



CAHIER PASS

Biologie cellulaire

LE NOYAU

2022-2023

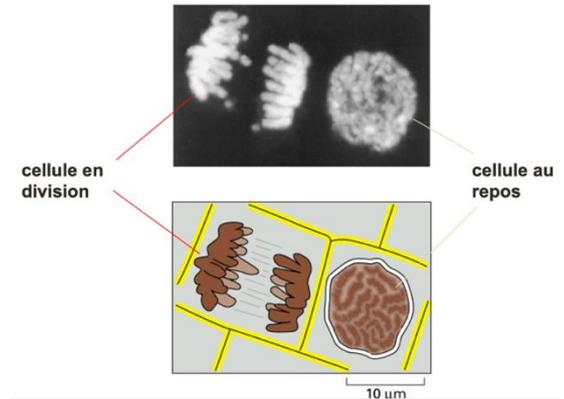
Table des matières

I.	L'ADN représente le matériel génétique.....	4
A.	Expérience établissant que l'ADN est le matériel génétique	4
B.	Structure de la double hélice d'ADN	4
C.	Échelle du génome humain	5
II.	Chez les eucaryotes, l'ADN est contenu dans le noyau	5
III.	L'ADN des cellules eucaryotes est empaqueté dans des chromosomes	6
A.	Des colorants révèlent des profils de bandes particuliers sur les chromosomes humains	7
B.	La grande taille des génomes eucaryotes n'est pas liée à leur complexité	7
C.	Conservation et différences entre les génomes.....	8
D.	Organisation des gènes sur un chromosome humain.....	9
E.	Les chromosomes changent d'aspect au cours du cycle cellulaire	10
IV.	L'ADN des chromosomes est très fortement condensé par des protéines	11
A.	Les nucléosomes.....	11
B.	La fibre de chromatine de 30 nm	12
C.	Les queues d'histone	15
V.	Deux conditions exceptionnelles permettent de proposer un modèle de condensation des chromosomes en interphase	16
A.	Chromosome en écouvillon d'ovocyte d'amphibien.....	16
B.	Chromosomes polythéniques d'interphase des glandes salivaires de la Drosophile	17
C.	Modèle de structure d'un chromosome d'interphase	18
VI.	L'hétérochromatine est très fortement organisée et habituellement résistante à l'expression des gènes 19	
A.	L'extrémité des chromosomes présente une forme particulière d'hétérochromatine.....	19
B.	Les centromères aussi sont condensés sous une forme particulière d'hétérochromatine	20
VII.	Caractéristiques des chromosomes.....	21
A.	Les chromosomes mitotiques représentent la forme la plus condensée de la chromatine.....	21
B.	Les chromosomes présentent plusieurs niveaux d'empaquetage de l'ADN.....	22
C.	Chaque chromosome contient une structure caractéristique faite de grands domaines	22
D.	Chaque chromosome occupe un territoire restreint du noyau	23
VIII.	Les sous-compartiments du noyau.....	24
IX.	Les complexes du pore nucléaire	26
X.	Les signaux de localisation nucléaire dirigent les protéines dans le noyau.....	29
XI.	Les récepteurs nucléaires se lient à la fois aux séquences de localisation nucléaire et aux CPN...30	
XII.	L'exportation hors du noyau fonctionne comme l'importation, mais en sens inverse	31
XIII.	La GTPase RAN impose le sens du transport au travers du CPN.....	31

A.	La fixation dans le noyau de Ran-GTP sur l'importine entraîne la dissociation du cargo.....	32
B.	La fixation dans le noyau de Ran-GTP sur l'exportine entraîne l'association au cargo	32
XIV.	Le transport au travers des CPN peut être régulé en contrôlant l'accès à la machinerie de transport.....	33
A.	Exemple du facteur de transcription NF-AT	33
B.	Régulation de la synthèse du cholestérol par le contrôle en feedback de l'importation dans le noyau de SREBP	34
XV.	L'enveloppe nucléaire se dissocie pendant la mitose	34
XVI.	Annales classées corrigées	36
	Correction	37

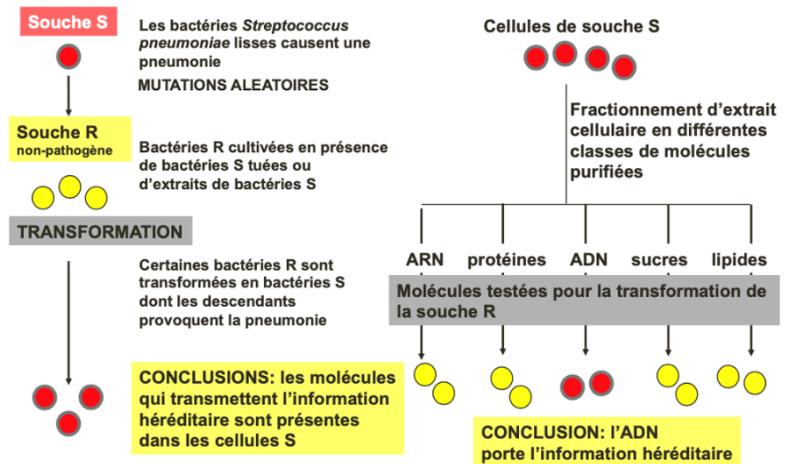
I. L'ADN représente le matériel génétique

- 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.**

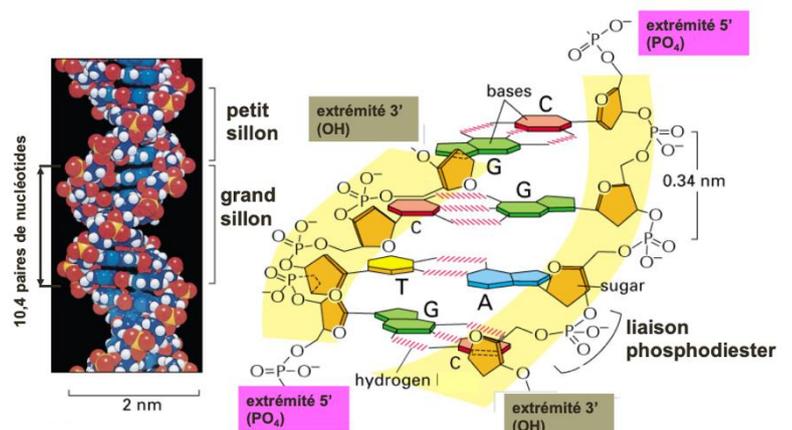


B. Structure de la double hélice d'ADN



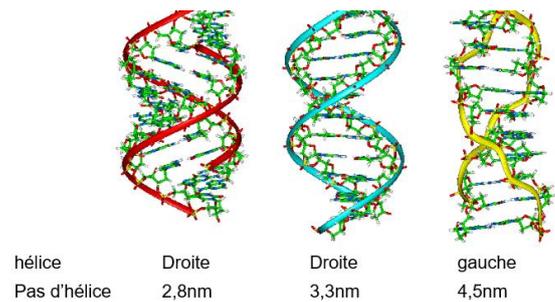
A connaître par cœur

- 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 fait 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'.



Il existe plusieurs formes de double hélice d'ADN. La forme prédominante est la double hélice B. Le pas de l'hélice et le sens de rotation sont différents.

Les formes A et Z ne sont pas que des artéfacts de préparation de l'ADN. Elles existent dans les cellules, peuvent être formées par l'association de l'ADN à des protéines ou par la modification covalente de régions de l'ADN (p.ex. méthylation). Ces formes A et Z ont de rôles physiologiques dans les cellules (contrôle de l'expression des gènes...).



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 cm (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. La composition des deux membranes n'est pas la même.

Il y a un réseau lâche de filaments intermédiaires à l'extérieur du noyau. A proximité du noyau, on trouve le centrosome (lieu d'organisation des microtubules). La localisation du noyau au centre de la cellule est permise grâce aux microtubules.

- L'enveloppe est percée par des complexes de **pores nucléaires** : transfert de protéines et d'ARN.

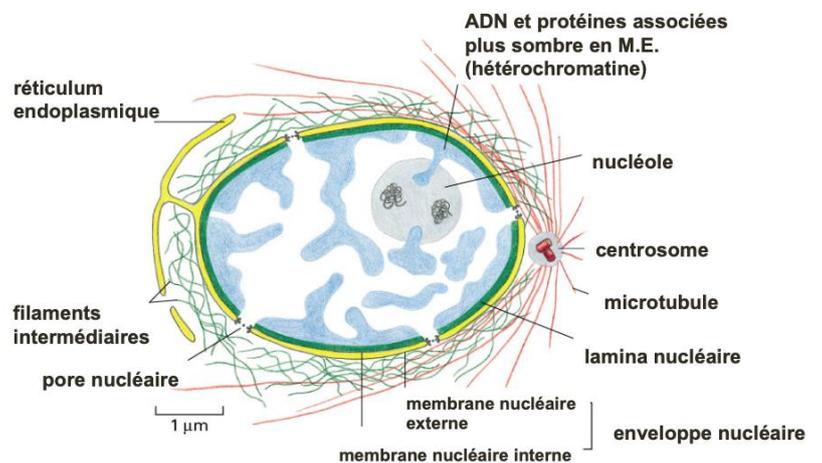
- Sur la face interne de l'enveloppe nucléaire = **lamina nucléaire** composée de filaments intermédiaires et qui protège l'enveloppe nucléaire des déformations.

- 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 (lieu de production des ARNr de 5 à 10 millions en 24h). La taille du nucléole est proportionnelle à l'intensité de synthèse et la vitesse de division des cellules.**

- 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

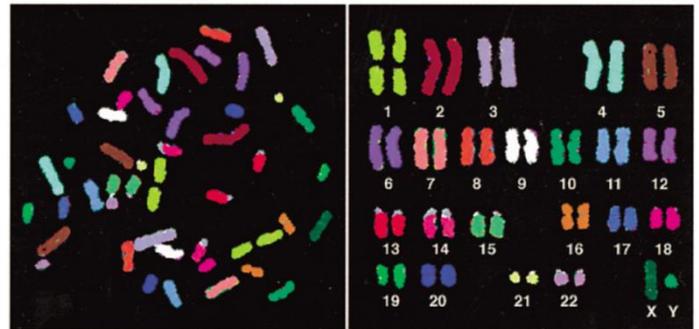
L'ADN est empaqueté dans des chromosomes. Ils sont visibles durant la mitose.

Les cellules procaryotes n'ont pas de noyau et contiennent une seule molécule d'ADN circulaire

Les cellules eucaryotes ne contiennent qu'un noyau par cellule

La plupart des cellules eucaryotes contiennent dans leur noyau plusieurs molécules d'ADN extrêmement longues : les chromosomes (exception: les hépatocytes, les cellules musculaires striées, les ostéoclastes...)

- Les chromosomes d'une cellule humaine male en mitose ont été marqués par hybridation avec des sondes d'ADN simple brin marquées par un fluorochrome différent par chromosome.
- Les sondes ont été hybridées avec les chromosomes
- À droite, les chromosomes ont été artificiellement alignés à partir de l'image de gauche



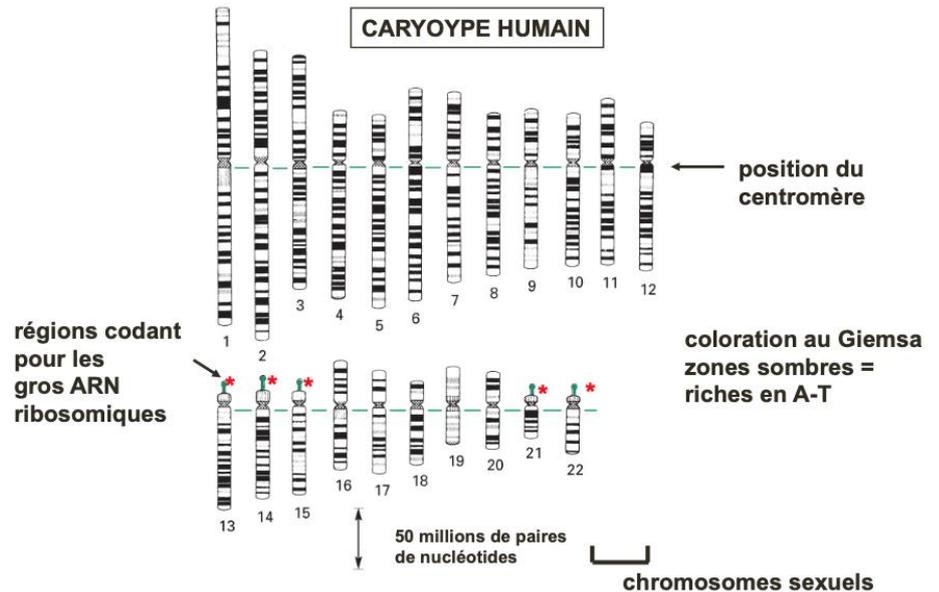
caryotype d'une cellule humaine mâle
22 paires de chromosomes homologues + 2 chromosomes sexuels = 46 chromosomes

Permet de visualiser des anomalies de nombre de chromosomes ou des réarrangements interchromosomiques.

- **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.

