

LE NOYAU INTERPHASIQUE DE LA CELLULE EUKARYOTE

①

Le noyau des cellules eucaryotes est un globule réfringent (la réfraction est le phénomène au cours duquel la lumière dévie de sa trajectoire rectiligne en changeant de vitesse lorsqu'elle passe d'un milieu transparent à un autre), granulé, non homogène, colorable (techniques histologiques). Décrit par Brown en 1832, le noyau en interphase apparaît en microscopie optique après coloration, comme une masse plus ou moins ovoïde bien distincte, de 5 à 6 μm (autres estiment que sa taille va de 10 à 20 μm), cernée par une membrane nucléaire phospholipidique.

Le noyau forme un compartiment volumineux (3 à 10% du diamètre, soit 20 à 25% du volume cellulaire total selon les cellules), présent dans toutes les cellules eucaryotes sauf les hématies.

N.B.: Les Kératinocytes, qui sont les principales cellules de l'épiderme, contiennent un noyau. Ce noyau est essentiel pour le contrôle de la synthèse des protéines et la régulation des faits cellulaires. Au fur et à mesure que les Kératinocytes se déplacent vers la surface de la peau, ils perdent leur noyau et deviennent des cellules mortes, remplies de Kératine (substance protéique). Ainsi, les Kératinocytes se transforment en cornéocytes (qui sont résistants et imperméables). Donc, les cornéocytes sont des cellules mortes, sans noyau.

Il peut être présent en un seul ou plusieurs exemplaires dans la cellule (cellules polynucléées : les cellules musculaires striées, les ostéoclastes ... - cellules binucléées : hépatocytes, cellules cardiaques, cellules de l'épithélium urinaire ...).

⇒ Les cellules polynucléées (ostéoclastes ...) comprennent 30 à 50 noyaux.

La position du noyau est souvent centrale : lymphocytes, fibroblastes, cellules des glandes endocrines ..., mais il peut être aussi :

- refoulé à la base de la cellule : cellules muqueuses, cellules exocrines ... (cellules prismatiques ou cubiques).
- périphérique : cellules musculaires, adipocytes ...

Le noyau adapte sa forme à celle de la cellule qui le porte (généralement sphérique / arrondi), mais peut être aussi :

- ovalaire (allongé) : dans les cellules du muscle lisse, les fibroblastes, les entérocytes ...
- aplati dans les cellules muqueuses.
- multilobé (plurilobé) dans les granulocytes, les polynucléaires ...
- avec bourgeonnements dans les mégacaryocytes.

La forme serait également liée à l'activité cellulaire.

La taille du noyau varie d'une cellule à une autre selon la quantité de la chromatine existante. Son volume est donné par le rapport nucléo-cytoplasmique :

Rq. : Les hépatocytes contiennent 2 noyaux sphériques.

$$R.N.P \text{ (ou } R) = \frac{\text{Le volume nucléaire (} V_n)}{(\text{Volume cellulaire} - \text{Volume nucléaire}) (V_c)} = \frac{V_n}{V_c}$$

2

Le rapport est élevé dans les cellules souches et les cellules jeunes : il est faible dans les cellules différenciées adultes. Le RNP spécifique de l'espèce est atteint au stade Blastula et diminue au cours du vieillissement. Les critères sont utilisés pour le diagnostic des cellules tumorales (critère d'activité cellulaire). Dans le cas de cellules cancéreuses, le RNP s'approche de 1/2. (+ hyperplasiques - métaplasiques...)

R.N.P \uparrow \equiv activité cellulaire intense.

\rightarrow Le rapport normal est d'environ 1/4 ou 1/5.

N.B.: Pour les cellules souches, le RNP est aux alentours de 2:1, 1:1, 4:1. Et pour les cellules différenciées, il va de 1:3 à 1:6, voire plus bas dans les cellules très spécialisées.

(Un rapport de 2:1 signifie que pour chaque deux unités de volume nucléaire, il y a une unité de volume cytoplasmique. Cela se traduit par une proportion où le noyau est 2 fois plus volumineux que le cytoplasme.)

Le noyau est constitué d'une enveloppe nucléaire. Observée sur coupes minces après coloration positive (si la coloration est positive, cela signifie que la substance cible est présente dans l'échantillon), l'enveloppe nucléaire apparaît formée de deux membranes (interne et externe) tri-stratifiées* de 75 Å d'épaisseur chacune. Ces deux membranes sont séparées d'un espace pénucléaire de 200 à 400 Å de large (soit 30 nm).

