

CAHIER PASS

Biologie cellulaire

LE NOYAU

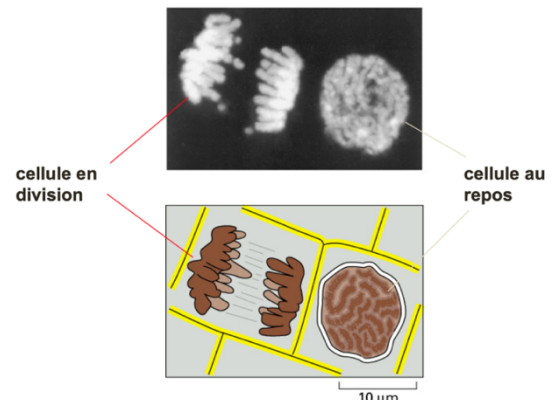
2021-22

Table des matières

I.	L'ADN représente le matériel génétique.....	3
A.	Expérience établissant que l'ADN est le matériel génétique.....	3
B.	Structure de la double hélice d'ADN	3
C.	Échelle du génome humain.....	4
II.	Chez les eucaryotes, l'ADN est contenu dans le noyau	4
III.	L'ADN des cellules eucaryotes est empaqueté dans des chromosomes.....	4
A.	Des colorants révèlent des profils de bandes particuliers sur les chromosomes humains.....	5
B.	Organisation des gènes sur un chromosome humain	5
C.	Les chromosomes changent d'aspect au cours du cycle cellulaire	6
IV.	L'ADN des chromosomes est très fortement condensé par des protéines.....	7
A.	Les nucléosomes.....	7
B.	La fibre de chromatine de 30 nm	8
C.	Les queues d'histone	10
V.	Deux conditions exceptionnelles permettent de proposer un modèle de condensation des chromosomes en interphase	11
A.	Chromosome en écouvillon d'ovocyte d'amphibien.....	11
B.	Chromosomes polyténiques d'interphase des glandes salivaires de la Drosophile	12
C.	Modèle de structure d'un chromosome d'interphase	13
VI.	L'hétérochromatine est très fortement organisée et habituellement résistante à l'expression des gènes 13	
A.	L'extrémité des chromosomes présente une forme particulière d'hétérochromatine	14
B.	Les centromères aussi sont condensés sous une forme particulière d'hétérochromatine	14
VII.	Caractéristiques des chromosomes.....	15
A.	Les chromosomes mitotiques représentent la forme la plus condensée de la chromatine	15
B.	Les chromosomes présentent plusieurs niveaux d'empaquetage de l'ADN	15
C.	Chaque chromosome contient une structure caractéristique faite de grands domaines	16
D.	Chaque chromosome occupe un territoire restreint du noyau	16
VIII.	Les sous-compartiments du noyau	17
IX.	Les complexes du pore nucléaire	19
X.	Annales classées corrigées	21

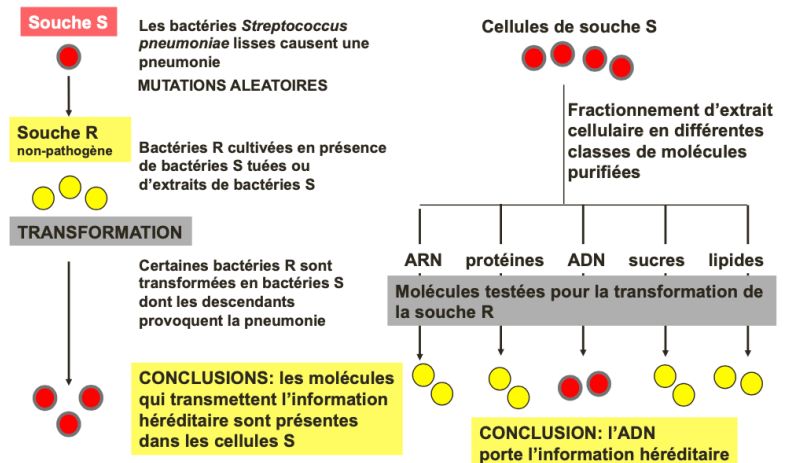
I. L'ADN représente le matériel génétique

- Le noyau contient l'ADN = matériel génétique.
- L'ADN prend des aspects différents (chromosomes) selon que l'on se situe en mitose ou en interphase du cycle cellulaire. (Ici, visualisation de l'ADN avec DAPI)



A. Expérience établissant que l'ADN est le matériel génétique

- Bactéries Streptocoques de Souche S (à paroi lisse) responsables de pneumonie chez la souris soumises à un agent génotoxique pour faire des mutations aléatoires.
- Parmi les descendants, sont apparus des bactéries avec paroi rugueuse (souche R) non pathogènes.
- Puis on a pris des extraits de souches S ou des souches S tuées qu'on met en présence de souche R.
- Des bactéries R sont transformées en bactéries S capables de provoquer une pneumonie. L'information héréditaire est présente dans les souches S.
- Ensuite, à partir d'extraits de bactéries S : séparation biochimique des composants selon leur nature. C'est quand on introduit de l'ADN que les souches R sont transformées en S. **L'ADN porte donc l'information héréditaire.**

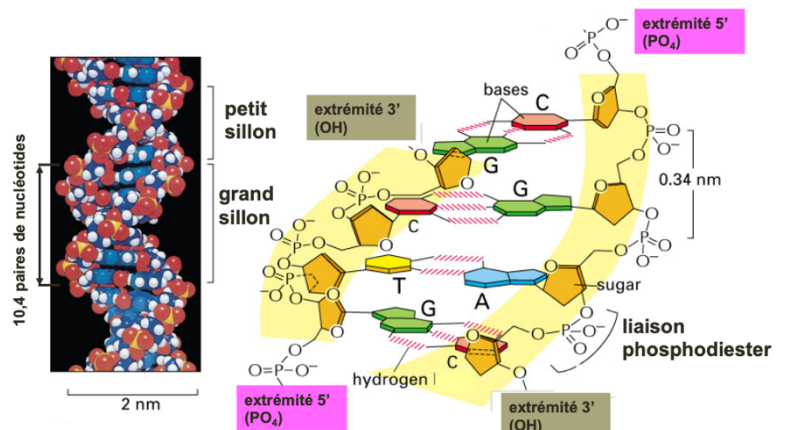


B. Structure de la double hélice d'ADN



A connaître par cœur

- Les bases azotées (C≡G et A=T) sont liées par des liaisons hydrogène.
- Quand une séquence d'ADN contient plus d'A=T, la température de fusion (pour séparer les deux brins) est plus faible.
- Les interactions entre les bases azotées se font sur un plan à la manière des marches d'escalier.
- Distance entre deux nucléotides = 0,34 nm (= 3,4 Å)
- Le tour d'hélice fait 10,4 paires de nucléotides = 37 Å. Diamètre de la double hélice = 2 nm = 20 Å
- Polarité de chaque brin : une extrémité 3' et une extrémité 5'.

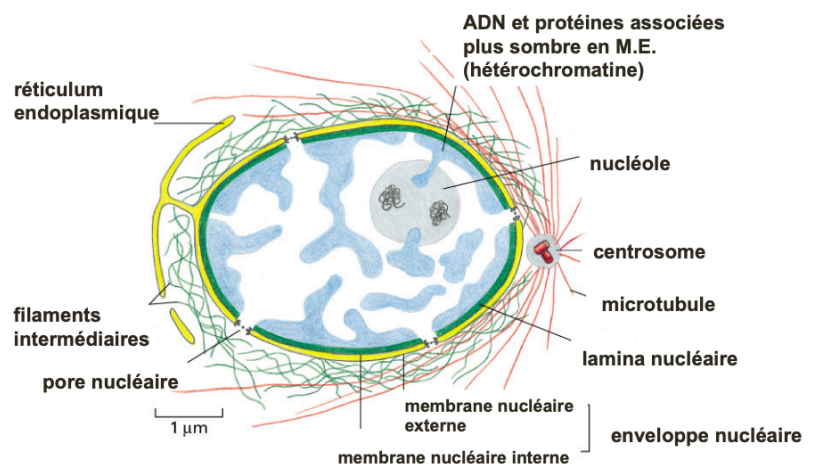


C. Échelle du génome humain

- Si on déroule l'**ADN d'une cellule humaine = 2 mètres de long**. Ces 2 mètres d'ADN rentrent dans un noyau qui fait environ 6 microns de diamètre.
- Analogie : si tour de spire fait 1 m (au lieu de 37 Å) alors :
 - génome humain : ~ 3200 km
 - distance moyenne entre 2 gènes : ~ 300 m gène moyen : ~ 30 m
 - séquence codante de ce gène : ~ 1 m
- La plupart des séquences ne sont pas codantes.

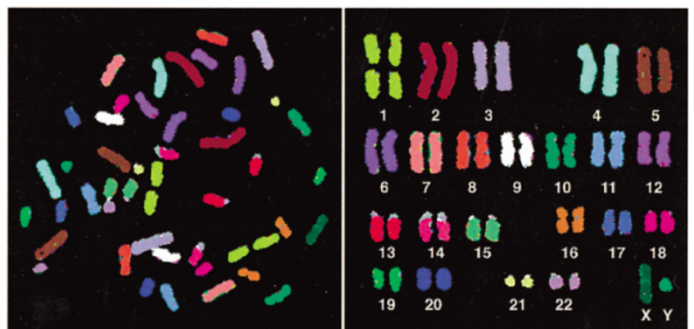
II. Chez les eucaryotes, l'ADN est contenu dans le noyau

- Le noyau possède une **enveloppe nucléaire** : une membrane externe + une membrane interne, avec entre les deux, un espace en continuité avec le réticulum endoplasmique.
- L'enveloppe est percée par des complexes de **pores nucléaires** : transfert de protéines et d'ARN.
- Sur la face interne de l'enveloppe nucléaire = **lamina nucléaire** composée de filaments intermédiaires et qui protège l'enveloppe nucléaire des déformations.
- Il existe des contacts entre la lamina nucléaire et la chromatine : fonctions de contrôle de l'expression des gènes.
- L'ADN n'est pas réparti de façon homogène. En ME ou MO : il y a des zones sombres (**hétérochromatine = zone condensée avec faible transcription**, située à la périphérie du noyau contre la lamina qui joue un rôle dans la rétention de cette chromatine) et des zones claires (**euchromatine = zone décondensée avec forte transcription**).
- **Le nucléole n'est pas homogène et présente des sous-structures.**
- A l'intérieur du noyau, y'a pas de membrane : tout l'ensemble du noyau constitue le nucléoplasme. Mais il existe des sous-compartiments dans le noyau. On peut ainsi compartimenter une cellule avec des membranes ou sans membrane, en forçant des composants protéiques et d'ADN à rester à un même endroit et à s'assembler pour être nombreux pour qu'ils aient une fonction.



III. L'ADN des cellules eucaryotes est empaqueté dans des chromosomes

- L'ADN est empaqueté dans des chromosomes.
- **Chromosome homologue** : une des 2 copies d'un chromosome dans une cellule diploïde, l'une provenant du père, l'autre de la mère.
- **Caryotype** (humain) : exposition d'un jeu complet des 46 chromosomes humains d'une cellule organisés en fonction de leur taille, leur forme, leur numéro.
- **Chromosome acrocentrique** : chromosome dans lequel la position du centromère est proche de l'une des extrémités.



caryotype d'une cellule humaine mâle
22 paires de chromosomes homologues + 2 chromosomes sexuels = 46 chromosomes

A. Des colorants révèlent des profils de bandes particuliers sur les chromosomes humains

- Le caryotype humain est organisé en distribuant les chromosomes des plus grands aux plus petits. Les chromosomes sexuels ne sont pas représentés ici.

