



**HAL**  
open science

## La méiose

Christine Mézard, Nicolas Macaisne, Mathilde Grelon

► **To cite this version:**

Christine Mézard, Nicolas Macaisne, Mathilde Grelon. La méiose. La reproduction animale et humaine, Editions Quae, 2014. hal-01204084

**HAL Id: hal-01204084**

**<https://hal.science/hal-01204084>**

Submitted on 5 Jun 2020

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

## La méiose

Christine MÉZARD, Nicolas MACAISNE, Mathilde GRELON

La méiose est une étape essentielle de la reproduction sexuée des eucaryotes. Elle permet de produire des cellules haploïdes (à  $n$  chromosomes) à partir d'une cellule mère diploïde (à  $2n$  chromosomes), compensant ainsi le doublement de ploïdie obtenu lors de la fécondation. Cette réduction de moitié du niveau de ploïdie lors de la formation des gamètes est obtenue grâce à la succession d'un cycle de réplication suivi de deux divisions chromosomiques (figure 3.1, planche II). La méiose va de plus permettre d'accroître la diversité génétique. En effet, chaque cellule diploïde entrant en méiose a reçu un lot de chromosomes provenant de son géniteur femelle et de son géniteur mâle. Lors de la première division méiotique, ces lots sont réassemblés aléatoirement et la recombinaison entre chromosomes homologues crée de nouvelles combinaisons génétiques (figure 3.1, planche II).

La méiose est un mécanisme remarquablement conservé puisque les étapes principales des divisions méiotiques sont similaires chez toutes les espèces pour lesquelles la méiose a pu être observée, suggérant qu'elle devait exister déjà chez l'ancêtre commun des eucaryotes. La plupart des espèces auraient conservé ce mode de reproduction sexuée mais certaines l'auraient perdu (par exemple la fougère *Vittaria appalachiana*) ou ne l'utiliseraient qu'exceptionnellement (comme le parasite *Toxoplasma gondii*) (Schurko *et al.*, 2009).

Dans ce chapitre, nous allons décrire l'état des connaissances sur les mécanismes moléculaires conduisant à la diversité génétique et aux divisions cellulaires. Ces données ont été établies grâce aux études menées en parallèle sur une série d'espèces modèles. Les deux levures *Saccharomyces cerevisiae* et *Schizosaccharomyces pombe* ont permis grâce à des études moléculaires et génétiques d'obtenir les bases moléculaires des modèles de recombinaison méiotique. *Mus musculus* et *Arabidopsis thaliana* sont des modèles permettant d'étudier les spécificités de la méiose des mammifères et des plantes. D'autres modèles, comme le ver *Caenorhabditis elegans* ou la drosophile, apportent des informations intéressantes sur des aspects cytologiques ou génétiques.

### ► La lignée germinale

Chez les eucaryotes multicellulaires, la méiose est induite à un moment précis du cycle de vie. Chez la plupart des animaux, une lignée de cellules germinales est

d'entrée en méiose se succéderont jusqu'à l'andropause. La méiose femelle chez ces espèces est initiée au cours de l'embryogenèse mais s'arrête au cours de la vie foetale lors de la prophase I de méiose au stade diplotène/diacinèse (voir p. 59 ; figure 3.2, planche III). À partir de la puberté, la progression méiotique peut reprendre : à chaque ovulation, quelques ovocytes (en nombre variable en fonction des espèces) reprennent leur développement méiotique jusqu'en métaphase II (chapitres 2 et 4). Ce nouvel arrêt ne sera levé qu'en cas de fécondation, permettant à la seconde division méiotique de se terminer.

La situation de la méiose est assez différente chez les végétaux. Chez les plantes terrestres, la différenciation de la lignée germinale est tardive et n'a lieu qu'après une période de développement végétatif. Puis, suivant les conditions climatiques (température, intensité lumineuse, photopériode) et les conditions de culture (nutriments, eau...), la floraison va être induite. La très grande majorité des plantes à fleurs sont hermaphrodites, c'est-à-dire que leurs fleurs possèdent à la fois les organes reproducteurs mâles et femelles. Seules 6 % des espèces sont dioïques (les individus possèdent alors soit des fleurs « mâles », soit des fleurs « femelles »), et 7 % sont monoïques (coexistence de fleurs hétéromorphes et d'un des deux sexes sur le même individu). Chez la plupart des espèces, les spores produites à la fin de la méiose sont directement différenciées en gamètes sans divisions mitotiques. À l'inverse, chez les plantes terrestres, les spores issues de la méiose mâle subissent deux divisions mitotiques avant de se différencier en grains de pollen trinuclés. Après la méiose femelle, trois des quatre spores produites dégénèrent, la spore restante subit trois divisions mitotiques et se différencie en une structure, le sac embryonnaire, qui contient l'ovule (Harrison *et al.*, 2010).

## ►► Le déroulement de la méiose

La méiose fait intervenir une unique réplication de l'ADN suivie de deux divisions chromosomiques successives, aboutissant ainsi à une réduction de ploïdie. La première division est très spécifique à la méiose puisqu'elle va permettre de séparer les chromosomes homologues. La deuxième division s'apparente à une division mitotique : ce sont les chromatides sœurs qui se séparent et migrent aux pôles opposés de la cellule (figure 3.1, planche II). Toute anomalie de ségrégation des chromosomes en méiose s'avère particulièrement délétère. Cinq pour cent des gestations chez la femme sont monosomiques ou trisomiques, et dans la très grande majorité des cas, se terminent par un arrêt prématuré de grossesse, car peu d'aneuploïdies (nombre de chromosomes différent de  $2n$ ) chez l'homme sont viables (contrairement à la trisomie 21) (Hassold *et al.*, 2007).

La méiose est vraisemblablement dérivée d'un cycle cellulaire mitotique au sein duquel un certain nombre de modifications clés ont été introduites :

– la séparation des chromosomes homologues lors de la première division méiotique repose sur la formation de liens physiques entre eux et la formation des struc-

en un échange d'ADN par recombinaison homologue ;

– la régulation de la cohésion entre les chromatides sœurs a aussi été modifiée afin de permettre une séparation correcte tout d'abord des chromosomes homologues, puis des chromatides sœurs (figure 3.3, planche IV) ;

– enfin des ajustements de la régulation du cycle cellulaire ont vu le jour permettant d'enchaîner deux étapes de ségrégation chromosomique sans réplication intermédiaire (figure 3.1, planche I).

Comme pour toute division cellulaire, on différencie au sein de chacune des deux divisions méiotiques les stades de prophase, métaphase, anaphase et télophase (figure 3.1). La prophase de première division de méiose est très spécifique à la méiose ; non seulement l'individualisation et la condensation des chromosomes ont lieu mais aussi la mise en place des liens physiques entre chromosomes homologues (formation des bivalents, voir p. 61) ainsi que la formation transitoire du complexe synaptonémal (CS) (voir ci-dessous).

