

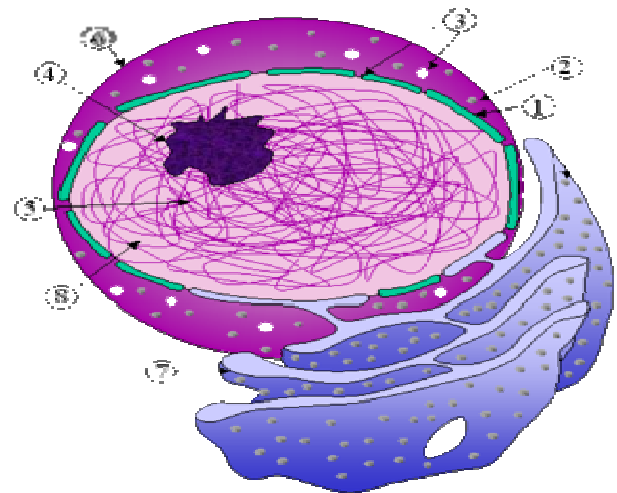
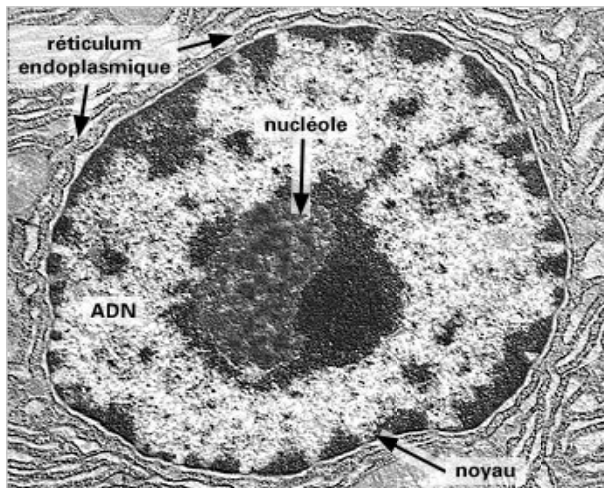
CHAPITRE V : ETUDE DES ORGANITES CELLULAIRES**III- LE NOYAU INTERPHASIQUE ET LE CYCLE CELLULAIRE****INTRODUCTION :**

Le noyau est l'organite qui caractérise les cellules eucaryotes. Observé çà et là par les premiers microscopistes au cours du XVII^e siècle, le noyau fut pour la première fois interprété comme un constituant essentiel et permanent de la cellule par Robert Brown, à la suite de ses observations sur des épidermes d'Orchidées, en 1831.

Le noyau en interphase se présente en microscopie optique, après coloration, comme une masse plus ou moins ovoïde bien distincte de 10 à 20 μ , cernée par une membrane, et qui représente environ 6% du volume cellulaire. C'est probablement l'organite dont l'organisation et le fonctionnement sont les plus complexes et les moins bien connus, bien que son étude ait bénéficiée des progrès de la microscopie électronique depuis les années 50, et surtout depuis les décennies 70-90 des avancées des techniques de la génomique et de la microscopie en fluorescence (en particulier l'observation des cellules vivantes par le microscope confocal à lumière laser).

Le noyau des cellules humaines renferme sous forme de compartiments chromosomiques correspondant aux 46 chromosomes dont la longueur totale est de 1,8 mètre. La molécule d'ADN y est associée aux protéines histones autour desquelles elle s'enroule pour former la chromatine. Le génome nucléaire est séparé du cytoplasme par une enveloppe formée de deux feuillettes membranaires interrompus par des pores, structures complexes contrôlant le trafic des molécules entre le noyau et le cytoplasme. Le noyau renferme également des centaines de protéines (dont beaucoup restent à identifier) qui contribuent à l'architecture nucléaire et constituent la machinerie moléculaire assurant le fonctionnement du génome. De nombreux complexes macromoléculaires qui associent protéines et acides nucléiques participent à la transcription des gènes, et forment des structures granulaires ponctuant la surface du noyau : Ces sont les corps nucléaires identifiables en microscopie électronique et en microscopie optique par immunofluorescence. Enfin au sein du noyau la microscopie optique individualise le nucléole, masse sphérique compacte, dont l'ultra structure a été élucidée par les techniques de microscopies électroniques. Le nucléole riche en ribonucléoprotéines est le site de la biogénèse des ribosomes, mais il participe sans doute également plus ou moins directement à d'autres mécanismes comme la protéosynthèse ou la régulation de l'activité de certaines protéines.

I- MORPHOLOGIE ET STRUCTURE



Le Schéma du noyau et du réticulum endoplasmique : (1) Enveloppe nucléaire. (2) Ribosomes. (3) Pores nucléaires. (4) Nucléole. (5) Chromatine. (6) Noyau. (7) Réticulum endoplasmique granuleux. (8) Nucléoplasme.

