

TP 02. La production de gamètes chez les individus diploïdes

Objectifs : -Mettre en évidence le processus de production des gamètes....

- Développer ses capacités manipulatoires en matière de conception de lames microscopiques avec coloration spécifique et d'observation microscopique.

Partie A : Placer les étapes les unes par rapport aux autres.10- 15mn

Des clichés ont été réalisés dans des anthères de lys (processus identiques à la drosophile), où se forment les grains de pollen. Plusieurs phases de la méiose sont présentes simultanément dans les anthères en cours de maturation.



4 cellules individuelles contenant chacune un seul exemplaire de chaque chromosome à une chromatide.

Les chromosomes homologues appariés se placent sur le plan équatorial de la cellule. La cellule est diploïde.

Les chromosomes sont disposés au niveau du plan équatorial de chaque cellule haploïde.

Phase très courte: Formation de deux cellules à n chromosomes à 2 chromatides. Décondensation de l'ADN et formation d'une membrane divisant la cellule en deux.

Phase pendant laquelle les chromatides de chaque chromosome vont se dissocier au niveau du centromère et migrer vers le pôle de chaque cellule. Chaque pôle contient le même nombre de chromosomes à une chromatide.

Séparation et migration des chromosomes homologues vers les pôles de la cellule. Chaque pôle contient la moitié du nombre total de chromosomes.

Phase très courte
Condensation de la molécule d'ADN en chromosomes à deux chromatides.
La cellule est haploïde.

Phase longue :
Disparition de la membrane du noyau; condensation de la molécule d'ADN en chromosomes. Appariement des chromosomes homologues à 2 chromatides (bichromatidiens).

Partie B : 10- 15mn

La drosophile possède un caryotype à $2n=8$ chromosomes, pour plus de clarté, on choisit de ne représenter que 2 paires de chromosomes :

Consigne: Soit une cellule de formule chromosomique $2n = 4$ contenant un gène A, présentant deux allèles différents sur les chromosomes homologues $n^{\circ}1$ (A, a). et deux allèles différents sur les chromosomes homologues $n^{\circ}2$ (B, b).

En vous aidant de schémas explicatifs, préciser le devenir de ces allèles au cours de la méiose.

On se limitera dans la représentation schématique de la méiose à la prophase 1, à la télophase 1 (ou résultat d'Anaphase 1) et à la télophase 2 (ou résultat d'Anaphase 2).

Partie C : 1h15! → Dans le cadre d'une activité de manipulation(annexe 2), prendre une photographie d'une cellule à un stade identifié chez le lys (au niveau de ses anthères.), M'appeler !.

Annexe 1 :

Mini-Lexique :

Homozygote : se dit d'un gène qui sera représenté par deux allèles identiques chez un diploïde.

Hétérozygote : se dit d'un gène qui sera représenté par deux allèles différents chez un diploïde.

Récessif : relatif à un caractère qui est visible uniquement à l'état homozygote.

Dominant : relatif à un caractère qui est visible à l'état hétérozygote ou homozygote.

En génétique, il faut toujours très clairement traduire vos conventions !



Conventions d'écriture en génétique :

Gène : une lettre majuscule. Y = gène permettant la fabrication du pigment rouge des yeux.

Allèle : en indice après la lettre majuscule définissant le gène (on évite d'utiliser + ou - pour un allèle)

Phénotype : entre crochets [] avec un point-virgule entre chaque caractère.

Exemple : [Yeux rouges ; ailes vestigiales] ou [Y_n ; A_v]

Génotype: entre parenthèses (). Pour les haploïdes : (\underline{Y}_n). Pour les diploïdes : $\left(\frac{Y_n}{Y_n} \right)$

Si deux gènes sont sur deux chromosomes différents, on interrompt le double-trait : $\left(\frac{Y_n}{Y_n}, \frac{A_C}{A_D} \right)$.

Dans le cas contraire, on continue le trait $\left(\frac{Y_n A_C}{Y_n A_D} \right)$.

Rappel inutile pour le moment...

Échiquier de croisement:

| P2 | P1 | Génotype possible d'un gamète A | Génotype possible d'un gamète B |
|----------------------------------|----|--|--|
| Génotype possible d'un gamète A' | | Génotype et phénotype du produit de la fécondation AA' | Génotype et phénotype du produit de la fécondation BA' |
| Génotype possible d'un gamète B' | | Génotype et phénotype du produit de la fécondation AB' | Génotype et phénotype du produit de la fécondation BB' |

| P2 | P1 | (\underline{Y}_o) | (\underline{Y}_p) |
|-----------------------|----|----------------------------------|----------------------------------|
| (\underline{Y}_n) | | $\left(\frac{Y_o}{Y_n} \right)$ | $\left(\frac{Y_p}{Y_n} \right)$ |
| (\underline{Y}_m) | | $\left(\frac{Y_o}{Y_m} \right)$ | $\left(\frac{Y_p}{Y_m} \right)$ |

ANNEXE 02 : Activité autour d'une problématique cachée...

