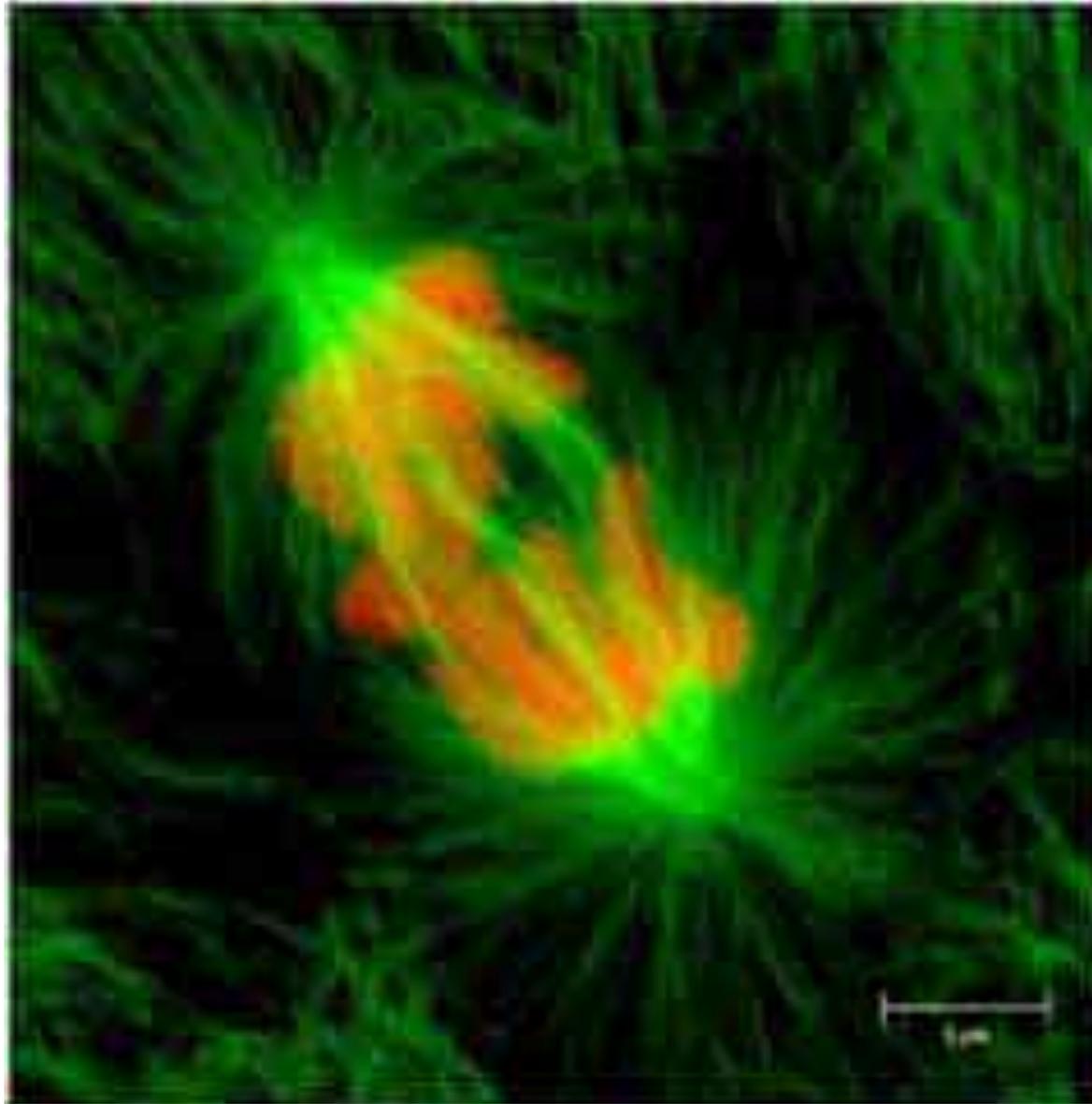


TP Mitose et chromosomes



Importance biologique de la mitose

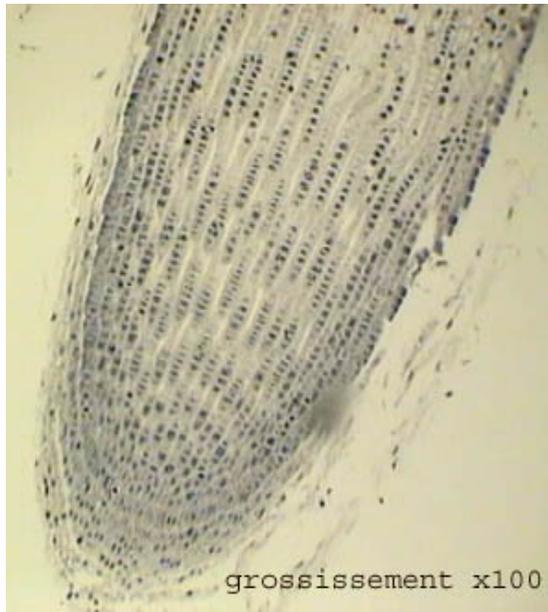
Croissance d'une population
d'êtres vivants unicellulaires



Développement embryonnaire



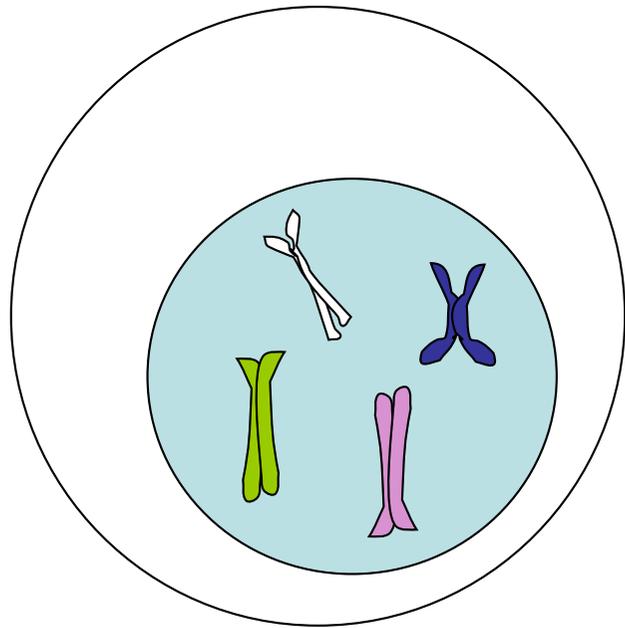
Croissance d'un organisme



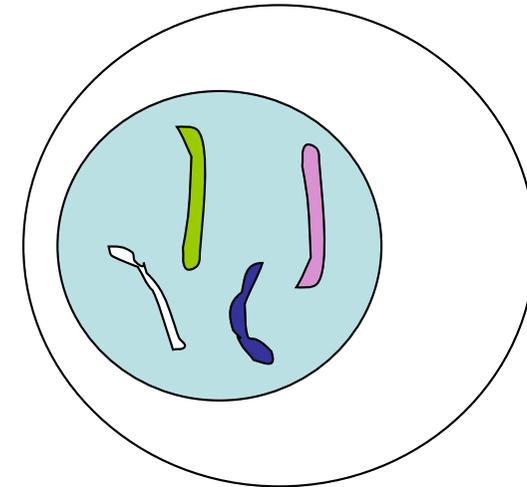
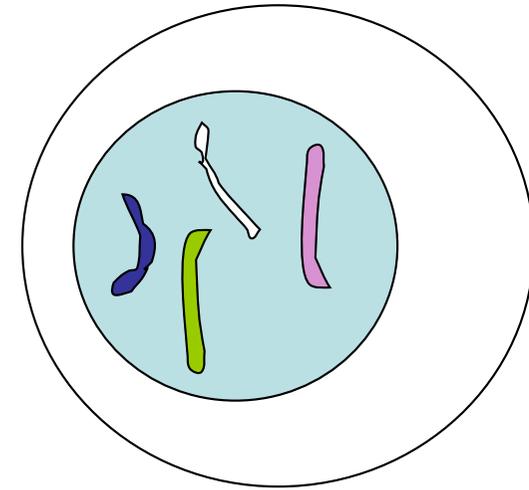
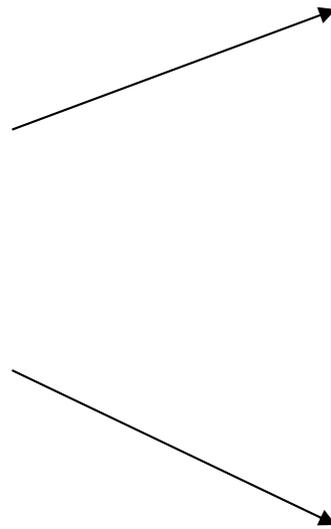
Régénération, renouvellement



Conservation de l'information génétique durant la mitose

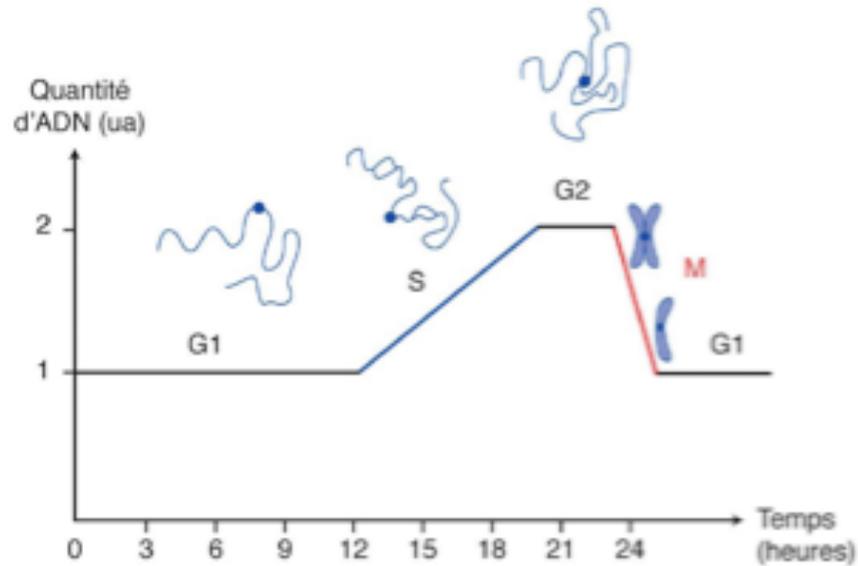
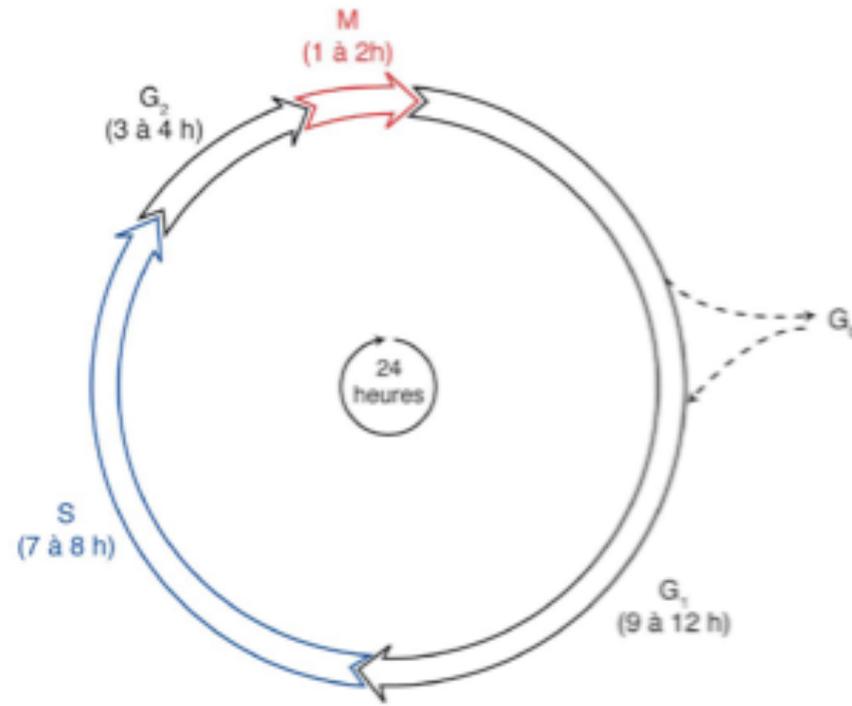


Cellule-mère:
2n Chromosomes à 2 chromatides



Cellules-filles:
2n Chromosomes à 1 chromatide

Le cycle cellulaire

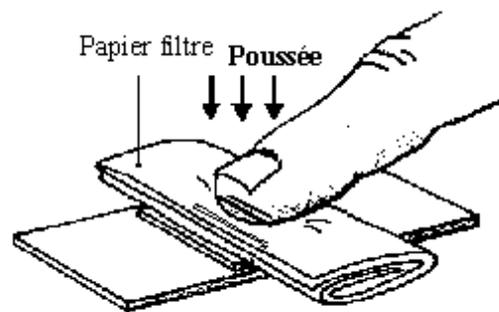
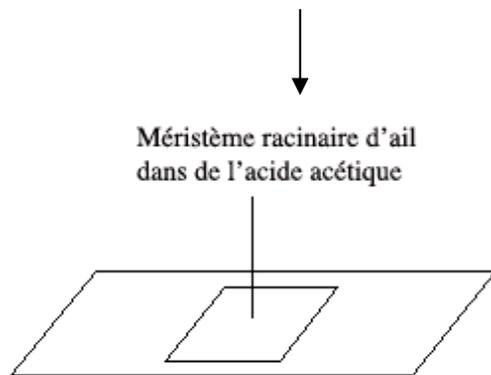