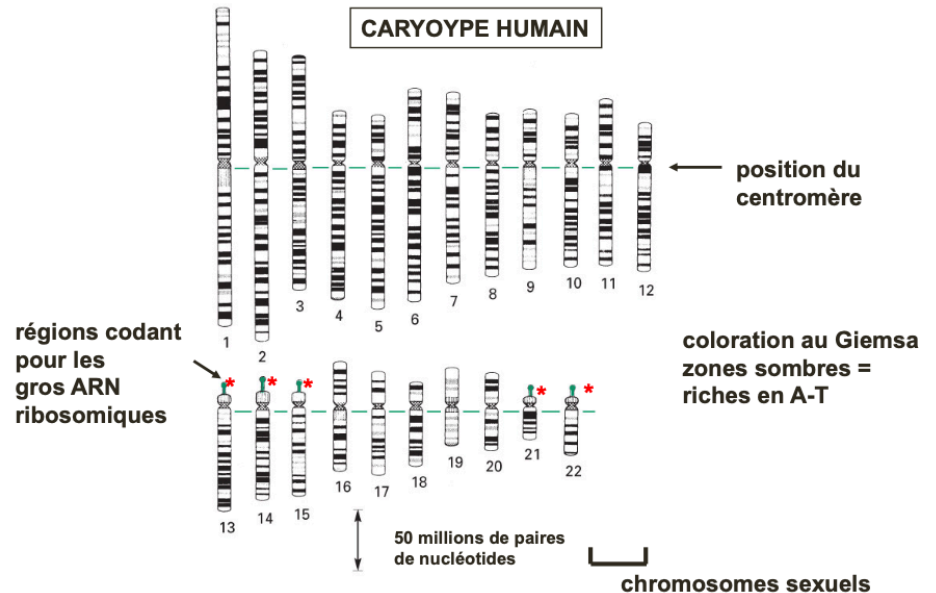
- On peut voir des chromosomes acrocentriques sur la partie basse du caryotype.

- Marquage au Giemsa = marque les régions riches en A-T (bandes noires).

- Aujourd'hui on utilise des sondes fluorescentes (plus sensibles) sur les caryotypes.

- Les caryotypes sont aussi utilisés en cancérologie : visualisation de cassures, translocations

- Les zones marquées par un « * » sont des zones qui codent pour des gros ARN ribosomiques (18 S et 5 S)



B. Organisation des gènes sur un chromosome humain

Exemple du chromosome 22 humain : 48×10^6 pb = 1.5 % du génome humain

- petit chromosome acrocentrique

- bras court (p) = zone d'hétérochromatine = zone très compacte avec pratiquement pas d'expression de gènes

- bras long (q) : très peu de séquences codantes

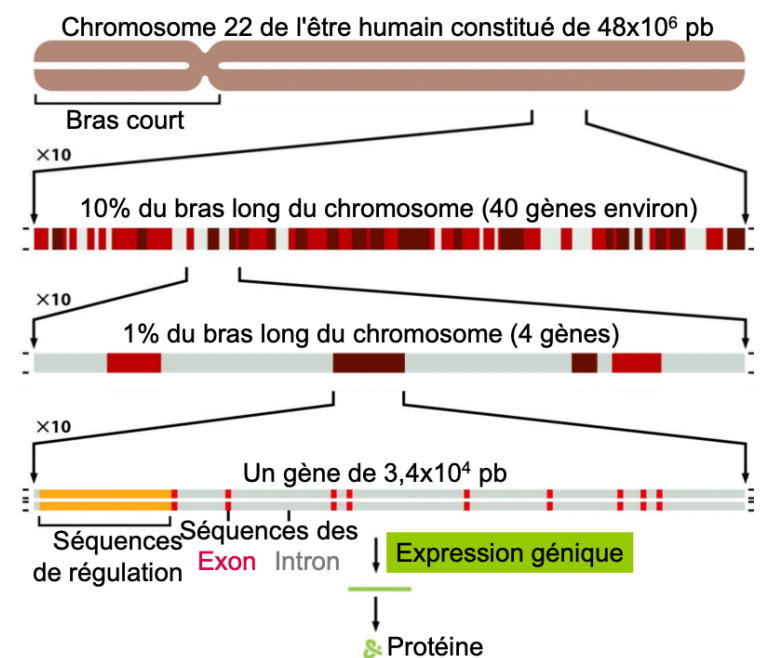
- différences entre les individus ~ 1 nt / 1000 nt

- **Chromatine** : structure constituée d'ADN et de protéines (histones et non-histones) qui lui sont associées dans le noyau.



- **Euchromatine** : régions du génome où l'ADN existe sous forme non condensée (pendant l'interphase) (transcription active) et dans laquelle l'ADN se réplique en premier (présence des origines de réplication)

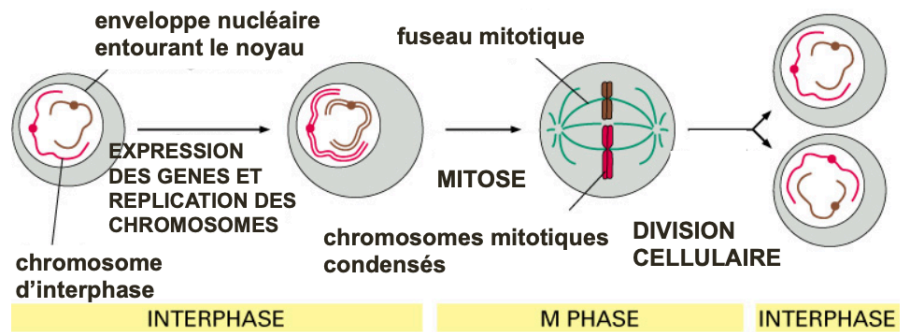
- **Hétérochromatine** : régions du génome où l'ADN existe sous forme très condensée et non transcrite pendant l'interphase, et où l'ADN se réplique tardivement.



Organisation des gènes dans un chromosome de l'être humain

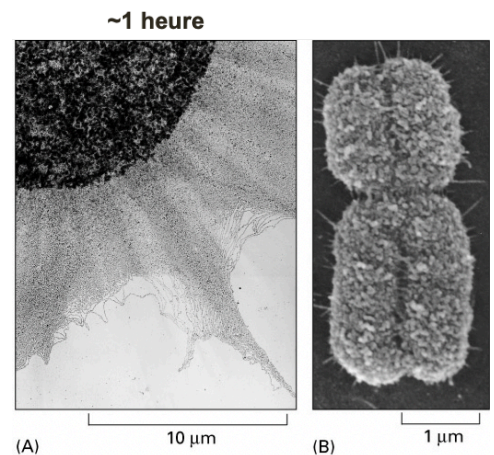
C. Les chromosomes changent d'aspect au cours du cycle cellulaire

→ Durant l'interphase, les chromosomes apparaissent dilués et étendus dans le noyau.
 → Durant la mitose, on a une condensation des chromosomes. Ils vont être alignés sur la plaque équatoriale grâce au fuseau mitotique (microtubules) et être répartis équitablement dans les cellules filles.



En MET : Comparaison de l'aspect des chromosomes en interphase (à gauche) et en mitose (à droite)

- En interphase : on ne voit pas les chromosomes de manière individuelle
- En mitose : chromosome bien visible car très compacté



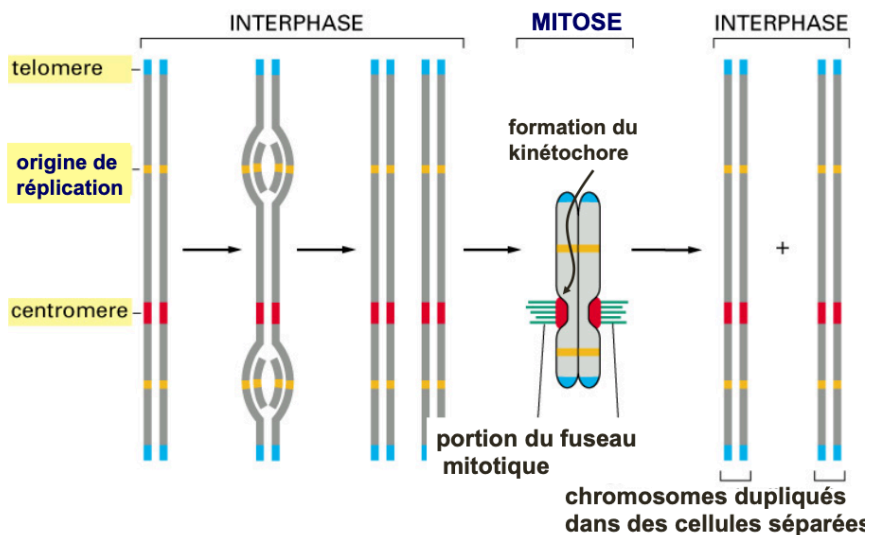
Chaque chromosome linéaire contient un centromère, deux télomères et plusieurs origines de réplication :

- En interphase : les chromosomes sont allongés. Le centromère sépare les bras longs des courts.

NB : nombreuses origines de réplication sur chaque chromosome → accélère la réplication
 Chaque chromosome va être dupliqué.

-En mitose : les chromosomes condensés vont être fixés au niveau du fuseau mitotique puis vont être séparés dans les noyaux des cellules filles.

Kinétochore = point de contact entre le centromère et le fuseau mitotique.



IV. L'ADN des chromosomes est très fortement condensé par des protéines

Les rôles des protéines associées à l'ADN : condenser l'ADN de manière non anarchique. Il faut que l'ADN puisse être disponible pour répondre aux besoins de la cellule (expression de gènes). Il y a des protéines qui vont s'associer à l'ADN pour le condenser et d'autres protéines dites de remodelage de la chromatine, qui déplacent certains composants pour libérer des zones condensées.

