

Figure 1 : Structure d'un gène ribosomique chez les Vertébrés. T : site de terminaison de l'ARN primaire ; ORF : origine de réplication ; P_i : promoteur de l'intercalaire ; T_i : site de terminaison du promoteur de l'intercalaire ; A : "enhancer", séquence d'activation du gène ; T_g : site de terminaison du promoteur du gène ; UCE : "upstream core element", élément en amont du promoteur du gène ; Core : élément principal du promoteur du gène.

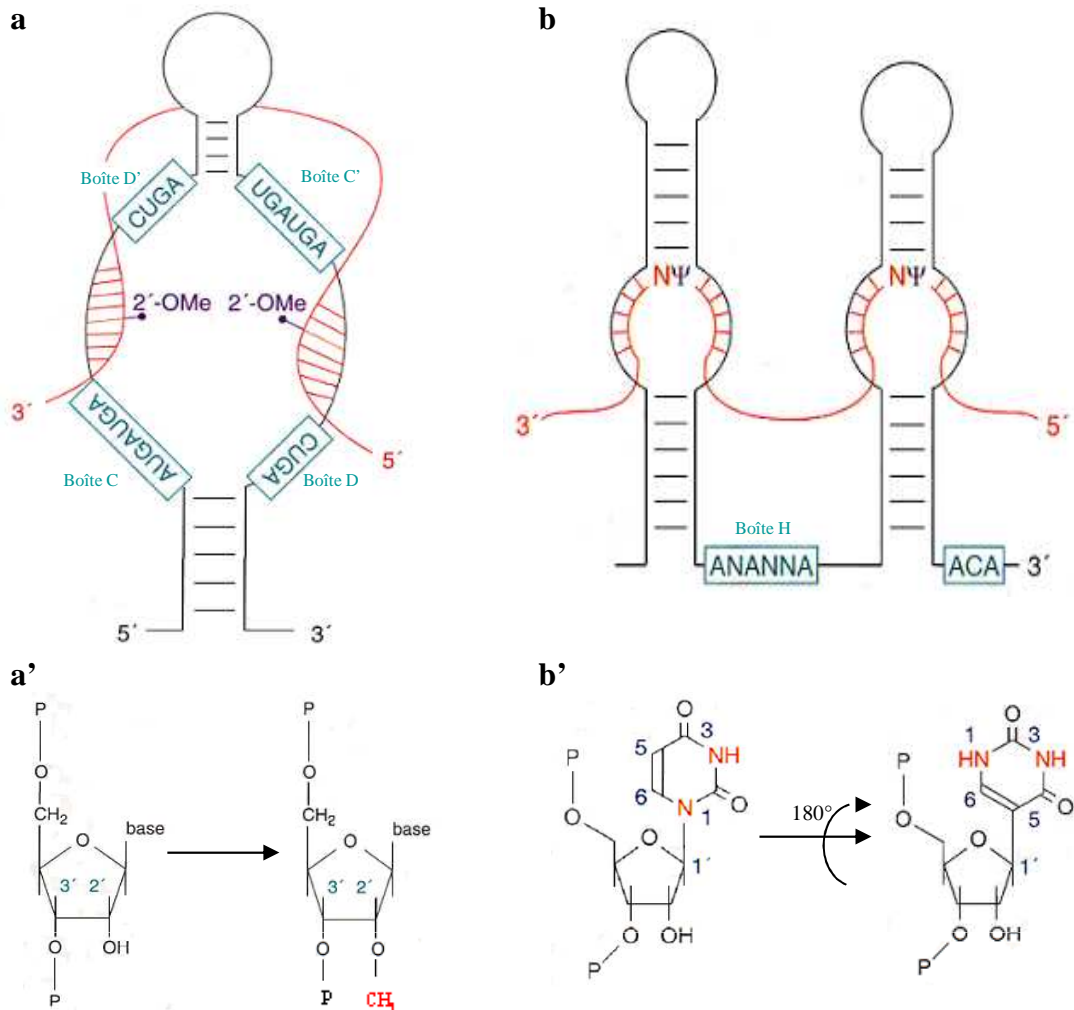


Figure 6 : Structures typiques des snoARN responsables des modifications des nucléotides [original de Lafontaine et Tollervy (1998) modifié]. a. Les hybrides entre les boîtes C+D des snoARN et le préARN ribosomique aux sites de méthylation de l'hydroxyle du carbone 2' du ribose sont quasi semblables. L'appariement entre chaque boîte C+D et/ou C'+D' et le préARN ribosomique engendre une structure conservée avec la boîte D ou l'élément D', située à cinq paires de bases du site de méthylation. Dans ce cas, les bases appariées couvrent les dix à vingt nucléotides suivant le site de méthylation. L'hybridation ne concernant pas la fonction de l'hydroxyle du ribose à ce niveau, celle-ci reste réactionnelle. Un composant snoRNP- protéine de la boîte D prend une place déterminée au site de liaison en respectant le site de la méthylation. L'information de la position est supposée venir de la méthylase qui cible la fonction de l'hydroxyle à modifier. a'. Méthylation d'une partie du ribose. b. Les structures des hybrides des boîtes H+ACA et du préARN ribosomique aux sites de formation pseudo(Ψ) paraissent identiques. Les séquences de part et d'autre du site de modification sont, par leur association avec le préARN ribosomique, à l'origine d'une structure complexe de pseudonoeud ; la base modifiée par une rotation de l'axe N₃-C₆ devient libre de réagir avec la Ψ synthase. Les bases qui s'apparient impliquent deux courtes séquences de trois à dix nucléotides de part et d'autre de la base modifiée ; la distance entre ce site et les éléments conservés du snoARN (boîte H ou ACA) est généralement de quatorze nucléotides. b'. Création du radical Ψ par rotation d'une base.