Préparation de mitoses végétales

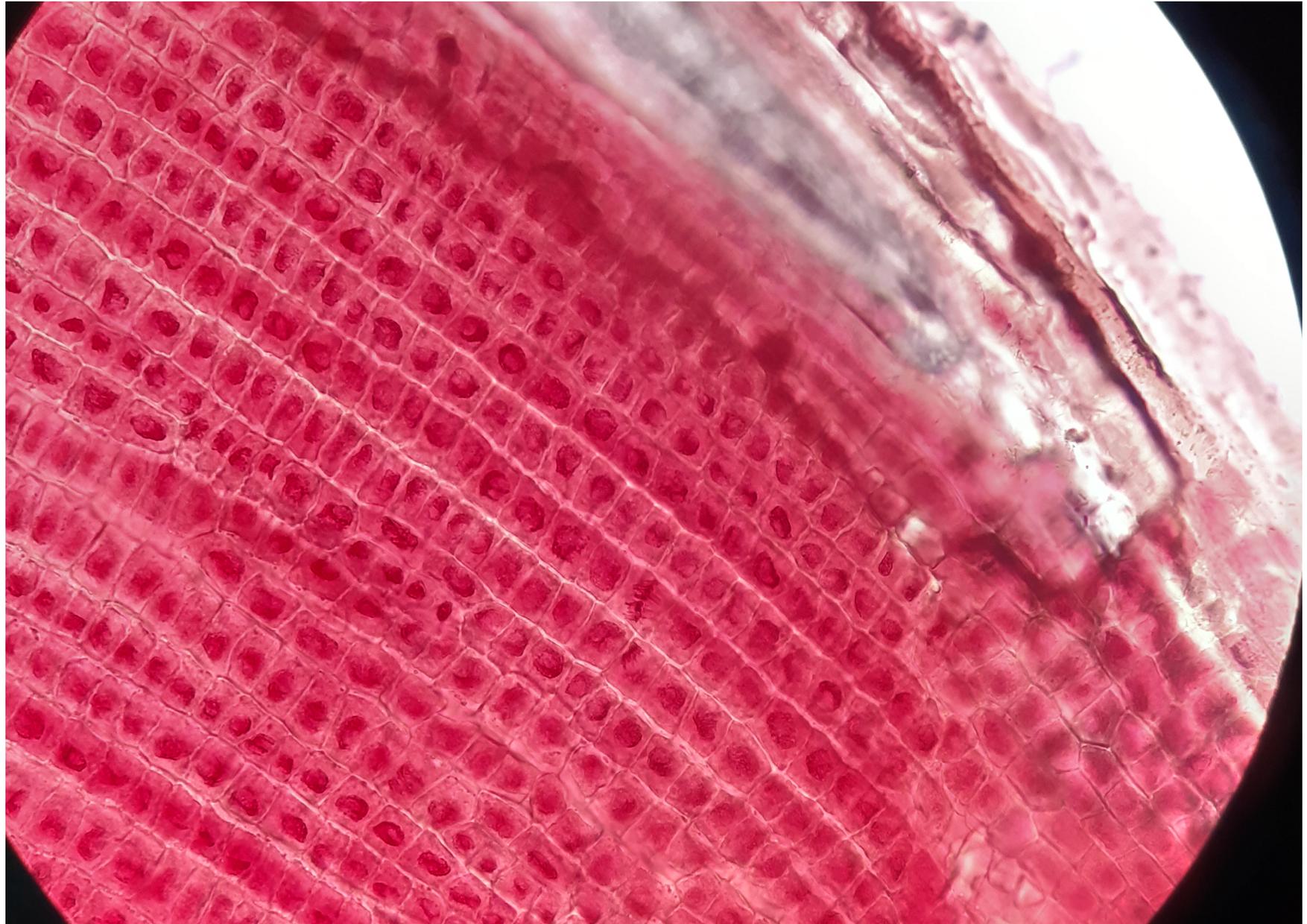


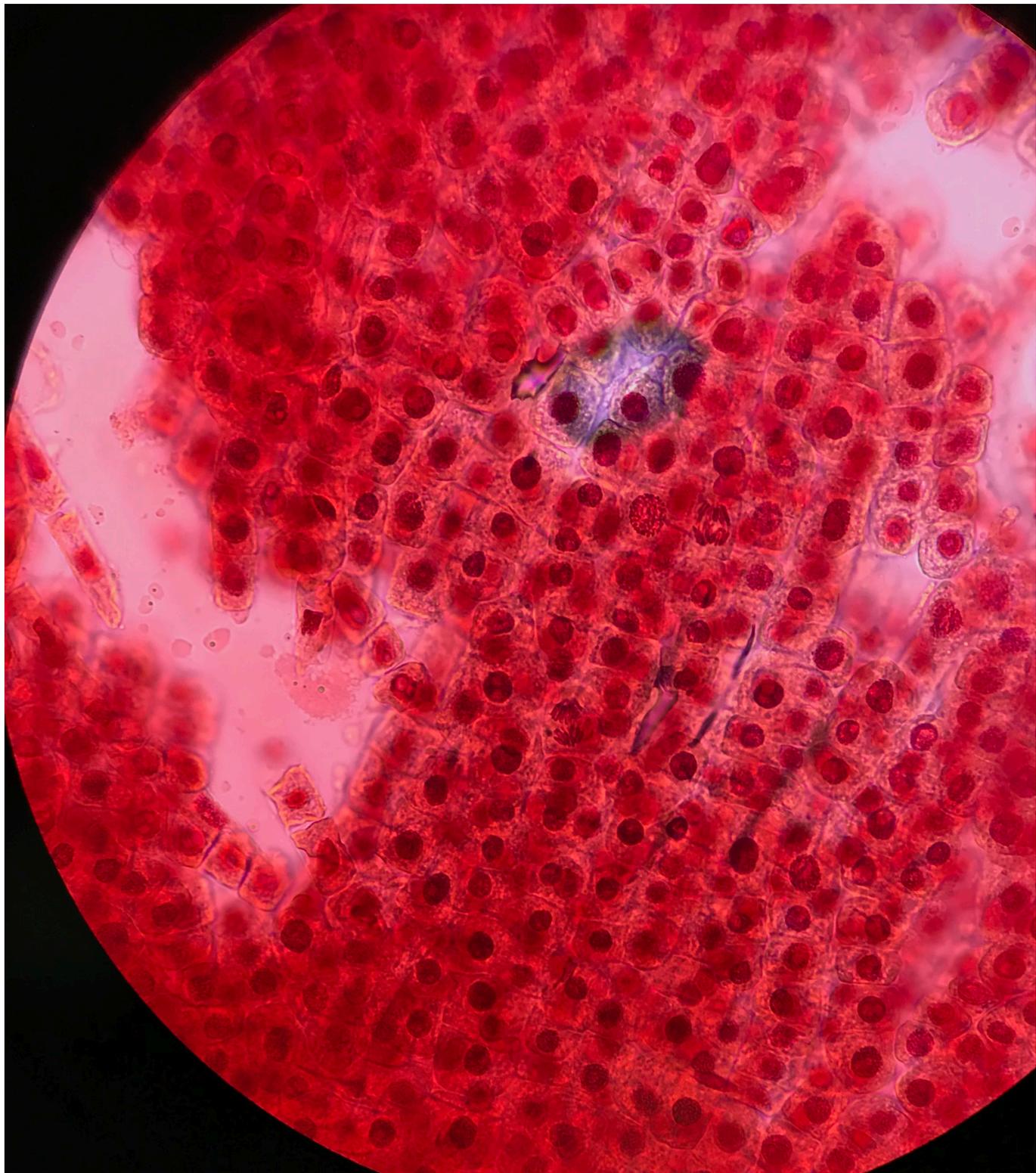


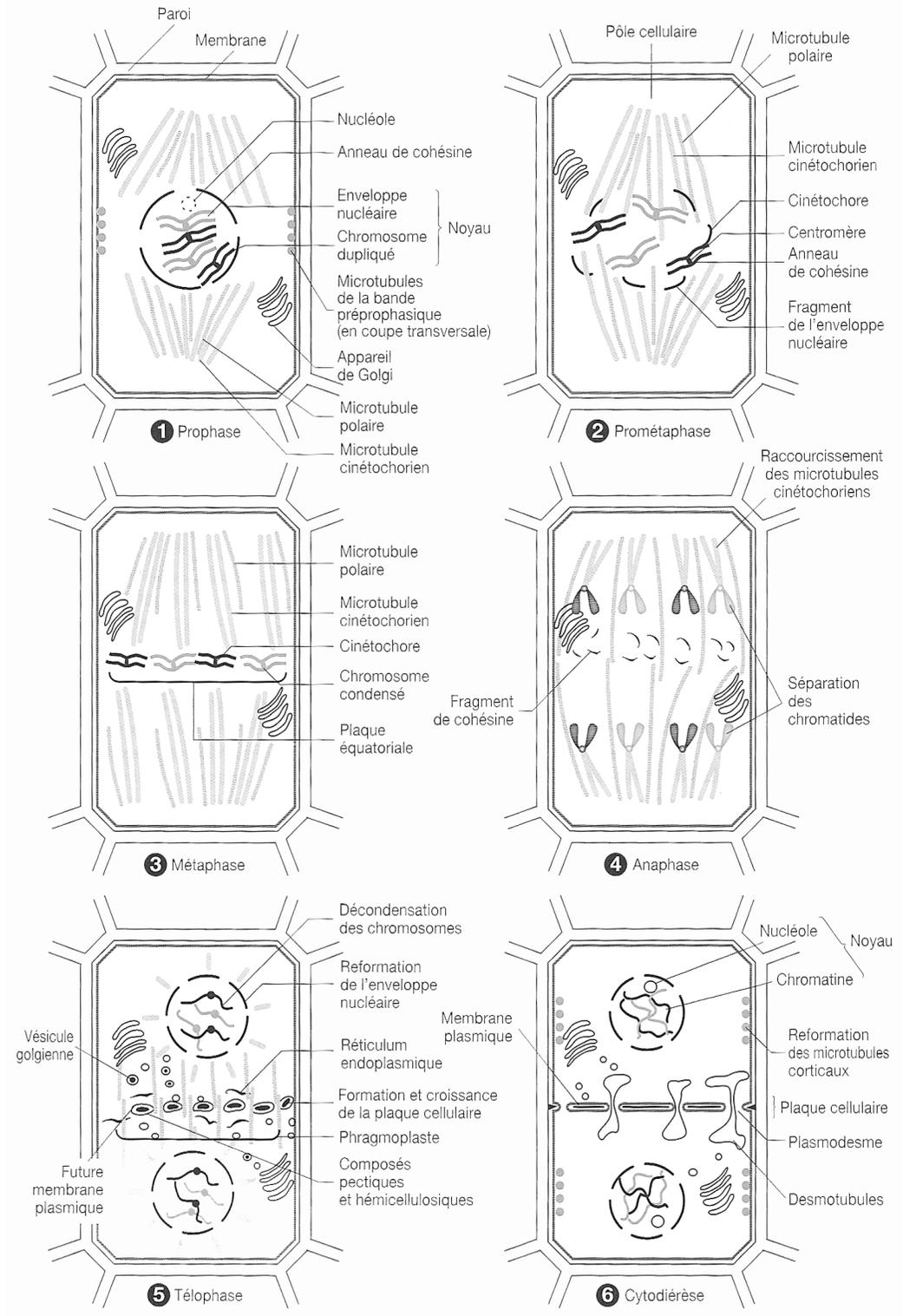
5 min : acide chlorhydrique
15 -20 minutes : orcéine acétique

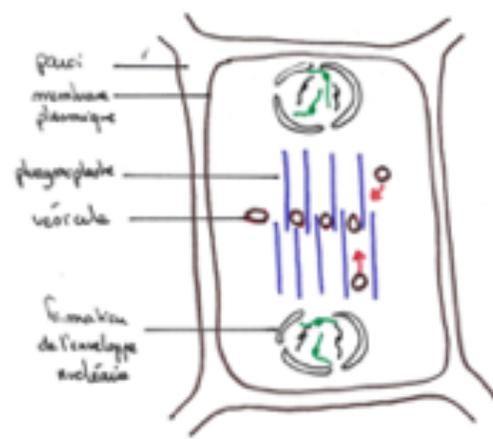


d'après georges.dolisi.free.fr

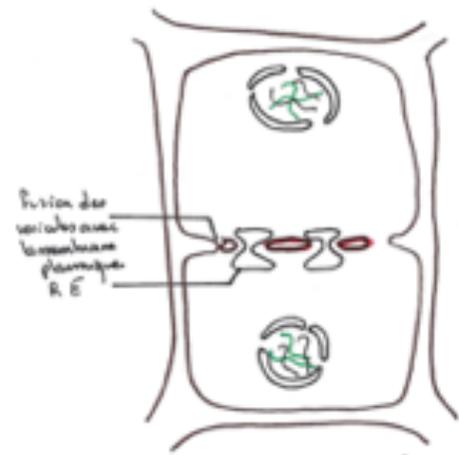








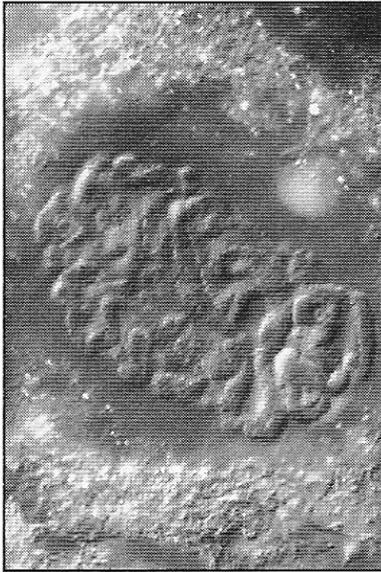
① migration des vésicules vers le centre de la plaque équatoriale



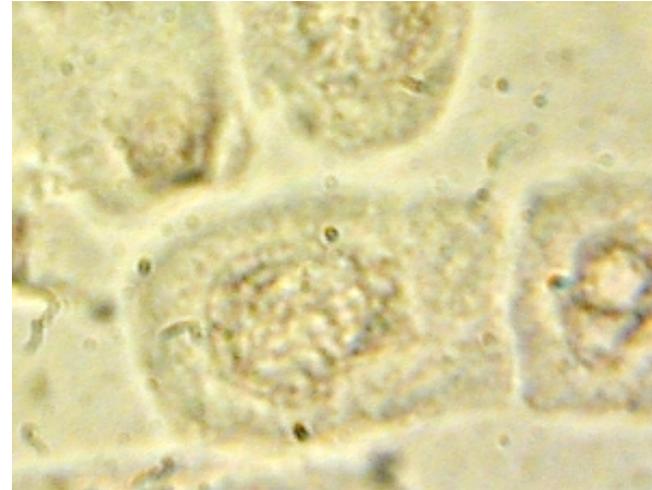
② Fusion des vésicules → formation de la plaque cellulaire et mise en place des 2 membranes + lamelle moyenne + paroi S.

Cytodivision dans une cellule végétale

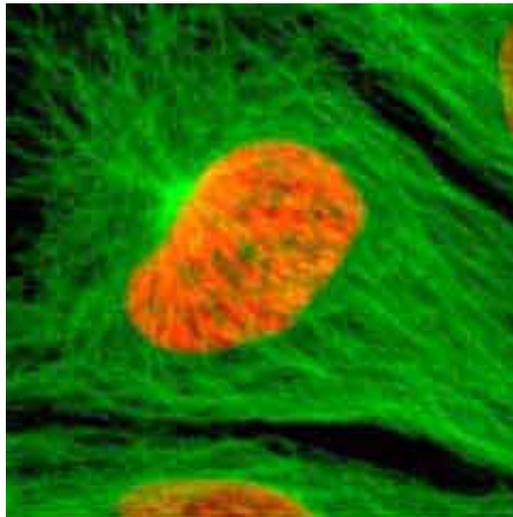
PROPHASE



**Contraste d'interférence
différentielle**



Microscopie optique



Microscopie à fluorescence

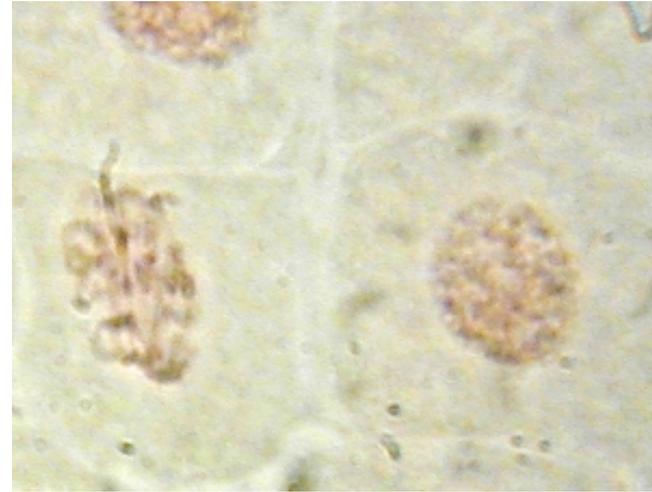


Coloration Feulgen

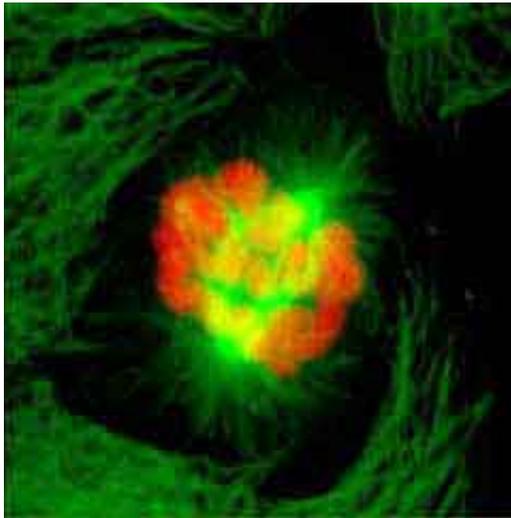
PROMETAPHASE



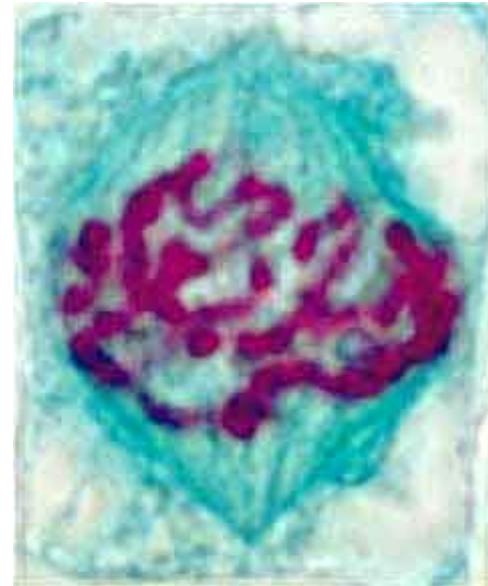
**Contraste d'interférence
différentielle**



Microscopie optique

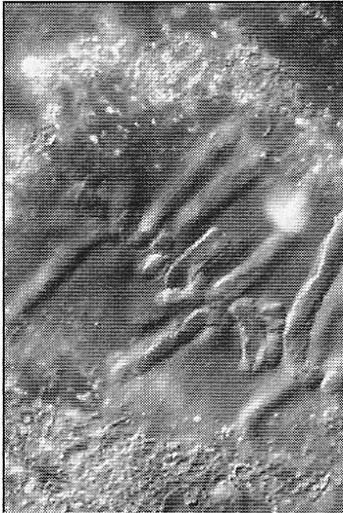


Microscopie à fluorescence

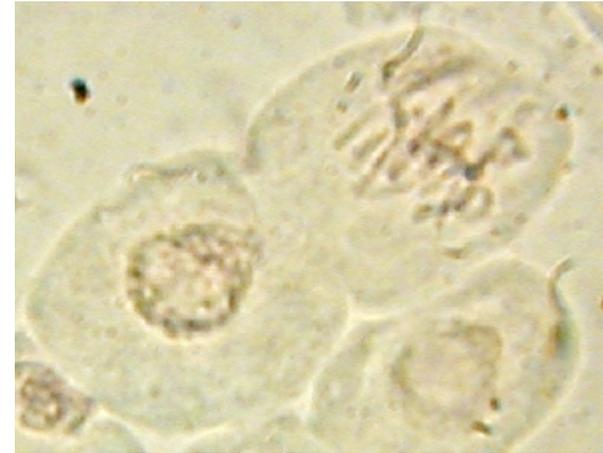


Coloration Feulgen

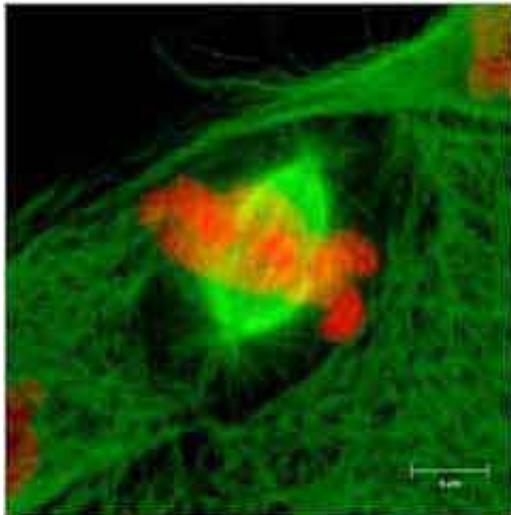
METAPHASE



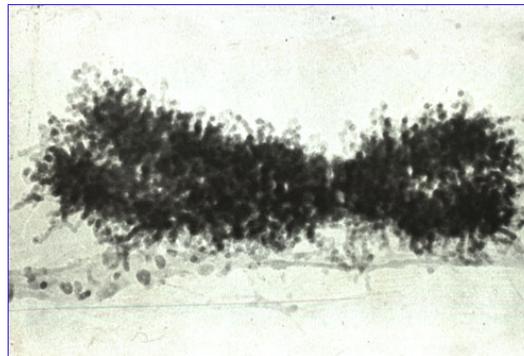
**Contraste d'interférence
différentielle**



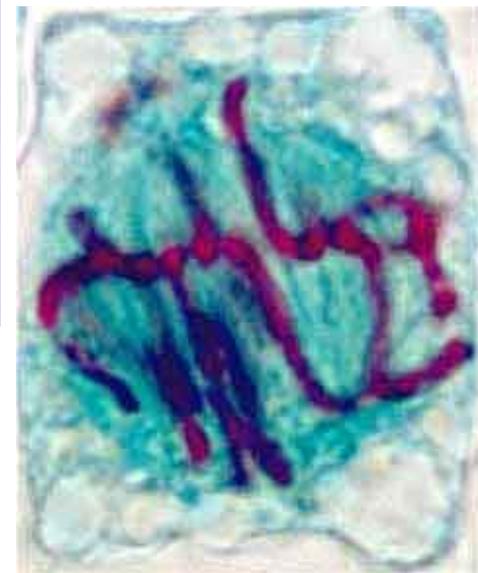
Microscopie optique



Microscopie à fluorescence

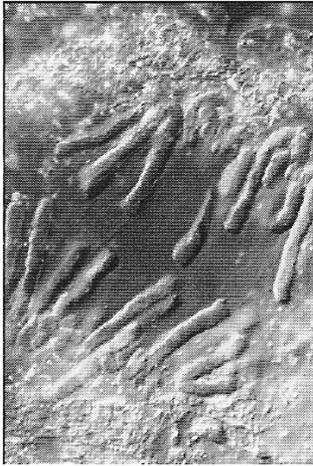


Chromosome métaphasique



Coloration Feulgen

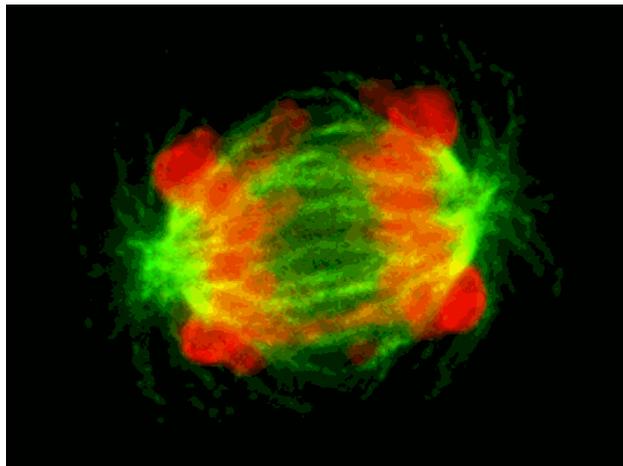
ANAPHASE



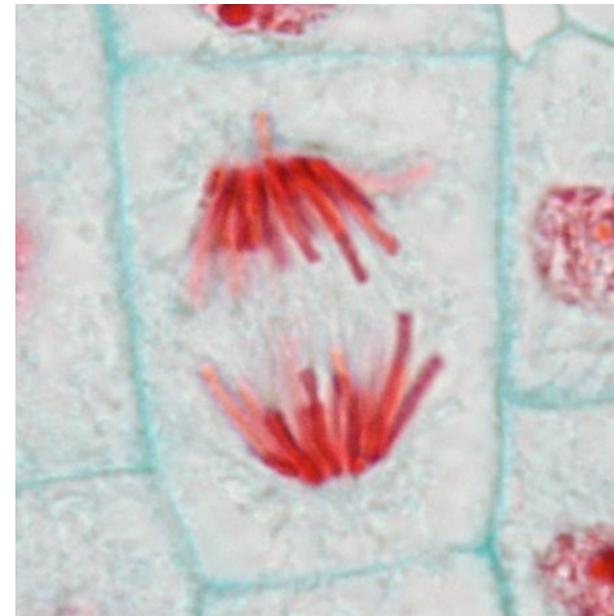
**Contraste d'interférence
différentielle**



