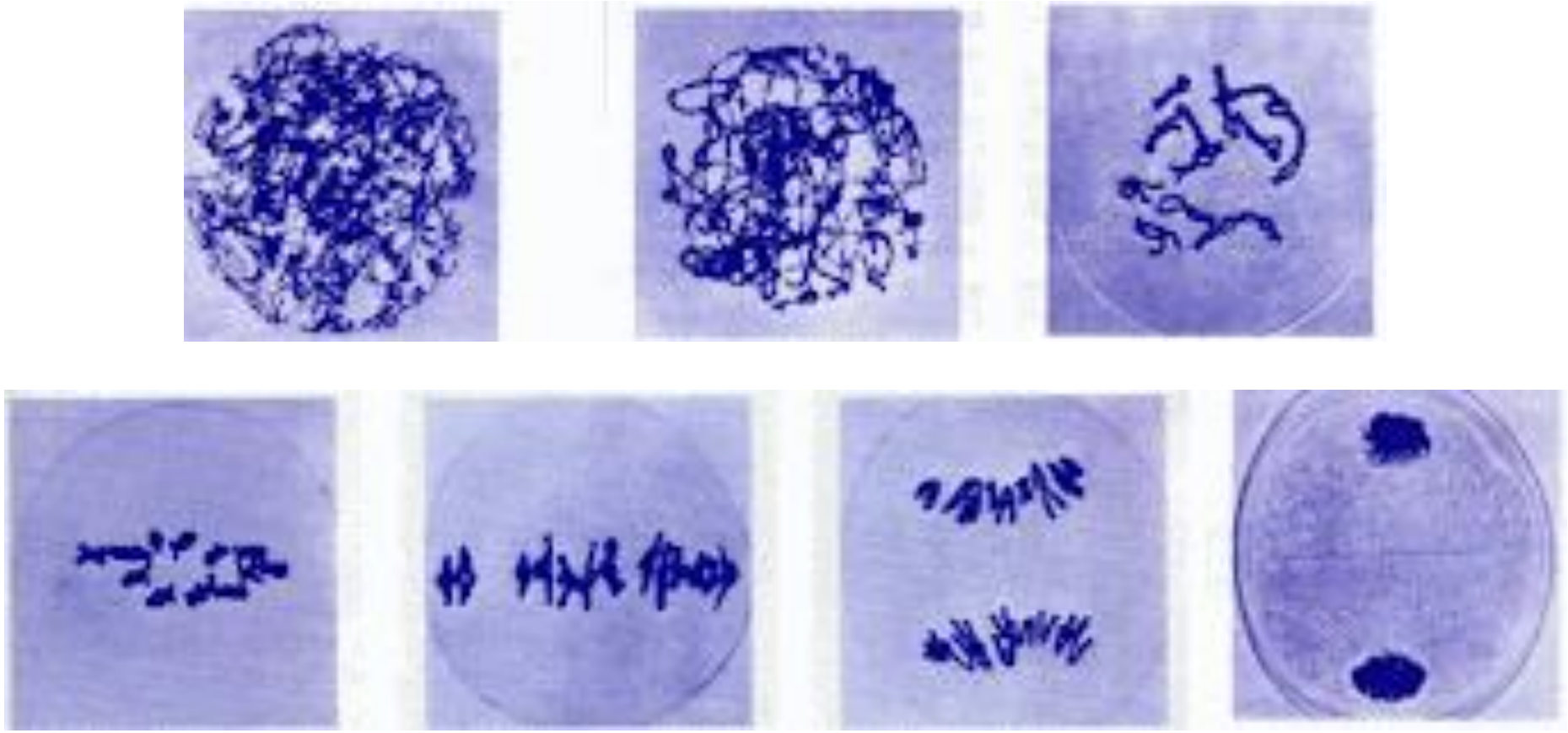
Séparation des chromatides sœurs

→ **Division équationnelle**

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

8.2. Méiose I : séparation des chromosomes homologues

Observation

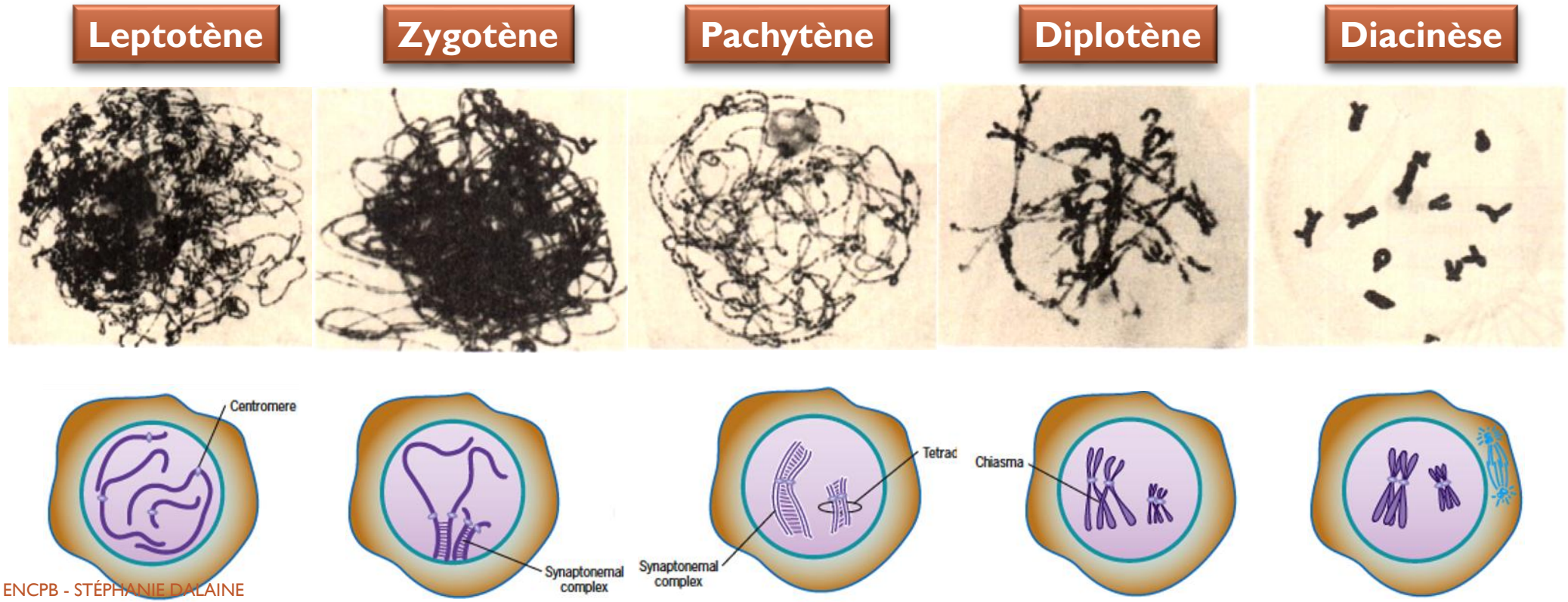


8. La méiose permet de passer d'une cellule diploïde à une cellule haploïde

8.2. Méiose I : séparation des chromosomes homologues

Prophase I

- La prophase I de méiose est particulièrement **longue** et comprends **5 stades** :
  (ex : chez la souris, 90% du temps de méiose)



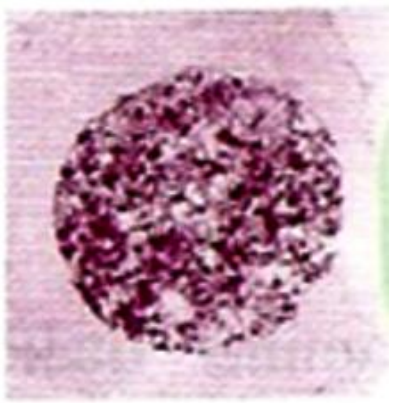
8. La méiose permet de passer d'une cellule diploïde à une cellule haploïde

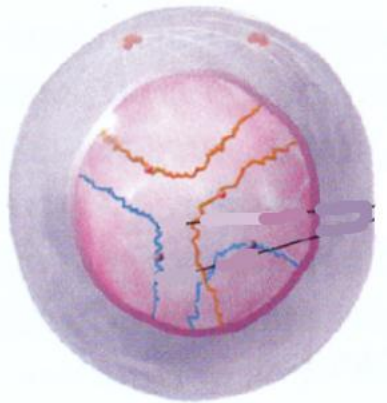
8.2. Méiose I : séparation des chromosomes homologues

Prophase I

Stade leptotène

gr. leptos, « mince »
et *teinein*, « filament»





- **2 chromatides sœurs** des chromosomes **accolées**.
- Leurs **extrémités** sont **ancrées** dans **l'enveloppe nucléaire**, au niveau de plaques d'attachement.
- Les **chromosomes** commencent à se **condenser** autour d'un axe protéique

Association des télomères des chromosomes méiotiques à l'enveloppe nucléaire (in Karp, 2016)

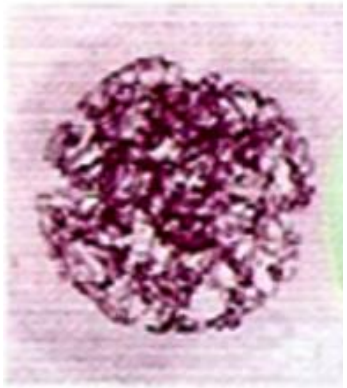
8. La méiose permet de passer d'une cellule diploïde à une cellule haploïde

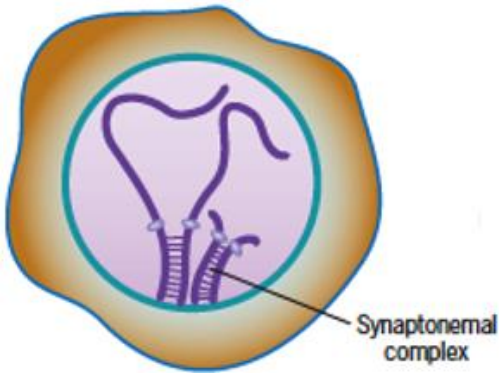
8.2. Méiose I : séparation des chromosomes homologues

Prophase I

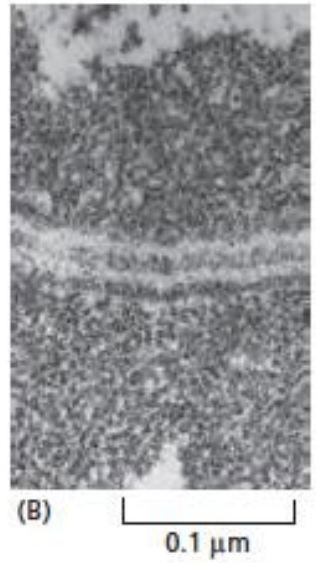
Stade zygotène

gr. *zugon*, « joug »



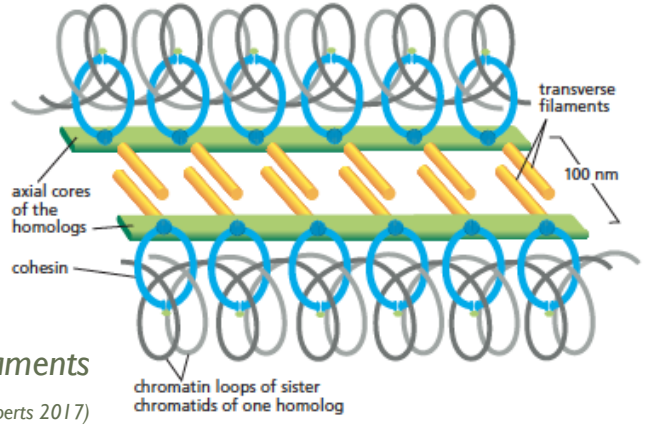


Complexe synaptonémal au stade pachytène dans une fleur lys (MET) (in Alberts 2017)



- Les **chromosomes homologues** commencent à **s'apparier**
  - Contact étroit entre les 2 chromosomes
  - Positionnement face à face des régions homologues

- Les 2 chromosomes homologues sont stabilisés par le **complexe synaptonémal**
  - complexe protéique



Le complexe synaptonémal est fait de filaments protéiques transversaux (in Alberts 2017)

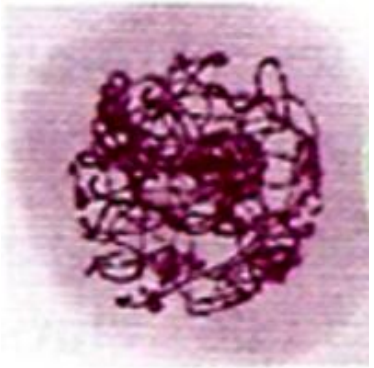
8. La méiose permet de passer d'une cellule diploïde à une cellule haploïde

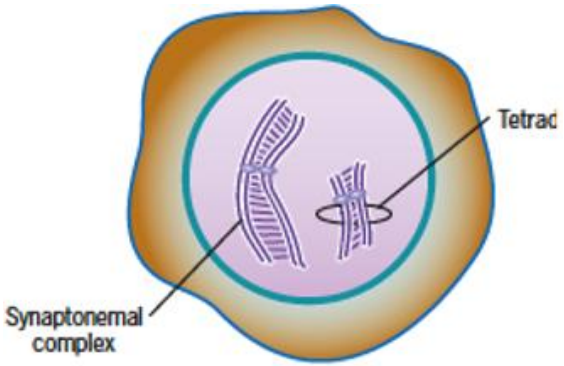
8.2. Méiose I : séparation des chromosomes homologues

Prophase I

Stade pachytène

gr. *pakhus*, « épais »





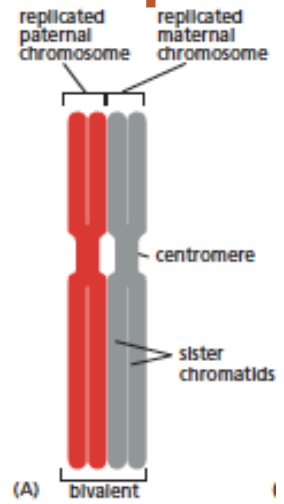
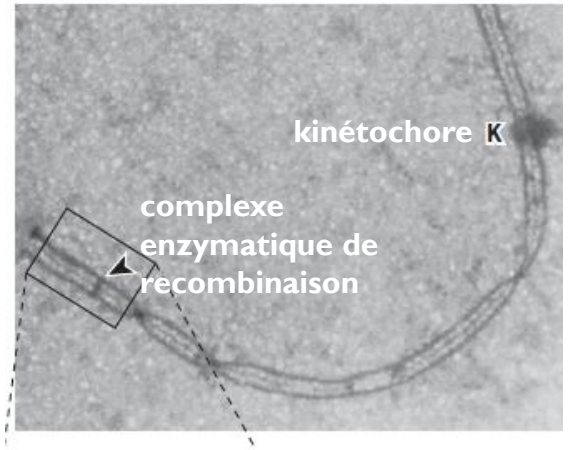


Schéma d'un bivalent

- Les chromosomes poursuivent leur **condensation** (courts et épais)
- **Appariement complet** des chromosomes **homologues,** sur toute leur longueur → **bivalent** ou **tétrade**
- **Echanges réciproques** de portions de chromatides entre chromosomes **homologues** → **crossing-over** ou **enjambement**

Moyenne : 2-3 crossing-over par bivalent chez l'Homme



Bivalents au stade pachytène (Homme, MET)

Vidéo sur le crossing over : https://www.youtube.com/watch?v=BzCVK9_EE0Y

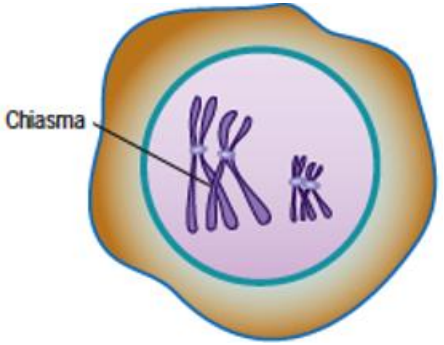
8. La méiose permet de passer d'une cellule diploïde à une cellule haploïde

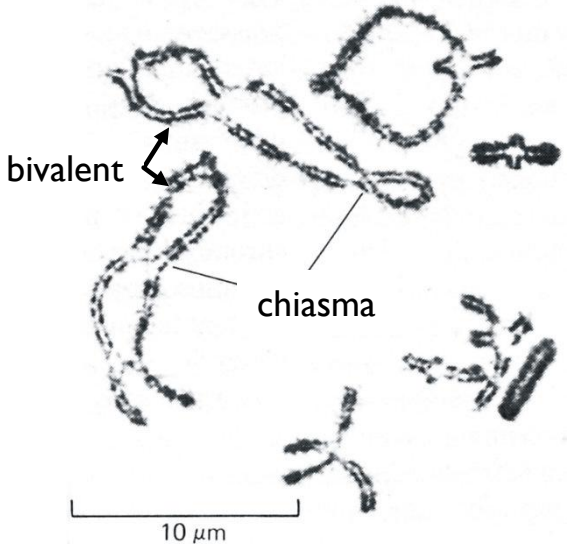
8.2. Méiose I : séparation des chromosomes homologues

