

CHAPITRE 5 / LE NOYAU

1. Organisation

Dans les cellules eucaryotes, la chromatine est contenue dans une organelle appelée noyau, considéré comme centre vital de la cellule. Le botaniste Brown en 1831, en observant des cellules d'orchidées, il remarqua une structure centrale opaque qu'il nomma "nucleus", terme utilisé plus tard dans un article publié par le même auteur en 1833. Le noyau est visible en microscopie optique car il est volumineux (3 à 10 % du diamètre soit 20 à 25 % du volume cellulaire total selon le type de cellule).

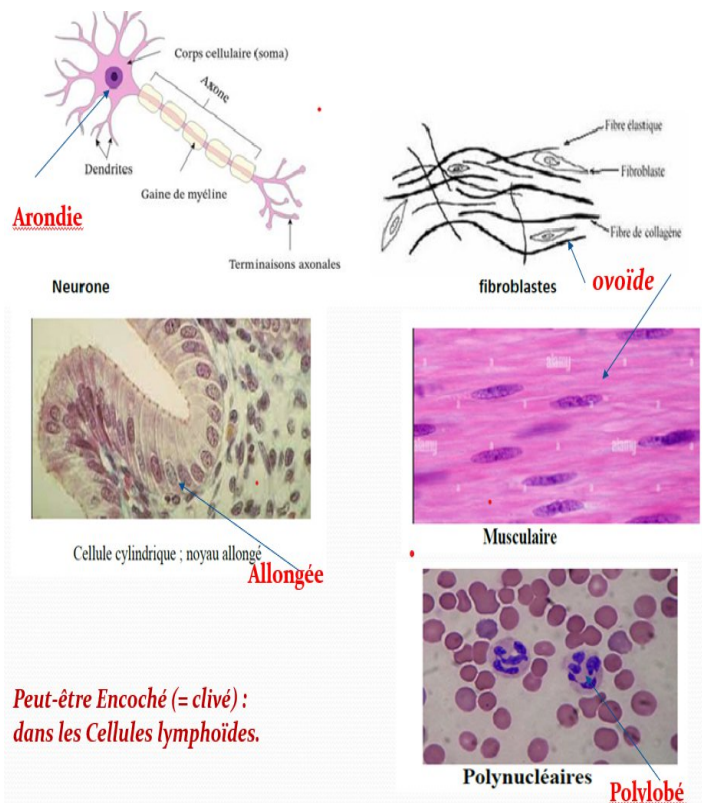
C'est un compartiment délimité par une double membrane. La membrane externe garnie de ribosomes, au contact avec le cytosol est en continuité avec le REG dont elle partage la structure et la fonction. Le Golgi se trouve à distance aussi. La membrane interne est au contact avec le nucléoplasme. Ces deux membranes se rejoignent autour de larges pores nucléaires, qui sont des canaux aqueux permettant une circulation sélective de molécules entre les compartiments cytoplasmique et nucléaire. Directement sous-jacent à la membrane nucléaire interne des cellules eucaryotes supérieures, on trouve un réseau de filaments intermédiaires appelé lamina.

2. Caractéristiques morphologique

2.1 Forme et positionnement du noyau

En fonction du type cellulaire, du stade de différenciation et de l'état fonctionnel de la cellule, le noyau possède plusieurs formes. Sa position dans les cellules différenciées est en fonction du type de cellule :

- Centrale : au niveau des lymphocytes, fibroblastes. Cellule des glandes endocrines.
- Refoulé à la base de la cellule : Cellule muqueuses. Cellule glandulaires exocrines.
- Périphérique : Cellule musculaires, les adipocytes.



2.2 la taille du noyau

La taille varie en fonction de l'activité de la cellule et du type de cellule. Elle est variable suivant les espèces (5 à 6 μm). L'estimation de la taille du noyau se fait par Le rapport Nucléo-cytoplasmique (RNP) : volume du noyau / Volume cellulaire-volume du noyau. Ce rapport est constant pour chaque type cellulaire et est spécifique de l'espèce. Il peut varier en fonction :

- Du capital chromosomique : dans les cellules tétraploïdes, le RNP vaut le double de celui des cellules diploïdes. En interphase, en raison de la répllication de l'ADN.

-De l'activité métabolique : une augmentation du RNP traduit une activité métabolique intense. Dans les glandes endocrines, le RNP augmente pendant la phase d'élaboration des hormones.

2.3 Nombres de noyaux dans une cellule

Le noyau peut être présent en :

- Un seul exemplaire
- Deux ; cellules binucléées (hépatocytes, cellules cardiaques, cartilage)
- Plusieurs par cellule (on parle de syncytium, cas des cellules musculaires striées squelettiques qui sont poly nucléées, les ostéoclastes de 30 à 50 noyaux).
- Certains ciliés, comme les paramécies, possèdent systématiquement deux types de noyaux de fonctions différentes :
 - le micronoyau qui conserve le patrimoine génétique et permet la reproduction sexuée.
 - le macronoyau qui sert à la transcription des ARN et à l'expression des gènes. le macro noyau étant produit à partir du micro noyau.

Les hématies, certaines kératinocytes (couche de cellules la plus externe de la peau) et les thrombocytes n'en possèdent pas.