Rq: * Membranes tri-stratifiées: chaque membrane est composée de 3 couches (ou strates) de lipides.
 ** 75 Å (Angströms): cette unité de mesure indique l'épaisseur de chaque membrane: 1 Å = 10⁻¹⁰ m, donc 75 Å équivaut à 7,5 nanomètres. C'est une épaisseur typique pour les membranes biologiques.

- ① La membrane nucléaire externe: garnie de ribosomes - en continuité avec le réticulum endoplasmique granulaire (rugueux) - en contact avec la corbeille pénucléaire.
- ② La membrane nucléaire interne: tapissée intérieurement par la lamina nucléaire - possède des récepteurs pour les histones.

N.B.: La membrane externe n'est pas en contact avec les lamines (ou la lamina).

L'enveloppe nucléaire est une barrière sélective entre le cytosol et le nucléoplasme, c'est aussi un site de stockage de Ca²⁺. Elle délimite le nucléoplasme et la matrice nucléaire (composée de nucléosquelette "lamina" toujours en interaction avec la chromatine + "filaments CPN") (filaments du cytosquelette).

Rq: Quand on parle de filaments, il y en a trois types (appelés filaments intermédiaires):

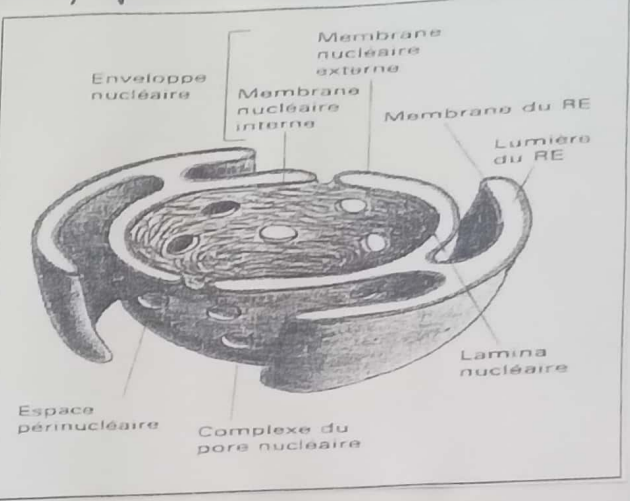
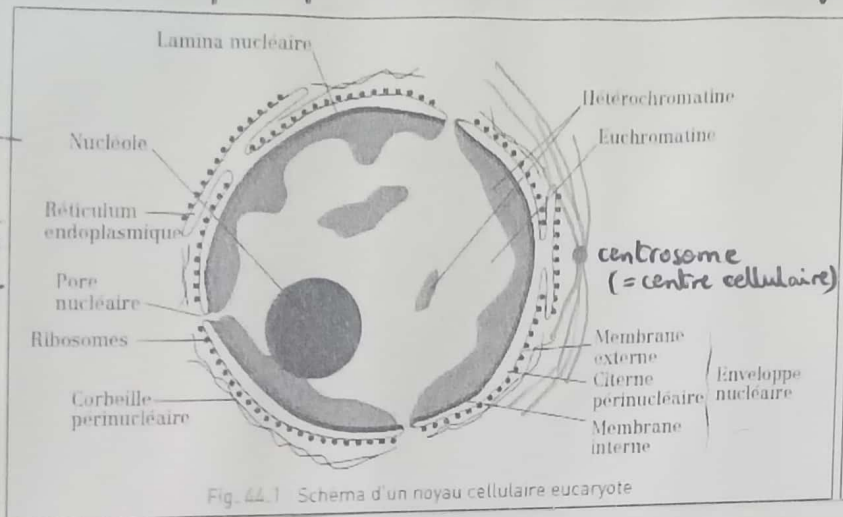
- les lamines: présents dans le noyau.
- les kératines: dans les cellules épithéliales.
- la vimentine: présente dans les cellules mésenchymateuses.

Il y a aussi d'autres types de filaments: les microfilaments - les microtubules...) dans le cytoplasme.

Les deux membranes (externe et interne) se rejoignent au niveau des pores nucléaires. L'enveloppe nucléaire ne peut être franchie qu'au niveau des pores nucléaires (2000 à 4000/noyau). La coloration négative révèle que le pore nucléaire est une structure complexe qui permet les échanges entre le nucléoplasme et le cytoplasme.