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 (13, 14, 15, 21 et 22). Ces 5 chromosomes ont des régions codant pour les gros ARNr.
- 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. La grande taille des génomes eucaryotes n'est pas liée à leur complexité

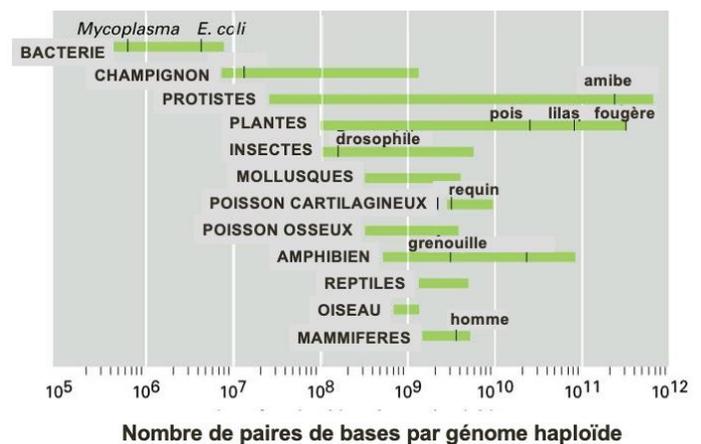
Les génomes eucaryotes sont :

- de grande taille
- hybrides (mitochondries ; rétrovirus (la moitié du génome humaine est fait de séquences répétées))
- composés de beaucoup de séquences régulatrices
- environ 1 milliard de paires de bases

Les génomes des procaryotes ont environ 1 à 5 millions de paires de bases

La taille du génome est proportionnelle à la complexité de l'organisme mais pas de manière absolue.

Taille génome dépend du nombre de gène, et de l'ADN non codant régulateur, du nombre de duplication (important chez les plantes)



Génome : l'entièreté de l'information génétique appartenant à une cellule ou à un organisme ; en particulier l'ADN qui code pour cette information. Une petite fraction du génome humain est représentée par l'ADN mitochondrial (16569 nt).

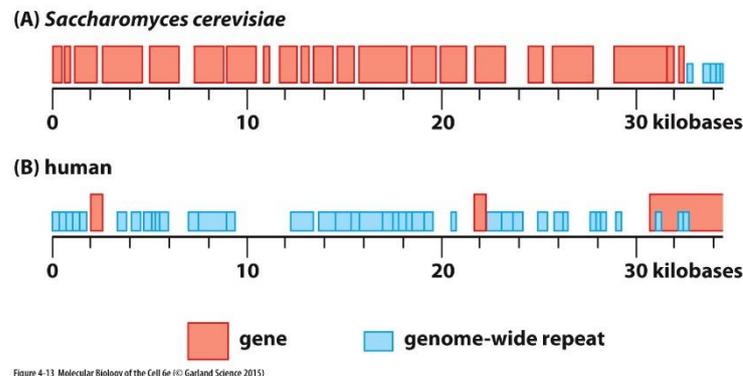
L'ADN mitochondrial humain code pour 37 gènes. Il n'est pratiquement transmis que par la mère).

Le fragment de l'information génétique correspondant à une protéine est un gène.

Gène : ensemble des séquences d'acides nucléiques qui contiennent l'information pour la production régulée d'un ARN particulier (transcription) correspondant à une protéine ou à un ensemble de protéines alternatives, ou à un ARN catalytique, régulateur ou structural.

La notion de gène n'est pas limitée aux protéines : elle concerne aussi les régions régulatrices non traduites ou les ARN non codants (mi-, si-RNA par exemple).

Si on compare le genome humain au génome de la levure, on s'aperçoit que les chromosomes ne sont pas organisé de la même façon : très peu de régions qui ne sont pas des gènes chez la levures alors que ce n'est pas le cas chez l'homme.



C. Conservation et différences entre les génomes

Des **changements accélérés** dans des séquences jusqu'alors conservées renseignent sur les **étapes critiques** de l'évolution des hommes

Des parties du génome subissent peu de mutations et d'autres oui.

Certaines parties révèlent une accélération des mutations dans le génome.

Les gènes homologues orthologues (même gène venant d'un même ancêtre commun, retrouvé dans deux espèces différentes avec une même fonction) peuvent être reconnus en faisant des alignements de séquences : **cela met en évidence la conservation.**

Les différences entre les génomes concernent :

- la taille des génomes
- le nombre de gènes
- l'ordre de gènes dans les chromosomes (synthénie)
- le nombre et la taille des introns
- la quantité d'ADN répété



Les erreurs de réplication et d'entretien de l'ADN sont à la base des différences entre les génomes (S'il y avait des répliquions parfaitement fidèles, il n'y aurait pas d'évolution) :

Fréquence de mutation : environ 1 à 2 bases mutées tous les milliards de paires de bases répliquées

- En 1 million d'années, on a des mutations aléatoires de 1 nucléotide tous les 1000 nucléotides dans les cellules germinales des descendants (concept d'horloge biologique : avec le temps, il y a des mutations aléatoires).
- Sur une population de 10 000 individus diploïdes, chaque mutation pourrait être testée 20 fois sur une période d'un million d'année.

Sources de variations :

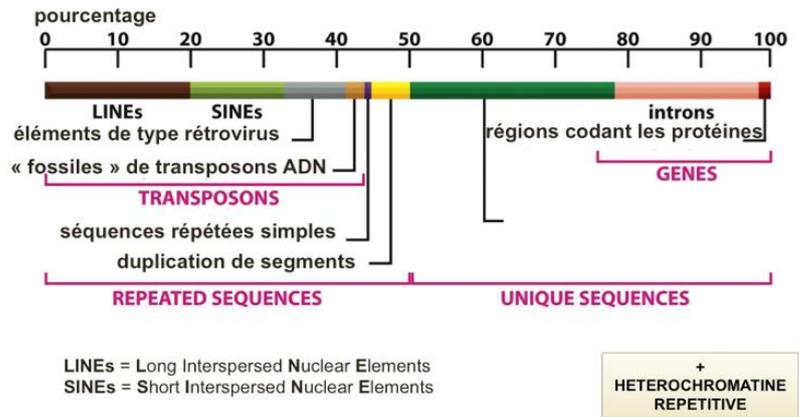
- mutations ponctuelles
- variations par déplacement de segment d'ADN : duplication, délétion, inversion, translocation
- mouvements d'éléments mobiles : transposons

Statistiques du génome humain :

3,2.10⁹ paires de bases

- distribuées en 22 autosomes et 2 chromosomes sexuels (X+Y)
- environ 30 000 gènes
- environ 20 000 pseudogènes
- taille moyenne d'un gène : 27 000 nucléotides
- nombre d'exons par gènes : de 1 à 178 (moyenne : 10,4)
- taille moyenne d'un exon : 145 nucléotides
- taille d'une protéine moyenne : 430 acides aminés

- **séquences non-codantes : 98,5% du génome**
- **séquences répétitives : environ 50 % du génome** (les séquences répétitives sont non-codantes)
- Exemples : **LINEs** (*longs éléments nucléaires intercalés*) et **SINEs** (*petits éléments nucléaires intercalés, séquences ALU chez la souris*), *retrotransposons*.



- Des séquences d'ARN sont produites à partir de régions qui ne codent pas pour des protéines mais qui ont des **fonctions importantes**.

D. Organisation des gènes sur un chromosome humain

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

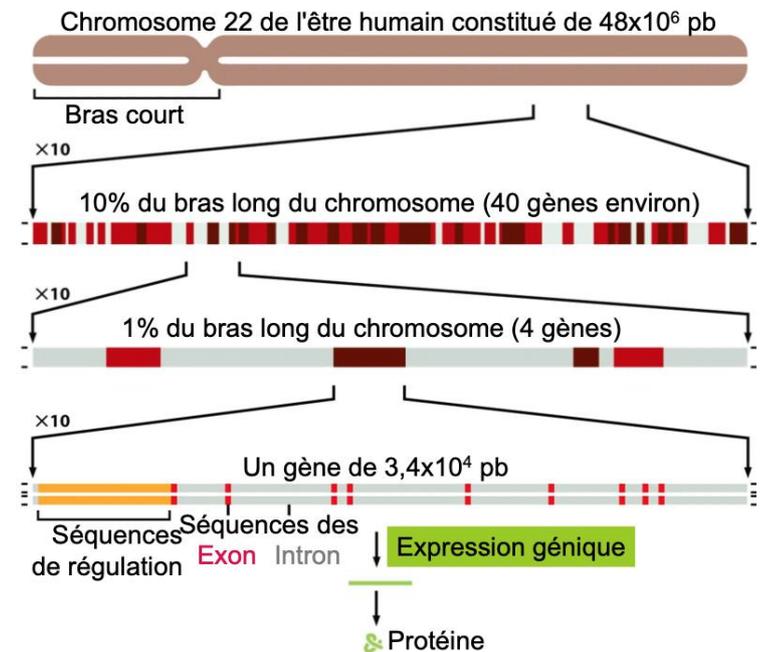
- petit chromosome acrocentrique
- bras court (p) = zone d'hétérochromatine = zone très compacte avec pratiquement pas d'expression de gènes
- bras long (q) : très peu de séquences codantes
- **différences entre les individus ~ 1 nt / 1000 nt**

- **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

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

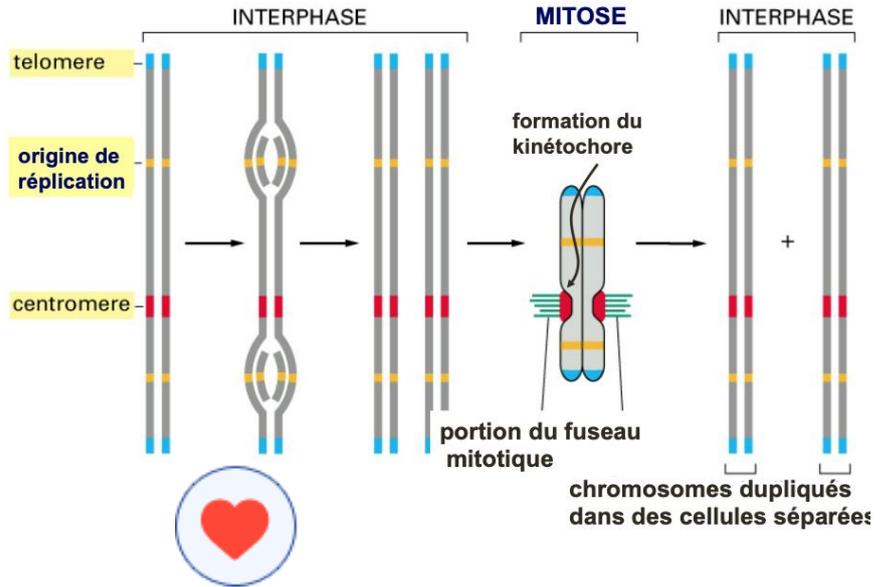
- *En interphase* : les chromosomes sont allongés. Le centromère sépare les bras longs des courts.

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 centromère par le fuseau mitotique puis vont être séparés dans les noyaux des cellules filles.

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

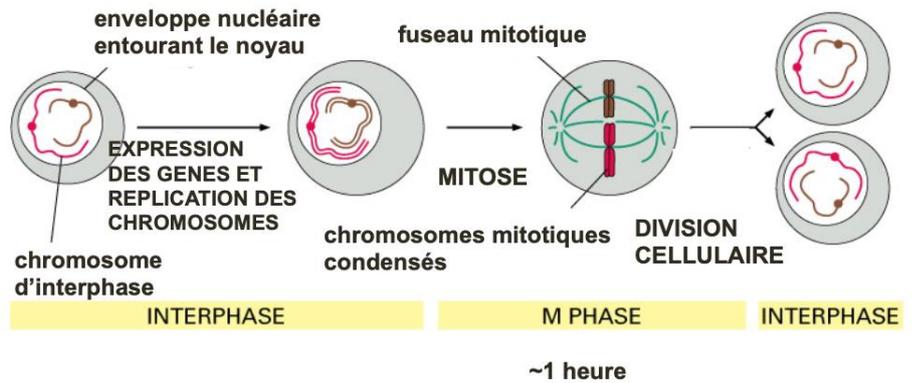


E. Les chromosomes changent d'aspect au cours du cycle cellulaire

→ Durant l'interphase, les chromosomes apparaissent dilués et étendus dans le noyau.

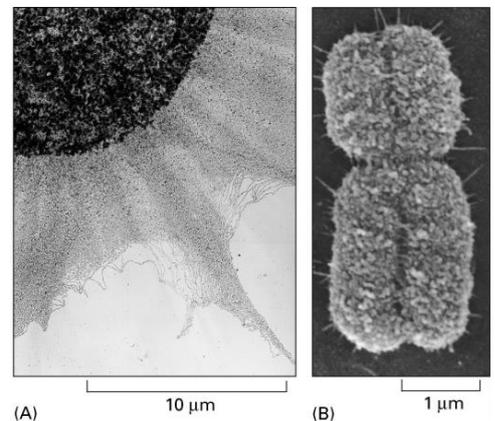
→ Durant la mitose, on a une condensation des chromosomes. Ils vont être alignés sur la plaque équatoriale grâce au fuseau mitotique (microtubules) et être répartis équitablement dans les cellules filles.