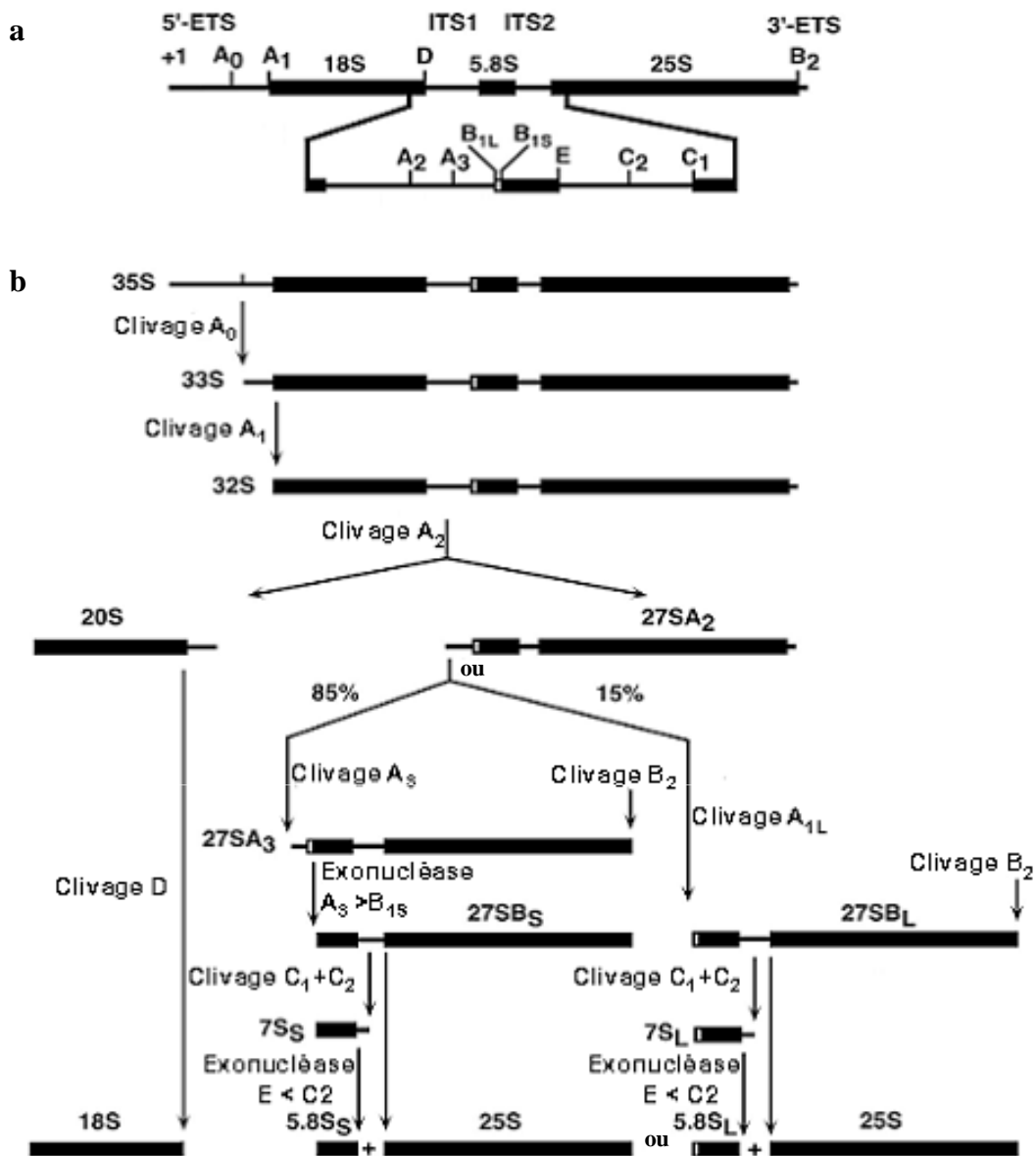


Figure 5 : Maturation de l'ARN primaire chez *Saccharomyces cerevisiae* [original de Venema et Tollervey (1995) modifié]. a. L'ARN primaire renferme les segments des ARN 18S, 5,8S et 25S ainsi que les intercalaires externes et internes ; les sites de clivage sont indiqués par des lettres capitales de A à E. b. Le préARN 35S donnera naissance après toute une série de clivages aux préARN 20S et 27SA₂ qui sont les précurseurs respectifs des composants ribonucléiques des petite et grosse sous-unités des ribosomes. Le préARN 27SA₂ suit deux voies de clivages. Au niveau des clivages A₀, A₁ et A₂, interviennent le petit ARN U3 et la protéine Nop1 (analogue de la fibrillarine chez les Mammifères). Au site de clivage A₃, agit une enzyme MRP.

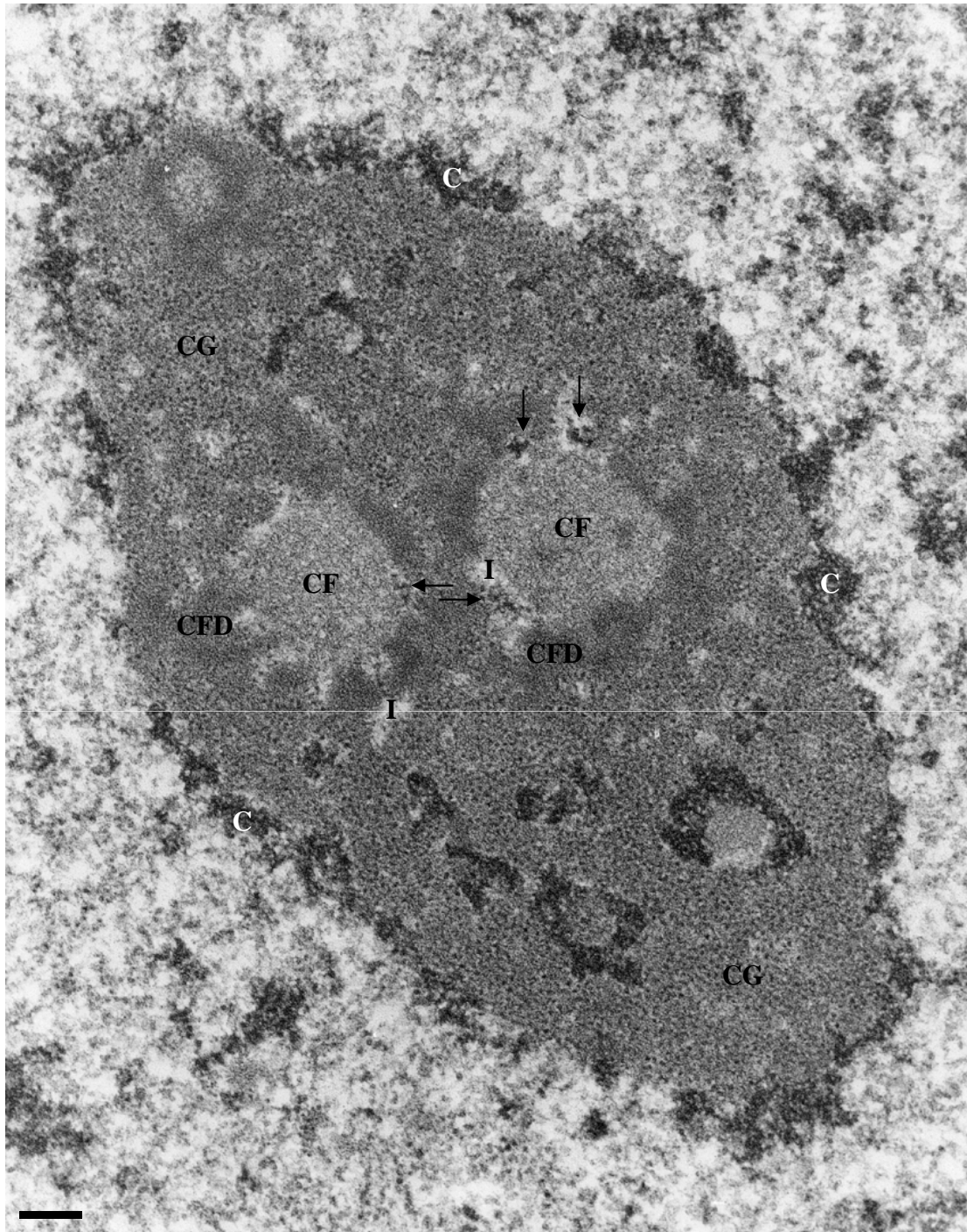
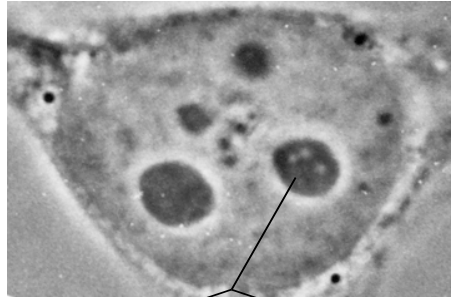


Figure 8 : Nucléole du noyau d'une cellule humaine (HEp-2) après acétylation. La distinction entre les compartiments nucléolaires est très nette : le centre fibrillaire (CF), le constituant fibrillaire dense (CFD), le constituant granulaire (CG) et les interstices (I) ; la chromatine condensée (C) est présente au sein des différents composants et vient au contact des centres fibrillaires par l'intermédiaire des interstices (flèches). La barre représente 0,2 micromètre.

Comment imaginer la juste place prise par les gènes ribosomiques si longs dans un nucléole si petit où ils sont censés tenir?

