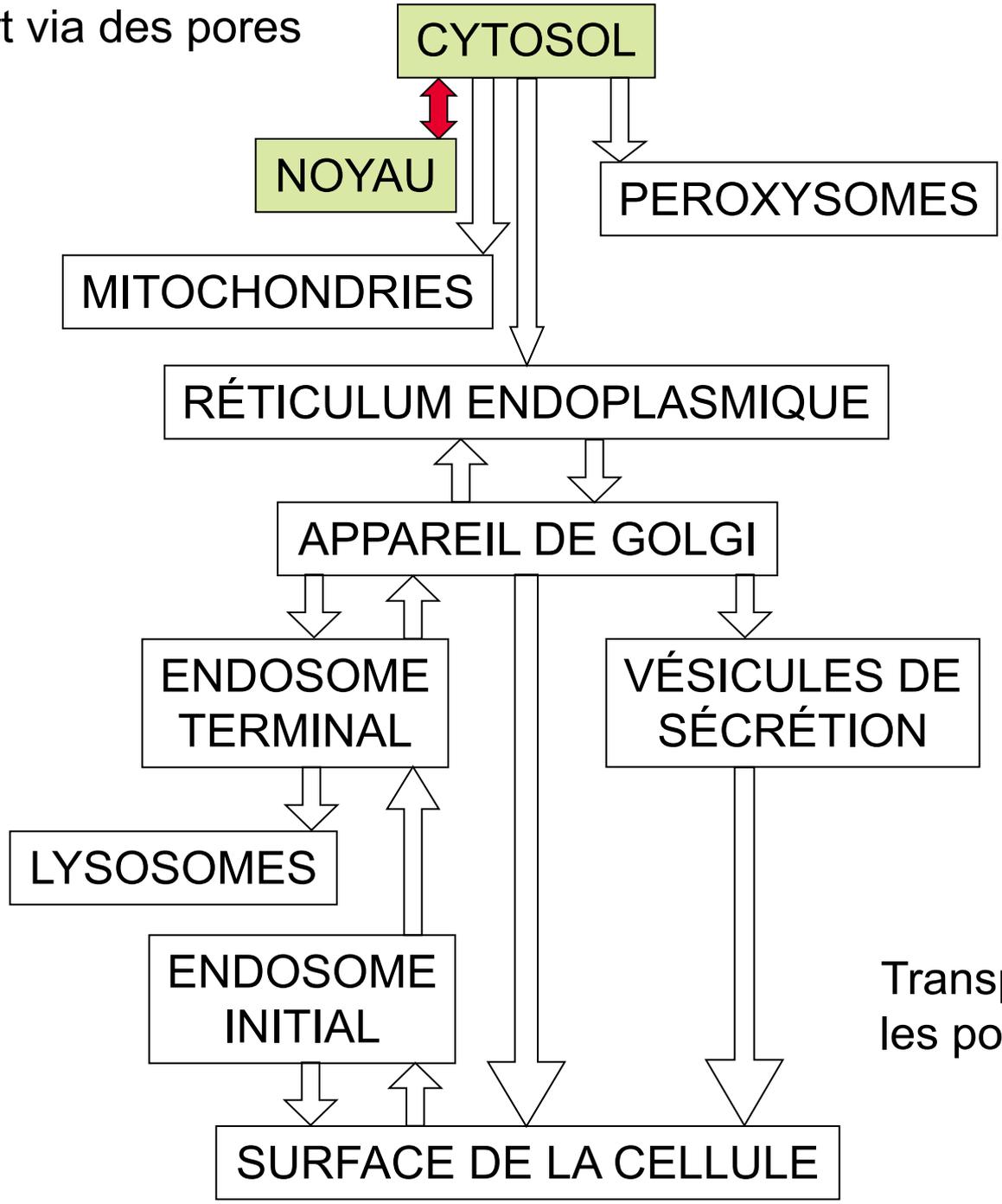
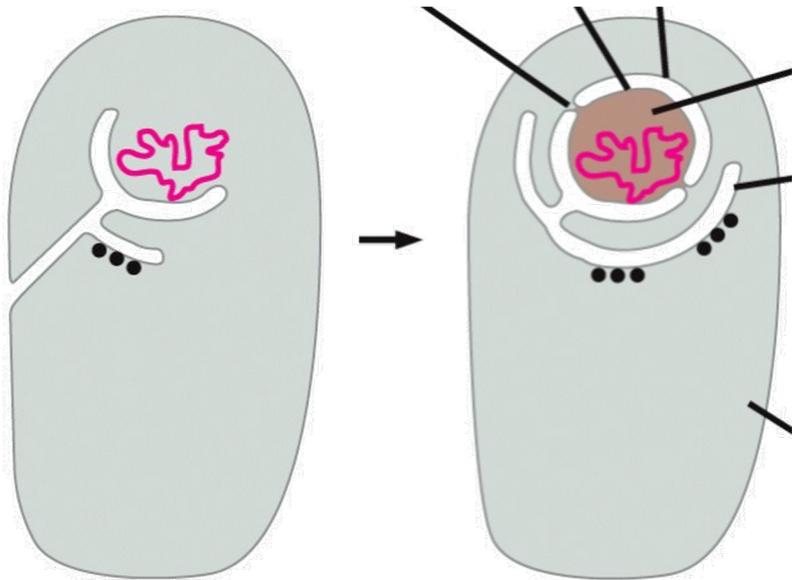


Le transport entre cytoplasme et noyau

transport via des pores



Transport à travers les pores du noyau



Membrane plasmique

Lysosome

Réticulum
endoplasmique
granulaire

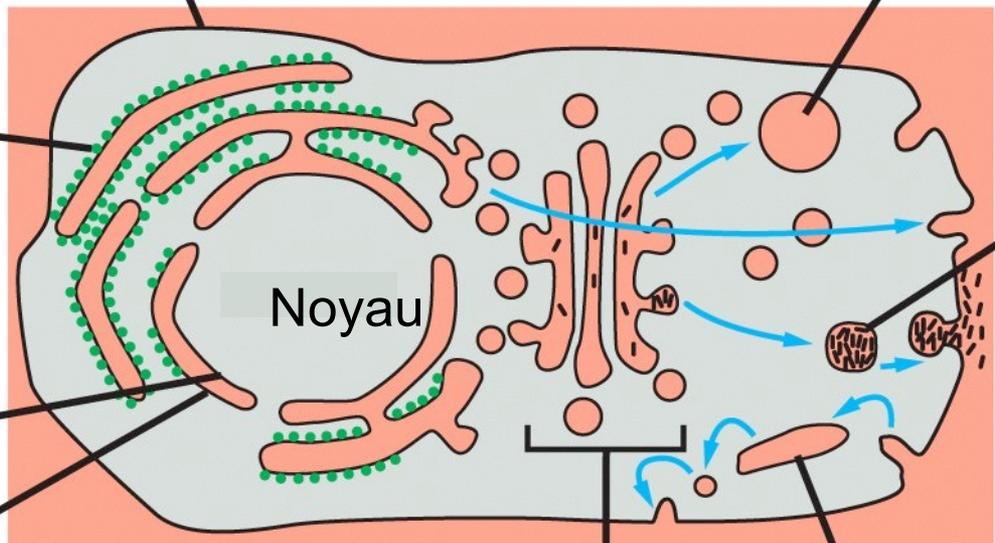
Noyau

Vésicule de
sécrétion

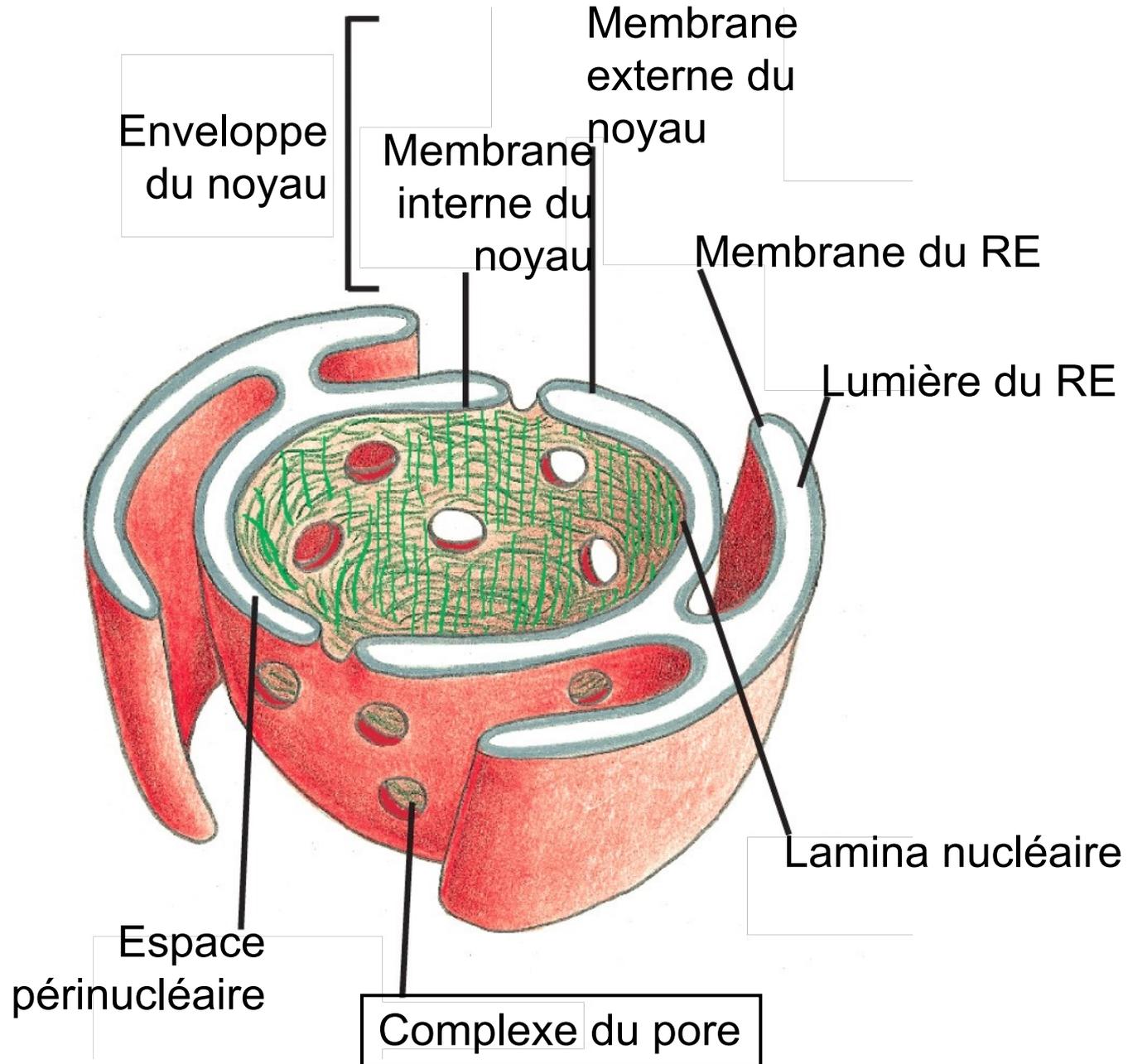
Enveloppe
du noyau
Membrane
interne
Membrane
externe