L'enveloppe nucléaire va disparaître durant la mitose.



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



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 µm)**
- Chromosome 22 : 2µm/1.5 cm d'ADN
- Chromosome 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

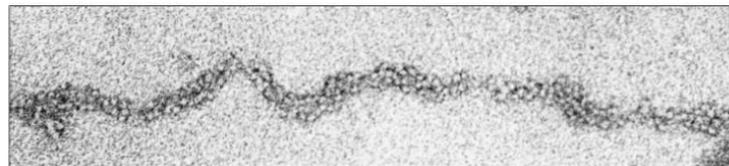
La chromatine résulte de l'association de l'ADN à des histones et à des protéines non-histones

A. Les nucléosomes

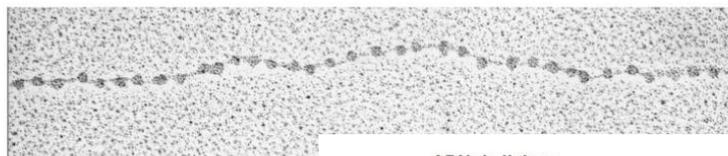
→ Les nucléosomes sont les unités de base de la structure des chromosomes eucaryotes.

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

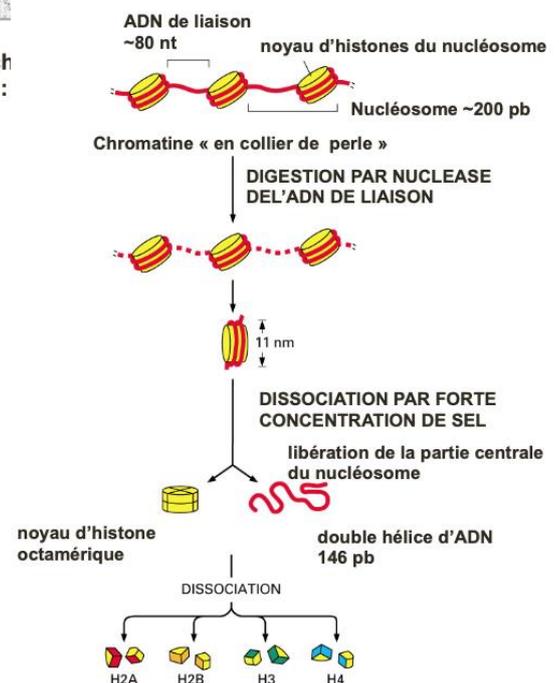


vue en ME à transmission d'un chromosome expérimentalement décondensé : présence de nucléosomes



→ 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.**



~ $30 \cdot 10^6$ nucléosomes / cellule humaine diploïde. Ce niveau de compaction est modeste car permet une condensation $\times 3$.

Par le nombre important de nucléosome, il y a de nombreuses copies de gène codant pour les différentes histones formant le nucléosome.

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 :

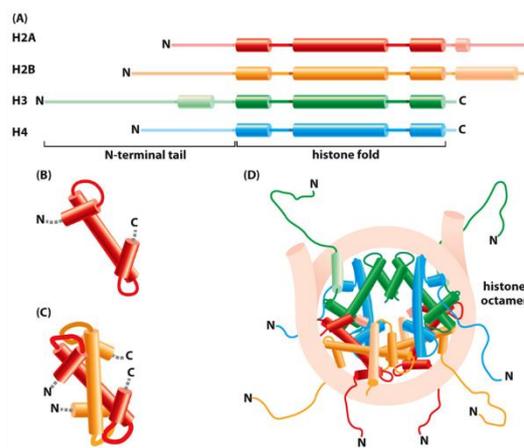
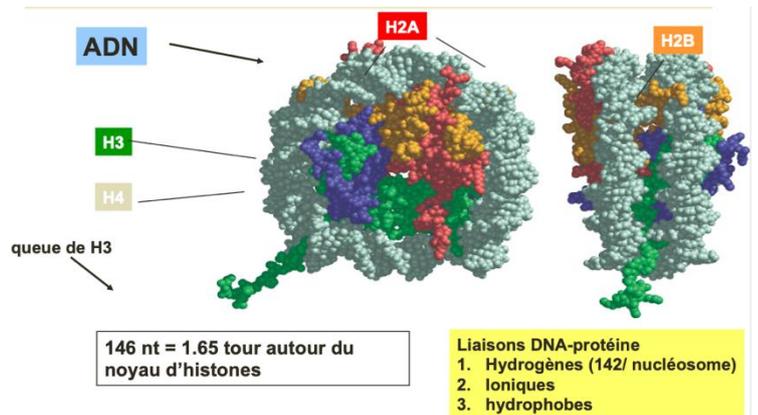
- Succession d'hélices alpha (une grande hélice entourée de 2 petites hélices) qui se replie sous la forme d'un « repli histone ».

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.



- Queues d'histone
1. séquence riche en aa basiques (lysine, arginine)
 2. longue queue N-terminale subissant des modifications covalentes
 3. très forte conservation de séquence

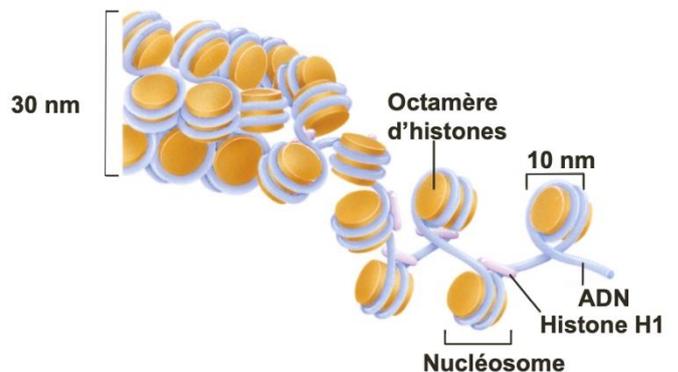
« repli histone » permettant la dimérisation H2A/H2B

B. La fibre de chromatine de 30 nm

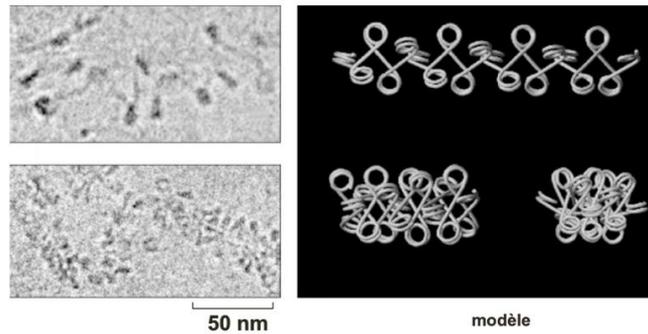
→ Les nucléosomes sont habituellement condensés sous forme de fibre de chromatine compacte de 30 nm.

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.



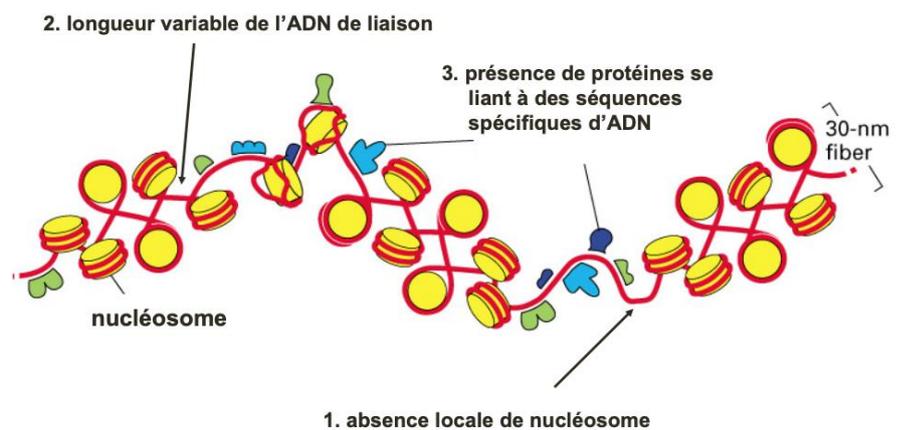
Modèle de condensation de la chromatine



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

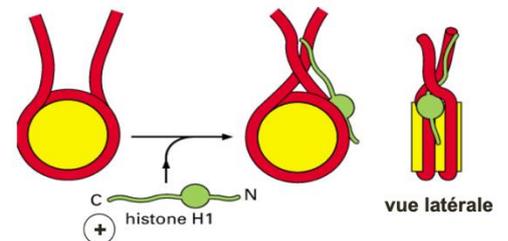
→ Les irrégularités de la fibre de chromatine en zigzag résultent de 3 facteurs :

- 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

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

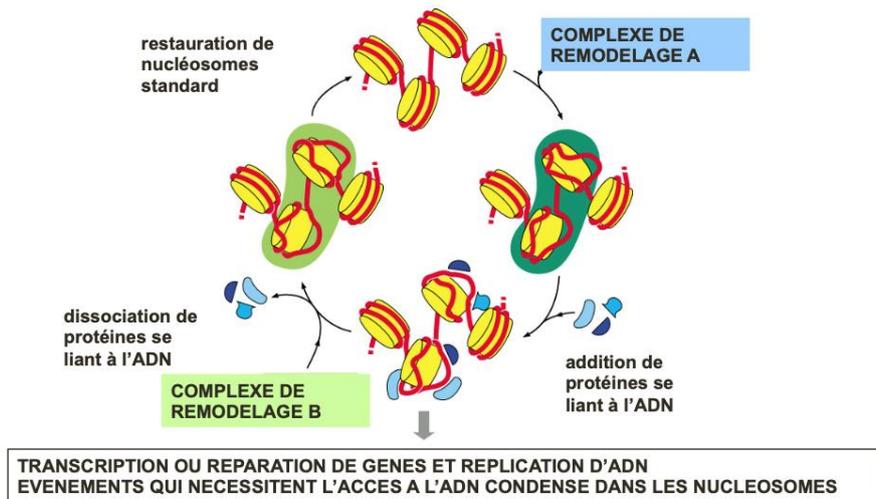
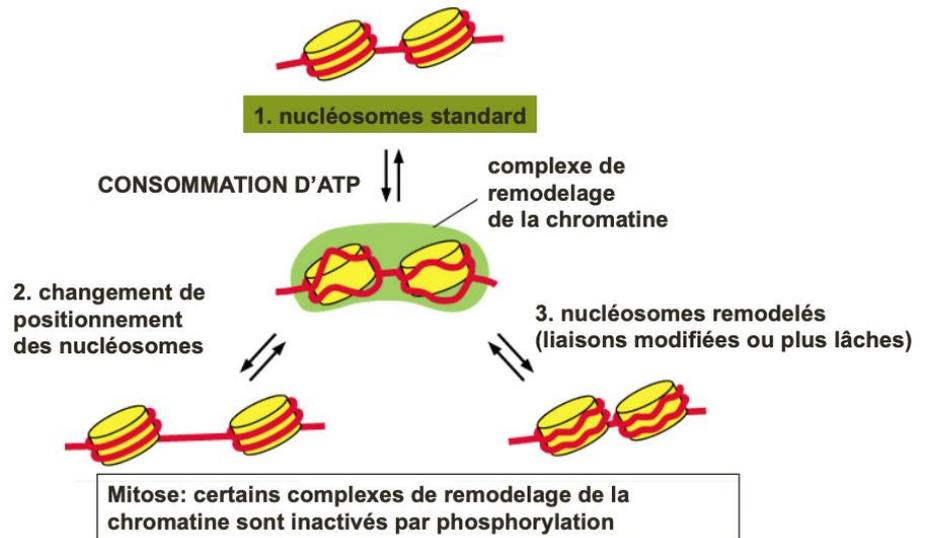
Sous l'action de complexe de remodelage de la chromatine (qui consomme de l'ATP), les nucléosomes peuvent profiter du desserrement des interactions entre l'ADN et le noyau d'histones, pour changer de position.

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

→ Les nucléosomes sont modifiés puis restaurés de manière cyclique :

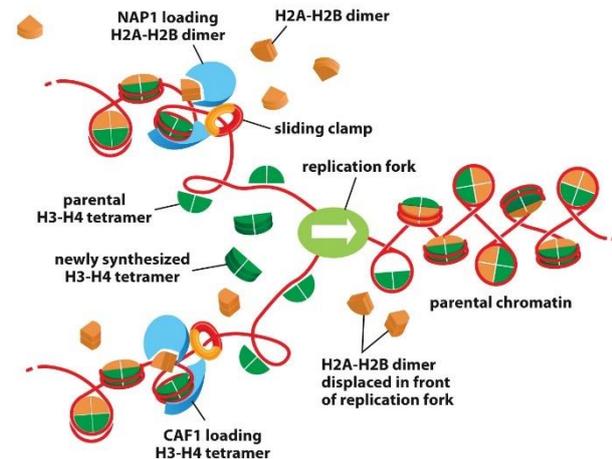
Exemple 1 : si lésion de l'ADN : pour qu'il y ait intervention des protéines de réparation, il faut déplacer les nucléosomes grâce aux complexes de remodelage.