3. Ultrastructure

3.1 la membrane nucléaire

L'enveloppe nucléaire a la particularité d'apparaître en interphase et disparaît en mitose par dissociation de la lamina, d'où l'appellation du noyau interphasique. (Fig.01)

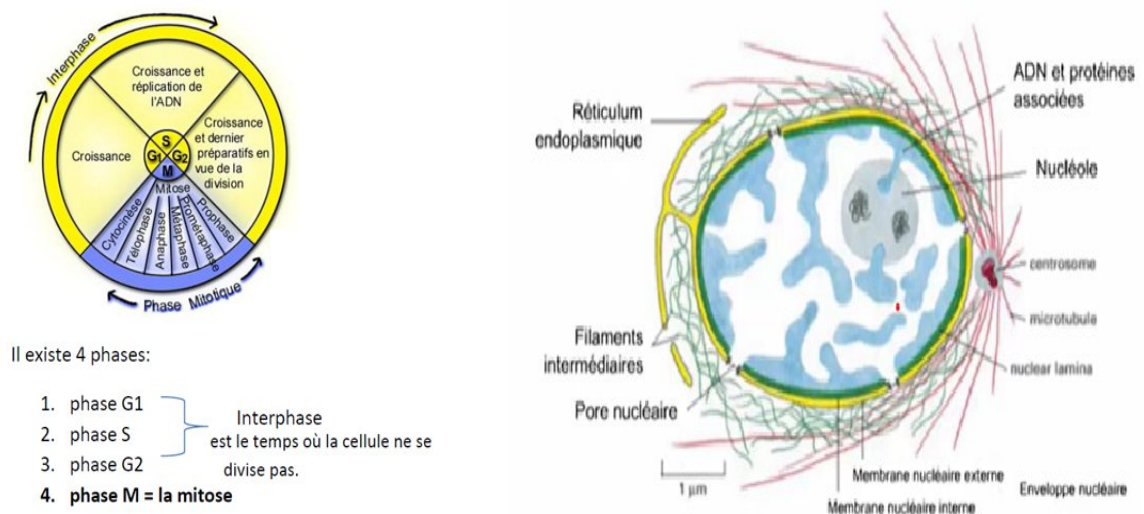


Fig.01 : Ultrastructure du noyau interphasique

Elle délimite le nucléoplasme, qui renferme l'information génétique compactée sous forme de chromatine, et la matrice nucléaire ou nucléoplasme. Elle est composée d'une double enveloppe interne et externe, en contact avec des filaments intermédiaires.

Les membranes sont de 6nm (75Å) d'épaisseur chacune à structure tri lamellaire asymétrique et en mosaïque fluide. Elles sont séparées par une cavité ou espace péri nucléaire, de 10 à 50 nm d'épaisseur (de 200 à 400Å) qui est en continuité avec la cavité du réticulum endoplasmique.

Elle comporte sur sa face cytosolique une $\text{Ca}^{++}\text{ATPase}$ qui assure le transport actif des ions Ca^{++} du cytosol vers l'espace péri nucléaire et sur sa face nucléo plasmique plusieurs canaux de libération du Ca^{++} : le récepteur de l'inositol triphosphate (IP3), le récepteur de la ryanodine.

3.1.1 La membrane externe

Cette membrane de 7,5 nm d'épaisseur, est directement liée au réticulum endoplasmique granuleux, porte donc des ribosomes et participe à la biosynthèse des protéines et à leurs modifications (N-glycosylation).

Elle contient 70% de protéines et 30% de lipides. Des protéines transmembranaires « nesprines » relient l'enveloppe nucléaire avec le cytosquelette : MF d'actine, MT et FI, d'autres sont des enzymes : la glucose-6-phosphatase, les transporteurs d'électrons (les cytochromes).

3.1.2 La membrane interne

La membrane nucléaire interne comporte en particulier des protéines transmembranaires, qui sont des récepteurs pour les trois types de lamines (A, B et C) et les histones. La lamine B a une affinité pour la membrane nucléaire interne, les lamines A et C ont une affinité pour la chromatine et participent à l'adhérence de la chromatine sur l'enveloppe nucléaire.

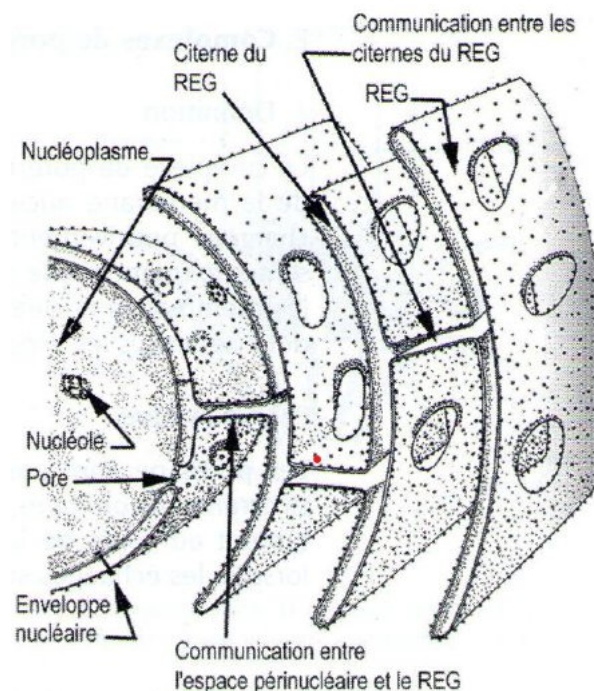


Fig.02 : Représentation schématique de l'enveloppe nucléaire en continuité avec le REG.

3.1.3 Rôles de l'enveloppe nucléaire

Elle permet le transport nucléo-cytoplasmique par diffusion passive, facilitée et actif, elle joue ainsi un rôle de barrière contrôlant le passage de l'eau, des ions et des macromolécules et facilite les échanges nucléo cytoplasmiques et assure le transport actif du Ca^{++} , ainsi que son stockage dans l'espace péri nucléaire. Comme la membrane nucléaire étant en continuité avec le REG, elle remplit les fonctions de celui-ci (biosynthèse des protéines, glycosylation).

3.1.4 Dynamique de l'enveloppe nucléaire

Une des particularités de l'enveloppe nucléaire est le fait qu'elle soit une structure dynamique disparaît (Se désagrège) au moment de la division (prophase et pro métaphase) puis se reforme à la fin de la mitose. La rupture débute avec la dépolymérisation de la *lamina*, due à la phosphorylation de ses constituants, puis survient une déstabilisation et une vésication des membranes.