Quelques chiffres :

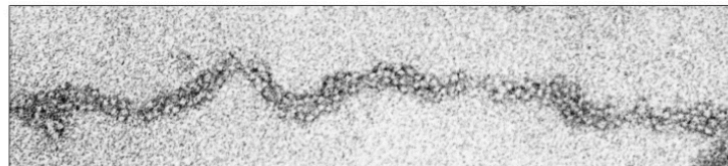
- **ADN humain : 2 m (noyau = 6 μ m)**
- Chromosome 22 : 2 μ m/1.5 cm d'ADN
- Chromosome d'interphase : condensation x1 000
- Chromosome mitotique : condensation x10 000
- **Réversibilité de l'empaquetage**
 - générale au cours du cycle cellulaire
 - locale pour la transcription et la réparation de l'ADN

A. Les nucléosomes

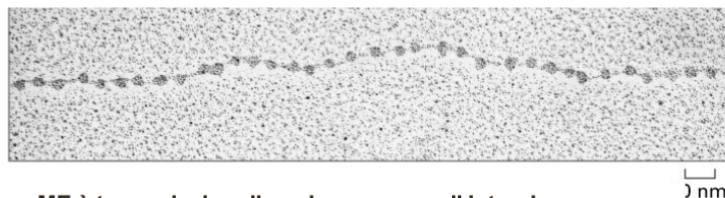
→ **Les nucléosomes sont les unités de base de la structure des chromosomes eucaryotes.**

En MET :

- En interphase : chromosome sous forme d'une **fibre de chromatine de 30 nm** d'épaisseur où l'ADN est empaqueté par les nucléosomes.
- Si on décondense expérimentalement la fibre de chromatine : on obtient une structure « **en collier de perle** » ; **chaque perle = nucléosome**



vue en ME à transmission d'un chromosome isolé d'un noyau en interphase: fibre de chromatine ~ 30 nm d'épaisseur



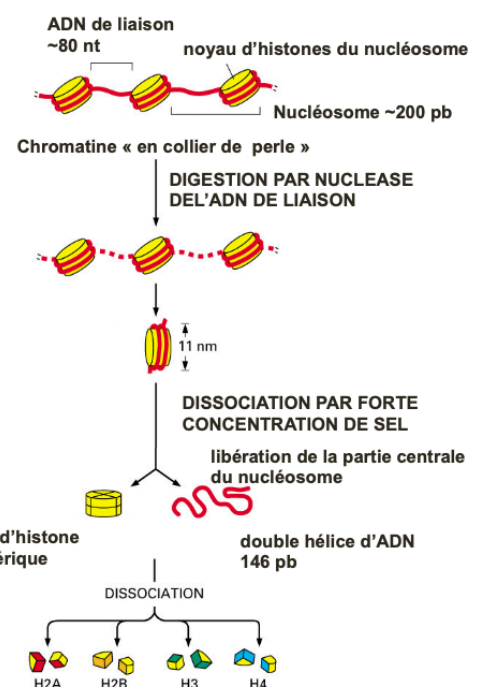
vue en ME à transmission d'un chromosome d'interphase expérimentalement décondensé : structure « en collier de perle » présence de nucléosomes



→ **Les nucléosomes sont composés d'ADN enroulé autour d'un noyau protéique de 8 histones.**

- L'ADN s'enroule sur une longueur de 146 nucléotides.
- Environ 80 nucléotides entre deux nucléosomes (ADN de liaison)
 - l'ensemble = ~ 200 nucléotides
- L'ADN de liaison de la chromatine en collier de perle peut être digéré par des nucléases
- On obtient des nucléosomes
- Avec de fortes concentrations de sel on peut libérer la partie protéique (noyau d'histone) de la partie nucléique (146 pb).
- Dissociation des composants : identification de 4 protéines présentes en deux exemplaire (donc 8) : **H2A, H2B, H3 et H4** → **noyau d'histones octamérique formant un cylindre autour duquel s'enroule l'ADN.**

~ **30.10⁶ nucléosomes / cellule humaine diploïde.** Ce niveau de compaction est modeste car permet une condensation x3.



Nucléosome révélé par cristallographie aux rayons X :

- **ADN fait 1,65 tour du noyau d'histones = 146 nucléotides**

- Queue de H3

- Les **liaisons ADN-Histones** :

- **hydrogènes (142/nucléosome)**

- **ioniques** (ADN chargé négativement, histones chargées positivement)

- **hydrophobes**

NB : des modifications des histones peuvent augmenter leur affinité pour l'ADN.

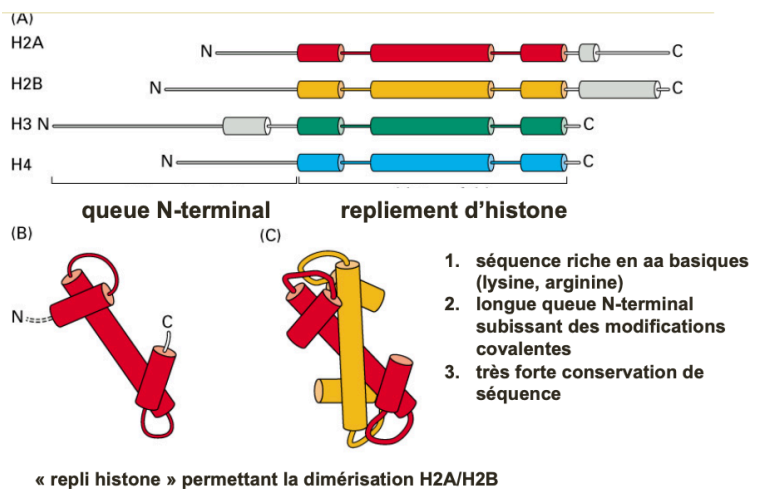
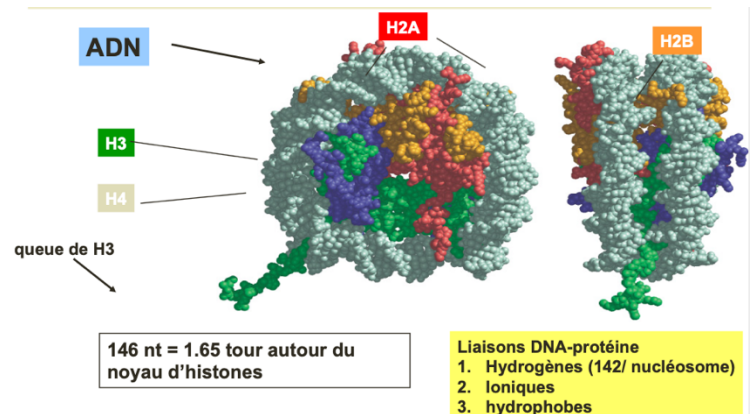
→ **Organisation générale des histones du noyau des nucléosomes.** Les histones ont toutes à peu près la même organisation :

- **Succession d'hélices alpha** (une grande hélice entourée de 2 petites hélices) qui se replie sous la forme d'un « **repli histone** ». Ce repli permet l'emboîtement des histones entre elles. Exemple : hétérodimère H2A/H2B

- Les **histones ont des séquences riches en acides aminés basiques** (lysine, arginine) : permet l'interaction avec les charges négatives de l'ADN.

- Elles ont une **longue queue N-terminale qui subit des modifications post-traductionnelles** influençant leur degré d'interaction avec l'ADN.

- Elles sont **très conservées** au cours de l'évolution.

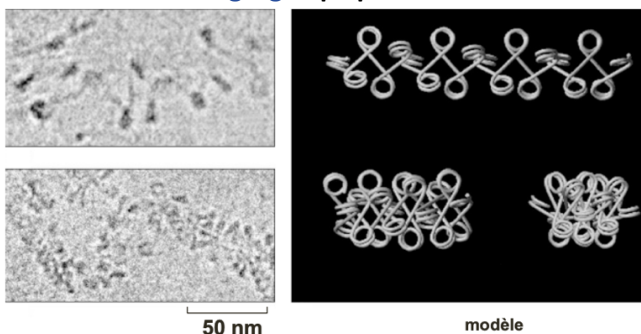


B. La fibre de chromatine de 30 nm

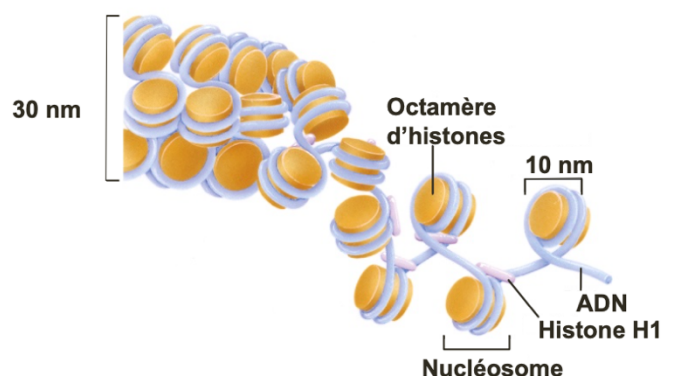
→ **Les nucléosomes sont habituellement condensés sous forme de fibre de chromatine compacte de 30 nm.**

Remarque : Il y a présence d'une **histone H1** (qui ne fait pas partie du nucléosome), qui se trouve à la sortie de l'ADN qui quitte un nucléosome.

→ En MET, la fibre de chromatine de 30 nm s'organise en une structure en « **zigzag** » qui présente des variations.



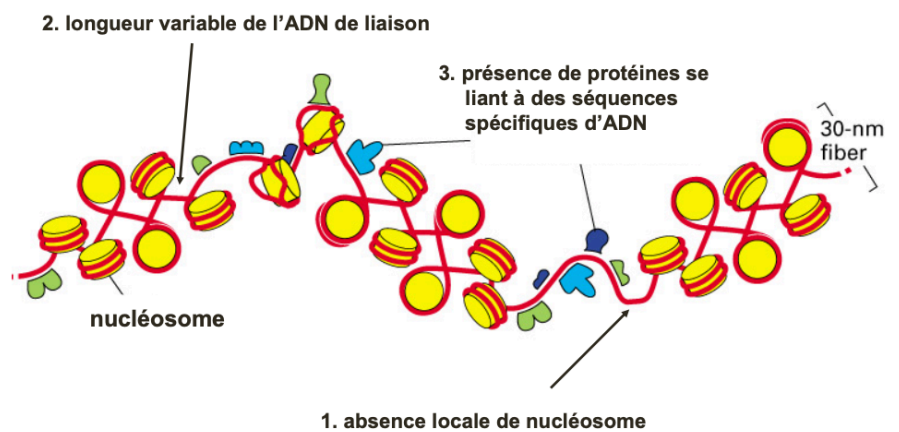
variations de structure de la fibre de chromatine de 30 nm (vue en ME à transmission)



Modèle de condensation de la chromatine

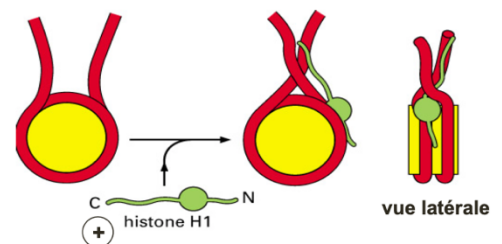
→ Les irrégularités de la fibre de chromatine en zigzag résultent de 3 facteurs :

- Absence locale de nucléosome créant des distorsions dans la fibre
- Il existe des longueurs variables d'ADN de liaison séparant 2 nucléosomes
- Présence de protéines se liant à des séquences spécifiques d'ADN.



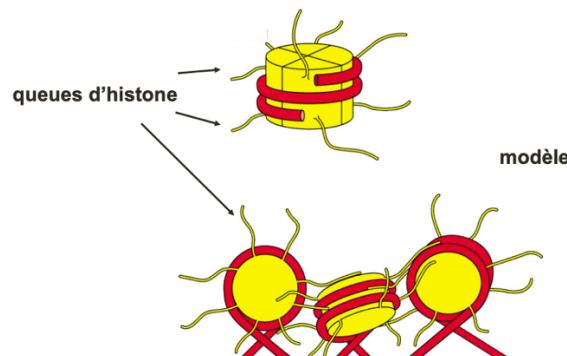
→ Les protéines histone H1 participent à la condensation des fibres de chromatine de 30 nm

L'extrémité C-terminale de l'histone H1 se projette à la sortie du nucléosome et semble établir des interactions avec le nucléosome suivant.