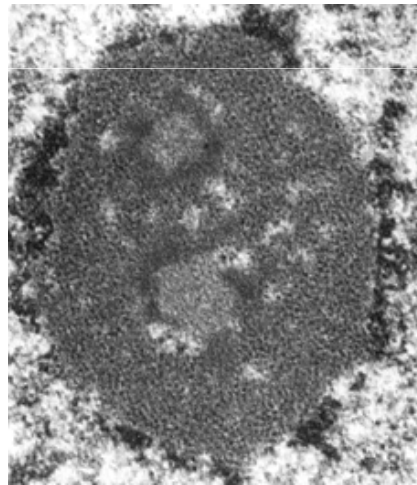
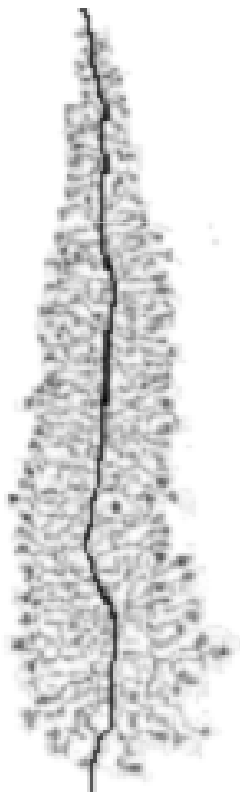
Cellule HeLa en contraste de phase



X 5

Etaiement moléculaire d'un *seul* gène ribosomique transcrit

Coupe ultrafine dans le nucléole d'une cellule HeLa



Comment concevoir les différentes étapes de la biogenèse des ribosomes et en comprendre les mécanismes profonds à travers les structures nucléolaires telles qu'elles nous apparaissent?

Ces deux interrogations nous ont guidé pour tisser la trame de notre travail.

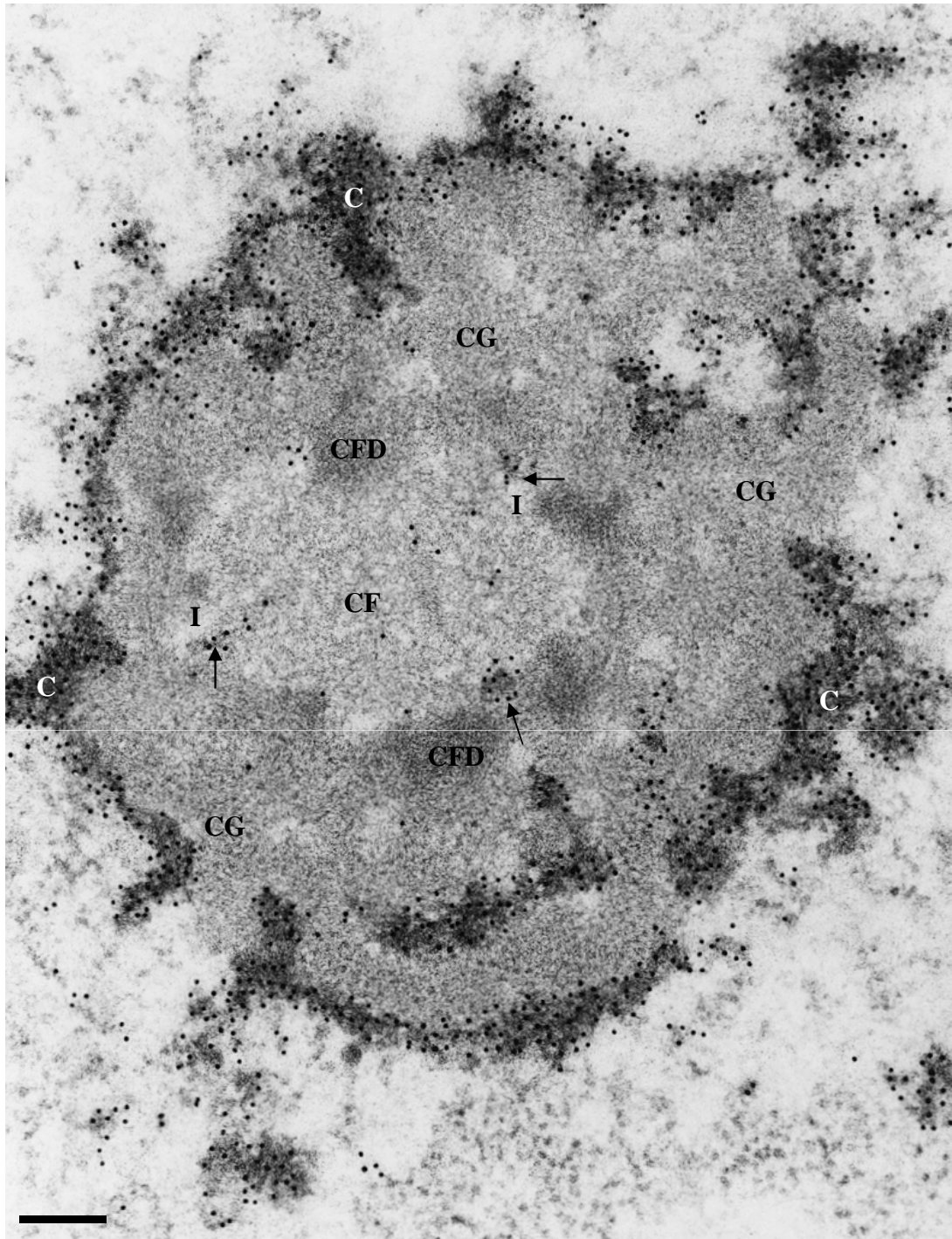


Figure 9 : Nucléole de noyau de cellule HeLa après acétylation et mise en évidence de l'ADN par la technique d'allongement des extrémités libres de l'ADN par la terminale transférase. Le dépôt de particules d'or montre la continuité entre la chromatine extranucléolaire et la chromatine intranucléolaire venant au contact du centre fibrillaire (flèches). CF : centre fibrillaire ; C : chromatine condensée ; CFD : constituant fibrillaire dense ; CG : constituant granulaire ; I : interstice. La barre représente 0,2 micromètre.