## La prophase I de méiose

C'est l'étape la plus longue de la méiose. Elle a été subdivisée en plusieurs stades en se basant sur des différences de morphologie des chromosomes observées en cytologie (figures 3.1 et 3.2, planches II et III) (Zickler et Kleckner, 1998).

## Le stade leptotène

Au stade leptotène (du grec *leptos* mince, et *taenia* ruban), les chromosomes entament leur condensation et les boucles de chromatine des deux chromatides sœurs s'ancrent sur un seul axe protéique (élément axial) qui commence à se structurer (figures 3.2 et 3.4, planches III et V). C'est aussi à ce stade qu'est initiée la recombinaison méiotique (voir p. 61). Depuis la réplication, les chromatides sœurs sont associées ensemble par des complexes protéiques appelées cohésines (figures 3.2, 3.3 et 3.4).

Chez beaucoup d'espèces, les télomères sont associés à la membrane nucléaire. Lors de la transition leptotène/zygotène, ils se regroupent pour former une structure appelée le « bouquet » (Zickler et Kleckner, 1998 ; Harper *et al.*, 2004). La fonction de celui-ci n'est toujours pas élucidée, mais il pourrait faciliter la recherche du partenaire homologue et l'alignement entre chromosomes homologues.

## Le stade zygotène

Sous le terme zygotène (du grec *zygon*, joug, et *taenia*, ruban) sont regroupés tous les stades où la polymérisation du complexe synaptonémal (appelée « synapsis ») est initiée mais non complète. Le CS est une structure tripartite composée de deux éléments axiaux parallèles (déjà appelés éléments latéraux) associés par des filaments transverses, souvent comparés aux barreaux d'une échelle (figure 3.4). La structure du CS est particulièrement bien conservée chez tous les eucaryotes alors que ses composants protéiques, eux, le sont très peu. Au cours du stade zygotène, la

recombinaison peuvent être observées en microscopie électronique sous la forme de zones ovoïdes denses aux électrons et associées aux éléments axiaux des chromosomes, majoritairement aux sites de convergence des deux axes homologues. Ces nodules contiennent un certain nombre de protéines de la machinerie de recombinaison telles que RAD51 ou DMC1, suggérant qu'ils représentent les sites de recombinaison (Anderson et Stack, 2005).

Chez la plupart des espèces, le « synapsis » ne peut avoir lieu sans recombinaison. Contrairement à ce que l'on a longtemps cru, la polymérisation du CS n'est pas un prérequis à l'établissement de contacts entre chromosomes homologues. Il semblerait au contraire qu'elle en soit une conséquence puisque, chez la plupart des espèces, il ne peut y avoir de CS sans recombinaison. D'ailleurs, on sait désormais que l'initiation de la polymérisation du CS se fait à partir d'un nombre restreint de sites où la recombinaison est en cours (Page et Hawley, 2004 ; Kleckner, 2006).

### Le stade pachytène

Au stade pachytène (du grec *pachys*, épais), les chromosomes homologues sont « synapsés » sur toute leur longueur (figures 3.2 et 3.4, planches III et V). En microscopie électronique, de nouveaux nodules plus gros et beaucoup moins nombreux (les nodules tardifs) sont détectés, associés à la région centrale du CS (figure 3.5, planche V). Chez les rares espèces (comme *S. cerevisiae* ou *S. pombe*) où la dynamique d'apparition des molécules d'ADN recombinées peut être étudiée (car la méiose peut être induite de manière synchrone sur des millions de cellules en culture), il a été observé que la maturation des événements de recombinaison est achevée en pachytène.

### Les stades diplotène et diacinèse

Le stade diplotène se caractérise par une dépolymérisation rapide du CS. Les chromosomes homologues ne sont plus retenus ensemble qu'au niveau des chiasmats (échange réciproque entre chromosomes homologues, voir p. 61) et apparaissent alors doubles (du grec *diplos*, double). En diacinèse, les chromosomes continuent à se condenser et se localisent près de l'enveloppe nucléaire (du grec *kinesis*, mouvement) (figure 3.2, planche III).

### Les autres étapes de la méiose

En métaphase, la compaction des chromosomes est maximale, l'enveloppe nucléaire disparaît et les fibres du fuseau capturent les bivalents *via* les kinétochores (complexes protéiques situés au niveau des centromères). En première division de méiose, les kinétochores des chromatides sœurs sont connectés aux fibres du fuseau émanant d'un des deux pôles, permettant un attachement monopolaire (vers un seul pôle) de chaque chromosome, mais bipolaire de chaque bivalent (figure 3.3A, B, planche IV). En anaphase I, la cohésion entre les bras des chromosomes est relâchée, libérant chaque chromosome de son homologue (figure 3.3C). En revanche, la cohésion

chromosome vers un des pôles de la cellule (figure 3.3C). La division réductionnelle est accomplie (anaphase I). La télophase I voit la reformation d'une enveloppe nucléaire et la décondensation partielle des chromosomes à chacun des deux pôles (figure 3.3D). Puis, la seconde division est entamée. En métaphase II, les chromosomes comprennent chacun deux chromatides sœurs sont condensés, leurs kinétochores désormais bi-orientés (figure 3.3D) permettant un attachement bipolaire de chacun d'eux (figure 3.3E). La cohésion centromérique qui retient chaque chromatide à sa sœur est relâchée en anaphase II, les chromatides migrent à leur tour aux pôles opposés, aboutissant à la formation de quatre cellules haploïdes (figure 3.3F).

## ► La recombinaison méiotique

Chez la grande majorité des espèces, la recombinaison méiotique est fondamentale au bon déroulement de la méiose. En effet, au cours de la première division de méiose, la recombinaison va produire des crossovers (CO, échanges réciproques de fragments de chromosomes homologues), appelés chiasmats quand ils sont décrits sous l'angle cytologique. Ces chiasmats vont créer un lien physique entre chromosomes homologues, essentiel à l'organisation des bivalents de chromosomes homologues sur la plaque métaphasique. En l'absence de chiasmats (par exemple lorsque certaines protéines clés de la recombinaison sont absentes à cause de mutations dans les gènes correspondants), les bivalents ne sont pas formés et les chromosomes ségrègent aléatoirement en première division de méiose, ce qui donne lieu à des aneuploïdies et des gamètes non viables.

## Les mécanismes moléculaires de la recombinaison méiotique

### Formation des cassures double brin

La recombinaison est initiée en début de prophase I par la formation programmée de cassures double-brin de l'ADN. Ces cassures ont lieu au stade leptotène de la prophase I : à un locus donné, une seule des quatre chromatides présentes est cassée. Elles sont réparées en utilisant une chromatide homologue (non-sœur) comme matrice (figures 3.6 et 3.7, planches VI et VII). Ces réparations vont donner deux types de produits recombinants : les CO et les non-crossovers (NCO, échanges non réciproques entre chromosomes homologues) (figure 3.7). Dans les NCO — appelés aussi conversions géniques non associées à un CO — la région cassée est remplacée par un petit fragment d'ADN du chromosome homologue (figure 3.7).

