

50316
1972
119-2
N° d'ordre : 256

50376
1972
119-2

UNIVERSITÉ DES SCIENCES ET TECHNIQUES DE LILLE

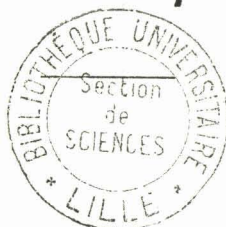
MÉMOIRE

présenté à l'Université des Sciences et Techniques de Lille
pour l'obtention du grade de
DOCTEUR ÈS SCIENCES NATURELLES

par

Edmond PUVION

Recherches ultrastructurales sur les protéines basiques nucléaires de la cellule hépatique de rat et sur la diffusion libre de particules ribonucléoprotéiques à partir des noyaux isolés



PRÉSENTÉ LE 26 AVRIL 1972 DEVANT LA COMMISSION D'EXAMEN

- MM. M. DURCHON, Président
- E. VIVIER, Rapporteur
- J. MONTREUIL, Examineur
- W. BERNHARD, Membre invité

ANNEXE
PLANCHES

PLANCHE 1

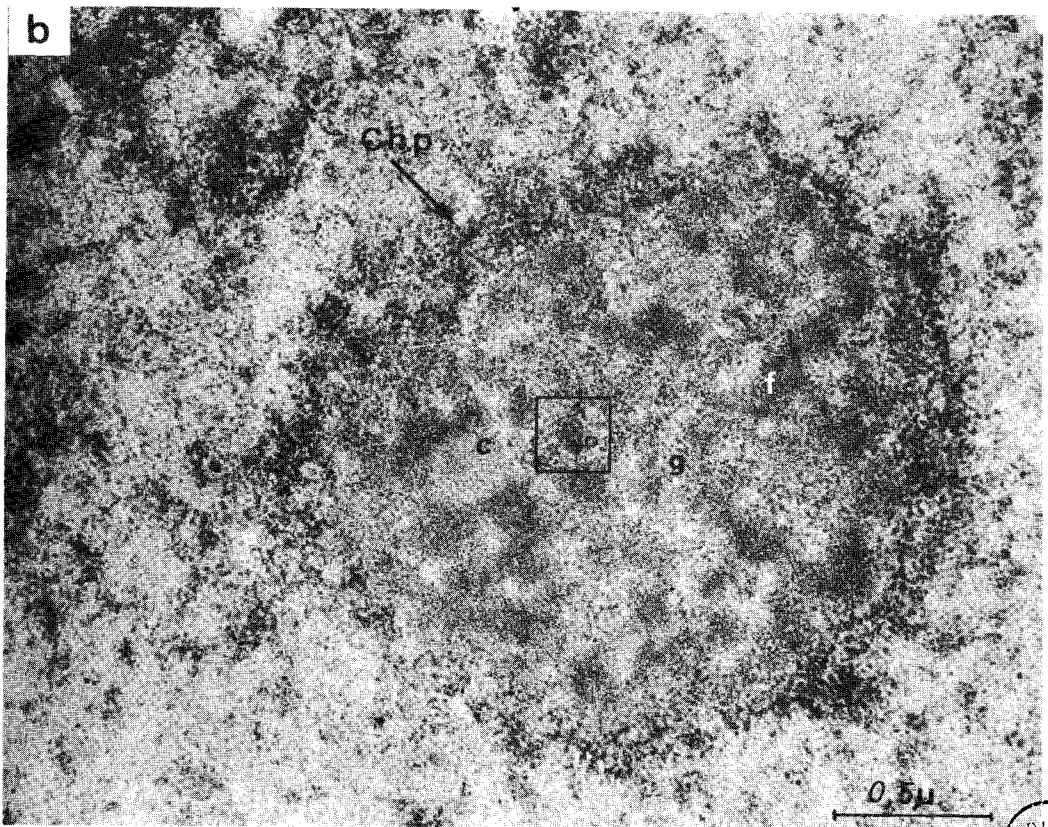
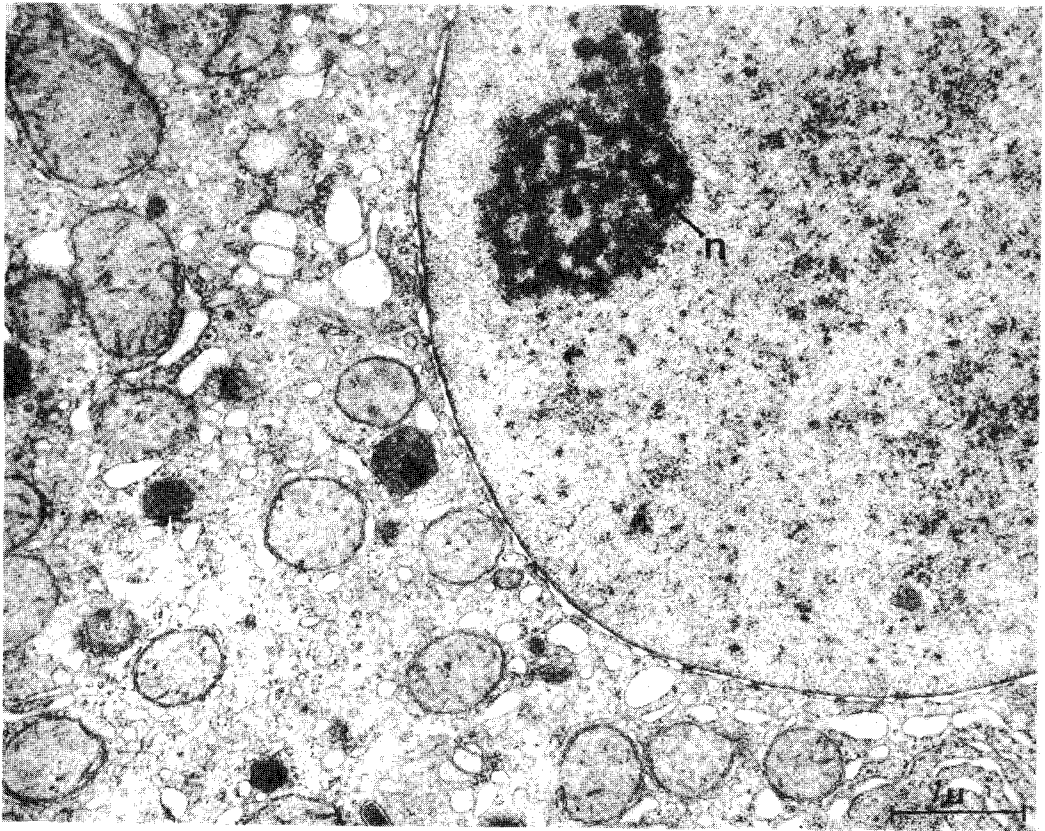
Morphologie du nucléole de la cellule hépatique de Rat,
après application des techniques classiques.

Fig. a - Cellule hépatique de Rat fixée à l'acide osmique.
Coloration à l'acétate d'uranyle et au citrate
de plomb. Le réseau nucléolaire est bien révélé.
La chromatine périnucléolaire n'est pas révélée.

x 16 000

Fig. b - Nucléole de cellule hépatique de Rat. Double
fixation (glutaraldehyde - acide osmique).
Double coloration (acétate d'uranyle - citrate
de plomb). Révélation de la chromatine périnu-
cléolaire (Ch. p.) et d'un amas de chromatine
intranucléolaire (encadré). Les deux types de
ribonucléoprotéines : fibrillaires (f) et
granulaires (g) constituent, avec la matrice
amorphe, le réseau dans les anses duquel
apparaît parfois un constituant moins dense :
le centre fibrillaire (c).

x 40 000



BUS
LILLE

PLANCHE 2

Cytochimie du nucléole de la cellule hépatique de Rat :
Action de la RNase.

Fig. a - Nucléole (Nu) de cellule hépatique de Rat après double fixation et coloration au citrate de plomb.
Les ribonucléoprotéines granulaires (g) et fibrillaires (f) sont bien révélées.

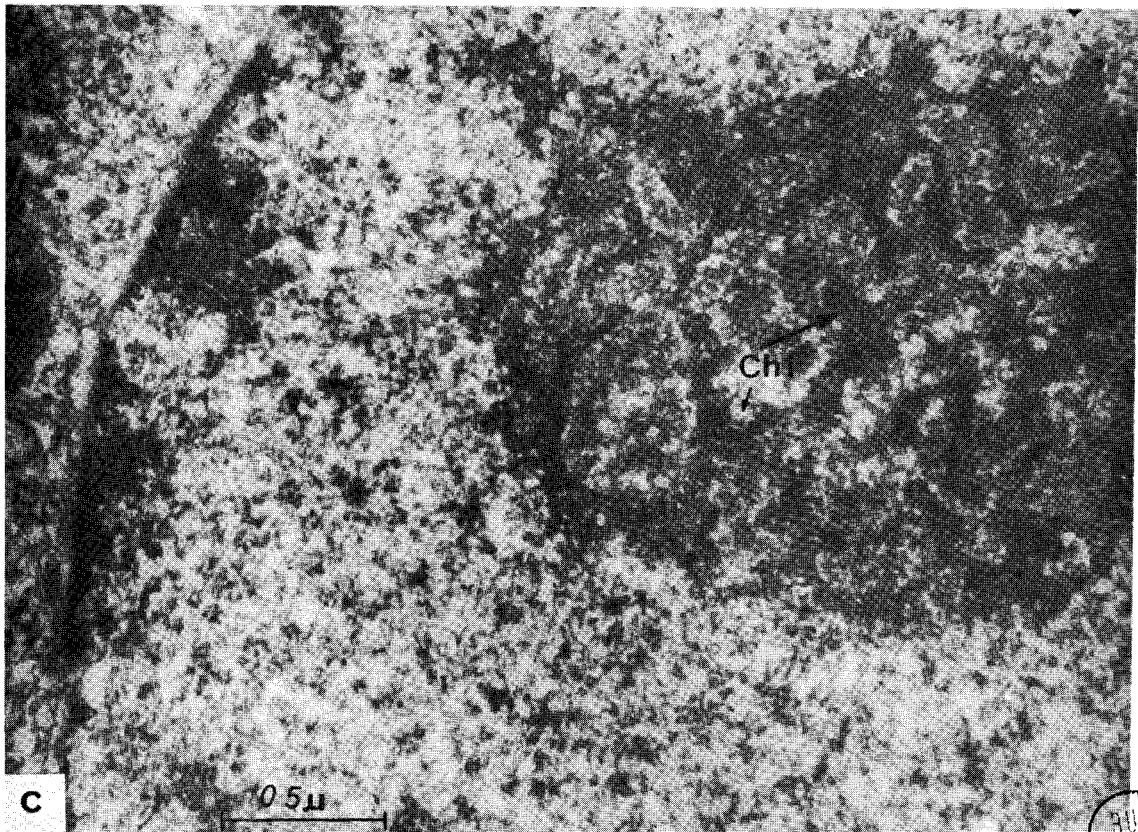
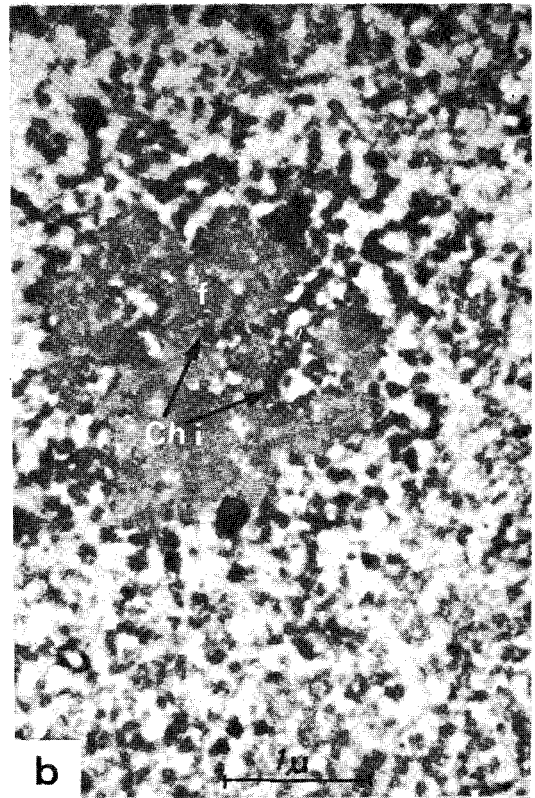
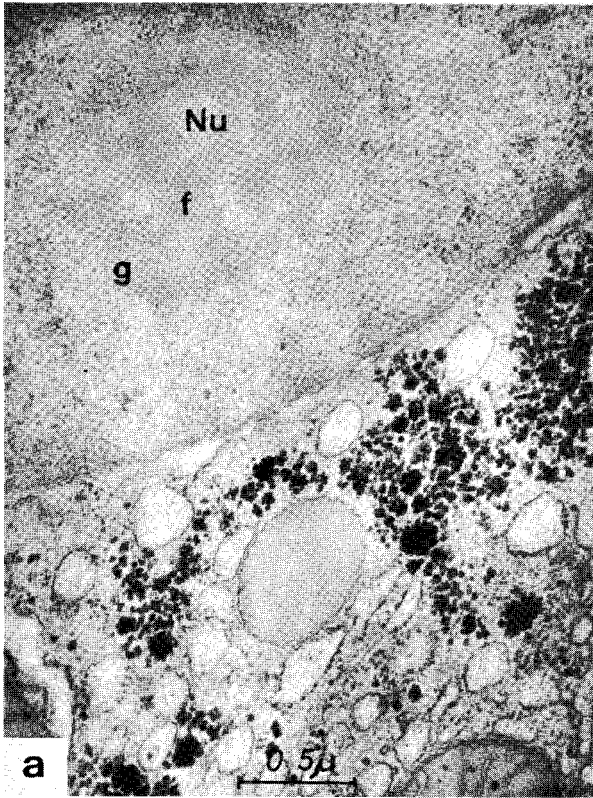
x 30 000

Fig. b - Nucléole digéré à la RNase (digestion sur coupe après inclusion dans le G.M.A.). La chromatine intranucléolaire (Ch. i.), issue de la chromatine périnucléolaire, se localise en bordure des travées du réseau (f).
Fixation glutaraldehyde. Coloration acétate d'uranyle.

x 20 000

Fig. c - Nucléole après digestion à la RNase (digestion sur coupes effectuées au cryostat). Le réseau de chromatine intranucléolaire (Ch. i.) est révélé. Fixation glutaraldehyde, double coloration acétate d'uranyle et citrate de plomb.

x 44 000



BUS
LILLE

PLANCHE 3

Morphologie des noyaux isolés.

Fig. a - Fraction de noyaux isolés (après traitement au Triton X 100). Coupe semi-fine colorée au bleu de méthylène et au bleu azur II.

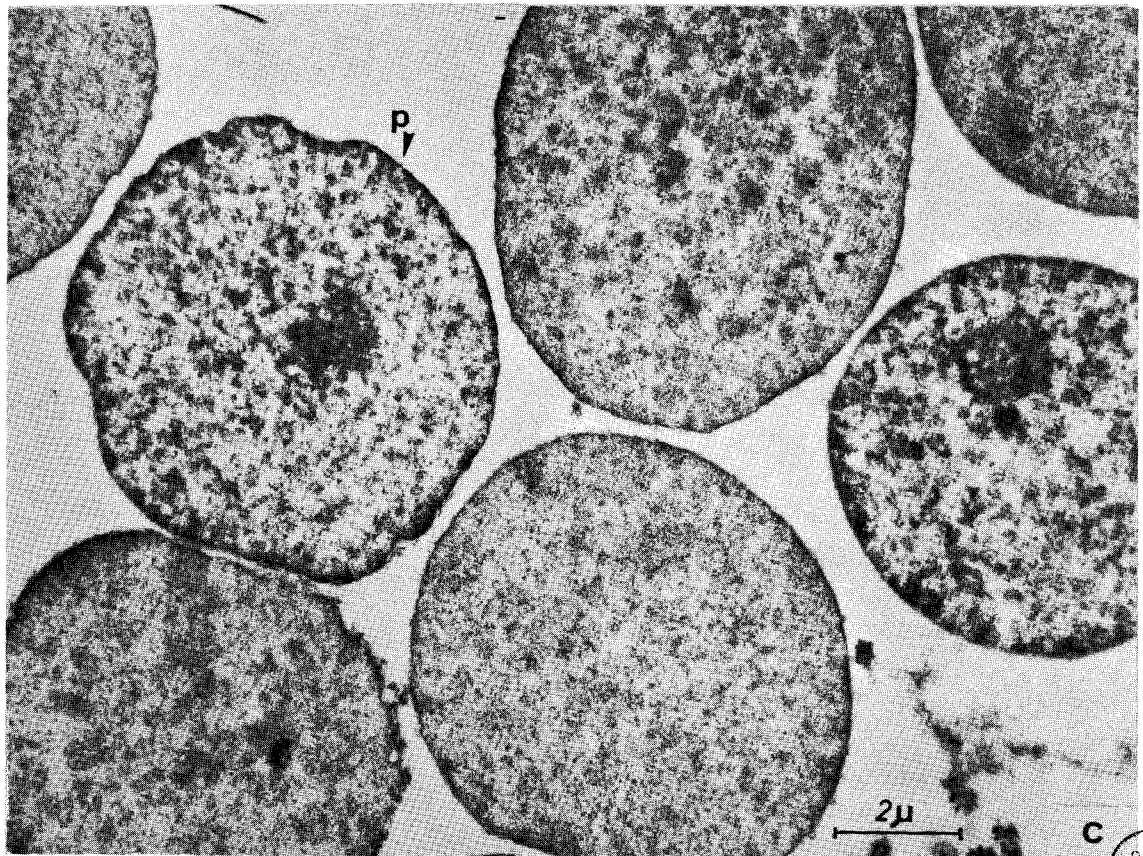
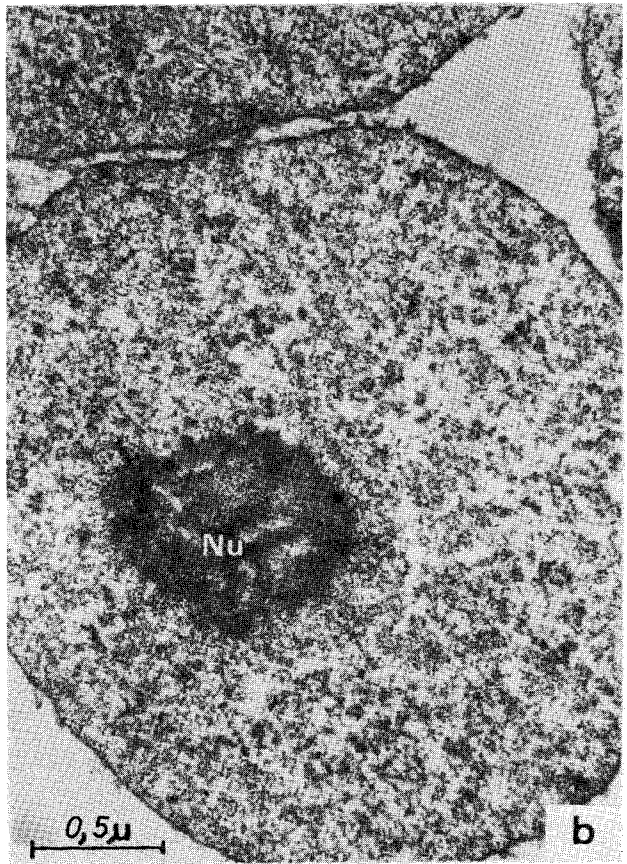
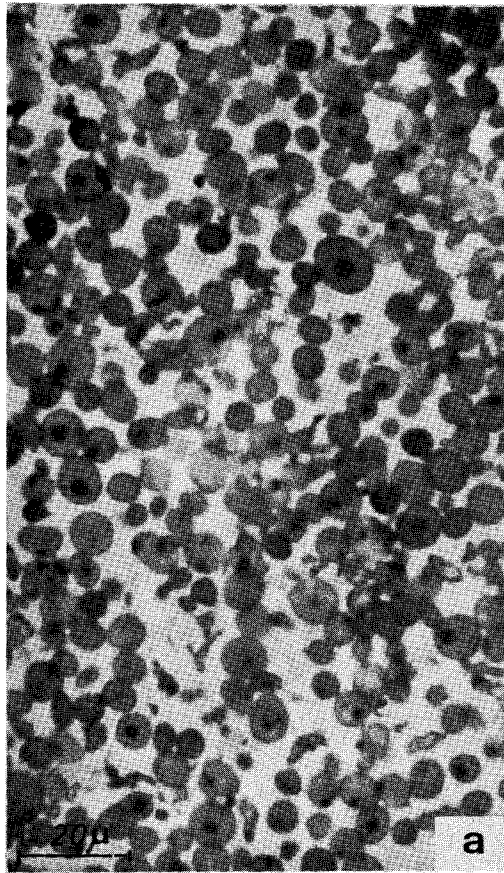
x 700

Fig. b - Noyau isolé. Le Triton X 100 a enlevé la membrane externe de l'enveloppe nucléaire. La morphologie du nucléole (Nu) est normale. Double fixation (glutaraldehyde - acide osmique). Double coloration (acétate d'uranyle et citrate de plomb).

x 32 000

Fig. c - Fraction de noyaux isolés. Les noyaux ont été traités au Triton X 100. Les pores nucléaires (p) sont facilement repérables. Certains noyaux présentent un nucléoplasme plus homogène. Les contaminants cytoplasmiques sont réduits. Mêmes techniques de fixation et de coloration que celles de la Fig. b.

x 8 000



BUS
LILLE

PLANCHE 4

Fractions de nucléoles isolés.

Fig. a et Fig. c - Coupes semi-fines des fractions de nucléoles isolés. Coloration bleu de méthylène et bleu azur II.

Fig. a x 700

Fig. c x 2 800

Fig. b - Frottis de nucléoles isolés coloré au vert de méthyl-pyronine. La chromatine périnucléolaire colorée en vert (flèche) forme un anneau autour du corps nucléolaire.

x 700

Fig. d - Fraction de nucléoles isolés observée au microscope électronique. La fraction est pure et ne présente que très peu de contamination. Double fixation (glutaraldehyde - acide osmique). Double coloration (acétate d'uranyle - citrate de plomb).

x 6 400

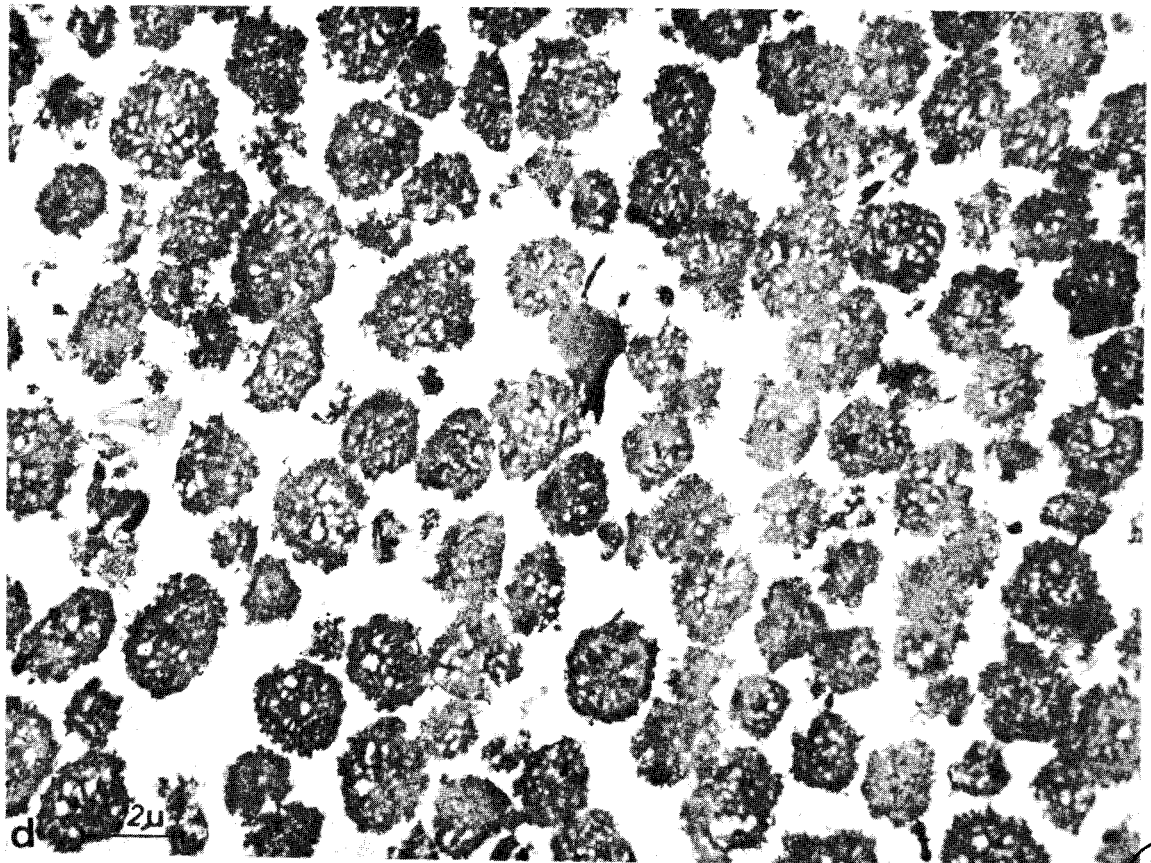
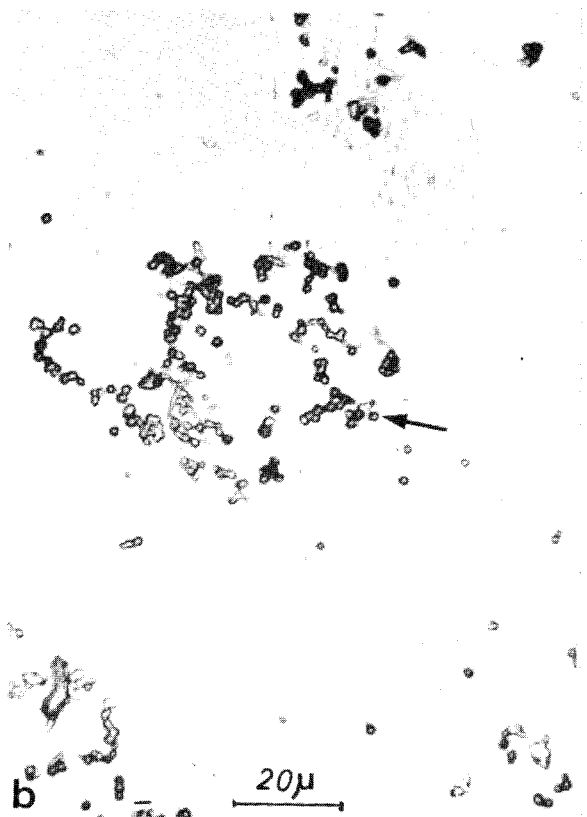
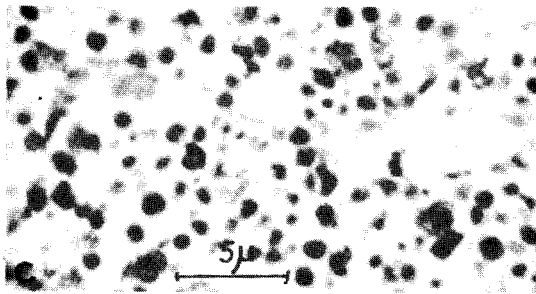
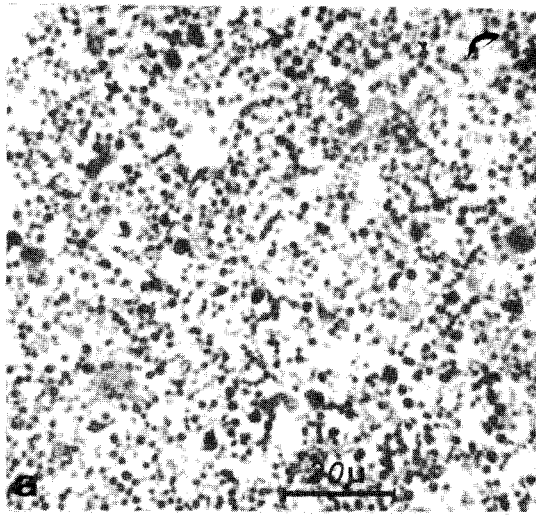


PLANCHE 5

Action des solutions des colloïdes électronégatifs sur
des solutions et suspensions de protéines.

Fig. a - Lorsque la coloration est positive, le sédiment des
coupes d'agarose renfermant les protéines prend
une teinte rouille.

Tube 1 - Gélatine : action de la solution de colloïde élec-
tronégatif de pH 10,5,

Tube 2 - Gélatine : Action de la solution de colloïde élec-
tronégatif de pH 4,5,

Tube 3 - Albumine : Action de la solution de colloïde élec-
tronégatif de pH 10,5

Tube 4 - Albumine : Action de la solution de colloïde élec-
tronégatif de pH 4,5

Tube 5 - Collagène : Action de la solution de colloïde élec-
tronégatif de pH 10,5

Tube 6 - Collagène : Action de la solution de colloïde élec-
tronégatif de pH 4,5

Tube 7 - Histones : Action de la solution de colloïde élec-
tronégatif de pH 10,5

Tube 8 - Histones : Action de la minhydrine puis de la
solution de colloïde électronégatif de pH 10,5

Tube 9 - Lysozyme : Action de la solution de colloïde élec-
tronégatif de pH 10,5

Fig. b - Fibre de collagène colorée par la solution de
colloïde électronégatif de pH 4,5. Les flèches
indiquent les bandes colorées. La **périodicité** qu'indiquent
les 2 flèches parallèles est d'environ 650 Å.

x 80 000

Fig. c - Plaque de gélatine colorée par la solution de
colloïde électronégatif de pH 4,5. Les particules
colloïdales mesurent environ 40 Å de diamètre

x 52 800

Fig. d - Fibres de collagène après action de la solution de
colloïde électronégatif de pH 10,5. Aucun dépôt
de particules colloïdales.

x 100 000

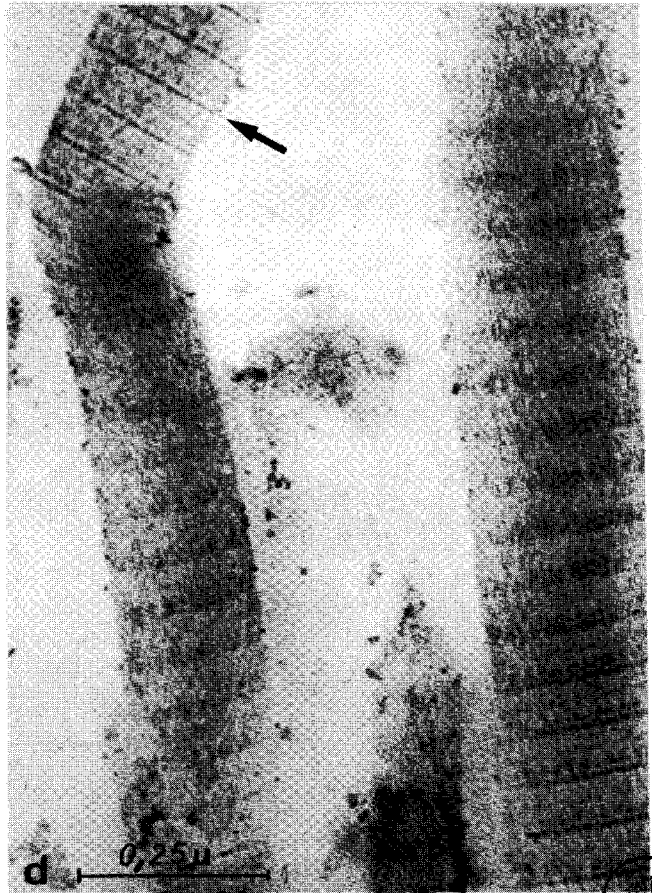
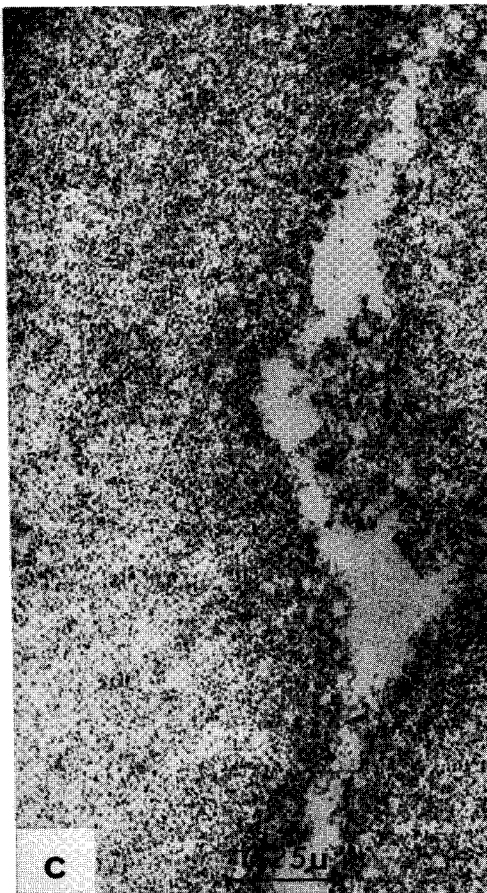
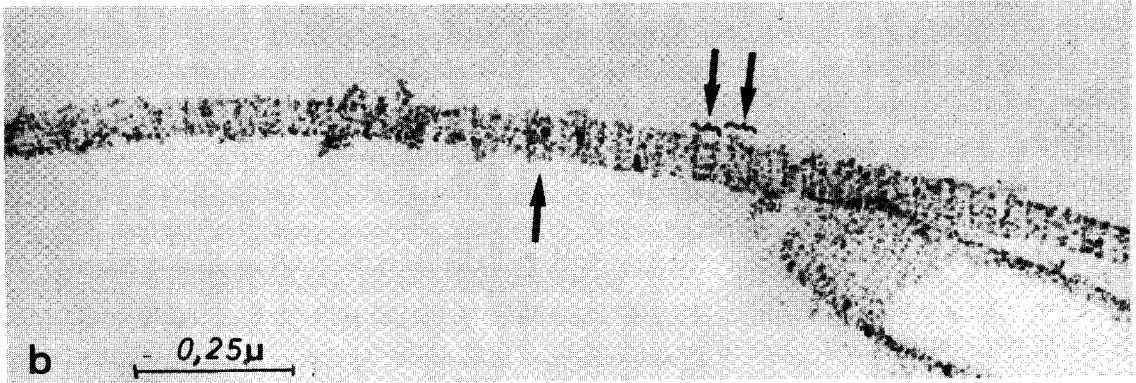
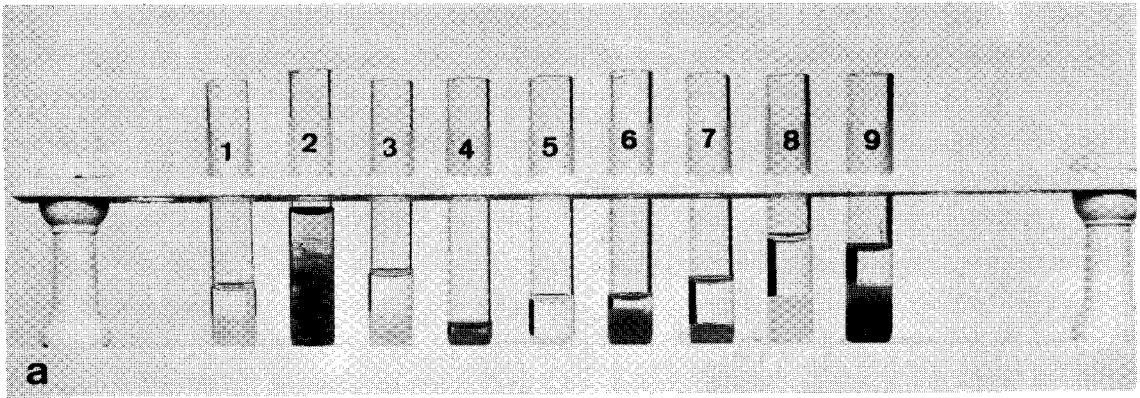


PLANCHE 6

Contrôles cytochimiques, sur nucléoles isolés, de la
spécificité de la technique de coloration.

