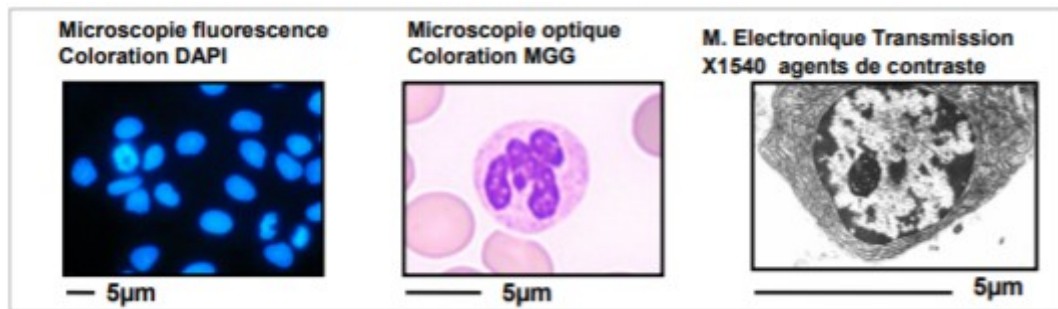


NOYAU

I. Caractéristiques générales du noyau

Noyau interphasique → noyau présent pndt toute l'interphase et au début de la mitose (pas pndt la mitose!!)

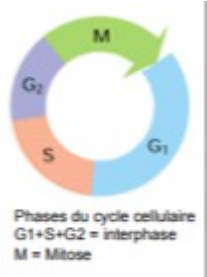


- Cellules eucaryotes (Brown 1831)
- Forme et nb variable selon les cellules
- **5-20 µm** de diamètre
- délimité par une **double membrane**
- Fonctions associées : information génétique + expression des gènes

Activités nucléaires :

- **Réplication** : $2n \rightarrow 4n$ (Phase S)
- **Transcription** : ADN → ARN (interphase + prophase)
- **Réparation** : ADN (interphase + prophase)

Il existe une séparation physique des mécanismes de transcription (noyau), réplication (noyau) et traduction (cytosol) → moyen de protection de l'ADN.

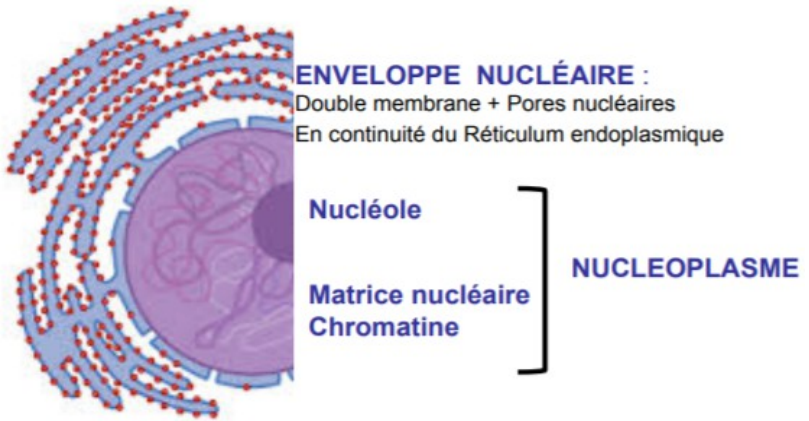


Échanges avec le compartiment nucléaire :

- Cytosol → noyau : enzymes, nucléotides, protéines de structure
- Noyau → cytosol : ARN, ribonucléoprotéines, SU ribosomes
- Mb nucléaire ↔ RE

II. Organisation du noyau

- Enveloppe nucléaire : double membrane avec des pores nucléaires, en continuité avec le RE
- Nucléoplasme (intérieur du noyau) avec :
 - nucléole
 - matrice nucléaire et chromatine



A. Matrice nucléaire et chromatine

Microscopie électronique
Noyau hépatocytes
Coloration agents de contraste

- **MATRICE NUCLÉAIRE**
= Réseau de protéines insolubles après traitement (détergent, nucléases)
+ **lamina nucléaire**
- **CHROMATINE** : ADN + Protéines
 - Hétérochromatine
 - Euchromatine
- + **Territoires chromosomiques**
- + **Zones inter-chromosomiques**
- **Autres domaines spécialisés**
(corps nucléaires, corps de Cajal, grains et granules perichromatidiens, speckles, fibrilles.)

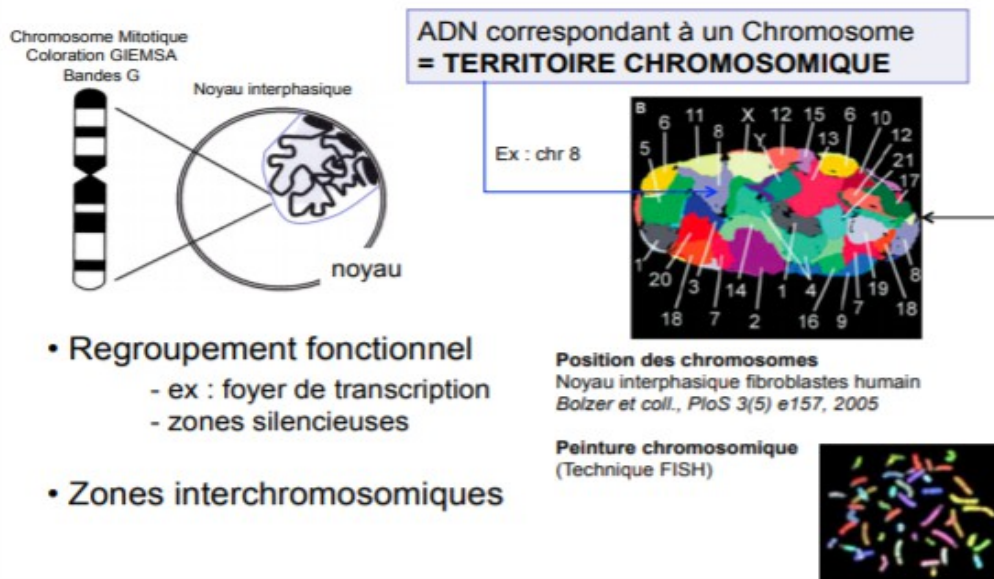
Matrice nucléaire :

