

BIOLOGIE

Chapitre 7: LE NOYAU INTERPHASIQUE

Toutes les cellules parcourent des cycles cellulaires de division, entre coupés d'une interphase. C'est pendant cette interphase que la plus grande partie des métabolismes s'effectue, dont les échanges.

A. MORPHOLOGIE

1- Microscopie photonique

En général, il n'y a qu'un seul noyau par cellule. C'est pourquoi on les appelle *uninucléées*. S'il y a deux noyaux, comme les cellules musculaires striées, on les appelle *plurinucléées*. Certaines peuvent même être dépourvues de noyau, ce sont les cellules *anucléées*, comme les hématies chez les mammifères qui sont des cellules qui possèdent bien un noyau à l'origine mais qui le perdent en se différenciant.

La visualisation de la présence de quelque chose qui limite le noyau correspond à l'*enveloppe nucléaire* à l'intérieur de laquelle se trouve le *nucléoplasme*, la Substance Fondamentale du Noyau.

Dans le noyau, on trouve, de l'ordre de 1 ou 2 par cellule des RNP ou *nucléoles* qui sont des associations d'ARN avec des Protéines. Tout le reste du nucléoplasme est composé d'une substance appelée *chromatine*, correspondante à l'association d'ADN avec des Protéines.

2- Microscopie électronique à transmission

a- L'enveloppe nucléaire

Elle se trouve dans la continuité du Réticulum Endoplasmique Rugueux; il s'agit d'une membrane biologique d'une épaisseur voisine de 60Å.

On appelle membrane externe, la monocouche tournée du côté du cytosol, et membrane interne celle tournée du côté du nucléoplasme.

L'espace *périnucléaire* est dans la continuité de la lumière des canaux du Réticulum Endoplasmique Rugueux: on voit au niveau de la membrane externe des ribosomes liés. Au niveau de cette membrane externe il se fait donc une synthèse de protéines.

La membrane externe est en relation avec des éléments cytosquelettiques qui font partie des filaments intermédiaires dessinant un réseau autour du noyau, comme une cage.

La membrane interne est sous-tendue par une couche protéique appelée *Lamina*, d'une épaisseur d'environ 250Å.

Elle est constituée d'éléments nucléosquelettiques: des filaments intermédiaires.

L'enveloppe nucléaire est discontinue: elle comporte des *pores* qui peuvent être de deux catégories:

- Les plus fréquents sont les pores simples sans différenciation,
- Les autres, moins fréquents sont des pores différenciés ou pores complexes.

Quelque chose qui borde le pore complexe et que l'on trouve également au centre de ces pores est de nature protéique.

Il existe deux anneaux protéiques:

- un du côté du hyaloplasme
- l'autre du côté du nucléoplasme

Ces anneaux sont discontinus, ils correspondent à un agencement de 8 éléments chacun.

Il y a également un transporteur central qui ressemble à une espèce de petit tube.

Il est uni aux éléments périphériques par des *desmosomes*.

b- La chromatine

Elle se présente sous l'aspect de petites fibres d'environ 250 à 300 Å de diamètre.

Elles participent à la réalisation de l'aspect de la chromatine:

- Elles peuvent être isolées les unes des autres et donnent alors un aspect décondensé de la chromatine que l'on appelle alors *euchromatine*, ou chromatine active,
- Elles peuvent sinon se trouver sous forme rassemblée, constituant des paquets: c'est leur aspect condensé; on les appelle alors *hétérochromatines*. Elles correspondent à des portions de chromosomes perpétuellement condensées, c'est la chromatine dite *inactive*.

La partie d'hétérochromatine et d'euchromatine proche du nucléole est appelée chromatine associée.

c- Les fibrilles et les granules péri et interchromatiniens

Ils sont de nature ribonucléiques.

Une fibrille est très petite: environ 30-50 Å de diamètre, alors qu'un granule peut atteindre 300 à 400 Å de diamètre.

Les fibrilles donnent naissance aux granules.

C'est le produit de la transcription de l'ARN_m associé à des protéines.

