

Chapitre 4. CYCLE CELLULAIRE & NOYAU INTERPHASIQUE

A. CYCLE CELLULAIRE

Le cycle cellulaire est l'intervalle de temps qui s'écoule entre le moment où une cellule vient de se former (après une mitose) et le moment où elle se divise et donne deux cellules filles ; à l'échelle cellulaire, il correspond à la durée de vie d'une génération. Le cycle cellulaire est formé par une interphase et une mitose (**figure 1**).

I. INTERPHASE

L'interphase se subdivise en trois phases (G_1 , S et G_2)

1. Phase G_1

G_1 de *gap* qui veut dire espace ou intervalle. Elle survient dès la fin de la télophase (dernière étape de la mitose). En raison de la variabilité de sa durée, cette phase détermine la durée du cycle cellulaire.

$G_1 = 0$: caractérise les cellules dont les divisions sont rapides (cas des cellules jeunes d'embryons, cellules souches de certains tissus et cellules cancéreuses).

$G_1 = \text{durée de la vie de la cellule}$ (G_0) caractérise les cellules ayant perdu leur capacité de division ou capacité mitotique (cas des cellules musculaires et des globules rouges).

$G_1 = \text{durée variable}$ pour les autres catégories de cellules.

La phase G_1 se caractérise par un noyau contenant $2q$ d'ADN (q : quantité). Chaque molécule d'ADN correspondant à un chromosome de mitose, n'est présentée qu'en un seul exemplaire et les chromosomes ne sont pas visibles. Cette quantité d'ADN reste constante en G_1 . Pendant cette phase, il y a réactivation dans le noyau de la transcription de l'ADN en ARNm et de synthèse des protéines dans le cytosol, en particulier celles qui sont nécessaires au bon fonctionnement de la cellule en interphase.

2. Phase S

S pour synthèse, elle dure 6 à 8h, cette durée est constante pour un type de cellule donnée. Au cours de la phase S, il y a réplication de l'ADN grâce à des ADN polymérases. La quantité d'ADN est donc doublée. Il y a passage de $2q$ à $4q$ d'ADN. À la fin de la phase S, chaque molécule d'ADN est représentée en double exemplaire correspondant aux deux chromatides filles du chromosome mitotique. Il y a aussi pendant cette phase, la synthèse des protéines dans le cytosol, en particulier des histones qui seront associées à l'ADN.

3. Phase G_2

Sa durée est également constante mais cette fois-ci le noyau est à $4q$ d'ADN. Le cytoplasme se prépare à la mitose avec une grande activité de synthèse protéique, en particulier les tubulines α et β qui serviront à la formation des microtubules du fuseau achromatique. La phase G_2 peut être bloquée par l'action de la colchicine qui empêche la formation des microtubules labiles ou par les rayons X.

II. MITOSE

La mitose correspond à la phase M (polycopié p.141-145). Les chromosomes ($2n$) deviennent visibles et seront répartis dans les deux cellules filles qui auront toutes, $2n$ chromosomes et $2q$

d'ADN grâce à la séparation à l'anaphase des chromatides sœurs. De nombreuses protéines assurent la régulation du cycle cellulaire.

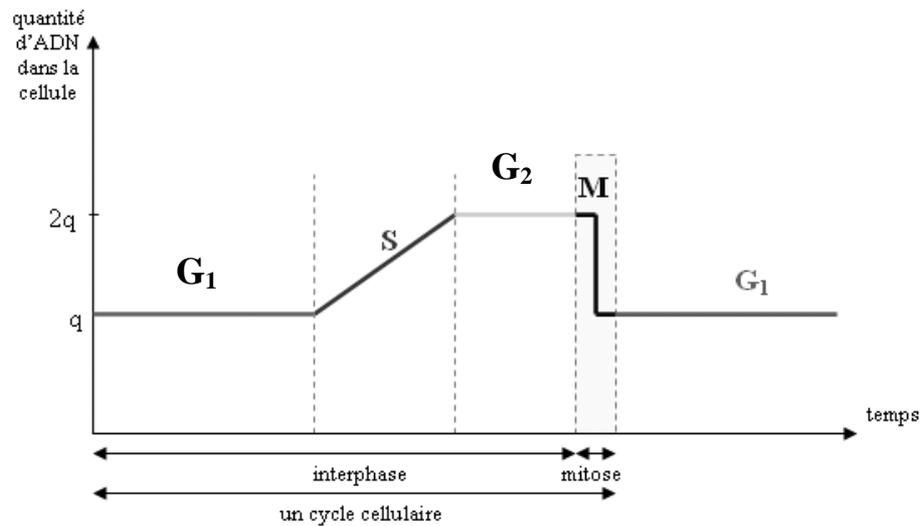


Figure 1 : Evolution de la quantité (q) d'ADN au cours du cycle cellulaire.

B. NOYAU INTERPHASIQUE

I. DEFINITION

Le noyau est un organe spécifique aux cellules eucaryotes, il est délimité par l'enveloppe nucléaire qui sépare son contenu du reste du cytoplasme. Il renferme le nucléoplasme dans lequel baignent essentiellement la chromatine et un ou plusieurs nucléoles. Il est le centre vital de la cellule et contrôle grâce à l'ADN toutes les activités de la cellule. L'ADN constituant essentiel de la chromatine porte les gènes du patrimoine héréditaire (ou génome).

I. STRUCTURE ET ULTRASTRUCTURE

1. Au Microscope photonique

Au microscope photonique, le noyau interphasique apparaît souvent de forme sphérique et de taille variable. On le rencontre généralement en un seul exemplaire par cellule, il existe toutefois quelques cellules plurinucléées, contenant plusieurs noyaux (ex. cellules osseuses ou ostéoclastes) et d'autres anucléées ayant perdu leur noyau au cours de leur maturité (ex. globules rouges ou hématies).

