

# Le noyau

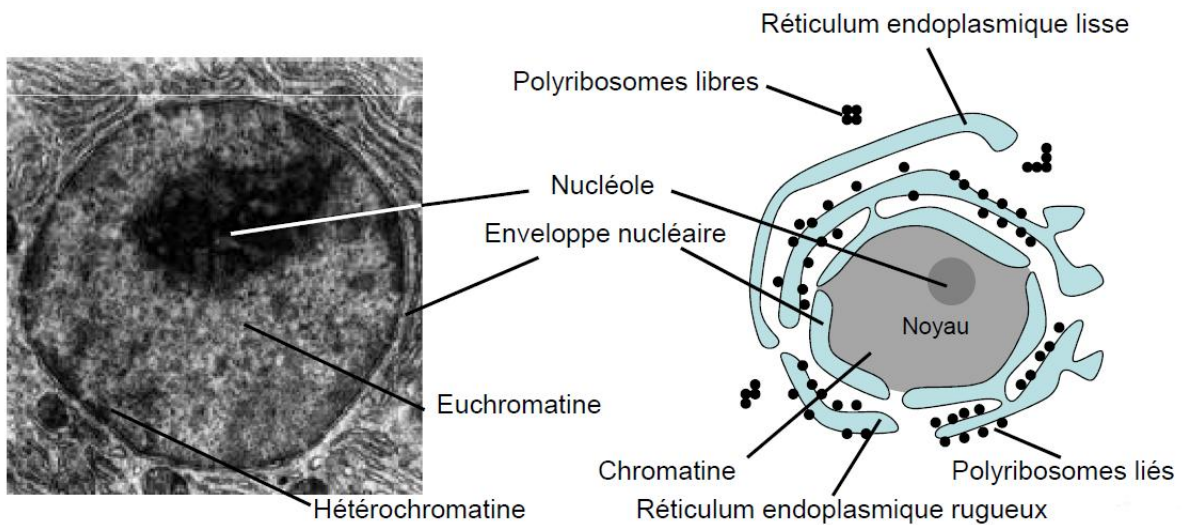
## Définition

Il est présent chez tous les **organismes eucaryotes**

Limité par l'**enveloppe nucléaire** qui est constituée de deux membranes

Contient presque la totalité de l'information génétique : le **génome nucléaire**

On emploie le terme de **nucléoplasme** pour désigner l'ensemble des éléments contenu dans le noyau (différent du cytoplasme, cellule = cytoplasme + nucléoplasme)



## Caractères généraux

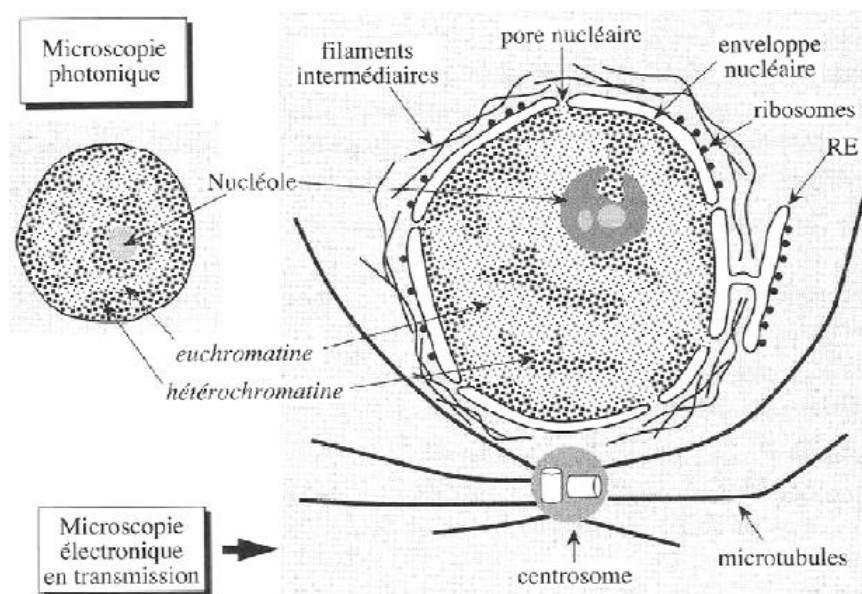
### Mise en évidence

Sur cellules vivantes : **fluorescence DAPI** (coloration de l'ADN)

Sur cellules fixées : colorants basiques comme l'**hématoxiline** (interaction avec les groupements phosphates de l'ADN qui donne deux aspects différents)

- **Chromatine** (hétérochromatine + euchromatine)

**Réaction de Feulgen** : hydrolyse acide de l'ADN puis ajout du réactif de Schiff



### Nombre

Normalement, **1 par cellule** dans les cellules animales

Certaines cellules en ont plus : syncytium (fusion de cellules, ex : cellule musculaire)

Certaines cellules animales n'ont pas de noyau :

- **GR** des vertébrés supérieurs (perte du noyau des érythroblastes)
- **Kératinocytes superficiels** (juste avant la formation du squame)
- **Plaquettes sanguines** (issues de la fragmentation cytoplasme des mégacaryocytes)

### Localisation

**Position centrale** en générale : en relation avec le centrosome

Autres positions :

- **Refoulé à la base** (ex : cellule exocrine)
- **En périphérie** (ex : fibre musculaire)

## Formes variables

5 à 6 µm de diamètre

Morphologie caractéristiques :

- **Arrondi** : neurones, hépatocytes, ...
- **Ovoïde** : cellules musculaires, fibroblastes, ...
- **Polylobé** : polynucléaires

## Volume

6% en moyenne du volume cellulaire

Dépend de l'activité selon le type cellulaire

### Rapport nucléo-protoplasmique

$$\frac{N}{P} = \frac{\text{volume noyau}}{\text{volume total de la cellule}}$$

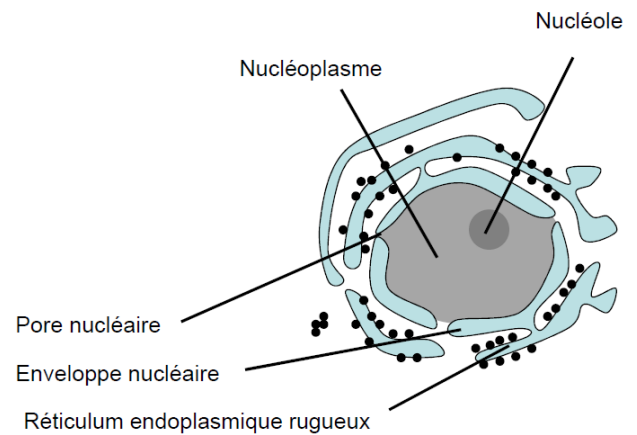
Ce rapport augmente dans le cas de **cellules cancéreuses** ou de **cellules en division** et il est plus faible dans les **cellules différenciées**

## L'enveloppe nucléaire

Elle est composée de **deux membranes concentriques** séparées par un espace périnucléaire  
Elle est « percée » par des pores nucléaires  
Elle délimite le **nucléoplasme**

