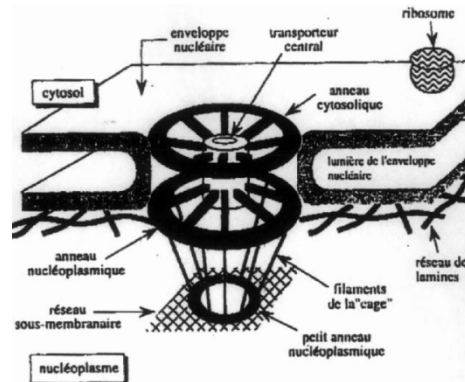
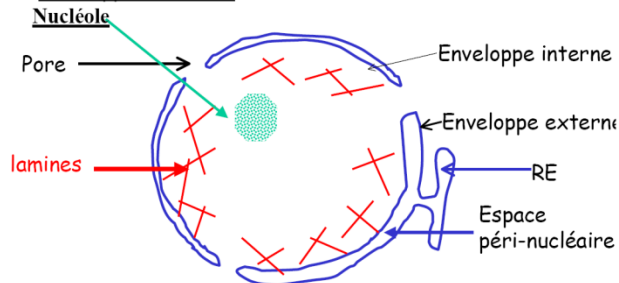


I – Noyau : structure :

Enveloppe nucléaire = membrane interne + externe

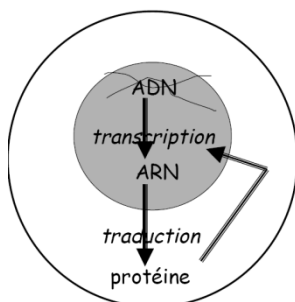


- **Pore Nucléaire** : structure en panier de basket composée de 3 anneaux perpendiculaires à l'axe ainsi que de filaments parallèles à l'axe
- Il existe 3 anneaux
 - o Cytosolique
 - o Nucléoplasmique
 - o Petit anneau nucléoplasmique
- **Constitution** : 400 à 2000 pores par cellule
- Le pore possède les caractéristiques suivantes
 - o Canal du pore : 10 nm - changement de conformation possible pour atteindre 25 nm
 - o Un pore forme un complexe de 100 nm
 - o Contient des protéines glycosylées : les nucléoporines : 50 à 100 différentes
 - Ces protéines obstruent partiellement le pore
 - Et ont un rôle dans le transport noyau – cytoplasme

1/ Structure du noyau :

- Enveloppe nucléaire
- Nucléoplasme : ADN + ARN + protéines associées + matrice (lamine et protéines de la charpente)
- Lamines : appartiennent au cytosquelette (voir cours n°18) : ce sont des protéines fibreuses associées pour former un réseau
 - o Si phosphorylées (mitose) plus de réseau : l'enveloppe nucléaire s'effondre

2/ Transport nucléocytoplasmique :



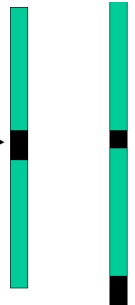
Noyau : Contient toute l'information génétique (sauf ADN mitochondrial), lieu de réplication et de transcription mais PAS DE SYNTHÈSE PROTÉIQUE

- Cytoplasme : lieu de la traduction de l'ARNm en protéines
- Il y a donc nécessité d'un transport bidirectionnel pour faire passer l'ARN du noyau au cytoplasme d'une part et des protéines du cytoplasme au noyau d'autre part pour la réplication et la transcription