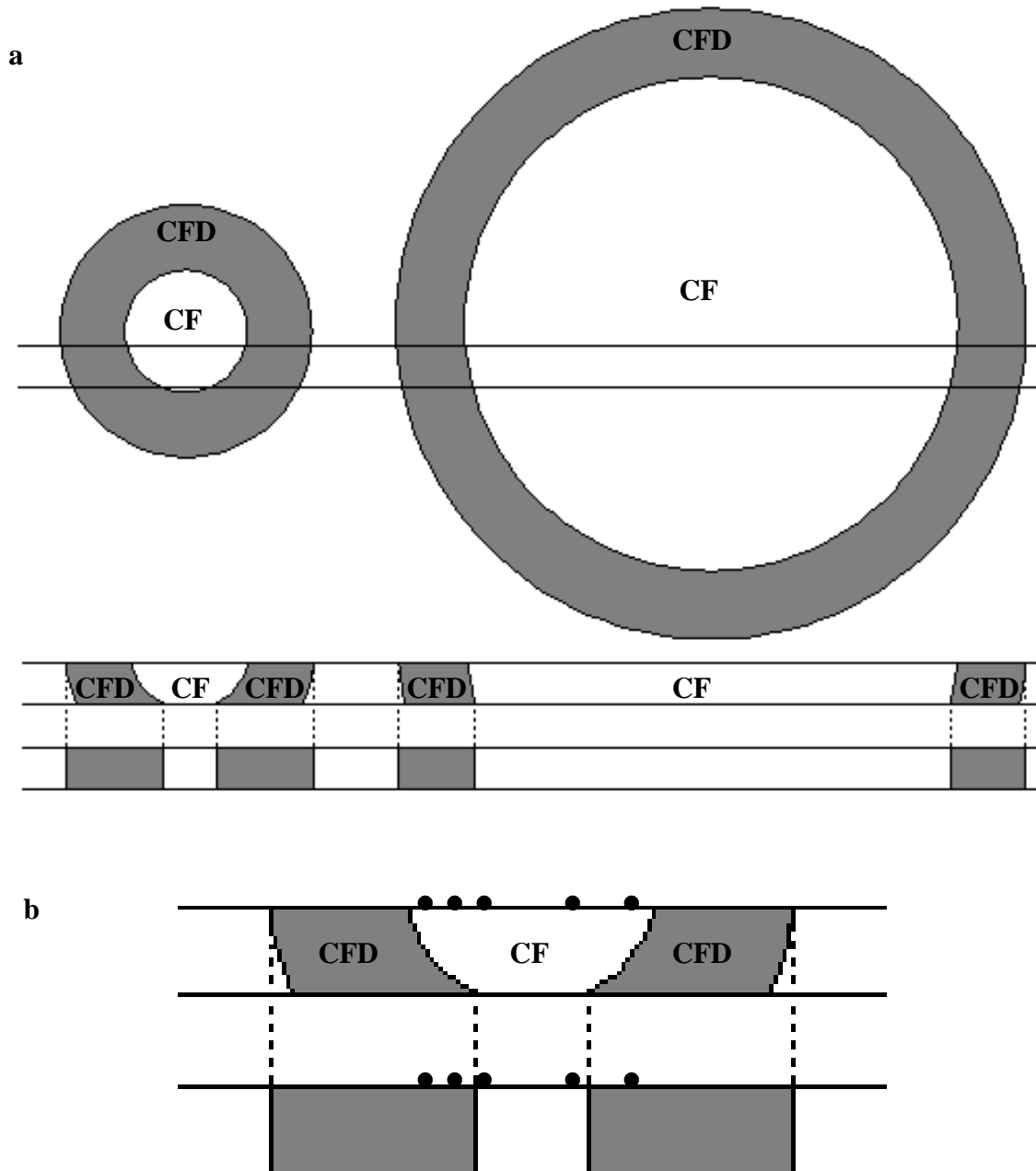


Figure 10 : Illustration de la sous-estimation de l'aire occupée par le centre fibrillaire au cœur des fibrilles denses. a. Deux centres fibrillaires (diamètres respectifs de 0,25 et 1 micromètre) sont schématisés entourés de fibrilles denses (l'épaisseur de la couronne est invariablement indépendante de la taille du centre fibrillaire qu'elle entoure) ; sur une coupe ultrafine de 0,8 micromètre confectionnée à leur niveau et contrastée classiquement, la densité électronique du constituant fibrillaire dense est beaucoup plus élevée que celle sur le centre fibrillaire ; cette constatation signifie que, à l'analyse du profil de la coupe, seule une petite partie de l'aire du petit centre fibrillaire est visible, ses bords étant masqués par le contraste des fibrilles denses sous-jacentes. Cet état de fait peut affecter la lecture de la distribution d'un immunomarquage ; sur le schéma b, seules deux des cinq particules d'or réellement présentes sur le centre fibrillaire, à la surface de la coupe, sont visibles à son niveau ; le danger d'interprétation erronée est d'autant plus grand que la structure est petite. Le rapport entre les proportions des différents éléments composant les schémas a été respecté.

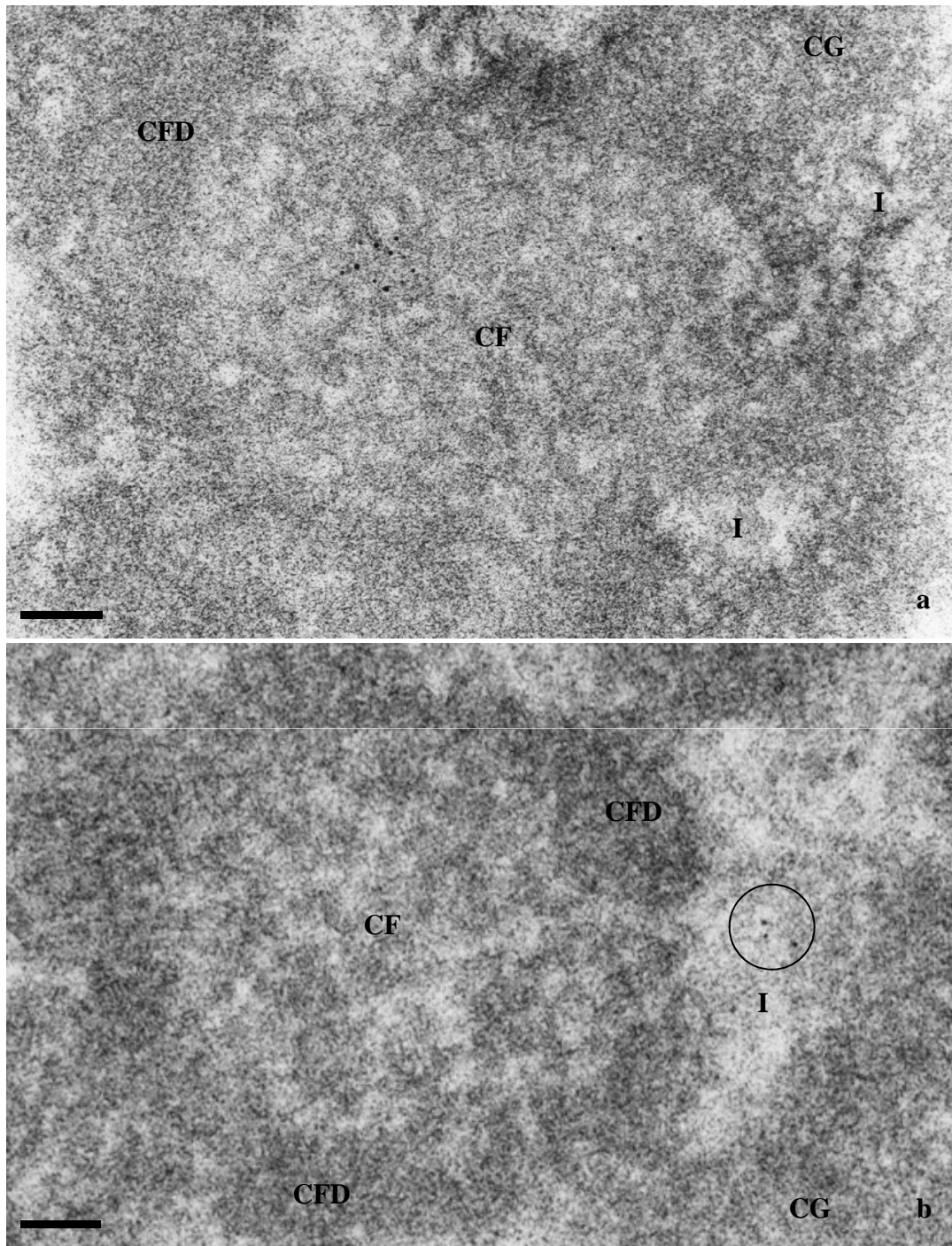


Figure 11 : Nucléole de noyau de cellule tumorale d'Ehrlich de la Souris après hybridation *in situ* d'un fragment de l'intercalaire 5' externe d'ADN ribosomique de la Souris (a). Les particules d'or sont localisées uniquement sur le centre fibrillaire. Après hybridation *in situ* d'un fragment de l'intercalaire intergénique (b), seuls les interstices supportent des particules d'or (cercle). CF : centre fibrillaire ; CFD : constituant fibrillaire dense ; CG : constituant granulaire ; I : interstice. Les barres représentent 0,1 micromètre.