Microscopie optique

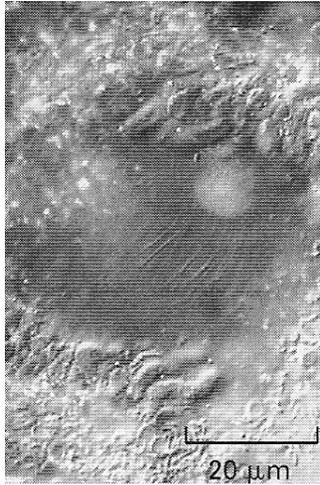


Microscopie à fluorescence

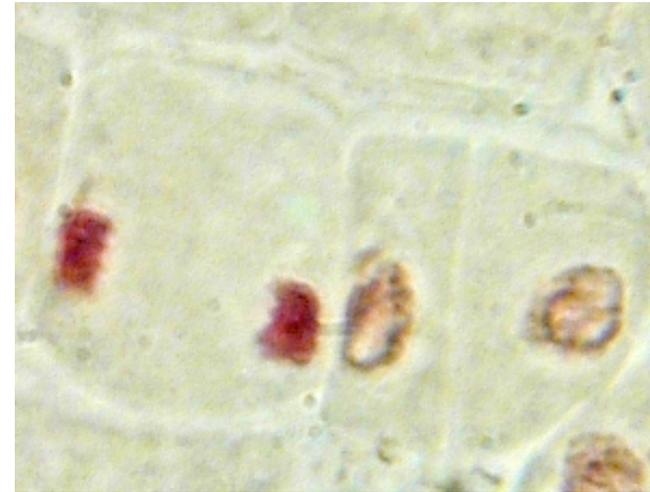


Coloration Feulgen

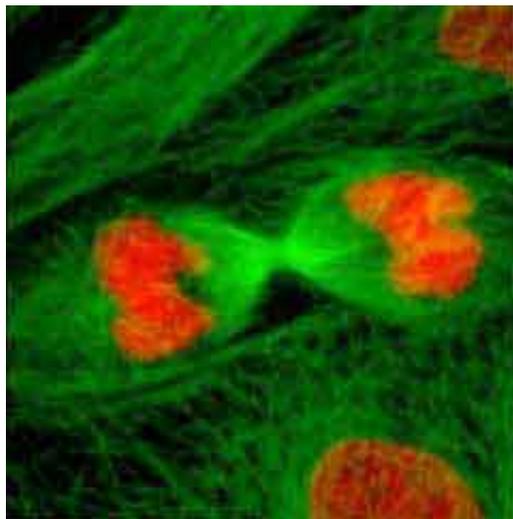
TELOPHASE



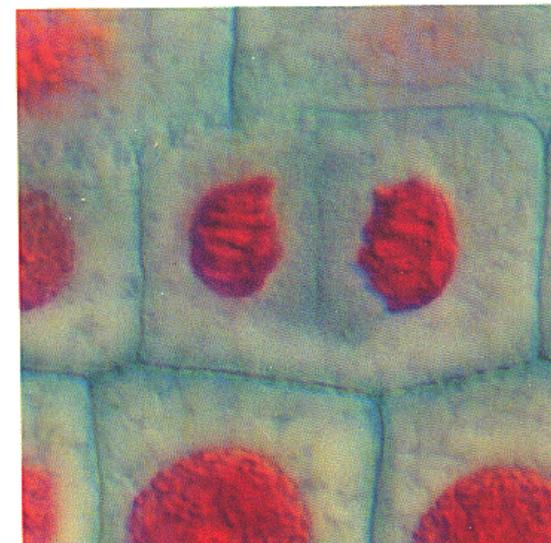
Contraste d'interférence différentielle



Microscopie optique



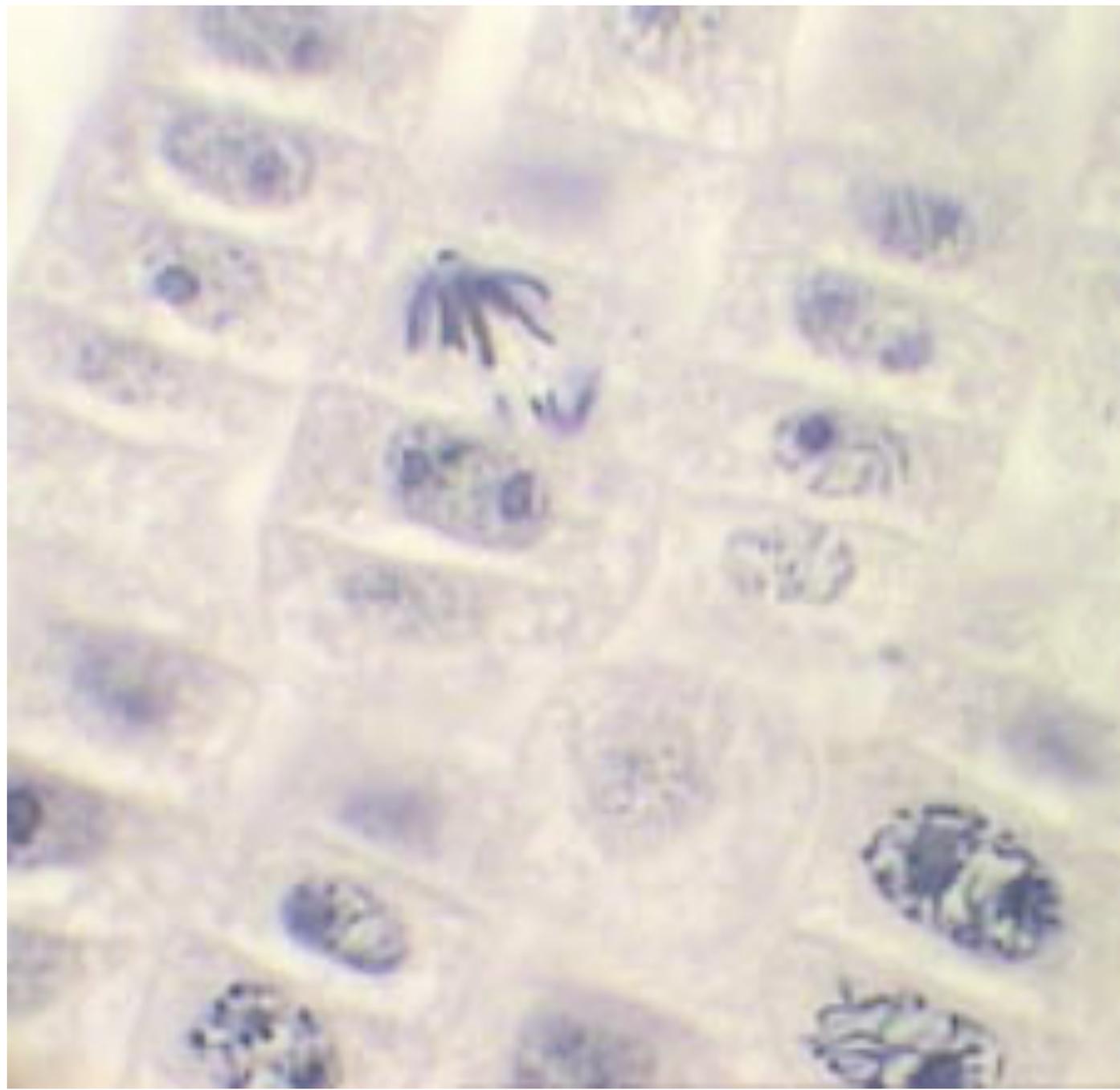
Microscopie à fluorescence

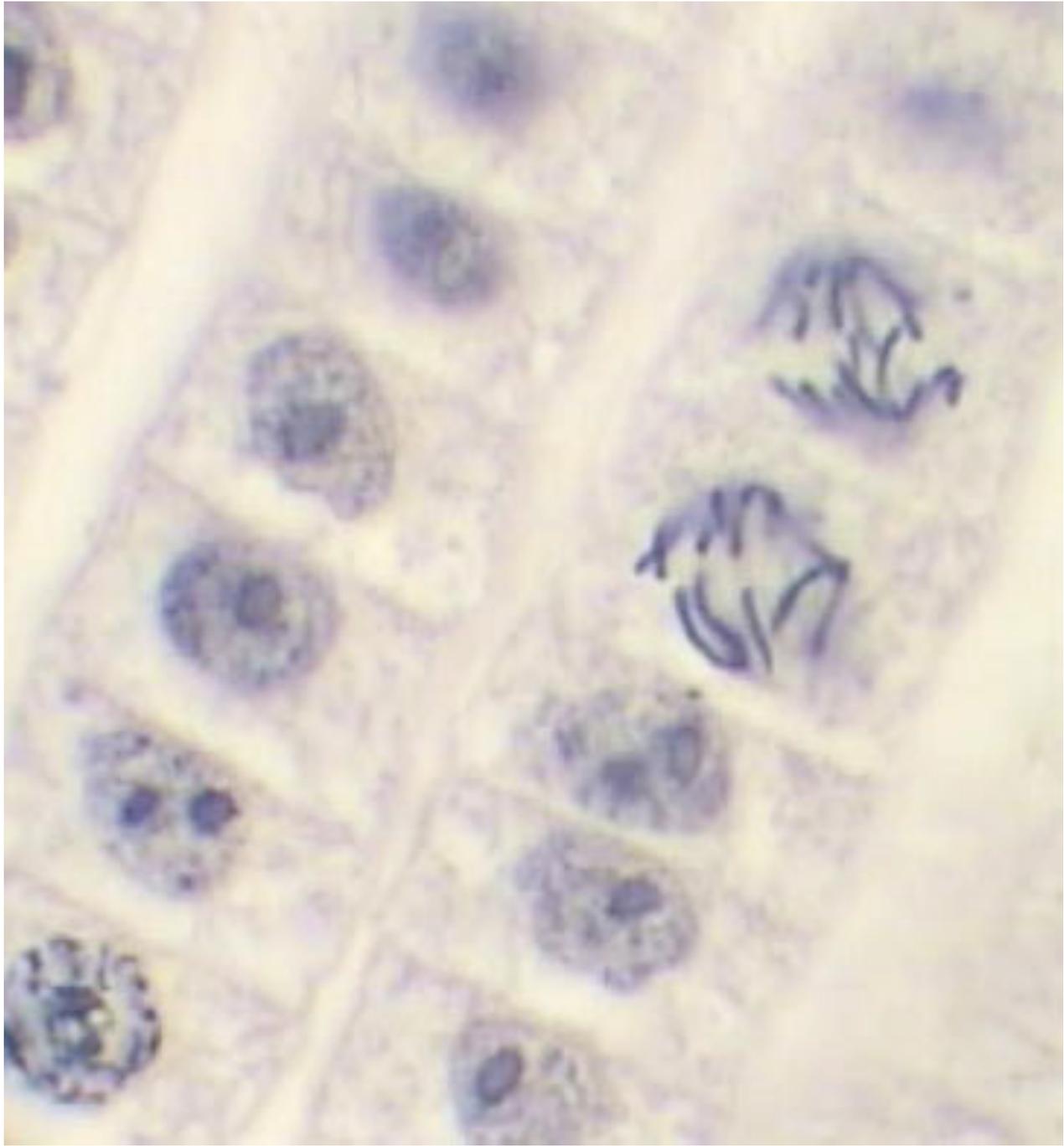


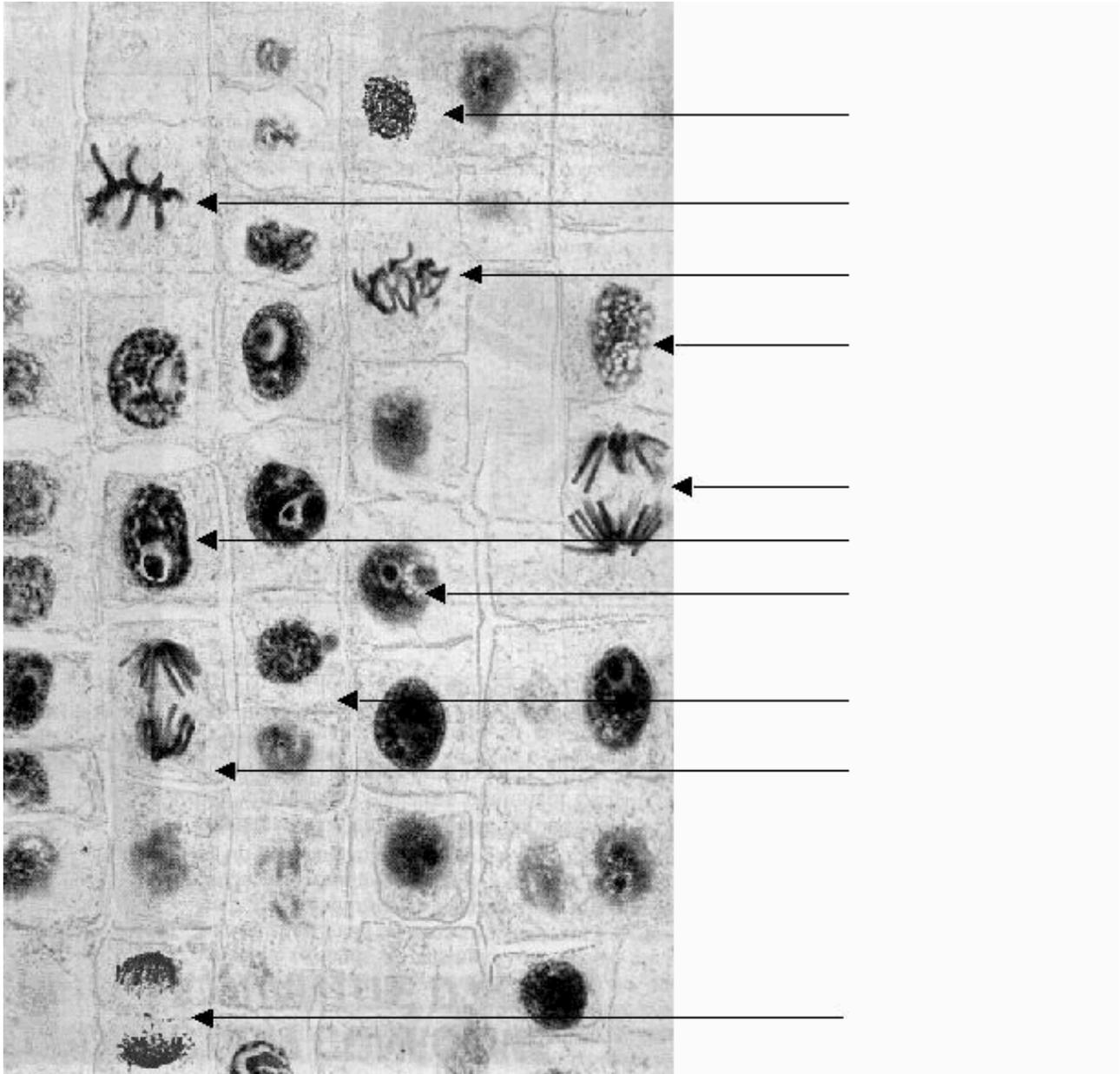
Coloration Feulgen



grossissement x100







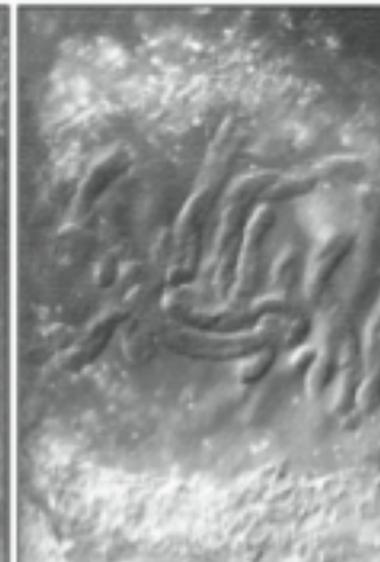
(A) 0 minute



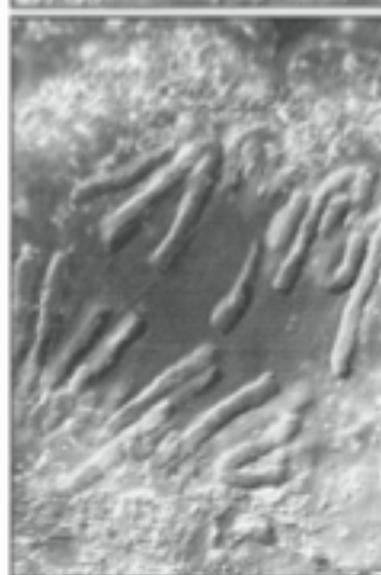
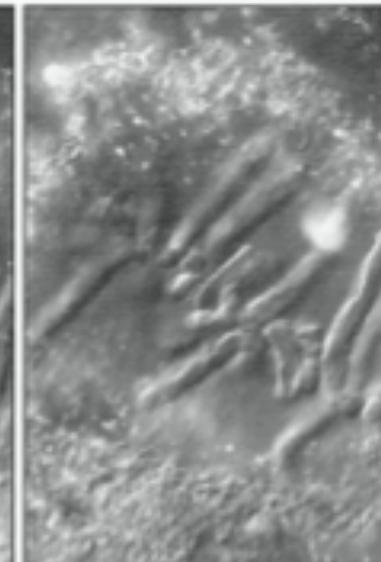
(B) 15 minutes