Appareil
de Golgi

Endosome



L'enveloppe du noyau



Généralités sur le transport à travers les pores du noyau

3 à 4.000 pores par noyau, soit 10 pores/ μm^2 de membrane

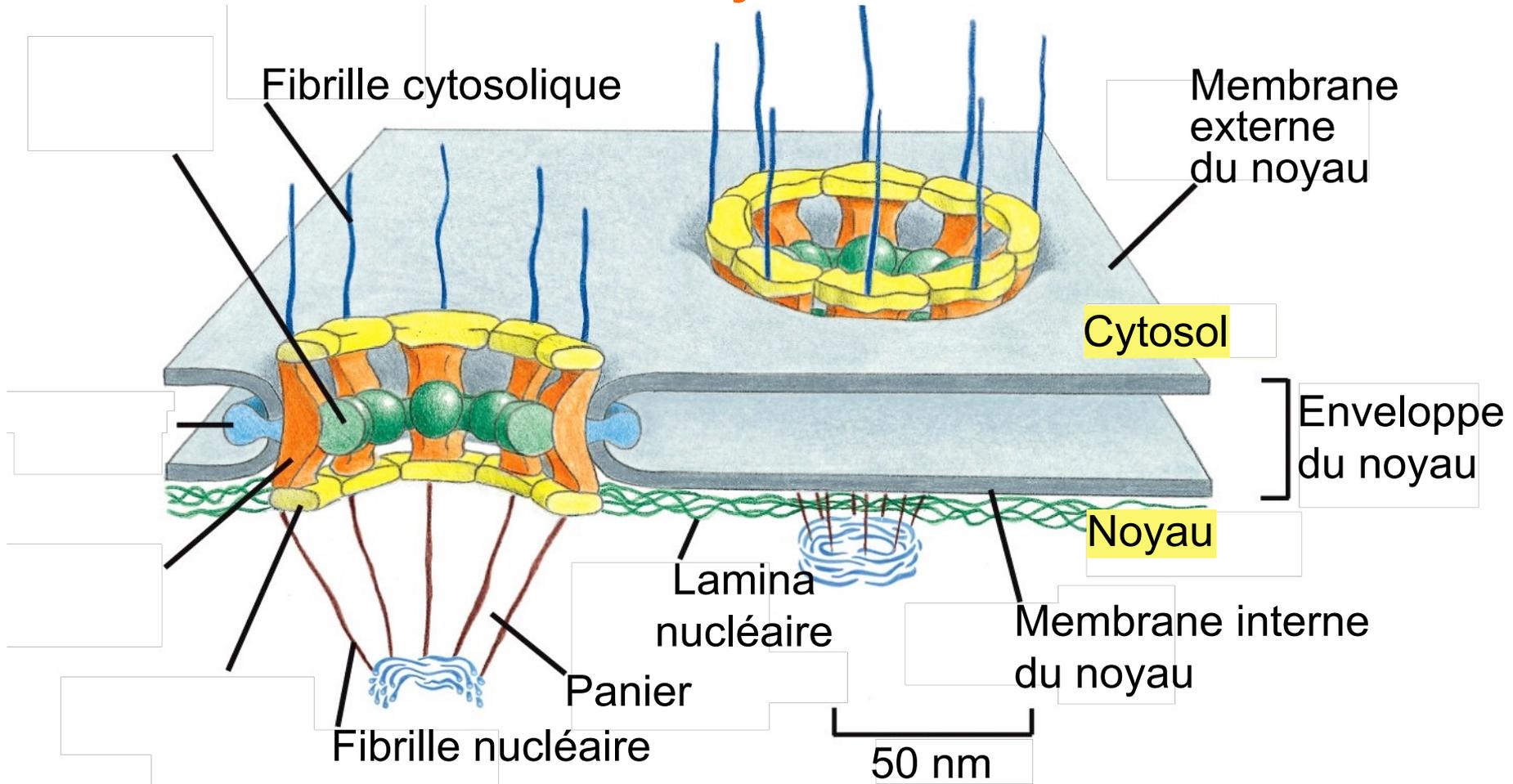
Importation de 10^6 molécules d'histone toutes les 3 minutes, soit 100/pore/min dans une cellule en phase S et jusqu'à 500 macromolécules par seconde dans un sens comme dans l'autre

Exportation de 6 ribosomes/min dans un cellule en croissance

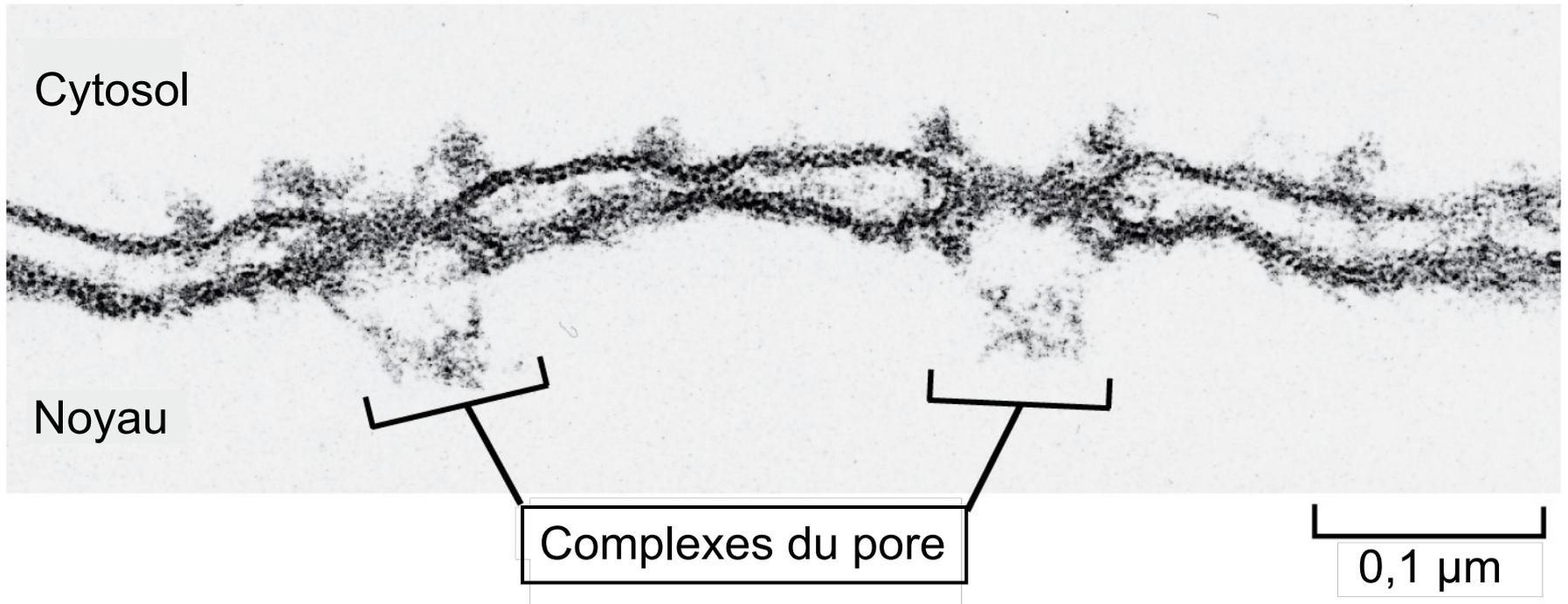
Transport des ARNm, ARNt, snARN, ARNr 5S et autres ARN et RNP... ..

Pas de spécialisation des pores du noyau pour le sens du transfert, ni pour la cargaison qui passe à travers le pore !

Organisation des complexes du pore dans l'enveloppe du noyau



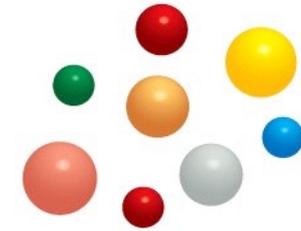
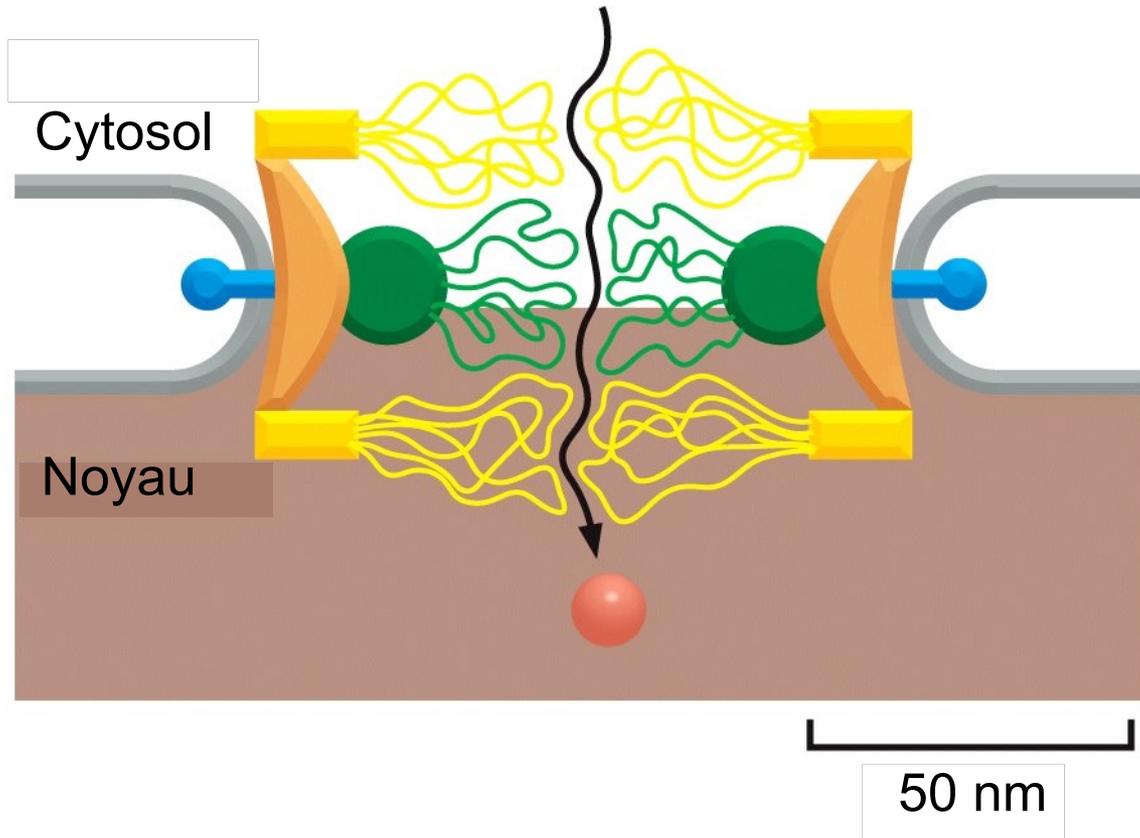
Complexe du pore nucléaire constitué de plus de 50 protéines différentes dont les **nucléoporines** et les **protéines des fibrilles** qui contiennent un grand nombre de répétitions **FG** (Phe-Gly), impliquées dans le transport actif.