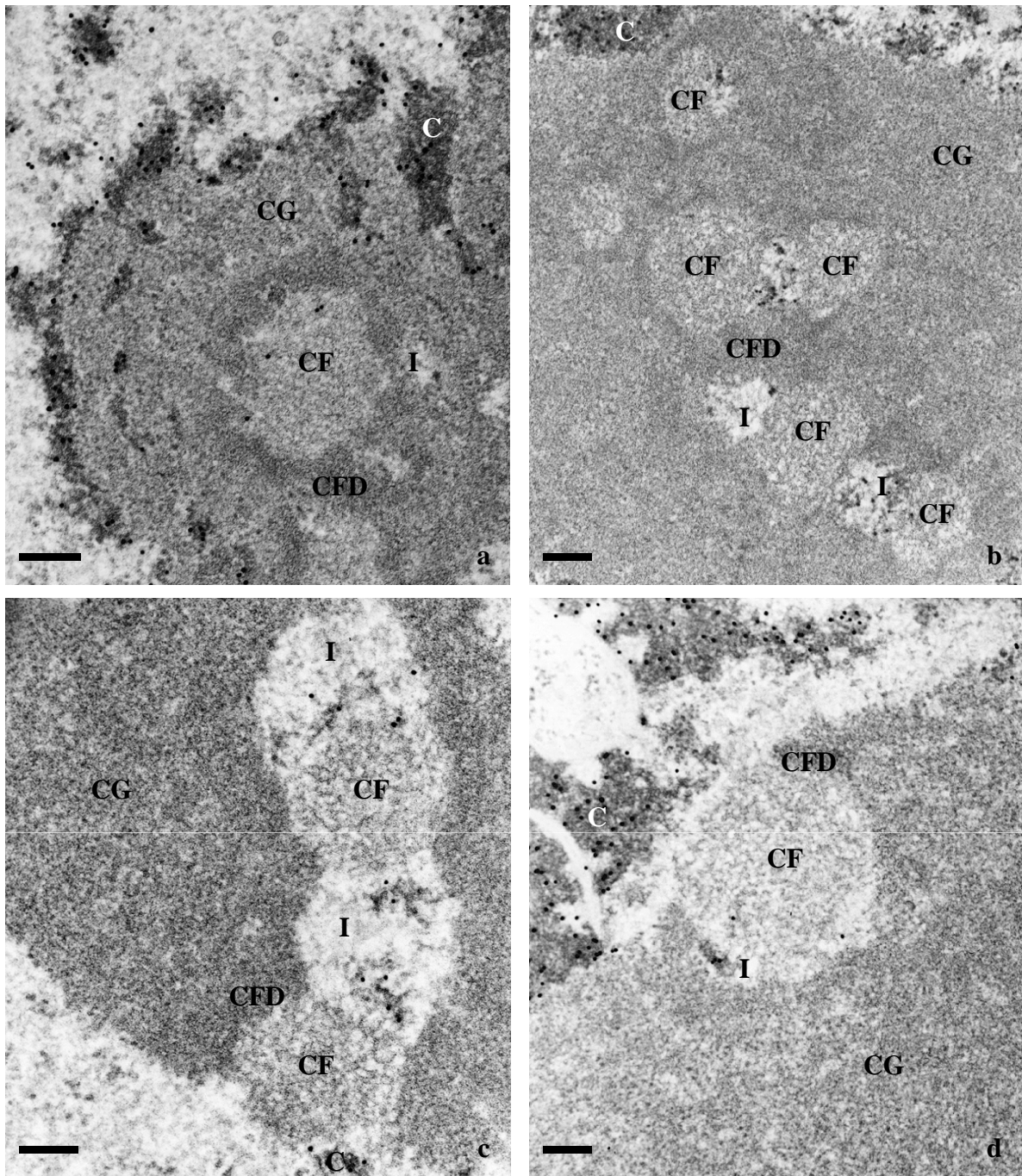


Figure 12 : Exemples de stades de l'installation de la ségrégation dans des nucléoles de noyaux de cellules tumorales d'Ehrlich de la Souris soumises à l'action de 6,5 µg/ml de tubercidine. Sur cette microphotographie, l'ADN a été mis en évidence grâce à la technique d'allongement des extrémités libres de l'ADN par la terminale transférase. a. Nucléole témoin. b. Après une heure de traitement, l'ADN intranucléolaire devient plus évident dans les interstices concomitamment au rassemblement des centres fibrillaires et à l'élargissement des interstices. c. Après trois heures de traitement, les centres fibrillaires s'organisent en trains qui migrent vers l'extérieur du nucléole ; la chromatine condensée, présente dans les interstices, maintient son contact direct avec les centres fibrillaires. d. Après quatre heures de traitement, les centres fibrillaires tendent à fusionner et à gagner la périphérie du nucléole. CF : centre fibrillaire ; C : chromatine condensée ; CFD : constituant fibrillaire dense ; CG : constituant granulaire ; I : interstice. Les barres représentent 0,2 micromètre.

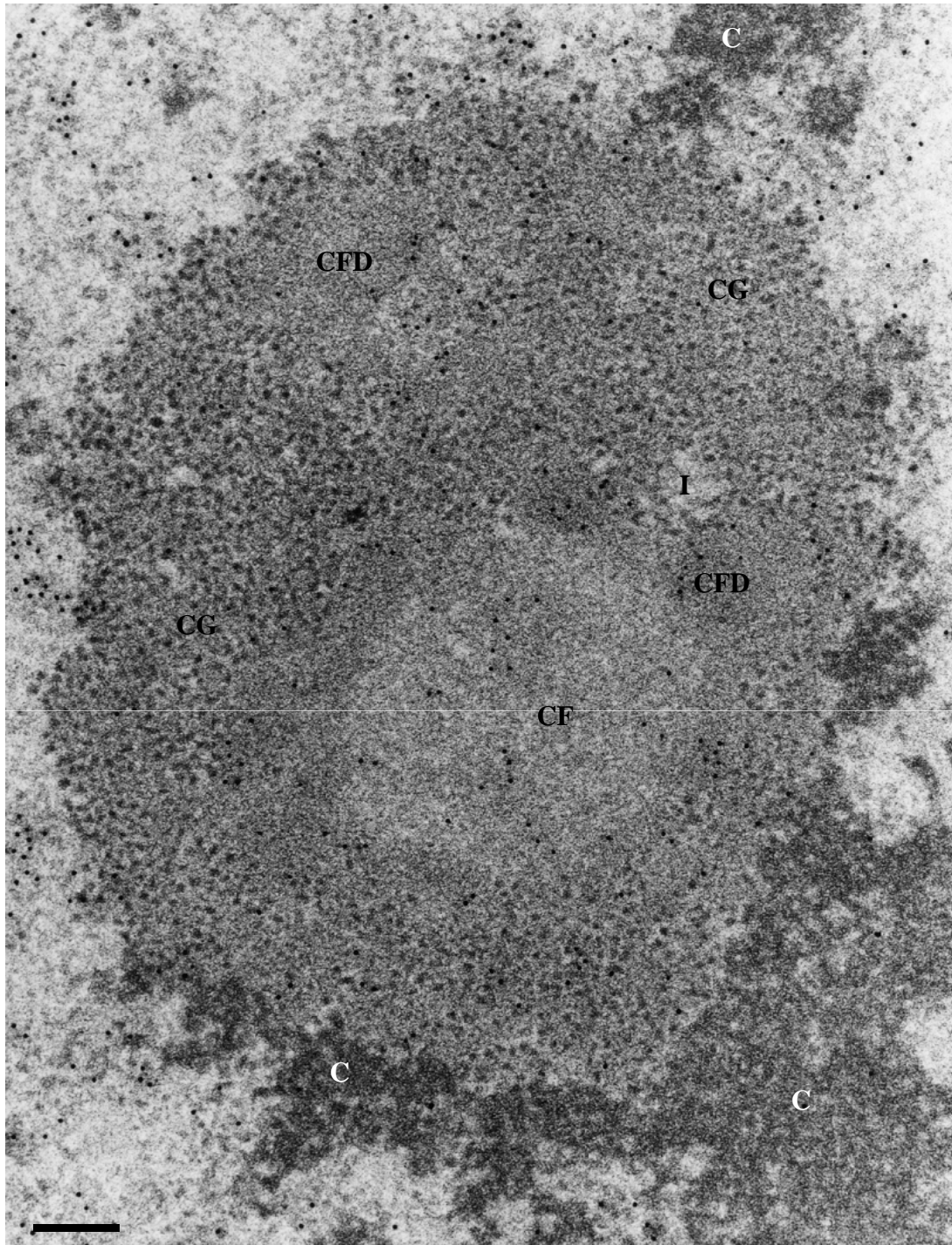


Figure 13 : Mise en évidence de l'ARN par la technique d'allongement des ARN par une transférase spécifique dans le nucléole du noyau d'une cellule tumorale d'Ehrlich de la Souris. Les particules d'or se répartissent sur les différents constituants nucléolaires à l'exception de la chromatine. CF : centre fibrillaire ; CFD : constituant fibrillaire dense ; CG : constituant granulaire ; I : interstice ; C : chromatine condensée. La barre représente 0,2 micromètre.