Les microtubules sont impliqués dans la dynamique l'enveloppe nucléaire. En effet, durant la période qui précède sa perméabilisation, des plis, avec des faisceaux de microtubules, se forment le long de l'enveloppe nucléaire, dans la région des centrosomes. Des invaginations de l'enveloppe nucléaires croissent à l'intérieur du noyau, de la cote des centrosomes. En parallèle, la lamina est mise sous tension et étirée sous l'effet des microtubules, localement et dans des régions éloignées des centrosomes, des trous dans l'enveloppe apparaissent dans la région où l'étirement est maximal, ce qui induit sa perméabilisation. (Figures 03, 04)

Lorsque l'enveloppe nucléaire est fragmentée, les fragments initialement attachés aux chromosomes s'en détachent et sont entraînés vers les centrosomes, où ils sont finalement dispersés. A cote du rôle mécanique exercé par les microtubules, la dispersion des protéines de l'enveloppe est principalement dépendante de la phosphorylation des lamines. (Figure 05)

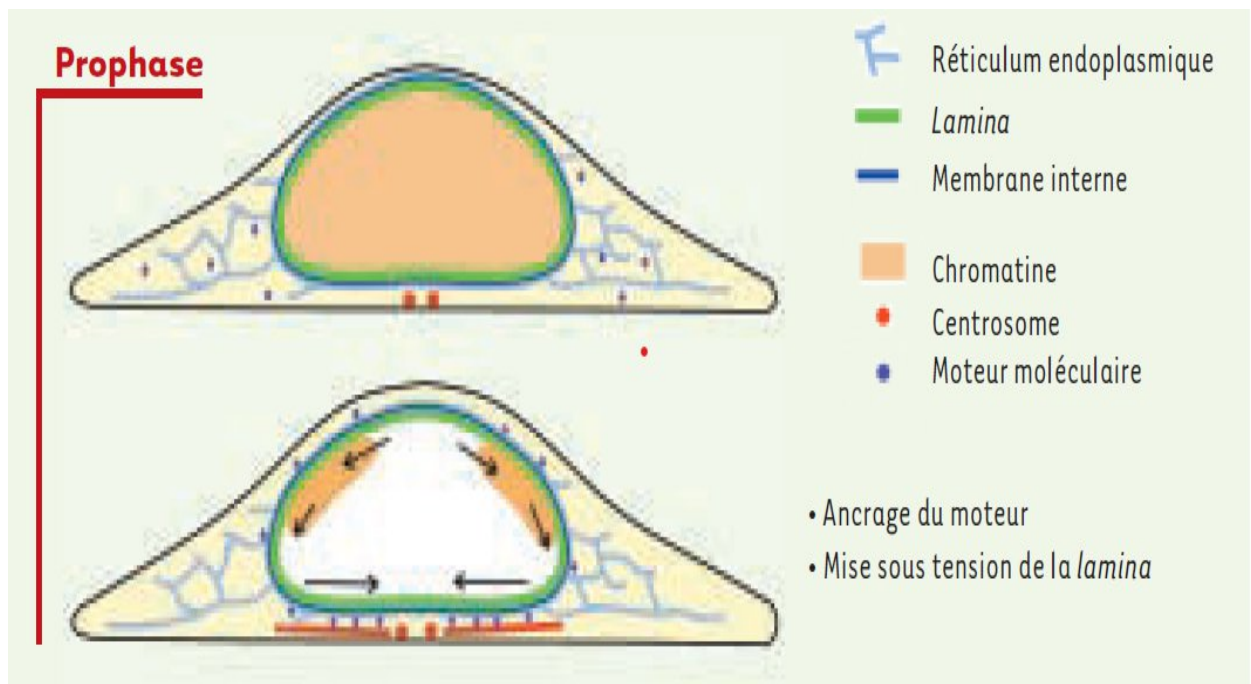


Fig.03 : En prophase, un moteur moléculaire (la dynéine) migrant vers le pôle négatif des microtubules est ancré sur l'enveloppe nucléaire et la connecte aux microtubules. L'enveloppe nucléaire est alors tirée par ces moteurs en direction des centrosomes, ce qui provoque une accumulation de membranes et de lamina autour des centrosomes.

