Noyau Interphasique

I. Présentation générale

1) Caractéristiques du noyau

= Compartiment subcellulaire protubérant (6% volume c. hépatique par exemple).
* Il fait 5 à 20 µm.
* est délimité par une enveloppe nucléaire constituée d'une double membrane poreuse.
* forme un compartiment particulier dans la c.
* le noyau = chromatine (ADN + protéines) + nucléole + molécules nécessaires au fonctionnement de l'ADN et à la maturation de l'ARN.

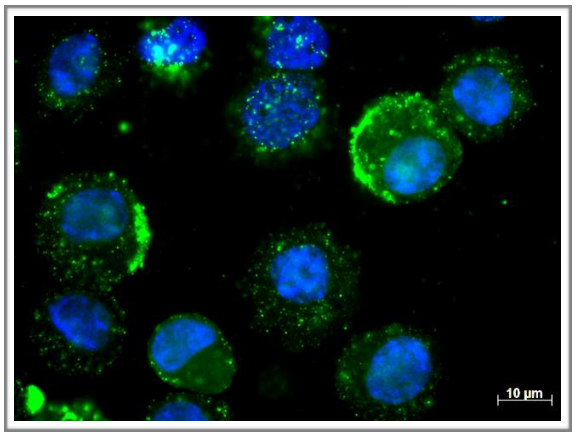
Ainsi le noyau contient la quasi totalité de l'ADN de la c.

3 grandes fonctions :
-> Stockage des molécules d'ADN (compacté sous forme de chromatine)
-> Synthèse des acides nucléiques (ADN, ARNt, ARNm, ARNr)
-> Transports nucléocytoplasmiques (via les pores).

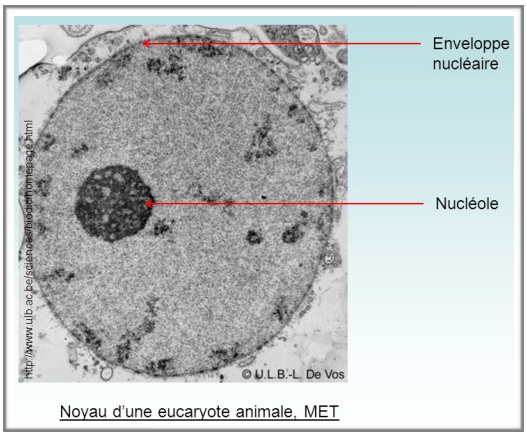
2) Techniques d'observation du noyau

Mis en évidence en microscopie photonique à fluorescence par coloration au DAPI (fluorochrome qui absorbe UV, émet du bleu, il interagit avec l'ADN : intercalant de l'ADN).

Aussi visible au MET, où l'on peut observer les ribosomes, pores nucléaires, membranes, chromatine et le nucléole.



Microscopie photonique à fluorescence par coloration au DAPI

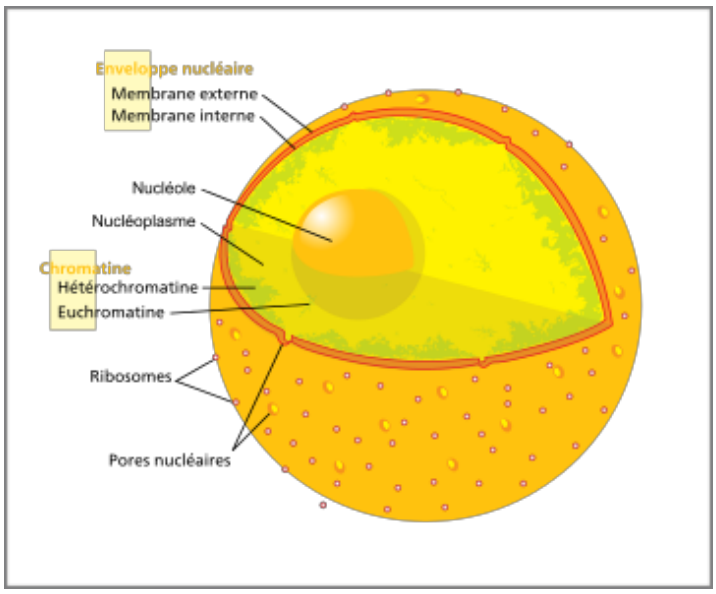


MET

3) L'enveloppe nucléaire

Le noyau est limité par l'EN qui est une double membrane (une interne et une externe).

La membrane externe est en contact avec le cytosol (on peut le reconnaitre grâce aux éléments qui y baignent comme les ribosomes).
La membrane interne est en contact avec la chromatine qui baigne dans le nucléoplasme.