Sophie vient de voir un reportage à la télé sur les individus atteints du syndrome de Klinefelter. Ce sont des personnes qui ont une apparence normale mais qui à la puberté présentent des problèmes de fertilité. Le reportage indique que cette anomalie est liée à un chromosome (trois chromosomes sexuels XXY au lieu de deux) en trop dans les cellules. Anomalie qui se met en place lors de la reproduction.

Comment, en « temps normal », la reproduction sexuée permet-elle le maintien du nombre de chromosomes d'une génération à l'autre ?

Vous procéderez en 4 étapes :

1- Concevoir une stratégie pour résoudre une situation problème

→ vous exposez le problème en l'expliquant, vous proposez un protocole (en argumentant) permettant de résoudre le problème (avec hypothèse éventuellement) et vous exposez les résultats attendus.

2- Mettre en œuvre un protocole pour obtenir des résultats exploitables

→ vous mettez en œuvre le protocole (**rôle dans la problématique tiré par les cheveux mais c'est l'occasion de manipuler et d'observer vos propres créations....**)

3- Présenter les résultats pour les communiquer

→ vous proposez une façon de présenter les résultats (tableaux, résultats chiffrés, graphique, dessin, schéma, photo...) exploitables.

4- Exploiter les résultats obtenus et les ressources mises à disposition pour répondre au problème

→ vous analysez vos résultats proprement pour conclure une réponse à votre problématique (si possible...)

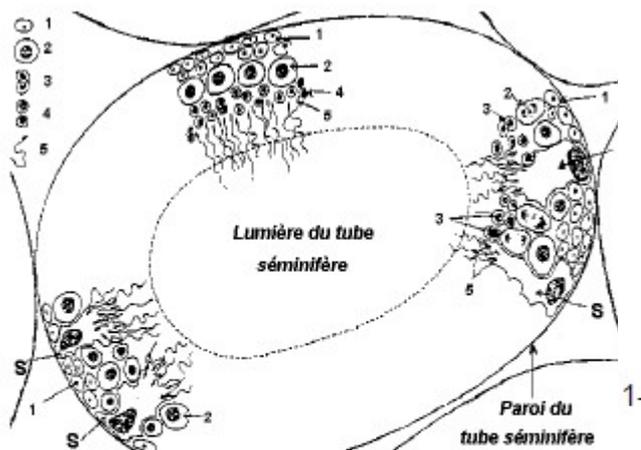
Ressources pour réfléchir et manipuler.

Documents :

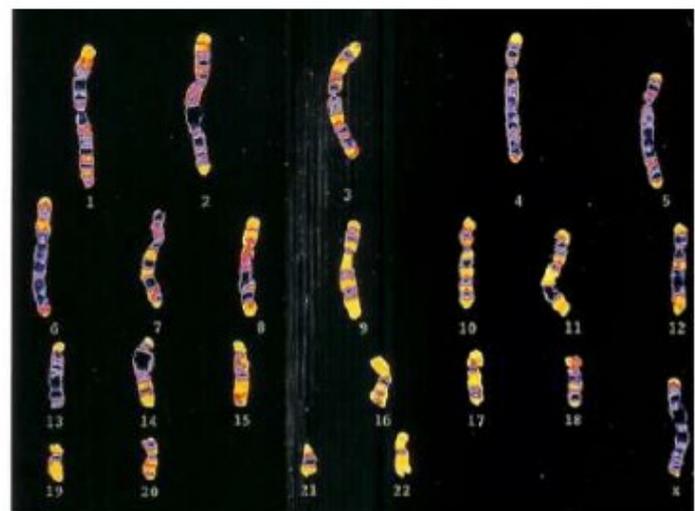
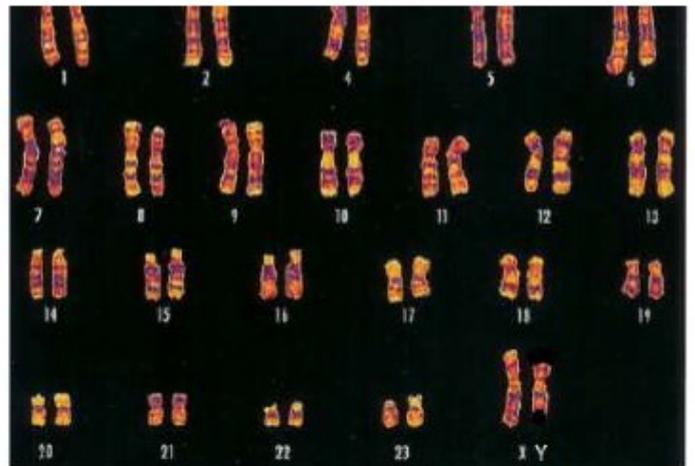
Document a : la spermatogenèse

Le document ci-dessous représente une coupe simplifiée dans un testicule de mammifère. On distingue de nombreux tubes séminifères contenant des populations cellulaires qui se différencient de la périphérie vers le centre. Les spermatogonies sont les cellules situées en périphérie. Elles se divisent et se différencient pour former des spermatozoïdes au centre. Une spermatogonie se divise en 4 spermatides selon un mécanisme appelé **méiose**. Les spermatides se différencient alors en spermatozoïdes en acquérant un flagelle.