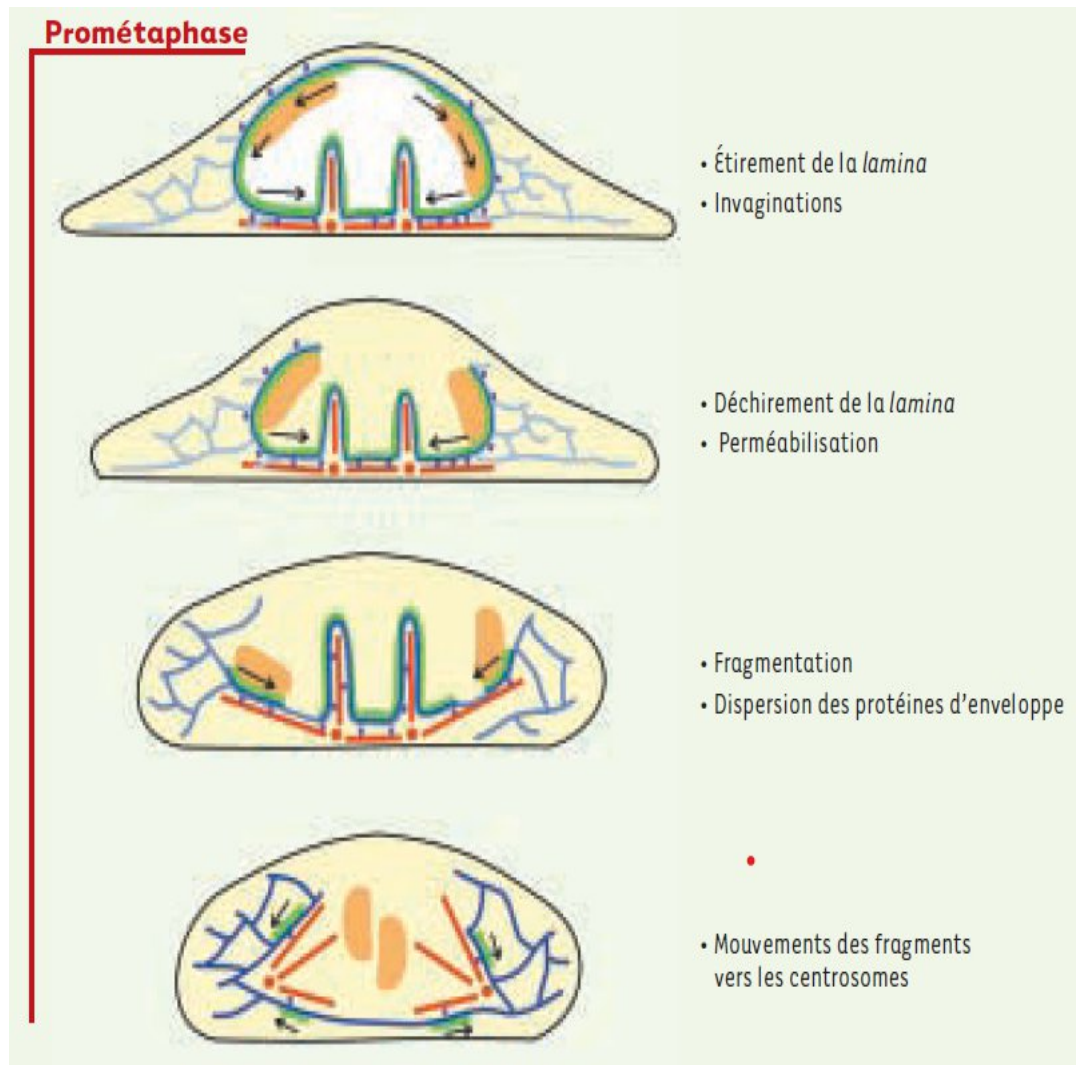


Fig.04 : Processus mécanique de fragmentation de l'enveloppe nucléaire durant la pro métaphase. Formation des invaginations à l'intérieur du noyau. La lamina est étirée, déchirée, l'enveloppe est fragmentée

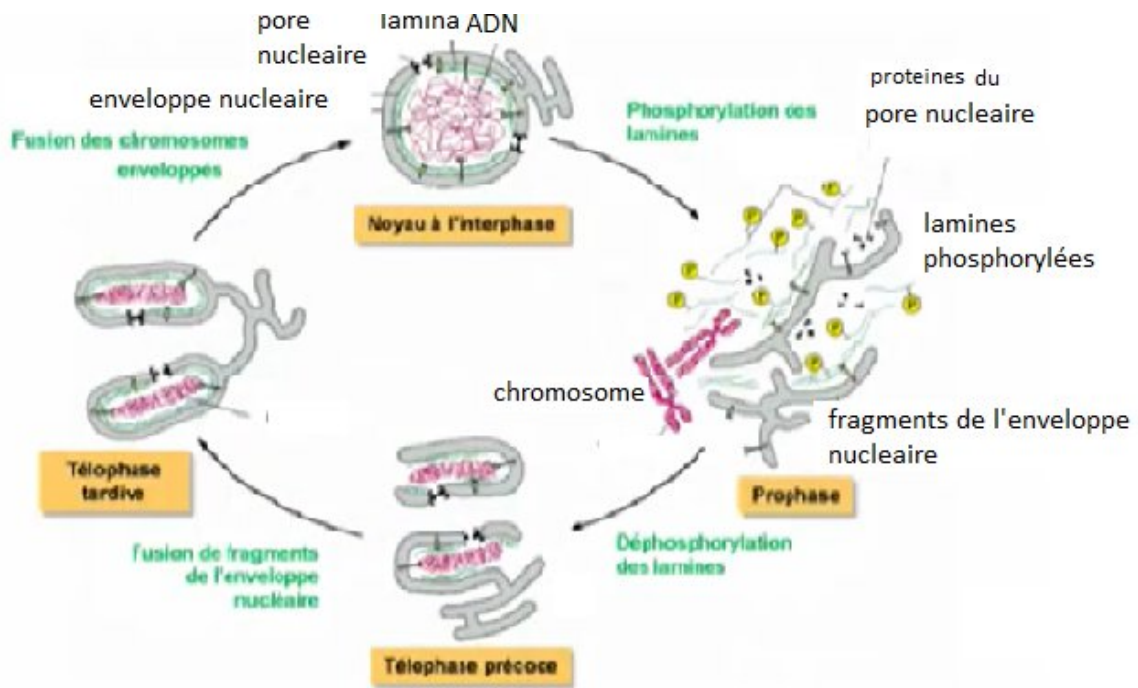


Fig.05 : dynamique de l'enveloppe nucléaire.

3.2 Les pores nucléaires

3.2.1 Ultrastructure du complexe du pore nucléaire (CPN)

L'enveloppe nucléaire est interrompue dans des zones par des pores (10 et 4000/Noyau), de grands diamètres (1000 Å pour un pore) qui constituent une structure complexe, dite complexe du pore nucléaire ((NuclearPore Complex = CPN). Ce complexe est formé par un assemblage de 30 à 50 protéines différentes (chargées positivement) appelées nucléoporines (Nups), chacune de ces nucléoporines pouvant être présente en 8 ou plus copies par NPC. Une famille de Nups contenant un nombre important de peptide FG répété est distribuée à travers tout le NPC.

Le CPN est constitué de deux grands anneaux (8 sous/unités chacun) de 120nm de diamètre chacun, l'anneau cytosolique et l'anneau nucléoplasmique qui délimitent un orifice central ou transporteur central de 30-40nm de diamètre. Chacun des deux anneaux est formé d'un assemblage de huit bras radiaires qui font saillie dans l'orifice central, délimitant ainsi huit canaux latéraux. Un troisième petit anneau est situé dans le nucléoplasme. Il existe une interconnexion très stable entre les CPN et la lamina dense, qui leur sert d'ancrage.