Exemple 2 : si on veut transcrire un gène et qu'il est caché par un nucléosome, il faut là aussi le déplacer.



L'empaquetage de l'ADN en hétérochromatine peut être hérité après la réplication des chromosomes (hérédité épigénétique).
Le même type d'organisation est transmis aux cellules filles.

Reformation des nucléosomes derrière une fourche de réplication : les nucléosomes se reforment à l'identique après la réplication. Les dimères H3 et H4 se refixe instantanément et le reste du nucléosome s'assemble grâce à des protéines chaperonnes CAF1

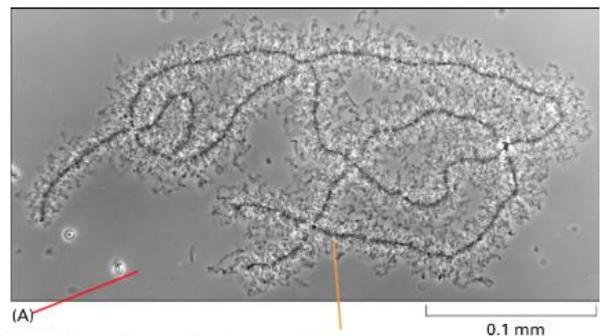


V. Deux conditions exceptionnelles permettent de proposer un modèle de condensation des chromosomes en interphase

Les fibres de 30nm ne permettent pas de compacter suffisamment l'ADN pour l'organiser dans le noyau : Un chromosome humain typique sous la forme de fibre de 30 nm mesurerait encore 1000 μm (diamètre du noyau 6 μm)

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

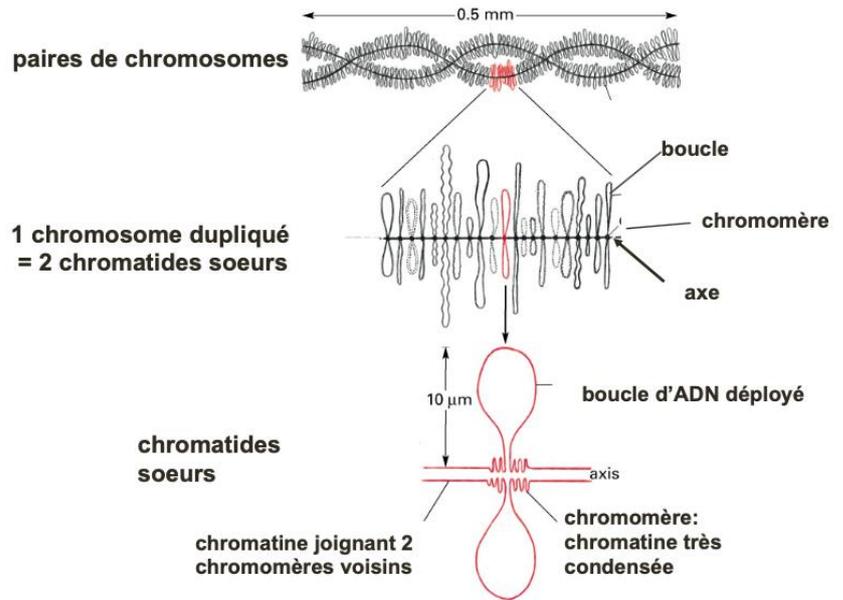
ADN compact = silencieux

- 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 et contenir entre 50 et 200000 pb, contiennent de l'ADN décondensé et donc transcrit.
- Les chromomères contiennent de l'ADN fortement condensé et donc pas transcrit.

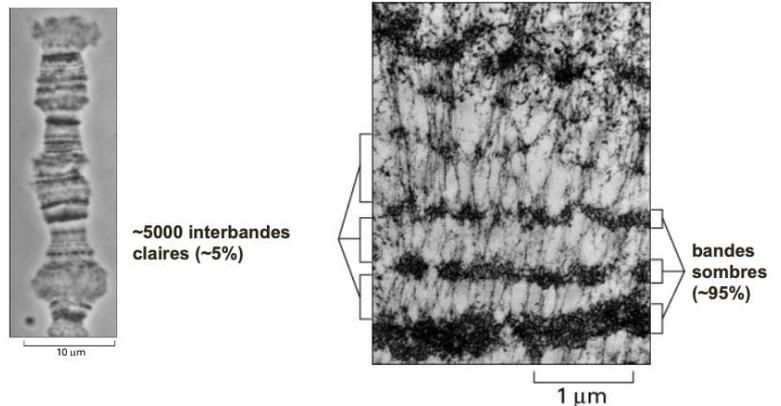


- **Chromatide : copie conforme de chaque chromosome qui se matérialise au cours de la métaphase et se sépare de sa copie parentale lors de l'anaphase.**

→ 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 polythéniques d'interphase des glandes salivaires de la Drosophile

- Les chromosomes polythéniques 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.



- ✓ 10 divisions cellulaires sans séparation des chromosomes filles: 2¹⁰ copies de chromosomes accolées: → chromosomes larges et rigides, bandes visibles
- ✓ Les chromosomes polyethniques peuvent se disperser pour devenir des chromosomes conventionnels

- 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.**

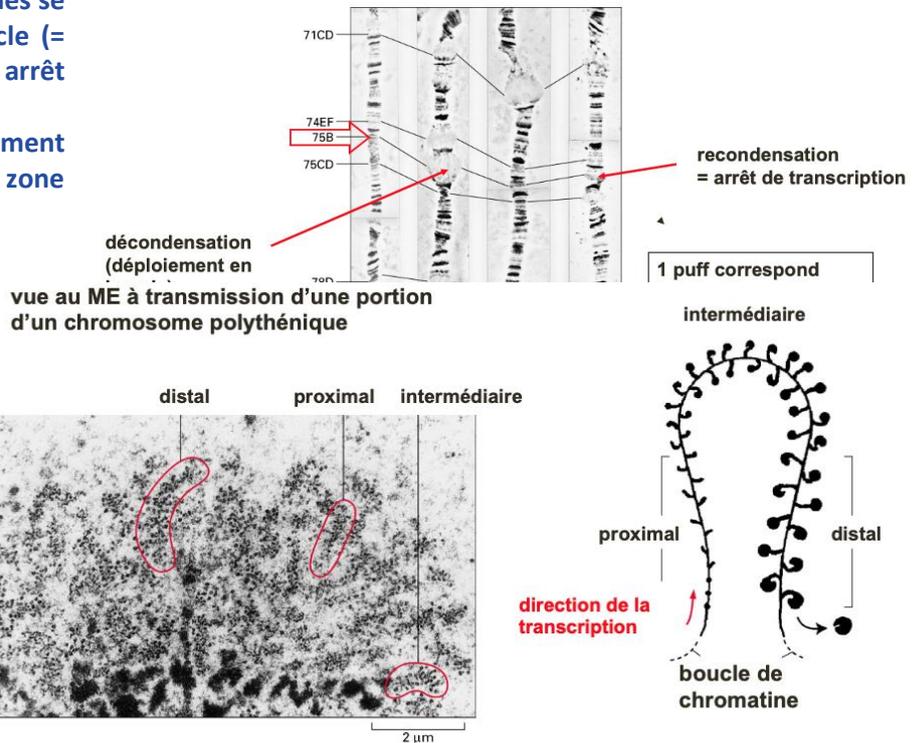
Les bandes des chromosomes polyténiques se décondensent en se déployant en boucle (= forte transcription) et se recondensent (= arrêt de la transcription).

- 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).

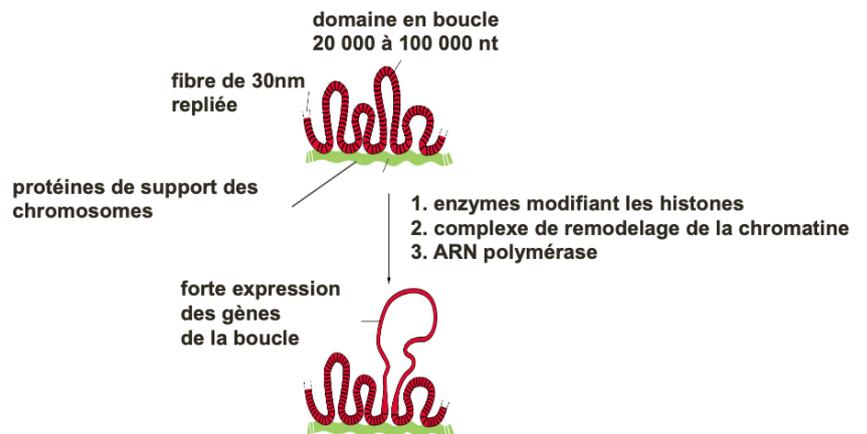
Microscopie électronique à transmission (cellules traitées à l'³H-uridine pour marquer les ARNs) :



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.



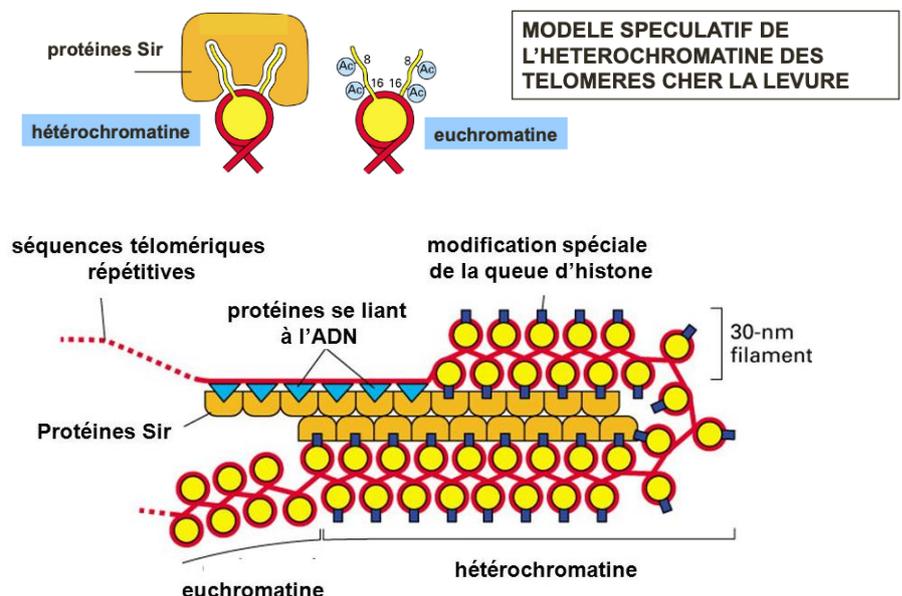
VI. L'hétérochromatine est très fortement organisée et habituellement résistante à l'expression des gènes

- 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 queues d'histones désacétylées 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.



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

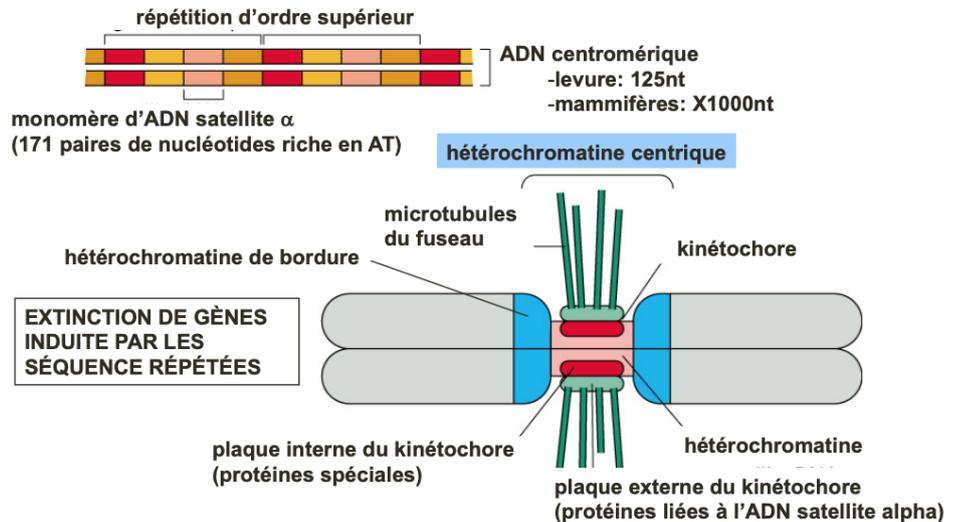
- Centromère = répétition de monomère d'ADN satellite alpha (171 paires de nucléotides riche en AT).

- 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 séquences répétées = extinction complète de l'expression des gènes au moment de la formation du centromère et de son utilisation pour le fuseau mitotique.