(C) 17 minutes



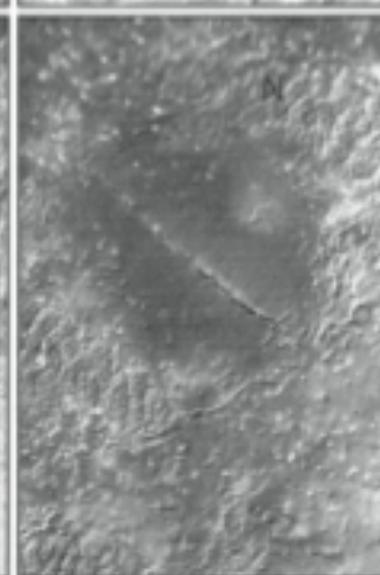
(D) 54 minutes



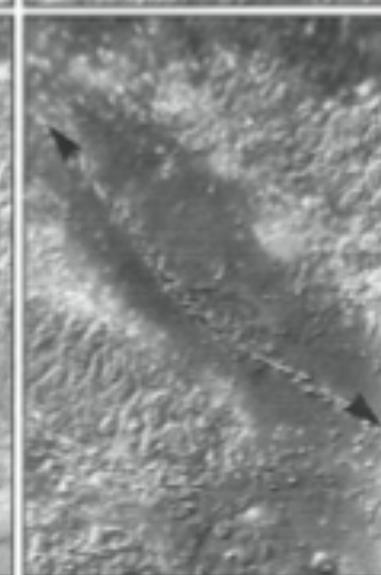
(E) 83 minutes



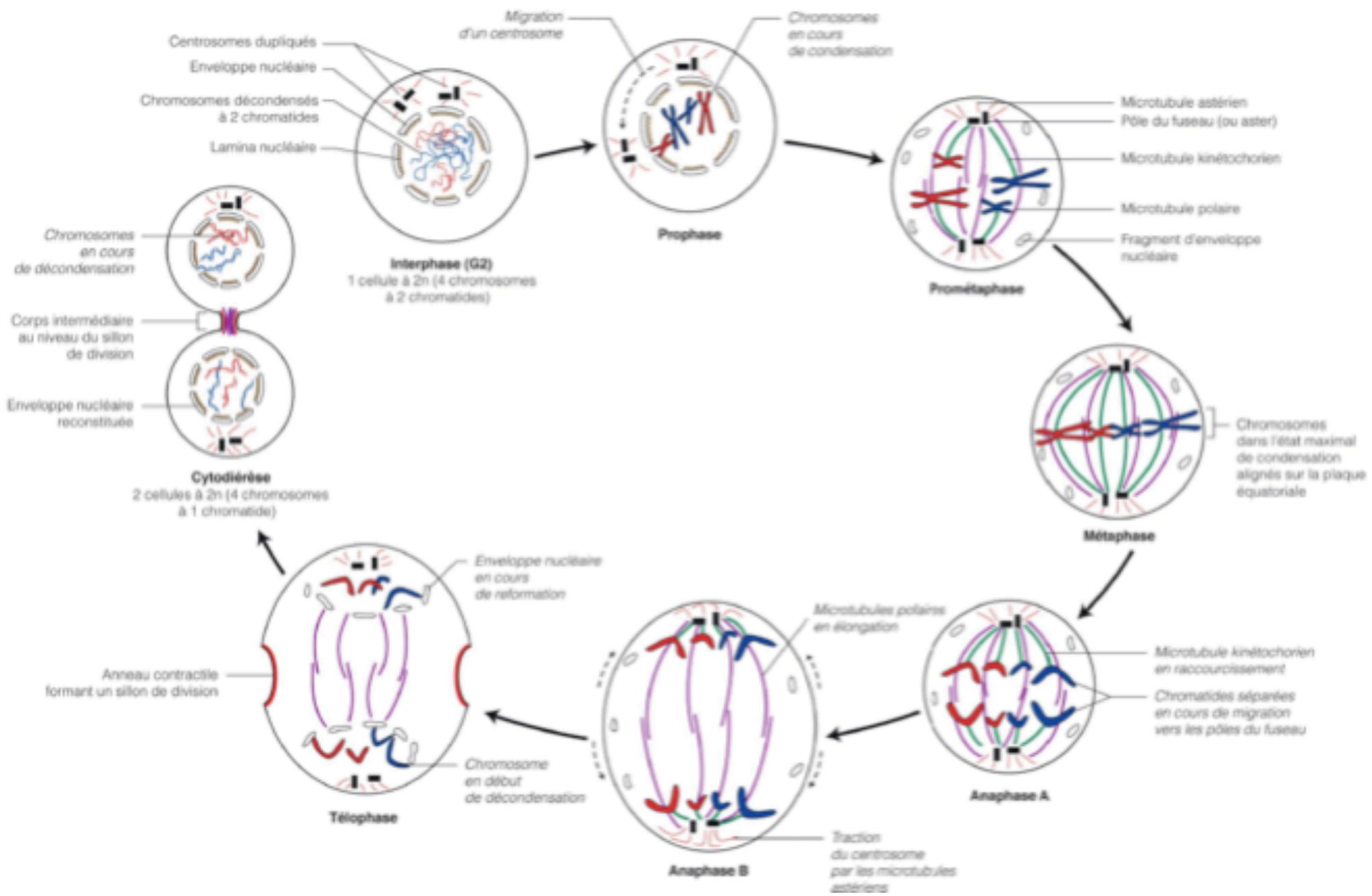
(F) 124 minutes



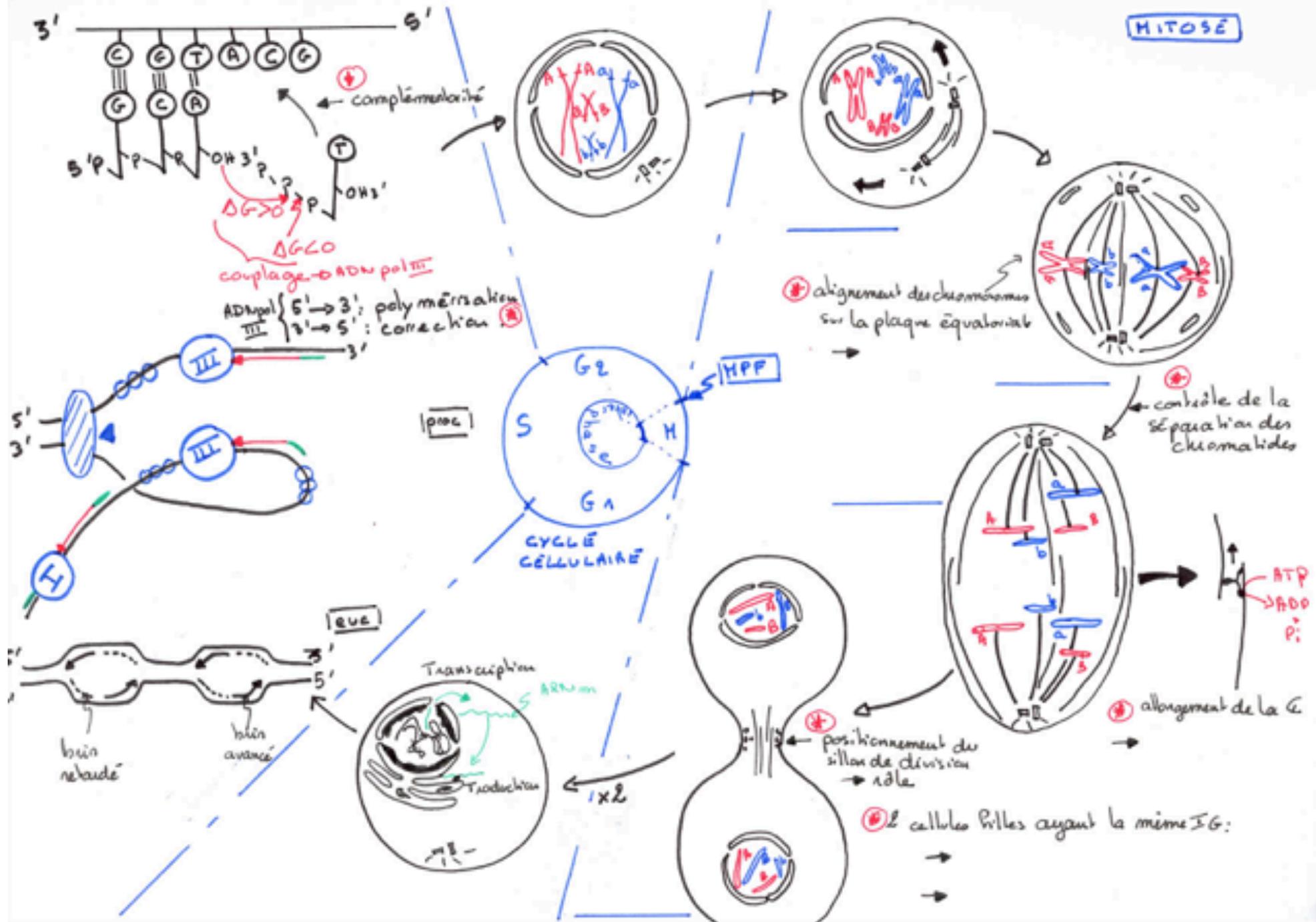
(G) 169 minutes



(H) 199 minutes

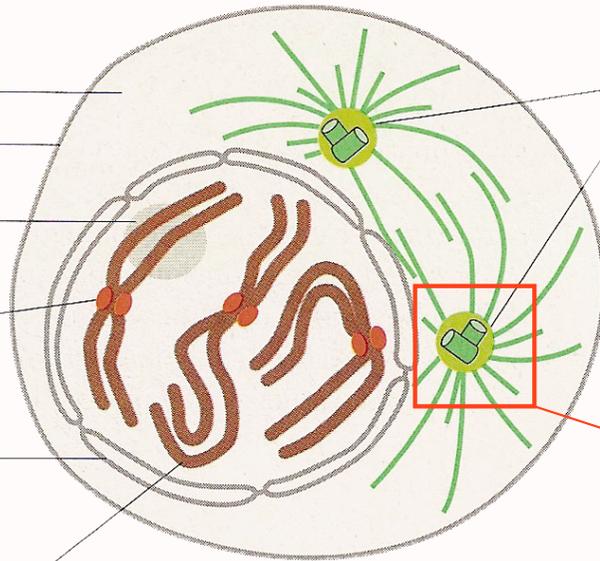


HITOSE

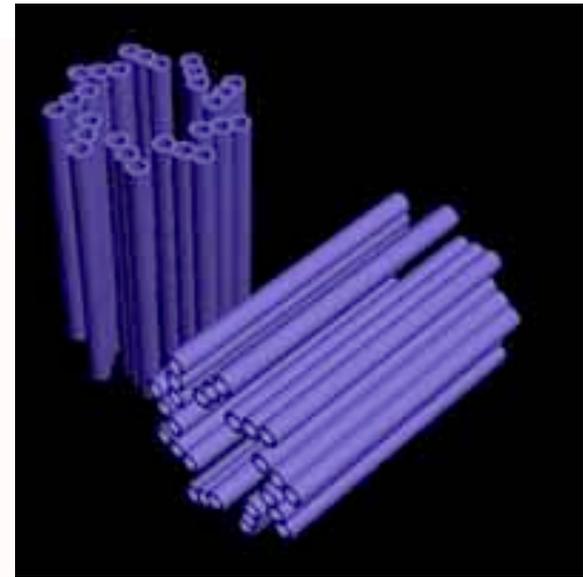


1 PROPHASE

- cytoplasme
- membrane plasmique
- nucléole en cours de disparition
- centromère avec des kinétochores attachés
- enveloppe nucléaire intacte

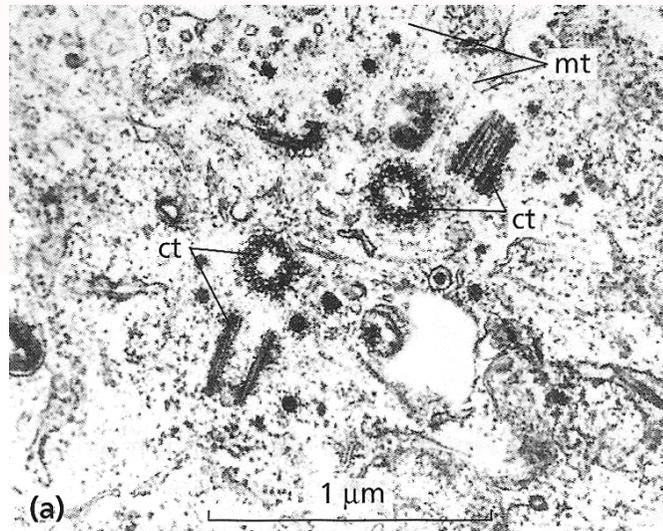


Les chromosomes en séparation formeront les pôles du fuseau

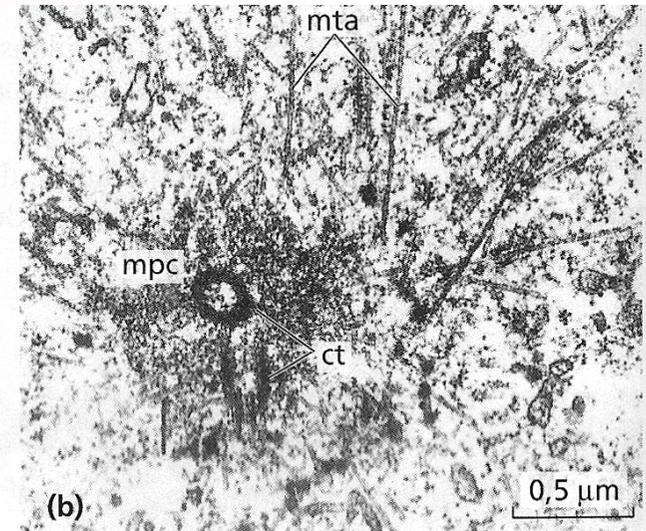


chromosome en cours de condensation avec deux chromatides sœurs reliées au niveau du centromère

centrioles

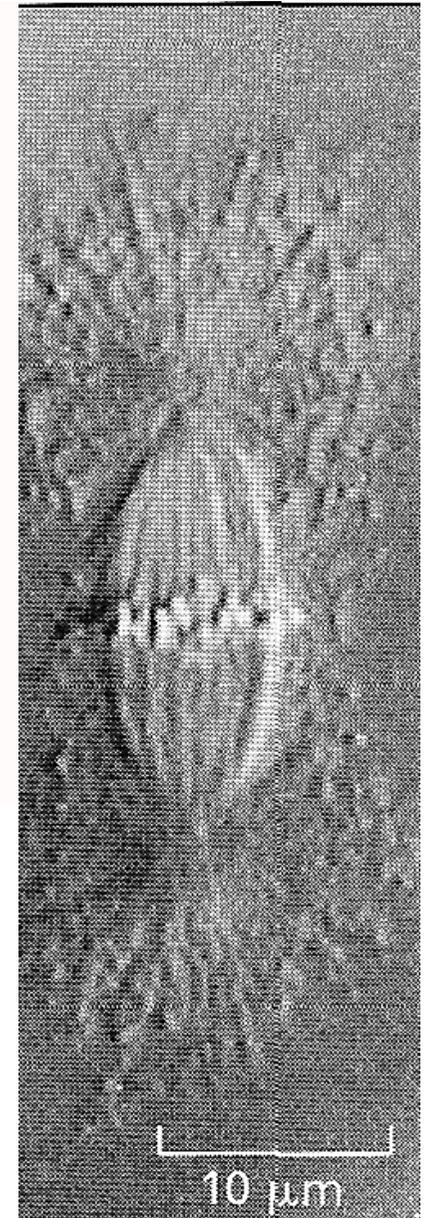
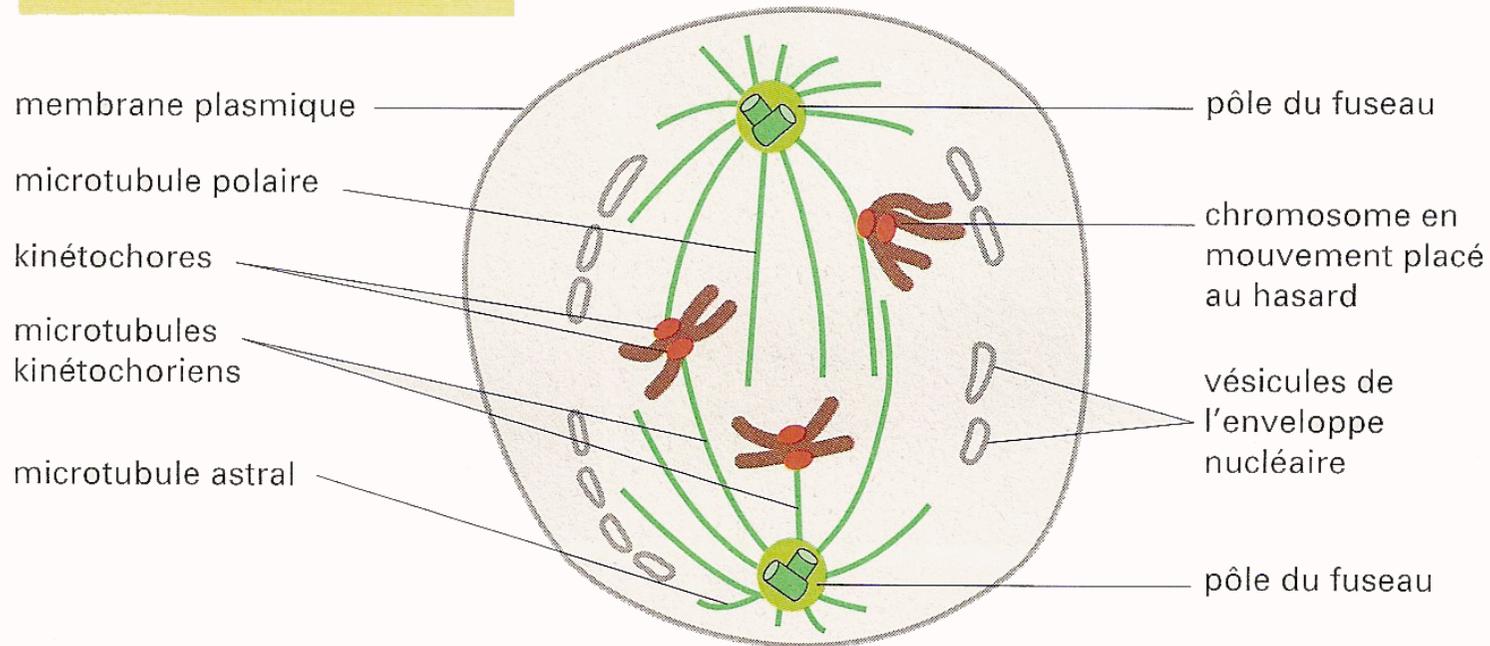


interphase



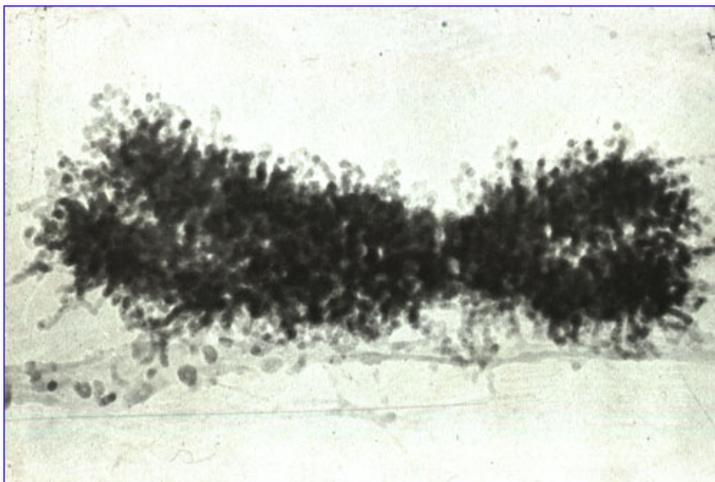
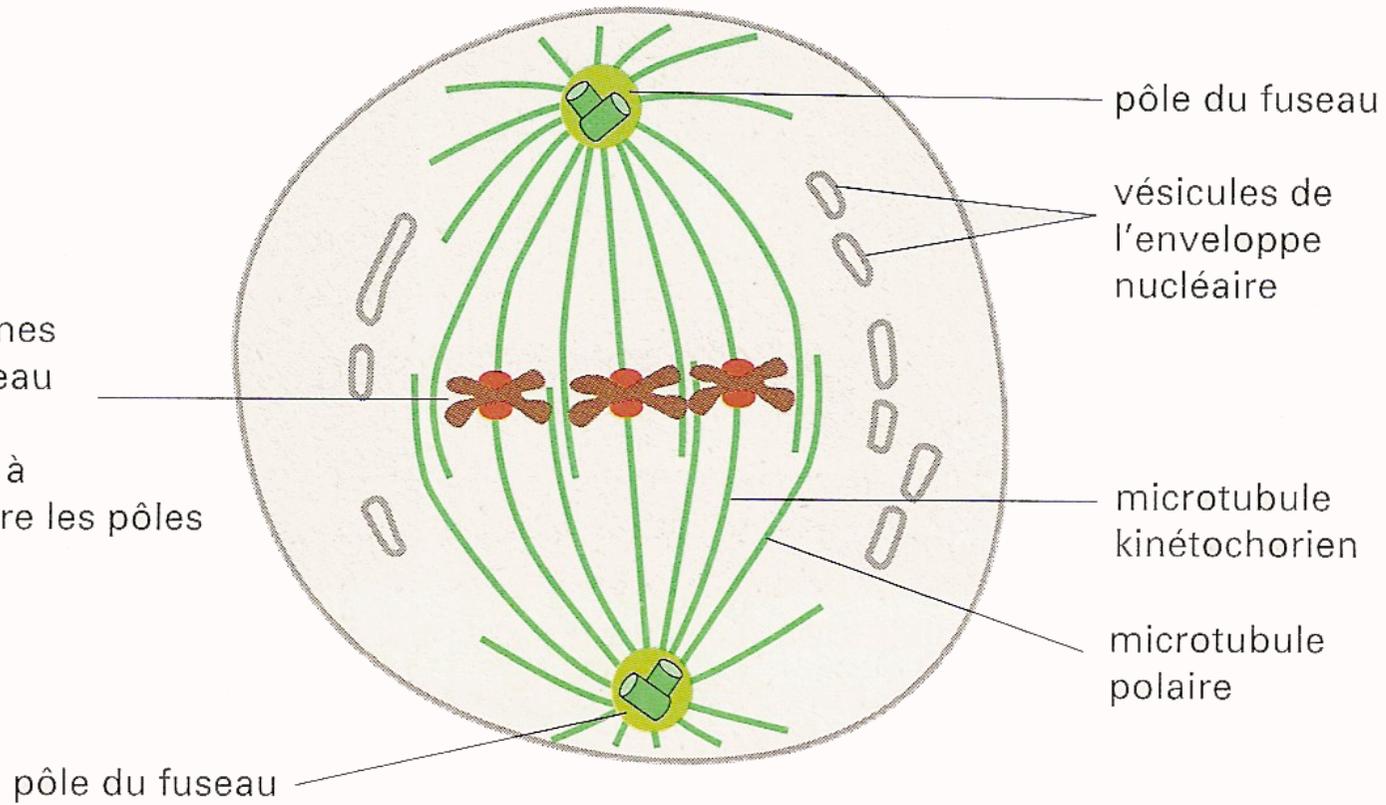
prophase