L'emplacement de ces cassures n'est pas aléatoire le long des chromosomes mais répond à des contraintes qui varient suivant les espèces : au sein des promoteurs de gènes chez la levure *S. cerevisiae*, dans les longues régions inter-géniques chez la levure *S. pombe*, à distance des gènes chez la souris et l'homme. Une partie des mécanismes sous-jacents commence à être élucidée (Lichten et de Massy, 2011). La protéine SPO11 est la protéine clé de la formation des cassures double-brin. Elle est apparentée à une famille de topoisomérases de type II d'*Archaeobacterias*. SPO11 agit

reste attachée de manière covalente aux extrémités de l'ADN. Pour initier la réparation des cassures double-brin(s), une endonucléase formée par le complexe RAD50-MRE11 libère un oligonucléotide sur lequel est attachée SPO11 (figure 3.6) (Keeney, 2008).

## Réparation des cassures double-brin

Les extrémités 5' simple-brin de la cassure sont progressivement dégradées par différentes exonucléases pour produire un ADN simple-brin rapidement recouvert des protéines RAD51 ou DMC1, recombinaisons homologues des protéines de recombinaison bactérienne RecA (figure 3.6, planche VI). Le nucléofilament formé par ces protéines sur l'ADN simple brin, aidé par d'autres complexes protéiques, va diriger la réparation de la cassure double-brin sur le chromosome homologue. Une proportion des cassures double-brin, probablement variable selon les espèces, est aussi réparée en utilisant la chromatide sœur comme matrice. Par la suite, plusieurs mécanismes de réparation coexistent, chacun sous des contrôles génétiques différents et qui vont conduire à la formation soit de CO, soit de NCO.

## Les types d'événements de recombinaison méiotique

### Les crossovers

#### Méthodes de détection

Les crossovers peuvent être détectés cytologiquement, génétiquement ou par des méthodes de biologie moléculaire. En cytologie, ils apparaissent sous forme de chiasmas qui sont visualisables en microscopie optique, sur des préparations de chromosomes de méiocytes (cellules qui vont effectuer une division méiotique) au stade diacynèse ou métaphase I colorées au 4',6'-diamidine-2-phenylindole dihydrochloride (DAPI) (figure 3.5, planche V). La technique de DAPI permet de compter grossièrement le nombre de CO par bras de chromosome mais elle est incapable d'individualiser les CO proches ou de préciser leur localisation fine. Il est également possible d'utiliser des anticorps dirigés contre des protéines qui se fixent sur les chiasmas et d'observer le marquage en immunocytochimie (figure 3.5). MLH1 est la protéine utilisée dans de nombreuses espèces car elle reconnaît la grande majorité des crossovers, à savoir ceux qui sont sensibles à l'interférence (voir p. 63). L'observation des foyers marqués par MLH1 permet de connaître la dynamique de formation des CO interférents ainsi que leur nombre et leur espacement, mais elle ne donne pas leur localisation fine. Il n'existe pas de marquage permettant d'observer les crossovers dits « non interférents ». Les chiasmas peuvent également être observés indirectement en microscopie électronique grâce à la visualisation des nodules de recombinaison dits « tardifs » (voir p. 60) (figure 3.5). Les nodules de recombinaison permettent de comptabiliser de manière fiable le nombre de crossovers par paire de chromosomes homologues ainsi que leur espacement le long du complexe synaptonémal (figure 3.5) mais là encore, leur localisation fine est impossible. Toutes les techniques de cytologie ne peuvent être appliquées que sur un nombre limité de méiocytes.

reparent sur le croisement entre deux individus d'une même espèce qui diffèrent par certains marqueurs moléculaires le long des chromosomes. Les réassociations de ces marqueurs au cours de la méiose, analysées par des techniques de génotypage à haut débit dans la descendance de ces hybrides, permettent de localiser l'emplacement des crossovers. La puissance des cartes génétiques dépend donc du nombre d'individus génotypés et leur précision, de l'espacement physique entre les marqueurs moléculaires (Mézard *et al.*, 2007). Enfin, il existe une méthode moléculaire appelée *Sperm* ou *Pollen typing* particulièrement adaptée à la localisation et à la quantification précise des CO à un locus du génome : cette méthode est basée sur des séries d'amplification par réaction en chaîne par la polymérase (*Polymerase Chain Reaction*, PCR) de produits recombinants dans l'ADN extrait de gamètes d'un individu hybride. Elle permet quant à elle la localisation et la quantification précises des CO à un locus du génome (Cole et Jasin, 2011 ; Drouaud et Mézard, 2011).

### Taux et localisation des crossovers

Le nombre de CO produits lors de la méiose est parfaitement contrôlé. Chez la majorité des espèces, il y a au moins un CO par paire de chromosomes homologues (Popa, 2011). Ce nombre est légèrement variable entre individus d'une même espèce ou entre différentes méioses d'un même individu (de 7 à 10 chez *Arabidopsis thaliana* pour 5 paires de chromosomes, de 32 à 63 chez l'homme pour 22 paires de chromosomes), mais reste autour d'une moyenne spécifique de l'espèce étudiée (Sanchez-Moran *et al.*, 2002 ; Codina-Pascual *et al.*, 2006). Cet « optimum » est contrôlé par une série de processus génétiques, dont fait partie l'interférence. L'interférence a été décrite en 1915 par Sturtevant : il a observé que lorsqu'il détectait un CO dans un intervalle génétique, la probabilité d'en détecter un autre dans un intervalle adjacent était diminuée (Sturtevant, 1915). La conséquence de l'interférence est que les CO sont plus régulièrement espacés que s'ils étaient distribués au hasard (Mezard *et al.*, 2007). Le mécanisme de l'interférence est très mal compris mais une série de protéines, appelées « ZMM » (pour Zip1/Zip2/Zip3/Zip4, Mer3 et Msh4/Msh5) interviennent dans ce dispositif ; l'absence d'une de ces protéines diminue drastiquement le nombre de CO. À l'opposé, la protéine FANCM limite le nombre de CO par chromosome sans que l'on ne comprenne pour le moment la raison de cette limite supérieure (Crismani *et al.*, 2012). La distribution des CO le long des chromosomes n'est pas aléatoire, et ce chez toutes les espèces étudiées. Il existe des régions à forte fréquence de CO et des régions à faible fréquence. Les centromères sont dépourvus de CO. Les raisons de cette non-homogénéité sont encore mal connues, mais la structure de la chromatine pourrait jouer un rôle dans l'accessibilité aux facteurs initiant la recombinaison.