Pour mettre en évidence la chromatine, on utilise certaines techniques comme le test de Feulgen, qui permet la coloration de l'ADN en violet, ou le test de la double coloration de Brachet utilisant le vert de méthyle et la pyronine qui colorent respectivement l'ADN en vert et l'ARN en rose.

2. Au Microscope électronique

L'observation, du noyau au microscope électronique à transmission (MET) ou à balayage (MEB) en utilisant différentes techniques (augmentation de contraste, cryodécoupage, coloration négative associées aux traitements d'images en 3 dimensions) permet de préciser l'organisation ultrastructurale de l'enveloppe nucléaire, la chromatine, le nucléoplasme et le nucléole.

2.1. Enveloppe nucléaire

2.1.1. Membranes nucléaires

L'enveloppe nucléaire est une portion spécialisée du réticulum endoplasmique (polycopié p17). Elle est formée de deux membranes de 6nm d'épaisseur chacune à structure trilamellaire,

asymétrique et en mosaïque fluide. Elles sont séparées par une cavité ou espace périnucléaire, de 10 à 50nm d'épaisseur qui est en continuité avec la cavité du réticulum endoplasmique.

La membrane nucléaire externe porte des ribosomes sur sa face cytosolique et la membrane nucléaire interne est associée sur sa face nucléoplasmique à une fine couche dense aux électrons dite lamina densa, cette dernière correspond à un réseau de filaments intermédiaires constitués de lamines. Elle permet un support structural rigide à l'enveloppe nucléaire et sert à la fixation de la chromatine à la périphérie du noyau.

L'enveloppe nucléaire permet de maintenir la forme du noyau mais assure surtout la protection du matériel génétique. Comme le réticulum endoplasmique granulaire (REG) elle est impliquée dans la synthèse de certaines protéines résidentes de l'enveloppe nucléaire et comme le réticulum endoplasmique lisse (REL) elle est un lieu de stockage du calcium (Ca^{2+}).

2.1.2. Complexe du pore nucléaire

L'enveloppe nucléaire est une barrière sélective au niveau de laquelle se trouvent des zones d'interruption, les pores nucléaires (**figures 2, 3 et 4**). Leur nombre est variable selon le type mais surtout selon l'activité physiologique des cellules. Ils constituent une structure complexe, dite complexe du pore nucléaire (CPN).

Le CPN est constitué de deux grands anneaux de 120nm de diamètre chacun, l'anneau cytosolique et l'anneau nucléoplasmique qui délimitent un orifice central ou transporteur central de 30nm de diamètre. Chacun des deux anneaux est formé d'un assemblage de huit bras radiaires qui font saillie dans l'orifice central, délimitant ainsi huit canaux latéraux. Un troisième petit anneau est situé dans le nucléoplasme. Il semble qu'il existe une interconnexion très stable entre les CPN et la lamina densa, qui leur sert d'ancrage.

Le transport passif de molécules solubles s'effectue au niveau des canaux latéraux et le transport actif de molécules plus grosses se fait par le canal ou transporteur central. L'enveloppe nucléaire permet aussi l'importation et l'exportation de molécules diverses à travers les CPN et les doubles membranes (**figure 5**). Elle assure ainsi le contrôle et la régulation des échanges entre le cytosol et le nucléoplasme.

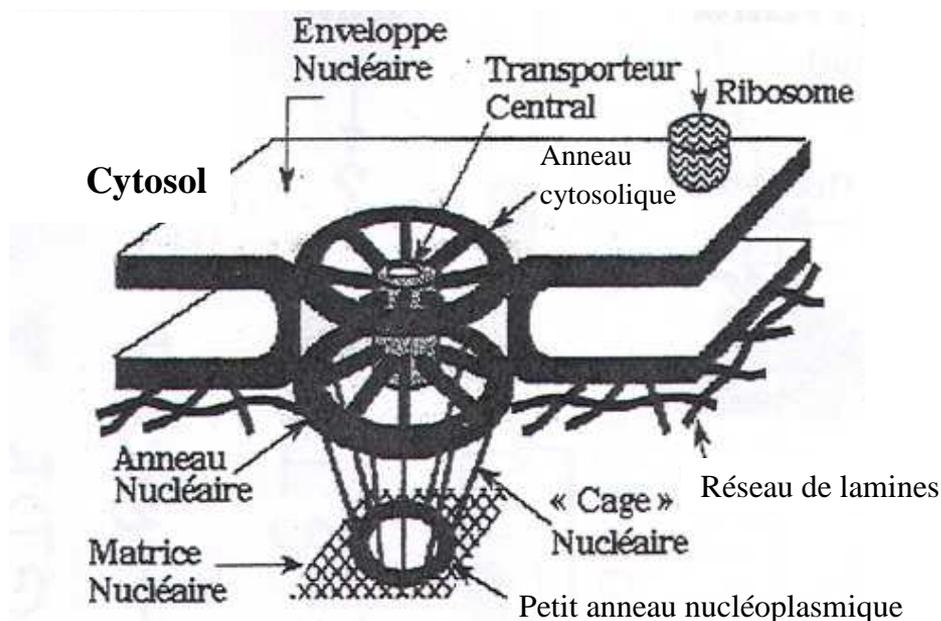


Figure 2 : Le complexe du pore nucléaire : vue en perspective.