2 PROMÉTAPHASE



3 MÉTAPHASE

les chromosomes alignés au niveau de la plaque métaphasique à mi-chemin entre les pôles



Chromosome métaphasique

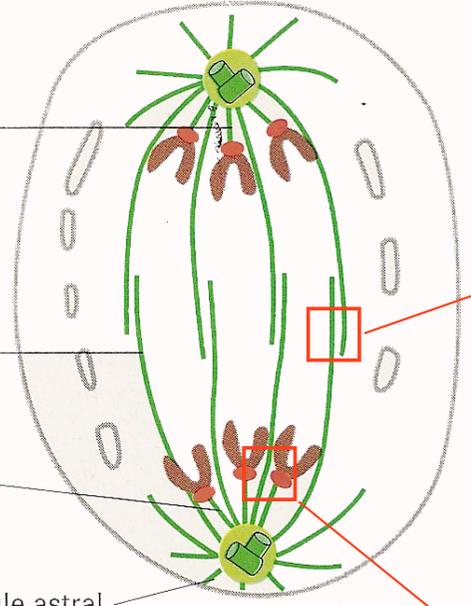
4 ANAPHASE

les microtubules kinétochoriens se raccourcissent lorsqu'une chromatide (chromosome) est tirée vers le pôle

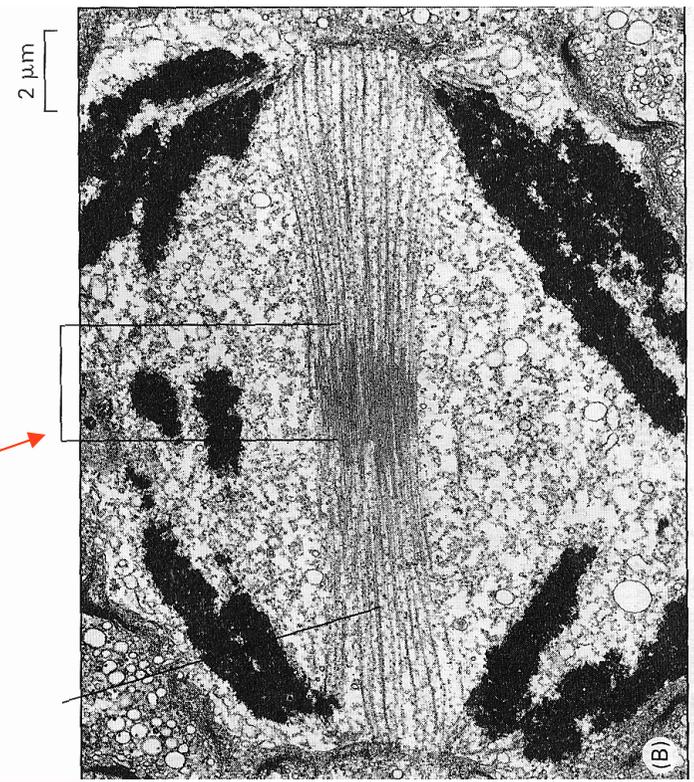
microtubule polaire en élévation

microtubule kinétochorien qui se raccourcit

microtubule astral



séparation croissante des p



chromatide anaphasique

direction du mouvement chromatidien

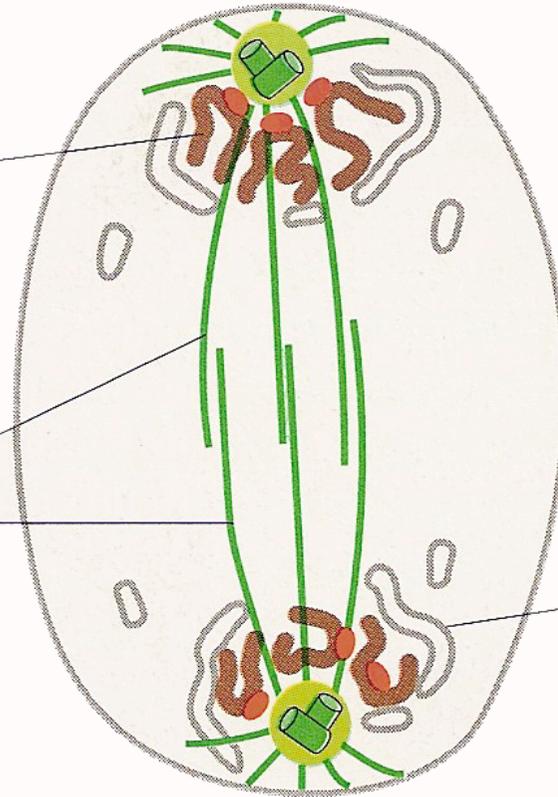


1 μm

5 TÉLOPHASE

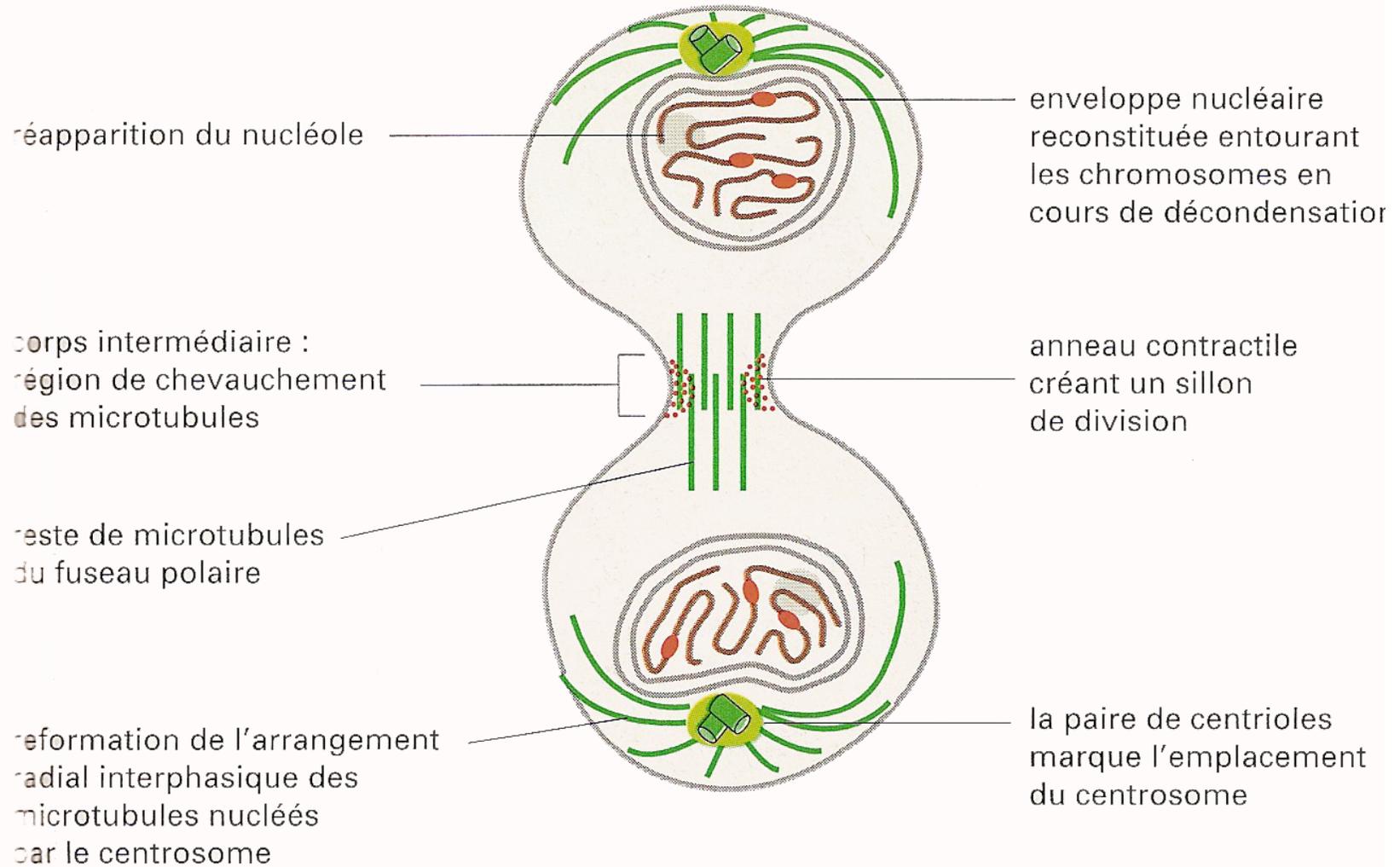
décondensation des
chromosomes dépourvus
de microtubules kinétochoriens

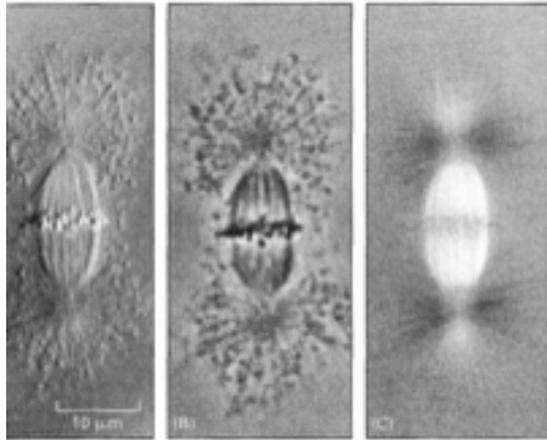
microtubules polaires



l'enveloppe nucléaire
se reforme autour des
chromosomes individuels

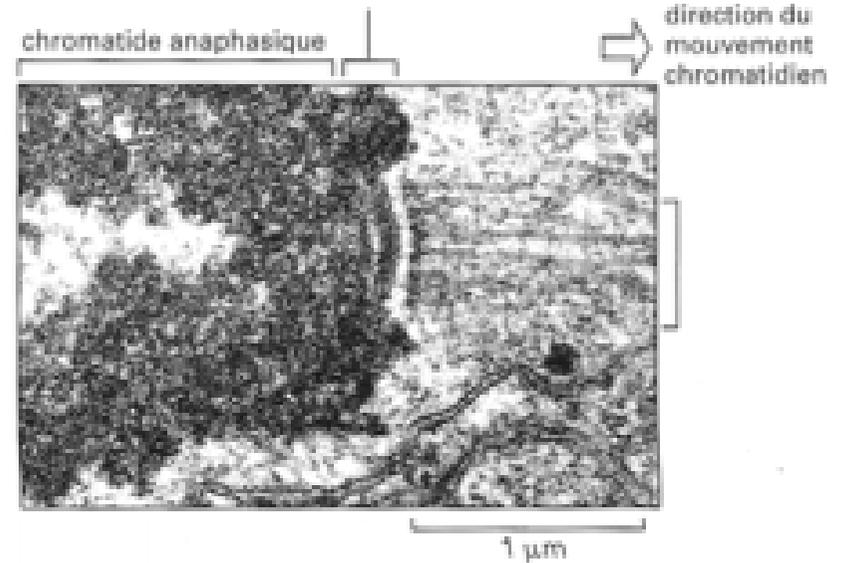
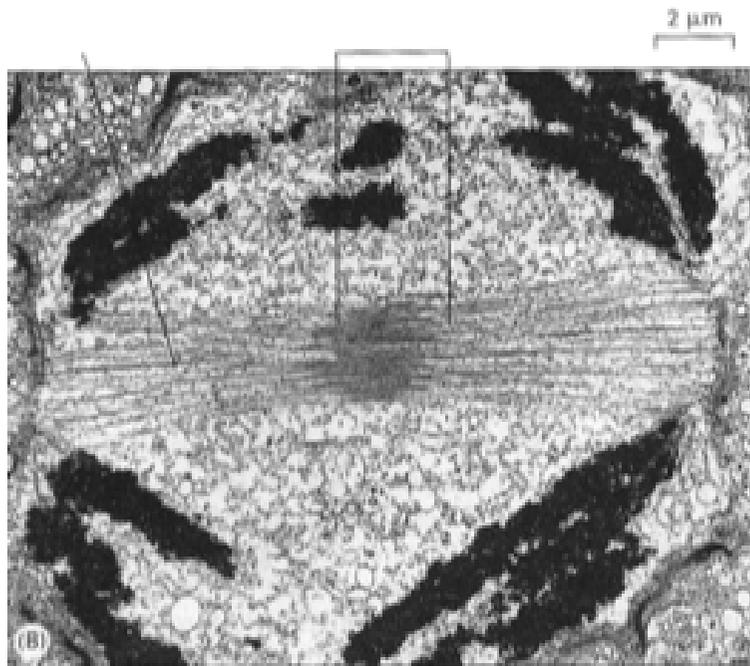
6 CYTODIÉRÈSE

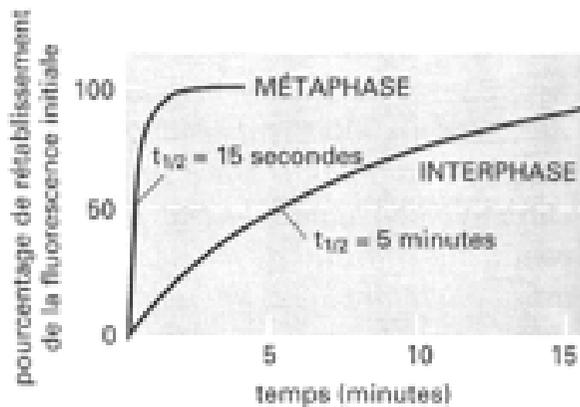




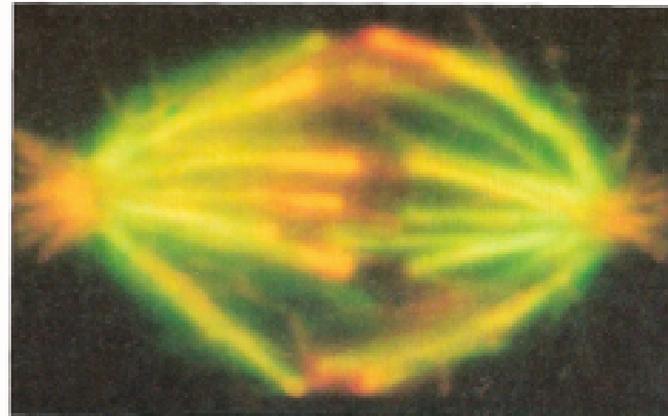
Un fuseau mitotique.

Un fuseau métaphasique isolé est observé avec trois techniques différentes de microscopie photonique : (A) microscopie à contraste d'interférence différentielle, (B) microscopie à contraste de phase, (C) microscopie en lumière polarisée. (Avec l'autorisation de E.D. Salmon et R.R. Segall, *J. G. Biol.* 86 : 355-365, 1980. © Reproduit avec l'autorisation de Rockefeller University Press.)