Prophase I

Stade diplotène

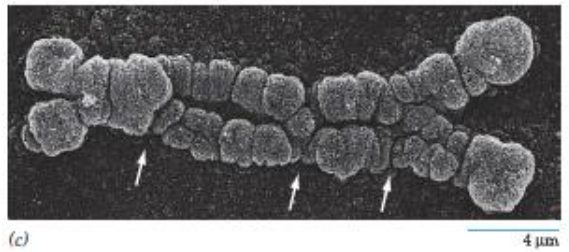
gr. diploûs, « double »



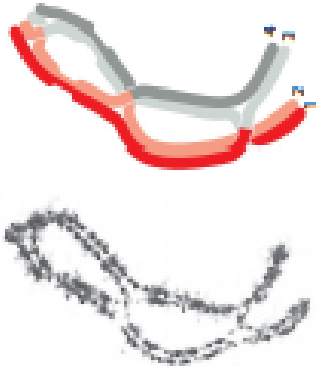


Position des chiasmas et aspect des chromosomes de sauterelle au stade diplotène (MO)

- Les chromosomes poursuivent leur **condensation**
- **Disparition** du **complexe synaptonémal**
  - Eloignement des homologues
- Les homologues restent liés uniquement dans les zones de crossing-over
  → Apparition de **chiasma**



Bivalents de criquet, stade diplotène (MEB) (in Karp, 2016)

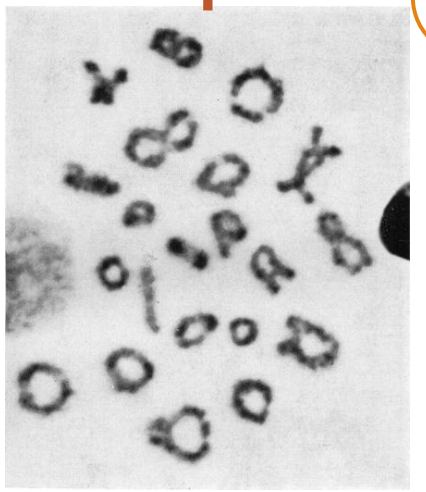


Bivalents de sauterelle, stade diplotène (MO) et schéma d'interprétation (in Alberts, 2017)

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

2. Méiose I : séparation des chromosomes homologues

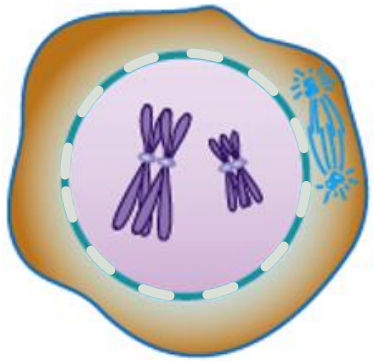
Les chromosomes reliés par les chiasma forment des cercles (Macaque, MO)



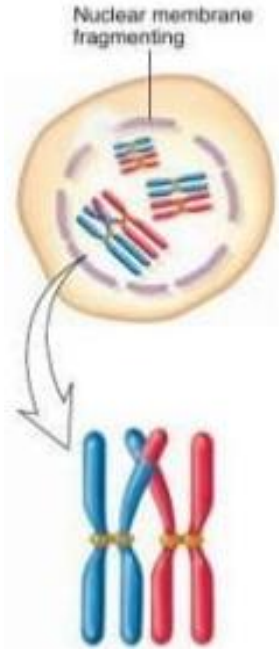
Prophase I

Stade diacinèse

gr. *dia*, « à travers »
et *kinesis* « mouvement »



- Les chromosomes poursuivent leur **condensation**
- Les chromatides se **détachent** de **l'enveloppe nucléaire** qui se disloque
- Début de formation du **fuseau mitotique**



Les chromosomes sont condensés et détachés de l'enveloppe . Les homologues sont reliés uniquement par les chiasma

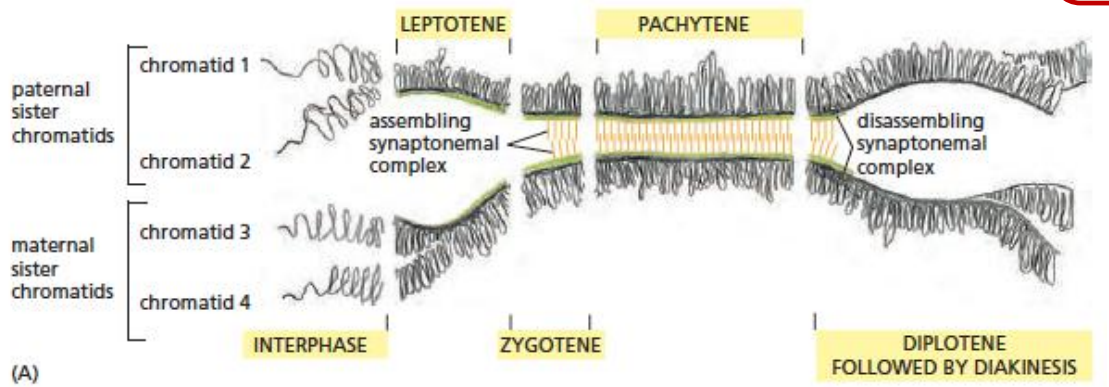
8. La méiose permet de passer d'une cellule diploïde à une cellule haploïde

2. Méiose I : séparation des chromosomes homologues

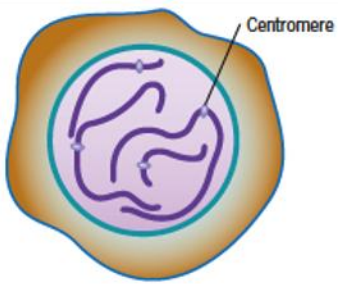
Les noms des stades de la prophase I ne sont pas à retenir

Bilan prophase I

Evolution des chromosomes au cours de la prophase I de méiose
(in Alberts, 2017)

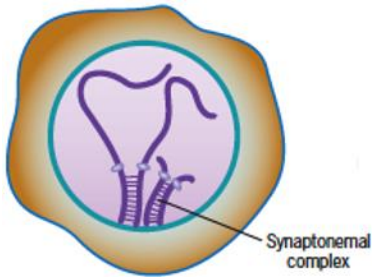


Leptotène



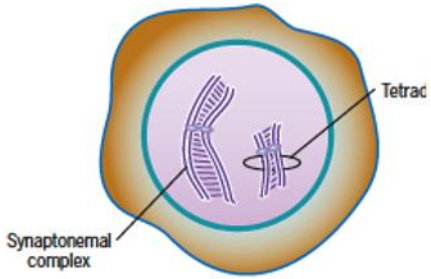
- Début de condensation
- Ancrage des extrémités de chromosome à l'enveloppe nucléaire

Zygotène



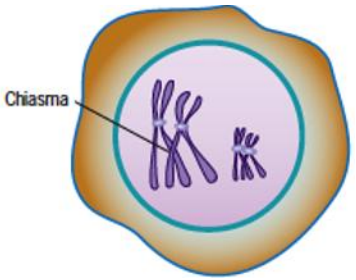
- Condensation ↗
- Début d'appariement des chromosomes homologues (complexe synaptonémal)

Pachytène



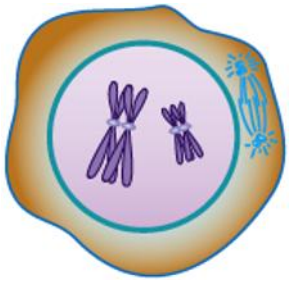
- Condensation ↗
- Appariement complet des chromosomes homologues = bivalent ou tétrade
- Crossing-over

Diplotène



- Condensation ↗
- Disparition du complexe synaptonémal
- Apparition des **chiasma**

Diacinèse



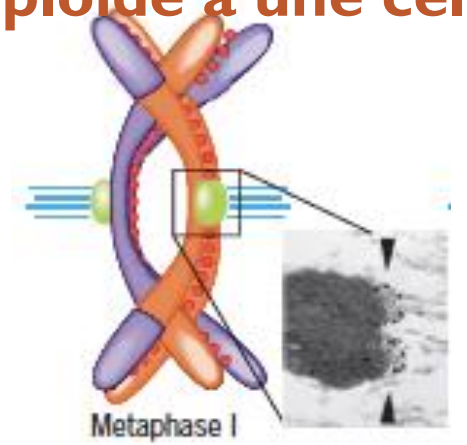
- Condensation ↗
- Détachement des extrémités de chromosomes

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

8.2. Méiose I : séparation des chromosomes homologues

Métaphase

- Rappel sur la structure des chromosomes à ce stade,
  - Les chromatides sœurs sont reliées par la cohésine
  - Les chromosomes homologues sont reliés entre eux par la cohésine au niveau des chiasmas.

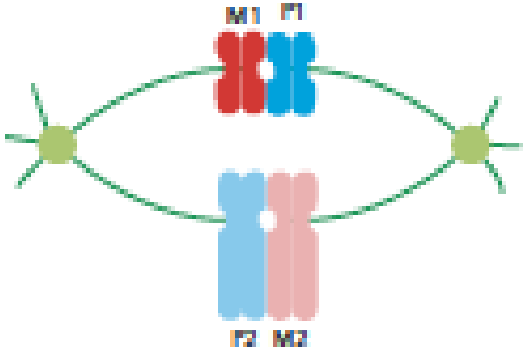


cohésine
kinétochore
microtubules

Relations entres chromosomes homologues, chromatides sœurs et kinétochore (in Karp, 2016)

- Les paires de chromosomes **homologues** se disposent sur la **plaque équatoriale**

- Les **kinétochores** sont disposés de sorte que :
  - Les kinétochores des **chromatides sœurs** sont orientés du **même côté**
  - les kinétochores des chromosomes **homologues** sont **opposés**.



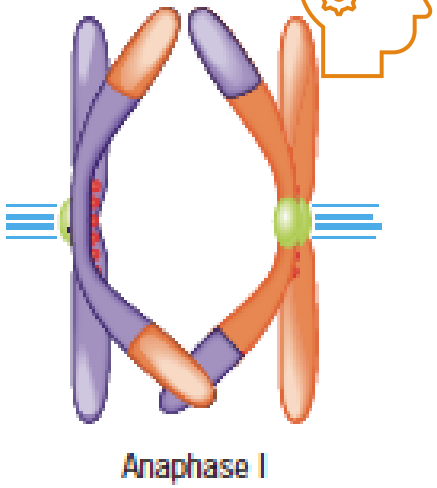
Alignement des paires d'homologues (MO) et schéma d'interprétation (in Albert, 2017)

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

8.2. Méiose I : séparation des chromosomes homologues

Anaphase I

- Les **homologues** se **séparent,** mais les chromatides sœurs restent soudées

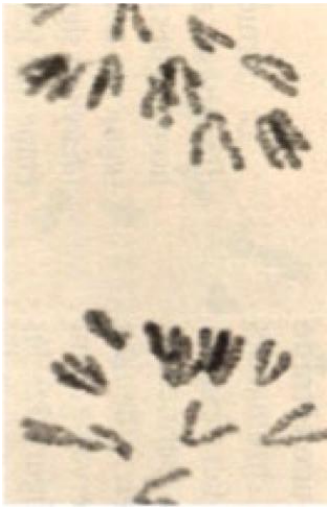


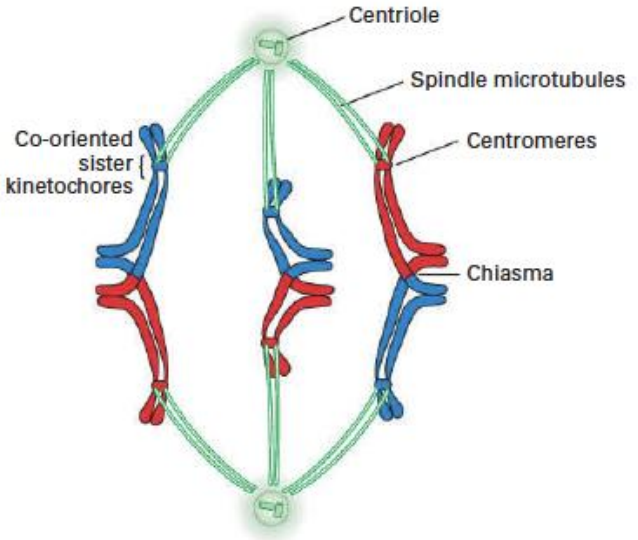
Séparation des homologues en anaphase I (in Karp, 2016)

- Les **paires d'homologues migrent** vers les **pôles opposés** de la cellule
  - Rôle des kinétochores et de la dépolymérisation des microtubules.

Télophase I

- Reformation de l'enveloppe nucléaire
- +/- décondensation de l'ADN
- Cytodiérèse



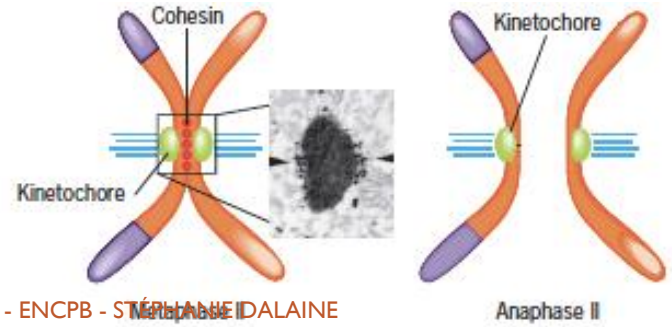


Anaphase I, cellules de Lys (MO) et schéma d'interprétation (in Lodish, 2016)

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

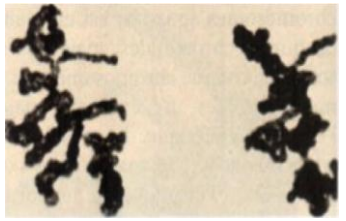
8.3. Méiose II : séparation des chromatides

- La 2e division de méiose se déroule **comme une mitose** classique d'une cellule haploïde, avec qq particularités :
  - **Prophase II** : très courte
  - **Métaphase II :** alignement des centromères sur la plaque équatoriale. (blocage de cette phase chez l'ovocyte après ovulation)
  - **Anaphase II** : rupture des centromères des chromosomes (par dégradation de la cohésine)
  - **Télophase II** : production de 4 cellules à n chromosomes à une chromatide.



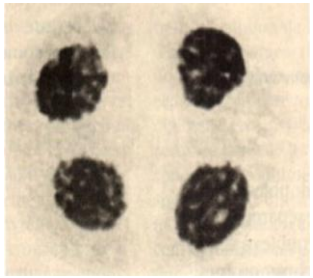
Séparation des chromatides sœurs en anaphase II par dégradation de la cohésine du centromère