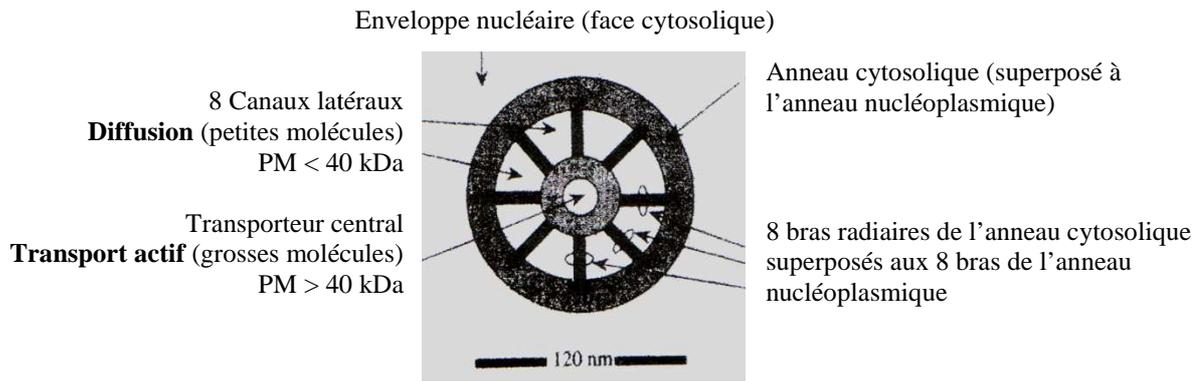


Figure 3 : Le complexe du pore nucléaire : vue de face à partir du cytosol.

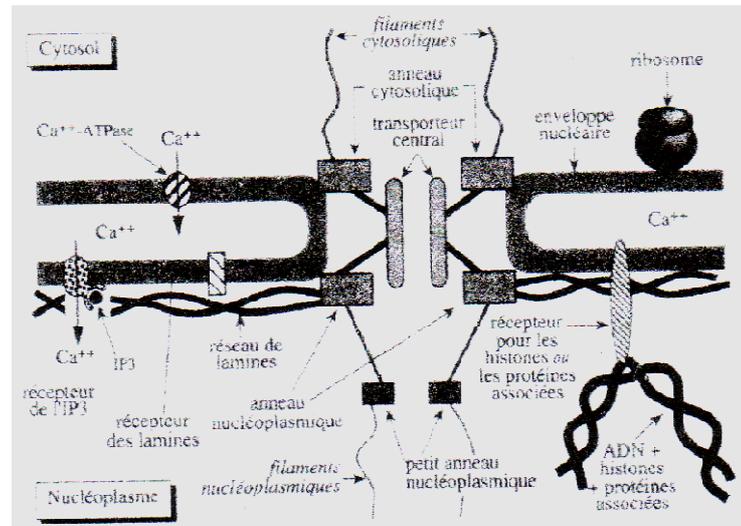


Figure 4 : Le complexe du pore nucléaire : vue de profil.

2.2. Chromatine

La chromatine intervient dans la division et la croissance cellulaire (voir cycle cellulaire). Elle se présente au MET sous deux aspects, l'hétérochromatine et l'euchromatine (polycopié p77).

2.2.1. Hétérochromatine

C'est une chromatine condensée, dense aux électrons, située essentiellement à la périphérie du noyau sur la face nucléoplasmique de la membrane nucléaire interne et au contact de la lamina densa. Elle se trouve aussi un peu autour du nucléole, appelée hétérochromatine périnucléolaire.

2.2.2. Euchromatine

Elle est décondensée, claire, diffuse ou dispersée dans le nucléoplasme. L'application de la technique de l'autoradiographie dont le principe consiste à utiliser des précurseurs radioactifs a montré que la synthèse de l'ARN a lieu dans l'euchromatine. Ainsi l'euchromatine est la forme active de la chromatine et l'hétérochromatine la forme inactive.

II. ANALYSES DES DIFFERENTS CONTITUANTS

L'UCD permet d'isoler la fraction noyau (culot 1). La rupture de l'enveloppe nucléaire après action des ultrasons ou chocs osmotiques suivie par un certain nombre de centrifugations permet d'isoler séparément les sous fractions du noyau : l'enveloppe nucléaire, le nucléoplasme, la chromatine et le nucléole.