### Les non-crossovers

#### Méthodes de détection

Le nombre de NCO peut grossièrement être estimé par immunocytochimie en utilisant des anticorps qui reconnaissent les protéines qui se fixent sur les lésions initiatrices de la recombinaison (RAD51, DMC1) ou en microscopie électronique en dénombant les nodules précoces de recombinaison (voir p. 59). Cependant, ces

pour les cartes génétiques ne permettent pas de détecter ou de localiser des NCO. Jusqu'à il y a une dizaine d'années, les NCO ne pouvaient être observés que s'ils induisaient un changement de phénotype (c'est par exemple le cas de NCO induisant une mutation ou une modification d'expression d'un gène). En conséquence, un nombre très limité de loci était étudiable, la majorité des NCO étant soit située en dehors des gènes ou ne modifiant pas de manière visible l'expression ou la séquence d'une protéine. Depuis quelques années, les techniques de PCR allèle-spécifiques permettent d'étudier les taux, les longueurs et les localisations fines des NCO à tous les points chauds de recombinaison (Cole et Jasin, 2011). Enfin, les nouvelles techniques de séquençage, qui permettent de séquencer rapidement des génomes entiers, ont permis de mieux comprendre la localisation, les taux et les caractéristiques des NCO le long des génomes de levures *S. cerevisiae* et *S. pombe* (Mancera et al., 2008 ; Pryce et McFarlane, 2009).

### Taux et localisation des non-crossovers

La difficulté de détection des NCO a limité leur caractérisation. Seuls quelques loci ont été décrits chez les eucaryotes multicellulaires comme certains champignons filamenteux, la souris, l'homme ou le maïs. En revanche, des données sur l'ensemble du génome sont disponibles chez les levures *S. cerevisiae* et *S. pombe*. Chez *S. cerevisiae*, les nombres de CO et NCO par méiose sont comparables. Chez les mammifères et les plantes, le nombre de NCO pourrait être très supérieur au nombre de CO. En effet, les études cytologiques montrent qu'il pourrait y avoir 10 à 40 fois plus de cassures double-brins de l'ADN que de CO. Si tout ou partie de ces cassures sont réparées en NCO, leur nombre excéderait largement celui des CO. Cependant, cette hypothèse reste à confirmer.

La longueur moyenne des NCO apparaît très courte chez les mammifères (quelques centaines de paires de bases) alors qu'elle est plus longue chez les champignons (quelques kilobases) (Baudat et de Massy, 2007).

### Les points chauds de recombinaison

Ce sont de petites régions de quelques kilobases dans lesquelles se regroupent les événements de recombinaison CO et NCO. Elles reflètent la répartition des CO et NCO autour des cassures double brin (CDB) initiatrices de la recombinaison. Les points chauds de recombinaison ont été identifiés aussi bien chez les levures *S. cerevisiae* et *S. pombe* que chez les mammifères (souris, homme), ou les plantes (maïs, *Arabidopsis thaliana*). Chez *S. cerevisiae*, la souris et l'homme, ces régions correspondent à des structures de chromatine particulières, un cluster d'histones H3 tri-méthylées sur la lysine 4. Chez la souris et l'homme, cette marque est déposée par un mécanisme très particulier. La protéine PRDM9 possède à la fois un domaine SET responsable de la méthylation des histones et un domaine contenant une série de doigts de zinc (Grey et al., 2011). Grâce à ce domaine, PRDM9 reconnaît une séquence spécifique au niveau des points chauds et permettrait d'indiquer, par un mécanisme encore inconnu, les cibles potentielles à la machinerie de recombinaison pour initier la recombinaison méiotique. Chez la souris et l'homme, ce domaine en

spécificité de fixation à l'ADN. PRDM9 a donc des allèles multiples qui confèrent des profils de recombinaison potentiellement différents d'un individu à l'autre (Grey et al., 2011). Cette variabilité explique également la non-conservation des loci de points chauds entre l'homme et le chimpanzé, car les doigts de zinc de PRDM9 de chimpanzé reconnaissent des séquences très différentes de celles reconnues chez l'homme.

Ce mécanisme n'est cependant pas universel. Chez *S. cerevisiae*, l'histone méthyl-transférase SET1 qui fait la marque sur l'histone H3 n'a pas de domaine de reconnaissance d'une séquence spécifique sur l'ADN ; PRDM9 est un pseudogène chez les canidés ; aucun homologue de PRDM9 n'a été identifié chez les plantes. Le mécanisme permettant de localiser les cassures double-brin reste donc à identifier dans ces espèces.

### Les exceptions

Malgré la très grande conservation du processus méiotique lors de la reproduction sexuée, certaines espèces ont développé des mécanismes spécifiques à certaines étapes de la méiose. Ainsi la drosophile mâle et le lépidoptère *Bombyx mori* femelle appartiennent aux chromosomes homologues sans faire de CO. De même chez *Caenorhabditis elegans*, les chromosomes homologues peuvent s'apparier en absence de CO : des régions hétérochromatiniennes spécifiques à chaque paire de chromosomes sont reconnues par des protéines propres à chaque région répétée. *S. pombe*, *Aspergillus nidulans*, *Ustilago maydis* ou la drosophile mâle ne forment pas de complexe synaptonémal. L'interférence entre CO n'est observée ni chez *S. pombe*, ni chez *Aspergillus nidulans*. Chez *S. pombe*, le très grand nombre de CO observés par méiose suffirait à assurer un CO obligatoire par bivalent. Beaucoup d'autres cas particuliers ont été ou seront décrits en multipliant les modèles d'études, laissant supposer que nombreux sont les moyens possibles pour ségréger correctement les chromosomes homologues paternels et maternels en première division de méiose.

### ► Références bibliographiques

- Anderson L.K., Stack S.M., 2005. Recombination nodules in plants. *Cytogenet. Genome Res.*, 109, 198-204.
- Baudat F., de Massy B., 2007. Regulating double-stranded DNA break repair towards crossover or non-crossover during mammalian meiosis. *Chromosome Res.*, 15, 565-577.
- Codina-Pascual M., Campillo M., Kraus J., Speicher M.R., Egozcue J., Navarro J., Benet J., 2006. Crossover frequency and synaptonemal complex length: their variability and effects on human male meiosis. *Mol. Hum. Reprod.*, 12, 123-133.
- Cole F., Jasin M., 2011. Isolation of meiotic recombinants from mouse sperm. *Methods Mol. Biol.*, 745, 251-282.
- Crismani W., Girard C., Froger N., Pradillo M., Santos J.L., Chelysheva L., Copenhaver G.P., Horlow C., Mercier R., 2012. FANCM limits meiotic crossovers. *Science*, 336, 1588-1590.
- Drouaud J., Mezard C., 2011. Characterization of meiotic crossovers in pollen from *Arabidopsis thaliana*. *Methods Mol. Biol.*, 745, 223-249.

