

## CHAPITRE 6

### LE NOYAU

#### A / MORPHOLOGIE

##### 1°) Microscopie optique (voir Fig. 6. 1)

Plus gros organite cellulaire, repéré dès les 1<sup>ères</sup> observations, il définit les eucaryotes (*étymologiquement « vrais noyau »*).

Il est délimité par une **enveloppe nucléaire**, qui apparaît comme une « membrane » en microscopie optique.

A l'intérieur, on y observe :

- une substance hétérogène et aisément colorable, la **chromatine**. Elle est composée de mottes et de filaments à répartition variable suivant le type cellulaire et colorable par tous les colorants basiques (hématoxyline, ...). Son colorant électif est le Feulgen (désoxyribose).

- un ou plusieurs **nucléoles**, colorés par l'éosine en rose orangé (protéines), mais aussi par les colorants basiques : la Pyronine en rouge, le Giemsa en bleu

##### 2°) Microscopie électronique

###### a) Enveloppe nucléaire (voir Fig. 6. 2)

Composée de **2 membranes biologiques**, elle est une extension du réticulum endoplasmique. Elle est percée de pores à intervalles réguliers. La membrane externe peut porter des ribosomes sur sa face P. La membrane interne est recouverte d'un fin treillis fibrillaire, **la lamina**. La lamina est un assemblage de FI, les lamines A, B et C, constituant une partie du nucléosquelette. La chromatine vient s'y attacher.

Les pores nucléaires ou **nucléopores** : les 2 membranes y sont en continuité, délimitant un canal organisé par une structure protéique. Il met en contact cytosol et nucléoplasme. Ce sont donc les lieux privilégiés des échanges nucléo-cytoplasmiques.

Leur structure a été déterminée en MET ainsi que par des techniques biochimiques et de biologie moléculaire. Ce fut l'une des premières applications du traitement informatique des images qui a révélé la structure non mobile du nucléopore. Cette structure étant indescriptible, nous commenterons les interprétations antérieures qui lui correspondent (**voir Fig. 6. 3 et 6. 4**).

Le pore est composé de 2 anneaux, cytoplasmique et nucléoplasmique, reliés à **un canal central** et ménageant **8 petits tunnels périphériques** dans l'épaisseur de la paroi. De chaque anneau partent des fibrilles se projetant dans le cytoplasme ou le nucléoplasme. Les fibrilles nucléoplasmiques sont réunies par un petit anneau distal formant une structure en panier.

Les **tunnels périphériques** permettent des **échanges passifs** de petites molécules : ions, ...

Le **tunnel central** permet un **transport actif**, GTP dépendant, de molécules ou structures de taille conséquente (sous unité ribosomales !). Un complexe régulateur est comparé à un diaphragme dont l'orifice est parfois obturé par un grain dense (structure en transit).



Le transport actif nécessite des « **signaux spécifiques** » d'importation nucléaire **NLS** (Nuclear Localisation Sequence) et d'exportation cytoplasmique **NES** (Nuclear Export Sequence). Le mécanisme sera vu en Biologie Cellulaire et implique une petite protéine G, Ran.

On peut se faire une idée de son organisation moléculaire en utilisant des détergents, tel que le Triton X 100, qui sépare les membranes des autres constituants qui restent solidaires entre eux et forment le complexe de pores-lamina (**voir Fig. 6. 5**) (après lyse hypotonique des cellules et isolement des noyaux par centrifugation sur un coussin de saccharose).

## **b) La chromatine (voir Fig. 6. 6 et 6. 7)**

La MET ne permet pas de décrire la structure de la chromatine. Elle apparaît comme un enchevêtrement de 3 types de filaments d'épaisseurs différentes, 3-4 nm, 11 nm, et 30 nm. Le fait qu'on ne peut suivre ces filaments sur toute leur longueur explique la difficulté de toute interprétation.

Son organisation moléculaire sera vue en détail en Biologie moléculaire. Néanmoins, les techniques spéciales histologiques, ont modestement participé à sa description (composition chimique générale).