1 protéine H1 / nucléosome

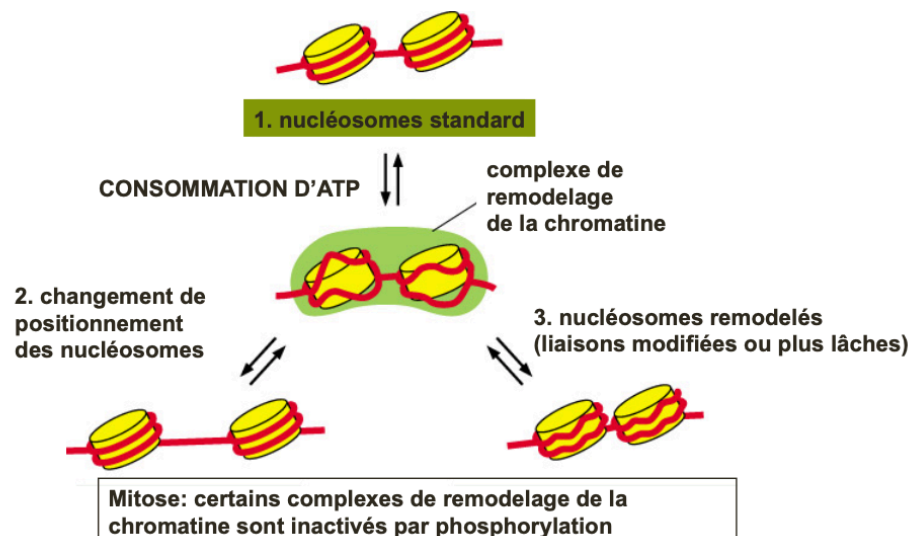
→ Modèle du rôle possible des queues d'histone dans la formation de la fibre de chromatine de 30 nm (*non expliqué par le professeur*)



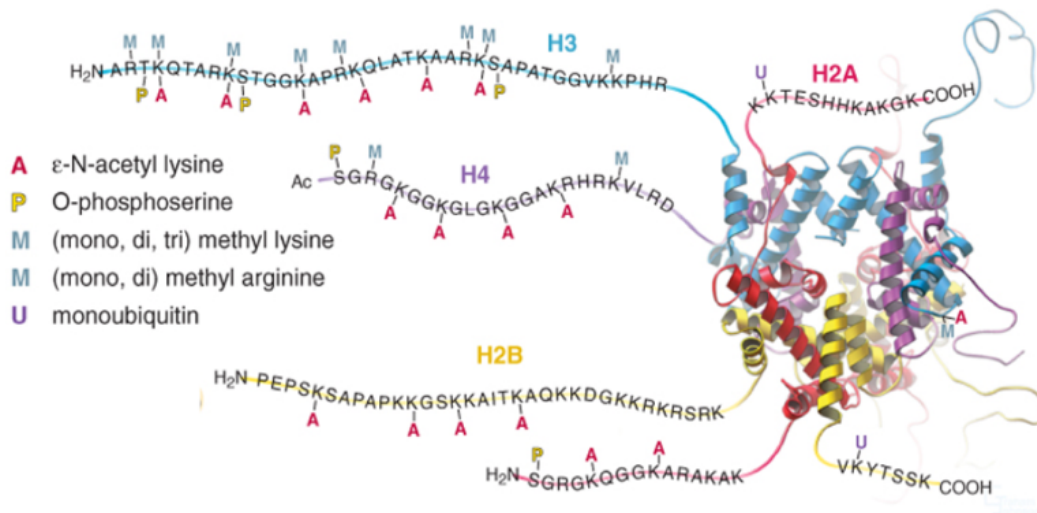
→ La structure des nucléosomes peut être changée par des complexes protéiques qui consomment de l'ATP.

Sous l'action de complexe de remodelage de la chromatine (qui consomme de l'ATP), les nucléosomes peuvent profiter du desserrement des interactions entre l'ADN et le noyau d'histones, pour changer de position.

Remarque : certains complexes de remodelage de la chromatine sont inactivés par phosphorylation : l'organisation des nucléosomes est en quelque sorte figée.



→ Il existe un « **code des histones** ». On peut se faire une idée de l'impact des modifications post-traductionnelles sur les histones et la transcription.

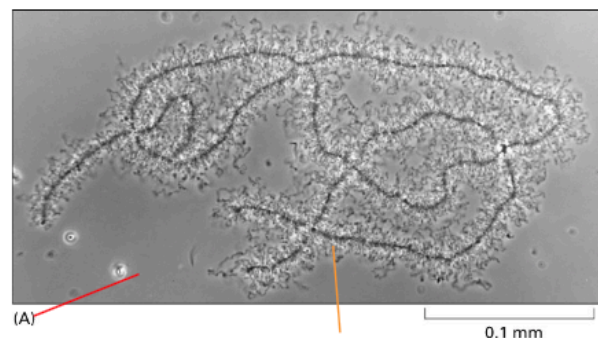


Généralement, les acétylations des histones sont associées à une augmentation de la transcription, et les méthylations à une diminution de la transcription.

V. Deux conditions exceptionnelles permettent de proposer un modèle de condensation des chromosomes en interphase

A. Chromosome en écouvillon d'ovocyte d'amphibien

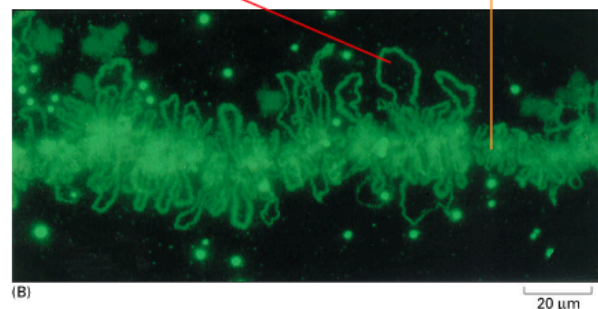
- Vue au MO des chromosomes en interphase d'un ovocyte d'amphibien. Les **chromosomes « en écouvillon »** d'ovocyte d'amphibien sont les plus grands chromosomes connus = **2 chromosomes dupliqués et appariés** résultant de la première étape de la méiose : **4 brins d'ADN = 4 chromatides**



**ADN déployé en boucles
= transcrit activement**

**ADN compact
= silencieux**

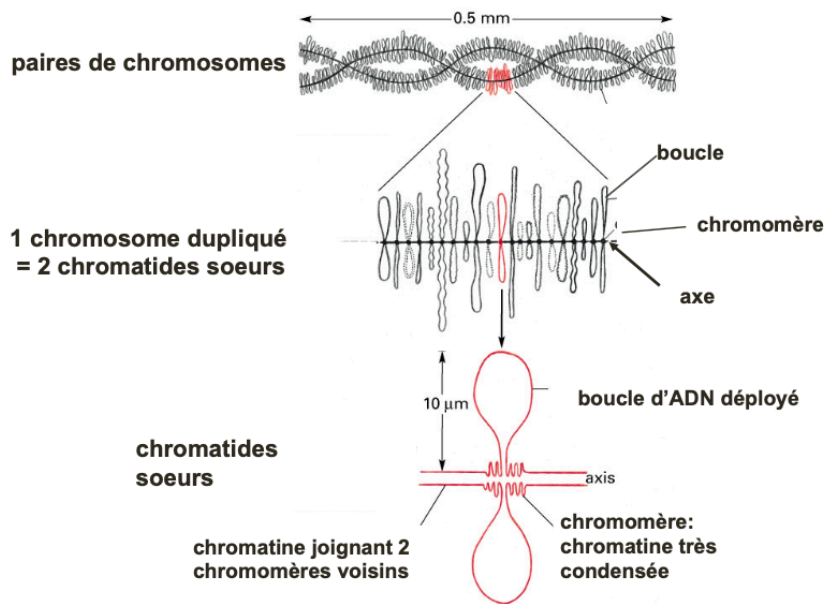
- Vue en fluorescence : marquage avec un anticorps monoclonal-FITC dirigé contre une protéine impliquée dans l'épissage des ARNm. On voit des **boucles qui correspondent à des zones où l'ADN est transcrit activement**.



Modèle proposé :

- Dans ces chromosomes en écouvillon, les paires de chromosomes sont faits d'une succession de boucles rassemblées dans une région appelée le **chromomère**. Les deux chromatides-sœurs forment des boucles qui sont en miroir au niveau du chromomère.
- Les boucles d'ADN déployées, qui peuvent atteindre 10 μm , contiennent de l'ADN décondensé et donc transcrit.
- Les chromomères contiennent de l'ADN fortement condensé et donc pas transcrit.

- **Chromatide : copie conforme de chaque chromosome qui se matérialise au cours de la métaphase et se sépare de sa copie parentale lors de l'anaphase.**



→ Cette première observation de ce type de chromosome suggère donc que l'organisation des boucles d'ADN étaient probablement une partie importante de la condensation de l'ADN au cours de l'interphase.

B. Chromosomes polyténiques d'interphase des glandes salivaires de la Drosophile

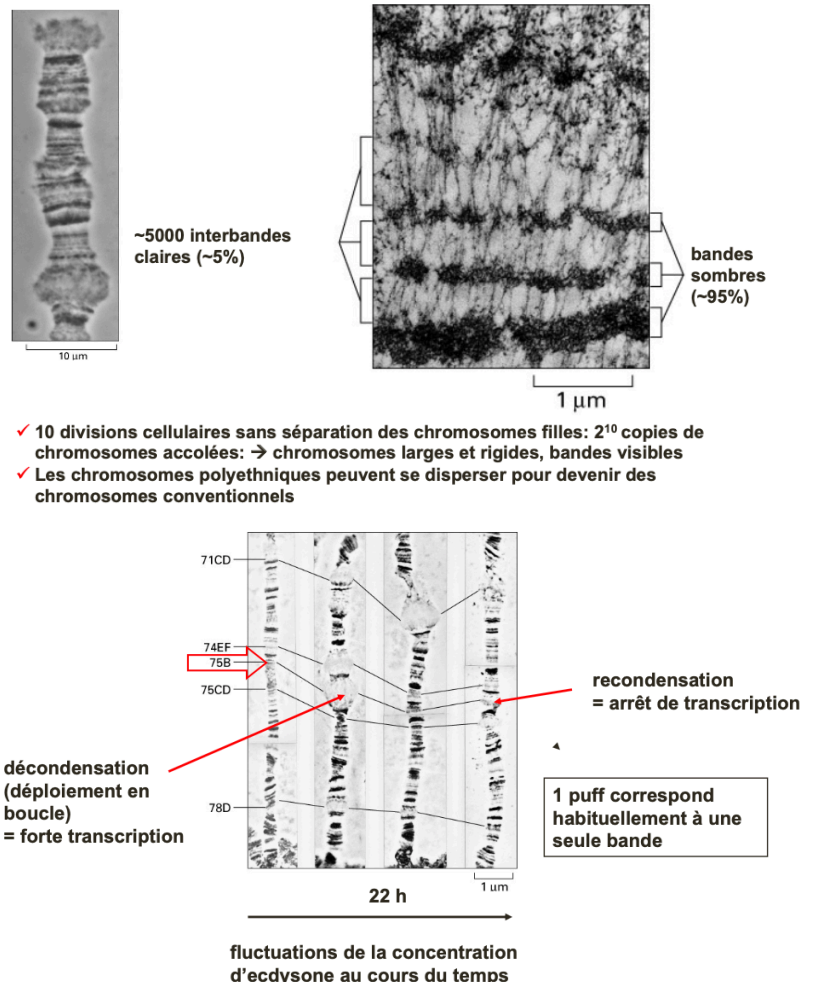
- Les chromosomes polyténiques d'interphase des glandes salivaires de la Drosophile sont visibles au MO.
- On peut voir grâce au marquage Giemsa ou en MET : des bandes claires et des bandes sombres
- Si on observe ces bandes au cours du développement de la drosophile, dans le cadre d'une fluctuation de la concentration d'une hormone (ecdysone) → les mêmes bandes s'ouvrent et se ferment au cours du temps.