- réseau de protéines **insolubles** qui va donner sa **forme** au noyau
- TT au **détergent** + **protéases** → élimination mb + ADN
- Contient la **lamina nucléaire** (élément du cytosquelette associées à la mb nucléaire)

Chromatine :

- **ADN associée à des protéines**
- **Hétérochromatine** → chromatine **condensée** en **périph** (zones **foncées**)
- **Euchromatine** → Chromatine – **condensée** (zones **claires**)
- Entre les domaines d'hétérochromatine et d'euchromatine définis par la **couleur**, il y a des **territoires chromosomiques** et des **zones interchromosomiques** → organisation +++
- Autres domaines spécialisés : corps nucléaires, corps de Cajal, grains et granules perichromatidiens, speckles, fibrilles

1. Territoires chromosomiques



Mise en évidence de la répartition : Coloration de chromosomes mitotiques (GIEMSA) → apparition de bandes G (+foncées), si on marque ces bandes, on s'aperçoit qu'elles se situent plutôt en périph = Hétérochromatine

Chaque chromosome se place dans une zone précise du noyau avec une partie qui se placera plutôt en périph (=hétérochromatine) et une partie qui restera + centrale (=euchromatine) → **regroupement fonctionnel** avec des zones qui seront transcrites et des zones silencieuses.

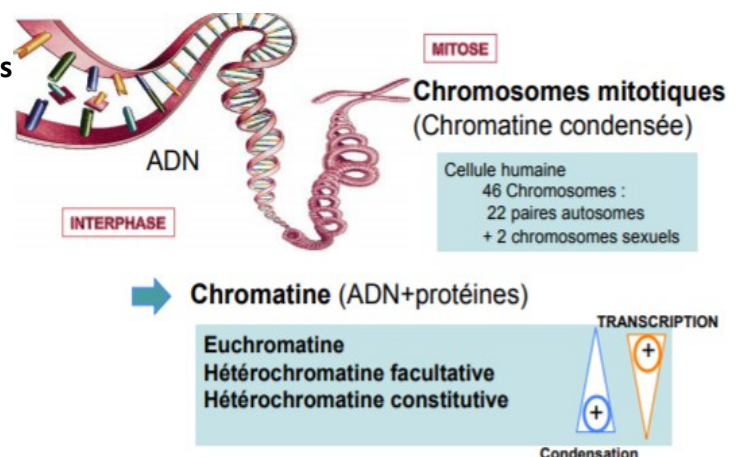
Les **zones interchromosomiques** → zones – **concentrées en ADN** : avec activités autres particulières(stockage, assemblage de certaines molécules).

2. Organisation de la chromatine

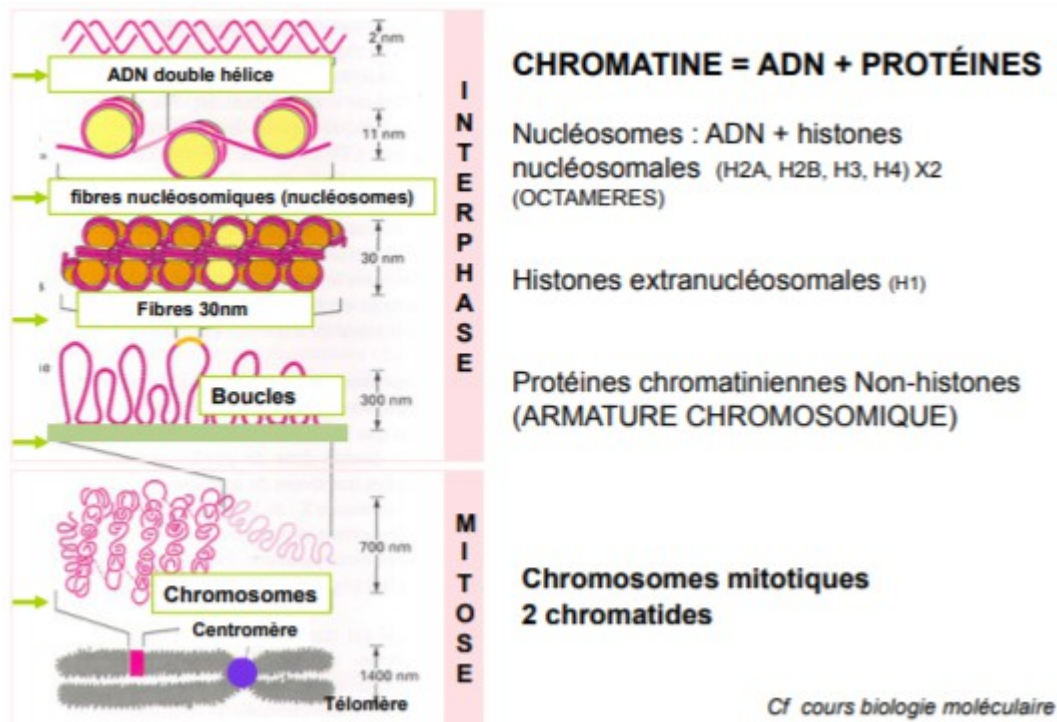
La double hélice d'ADN qui peut se condenser pour donner les chromosomes mitotiques.