L'action d'une DNase sur des noyaux purifiés fait disparaître la chromatine ; il ne persiste qu'un matériel floconneux sensible aux protéases. La chromatine est donc essentiellement formée de DéoxyriboNucléoProtéines (**DNP**), association d'ADN et de protéines. L'ADN « nu » n'existe pas dans la nature, il est toujours associé à des protéines. Ces protéines sont composées d'**Histones** et de protéines non histones. Les histones sont des protéines structurales de compaction de l'ADN. L'ADN nucléaire présente plusieurs niveaux de compaction (certains sont spécifiques de la mitose) : le but est d'enfermer 2 m d'ADN dans un organite d'environ 10 µm de Ø tout en lui conservant son accessibilité ! (*si l'on compare l'ADN à du fil de couture, l'objectif est d'enrouler 40 Km de fil dans une balle de tennis !*)

### **Structure (sommaire) :**

**1 - Le filament de 3-4 nm** est formé d'ADN (2 nm) recouvert de protéines (essentiellement l'histone inter-nucléosomale H1)

**2 -** Ce filament s'enroule autour d'un disque formé de 2 fois 4 histones nucléosomales : 2 x (H2A, H2B, H3 et H4). L'ensemble ADN-octamère est un nucléosome et constitue le 1<sup>er</sup> niveau de compaction : le **filament de 11 nm ou « collier de perles »**, stabilisé par l'histone H1. L'ADN humain est composé d'environ 30 millions de nucléosomes, soit 60 millions de chaque histone nucléosomales. **Les extrémités N terminales des histones nucléosomales** sont accessibles sur le pourtour des nucléosomes : elles **sont l'objet de modifications** (phosphorylation, acétylation, méthylation, ...) qui jouent un rôle dans le degré de compaction des nucléosomes et donc l'accessibilité de l'ADN (euchromatine / hétérochromatine)

**3 -** Le filament de 11 nm subit un 2<sup>ème</sup> niveau de compaction pour former le **filament de 30 nm** dans lequel interviennent l'histone H1 et des protéines non histones. Sa structure est encore discutée : il résulterait d'un enroulement hélicoïdal du collier de perles ou d'une disposition en zigzag, les nucléosomes s'empilant pour former 2 colonnes reliées par l'ADN internucléosomal.

**4 -** Le niveau supplémentaire n'est pas accessible à la ME, sauf dans un cas très particulier : les « **chromosomes en écouvillons** » du stade diplotène de la méiose. Le filament de 30 nm forme des boucles attachées par leurs extrémités (*région MAR : Matrix Attachment Region*) au squelette protéique des chromosomes interphasiques. Ces boucles constitueraient des domaines de régulation transcriptionnelle, d'où leur appellation de **domaines en boucle**.

Au microscope électronique, dans le noyau d'une cellule, on voit les 3 catégories de filaments tantôt sous forme dispersée, formant les zones claires du noyau, c'est l'**euchromatine**, (ADN peu compacté donc accessible : transcription, ....), tantôt sous forme compactée (condensation ou "mottes" de chromatine) appelée **hétérochromatine**. Cette hétérochromatine peut se localiser contre



l'enveloppe nucléaire (chromatine marginale), dans et autour du nucléole (chromatine associée), ou n'importe où dans le noyau.

L'ADN humain est fragmenté en 23 paires de chromosomes, individualisés uniquement en mitose. Les techniques de chromosome painting, multi FISH, histone GFP, ... ont révélées que chaque chromosome occupe un **territoire chromosomique** particulier. Le noyau n'est pas un sac fourre tout, ou un sac à main, mais une structure bien ordonnée. Les chromosomes de petite taille et / ou riches en gènes sont en position centrale, les plus long en périphérie. Entre les territoires, on trouve des espaces plus ou moins dilatés, en rapport avec les nucléopores, dans lesquels sont disposés les organites nucléaires (nucléoles, corps de Cajals, ...) et circulent toutes les protéines en charge du fonctionnement nucléaire (RNA polymérase, complexes d'épissage, ...) Ces espaces pénètrent plus ou moins profondément au sein des territoires chromosomiques. Dans chaque territoire, la chromatine active, l'euchromatine, est périphérique ou autour de ces espaces, le reste étant hétérochromatisé.