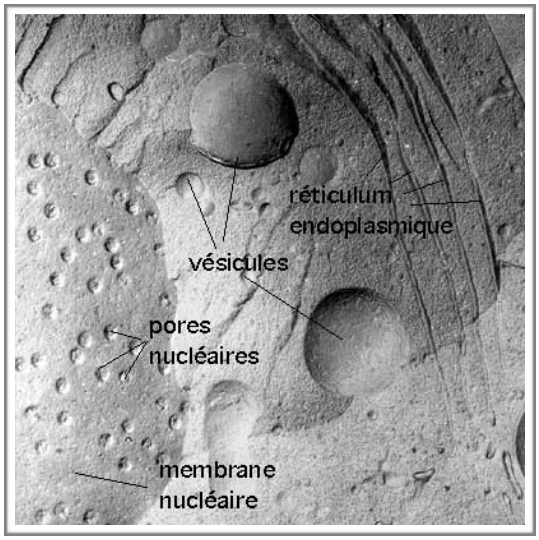


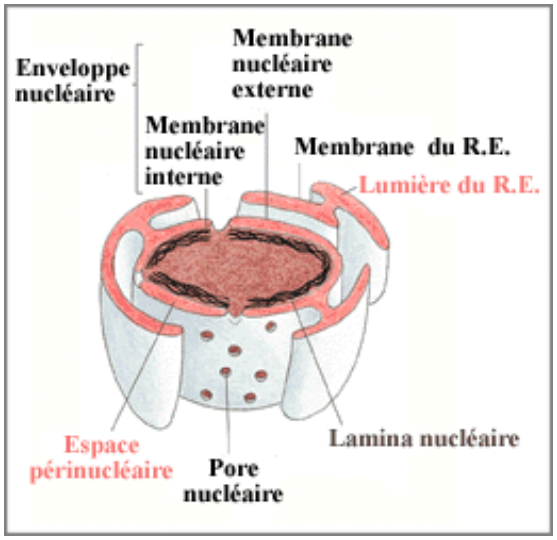
Ces 2 membranes sont séparées par l'espace périnucléaire.
Les pores nucléaires sont très denses aux électrons.
Il peut y avoir une continuité entre la membrane du RE et la membrane est de l'EN.

4) Les pores nucléaires

= structure multi-protéique formant un canal aqueux permettant le passage de certaines molécules du noyau vers le cytoplasme et inversement.

On observe les pores nucléaires au MET par cryofracture (un ombrage métallique suivi d'un moulage au carbone permet d'observer en relief les structures dont des protéines dans des membranes.).
On trouve environ 3500 pores nucléaires par enveloppe nucléaire.





Composés de protéines : les nucléoporines.

Ils sont constitués :
* d'un anneau nucléoplasmique situé sur la face nucléaire (face interne de l'enveloppe nucléaire)

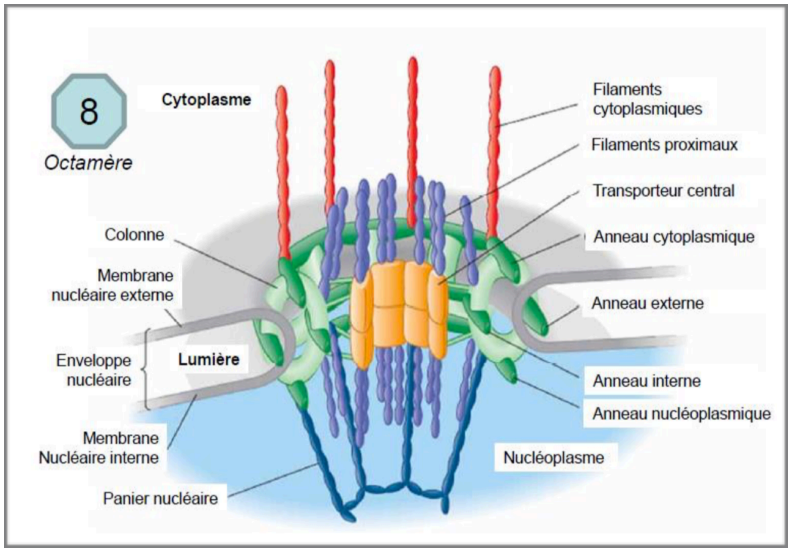
* d'un anneau cytosolique qui se trouve sur la face cytoplasmique

* d'un transporteur central

* de 8 rayons qui se projettent radialement depuis la paroi du pore jusqu'au transporteur central

* de 8 filaments cytoplasmiques attachés à l'anneau cytoplasmique du côté cytosol attachés à l'anneau cytoplasmique.