Il existe différents types de chromatine :

- **euchromatine** : décondensée → transcription +++
- **Hétérochromatine** :
 - **facultative** : nv de condensation **dépend** du moment de la vie cellulaire → idem transcription
 - **constitutive** : condensée ++ → pas transcrit



Modèle de condensation de la chromatine :



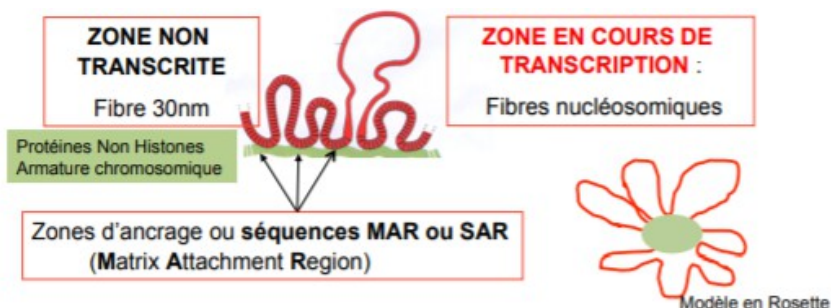
- (1) ADN double hélice
- (2) **Niveau 1 d'organisation :** structure **collier de perle** = ADN enroulée autour des **histones nucléosomales** (octamères) pour former un **nucléosome** (=protéines histones H2A/H2B/H3/H4 + ADN) → zone non-condensée = **transcrite**
- (3) **Niveau 2 d'organisation :** **fibres de 30 nm** avec histone **H1 inter/extranucléosomales** (rapproche les perles) → zone condensée = **non-transcrite**
- (4) **Niveau 3 d'organisation :** **boucles** formées grâce à des protéines non-histones qui forment l'**armature chromosomique**
L'armature chromosomique permettra la formation de l'euchromatine et de l'hétérochromatine.
- (5) Mitose avec la formation des chromosomes

Chromatine et régulation de la transcription :

Fibre 30nm fixée par des **seq d'ADN MAR ou SAR** (= seq d'attachement de l'ADN sur l'armature chromosomique).

Pourquoi devons-nous réguler la condensation ?

Le modelage de la chromatine permet des accessibilités différentes aux enzymes de la transcription → régulation de l'expression génique.



MODELAGE DE LA CHROMATINE

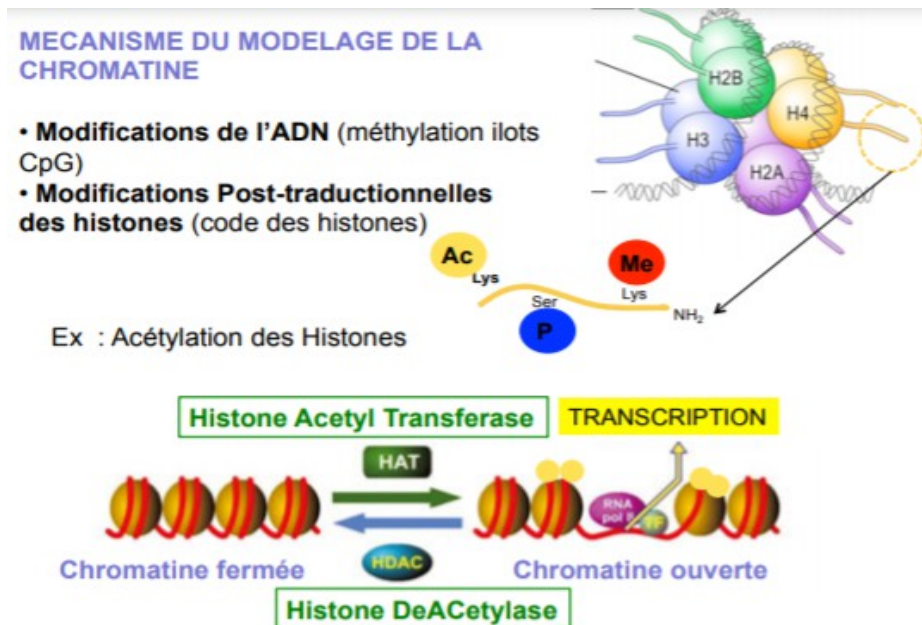
Variation de l'accessibilité de l'ADN
→ régulation de l'expression génique

	Transcription
Euchromatine	+++ (ouverte)
Hétérochromatine Constitutive Facultative	- (fermée) -/+

Mécanisme de modelage de la chromatine :

- Modif de l'ADN : méthylation des îlots CpG
- Modif post-trad des histones : protéines basiques avec extrémité N-term exposée et qui peut subir des modif post-trad.