### c) Le nucléole (voir Fig. 6. 8)

Il apparaît sous la forme d'enchevêtrements de fibrilles et de grains formant des zones très denses ou au contraire, claires.

On distingue trois zones principales :

|                                     |    |     |
|-------------------------------------|----|-----|
| Les <b>centres fibrillaires</b>     | CF |     |
| Le <b>composé fibrillaire dense</b> |    | CFD |
| Le <b>composé granulaire</b>        | CG |     |

En MET, les CF (clair, autrefois appelés CF pâles) entouré des CFD (opaques aux électrons) sont noyés dans le CG. Son organisation moléculaire peut être approchée par histoenzymologie.

Le traitement de noyaux purifiés par une RNase fait disparaître CFD et CG, la disparition est totale si on complète par une protéase. Ils sont donc composés de RiboNucléoProtéines (RNP), association d'ARN et de protéines.

Le traitement par une DNase entraîne une disparition des CF et de la chromatine associée aux nucléoles, indiquant la présence de DNP.

#### Structure et rôle :

Le nucléole est principalement le lieu d'assemblage des sous unité ribosomales.

Les gènes codant les ARN ribosomiques, exceptés le 5S, sont regroupés dans une courte région à l'extrémité du bras court des 5 paires de chromosomes acrocentriques : 13, 14, 15, 21 et 22. Ces régions sont les dernières à se condenser en début de mitose et les premières à se décondenser (constriction secondaire). Elles sont les **organisateurs nucléolaires**.

Après la mitose, ces 5 paires mettent en commun les **organisateurs nucléolaires**, constituant les **CF**. (voir Fig. 6. 9)

La transcription par la RNA Polymérase 1 génère un long transcrit (47S) qui va subir une **maturation** pour donner les ARN ribosomiques (18, 28 et 5,8S) **au niveau des CFD** (la transcription s'effectuant à la frontière CF – CFD).

Les protéines des sous unité ribosomales sont synthétisées dans le cytoplasme et importées dans le noyau (présence de NLS). Elles gagnent le nucléole où elles sont **assemblées en sous unité avec les ARNr dans le CG**. L'assemblage masque les NLS et permet leur exportation cytoplasmique.

Plusieurs molécules servent de marqueur du nucléole, parmi lesquelles on peut citer la **Fibrillarine** et la **Nucléoline** d'intérêt en anathomopathologie.

Outre son rôle dans la formation des ribosomes, les nucléoles participent à la formation d'autres RNP : snRNP U6 (épissage), Télomérase, SRP (Signal Recognition Particle : transport dans le RE).

### d) Les corps de Cajals et les autres (zoologie des organites nucléaires)



Les **corps de Cajals** sont de petits organites ronds (400-600 nm Ø), souvent accolés aux nucléoles. Ils sont caractérisés par la présence préférentielle de la **Coïline**. Ils seraient le site d'assemblage des facteurs d'épissage, les snRNP U (sauf U6) et de maturation de petits ARN nucléolaires (les snoRNP) servant de guide pour la maturation des ARN.

*Il existe d'autres organites : les corps de clivages, les corps jumeaux (protéine SMN des amyotrophies spinales), les PML (leucémies aiguës promyélocytaire)... dont la description ne relève pas de ce cours.*

**NB : Tous les organites nucléaires ne sont jamais délimités par une membrane biologique.**

### e) Les grains et fibrilles nucléaires extra chromatinien (voir Fig. 6. 10)

Ces structures ne sont visibles qu'en MET ou en fluorescence (GFP, IF).

Ce sont des RNP qui disparaissent par traitement avec RNAses et protéases, mais aussi avec des inhibiteurs de la transcription (*α amanitine, inhibiteur de la RNA polymérase 2 : ARN messagers*). Ils participent donc à la machinerie de transcription. Ils portent le nom générique de **spicules** contenant les complexes d'épissage (spliciosome). On en distingue deux formes :

- **les fibrilles périchromatiniennes et les grains périchromatiniens**. Appelés ainsi parce qu'ils sont plus visibles autour des mottes de chromatine condensée. Mais il en existe aussi dans les espaces de chromatine décondensée, c. à d. dans l'euchromatine (cf. territoire chromosomique). Ils seraient constitués d'ARNm en cours de transcription et d'épissage.