Harper L., Golubovskaya I., Cande W.Z., 2004. A bouquet of chromosomes. *J. Cell. Sci.*, 117, 4025-4032.

Harrison C.J., Alvey E., Henderson I.R., 2010. Meiosis in flowering plants and other green organisms. *J. Exp. Bot.*, 61, 2863-2875.

Hassold T., Hall H., Hunt P., 2007. The origin of human aneuploidy: where we have been, where we are going. *Hum. Mol. Genet.*, 16, R203-208.

Keeney S., 2008. *Spo11 and the Formation of DNA Double-Strand Breaks in Meiosis*. Recombination and Meiosis - Crossing-Over and Disjunction, pp. 81-123.

Kleckner N., 2006. Chiasma formation: chromatin/axis interplay and the role(s) of the synaptonemal complex. *Chromosoma*, 115, 175-194.

Lichten M., de Massy B., 2011. The impressionistic landscape of meiotic recombination. *Cell*, 147, 267-270.

Mancera E., Bourgon R., Brozzi A., Huber W., Steinmetz L.M., 2008. High-resolution mapping of meiotic crossovers and non-crossovers in yeast. *Nature*, 454, 479-485.

Mezard C., Vignard J., Drouaud J., Mercier R., 2007. The road to crossovers: plants have their say. *Trends Genet.*, 23, 91-99.

Page S.L., Hawley R.S., 2004. The genetics and molecular biology of the synaptonemal complex. *Annu. Rev. Cell. Dev. Biol.*, 20, 525-558.

Popa A., 2011. The evolution of recombination and genomic structure: a modeling approach. Université Claude Bernard, Lyon I, 24 mai 2011, 197 pages.

Pryce D.W., McFarlane R.J., 2009. The meiotic recombination hotspots of Schizosaccharomyces pombe. *Genome Dyn.*, 5, 1-13.

Sanchez-Moran E., Armstrong S.J., Santos J.L., Franklin F.C., Jones G.H., 2002. Variation in chiasma frequency among eight accessions of *Arabidopsis thaliana*. *Genetics*, 162, 1415-1422.

Schurko A.M., Neiman M., Logsdon J.M. Jr., 2009. Signs of sex: what we know and how we know it. *Trends Ecol. Evol.*, 24, 208-217.

Sturtevant A.H., 1915. The behavior of the chromosomes as studied through linkage. *Mol. Genet. Genomics*, 13, 234-287.

Zickler D., Kleckner N., 1998. The leptotene-zygotene transition of meiosis. *Annu. Rev. Genet.*, 32, 619-697.

## Chapitre 4

# Maturation de l'ovocyte

Pascal MERMILLOD

Les gamètes sont des cellules hautement spécialisées subissant une importante différenciation les préparant à former la première cellule souche d'un nouvel être. Ainsi le gamète femelle, l'ovocyte, devra être porteur de la moitié du capital génétique maternel et être capable de fusionner avec un seul spermatozoïde, de préparer et réunir les matériels génétiques mâle et femelle, et d'assurer les premières divisions de segmentation du jeune embryon. Pour devenir apte à remplir ces fonctions, l'ovocyte doit subir une longue évolution morphologique et moléculaire durant toute la croissance du follicule ovarien (Rienzi *et al.*, 2012).

L'ovocyte est une cellule totalement originale pour plusieurs raisons :

- c'est la plus grosse cellule de l'organisme. Avec un diamètre d'environ 120 µm, l'ovocyte contient de nombreux organites et d'importantes réserves moléculaires ;

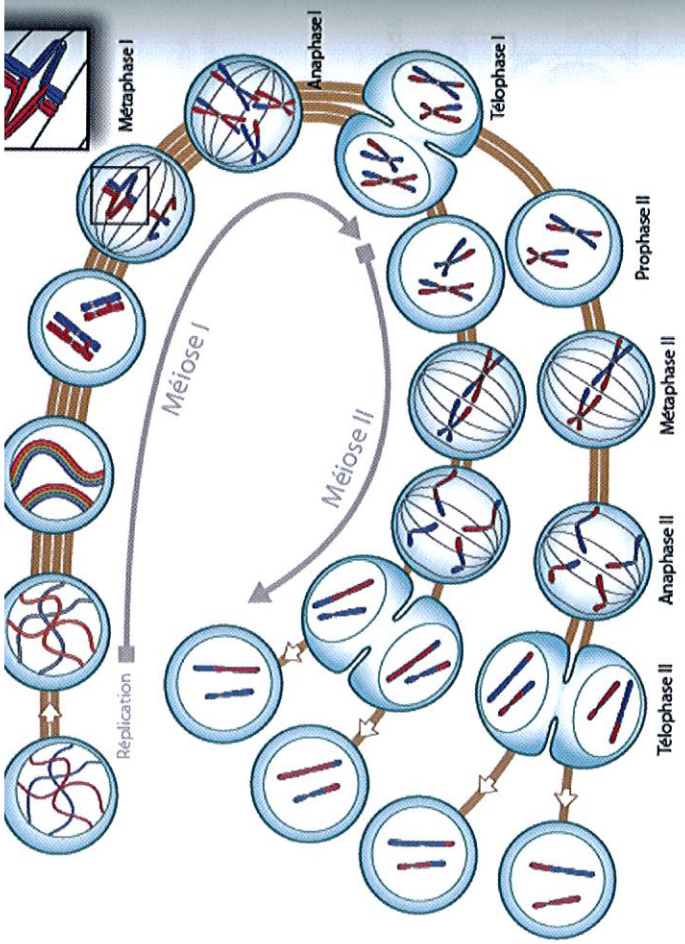
- le cycle cellulaire de l'ovocyte est ponctué de pauses (Sen et Caiazza, 2013). Pendant la vie fœtale, il se bloque en fin de prophase méiotique, souvent pendant des années, avec un noyau de type somatique, la vésicule germinative (VG). L'ovocyte ne reprend sa méiose que si le follicule qui le contient atteint le stade pré-ovulatoire et reçoit une décharge gonadotrope ovulante (LH). Il poursuit alors jusqu'au stade de métaphase de 2<sup>e</sup> division méiotique où il se bloque à nouveau en attente d'activation par le spermatozoïde ou lors d'activation parthénogénétique (entrée en développement d'un ovocyte non fécondé). La méiose chez la femelle est donc différente de la méiose chez le mâle et elle constitue un modèle de référence pour l'étude de la régulation du cycle cellulaire ;

- tout en étant hautement différencié, l'ovocyte possède tout le logiciel moléculaire d'une cellule souche totipotente et constitue donc une référence pour l'étude des relations nucléo-cytoplasmiques, et plus particulièrement de la reprogrammation du noyau par le cytoplasme dans le cas du clonage par transfert nucléaire ;

- l'ovocyte est capable de reprendre spontanément sa méiose s'il est libéré de l'environnement folliculaire, ce qui permet sa maturation *in vitro*. Cette capacité a ouvert la voie à de nombreux travaux sur la production d'embryons *in vitro*, le clonage et la transgénèse (chapitre 30).