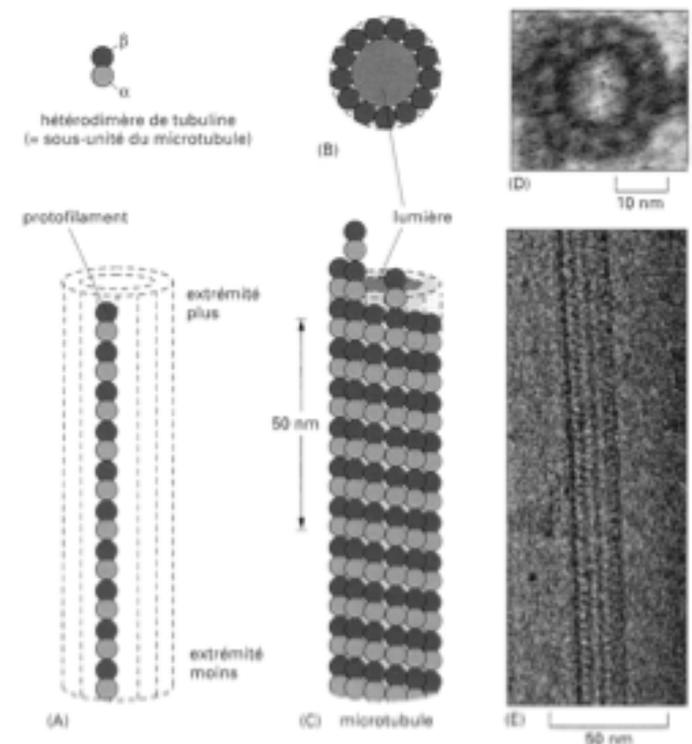


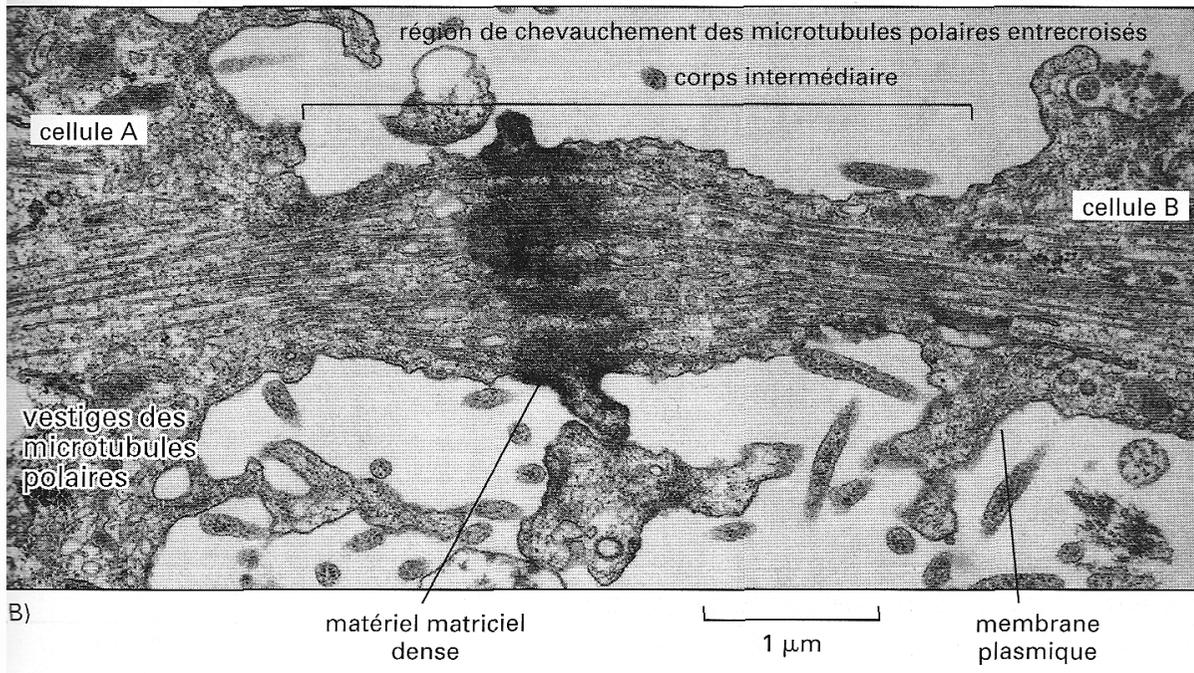
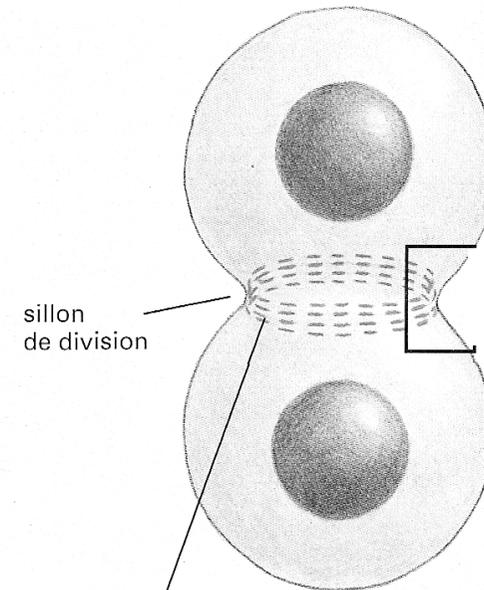
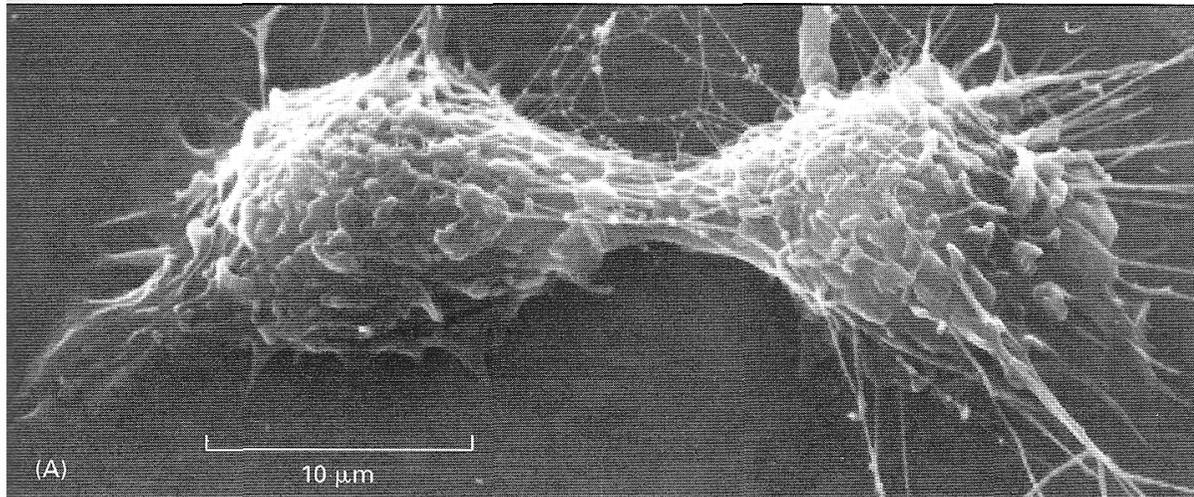
Étude montrant que les microtubules dans une cellule en phase M sont beaucoup plus dynamiques, en moyenne, que les microtubules en interphase. On a injecté, dans des cellules de mammifères en culture, de la tubuline qui a été liée de façon covalente à un colorant fluorescent. Lorsque la tubuline fluorescente est totalement incorporée dans les microtubules d'une cellule, toute la fluorescence d'une petite région est éteinte par un faisceau laser intense. La récupération d'une fluorescence normale dans la région éteinte des microtubules, provoquée par l'échange de leurs sous-unités de tubuline éteintes contre de la tubuline fluorescente non éteinte à partir du pool soluble, est ensuite enregistrée en fonction du temps. On pense que le temps $t_{1/2}$ nécessaire pour que 50 p. cent de la fluorescence soient récupérés est égal au temps nécessaire pour que la moitié des microtubules dans cette région se dépolymérisent et se reforment.



Expérience démontrant que les microtubules kinétochoriens métaphasiques s'allongent par leur extrémité liée au kinétochore (extrémité plus). Dans cette expérience, de la tubuline marquée à la fluoresceïne est injectée dans des cellules vivantes où elle est incorporée dans les microtubules du fuseau (en vert). De la tubuline marquée à la rhodamine est alors introduite dans la cellule en métaphase, où elle est incorporée aux microtubules kinétochoriens à l'extrémité plus (en orange). Une certaine incorporation est également visible dans le centrosome. (Avec l'assistance de G. Borisy.)

Les microtubules sont des tubes creux de tubuline. (A) Une molécule de tubuline (dimère $\alpha\beta$) et un protofilament schématisés avec leur localisation dans la paroi du microtubule. Notez que les molécules de tubuline sont toutes disposées avec la même orientation dans le protofilament, si bien que le microtubule a une orientation structurale définie. (B et C) Schémas d'un microtubule montrant comment les molécules de tubuline se tassent les unes contre les autres dans la paroi du microtubule. En haut, les 13 molécules sont montrées en coupe transversale. En bas, vue latérale d'une petite portion d'un microtubule montrant comment les molécules de tubuline sont alignées en rangs dans le protofilament. (D) Coupe transversale d'un microtubule avec son anneau de 13 sous-unités distinctes, correspondant chacune à un dimère de tubuline. (E) Microtubule vu dans le sens de la longueur, en microscopie électronique. (Dû à l'amabilité de : D. Richard Linck ; E. Richard Wade.)



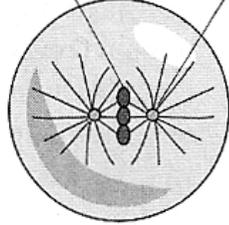


sillon de division

anneau contractile de filaments d'actine et de myosine

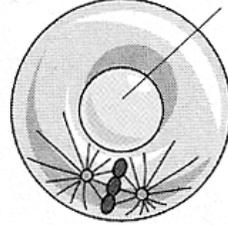
Cytodiérèse. (A) Cliché en microscopie électronique à balayage d'une cellule animale en culture en cours de division : le corps intermédiaire relie encore les deux cellules filles. (B) Micrographie électronique d'un corps intermédiaire d'une cellule animale en division. Le clivage est pratiquement complet, mais les cellules filles restent attachées par cette mince bande de cytoplasme. (A, avec l'autorisation de Guenter Albrecht-Buehler ; B, avec l'autorisation de J.M. Mullins.)

chromosomes centrosome

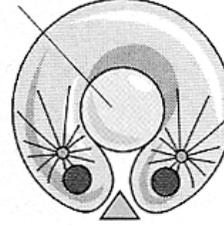


ovocyte en division

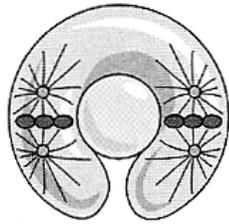
bille de verre



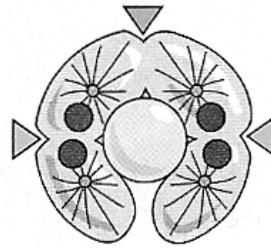
une bille de verre
poussée dans la cellule
déplace le fuseau



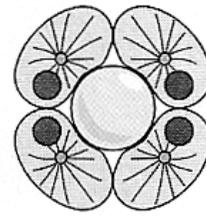
le sillon se forme d'un
seul côté de la cellule,
produisant un ovocyte
à deux noyaux



les deux noyaux
entrent en mitose



le clivage se fait entre les centrosomes
liés par le fuseau mitotique et entre les
deux centrosomes qui sont simplement
adjacents ; quatre cellules filles sont formées



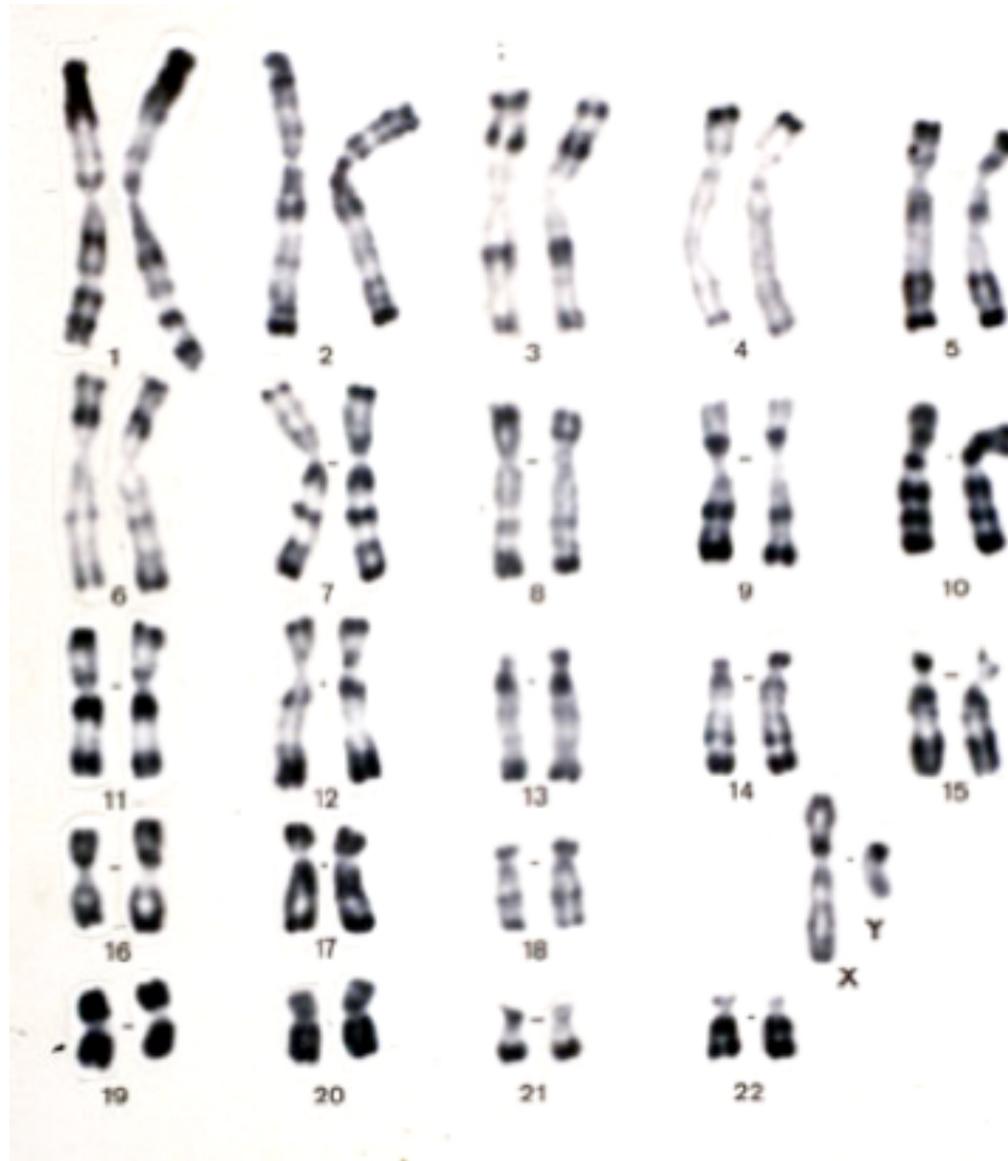
Une expérience qui montre l'influence de la position des asters microtubulaires sur le futur plan de clivage.

Si le fuseau d'une cellule mitotique est mécaniquement repoussé d'un côté de la cellule, la formation du sillon membranaire est incomplète, manquant de se produire sur le côté opposé de la cellule. Les clivages ultérieurs ont lieu non seulement selon la manière normale propre aux deux fuseaux mitotiques (*têtes de flèche jaune*), mais aussi entre les deux asters adjacents qui ne sont pas liés par un fuseau mitotique mais qui, dans cette cellule anormale, partagent le même cytoplasme (*tête de la flèche rouge*). Apparemment, le faisceau contractile de filaments d'actine qui produit le sillon de clivage se forme toujours dans la région à mi-distance entre les deux asters, impliquant que les asters modifient d'une façon ou d'une autre la région adjacente du cortex cellulaire.

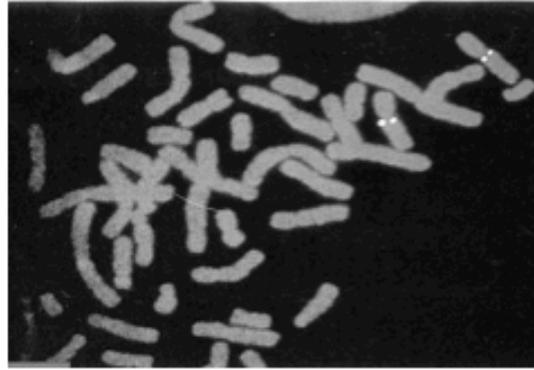
Anomalies chromosomiques

Détection : caryotype et FISH

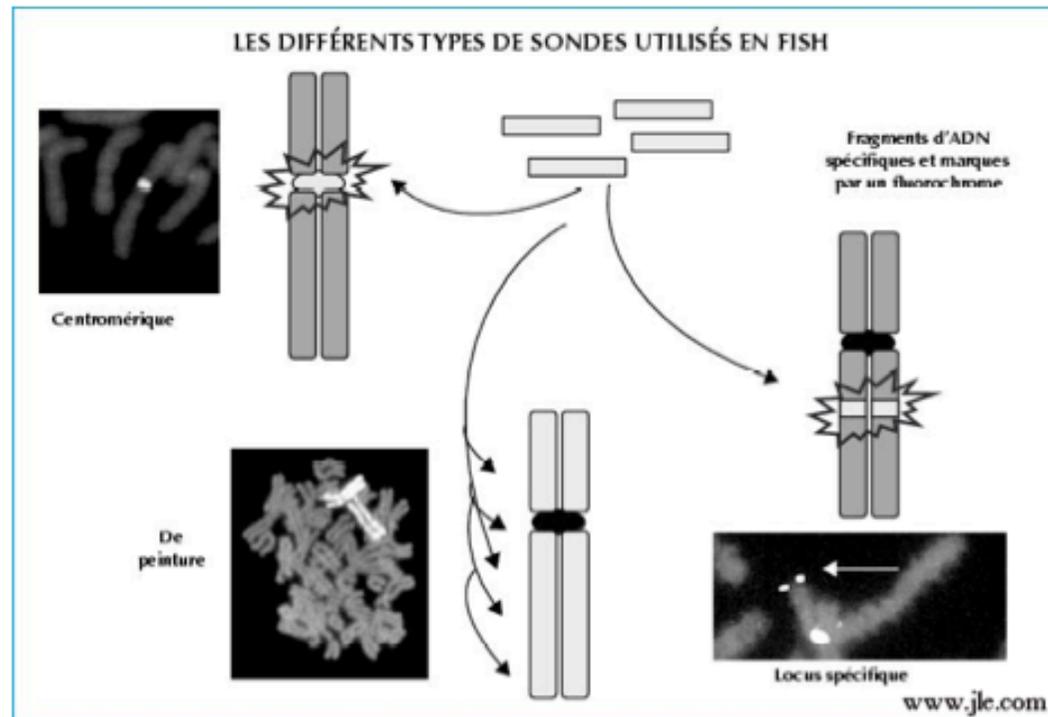
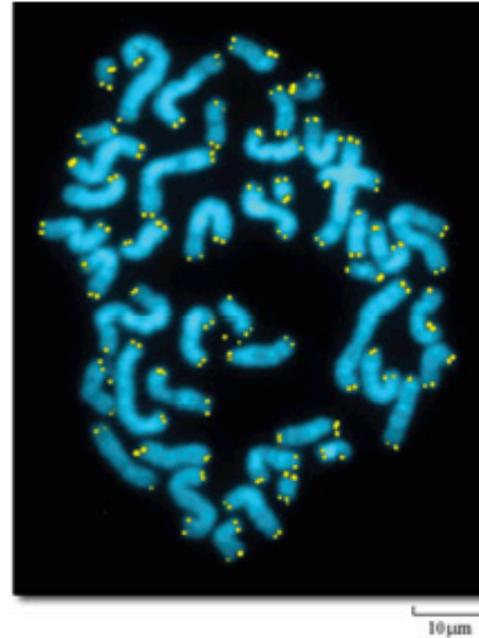
caryotype humain



Hybridation in situ avec une sonde fluorescente spécifique :
 Repère la présence du gène recherché (fluorescence) sur chacune des 2 chromatides de chacun des 2 chromosomes homologues



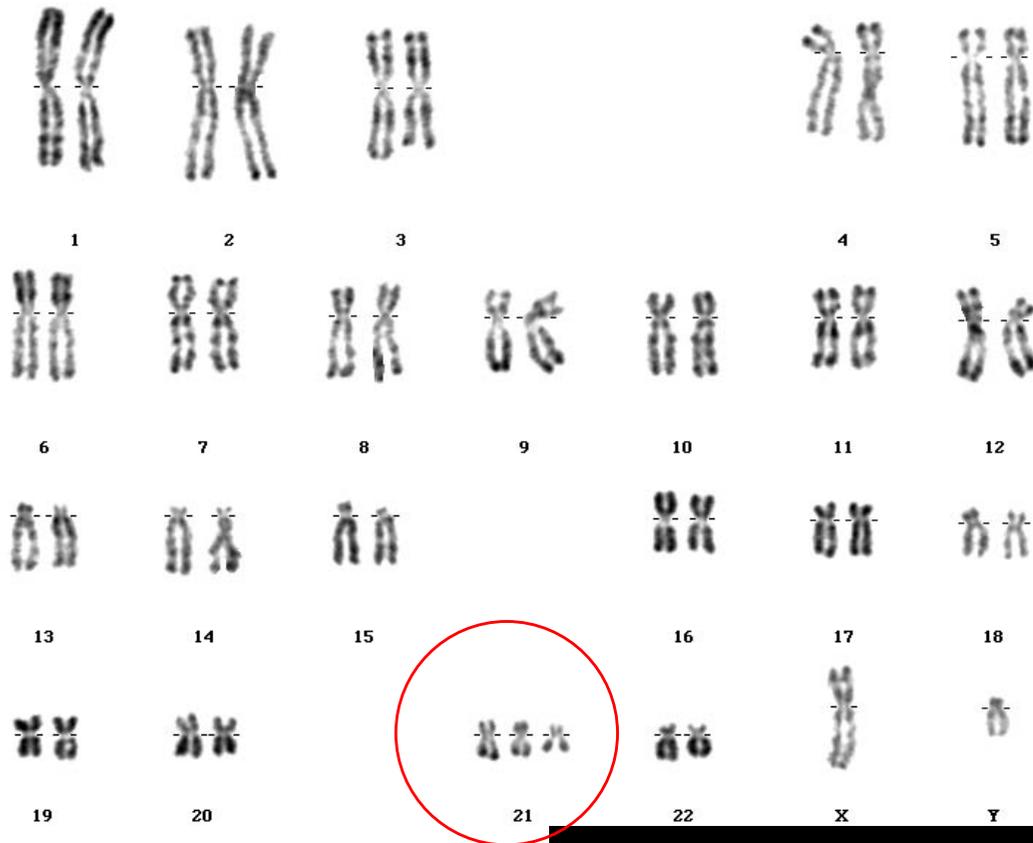
Marquage des télomères par une sonde fluorescente d'ADN télomérique (FISH) et coloration des chromosomes en bleu



Anomalies chromosomiques de nombre

Nombre d'autosomes

Ex : Trisomie 21



21 en hybridation in situ interphasique.