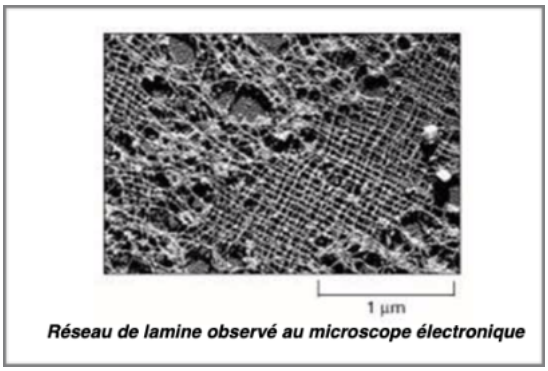
* des filaments nucléaires attachés à l'anneau nucléoplasmiques qui se rejoignent pour former le panier.



5) Les lamines

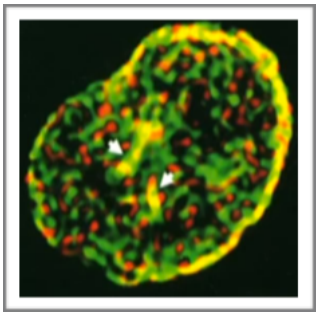
La lamina est une couche protéique de 0,2 µm qui tapisse la membrane nucléaire interne.
Elle est constituée de lamines, de FI qu'on retrouve exclusivement au niveau du noyau.

Il existe 3 sorte de lamines (A, B, C)

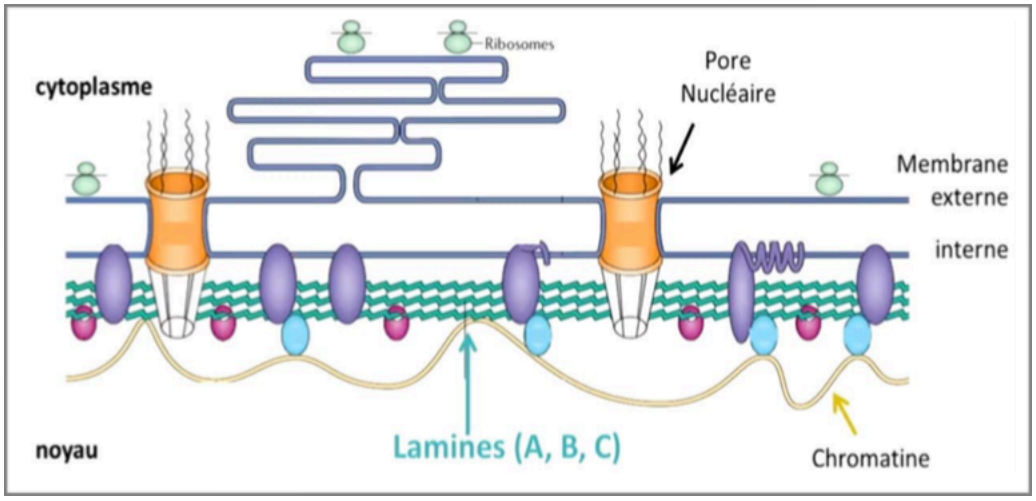


Réseau de lamine observé au microscope électronique

Ci-contre on peut voir une image de microscopie à fluorescence sur laquelle les noyaux sont marqués en rouge et les lamines en vert. Les zones jaunes sont donc les zones où la lamina colocalise avec les nucléoporines. Cela nous indique que la lamina est très proche des nucléoporines ce qui suggère fortement une interaction entres ces deux types de protéines.