La croissance et la différenciation de l'ovocyte sont entièrement dépendantes des cellules folliculaires. L'ovocyte est entouré d'une couche de cellules périoocytaires, la *corona radiata*, faisant partie d'un massif cellulaire, le *cumulus oophorus* (figure 4.1, planche VIII), qui se rattache à l'assise bordant l'intérieur du follicule, la granulosale murale. Ces types cellulaires sont reliés par des complexes de jonction incluant des jonctions perméables (*gap junctions*) et sont baignés par le fluide folliculaire dès le stade antral.





**Figure 3.1.** Étapes de la méiose.

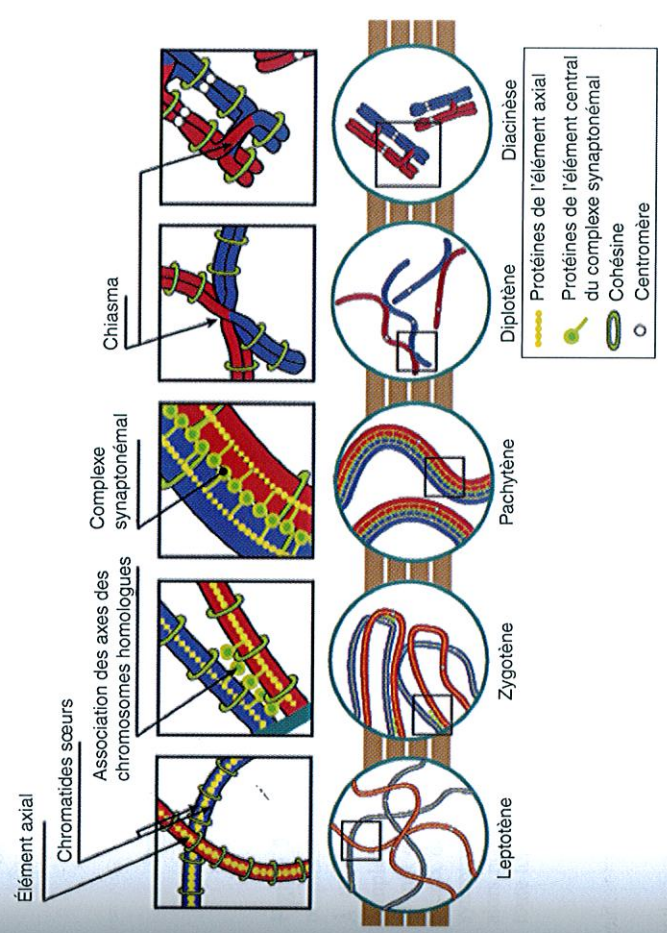
Le cas théorique d'une espèce à  $2n$  chromosomes égal 4 est représenté. Les lots de chromosomes maternels sont représentés en rouge et paternels en bleu.

Au cours de la méiose, une unique étape de réplication précède deux étapes de ségrégation chromosomique (Méiose I et Méiose II). Lors de la première division méiotique, les chromosomes homologues paternels et maternels s'associent en structures appelées bivalents (zoom). Chaque bivalent est composé d'une paire de chromosomes homologues et donc de quatre chromatides (2 rouges, 2 bleues).

Le positionnement des bivalents les uns par rapport aux autres permet un brassage inter chromosomique avec réassortiment aléatoire des chromosomes parentaux. Dans l'exemple choisi, la première anaphase génère deux cellules ayant ré-associé leurs chromosomes parentaux (combinaison de chromosomes rouge/bleu dans chacune des deux cellules filles). Deux cellules filles de type parental auraient pu être générées de façon équiprobable (chaque cellule fille ne comportant que des chromosomes rouges ou que des chromosomes bleus).

Dans un bivalent, l'association entre chromosomes homologues est obtenue grâce à la formation de crossovers entre deux chromatides homologues, permettant l'échange d'ADN entre molécules rouges et bleues et donc l'apparition de nouvelles combinaisons d'allèles (recombinaison intrachromosomique).

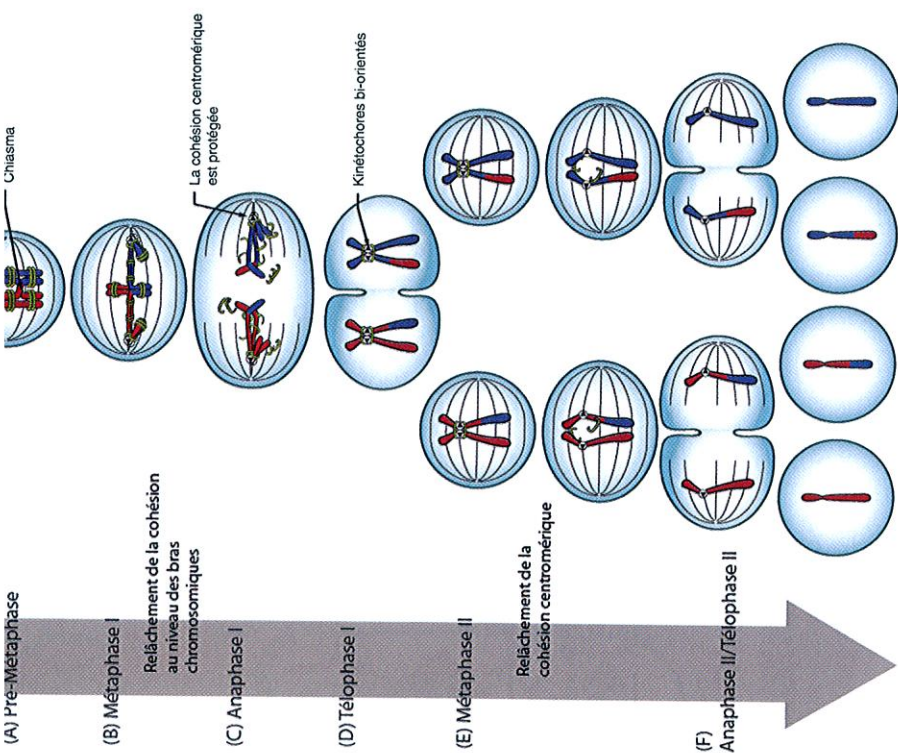
La première division de méiose sépare les chromosomes homologues (division dite réductionnelle, cellules filles haploïdes  $1n$ ,  $2C$ ) alors que la seconde division sépare les chromatides sœurs et s'apparente à une mitose (division équationnelle,  $1n$ ,  $1C$ ).  $n$  : nombre haploïde de chromosomes ;  $C$  : nombre de chromatides.