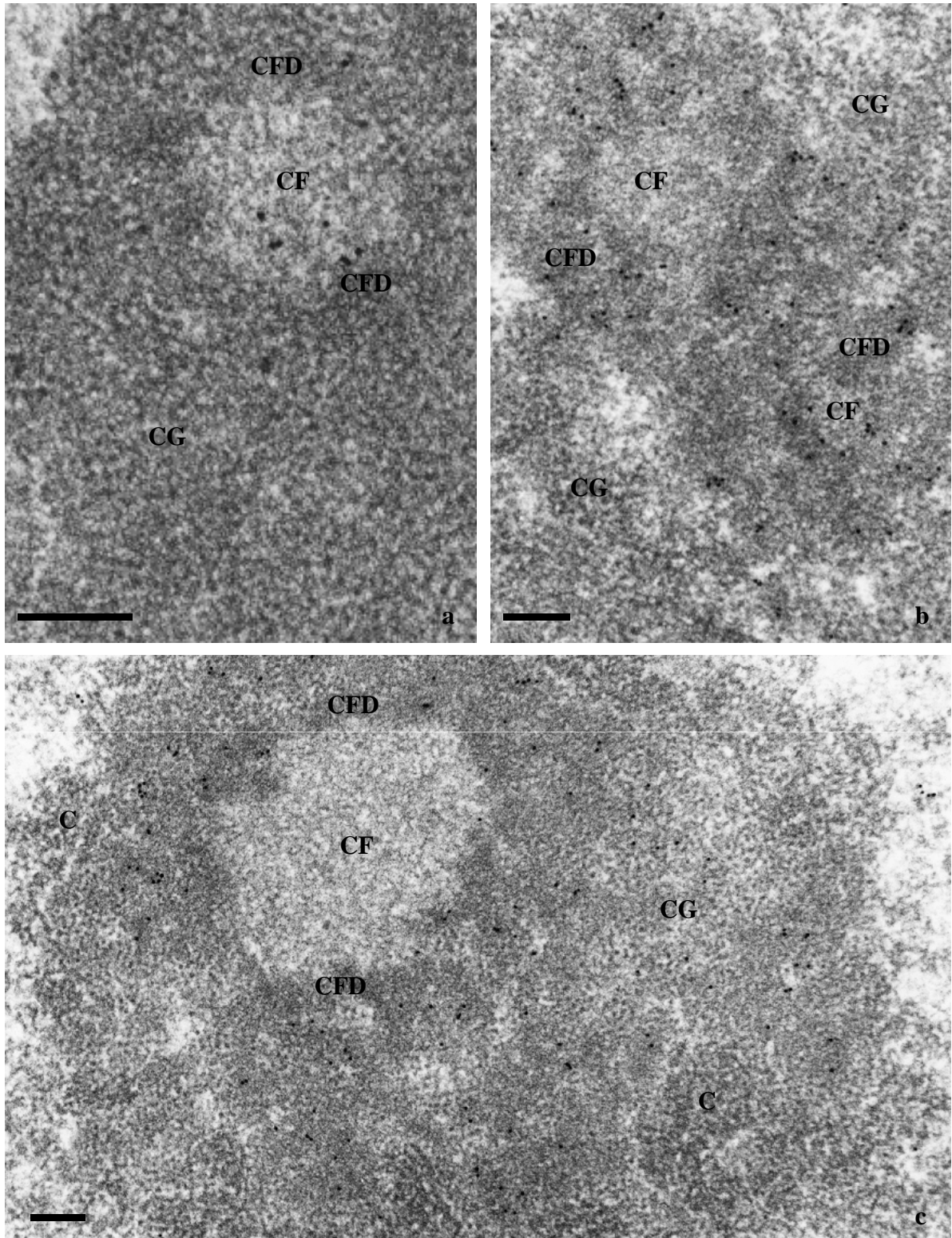


Figure 14 : Illustrations de l'intégration, *in vivo*, du bromouridine triphosphate dans la cellule HeLa après un temps fixe de transfection par le fugène, mais à différents temps de remise en culture. Les premiers sites d'incorporation sont le centre fibrillaire et les fibrilles denses (a) ; ensuite le constituant fibrillaire dense est envahi (b) puis le marquage irradie dans le constituant granulaire (c). CF : centre fibrillaire ; CFD : constituant fibrillaire dense ; CG : constituant granulaire; C : chromatine condensée. Les barres représentent 0,2 micromètre.



Figure 17 : Disposition conceptuelle des gènes ribosomiques au niveau d'un NOR pendant la mitose. Sur la droite du schéma, le matériel argyrophile (en blanc) du NOR a été évidé en son centre laissant voir l'organisation adoptée par trois gènes ribosomiques (en rouge) : les zones à transcrire, flanquées de leurs séquences de régulation, s'élongent dans la région corticale du NOR sous forme de boucles émanant de l'axe de la constriction, épousent les limites extérieures du matériel argyrophile puis regagnent la constriction. Au centre du schéma dans la partie étranglée de la chromatide, la plus grande partie des régions intergéniques des trois gènes ribosomiques se condensent et s'entremêlent à la chromatine condensée (en noir), incluant les gènes inactifs.