→ Les gènes qui correspondent aux zones ouvertes sont activement transcrits.

- Avec le modèle des chromosomes en écouvillon, on savait qu'on avait des boucles. Ici, on voit que **ces boucles ne sont pas fixes mais vont s'ouvrir et se fermer en fonction du besoin de transcription.**

Les bandes des chromosomes polyténiques se décondensent en se déployant en boucle (= forte transcription) et se recondensent (= arrêt de la transcription).

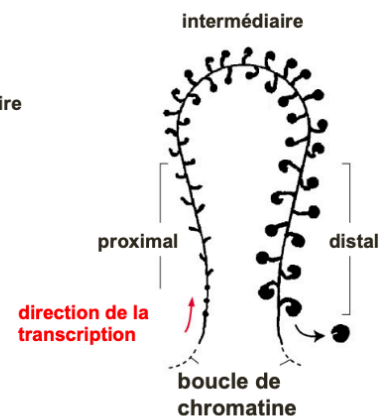
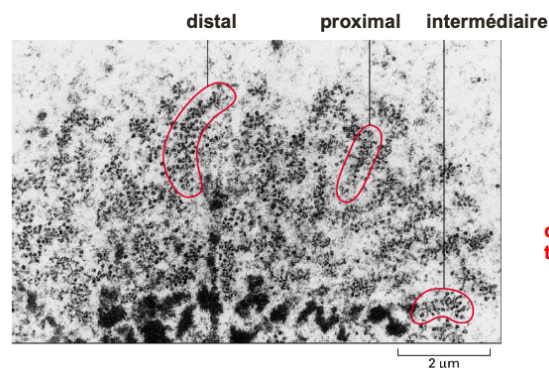
- **Un puff = une zone claire = habituellement une seule bande = correspond à une zone rapidement transcrite.**



- Les puffs des chromosomes polyténiques sont des sites de transcription active :

On voit sur le schéma d'interprétation de la vue en MET, la présence de transcrits (avec une taille croissante des transcrits jusqu'à la sortie de la boucle).

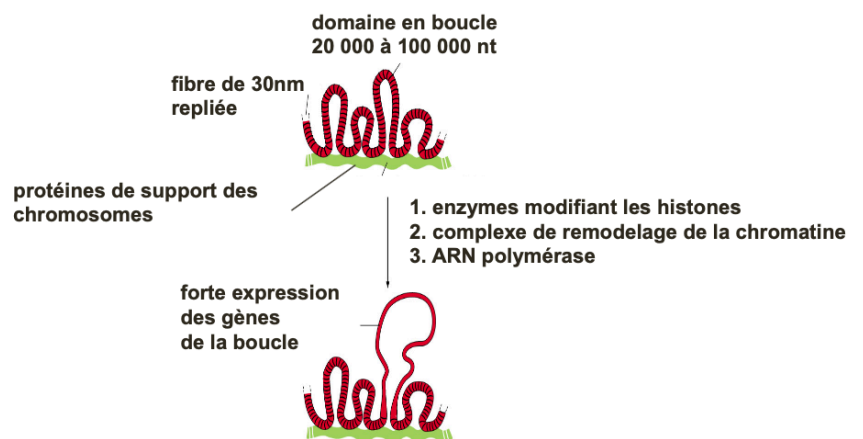
vue au ME à transmission d'une portion d'un chromosome polyténique



C. Modèle de structure d'un chromosome d'interphase

- Chromosome d'interphase = fibre de 30 nm repliée pour former des boucles avec des domaines de 20 000 à 100 000 nucléotides

- Quand interviennent des enzymes modifiant les histones et des complexes de remodelage de la chromatine, l'ARN polymérase survient et ainsi permettre une forte expression des gènes de la boucle décondensée.



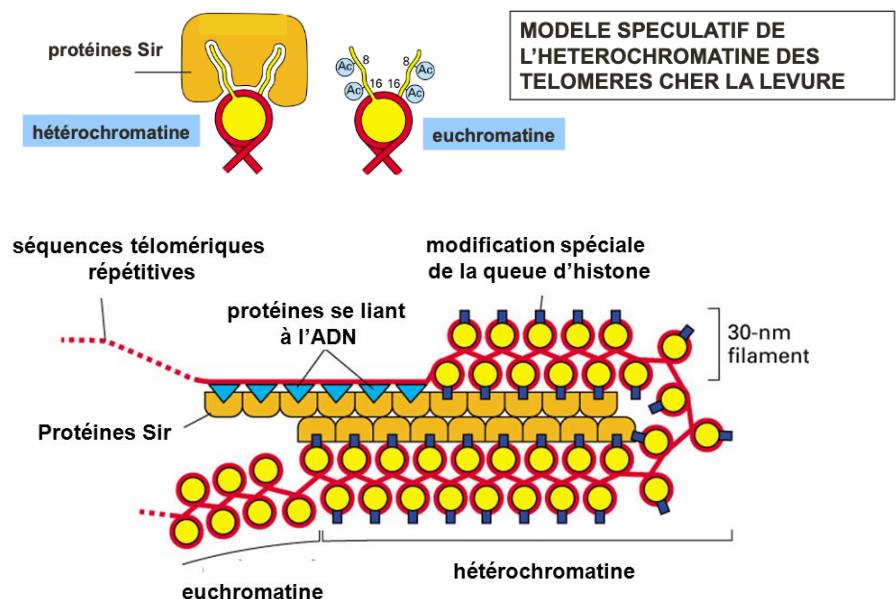
VI. L'hétérochromatine est très fortement organisée et habituellement résistante à l'expression des gènes

- L'hétérochromatine représente ~ 10 % du génome d'une cellule de mammifère
- **Présence d'histones spécifiques et de protéines supplémentaires qui augmentent la compaction**
- **L'hétérochromatine ne contient habituellement pas de gène**
- Les **quelques gènes empaquetés dans l'hétérochromatine sont habituellement silencieux** de manière :
 - Réversible
 - Irréversible : **inactivation d'un des chromosomes X** (ou lyonisation) dans les cellules mammifères femelles à l'interphase = compaction en hétérochromatine à l'origine des corpuscules de Barr → Extinction des gènes sur un des deux chromosomes X. *Quel intérêt ?* Un phénomène de dose de gène : une copie de chromosome (et donc de gènes) supplémentaire suffit à générer des pathologies.
- **Il existe différentes formes d'hétérochromatine qui jouent des rôles différents :**
 - Au niveau des **télomères** : stabilisation et protection des télomères. Les extrémités des chromosomes afin qu'elles ne soient pas considérées comme une cassure du double brin d'ADN. Pour éviter que la machinerie de réparation de l'ADN agisse sur les extrémités des chromosomes, il y a une protection protéique qui compacte les fibres de la chromatine en hétérochromatine.
 - Au niveau des **centromères** : c'est à ce niveau que se fait le contact entre les chromosomes et le fuseau mitotique ; il y a aussi une forte condensation qui permet le recrutement de protéines particulières pour la fixation des microtubules.
- **Extinction de l'expression de gènes**

A. L'extrémité des chromosomes présente une forme particulière d'hétérochromatine

Représentation du modèle spéculatif de l'hétérochromatine au niveau des télomères (= extrémités des chromosomes) :

→ Il y a formation d'hétérochromatine parce qu'une **protéine Sir** se lie sur des **modifications post-traductionnelles** des queues d'histones de façon à former une protection. Les protéines Sir ont tendance à interagir les unes avec les autres et à forcer un repliement assez compact de ces nucléosomes pour former une structure stable d'hétérochromatine.



ATTENTION : Le second schéma n'est pas dans la présentation de l'enseignant, donc pas à apprendre mais il peut vous aider à comprendre ce modèle.

B. Les centromères aussi sont condensés sous une forme particulière d'hétérochromatine

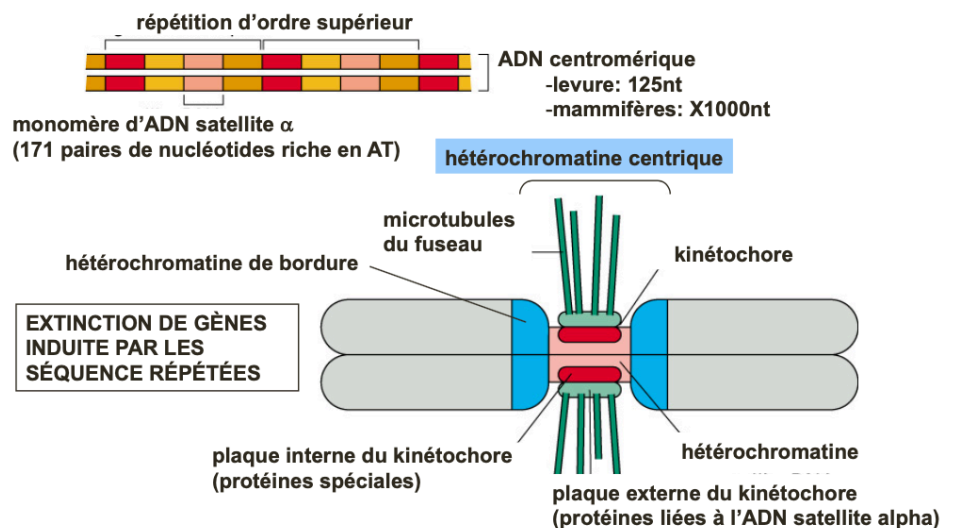
- Centromère = répétition de monomère d'ADN satellite (171 paires de nucléotides riche en AT).

- Cette répétition forme une sorte de plateforme qui permet le recrutement de protéines de la plaque interne du kinétochore et une plaque externe du kinétochore, qui elle est en contact avec les microtubules du fuseau mitotique.

- Le centromère est un endroit où de l'hétérochromatine permet la construction d'outil qui fixera les deux chromosomes filles au niveau du fuseau mitotique.

- Présence d'hétérochromatine de bordure.

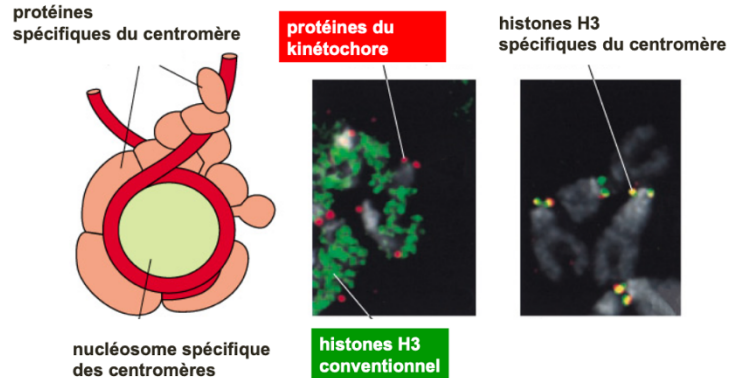
- Il existe une extinction de gènes induite par les séquence répétées = extinction complète de l'expression des gènes au moment de la formation du centromère et de son utilisation pour le fuseau mitotique.