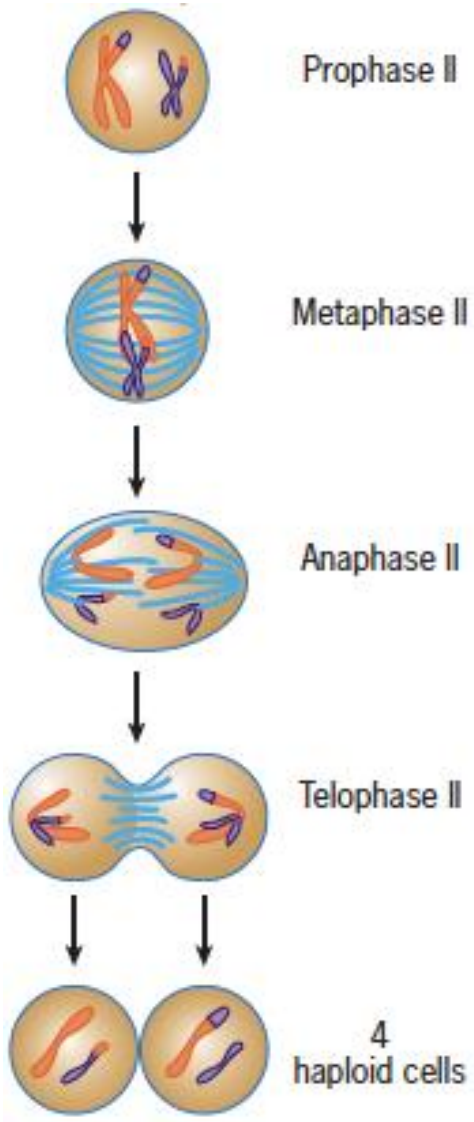
Métaphase II



Anaphase II

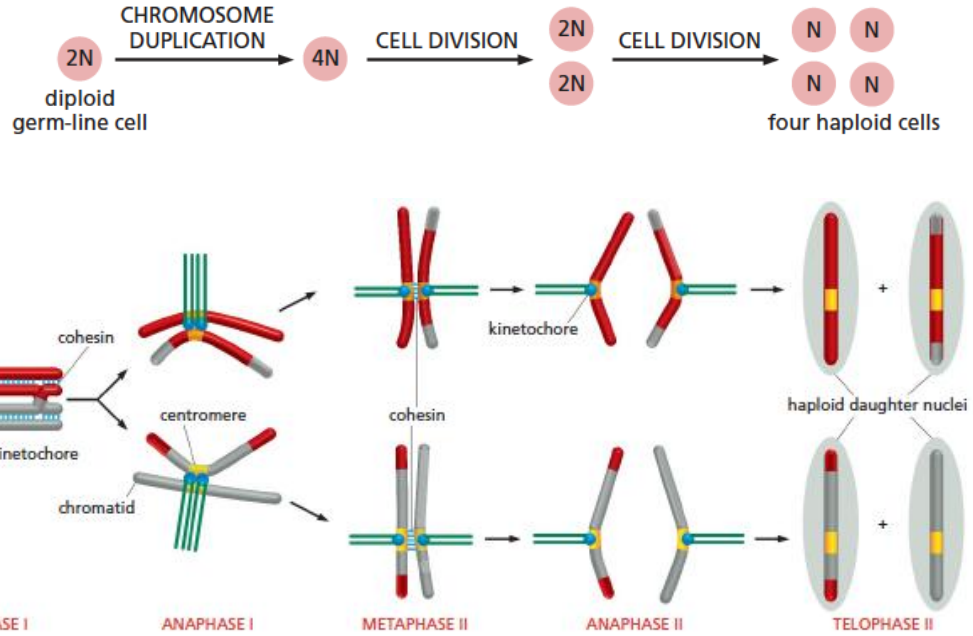
Télophase II

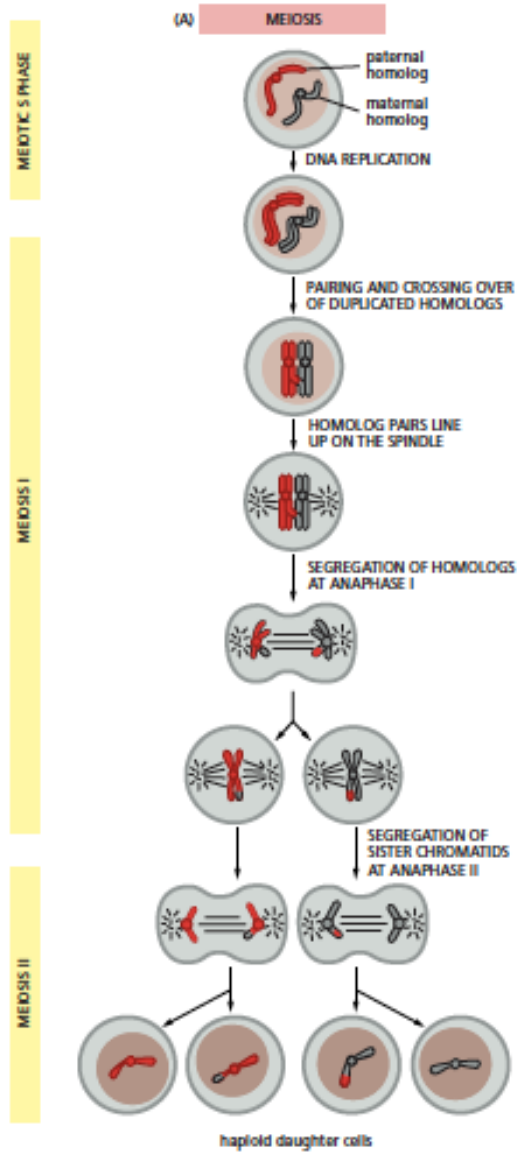




8. La méiose permet de passer d'une cellule diploïde à une cellule haploïde

Bilan





- **Méiose I - séparation des chromosomes homologues**
  - → 2 cellules morphologiquement identiques avec n chromosomes à 2 chromatides
  - → Division réductionnelle

- **Méiose II - séparation des chromatides sœurs**
  - → 4 cellules morphologiquement identiques avec n chromosomes à 1 chromatides
  - → Division équationnelle

BILAN

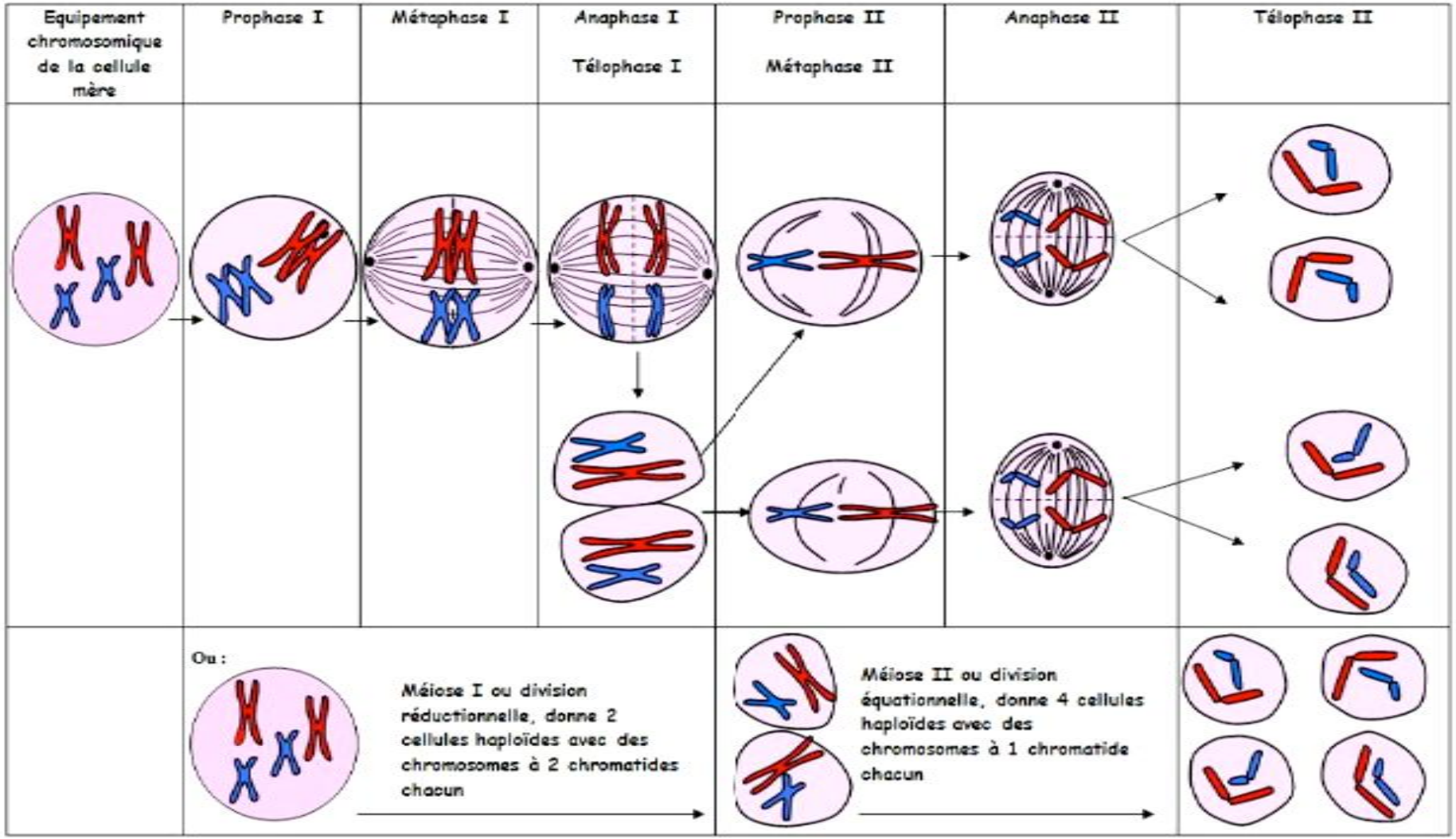
Cas d'une cellule eucaryote diploïde en interphase. La méiose est précédée d'une phase de réplication de l'ADN

	Méiose I (division réductionnelle)	Méiose II (division équationnelle)
Prophase	Condensation des chromatides Dislocation du noyau Formation du fuseau mitotique à partir des centrosomes **Appariement des chromosomes homologues**: bivalents (ou tétrade) reliés entre eux par les chiasmas **Crossing over > brassage intrachromosomique**	Formation du fuseau mitotique à partir des centrosomes (Condensation des chromatides et dislocation du noyau)
Métaphase	**Alignement des paires de chromosomes homologues** sur le plan équatorial de la cellule	**Alignement des chromosomes** sur le plan équatorial de la cellule
Anaphase	**Séparation des paires de chromosomes homologues > brassage interchromosomique**	**Séparation** des **2 chromatides** d'un même chromosome
Télophase	**Formation de 2 cellules filles haploïdes (1n, 2c)** (Décondensation des chromatides et reformation du noyau)	**Formation de 4 cellules filles haploïdes (1n, 1c)** Décondensation des chromatides et reformation du noyau

A. LES DIFFERENTES ÉTAPES DE LA MITOSE ET DE LA MÉIOSE

BILAN

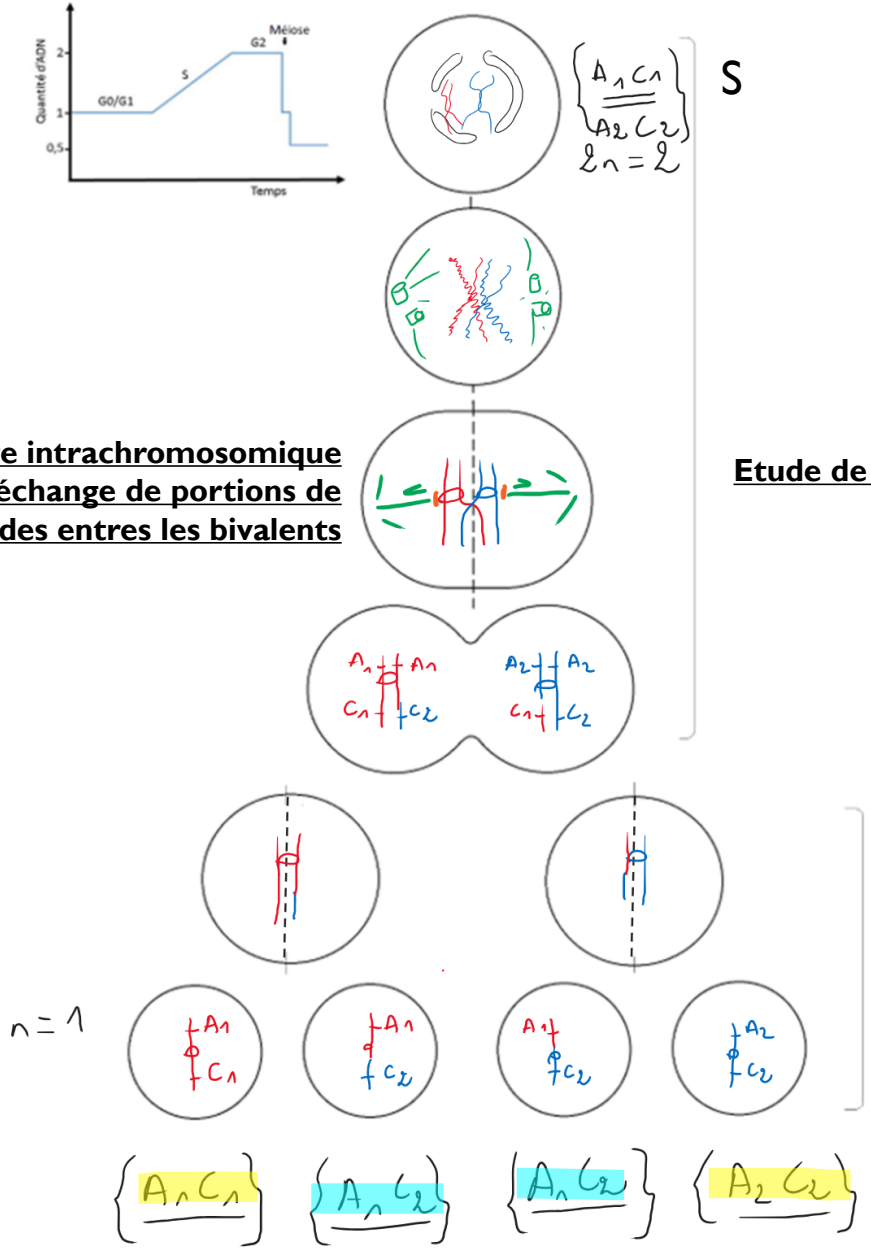
Correction : Schéma bilan des étapes de la méiose pour une cellule à 2n=4



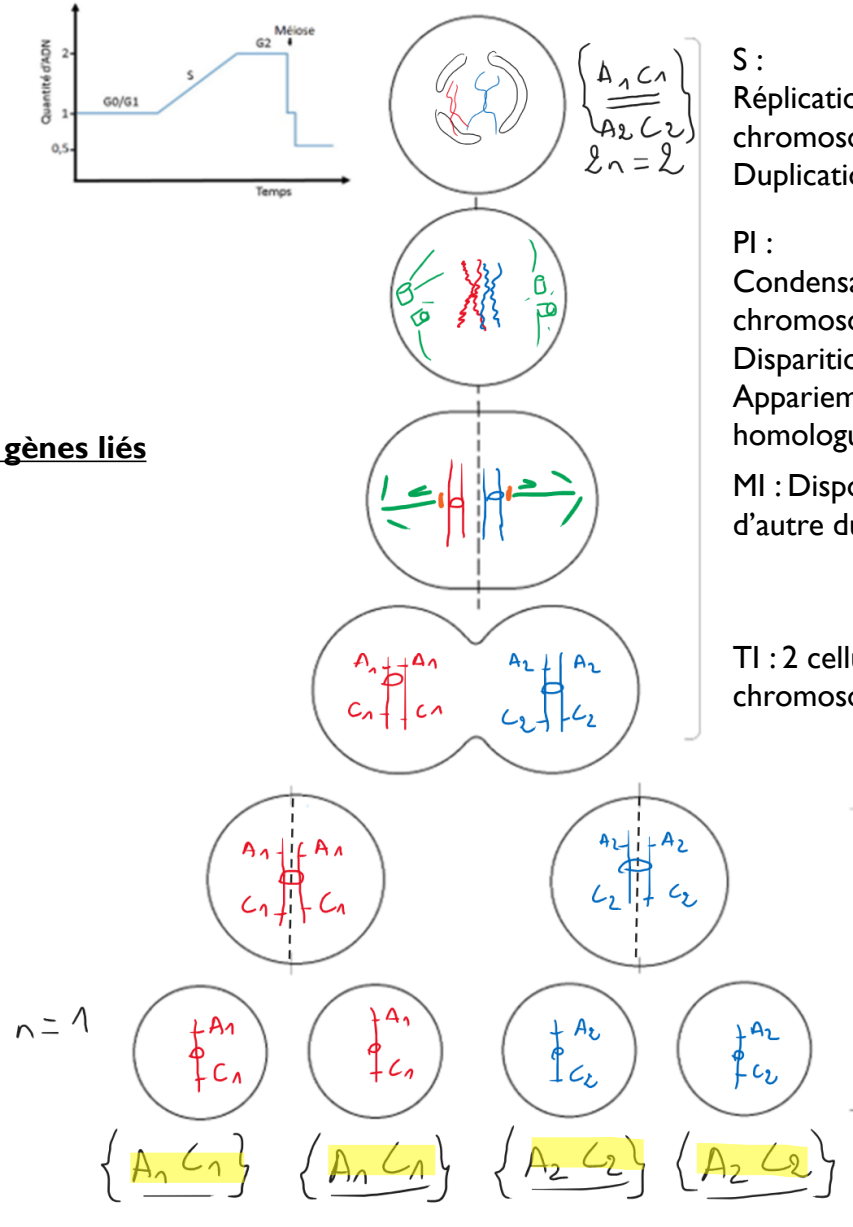
S

PI : Brassage intrachromosomique par échange de portions de chromatides entres les bivalents