L'ARN est toujours associé à des protéines, on ne voit d'ailleurs que ces protéines en Microscopie Électronique.

En fonction de leur position dans le nucléoplasme, on peut différencier les fibrilles des granules périchromatiniens et les fibrilles des granules interchromatiniens.

Entre les masses d'hétérochromatine se trouvent des grains interchromatiniens et autour de ces masses d'hétérochromatine se trouvent les grains périchromatiniens.

d- Le nucléole

Il est constitué de RNP c'est-à-dire d'ARN_r associé à des protéines.

C'est un lieu de synthèse des ribosomes, protéine constituée de 3 parties:

- une partie faite d'ADN et de protéines, ou *chromatine associée*, appelé *centre organisateur du nucléole*.

Elle possède une texture fibrillaire peu dense aux électrons.

- une partie de RNP constituée de fibrilles, cette fois-ci plus dense aux électrons.
- une partie granulaire de nature RNP, c'est-à-dire un jeune ribosome en formation.

B- BIOCHIMIE

1- L'enveloppe nucléaire

Le rapport membranaires des protéines sur les lipides est égal à deux pour l'enveloppe nucléaire, ce qui montre une grande richesse protéique de cette membrane.

Un certain nombre des glycoprotéines constituantes sont fabriquées dans le réticulum endoplasmique. D'autres sont des enzymes.

On peut donc bien remarquer le lien entre le Réticulum Endoplasmique et l'enveloppe nucléaire.

Le contenu de l'espace périnucléaire est comparable au contenu des canaux du réticulum endoplasmique.

Du côté interne, on trouve la *lamina* qui est exclusivement protéique, et qui est constituée de Lamine.

On dénombre trois protéines majeures: la Lamine A, B et C dont la taille varie entre 65 et 75kD. Elles sont codées par deux gènes: un pour la Lamine A et un autre pour la Lamine B.

La Lamine C quant à elle est un produit partiel de la Lamine A issu d'une lecture différente du gène.

Il y a des filaments intermédiaires en relation avec le domaine nucléoplasmique.

Les récepteurs pour la Lamine sont des protéines *LAP*.

À l'état embryonnaire, seul le gène codant pour la Lamine B s'exprime, alors qu'à l'état adulte, le gène codant pour la Lamine A s'exprime également.

La couche protéique se désagrège et disparaît lors de la division cellulaire.

2- Les pores chimiques complexes

Leur composition chimique n'est pas connue précisément. On connaît quelques protéines parmi les 15-20 trouvées comme les *nucléoporines* que l'on a localisées grâce à l'immunocytochimie.

Certaines de ces protéines sont transmembranaires, et d'autres ont été synthétisées au niveau des ribosomes libres: ce sont souvent des protéines O-Glycosylées.

Certaines peuvent avoir une affinité pour l'ADN et l'ARN.

Elles constituent un ensemble de protéines qui régulent les échanges entre le cytoplasme et le noyau, et inversement.

En fabricant des anticorps contre ces protéines, on peut bloquer ces échanges.

Plus une cellule a des rapports nucléoplasmiques importants, et plus elle possède de pores.

3- La fibre nucléosomique

Elle est constituée d'ADN et de protéines selon un taux d'environ 50% chacun. Les protéines peuvent être de deux types:

- Protéines basiques: les *histones*, regroupant en fait 5 catégories d'histones chez les

cellules eucaryotes. On les identifie par électrophorèse. On les appelle H₁, H₂A, H₂B, H₃, H₄. Ils possèdent des chaînes latérales chargées positivement. Une particularité de la structure primaire des H₃ et H₄ est qu'ils possèdent une séquence très peu différente que l'on qualifie de peu évoluée.

Comme les molécules n'évoluant pas beaucoup ont un rôle important, les H₃ et H₄ ont un rôle plus important que les autres histones.

- Il existe d'autres protéines différentes que l'on classe sous la même appellation: ce sont les *protéines non histones* (PNH) dont il existe plusieurs centaines d'espèces.

Quand on observe en microscopie électronique à transmission après isolement de petites fibres, on peut avoir une idée de leur organisation.