Fig. a - Nucléole isolé traité, après digestion à la DNase,
par la solution de colloïde électronégatif de pH 10,5.
La coloration se localise au niveau des histones de
la chromatine périnucléolaire (Ch. p.) et autour des
vacuoles intranucléolaires (v).

x 60 000

Fig. b - Même matériel, même technique que ceux décrits Fig. a.
La coloration révèle une travée (Ch. i.) appartenant
certainement à la chromatine intranucléolaire. Ch. p.:
histones de la chromatine périnucléolaire.

x 45 000

Fig. c - Nucléole isolé traité par la solution de colloïde
électropositif. La coloration est répartie sur tout
le corps nucléolaire à l'exception des vacuoles (v).

x 36 200

Fig. d - Nucléole isolé traité par la solution de colloïde
électronégatif de pH 10,5 sans digestion préalable
à la DNase. La coloration au niveau de la couronne
périnucléolaire est faible.

x 32 400

Fig. e - Nucléoles isolés traités par la solution de colloïde
électronégatif de pH 10,5 après digestion à la
DNase et action de la ninhydrine. Dépôt très faible
de particules colloïdales.

x 24 000

Fig. f - Nucléole isolé traité par la solution de colloïde
électronégatif de pH 10,5 après digestions à la DNase
et à la RNase. Résultat identique à celui des
Fig. a et b.

x 42 000

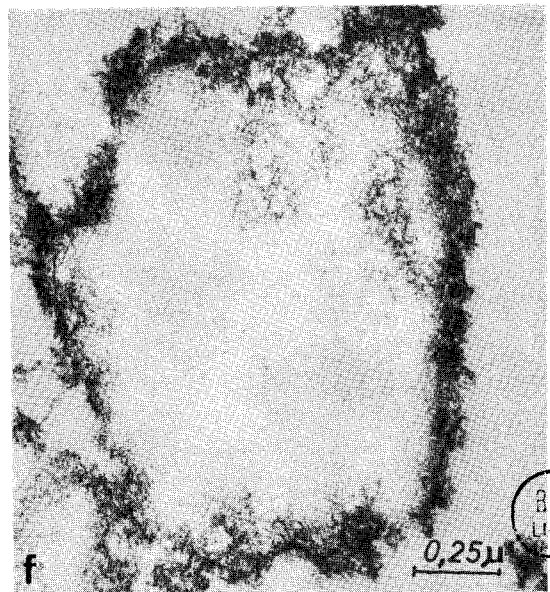
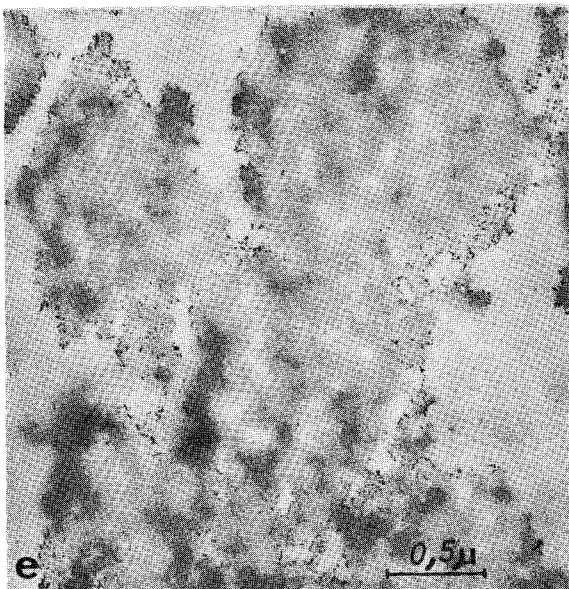
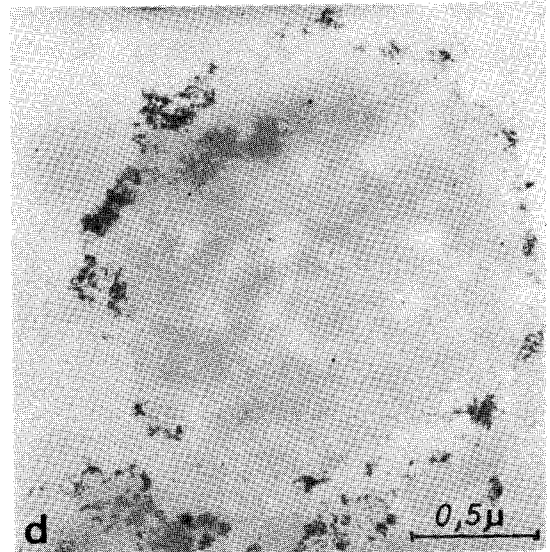
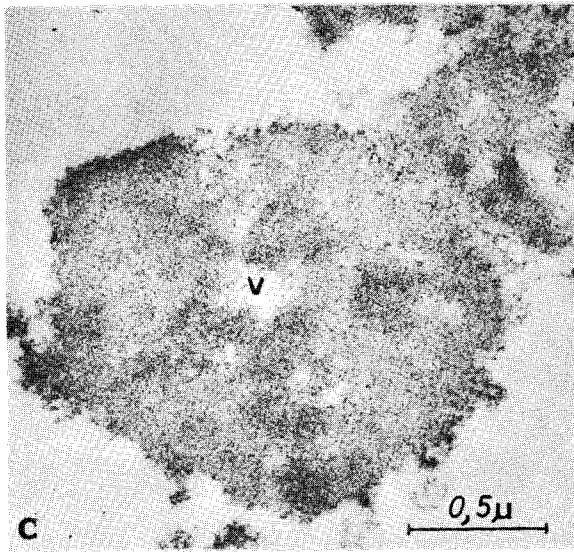
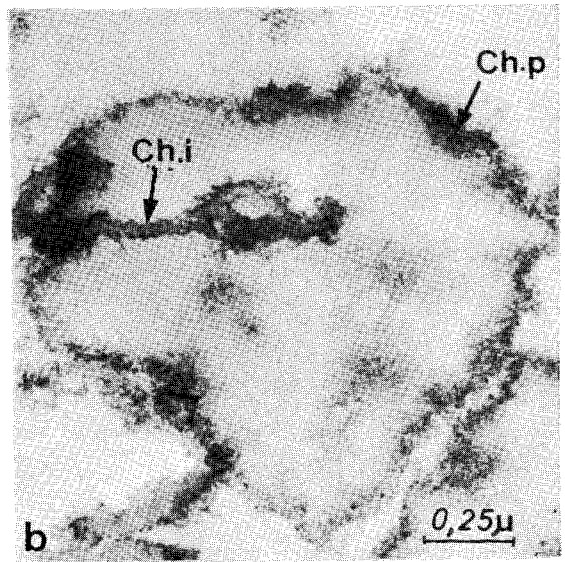
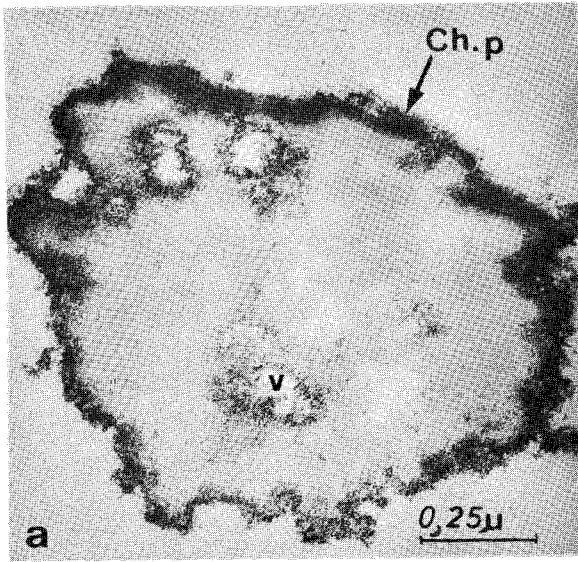


PLANCHE 7

Contrôles cytochimiques, sur nucléoles isolés, de la
spécificité de la technique de coloration.

Fig. a - Nucléoles isolés, digérés à la DNase et soumis à une estérification avant d'être traités par la solution de colloïde électronégatif de pH 10,5. La coloration de la couronne périnucléolaire est bien marquée.

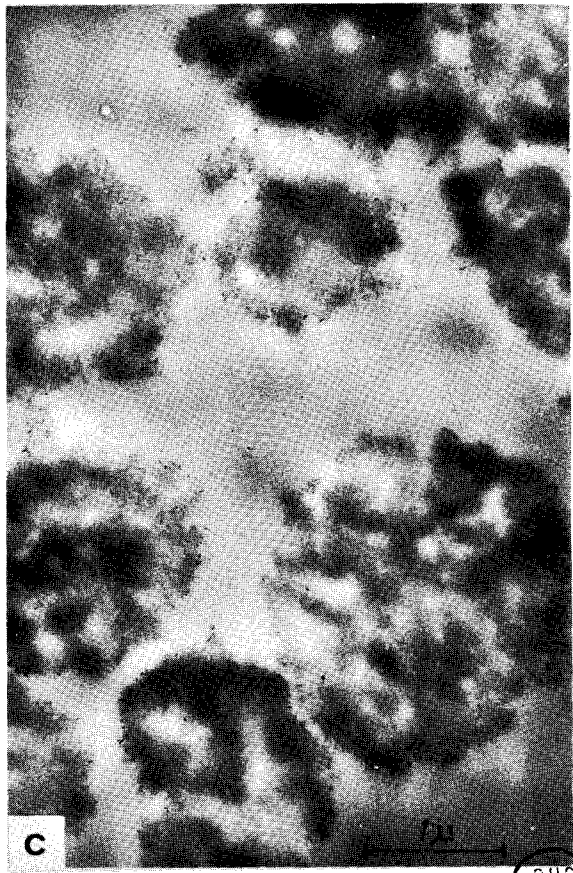
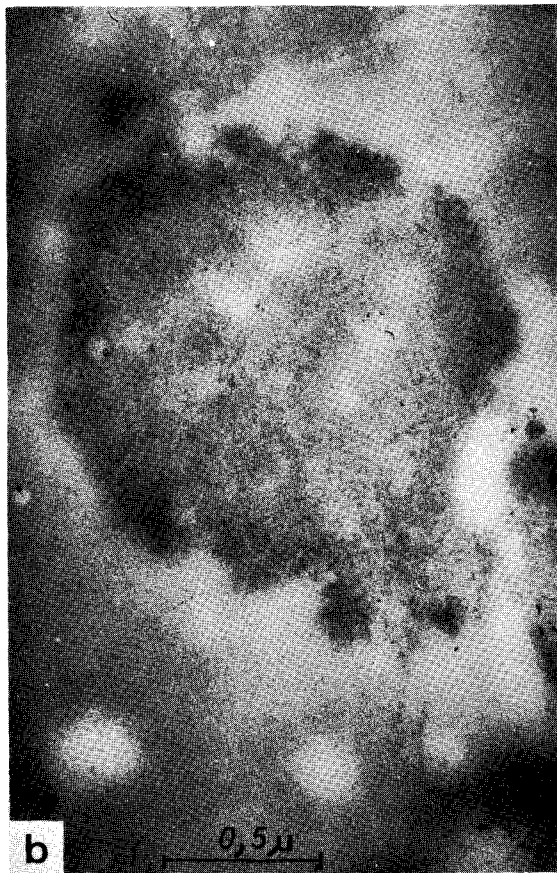
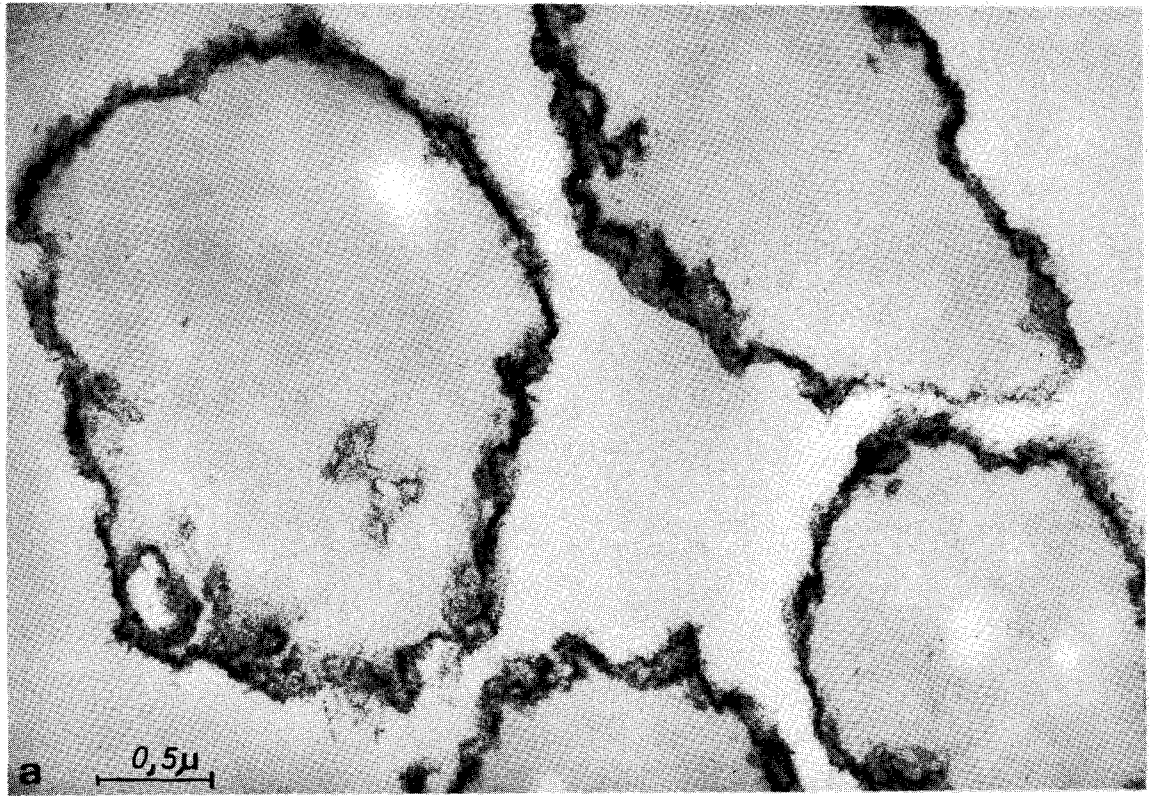
x 30 000

Fig. b - Nucléole isolé, digéré à la DNase et soumis à une estérification avant d'être traité par la solution de colloïde électropositif. Aucune fixation de particules colloïdales.

x 36 000

Fig. c - Nucléoles isolés digérés à la DNase puis soumis à une désamination avant d'être traités par la solution de colloïde électronégatif de pH 10,5. Aucune fixation de particules colloïdales.

x 18 000



BUS
LITTLE

PLANCHE 8

Contrôles cytochimiques de la spécificité de la technique de coloration, sur nucléoles isolés. Action du colloïde électronégatif de pH 4,5.

Fig. a - Nucléoles isolés digérés à la DNase puis soumis à une estérification avant d'être traités par la solution de colloïde électronégatif de pH 4,5. La coloration subsiste au niveau de la couronne périnucléolaire (flèche).

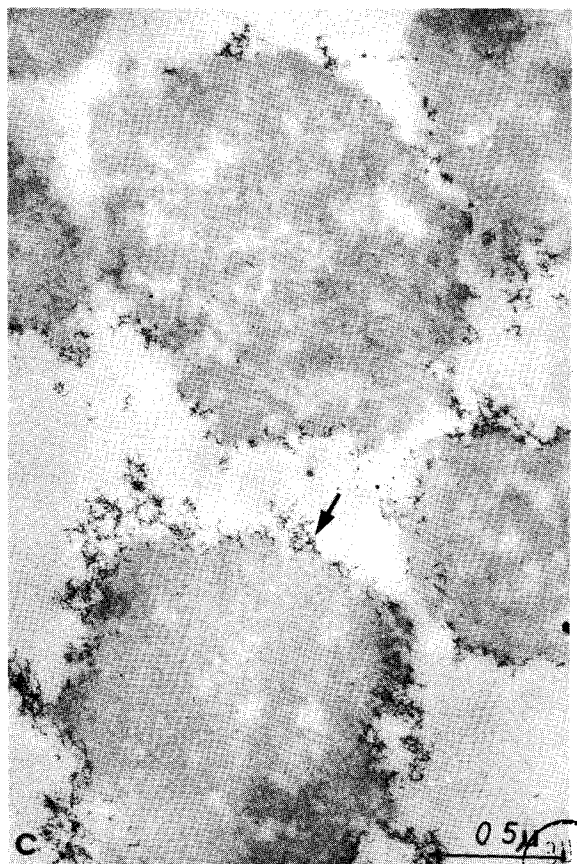
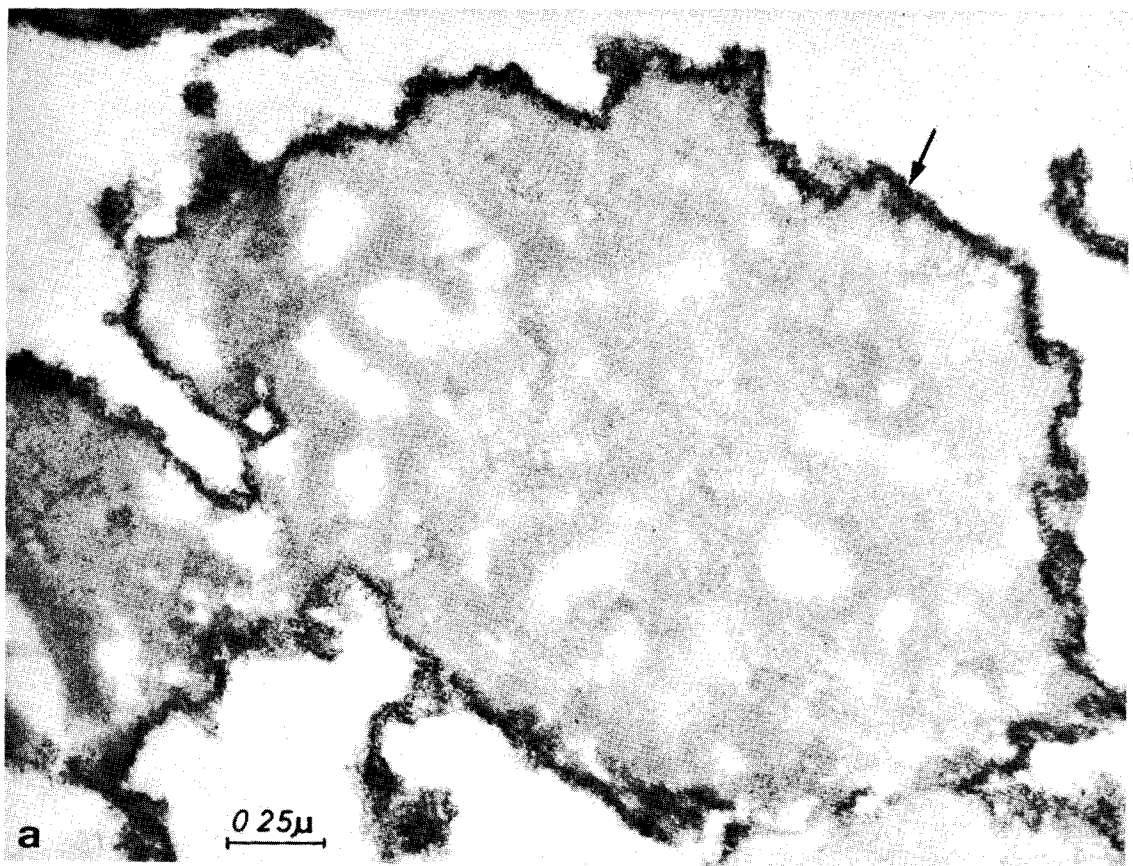
x 50 000

Fig. b - Nucléoles isolés digérés à la DNase puis soumis à une désamination avant d'être traités par la solution de colloïde électronégatif de pH 4,5. La coloration est très faible au niveau de la couronne périnucléolaire (flèche).

x 32 000

Fig. c - Nucléoles isolés digérés à la DNase, soumis à l'action de la ninhydrine avant d'être traités par la solution de colloïde électronégatif de pH 4,5. Dépôt de particules colloïdales (flèche).

x 32 000



MS
LITTLE

PLANCHE 9

Coloration de la cellule hépatique de Rat par la solution de colloïde électronégatif de pH 10,5.

Fig. a - Cellule hépatique de Rat traitée par la solution de colloïde électronégatif de pH 10,5 sans digestion préalable à la DNase. Le noyau (N) n'est pas coloré. Dans le cytoplasme, la coloration est très marquée au niveau des lamelles ergastoplasmiques (E),
m - mitochondrie.

x 15 000

Fig. b - Cellule hépatique de Rat soumise à l'action de la ninhydrine avant traitement par la solution de colloïde électronégatif de pH 10,5. Aucun dépôt de particules colloïdales.

x 12 000

Fig. c - Cytoplasme d'une cellule hépatique de Rat. Digestion à la DNase et coloration par la solution de colloïde électronégatif de pH 10,5. La coloration est dense au niveau des lamelles ergastoplasmiques (E),
m - mitochondrie.

x 30 000

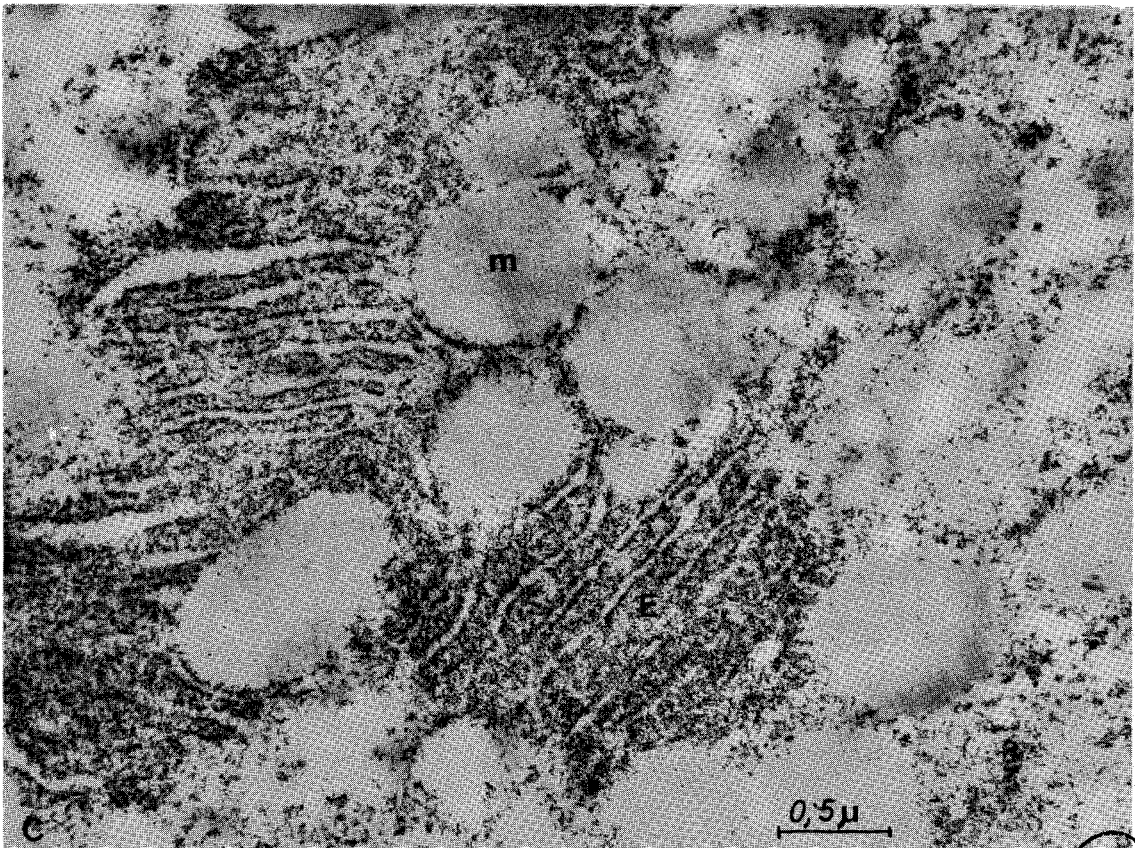
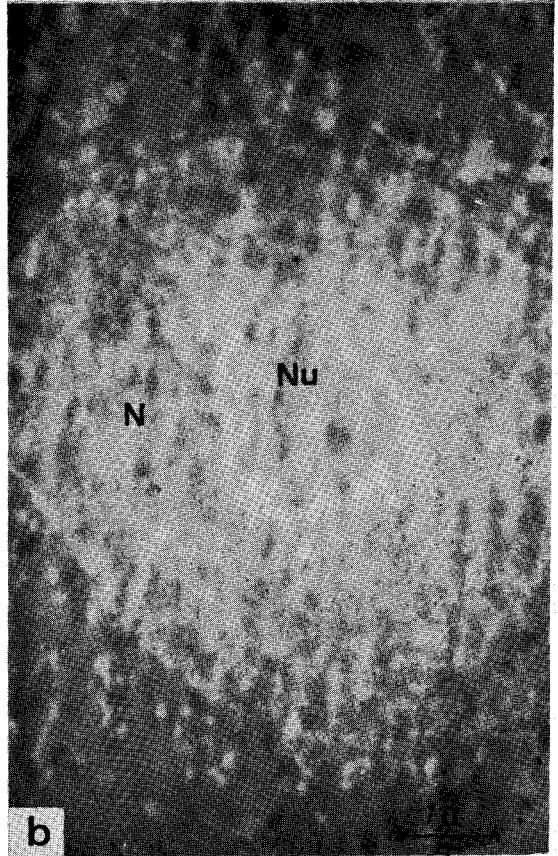
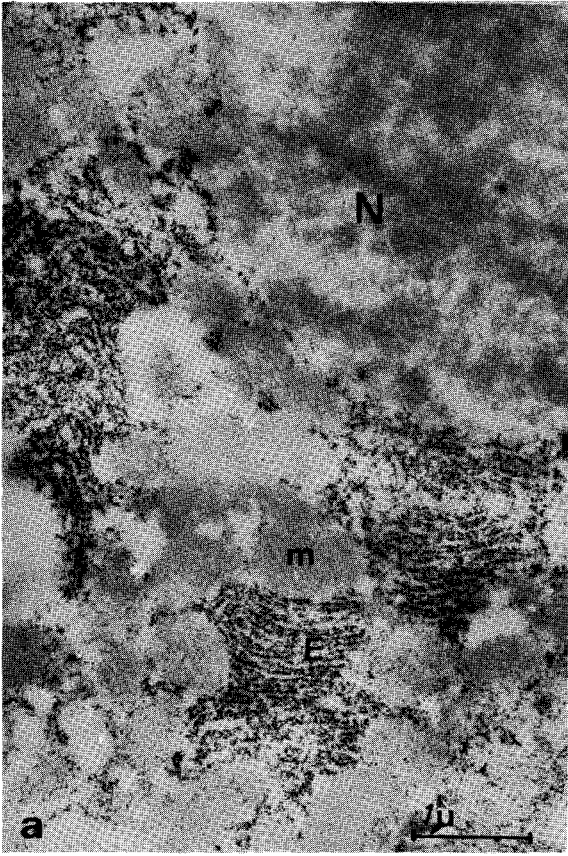


PLANCHE 10

Coloration du noyau de la cellule hépatique de Rat par la solution de colloïde électronégatif de pH 10,5.

Fig. a - Noyau de cellule hépatique de Rat. Digestion à la DNase et traitement par la solution de colloïde électronégatif de pH 10,5.

La coloration est accentuée au niveau des zones correspondant à l'hétérochromatine, elle s'interrompt au niveau des pores nucléaires (p).

m - mitochondrie

E - Ergastoplasme

x 11 000

Fig. b - Même matériel et même technique que Fig. a.

Coloration dense des zones correspondant à l'hétérochromatine autour de l'enveloppe nucléaire (Ch. m.) et autour du corps nucléolaire (Ch. p.). Le réseau nucléolaire est coloré (Nu).

p - pore nucléaire

m - mitochondrie

E - Ergastoplasme

x 11 000

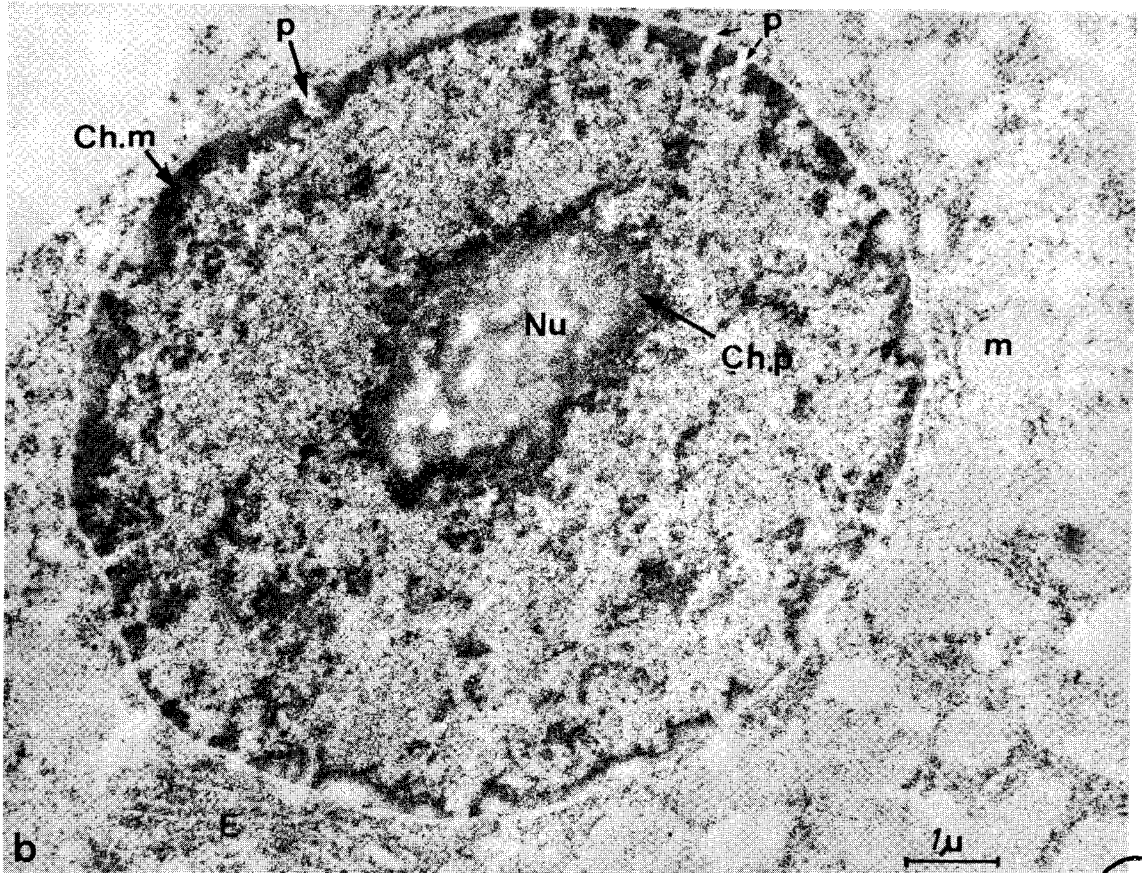
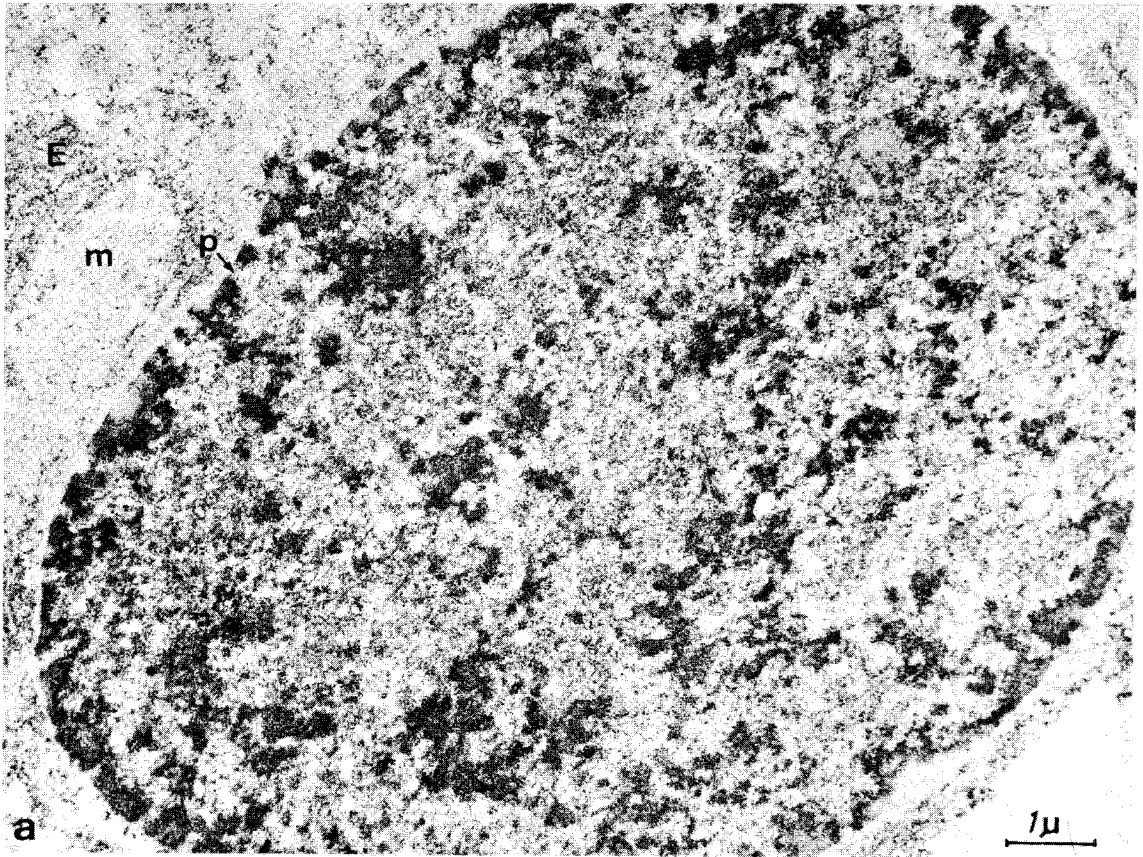


PLANCHE 11

Coloration du noyau de la cellule hépatique de Rat et coloration des chromosomes de cellules HeLa par la solution de colloïde électronégatif de pH 10,5.

Fig. a - Noyau de cellule hépatique de Rat (N). Digestion à la DNase. Traitement par la solution de colloïde électronégatif de pH 10,5. Coloration dense des histones de la chromatine. Le corps nucléolaire n'est pas coloré contrairement à ce qui est observé Pl. 10 ; Fig. b.

Ch. p. - zone correspondant à la chromatine péri-nucléolaire

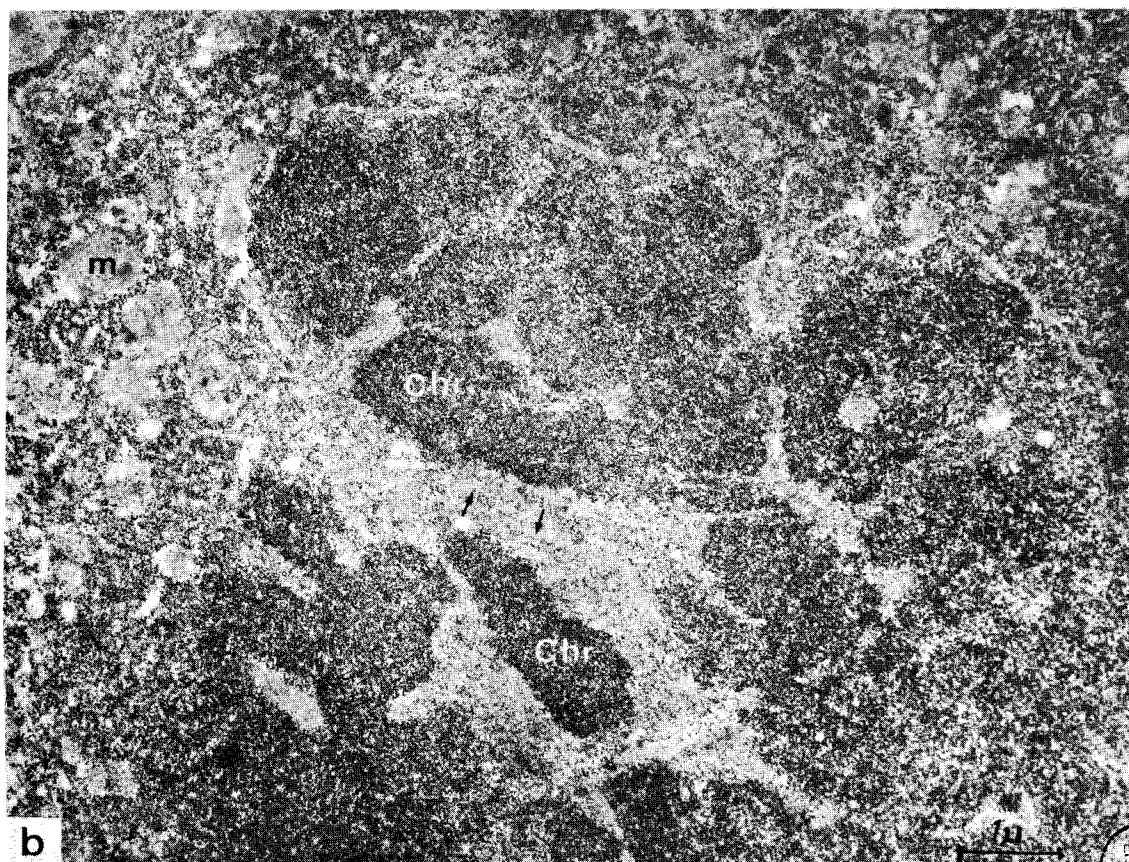
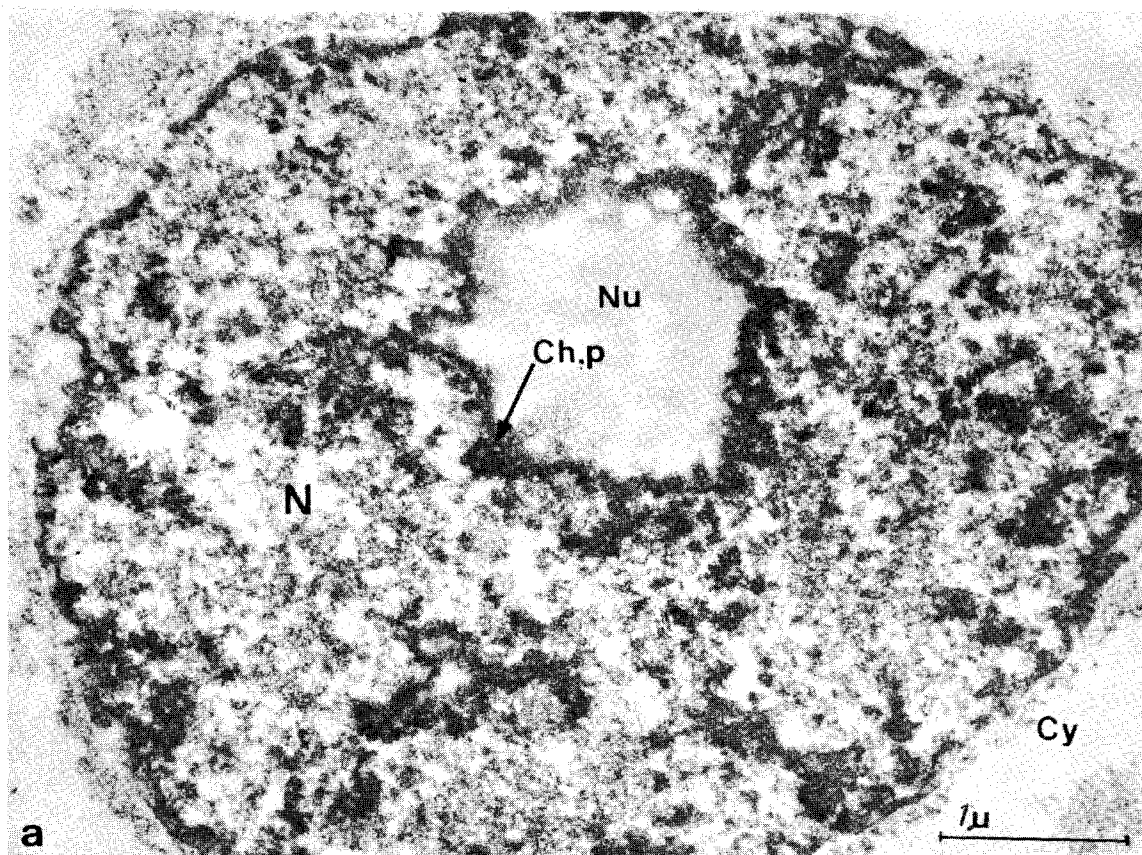
Cy - cytoplasme

x 23 000

Fig. b - Cellule HeLa en mitose. Digestion à la DNase. Traitement par la solution de colloïde de pH 10,5. Les chromosomes (Chr) sont fortement colorés. Dans l'espace interchromosomique, on observe un léger dépôt de particules colloïdales le long des fibres du fuseau (flèches).

m - mitochondrie

x 12 000



BUS
LILLE

PLANCHE 12

Coloration des noyaux de glandes salivaires de larves de chironomes et coloration de Escherichia coli, par la solution de colloïde électronégatif, de pH 10,5.