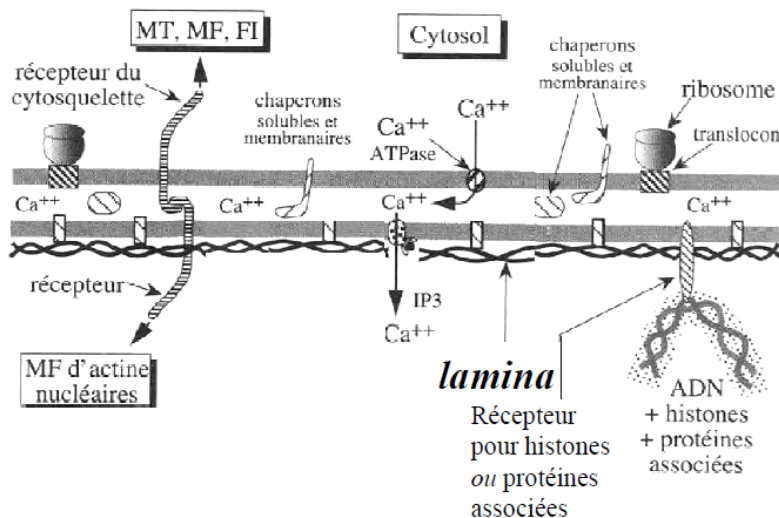
### Espace périnucléaire

Il est en **continuité** avec la lumière du RER  
Lieu de stockage de  $\text{Ca}^{++}$



### Membrane externe

Région spécialisée de la membrane du **RER** : **continuité membranaire**  
Composition chimique semblable à celle de la membrane du RER  
Différence : des protéines transmembranaires **interagissent avec le cytosquelette** (surtout MT et FI, mais aussi avec des MF) pour le placement du noyau  
Des **pompes calciques** ATPase (stockage du calcium qui sert pour la régulation de certaines fonctions nucléaires)



### Membrane interne

La membrane interne est **spécifique du noyau**  
On a des **canaux calciques**

On retrouve différentes protéines transmembranaires qui interagissent avec :

- Des **MF actine** présents dans le nucléoplasme (continuité nucléosquelette / cytosquelette)
- Les **histones** + protéines associées
- Les **lamines**

Formation de la **lamina nucléaire** (ensemble de lamine et de protéine) essentiel dans la régulation de l'expression des gènes

## Pores nucléaires

### Structure

Diamètre de 120 nm et d'une hauteur de 50 nm

**Complexe protéique** : protéines en interaction faibles mais très forte cohésion (il est donc facile d'isoler des pores nucléaires)

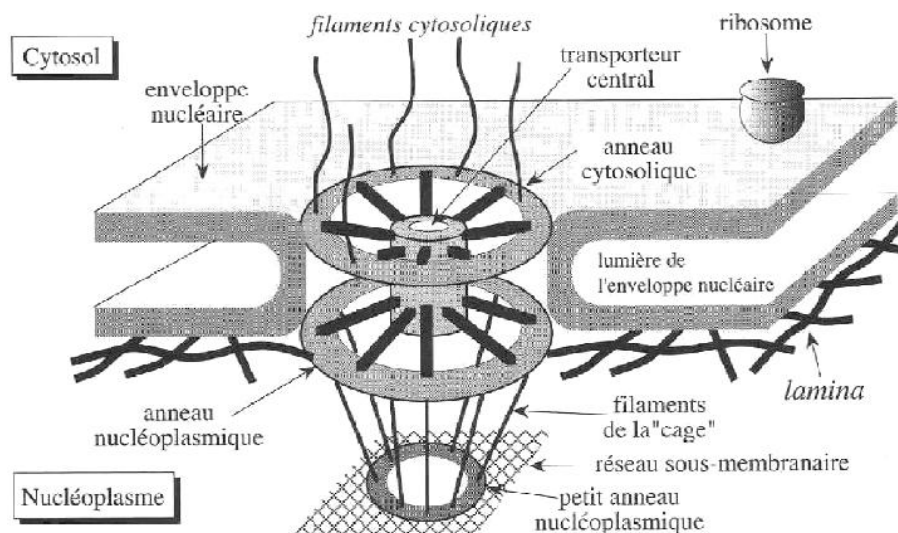
**Deux axes de symétrie** :

- Plan de symétrie
- Symétrie radiale d'ordre 8

### Éléments structuraux

- **Deux anneaux centraux** : cytosolique et nucléoplasmique
- **Un anneau nucléoplasmique** (déporté, plus petit) maintenu par des filaments nucléoplasmiques (de la « cage ») : interaction avec la chromatine
- **Le transporteur central**
- **Huit bras radiaires** (x 2 = 16 en tout) : permettent de maintenir le transporteur central au centre des anneaux
- **16 filaments** (8 filaments cytosoliques + 8 filaments de cage)

Le pore nucléaire occupe un volume important

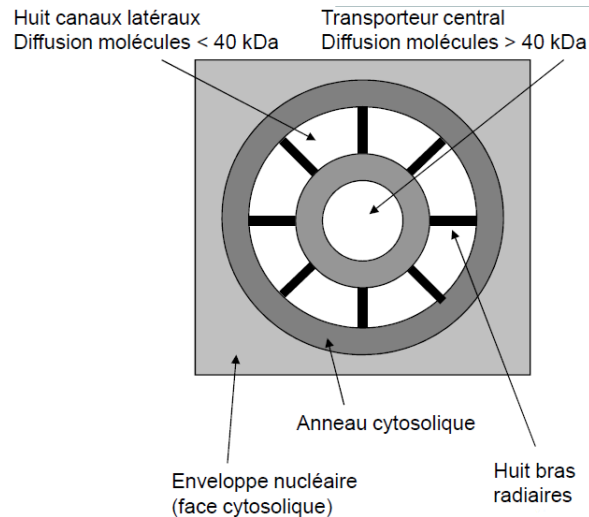


*Une partie des filaments cytosoliques n'a pas été dessinée. Le nucléosquelette n'a pas été dessiné à l'exception de la lamina.*

## Fonction de diffusion

**Canaux latéraux** : diffusion facilitée (PM < 40 kDa)

**Transporteur central** : pore ajustable de 9 à 25 nm, transport de grosses molécules (PM > 40 kDa)



## Composition en protéines

Une unité d'organisation x 8

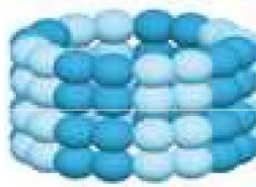
**Nucléoporines** (Nup = protéines qui composent le pore nucléaire) : environ 30 connues soit 450 protéines en tout

Origine des protéines Nup

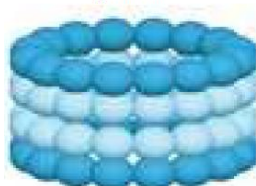
- **RE** : protéines transmembranaires **N-glycosylées**  
Ancrage pores enveloppe nucléaire
- **Cytosol** : autoassemblage des protéines solubles  
Certaines sont **O-glycosylées** par des O-glycosyltransferases cytosoliques

Ces glycosylations permettent de rendre les protéines du pore nucléaire plus hydrophiles