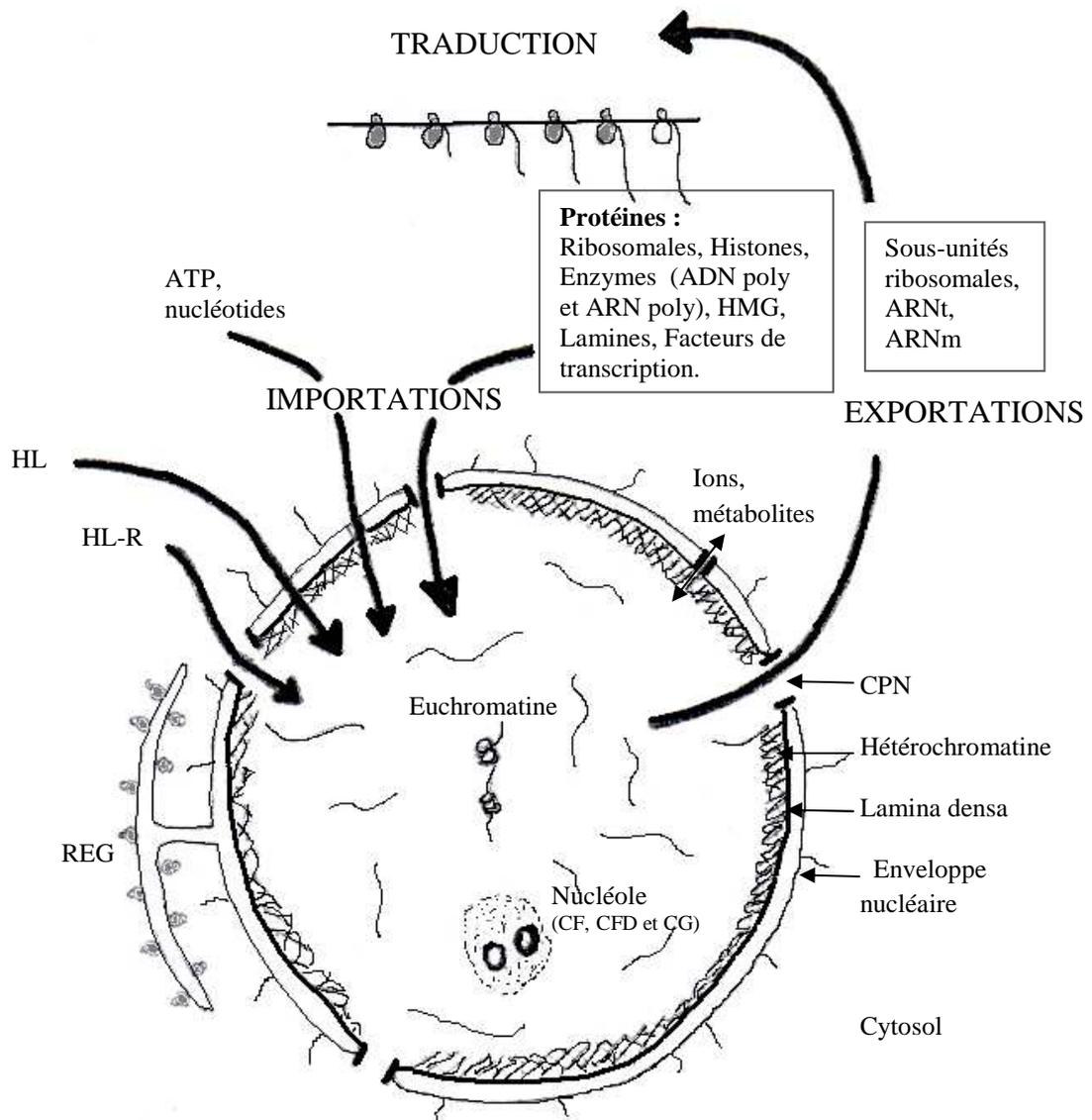


Figure 5 : Caractéristiques structurales et dynamiques du noyau interphasique.

CPN : complexe de pore nucléaire, CF : centre fibrillaire, CFD : composant fibrillaire dense, HL : hormone liposoluble, HL-R : récepteurs cytosoliques, REG : réticulum endoplasmique granulaire, HMG : groupe haute mobilité.

1. Nucléoplasme

C'est un gel visqueux équivalent au hyaloplasme (**figure 6**), dans lequel se trouve une matrice nucléaire composée de minces fibrilles protéiques en réseau comportant des granules à l'intersection de ses mailles, une sorte de squelette nucléaire qui maintient la forme du noyau et agit comme un échafaudage sur lequel s'organise la chromatine. Cette matrice sert d'ancrage à l'ADN et aux ARN dans les mécanismes de réplication, de transcription et de maturation.



Le nucléoplasme contient aussi diverses molécules, des protéines enzymatiques ou structurales, des ARNm et ARNt, différents types d'ions Ca^{2+} , Na^+ , K^+ et Mg^{2+} , des nucléotides, des sous unités ribosomales et un réseau protéique sous membranaire à organisation grillagée qui englobe le petit anneau nucléosomique du CPN.

Figure 6: Organisation de la matrice nucléaire au MET.

Après son isolement, son étalement et l'application de la technique de la coloration négative, on peut observer au MET à fort grossissement qu'elle est constituée de deux types de fibres : la fibre A de 10 à 11nm de diamètre, organisée en collier de perle, constituant l'euchromatine et la fibre B de 25 à 30nm de diamètre, beaucoup plus condensée, formant l'hétérochromatine.

2.1. Composition chimique

La chromatine contient 30 à 35% d'ADN ; 30 à 40% de protéines basiques appelées histones (H₁, H₂A, H₂B, H₃ et H₄) ; 10 à 25% de protéines acides et 5 à 10% d'ARN (en cours de synthèse) liés à l'ADN au niveau de l'euchromatine (chromatine active).

2.2. Organisation moléculaire

2.2.1. Fibre A

La fibre A ou euchromatine présente une organisation en collier de perles, les perles représentent les nucléosomes, ainsi la fibre A correspond à la fibre nucléosomique (**figure 7a**).

Un nucléosome (**figure 8**), disque de 10 à 11nm de diamètre et de 6nm d'épaisseur est un octamère d'histones, celui-ci comporte une paire de H₂A, H₂B, H₃ et H₄. L'ADN situé à la périphérie s'enroule autour de l'octamère d'histones. Une cinquième histone H₁ intervient pour verrouiller l'ADN en se liant à chaque nucléosome près du site où l'hélice d'ADN entre et sort de l'octamère. En sa présence l'ADN constitue 2 tours complets. Les nucléosomes sont reliés entre eux par l'ADN internucléosomique. L'ADN entourant les histones et l'internucléosomique sont constitués au total d'environ 200 paires de nucléotides.

2.2.2. Fibre B

L'histone H1 constituée par une partie globulaire et de bras correspondant aux extrémités amino- et carboxy- terminales intervient aussi dans l'empilement des nucléosomes en se liant grâce à sa portion globulaire à un site unique sur un nucléosome ; il est supposé que ses bras se déploient pour entrer en contact avec d'autres sites sur l'octamère d'histones des nucléosomes adjacents.

Les nucléosomes sont ainsi réunis en une rangée répétitive et régulière organisée en hélice, présentant ainsi une structure d'ordre supérieure en solénoïde (**figure 7b**), d'où le nom de fibre de solénoïde correspondant à la fibre B (**figure 8**).