Kinétochore : structure complexe formée de protéines sur un chromosome en mitose, à laquelle les microtubules sont attachés et qui joue un rôle actif dans les mouvements des chromosomes en direction des pôles du fuseau. Le kinétochore se forme sur la partie du chromosome appelée centromère.

Les nucléosomes des centromères sont particuliers :

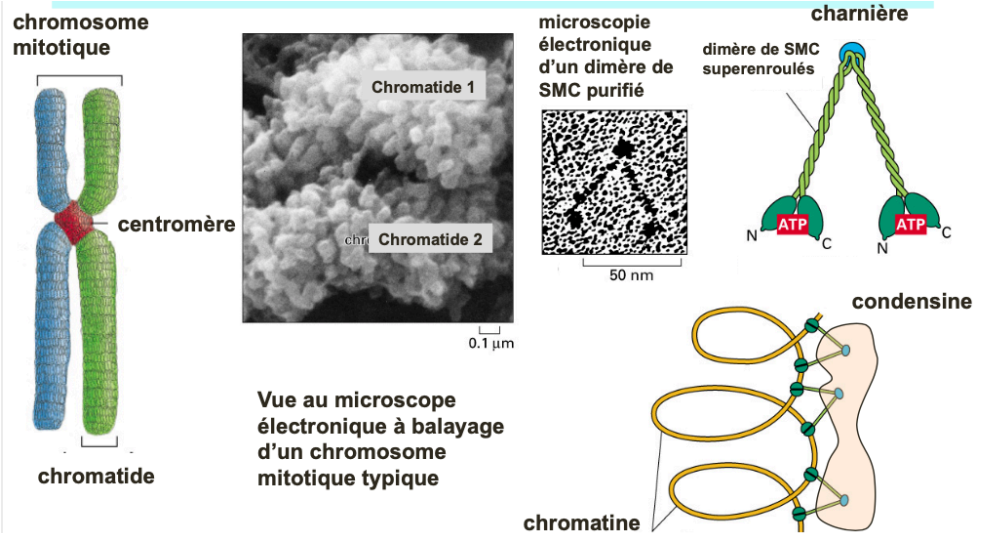
- il y a des **histones H3 spécifiques** que l'on ne trouve qu'au niveau des nucléosomes associés au centromère.
- à distance du centromère, se trouvent les histones H3 conventionnelles



VII. Caractéristiques des chromosomes

A. Les chromosomes mitotiques représentent la forme la plus condensée de la chromatine

Il y a des protéines, les **condensines**, qui utilisent de l'ATP pour rapprocher les boucles et forcer la « supercondensation » de ces boucles dans les chromosomes mitotiques. Elles assurent ainsi le maximum de condensation.



B. Les chromosomes présentent plusieurs niveaux d'empaquetage de l'ADN

Le facteur de condensation est de l'ordre de $\times 10\,000$ par rapport à l'ADN.

double hélice d'ADN

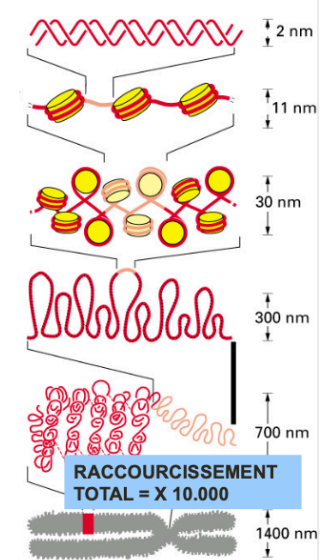
chromatine en collier de perle

assemblage des nucléosomes en fibre de 30 nm

portion de chromosome sous forme lâche

portion de chromosome sous forme condensée

chromosome mitotique entier

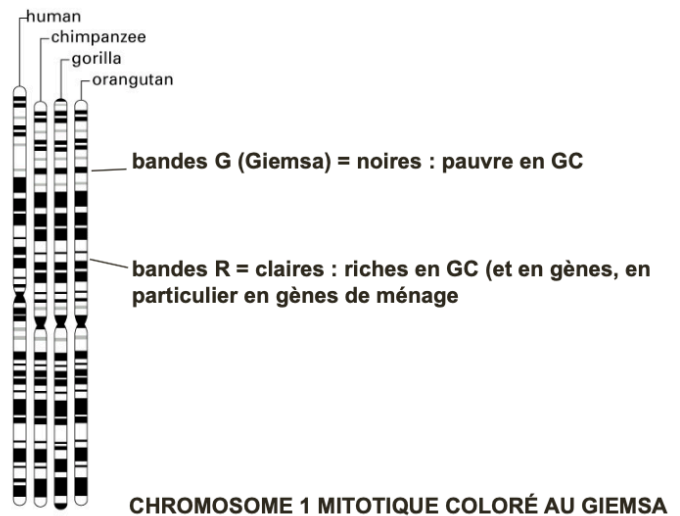


C. Chaque chromosome contient une structure caractéristique faite de grands domaines

- Ces **grands domaines** sont détectables par la coloration **au Giemsa**.

- Si on met en parallèle les chromosomes 1 de l'Homme, du chimpanzé, du gorille et de l'orang-outan : il y a une conservation de certaines bandes qui correspondent à des ensembles de gènes qui fonctionnent de manière plus ou moins concertés : la **synténie** (voir chapitre 2).

→ La **synténie** correspond à la conservation de l'ordre des gènes le long des chromosomes entre des espèces voisines.



D. Chaque chromosome occupe un territoire restreint du noyau

La **position des chromosomes dans le noyau n'est pas constante** :

- durant l'anaphase : les chromosomes sont guidés par les centromères sont amenés vers les nouveaux noyaux des cellules filles.

- durant une interphase courte : pas le temps pour une redistribution des centromères : ils vont rester les uns avec les autres.

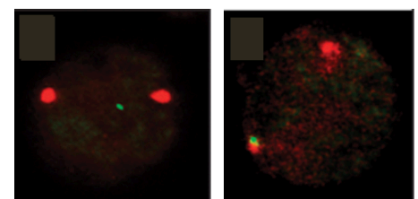
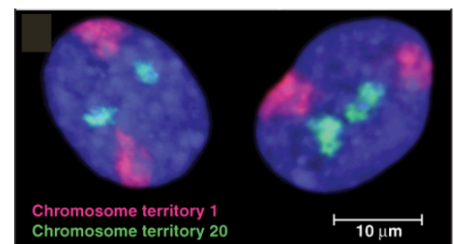
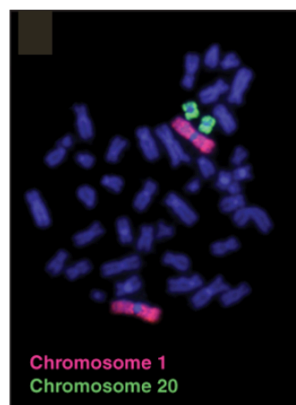
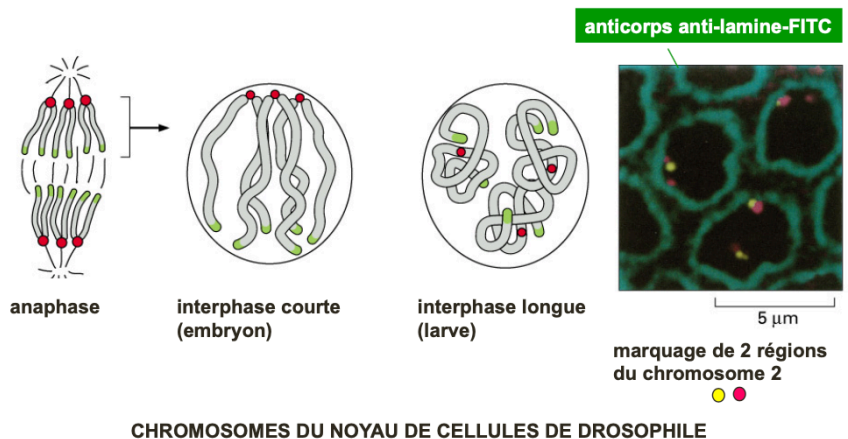
- durant une interphase longue (noyau de cellule de drosophile) : les centromères (*en rouge*) et les télomères (*en vert*) vont se distribuer d'une façon particulière à l'intérieur du noyau.

Cette localisation est variable :

- marquages fluorescents de deux chromosomes : les territoires occupés par chacun des chromosomes ne sont pas les mêmes

- pour chaque chromosome : il y a une partie plus au centre et une autre localisée au contact de l'enveloppe nucléaire. Cette position va varier au cours du temps durant l'interphase.

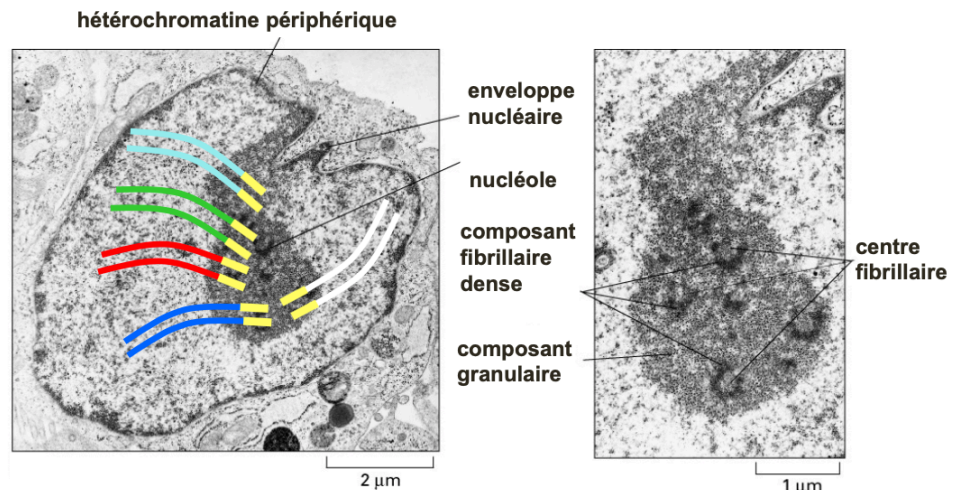
→ **Les zones d'un chromosome au contact de l'enveloppe nucléaire correspondent à des zones d'hétérochromatine qui ne sont pas transcrites. Les zones du chromosome qui sont mises au centre du noyau de façon transitoire (par exemple sous l'action d'une hormone) correspondent aux domaines où sont situés les gènes transcrits en réponse à cette hormone.**



C'est à mettre en relation le rôle de différents sous-compartiments dans le noyau. Le noyau ne contient pas de membrane pour subdiviser mais contient des domaines. Certains domaines sont des associations de protéines qui conduisent à un rassemblement d'ARN polymérase, de facteurs d'épissage et de facteurs de transcription pour produire à certains endroits du noyau des ARN.