Symétrie d'ordre 8



Plan de symétrie



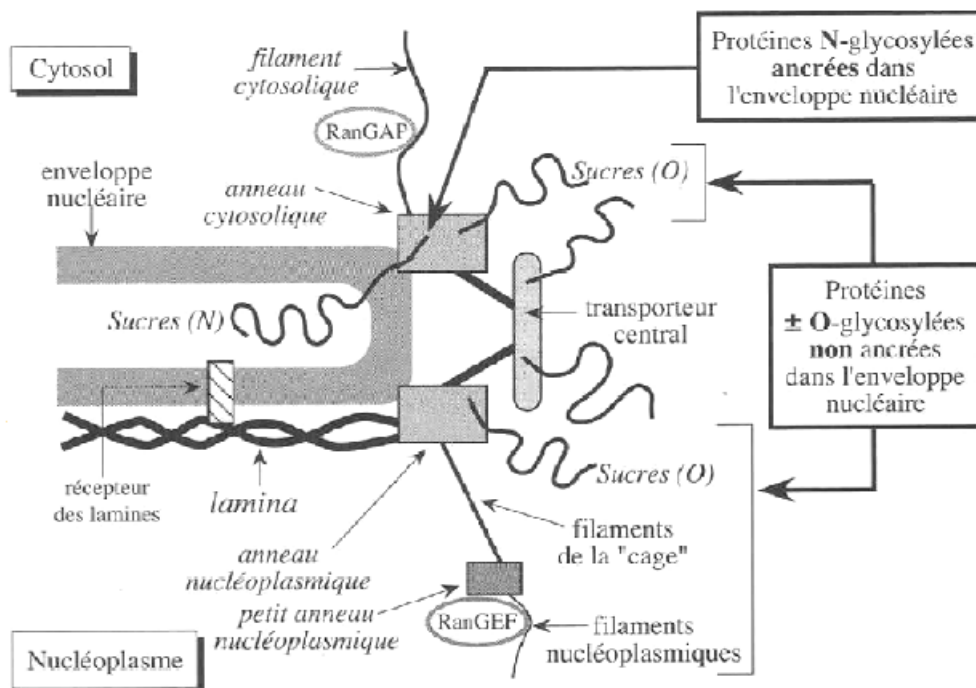
## Fonction des Nup

30% des Nup (protéines solubles) ont des séquences répétées : **type FG**

Certaines Nup sont liées à l'ADN / chromosomes

Familles de protéines en périphérie

- **Importines** et **exportines** : complexes de transports des protéines > 40 kDa
- Protéines G monomérique **Ran** associées à GAP et GEF
  - o **RanGAP** (cytosolique) : **hydrolyse** de GTP en GDP
  - o **RanGEF** (nucléoplasmique) : **échange** de GDP en GTP



*Une seule moitié du pore a été dessinée pour simplification. Le nucléosquelette n'a pas été dessiné à l'exception de la lamina.*

## Biogenèse de l'enveloppe nucléaire

Désassemblée à la prométophase / Réassemblée à la télétophase  
(cf. cours mitose)

## Rôles de l'enveloppe nucléaire

Le rôle du noyau est essentiellement de s'occuper du génome (maintenance et expression)

**Séparation** physique et métabolique : échanges nucléo-cytoplasmiques

**Interaction** avec l'ADN : contrôle de l'expression des gènes



# Mécanismes d'échange nucléo-plasmique

## Complexes d'importation et d'exportation

Echanges nucléo-cytoplasmiques dans les deux sens

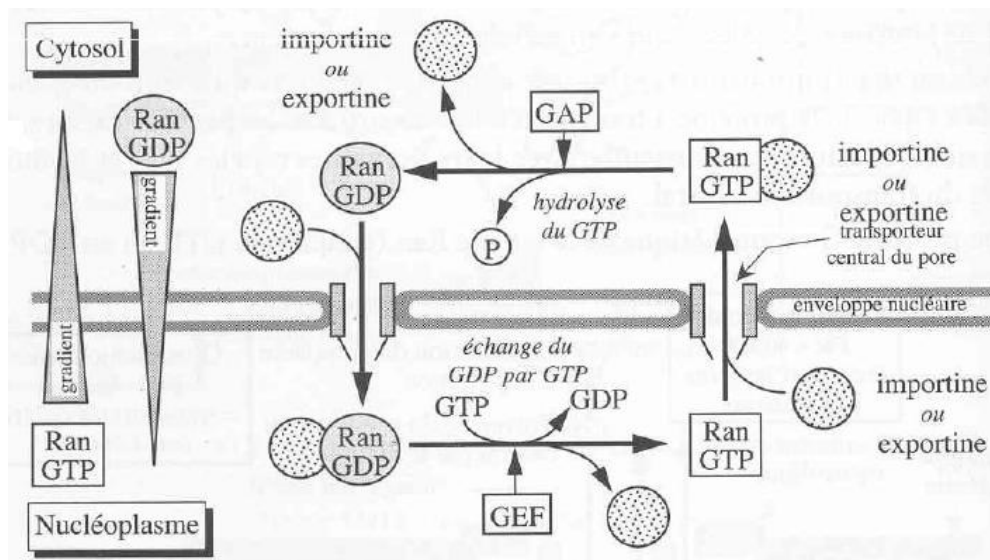
- **Recyclage** des constituants du complexe

Le cycle des protéines G Ran

- [Ran-GTP] très forte dans le nucléoplasme : action de RanGEF nucléoplasmique
- [Ran-GDP] très forte dans le cytosol : action de RanGAP cytosolique

La protéine G Ran interagit avec des **importines** pour passer du cytosol vers le nucléoplasme

La protéine G Ran interagit avec des **exportines** pour passer du nucléoplasme vers le cytosol



Les importines et exportines

- Récepteurs à **double affinité** (2 types d'interactions possibles)
- Fixent la **charge** (protéines sous forme repliées)
- Reconnaittent des **signaux d'adressage** (NLS et NES)
- Se lient aux **motifs FG Nups**

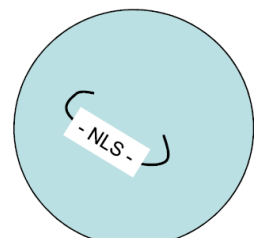
L'exportine est toujours liée à une protéine Ran

Signaux d'adressage des protéines au noyau

- **NLS**, nuclear localisation signal : riche en AA basiques (K et R)
- **NES**, nuclear exportation signal
- **NRS**, nuclear retention signal