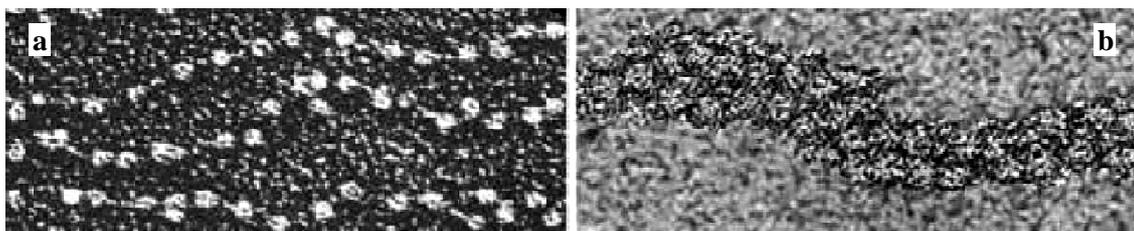


Figure 7: Chromatine en collier de perles ou fibre A (**a**) et fibre en solénoïde ou fibre B (**b**).

2.3. Chromosome

La chromatine et le chromosome (polycopie p.85) sont deux états morphologiques différents d'un même matériel génétique. Au cours de la mitose la chromatine se condense de plus en plus et de façon plus complexe grâce à la participation de protéines acides qui constituent un squelette de base (*scaffold* : échafaudage) autour duquel la fibre solénoïde constitue des boucles qui se condensent de plus en plus pour atteindre le maximum au cours de la métaphase.

A ce stade, le chromosome est 50 000 fois plus court que la molécule d'ADN déroulée (**figure 9**).

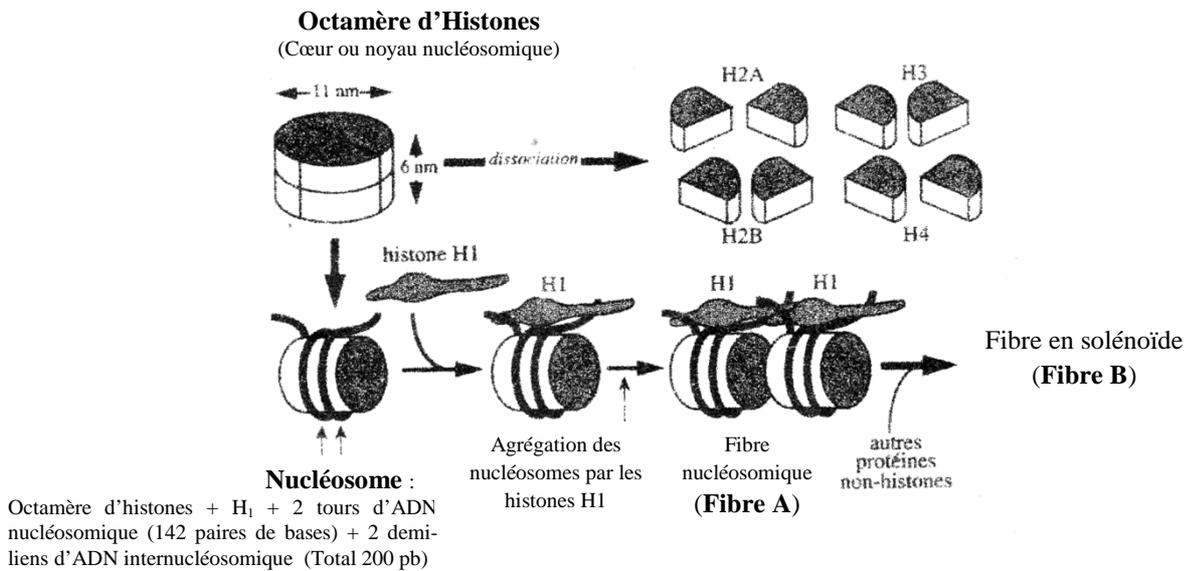


Figure 8: Le nucléosome, unité élémentaire de la chromatine.