La chromatine est organisée comme une succession d'unités protéiques appelée nucléosome. On peut l'observer sous forme d'ADN associé à une unité sphérique.

Une fibre nucléosomique correspond à un agencement fondamental d'ADN associé à ces protéines. Autrement dit, l'ADN n'est pas tout seul, il est accolé à ces espèces de boules. Sous sa forme hélicoïdale, l'ADN s'enroule autour des nucléosomes pour donner la fibre nucléosomique qu'on appelle aussi structure en chapelets.

Le nucléosome est constitué de 4 histones et apparaît comme une structure sphérique aplatie dont la plus grande dimension fait 110Å et la plus petite 50Å.

Le nucléosome est composé de huit protéines: on parle d'un octamère protéique. Il possède 2 exemplaires de chacun des 4 histones suivants: H₂A, H₂B, H₃, H₄.

L'ADN s'associe de manière toujours identique à ces sphères aplaties: 140 paires de bases sont intimement associées aux nucléosomes en 1 tour 3/4.

Les liens internucléosomiques correspondent à une longueur d'ADN variable avoisinant les 60 paires de bases.

Au niveau de ce lien, un histone H₁ a un rôle particulier.

Les protéines non histones se trouvent à la périphérie des nucléosomes.

La genèse des nucléosomes commence par la mise en place d'une sphère aplatie de 4 protéines (H₃ et H₄), auxquelles viennent s'accoler les 4 autres.

H₃ et H₄, de part leur séquence proche, ont un rôle prépondérant, c'est-à-dire qu'elles dirigent la genèse des nucléosomes.

Les liens internucléosomiques sont susceptibles de se modifier, c'est-à-dire qu'on peut rapprocher les deux nucléosomes sans changer le nombre de nucléotides. C'est l'histone H₁ qui intervient pour cette opération. Il joue d'ailleurs un rôle important sur le degré de condensation des fibres nucléosomiques.

On appelle aussi ces fibres des *nucléofilaments* ou des *fibres chromatiniennes*. Elles ont un encombrement spatial d'environ 110 Å.

C- PHYSIOLOGIE

1- Enveloppe nucléaire

De part la présence de l'espace périnucléaire, c'est un lieu de stockage d'ions, en particulier d'ions calcium.

Au niveau de la membrane interne, il existe des protéines transmembranaires qui jouent le rôle de récepteur pour les histones des nucléosomes: cette membrane interne joue donc un rôle

dans le positionnement des chromosomes dans le noyau interphasique.

Dans cet état du noyau, les chromosomes ne sont pas disposés au hasard, c'est-à-dire qu'ils sont placés grâce au rapport entre les protéines de la membrane interne et les histones des fibres nucléosomiques.

L'enveloppe nucléaire règle également les échanges de molécules à travers les pores.

Le nombre de ces pores dépend de l'état physiologique de la cellule et du type de cellule concernée. La surface de ces pores peut aller de 1 à 2 % de la surface totale de l'enveloppe nucléaire, jusqu'à 25% dans le cas de cellules très spécialisées, comme les *hépatocytes* avec environ 4000 pores par noyau cellulaire.

Le transport par l'intermédiaire de ces pores peut être de type Actif ou Passif.

Ces deux types d'échanges ne se font pas au même endroit des pores.

- Les transports passifs se font au niveau des 8 *canaux latéraux* pour les nucléotides, les ions, etc..

- Les transports actifs se font au niveau du *cylindre central*. Ce type de transports concerne plus particulièrement les protéines fabriquées dans le cytoplasme dont la destinée est le noyau, ou de l'ARN fabriqué dans le noyau à destinée cytosolique.

Ceci s'effectue en deux étapes:

- . Les molécules à transporter se fixent sur des récepteurs. Ce processus est indépendant de l'ATP.

- . Elles peuvent ensuite transiter à travers le tube central. Cette ultime étape du transport nécessite une dépense énergétique.