Etude de 2 gènes liés



Génotypes recombinés



Génotypes parentaux

S :
Réplication de l'ADN→ chromosomes bichromatidiens
Duplication du centrosome

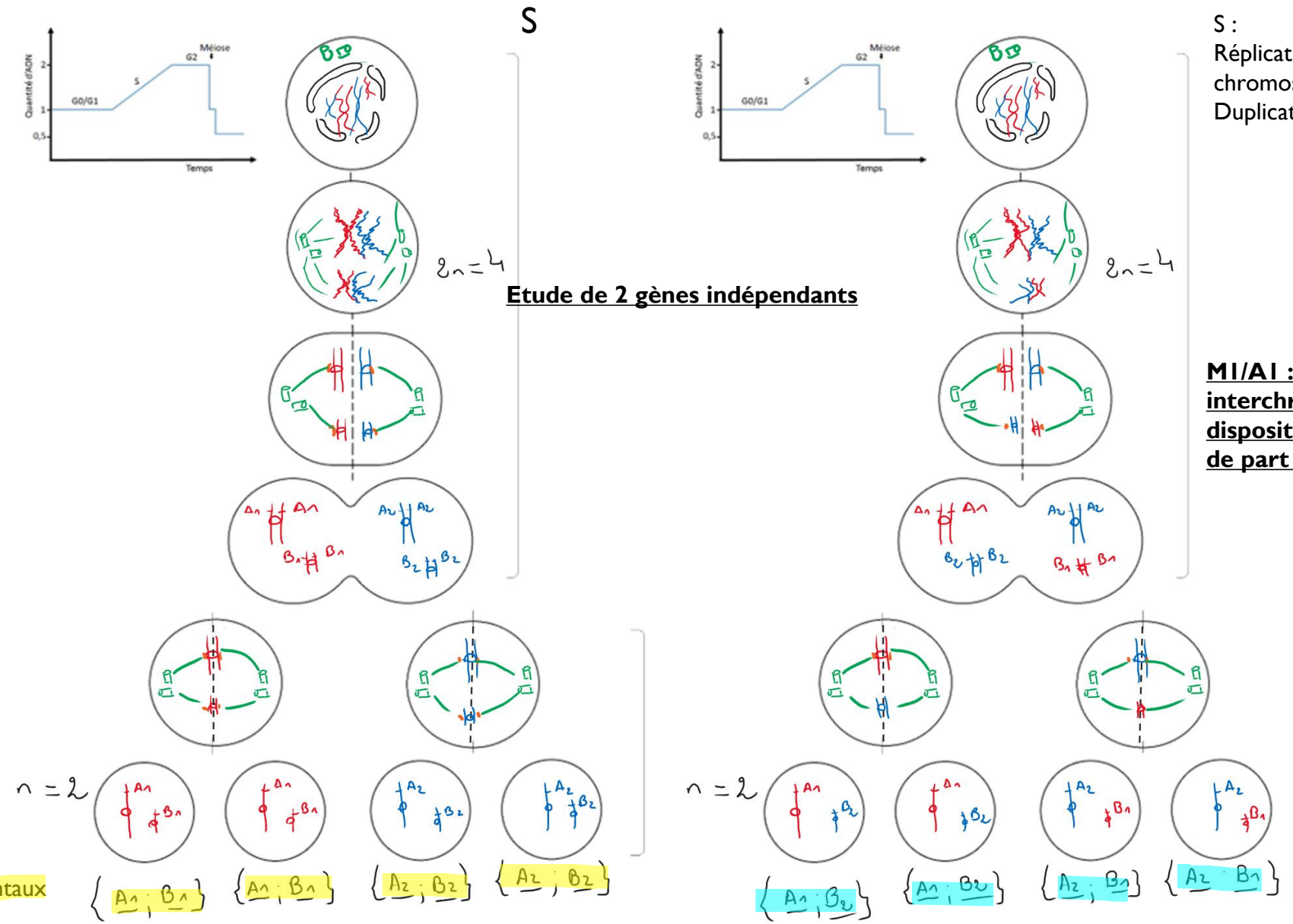
PI :
Condensation de l'ADN chromatinien en chromosome
Disparition de l'env. nucléaire
Appariement des chromosomes homologues via le complexe synaptonémal

MI : Disposition des bivalents de part et d'autre du plan équatorial

TI : 2 cellules filles haploïdes à n=1 chromosome bichromatidien

MII : Alignement des centromères sur le plan équatorial

TII : 4 « gamètes » haploïdes, génétiquement uniques, aux chromosomes monochromatidiens



Etude de 2 gènes indépendants

S :
Réplication de l'ADN→ chromosomes bichromatidiens
Duplication du centrosome

MI/AI : Brassage interchromosomique par disposition aléatoire des bivalents de part et d'autre du plan

MII : Alignement des centromères sur le plan équatorial

TII : 4 « gamètes » haploïdes, génétiquement uniques, aux chromosomes monochromatidiens

SV-F-1-2 La transmission de l'information génétique au cours des divisions cellulaires chez les Eucaryotes

PLAN DU COURS

I. Le cycle cellulaire des Eucaryotes

A. Le rôle des divisions au sein du cycle cellulaire

B. La particularité des cellules souches

C. Les phases G1 et G2 du cycle cellulaire

D. La phase S, réplication de l'ADN

E. La phase M du cycle cellulaire

F. La quantité d'ADN au cours du cycle

G. L'existence de points de contrôle du cycle cellulaire

II. Les mécanismes moléculaires de la réplication, une reproduction plus ou moins conforme

A. La réplication de l'ADN, un processus semi-conservatif

B. L'observation d'œil de réplication chez les eucaryotes et les procaryotes

C. Les étapes de la réplication

D. Les erreurs de copies et les mécanismes de corrections

E. Le principe de la PCR et ses applications

III. La mitose et la méiose: des divisions conduisant à une répartition de l'information génétique

A. Les différentes étapes de la mitose et de la méiose

B. Le rôle du cytosquelette dans la division cellulaire

B. LE RÔLE DU CYTOSQUELETTE DANS LA DIVISION CELLULAIRE

I. Microtubules et fuseau mitotique

I.1. Présentation générale

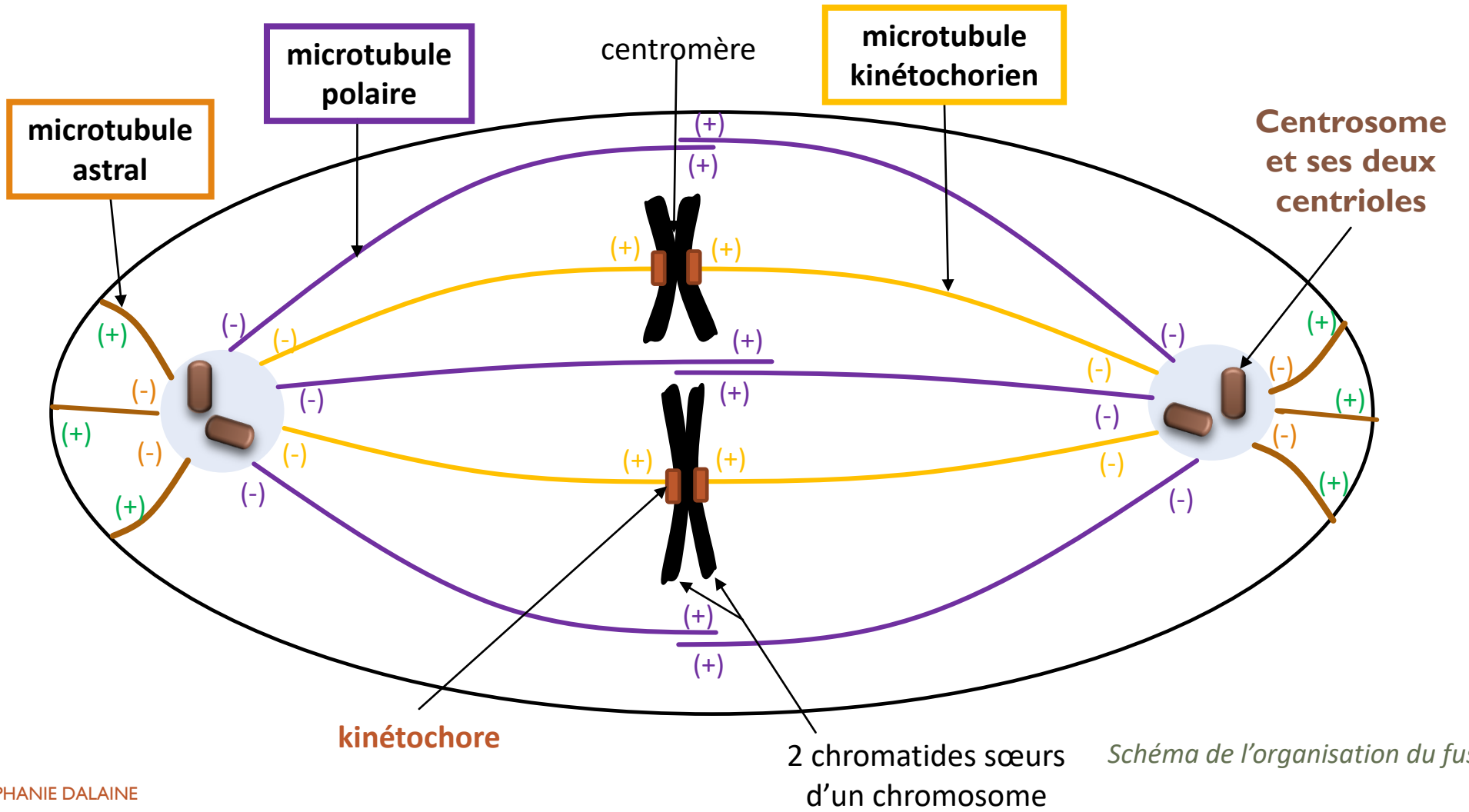


Schéma de l'organisation du fuseau mitotique

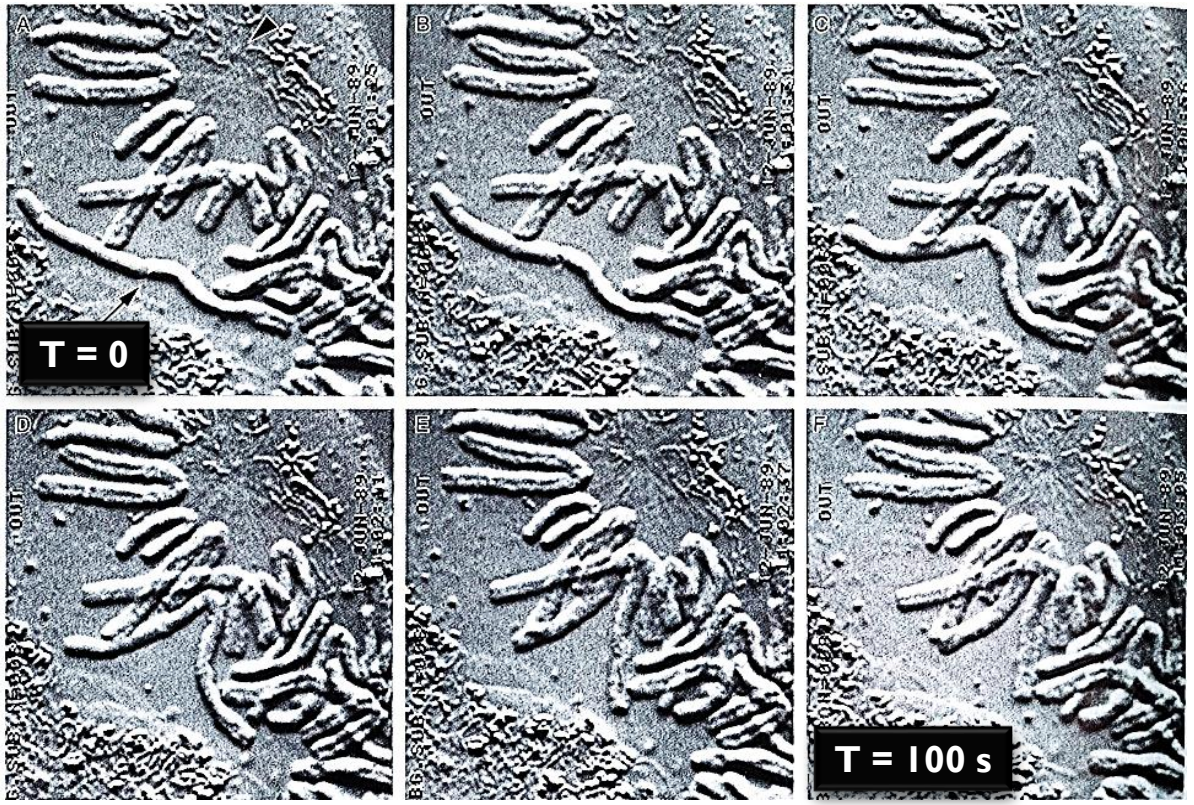
B. LE RÔLE DU CYTOSQUELETTE DANS LA DIVISION CELLULAIRE

1. Microtubules et fuseau mitotique

1.2. Expérience 1 : vitesse de déplacement des chromosomes

Suivi en timelapse sur 100 secondes d'une d'une cellule de poumons de tritons en cours de division (ME).

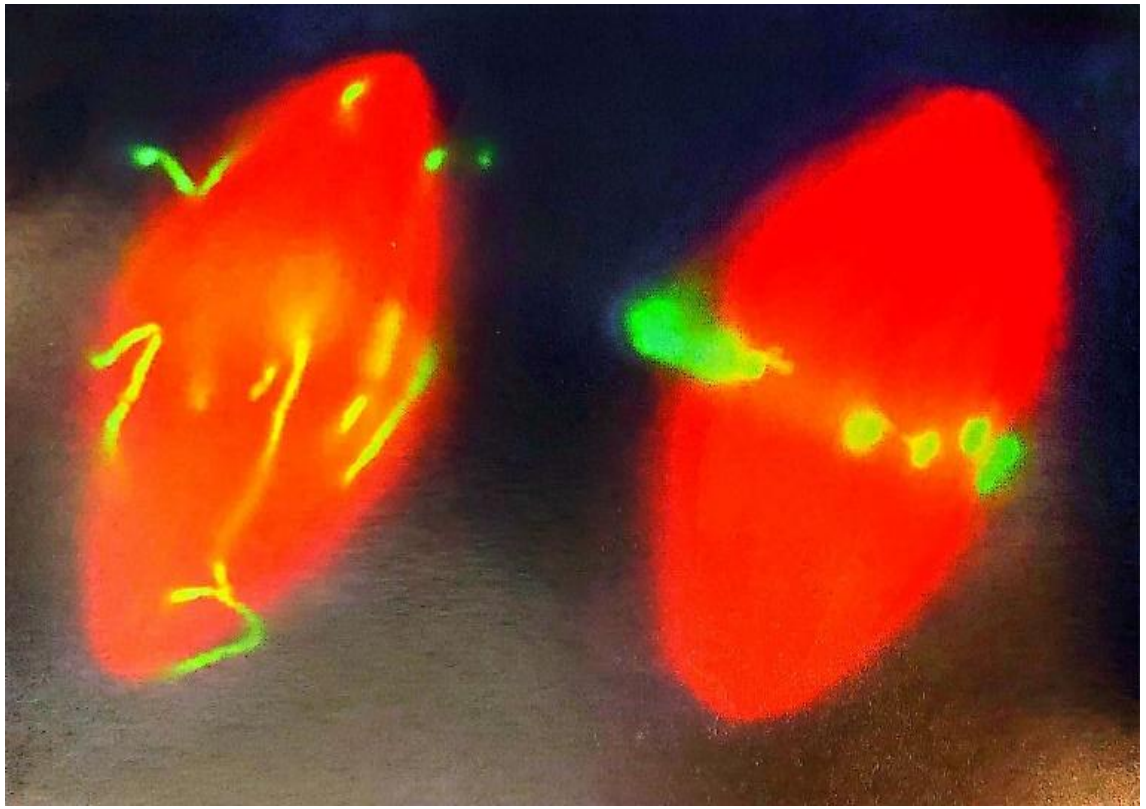
- Calculer la vitesse de déplacement du chromosome
  - 20 µm en 100s => 0,2 µm/s soit 12 µm/min



1. Microtubules et fuseau mitotique

1.3. Expérience 2 : marquage par fluorescence des chromosomes et de la kinésine

- Œuf de Xénope traité de façon à marquer par fluorescence les **chromosomes** et les **microtubules.**
  - A gauche : œuf ayant subi un traitement qui détruit la kinésine Xkid, normalement présente le long des bras de chromosomes
  - **A droite : témoin**
  - ⇨ Xkid participe à l'alignement équatorial des chromosomes en prométaphase



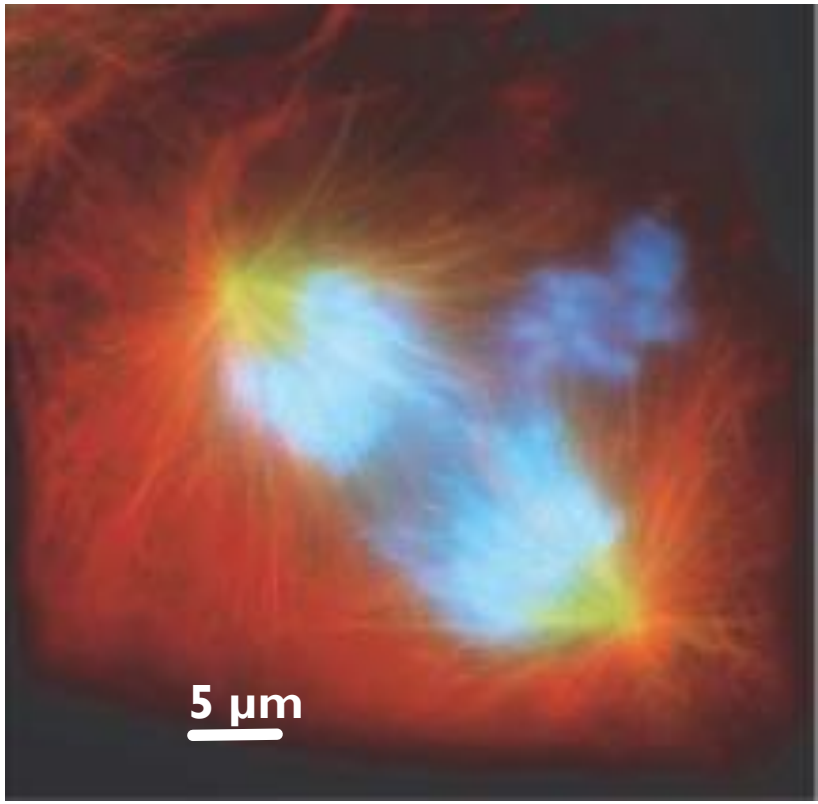
B. LE RÔLE DU CYTOSQUELETTE DANS LA DIVISION CELLULAIRE

1. Microtubules et fuseau mitotique

1.4. Expérience 3 : immunocytochimie anti-kératine et anti-tubuline

Des cellules ont subi un traitement au laser qui a cassé sélectivement plusieurs bras de plusieurs chromosomes (portion de bras alors dépourvue de kinétochore).
Les cellules sont ensuite fixées et incubées avec :

- un anticorps **anti-kératine** couplé à un fluorochrome rouge
- un anticorps **anti-tubuline**, couplé à un fluorochrome vert
- le DAPI qui s'intercale dans **l'ADN** (composé qui fluoresce en bleu)



- On reconnait une cellule en division cellulaire (**anaphase)** ; les deux chromatides sœurs se séparent et migrent grâce aux microtubules vers les deux pôles de la cellule.