Caryotype

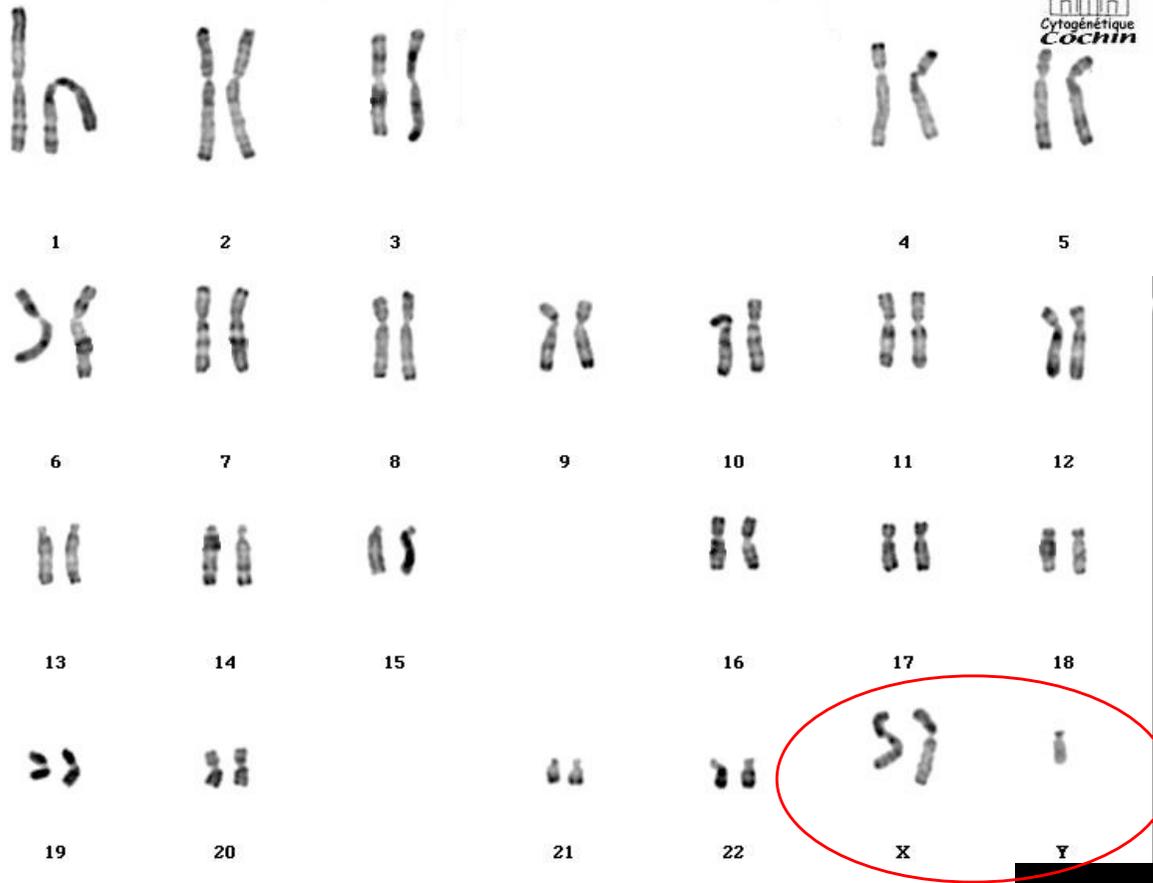
FISH



Anomalies chromosomiques de nombre

Nombre de gonosomes

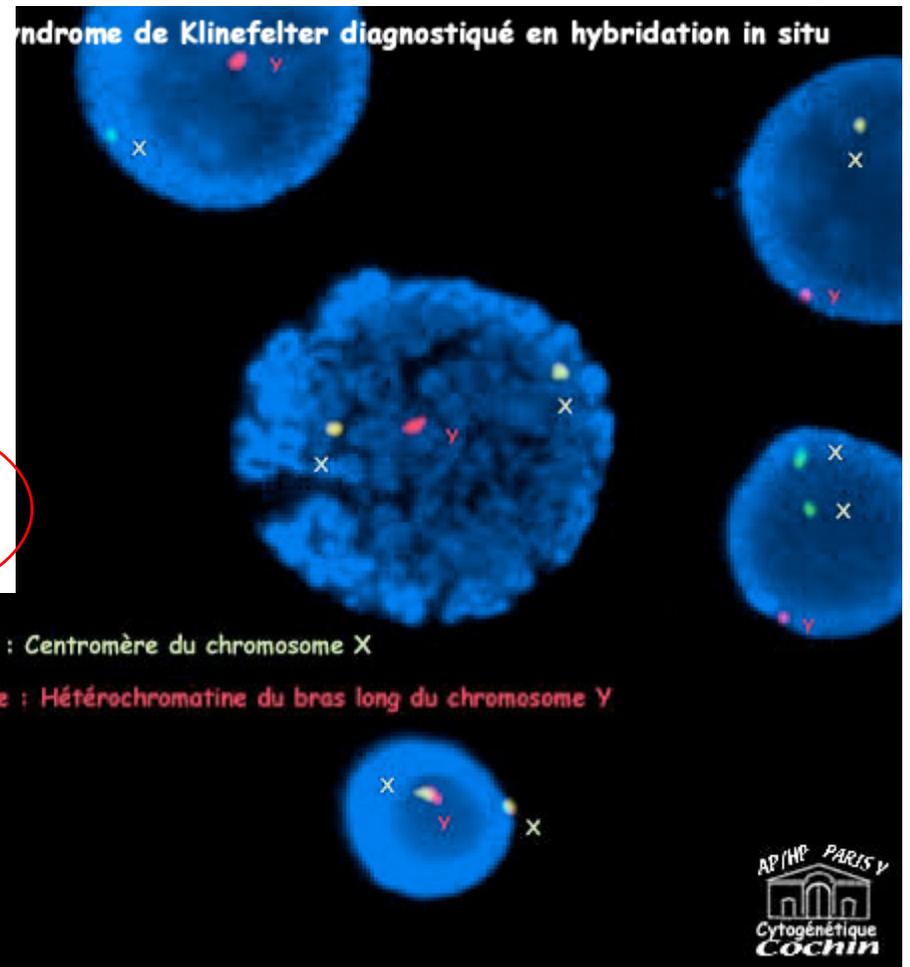
Syndrome de Klinefelter en bandes R : 47,XXY



AP/HP PARIS V
Cytogénétique
Cochin

Ex: Syndrome de Klinefelter XXY

Syndrome de Klinefelter diagnostiqué en hybridation in situ



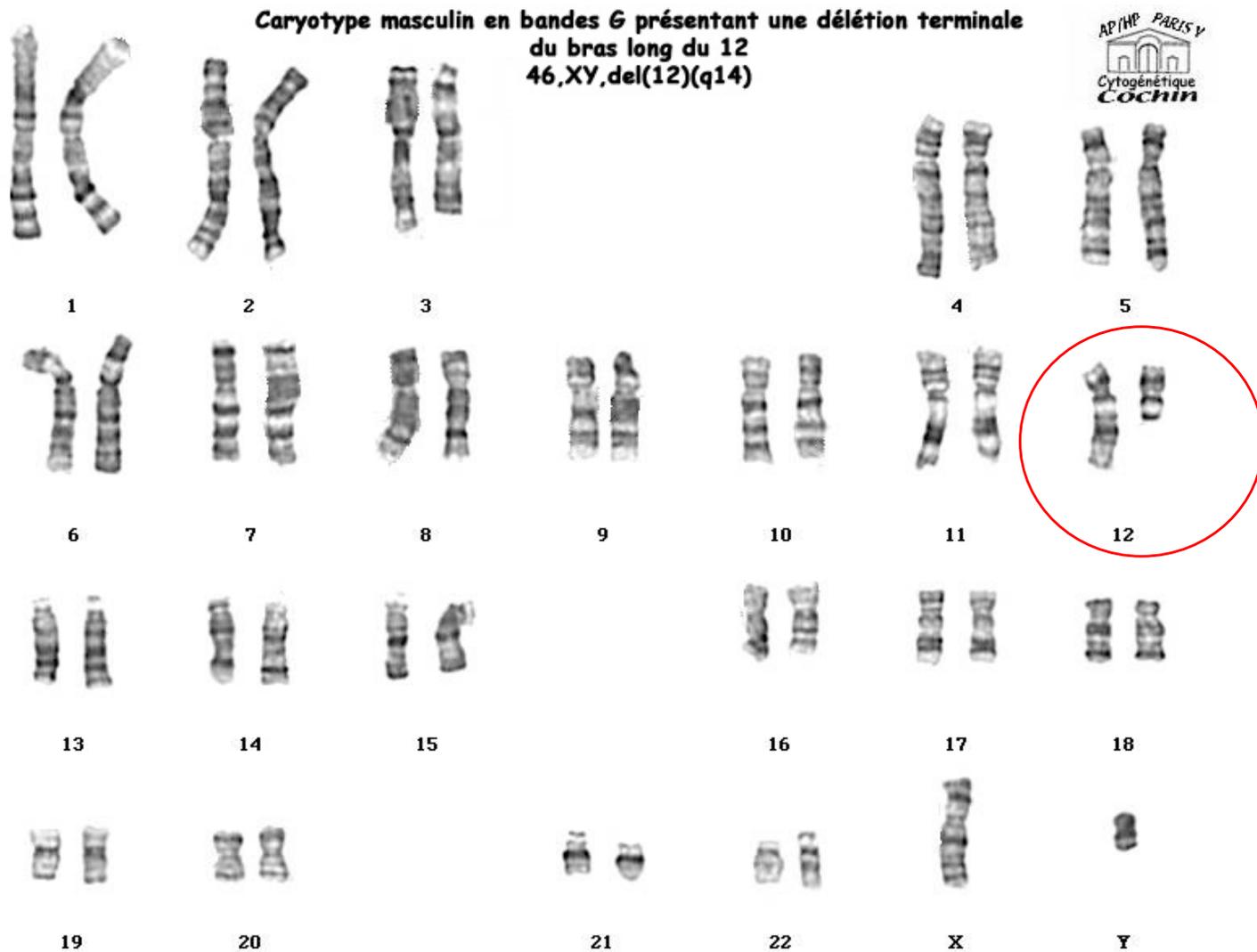
En vert : Centromère du chromosome X

En rouge : Hétérochromatine du bras long du chromosome Y

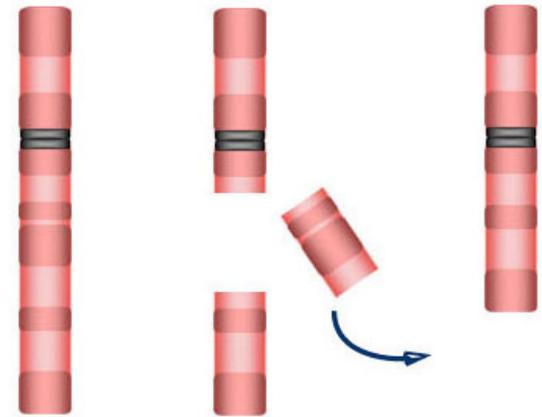
AP/HP PARIS V
Cytogénétique
Cochin

Anomalies chromosomiques de structure

Délétion



1 chromosome impliqué
2 points de cassure

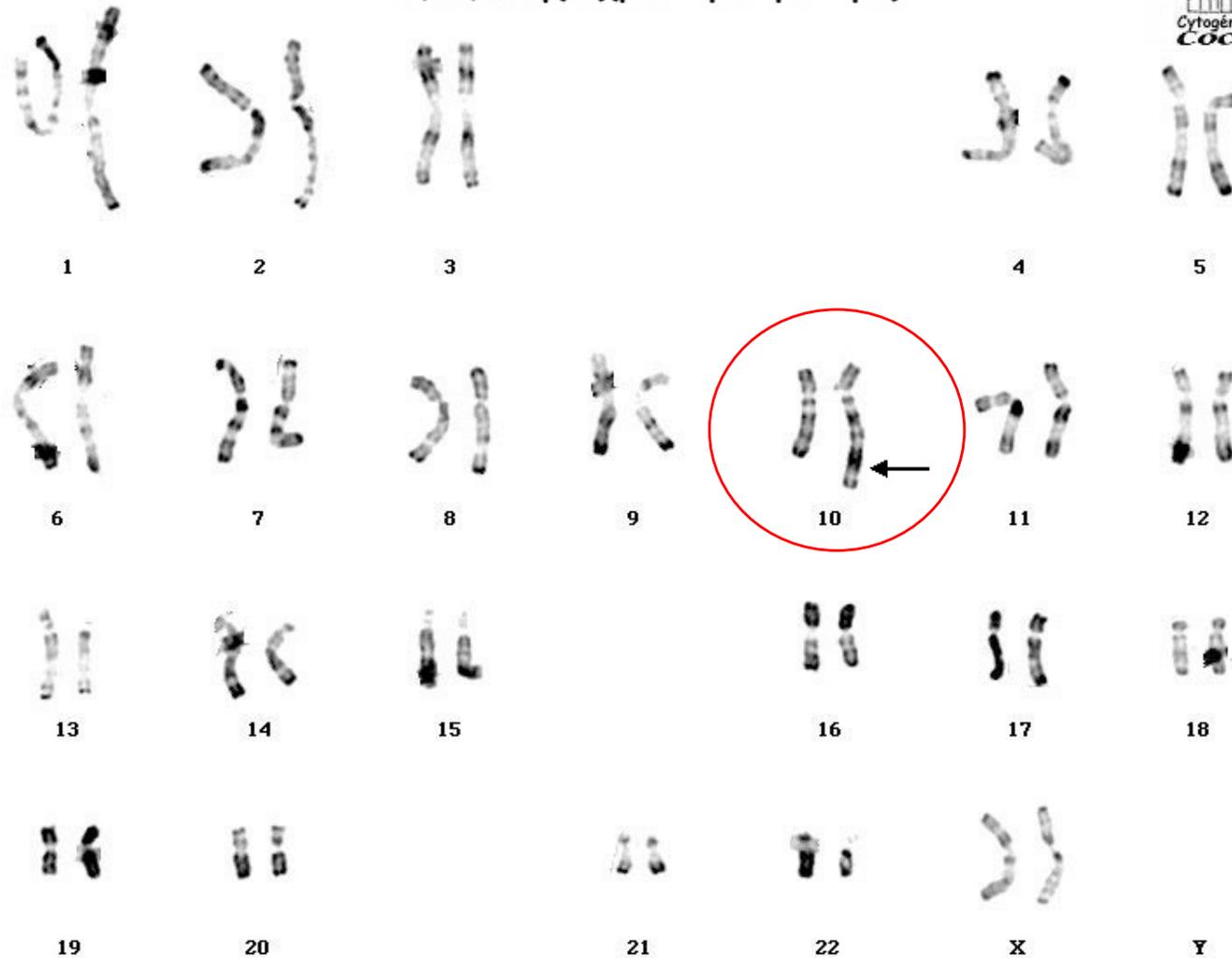
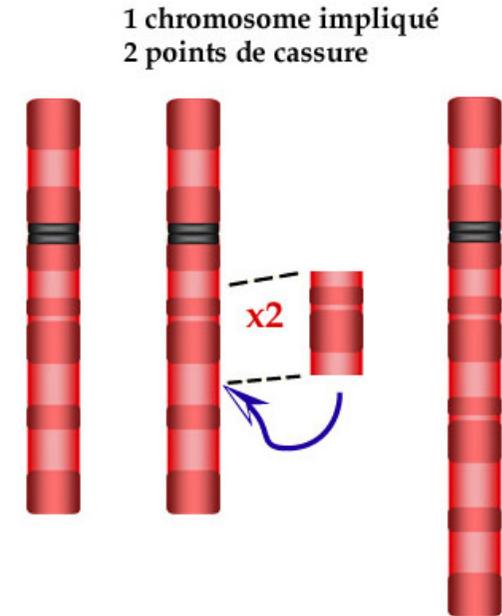


Anomalies chromosomiques de structure

Duplication

Caryotype féminin en bandes R présentant une duplication du bras long du 10
46,XX,invdup(10)(pter-→q26::q26-→q24)