Exemple de protéines fabriquées sur les ribosomes libres qui entrent dans le noyau:

- Les enzymes de type *ADN/ARN polymérase*
- Les protéines *régulatrices de l'expression des gènes*
- Les protéines constituant les ribosomes
- Des *hormones stéroïdes* associées à leur *récepteurs* qui ont une activité au niveau du génôme
- Les *protéines virales*. (exemple: le virus de la grippe)

Toutes ces protéines possèdent le même signal d'adressage nucléaire: la séquence NLS qui correspond à un domaine de la protéine indispensable pour qu'elle soit transportée au noyau. On l'appelle *séquence de localisation nucléaire*.

Normalement ce signal est masqué et la protéine reste dans le cytoplasme.

Au moment où elle doit entrer dans le noyau, elle est démasquée par un facteur cytosolique qui l'accompagne jusqu'aux récepteurs des pores nucléaires.

Ces protéines sont des NLS-BP (Binding Protéins) ou des protéines chaperons de type Hsp₇₀.

Le facteur se détache lorsque la protéine est fixée au récepteur, sauf quelques protéines chaperons qui traversent en même temps la membrane nucléaire.

Parmi les protéines fabriquées dans le noyau qui doivent en sortir, on trouve toutes les catégories d'ARN (messager, transfert, ribosomique).

Ils possèdent, et en particulier l'ARN_m une coiffe à leur extrémité 5' qui peut s'accrocher à des *récepteurs à coiffe* sur l'anneau périphérique des pores nucléaires.

Ce transit d'ARN se fait par le transporteur central et est donc dépendant d'ATP.

2- Duplication de l'ADN

Ce processus se fait pendant la phase S de l'interphase. C'est une activité autocatalytique qui se fait selon un processus semi conservatif.

3- Transcription de l'ADN

Elle correspond à la fabrication d'ARN sur des matrices d'ADN. La transcription est une activité hétérocatalytique de l'ADN.

Les 3 catégories d'ARN sont fabriquées de la même manière, mais pas au niveau des mêmes gènes.

Exemple: La génèse des ARN_r:

Ils se forment au niveau du nucléole qui se compose de 3 régions:

- Une région fibrillaire dense correspondante à l'ADN
- Une région fibrillaire claire
- Des granules.

Les granules dérivent de fibres qui ont elles même été formées grâce à l'ADN.

Au niveau de la chromatine associée, on trouve les gènes qui codent pour les ARN_r.

Pour se diviser, une cellule eucaryote banale doit fabriquer environ 10^6 ribosomes: il faut donc une multitude de copies des gènes: dans l'espèce humaine, il y en a environ 200 copies par petits groupes de gènes dispersés chez les diploïdes sur 10 chromosomes (13-14-15-21-22). Sur ces gènes il y a des *unités de transcription* qui sont formées de gènes répétés plusieurs fois: c'est en fait un petit groupe de gènes, appelés *intercalaire transcrit* séparés d'*intercalaires non-transcrits*.

Ce type de séquence peut se répéter plusieurs fois sur un même chromosome pour permettre plusieurs lectures simultanées des gènes.

Un unité de transcription est constituée d'environ 13000 paires de bases, comprenant des petits morceaux fonctionnels (intercalaires transcrits) et d'autres dont on va perdre l'information (intercalaires non-transcrits).

Au départ, toute la séquence est transcrite pour donner un précurseur d'encombrement spatial 45S. Puis il y a un processus de *Maturation* ou 'Processing': la molécule se coupe en deux pour donner une molécule 20S et une 32S.

Enfin, les parties non-transcrites sont éliminées et on retrouve les 3 grandes espèces d'ARN présentes dans les ribosomes des cellules eucaryotes: une molécule 18S, une 5.8S et une 28S. Le processus de maturation se fait selon une modalité appelée *excision-épissage*.

Les 3 espèces moléculaires d'ARN_r dérivent en fait d'un gène unique.

La disposition des différentes copies sur un chromosome est appelée *positionnement en tandem*; c'est ce phénomène qui permet la *Redondance Génétique*.

Dans certains cas, il peut y avoir un besoin énorme de ribosomes.