CONSTITUANTS DU NOYAU

- Le noyau; non homogène:
- territoires chromosomiques.
 - Nudéole: transcription des gènes des ARNr.
 - Corps de Cajal: régulation et assemblage des SnARN.
 - Granules (speckles): lieu de maturation, épissage.



Le nucléoplasme renferme:

- l'information génétique compactée sous forme de chromatine* (chaque chromosome y occupe une place définie).
- la matrice nucléaire ou nucléosquelette qui comprend la lamina nucléaire: couche protéique de 0,2 μm d'épaisseur, située au contact de la membrane nucléaire interne.
- un ou plusieurs nucléoles.

Rq: l'enveloppe nucléaire contient sur ses membranes interne et externe des protéines intégrées (glycoprotéines).

N.B: La chromatine ← euchromatine: peu condensée = active → modifications en fin de cycle cellulaire.
hétérochromatine: condensée = inactive. (90% de l'ADN) (répartie dans les centromères, télomères, ADN répétés).

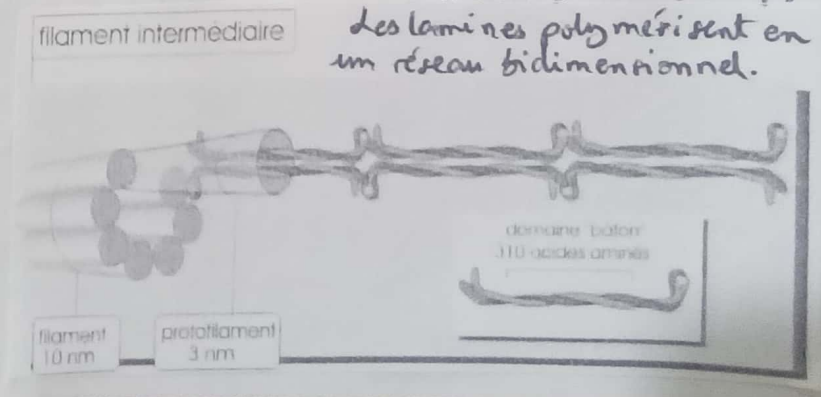
La lamina structure et solidifie la membrane nucléaire.

⇒ Dans la membrane nucléaire, il existe 2 types de laminas:

- lamina A et C (type A) présentes dans toutes les cellules, sous forme décondensée.
- lamina B1 et B2 (type B) présentes uniquement dans les cellules indifférenciées, sous forme condensée.

Rq. Les laminas n'ont pas seulement un rôle dans l'architecture nucléaire, mais elles participent aussi à la transcription, à la duplication et à la réparation d'ADN.

Rq: Les laminas disparaissent lors de la division cellulaire (mitose).



Structure des pores nucléaires :

Un pore nucléaire est structure complexe en « panier de basket » et de symétrie d'ordre 8 car la périphérie du pore est bordée par une structure cylindrique, l'annulus, organisée suivant une symétrie octogonale (8 sous unités annulaires).

Sur la face hyaloplasmique du complexe, le pore est en relation avec des microfilaments (du cytosquelette), perpendiculaires à la surface de l'enveloppe; Au sein du pore, on retrouve deux grands anneaux de taille identique ancrés sur les deux faces (diamètre : 120 nm). Chacun des deux anneaux est relié au transporteur central par 8 bras radiaires.

- Sur la face nucléoplasmique, un troisième anneau de diamètre inférieur est situé dans le nucléoplasme. Il est relié à l'anneau de la face nucléoplasmique par des microfilaments organisés en cage. La lamina nucléaire est interrompue au niveau du pore.