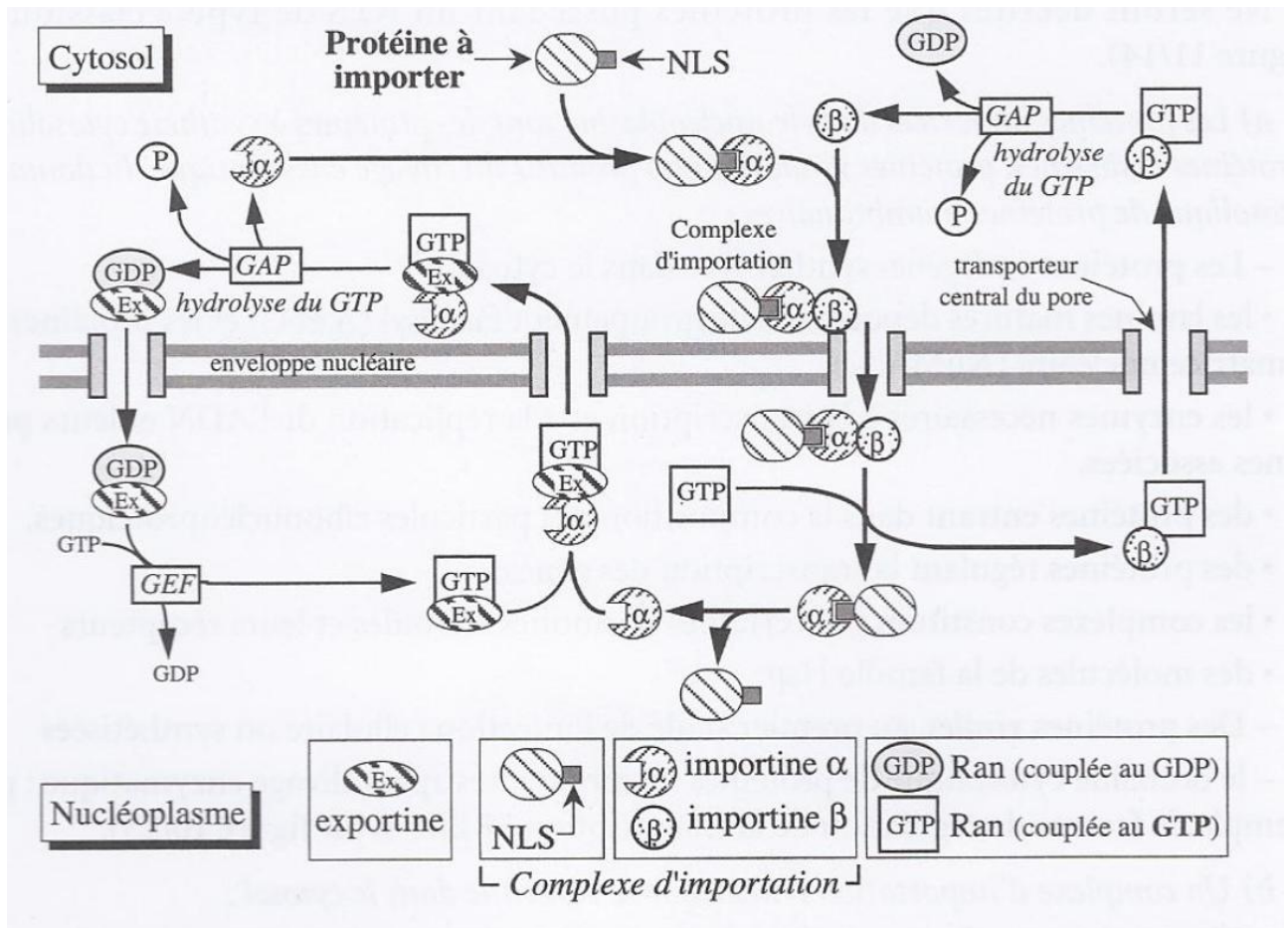
Le NLS peut être au milieu de la séquence peptidique et suite au repliement de la protéine, il doit être en surface

Il peut être soit caché, soit exposé par la protéine





## Importation et exportation



### Formation du complexe d'importation

1. Importine  $\alpha$  reconnaît NLS
2. Importine  $\beta$  reconnaît importine  $\alpha$
3. Importine  $\beta$  fixée à Ran-GDP

### Passage du transporteur central

4. Intéraction séquences FG

### Dissociation du complexe

5. Importine  $\beta$  fixée à Ran-GTP : action de Ran-GEF

### Recyclage des composants

6. Importine  $\alpha$  signal NES, fixée à une exportine
7. Exportine reconnaît signal NES, fixe Ran-GTP avec action de Ran-GEF
8. Action de Ran-GAP : recyclage exportine + importine  $\alpha$
9. Importine  $\beta$  fixe Ran-GTP
10. Action de Ran-GAP : recyclage importine  $\beta$

## Régulation du trafic

- **Variation** du nombre de pores nucléaires en fonction des besoins de la cellule
- **Vitesse** du flux de matériel à travers le pore nucléaire (dépendant de la concentration en importine et exportine)
- **Spécificité** de la diffusion à travers les canaux latéraux du pore nucléaire
- **Masquage** et **démasquage** des séquences d'adressage : NLS et NES
  - ⇒ Variations des changements conformationnelles de la charge
  - ⇒ Ajout d'une protéine sur la charge qui vient cacher le signal (= protéine chaperonne)

# Organisation de l'ADN dans le noyau

## Le génome humain

On retrouve  $3,2 \cdot 10^9$  pb/génome **haploïde** (= 22 chromosomes + X + Y)

Par extension, le noyau possède  $6,4 \cdot 10^9$  pb (génome diploïde,  $\times 2$ )

Séparées en 46 molécules d'ADN (22 chromosomes = **autosomes** + 2 **chromosomes sexuels**)

Le génome compte **23 paires de chromosomes**

- 1 chromosome varie de  $50 \cdot 10^6$  à  $250 \cdot 10^6$  pb soit 1,7 cm à 8,5 cm si l'ADN était déroulé
- Dans le noyau d'une cellule humaine  $\approx 2$  m d'ADN
- Nécessité d'un **compactage**