Le noyau est arrondi et mesure de 5 à 10 μm de diamètre. Le plus souvent, tant dans les cellules animales que dans les cellules végétales.

Caractérisé par : taille, forme, nombre et la position

Forme : Arrondi : Cellules lymphoïdes, neurones, hépatocytes

Ovoïde : Cellules musculaires, fibroblastes, entérocytes

Polylobé : polynucléaires

Nombre :

Absent : Hématie, kératinocyte....

Généralement unique

Binuclées: Hépatocytes, cellules cardiaques, cellules épithélium urinaire

Plurinuclées : Ostéoclastes 30 à 50 noyaux

Position :

Centrale : Lymphocytes, fibroblastes, C. des glandes endocrines

Refoulé à la base de la cellule : Cellules muqueuses, C.exocrines

Périphérique : C. musculaires, adipocytes

1 : La membrane nucléaire : c'est une bicouche lipidique qui délimite un espace dit périnucléaire. La duplicité de cette enveloppe avait été reconnue dès 1925 par Scarth, au moyen du micromanipulateur. La microscopie électronique a confirmé et précisé les observations de Scarth, en montrant que l'enveloppe nucléaire est une différenciation locale du réticulum endoplasmique. Deux caractères de différenciation distinguent cependant l'enveloppe nucléaire du reste du RE : d'une part, l'existence de pores nucléaires et, d'autre part, un revêtement protéique plus ou moins discret, appliqué contre la membrane interne, la lamina, face au nucléoplasme et à la chromatine. Son feuillet externe est recouvert de ribosomes. La membrane nucléaire est encadrée par deux types de réseaux de filaments intermédiaires :

- un réseau extérieur irrégulier
- un réseau interne appelée lamina nucléaire

Par endroits, les deux feuillets semblent interrompus et remplacés par une structure plus fine et linéaire : le pore nucléaire. Il forme une sorte de diaphragme avec en son centre un canal aqueux et qui permet les échanges nombreux entre le cytoplasme et le noyau.

2 : Le pore nucléaire : il régule le trafic de molécules entre le cytoplasme et le noyau.

- **Entrent dans le noyau :**

toutes les protéines nucléaires constitutives
les protéines régulant la transcription des gènes
les enzymes (synthétisant l'ADN et les ARN)

- **Sortent du noyau :**

les ARN

Les pores, formés par confluence des deux membranes, sont circulaires et leur diamètre est voisin de 70 nm. Ils apparaissent comme une roue avec en son centre un canal qui peut être ouvert ou fermé, de 15 à 26nm de diamètre.

Il est constitué d'un assemblage complexe de protéines appelées nucléoporines.

3 : Le nucléoplasme : C'est une matrice gélatineuse contenant des ions, des protéines, des enzymes et des nucléotides.

4 : Le nucléole : Le noyau possède une zone spécialisée très fortement colorée par les préparations standards, le nucléole. Ce nucléole, en général unique dans les cellules, est le centre de synthèse des ARN ribosomiaux et d'assemblage des sous-unités ribosomiales. Ce nucléole est dynamique, il disparaît avant la division cellulaire et réapparaît juste après. Le nucléole est centré autour d'une structure bien particulière de l'ADN, l'organisateur nucléolaire. Il est constituée de multiples copies (plusieurs centaines de fois) des gènes de l'ARN 45S, ARN qui par clivage donne les deux grands et le petit 5,8S ARN ribosomal. Le dernier ARN ribosomal et les protéines associées sont codées ailleurs dans le génome, mais c'est quand même dans le nucléole qu'ils s'assemblent avec le reste du ribosome. L'assemblage des deux sous unités a lieu, comme chez les procaryotes, dans le cytoplasme lors de la synthèse protéique.

5 : La Chromatine : En microscopie électronique, la chromatine (qui contient l'ADN) apparaît sous la forme d'un réseau qui a deux aspects possibles :

- Au centre : un réseau lâche, peu coloré, c'est l'euchromatine
- A la périphérie : un réseau plus dense, c'est l'hétérochromatine

On sait, depuis 1924, que la chromatine présente dans le noyau est constituée d'ADN (le génome) et de protéines sous une forme plus ou moins compactée. Le génome nucléaire humain est constitué de 23 paires de chromosomes : 22 paires d'autosomes dits homologues (identiques au sein d'une même paire) et une paire de chromosomes sexuels.

La longueur totale des fragments d'ADN d'une cellule, mis bout à bout, est de l'ordre de deux mètres ! Ce qui représente au total 6 millions de paires de base. Le nombre total de 46 chromosomes est dit diploïde ($2N$ chromosomes). Il caractérise les cellules somatiques. Les cellules sexuelles (les gamètes : ovocytes ou spermatozoïdes) contiennent un nombre haploïde de chromosomes (23 ou N).