**Figure 3.2.** Différentes étapes de la prophase I de méiose.

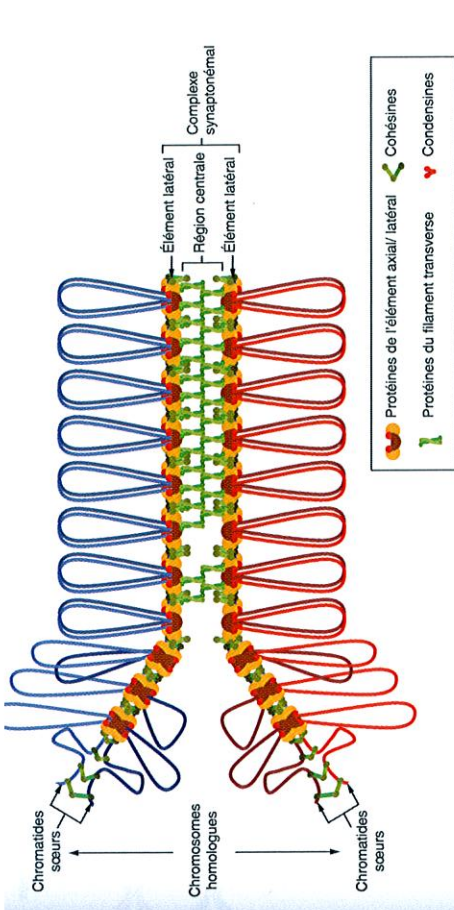
En leptotène, les deux chromatides sœurs de chaque chromosome sont maintenues associées par les complexes cohésines et organisées autour d'un axe protéique commun, l'élément axial. En zygotène, les éléments axiaux de chaque homologue s'apparient et la polymérisation de la région centrale du complexe synaptonémal s'initie. En pachytène, les homologues sont synapsés sur toute leur longueur par l'intermédiaire du complexe synaptonémal. Celui-ci est dépolymérisé en diplotène, les chiasmata (manifestation cytotologique des crossovers qui sont également le dernier lien physique entre les paires de chromosomes homologues) deviennent apparents en diacynèse, quand la condensation des chromosomes a progressé.





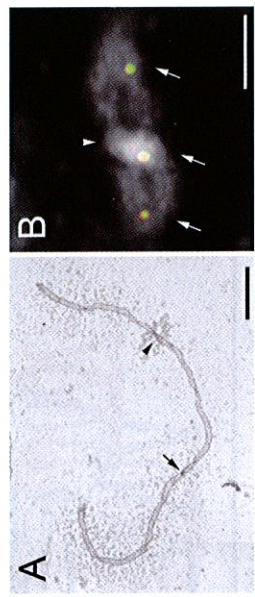
**Figure 3.3.** Dynamique de l'orientation des kinétochores et de la cohésion au cours de la méiose.

En première division, les kinétochores des chromatides sœurs sont mono-orientés, permettant un attachement monopolaire (vers un seul pôle) de chaque chromosome (A). Les bivalents ne sont stabilisés sur la plaque métaphasique que lorsque leur attachement sur le fuseau de microtubules devient bipolaire (chaque chromosome attaché à un pôle différent du fuseau) (B). A ce stade (Métaphase I), les cohésines maintiennent attachées les chromatides sœurs entre elles sur toute leur longueur, empêchant ainsi leur migration vers les pôles. L'anaphase I (C) peut débuter quand la cohésion au niveau des bras des chromosomes est abolie, permettant au fuseau de microtubules d'exercer la traction sur les kinétochores donc la migration de chaque chromosome d'un bivalent vers un des pôles de la cellule. La cohésion centromérique, elle, est maintenue, permettant aux deux chromatides sœurs de chaque chromosome de rester associées à l'issue de la première division méiotique (D). En deuxième division, les kinétochores des chromatides sœurs sont désormais bi-orientés, permettant un attachement bipolaire de chaque chromosome sur le fuseau de deuxième division (Métaphase II, E). L'anaphase II a lieu quand la cohésion centromérique retenant chaque chromatide à sa sœur est retirée, permettant la séparation équilibrée des chromatides sœurs (F).



**Figure 3.4.** Évolution de la structure des chromosomes au cours des stades précoces de la prophase I de méiose.

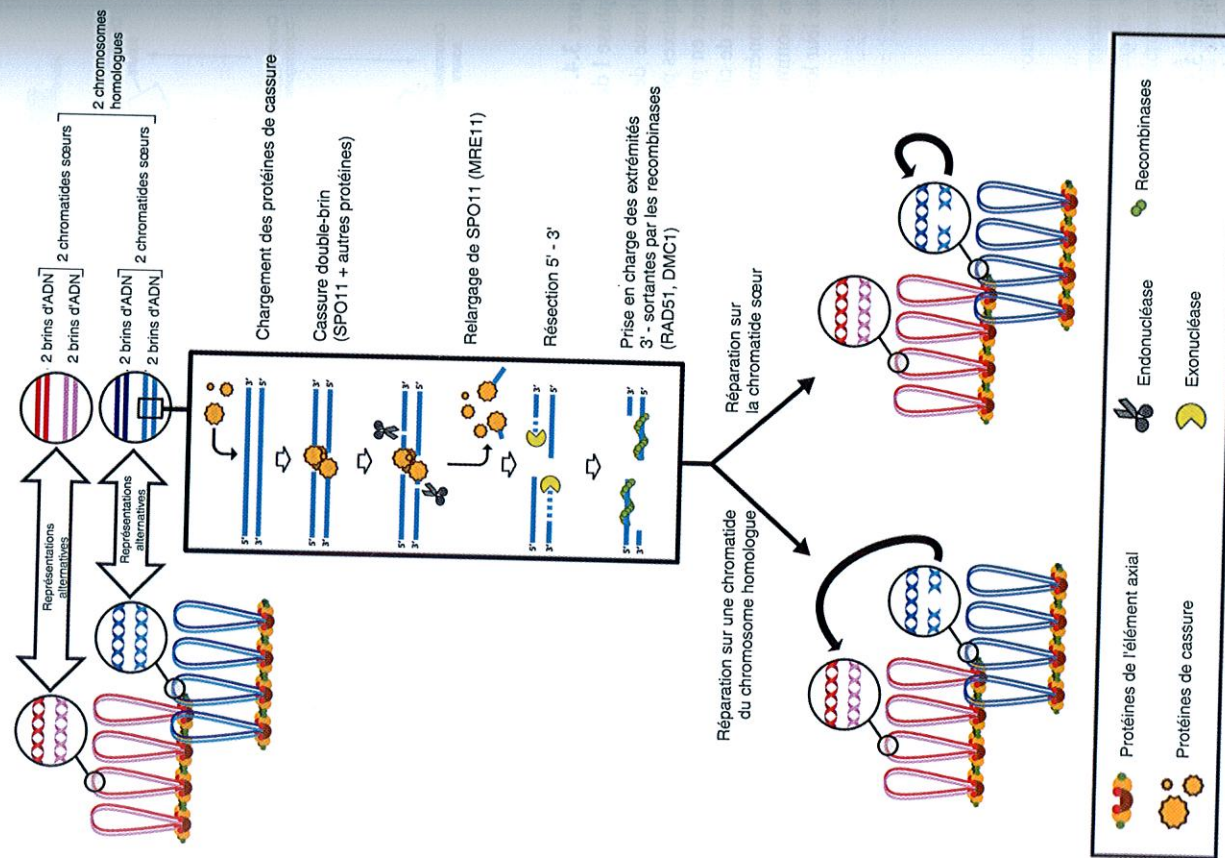
À l'issue de la réplication, chaque chromatide est associée à sa sœur par l'intermédiaire de complexes protéiques (les cohésines). En leptotène, la condensation des chromosomes débute. Elle se met en place autour d'un axe protéique commun, l'élément axial. En zygotène, les éléments axiaux de chaque chromosome s'apparient et la polymérisation de la région centrale du complexe synaptonémal s'initie grâce à la polymérisation du filament transverse. Les éléments axiaux sont alors nommés éléments latéraux. En pachytène, les chromosomes homologues sont synapsés sur toute leur longueur.