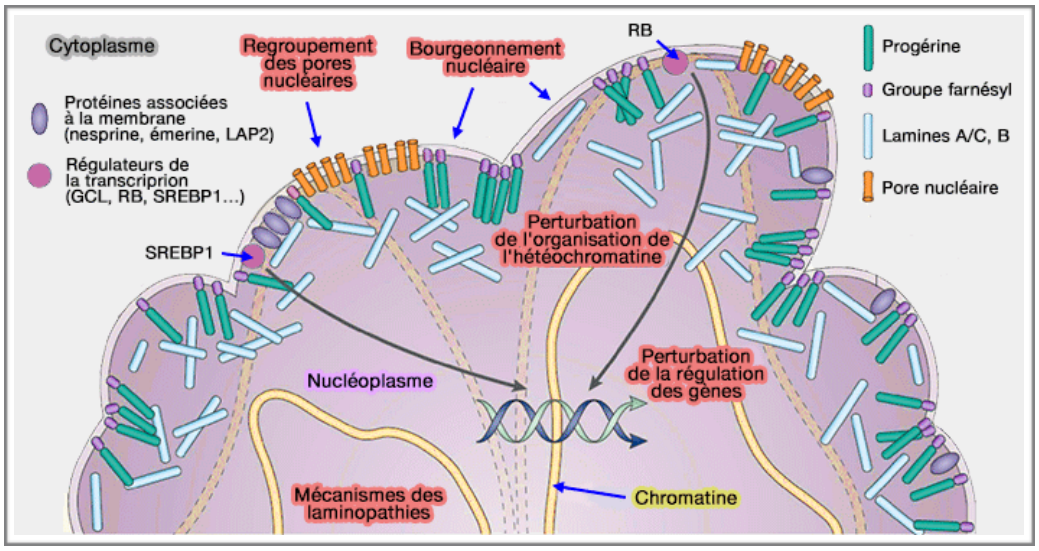


Comme illustré sur le schéma ci-dessous la lamine interagit avec les pore nucléaires, la chromatine (ADN) et des protéines transmembranaires qui les rattachent à la membrane. La lamina a donc un rôle principalement structural : elle permet que les pores soient répartis de manière homogène. Elle donne également sa forme au noyau et permet la bonne organisation de la chromatine.



Les lamines sont associées à l'enveloppe par des protéines transmembranaires.
Les lamines A et C sont issues du même gène.

Mutation de la lamine A dans le cas du syndrome Hutchinson-Gilford Progeria (vieillissement précoce).



-> Déstabilisation des protéines de l'enveloppe, désorganisation de l'hétérochromatine et perturbation des gènes

II. Chromatine

= complexe formé d'ADN, d'histones, et de protéines non-histones présent dans le noyau d'une c. eucaryote. C'est la chromatine qui forme les chromosomes.
(Hétérochromatine très dense aux électrons (plus compact) tandis qu'euchromatine peu dense (moin compact))

La chromatine n'est pas « figée » dans le noyau -> déplacement vers des territoires nucléaires pour l'expression des gènes.

⚠ Attention : il y a de l'ADN au niveau des mitochondries.

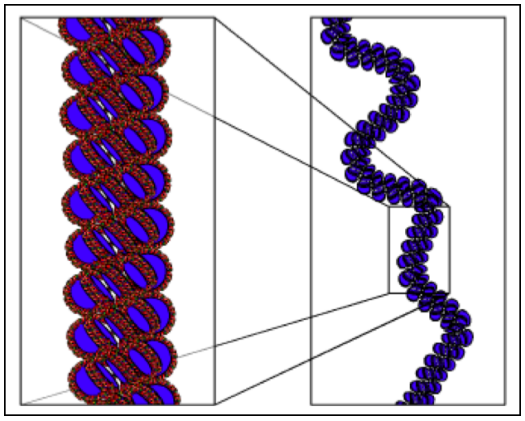
1) Le nucléofilament

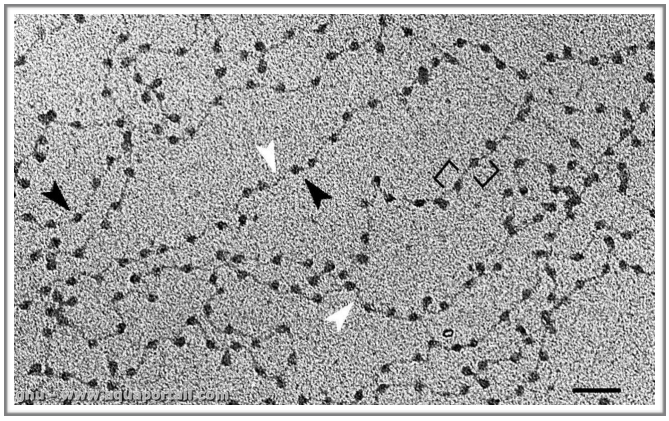
Technique d'étalement moléculaire

1. Lyse cellulaire en plongeant des c. dans de l'eau avec une très faible concentration saline (la différence d'osmolarité fait que l'eau entre dans la c. jusqu'à ce que les membranes explosent).
2. Ajout de détergent pour détruire l'enveloppe nucléaire
3. Ajout de polyanion qui sont des molécules chargées négativement. L'ADN étant chargé négativement, les polyanions ont pour conséquence de l'étaler.

La chromatine peut posséder une structure en solénoïde ou bien en « collier de perles » qui est moin condensée. On voit bien la succession de nucléosomes compactés.
La fibre de chromatine (forme solénoïde = 30 nm) et la fibre nucléosomique (forme collier de perle=11nm, ne possède pas d'histone h1) .

Même structure avec deux niveaux de compaction différents.