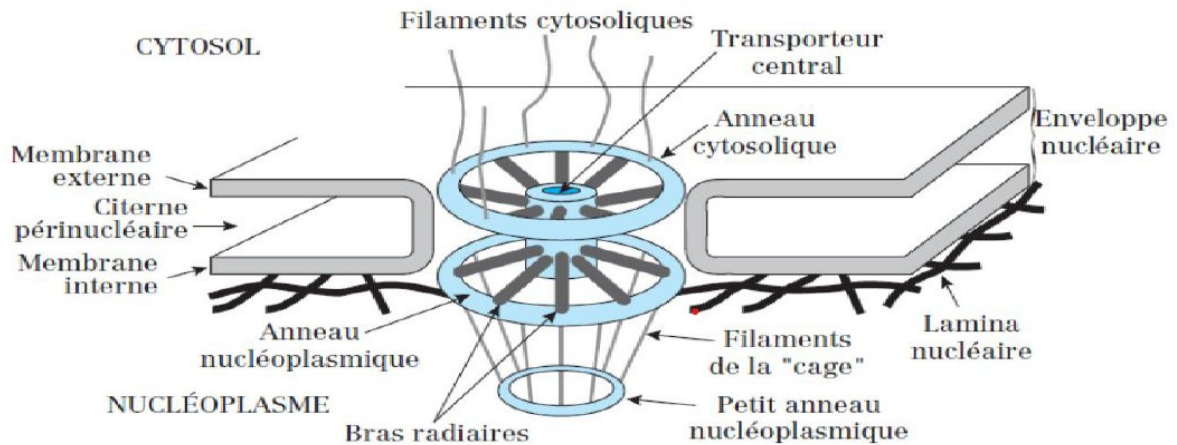


Fig.06 : ultrastructure du CPN. Chaque anneau porte des filaments perpendiculaires, les filaments situés du côté du nucléoplasme sont reliés à leur extrémité et forment un panier nucléaire. L'ensemble est ancré dans l'enveloppe nucléaire. Vers le pore chaque s/unité émet un bras, reliés aux deux anneaux. Les bras laissent entre eux des tunnels latéraux fins de 10nm environ. Un tunnel central de 30- 40nm de diamètre traverse le pore , il est obturé par un diaphragme, son ouverture se fait lors du passage de molécules en présence d'énergie.

3.2.2 transports à travers la CPN

Les pores contrôlent les transports nucléo cytoplasmiques, aussi bien dans le sens cytoplasme noyau (importation) que dans le sens noyau cytoplasme (exportation), pour réguler l'expression génique et la fonction cellulaire. Le transport passif de molécules solubles de poids moléculaire < 40Kda et les ions s'effectue au niveau des canaux latéraux et le transport actif de molécules plus grosses se fait par le canal ou transporteur central. Ce transport met en jeu des protéines adaptatrices, Les karyopherines (importine , exportine et transportines) reconnaissant une séquence signal sur la protéine à transporter (NLS pour les importations, NES pour les exportations).

3.2.2.1 importations des molécules dans le noyau

Ce signal est présent uniquement chez les protéines nucléaires, il consiste en une courte séquence (souvent entre 4 et 8 acides aminés) qui varie selon les protéines nucléaires mais souvent riche en acide aminés chargé positivement (Lysine, Arginine). Les protéines sont importées du cytosol où elles ont été synthétisées vers l'intérieur du compartiment nucléaire, les protéines concernées sont : les histones, les ADN et ARN polymérases, les régulateurs de gènes.

Le mécanisme de l'importation dans le noyau se fait comme suit : (fig.07)

-la séquence NLS est reconnue par l'importine α (protéine de 60 kDa) qui est reconnue par son récepteur l'importine β (protéine de 97 kDa) .

-fixation du complexe aux filaments cytosoliques sur une séquence riche en phénylalanine et glycine de la nucléoprotéine Nup358

- l'ensemble, franchit en bloc le pore , attiré par FxFG située sur la nucléoprotéine Nup153 et riche en phénylalanine et glycine. La FxFG est une protéine élastique, qui adopte des formes rétractées ou étirées selon le PM des protéines transportées.

- Dans le nucléoplasme, le complexe importine α - importine β se sépare de sa charge par une protéine Ran-GTP (24 kDa). Il existe des protéines qui renvoient les importines- α et - β vers le cytoplasme pour y être « rechargées ».