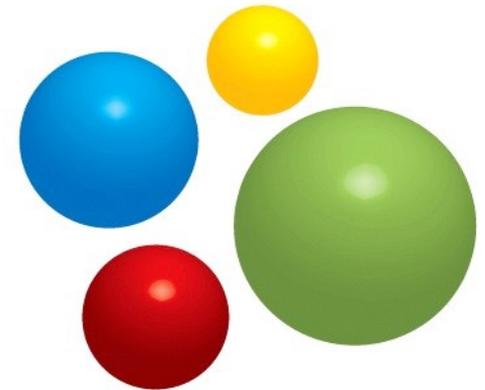
Complexes du pore dans l'enveloppe du noyau (ME)

Passages passif et actif par le complexe des pores du noyau

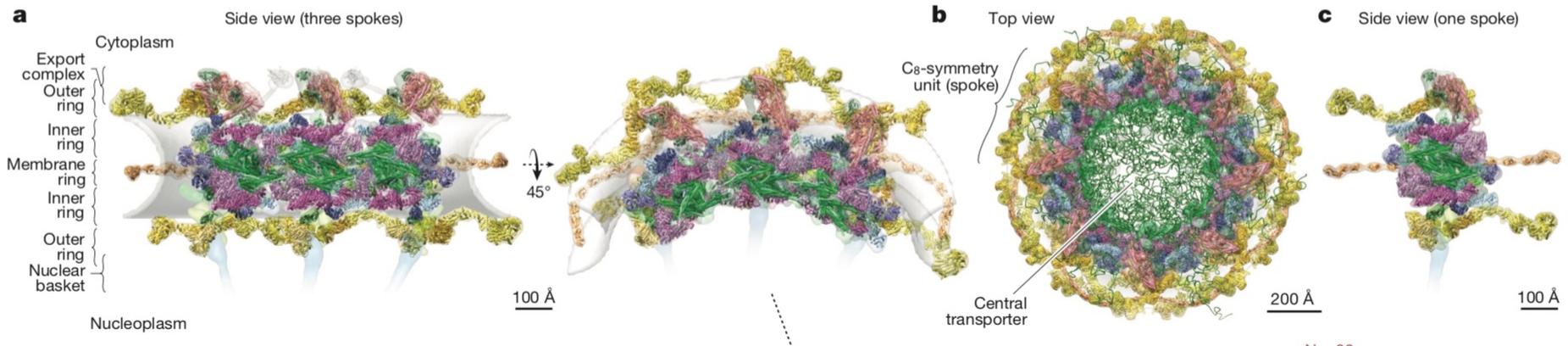
Diffusion libre si < 5.000 Da
voire jusqu'à 30.000 Da



Taille des protéines qui entrent dans le noyau par diffusion libre



Taille des macromolécules qui entrent dans le noyau par transport actif (jusqu'à 40 nm)



ARTICLE

doi:10.1038/nature26003

Integrative structure and functional anatomy of a nuclear pore complex

Seung Joong Kim^{1*}, Javier Fernandez-Martinez^{2*}, Ilona Nudelman^{2*}, Yi Shi^{3†*}, Wenzhu Zhang^{3*}, Barak Raveh¹, Thurston Herricks⁴, Brian D. Slaughter⁵, Joanna A. Hogan⁶, Paula Upla⁷, Ilan E. Chemmama¹, Riccardo Pellarin^{1†}, Ignacia Echeverria¹, Manjunatha Shivaraju⁵, Azraa S. Chaudhury², Junjie Wang³, Rosemary Williams², Jay R. Unruh⁵, Charles H. Greenberg¹, Erica Y. Jacobs³, Zhiheng Yu⁸, M. Jason de la Cruz^{8†}, Roxana Mironska², David L. Stokes⁷, John D. Aitchison^{4,9}, Martin F. Jarrold⁶, Jennifer L. Gerton⁵, Steven J. Ludtke¹⁰, Christopher W. Akey¹¹, Brian T. Chait³, Andrej Sali¹ & Michael P. Rout²

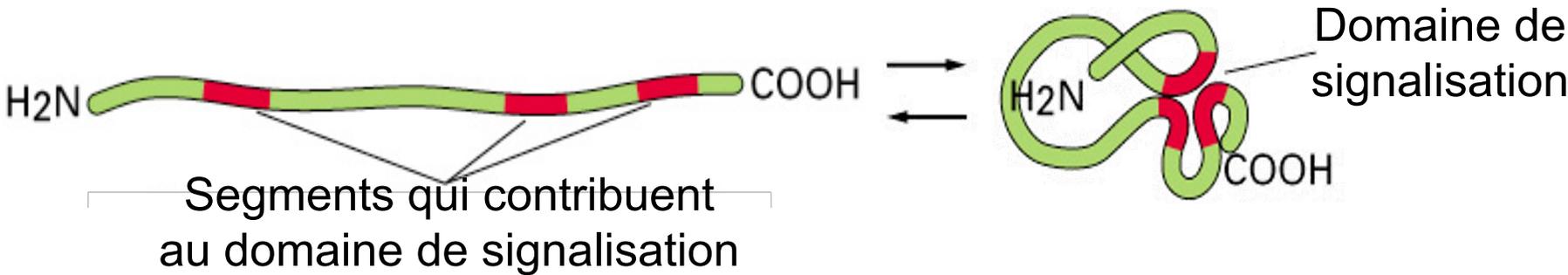


Günther Blobel
1936-2018

Prix Nobel de Médecine ou de Physiologie en 1999

« pour sa découverte que

les protéines possèdent des signaux intrinsèques qui gouvernent leur transport et leur localisation dans la cellule. »



Deux façons de construire une séquence de signalisation

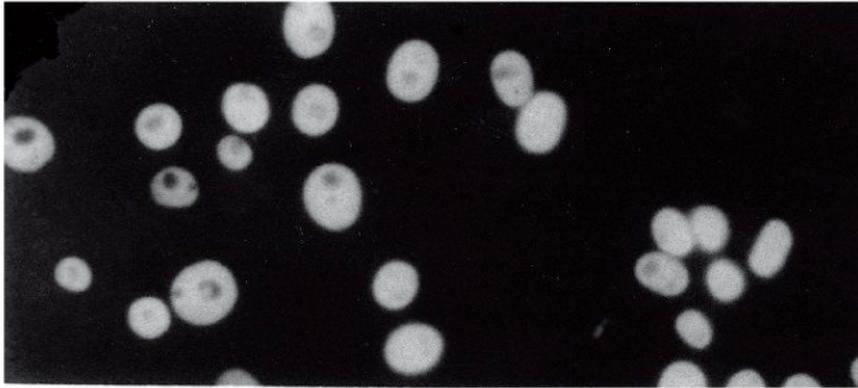
NLS : « Nuclear Localization Signal »

= Signal de localisation nucléaire

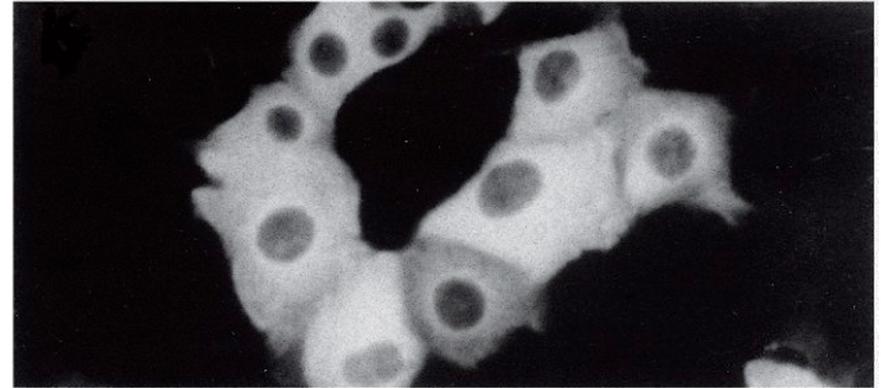
= Signal de localisation dans le noyau

SV-40 : « simian virus 40 »

LOCALISATION DE
L'ANTIGÈNE T DE SV-40
ÉQUIPÉ DE SON NLS NORMAL
-Pro-Pro-Lys-Lys-Lys-Arg-Lys-Val-



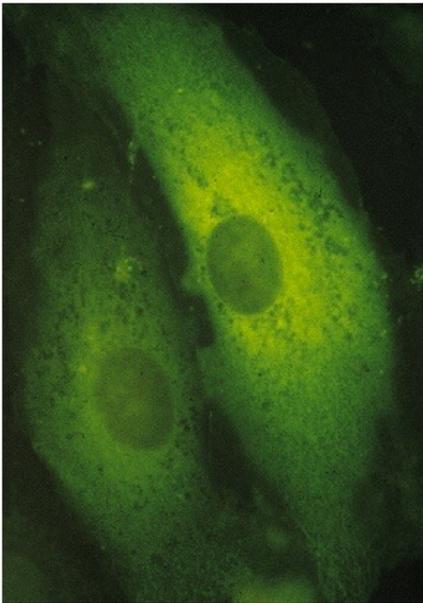
LOCALISATION DE
L'ANTIGÈNE T DE SV-40 ÉQUIPÉ
D'UN NLS AVEC UNE MUTATION
-Pro-Pro-Lys-Thr-Lys-Arg-Lys-Val-