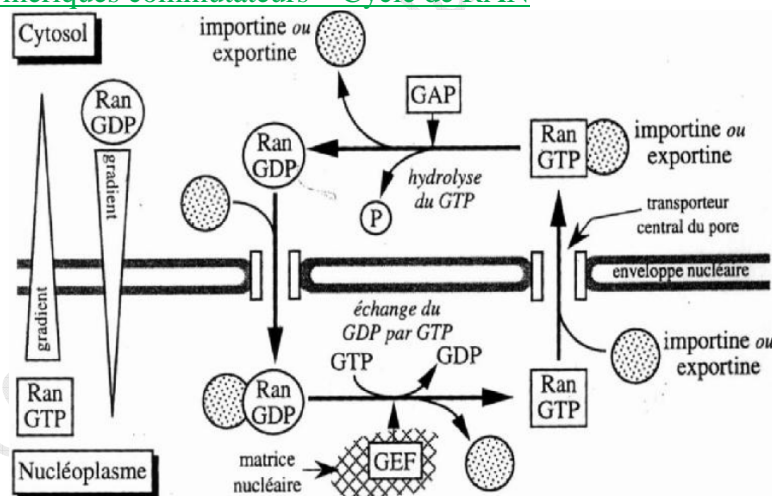
- Il existe un transport passif
 - o Bidirectionnel
 - o Ne nécessitant pas d'énergie
 - o Pour les molécules de taille < 10 nm (ions, nucléotides et de rares petites protéines)
- Il existe surtout un transport actif permettant l'importation des protéines dans le noyau
 - o Cela concerne les enzymes ou encore les facteurs de transcription grâce au SLN ou NLS (les deux sont dits régulièrement)
 - NLS : Nuclear Localization Sequence
 - SLN : Signal de Localisation Nucléaire
- Le NLS est (à savoir par cœur)
 - o Présent dans TOUTES les protéines nucléaires
 - o Composé de 8 à 10 acides aminés
 - o Variable d'une protéine à une autre
 - o Peut être bipartite
 - o Composé d'acides aminés chargés positivement
 - o Le NLS n'est pas clivé après entrée dans le noyau
- Rôle du NLS
 - o Si ajoute un NLS à une protéine qui n'en a pas, elle va désormais dans le noyau
 - o Si on retire le NLS à une protéine nucléaire, elle est incapable d'aller dans le noyau

Séquence de localisation nucléaire = SLN

SLN →

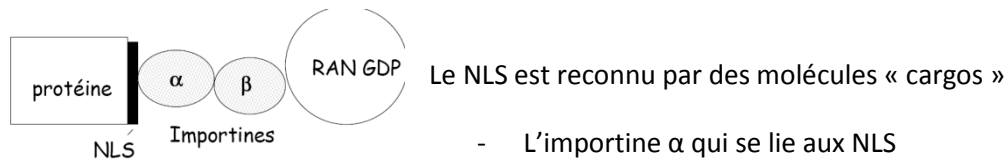


3/ Protéines G monomériques commutateurs – Cycle de RAN

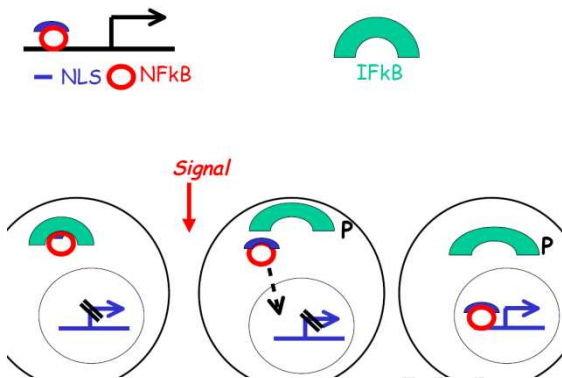


- Ran est une petite protéine G
- Cytoplasme : beaucoup de Ran GDP et de GAP (G Activating Protein)
- Noyau : beaucoup de Ran GTP et de GEF (G Exchange Factor)
 - o Ran GTP sort du noyau car il y a un fort gradient de concentration
 - o Dans le cytoplasme, GAP transforme Ran GTP → Ran GDP
 - o Ran GDP retourne au noyau par gradient de concentration
 - o Le GEF change Ran GDP → Ran GTP
- L'intérêt de cette Protéine G est directement lié aux molécules cargo et au transport actif entre noyau et cytoplasme !
- Note : les protéines G / commutateurs seront repris en détail dans le cours du Professeur Maier (fin du cours de Signalisation Cellulaire n°1)