Fig. a - Noyau de glande salivaire de larve de chironome. Digestion à la DNase, traitement par la solution de colloïde électronégatif de pH 10,5. Les chromosomes (Chr) sont très colorés. En bordure de l'enveloppe nucléaire, on observe la présence dans le nucléoplasme de granules colorés (g) dont le diamètre (environ 500 Å) est du même ordre que celui des granules de Balbiani.

Cy - cytoplasme

x 42 000

Fig. b - Même matériel, même traitement que ceux de la Fig. a.

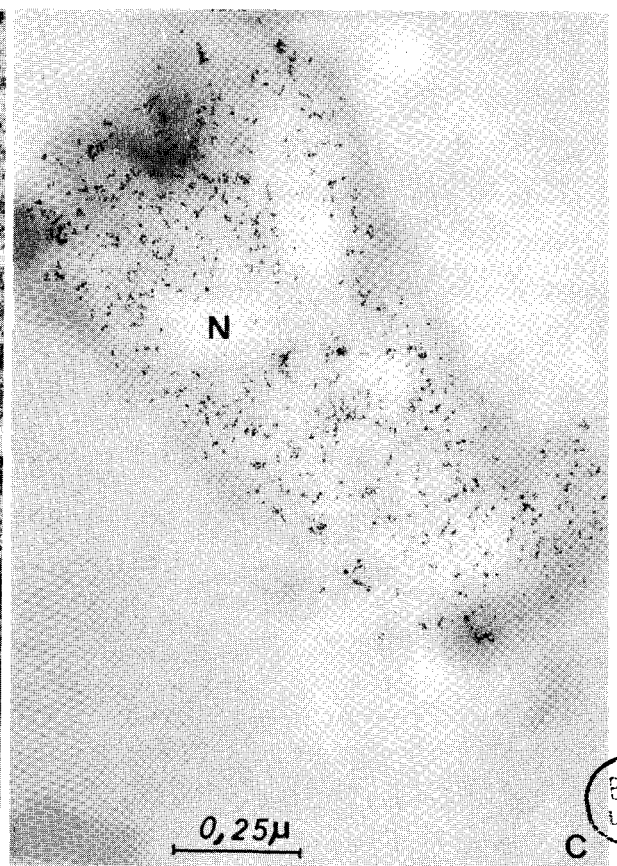
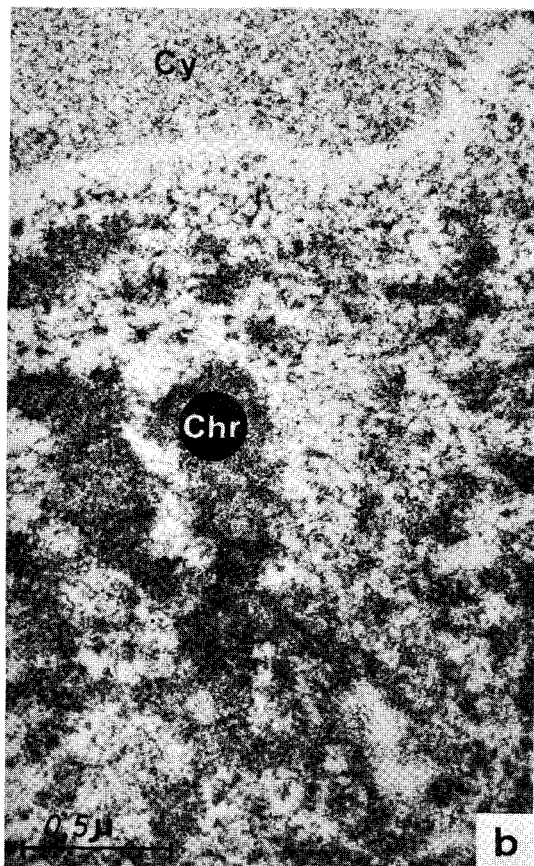
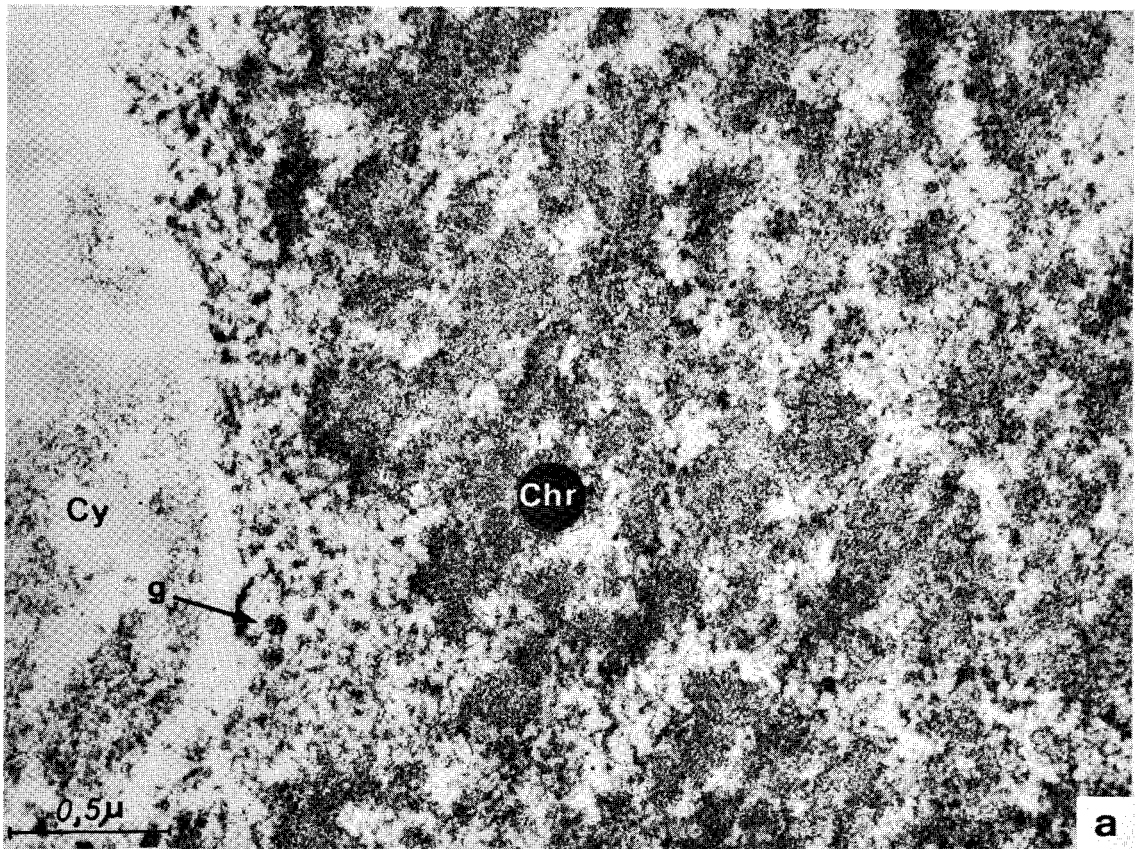
Chr - chromosome

Cy - cytoplasme

x 38 400

Fig. c - Escherichia coli. Digestion à la DNase. Traitement par la solution de colloïde électronégatif de pH 10,5. Le dépôt de granules colloïdaux s'interrompt au niveau des zones nucléaires (N).

x 64 000



Colorations de nucléoles isolés par des solutions de colloïdes électronégatifs de pH croissants de 4,5 à 10,5 sans digestion préalable à la DNase.

Fig. a - Nucléole isolé traité par la solution de colloïde électronégatif de pH 4,5. La couronne de chromatine périnucléolaire (Ch. p.) est fortement colorée. Le corps nucléolaire n'est pas coloré.

x 35 000

Fig. b - Nucléoles isolés traités par la solution de colloïde électronégatif de pH 6,5. La coloration de la chromatine périnucléolaire est moins importante que celle de la Fig. a.

Nu - corps nucléolaire

Ch. p. - chromatine périnucléolaire.

x 24 500

Fig. c - Nucléoles isolés traités par la solution de colloïde électronégatif de pH 8,5. Les coupes ont été colorées 15 mn par une solution aqueuse à 5 p. 100 d'acétate d'uranyle. On observe une diminution de la densité de la coloration au niveau de la chromatine périnucléolaire (Ch. p.). L'un des nucléoles a été isolé avec un fragment de l'enveloppe nucléaire (mb).

f - réseau fibrillaire

g - granules nucléolaires

x 22 400

Fig. d - Nucléoles isolés (Nu) traités par la solution de colloïde électronégatif de pH 10,5. La coloration de la chromatine périnucléolaire est très faible.

x 10 500

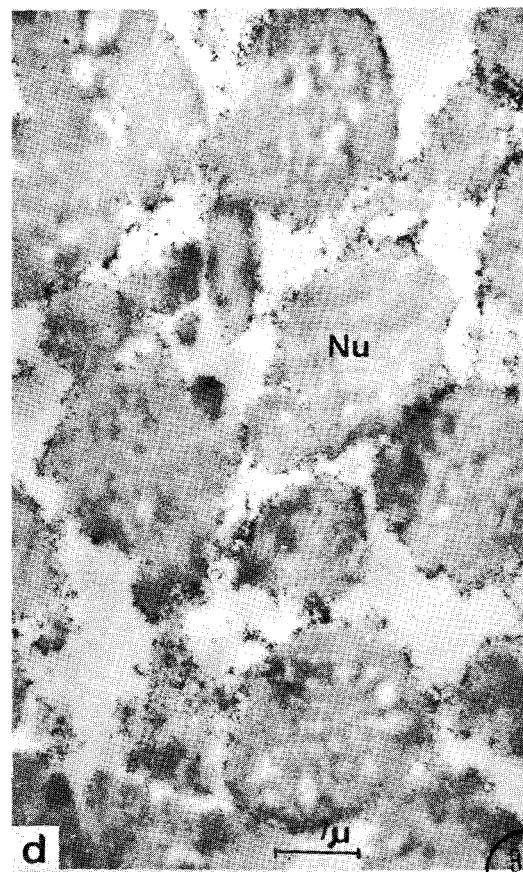
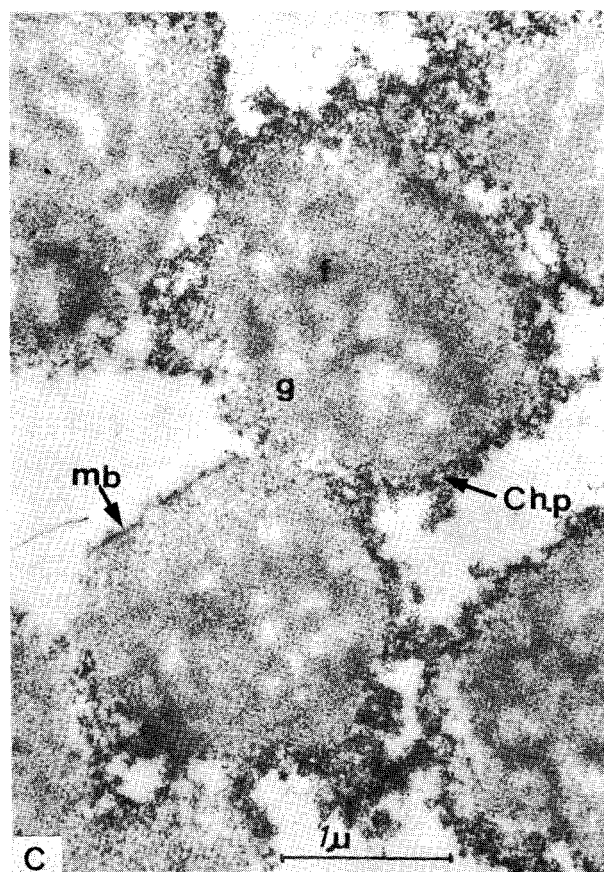
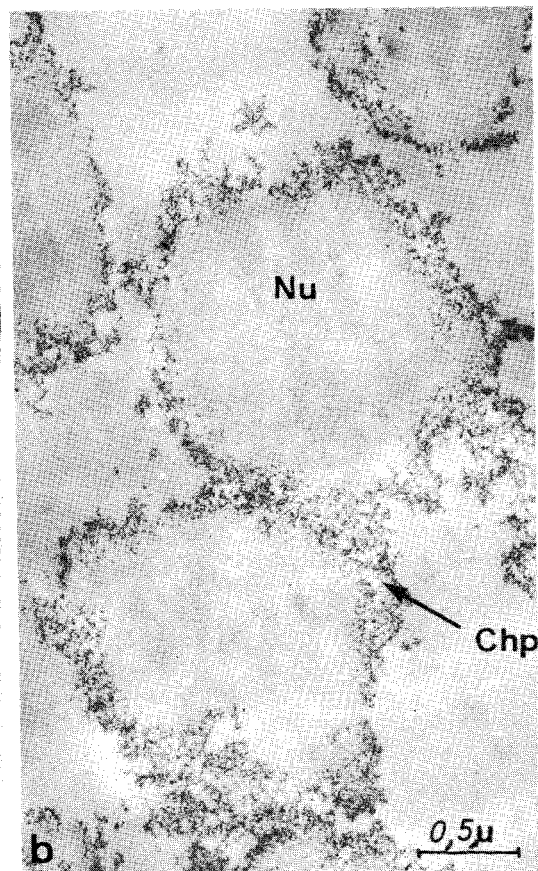
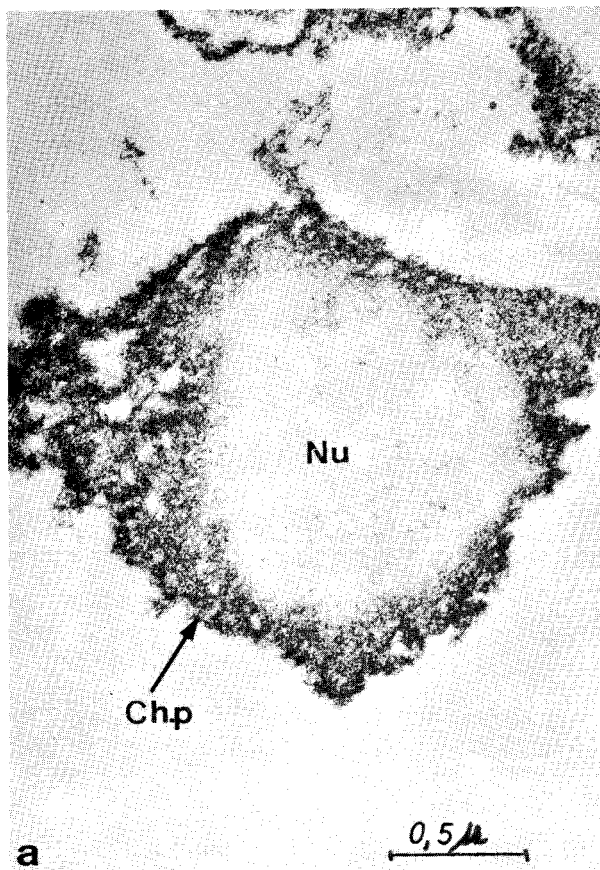


PLANCHE 14

Colorations de nucléoles isolés par des solutions de colloïdes électronégatifs de pH croissants de 4,5 à 10,5.

Fig. a - Nucléole isolé, digéré à la DNase et coloré par une solution de colloïde de pH 10,5.
Les histones de la chromatine périnucléolaire (Ch. p.) et de la chromatine intranucléolaire (Ch. i.) sont colorées. Le réseau nucléolaire (r) n'est pas coloré.
v - vacuole intranucléolaire

x 55 000

Action de l'acide thioglycolique sur nucléoles isolés. Double fixation (glutaraldehyde - acide osmique). Double coloration (acétate d'uranyle et citrate de plomb).

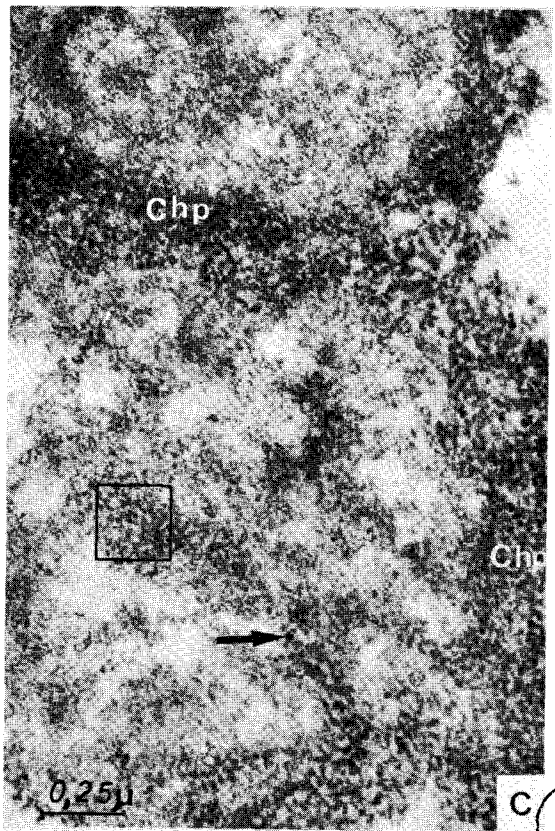
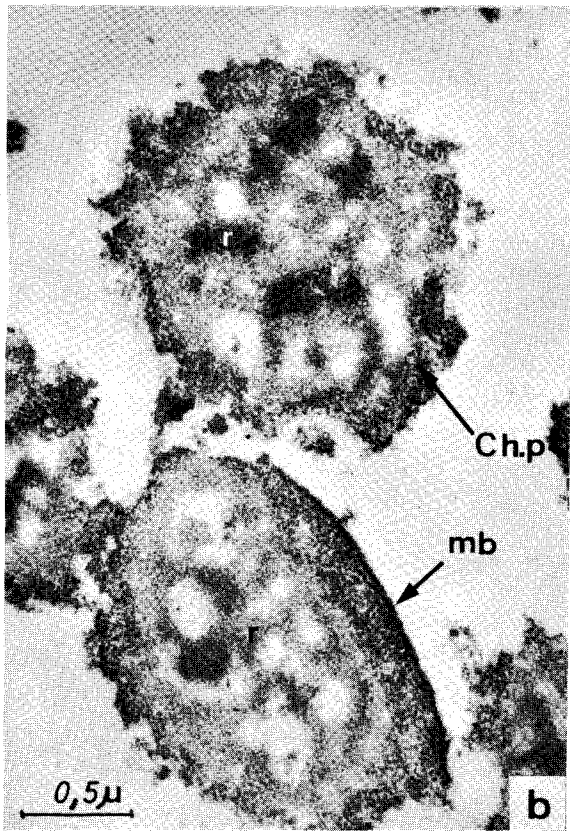
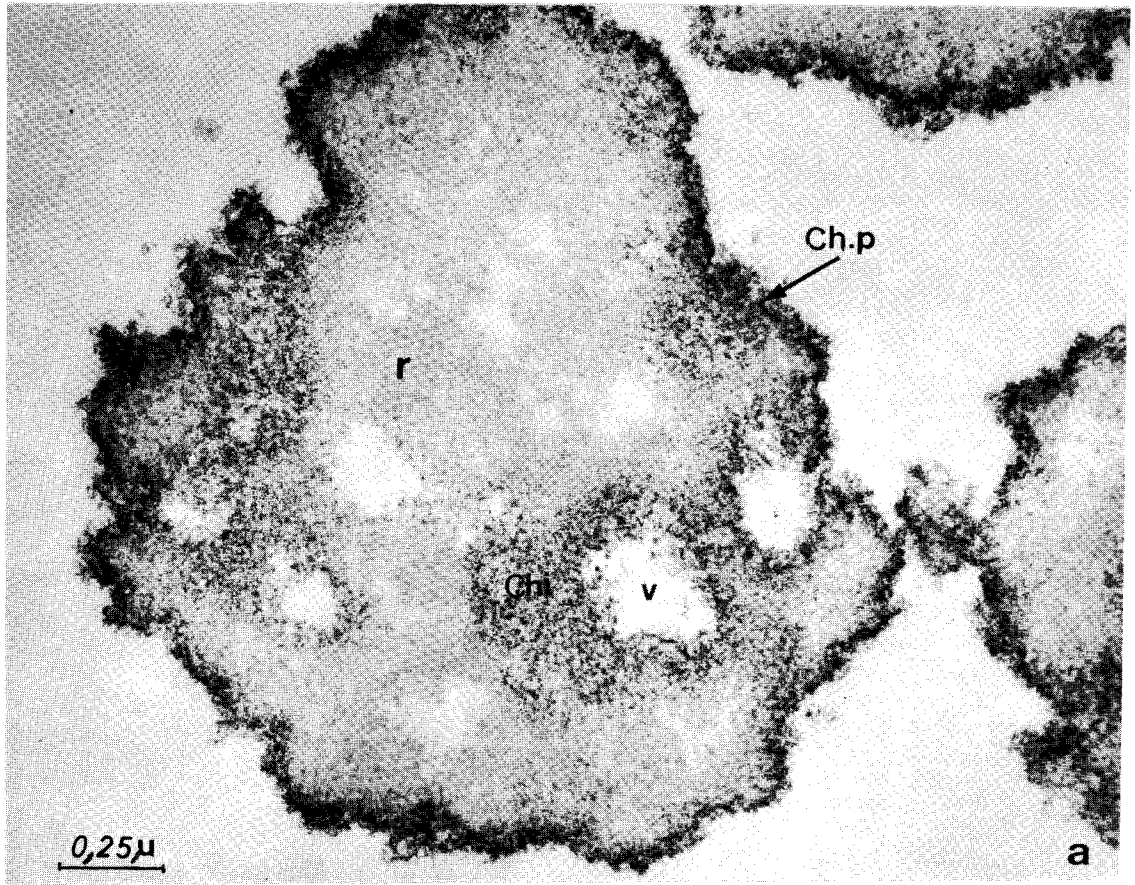
Fig. b - Les constituants du nucléole sont conservés :
chromatine périnucléolaire (Ch. p.) réseau (r).

mb - enveloppe nucléaire réduite ici au feuillet interne.

x 28 800

Fig. c - Le réseau (r) du nucléole est essentiellement fibrillaire. Les granules sont peu nombreux (flèche). Les chromatines périnucléolaire (Ch. p.) et intranucléolaire (limitée par le carré) sont conservées.

x 45 000



BUS
LILLE

PLANCHE 15

Nucléoles isolés traités par l'acide thioglycolique
puis par la solution de colloïde électronégatif de
pH 4,5.

Fig. a - Le réseau est coloré.

x 42 000

Fig. b - Le réseau n'est ici qu'en partie coloré.

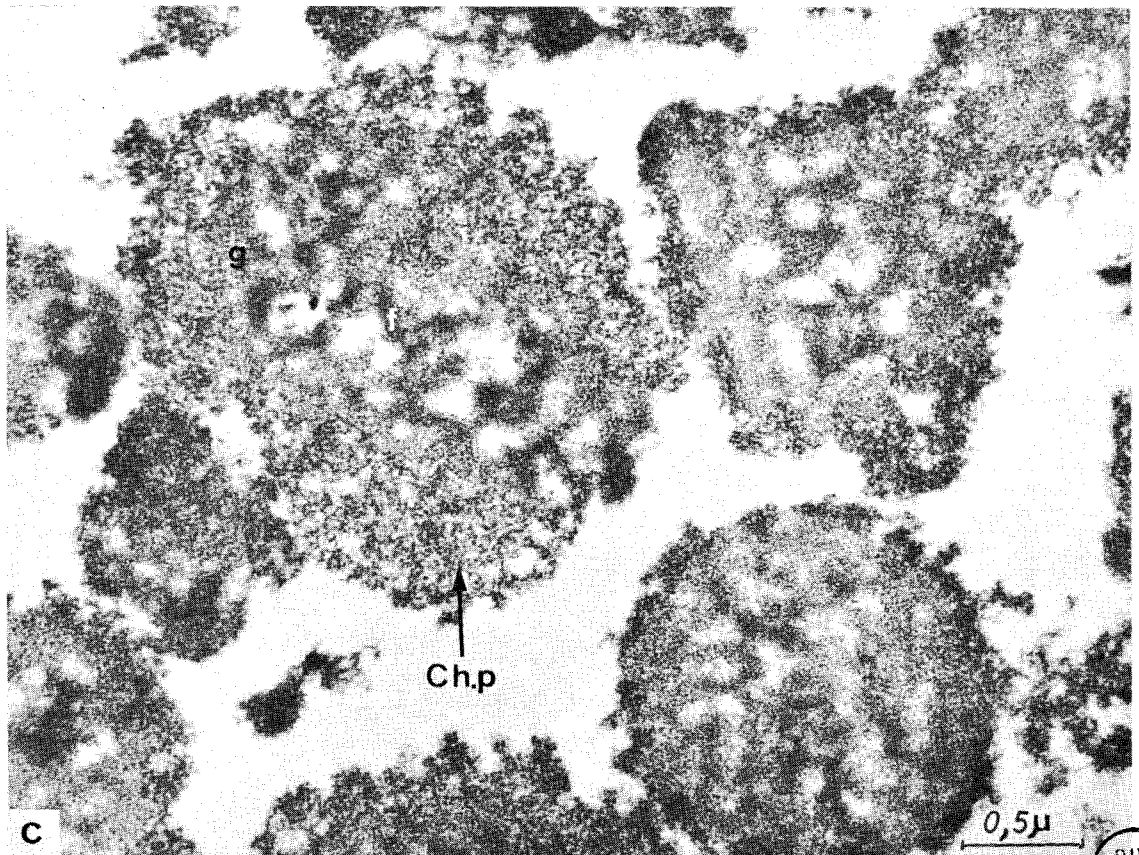
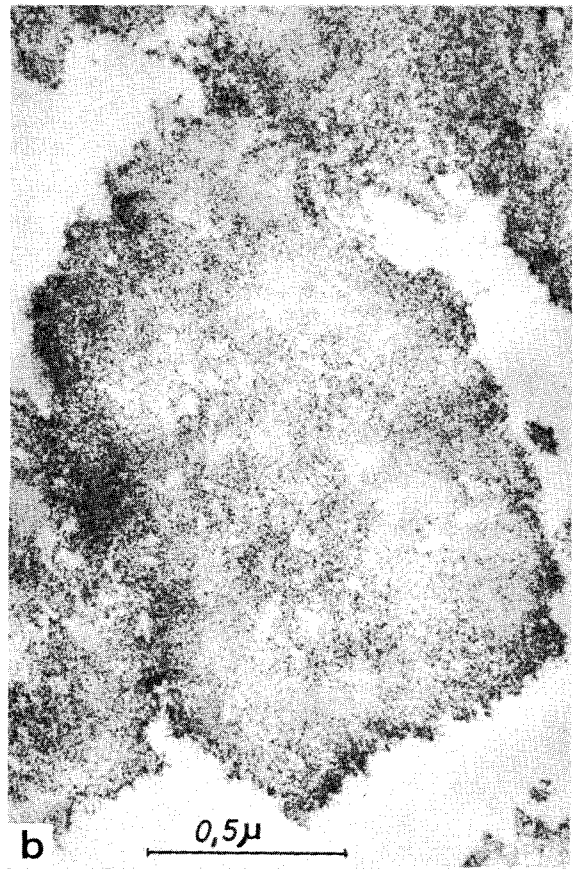
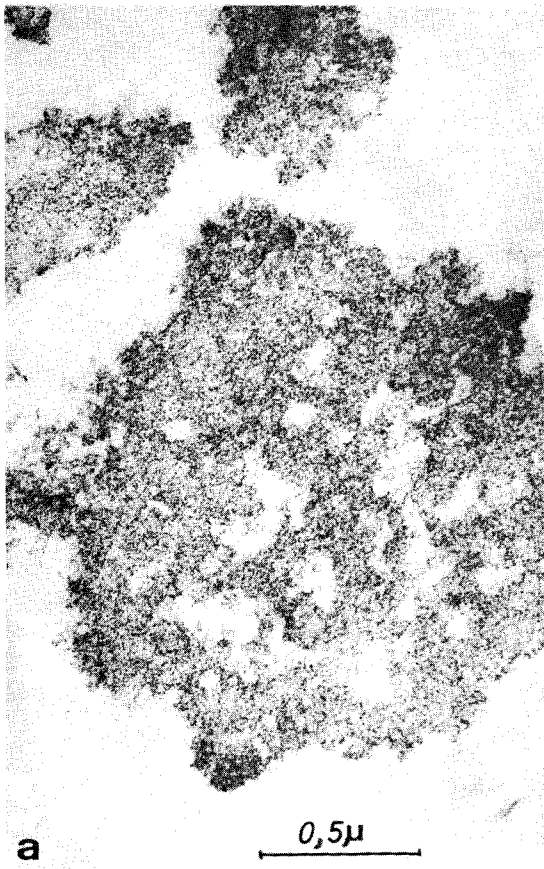
x 51 000

Nucléoles isolés digérés à la pepsine.

Fig. c - Double fixation (glutaraldehyde - acide osmique),
double coloration (acétate d'uranyle et citrate
de plomb). Les fibrilles (f) et les granules (g)
du réseau se détachent plus nettement du fait de
la disparition d'une partie de la matrice qui les
englobe.

Ch. p. - chromatine périnucléolaire

x 29 000



BUS
LITTLE

PLANCHE 16

Action de la pepsine sur la coloration du réseau nucléolaire par la solution de colloïde électro-négatif de pH 10,5.

Fig. a - Nucléole digéré à la pepsine.

Double fixation glutaraldehyde - acide osmique.
Double coloration acétate d'uranyle et citrate de plomb. A ce grossissement, les fibrilles (f) et granules (g) du réseau sont très nets.

x 50 000

Fig. b - Nucléole digéré à la pepsine et à la DNAse.

Coloration par la solution de colloïde électro-négatif de pH 10,5. Le réseau (r) est coloré ainsi que les histones de la chromatine périnucléolaire.

x 40 000

Fig. c - Nucléoles isolés digérés uniquement à la pepsine.

Coloration par la solution de colloïde électro-négatif de pH 10,5. Le réseau est coloré. Le centre des amas de chromatine périnucléolaire n'est pas coloré (flèche).

x 32 000

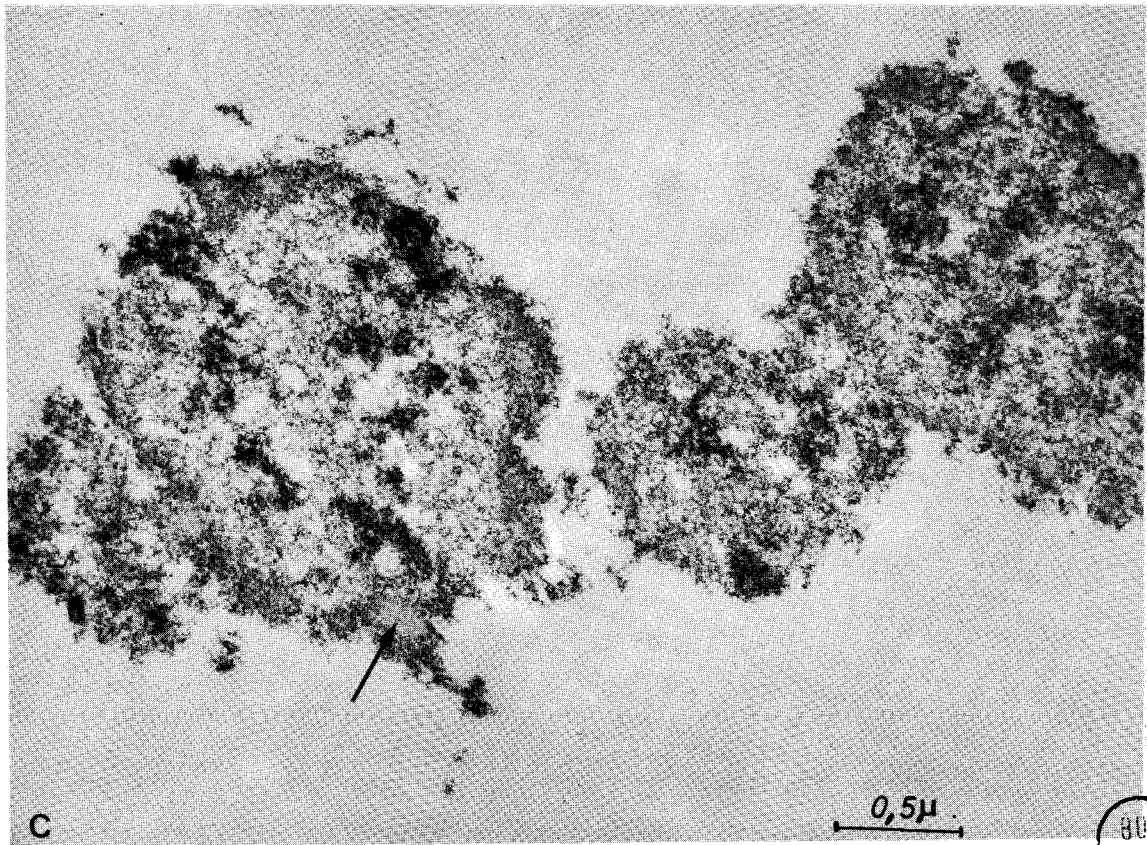
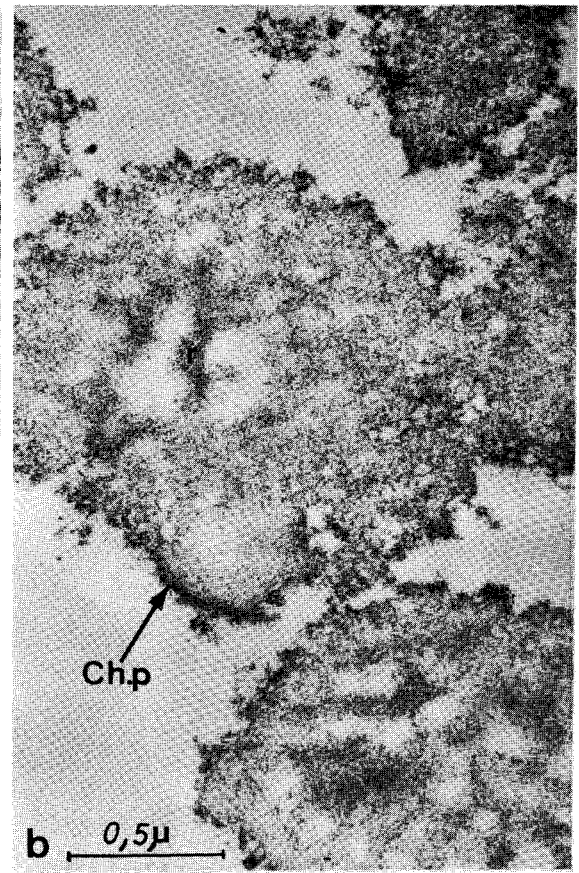
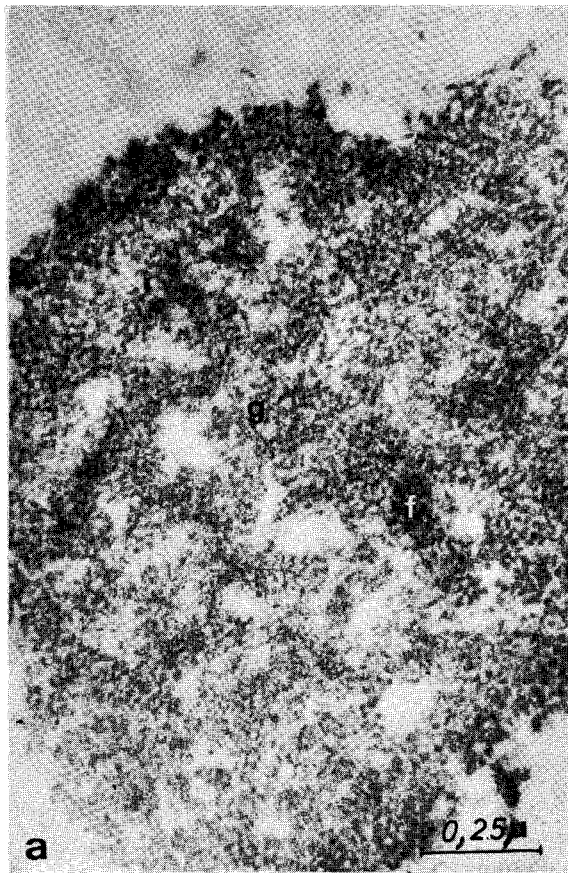


PLANCHE 17

Localisation des protéines basiques du nucléole in situ
après action courte de la pepsine.

Fig. a - Cellule hépatique de Rat. Coupes au cryostat,
digérées à la pepsine puis traitées par la
solution de colloïde électronégatif de pH 10,5.
Dans le noyau (N) coloration du réseau nucléolaire
(Nu).

E - Ergastoplasme

x 23 000

Fig. b - Même matériel, même technique que Fig. a.