Le nucléosome (11nm)

= structure de base de la chromatine. Il est composé d'histones autours desquelles s'entoure de l'ADN.

Le nucléosome est composé :
* d'un octamère d'histone, 2 fois les histones 2A, 2B, 3 et 4
* de l'histone (aide à la compaction d'ADN) H1 qui s'intercale entre les 2 brins d'ADN
* de l'ADN qui fait deux tours autours de chaque octamère.

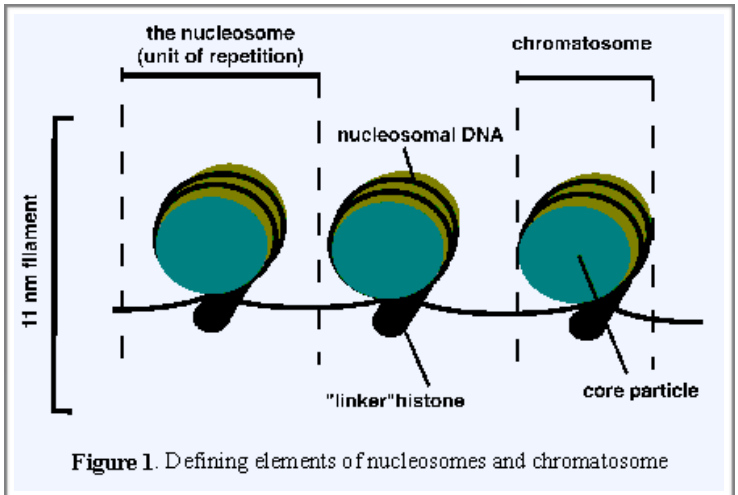
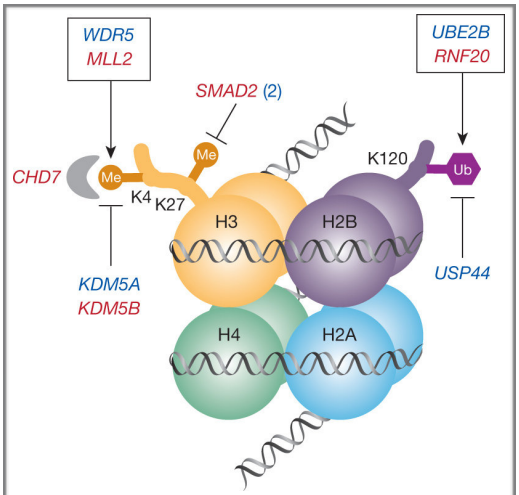


Figure 1. Defining elements of nucleosomes and chromatosome



Interactions électrostatiques : maintien de l'ADN autour de l'octamère d'histone.

Fonction des histones :
-> compaction de l'ADN grâce à des interactions électrostatiques, l'ADN est chargé - alors que les histones sont chargées +.
-> aident au repliement et au remodelage (transcription, réplication) de l'ADN grâce aux extrémités N terminales des histones.

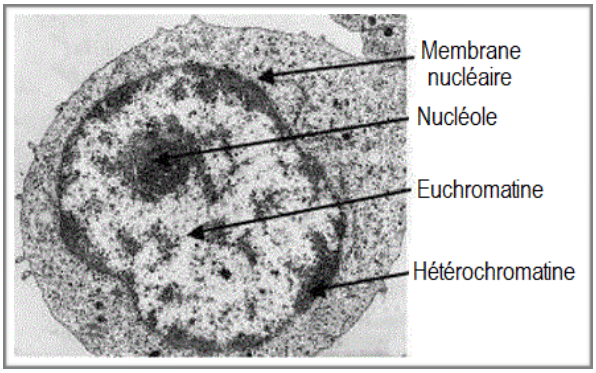
L'histone qui n'est pas dans l'octamère à un rôle à part : elle permet d'augmenter la compaction de l'ADN en faisant se croiser les brins d'ADN entrant et sortant de l'octamère (structure solénoïde).

In vivo, le nucléosome permet de moduler la compaction de l'ADN grâce à l'intervention de protéines régulatrices. Cela permet de rendre l'ADN plus accessible notamment lors de la réplication ou de la transcription de l'ADN.

2) Hétérochromatine et euchromatine

On distingue deux types de chromatine caractérisées par une différence de densité aux électrons.
Ils correspondant à deux niveaux de compaction différents de l'ADN.