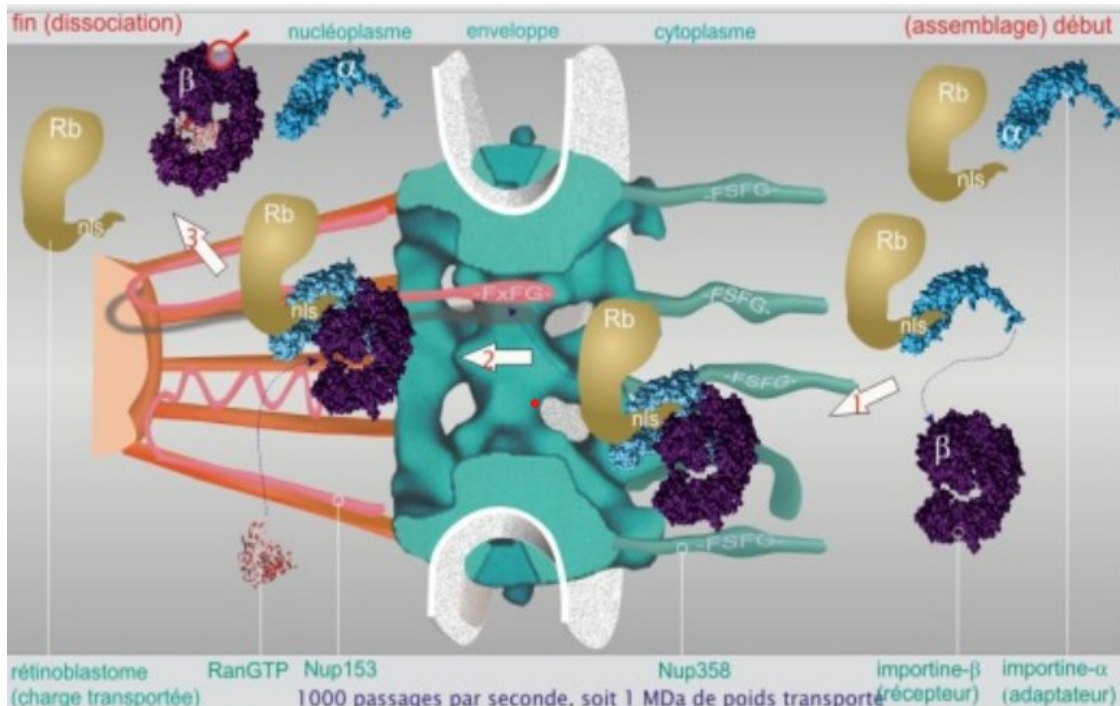


Fig.07 : modèle d'importation dans le noyau. Importation de la protéine RB (retinoblastome). La protéine rétinoblastome est importante dans la régulation du cycle cellulaire. Sa présence dans le noyau rend certaines portions de l'ADN (où elle se fixe avec d'autres protéines) moins accessibles aux ARN polymérases et par cela, elle empêche la transcription des gènes qui normalement préparent la cellule pour un cycle de division (elle se présente donc comme un « suppresseur de tumeur »).

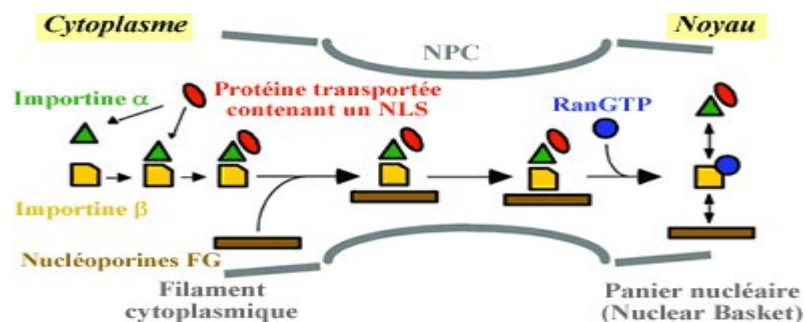


Fig.08 : les protéines impliquées dans l'importation des molécules vers le noyau.

3.2.2.2 exportation des molécules du noyau vers le cytosol

L'exportation se fait selon un procédé similaire, les protéines qui vont quitter le noyau portent une séquence signal NES (Nuclear Export Signal) riche en leucine (non polaire), sont concernés par cette exportation les ARNs. Le transport est assuré par l'exportine-1 aussi appelée CRM1 (chromosome region maintenance protein-1, de 123 kDa). Le mécanisme de l'exportation dans le noyau se fait comme suit : (fig.09)

- exportine-1 reconnaît sa charge, se fixe sur Ran-GTP, le complexe se déplace dans le pore par interaction avec les nucléoprotéines Nup153 et Nup214.
- Dans le cytosol, le complexe se fixe à un filament cytosolique Nup358 et à la RanGAP (GTPase activating protein) ce qui induit l'hydrolyse du GTP.
- Dissociation et libération de la protéine transportée.