N - Noyau

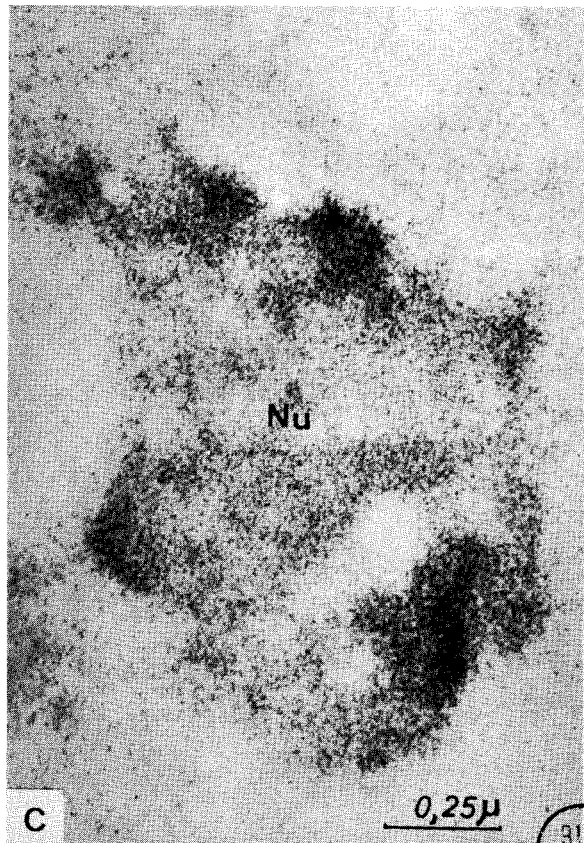
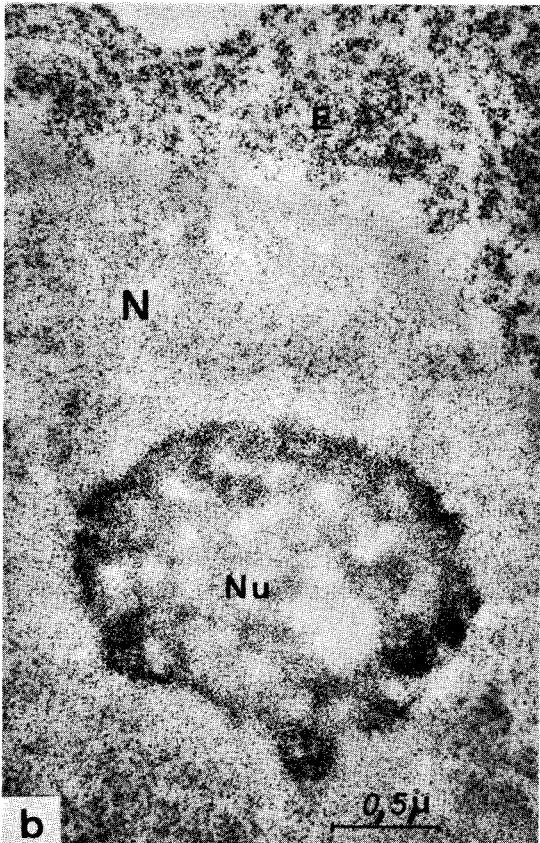
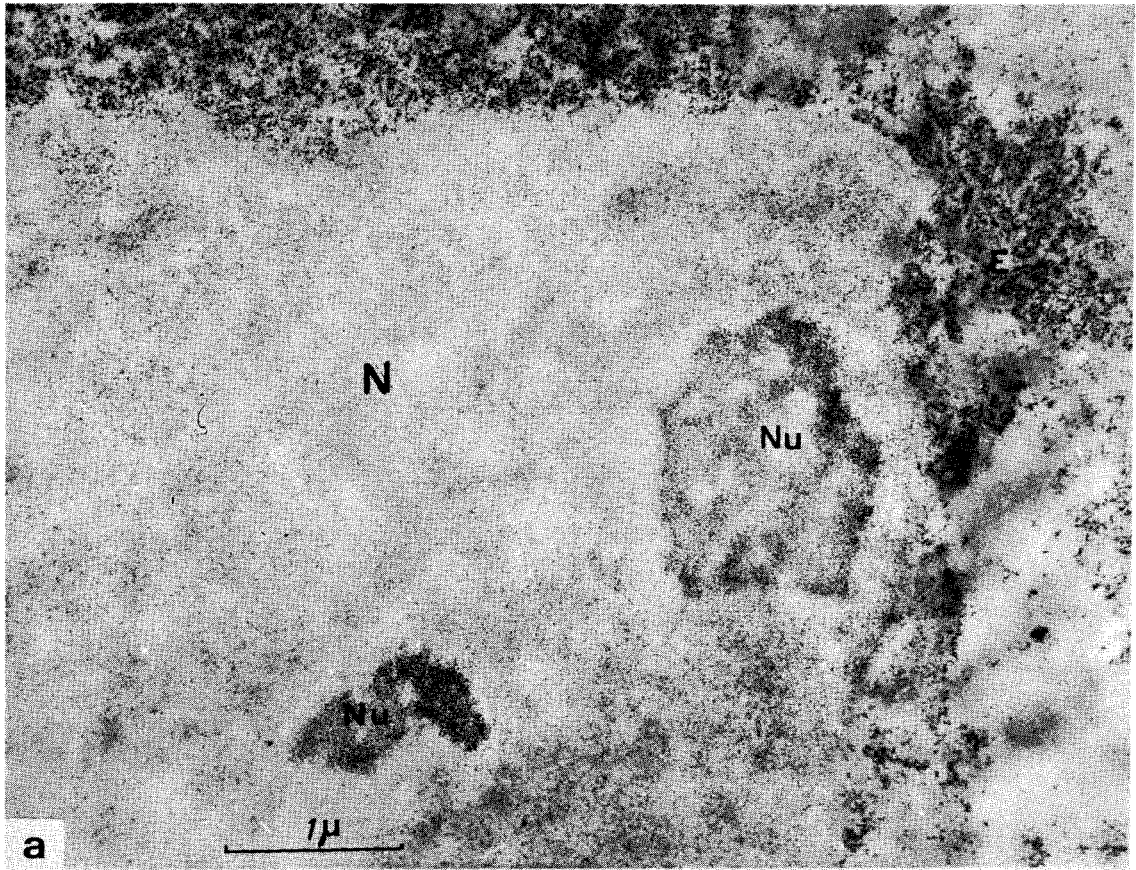
Nu - Nucléole

E - Ergastoplasme

x 28 000

Fig. c - Même matériel, même technique. Détail de la
coloration du nucléole. Le réseau est coloré.
La chromatine périnucléolaire n'est pas colorée.

x 57 000



305
LILLE

PLANCHE 18

Révélation des protéines basiques histones et non-histones
du noyau de la cellule hépatique de Rat.

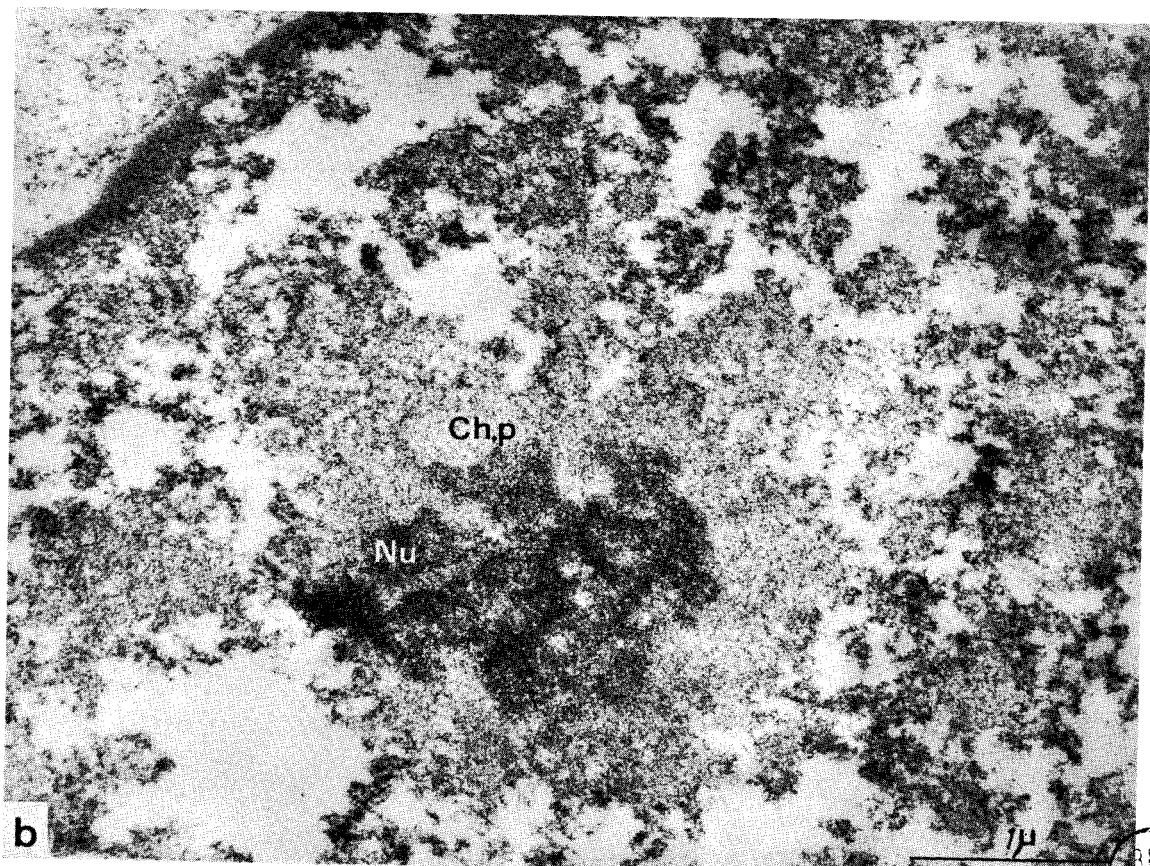
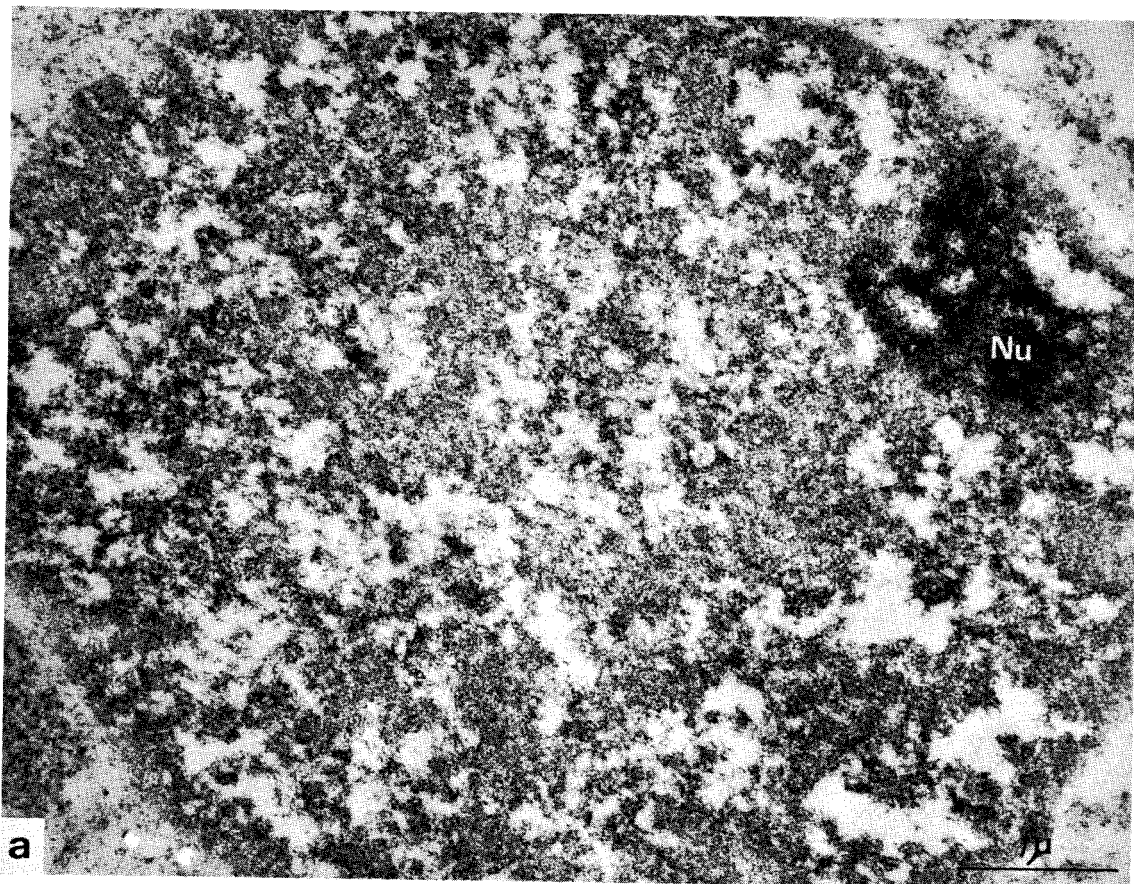
Fig. a - Noyau de cellule hépatique de Rat. Coupes au
cryostat digérées à la pepsine, puis à la DNase
et traitées ensuite par la solution de colloïde
électronégatif de pH 10,5.
Coloration des protéines basiques nucléolaires
(Nu) et des histones de la chromatine.

x 21 000

Fig. b - Même matériel et même technique que Fig. a.
Le corps nucléolaire (Nu) est plus fortement
coloré que les histones.

Ch. p. - zone correspondant à la chromatine
périnucléolaire.

x 26 000



BUS
LILLE

PLANCHE 19

Morphologie des granules nucléolaires extraits.

Fig. a - Aspect à faible grossissement du culot d'extraction obtenu après centrifugation de la zone 60 S du gradient de saccharose. Double fixation. Double coloration (acétate d'uranyle et citrate de plomb).

x 60 000

Fig. b - Même matériel et même technique que Fig. a.

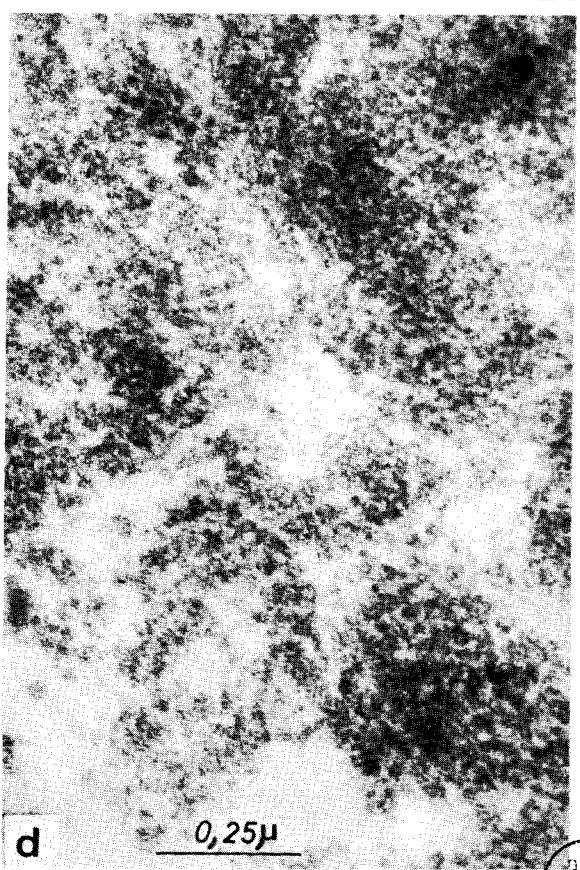
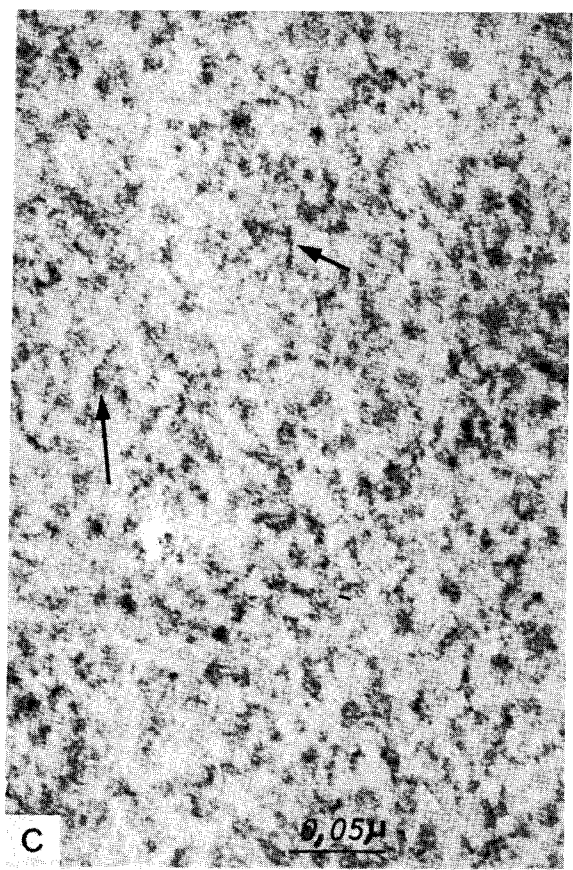
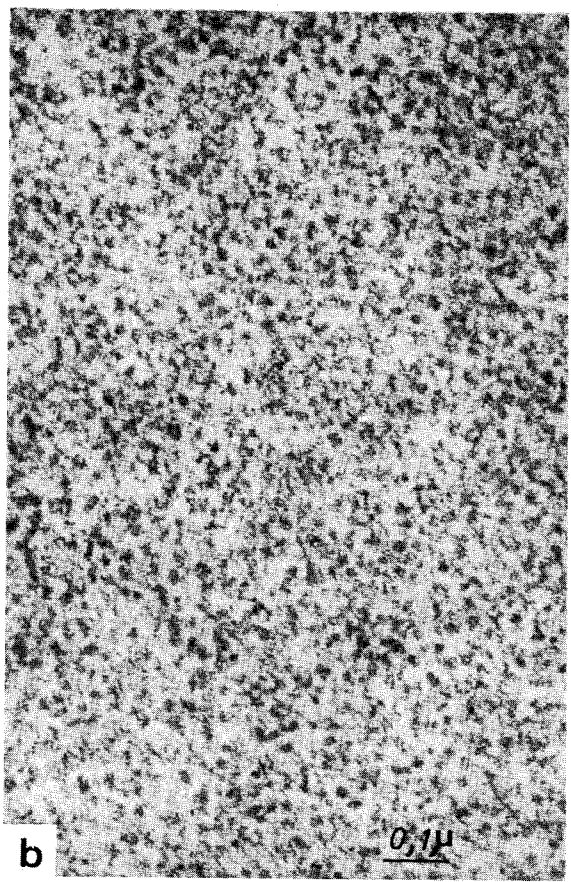
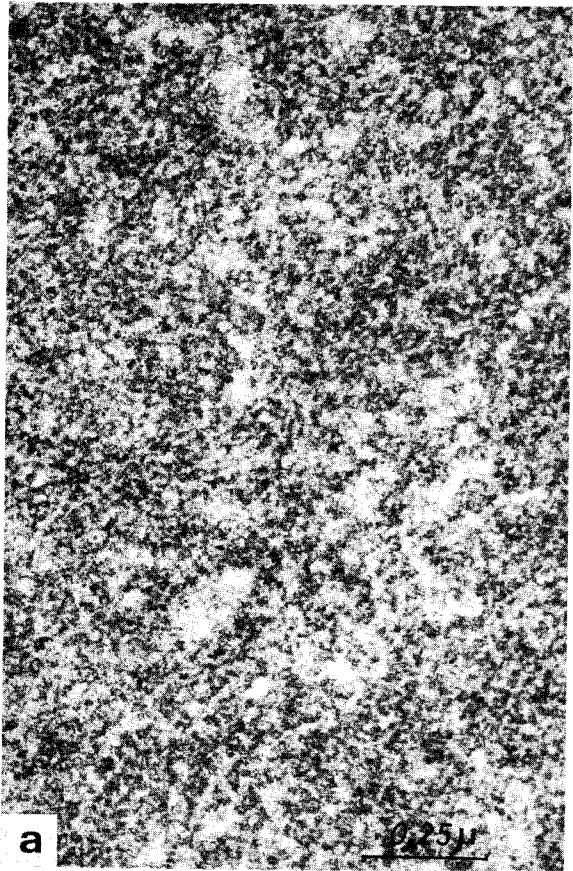
x 84 000

Fig. c - Même matériel et même technique que Fig. a et Fig. b. On distingue nettement la structure fibrillaire (flèches) des granules nucléolaires extraits.

x 240 000

Fig. d - Résidu nucléolaire obtenu après extraction des granules nucléolaires. Le résidu est fibrillaire et semble constitué de fragments du réseau nucléolaire.

x 75 000



BUS
LILLE

PLANCHE 20

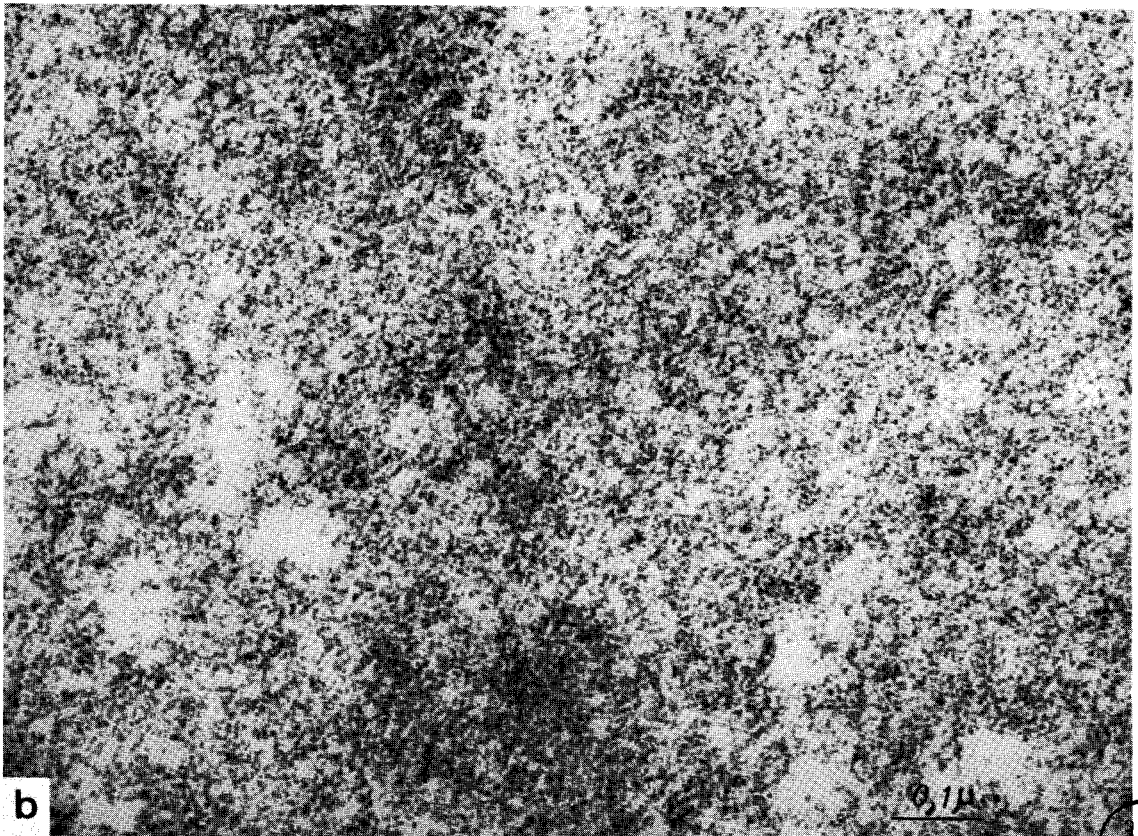
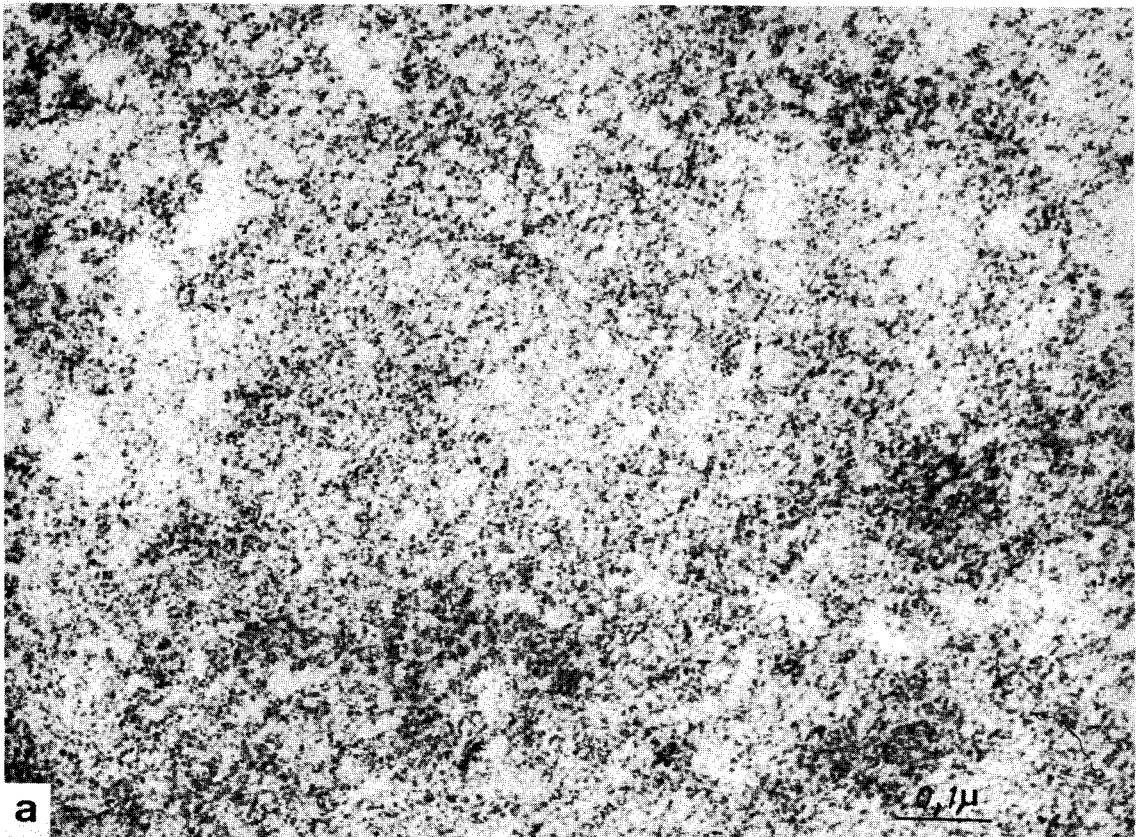
Localisation des protéines basiques au niveau des granules nucléolaires extraits.

Fig. a - Granules nucléolaires extraits, traités après fixation au formol, par la solution de colloïde électro-négatif de pH 10,5. Les granules sont colorés.

x 120 000

Fig. b - Même matériel que celui de la Fig. a. Ici, le traitement par la solution de colloïde électro-négatif de pH 10,5 a été précédé d'une digestion à la RNase. L'action de la RNase ne semble pas avoir augmenté la densité de la coloration des granules.

x 120 000



US
LIFE

PLANCHE 21

Mise en évidence de protéines basiques
au niveau des corps pelotonnés.

Fig. a - Noyau de cellule hépatique de Rat. Coupe colorée par le technique à l'E.D.T.A. de BERNHARD (1969). La chromatine n'est pas colorée. Les ribonucléoprotéines sont révélées préférentiellement :

Nu - nucléole
Gp - grains périchromatiniens
Gi - grains interchromatiniens
Fibrilles périchromatiniennes (flèches)
Corps pelotonné (entouré d'une ligne discontinue).

x 45 000

Fig. b - Noyau de cellule hépatique de Rat. Coupes au cryostat digérées à la pepsine puis traitées par la solution de colloïde électronégatif de pH 10,5. Le réseau du nucléole (Nu) est coloré ainsi que le corps pelotonné (Cp).

x 40 000

Fig. c - Même matériel, même technique que Fig. b. Autre exemple de localisation des protéines basiques du nucléole (Nu) et du corps pelotonné (Cp).

x 45 000

On peut noter la localisation des corps pelotonnés à proximité du nucléole.

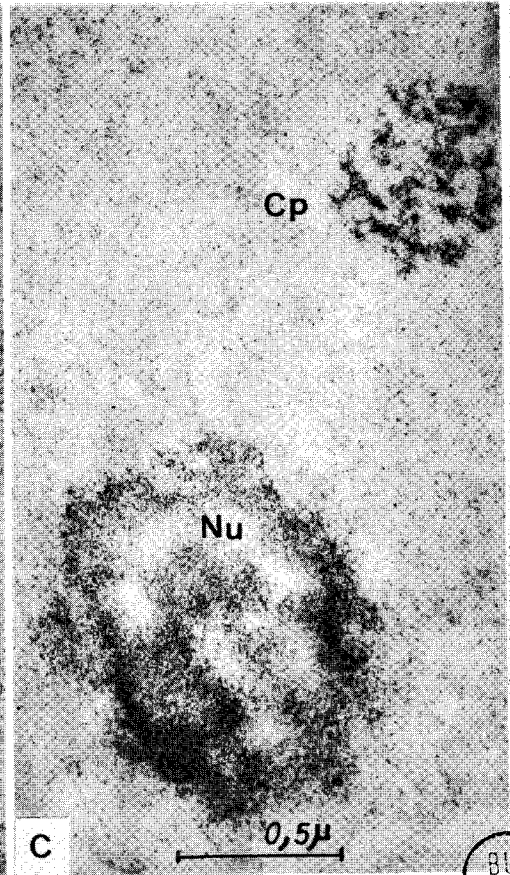
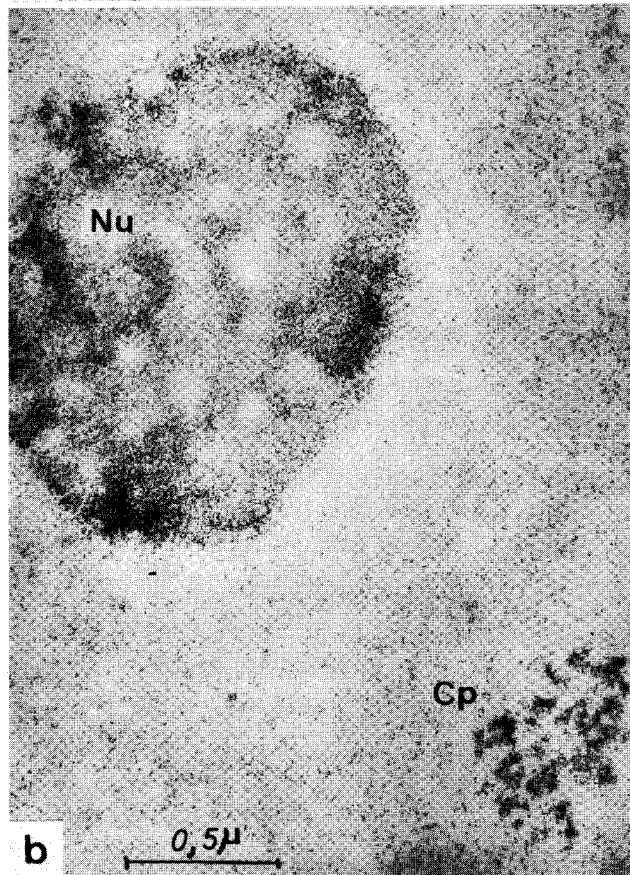
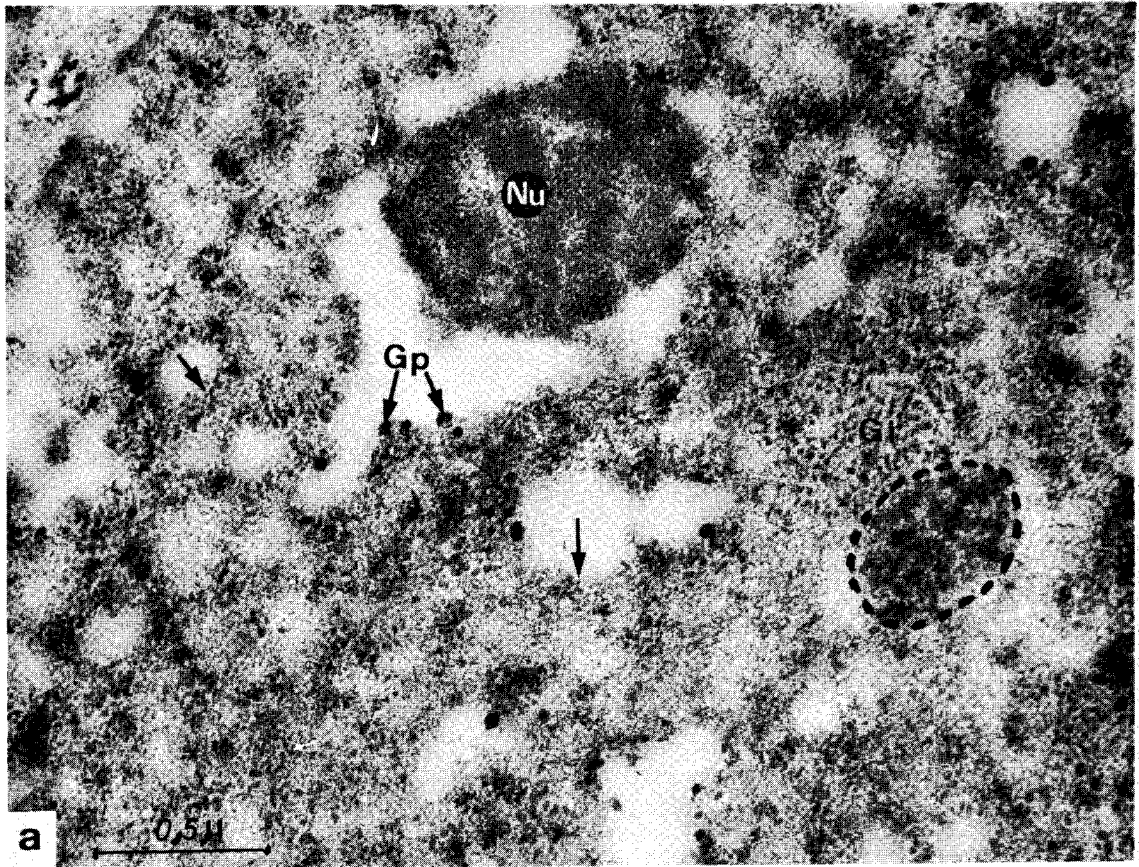


PLANCHE 22

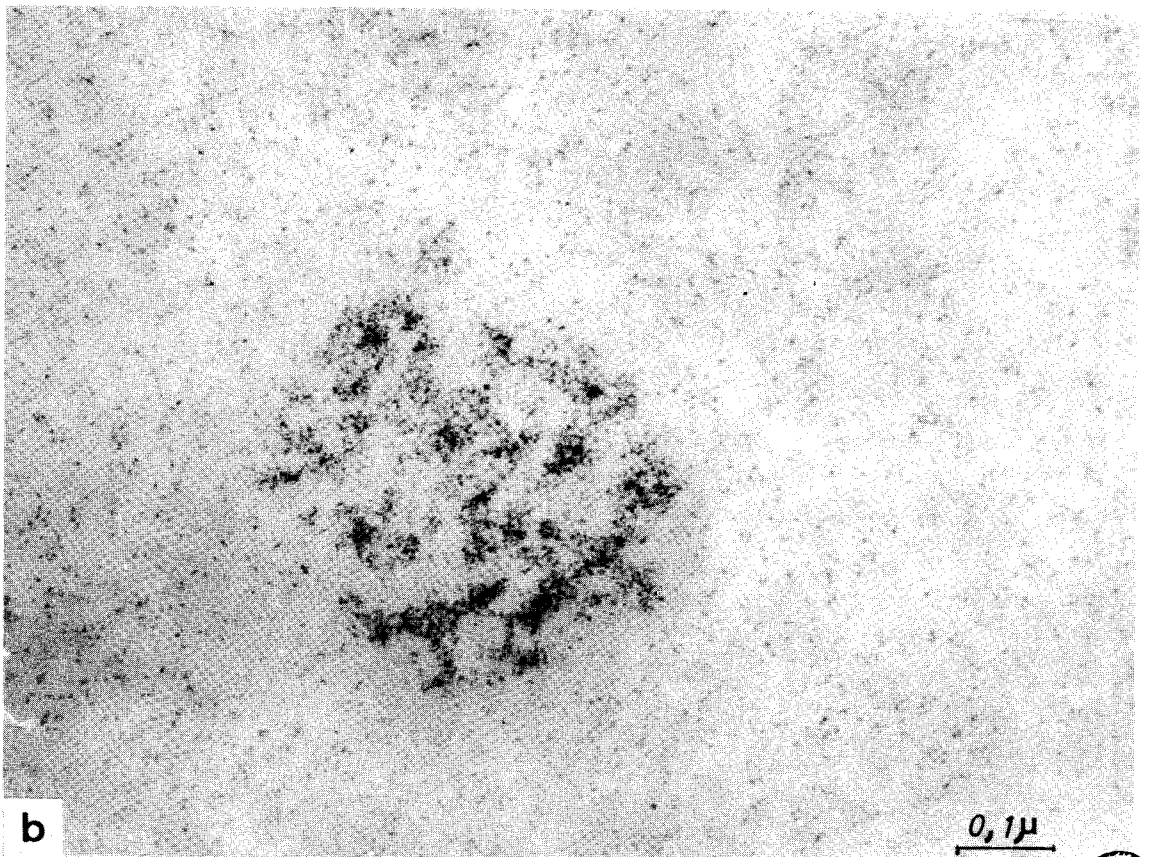
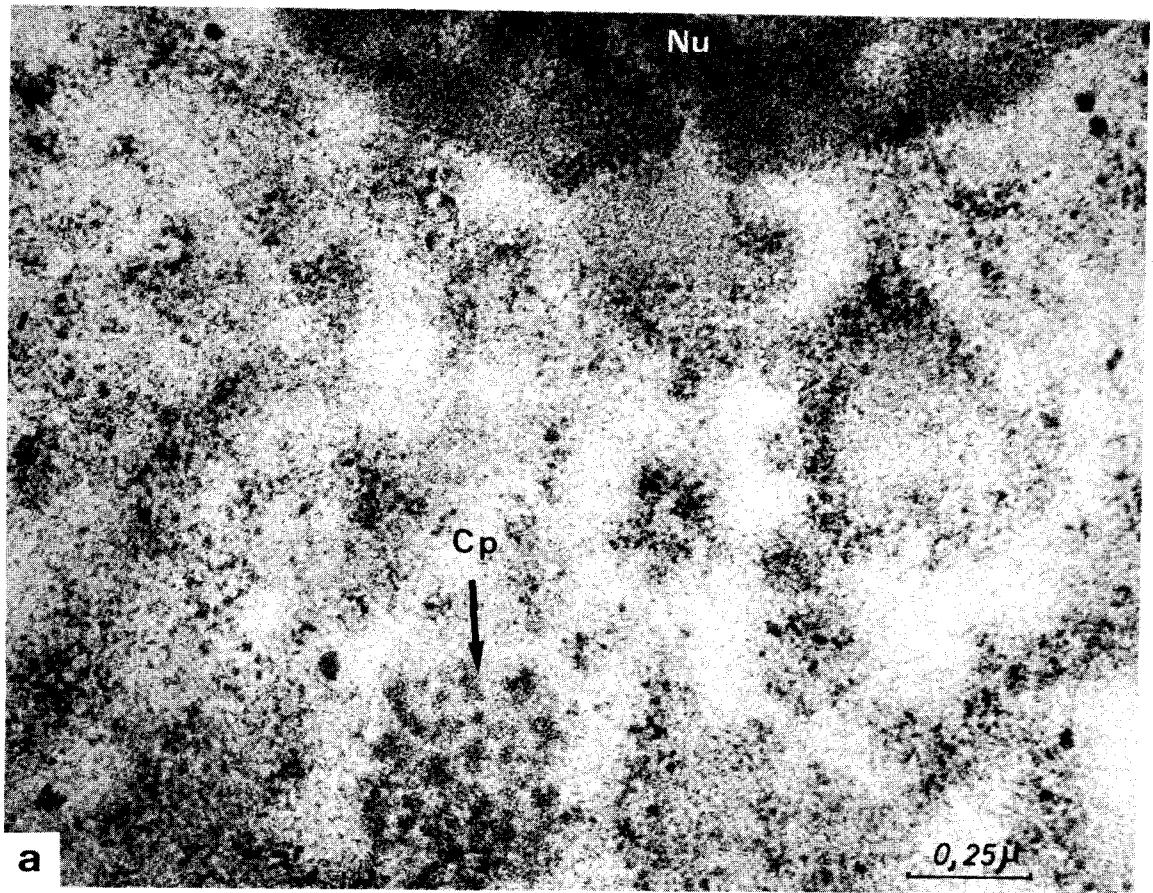
Mise en évidence de protéines basiques
au niveau des corps pelotonnés.