## Association ADN + Protéines = Chromatine

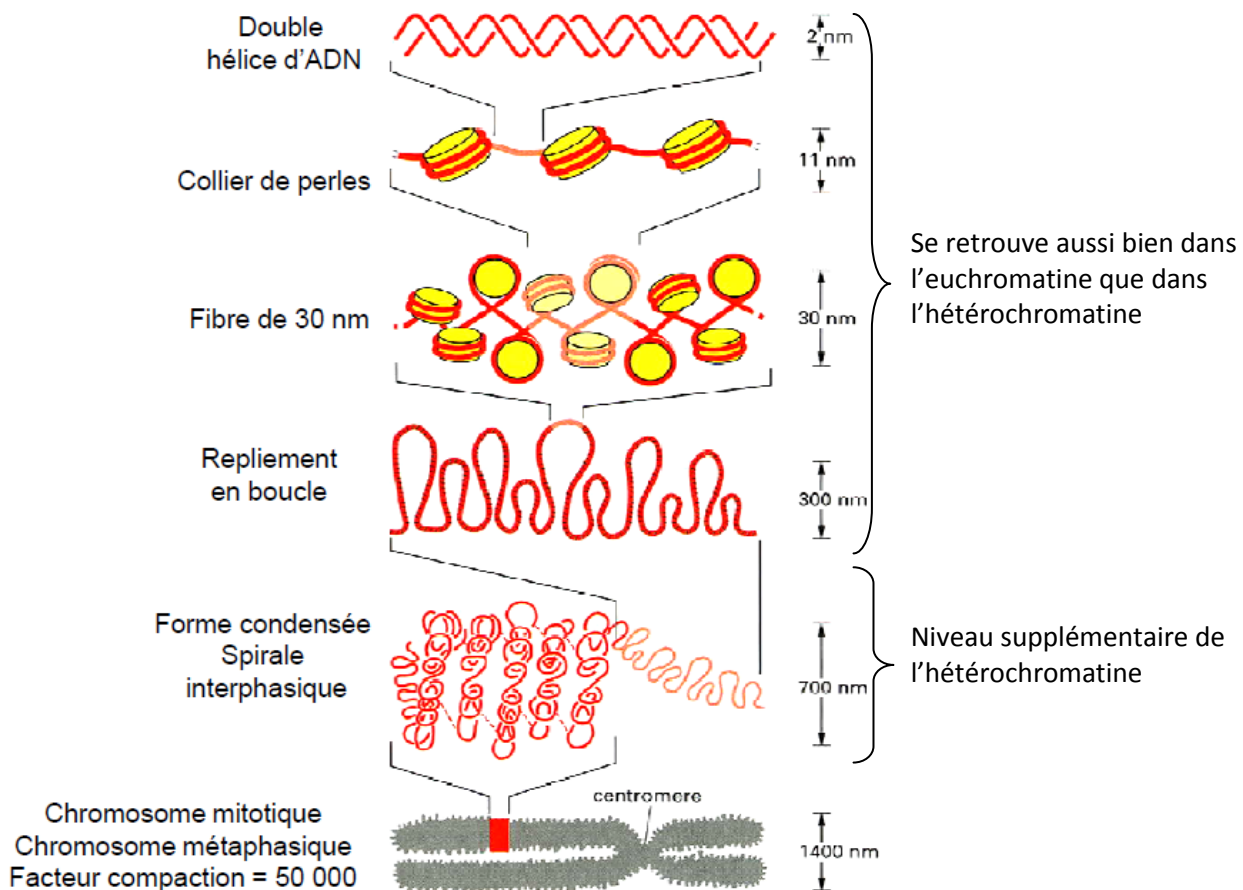
La chromatine a trois états fonctionnels

Deux états dans le noyau interphasique :

- Chromatine **dispersée** : l'**euchromatine**
- Chromatine **condensée** : l'**hétérochromatine**

Un état dans le noyau mitotique :

- Chromatine **hypercondensée** : **chromosomes mitotiques**



## Histones : protéines majeures liées à l'ADN

Formation du **nucléosome** : association de l'ADN avec des histones

Ce sont des petites protéines basiques en grande quantité (protéines majoritaire du nucléoplasme).

Elles sont chargées positivement : % élevé de Lysine et d'Arginine.

Sa liaison avec l'ADN est **indépendante de la séquence nucléotidique**.

Les histones se fixent à des protéines transmembranaires de la membrane interne de l'enveloppe nucléaire ou à des protéines de la lamina nucléaire.

Elles assurent le premier niveau de compactage de l'ADN.

On a **deux types d'histones** différentes

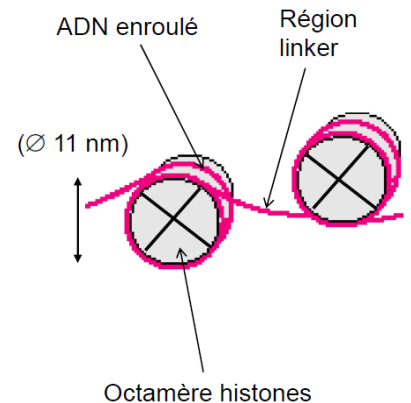
- **Les histones nucléosomiques** : H2A, H2B, H3 et H4

Elles sont présentes en 2 copies par nucléosomes.

Elles ont une longue extrémité N-terminale qui ressort du nucléosome.

- Très riche en AA basique : interactions phosphates de l'ADN
- Lieu de modifications post-traductionnelles (permet le passage entre les différents aspects de l'ADN : transition euchromatine / hétérochromatine) : c'est le **code histone**

L'ADN s'enroule autour d'un octamère d'histone : 1,65 tour (146 pb) autour d'un nucléosome



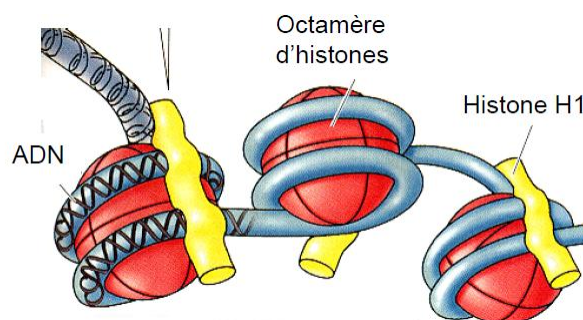
Nucléosome = octamère d'histone + ADN

- **L'histone H1**

Présente en une copie en association au nucléosome (ne rentre pas dans la composition du nucléosome)

Permet de maintenir en place l'ADN enroulé sur l'octamère d'histone

Participe à l'empilement nucléosomique : elles sont essentielles dans les formes de compaction supérieures de l'ADN (interactions des histones H1 entre elles)



- **Protéines non histones**

**Protéines de structure** (ex: ADN topoisomérase II, évite des surtours de l'ADN)

**Protéines HMG** (High Mobility Group) : jouent sur l'interaction des nucléosomes entre eux

**Protéines minoritaires**

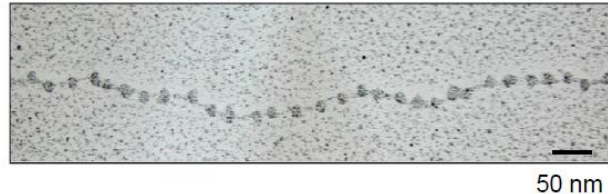
## Les différents niveaux de compaction de l'ADN

### • Fibre nucléosomique

Aspect en **collier de « perles »**

- ⇒ Perle = 1 nucléosome (de diamètre 11 nm)
- 1,65 tour d'ADN (= 146 pb) autour de chaque nucléosome
- ⇒ Entre les nucléosomes : ADN de liaison (=ADN linker) de 0 à quelques dizaines de pb

Il existe dans le génome des régions de plusieurs pb qui ne s'enroulent pas autour d'un nucléosome



### • Fibre de chromatine de diamètre = 30 nm

Il existe 2 types de repliements :

#### Modèle solénoïde

Assemblage des nucléosomes de la fibre de 11 nm

Les nucléosomes adjacents sont liés par H1

Spiralisation de la fibre de 11 nm : donne la fibre de 30 nm (forme hélicoïdale avec un pas de 6 nucléosomes)

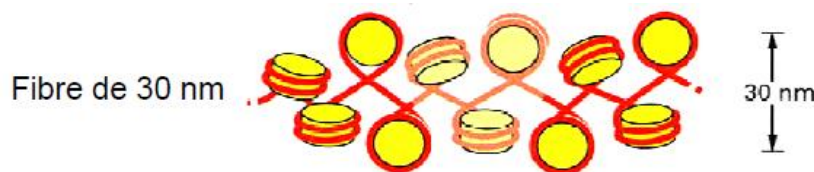


#### Modèle zigzag

Correspond à des observations réalisées *in situ*

H1 modifie la trajectoire ADN de chaque nucléosome

Étape intermédiaire entre le repliement en solénoïde ou modèle d'expression moins condensé de la fibre de 30 nm