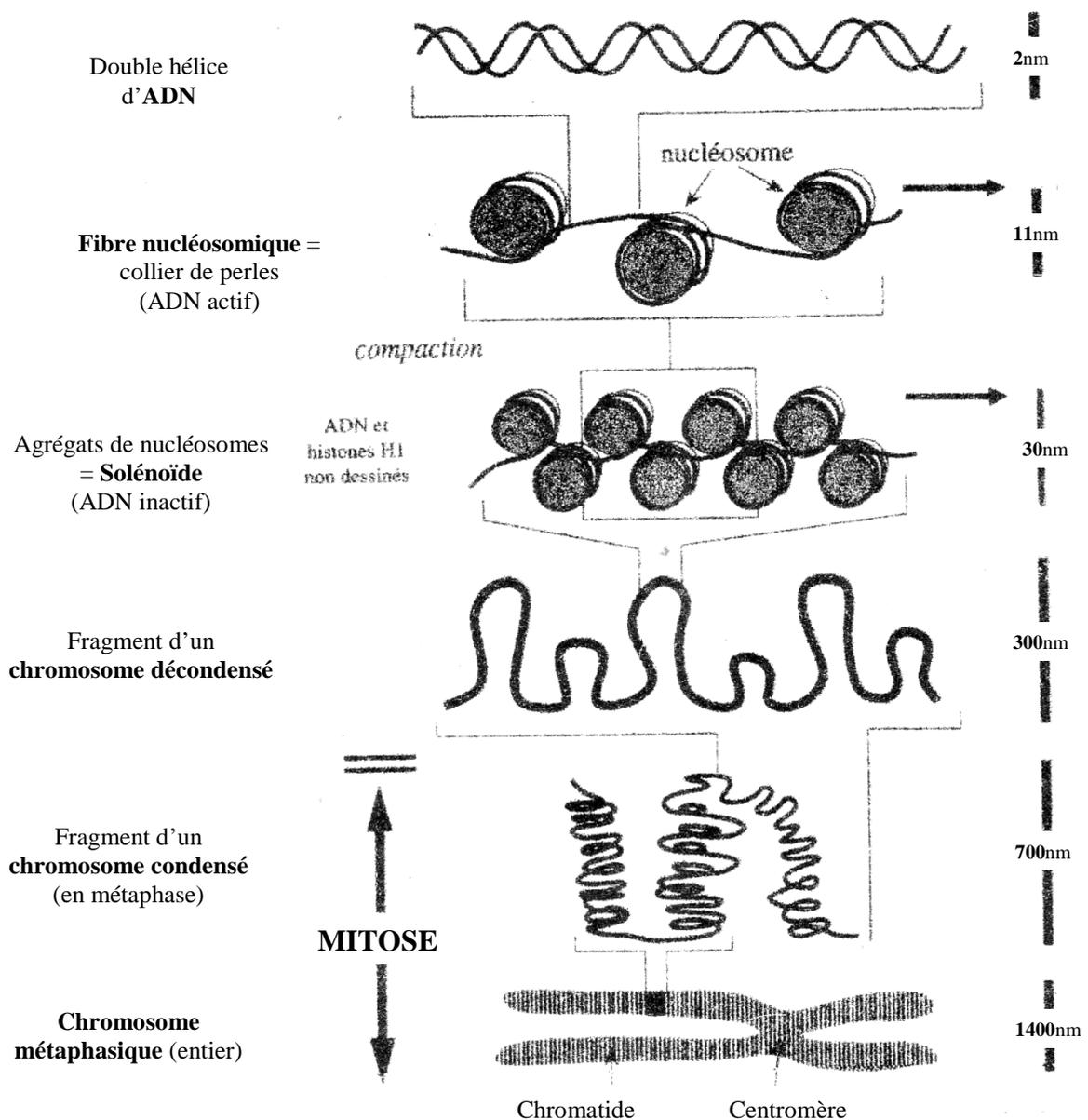


Figure 9: Les différents degrés de compactions de l'ADN nucléaire.

3. Nucléole

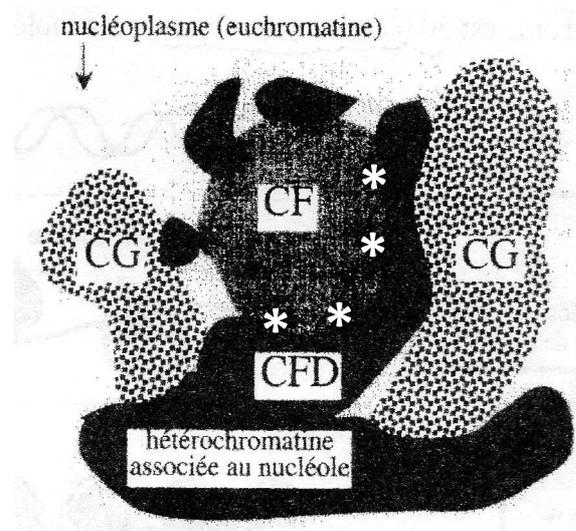
C'est une structure plus ou moins sphérique située dans le noyau, non délimitée par une membrane (polycopié p.77). En nombre défini pour chaque type cellulaire, généralement 1 ou 2 nucléole(s) par noyau ou plusieurs (ex, ovocytes en croissance); il peut être absent (ex. spermatozoïde). Il disparaît à la prophase et se reforme à la télophase, pour persister durant toute l'interphase.

3.1. Ultrastructure

Au MET le nucléole présente trois parties relativement distinctes (**figure 10**) :

- Centre fibrillaire (CF) situé généralement au centre du nucléole (il peut exister plusieurs CF).
- Composant fibrillaire dense (CFD) entourant le ou les centre(s) fibrillaire(s).
- Composant granulaire (CG) situé en périphérie des deux parties précédentes.

L'agencement de ces 3 parties peut toutefois varier selon le type cellulaire (voir TP noyau).



CF : Centre fibrillaire.

CFD : Composant fibrillaire dense.

CG : Composant granulaire.

* Sites de transcription des ARNr nucléolaires à la frontière entre CF et CFD.

CG : Site de stockage des particules pré-ribosomiques.

CF : Localisation des espaceurs intergéniques non transcrits.

Figure 10 : Ultrastructure du nucléole.

3.2. Composition chimique

- CF contient les séquences intercalaires de l'ADN nucléolaire non transcrites.
- CFD contient les séquences transcrites de l'ADN nucléolaire en activité, les transcrits ARNr 45S, des protéines diverses (protéines ribosomales L « Large » et S « Small ») associées aux transcrits ARNr 45S, des histones et de nombreuses enzymes.
- CG contient les ARNr en cours de maturation associés aux protéines ribosomales L et S, des enzymes, des catalyseurs qui interviennent dans la maturation comme l'ARNase et les ribonucléoprotéines ou RNP (ARN + protéine), des petites et grosses sous unités ribosomales en fin de synthèse.

3.3. Organisation

Le nucléole contient de grandes boucles d'ADN qui proviennent de plusieurs fibres de chromatine ou chromosomes, chacune d'elle contient le gène d'ARNr 45S amplifié, celui-ci est répété plusieurs fois en tandem (gène redondant) et orienté dans un seul sens, séparé chaque fois par une séquence d'ADN non transcrite. On appelle chaque boucle « organisateur nucléolaire » (**figure 11**).