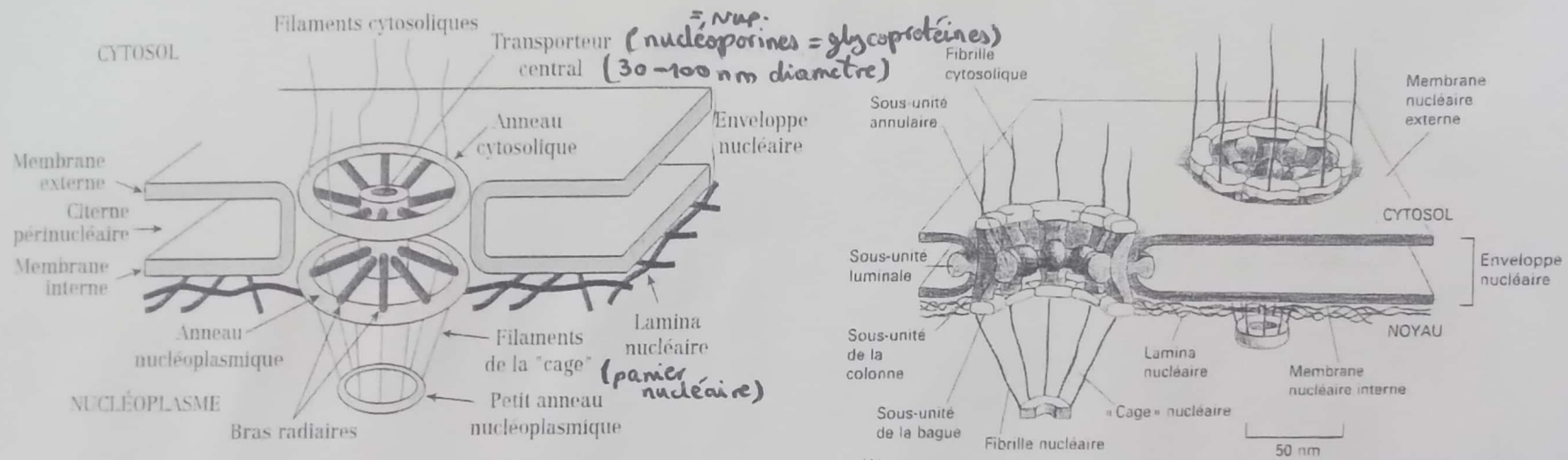


Fig3 : Vue de profil d'un pore nucléaire (schéma globale et coupe transversale) (MICROSCOPE ÉLECTRONIQUE).

La localisation des pores nucléaires est encadrée (jonction des 2 membranes interne et externe).

Le nombre de pores varie en fonction de l'activité du noyau.

Le pore nucléaire contient un total de 8 complexes protéiques structuraux (30 différentes nucléoporines) formant chacun une unité fonctionnelle (transport de substances entre noyau et cytoplasme).

Les lamines permettent de stabiliser le pore nucléaire (importance de gp210), ainsi que les autres protéines.

N.B la gp210 est une protéine intégrale de la membrane nucléaire interne, impliquée dans l'assemblage du pore nucléaire et contribuant à la régulation de l'importation et l'exportation de protéines et d'ARN.

⇒ Les anticorps Ac. anti-gp210 sont des auto-anticorps dirigés contre la protéine gp210 (maladies auto-immunes) = inflammation du foie suite à une destruction des voies biliaires ; pas de traitement efficace + la prise en charge s'appuie sur des médicaments de soulagement.

↳ "cholestamine" = soulagement des prurits, a. ursodeoxycholique = réduire les dommages

— TRAFFIC MOLÉCULAIRE À TRAVERS LE PORE NUCLÉAIRE

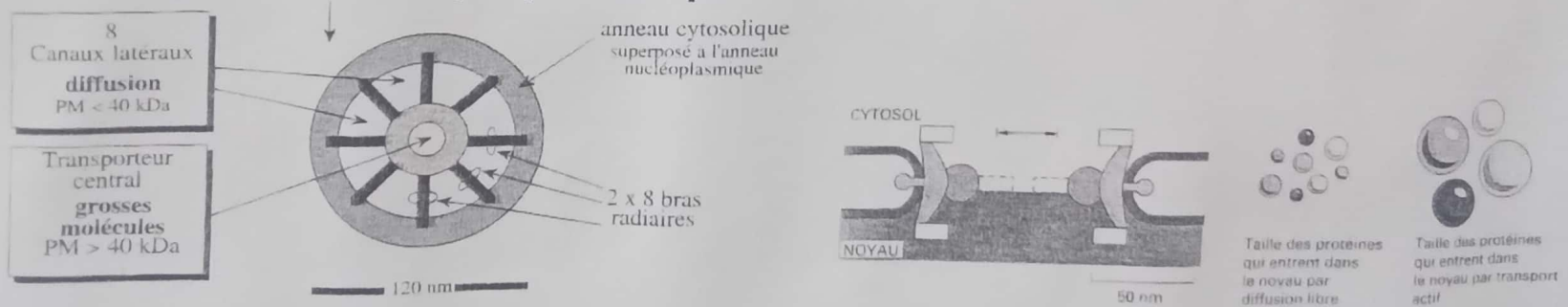
Transport des molécules de PM < 40 kDa

Cela concerne les nucléotides, les ions et les petites protéines. Ces molécules traversent les pores par **diffusion**, sans consommation d'énergie. Elles empruntent les **canaux latéraux**. (passage en diffusion passif(ve)).