- **les grains interchromatiniens ou IGC (Interchromatin Granule Clusters)**, ont un diamètre de 20 nm environ. On les rencontre dans les espaces clairs de chromatine décondensée. Ils représenteraient des stocks de complexes d'épissage

### e) Nucléoplasme et microscaplette nucléaire

#### - nucléoplasme

Le nucléoplasme est le liquide baignant les structures nucléaires. Il est l'équivalent pour le noyau du cytosol ou hyaloplasme pour le cytoplasme (avec lequel il est en continuité via les pores latéraux du nucléopore).

#### - microscaplette nucléaire (voir Fig. 6. 11).

Mise en évidence : préparation de noyaux

Après lyse hypotonique, les noyaux sont isolés par centrifugation sur « coussin de saccharose » (ils flottent sur un milieu de densité supérieure, contrairement aux autres organites). Élimination des membranes par un détergent doux, *le Triton X100*. Les noyaux délimités par le complexe pore-lamina augmentent de volume et deviennent tous ronds. L'enveloppe est donc indispensable au maintien de la forme des noyaux.

Un traitement par RNase et DNase suivi d'extraction des protéines solubles (non liées à des structures) permet une augmentation importante de la taille et surtout la persistance d'un fin réseau fibrillaire protéique, **le microscaplette nucléaire**, relié au complexe pore-lamina.

Il est formé de différentes protéines dont toutes ne sont pas encore déterminées. Les **lamines** (FI) forment un réseau interne, en plus du treillis sous l'enveloppe nucléaire. Les protéines de la famille **NuMA (Nuclear Mitotic Apparatus)** participent au réseau interne.

Ce microscaplette participe à l'organisation de l'espace nucléaire : territoires chromosomiques, espaces inter chromatinien, ...

## B / VARIANTES (voir Fig. 6. 12)



### 1°) En nombre :

La règle générale, chez les mammifères, est : un noyau par cellule. Mais il existe des exceptions.

**a) Cellules anucléées** : l'**hématie** est une cellule tellement spécialisée, qu'elle a exclu son noyau en cours de maturation (d'où une durée de vie très limitée). *Les plaquettes ne sont pas des cellules, mais des fragments de cytoplasme du mégacaryocyte.*

**b) Cellules binucléées** : en fin d'évolution, certaines cellules peuvent être binucléées : **hépatocytes, cellule de l'urothélium.**

**c) Cellules plurinucléées** : elles ont 2 origines différentes

- **mitoses sans cytodiérèse** (cf. cours Mitose) aboutissant à l'accumulation de noyaux dans le cytoplasme. Ce sont des **plasmodes** ou cellules plasmodiales : **ostéoclaste.**

- **fusion de cellules** : **syncytium** ou cellules syncytiales : **syncytiotrophoblaste, fibre musculaire striée.**

### 2°) Forme

En général le noyau est **rond** ou prend la forme que lui impose la cellule : **ovale** dans une cellule fusiforme.

Certaines cellules ont un noyau **plus structuré** : réniforme (monocyte), bilobé (polynucléaire éosinophile), plurilobé (polynucléaire neutrophile), ou festonné (fibre musculaire lisse)

### 3°) Volume

Variable, suivant la taille de la cellule. Le **rapport nucléoplasmique** est plus important : c'est le volume relatif du noyau par rapport au protoplasme **N/P** (en fait estimé à partir des diamètres respectifs).

Il est **élevé dans les cellules** jeunes, **blastiques** ou cancéreuses : intérêt diagnostique. Mais il existe des exceptions : petit lymphocyte.

Il **décroit lors de la différenciation** : restriction du pool de gènes utilisés avec hétérochromatisation.

### 4°) Condensation de la chromatine :

un noyau «clair» caractérise en général une cellule très active ou blastique, avec une forte activité transcriptionnelle (euchromatine).

Un noyau condensé, très compacté, indique que la cellule travaille très peu (peu ou pas de synthèse) comme le lymphocyte circulant ou le spermatozoïde (ce dernier a le noyau le plus compacté, avec substitution des histones par une autre protéine, la protamine).