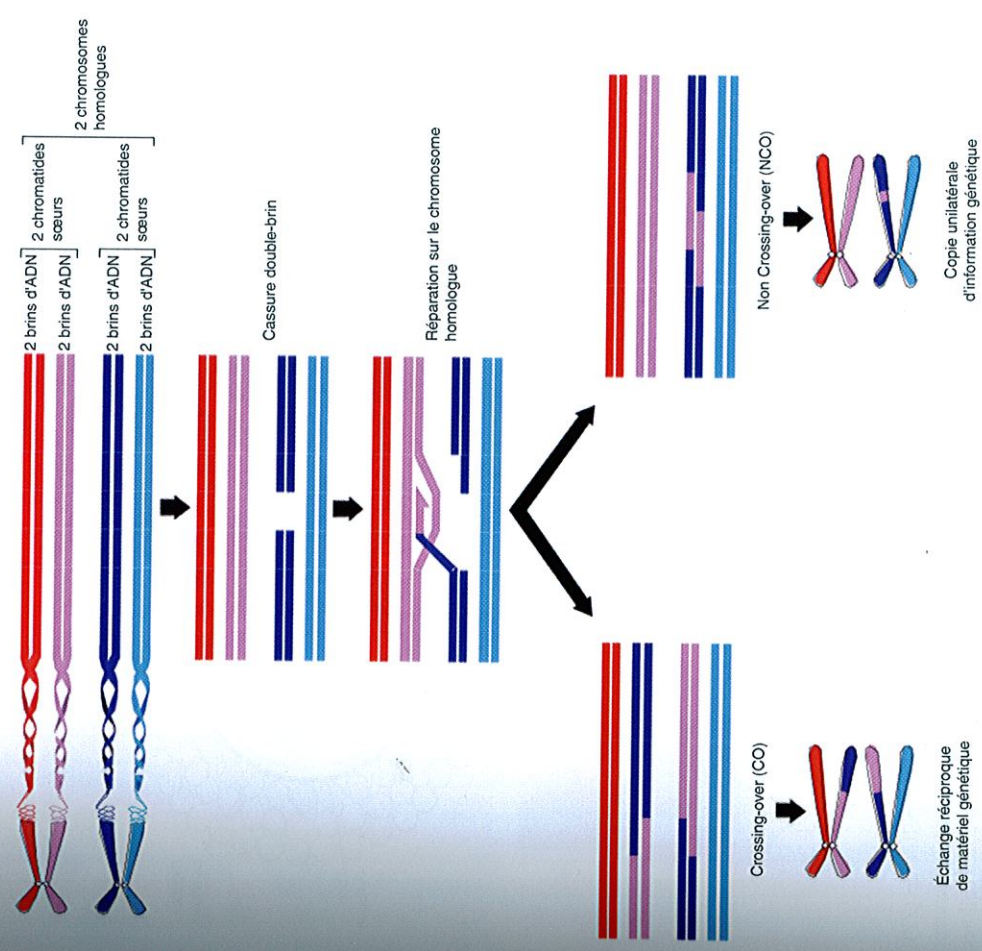
**Figure 3.5.** Visualisation cytologique des crossovers.

A. Nodule tardif de recombinaison chez *Solanum lycopersicum* (tomate) : au stade pachytène, la microscopie électronique permet de révéler des structures ovoïdes denses aux électrons (flèche) correspondant aux nodules tardifs de recombinaison. Ils sont localisés entre les axes protéiques des chromosomes homologues, alignés sur toute leur longueur à ce stade. Par cette technique, les kinétochores peuvent être identifiés (tête de flèche). Barre d'échelle : 2 µm. © L. Anderson, Colorado State University. B. Nodules tardifs de recombinaison chez *Arabidopsis thaliana* : immunodétection de deux protéines, HEI10 (rouge) et MLH1 (vert), sur un bivalent au stade diacinèse. Les deux chromosomes du bivalent sont révélés par un marquage au DAPI. Les régions intensément marquées par le DAPI correspondent à l'hétérochromatine centromérique (tête de flèche). Trois chiasmats sont révélés par ce type de marquage (flèche). Barre d'échelle : 2,5 µm. © L. Chelysheva, IPB, Inra Versailles.





**Figure 3.6.** Représentation schématique des étapes précoces de la recombinaison méiotique. La recombinaison est initiée par la formation programmée de cassures double-brin de l'ADN sur une des quatre chromatides. Les cassures double-brin sont notamment générées par la protéine SPO11 qui a une activité de type topoisomérase et reste liée de façon covalente aux extrémités 5' ainsi formées. Le reliaison de SPO11 est provoqué par endonucléation asymétrique des brins autour du site de cassure. Les extrémités 5' de la cassure sont ensuite réséquées et les extrémités 3'-sortantes ainsi générées vont être prises en charge par les recombinases RAD51 et DMC1 pour envahir une matrice d'ADN intacte (chromatide sœur ou l'une des deux chromatides du chromosome homologue) qui sera utilisée comme matrice de réparation.



**Figure 3.7.** Formation des crossovers (CO) et des non-crossovers (NCO).

La recombinaison est initiée par la formation programmée de cassures double-brin de l'ADN sur une des quatre chromatides. La cassure double-brin est réparée en utilisant le chromosome homologue intact comme matrice. Le CO est une réparation induisant un échange réciproque d'information entre les deux chromosomes homologues de part et d'autre de la cassure double-brin. Le NCO est un échange non réciproque d'information entre chromosomes homologues. La région de la cassure double-brin est réparée en utilisant la région allélique du chromosome homologue.