→ Puisque le pore nucléaire comporte un cylindre protéique de grande taille au centre de la lumière du pore (le transporteur central), les mouvements de protéines à travers le pore nucléaire implique des navettes entre le cytosol et le cytoplasme (complexes protéiques):

- 1- Importines: elles facilitent l'importation de protéines dans le noyau en reconnaissant des séquences spécifiques appelées signaux de localisation nucléaire (NLS) → (riche en lysine et arginine).
- 2- Exportines: elles transportent des protéines et des ARN du noyau vers le cytoplasme, en se liant à des signaux d'exportation (NES) → (riche en leucine).
- 3- Ran: protéine accessoire, activée par fixation de GTP, qui régule l'importation et l'exportation.
- 4- Karyophélines: groupe de protéines induisant à la fois des importines et des exportines.

Les échanges nucléo-cytoplasmiques :



Les CPN (cellules du pore nucléaire) sont le lien présumé du trafic moléculaire = importance vitale dans la régulation des activités nucléaires (transcription, réplication..).

Fig5 : Le transport différentiel des molécules

Les échanges se déroulent dans les deux sens :

- Du cytosol vers le nucléoplasme = **Import.**
- Du nucléoplasme vers le cytosol = **Export.**

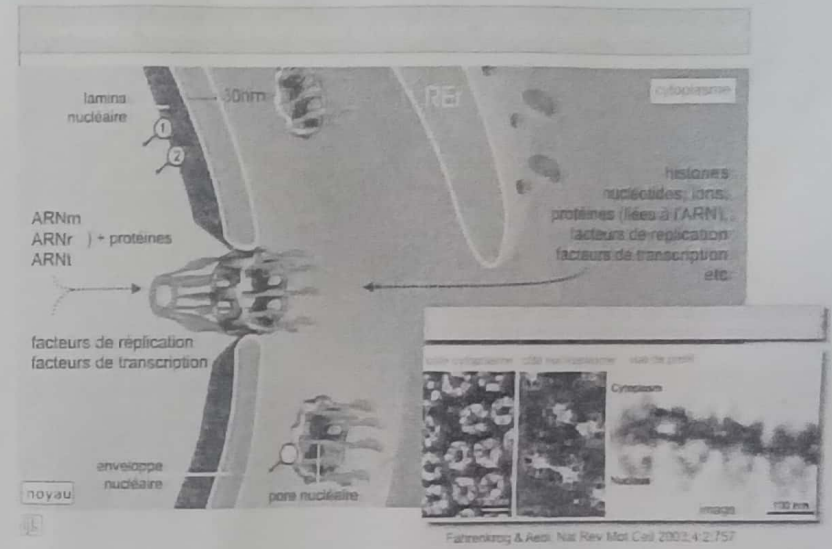
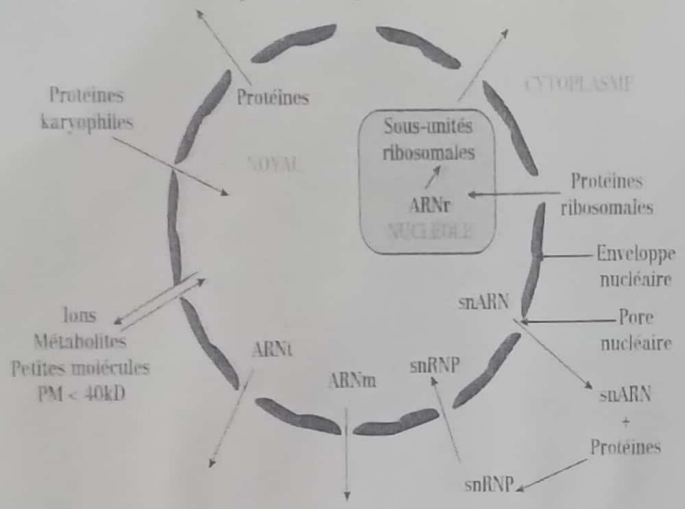


Fig6 : Echanges nuléocytoplasmiques

Transport des molécules de PM > 40 kDa

Ces molécules empruntent le **transporteur central** et leur transport **consomme de l'énergie**. Le transport se fait en quatre étapes successives :

Étape 1 : Dans le compartiment de départ, la molécule à transporter (= **cargo**) s'associe à deux types de protéines spécialisées pour former un **complexe d'importation ou d'exportation**.