Fig. a - Noyau de cellule hépatique de Rat. Coloration
par la technique à l'E.D.T.A. de BERNHARD (1969).
Détail au niveau d'un corps pelotonné (Cp).
Nu - Nucléole.

x 63 000

Fig. b - Noyau de cellule hépatique de Rat. Coupes au
cryostat digérées à la pepsine puis traitées par
la solution de colloïde électronégatif de pH 10,5.
Révélation des protéines basiques d'un corps
pelotonné.

x 126 000



SUS
LITTLE

PLANCHE 23

Isolement des noyaux et nucléoles de foie
de rats traités à l'actinomycine D.

Fig. a et Fig. b - Noyaux isolés 2 h 30 après l'injection
d'actinomycine D chez l'animal. Le
nucléole (Nu) présente une ségrégation
nette de ses constituants.

g - granules

v - vacuole

Fig. a : x 12 000

Fig. b : x 21 000

Fig. c et Fig. d - Nucléoles isolés 2 h 30 après l'injection
d'actinomycine D chez l'animal.
Ségrégation nette des constituants
fibrillaires (f) et granulaires (g).

v - vacuole

Fig. c : 25 000

Fig. d : 36 000

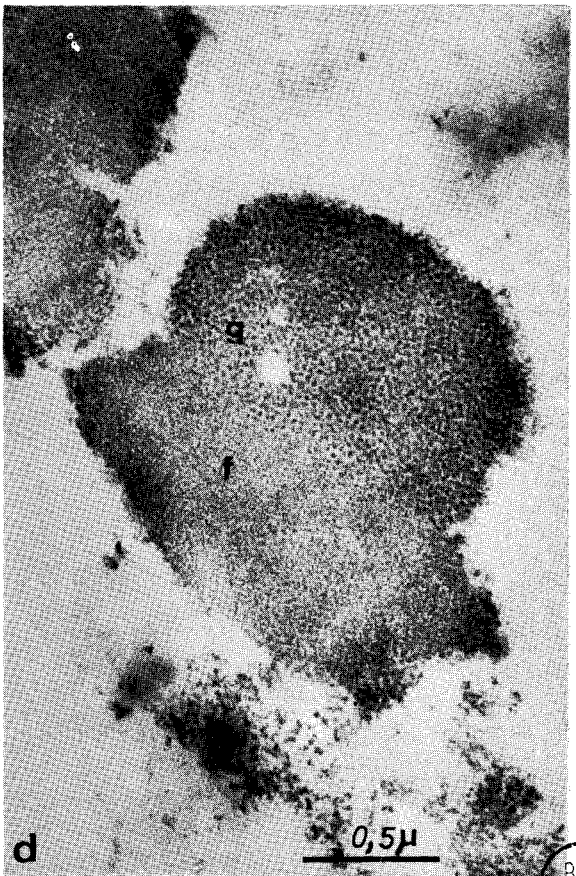
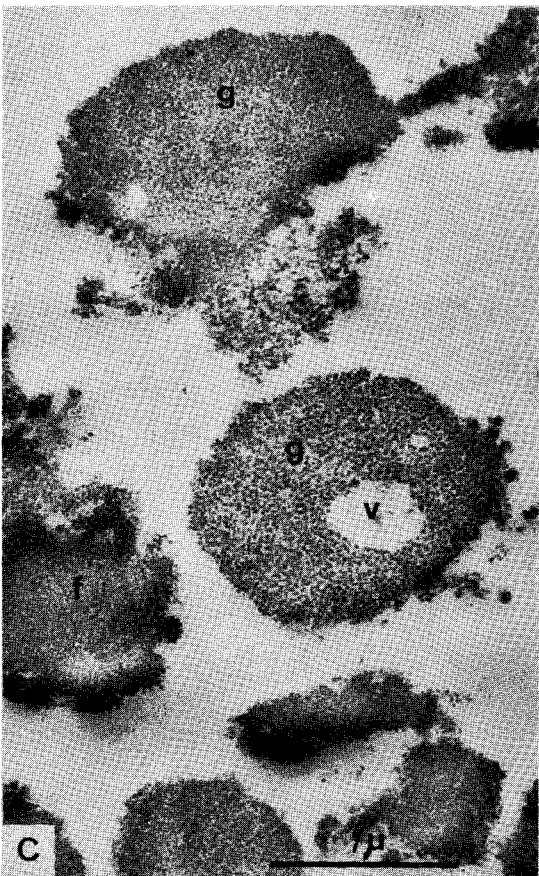
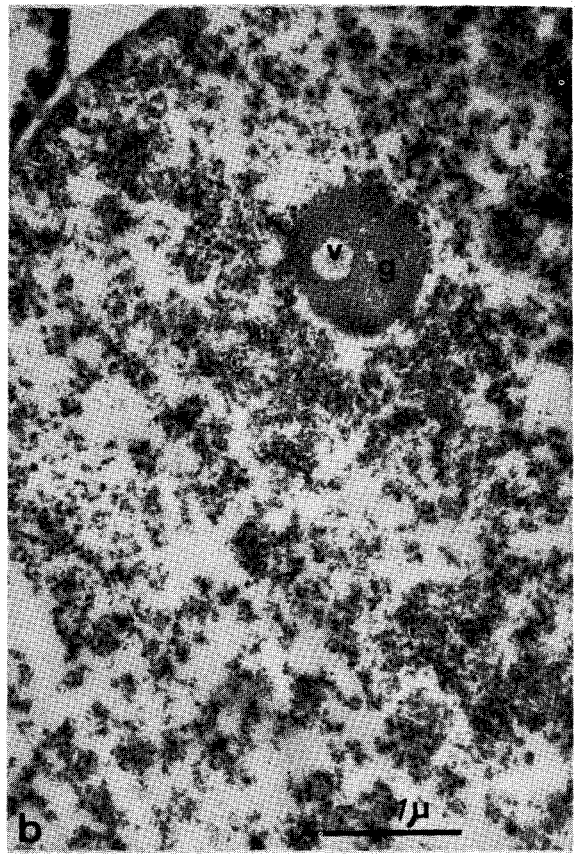
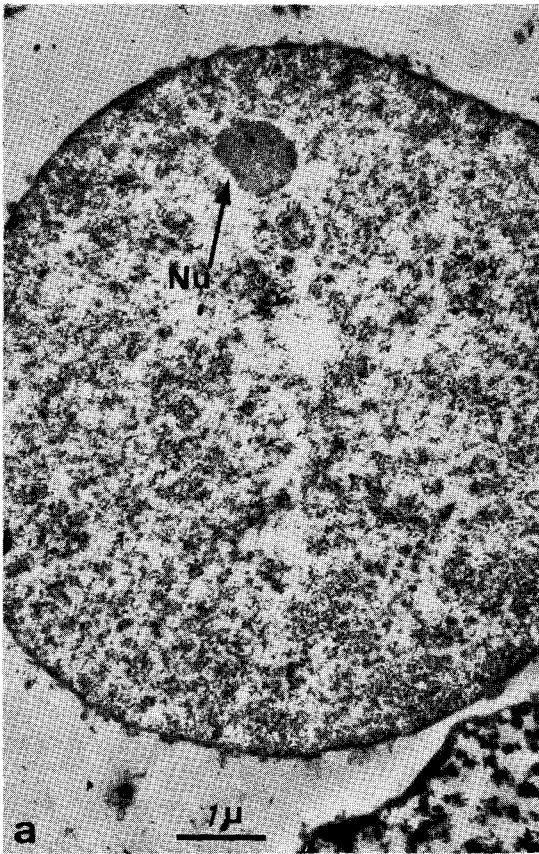


PLANCHE 24

Cytochimie du nucléole lésé par
action de l'actinomycine D.

Comparaison entre coupe témoin et coupe digérée (pepsine +
RNase) au niveau du même nucléole.

Fixation glutaraldehyde. Inclusion GMA. Coloration à
l'acétate d'uranyle (15 mn) et au citrate de plomb
(1 sec).

Noyaux isolés de cellule hépatique de Rat, 2 h 30 après
l'injection d'actinomycine D.

Fig. a - Coupe témoin. On observe 3 compartiments dans
le nucléole.

- 1 - Compartiment fibrillaire dense
- 2 - Compartiment granulaire dense
- 3 - Compartiment granulaire clair

mb - Enveloppe nucléaire

x 36 000

Fig. b - Coupe soumise à la double action pepsine puis
RNase.

- 1 - Compartiment fibrillaire dense très
résistant
- 2 - Compartiment granulaire dense moyennement
résistant
- 3 - Compartiment granulaire clair faiblement
résistant.

mb - Enveloppe nucléaire

x 36 000

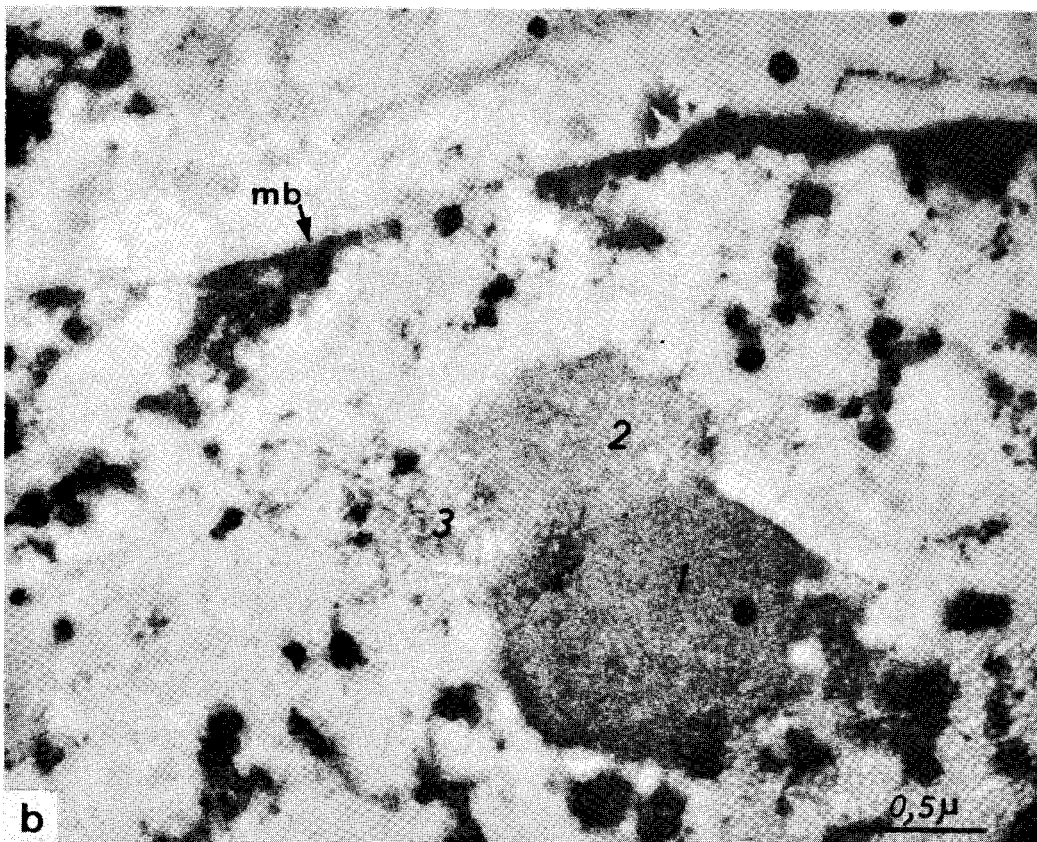
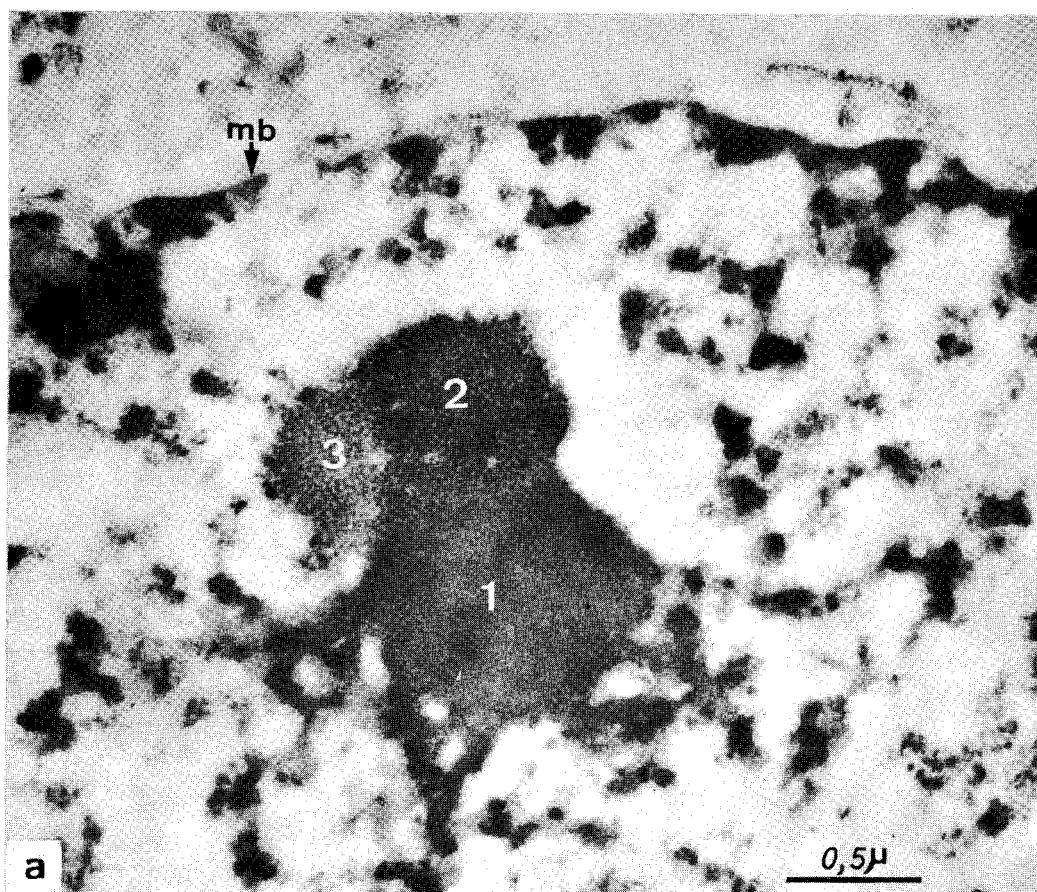


PLANCHE 25

Révélation des protéines basiques des nucléoles après
action de l'actinomycine D.

Fig. a et Fig. b - Juxtaposition d'une zone A fortement
colorée et d'une zone B plus faiblement
colorée.

Fig. a : x 27 000

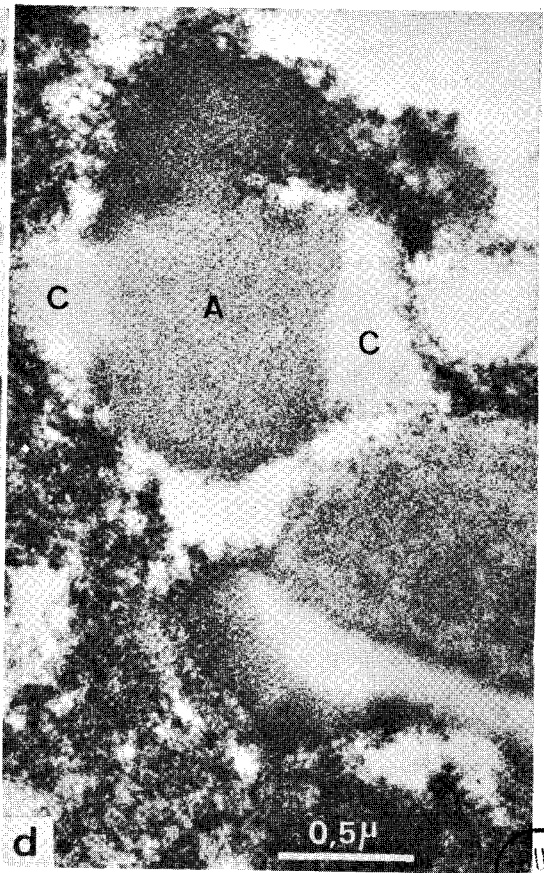
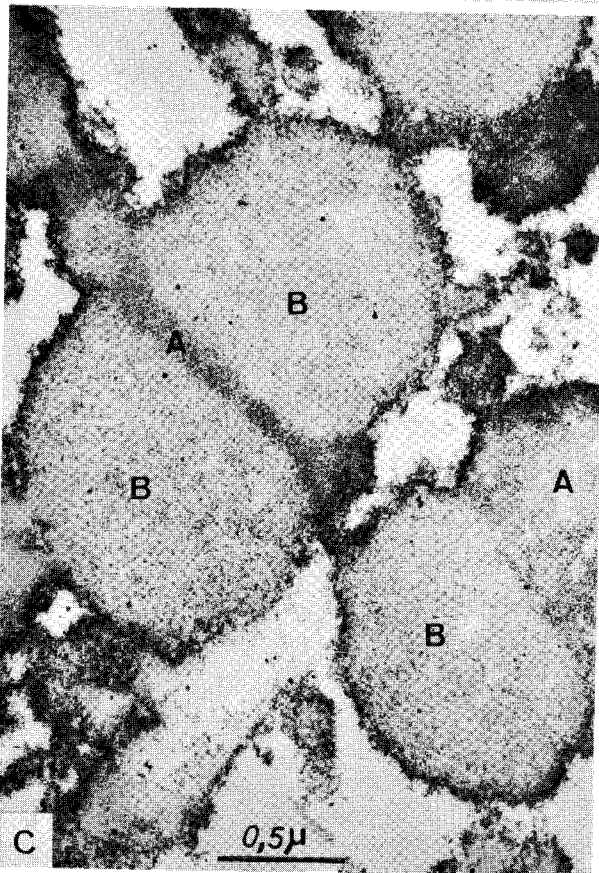
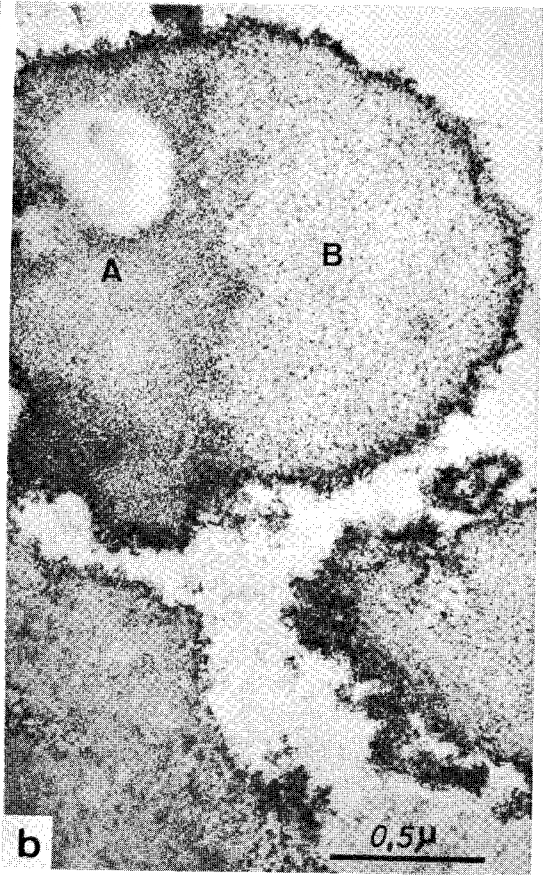
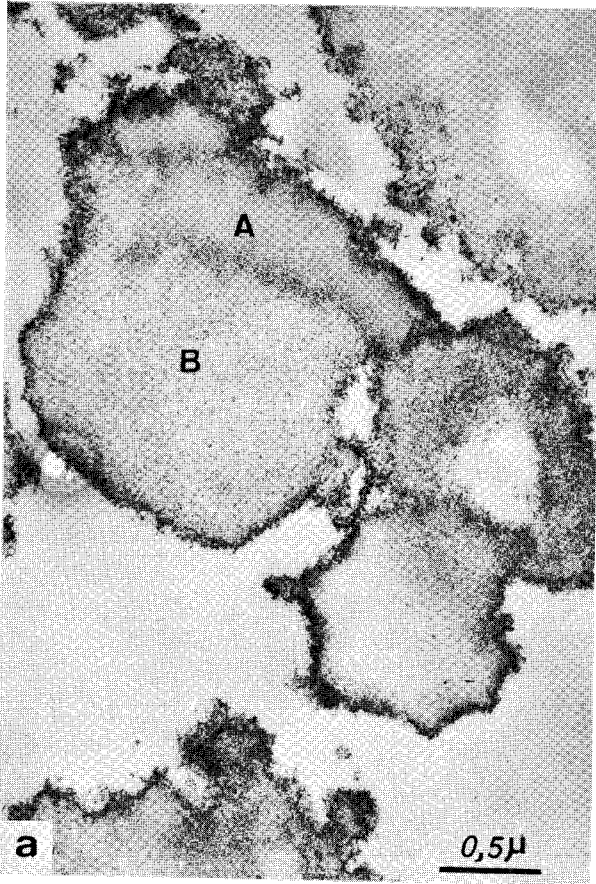
Fig. b : x 39 000

Fig. c - La zone fortement colorée, A, sépare deux zones plus
faiblement colorées B.

x 33 000

Fig. d - Mise en évidence d'une zone C, non colorée.
A - Zone fortement colorée.

x 36 000



U.S. LITTLE

PLANCHE 26

Révélation des protéines basiques des nucléoles de foie de
Rat in situ, après action de l'actinomycine D.

Fig. a - Cellule hépatique de Rat 2 h 30 après l'injection
d'actinomycine D. Traitement par la solution de
colloïde électronégatif de pH 10,5. On observe dans
le nucléole une plage A fortement colorée et une
plage B, plus faiblement colorée.
La chromatine n'est pas colorée.

x 48 000

Fig. b - Même matériel et même technique que Fig. a.
A - Compartiment fortement coloré.
La chromatine n'est pas colorée.

x 35 200

Fig. c - Même matériel que Fig. a et Fig. b.
Avant traitement par la solution de colloïde
électronégatif de pH 10,5, le matériel a été
digéré à la DNAse.
Dans le nucléole, présence du compartiment A forte-
ment coloré. Les histones de la chromatine (Ch)
sont révélées.

x 41 600

Fig. d - Même matériel et même technique que Fig. c.
Les histones (de la chromatine (Ch)) sont révélées.
Dans le nucléole (Nu) juxtaposition des compartiments
A, fortement coloré et B, plus faiblement coloré.

x 54 000

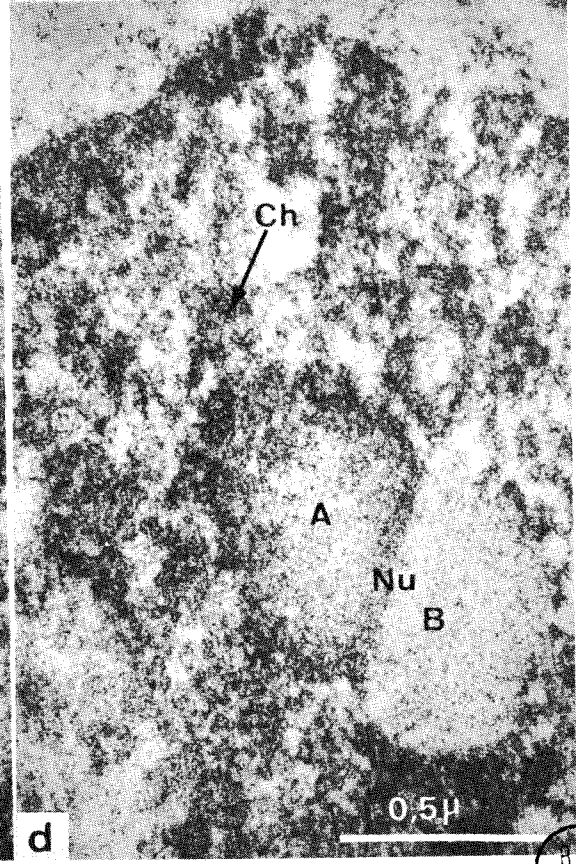
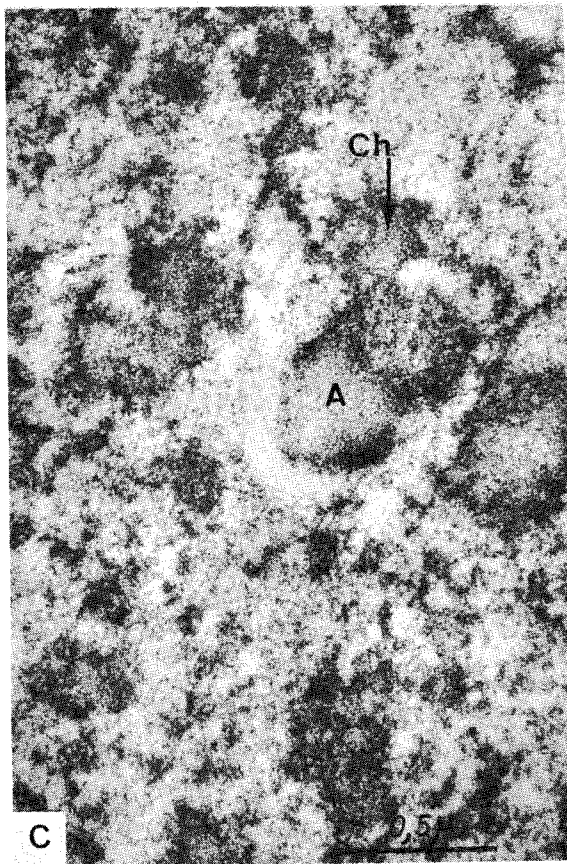
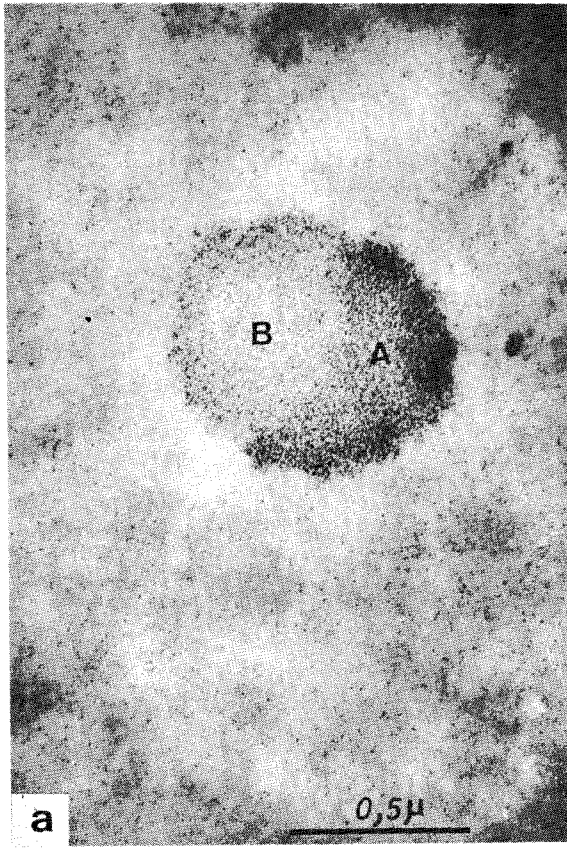


PLANCHE 27

Morphologie des noyaux isolés : Noyaux "CHAUVEAU"

Fig. a - Sédiment de noyaux type "CHAUVEAU"

Le nucléole (Nu) est dense. La membrane externe de l'enveloppe nucléaire se détache par endroits (flèche). Le nucléoplasme est homogène. Double fixation - Double coloration.

x 5 600

Fig. b - Frottis de la fraction de noyaux isolés type

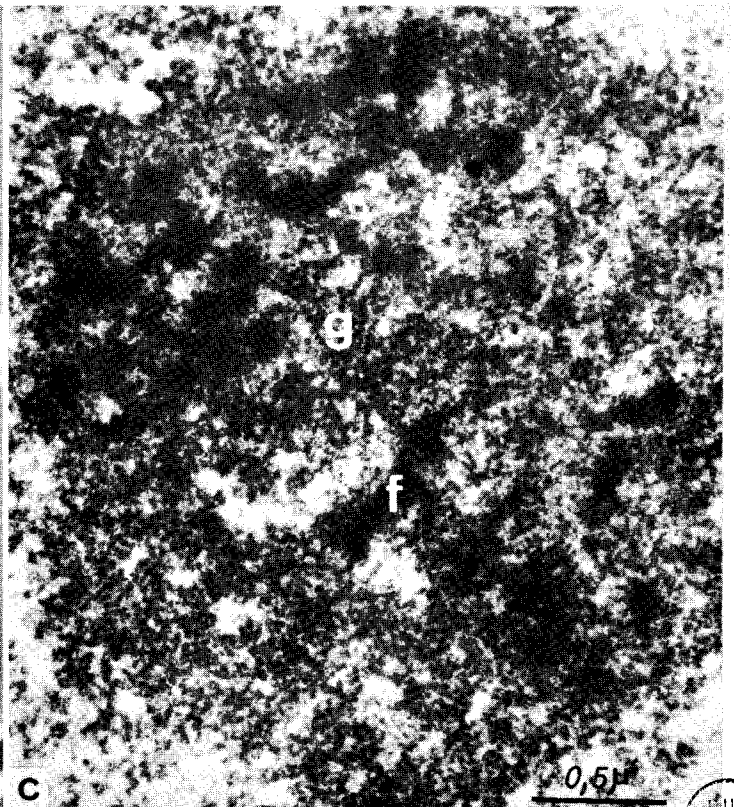
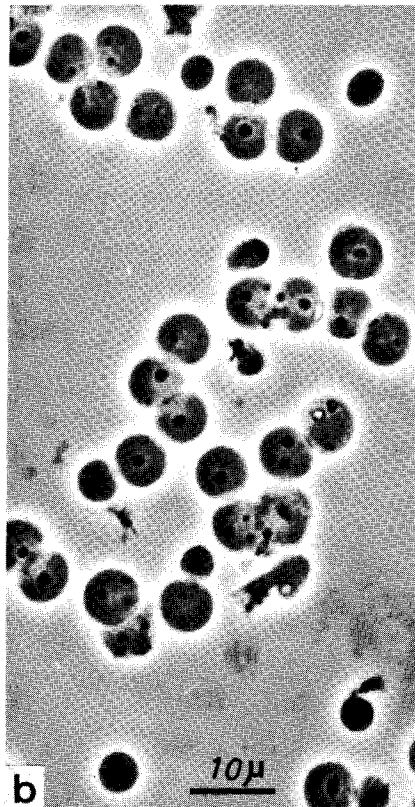
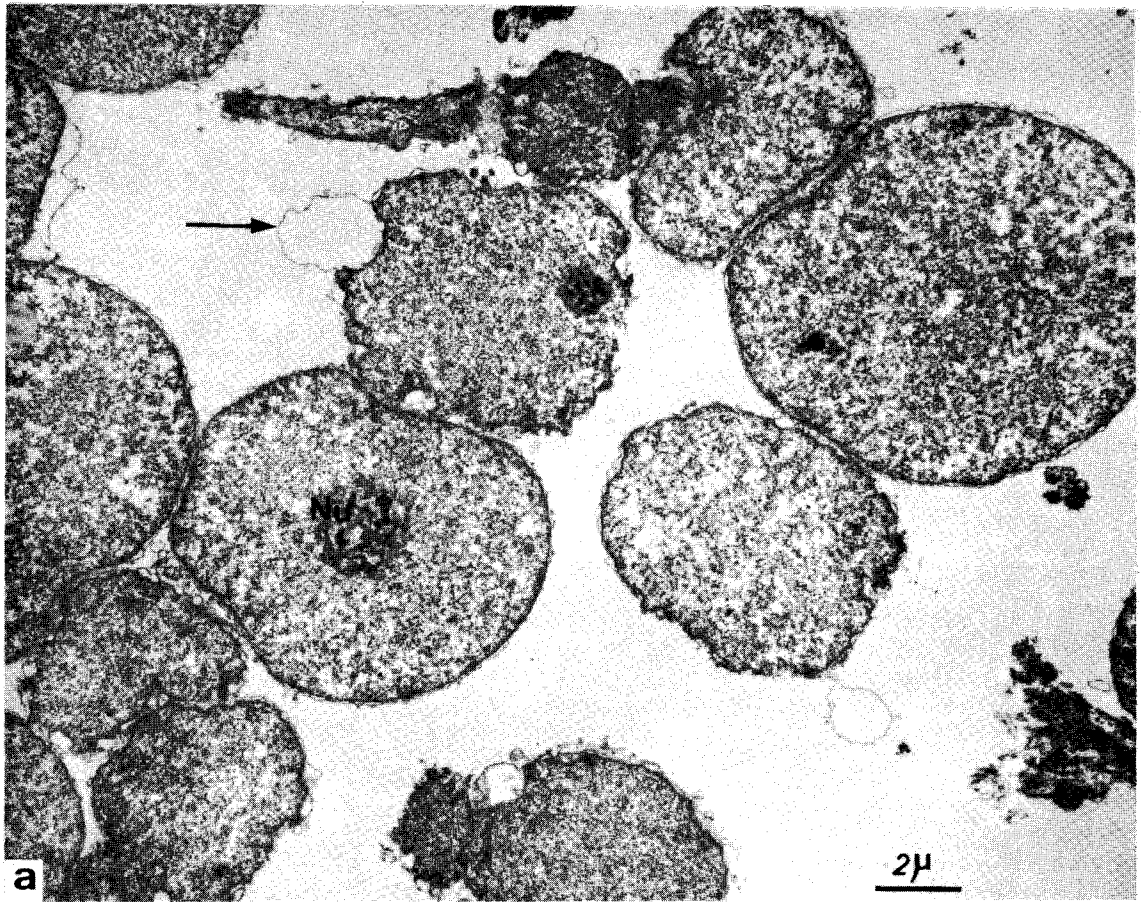
"CHAUVEAU" ; photographie au microscope à contraste de phase. Les nucléoles sont denses. Peu de contamination.

x 1 100

Fig. c - Nucléole de noyaux isolés type "CHAUVEAU", témoin de diffusion.

Présence des granules (g) et du réseau fibrillaire (f).

x 36 000



415
LILLE

PLANCHE 28

Noyaux isolés type "CHAUVEAU"

Fig. a - Détail de l'enveloppe des noyaux isolés type "CHAUVEAU". La flèche indique des ribosomes accrochés à la membrane externe.

x 54 400

Morphologie des noyaux isolés : Noyaux "HYMER et KUFF"
(Fig. b - c et d)

Fig. b - Noyaux isolés type "HYMER et KUFF". La membrane externe de l'enveloppe nucléaire a disparu.