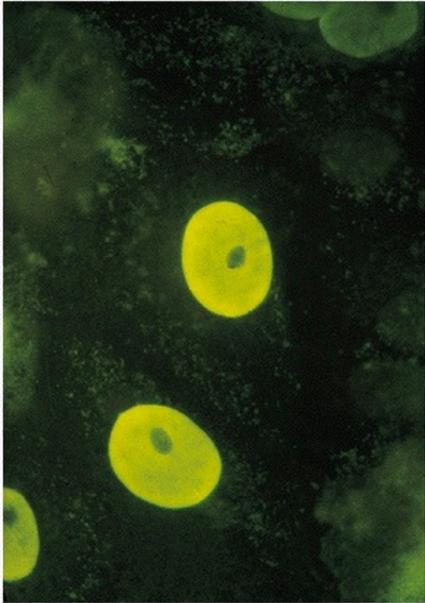
(Marquage par immuno-fluorescence indirecte)

Fonction d'un signal de localisation dans le noyau (NLS)

Pyruvate kinase



Pyruvate kinase-NLS



(Marquage par immuno-fluorescence indirecte)

Le Signal de Localisation Nucléaire de l'antigène T de SV40 peut diriger dans le noyau une protéine normalement localisée dans le cytoplasme

• $\varnothing > 9 \text{ nm}$

Enveloppe du noyau

10 min

(A)

30 min

(B)

40 min

(C)

50 min

(D)

Noyau

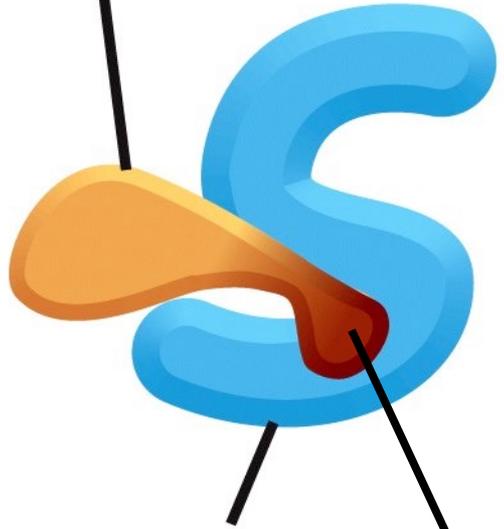
Cytosol

100 nm

• sphères d'or colloïdal recouvertes d'un NLS, injectées dans le cytosol

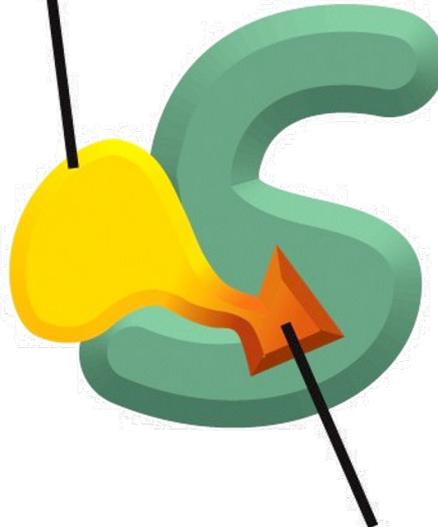
Visualisation du transport actif à travers les pores du noyau (ME)

Protéine à transporter 1



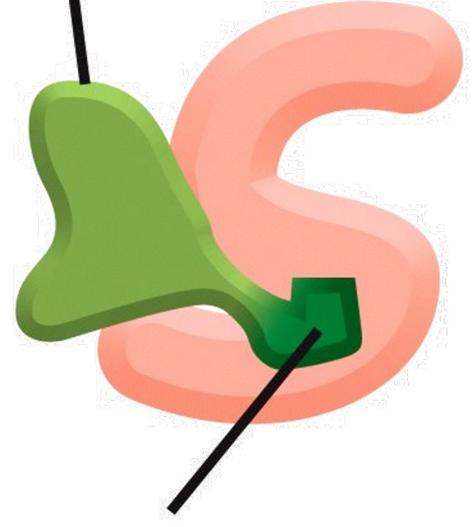
Récepteur d'importation nucléaire

Protéine à transporter 2

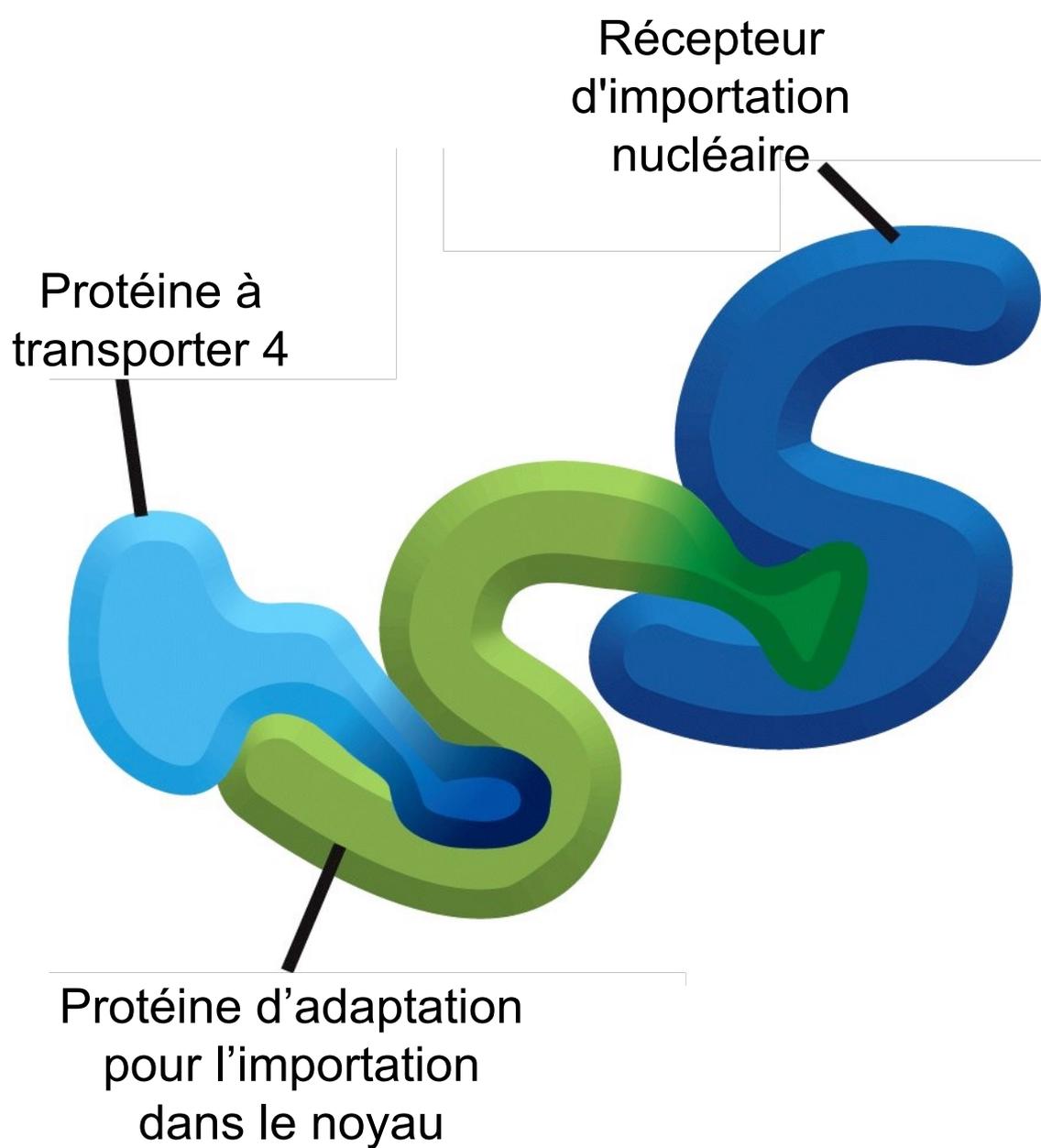


Signal de localisation nucléaire (NLS)