- Concernant le troisième lot de chromosomes. On sait que les chromosomes ont été cassés, et que certaines portions de chromosome sont dépourvues de kinétochore.

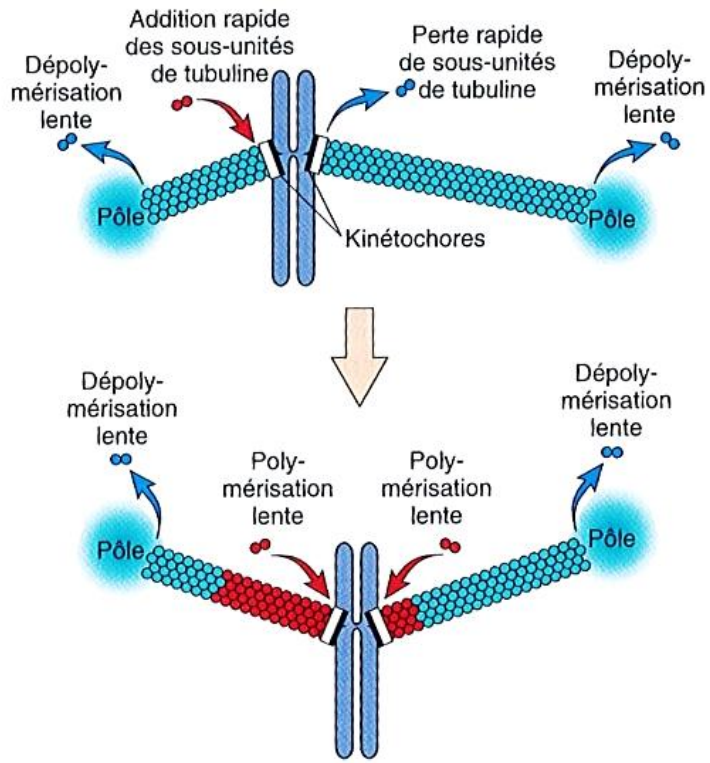
Ce lot de chromosome non pris en charge par les microtubules doit correspondre aux fragments de chromosomes.

- **Conclusion :**

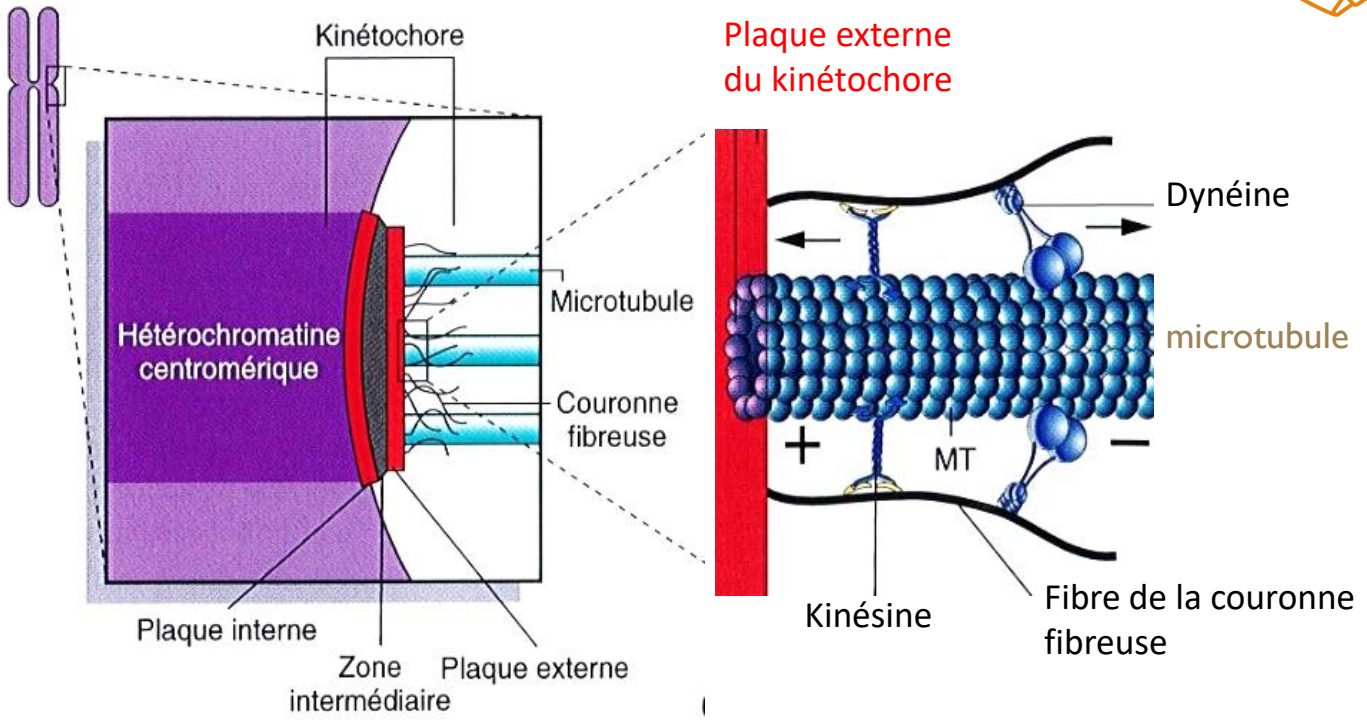
Le centromère et les kinétochores sont indispensables pour l'interaction chromosome/microtubule, et cette interaction est indispensable au déplacement et à la séparation des deux lots.

B. LE RÔLE DU CYTOSQUELETTE DANS LA DIVISION CELLULAIRE

2. Le kinétochore



Kinétochore et polymérisation des microtubules en prométaphase



Kinétochore et lien avec les microtubules (Karp, 2004)

- Les microtubules kinétochoriens sont dynamiques à leur extrémité (+) entrainant le déplacement des chromosomes.
- Les microtubules de chaque côté du kinétochore exercent des forces opposées sur les chromosomes qui finissent par s'équilibrer
  → alignement des chromosomes au centre de la cellule

B. LE RÔLE DU CYTOSQUELETTE DANS LA DIVISION CELLULAIRE

3. Les microtubules kinétochoriens et la séparation des chromatides en anaphase A

- FRAP = *Fluorescence Recovery After Photobleaching*

1. marquage des MT kinétochoriens avec des fluorochromes, (rhodamine rouge)
2. Blanchiment par laser par bande perpendiculaire à l'axe d'allongement des MT.
3. Zone décolorée reste fixée

⇨ Chez la majorité des espèces expérimentées, les MT raccourcissent par dépolymérisation de l'extrémité (+).

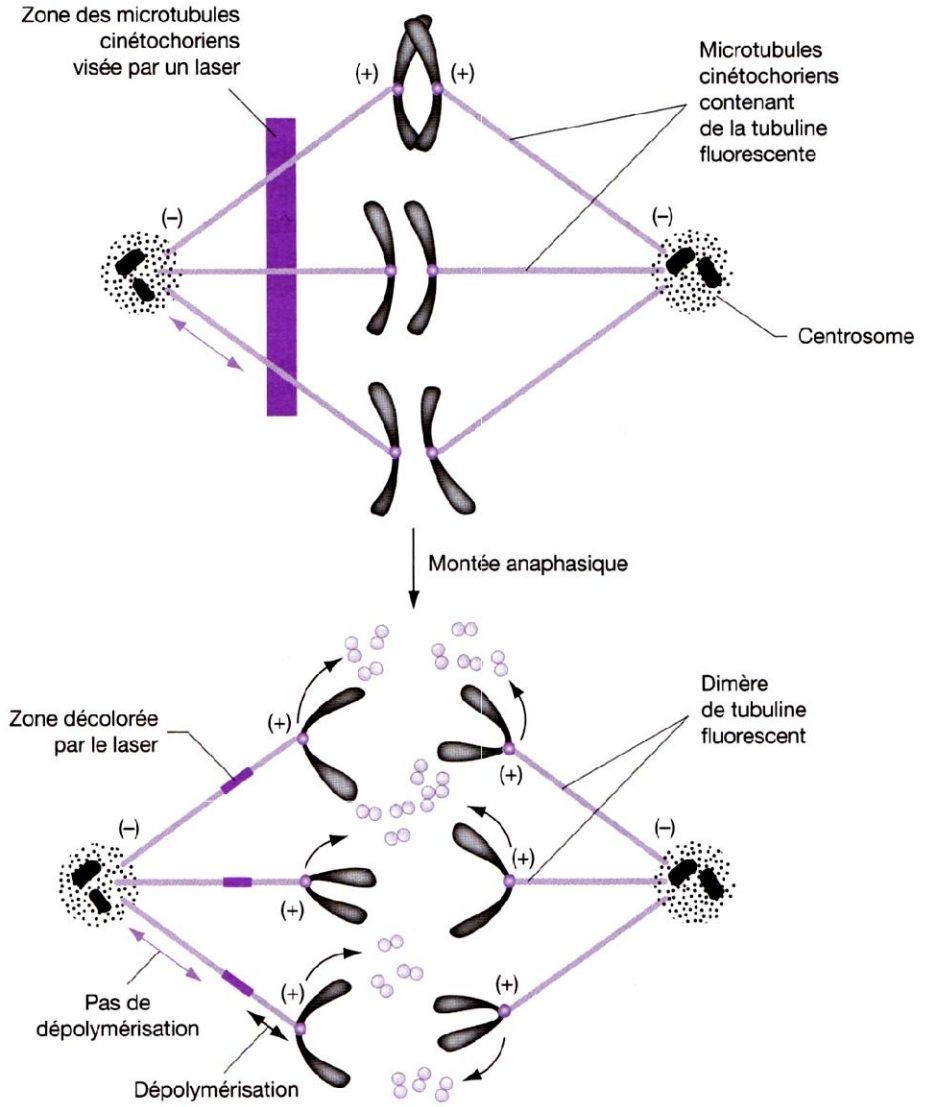
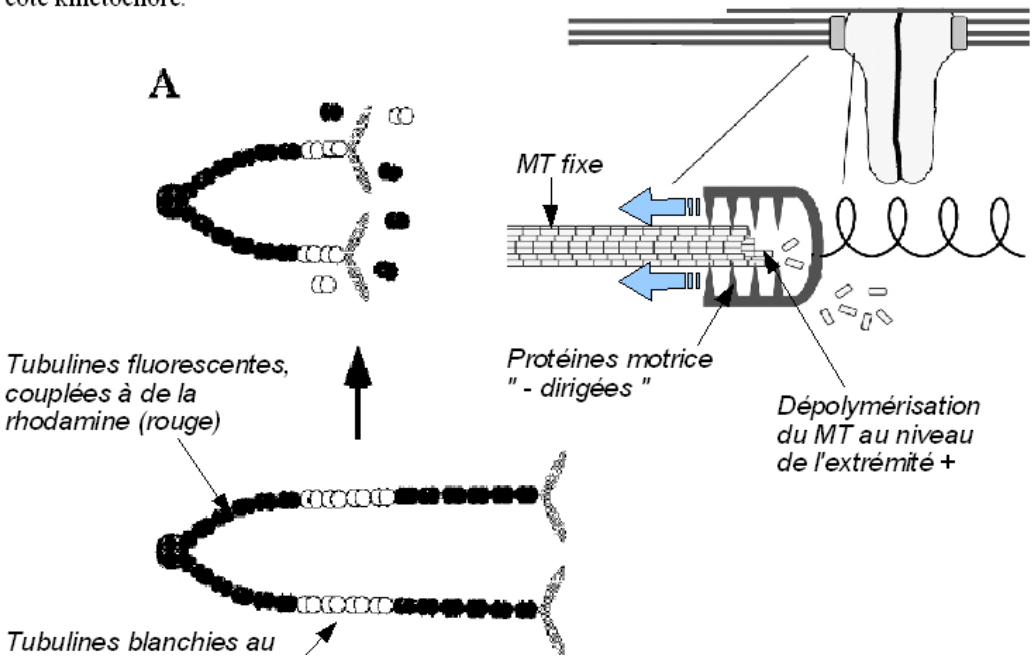


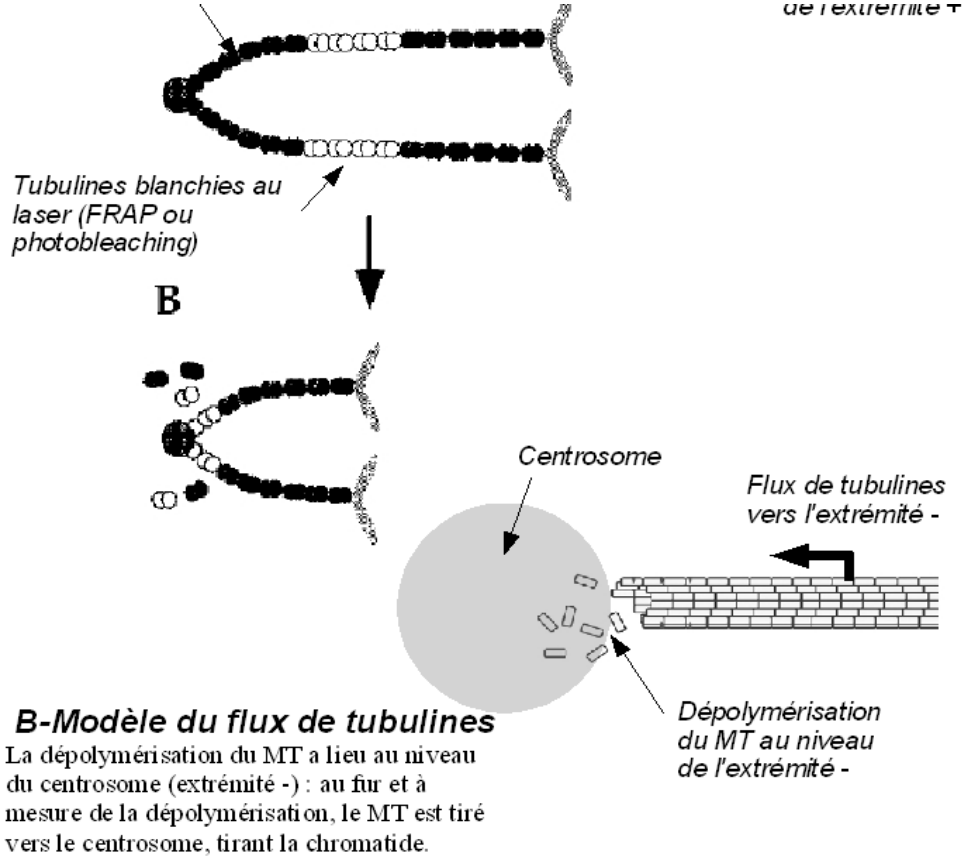
Figure 71 : méthode FRAP appliquée aux MT kinétochoriens

3. Les microtubules kinétochoriens et la séparation des chromatides en anaphase A

A- Modèle " Pac-Man " :

Des protéines motrices relient le kinétochore à l'extrémité + du MT kinétochorien. Le déplacement de ces protéines le long du MT vers l'exptrémité – est associé à une dépolymérisation du MT à l'extrémité + : le mouvement de la chromatide s'initie côté kinétochore.





B-Modèle du flux de tubulines

La dépolymérisation du MT a lieu au niveau du centrosome (extrémité -) : au fur et à mesure de la dépolymérisation, le MT est tiré vers le centrosome, tirant la chromatide.