Au sein du noyau interphasique, la chromatine est organisée en territoires fonctionnels.

La chromatine a été divisée en:

- **euchromatine**
- **hétérochromatine.**

A : Euchromatine :

B : Hétérochromatine : l'hétérochromatine a été définie comme une structure qui ne change pas d'état de condensation au cours du cycle cellulaire tandis que l'euchromatine apparaît décondensée pendant l'interphase. L'hétérochromatine est localisée principalement en périphérie du noyau et du nucléole tandis que l'euchromatine est répartie à l'intérieur du nucléoplasme.

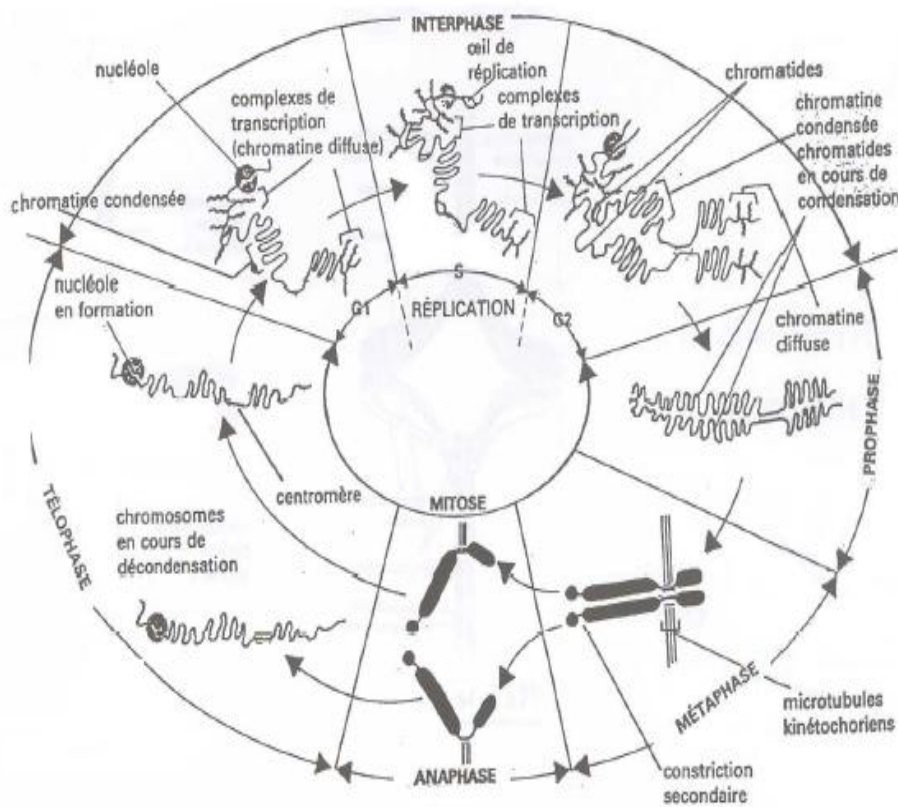
On distingue:

- l'**hétérochromatine constitutive** qui contient peu de gènes, formée principalement de séquences répétées et dont les plus grandes régions sont situées à proximité des centromères et des télomères, de
- l'**hétérochromatine facultative** qui contient des régions codantes pouvant adopter les caractéristiques structurale et fonctionnelle de l'hétérochromatine, comme le chromosome X inactif chez la femelle des mammifères.

II- LE CYCLE CELLULAIRE

Tous les organismes sont constitués de cellules qui se multiplient par division cellulaire. Un adulte humain a environ 100.000 milliard de cellules, toutes originaires d'une même cellule, la cellule œuf fertilisée. Chez un adulte, on trouve une quantité énorme de cellules en division continue remplaçant celles qui disparaissent. Avant qu'une cellule puisse se diviser, il faut qu'elle grandisse jusqu'à une certaine taille, qu'elle duplique ses chromosomes, qu'elles séparent ses chromosomes avec une distribution exacte entre les 2 cellules filles. Tous ces processus sont coordonnés durant le cycle cellulaire.

Evolution du chromosome durant le cycle cellulaire

**A : Les phases du cycle cellulaire :**

Le cycle cellulaire se décompose en deux états : l'interphase et la mitose. Il est important de noter que le déroulement de ce cycle est commun à toutes les cellules eucaryotes. Chez toutes, on observe ces divisions cellulaires appelées mitoses qui créent deux cellules filles contenant le même patrimoine génétique que la cellule mère initiale.

L'interphase est elle-même composée de trois phases ayant pour but principal la réplication du matériel génétique :

- **phase G1** = phase de croissance cellulaire avec accumulation de réserves énergétiques et moléculaires dans le cytoplasme,
- **phase S** = synthèse d'ADN,
- **phase G2** = phase de croissance cellulaire comme G1.