Alors une portion de chromosomes qui comportent plusieurs exemplaires du gène peut elle-même être dupliquée plusieurs fois pour donner des mini-chromosomes qui ne possèdent que les différents exemplaires du gène nécessaire.

On parle alors d'*Amplification Génétique*, ce qui correspond à avoir plusieurs copies côte à côte et non plus à la suite.

L'ARN_r 5S également présent dans les ribosomes a une origine *extranucléolaire*, mais bien entendu pas extranucléaire. D'autres chromosomes possèdent cette séquence codant pour l'ARN 5S qui va s'associer à la grande sous-unité qui se forme dans le nucléole.

Le gène 5S est très petit, mais il possède une copie similaire à lui même qui le suit sur le chromosome, mais qui n'est pas transcrite. Chaque couple de gènes est séparé du suivant par un intercalaire non transcrit. On appelle la partie du gène similaire au 5S mais non transcrite un *pseudogène non transcrit*.

Les protéines ribosomiques synthétisées dans le cytosol entrent dans le noyau pour pouvoir s'associer avec les ARN_r puis ressortent.

Deux enzymes différentes interviennent pour ces différentes synthèses:

- L'ARN *Polymérase 3* permet la transcription des gènes extranucléolaires (donc de 5S) dont il existe plusieurs centaines, voir milliers de copies, mais uniquement réparties sur un seul chromosomes: le chromosome 1, le plus long.

- L'ARN *Polymérase 1* permet la transcription du précurseur 45S.

D- LES CHROMOSOMES

Ils existent durant TOUTE la vie de la cellule, et pas seulement pendant la division cellulaire, seulement ils ne sont visibles que pendant la division, et non pendant l'interphase.

Pendant l'interphase, la fibre nucléosomique est décondensée, mais lorsqu'ils sont visibles, c'est que la fibre nucléosomique est très condensée. La condensation maximale est obtenue en Métaphase.

Un chromosome correspond à une seule molécule d'ADN linéaire dont l'extrémité du début est appelée 5' et l'extrémité de fin est appelée 3'.

La fibre nucléosomique correspond à un modèle de condensation (facteur 6 environ) et s'organise encore en niveaux de condensation supérieurs: le plus communément admis est le Modèle en Solénoïde qui fait environ 250 à 300Å de diamètre, mais on peut également trouver un arrangement en 'superboules' qui sont des paquets de nucléosome.

Ce diamètre est celui des petites fibres que l'on peut observer en microscopie électronique à transmission.

Chaque tour de ce ressort comprend 6-7 nucléosomes.

Cette condensation (de facteur 7 environ donc 42 au total) est dûe à l'intervention d'un Histone H₃ pendant l'interphase.

Pendant la division cellulaire, et notamment en métaphase, la fibre nucléosomique peut encore atteindre un degré de condensation supérieur. Cet agencement particulier est celui en forme de chromosomes autour d'axes protéiques:

Le solénoïde s'arrange sous forme de boucles autour de l'axe, d'une dimension d'un quart à un demi micron de diamètre.

Ces boucles elles-mêmes s'enroulent autour de l'axe en formant une spirale et chaque tour de spirale contient 18 boucles. Ces boucles sont appelées *Microconvules*, et elles contiennent environ 15 tours de solénoïde.

Le chromosome peut ainsi atteindre un niveau de condensation 12000 fois supérieur par rapport à un élément linéaire.

Quelques chromosomes peuvent se trouver sous forme de *polytenes*, chez quelques animaux, notamment les insectes, et en particulier la drosophile: quand les cellules sont prêtes à se diviser les deux copies de chromosome restent accrochées. Il peut y avoir jusqu'à 9 cycles

comme ceci, ce qui correspond à 1024 copies. (je crois plutôt que ca fait 512...)
Cette organisation crée des chromosomes géants appelés *Polytènes*. Cela sert de point de repère anatomique car les gènes se lisent sous forme de bandes sur ces polytènes.
Cette organisation a permis de nombreuses découvertes en génétique (hérédité, mutations).