Ces modifs post-trad sont appelées **code des histones** : Acétylation ou Méthylation Lys / Phosphorylation Ser



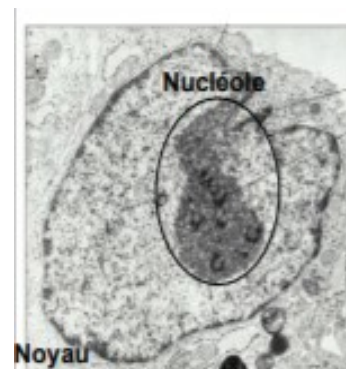
Ex : Acétylation

- (1) Chromatine fermée sous forme 30nm
- (2) HAT (Histone Acetyl Transferase) → Acétylation de l'Histone
- (3) Changement de la charge des protéines qui seront – basiques : les interactions seront – fortes avec le nucléosome → ouverture de la chromatine → arrivée RNA pol pour transcription
- (4) HDAC (Histone DeAcetylase) → enlèvent acétyls des histones → chromatine fermée

B. Le nucléole

Caractéristiques :

- Sous-compartiment du noyau
- **ME : zone dense +++**
- Structure **hétérogène** : granules et zones fibreuses
- Forme et nb varient selon le type cellulaire

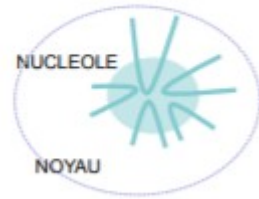


Fonctions :

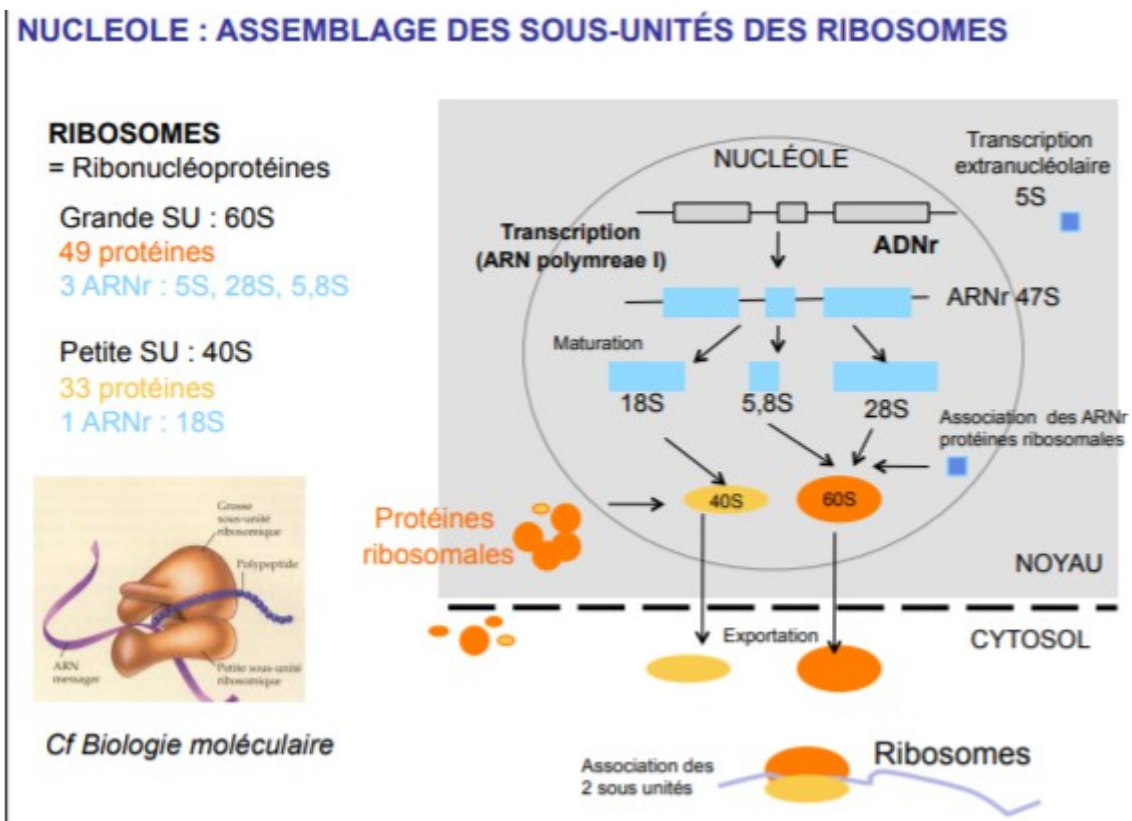
- Site de **maturation Ribonucléoprotéines** et **ARNt**
- Lieu de **transcription des ARNr** (SAUF 5S!! qui a une transcription extra nucléolaire)

NB : ARN ribosomiques sont transcrits à partir de gènes codés par les ADN ribosomiques (= organisateurs nucléolaires) :

- gènes qui codent pour ARNr : 18S, 5,8S et 28S
- 400 copies de ces gènes en répétition en tandem
- gènes sur 5 chromosomes différents (se retrouvent dans la même zone au nv du nucléole)
- précurseur de **47S**



Assemblage des sous-unités des ribosomes :



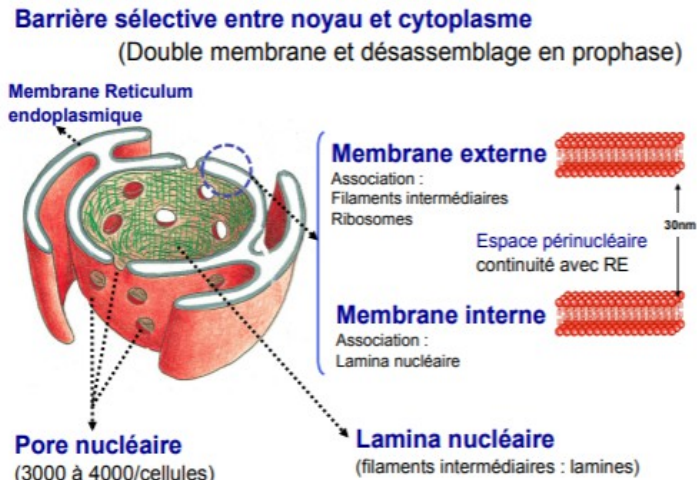
Assemblage des SU dans le nucléole

Assemblage du ribosome au nv d'un ARNm dans le cytosol

C. Enveloppe nucléaire

Enveloppe nucléaire :