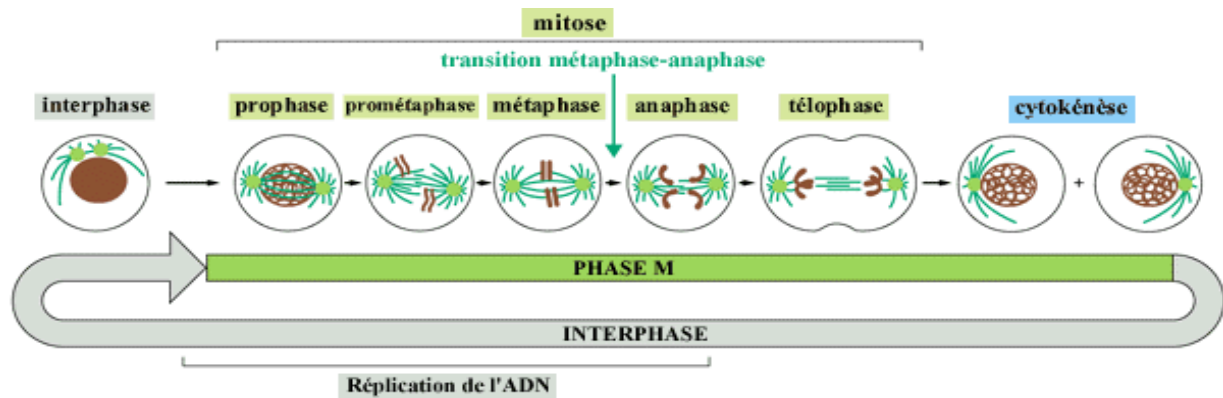


Figure 1 : Etapes du cycle cellulaire

1 : L'interphase :

Durant la première phase (phase G₁), la cellule croît et devient plus large. Il y a synthèse des protéines. Lorsqu'elle atteint une certaine taille, elle entre dans la deuxième phase (phase S), dans laquelle débute la synthèse de l'ADN. On ne connaît pas les mécanismes permettant le passage de la phase G₁ à la phase S. La cellule duplique son matériel héréditaire (réplication de l'ADN) et une copie de chacun de ses chromosomes est effectuée. Durant la phase suivante (phase G₂), la cellule contrôle que la réplication de l'ADN a bien été réalisée (réparation post-répllicative) et prépare la division cellulaire. Les chromosomes sont séparés (phase M pour Mitose) et la cellule se divise en deux cellules filles. A travers ce mécanisme, les deux cellules filles sont dotées des mêmes chromosomes que ceux de la cellule mère. Après la division, les cellules retournent en phase G₁ et le cycle cellulaire est bouclé. La durée du cycle cellulaire varie entre les différents types de cellule (chez l'homme, il existe plus de 200 types cellulaires). Chez la plupart des cellules de mammifère, cela dure entre 10 et 30 heures. Les cellules en phase G₁ ne poursuivent pas toujours le cycle cellulaire. Elles peuvent quitter le cycle cellulaire et entrer en phase d'attente (phase G₀).

IV : ORGANISATION DU GENOME DANS LE NOYAU

Dans les cellules eucaryotes, le matériel génétique est organisé en une structure complexe constituée d'ADN et de protéines et il est localisé dans un compartiment spécialisé, le noyau. Cette structure a été baptisée **chromatine** (du grec khroma: couleur et soma: corps). Environ deux mètres d'ADN dans chaque cellule doivent être contenus dans un noyau de quelques μ m de diamètre. En plus de cet énorme degré de compaction, l'ADN doit être rapidement accessible afin de permettre son interaction avec les machineries protéiques régulant les fonctions de la chromatine:

- la réplication
- la réparation et
- la recombinaison.

Ainsi l'organisation dynamique de la structure chromatinienne influence, potentiellement, toutes les fonctions du génome.

L'unité fondamentale de la chromatine est appelée le **nucléosome** qui est composé d'ADN et d'histones. Il constitue le premier niveau de compaction de l'ADN dans le noyau. Cette

structure est ensuite régulièrement répétée pour former le nucléofilament qui peut, lui-même, adopter des niveaux d'organisation plus compacts (Figs 1 et 3), le niveau de condensation le plus élevé étant atteint au sein du chromosome métaphasique. Au sein du noyau interphasique, la chromatine est organisée en territoires fonctionnels.

A- Le nucléosome

Le nucléosome est l'unité fondamentale de la chromatine. Il est composé de:

- une particule cœur et
- une région de liaison (ou région internucléosomale) qui relie les particules coeurs adjacentes (Fig 2).

La particule cœur, dont la structure est très conservée parmi les espèces, est composée de 146 pb d'ADN enroulés selon environ 1,7 tour autour d'un octamère protéique comprenant deux exemplaires de chacune des histones H3, H4, H2A et H2B.