VIII. Les sous-compartiments du noyau

- Le nucléole est le site de production des ARN ribosomaux.
- Le nucléole n'a pas un aspect uniforme au cours du cycle cellulaire. Il y en a un seul au moment de la préparation de la mitose et plusieurs en interphase.
- Le nucléole présente des sous-compartiments non limités par des membranes : composants fibrillaires denses, composants granulaires et centres fibrillaires (qui sont au milieu des composants fibrillaires denses).



- Les extrémités des chromosomes 13, 14, 15, 21 et 22 (bras courts) (ici colorées artificiellement ; voir les chromosomes marqués par un « * » sur la caryotype page 5) présentent des séquences qui codes pour les ARNr (r = ribosomiques). Il y a un grand nombre de copies codant pour les ARNr → nécessaires pour former un grand nombre de ribosomes (notamment lors de la division cellulaire).
- Ces extrémités se rassemblent dans le nucléole : c'est donc là que va être transcrit l'ADN qui code pour les ARNr.

Marquages : on utilise un anticorps anti-fibrillarine (FBL = enzyme qui réalise la méthylation d'ARN) → on va marquer les corps de Cajal et les small nucleolar ribonucleoprotein (snoRNP).

A- Fibrillarine : protéine dans de nombreux snoRNP et corps de Cajal (petits points rouges)

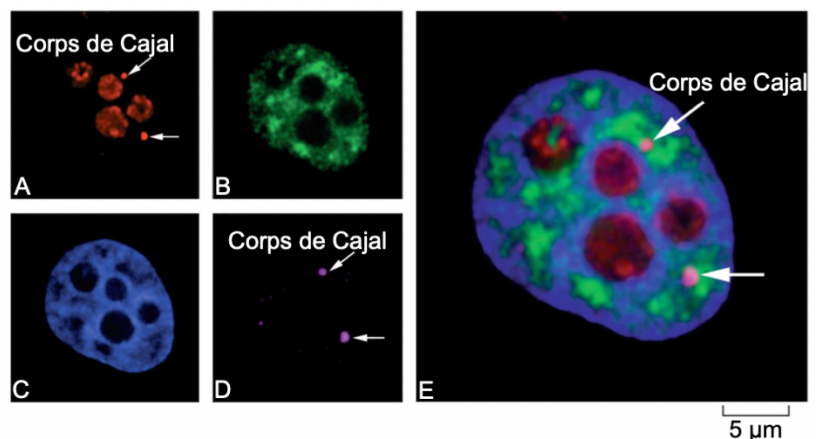
B- Marquage en vert d'une protéine d'épissage → on visualise les granules interchromatiniens.

C- Chromatine dans son ensemble (DAPI)

D- Marquage en rose de la coïline = protéine associée au corps de Cajal

E-Superposition des quatre images (image agrandie)

→ Dans les corps de Cajal, on a la fibrillarine et la coïline.



ATTENTION : figure absente de la présentation de l'enseignant

→ Le contenu dans le noyau n'est pas homogène, il présente des petites structures :

- Les corps de Cajal et les granules interchromatiniens sont des sous-domaines du noyau, qui sont dynamiques.
- Nucléole : lieu de synthèse des ARNr
- Corps de Cajal : lieu de remise à niveau des ARN impliqués dans l'épissage (snARN). Lors de l'épissage, ces snARN changent de conformation, les corps de Cajal sont les sites où ils sont remis dans la bonne conformation après usage.
- Granules interchromatiniens = réservoir de snRNP (snRNP = snRNA + protéines = complexes d'épissage). Il y a donc une accumulation de matériel prêt à l'emploi pour l'épissage.

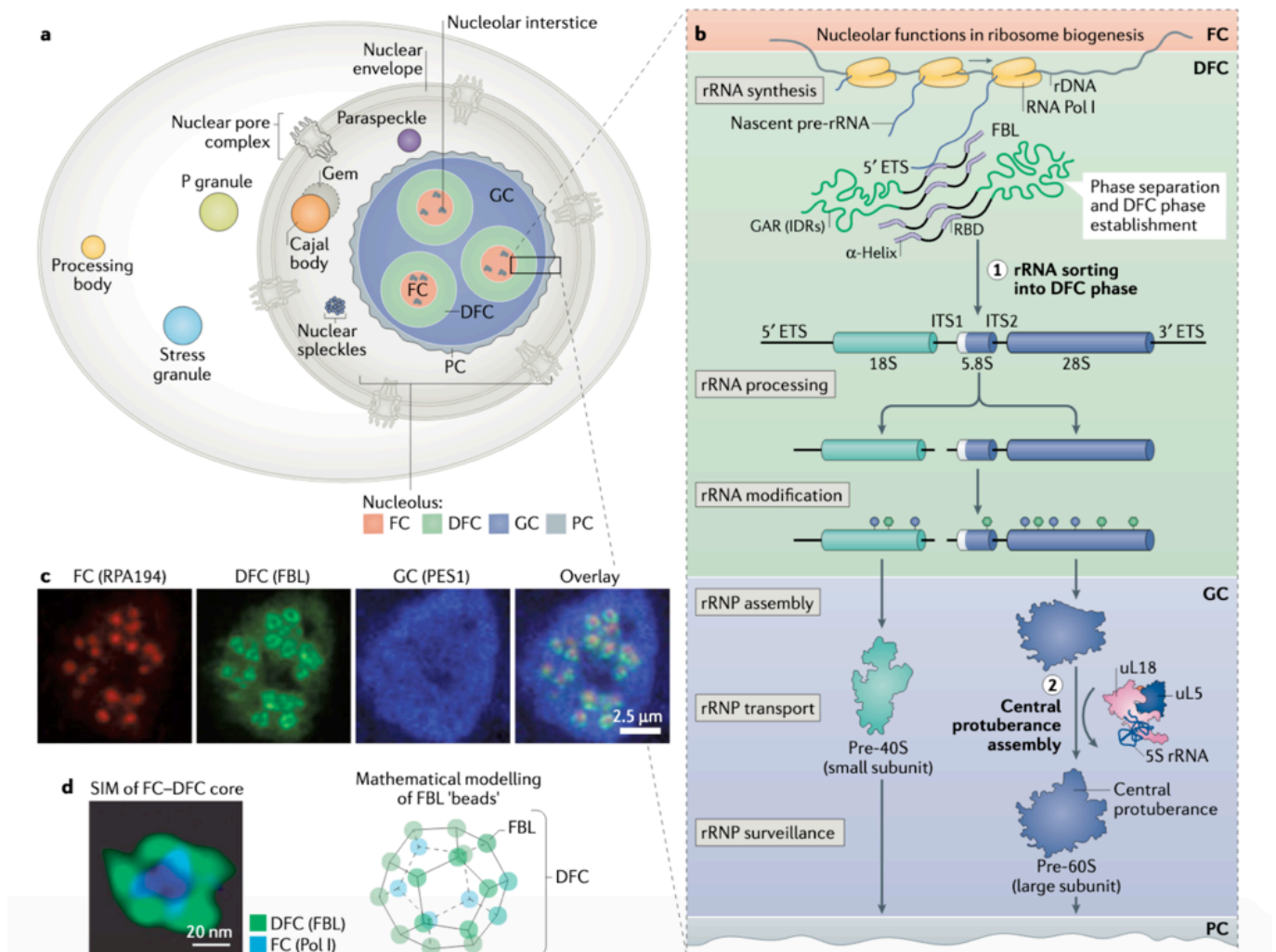


La distribution de ces compartiments (corps de Cajal, granules interchromatiniens) n'est pas homogène à l'intérieur du noyau. **Les protéines sont toutes synthétisées dans le cytoplasme puis transportées à l'intérieur du noyau. Dans le noyau, elles vont s'associer avec des ARN pour pouvoir réaliser l'épissage à l'intérieur du noyau.**



→ **Biogenèse des ribosomes** (partie B du schéma ci-dessous) :

- Au niveau du nucléole : les boucles d'ADN des chromosomes conduisent à la production des ARN précurseurs des ARNr (ARN précurseur 45 S) par l'ARN polymérase I.
- Ces ARN précurseurs 45 S subissent une maturation grâce à d'autres petits ARN (snoRNA) → on obtient les ARNr 18S, 5,8S et 28 S.
- Grâce à des protéines synthétisées dans le cytosol et importées dans le nucléole → assemblage avec les ARNr pour former les grandes et petites sous-unités du ribosome. NB : Ribosome humain = 78 protéines différentes.
- Ces sous-unités immatures des ribosomes vont être exportées de façon séparée et vont être assemblées dans le cytosol.
- Ribosome dans le cytosol : grande sous-unité 60 S + petite sous-unité 40 S.



Remarque : d'autres ARN non codant : par exemple, l'ARN impliqué dans la production des télomérases, enzymes qui répliquent l'extrémité des chromosomes. Ces ARN ne codent pas pour des protéines mais vont servir de template (matrice) pour la répllication des télomères. Ces ARN sont aussi synthétisés au niveau du nucléole.

→ Il y a une variété d'ARN non codant qui sont synthétisés du nucléole : ARNr, ARNt (ARN de transfert), snRNA, SRP (= particule de reconnaissance du signal = ARN 7S + 6 protéines)

Le fonctionnement de ces machineries enzymatiques au niveau du noyau dépend de l'assemblage de protéines qui fonctionnent ensemble. Ce n'est pas propre au noyau.

Exemple dans le cytosol :

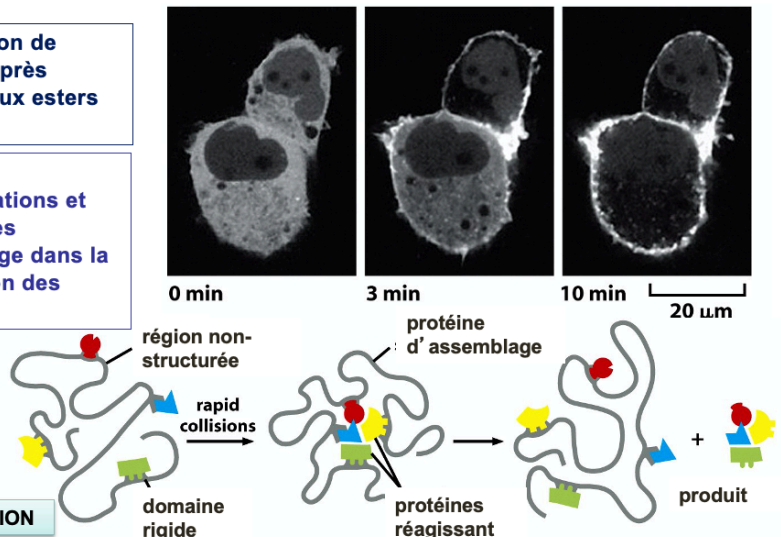
Activation d'une machinerie protéique qui va être associée à une relocalisation à des sites spécifiques. On fait un traitement aux esters de phorbol de cellules, la protéine PKC γ -GFP va s'accumuler à un endroit précis.

Relocalisation de PKC γ -GFP après traitement aux esters de phorbol

Rôle des phosphorylations et des protéines d'assemblage dans la relocalisation des protéines

INDUCTION DE PROXIMITÉ

COMPARTIMENTATION



Comment ? Suite au traitement au phorbol, des protéines vont être phosphorylées et cette phosphorylation va leur permettre d'être recrutées par des protéines d'assemblage qui ont différentes régions de fixation séparées par des domaines déstructurés. C'est un système d'accroche qui permet de rassembler plusieurs protéines, de les mettre au voisinage les unes avec les autres. Ces protéines qui doivent travailler ensemble, ont souvent des affinités entre elles. Grâce aux protéines d'assemblage, on augmente leur tendance à se mettre et à être conservé ensemble.