Nu - nucléole

x 6 400

Fig. c - Noyaux type "HYMER et KUFF" Coupe semi-fine de la fraction.

x 800

Fig. d - Noyau type "HYMER et KUFF". Le nucléole (Nu) présente un aspect normal. La chromatine périnucléolaire (Ch. p.) est peu révélée.

x 15 000

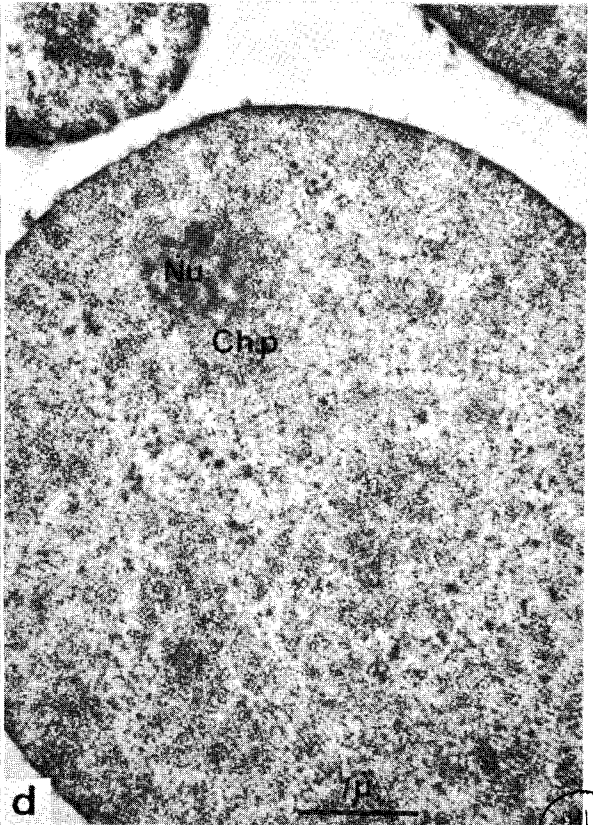
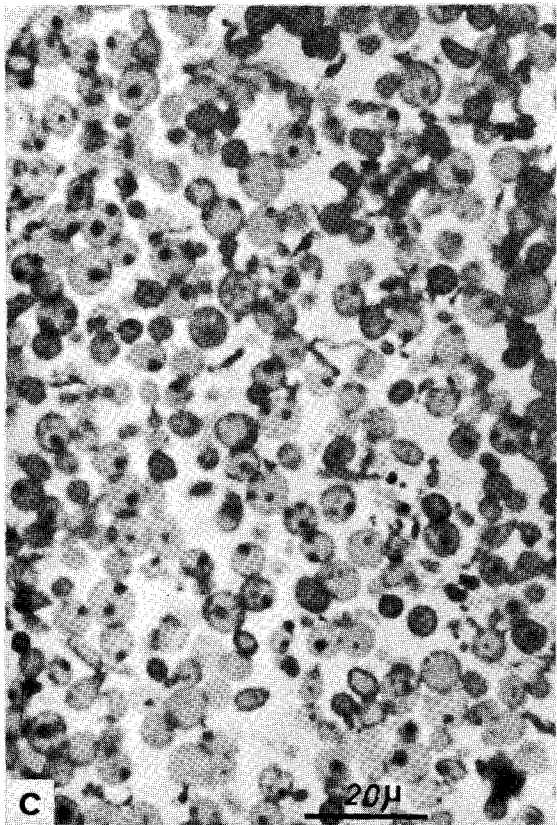
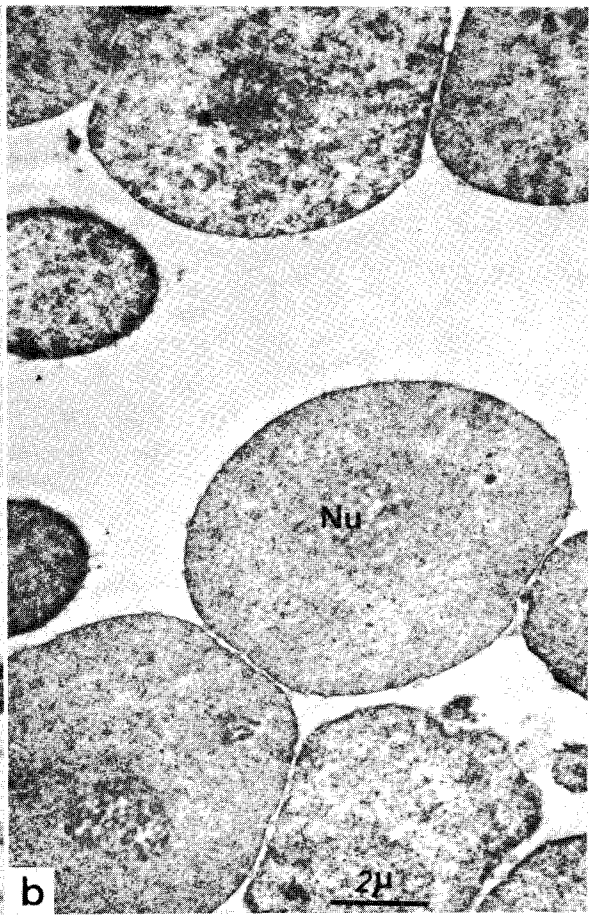
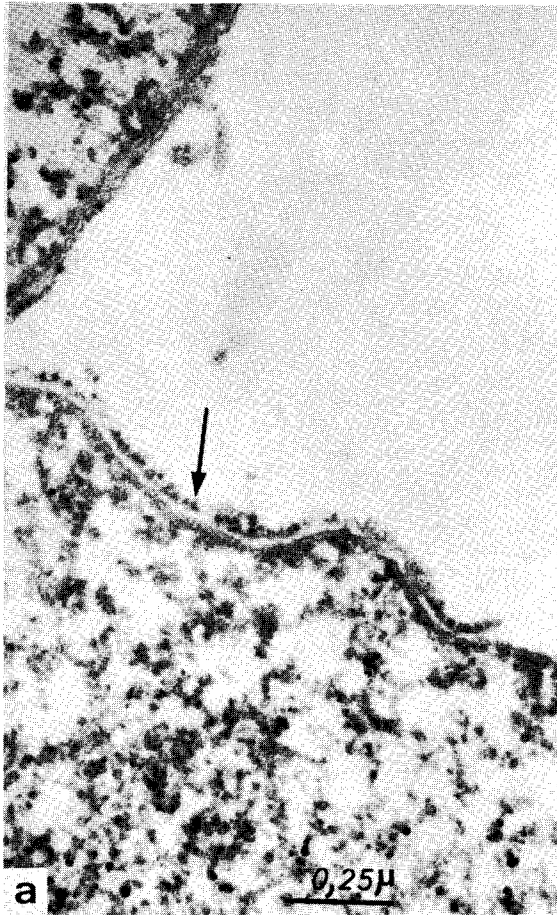


PLANCHE 29

Morphologie des noyaux après 3 h 30 de diffusion

Fig. a - Noyau type "CHAUVEAU" après 3 h 30 de diffusion. L'enveloppe nucléaire(mb) n'est pas rompue. Le nucléoplasme est homogène, le nucléole (Nu) présente un aspect diffus.

f - réseau fibrillaire du nucléole
g - granules nucléolaires

x 24 000

Fig. b - Noyaux type "HYMER et KUFF" après 3 h 30 de diffusion. Les noyaux sont légèrement déformés. Le nucléoplasme est homogène. Le nucléole (Nu) est réduit et peu dense.

x 9 500

Fig. c - Nucléole (Nu) d'un noyau type "CHAUVEAU" après 3 h 30 de diffusion. Seul le compartiment fibrillaire (f) reste dense. Les granules nucléolaires ont en grande partie disparu.

x 39 000

Fig. d - Nucléole (Nu) d'un noyau type "HYMER et KUFF" après 3 h 30 de diffusion. L'aspect est identique à celui de la Fig. b. Seul, le compartiment fibrillaire (f) reste dense.

x 72 000

BUS
LITE

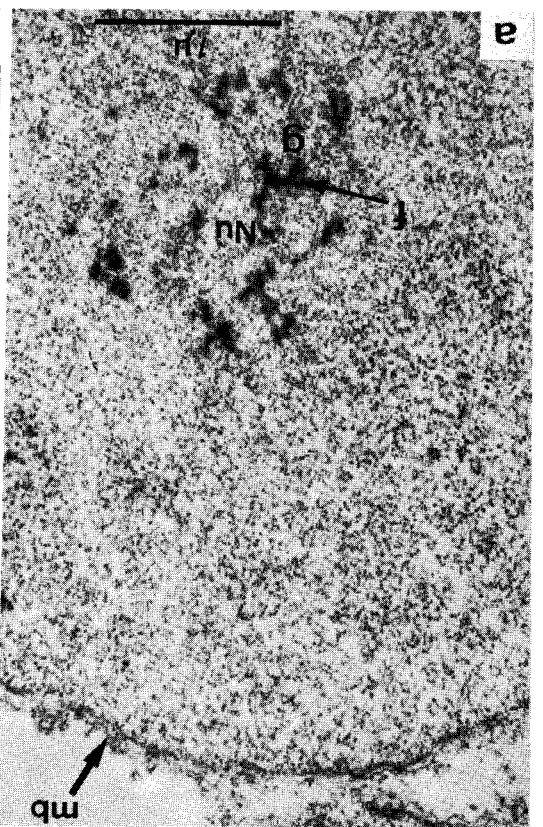
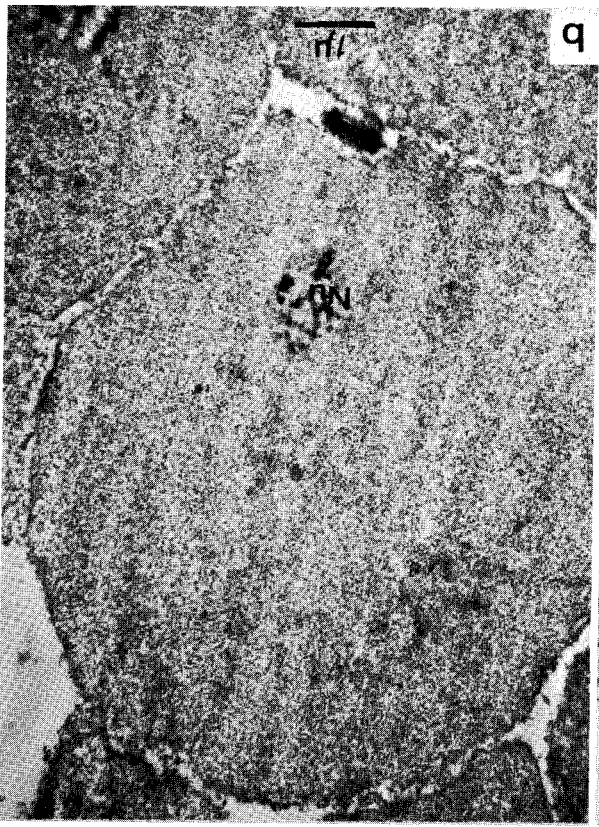
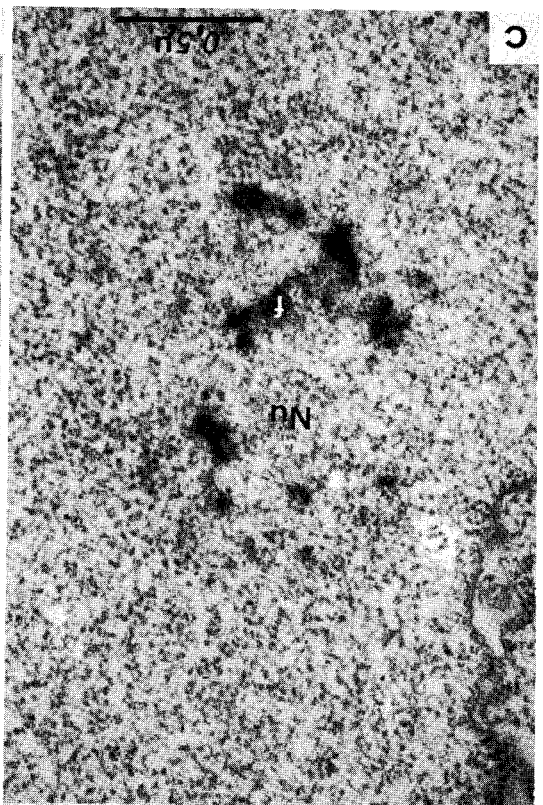
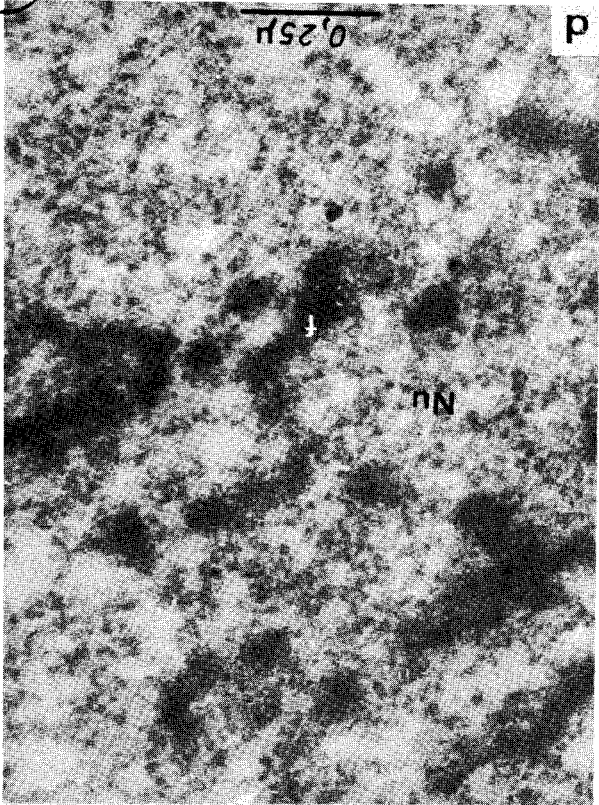


PLANCHE 30

Modifications de la morphologie du nucléole
au cours de la diffusion (Fig. a - b et c).

Fig. a - Nucléole de noyau type "HYMER et KUFF" après
1 h de diffusion. Le nucléole prend un aspect
dispersé. Les granules nucléolaires (g) sont
bien visibles.

x 32 000

Fig. b - Même matériel que celui de la Fig. a, après 3 h
de diffusion. Le centre du nucléole est occupé
par le réseau fibrillaire (f). Les granules (g)
ont migré vers la périphérie.

x 33 600

Fig. c - Même matériel que celui des Fig. a et b, après
4 h 30 de diffusion. On observe une dissociation
complète des éléments du nucléole. L'homogénéité
du nucléoplasme s'est accentuée.

f - fibrilles

x 32 000

Fig. d - Noyaux témoins de diffusion. Frottis sur lame
de quartz, photographié à 260 nm. Les nucléoles
absorbent fortement les rayons UV.

x 480

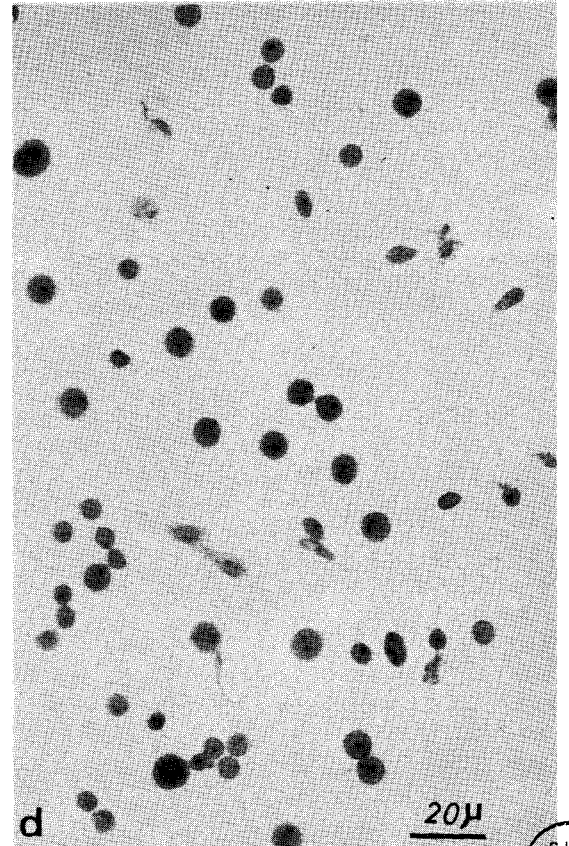
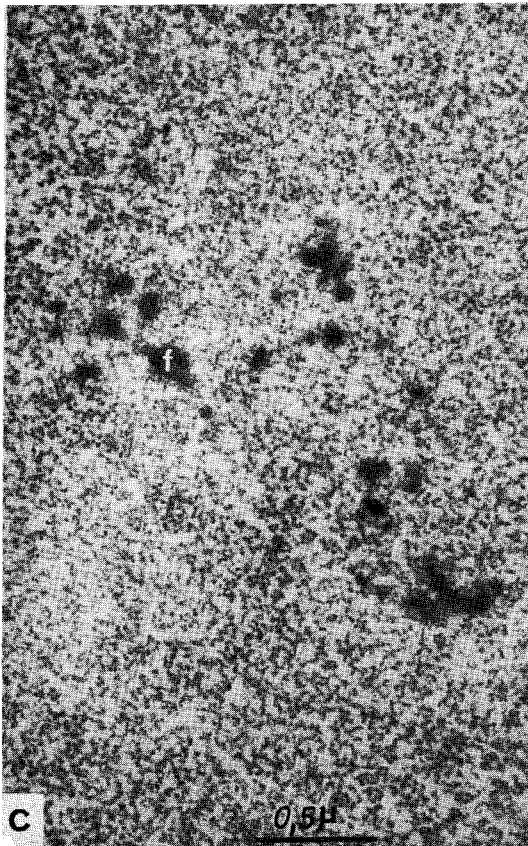
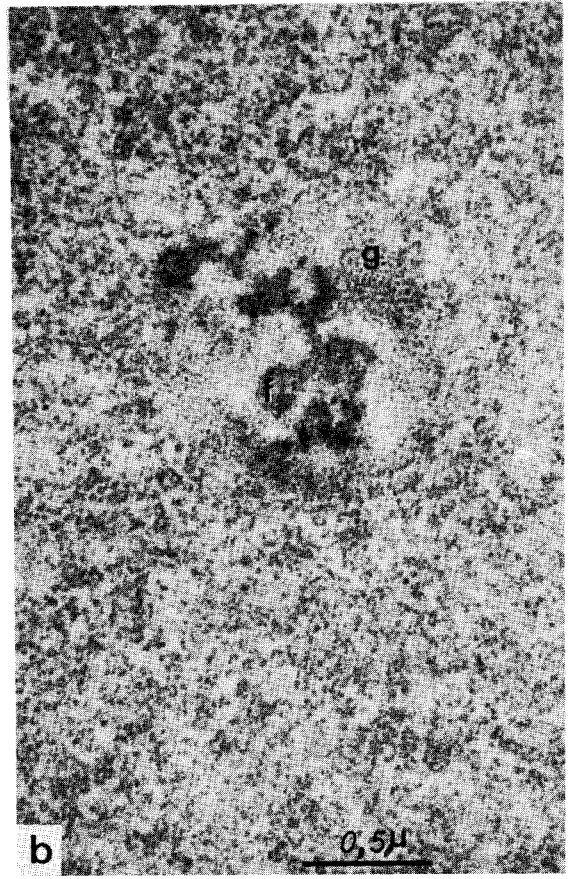
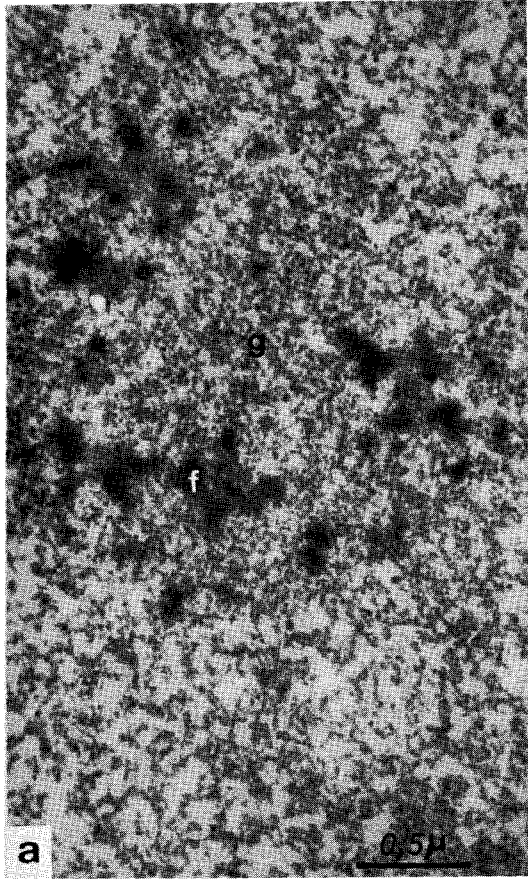


PLANCHE 31

Noyaux témoins et noyaux "diffusés" photographiés en
lumière ultra-violette à 260 nm

Fig. a - Noyaux isolés d'hépatocytes de Rat. Témoins
de diffusion. Frottis sur lame de quartz photo-
graphié en UV à 260 nm. Les nucléoles (Nu)
absorbent fortement.

x 2 700

Fig. b - Même matériel que celui de la Fig. a. Le frottis
a été digéré à la RNAse et photographié en UV
(260 nm). L'absorption au niveau du corps nucléo-
laire est faible. La couronne de chromatine
périnucléolaire (Ch. p.) est nettement révélée.

x 3 000

Fig. c - Noyau "diffusé" pendant 3 h 30. Frottis photogra-
phié en UV (260 nm). L'absorption au niveau du
nucléole (Nu) est à peine plus importante que
celle du nucléoplasme.

x 2 500

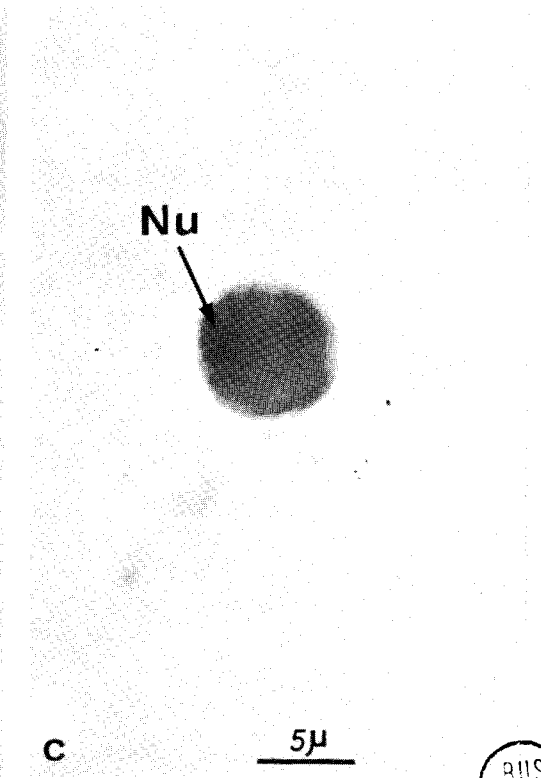
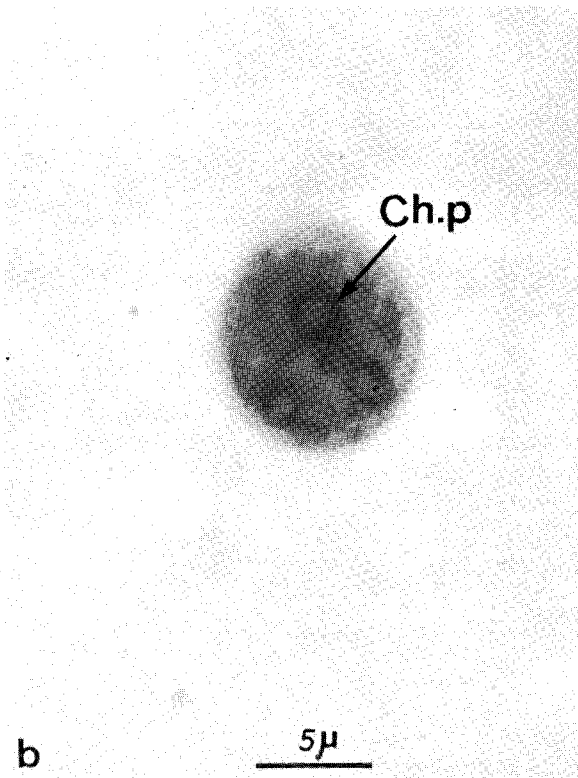
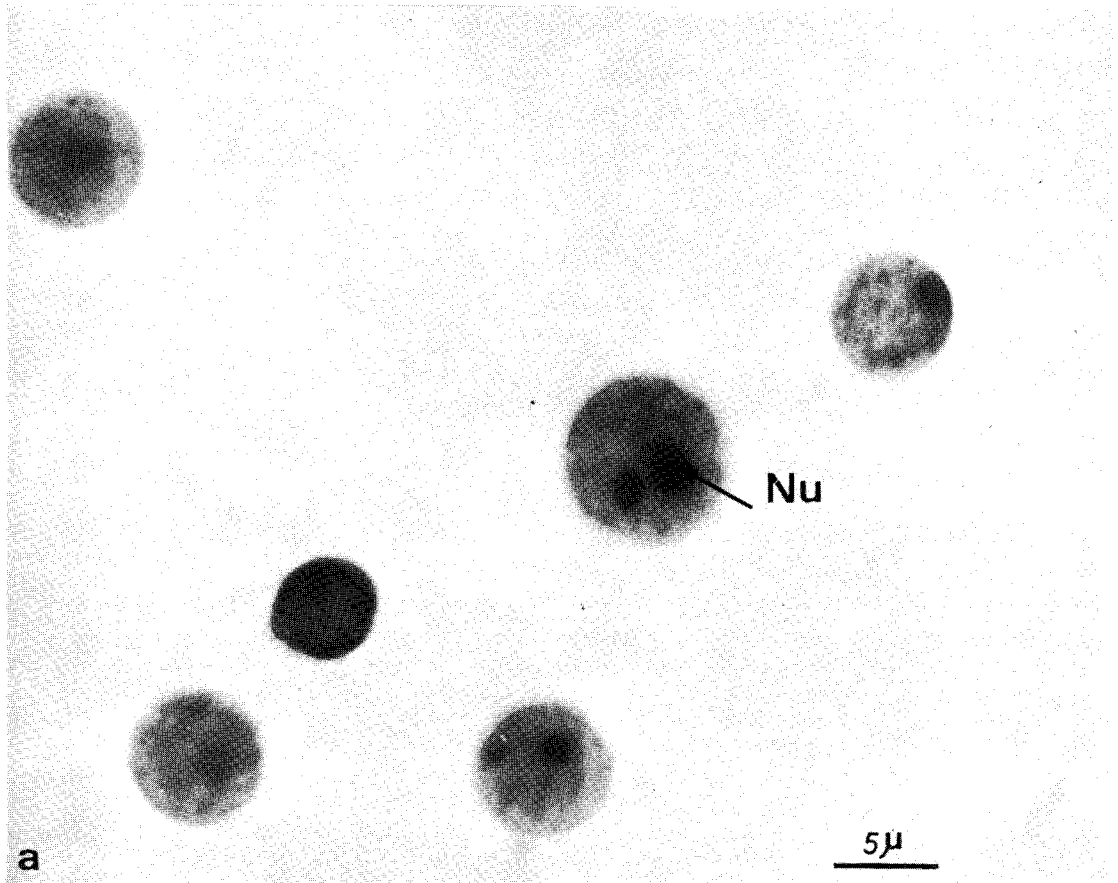


PLANCHE 32

Morphologie des constituants du sédiment RN₁.

Fig. a - Sédiment RN₁ obtenu par "diffusion" des noyaux type "CHAUVEAU".
Double fixation - Double coloration.
Présence à côté des granules, de formations membranaires (m).

x 40 000

Fig. b - Ombrage unidirectionnel au platine après resuspension du sédiment RN₁ et dépôt sur grille. Fixation formol.
Présence de particules et de formations filamenteuses.
Contraste inversé.

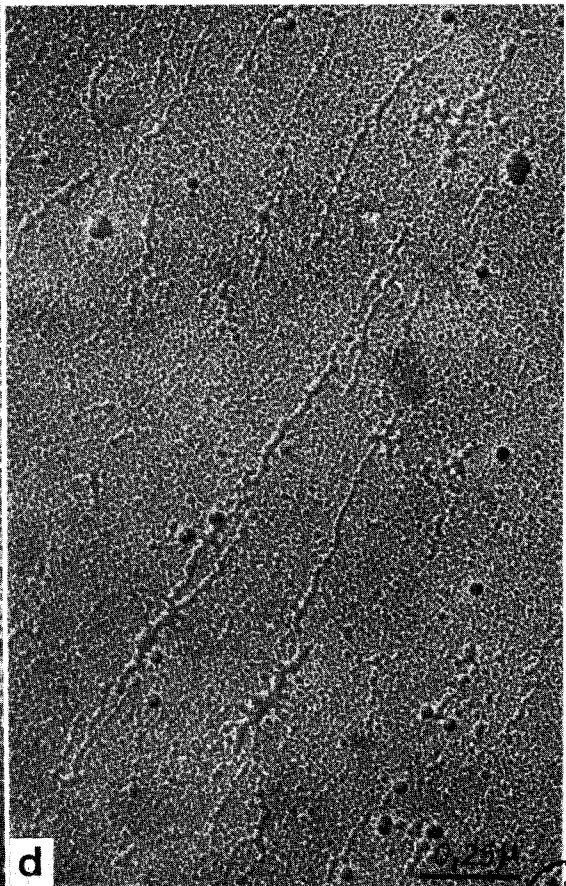
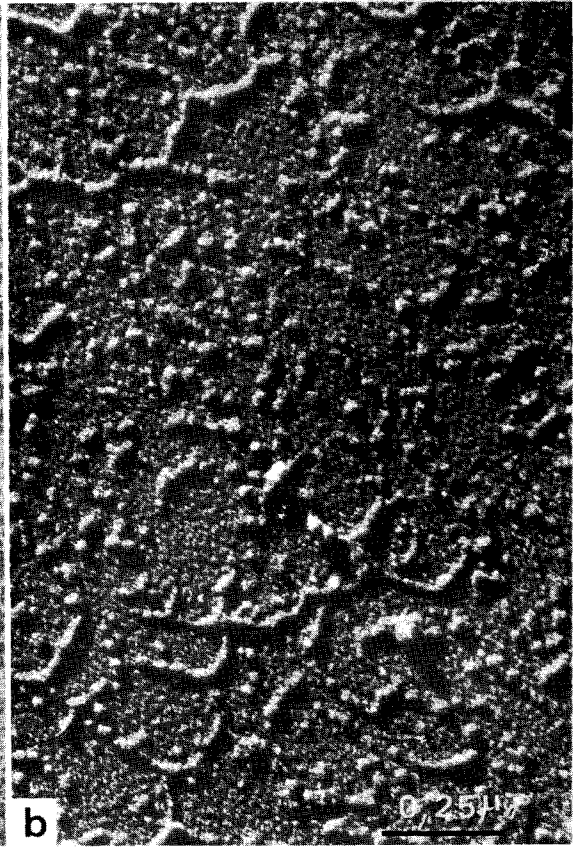
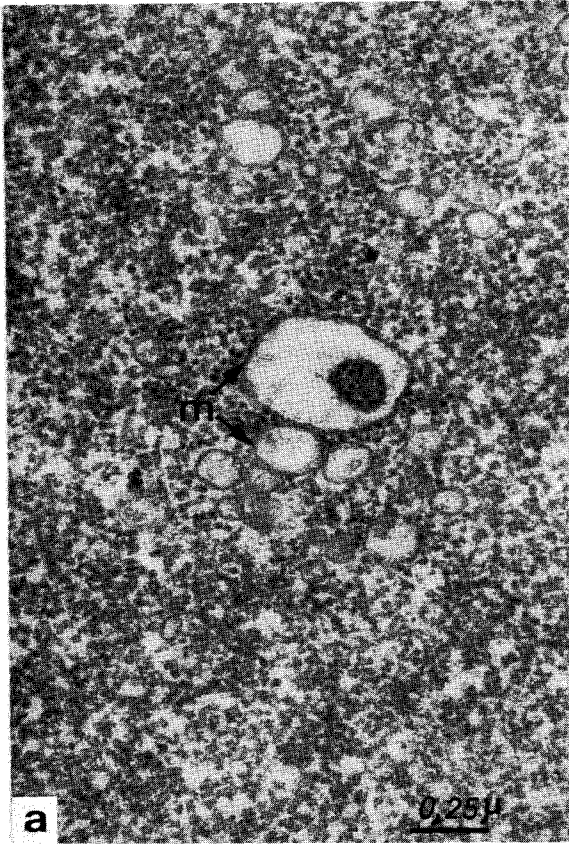
x 64 000

Fig. c - Même matériel et même technique que Fig. b.
Détail d'une formation fibreuse.
Contraste inversé.

x 120 000

Fig. d - Etalement sur film protéique monomoléculaire d'une resuspension du sédiment RN₁. Ombrage par rotation au platine-carbone. Présence de filaments et de granules.

x 50 000



BUS
LILLE

PLANCHE 33

Etude du sédiment RN₁ après étalement sur film
protéique monomoléculaire.

Fig. a - Etalement sur film protéique monomoléculaire
d'une resuspension du sédiment RN₁.
Ombrage par rotation au platine-carbone.
Filaments sur lesquels sont accrochés des
granules.

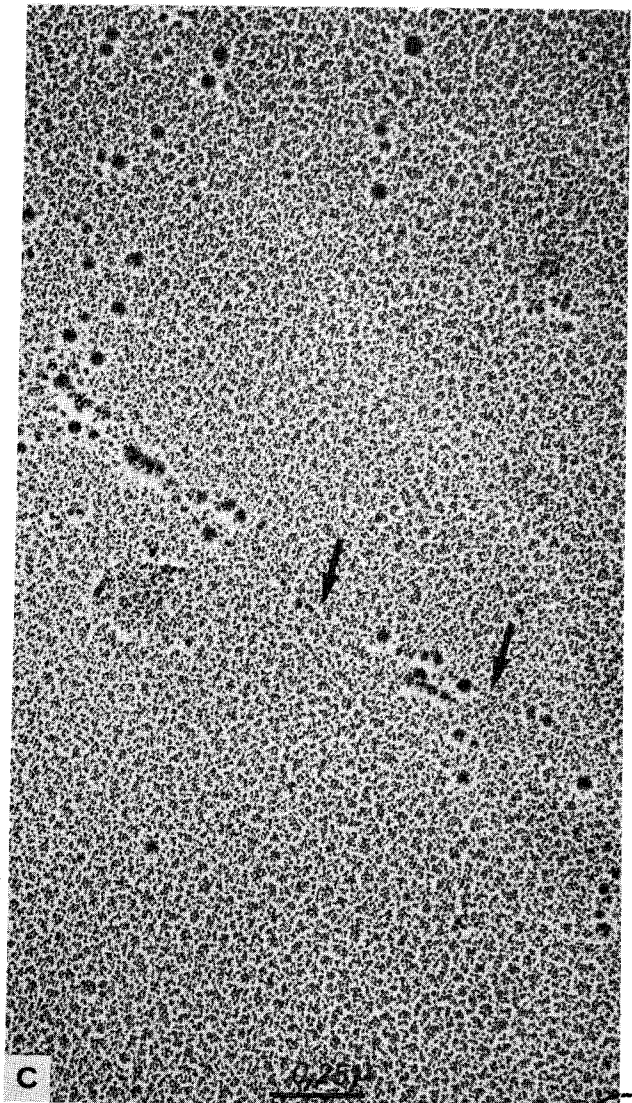
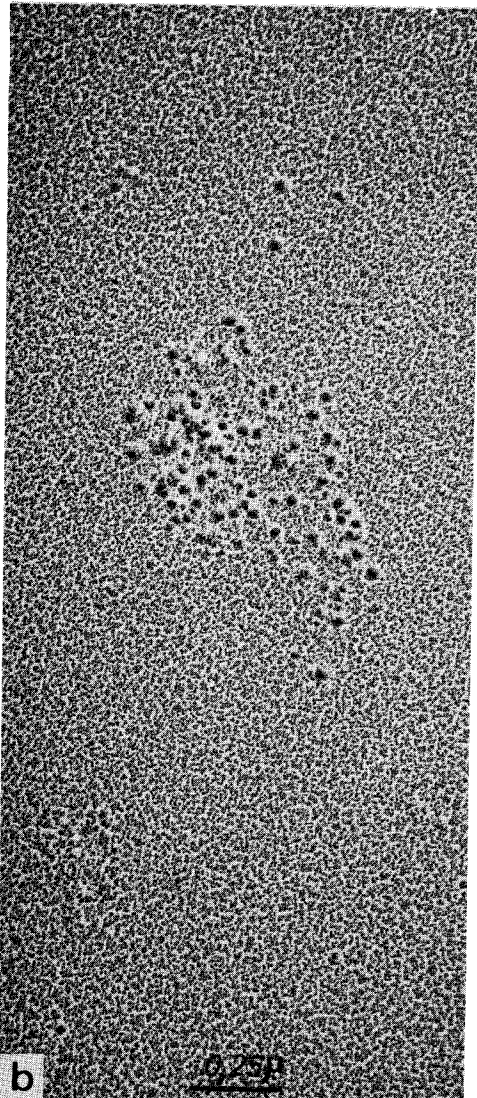
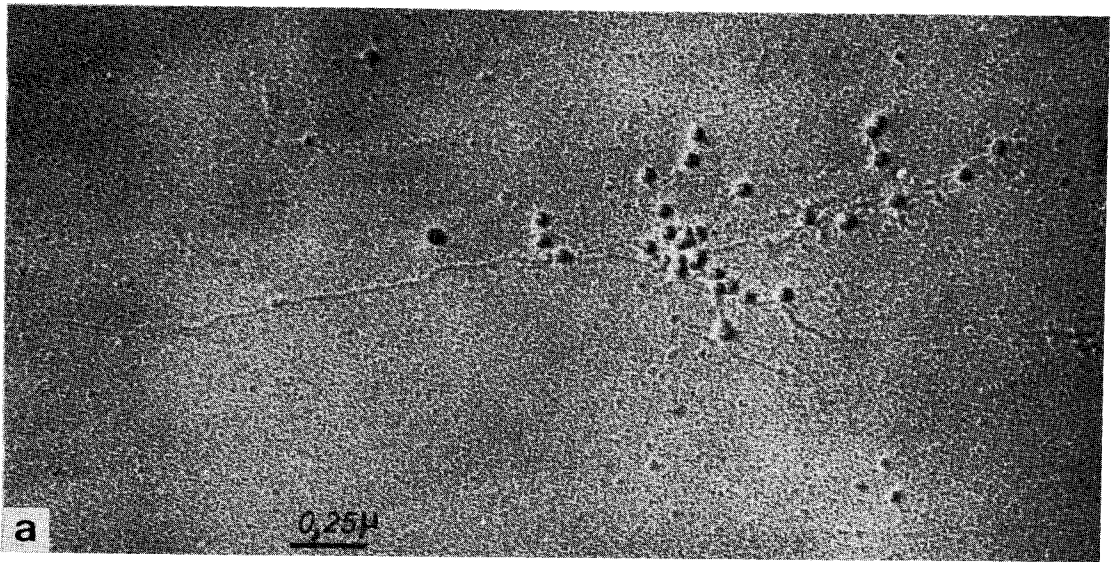
x 40 000

Fig. b - Etalement sur film monomoléculaire d'une resuspension
du sédiment RN₁ digéré à la DNase. Ombrage en rotation
par l'oxyde d'uranium. On observe fréquemment des
groupes de granules. Les filaments sont observés plus
rarement.

x 42 000

Fig. c - Dépôt sur grille d'une resuspension du sédiment RN₁.
Les grilles ont été mises à flotter sur une solution
de DNase. Ombrage en rotation par l'oxyde d'uranium.
En certains endroits (flèches), il semble que l'on
puisse observer des vestiges de filaments
incomplètement digérés.

x 42 000



BUS
LIFE

Morphologie en colorations positives et négatives
des constituants du sédiment RN₁ (Fig. a - b - c - d).