La longueur de la région d'ADN internucléosomale varie selon l'espèce et le type cellulaire. C'est au niveau de cette région que les histones internucléosomales également variables, sont incorporées.

Ainsi, la longueur d'ADN caractéristique d'un nucléosome peut varier selon les espèces entre 160 et 241 pb.

Des analyses ont révélé d'une part, l'enroulement de l'ADN autour de l'octamère d'histones et d'autre part, les interactions entre histones/ADN et histones/histones par leur "motif histone fold" selon une configuration en poignée de mains.

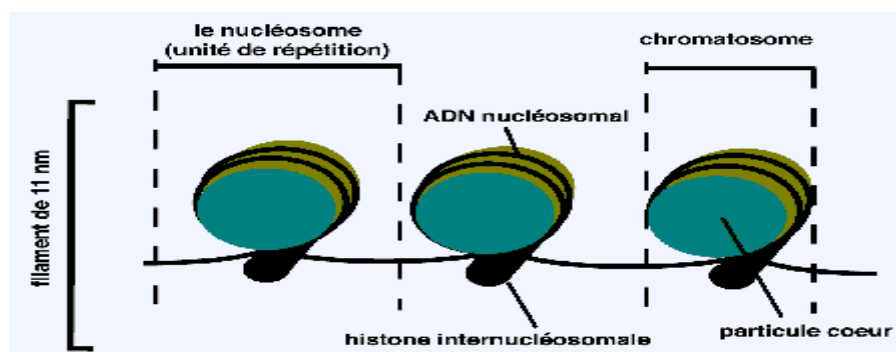


Figure 2. Eléments de définition du nucléosome et du chromatosome.

B- Les histones

1. Les histones de la particule cœur

Les histones de la particule cœur, H3, H4, H2A et H2B sont de petites protéines basiques très conservées au cours de l'évolution (Fig 4). La région la plus conservée de ces histones est leur domaine central structuré composé du "motif histone fold" qui comprend trois hélices

séparées par deux boucles. En revanche, les extrémités N-terminales de ces histones sont plus variables et sont dépourvues de structure secondaire. Ces extrémités sont particulièrement riches en résidus lysine et arginine et donc très basiques. Elles sont la cible de nombreuses modifications post-traductionnelles pouvant affecter leurs charges mais aussi l'accessibilité à l'ADN et les interactions protéines/protéines avec le nucléosome.

Il est important de noter que d'autres protéines impliquées dans les interactions avec l'ADN présentent ce type de "motif histone fold".

2. Les histones internucléosomales

Les histones internucléosomales sont les protéines qui s'associent à la région d'ADN de liaison entre deux nucléosomes. Contrairement aux histones de la particule cœur, elles sont peu conservées parmi les espèces. Chez les eucaryotes supérieurs, elles sont composées de trois domaines: un domaine globulaire central non polaire, essentiel pour les interactions avec l'ADN, et deux extrémités N- et C- terminales non structurées, hautement basiques, et soumises à des modifications post-traductionnelles. Les histones internucléosomales joueraient un rôle dans l'espacement des unités nucléosomales et dans la compaction de l'ADN au sein du nucléosome en créant une région d'interaction entre les nucléosomes adjacents.

C- Structure du chromosome

Chromatine : ADN associé à des protéines de liaison (histones)

- Histones : petites protéines liées à l'ADN formant nucléosomes ; 4 types : H₁, H₂B, H₃ & H₄
- Nucléosomes : enroulement de 146pb (paires de bases de l'ADN autour des histones)
- Eurochromatine : ADN codant (gènes)

La chromatine se présente sous différentes formes durant le cycle cellulaire : dense et fibreuse ou hyper condensée (chromosomes)