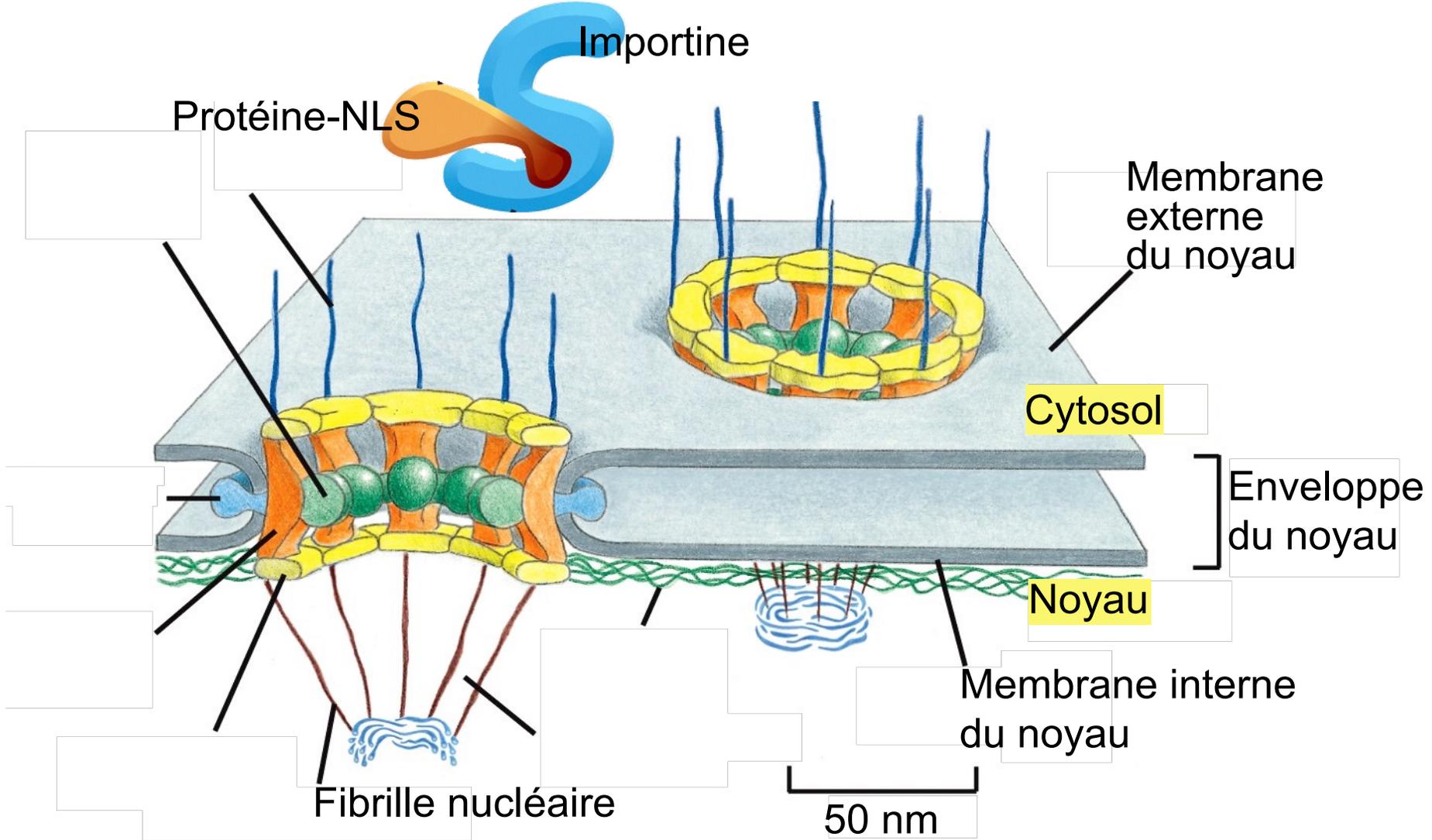
Protéine à transporter 3



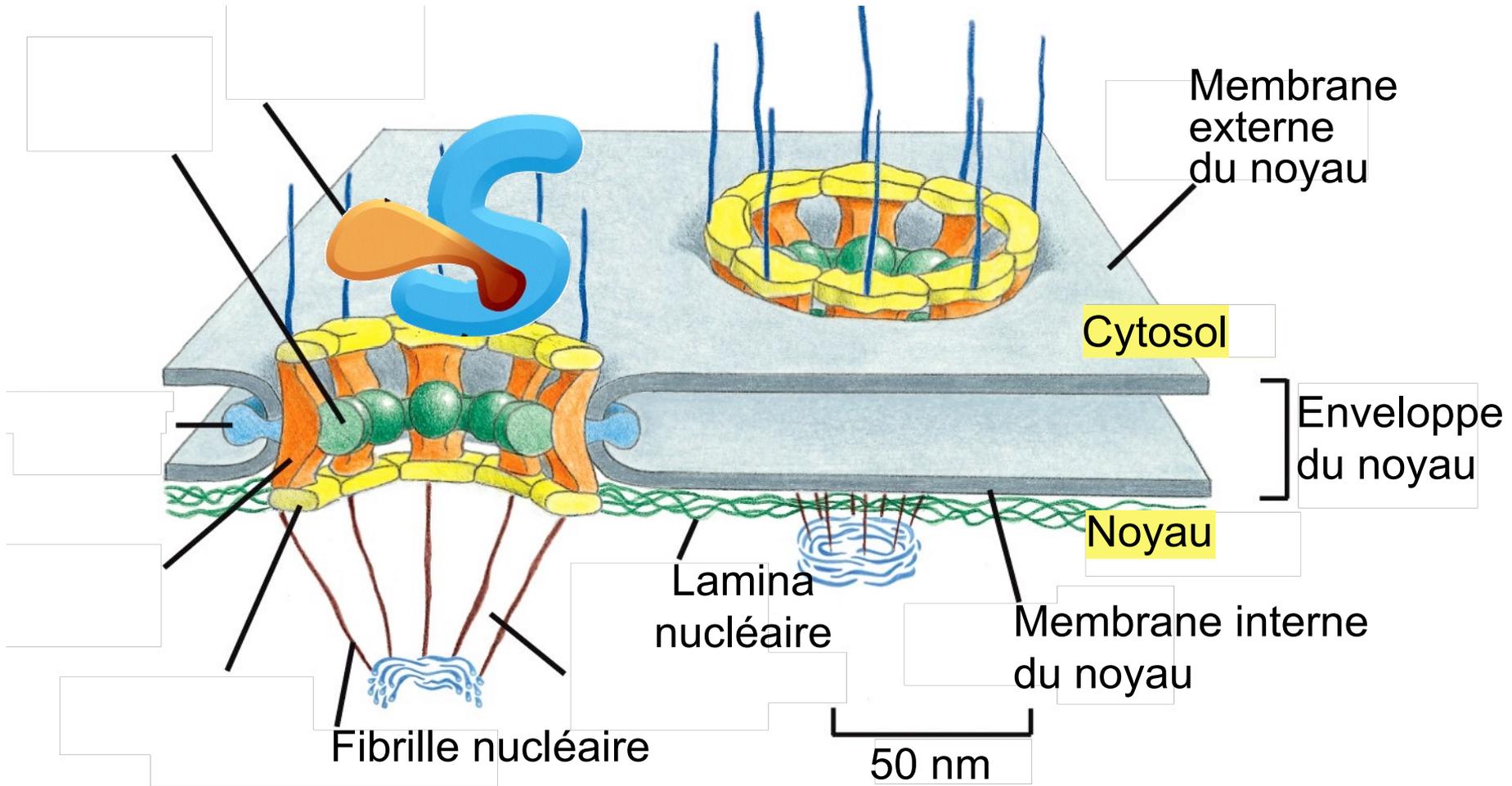
Différentes sortes de récepteurs de protéines à importer dans le noyau (importines)



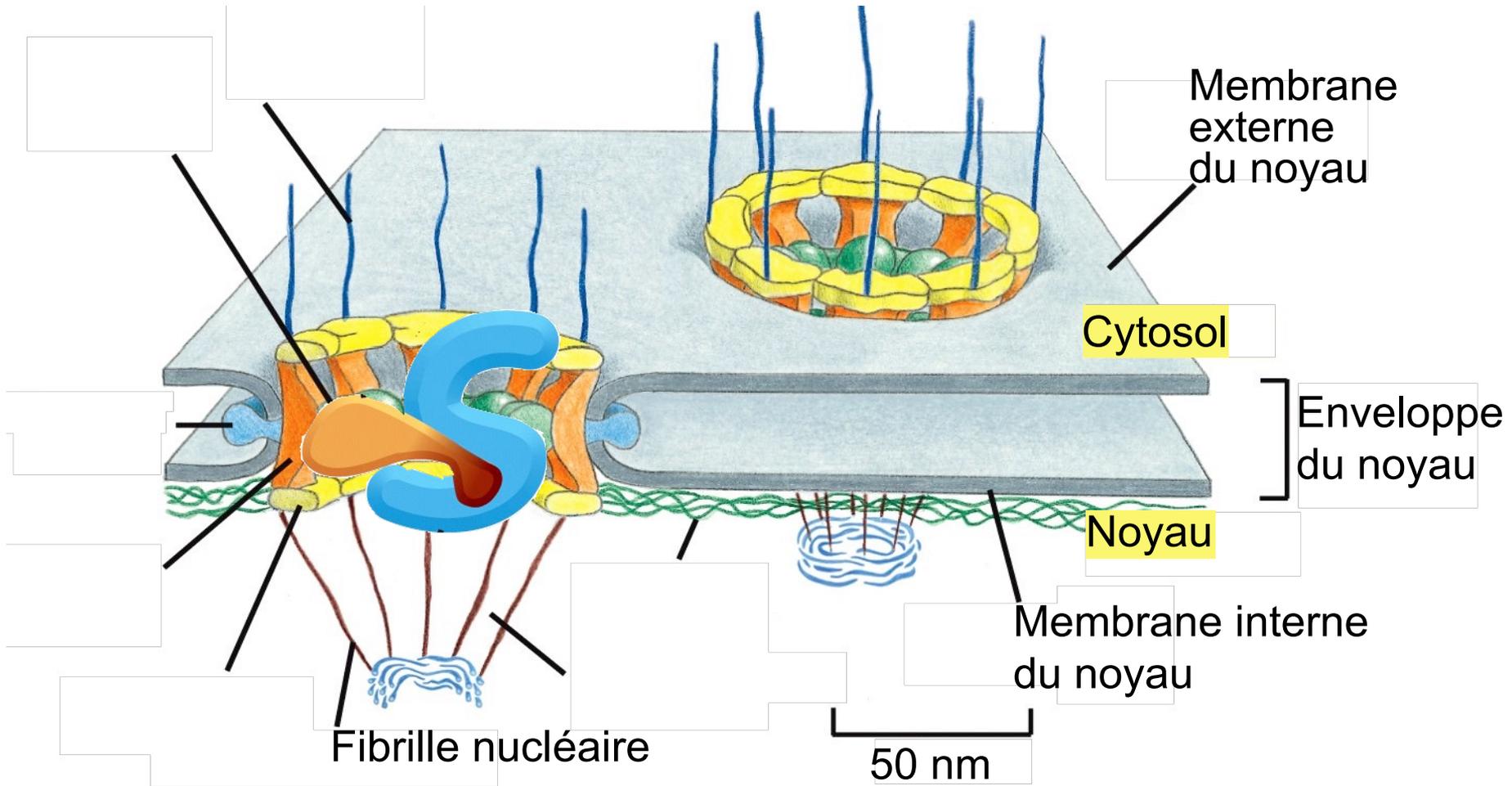
Différentes sortes de récepteurs de protéines à importer dans le noyau (importines)