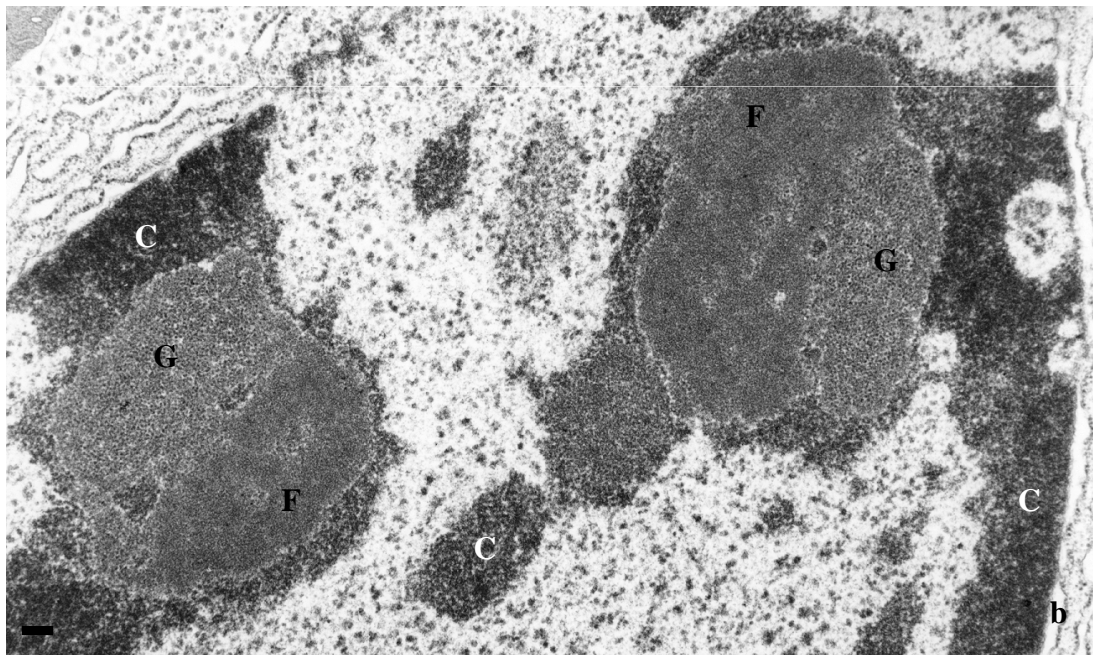
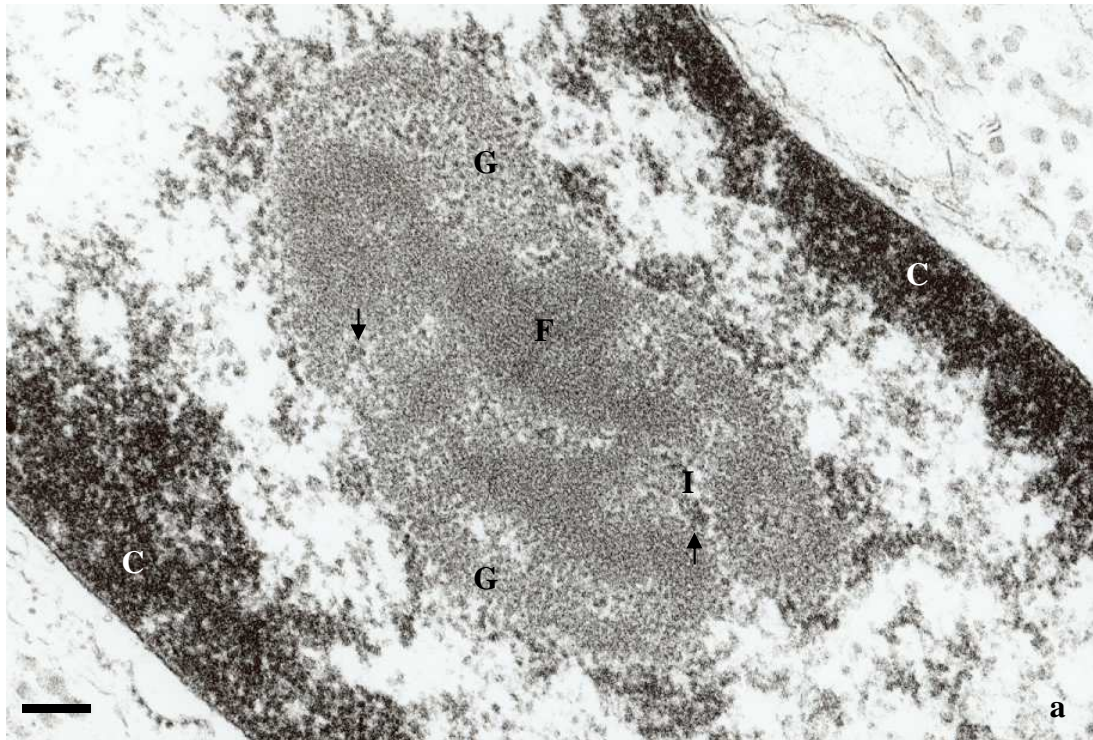


Figure 18 : a. Nucléole du noyau d'une cellule folliculaire d'un *Pleurodèle waltii*. Dans le nucléole, les cordons de fibrilles alternent avec les cordons de granules ; quelques mottes de chromatine condensée (flèches) sont intranucléolaires. b. Nucléole du noyau d'une cellule du foie d'un *Pleurodèle waltii*. Les composants nucléolaires restent au nombre de deux mais sont répartis différemment de l'exemple cellulaire précédent ; de la chromatine condensée est présente dans des interstices. F : zone fibrillaire ; G : zone granulaire ; C : chromatine condensée ; I : interstice. Les barres représentent 0,2 micromètre.

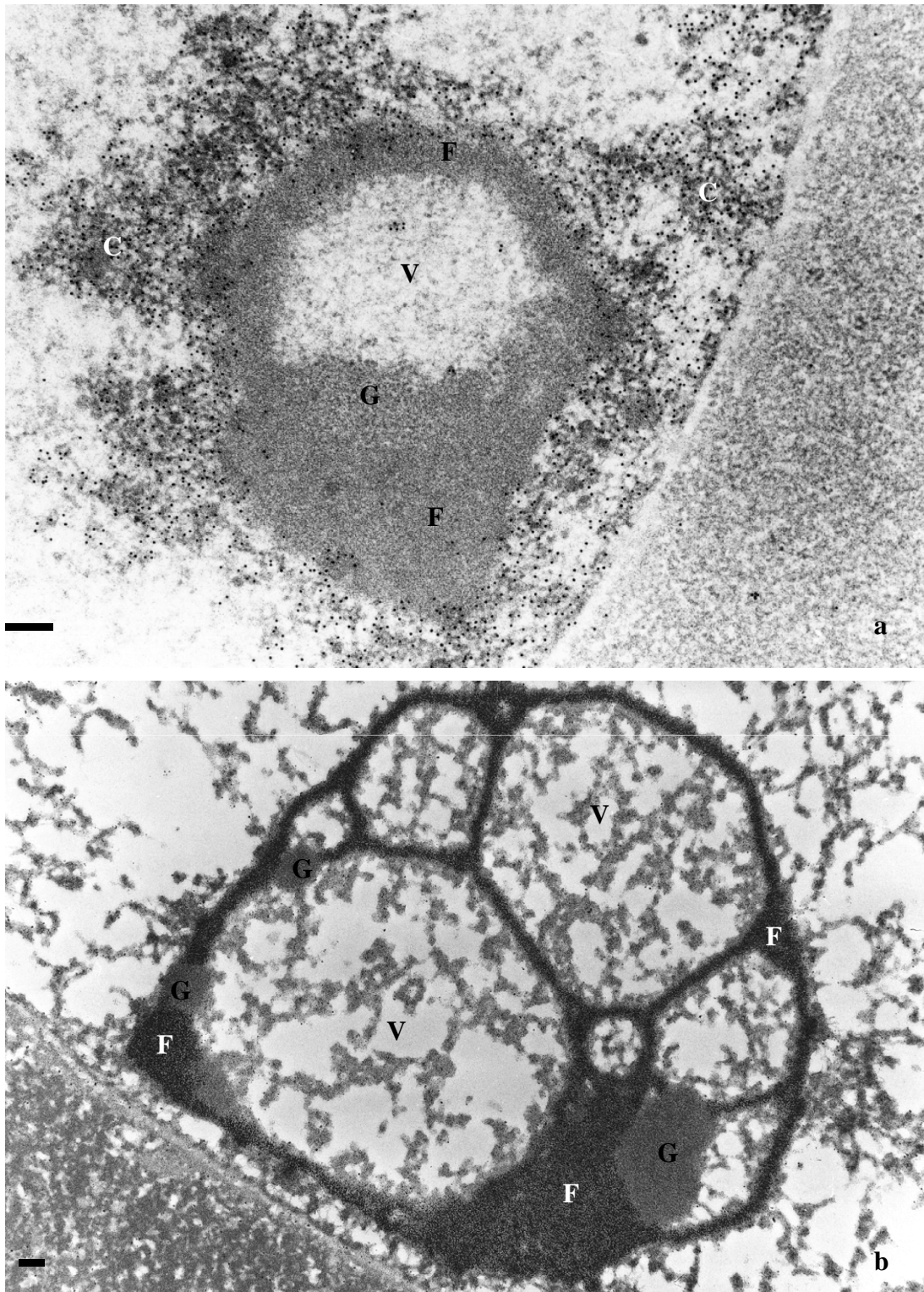


Figure 19 : a. Mise en évidence de l'ADN par la technique de l'allongement des extrémités libres de l'ADN par une transférase spécifique dans un nucléole extrachromosomique du noyau d'un ovocyte de Barbeau au cours du stade de prévitellogénèse. b. Même matériel que en a après imprégnation à l'argent. Le dépôt d'argent est uniforme et ne concerne que la zone fibrillaire. F : zone fibrillaire ; G : zone granulaire ; C : chromatine condensée ; V : vacuole. Les barres représentent 0,2 micromètre.