- **double membrane** : chaque mb est une **bicouche lipidique**
 - **mb externe** associée aux **FI** du cytosque + **ribosomes**
 - espace **péri-nucléaire** en continuité avec le **RE**
 - **mb interne** associée à des FI particuliers (**lamines**) qui constituent la **lamina nucléaire**
 - percées de **pores nucléaires** (3 000 – 4 000/c) : échanges et transport
- se **dé-assemble en prophase** (début de la mitose)
- barrière **sélective** entre le noyau et le cytoplasme

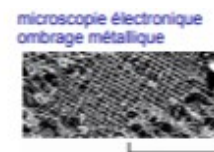


1. Lamina nucléaire

ME : réseau réticulé sous la mb nucléaire

Rôles :

- maintenir la **structure** du noyau
- **ancrage de la chromatine**



Lamina nucléaire fixée à la mb nucléaire par 2 types d'éléments :

- soit des **R**
- soit des **gr. Lipidiques (prényles)** présents sur les **lamine B**

Constitution lamina nucléaires : **Lamines** :

- Protéines de la famille des **FI**
- 2 types de lamine : Lamine **A,C** et lamine **B**

2 domaines globulaires liés par un long domaine

1 site de phosphorylation : permet la dissociation de la mb nucléaire en mitose

Synthé dans le cytosol puis rejoignent le noyau grâce aux **seq NLS** (signaux d'importation nucléaire)

Lamine B : domaine supplémentaire en **C-term** : modif post-trad lipidique : greffage gr. Prényl → ancrage à la mb nucléaire

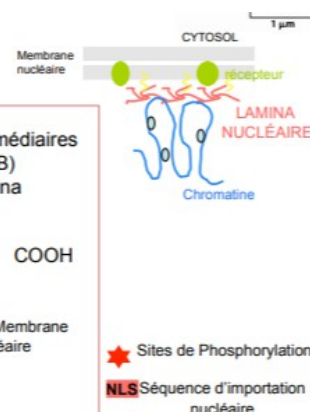
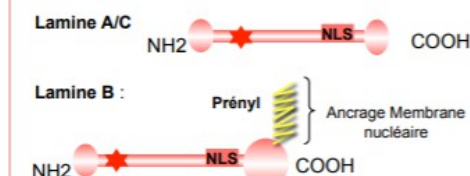
La lamine A interagit avec la lamine B

RÔLES

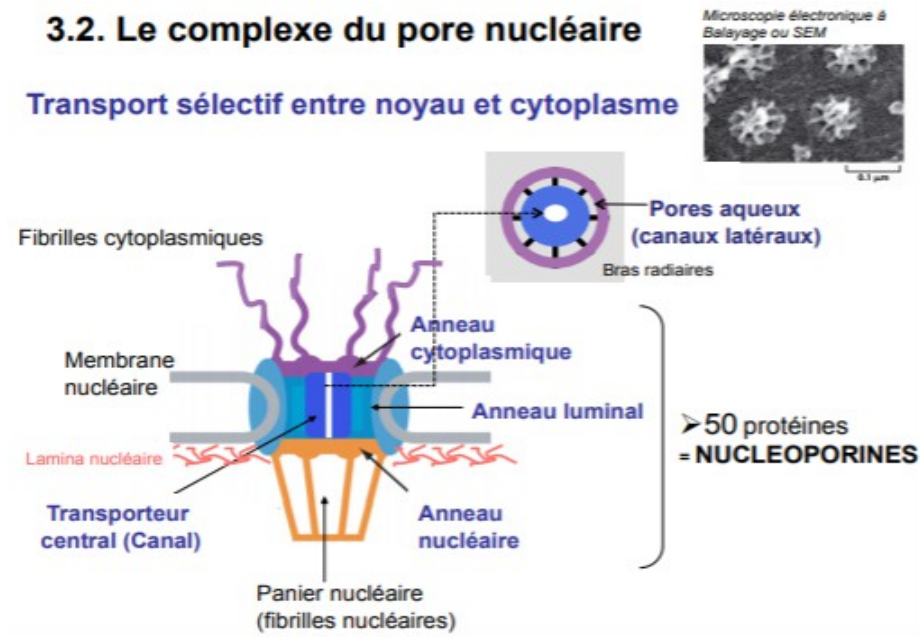
- Maintien de la structure du noyau
- Ancrage chromatine

LAMINES :

- Protéines de la famille des filaments intermédiaires
- 2 types de lamine (lamine A,C et lamine B)
- s'associent tétramères pour former la lamina



2. Le complexe du pore nucléaire



Pores nucléaires → régulent transport sélectif entre le noyau et le cytoplasme

Constitution :