4/ Molécules cargos :

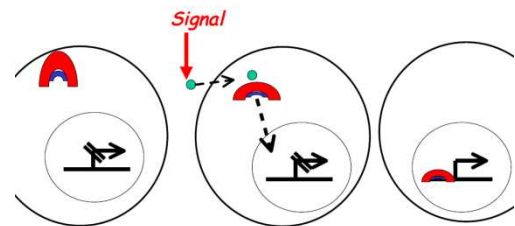


- L'importine α qui se lie aux NLS
- L'importine β qui se lie à l'importine α (adaptateur), solidifie la liaison importine α – NLS, et se lie à Ran
- De ce fait, le complexe, emmené par Ran GDP va se diriger vers un pore nucléaire, dans lequel l'importine β interagit avec les nucléoporines
- Une fois le complexe dans le noyau,
 - o Le complexe se dissocie car Ran GDP est échangée en Ran GTP
 - o L'importine β est liée à Ran GTP et réexpédiée au cytoplasme
 - o L'importine α se lie à une exportine elle-même reliée à une Ran GTP ; l'ensemble est également renvoyé au cytoplasme
 - o La protéine NLS reste dans le noyau
- Le transport nucléocytoplasmique est régulable et extrêmement utile pour les protéines transcriptionnelles : ainsi en cachant ou démasquant la NLS on contrôle l'entrée de ces protéines dans le noyau et de ce fait la transcription !

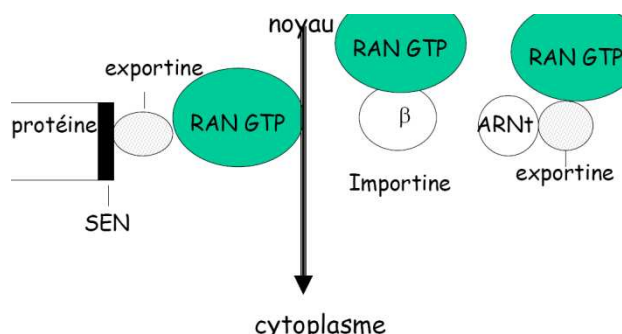


- 1^{er} exemple : NFκB possède une NLS
- Celle-ci est masquée par un inhibiteur : IκB
- Si celui-ci se détache, la NLS est découverte
- En cas de phosphorylation due à un signal extérieur, IκB se détache, découvrant donc la NLS
- A ce moment là NFκB est transportée dans le noyau
- Il y a alors transcription

- Autre exemple : le récepteur aux hormones glucocorticoïdes a une NLS masquée
- En cas de signal extérieur, la NLS est démasquée permettant au récepteur d'être importé dans le noyau
- De là, la cellule est désormais réceptive aux hormones glucocorticoïdes



5/ Transport actif des ARN et des protéines du noyau au cytoplasme :



- ARNm, ARNt et ARNr trop gros pour le transport passif : exportation liée à des protéines
- Les signaux d'exportation sont similaires à ceux d'importation
- Les ARNm ne sont exportés que parfaitement matures et protégés (voir NMD)

6/ Facteurs de transcription :

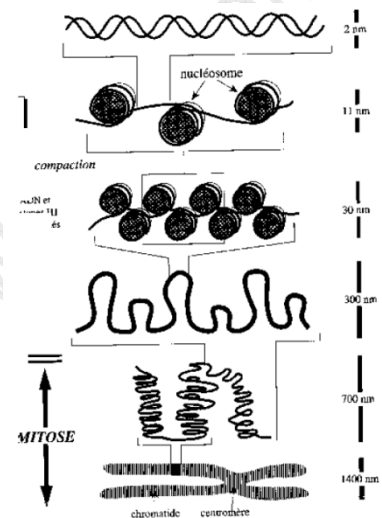
- Protéines se liant à l'ADN sur des régions régulatrices en particulier sur le promoteur des gènes (dans le cadre du complexe général de transcription)
- Agissent en amont de la transcription
- Permettent une spécificité de la transcription (expression d'un gène)



- Le 3/ et le 4/ seront particulièrement bien expliqués dans le cours de signalisation cellulaire, si vous ne comprenez pas, ce n'est pas grave. Le paragraphe sur les molécules cargos est très important, tout comme la structure du pore, le NLS et le cycle de Ran. Apprenez intelligemment ce I !