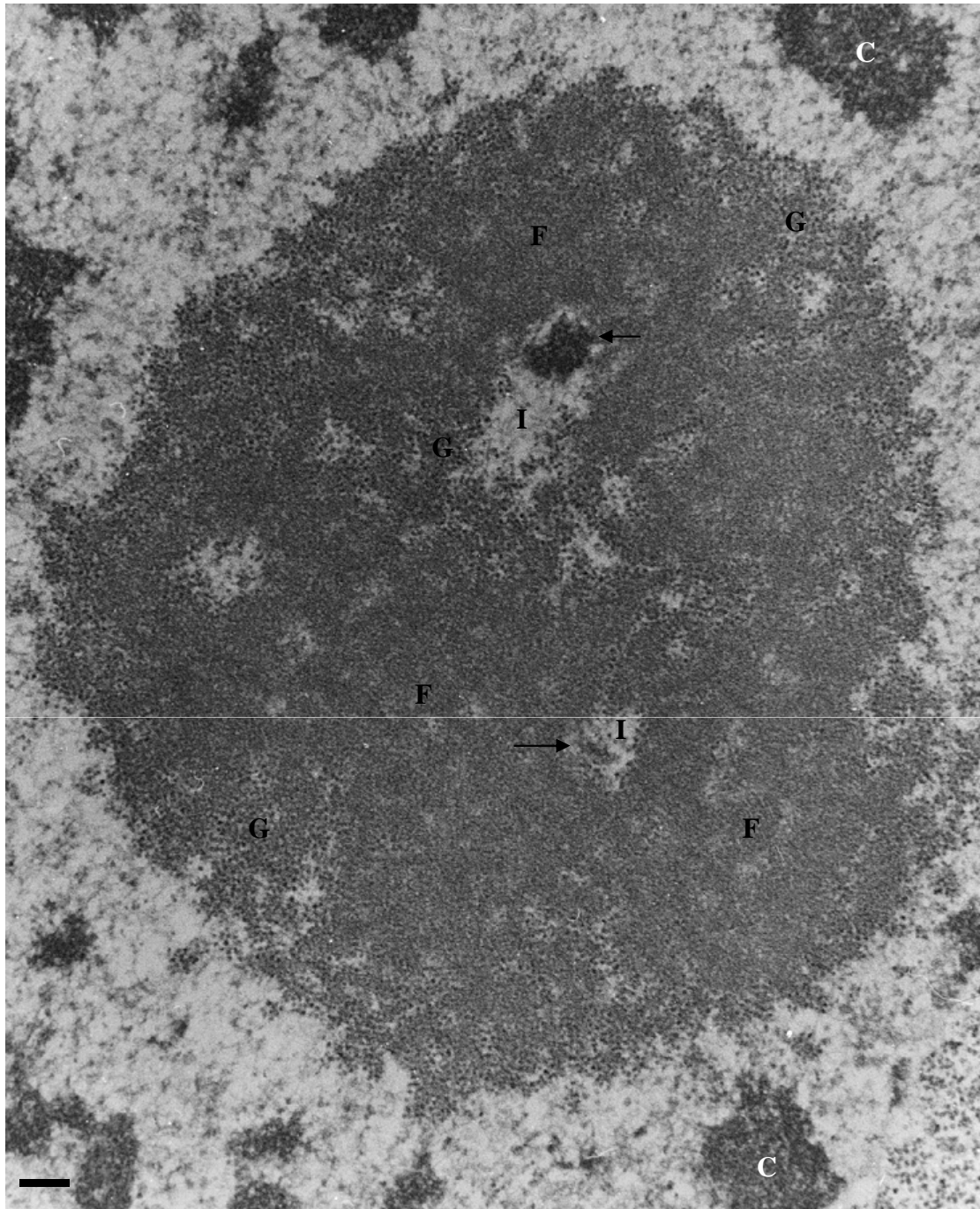


Figure 20 : Nucléole de noyau de cellule méristématique de bourgeon cotylédonnaire de *Pisum sativum* après 24 heures d'activation ; des mottes de chromatine condensée plus ou moins importantes (flèches) sont présentes dans les interstices. F : zone fibrillaire ; G : zone granulaire ; C : chromatine condensée ; I : interstice. La barre représente 0,2 micromètre.

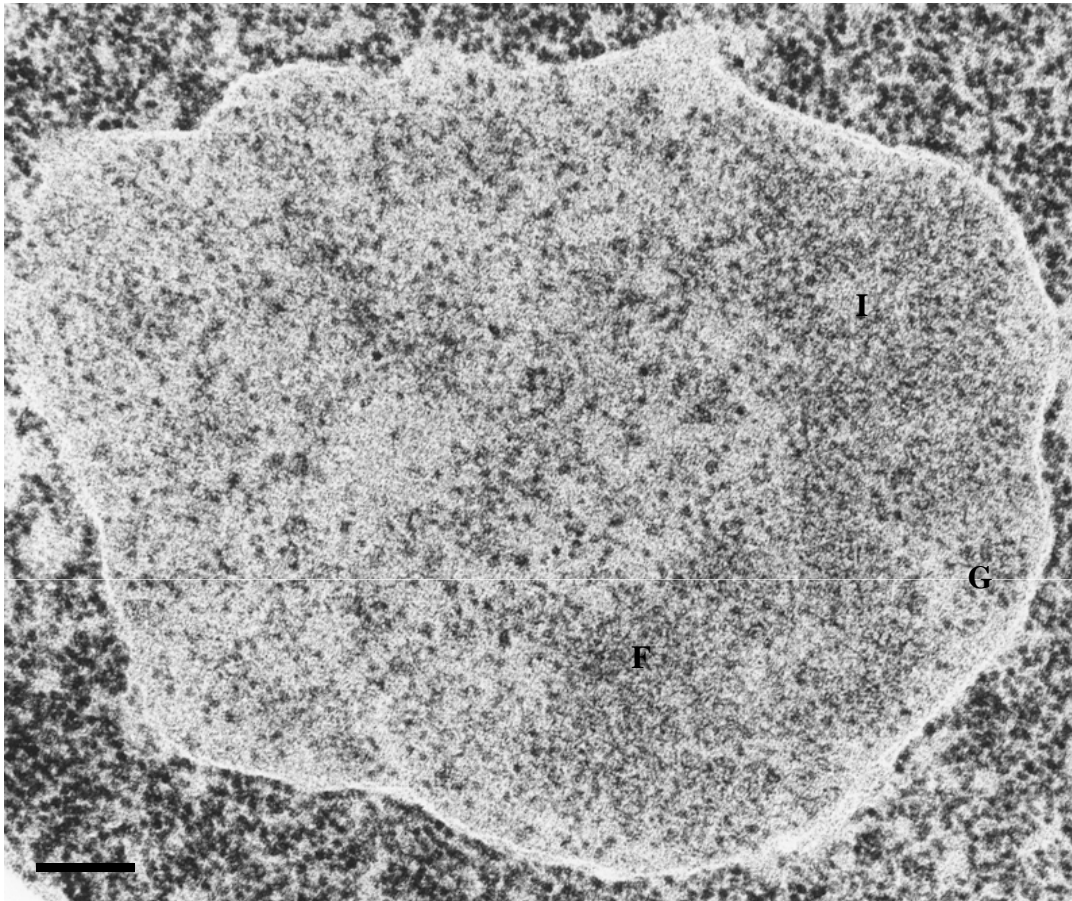


Figure 21 : Noyau d'une souche YDL527-1 de *Saccharomyces cerevisiae* cultivée en milieu nutritif complet. Le nucléole en croissant est accolé à la paroi et est constitué de deux composants bien distincts ; aucune motte de chromatine condensée n'est apparente dans le nucléole, ni dans le noyau. F : zone fibrillaire ; G : zone granulaire ; I : interstice. La barre représente 0,2 micromètre.