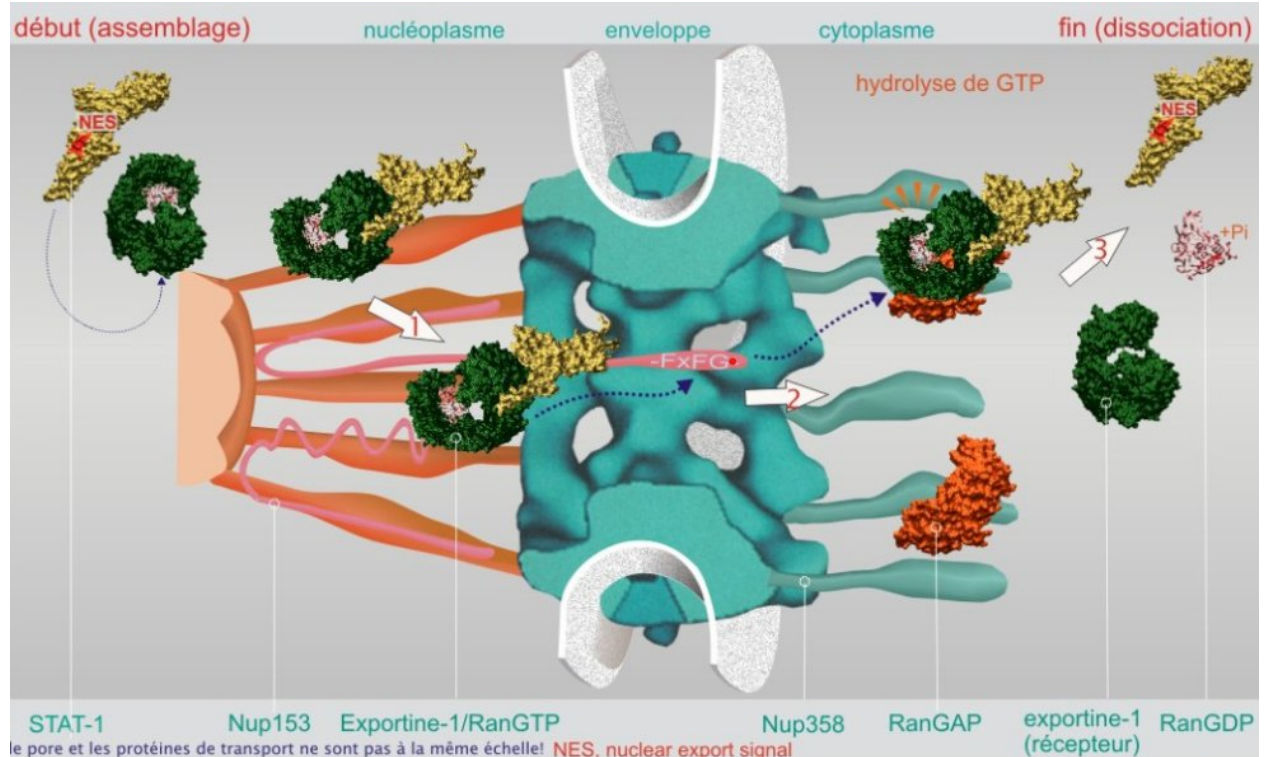


Fig.09 : modèle d'exportation du noyau vers le cytosol . STAT-1 est un facteur de transcription localisé dans le cytoplasme et le noyau. STAT-1 entre rapidement dans le noyau en réponse à des signaux de médiateurs de l'inflammation tels que TNF- α ou INF- α . L'élimination de ces médiateurs entraîne la déphosphorylation de STAT-1 qui quitte le noyau. Ce processus est en partie régulé par l'exportine-1, fixée au signal nucléaire d'exportation de STAT.

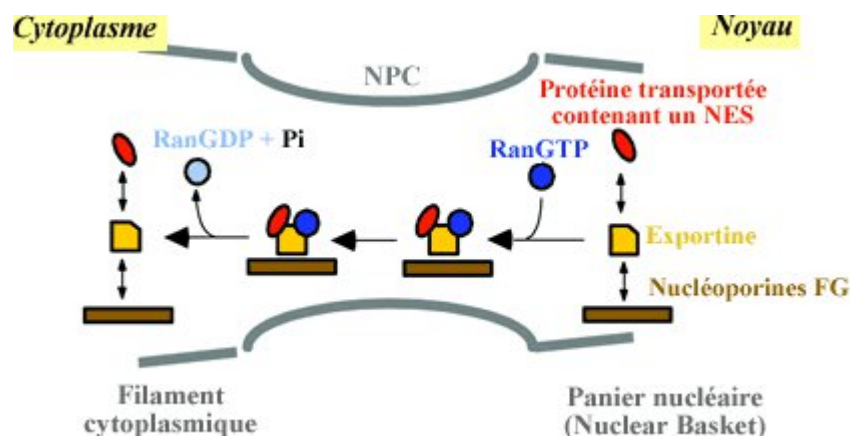


Fig.10 : les protéines impliquées dans l'exportation des molécules du noyau vers le cytosol.

3.3 Le nucléole

3.3.1 Structure

Au MO le nucléole apparaît sous forme sphérique, non limité par une membrane et sa taille varie en fonction de l'activité de synthèse protéique et du type cellulaire. Il contient de l'ADN, des protéines et des ARNs.

Les nucléoles subissent des changements au cours du cycle de division : il disparaissent lors de la mitose et se reforme à la fin de la télophase. Ils existent en nombre défini dans les noyaux interphasiques et prophasiques de tous les organismes supérieurs.

3.3.2. Ultrastructure

Au ME, le nucléole comprend 3 régions.

3.3.2.1 Centre fibrillaire

C'est la chromatine diffuse, correspond aux organisateurs nucléolaires (O.N) qui sont les segments d'ADN qui expriment les gènes sous forme d'ARNr. Lors de la prophase, la disparition progressive du ou des nucléoles s'explique par l'arrêt du fonctionnement des gènes de ses organisateurs nucléolaires (O.N)

3.3.2.2 Zone fibrillaire dense

C'est une structure dense, contenant de l'ADN et une grande quantité d'ARN, elle représente la partie active du nucléole.

3.3.2.3 Zone granulaire périphérique

C'est la zone de stockage des pré-ribosomes, riche en ARN et en protéines.

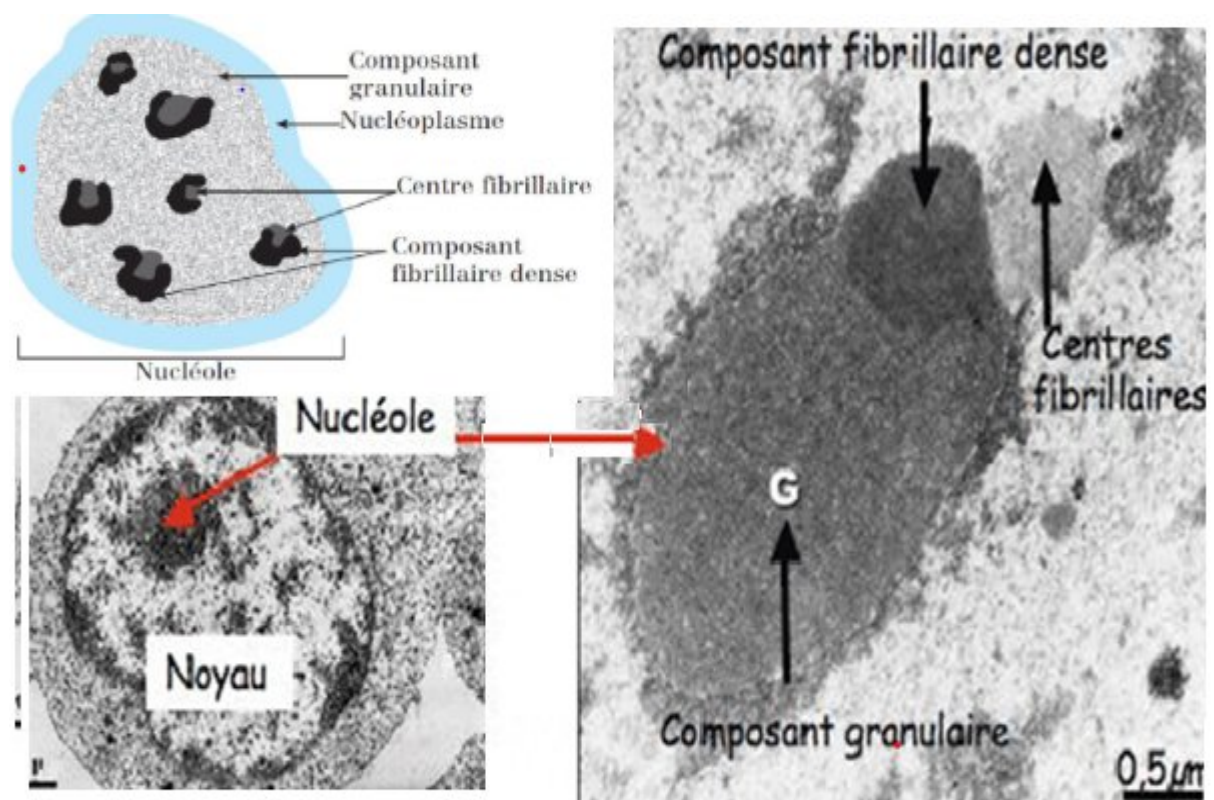


Fig.11 : Les compartiments du nucléole observés au microscope électronique à transmission (MET)