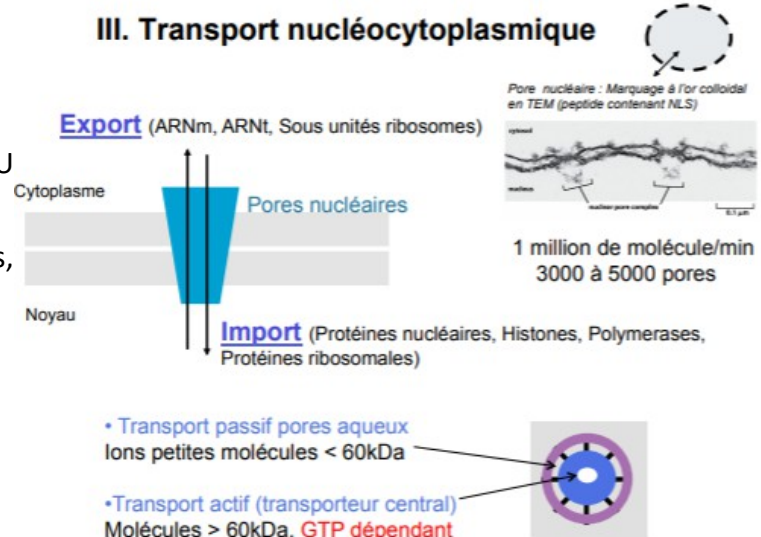
- symétrie d'**ordre 8** : éléments répétés 8x
- **3 anneaux** :
 - anneau **cytoplasmique** porte **8 fibrilles cytoplasmiques**
 - anneau **luminal** (ancré au nv de la mb nucléaire)
 - anneau **nucléaire** (vers l'intérieur du noyau) : fibrilles nucléaires sous forme de « **panier** »
- **transporteur central** (canal central) maintenu par des **pores aqueux** (canaux latéraux)
- Formé de **50 protéines** : les **nucléoporines**

III. Transport nucléocytoplasmique

Régulé par les pores nucléaires.

Export à l'extérieur du noyau : ARNm, ARNt, SU ribosomiques

Import : protéines nucléaires, histones, polymérase, protéines ribosomales



2 types de transport :

- **passif** via les **pores aqueux** : ions, petites molécules <60kDa
- **actif** via **canal central** : molécules > 60kDa !!!GTP dep !!!

TRANSPORT ACTIF :

• Protéines transportées

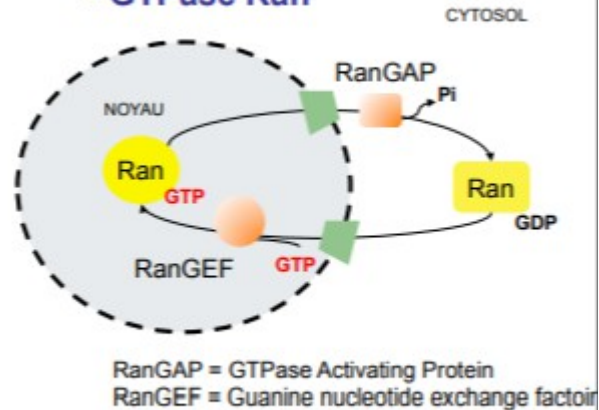


Séquence d'adressage
(NLS, NES, NRS, M9 et ?)

• Karyophérines (+/- adaptateurs)



• GTPase Ran



Ce transport nécessite une **seq d'adressage** :

- **NLS** → entrée dans le noyau
- **NES** → exportation du noyau
- **NRS** → rétention dans le noyau
- M9
- ...

Seq d'adressage reconnues par un adaptateur : les **karyophérines** (+/- adaptateurs) → amènent les protéines au noyau (facteurs) :

- **importines**
- **exportines**
- **NFT2**

NRJ amenée par GTPases Ran :

- (1) Ran-GDP dans le cytosol
- (2) rentre dans le noyau via le pore nucléaire
- (3) rencontre Ran GEF : phosphorylation GDP en GTP : Ran-GTP
- (4) sort du noyau
- (5) rencontre RanGAP : hydrolyse GTP en GDP : Ran-GDP

NB : la concentration en Ran-GTP est + imp dans le noyau et la concentration en Ran-GDP est + imp dans le cytosol, ce qui permet de faire fonctionner ce cycle !

Ex : seq NLS

La protéine X (avec une seq NLS) reconnue par une importine.

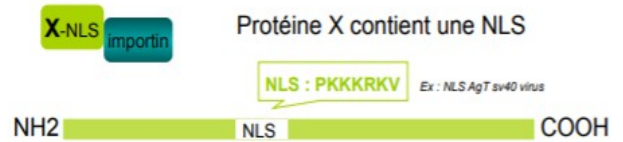
Mise en évidence NLS : NLS normale VS NLS mutée et on regarde où se trouve la protéine en fonction de NLS normale ou mutée (car la protéine n'est plus reconnue par l'importine)

→ Normale : noyau

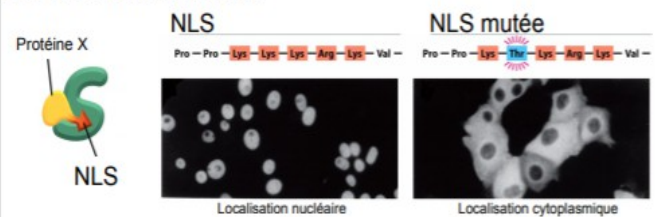
→ NLS mutée : cytosol

Séquences Adressage

EX : séquence NLS (nuclear localisation sequence)



Localisation Protéine X

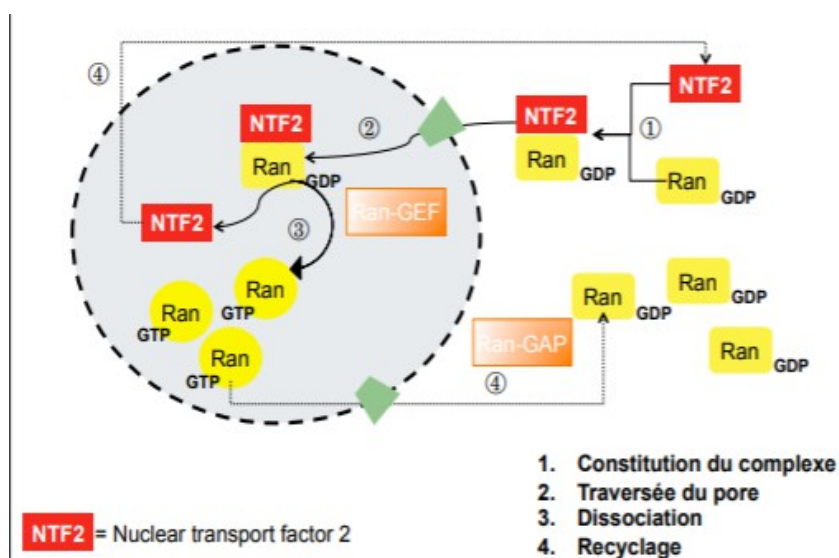


A. Transport nucléocytoplasmique GTPase Ran

Le transport se fait via une protéine transporteur : NTF2 (Nuclear Transporteur Factor)