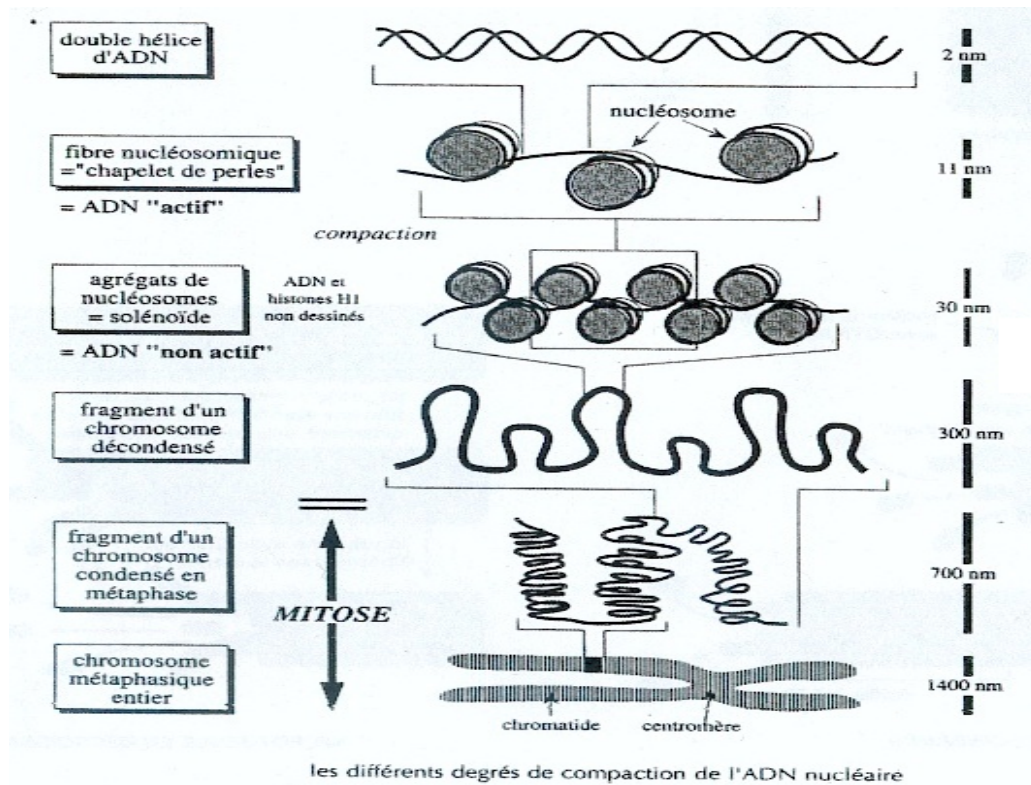
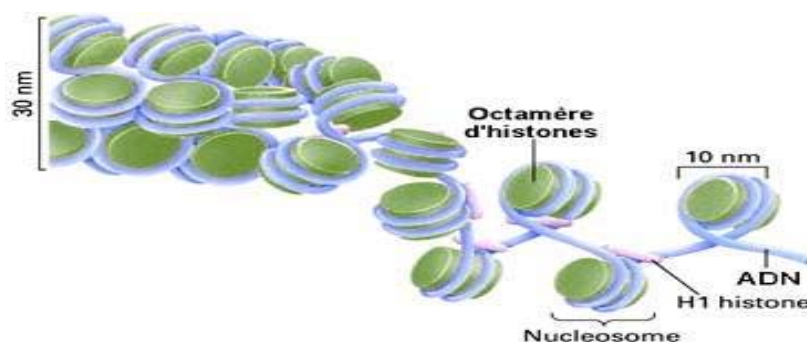


Figure 3 : Etat du chromosome au cours du cycle cellulaire

Au delà des nucléosomes, la chromatine présente des niveaux d'organisation supérieurs encore peu caractérisés. Le nucléofilament se compacte pour former la fibre de 30 nm qui s'organise en boucles de 150 à 200 kpb (250 nm pendant l'interphase) pour atteindre un niveau de compaction maximum dans le chromosome métaphasique (850 nm).

L'ADN possède plusieurs degrés de compaction dans le noyau interphasique :

Le premier niveau de compaction : les nucléosomes.

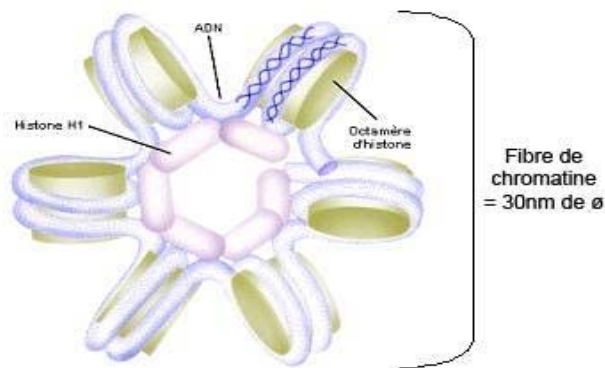


Ce sont des structures ayant la forme d'un cylindre de 10 nm de diamètre, formées de petites protéines appelées histones nucléosomiques qui sont chargées positivement, ce qui facilite leur fixation à l'ADN (qui est chargé négativement). Il s'agit d'un octamère (H2A, H2B, H3 et H4)_{x2}.

L'ADN fait 2 tours (=146 paires de bases) autour de chaque cylindre. Les nucléosomes sont séparés par un court segment d'ADN de taille variable 0 à 60-80 pb.

La chaîne d'ADN ressemble alors à un collier de perles.