3.4. Biogenèse

Au cours de la mitose les organisateurs nucléolaires se situent au niveau des constriction secondaires des chromosomes qui les portent (10 sur 46 pour les cellules humaines). La

disparition du nucléole à la prophase est liée à la condensation de la chromatine pour devenir chromosome et donc à l'arrêt de l'activité des organisateurs nucléolaires. Sa réformation à la télophase est liée à la décondensation des chromosomes qui se transforment en chromatine et à la reprise de leur activité.

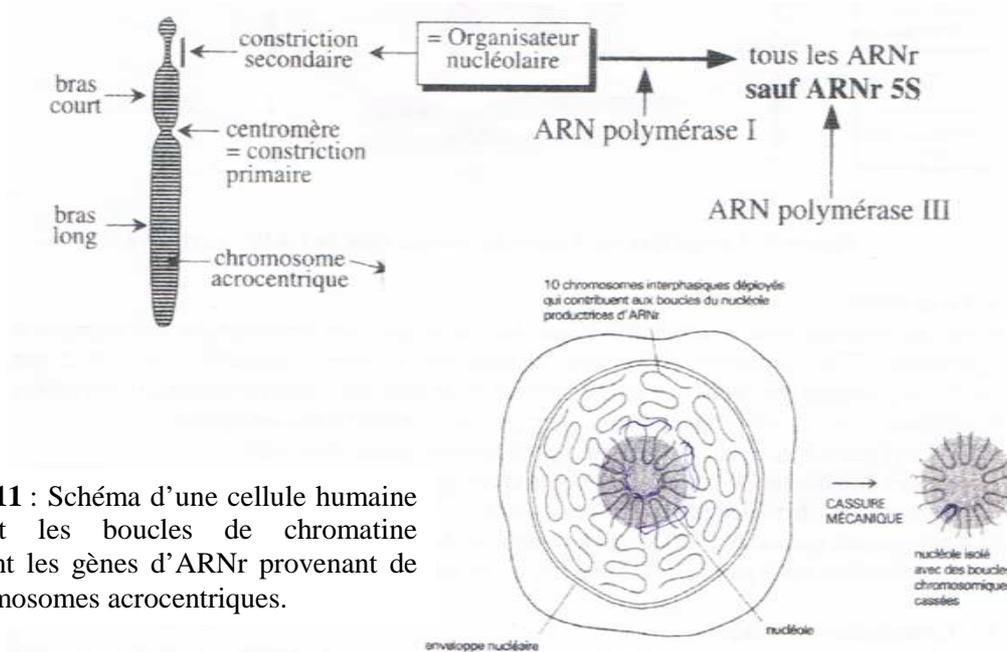


Figure 11 : Schéma d'une cellule humaine montrant les boucles de chromatine contenant les gènes d'ARNr provenant de 10 chromosomes acrocentriques.

3.5. Rôles

3.5.1. Biogenèse des sous-unités ribosomiques

La fonction fondamentale du nucléole est la biogenèse des sous unités des ribosomes, le nucléole est le lieu de formation de ces structures. Cette activité comporte deux étapes:

- **Étape transcriptionnelle** : dans la zone fibrillaire dense (aux frontières entre CF et CFD), tous les gènes des ARNr 45S de la totalité des organisateurs nucléolaires du nucléole se mettent à transcrire des ARNr 45S (de 3' vers 5') grâce à des ARN polymérase (**figure 12**). A ces transcrits d'ARNr 45S sont associées des protéines ribosomales L et S (polycopié p87), qui ont migrées dans le noyau après leur synthèse dans le cytosol. Les transcrits d'ARNr 45S associés à leurs protéines L et S passent dans la zone granulaire (CG) tout en subissant une maturation (fragmentation) sous l'action des ARNases et des RNP, pour former différents ARNr matures (ARNr 28S, ARNr 18S et ARNr 5,8S).

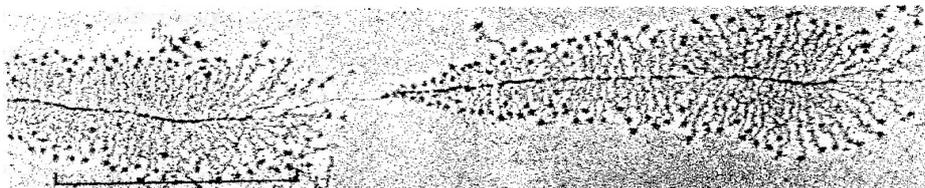


Figure 12 : Ultrastructure du gène amplifié d'ARNr.

Remarque: Dans les préparations de la chromatine étalée (régions du nucléole) grâce à la disposition périodique des gènes des ARNr (en tandem) et leur transcription très rapide, ils peuvent être facilement observés. Les ARN polymérase et les transcrits qui leur sont associés sont groupés d'une manière si dense (environ 100/gène) que les transcrits s'écartent perpendiculairement à l'ADN et donnent ainsi à chaque unité de transcription une allure caractéristique en « arbre de Noël » ou plume d'oiseau. Comme pour toute transcription (quel que soit le type d'ARN) le sommet de chaque arbre ou plume correspond sur l'ADN au point de départ où débute la transcription et où les transcrits sont donc les plus courts, alors que l'autre extrémité de l'unité de transcription des ARNr est nettement délimitée par la disparition soudaine des molécules d'ARN polymérase et de leur transcrits.

- Assemblage des sous unités des ribosomes:

L'assemblage des ARNr matures associés à leurs protéines L et S s'effectue dans la zone granulaire : l'ARNr 18S et 30 à 33 protéines S constituent la petite sous unité ribosomale 40S. Les ARNr 28S et 5,8S et 40 à 50 protéines L auxquels vient s'associer un ARNr 5S, synthétisé dans le nucléoplasme à partir de l'euchromatine, constituent la grosse sous unité ribosomale 60S. Les deux sous unités quittent séparément le noyau en passant par les pores nucléaires vers le cytosol, où elles s'associent grâce à l'ARNm pour la synthèse des protéines (**figure 13**).