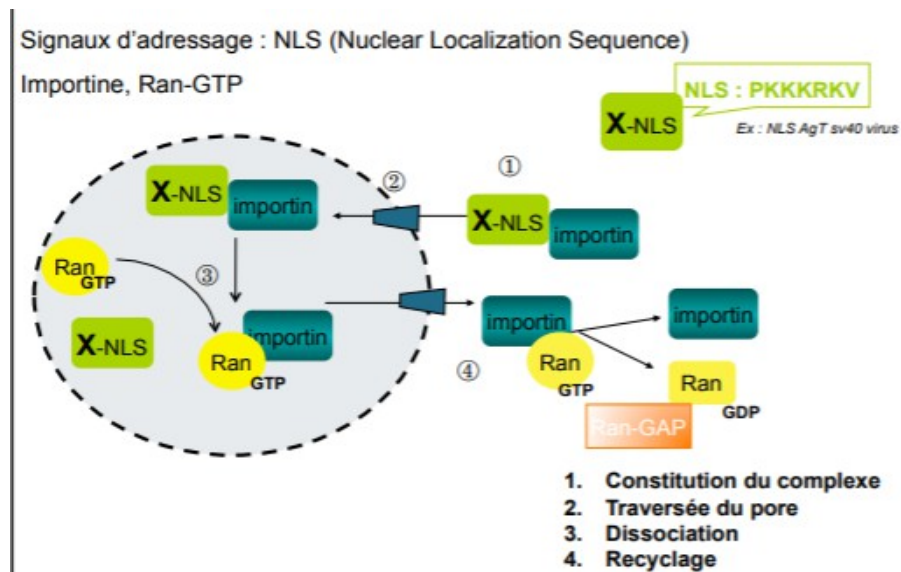
- (1) Ran-GDP a de l'aff pour NTF2 → complexe traverse le pore nucléaire
- (2) RanGEF : phosphoryle GDP en GTP : Ran-GTP
- (3) Dissociation Ran et NTF2 car Ran-GTP n'a pas d'affinité pour NTF2 → Ran-GTP s'accumule dans le noyau
- (4) NTF2 sort du noyau
- (5) Ran-GTP interagit avec des éléments sortant
- (6) Ran-GTP sort du noyau
- (7) RanGAP : hydrolyse GTP en GDP

→ 1 Constitution du complexe, 2 Traversée du pore, 3 Dissociation, 4 Recyclage



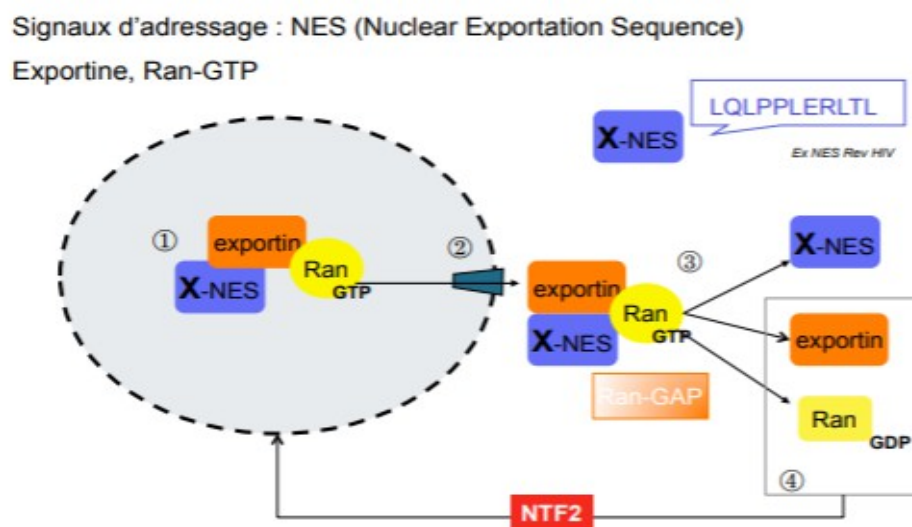
B. Mécanisme d'importation dans le noyau

- (1) Protéine X avec seq NLS se lie à une importine → traversée du pore nucléaire
- (2) Dissociation du complexe X-importine → Importine se lie à Ran-GTP, X libre dans le noyau
- (3) Traversée du pore nucléaire par RanGTP-importine
- (4) RanGAP : hydrolyse GTP en GDP → dissociation en Ran-GDP + importine