- **Les complexes d'importation** sont formés d'**importine** α (seule ou associée à l'importine β) et de la protéine **Ran**. Les protéines importées portent une séquence signal **NLS** (*Nuclear Localization Signal*). *(Les importines soit α seule ou associée à l'importine β)*
- **Les complexes d'exportation** sont formés d'**exportine** et de la protéine **Ran**. Les protéines exportées portent une séquence signal **NES** (*Nuclear Exportation Signal*). *(Les exportines β et à la protéine Ran).*

Étape 2 : Les importines et les exportines des complexes interagissent avec les nucléoporines pour faciliter le transport.

Étape 3 : Dans le compartiment d'arrivée, le complexe se dissocie et libère la molécule transportée.

Étape 4 : Les importines et les exportines retournent dans le compartiment de départ en empruntant le transporteur central.

Les cargos doivent nécessairement présenter le signal.

> Rôle de la protéine Ran dans le transport nucléaire :

Ran est une protéine essentielle pour le transport nucléaire et la régulation des processus cellulaires. Son rôle ds le maintien de l'équilibre entre les formes GTP et GDP est fondamental pour la dynamique cellulaire.

Ran est une protéine G monomérique, qui existe sous deux formes principales : Ran-GTP (lorsqu'elle est liée à un groupe phosphate) et Ran-GDP (lorsqu'elle déphosphorylée). La concentration de Ran-GTP est plus élevée dans le noyau, tandis que Ran-GDP prédomine dans le cytoplasme.

Ran est essentiel pour le transport des protéines entre le noyau et le cytoplasme :

- Importation : les protéines contenant un (NLS) sont reconnues par les importines. Lorsqu'elles pénètrent dans le noyau, Ran-GTP se lie à l'importine, provoquant la libération de la protéine cible. (I)
- Exportation : les protéines dotées d'un (NES) interagissent avec des exportines. Dans le noyau, Ran-GTP se lie à l'exportine et à la protéine cargo, facilitant le transport vers le cytoplasme. (II)

N.B L'échange de GDP par GTP est stimulé par Ran-GEF. Ran-GEF est exclusivement nucléaire, RCC1 est la principale Ran-GEF identifiée dans les cellules. Elle est cruciale pour la décondensation des chromosomes et la régulation des événements du cycle cellulaire, d'où son nom : (Regulator of Chromosome Condensation 1).