Type de chromatine	Structure	Expression des gènes	Localisation
Hétérochromatine (HC)	+/- Condensée	**Non : Inactive** non transcrite	Contre la membrane nucléaire interne
Euchromatine (EC)	+/- Peu condensée	**Oui : Active** Peut subir transcription	Dispersée dans le nucléoplasme *Forme des boucles entre des zones d'HC*

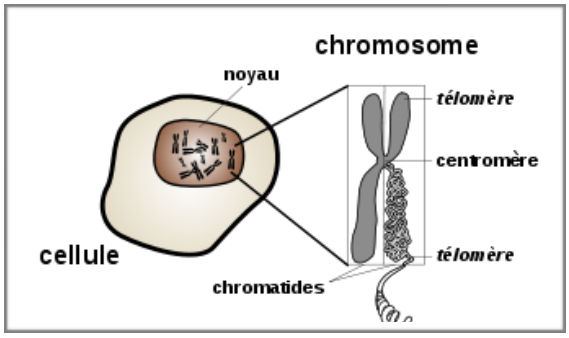


* L'hétérochromatine constitutive : n'est pas transcrite. On la trouve par exemple au niveau du centromère, des télémètres et du chromosome X.
* L'hétérochromatine facultative : peut se transformer en euchromatine et peut donc retrouver sa capacité transcriptionnelle.

⚠ ATTENTION : Aucune observation au microscope ne permet d'établir le degré de condensation de l'ADN.

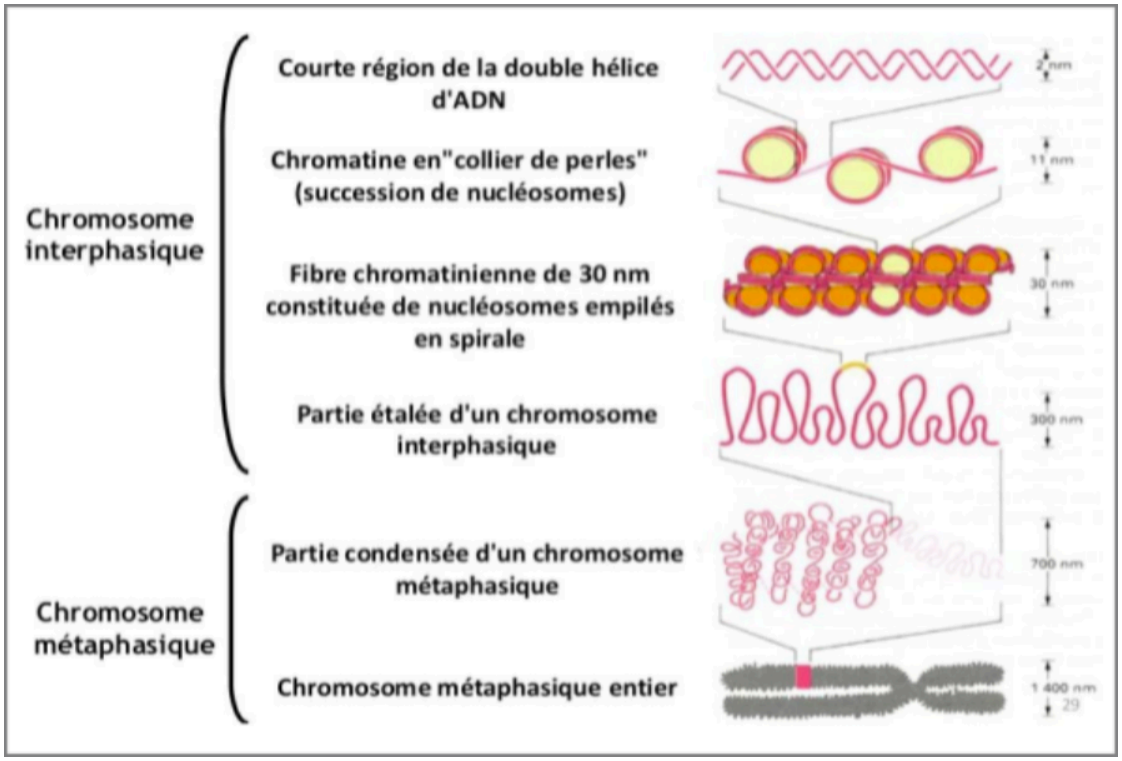
3) Les chromosomes

Les k. interphasiques sont organisés et individualisés à l'intérieur du noyau.



Chaque k. occupe un volume défini dans le nucléoplasme, appelé territoire chromosomique.

Les k. mitotiques correspondent eux au niveau maximum de condensation de la chromatine, on peut en observer 23 paires. Ils possèdent deux régions importantes :
-> les télomères qui correspondent à l'extrémité du k. et qui possèdent une séquence caractéristique d'ADN et répliquée spécifiquement.
-> le centromère : région « étranglée » d'un k. mitotique. Il permet notamment de maintenir les deux chromatides soeur. Région où le kinétochore se forme.