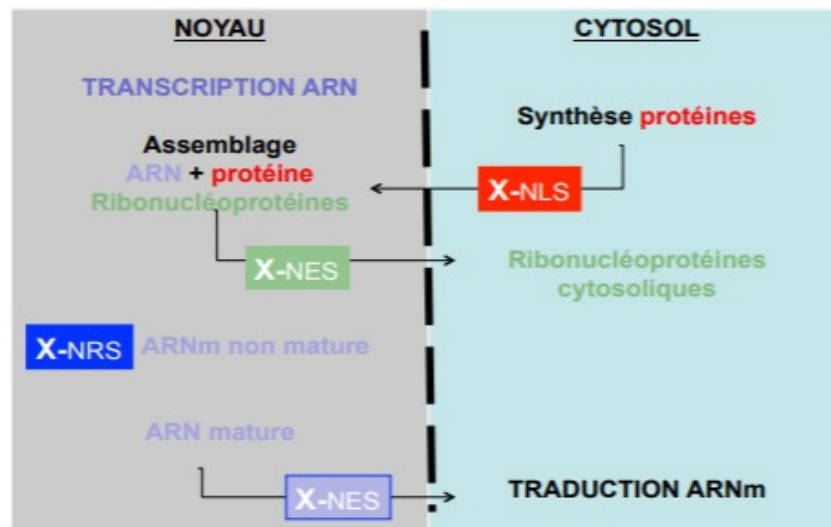


C. Mécanisme d'exportation du noyau

- (1) Protéine X avec seq NES se lie avec Exportine
 - (2) Liaison X-Exportine à Ran-GTP → sortie via le pore nucléaire
 - (3) RanGAP : Hydrolyse Ran-GTP en GDP : dissociation en Ran-GDP + Exportine + X
- NB : Ran-GDP peut rester lié à l'exportine pour rentrer dans le noyau grâce à NTF2



D. Transport nucléocytoplasmique : ARN et Ribonucléoprotéines



Les protéines peuvent rentrer en étant liées à des protéines contenant des seq NLS dans le noyau pour former des ribonucléoprotéines avec de l'ARN.

Pour que ce complexe sorte, il faut se lier à une protéine contenant une seq NES.

Les ARNm non-mature doivent rester dans le noyau (seq NRS), une fois matures, ils perdront cette interaction avec la protéines X-NRS et iront dans le cytoplasme où ils seront traduits.

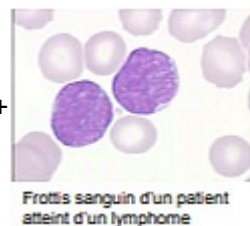
IV. Pathologies associées au noyau



A. Diagnostic des KC

Analyse morpho des noyaux :

- **taille** (cellules normales : rapport nucléocytoplasmique $< 0,8$) car prolifération +
- modif de la **chromatine** : - condensée \rightarrow + transcrite



B. Maladies génétiques associées aux protéines nucléaires

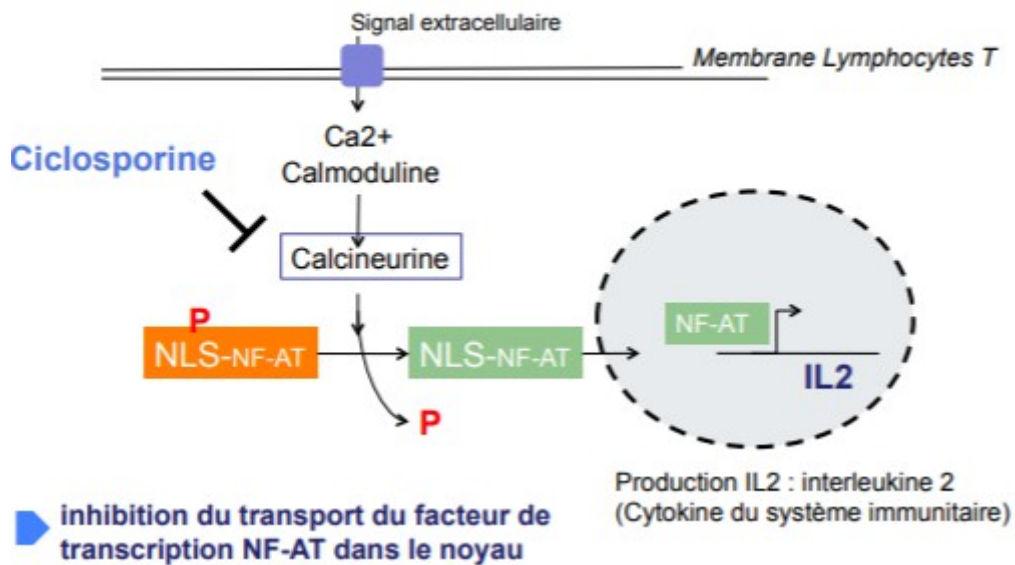
Ex : Laminopathie : Progeria

Mutation du gène LMNA : gène qui codent pour la Lamine A (située dans la lamina nucléaire) \rightarrow Noyau déformé(!!lamine bien localisée et présente mais déformée!!)



C. Application thérapeutique

Médicament : Ciclosporine (traitement immunosuppresseur /rejet des greffes)



La **Ciclosporine** :

- TT immunodepression dans le rejet des greffes
- Agit sur InterLeukine 2 (**IL2**) qui est une cytokine du système immunitaire (provoque une cascade de signalisation) → **ciclosporine empêche production IL2**

L2 régulée au nv de son promoteur par un facteur de transcription : **NF-AT**

- (1) Signal extra c pour la prod d'IL2
- (2) production de Ca^{2+} qui se lie à la Calmodulline
- (3) Calmodulline- Ca^{2+} active une phosphatase : la **Calcineurine** (cible de la Ciclosporine)
- (4) Déphosphorylation NF-AT avec seq NLS phosphorylée en NF-AT avec seq NLS déphosphorylée → activation seq NLS → NF-AT peut entrer dans le noyau → activation synthèse d'IL2

Si Ciclosporine : la facteur de transcription NF-AT reste dans le cytosol : pas de synthèse d'IL2 → pas de réaction immunitaire !