Le deuxième niveau de compaction : le solénoïde



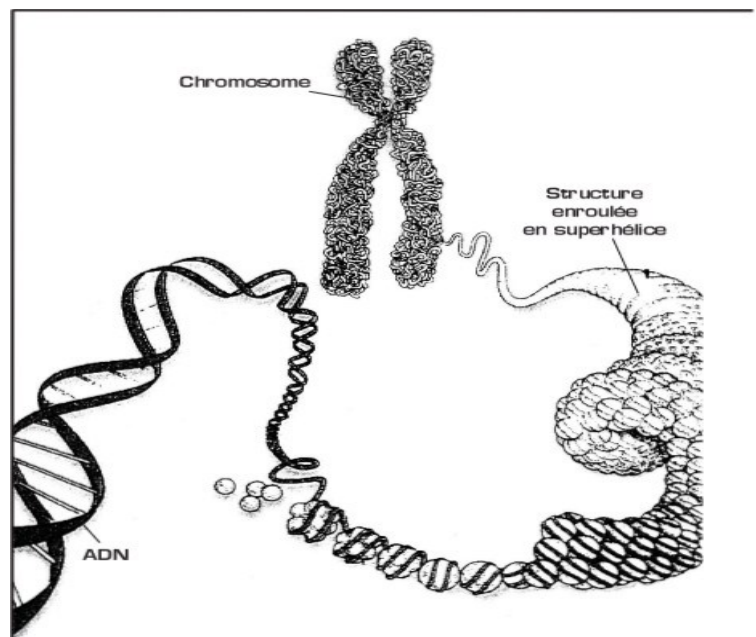
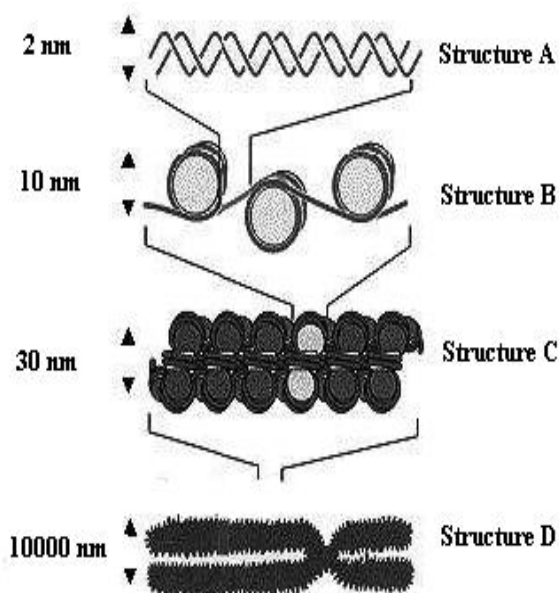
Les nucléosomes sont associés par 6 par un autre histone, l'histone H1, pour former des "solénoïdes". L'histone H1 se lie à l'ADN à sa sortie du nucléosomes. Les molécules d'histone H1 sont reliées entre elles par des liaisons peptidiques. Elles sont responsables de la constitution des fibres de chromatine de 30nm de diamètre.

Le troisième niveau de compaction : les boucles d'ADN

Les fibres de 30 nm forment des boucles des quelques mégabases qui s'attachent à une armature protéique flexible

Le dernier niveau de compaction : le chromosome métaphasique

La forme de compaction ultime est observée au niveau du chromosome métaphasique



D- Les différentes étapes dans l'assemblage de la chromatine

L'assemblage de l'ADN en chromatine comprend plusieurs étapes qui commencent par la formation de son unité fondamentale, le nucléosome, et finissent par des niveaux d'organisation supérieurs en domaines spécifiques dans le noyau. Les différentes étapes de cet assemblage sont décrites schématiquement dans la Fig 4.

- La première étape comprend la mise en place, sur l'ADN, d'un tétramère d'histones (H3-H4)₂ nouvellement synthétisées formant la particule sub-nucléosomale, à laquelle viennent s'adjoindre deux dimères H2A-H2B.

L'ensemble constitue la particule nucléosomale cœur composée de 146 paires de base d'ADN enroulées autour de l'octamère d'histones.

Cette particule cœur et l'ADN de liaison forme le nucléosome.

Les histones nouvellement synthétisées sont spécifiquement modifiées (ex: acétylation de l'histone H4).

- L'étape suivante est une étape de maturation nécessitant la présence d'ATP, au cours de laquelle les nucléosomes sont régulièrement espacés et forment le nucléofilament. Pendant cette étape, les histones nouvellement incorporées sont désacétylées.
- Ensuite l'incorporation des histones internucléosomales est accompagné par le repliement du nucléofilament en fibre de 30 nm dont la structure n'est pas élucidée à ce jour. Deux modèles principaux existent : le modèle de type solénoïde et le modèle de type zig zag.
- Finalement, plusieurs repliements successifs conduisent à des niveaux d'organisation supérieurs en domaines spécifiques dans le noyau.