### Rôles des queues N-term d'histone/compactage

Des modifications post-traductionnelles (acétylation, méthylation, phosphorylation, ...) affectent l'assemblage des nucléosomes

- ⇒ C'est le **code des histones**

La fibre de 30 nm est interrompue dans des courtes régions sans nucléosomes

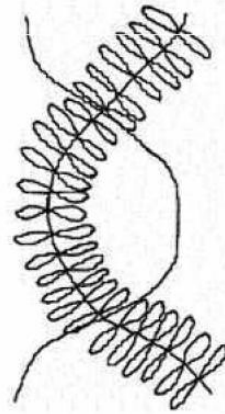
- De **façon constitutive** : liée à la composition en ADN qui ne permet pas l'assemblage avec le nucléosome
- De **façon régulée** : dans les zones d'expressions fortes du génome

- **Repliement de la fibre de 30 nm en boucles**

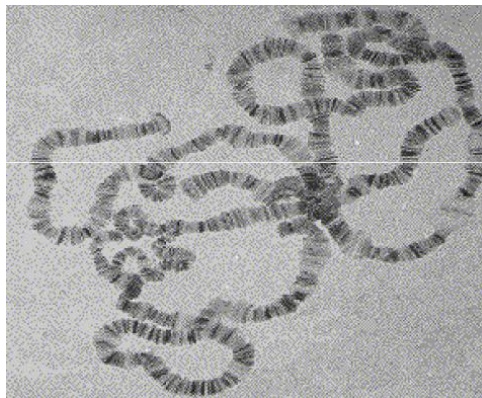
Mise en évidence de 2 façons différentes :

- **Chromosomes en écouvillon** observés dans des ovocytes d'amphibien (chromosomes visibles en prophase de 1<sup>ère</sup> division de méiose au stade diplotène)

*Chromosomes homologues appariés au stade diplotène*



- **Chromosomes polyténiques** présents dans certaines larves d'insectes  
Bandes claires : zones en boucle de la fibre de 30 nm  
Bandes sombres : zone d'attachement de ces boucles



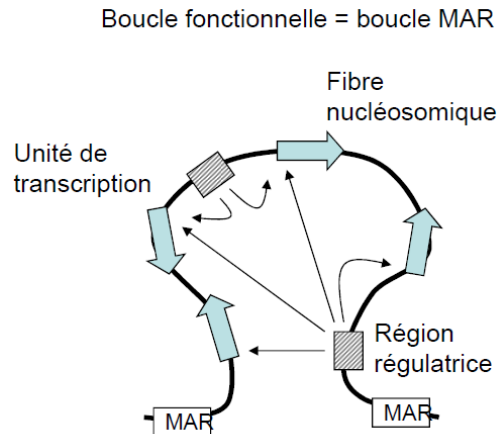
## Mécanisme de fixation des boucles

Des **régions MAR** interagissent entre elles et permettent la formation de boucles

⇒ Permet une meilleure compaction de l'ADN et joue un rôle d'isolateur (pas d'interactions entre gènes de deux boucles différentes ce qui permet d'éviter des anomalies)

Ces régions participent à la charpente protéique du chromosome condensé dans les chromosomes mitotiques et dans l'interphase dans la matrice nucléaire

Unité de transcription = gène



## Condensation de l'ADN en chromosomes mitotiques

### De fin prophase jusqu'en début télophase

Les **condensines** permettent la condensation chromosomique : passage chromosomes interphasiques → chromosomes mitotiques

Les chromatides « soeurs » sont appariées par des **cohésines**

Condensation maximale à la métaphase

Au niveau du centromère, il y a la formation du kinétochore (rôle dans l'interaction des chromosomes avec le fuseau mitotique)

- Centromère = hétérochromatine
- Séquences très répétées d'ADN



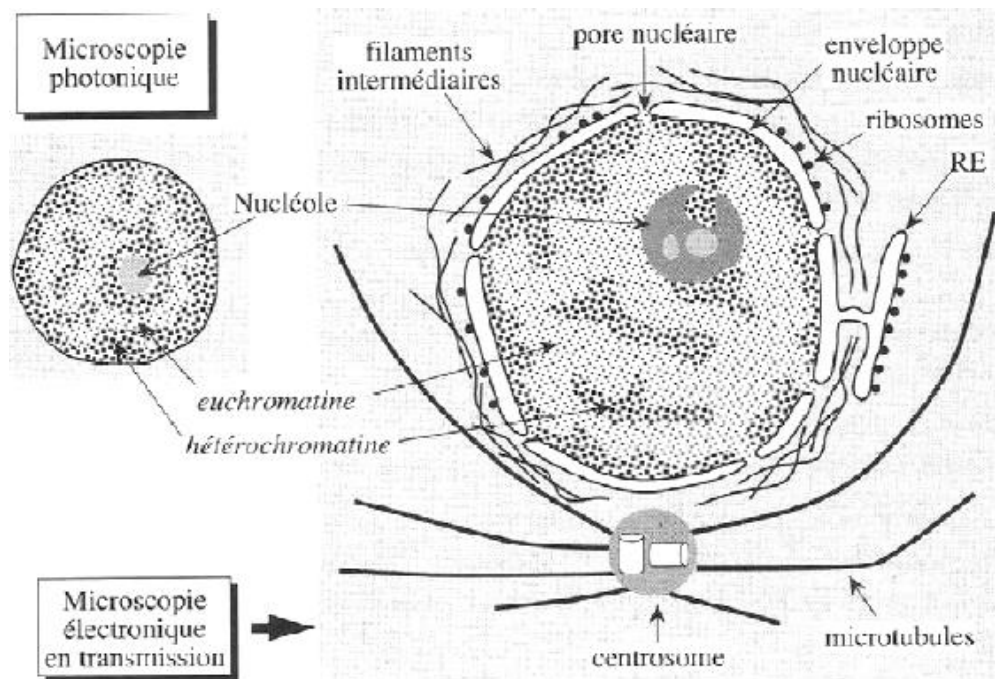
## Condensation de l'ADN dans les chromosomes interphasiques

### Organisation des chromosomes dans le noyau interphasique

Pas d'enchevêtrement aléatoire des chromosomes : ils occupent des **territoires chromosomiques**  
Attachement à l'enveloppe nucléaire (on retrouve de l'hétérochromatine en périphérie du noyau)  
Localisations différentes des régions d'un chromosome selon leur activité transcriptionnelle : les régions exprimées du génome migrent au centre du noyau (euchromatine)

### Niveau de condensation de la chromatine

La condensation est beaucoup moins importante que dans les chromosomes mitotiques.  
Un même chromosome contient des régions d'hétérochromatine et d'euchromatine.  
La transcription s'effectue dans les régions chromosomiques les moins condensées (euchromatine).