Ainsi, dans un milieu liquide, on peut créer des sous-compartiments liquides où on a condensé des protéines de manière efficace. Ce processus est réversible et c'est ce qu'on retrouve dans les assemblages transitoires au niveau du noyau.

IX. Les complexes du pore nucléaire

→ **Les complexes du pore nucléaire (CPN) perforent l'enveloppe du noyau.**

- L'enveloppe nucléaire d'une cellule de mammifère contient 3000-4000 CPN.

- Chaque CPN peut transporter 1000 molécules par seconde, et **transporte simultanément des molécules dans les 2 directions.**

- Les CPN sont composés de nombreuses copies d'environ **30 nucléoporines (NPs)** différentes formant un assemblage de 500-1000 protéines d'une masse totale dans les cellules eucaryotes d'environ **125.10⁶ daltons.**

- Des fibrilles partent de part et d'autre du CPN :

- Vers le cytoplasme

- Vers le noyau où l'extrémité des fibrilles est reliée pour former un **"panier nucléaire"**

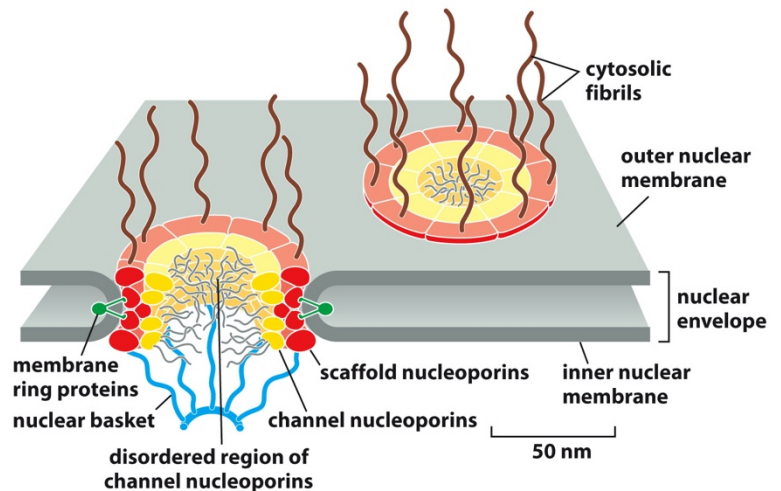
- **Les CPNs forment des conduits aqueux par lesquels les molécules < 5000 daltons diffusent librement.**

- Les molécules plus grosses diffusent à une vitesse inversement proportionnelle à leur taille

- Les molécules > 60 000 daltons ne peuvent pas diffuser au travers du CPN

- Les très grosses molécules (par exemple les ribosomes matures cytosoliques d'un diamètre de 30 nm) ne peuvent pas franchir les CPN, ce qui les restreint au cytosol.

- **D'autres grosses molécules** (DNA ou RNA polymérases de masse 100.000 – 200.000 daltons) **doivent se lier à des protéines de transport spécifiques (Karyophérines)**

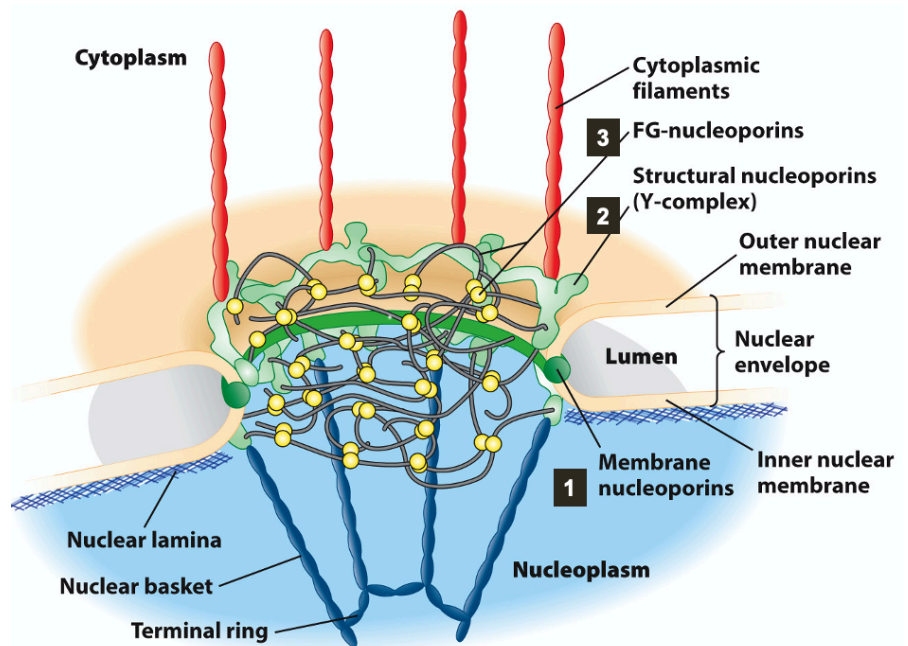


→ Il existe 3 types de NPs différentes :

1- NP membranaires qui attachent le CPN à la membrane du pore

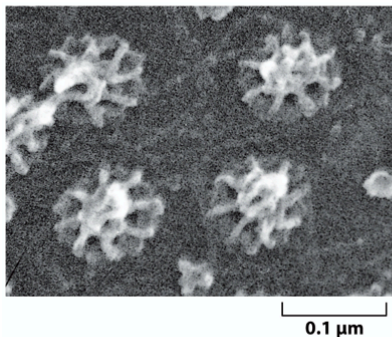
2- NP structurales dont certaines ressemblent aux protéines des manteaux des vésicules, qui dérivent probablement de la duplication d'un gène ancestral commun et qui participent à la déformation de la membrane au niveau du pore. Ces NP forment des anneaux superposés (cytoplasmique, du pore et nucléaire) à symétrie octogonale

3- NP du canal riches en FG qui possèdent un domaine non-structuré riche en aa phénylalanine-glycine (FG) hydrophobes (boules jaunes) qui forment un réseau (un maillage) dans la lumière du pore empêchant la diffusion passive des grosses molécules.

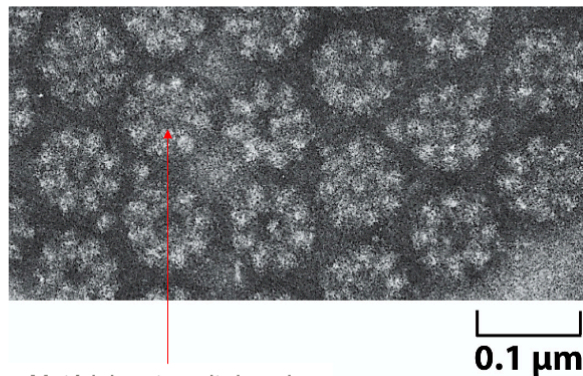


→ Les images en microscopie électronique montrent la **symétrie octogonale** des CPNs :

Microscopie électronique à balayage, vue du côté nucléaire

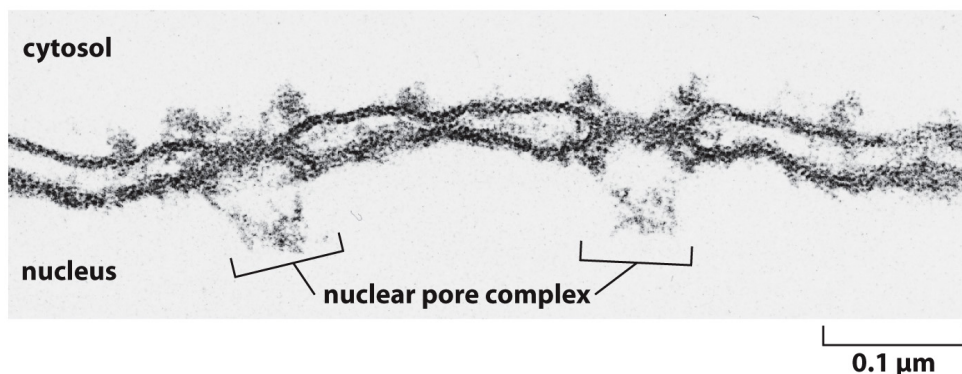


Vue de face en microscopie électronique de l'enveloppe nucléaire après marquage négatif. Les lipides ont été extraits



Matériel en transit dans la lumière du CPN

→ Vue latérale montrant la **continuité des membranes internes et externes de l'enveloppe nucléaire au niveau des CPNs** :



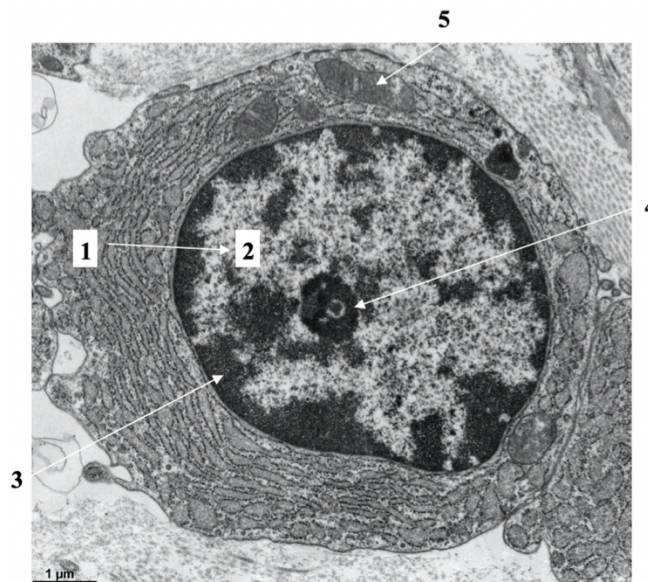
X. Annales classées corrigées

Seuls les QCM de cours des annales sont présentés ici. Il est impératif de consulter les sujets et corrections des annales dans leur intégralité pour les QCM portant sur les expériences de biologie cellulaire.

2019-2020

QCM 54 – Organisation de la cellule.

- A. La cellule eucaryote représentée sur l'image 3 est spécialisée dans la production d'hormones stéroïdiennes.
- B. Pour passer du point 1 au point 2, les protéines doivent traverser 2 membranes.
- C. La flèche (3) indique une région de transcription très active.
- D. La flèche (4) indique le lieu de synthèse des ARNs ribosomiaux appelé nucléole.
- E. La flèche (5) montre une bactérie intracellulaire infectant la cellule.



Correction

2019-2020

QCM 54 : BD

- A. **FAUX** : on voit un abondant REG (et non REL) signe d'une importante synthèse de protéines.
- B. **VRAI** : l'enveloppe nucléaire comprend une membrane interne et une membrane externe. Cependant, les protéines traversent au niveau des complexes du pore nucléaire où il n'y a pas de membrane.
- C. **FAUX** : flèche 3 = hétérochromatine (périphérique) = chromatine fortement condensée (aspect sombre) donc très faiblement transcrite (ADN non accessible aux ARN pol).
- D. **VRAI** : flèche 4 = nucléole (sous-compartiment du noyau) = lieu de synthèse des ARNr
- E. **FAUX** : flèche 5 = mitochondrie