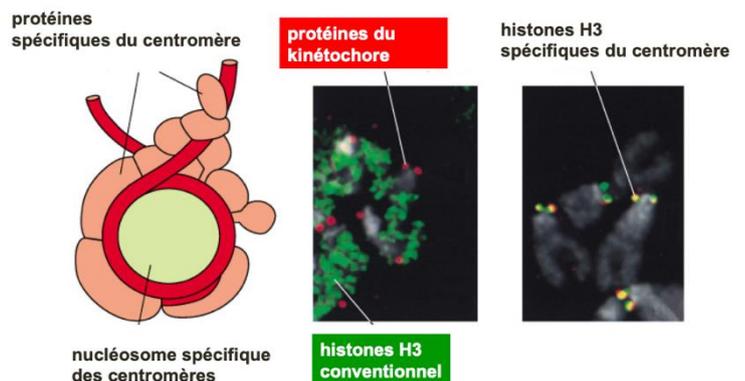


Kinétochore : structure complexe formée de protéines sur un chromosome en mitose, à laquelle les microtubules sont attachés et qui joue un rôle actif dans les mouvements des chromosomes en direction des pôles du fuseau. Le kinétochore se forme sur la partie du chromosome appelée centromère.

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. Variant de H3 = CENP-A

- à distance du centromère, se trouvent les histones H3 conventionnelles

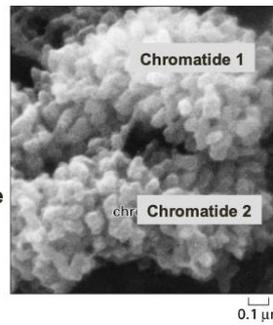
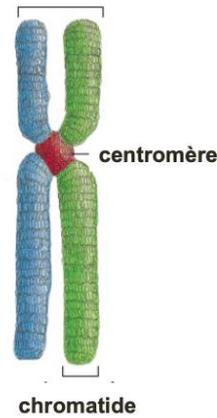


VII. Caractéristiques des chromosomes

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

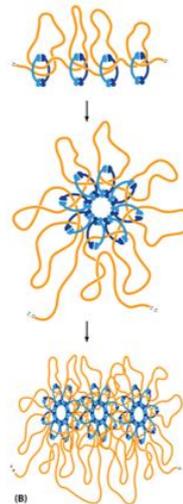
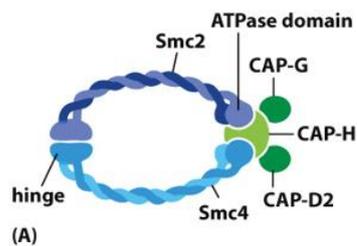
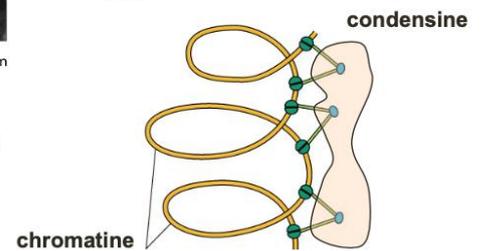
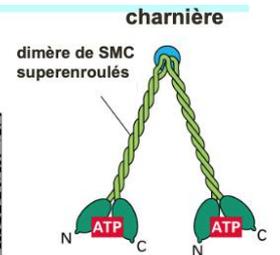
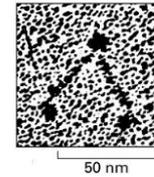
Il y a des protéines, les **condensines**, qui **utilisent de l'ATP** pour rapprocher les boucles et forcer la « supercondensation » de ces boucles dans les chromosomes mitotiques. Elles assurent ainsi le maximum de condensation.

chromosome mitotique



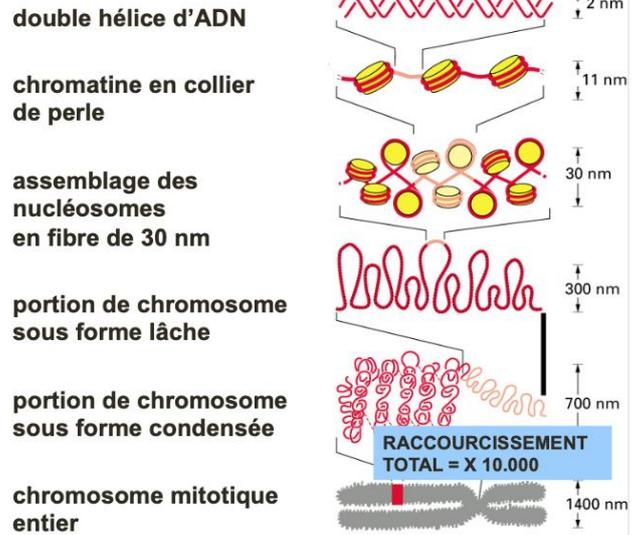
Vue au microscope électronique à balayage d'un chromosome mitotique typique

microscopie électronique d'un dimère de SMC purifié



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.

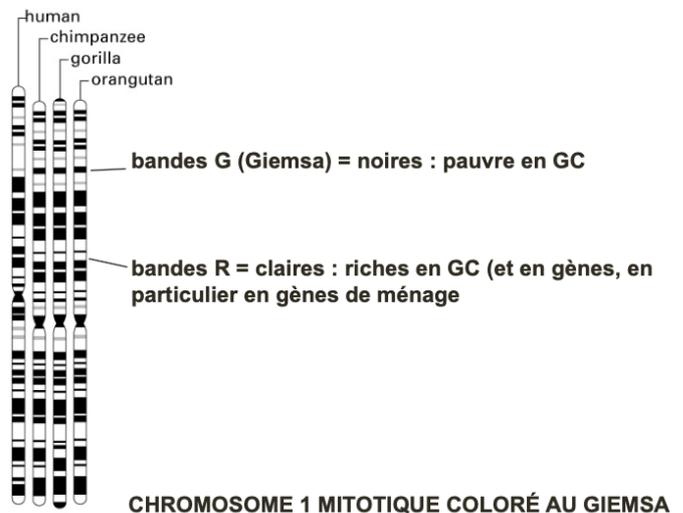


C. Chaque chromosome contient une structure caractéristique faite de grands domaines

- 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).

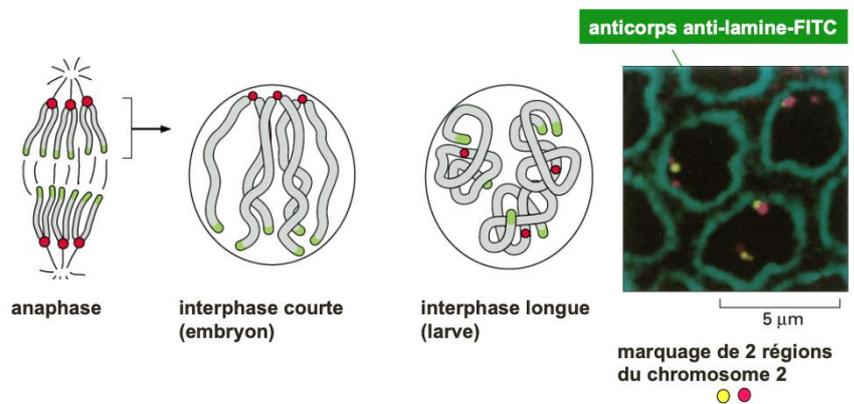
→ La **synténie** correspond à la conservation de l'ordre des gènes le long des chromosomes entre des espèces voisines.



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.



CHROMOSOMES DU NOYAU DE CELLULES DE DROSOPHILE

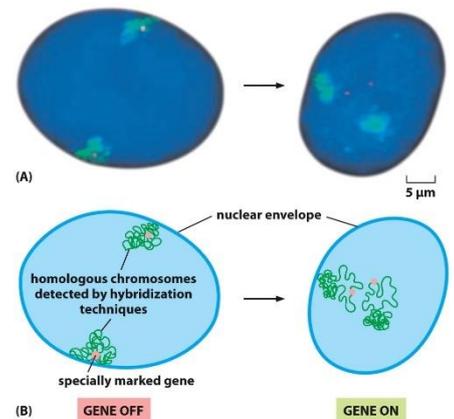
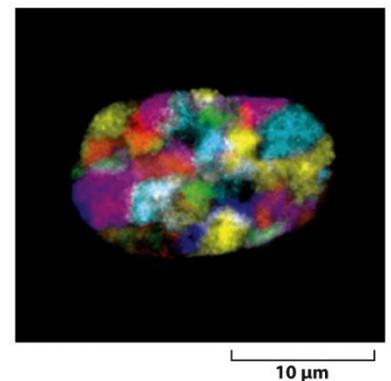
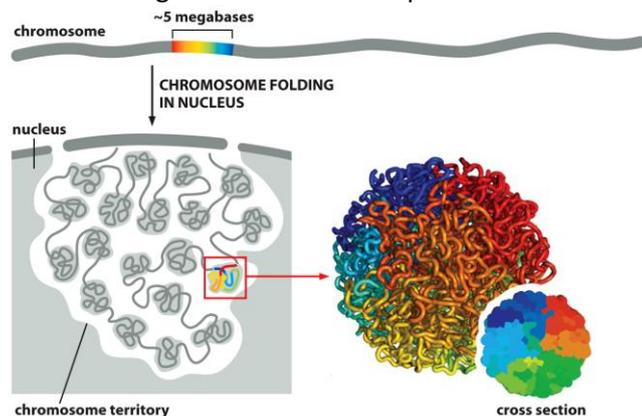
Cette localisation est variable :

- marquages fluorescents des 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.**

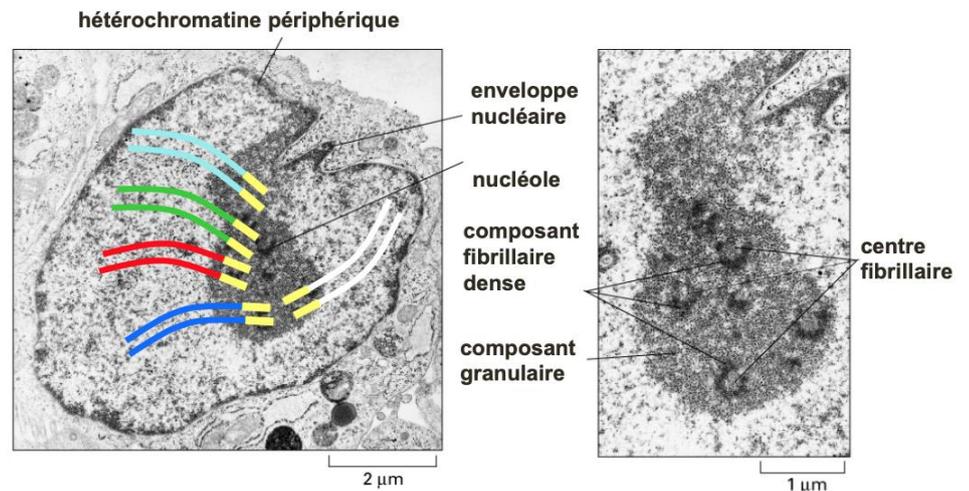
C'est à mettre en relation le rôle de différents sous-compartiments dans le noyau. Le noyau ne contient pas de membrane pour subdiviser mais contient des domaines. Certains domaines sont des associations de protéines qui conduisent à un rassemblement d'ARN polymérase, de facteurs d'épissage et de facteurs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

Modèle des globules fractaux : repliement en fonction des séquences d'ADN.



VIII. Les sous-compartiments du noyau

- Le nucléole est le site de production des ARN ribosomiaux.
- 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).

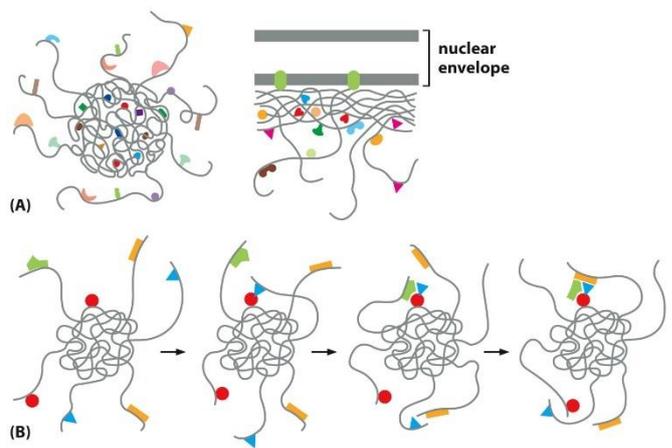


- Les extrémités des chromosomes 13, 14, 15, 21 et 22 (bras courts) (ici colorées artificiellement ; voir les chromosomes marqués par un « * » sur le caryotype page 5) présentent des séquences qui codent pour les ARNr (r = ribosomiques). Il y a un grand nombre de copies codant pour les ARNr → nécessaires 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.

Compartimentation efficace sans membrane bicouche :

- (A) Illustration schématique de l'organisation d'un organite subnucléaire sphérique (à gauche) et d'un sous-compartiment supposé organisé de manière similaire juste sous l'enveloppe nucléaire (à droite). Dans les deux cas, les ARN et/ou les protéines (en gris) s'associent pour former des structures très poreuses, semblables à des gels, qui contiennent des sites de liaison pour d'autres protéines et molécules d'ARN spécifiques (objets colorés).



- (B) Comment l'attachement d'un ensemble sélectionné de protéines et de molécules d'ARN à de longues chaînes polymères flexibles, comme dans (A), peut créer des "zones de transit" qui

accélèrent considérablement la vitesse des réactions dans les sous-compartiments du noyau. Les réactions catalysées dépendront des macromolécules particulières qui sont localisées par l'attache. La même stratégie d'accélération d'ensembles complexes de réactions est également employée dans des sous-compartiments situés ailleurs dans la cellule.