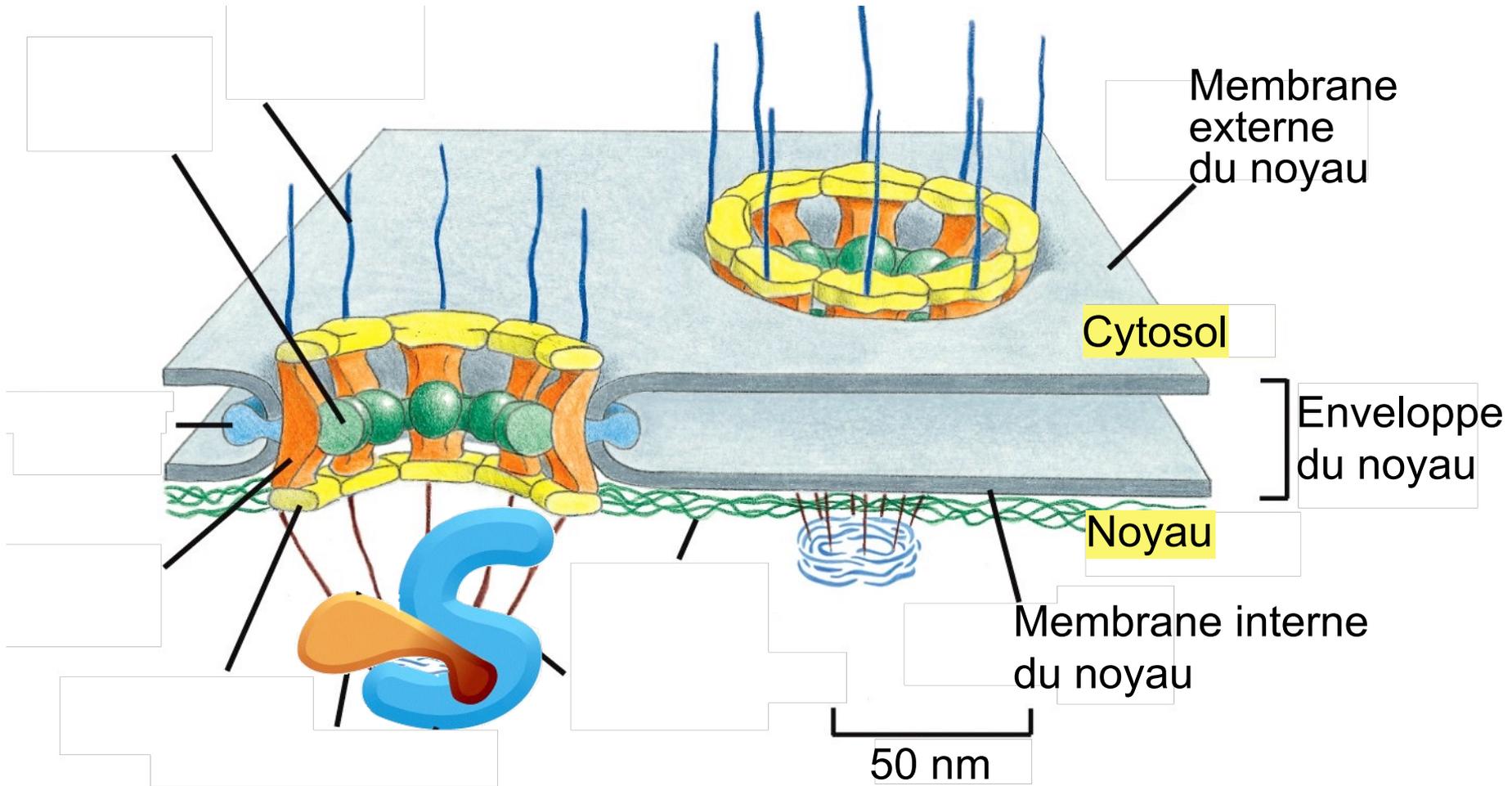
Passage des récepteurs par interactions successives avec les segments FG des fibrilles et des nucléoporines



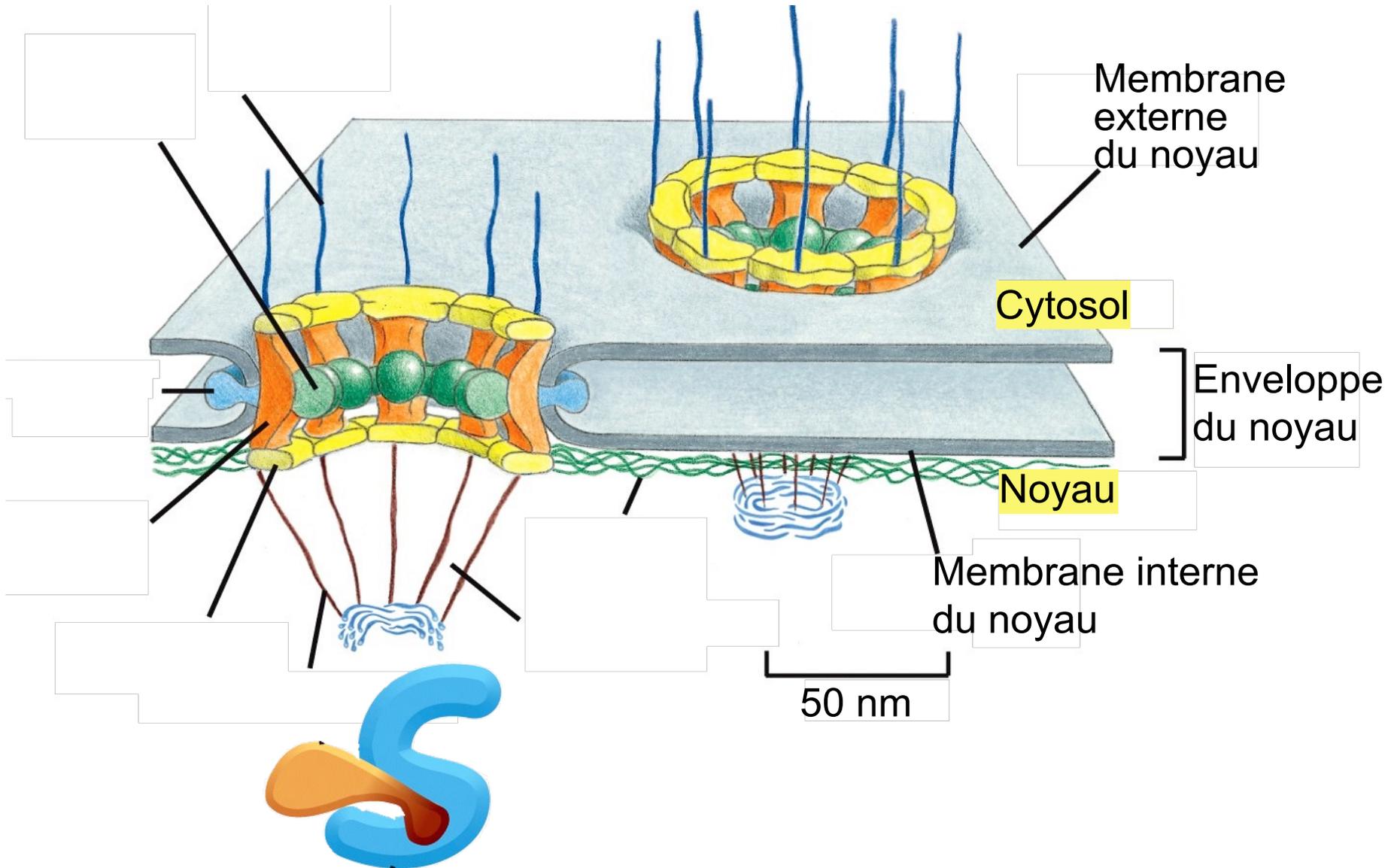
Passage des récepteurs par interactions successives avec les segments FG des fibrilles et des nucléoporines



Passage des récepteurs par interactions successives avec les segments FG des fibrilles et des nucléoporines



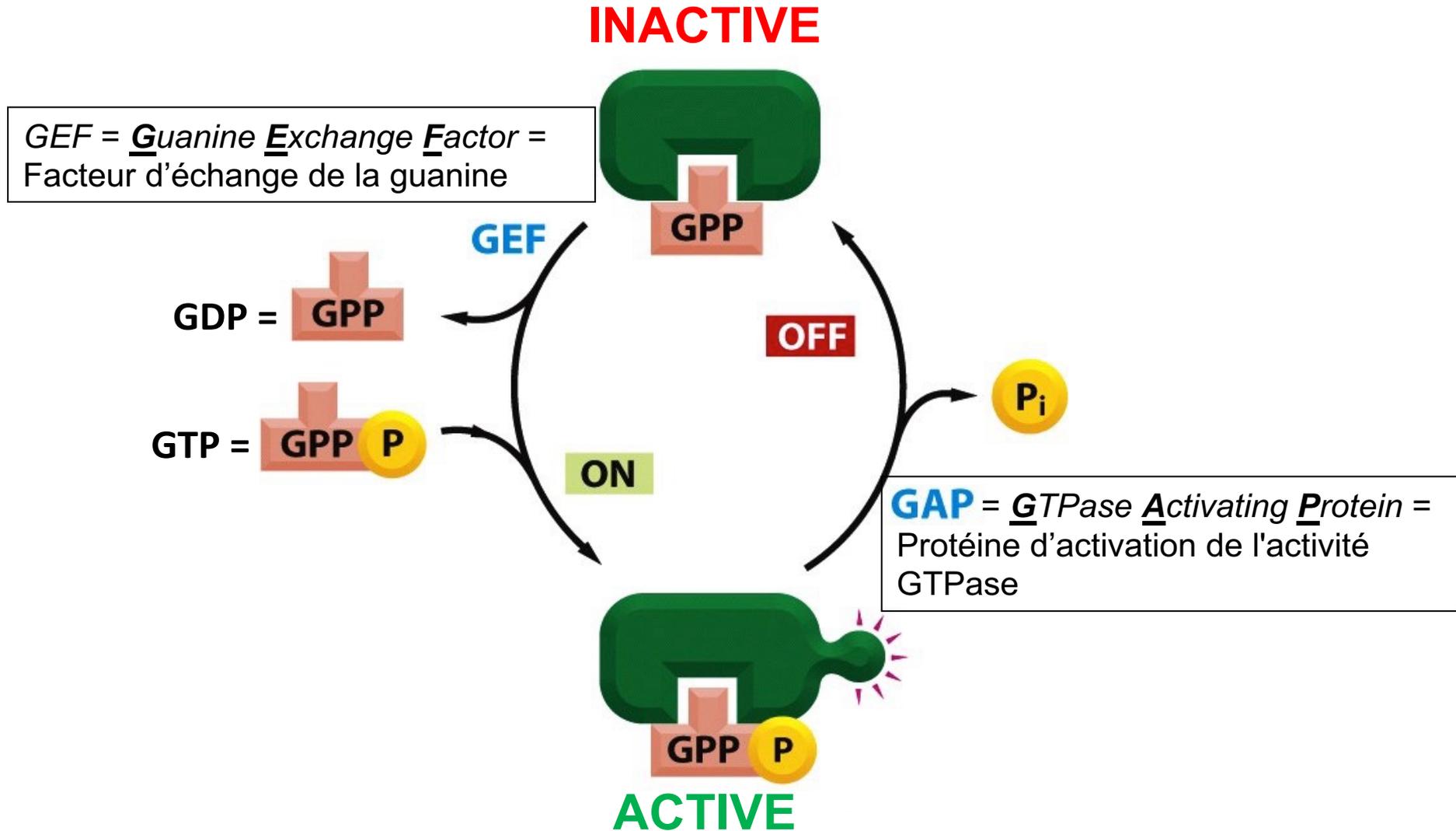
Passage des récepteurs par interactions successives avec les segments FG des fibrilles et des nucléoporines