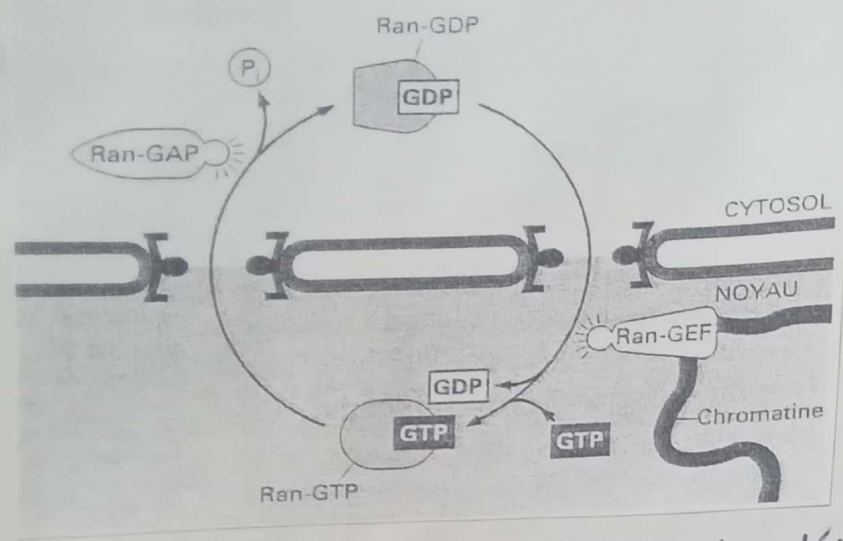
> CYCLE DE RAN

- 1 Importation de Ran-GDP dans le noyau (depuis le cytoplasme).
- 2 Activation de Ran-GDP en Ran-GTP : par la protéine RCC1.
- 3 Interaction avec les protéines importées (voir I).
- 4 Exportation de Ran-GTP vers le cytoplasme (voir II).
- 5 Hydrolyse de Ran-GTP en Ran-GDP :
Ran-GAP (Ran GTPase activating protein) catalyse l'hydrolyse du GTP en GDP, transformant Ran-GTP en Ran-GDP. Cela permet de libérer la protéine exportée du complexe (l'importine β..).
- 6 Retour du Ran-GDP au noyau : - cycle continu -
Ran-GDP retourne ensuite au noyau pour recommencer le cycle.

⇒ La liaison de Ran-GTP à l'importine bêta change sa conformation (c.à.d sa structure tridimensionnelle), ce qui libère le cargo.

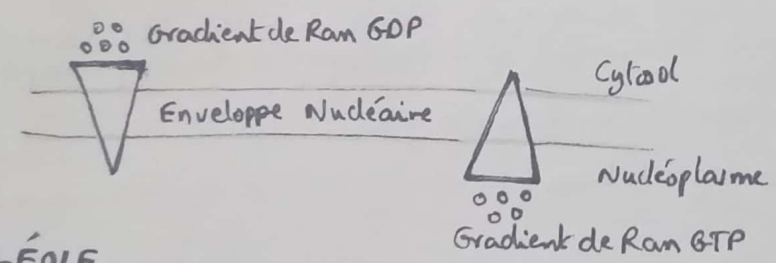
Rq Ran-GTP-ase se trouve à la fois dans le cytoplasme et dans le noyau : Ran, que dans le cytosol.

N.B : Ran-GAP est localisé au niveau du complexe de désassemblage qui est situé sur les filaments cytosoliques accrochés au grand anneau cytosolique des pores nucléaires.



L'importine β a plus d'affinité pour la protéine NLS que pour Ran-GDP, et plus d'affinité pour Ran-GTP que pour la protéine NLS.

- Ex. > Import de la prot. rétinoblastome (Rb); → (importines α et β)
- Ex. > Export de la protéine STAT 2 - export des ARN.



> LE NUCLÉOLE

C'est le site de biosynthèse des ribosomes (la cellule peut en synthétiser 2000 à 3000/min). La transcription des ARN^s (sauf le 5S) et leur maturation conduisent à la formation des sous-unités des ribosomes (machinerie au sein du nucléole). Il peut y avoir plusieurs nucléoles par noyau (mais généralement on n'en compte qu'un seul). Le nucléole est dépourvu de membrane, donc jamais considéré comme un organelle, il disparaît au début de la mitose et se reconstitue à la fin de celle dernière. Le nucléole est associé à une hétérochromatine dense constitutive, abondante à la périphérie du nucléole, et qui s'enfonce au cœur de la structure en se mêlant étroitement aux autres constituants nucléolaires. (NB: * La fabrication des ribosomes est interrompue durant la mitose (absence de nucléole)).

Fig7 : 02 voies des transports nucléo-cytoplasmiques.

