



Université Claude Bernard



Lyon 1

DIPLÔME NATIONAL DE DOCTORAT

(Arrêté du 25 mai 2016)

Date de la soutenance : **07 septembre 2022**

Nom de famille et prénom de l'auteur : **Madame MUSAWI Shaqraa**

Titre de la thèse : « *Rôles non-canoniques de la protéine anti-apoptique Bcl-xL dans le développement du système nerveux central* »



Résumé

Le noyau est l'organite cellulaire qui stocke l'information génétique des cellules eucaryotes. Toutes les fonctions cellulaires dépendent d'un contrôle efficace et étroitement régulé de l'expression des gènes. Pour cela, différents processus métaboliques de l'ADN et de l'ARN coexistent au sein du noyau, notamment la transcription des gènes codant pour les protéines et les gènes ribosomiques, la maturation de l'ARN, la régulation épigénétique de la chromatine, l'organisation, etc. Certains de ces processus se produisent dans des domaines spatialement séparés au sein du noyau via l'établissement d'organites nucléaires sans membrane. Parmi eux, le nucléole est le plus grand compartiment nucléaire : il héberge la transcription et la maturation des ARN ribosomiques nécessaires à la biogenèse des ribosomes.

Des agents physiques et chimiques menacent constamment l'intégrité de notre matériel génétique en provoquant différents types de lésions de l'ADN. Par exemple, l'exposition à la lumière UV et certains autres agents chimiques induisent des lésions de distorsion de l'hélice, qui constituent l'une des meilleures aubaines d'altération de notre matériel génétique. Ces lésions affectent les processus métaboliques de l'ADN, mettant ainsi en danger la viabilité cellulaire. De plus, s'ils ne sont pas

correctement réparés, ils entraînent l'accumulation de mutations pouvant causer différents troubles humains (différentes pathologies), notamment des cancers et des altérations congénitales du développement. Pour éviter ces effets délétères, les cellules ont développé différents mécanismes de réparation de l'ADN, dont le système de réparation par excision de nucléotide (NER) l'un des plus polyvalents pour réparer une grande variété de lésions de l'ADN, y compris les dommages causés par les UV. Bien (qu'il existe une connaissance approfondie de) que la façon dont les cellules réparent la réponse aux dommages à l'ADN médiée par le NER bénéficie de connaissances approfondies, on sait très peu de choses sur la façon dont les cellules restaurent leurs activités normales après avoir terminé les processus de réparation.

En raison de l'organisation particulière de l'ADNr en réseaux en tandem et de ses taux de transcription exceptionnellement élevés, il est sujet au développement d'hybrides ARN: ADN (boucles R) qui endommagent l'ADN. Si les dommages à l'ADNr ne sont pas réparés correctement, ils peuvent entraîner des maladies et un vieillissement prématuré. De plus, les dommages à l'ADN provoquent des changements spectaculaires dans l'architecture nucléolaire. Notre équipe a récemment découvert qu'après un stress génotoxique (irradiation UV), le RNAP1 et l'ADN nucléolaire sont exportés vers la périphérie du nucléole (déplacement). Étant donné que la plupart des protéines de réparation sont présentes à l'extérieur du nucléole, ce mouvement est considéré comme important pour permettre une réparation appropriée. Fait intéressant, la structure nucléolaire appropriée ne peut être restaurée (repositionnement) qu'après la réparation complète de toutes les lésions UV sur l'ADN nucléolaire. Le mécanisme exact de cette relocalisation est très mal connu. Prenant comme point de départ la réorganisation nucléolaire dépendante du stress, ma thèse lèvera la barrière scientifiques concernant la compréhension des processus de maintenance cellulaire et d'homéostasie liés au nucléole après induction de stress.

Dans ma thèse, j'ai abordé cette question en m'intéressant aux mécanismes qui contrôlent la réparation et la restauration de l'organisation et de l'activité transcriptionnelle de l'ADN ribosomal. Plus précisément, j'ai étudié la dynamique de l'organisation nucléolaire lors du déplacement et du repositionnement des protéines nucléolaires causés par les dommages et la réparation de l'ADN en identifiant les facteurs impliqués dans ce processus. La fibrillarine (FBL), une protéine nucléolaire,

s'est avérée fondamentale pour la restauration d'une structure nucléolaire appropriée après l'achèvement de la réparation de l'ADN. Par conséquent, nous avons examiné si les partenaires d'interaction FBL tels que SMN a également joué un rôle dans ce processus.