→ 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) :**

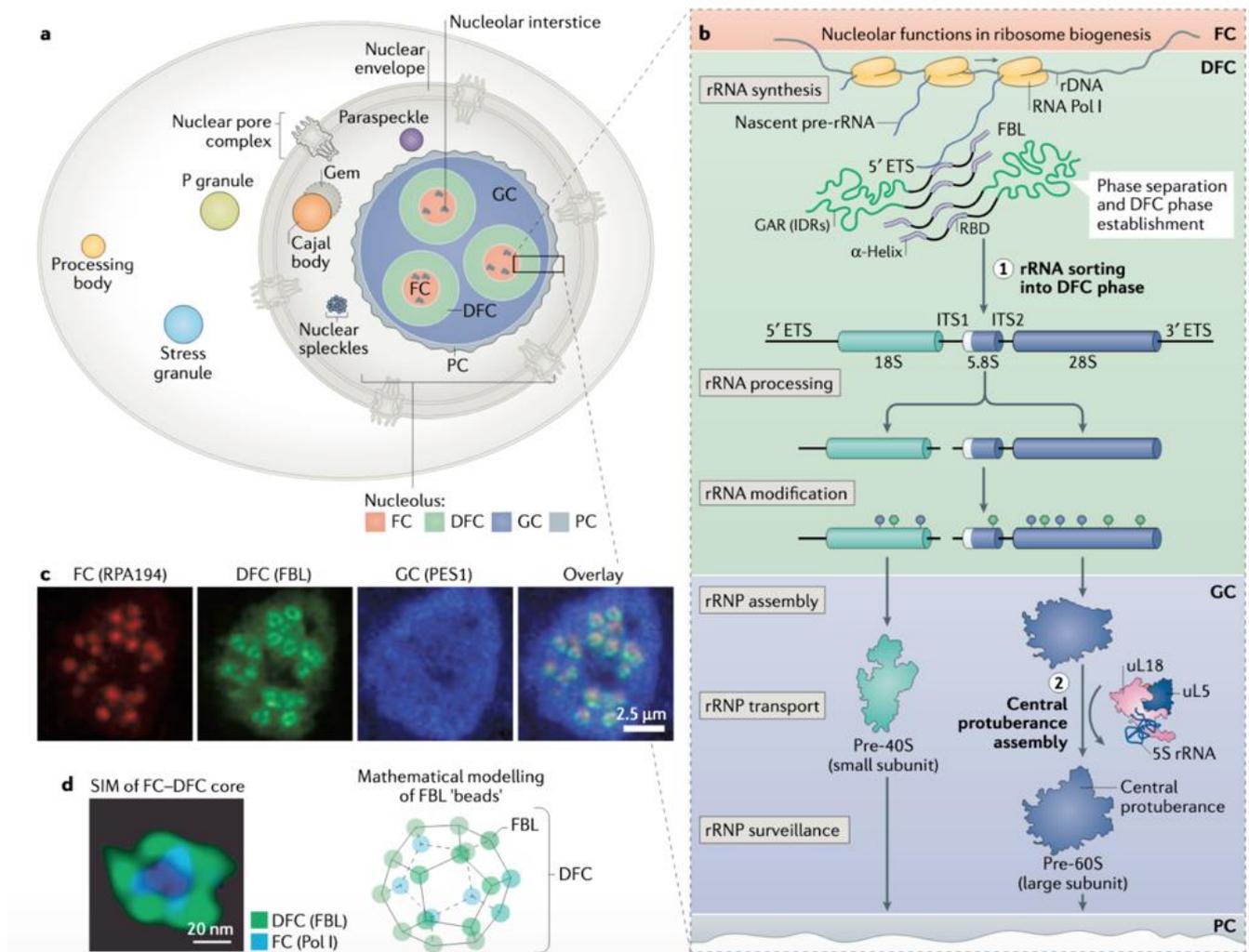
- **Au niveau du nucléole : les boucles d'ADN des chromosomes conduisent à la production des ARN précurseurs des ARNr (ARN précurseur 45 S) par l'ARN polymérase I.**

- 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 importer 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 réplication 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)

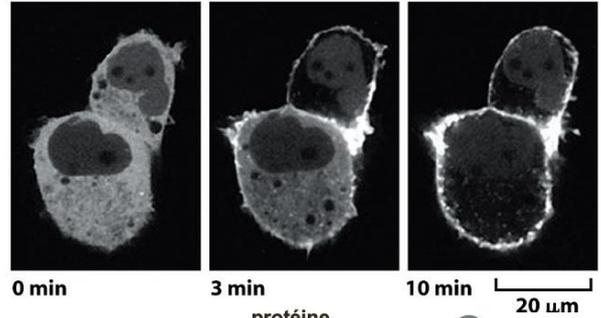
Le fonctionnement de ces machineries enzymatiques au niveau du noyau dépend de l'assemblage de protéines qui fonctionnent ensemble. Ce n'est pas propre au noyau.

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 PKCγ-GFP va s'accumuler à un endroit précis.

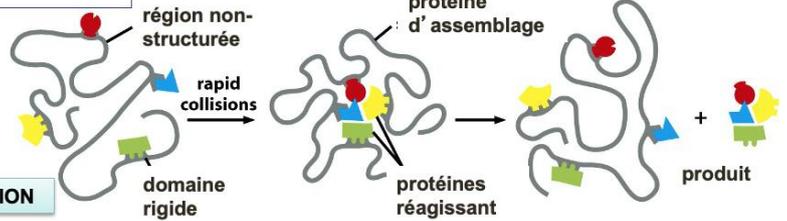
Relocalisation de PKCγ-GFP après traitement aux esters de phorbol

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 2 membranes de l'enveloppe nucléaire sont séparées par un espace qui est en continuité avec le RE
- La composition protéique des membranes interne et externe de l'enveloppe nucléaire diffère :
 - Membrane interne : contient des protéines d'ancrage pour les chromosomes, pour la lamina nucléaire : un réseau de filaments intermédiaire qui renforce l'enveloppe nucléaire et qui fournit des sites d'ancrage pour les chromosomes et pour les protéines du cytosquelette (via des protéines transmembranaires) .
 - Membrane externe : couverte de ribosomes.
- Le trafic au travers de chaque CPN est bidirectionnel.
 - Importation sélective de protéines qui fonctionnent dans le noyau : histones, RNA et DNA polymérase, protéines d'apprêtement des RNAs, facteurs de transcriptions
 - Exportation de presque tous les RNAs cellulaires (mRNAs, tRNAs, miRNAs, snRNAs)

→ Les complexes du pore nucléaire (CPN) perforent l'enveloppe du noyau (diamètre environ 50 nm).

- 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**. Elles forment un condensat protéique.

- 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"

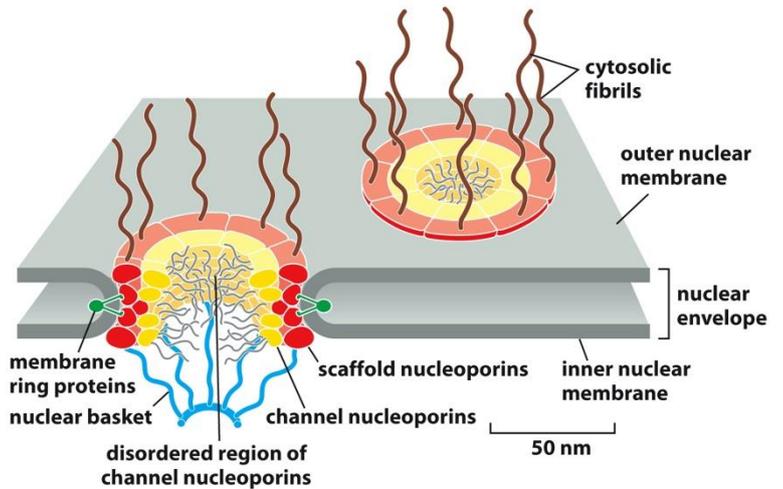
- **Les CPNs forment des conduits aqueux par lesquels les molécules < 5000 daltons diffusent librement.**

- 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)**

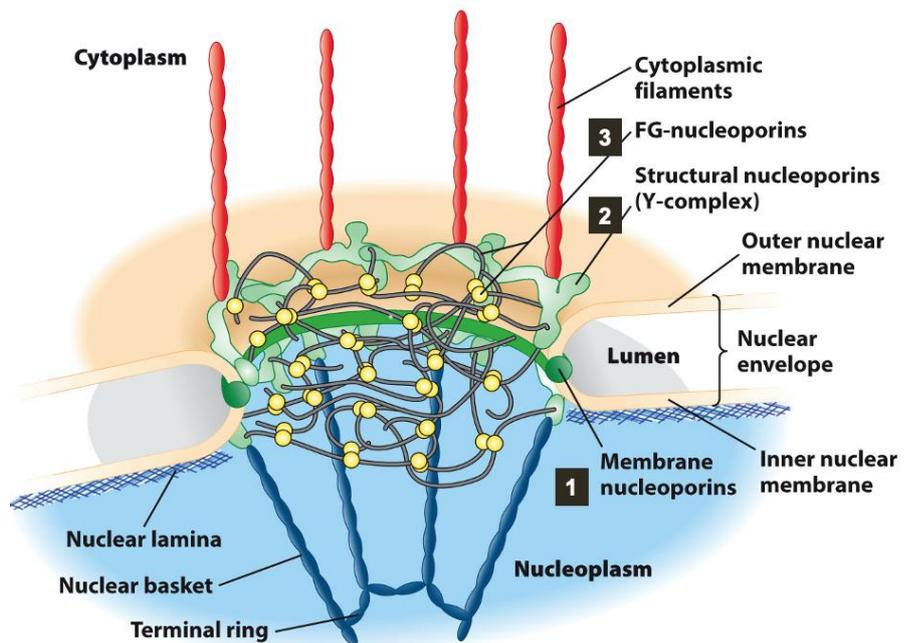


→ Il existe **3 types de NPs** différentes :

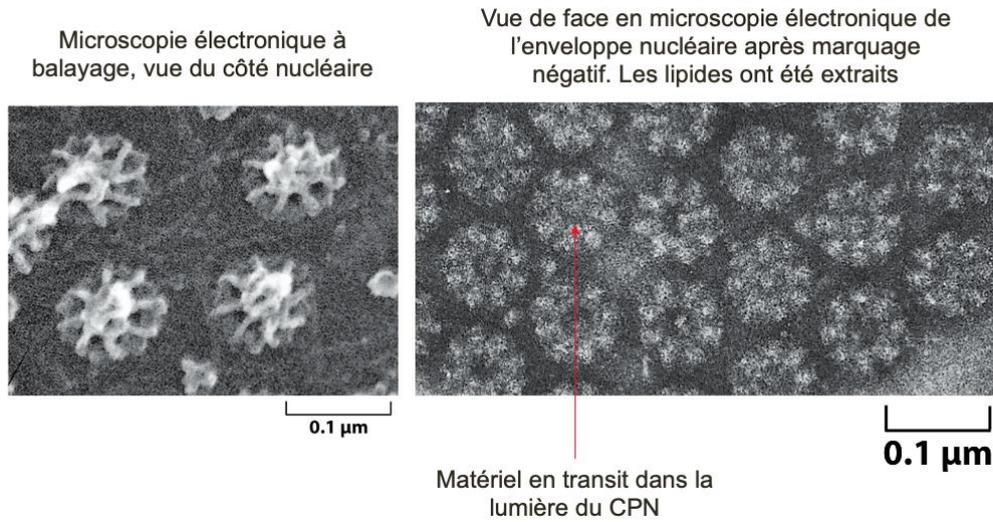
1- NP membranaires qui attachent le CPN à la membrane du pore

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**

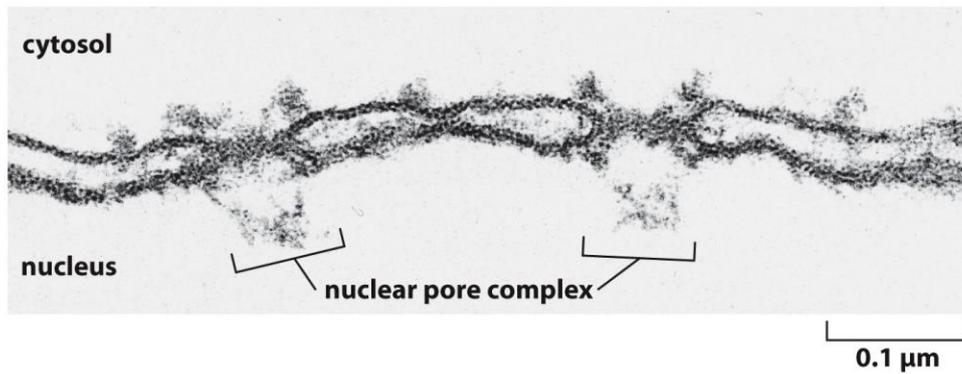
3- NP du canal riche en FG qui possèdent un **domaine non-structuré riche en aa phénylalanine-glycine (FG) hydrophobes** (boules jaunes) qui forment un **réseau** (un maillage) dans la lumière du pore empêchant la diffusion passive des grosses molécules.