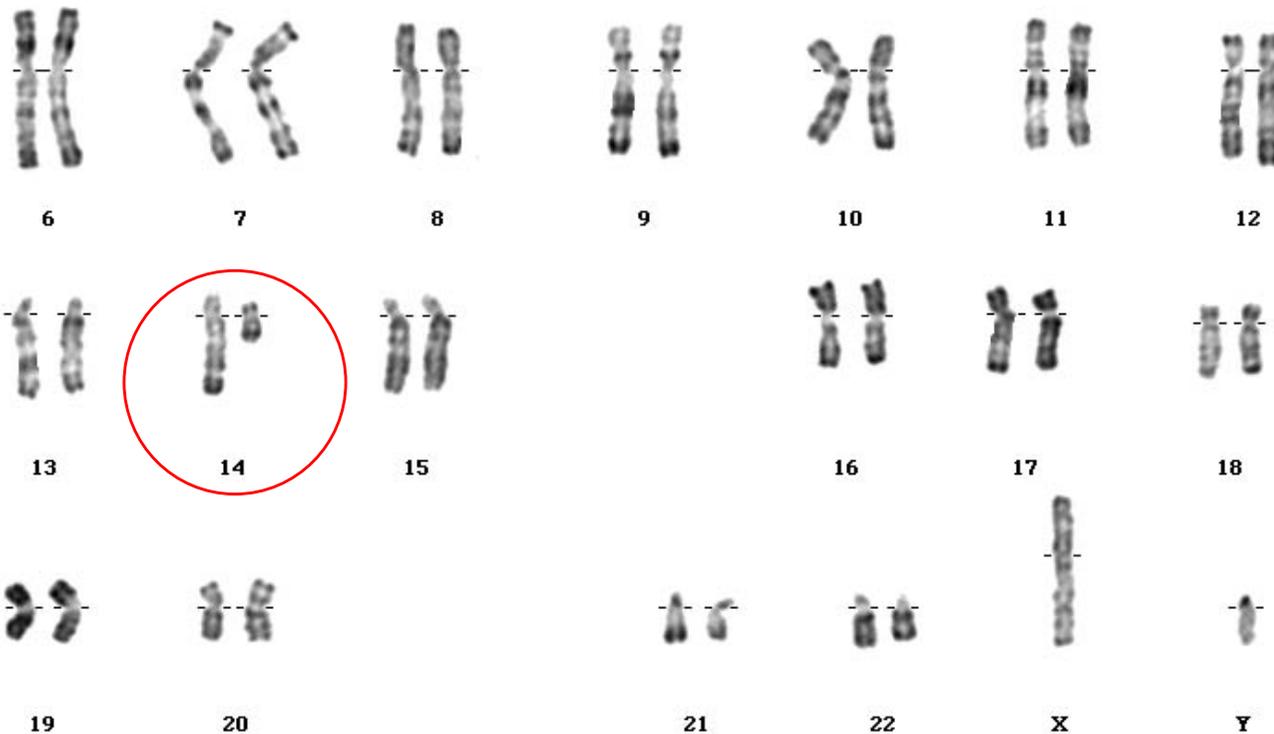
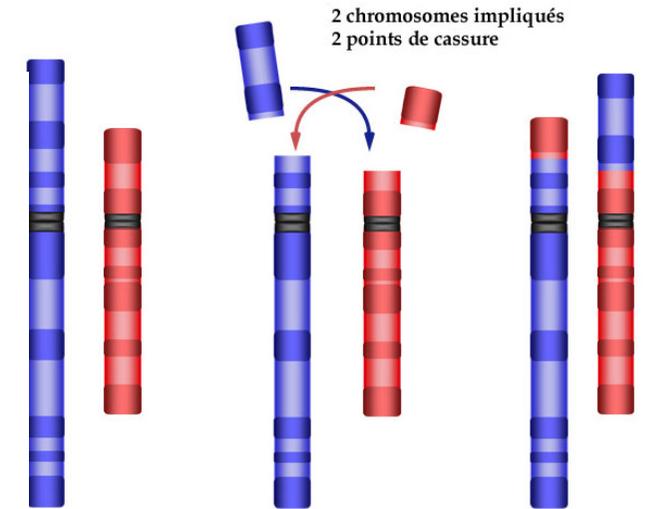
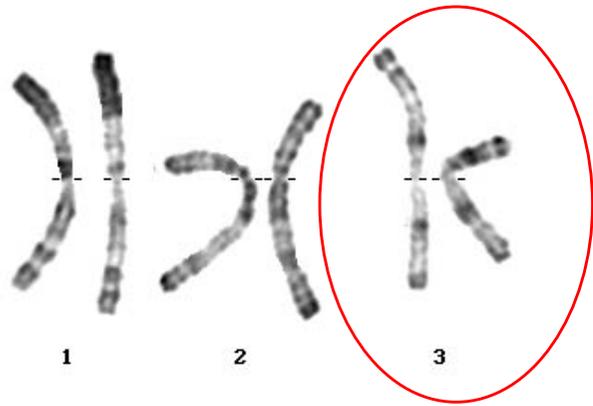
AP/HP PARIS V
Cytogénétique
Cochin



Anomalies chromosomiques de structure

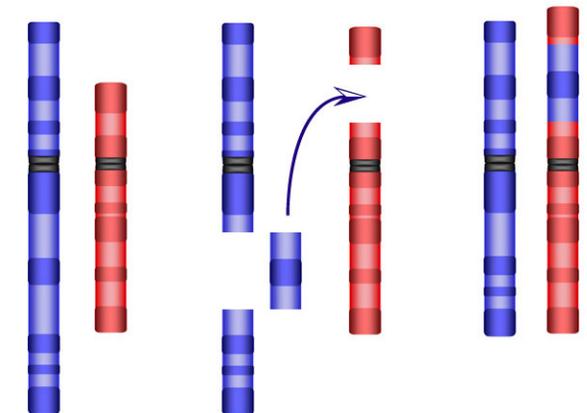
Translocation

Translocation réciproque



Translocation non réciproque = Insertion

Insertion 2 chromosomes impliqués
3 points de cassure

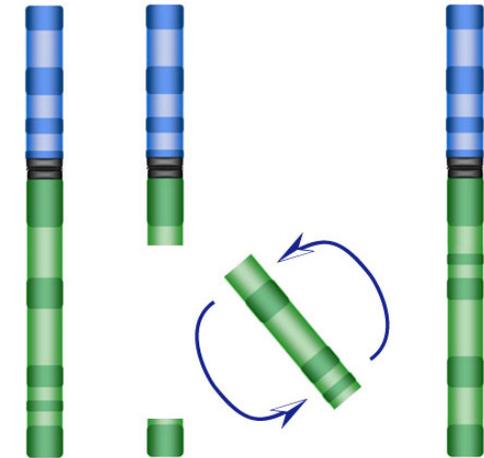


Anomalies chromosomiques de structure

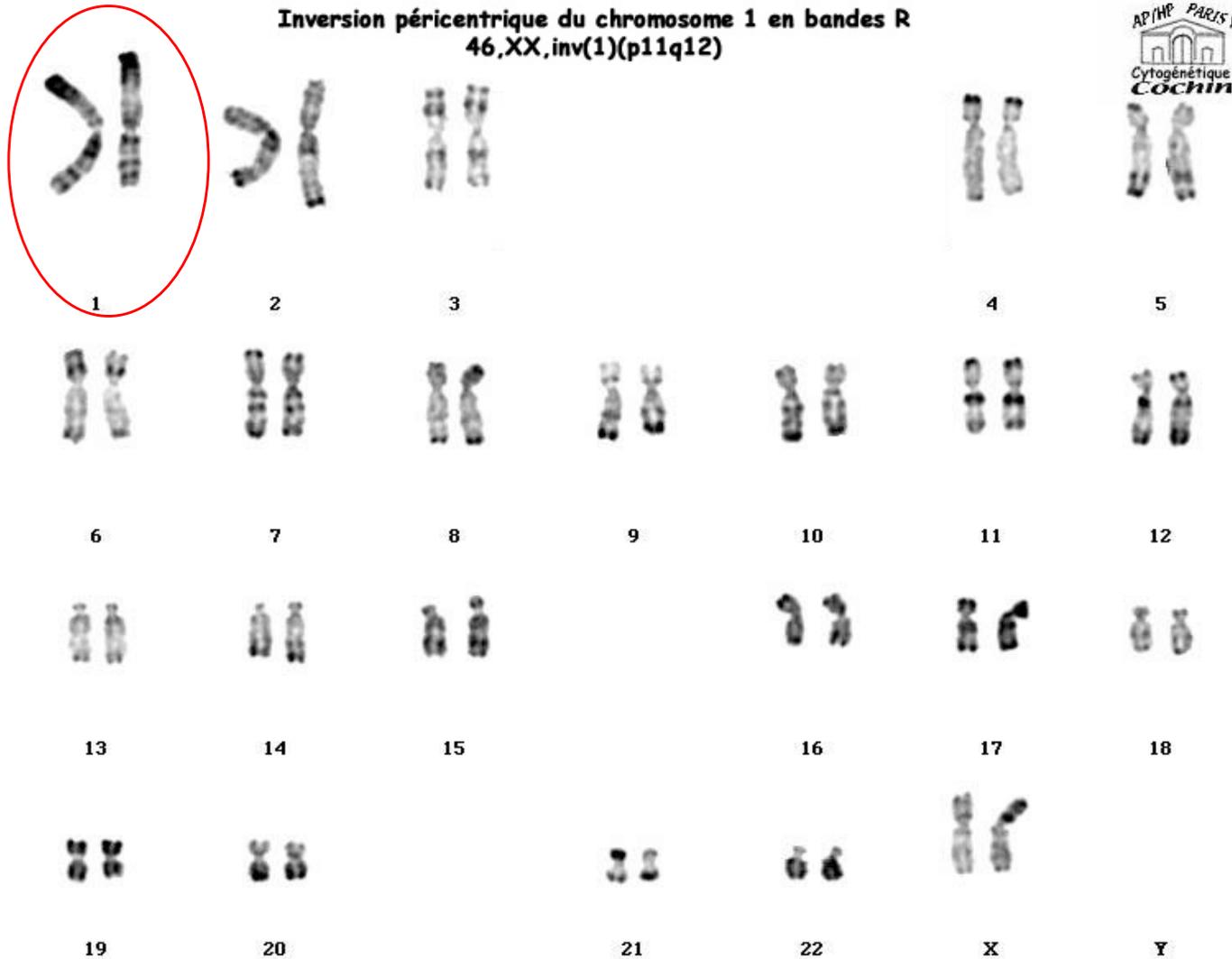
Inversion

Inversion Paracentrique

1 chromosome impliqué
2 points de cassure

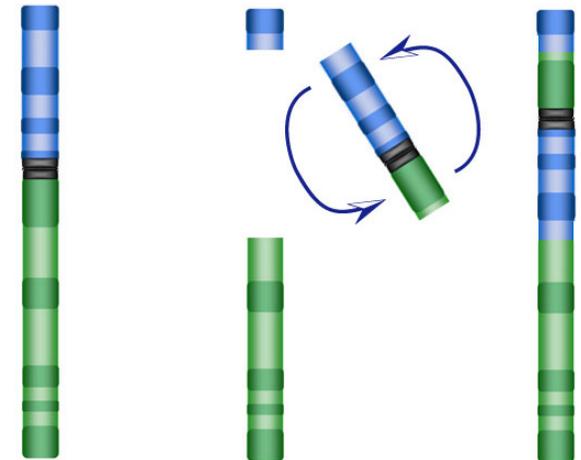


Inversion péricentrique du chromosome 1 en bandes R
46,XX,inv(1)(p11q12)

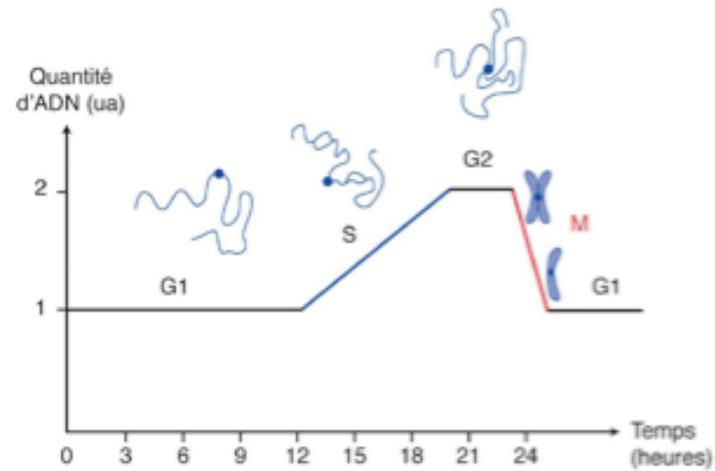
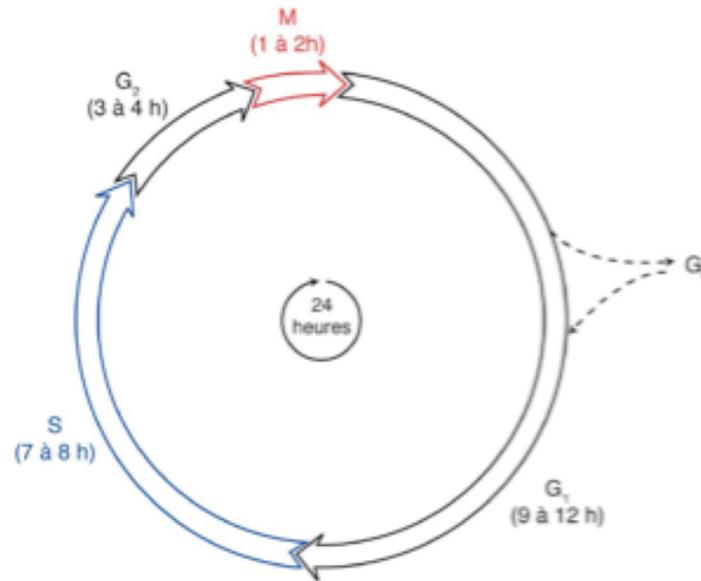


Inversion Péricentrique

1 chromosome impliqué
2 points de cassure

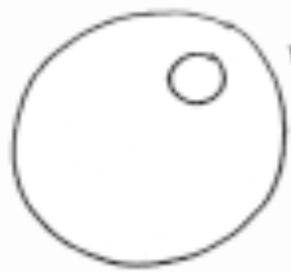


Etude du contrôle du cycle cellulaire



Expérience d'injection de cytoplasme entre
des ovocytes de Xénope

Donneur: ovocyte A



ovocyte I

progestérone

maturation



ovocyte A en
métaphase II

Gibbole polarisé I

Receveur: ovocyte B



ovocyte I

Micropipette de
cytoplasme de
l'ovocyte A en MII

maturation

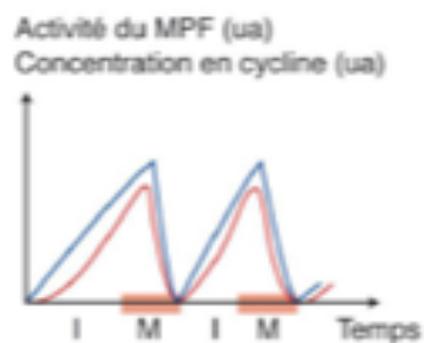


ovocyte B en
métaphase II

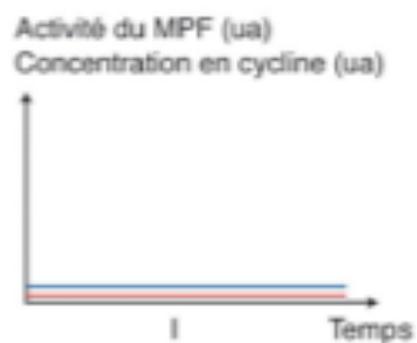
expérience	cellules donneuses	cellules receveuses	évolution des cellules receveuses
1	ovocyte II de xénope	ovocyte de souris bloqué en prophase I	reprise de la méiose
2	ovocyte II de xénope	levure en interphase	entrée en mitose
3	ovocyte II de xénope	cellules humaines en interphase	entrée en mitose
4	ovocyte de souris bloqué en métaphase II	ovogonie de xénope en G2 pré-méiotique	reprise de la méiose
5	levure en mitose	ovogonie de xénope en G2 pré-méiotique	reprise de la méiose
6	cellule humaine en mitose	ovogonie de xénope en G2 pré-méiotique	reprise de la méiose
7	cellule humaine en interphase	ovogonie de xénope en G2 pré-méiotique	blocage en G2 pré-méiotique

expérience	traitement réalisé sur l'extrait d'ovocytes II	résultats observés
1	aucun	graphe a
2	ajout de RNase ou ajout de cycloheximide	graphe b
3	ajout de RNase puis ajout d'ARNm codant la cycline	graphe a
4	ajout de RNase puis ajout d'ARNm codant une forme non-dégradable de la cycline	graphe c

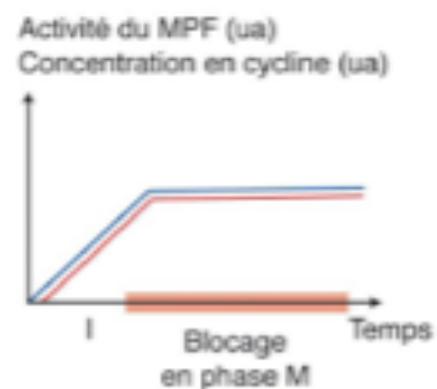
Graphe a



Graphe b



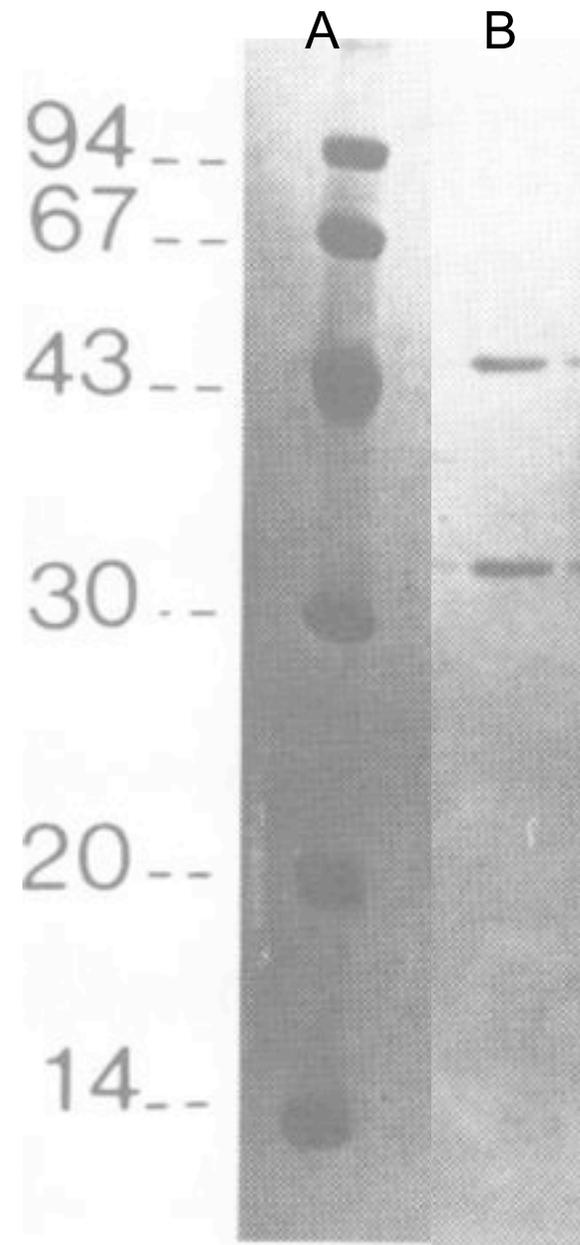
Graphe c



— Activité du MPF (ua)
— Concentration en cycline (ua)

A : marqueur de masse moléculaire.

B : révélation au bleu de Coomassie (colorant des protéines) de l'électrophorèse du MPF purifié.



Tampon : incubation des noyaux en présence d'ATP.

MPF : incubation des noyaux en présence d'ATP et de MPF extrait de cellules en prophase.

PKA : incubation des noyaux en présence d'ATP et d'une protéine kinase impliquée dans la signalisation intracellulaire, la PKA.

+ : incubation des noyaux en présence d'ATP radioactif et de MPF.

- : incubation des noyaux en présence d'ATP radioactif et en absence de MPF.

La tête de flèche indique la position de la lamine B.