II – Compaction de la chromatine

- La Chromatine → ADN + Protéines de régulation (facteurs de transcription par exemple)
- ADN déroulé > 1m
- Taille noyau < 2 µm de diamètre
- Il y a donc une compaction non due au hasard, variable suivant les phases du cycle cellulaire



A – Les niveaux de compaction

NB : le schéma est trop complet pour une PCEM1, il sert juste à vous donner une vision globale ce qui manque souvent et nuit à la compréhension

1^{er} niveau de compaction : le nucléosome et la fibre de 10 nm

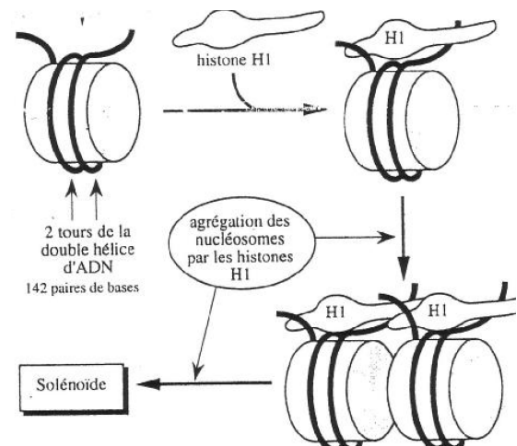
- Histones :
 - o Petites protéines très abondantes (100 à 200 acides aminés), avec un domaine compact de 70 à 100 aa et une queue flexible de 30 aa à l'extrémité N-terminale
 - o Chargées positivement pour se lier à l'ADN chargé négativement
 - o Codées par des gènes très conservés à travers les espèces, pas d'introns ni de queue poly A, mais une séquence NLS
- Nucléosome : octamère d'histones
 - o Formé de 2 copies de 4 histones dites nucléosomiques : H2A, H2B, H3 et H4
 - o H3 et H4 sont globulaire avec une petite queue en C et une grande en N
 - o L'ADN fait 2 tours autour de chaque nucléosome : 146 paires de bases
 - o Entre 2 nucléosomes, espace variable de 0 à 80 paires de bases
- Ce premier niveau de compaction n'est pas un obstacle à la transcription / réplication mais les gêne tout de même.



Il y a un vieux débat sur le transport des histones : actif ou passif majoritairement ? A moins que le Professeur De Vernejoul le précise, oubliez ça et dites vous qu'il faut des quantités énormes d'histones dans le noyau, et donc qu'elles sont importées majoritairement de façon active

2^{ème} niveau de compaction : la fibre de 30 nm

- Les nucléosomes se groupent par 6 pour former des solénoïdes
- L'histone H1 réalise l'agrafage entre les nucléosomes
 - o C'est une histone non nucléosomique
 - o Elle est globulaire et flanquée de 2 domaines C et N terminaux



3^{ème} niveau de compaction : la fibre de 300 nm

- SMAR : régions de l'ADN qui s'associent de façon préférentielle à la matrice nucléaire et sont à la base des boucles
 - o Les SMAR sont non codantes
 - o Il y a formation de boucles de 10 000 à 100 000 paires de bases sur un axe de protéines (non histones) de la charpente nucléaire



4^{ème} niveau de compaction : à la mitose

- Le niveau de compaction est encore plus important
- Individualisation possible des chromosomes dans la cellule → caryotype