3.3.3 Fonction du nucléole : biosynthèse des ribosomes

Le nucléole est le site de biosynthèse des ribosomes (la cellule peut en synthétiser 2 000 à 3 000/min). L'ARNr synthétisé, sera assemblé avec les protéines ribosomales cytoplasmiques pour former les sous-unités des ribosomes. La biosynthèse nécessite : figure 12

- Transcription de l'ADNr en préARNr 45S ; Le pré-ARN 45S (45S pre-rRNA) est un grand transcrit précurseur d'ARN ribosomique (ARNr) chez les eucaryotes, produit par l'ARN-polymérase I, qui contient les séquences pour les ARNr 18S, 5.8S, et 28S, ainsi que des séquences intercalaires, et qui est ensuite clivé et modifié dans le nucléole pour former les ARNr matures des ribosomes. Le pré-ARNr 40S (ou plus précisément le précurseur du pré-ARNr 18S) est la forme initiale longue et non mature de l'ARN ribosomique (ARNr) qui, après transcription et une série de clivages et modifications enzymatiques, donne naissance à l'ARNr 18S. Cet ARNr 18S est le composant clé de la petite sous-unité ribosomique 40S, essentielle pour le décodage de l'ARNm et la synthèse des protéines chez les eucaryotes.

- Maturation de l'ARNr néoformé 45S et son clivage en 5,8S, 18S, 28S;

- Assemblage en sous unités ribosomales : l'ARN18S s'associe avec des protéines ribosomales importées pour donner la petite sous unité de ribosome (40 S) et sort du nucléoplasme à travers les pores nucléaires. Les ARNr 5, 8 et 28s s'associent entre eux et avec des protéines ribosomales importées du cytoplasme et avec l'ARN 5s (qui est transcrit à partir de l'ADN extra nucléolaire par la polymérase III, pour donner la grande sous unité du ribosome (60S) qui gagne ensuite le cytoplasme à travers les pores nucléaires.

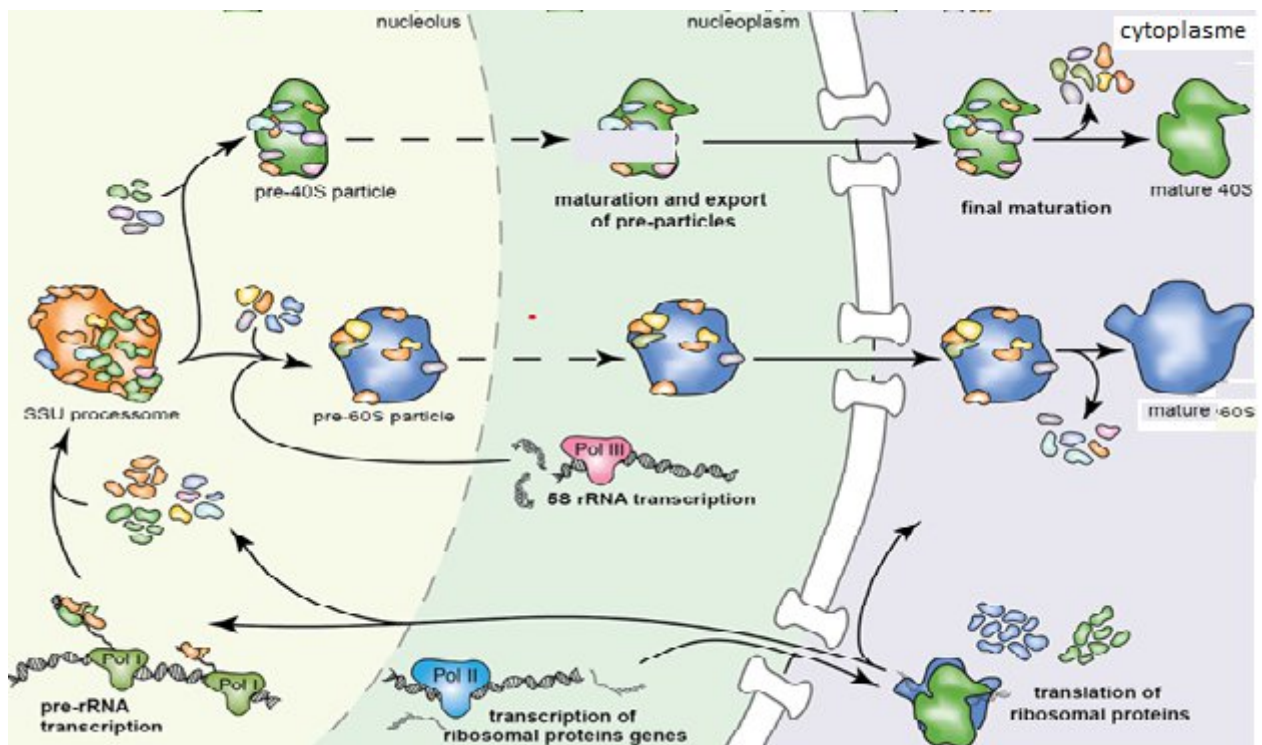


Fig.12 : Biosynthèse des ribosomes dans les cellules eucaryotes.