## L'hétérochromatine

- **Hétérochromatine constitutive**

Représente le centromère, les télomères et les constriction secondaires

Se sont des séquences répétitives avec une absence de structures géniques : **pas de transcription**

- **Hétérochromatine facultative**

Contient des structures géniques mais pas de transcription

Permet de réguler l'expression du génome humain

Le niveau d'hétérochromatine varie selon la différenciation cellulaire.

**Corpuscule de Barr** : chromatine sexuelle à l'état d'hétérochromatine totale

Concerne au hasard l'X maternel ou paternel

Il est retrouvé chez tous les mammifères femelles

Cela permet de réguler le dosage de l'expression des gènes associés au chromosome X.

Cette hypercondensation du chromosome X se fait au cours de l'embryogenèse dans toutes les cellules somatiques chez la femme.

Organes composés d'une **mosaïque de cellules** (soit X maternel ou paternel inactivé)

Cette inactivation est réversible durant l'ovogenèse.

## L'euchromatine

Parties claires du noyau

La chromatine est plus déroulée que l'hétérochromatine (sa condensation va jusqu'à la formation des boucles de la fibre de 30 nm).

Elle peut être complètement décondensée dans les zones de forte activité transcriptionnelle : c'est la **chromatine active** (représente 10 % de l'euchromatine)

## Séquences d'ADN nécessaires à la formation d'un chromosome eucaryote stable

### Origine de réplication

Permet la réplication de l'ADN : formation des deux chromatides (pendant la phase S).  
Les origines de réplication sont réparties tout le long du chromosome (aussi bien dans l'hétérochromatine que dans l'euchromatine).  
Synchronisation partielle de la réplication de l'ADN.

### Séquences centromériques

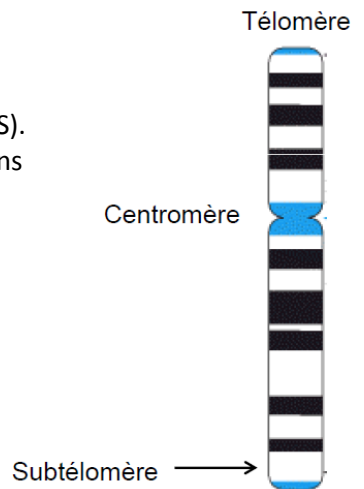
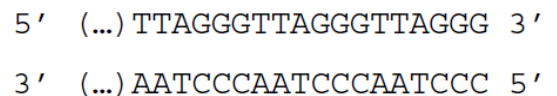
- ⇒ Permet la formation du kinétochore dans le chromosome mitotique
- ⇒ Permet l'attachement de l'ADN sur le fuseau mitotique

### Séquences télomériques

A chaque extrémité des chromosomes, répétition d'une courte séquence de pb (5' TTAGGG 3').  
Sa taille est de 5 à 10 kpb.  
Le **subtélomère** est une région plus grande située juste après le télomère.

Le raccourcissement des télomères est synonyme de vieillissement

En 3' des brins d'ADN : séquences riches en G  
En 5' des brins d'ADN : séquences riches en C



# Matrice nucléaire

## La Lamina nucléaire

La lamina nucléaire est une région en association avec la **membrane interne** de l'enveloppe nucléaire  
Des protéines transmembranaires vont regrouper les FI de lamines

- Les **lamines B** sont acylés (groupement farnésyl) et ancrée dans la membrane interne de l'enveloppe nucléaire
- Les **lamines A et C** sont sans groupements farnésyl
- **Récepteurs des lamines** : protéine transmembranaire

La lamina nucléaire joue un rôle essentiel dans la formation de l'hétérochromatine

Les pores nucléaires sont reliés aux lamines : permet une régulation expression des gènes (forme euchromatine)

Désorganisation de la lamina nucléaire à la prométaphase par la **phosphorylation des lamines** (protéines kinases CDK)

- ⇒ Rupture de l'enveloppe nucléaire en prométaphase
- ⇒ Réassemblage en début de télophase

## Constitution fibreuse du nucléoplasme

- ⇒ **Réseau sous mb** (origine inconnue)

En relation avec les pores nucléaires (petit anneau nucléoplasmique)

- ⇒ **Présence de protéines variées**

Lamines A et C, hors lamina nucléaire

MF d'actine + protéines associées

Particules ribonucléoprotéiques : sous-unités des ribosomes + particules impliquées dans la maturation des ARN (épissage des introns)

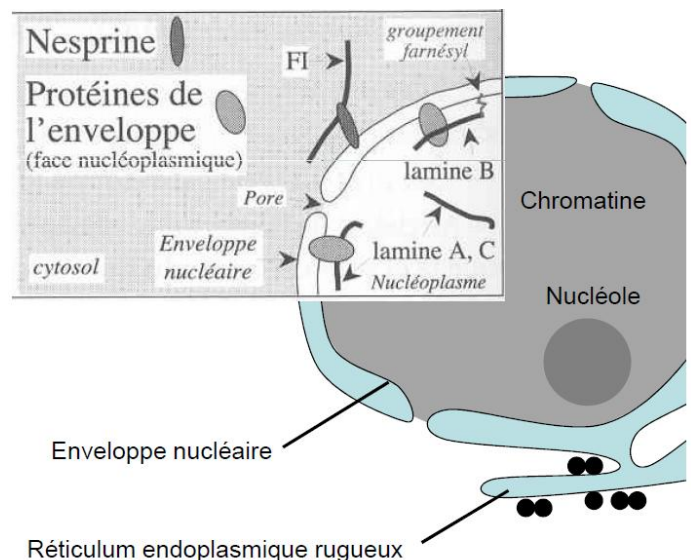
Enzymes impliquées dans le métabolisme de l'ADN, ARN, etc...

- ⇒ **Réseau fibreux + granules aux intersections**

Protéines impliquées dans l'interaction avec les régions MAR

Dans l'ensemble du nucléoplasme

Organisation de la chromatine



# Le nucléole

## Définition

Région intranucléaire bien individualisée

Région plus condensée du noyau sans membrane

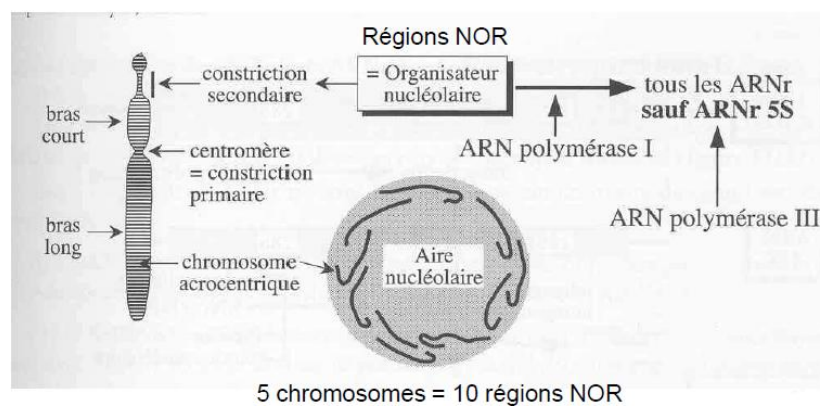
Responsable de **la biogenèse des ribosomes** (complexe d'ARN et de protéines)