Figure 72 : Les deux modèles de dépolymérisation des MT kinétochoriens en anaphase

3. Les microtubules kinétochoriens et la séparation des chromatides en anaphase A

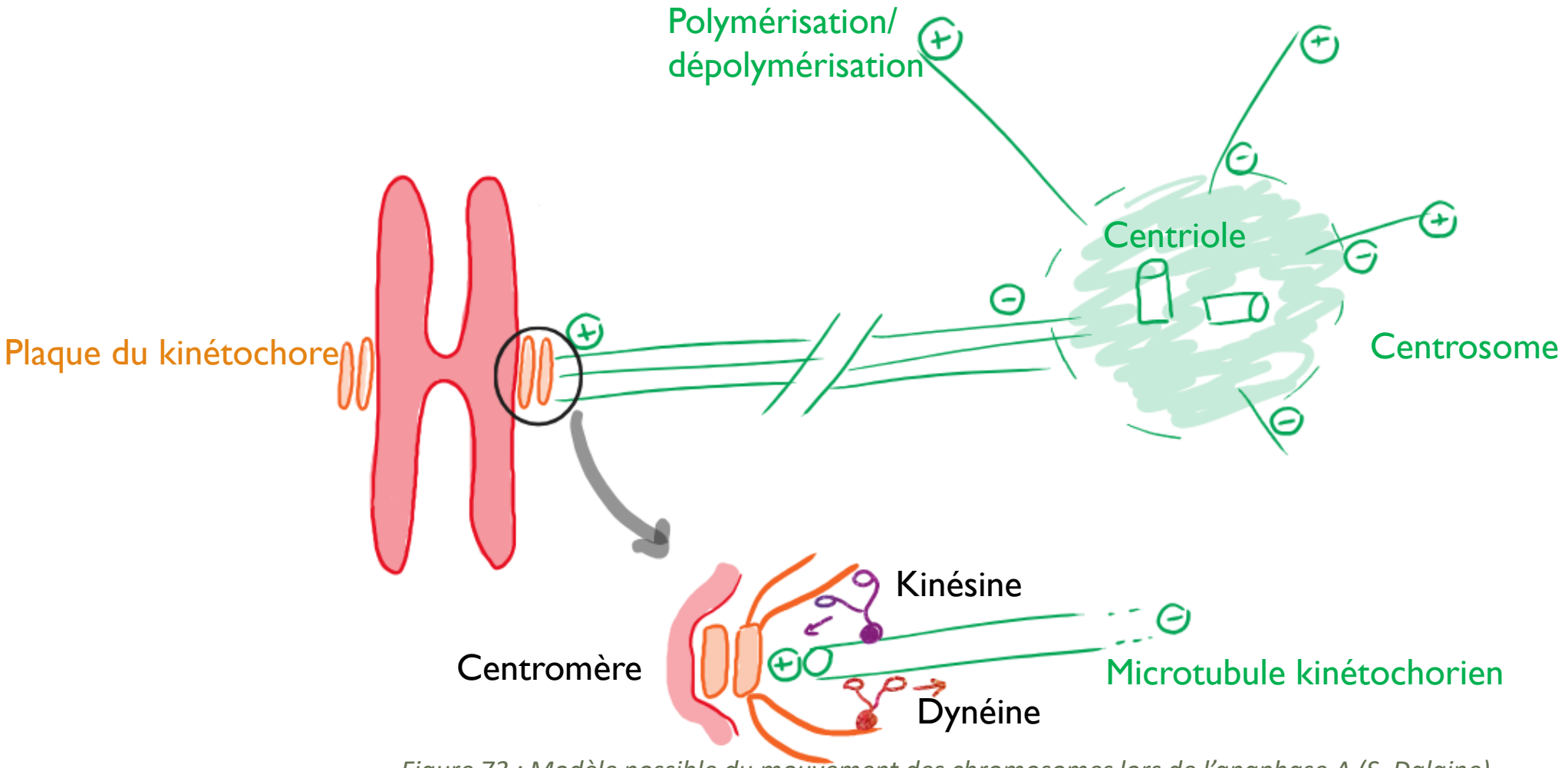


Figure 73 : Modèle possible du mouvement des chromosomes lors de l'anaphase A (S. Dalaine)

4. Les microtubules polaires et l'Anaphase (B)

- anaphase B= élongation du fuseau mitotique
  - ⇨ allongement des MT polaires opposés // zone de chevauchement reste de longueur constante grâce à l'action de kinésines
  - ⇨ Coulissement des MT chevauchants dans le sens opposé
  - ⇨ Allongement du fuseau mitotique

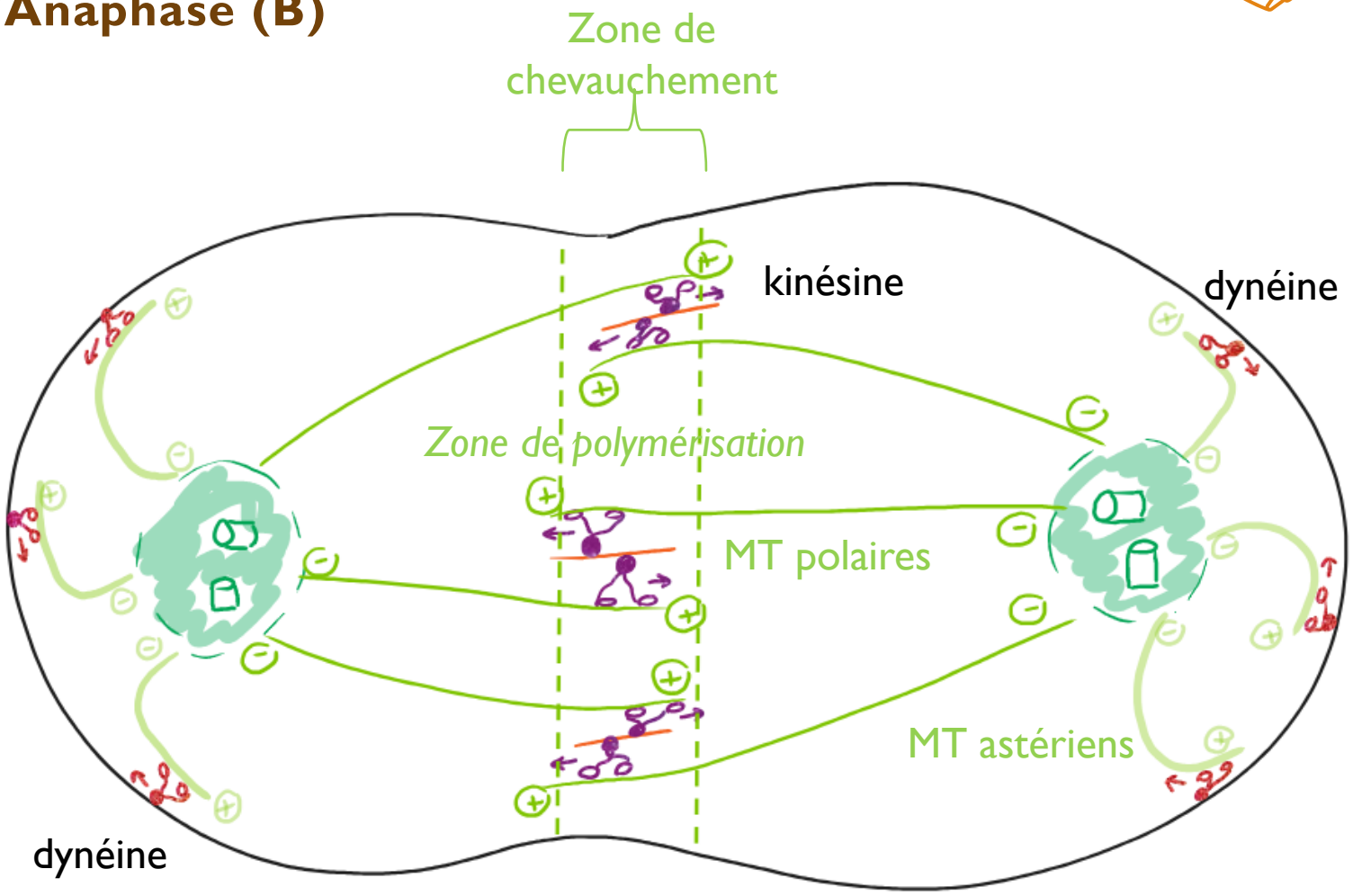


Figure 74 : allongement du fuseau mitotique au cours de l'anaphase B

4. Les microtubules polaires et l'Anaphase (B)

- MT astériens (astraux): reliés à des protéines motricées rattachées à la membrane plasmique
  - ⇨ Progression des centrosomes vers les pôles
- Polymérisation des MT polaires
  - ⇨ Allongement du fuseau mitotique
- Dépolymérisation des MT kinétochoriens
  - ⇨ Ascension polaire des chromatides

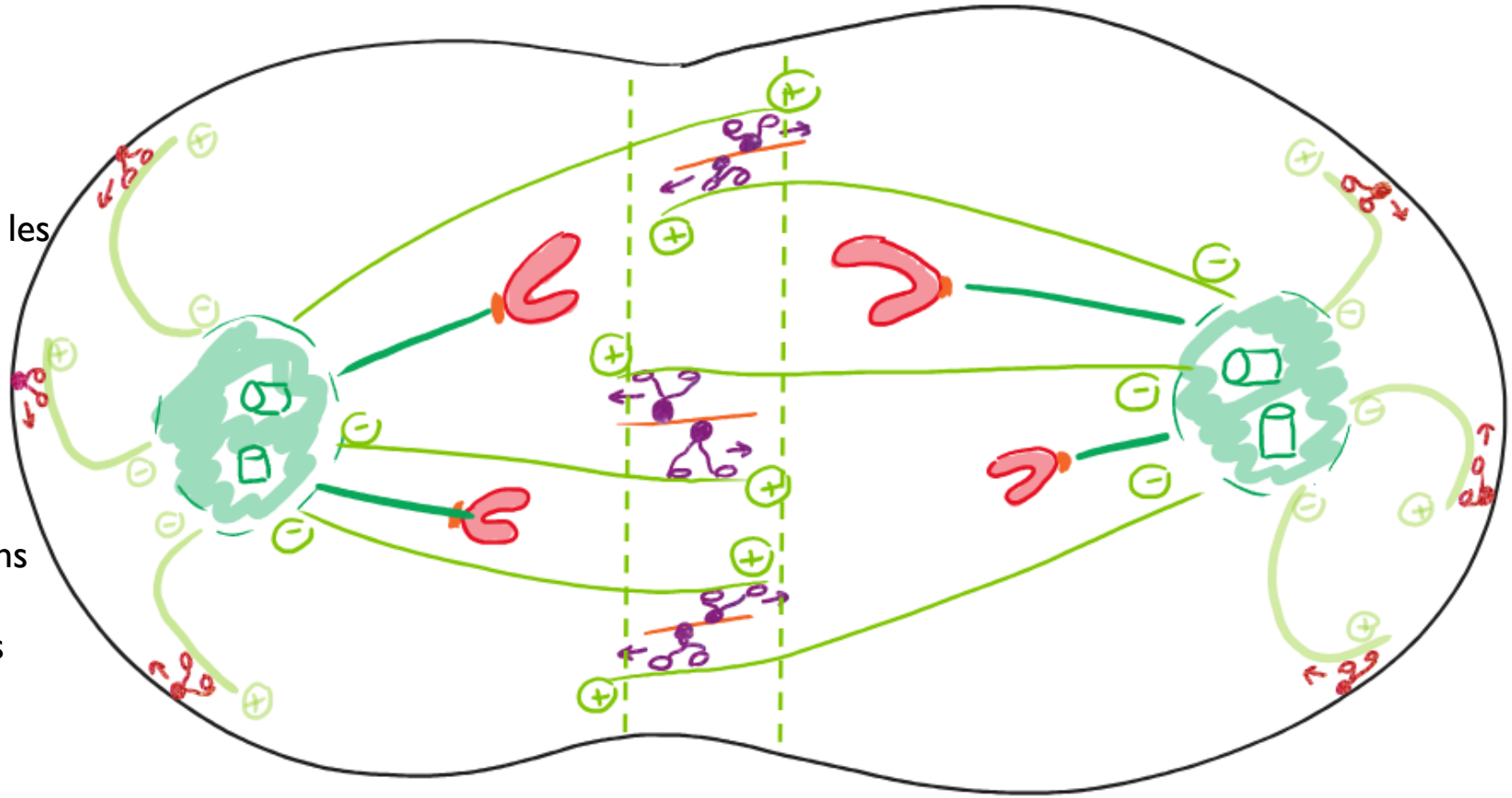
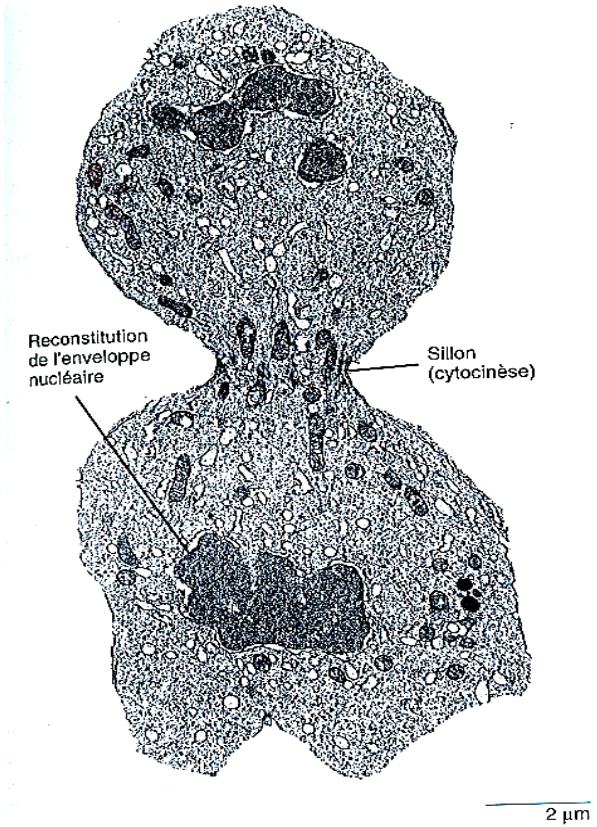


Figure 75 : rôle du cytosquelette et des protéines motrices dans le déroulement de l'anaphase

5. Cytocinèse et anneau contractile

- En télophase, mise en place d'un anneau contractile au milieu de la cellule.
- Anneau = actine + myosine
  - ➢ système contractile (comparable à celui des sarcomères des cellules musculaires)
- Déplacement relatif des différents microfilaments d'actine ⇨constriction du cytoplasme jusqu'à rupture
  → formation de 2 cellules



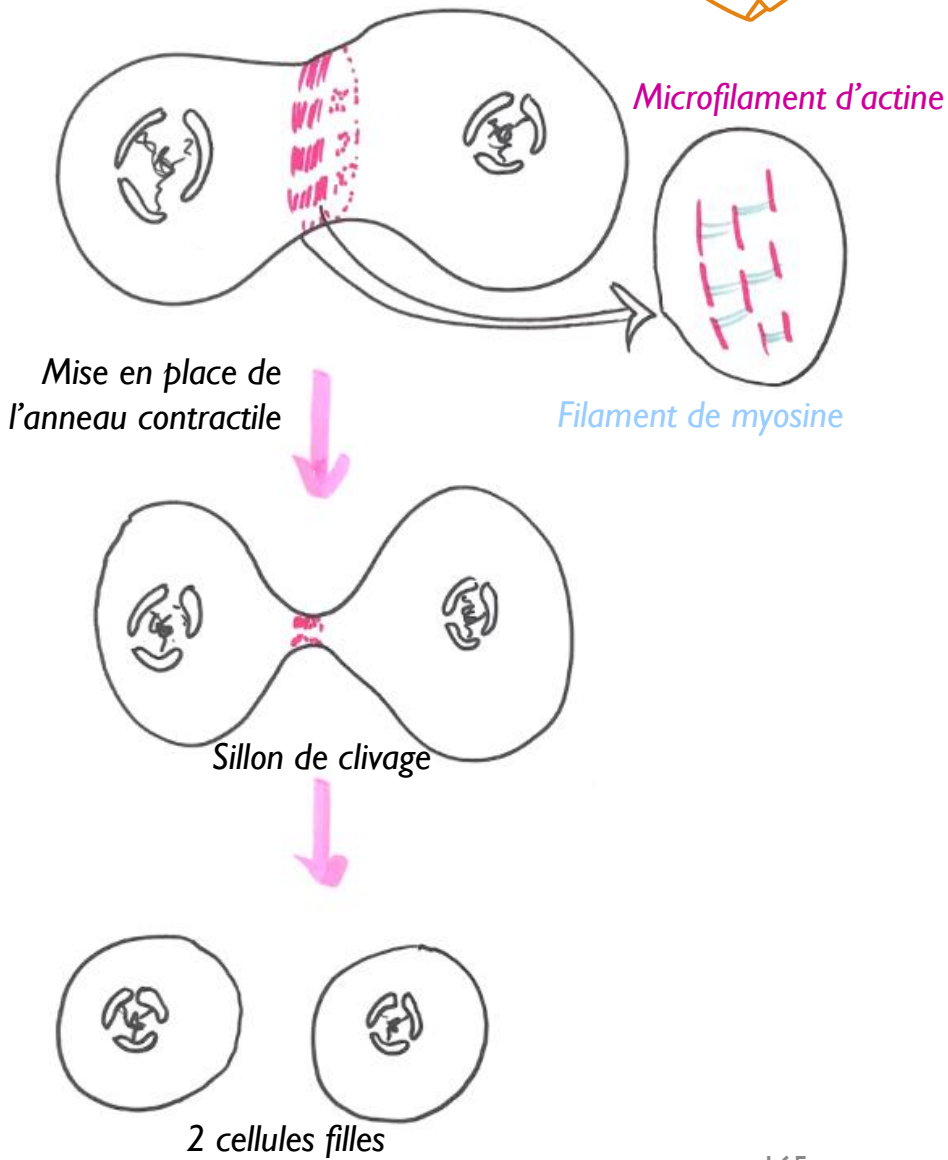
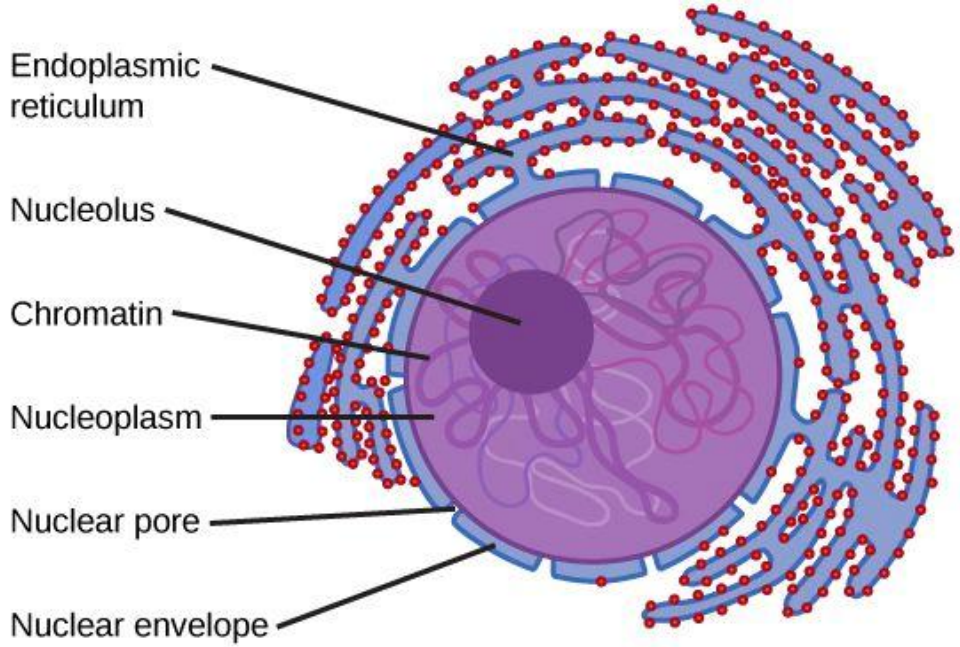