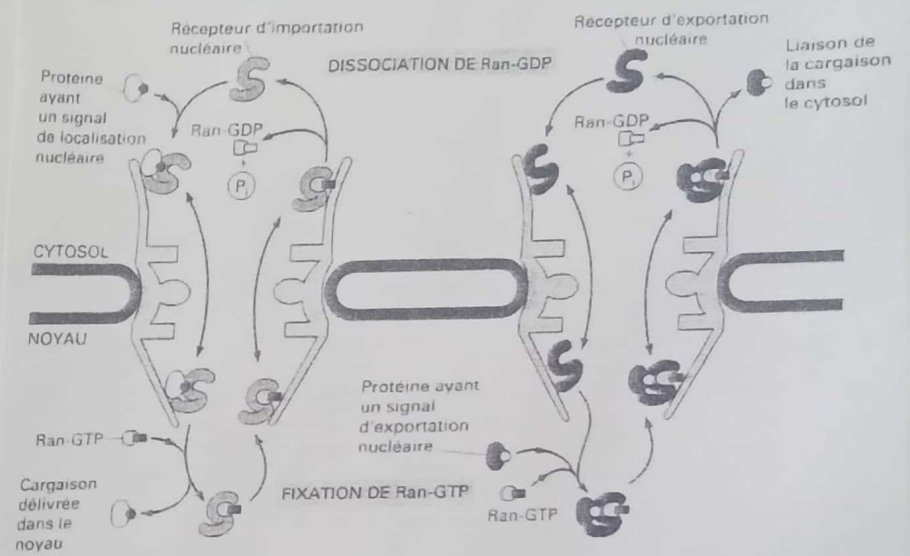
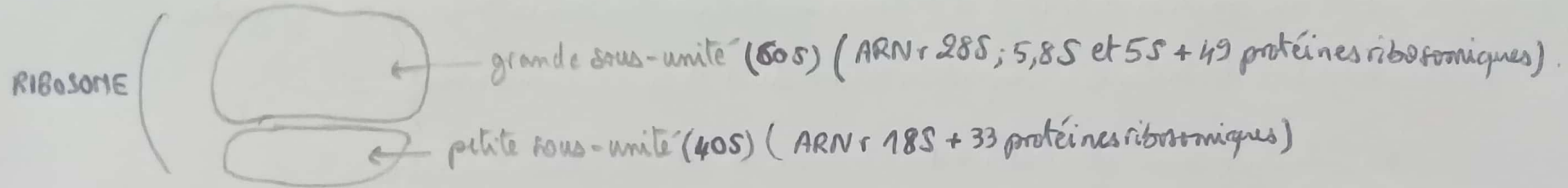


Fig9 : Formation du complexe d'import ou D'export.

Le nucléole contient les gènes codant pour les ARNr ainsi que des particules contenant les ARNr 18S et 28S. (9)

L'apparence du nucléole varie en fonction de son activité. Chez les eucaryotes, quand la biogenèse des ribosomes est active, le nucléole est organisé en trois composants majeurs visibles en microscopie électronique :

- ① - les centres fibrillaires : régions claires (0,1 à 1 μ m).
- ↳ entourés par : ② - le composant fibrillaire dense : (contrasté en microscopie).
- ↳ les deux composants sont enchâssés dans : ③ - le composant granulaire constitué de granules de 15 à 20 nm.



Rq Le nucléole est généralement peu visible ou absent (cellules à faible activité métabolique).

N.B

> Rôle du nucléole :

Pour passer du pré-ARNr à un ribosome fonctionnel, plusieurs étapes sont nécessaires :

- 1) Transcription : Le pré-ARNr est transcrit dans le nucléole à partir de l'ADNr ribosomique (ADNr).
- 2) Clivage : Le pré-ARNr est divisé en plusieurs fragments qui formeront les différents ARNr (18S; 5,8S; 28S).
- 3) Modifications chimiques : Le pré-ARNr subit la méthylation, la pseudouridylation, ...
- 4) Assemblage avec des protéines ribosomiques : Synthétisées dans le cytoplasme, elles sont importées dans le nucléole.
- 5) Formation et maturation des sous-unités : dans le nucléole.
- 6) Exportation vers le cytoplasme : une fois matures, les deux sous-unités sont exportées dans le cytoplasme.
- 7) Assemblage final : les sous-unités s'assemblent autour d'un ARNm pour former un ribosome fonctionnel, prêt à synthétiser des protéines.

> Le nucléoplasme: son rôle est peu connu; contient le nucléole, la lamine, ..., riche en cations (Na^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+}).
↳ subit un désassemblage lors de la mitose. (10)

> Les histones sont des protéines associées à la chromatine (condensation) = protéines basiques (H_1 , H_2A , H_2B , H_3 et H_4).
Les histones sont chargées positivement = forte liaison avec l'ADN chargé négativement.

Le nucléosome est un complexe d'ADN et d'histones \rightarrow octamère d'histones de structures différentes.

La phosphorylation des histones = compaction maximale d'ADN (chromosomes).

Rg: Le chromosome est circulaire dans le noyau de certaines cellules tumorales.

N.B Pour l'ARNr, des gènes situés sur certains chromosomes (comme 13, 24, 15, 21 et 22 chez l'Homme) sont transférés pour produire des précurseurs d'ARNr.