3.5.2. Autres fonctions

Le nucléole intervient dans d'autres fonctions cellulaires, comme l'assemblage ou la maturation de complexes impliquant des ARN différents des ARNr (ex. SRP ou Signal Recognition Particule = Particule de Reconnaissance du Signal) qui intervient dans synthèse des protéines. Le nucléole intervient aussi dans le cycle cellulaire ou le vieillissement cellulaire.

Pour en savoir plus

1. Alberts B., Bray D., Lewis J., Raff M., Roberts K. et Watson J. 1989- Biologie moléculaire de la cellule. 2^{ème} édition, Flammarion Médecine-Sciences.
2. Beaudouin J. et Daigle N. 2002- La dynamique de l'enveloppe nucléaire. Médecine/Science, N°1 (18), pp : 41-43.
3. Cau P. et Seite R., 2002- Cours de biologie cellulaire (PCEM), 3^{ème} édition, Ellipses.
4. De Robertis E., Nowinski W. et Saez F., 1974- Biologie Cellulaire, Traduction de la 5^{ème} édition, Les presses de l'Université Laval.
5. Hernandez Verdun D. et Louvet E., 2004- Le nucléole: structure, fonction et maladies associées. Médecine/Science N°1 (20), pp : 37-44.
6. Karp G., 2004- Biologie cellulaire et moléculaire (1^{er} et 2^{ème} cycles LMD Sciences de la Vie), 2^{ème} édition, DeBoeck.
7. Strachan T. et Read A.P., 1996- Génétique moléculaire humaine, Édition Flammarion Médecine/Science.
8. Wehner R. et Gehring W., 1999- Biologie et physiologie animale. 3^{ème} édition, DeBoeck.

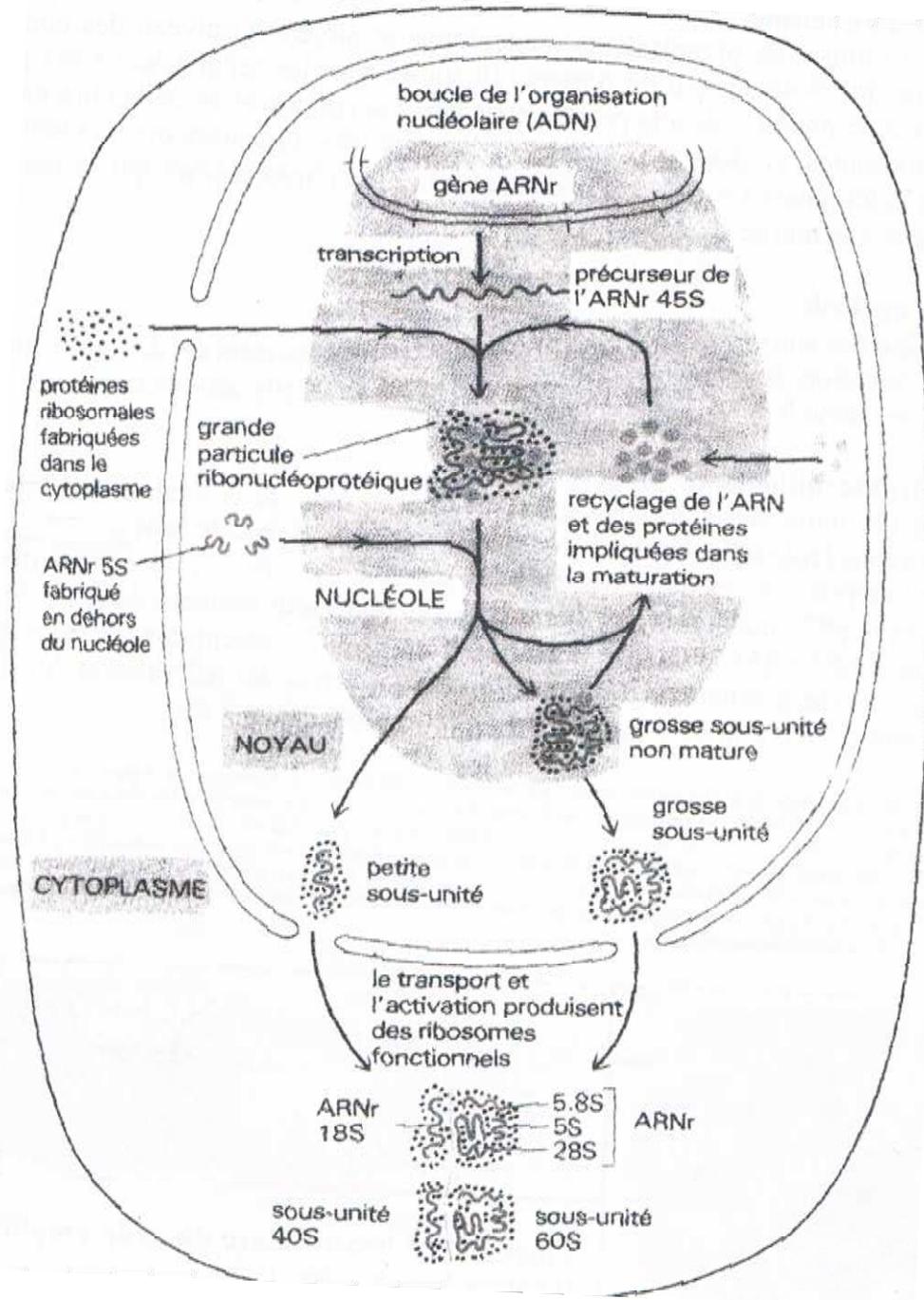


Figure 13 : Fonction du nucléole dans la synthèse des ribosomes.