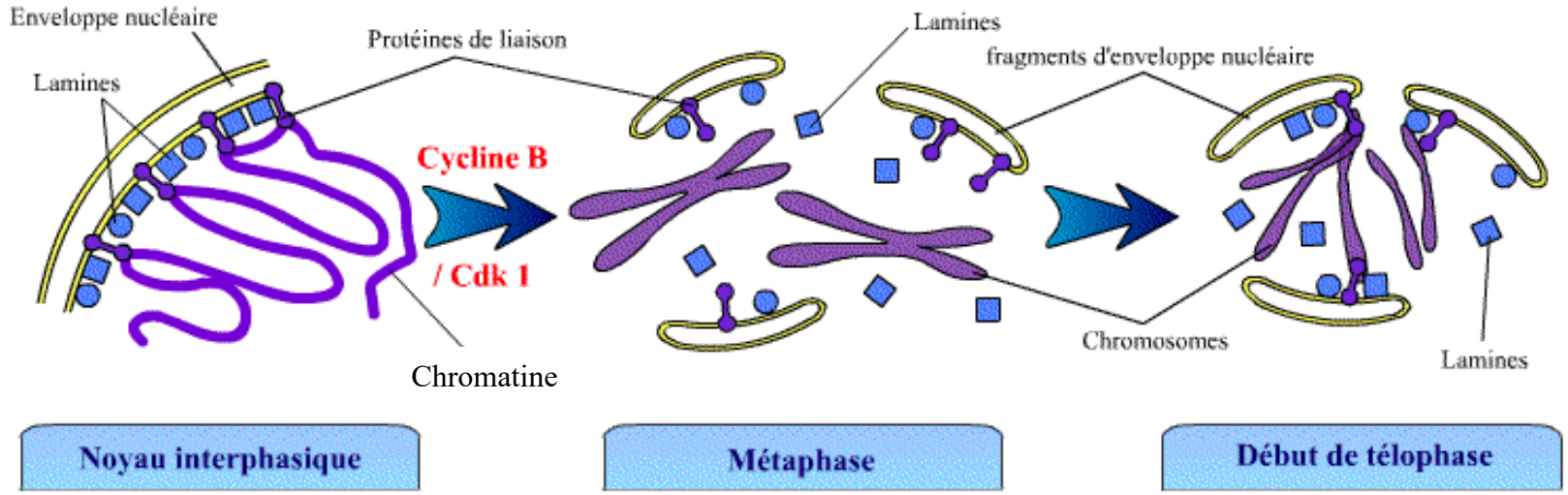
Figure 76 : Anneau contractile de la cytocinèse (S.Dalaine)

B. LE RÔLE DU CYTOSQUELETTE DANS LA DIVISION CELLULAIRE

6. Les lamines nucléaires

- Enveloppe nucléaire en continuité avec le réticulum endoplasmique granuleux (REG)
  - En **interphase**, les lamines maintiennent l'enveloppe.
  - En **métaphase**, l'enveloppe se fragmente en vésicules car elle n'est plus maintenue par les lamines (phosphorylées).
  - En **télophase**, l'enveloppe se reconstitue à partir des vésicules grâce aux lamines (déphosphorylées)



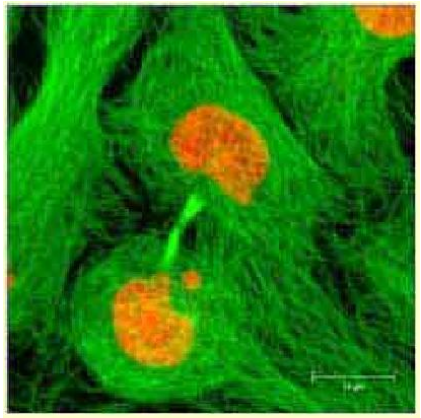


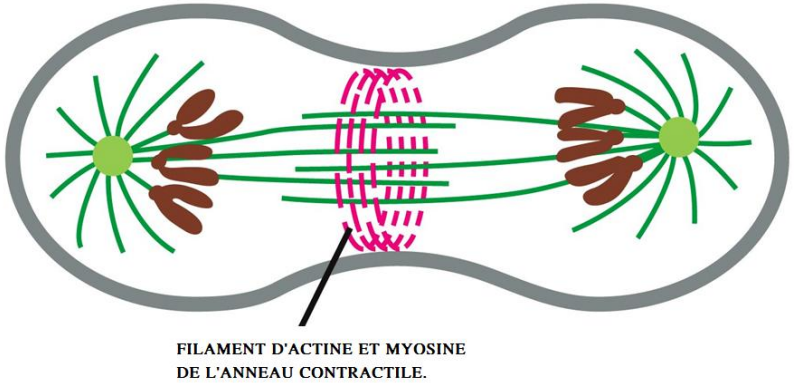
A. LES ÉLÉMENTS DU CYTOSQUELETTE CHEZ LES CELLULES EUCARYOTES

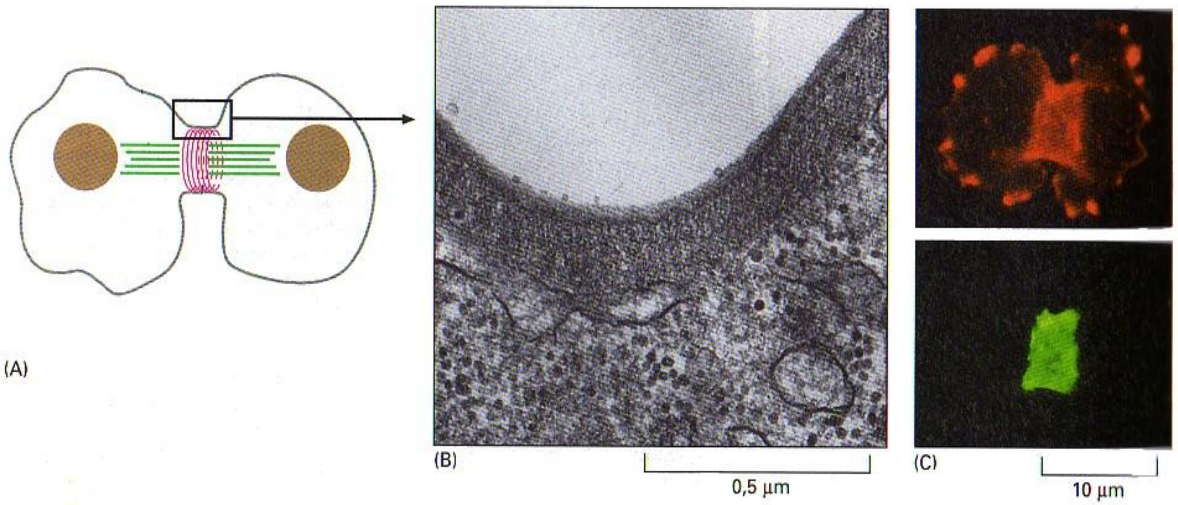
1. Les microfilaments (d'actine)

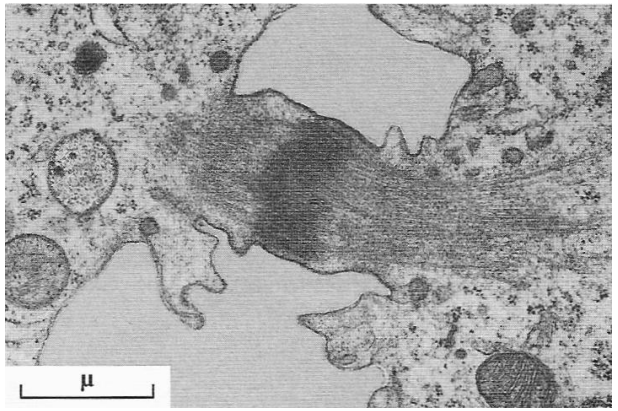
Fonctions (3/3)

Constriction et formation du corps intermédiaire lors de la télophase.









Anneau contractile d'actine myosine, en télophase: cytocinèse.

Rappels SV-C-2

Actine G

Actine F = assemblage d'actine G

Extrémité +: polymérisation plus rapide
Filament dynamique: poly/dépolymérisation

Structure d'exploration du milieu

filopode

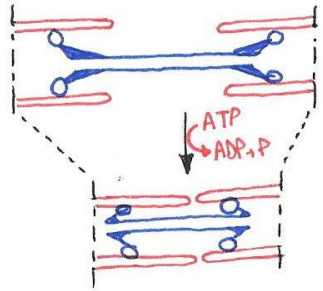
lamellipode

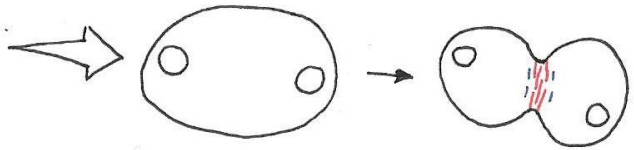
Fimbrines: assemblage en faisceaux parallèles d'actine

Filamines: maillage cortical d'actine

Cellule musculaire

Sarcomère unité contractile

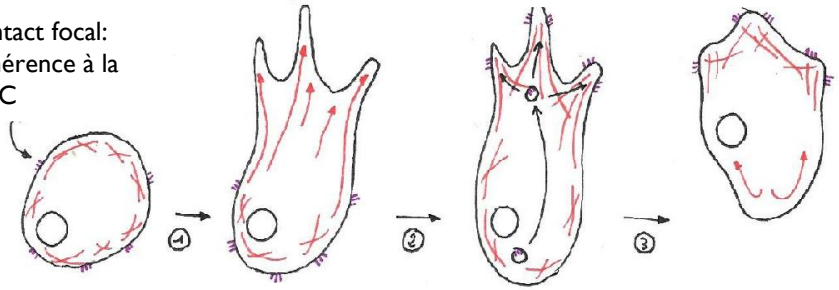




Anneau contractile d'actine-myosine lors des divisions cellulaires

Dynamique de l'actine et migration cellulaire

contact focal: adhérence à la MEC



1- Emission de filopodes/lamellipodes (polymérisation de mF d'actine)

2- dépolymérisation de mF d'actine et repolymérisation à l'avant

3- rétractation arrière via contraction de fibres de tension (actine-myosine)

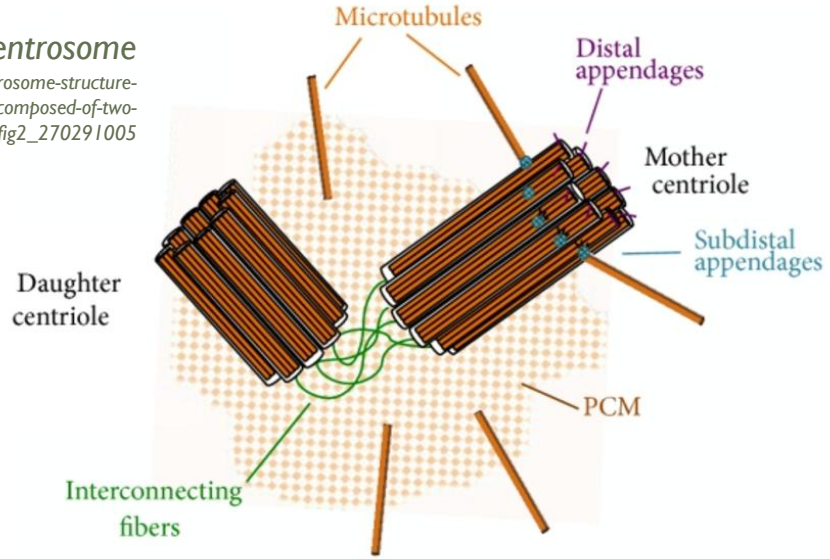
A. LES ÉLÉMENTS DU CYTOSQUELETTE CHEZ LES CELLULES EUCARYOTES

3. LES MICROTUBULES

Le MTOC

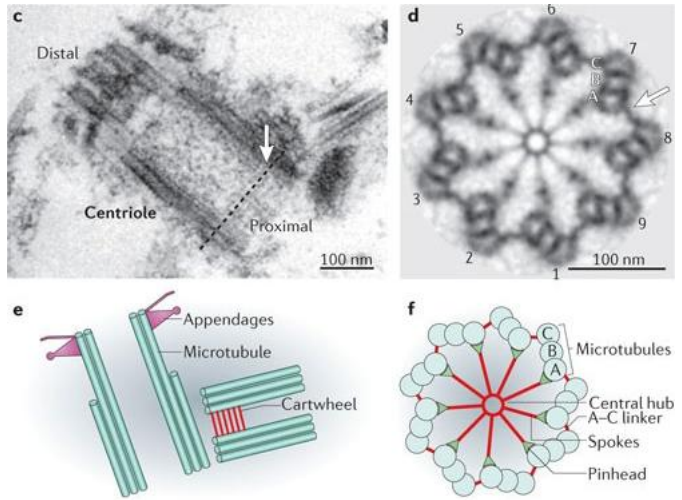
Structure du centrosome

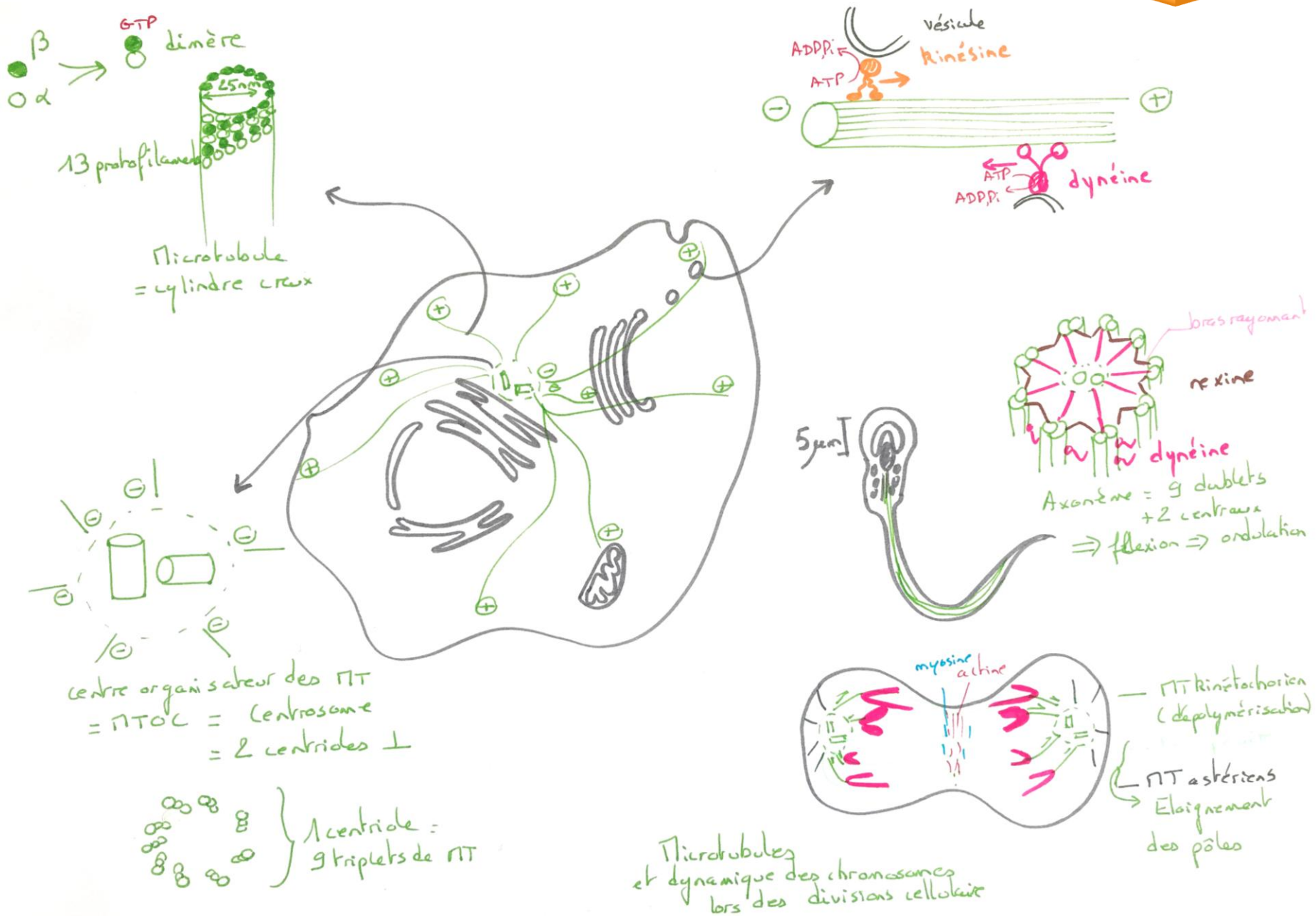
https://www.researchgate.net/figure/Centrosome-structure-Centrosomes-are-small-organelles-composed-of-two-perpendicular_fig2_270291005