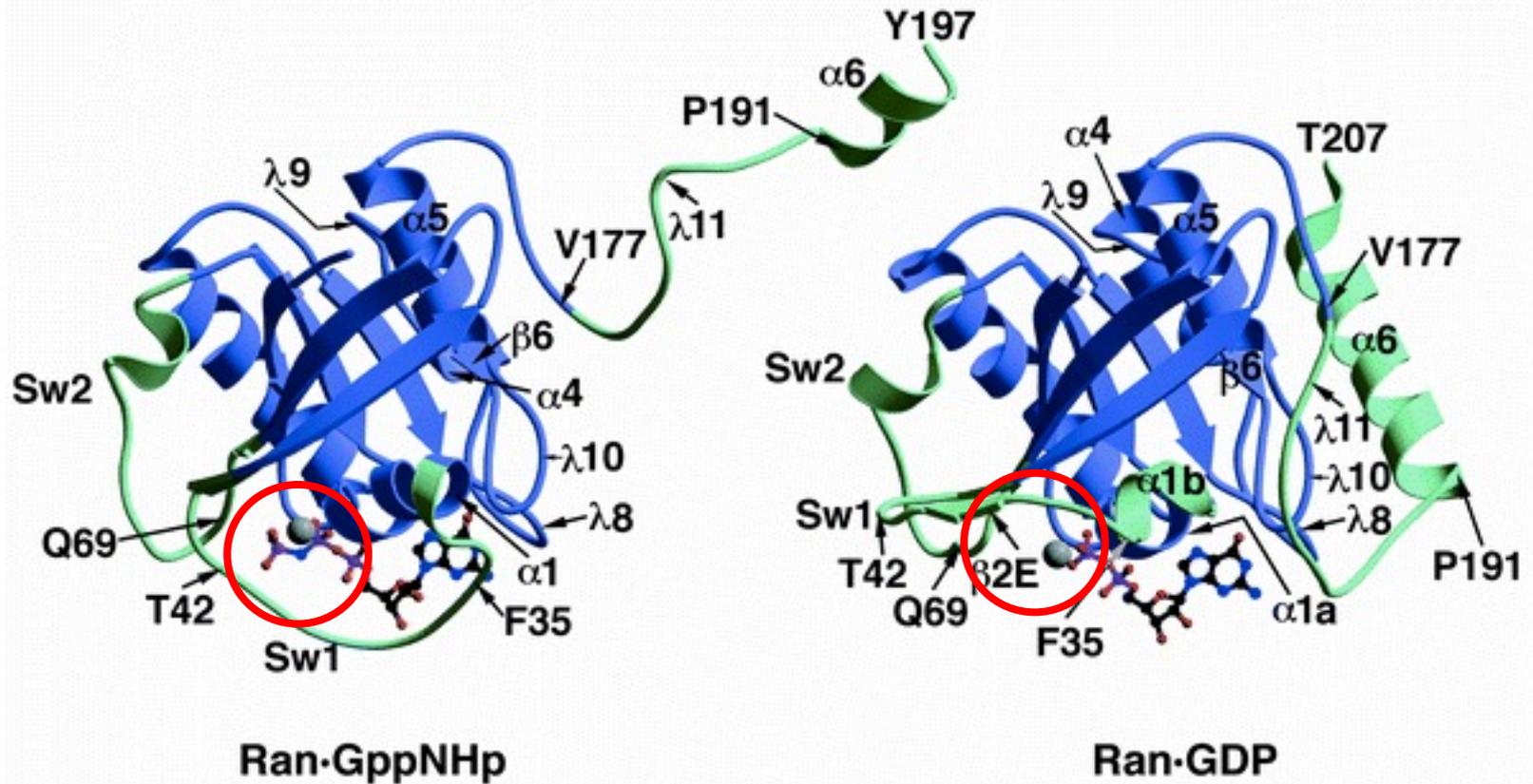


Passage des récepteurs par interactions successives avec les segments FG des fibrilles et des nucléoporines

Force motrice apportée par des Ran-GTPases

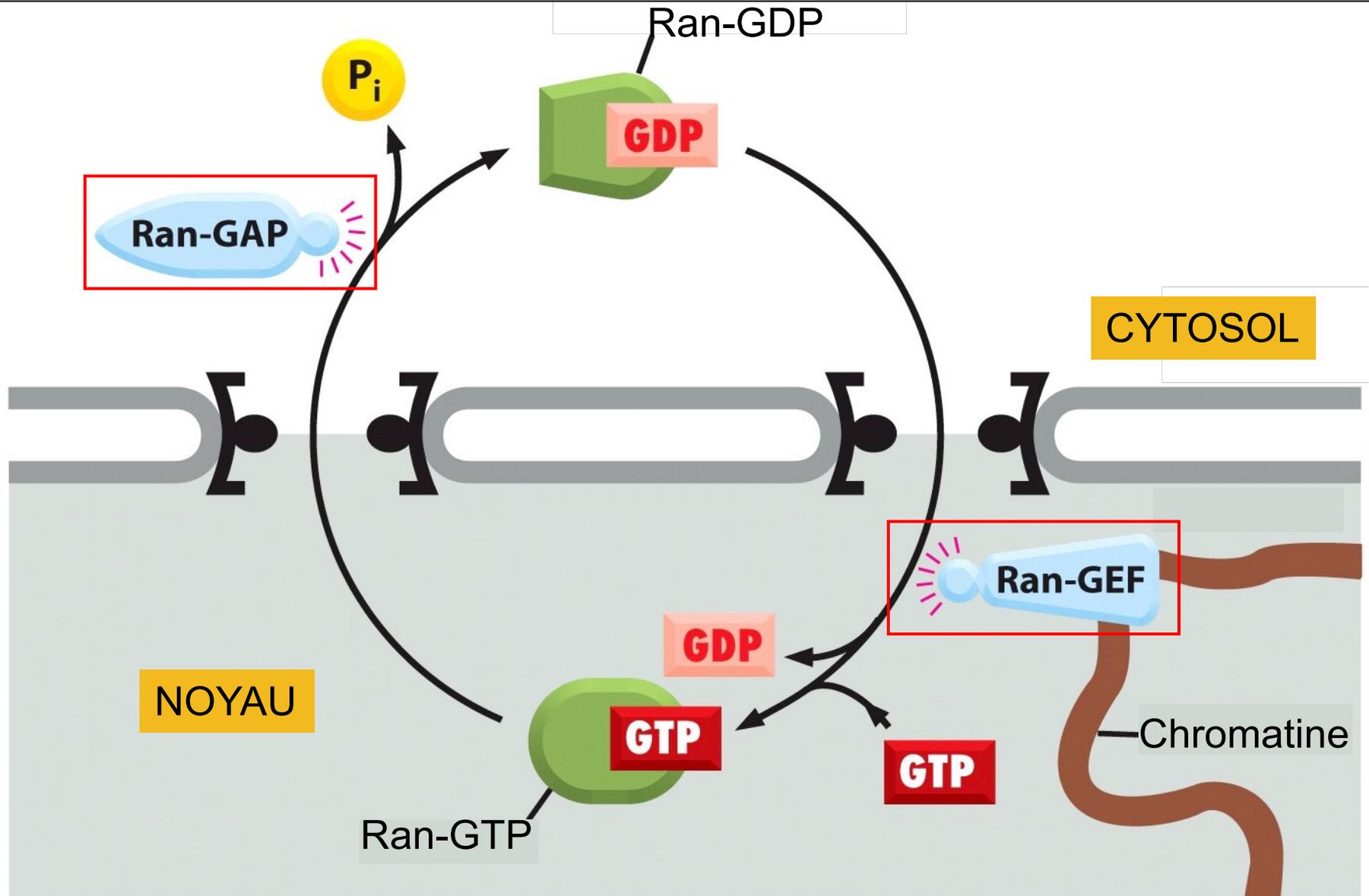
Les petites GTPases sont des commutateurs moléculaires





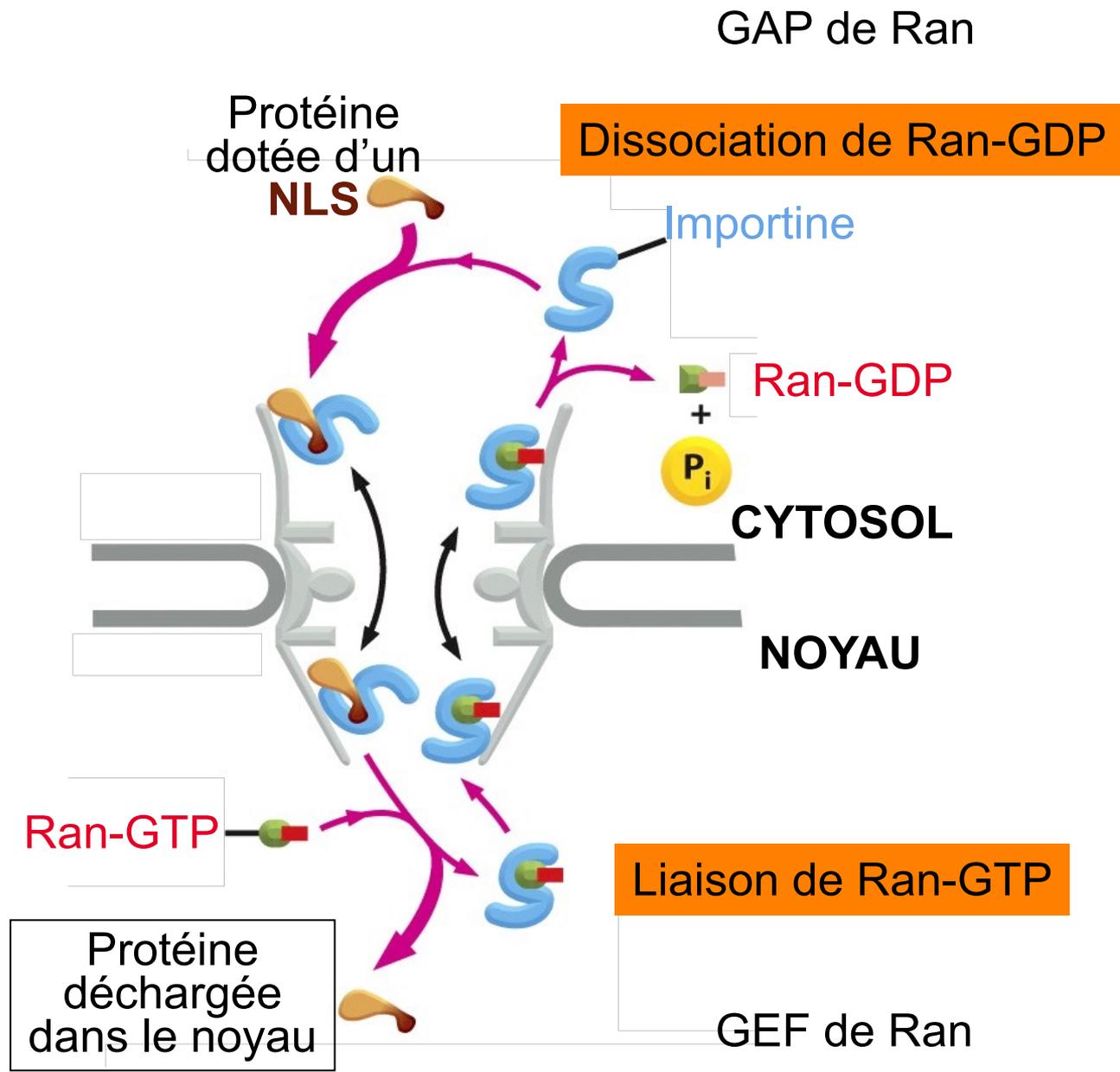
**Les protéines de liaison au GTP sont des commutateurs moléculaires :
 l'exemple de Ran**