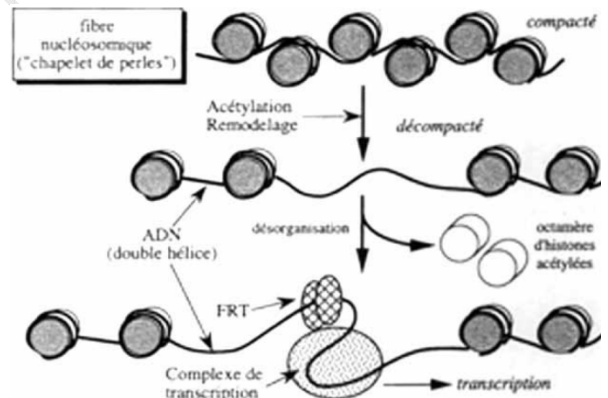
Un vieux débat alimenté par certaines prépas porte sur le nombre de niveaux de compaction. Une chose est sûre : il n'y en a pas 3 ! La prof en présente 4 mais sur le schéma y'en a 7... Comme toujours la réponse est entre les deux extrêmes ;-)

B – Compaction de la chromatine et activité des gènes

- 2 types de chromatines
 - o Hétérochromatine : dense, non codante, très compacte, 90% de l'ADN
 - o Euchromatine : claire ; codante, moins compacte
 - o Plus l'ADN est compacté et moins la chromatine est accessible aux facteurs de transcription (A COMPRENDRE PARFAITEMENT)
 - o Ainsi plus l'ADN est compacté et plus il faudra de DNAase pour le dégrader
 - o La zone la plus rapidement dégradée était la moins compactée c'est-à-dire celle se liant aux facteurs de transcription : région des promoteurs des gènes
- Modifications post-traductionnelles des histones
 - o La modification de la compaction de la chromatine dépend de modifications post-traductionnelles des histones qui peuvent être des acétylations (nucléosomiques) ou des phosphorylations (Ser et Thr de H1 et H4)

C – Les modifications de la compaction de la chromatine

- Hétérochromatine : centromères, télomères, ADN répétitif – non codant
 - o Répartition à l'interphase à la périphérie du noyau
 - o La méthylation sur la Lysine 9 de l'Histone 3 à son extrémité N-terminale est effectuée par une enzyme spécifique : H3 Lys9 Méthyl Transférase
 - o Cela attire une protéine : HP1 (qui n'est surtout pas une histone phosphorylase malgré le nom) qui se lie à H3 méthylée
 - o D'où de nombreuses conséquences
 - Maintien de la conformation condensée
 - Répression active de la transcription dans l'hétérochromatine
- Euchromatine
 - o Modifications en fonction du cycle cellulaire
 - o Également dans le cadre de régulations de l'expression de gènes
 - o Tout cela dépend de modifications post-traductionnelles des histones
- En ce qui concerne H1 : phosphorylée lors de la mitose sur des sérines et thréonines ce qui provoque un resserrement des liaisons inter-nucléosomiques → augmentation de la compaction de la chromatine, et répression de la transcription – réplication
- En ce qui concerne H2 A et B, H3 et H4
 - o Acétylation des histones nucléosomiques à l'interphase
 - o Les acétyls portent des charges – qui en se plaçant sur les lysines vont diminuer la force des liaisons entre les histones (+) et l'ADN (-)
 - o Cette acétylation est effectuée par des protéines HAT : Histone Acetyl Transférases ou acétylases
 - o Plusieurs familles d'acétylases ont été identifiées, se localisant dans des complexes nucléaires soit avec des facteurs de transcription spécifiques soit au niveau du complexe général de transcription (TFIID)
- HAT = co-activateurs de facteurs de transcription
- HDAC : désacétylent : ce sont donc des corépresseurs de la transcription



Il n'y a pas de méthode : le II est à savoir à la perfection : il est dur à comprendre, et pourtant le cours est vraiment clair ici... Soyez concentrés au maximum en amphi, car les questions se révèlent vite piégeuses sur ce fameux II. Pour les chiffres, ils sont à savoir de façon précise, donc par cœur. Bon courage ! ☺

Ce document, ainsi que l'intégralité des cours de P1, sont disponibles gratuitement à l'adresse suivante : <http://cours1bichat-larib.weebly.com>