- Le MTOC est le **centre de nucléation** des MT chez les eucaryotes (sauf végétaux)
- Chez les animaux le MTOC correspond au **centrosome** situé **près du noyau**.
  - **Centrosome** = paire de centrioles disposés perpendiculairement l'un par rapport à l'autre
  - **Centriole** = assemblage de 9 triplets MT courts (0,5 µm) et stables
- Les centrioles sont entourés de **matériel péri-centriolaire** (MPC) - de nature protéique
- Le centrosome se réplique pendant l'interphase (phase S) en prévision de la division cellulaire

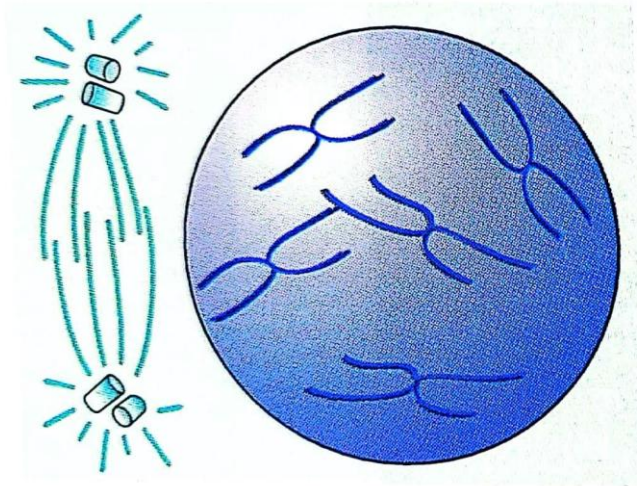
Structure d'un centriole



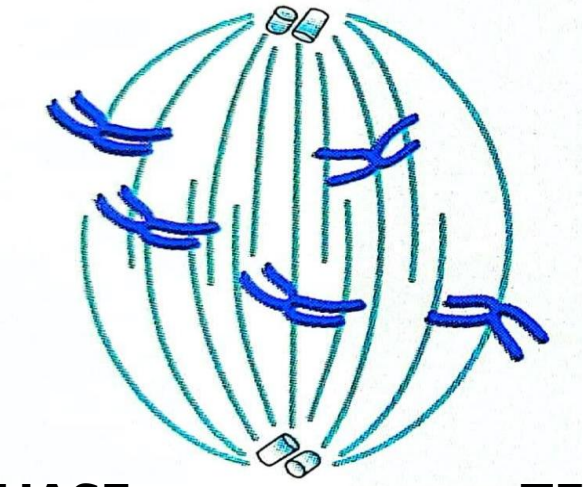

GTP
β
α
dimère
25nm
13 protofilaments
Microtubule
= cylindre creux
vésicule
ADP,Pi
ATP
kinésine
dynéine
centre organisateur des MT
= MTOC = Centrosome
= 2 centrioles ⊥
1 centriole :
9 triplets de MT
5µm
bras rayonnant
nexine
dynéine
Axonème = 9 doublets
+2 centraux
⇒ flexion ⇒ ondulation
myosine
actine
MT kinétochorien
(dépolymérisation)
MT astériens
Eloignement
des pôles
Microtubules
et dynamique des chromosomes
lors des divisions cellulaire

BILAN GÉNÉRAL

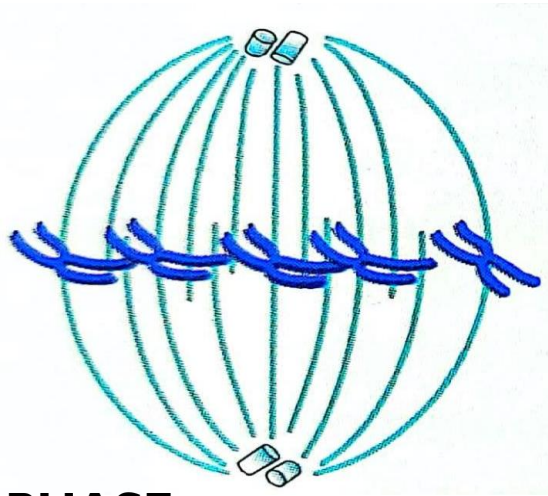
PROPHASE



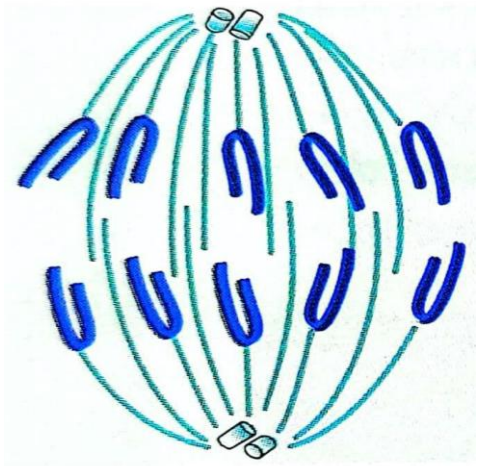
PROMETAPHASE



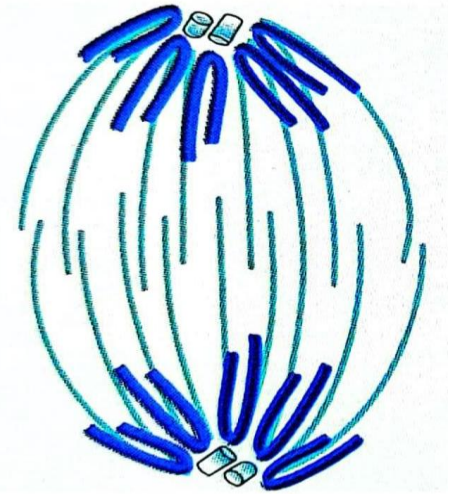
METAPHASE



ANAPHASE

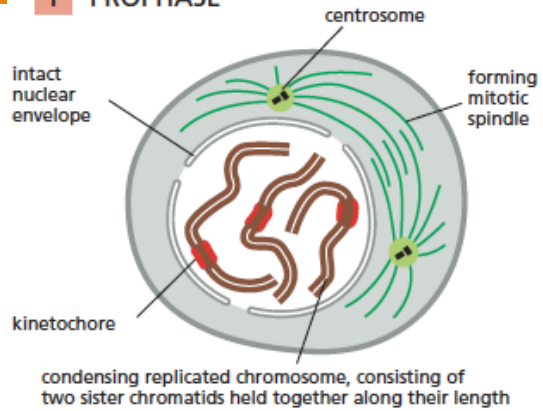


TELOPHASE



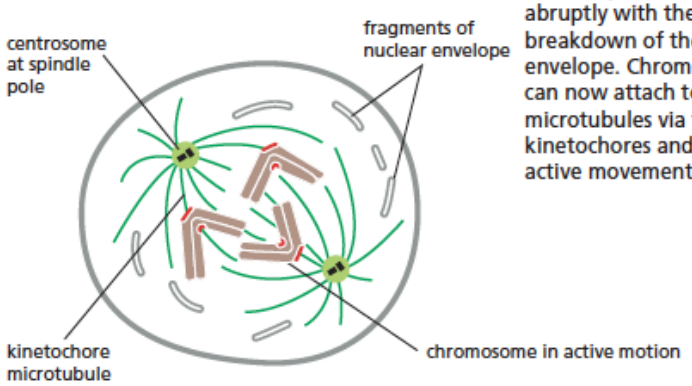
BILAN GÉNÉRAL

1 PROPHASE



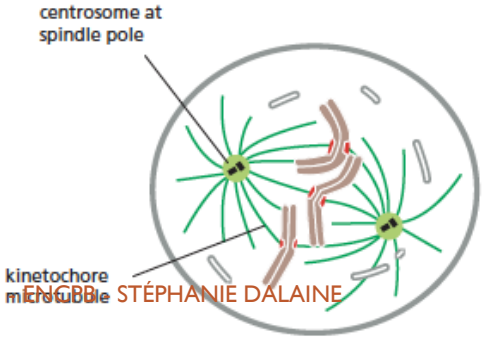
At prophase, the replicated chromosomes, each consisting of two closely associated sister chromatids, condense. Outside the nucleus, the mitotic spindle assembles between the two centrosomes, which have replicated and moved apart. For simplicity, only three chromosomes are shown. In diploid cells, there would be two copies of each chromosome present. In the fluorescence micrograph, chromosomes are stained *orange* and microtubules are *green*.

2 PROMETAPHASE



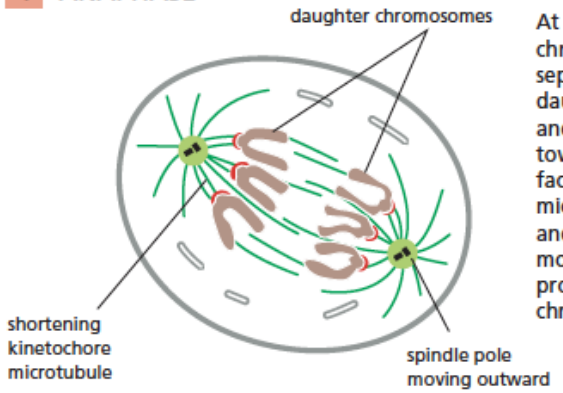
Prometaphase starts abruptly with the breakdown of the nuclear envelope. Chromosomes can now attach to spindle microtubules via their kinetochores and undergo active movement.

3 METAPHASE



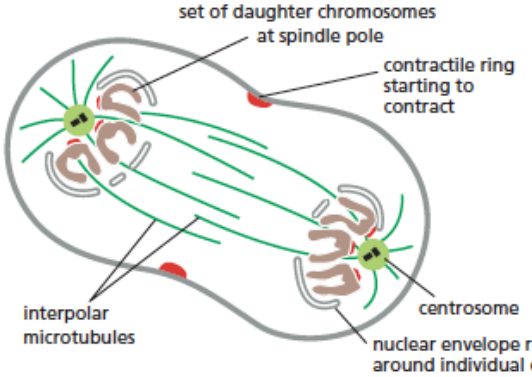
At metaphase, the chromosomes are aligned at the equator of the spindle, midway between the spindle poles. The kinetochore microtubules attach sister chromatids to opposite poles of the spindle.

4 ANAPHASE



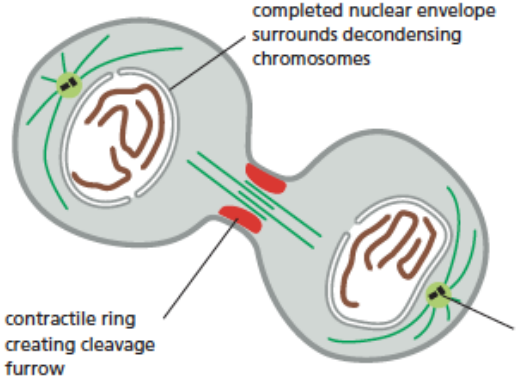
At anaphase, the sister chromatids synchronously separate to form two daughter chromosomes, and each is pulled slowly toward the spindle pole it faces. The kinetochore microtubules get shorter, and the spindle poles also move apart; both processes contribute to chromosome segregation.

5 TELOPHASE



During telophase, the two sets of daughter chromosomes arrive at the poles of the spindle and decondense. A new nuclear envelope reassembles around each set, completing the formation of two nuclei and marking the end of mitosis. The division of the cytoplasm begins with contraction of the contractile ring.

6 CYTOKINESIS



During cytokinesis, the cytoplasm is divided in two by a contractile ring of actin and myosin filaments, which pinches the cell in two to create two daughters, each with one nucleus.

BILAN GÉNÉRAL

	Chromosome	Enveloppe nucléaire	Cytosquelette
Prophase	Condensation +	+	Mise en place des MT polaires et astériens Eloignement des centrosomes
Prométaphase	Condensation ++	Dislocation	Mise en place des MT kinétochoriens (fixation aux kinétochores) Eloignement des centrosomes Phosphorylation des lamines
Métaphase	Condensation +++ Alignement sur la plaque équatoriale	-	Equilibre des MT kinétochoriens
Anaphase	Condensation +++ Séparation des chromatides et migration aux pôles	-	Raccourcissement des MT
Télophase	Décondensation progressive	Reformation	Déphosphorylation des lamines
Cytokinèse	Décondensation progressive	+	Mise en place de l'anneau contractile d'actine/myosine → constriction du cytoplasme jusqu'à séparation en 2 cellules

CONCLUSION

- Le cycle cellulaire est une succession d'étapes identiques dont les durées varient selon les cellules
- La réplication est bidirectionnelle, semi-conservative, asymétrique et catalysée par les ADN polymérases fidèles
- Les divisions cellulaires fonctionnent de façon similaire, mais la mitose est plutôt conservatrice alors que la méiose est diversificatrice
- Ces deux types de divisions on des places différentes dans la vie d'un individu : la mitose intervient dans la croissance et le renouvellement cellulaire, la méiose au cours de la reproduction sexuée

CONCLUSION

- La diversification des génomes s'opère par 3 mécanismes :
  - Mutations : rares, spontanées, aléatoires (par exemple du fait d'erreurs de réplication)
  - Transferts horizontaux de gènes : fréquents chez les procaryotes, plus rares chez les Eucaryotes. Les virus jouent un rôle important dans les THG en transférant des portions de génome d'un hôte à un autre
  - Reproduction sexuée : méiose et fécondation génèrent un brassage des allèles et expliquent en partie les différences entre les descendants d'un couple

- La génération de diversité est un préalable nécessaire à l'évolution par les processus de sélection naturelle (sélection du phénotype, donc du génotype, avantageux dans un contexte donné) et de dérive génétique (évolution aléatoire des fréquences génotypique par échantillonnage au sein d'une population)

SUJETS D'ORAUX

Chapitre SV-F-1-2- La transmission de l'information génétique au cours des divisions cellulaires chez les Eucaryotes (BCPST 1)

- Le cycle cellulaire
- Le chromosome eucaryote au cours du cycle cellulaire
- La stabilité de l'information génétique au cours d'un cycle cellulaire
- La stabilité de l'information génétique
- La mitose
- Comparaison mitose - méiose
- Les divisions cellulaires

SUJETS D'ORAUX (TRANSVERSAUX)

- La relation structure-fonction dans la molécule d'ADN
- La réplication de l'ADN
- Les interactions ADN-protéines
- La réplication de l'ADN
- Comparer le déroulement de la mitose des cellules animales et des cellules végétales
- La mitose : une reproduction conforme ?
- Le cytosquelette lors de la mitose
- Le cycle cellulaire
- Chromatine et chromosomes
- L'importance du cytosquelette dans la division cellulaire
- Le partage du matériel cellulaire au cours de la mitose
- Le cycle cellulaire (qu'est-ce qu'un cycle cellulaire ?)
- Interactions ADN-protéines au cours du cycle cellulaire
- Conservation de l'information génétique au cours du cycle cellulaire
- Le chromosome au cours du cycle cellulaire
- Évolution d'UN chromosome au cours du cycle cellulaire
- Évolution DES chromosomes au cours du cycle cellulaire
- Qu'est-ce qu'un chromosome ?
- Chromatine et chromosomes au cours du cycle cellulaire
- Le chromosome, élément permanent et dynamique du cycle cellulaire
- Les divisions cellulaires