GAP = « **G**TPase **A**ctivating **P**rotein » = Protéine d'activation de la GTPase



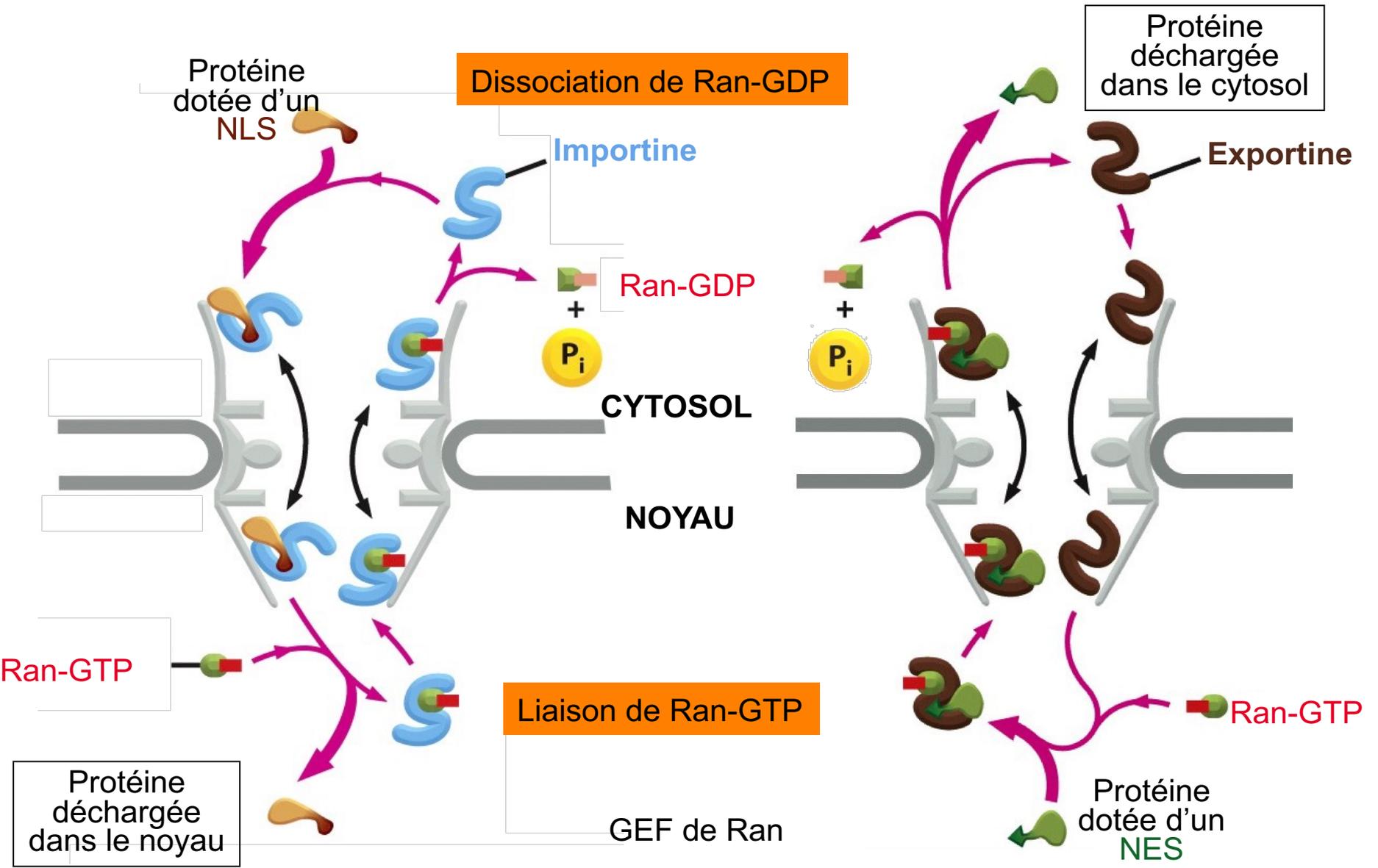
GEF = « **G**uanine **E**xchange **F**actor » Facteur d'échange de la guanine

Localisation de Ran-GTP dans le noyau et de Ran-GDP dans le cytosol



Rôle de Ran-GTP/Ran-GDP dans l'importation des protéines entre le cytosol et le noyau

GAP de Ran



Liaison exportine – Ran-GTP accroît affinité pour protéine portant une séquence NES (Nuclear Export Signal)

Caryophérines

Récepteur de protéine à importer = IMPORTINE

Récepteur de protéine à exporter = EXPORTINE

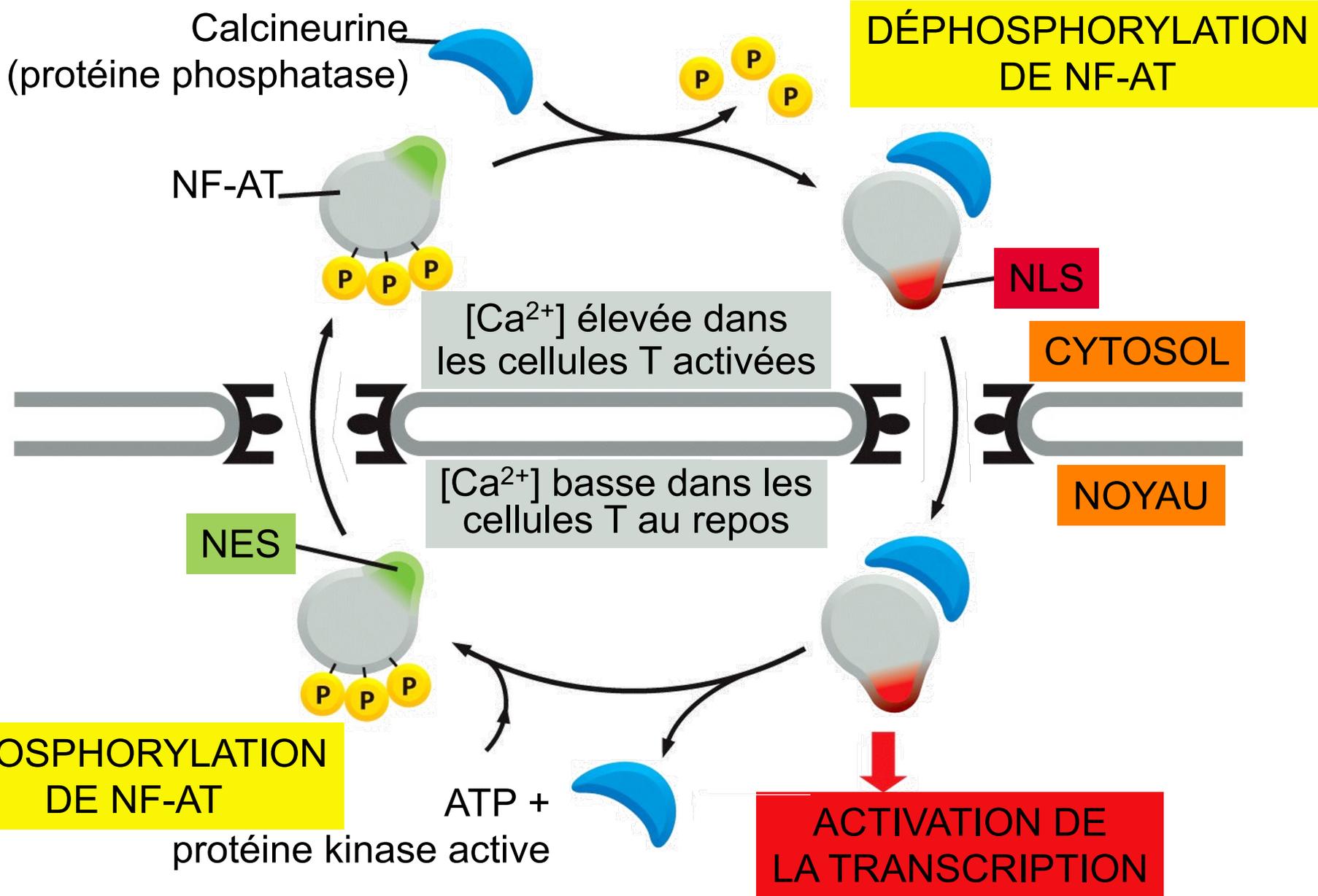
Les gènes des importines et des exportines appartiennent à la même famille de gènes de récepteurs de transport dans le noyau, récepteurs appelés aussi caryophérines.

NF-AT = « **Nuclear Factor of Activated T cells »**

Facteur nucléaire des cellules T activées

Lymphocyte T (ou cellule T) : type de lymphocyte responsable de la réponse immunitaire adaptative.

Contrôle du transport de NF-AT entre le cytoplasme et le noyau au cours de l'activation des cellules T



Ionophore : Petite molécule hydrophobe qui se dissout dans les bicouches lipidiques et qui augmente la perméabilité de ces dernières à des ions inorganiques spécifiques.



Visualisation des mouvements entre le cytosol et le noyau de NF-AT couplée à la GFP en fonction du taux de calcium intra-cellulaire

Cyclosporine A et **FK506** sont de puissants agents immuno-suppresseurs qui inhibent la déphosphorylation de NF-AT par la calcineurine ce qui empêche l'accumulation de NF-AT dans le noyau.

La cyclosporine a permis un essor considérable du domaine de la transplantation d'organes en prévenant le rejet aigu des allogreffes.

Points à retenir

- le cytosol et le nucléoplasme sont en continuité via les pores de l'enveloppe nucléaire
- les pores nucléaires empêchent la diffusion de molécules de poids moléculaire >30kD
- les séquences NLS ou NES permettent l'interaction de la cargaison avec une importine ou une exportine
- l'affinité de cette interaction est modifiée par la fixation de Ran-GTP sur la caryophérine
- la direction du transport dépend de l'asymétrie de concentration de Ran-GDP haute dans le cytoplasme et de Ran-GTP haute dans le noyau
- ce gradient s'explique par l'interaction de Ran-GEF avec la chromatide et la localisation de Ran-GAP dans le cytoplasme
- avoir compris le rôle de GAP et GEF sur les petites GTPases dont fait partie Ran
- le transport nucléo-cytoplasmique est régulable