III. Le nucléole

=structure dans le noyau où l'ARN ribosomique (ARNr) est transcrit et les sous unités des ribosomes assemblées.

⚠ Il n'est pas entouré de membranes et n'est donc pas un organite.

Le nucléole est organisé autour des régions (boucles) chromosomiques appelées organisateurs nucléolaires qui comporte les gènes des ARN 47S. Ces régions correspondent à l'ADN des constrictions secondaires que l'on peut voir sur certains k mitotiques.Chez l'Homme les

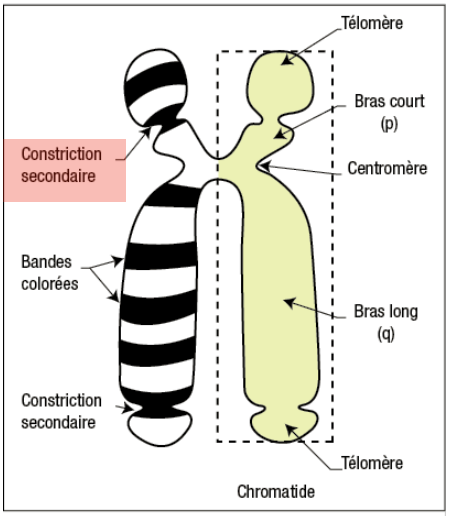


Fig. 5 – Morphologie d'un chromosome

séquences d'ARN 47S sont retrouvées sur les chromosomes (13, 14, 15, 21 et 22). Il existe donc 10 organisateurs nucléolaires dans un nucléole. de c. humaine.

IV. Les fonctions du noyau

1) Synthèses des acides nucléiques

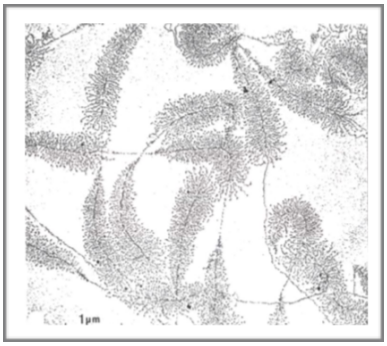
Transcription des ARN messagers (ARNm)

La transcription se fait en plusieurs étapes :

1. Formation d'un transcrit primaire par copie de certaines séquences du gène (introns + exons) par l'ARN polymérase II
2. Transformation du transcrit primaire en ARNm mature (uniquement les exons + coiffe GTP sur la partie N-terminale + queue polyA sur la partie C-terminale)
3. Export de l'ADN dans le cytosol et traduction en protéine

Transcription des ARN ribosomiques (ARNr)

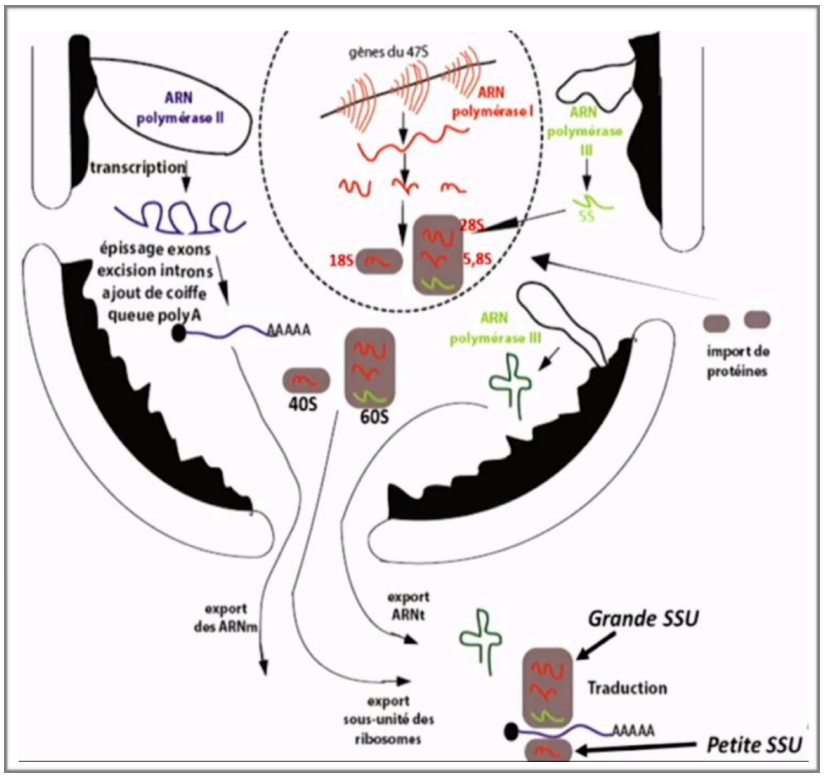
L'image d'étalement moléculaire ci-contre permet de visualiser la transcription des ARNr. On obtient une image dite "en sapin de Noël" : les troncs correspondent à un brin d'ADN portant une copie du gène du 47S et les branches à des ARNr en cours de synthèse par l'ARN polymérase I.