Il n'est présent qu'à l'interphase

(Cellule eucaryote fabrique 2000-3000 ribosomes/minute)

Contient des portions de chromosome acrocentriques : les **régions NOR**

Ces régions codent pour 3 sur 4 des ARNr (18S ; 5,8S et 28S)



## Structure

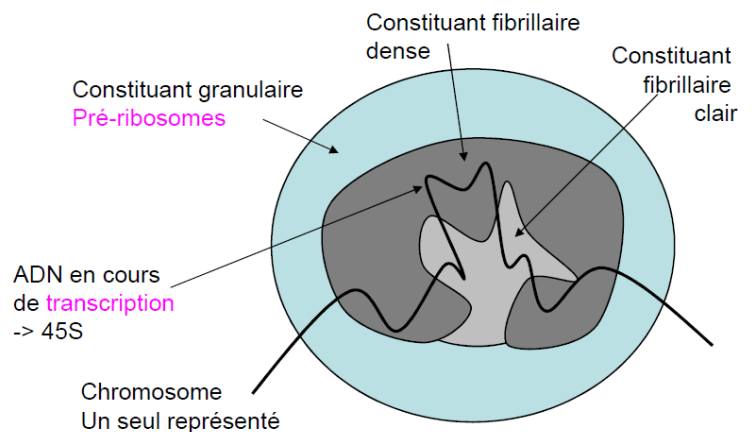
La région présente plusieurs parties

- **Centre fibrillaire** (1 ou plusieurs) : dense (région d'expression des gènes codant les ARNr) et clair (maturation des ARNr produits)
- **Région périphérique granulaire** : assemblage des ces ARNr avec les protéines (formation des 2 sous-unités du ribosome)

## Composition chimique du nucléole

Etude *in situ* par méthodes cytochimiques et autohistoradiographie (uridine tritiée)

- ADN : 5 %
- ARN : 10 %
- Protéines : 85 % (provenant du cytosol)



## Notion d'organisateur nucléolaire (NOR)

Le nucléole humain contient de l'ADN chromosomique

⇒ **5 paires de chromosomes acrocentriques** (13, 14, 15, 21, 22)

Les régions NOR (Nucleolar Organization Region) sont situées sur les constriction secondaires des bras courts

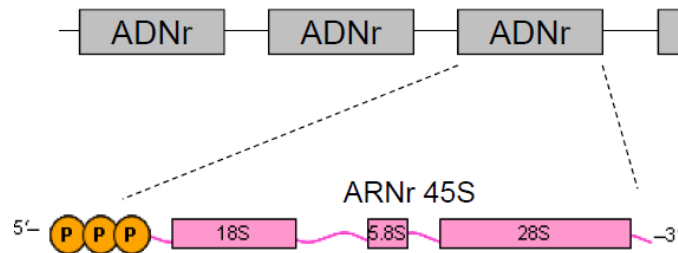
⇒ Groupe de gènes codant l'**ARNr 45S** par la polymérase I

Elles sont situées dans la région fibrillaire du nucléole

La région NOR est organisée par la succession d'unités de transcription codant l'ARNr 45S

⇒ **Organisation en tandem** (environ 20 unités transcriptionnelles de l'ARNr 45S dans une région NOR)

Organisation des gènes en tandem  
(environ 20 copies)



## Fonctions du nucléole

- **Biogenèse des ribosomes**

Tous les ribosomes d'une cellule sont fabriqués dans le nucléole, sauf mitochondries (et chloroplastes)

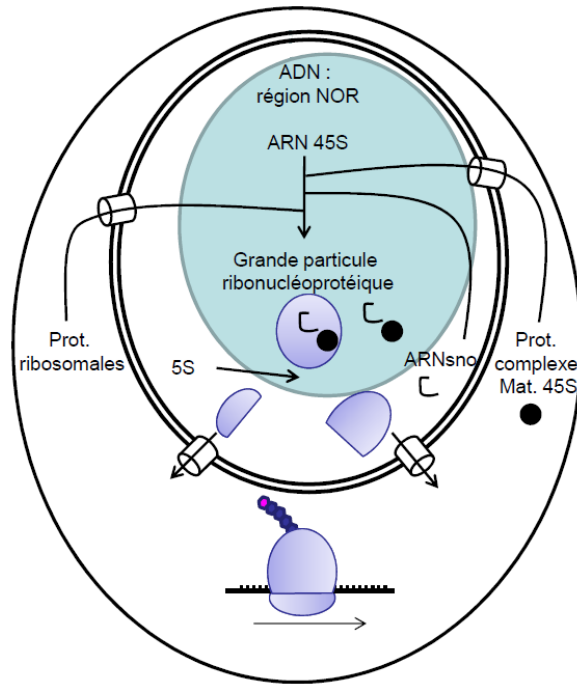
On démarre par la transcription de la région ADN<sub>r</sub> au niveau des régions NOR

⇒ **ARN 45S**

Ensuite importation du cytosol des protéines ribosomales et des protéines pour la maturation

+ des **ARNsno** aident à la maturation des ARN 45S

+ apport de la **sous-unité 5S**



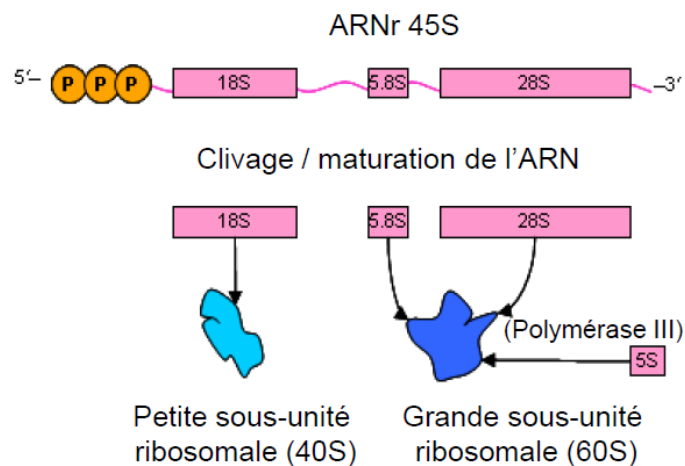
### Formation des sous-unités ribosomales

Condensation ARN 45S + protéines ribosomales : **grande particule ribonucléoprotéique**

Maturation de l'ARN 45S dans la zone granulaire

ARN 45S = ARN 28S + ARN 18S + ARN 5,8S

L'incorporation de l'ARN 5S (synthèse hors nucléole) marque la séparation des deux sous-unités : **40S et 60S**





La biogenèse des ribosomes demande **l'action des 3 polymérase** :

- **Polymérase I** : ARN 45S
- **Polymérase II** : protéines cytosoliques
- **Polymérase III** : sous-unité 5S et ARNsno

Le transfert des sous-unités dans le cytosol se fait à travers les pores nucléaires.  
L'assemblage s'effectue uniquement lors de la traduction sur les ARNm.

- **Autres fonctions**

*Assurées en interaction avec d'autres régions du nucléoplasme*

- ⇒ Production de la **PRS**
- ⇒ Maturation des pré-ARNt en **ARNt**