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



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



X. Les signaux de localisation nucléaire dirigent les protéines dans le noyau

Les protéines dont la taille ne leur permet pas de diffuser librement à travers le CPN vont avoir une séquence signal. Les **séquences de localisation nucléaires (NLS)** consistent souvent en une ou deux courtes séquences **riches en aa chargés positivement (lysine ou arginine = aa basiques) qui forment une boucle ou un "patch" en surface et localisées pratiquement n'importe où dans la protéine.**

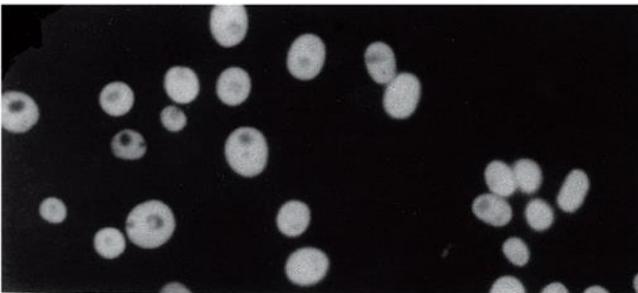
Expérience : L'antigène T du virus SV40 (un des premiers virus qui a été identifié comme capable de transformer et immortaliser des cellules) **possède une séquence NLS.**

- Quand on marque avec l'antigène T avec un anticorps anti-antigène T couplé à un fluorochrome (FITC) : toutes les protéines T sont dans le noyau

- Si on fait une mutation où on introduit dans la séquence NLS (ajout d'une thréonine à la place d'une lysine) : il n'y a plus de localisation nucléaire, **toute la fluorescence se trouve dans le cytoplasme** (donc à l'extérieur des noyaux).

LOCALISATION DE L'ANTIGENE T DU VIRUS SV40 CONTENANT SON NLS SAUVAGE

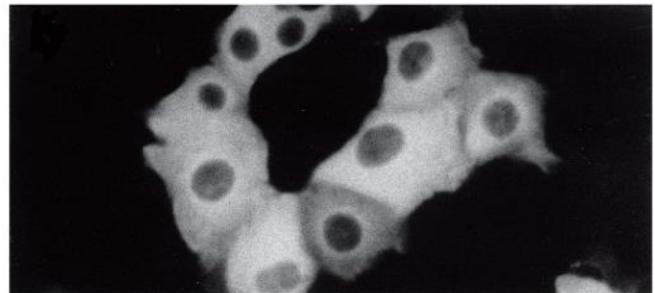
Pro — Pro — Lys — Lys — Lys — Arg — Lys — Val —
aa basiques



L'antigène T est importé dans le noyau

LOCALISATION DE L'ANTIGENE T DU VIRUS SV40 CONTENANT SON NLS MUTE

Pro — Pro — Lys — Thr — Lys — Arg — Lys — Val —



L'antigène T reste dans le cytosol

MICROSCOPIE EN FLUORESCENCE DE CELLULES TRANSFECTÉES MARQUÉES AVEC UN ANTICORPS ANTI-ANTIGÈNE COUPLÉ AU FITC



La présence d'une NLS sur une seule protéine d'un complexe de plusieurs molécules suffit à diriger l'importation nucléaire de tout le complexe.

Parce que le passage par le CPN n'impose pas de traverser une membrane, les protéines nucléaires peuvent être importées repliées (le passage dans le CNP contient de l'eau), et les sous-unités ribosomales sont exportées sous forme de particules assemblées. (Remarque : dans le cas de la translocation des protéines en cours de synthèse dans le réticulum endoplasmique : protéines sont transloquées dépliées dans ce cas)

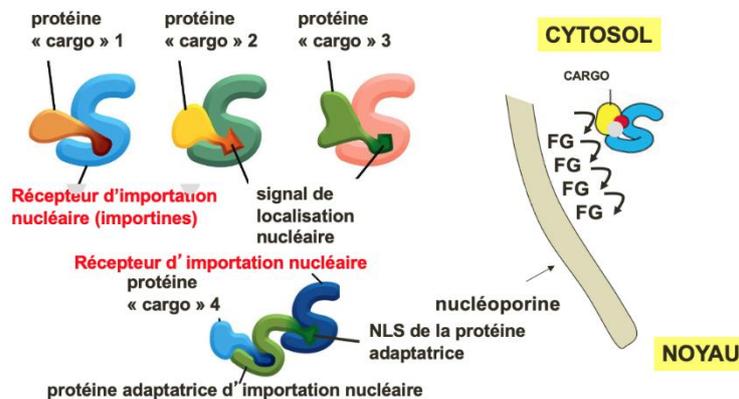
Les séquences de localisation nucléaires (ou séquence d'exportation) sont maintenues dans la protéine lorsque celle-ci traverse le pore et ne sont pas clivées (contrairement aux peptides signaux présents sur les protéines importées dans le RE). Pourquoi ? les protéines doivent pouvoir rentrer et sortir plusieurs fois, comme dans le cas des facteurs de transcription.

XI. Les récepteurs nucléaires se lient à la fois aux séquences de localisation nucléaire et aux CPN

Les récepteurs d'importation/exportation (**caryophérines**) nucléaires lient les signaux de localisation nucléaire sur les protéines cargo et interagissent avec les nucléoporines.

Les **récepteurs d'importation nucléaire (ou importines)** sont des protéines solubles encodées par une famille de gènes qui **se lient directement ou indirectement (via une protéine adaptatrice descendant d'un gène ancestral commun et qui possède elle-même une séquence NLS) à un ensemble de séquence NLS.**

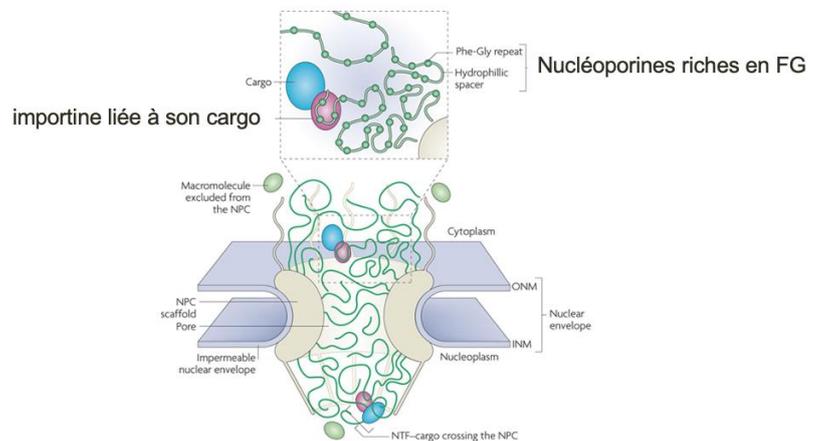
L'importine se lie à la fois à son cargo et au motifs FG des domaines non-structurés des nucléoporines qui occupent le pore des CPN. L'importine associée à son cargo se déplace d'un motif FG à un autre et diffuse à travers le pore.



Rôle des nucléoporines riches en FG dans le contrôle de la diffusion et dans le transport des molécules au travers du CPN :

Les **motifs FG des domaines non-structurés des nucléoporines du canal interagissent de manière lâche pour former un tamis empêchant la diffusion libre des grosses molécules.**

Les **domaines des caryophérines (importines et exportines) qui se lient aux motifs FG ouvraient les mailles du tamis moléculaire et permettrait le passage au travers du pore.**



XII. L'exportation hors du noyau fonctionne comme l'importation, mais en sens inverse

- Les exportines sont structurellement similaires aux importines et se lient
- Aux séquences d'exportation du noyau (NES, nuclear export signal)
 - Aux nucléoporines riches en FG



L'analyse des séquences ne permet pas de prédire si une caryophérine est une importine ou une exportine

XIII. La GTPase RAN impose le sens du transport au travers du CPN

GTPase Ran (ou Ran-GTP) = protéine capable de se lier au GTP ou au GDP ce qui entraîne un changement de forme. Il s'agit d'un interrupteur moléculaire dépendant de sa forme. Il est inactif lorsqu'il est lié au GDP et actif si lié au GTP. C'est Ran-GAP qui passe l'interrupteur en OFF.



- Ran-GTP diffuse du noyau au cytoplasme, et dans ce dernier, une **Ran-GAP** (RAN-GTPase-activating protein) va activer l'activité GTPase de Ran, libérant un phosphate inorganique et Ran n'est plus qu'associé à du GDP (Ran-GDP). NB : La structure de la GTPase change (voir schéma).

- La Ran-GDP est importée dans le noyau par sa propre importine.

- Ran-GDP rencontre dans le noyau la **Ran-GEF** (Ran-guanine exchange factor) qui va accélérer l'échange du GDP en GTP. Dans le détail, Ran-GEF favorise la dissociation de Ran et de GDP. Parce qu'il y a 10 fois plus de GTP que de GDP, Ran se lie à un GTP, ce qui s'accompagne d'un changement de conformation. NB : Ran-GEF est strictement localisé dans le noyau parce qu'elle est liée à des éléments de la chromatine. A l'inverse, Ran-GAP est cytosolique. Il y a donc un gradient de Ran-GTP qui sera en abondance dans le noyau.

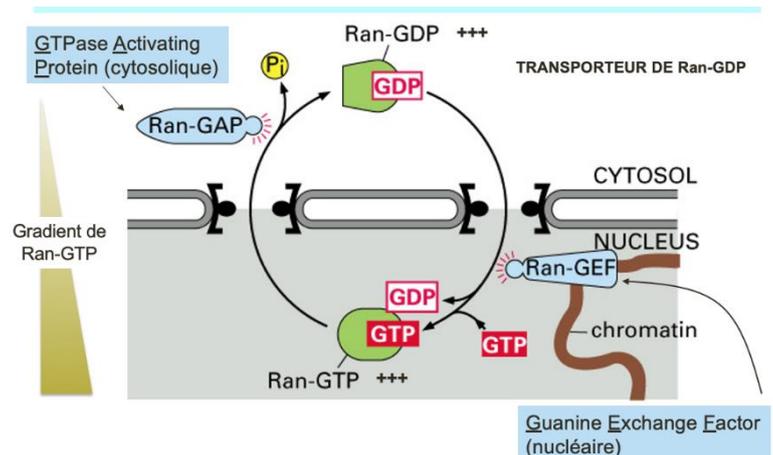


L'accumulation de protéines nucléaires dans le noyau augmente l'ordre dans la cellule.

L'énergie est fournie en utilisant l'énergie stockée dans le gradient de concentration de la **GTPase monomérique RAN associée au GTP** (Ran-GTP).

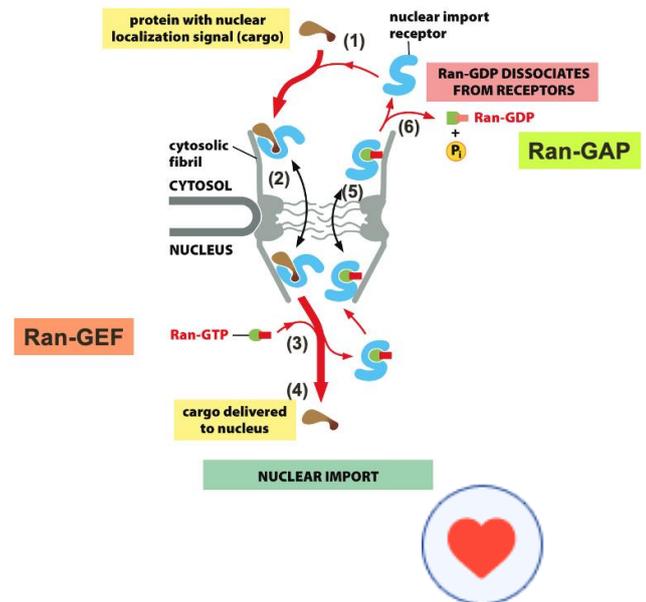
La localisation cytosolique de la Ran-GAP et nucléaire de la Ran-GEF attachée à la chromatine crée un gradient de Ran-GTP accumulé dans le noyau et un gradient de Ran-GDP accumulé dans le cytosol

Impose le sens à la fois de l'importation et de l'exportation des molécules.



