

TP 2 : L'interphase au sein du cycle cellulaire

Situation initiale : A la suite de la mitose, les chromosomes ne sont constitués que d'une seule chromatide.

Problématique : Quelles sont les étapes qui vont conduire à la mitose suivante ?

I – Le cycle cellulaire

1 – Présentation

- Pourquoi parle-t-on de cycle cellulaire ?
- Schématisez, à l'aide des précieuses informations apportées par M. Morand, le cycle cellulaire.

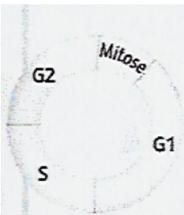
2 – Evolution de la quantité d'ADN

On réalise une culture de cellules humaines dont le cycle cellulaire est synchrone. Leur temps de génération sur 24 h se répartit ainsi : G1 = 12h, S = 6h, G2 = 5h et Mitose = 1h.

Une fraction de cette culture est régulièrement prélevée au cours d'un cycle cellulaire complet, puis les cellules sont marquées à l'iodure de propidium (marqueur fluorescent de l'ADN). La fluorescence moyenne des cellules est alors quantifiée. Les résultats sont présentés dans le tableau ci-dessous :

| Temps (heure) | 0 | 8 | 12 | 14 | 16 | 18 | 23 | 24 |
|-------------------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Fluorescence (UA) | 200 | 202 | 201 | 263 | 335 | 403 | 401 | 202 |

- Réalisez un graphique représentant la quantité d'ADN en fonction du temps au cours d'un cycle cellulaire.
Note : T0 correspondant au début de la phase G1
- Caractérisez, grâce à l'étude du graphique, la phase S.
- A l'aide du document ci-après, dégagez les principaux événements se déroulant lors des phases G1 et G2
- Etablissez un schéma bilan qui reprend toutes les informations tirées des études précédentes.

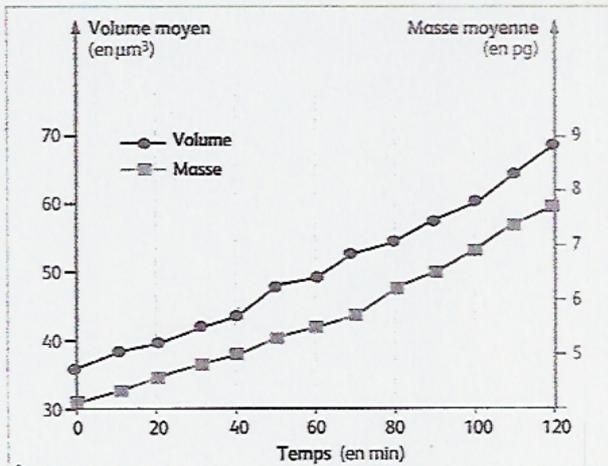


Les phases G1 et G2 sont les abréviations de « Gap1 » et « Gap2 », signifiant un intervalle entre la phase S et la mitose.

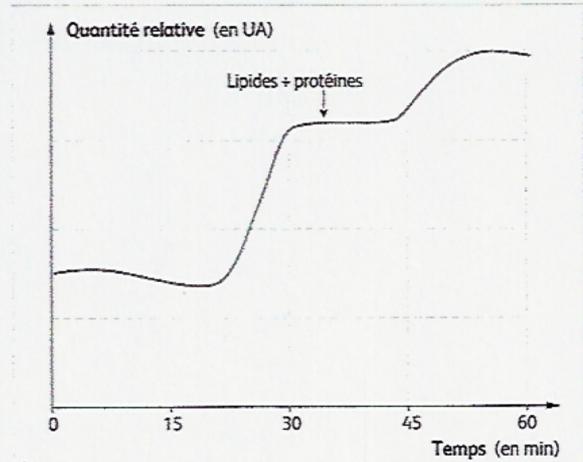
La durée de la phase G1 est très variable d'un type cellulaire à un autre. Elle est quasi-nulle pour une cellule-œuf en division et peut atteindre plusieurs mois pour des cellules à multiplication lente (cellule du foie par exemple).

D'une manière générale, les cellules d'un organisme passent la majeure partie de leur vie en phase G1.

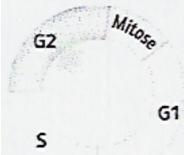
Les techniques actuelles permettent de mesurer précisément la masse et le volume de chaque cellule d'une population, puis d'analyser leur contenu moléculaire par microspectroscopie. On suit l'évolution de ces paramètres dans une population de levures de bière (*Saccharomyces cerevisiae*).



Évolution de la masse et du volume moyen d'une cellule de levure au cours de l'interphase.