A chacune des étapes décrites ci-dessus, des variations dans la composition et l'activité de la chromatine peuvent être obtenues en modifiant soit ses composants élémentaires, soit l'activité de facteurs impliqués dans les processus d'assemblage et de désassemblage. L'assemblage commence avec la mise en place d'un tétramère (H3-H4)₂ d'histones nouvellement synthétisées (1), à laquelle viennent s'adjoindre deux dimères H2A-H2B (2) pour former la particule nucléosomale cœur. Les histones nouvellement synthétisées sont spécifiquement modifiées; la modification la plus conservée est l'acétylation de l'histone H4 sur les lysines 5 et 12 (H3-H4). L'étape de maturation nécessite la présence d'ATP afin d'établir un espacement régulier des nucléosomes et les histones nouvellement incorporées sont désacétylées (3). L'incorporation des histones internucléosomales est accompagné par le repliement du nucléofilament. Ici est présenté le modèle de type solénoïde dans lequel il y a 6 nucléosomes par tour (4). Finalement, plusieurs repliements successifs conduisent à des niveaux d'organisation supérieurs en domaines spécifiques dans le noyau.

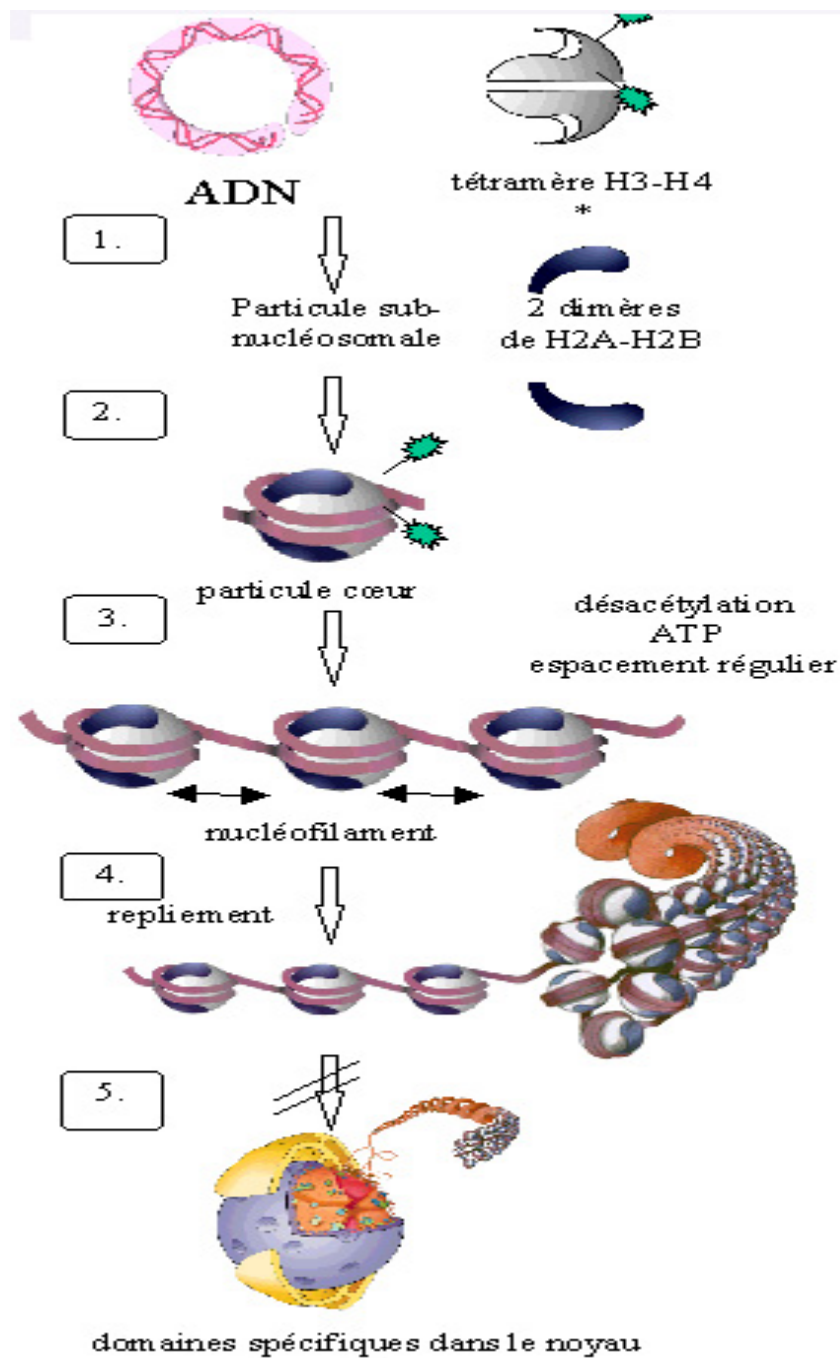


Figure 4. Les principales étapes de l'assemblage de la chromatine.