Fig. a et Fig. b - Colorations positives après dépôt sur
grilles d'une resuspension du sédiment RN₁.
On observe la présence de granules et de
grosses formations fibreuses. Coloration
acide phosphotungstique et acétate
d'uranyle.

x 45 000

Fig. c - Même matériel et même technique que Fig. a et b.
Les colorations positives ne révèlent pas de sous-
structures à l'intérieur des granules de 220 Å à
250 Å de diamètre.

x 90 000

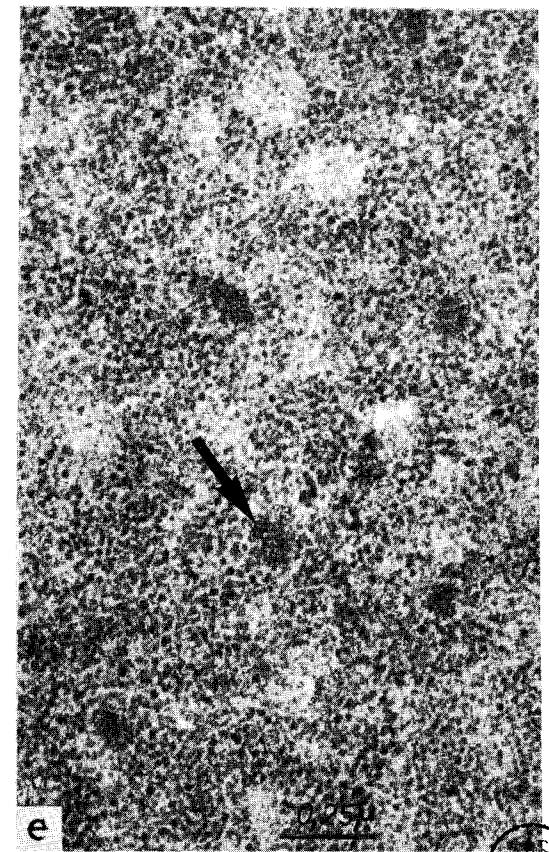
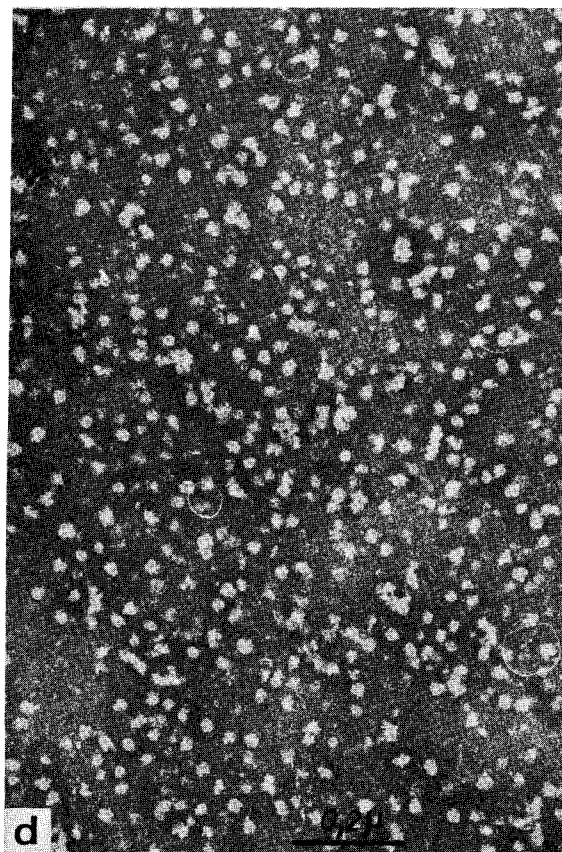
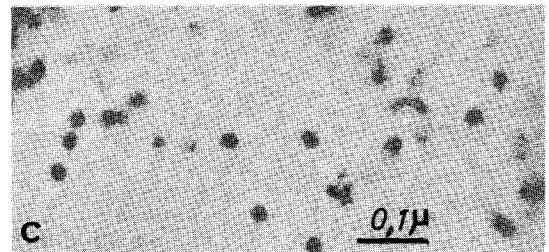
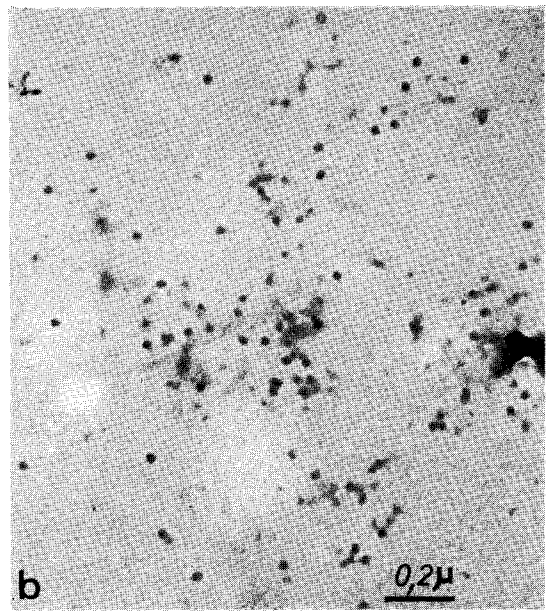
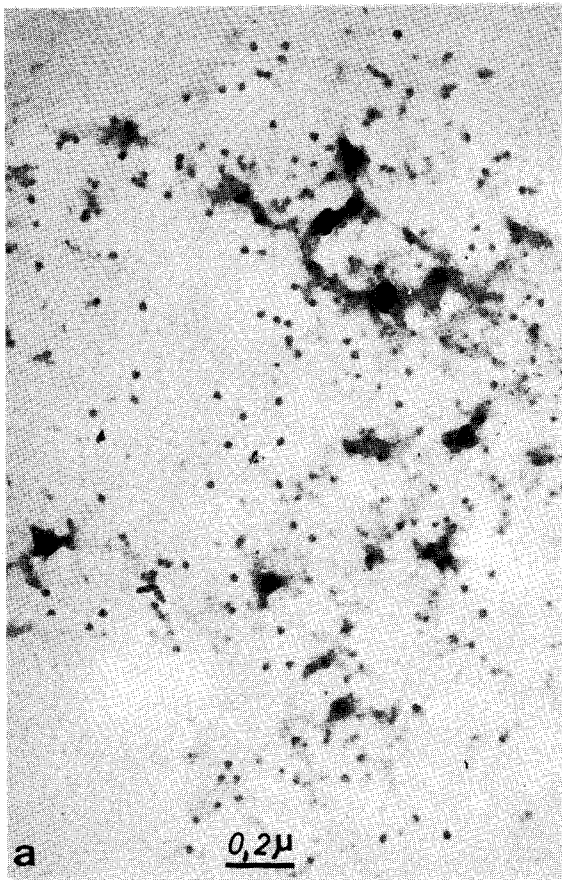
Fig. d - Coloration négative à l'acétate d'uranyle des
particules du sédiment RN₁.

x 75 000

Morphologie du sédiment RN₂

Fig. e - Sédiment RN₂ obtenu par "diffusion" de noyaux
type "CHAUVEAU". Présence de granules et de
petits amas fibrillaires (flèches). Les
structures membranaires ont disparu.

x 50 000



305
LILLE

Morphologie des constituants de la fraction RN₂, après ombrage.

Fig. a - Fraction RN₂. Ombrage unidirectionnel au platine. Fixation formol. Contraste inversé. Présence de granules de structure compacte.

x 100 000

Fig. b - Etalement sur film protéique de la fraction RN₂. Ombrage rotatif à l'oxyde d'uranium. Présence d'un granule relié à l'extrémité d'un court filament d'environ 1 μ de longueur.

x 31 500

Fig. c - Même matériel et même technique que Fig. b. Présence de granules libres (flèche) ou reliés à des filaments de longueur variable. Dans le cercle, présence de 2 granules accolés de diamètre supérieur à celui des granules libres ; chacun d'eux est accroché à l'extrémité d'un filament. Dans le cercle en pointillés, 4 granules accolés et accrochés à un filament.

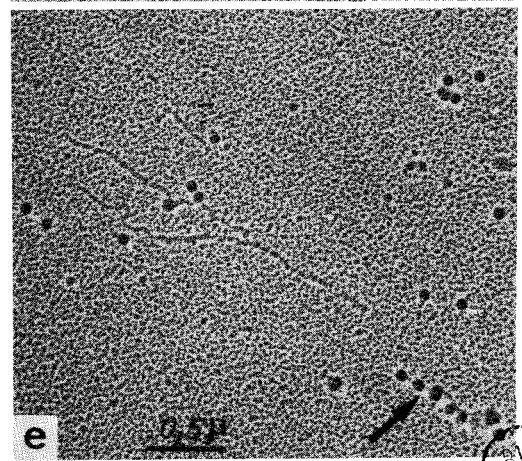
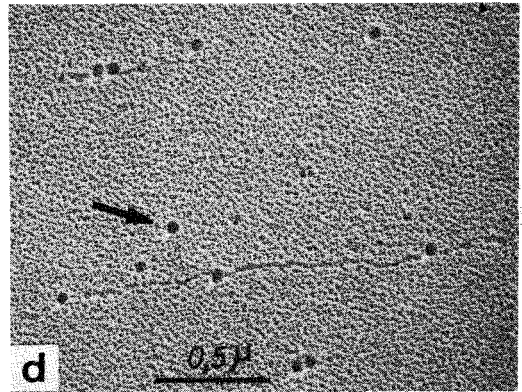
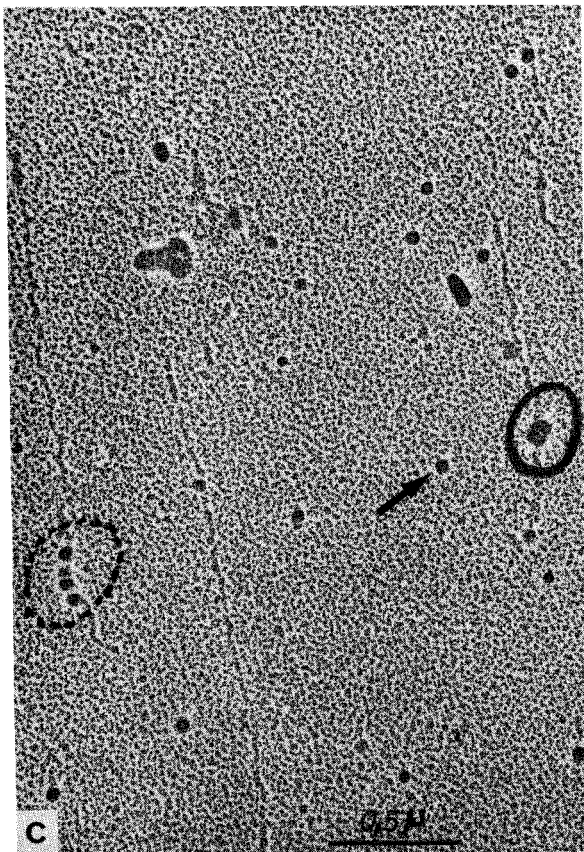
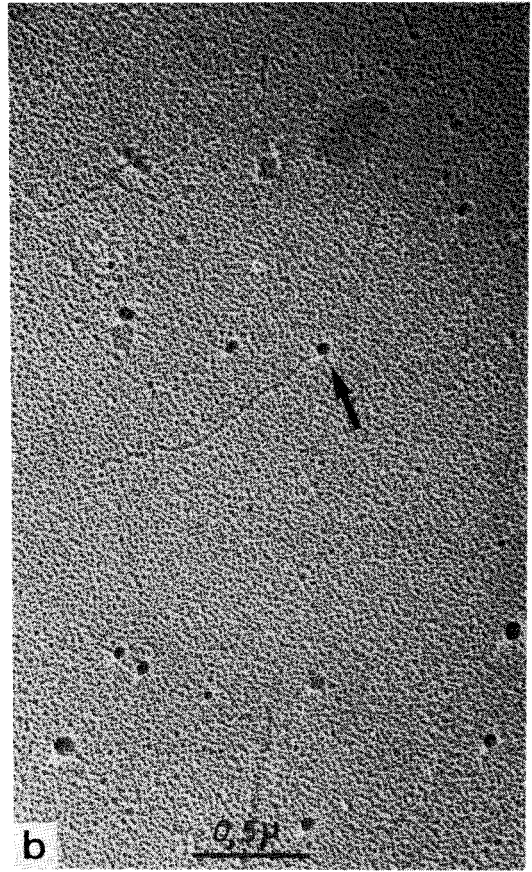
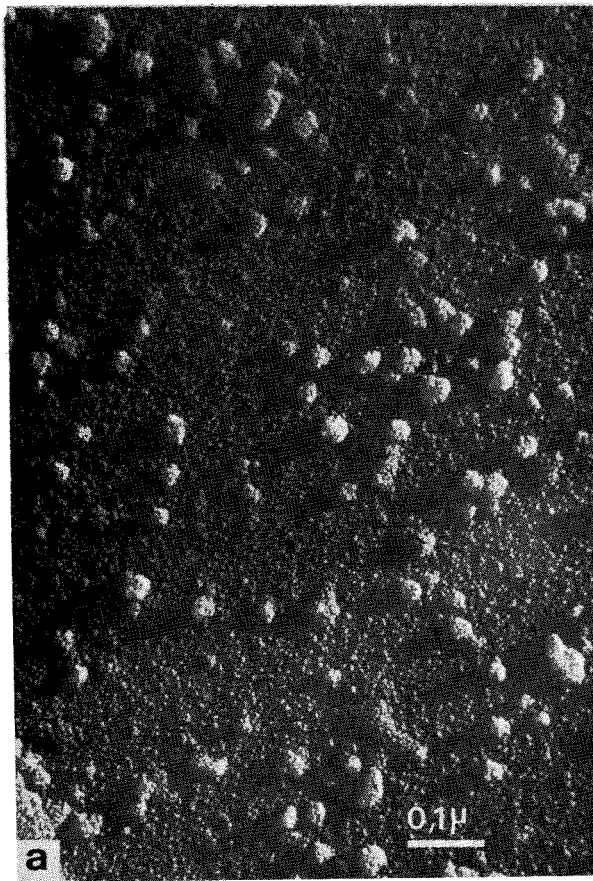
x 35 200

Fig. d - Même matériel et même technique que ceux des Fig. b et c. Granules libres ou accrochés à des filaments.

x 30 000

Fig. e - Même matériel et même technique que ceux des Fig. b - c et d. Certains granules sont associés en une structure "polysome-like" (flèche).

x 20 000



BUS
LIFE

PLANCHE 36

Morphologie des particules présentes
dans le pic 45 S des gradients.

Fig. a - Particules du pic 45 S des gradients après inclusion
dans l'Epon. Double fixation. Double coloration.

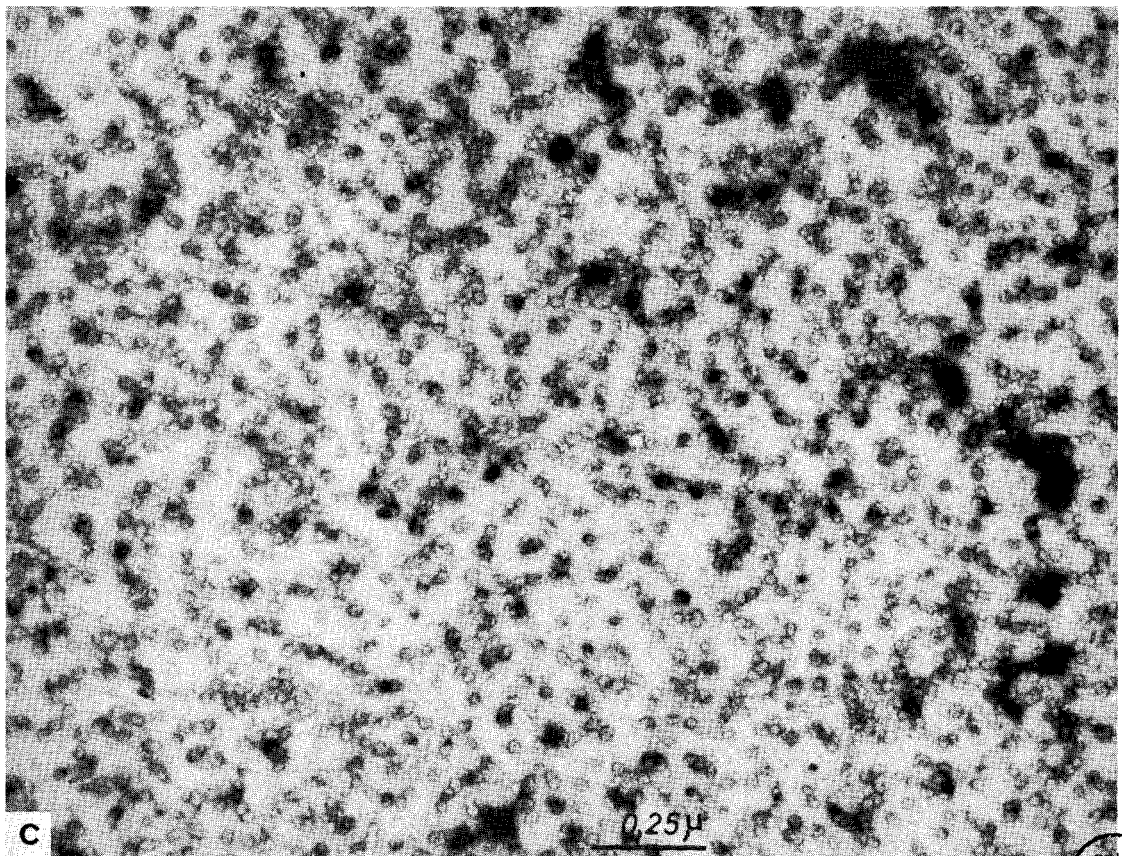
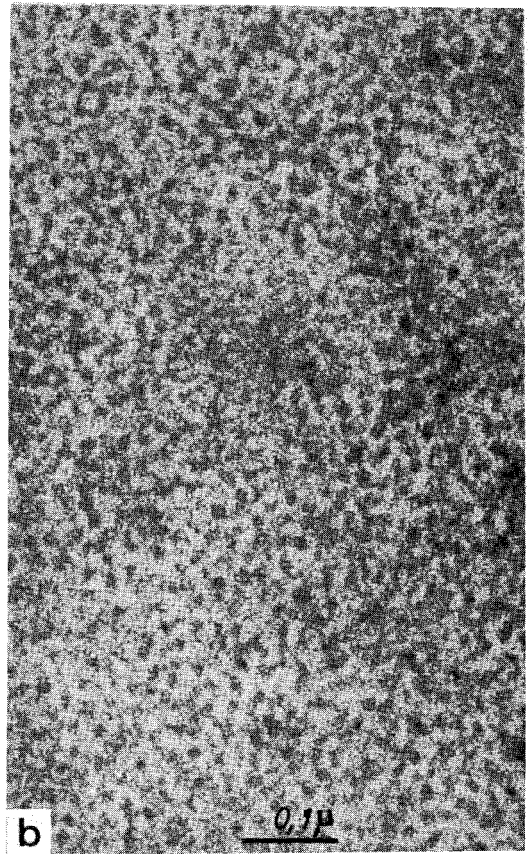
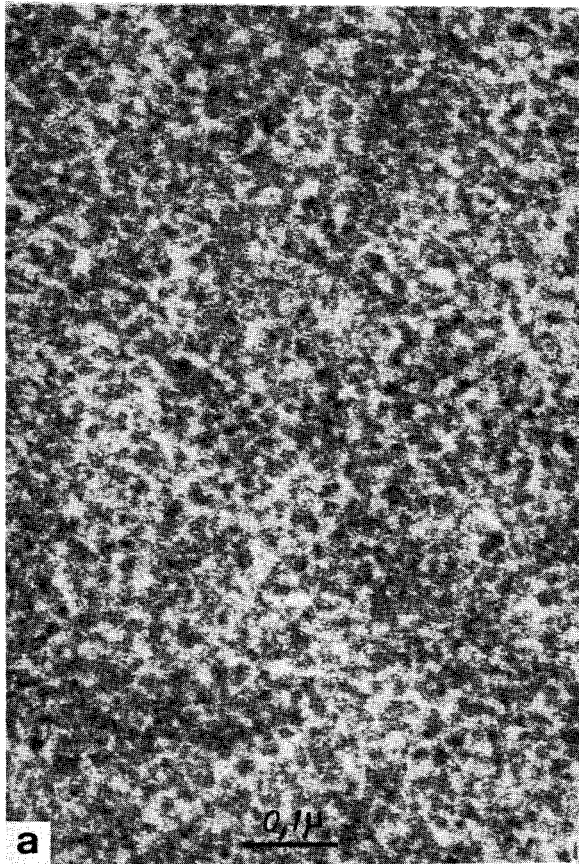
x 120 000

Fig. b - Même matériel après fixation au glutaraldehyde et
coloration au citrate de plomb.
Les particules sont bien colorées par cette technique
qui révèle préférentiellement les ribonucléoprotéines.

x 120 000

Fig. c - Même matériel après coloration négative à l'acétate
d'uranyle. Fixation au formol.

x 60 000



885
LILLE

PLANCHE 37

Morphologie des constituants du pic 45 S des gradients.



Fig. a - Particules du pic 45 S des gradients après coloration négative à l'acétate d'uranyle. Fixation au formol. Particules sphériques peu pénétrées par l'agent contrastant.

x 200 000

Fig. b - Colorations positives des particules présentes dans le pic 45 S. Coloration à l'acide phosphotungstique et à l'acétate d'uranyle.

x 100 000

Fig. c et Fig. d - Même matériel que précédemment. Etalement sur film protéique monomoléculaire, présence de granules libres ou reliés à des filaments (flèches). Ombrage en rotation par l'oxyde d'uranium.

Fig. c : x 24 000

Fig. d : x 54 000

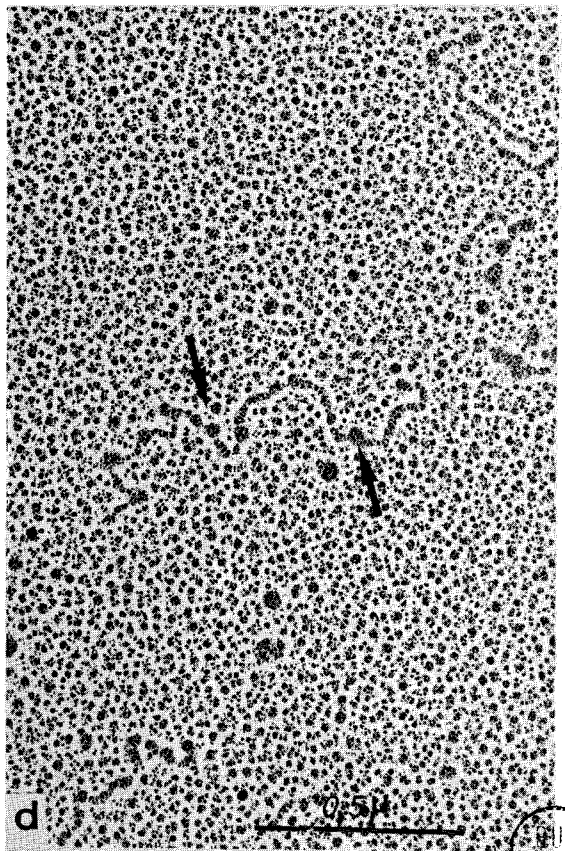
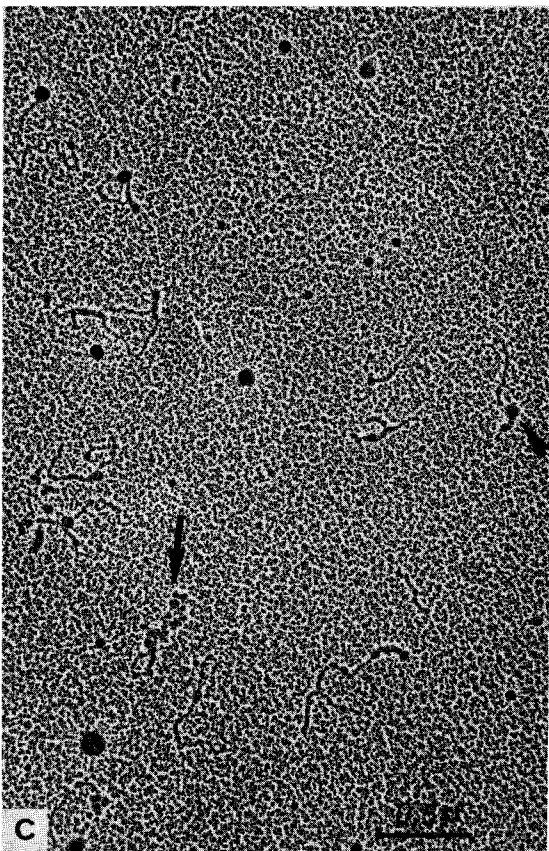
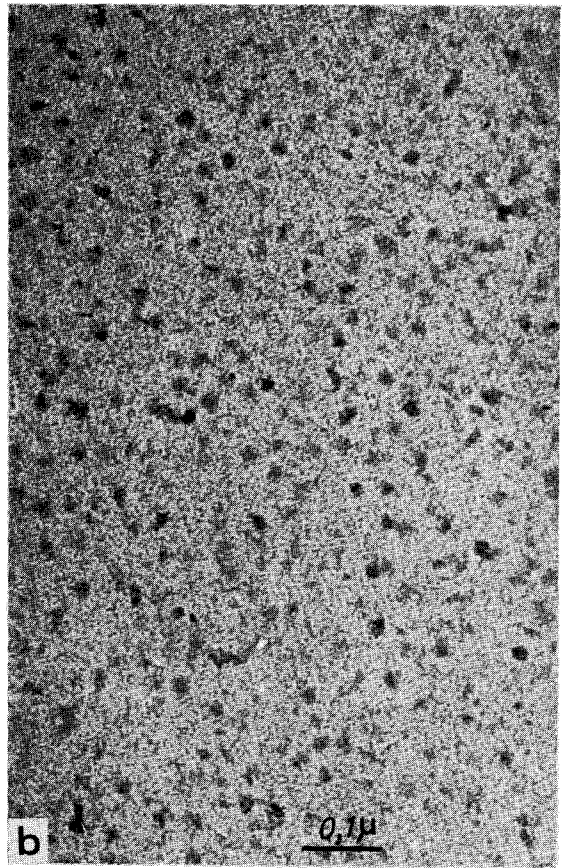
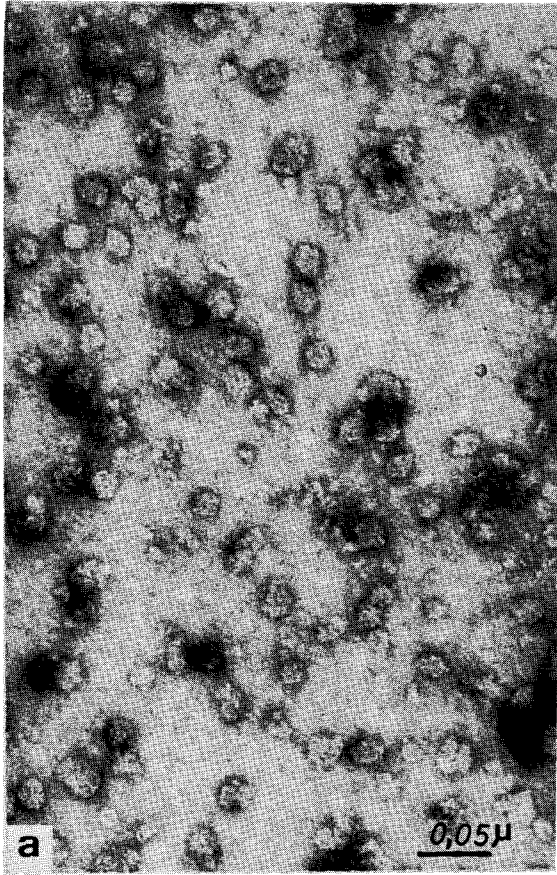


PLANCHE 38

Cytochimie ultrastructurale des particules obtenues par diffusion et présentes dans le pic 45 S des gradients.

Fig. a - Fraction de particules 45 S incluse au G.M.A. après fixation au glutaraldehyde. Coloration à l'acétate d'uranyle (15 mn) et au citrate de plomb (2 ou 3 s). Témoin de digestion à la RNase. Présence d'un réseau lâche dans lequel on distingue les particules.

x 100 000

Fig. b - Même matériel, même technique que Fig. a. Les coupes ont été digérées à la RNase. Le réseau est moins contrasté, on distingue encore les particules (flèches).

x 100 000

Fig. c - Même matériel et même technique. Les coupes ont été digérées à la pepsine. On distingue, à la place des particules, des granules faiblement contrastés (flèche).

x 200 000

Fig. d - Même matériel et même technique après double digestion par la pepsine puis la RNase. Présence de grains de contraste faible.

x 200 000

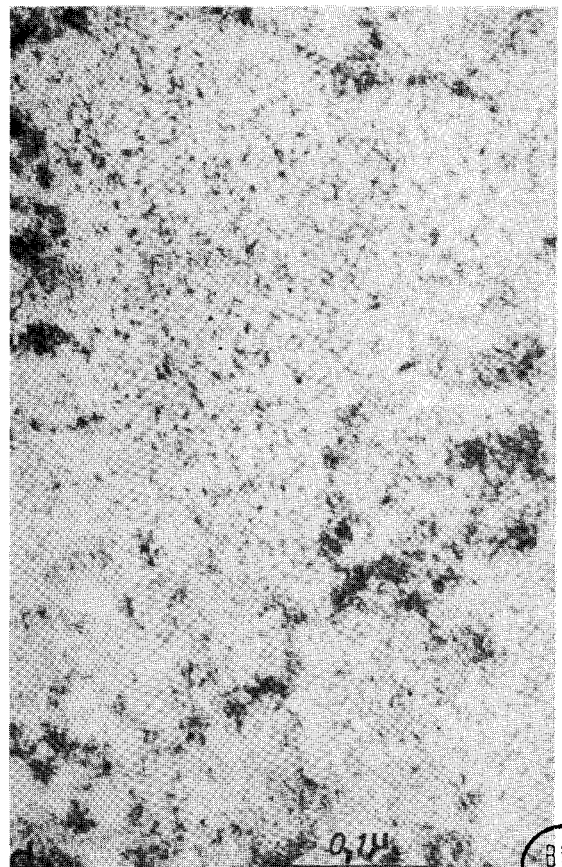
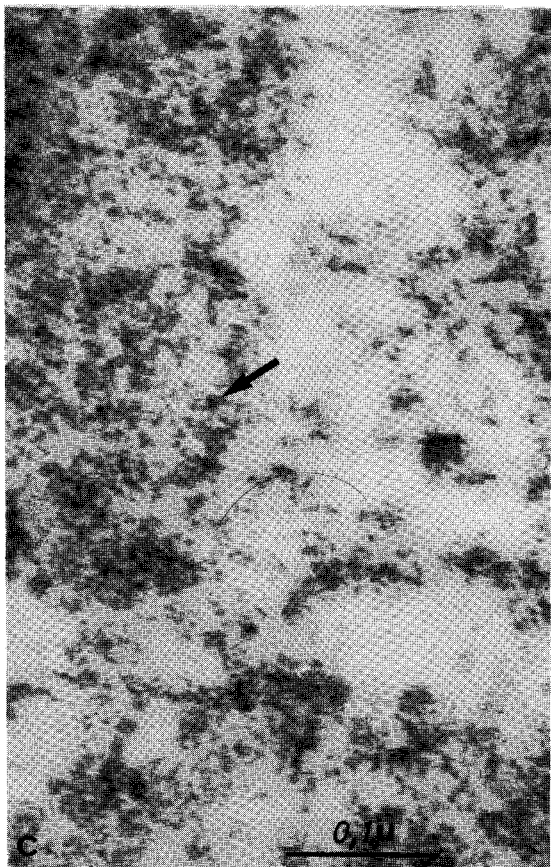
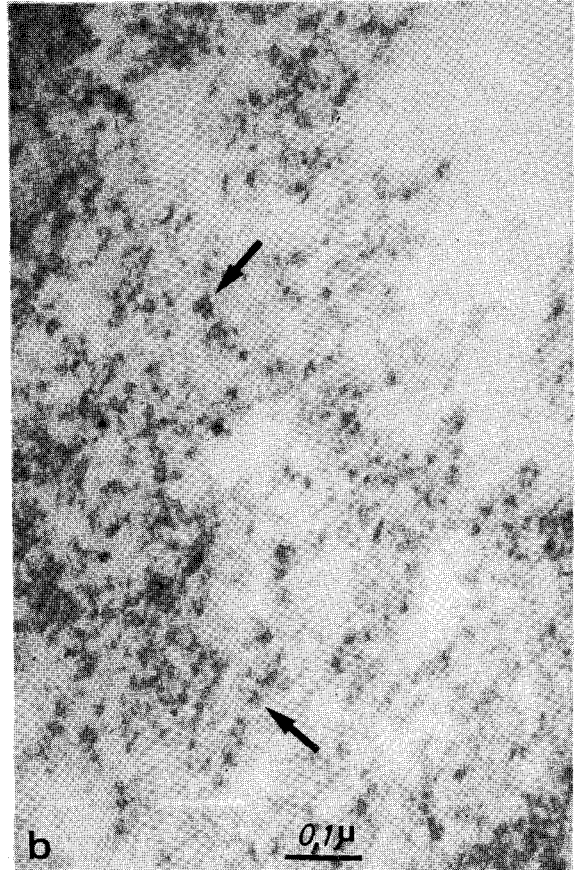
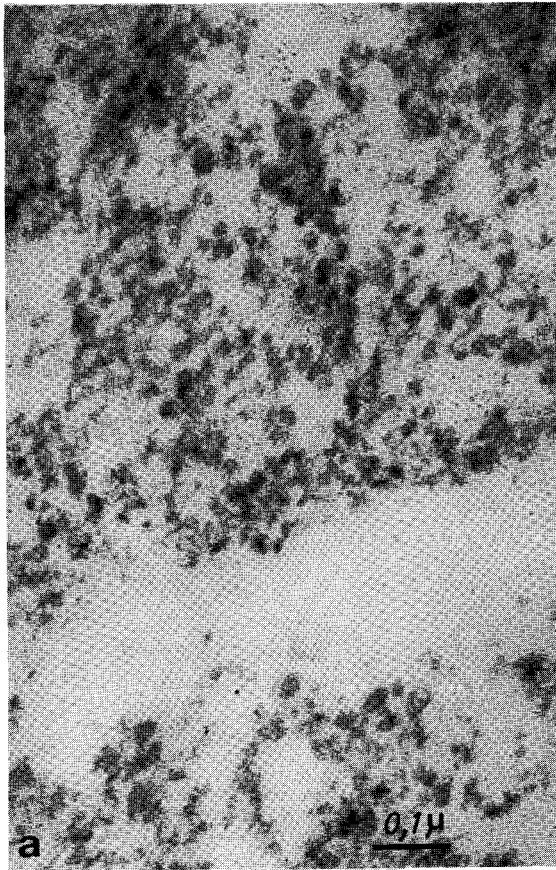


PLANCHE 39

Morphologie des particules ARN-informofères de GEORGIEV.

Fig. a et Fig. b - Particules ARN-informofères issues de la zone I du gradient, recentrifugées et incluses dans l'Epon. Double fixation. Double coloration. L'aspect et la taille des particules sont identiques à ceux des particules 45 S obtenues par diffusion (voir Pl. 44 ; Fig. a et b).

Fig. a : x 48 000

Fig. b : x 120 000

Fig. c et Fig. d - Aspect de ces particules ARN-informofères de la zone I du gradient, après coloration négative à l'acétate d'uranyle. Les particules sont sphériques et peu pénétrées par l'agent contrastant. Leur aspect, après application de cette technique, est identique à celui observé sur les particules 45 S obtenues par diffusion (voir Pl. 44 ; Fig. c et Pl. 45 ; Fig. a).

Fig. c : x 90 000

Fig. d : x 180 000

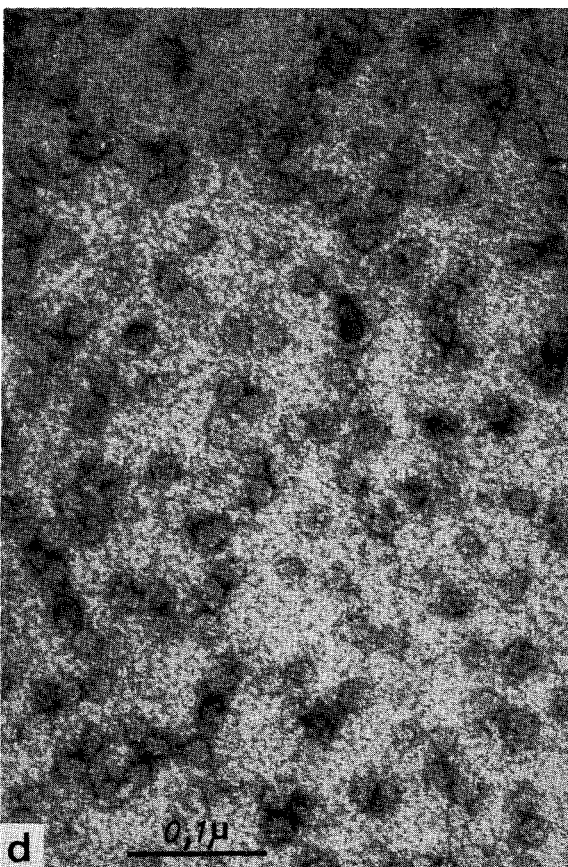
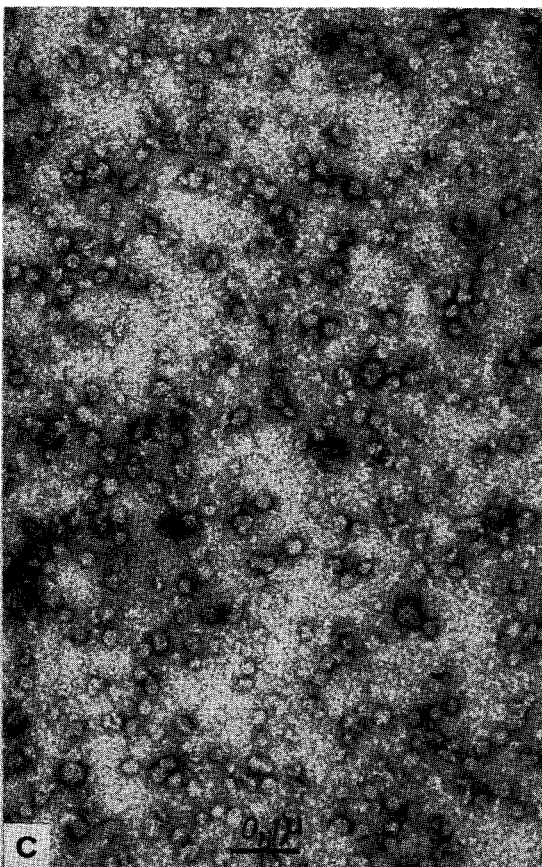
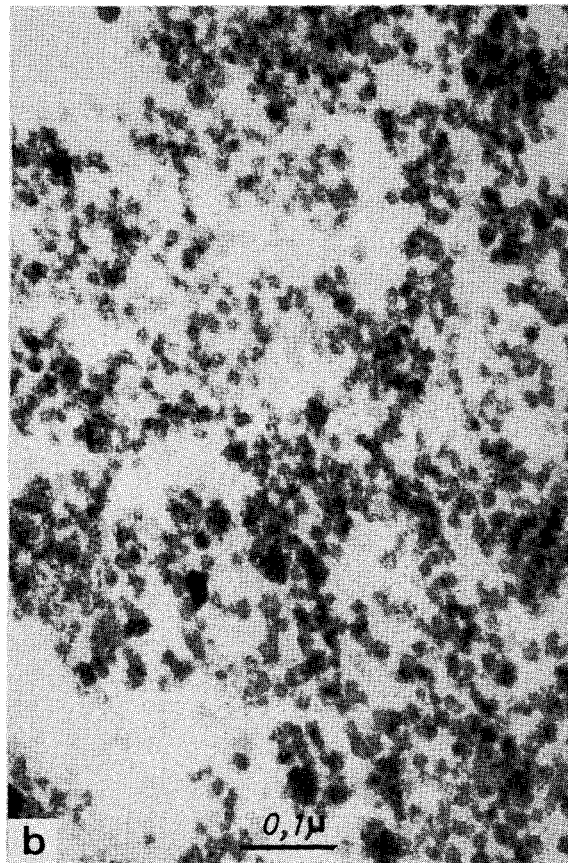
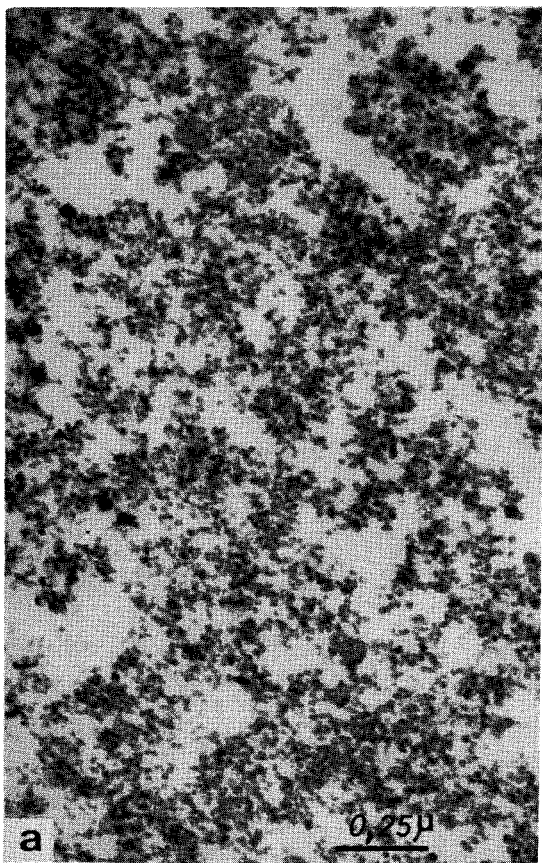


PLANCHE 40

Morphologie des particules ARN-informofères.