A. La fixation dans le noyau de Ran-GTP sur l'importine entraîne la dissociation du cargo

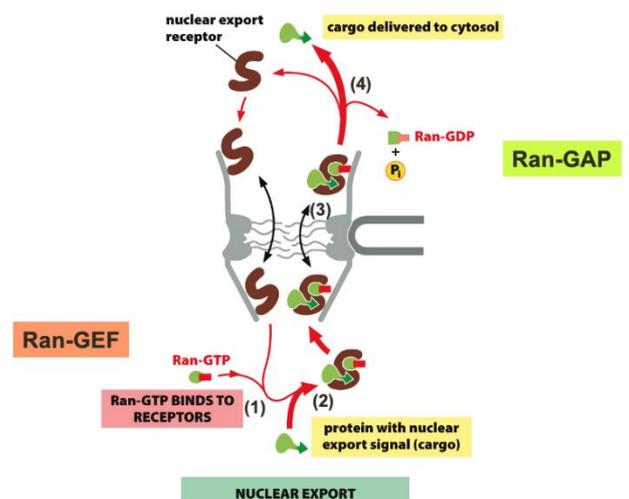
- (1) Quand l'**importine**, chargée ou non d'un **cargo** (qui possède une séquence NLS), entre en contact avec les motifs FG des nucléoporines, elle **traverse le pore en se fixant aléatoirement aux motifs FG pendant sa diffusion** (2).
- Arrivée dans le noyau, l'importine se lie au **Ran-GTP** (3), ce qui entraîne un changement de sa conformation et la libération du cargo éventuel (4).
- L'importine/Ran-GTP rediffuse vers le cytoplasme (5) en interagissant avec les motifs FG comme pour l'entrée dans le noyau.
- A son arrivée dans le cytoplasme, la **Ran-GAP** entraîne la conversion du Ran-GTP en Ran-GDP qui se détache de l'importine (6).
- L'importine retrouve sa conformation de départ qui lui permet de se lier au NLS d'un éventuel cargo...



B. La fixation dans le noyau de Ran-GTP sur l'exportine entraîne l'association au cargo

- Pour l'exportation, le même mécanisme s'applique (mais en sens inverse).
- Le **Ran-GTP** en s'associant à l'exportine (1) favorise le **chargement du cargo** (qui porte **séquence d'exportation du noyau (NES)**) dans le noyau (2).
 - L'exportine/Cargo/Ran-GTP diffuse à travers le CPN jusque dans le cytoplasme (3).
 - Dans le cytosol la conversion du Ran-GTP en Ran-GDP par **Ran-GAP** entraîne une modification de conformation de l'exportine qui libère le Ran-GDP et son cargo (4).

C'est bien le **gradient de Ran-GTP** abondant dans le **nucléoplasme** et dans le **Ran-GTP** abondant dans le **cytosol** qui permet à la fois l'importation et l'exportation dans des sens **opposés**. (Attention : ce n'est pas une question de concentration en GTP).



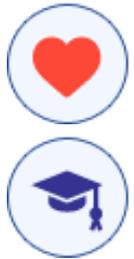
La sortie du noyau de miRNAs, tRNAs, snRNAs se fait par les exportines comme pour les protéines. L'exportation de mRNAs procède différemment :

1. Les mRNAs sont associés à de nombreuses protéines (mRNP = messenger RNA ribonucléoprotéines complex, MW 10⁶ Da)
2. Les mRNAs se fixent à la face nucléaire des NPC
3. Une consommation d'ATP conduit au réarrangement des mRNPs qui se délestent des protéines en sortant du noyau

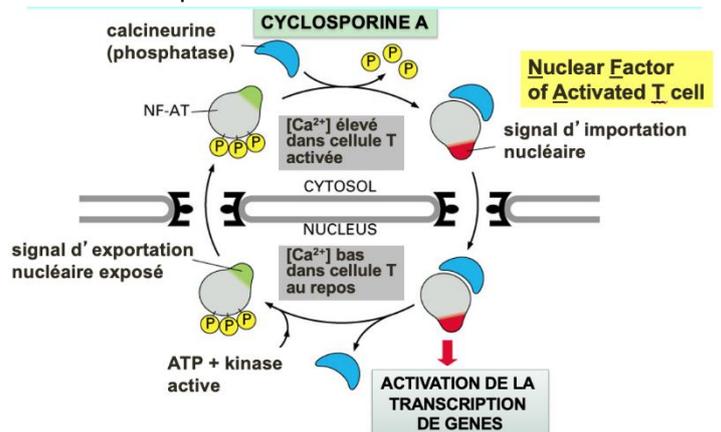
XIV. Le transport au travers des CPN peut être régulé en contrôlant l'accès à la machinerie de transport

A. Exemple du facteur de transcription NF-AT

- L'activation du lymphocyte T (suite à un signal sur récepteur membranaire) augmente la concentration intracellulaire de Ca^{2+} , ce qui entraîne la liaison de la calcineurine (= phosphatase) au facteur de transcription NF-AT (*Nuclear Factor of Activated T cell*).
- La calcineurine en déphosphorylant NF-AT révèle un NLS et en se liant à NF-AT masque un signal d'exportation du noyau (NES).
- Le complexe NF-AT/calcineurine est importé dans le noyau où NF-AT joue son rôle de facteur de transcription.
- La fin de l'activation du lymphocyte T entraîne une diminution de concentration intracellulaire de Ca^{2+} . Perte de l'affinité de la calcineurine pour la NF-AT. Exposition du NES. De plus, une rephosphorylation de NF-AT mène à la disparition de son NLS.
- Sortie du noyau de NF-AT. Il y a une activation cyclique de ce facteur.



NB : La cyclosporine est un immunosuppresseur puissant qui bloque l'activité de la calcineurine et l'accumulation de NF-AT dans le noyau et donc l'activation des lymphocytes T. Il est utilisé pour réduire les rejets de greffe.



Expérience (film) : L'importation et l'exportation nucléaires peuvent être directement visualisées dans des cellules vivantes qui expriment la protéine fluorescente verte GFP fusionnée au NF-AT. NF-AT est normalement localisé dans le cytosol et exclu du noyau. Lorsque la concentration de calcium cytosolique est augmentée, NF-AT migre vers le noyau. Ceci est fait expérimentalement en ajoutant un ionophore qui permet au calcium d'entrer dans les cellules à partir du milieu extracellulaire. Lors de l'élimination de l'ionophore, les niveaux de calcium reviennent à la normale et le NF-AT est exporté du noyau. Le rajout de l'ionophore déclenche la réimportation de NF-AT.

Lien de la vidéo : <https://www.youtube.com/watch?v=kxMwkGwp6ZY>

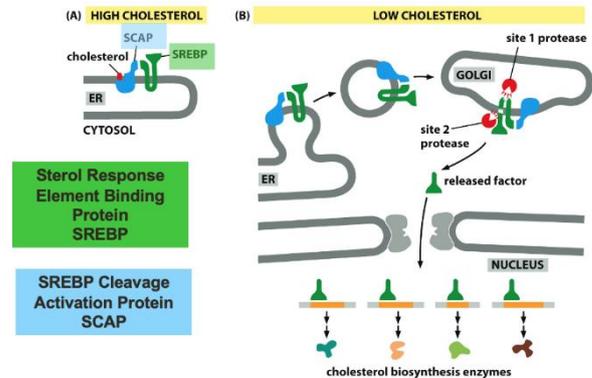
B. Régulation de la synthèse du cholestérol par le contrôle en feedback de l'importation dans le noyau de SREBP

Le **SREBP** (*sterol response element binding protein*) est un facteur de transcription "latent".

- **Schéma (A)** : En présence de suffisamment de cholestérol dans la membrane, SREBP est fixé à la membrane du RE par son interaction avec une autre protéine de la membrane du RE, la SCAP (*SREBP cleavage activation protein*) qui se lie au cholestérol.

- **Schéma (B)** : Si la concentration en cholestérol diminue, le site de fixation du cholestérol sur SCAP est vide, SCAP

change de conformation et est emporté en même temps que SREBP dans des vésicules de transport vers l'appareil de Golgi. A son arrivée, SREBP est clivée par 2 protéases résidentes de l'appareil de Golgi qui libèrent la portion cytosolique de SREBP qui est transportée dans le noyau (parce qu'elle possède un NLS) où elle active la transcription de gènes codant pour des protéines (enzymes) impliquées dans la synthèse du cholestérol.



SREBP est une protéine à l'origine membranaire qui exploite son NLS qu'après un clivage qui lui-même ne survient que lorsque la concentration de cholestérol dans la cellule a diminué (système de feedback) afin d'augmenter sa synthèse.

XV. L'enveloppe nucléaire se dissocie pendant la mitose

Les **lamines (A et B)** sont des filaments intermédiaires organisés en un feutrage bidimensionnel sous-tendant et renforçant l'enveloppe nucléaire. Les lamines sont attachées au CPNs et à des protéines transmembranaires de la membrane nucléaire interne.

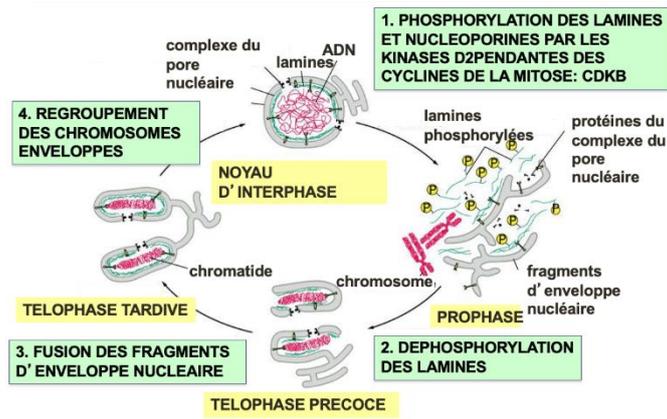


(1) **En prophase** : il y a une **phosphorylation des lamines** qui va entraîner la **dissociation de l'enveloppe nucléaire**. Les protéines de la membrane nucléaire se dispersent dans les membranes du RE et les moteurs de dynéine qui se déplacent le long des microtubules participent activement au démantèlement de l'enveloppe nucléaire. Les protéines nucléaires non liées aux chromosomes ni aux membranes se retrouvent dans le cytosol.

(2) **En fin de mitose (télophase)** : les **lamines déphosphorylées** s'apposent sur les chromosomes filles, les CPNs se reconstituent et l'enveloppe nucléaire se reforme autour des chromosomes filles individuels qui se décondensent.

(3) Ensuite, les **différentes structures fusionnent pour former un nouveau noyau**.

Le désassemblage mitotique de l'enveloppe nucléaire s'observe dans toutes les cellules animales, mais pas dans d'autres espèces. Chez la levure par exemple, le noyau se divise par scission.



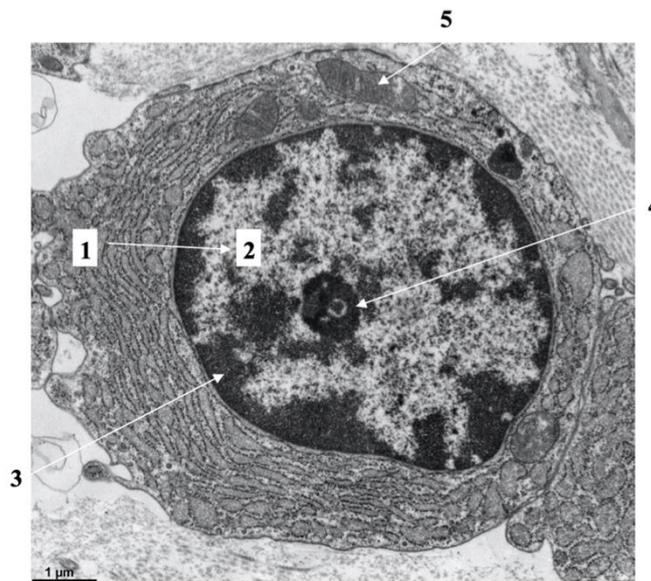
XVI. Annales classées corrigées

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.



2021-2022

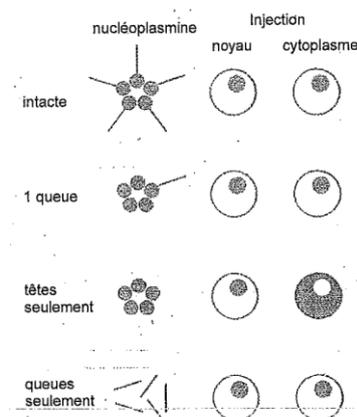


Figure 7 : La nucléoplasmine est une protéine pentamérique impliquée dans l'assemblage de la chromatine. Les différentes formes de nucléoplasmine radioactive (en gris sombre) indiquées dans la figure ont été injectées dans le noyau ou dans le cytoplasme d'un œuf de grenouille, et la radioactivité (en gris sombre) a été localisée une heure plus tard dans les cellules.

Question 9 : Le noyau (1,5 points)

- A. le déplacement de la nucléoplasmine entre le cytoplasme et le noyau correspond à une diffusion passive par les complexes des pores nucléaires.
- B. une séquence capable de se lier à une importine est localisée sur la queue de la nucléoplasmine.
- C. les cellules des femmes contiennent 23 chromosomes différents, celles des hommes en contiennent 24.
- D. dans les cellules humaines, l'ADN adopte le plus souvent la configuration en "collier de perle".
- E. dans les chromosomes en écouvillon des ovocytes d'amphibiens, la majorité de l'ADN se trouve dans les boucles et est activement transcrit.

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

2021-2022

Question 9 : Le noyau (1,5 points)

- A- **VRAI** (~)
- B- **VRAI** : seule la queue est nécessaire pour intégrer dans le noyau
- C- **VRAI** : femme 22 paires de chromosomes homologues + XX soit 23 paires et chez l'homme, 22 paires + XY
- D- **FAUX** : on obtient cette structure si on décondense expérimentalement la fibre de chromatine : on obtient une structure « en collier de perle » ;
- E- **FAUX** : la majorité de l'ADN est condensée