Vue d'ensemble

Le schéma ci-dessous représente les fonctions de transcription du noyau. La bande blanche représente l'enveloppe nucléaire et le noir à l'intérieur l'hétérochromatine. Le cercle en pointillés représente le nucléole. Dans le nucléole le gène du 47S est d'abord transcrit puis coupé pour donner :

➢ l'ARNr 18S, qui une fois assemblé dans le noyau avec des protéines importées du cytosol donne la petite sous-unité du ribosome (40S)



➢ les ARNr 28S, 5,8S s'assemblent avec l'ARN 5S qui est produit par l'ARN polymérase III hors du nucléole et des protéines importées du cytoplasme pour former la grosse sous unité du ribosome (40S)

Les deux sous unités sont ensuite exportées du noyau et forment le ribosome lors de la traduction des ARNm en protéines dans le cytosol.

Dans ce schéma, on voit également la production des ARN de transfert (ARNt) par l'ARN polymérase III dans le noyau. Ils seront ensuite exportés dans le cytosol pour participer à la traduction.

2) La réplication

Copie conforme de l'ADN pendant la phase S de l'interface.

3) Transports nucléocytoplasmiques

Il existe deux types de transport à travers le pore nucléaire, pour :

➢ les ions et les petites molécules, dont le poids moléculaire (PM) est inférieur à 40 kDa . Ils transitent par les canaux latéraux du pore, sans nécessité d'énergie : il s'agit de diffusion passive.

➢ Les grosses molécules qui passent par le canal central du pore, ce transport est plus lent et nécessite de l'énergie : il s'agit d'un transport actif.

Le cargo (= protéine à importer ou exporter) possède une séquence NLS lorsqu'il doit être importé dans le noyau et NES lorsqu'il doit être exporté du noyau. Ces séquence ne sont pas nécessaires pour certaines protéines comme la béta-caténine.

Importation d'un protéine

1. Dans le cytosol le cargo est reconnu et interagit avec le récepteur d'importation : l'importine
2. L'importine interagit avec les filaments cytoplasmiques du pore nucléaire
3. Passage de l'importine + du récepteur d'importation dans le noyau
4. Un petite protéine G (Ran-GTP) interagit avec l'importine ce qui a pour conséquence de libérer le cargo
5. Interaction de Ran-GTP et de l'importine avec les pores nucléaires
6. Passage dans le cytosol

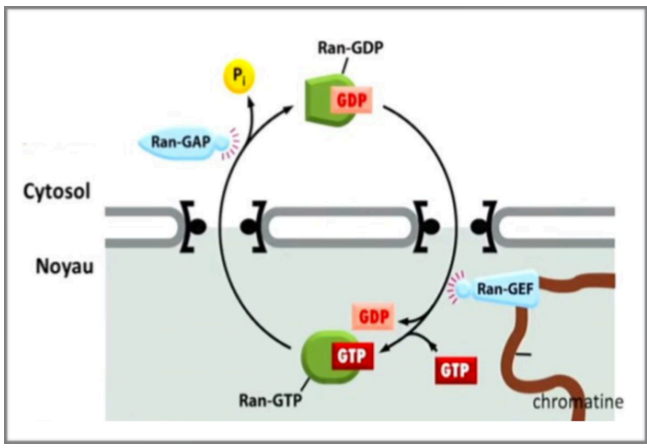
7. Hydrolyse du GTP du Ran-GTP en GDP. Le Ran-GDP ayant une conformation différente du ran GTP il se dissocie de l'importine.

Protéines Ran

La protéine Ran-GAP permet l'hydrolyse de Ran-GTP en Ran-GDP, elle est uniquement présente dans le cytosol

Dans le noyau, la protéine Ran-GEF permet d'échanger le GDP de Ran contre du GTP.

Une autre protéine, la NTF2, transporte le Ran-GDP du cytoplasme au noyau.



Exportation d'une protéine dans le noyau

1. Le cargo portant une séquence NES, le récepteur d'importation et le RAN-GTP interagissent ensemble
2. Ce complexe interagit avec le pore nucléaire
3. Passage dans le cytosol
4. Hydrolyse du GTP et libération de Ran et du Cargo
5. Le récepteur d'exportation interagit avec le pore
6. Passage dans le noyau