Nous avons cherché à savoir si (SMN) pour Survival Motor Neuron qui permet la survie des neurones moteurs est impliquée dans la réorganisation nucléolaire induite par les dommages UV. Le rôle la protéine SMN a reçu une attention accrue dans plusieurs disciplines ces dernières années en raison de son association avec la première cause de maladie infantile mortelle, l'amyotrophie spinale (SMA), une maladie congénitale grave. la protéine SMN était particulièrement intéressant à analyser car son domaine Tudor interagit avec FBL. En outre, la SMN est une protéine impliquée dans différents processus métaboliques de l'ARN, en plus de plusieurs autres fonctions cellulaires critiques. En fait, le SMN peut être détecté dans le cytoplasme et le noyau. Dans le noyau, SMN se trouve dans les corps de Cajal (CB) avec Coilin et dans Gems sans Coilin. Les gemmes sont connues pour être enrichies en complexe SMN (SMN avec les protéines Gemins 2-8). La navette complexe SMN entre le cytoplasme et le noyau agit comme un chaperon pour favoriser l'assemblage des petites particules de ribonucléoprotéine nucléaire spliceosomale (snRNP) et joue donc un rôle crucial dans l'épissage du pré-ARNm.

Les nucléoles et CB sont des structures nucléaires dynamiques; ce sont des cibles essentielles des voies de signalisation de la réponse au stress, entraînant des changements dans leur architecture, leur taille et leur teneur en protéines. La coiline est la protéine marqueur du CB. La présence de Coilin dans l'espace périnucléolaire est principalement attribuée aux réponses au stress cellulaire qui entraînent la suppression de la transcription de l'ARNr. De plus, Coilin interagit avec FBL et SMN dans CB.

Résultats

Nous avons découvert une nouvelle fonction cellulaire inattendue pour le SMN dans la restauration de la structure nucléolaire appropriée après l'achèvement de la réparation de l'ADN. En effet, en l'absence de SMN, RNAP1 et FBL restent à la périphérie du nucléole, là où la transcription de RNAP1

va reprendre. Le redémarrage de la transcription de RNAP1 a été détecté à partir d'une localisation non canonique (la périphérie du nucléole). De plus, nous avons observé une navette dynamique du SMN à l'intérieur du nucléole 24 heures après l'induction des dommages et 24 heures avant la restauration de la structure nucléolaire. SMN fait la navette avec des protéines de son complexe, comme Gemin5. FBL et Coilin entreprennent différentes phases du processus de navette SMN. Sans Coilin, SMN ne peut pas atteindre la périphérie du nucléole, et sans FBL, SMN ne peut pas entrer dans le noyau. De plus, ni Coilin ni les cellules FBL ne sont capables de récupérer la localisation du nucléole de RNAP1. Ce va-et-vient est régi par des réactions de méthylation des protéines arginine méthyltransférases (PRMT).

De plus, des résultats préliminaires prometteurs mettent en évidence le rôle de Coilin dans l'étape de déplacement. Coilin interagit et agit comme un chaperon pour RNAP1 après des dommages UV-C en inhibant l'activité de RNAP1.

Nos découvertes identifient une nouvelle fonction de SMN et Coilin dans la réorganisation nucléolaire, établissant un nouveau lien entre CB et nucléole concernant la réponse aux dommages à l'ADN. Le positionnement aberrant de la transcription RNAP1 ainsi que le défaut de réorganisation nucléolaire peuvent contribuer au phénotype neurodégénératif des patients SMA.

Nos résultats suggèrent que le pool mitochondrial de Bcl-xL est nécessaire pour limiter l'activation locale de la caspase-3 à une intensité physiologique appropriée dans le SNC en développement. Cette découverte apporte un nouveau point de vue sur le rôle régulateur des protéines Bcl-2 dans la caspase-3 non létale physiologique et pathologique.