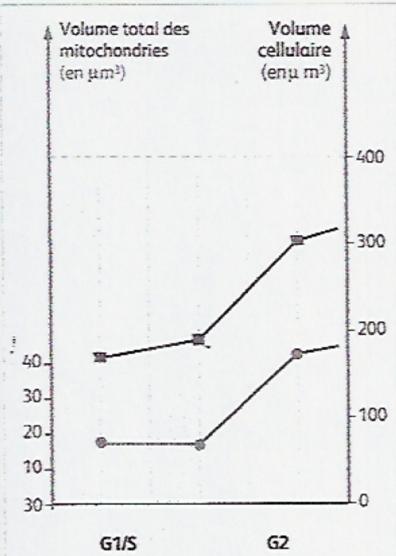


Mesure de la quantité relative en lipides et protéines au cours de la phase G1 dans une cellule de levure de bière.



Au cours de la phase G2, la cellule continue à croître, mais cette phase se caractérise principalement par une modification des organites cellulaires, comme les mitochondries et les chloroplastes.

Des études ont permis de suivre l'évolution du volume total des mitochondries dans des cellules en division d'un petit végétal : l'arabette des dames (*Arabidopsis thaliana*).



Évolution du volume total des mitochondries dans une cellule de bourgeon d'*Arabidopsis thaliana*.



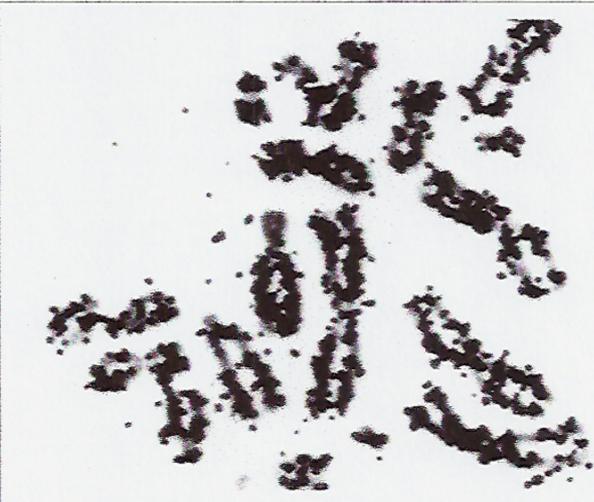
Division d'une mitochondrie dans une cellule en culture (MET, image colorisée).

Notes : titre du Doc a : Evolution de la masse et du volume moyen d'une cellule de levure durant la phase G1.

Doc c : Les carrés correspondent au volume cellulaire et les ronds au volume des mitochondries.

II – Etude de la réplication

1 – Les expériences de Taylor



Taylor cultive de jeunes racines de *Bellevalia romana* (plante de la famille du lis) sur un milieu contenant un « précurseur marqué » de l'ADN :

- ce précurseur est un nucléotide typique de l'ADN, la thymidine (T) c'est-à-dire le nucléotide contenant de la thymine ;
- le marquage a consisté à remplacer certains atomes d'hydrogène de T par un isotope radioactif, le tritium (^3H), ce qui forme de la thymidine tritiée.

Lorsque les cellules synthétisent de l'ADN, elles incorporent ce précurseur et l'ADN formé est alors radioactif. Cette molécule devient détectable par la technique d'auto-radiographie : des cellules cultivées en présence de thymidine tritiée sont écrasées et mises en contact avec un film photographique. Le rayonnement émis par les molécules radioactives impressionne le film et, après développement de la pellicule, des points microscopiques noirs repèrent leur emplacement.

La photographie présente l'aspect des chromosomes d'une cellule cultivée dans le milieu en présence de T tritiée pendant une durée égale à celle d'un cycle cellulaire. Une seule réplication de l'ADN a donc pu avoir lieu.

× 3 000

1 Le principe de l'autoradiographie de l'ADN.

L'expérience est alors poursuivie de la façon suivante : des racines qui ont été cultivées sur un milieu 1, en présence de T tritiée, pendant la durée d'un cycle cellulaire, sont prélevées, soigneusement lavées, puis replacées dans un milieu 2 ne contenant que des précurseurs non radioactifs. Après un temps correspondant à la durée d'un cycle cellulaire supplémentaire, des racines sont prélevées et soumises à une autoradiographie. La photographie présente les résultats observés.



× 2 400

2 Une observation décisive.

- Analysez et interprétez ces 2 expériences
- Proposez une hypothèse sur les mécanismes de la réplication

2 – L'expérience de Meselson et Stahl

- Validez votre hypothèse, en traitant l'exercice 9p28

Conclusion

Faites une fiche résumé des mécanismes qui se déroulent durant l'interphase.