Fig. a - Particules ARN-informofères de la zone II des gradients. Coloration négative au silicotungstate de sodium. Les particules sont groupées par 2, 3 ou 4 en amas ou en courtes chaînettes (flèches).

x 52 000

Morphologie des granules nucléolaires extraits.

Fig. b - Granules nucléolaires extraits. Coloration négative à l'acétate d'uranyle. On observe des granules de taille variable. L'aspect général est beaucoup plus hétérogène que celui observé sur les particules 45 S obtenues par diffusion et sur les particules ARN-informofères.

x 120 000

Fig. c - Même matériel et même technique que ceux de la Fig. b. A ce grossissement, les particules nucléolaires apparaissent bien pénétrées par l'agent contrastant. Au niveau de certaines particules, on peut distinguer des formes d'enroulement d'une structure filamenteuse (flèche).

x 240 000

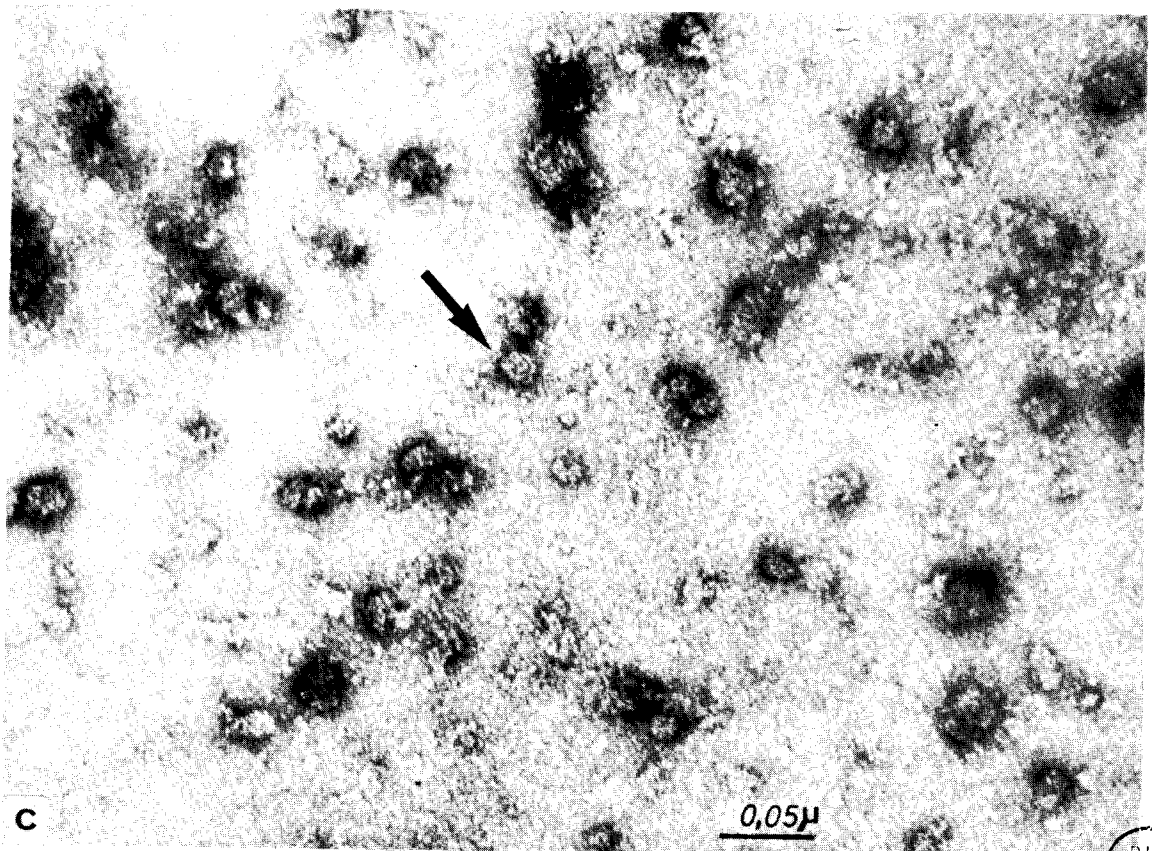
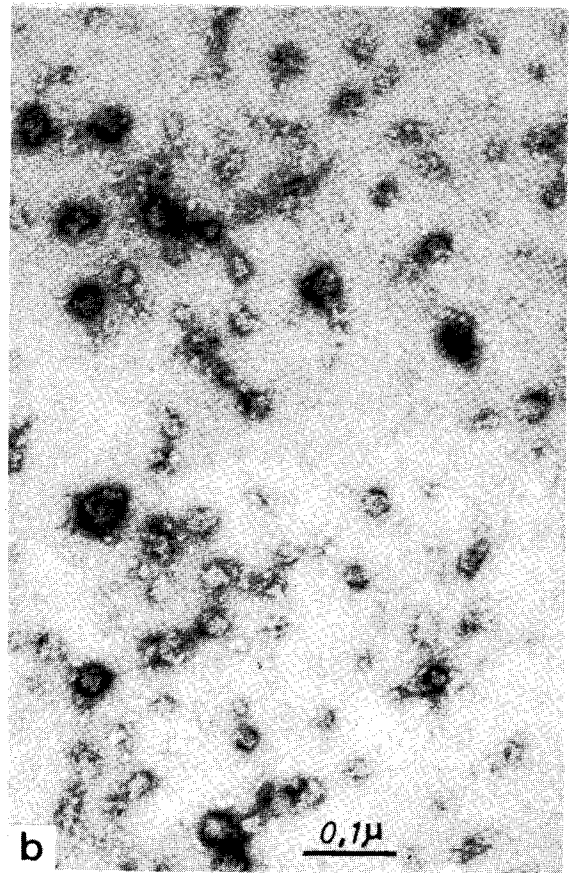
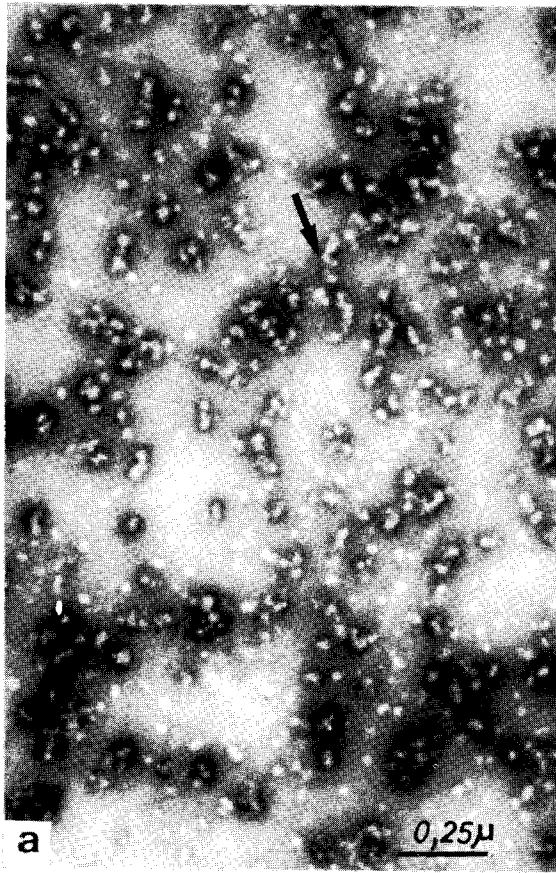


PLANCHE 41

Résidu de l'extraction des particules ARN-informofères
de GEORGIEV.

Fig. a - Double fixation, inclusion dans l'Epon, double coloration. Le résidu se compose de fragments de noyaux et de débris nucléoplasmiques parmi lesquels on observe des nucléoles (Nu).

x 16 000

Morphologie des constituants de la zone lourde des gradients de saccharose obtenue par "diffusion" en présence d'inhibiteur de RNase.

Fig. b et Fig. c - Zone lourde des gradients.
Double fixation, inclusion dans l'Epon,
double coloration.

Fig. b : x 40 000

Fig. c : x 84 000

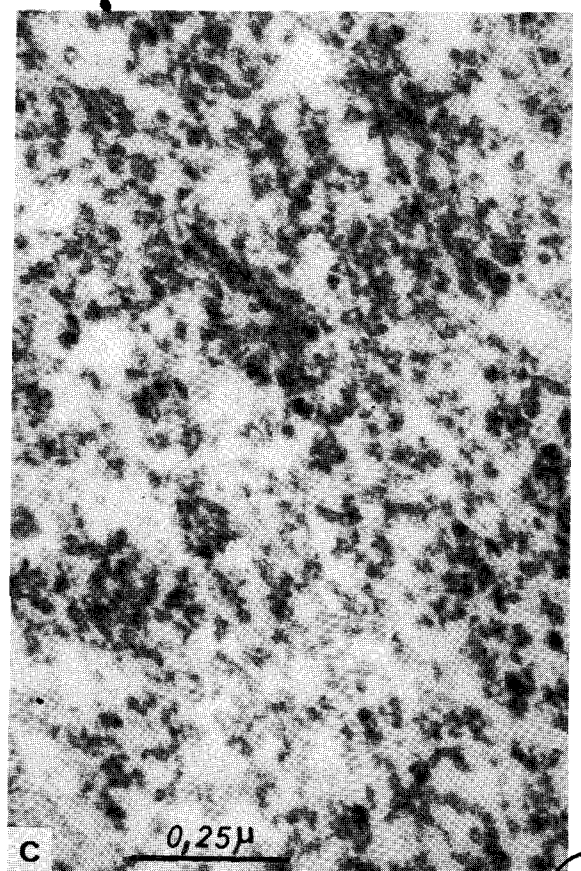
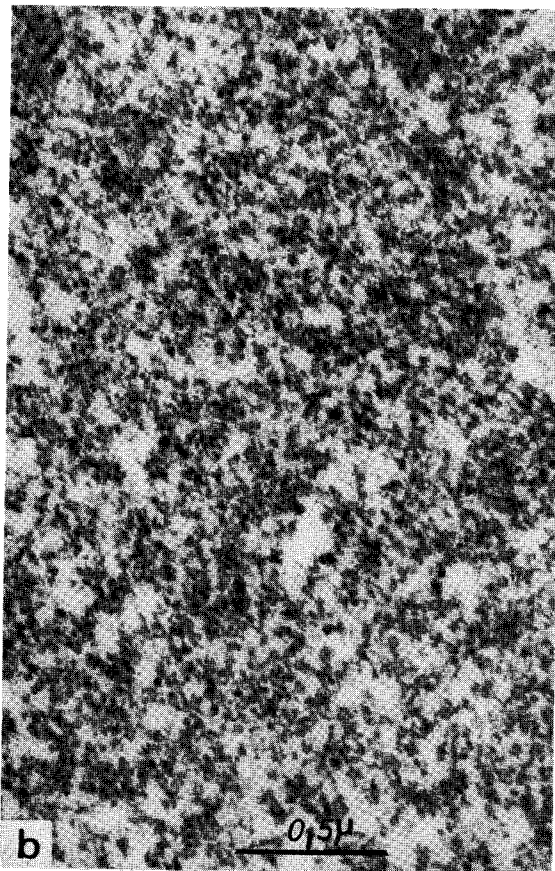
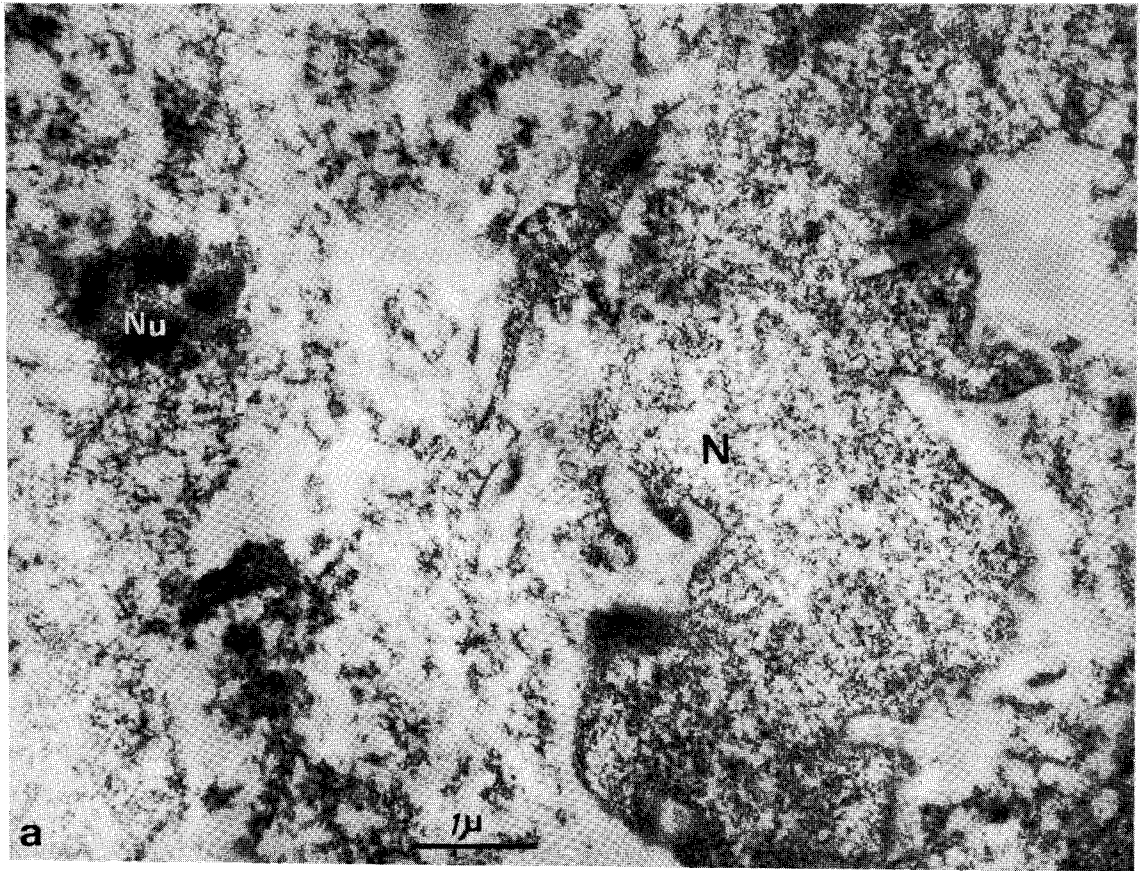


PLANCHE 42

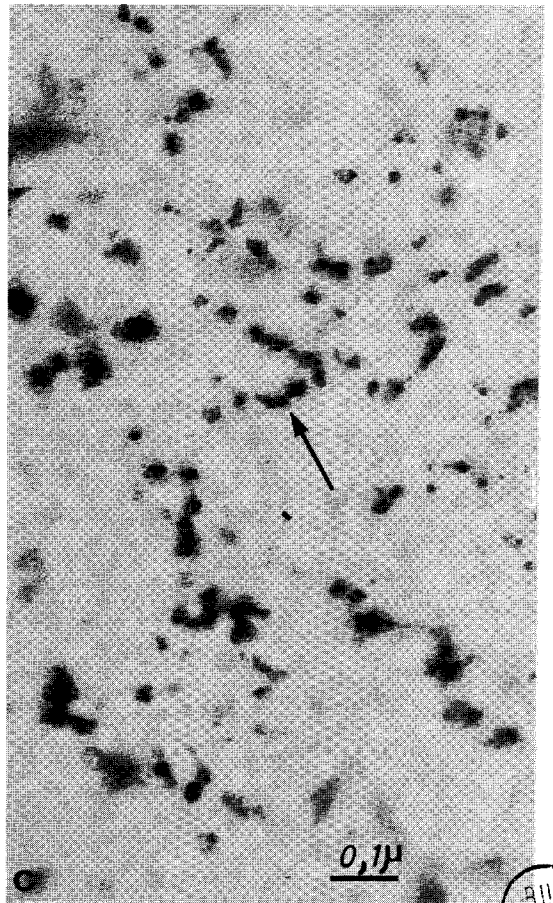
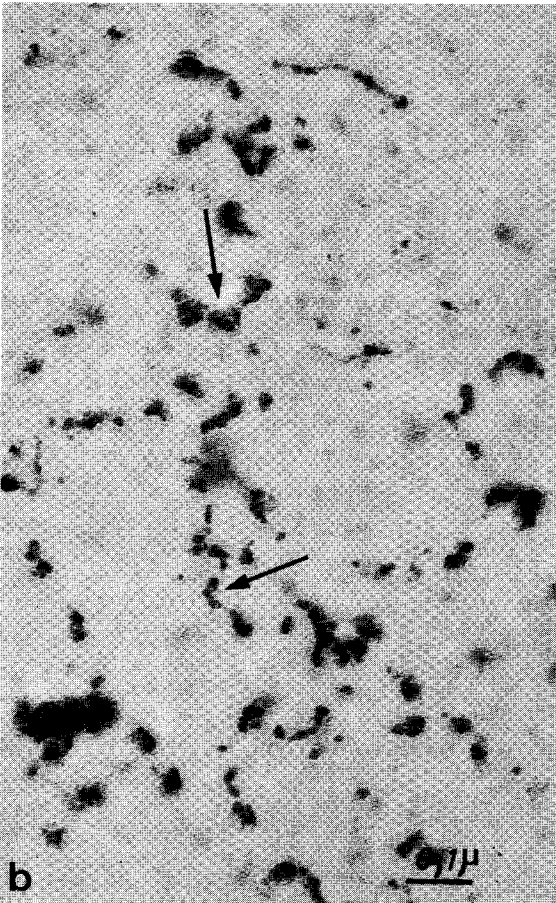
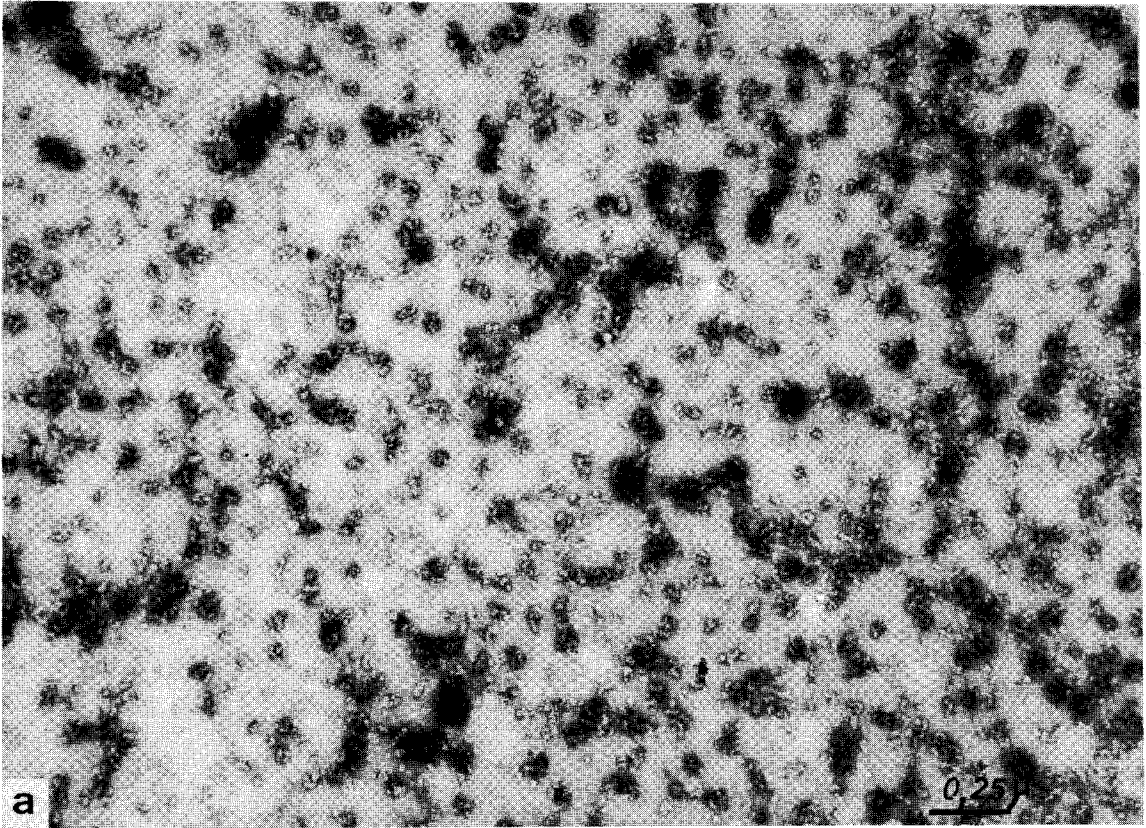
Morphologie de la zone lourde des gradients obtenue par diffusion des noyaux en présence d'inhibiteur de RNase.

Fig. a - Coloration négative à l'acétate d'uranyle.
Les particules sont mieux pénétrées par l'agent contrastant que celles du pic 45 S.

x 40 000

Fig. b et c - Coloration positive à l'acide phosphotungstique et à l'acétate d'uranyle. On observe la formation de chaînettes constituées de plusieurs particules accolées (flèches).

x 90 000



BUS
LILLE

PLANCHE 43

Recherche de l'origine intranucléaire des particules
obtenues par diffusion.

Le matériel a été inclus dans l'Epon après simple fixation
au glutaraldehyde. Les coupes ont été colorées par la technique
à l'E.D.T.A. de BERNHARD (1969).

Fig. a - Noyau témoin de diffusion. Les fibrilles (f) et
granules (g) du nucléole (Nu) sont nettement révélées.
Le nucléoplasme est très chargé en fibrilles péri-
chromatiniennes (flèches).

Gp - grains périchromatiniens
Gi - grains interchromatiniens

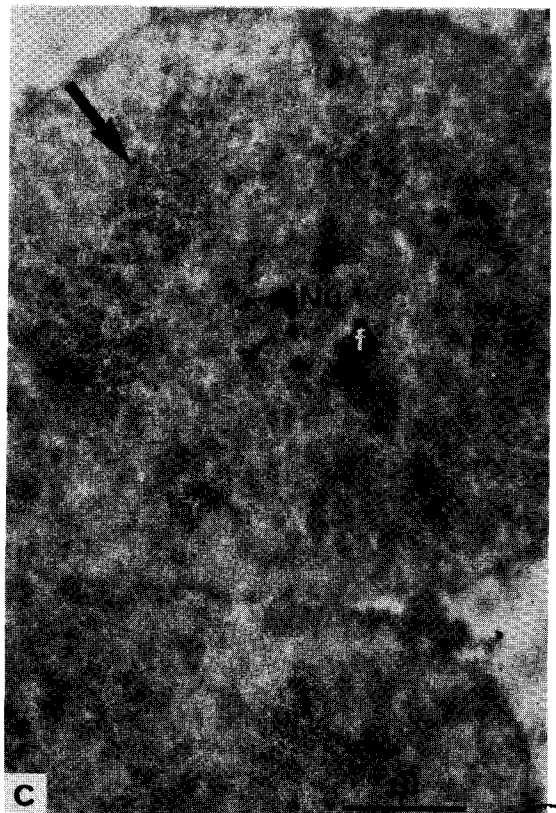
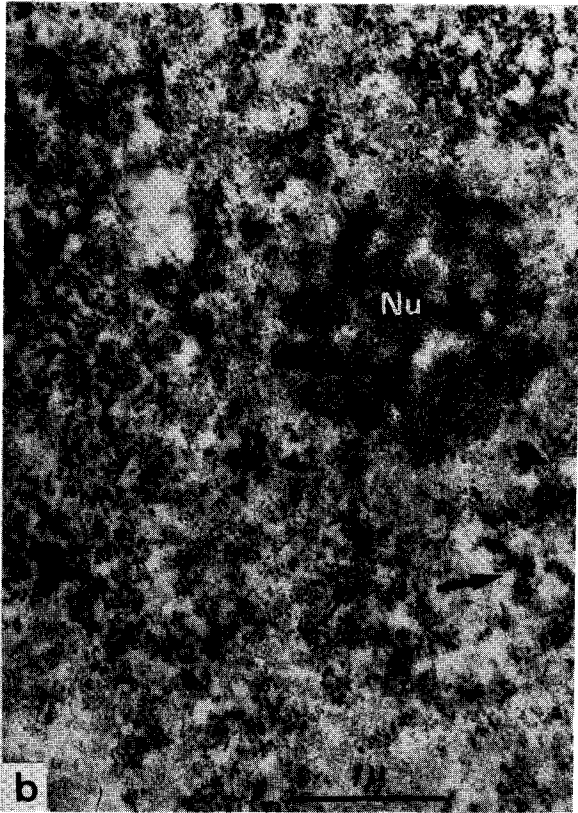
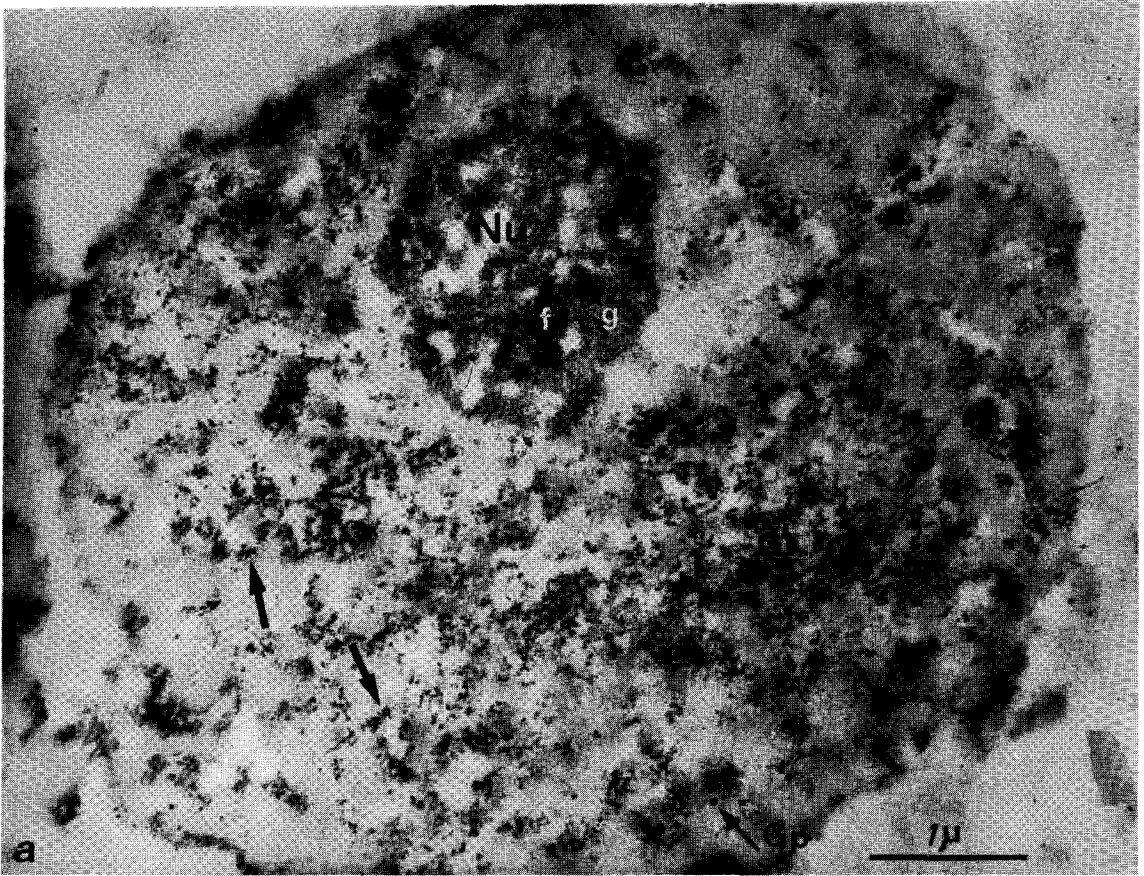
x 20 000

Fig. b - Même matériel que Fig. a.
Grande richesse de la zone nucléoplasmique péri-
nucléolaire en fibrilles périchromatiniennes
(flèche). Nu - nucléole.

x 20 000

Fig. c - Noyau après une "diffusion" de 3 h 30. Le nucléole
(Nu) est peu dense, les fibrilles (f) sont bien
colorées, les granules (g) sont faiblement colorés
et quantitativement réduits.
Dans le nucléoplasme, les seules ribonucléoprotéines
révélées sont les grains interchromatiniens (flèche)
réunis en amas.

x 15 000



BUS
LILLE

PLANCHE 44

Recherche de l'origine intranucléaire
des particules "diffusées"

Fig. a - Noyaux après une "diffusion" de 3 h 30. Coloration par la technique à l'E.D.T.A. de BERNHARD (1969). Dans le nucléole (Nu) seules les fibrilles (f) sont bien contrastées. Dans le nucléoplasme, on ne distingue que les groupes de grains interchromatiniens (Gi).

x 16 000

Fig. b - Même matériel et même technique que pour la Fig. a. Détail au niveau des grains interchromatiniens (Gi). La disparition des granules nucléolaires apparaît ici plus nettement.

Nu - nucléole
f - fibrilles
Gp - grains périchromatiniens

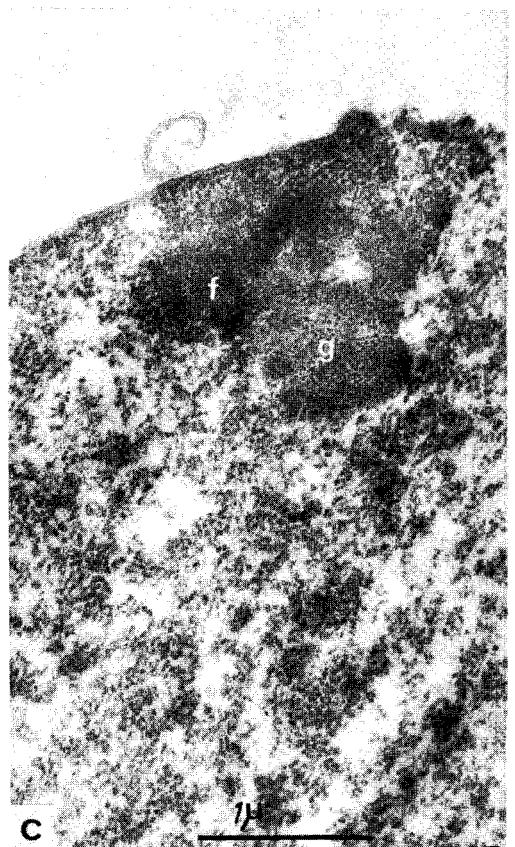
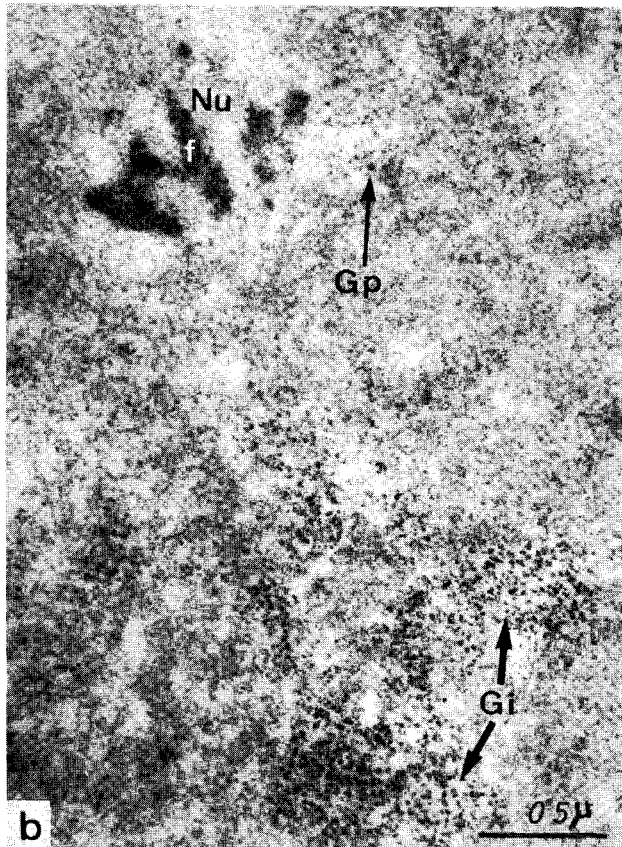
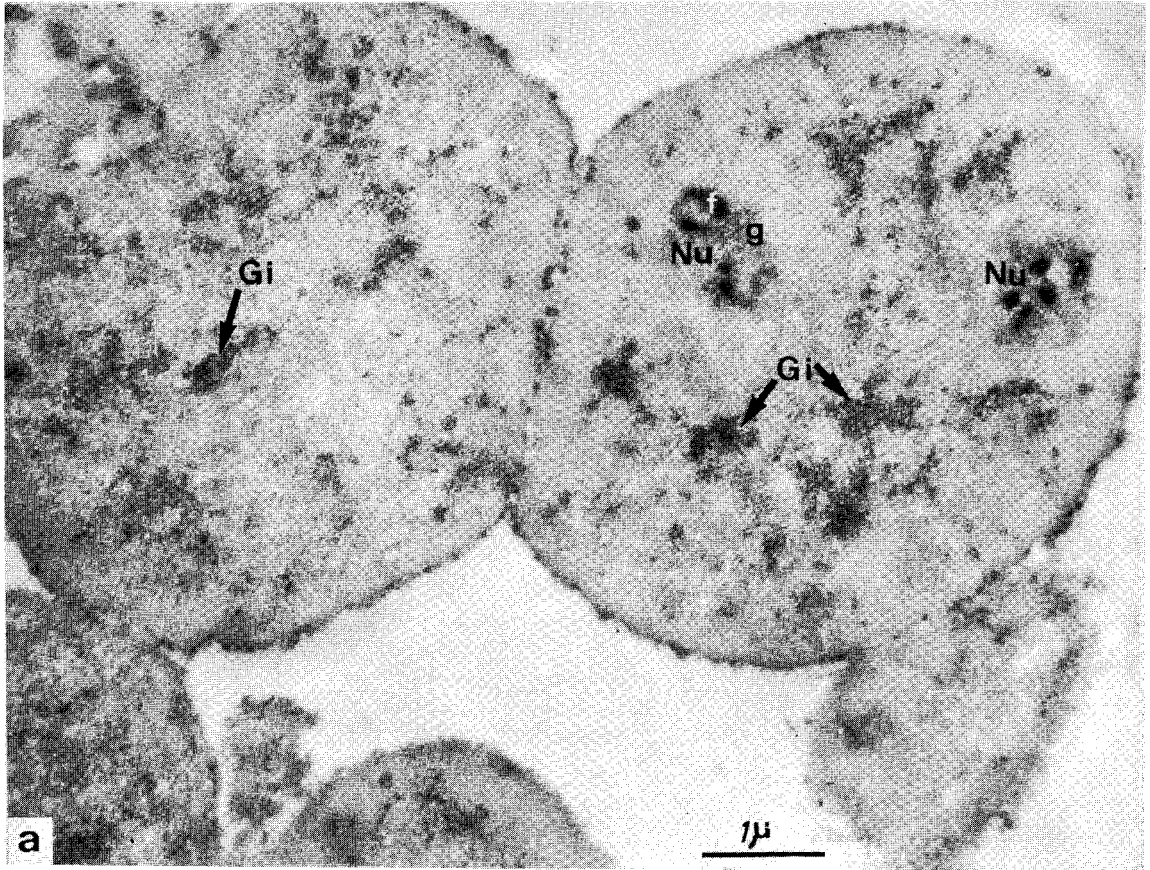
x 34 000

Fig. c - Noyau isolé 3 h après injection d'actinomycine D. Le nucléole présente une ségrégation nette de ses constituants.

f - fibrilles nucléolaires
g - granules nucléolaires

Double fixation. Double coloration.

x 22 400



BUS
LILLE

PLANCHE 45

Diffusion de noyaux isolés d'hépatocytes de Rats
préalablement traités à l'actinomycine D.

Fig. a - Noyau isolé de rats traités à l'actinomycine D
après 3 h 30 de "diffusion". Le compartiment
fibrillaire (f) se sépare du corps nucléolaire.
Persistance du compartiment granulaire (g).

x 27 000

Fig. b - Même matériel et même technique que ceux de la
Fig. a. La morphologie du nucléole ne s'est pas
modifiée au cours de la diffusion. Le compartiment
granulaire (g) reste dense.

f - compartiment fibrillaire

x 33 000

Fig. c et d - Même matériel que précédemment. Coloration
préférentielle des ribonucléoprotéines par la
technique de BERNHARD. Les fibrilles (f) et
granules (g) des nucléoles (Nu) sont répartis
en compartiments distincts.
Dans le nucléoplasme, on distingue nettement les
groupes de grains interchromatiniens (Gi).
Persistance de quelques fibrilles périchroma-
tiniennes (fp).

Fig. c : x 30 000

Fig. d : x 26 000