Document b : coupe transversale de tube séminifère humain .



- 1 : spermatogonie
- 2 : spermatocyte de 1^{er} ordre
- 3 : spermatocyte de 2^{ème} ordre
- 4 : spermatide
- 5 : spermatozoïde
- S : cellule de Sertoli



Document c : caryotype de spermatogonie (cellule germinale) et de spermatozoïde (gamète/ cellule reproductrice).

Document d : les étapes de la méiose :

La méiose est le nom donné à une division cellulaire qui permet de former des cellules haploïdes à partir de cellules diploïdes.

La méiose est précédée d'une phase de réplication de l'ADN. En début de méiose, chaque chromosome est donc double, c'est-à-dire formé de deux chromatides identiques.

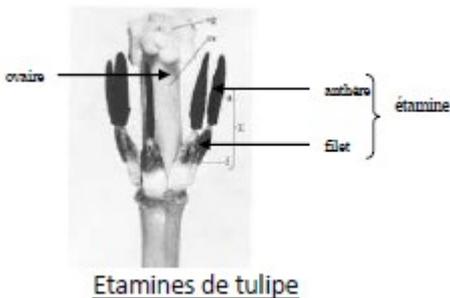
La méiose est constituée d'une série de 2 divisions successives : la *division réductionnelle* et la *division équationnelle*. A partir d'une cellule diploïde, à 2n chromosomes et à deux chromatides, elle aboutit à quatre gamètes haploïdes à n chromosomes et à une chromatide.

La première division, dite *réductionnelle*, peut se découper en 4 étapes. En prophase 1, les chromosomes s'individualisent puis s'apparient entre homologues. Des enjambements ou chiasmas sont visibles. A la métaphase 1, les chromosomes à 2 chromatides sont disposés de part et d'autre du plan équatorial. Au cours de l'anaphase 1, il y a migration de 2 lots de n chromosomes à 2 chromatides vers les pôles de la cellule. La télophase 1 est brève, caractérisée par la séparation des 2 cellules et formation des enveloppes nucléaires.

La deuxième division, dite *équationnelle*, s'enchaîne à la première. A la prophase 2, il y a une nouvelle spiralisation de la chromatine mais entre les 2 divisions il n'y a pas eu de nouvelle interphase avec réplication de l'ADN. Dans chaque cellule, les chromosomes se disposent en plaque équatoriale lors de la métaphase 2. A l'anaphase 2, le clivage de la zone du centromère permet une migration polaire de lots à n chromosomes et à une chromatide. En télophase 2, les noyaux se reconstituent et les 4 cellules reproductrices sont séparées.

Document e : logiciel « génétique » à disposition.

Document f : protocole.



1 - Prélèvement des étamines :

- En vous aidant de la photographie ci-contre, prélevez une étamine sur la fleur proposée (lys ou tulipe), à l'aide d'une paire de ciseaux.
- Repérez son anthère.

2 - Réalisation de la coupe :

- A l'aide de la lame de rasoir, réalisez plusieurs coupes fines dans les anthères de Lis ou de tulipe.
- Déposez-les dans un verre de montre et sélectionnez-en 3 (les plus fines).

3- coloration des chromosomes :

Placer le fragment de racine dans un verre de montre contenant du $\text{HCl } 1 \text{ mol.L}^{-1}$ durant 5 min.

acide hydrolyse le ciment pectique qui relie les parois cellulaires. Ceci facilitera ensuite la dissociation des cellules.

Récupérer et rincer abondamment avec de l'eau distillée

Laisser sécher

Placer les fragments durant 5 min dans du carmin acétique (attention ça tache !!!)

Rincer et placer la racine sur une lame mince

Mettre une goutte d'acide éthanoïque

ou

Coloration à l'orcéine acétique

ou bleu de toluidine

- Placez vos coupes sur une lame dans une goutte d'orcéine acétique. (*Orcéine acétique*: - Fabrication de la solution mère : faire bouillir 45 mL d'acide éthanoïque pur, puis y dissoudre 1 g d'orcéine. Laisser refroidir et filtrer. Elle peut se conserver au réfrigérateur. - Préparation de la solution diluée : mélanger 9 mL de la solution mère dans 11 mL d'eau distillée.)

- Laisser agir 20 min.

- laisser agir 3mn

- Rincez à l'eau distillée.

- Rincez à l'eau distillée.

- Déposez une goutte d'acide acétique 45 %.

- Recouvrez d'une lamelle et observez.

Matériel :

- une fleur de lys avec des anthères où se déroulent des formations de gamètes mâles.

- colorant des chromosomes : HCl , carmin acétique, acide éthanoïque .

- pincettes fines, lame de rasoir

- 2 lames et 2 lamelles

- blouse, gants, lunettes

- eau distillée

- un microscope optique

- préparation de secours au cas où : anthères de lys : méiose.

Pour le labo :

acheter des fleurs en bouton ; il faut que les anthères soient encore translucides ou blanchâtres. C'est la principale difficulté de ce T.P. !