

## ***L* Le signal calcium dans la cellule : l'enveloppe nucléaire est-elle un réservoir à calcium ?**

Le signal calcium apparaît actuellement comme l'un des facteurs déterminants intervenant dans la transduction intracellulaire d'un *stimulus* extracellulaire. Ce signal possède une dynamique spatiotemporelle très complexe qui allie rapidité de propagation et retour à l'état initial dans un délai très bref. Le signal calcique est étroitement associé à de nombreux mécanismes de signalisation cellulaire [1, 2] : régulation de kinases, de phosphatases, de complexes  $Ca^{2+}$ /calmoduline qui modulent l'action de nombreuses protéines, expression de gènes précoces, contraction musculaire, exocytose, chimiotactisme, croissance dendritique, différenciation et croissance cellulaire, phototransduction dans les cellules visuelles, contrôle de la méiose et de l'apoptose.

Le rôle du calcium est vital pour tous les types cellulaires et nécessite une régulation très fine des flux calciques. Ainsi, en l'absence de stimulation, la cellule maintient une concentration de calcium cytosolique faible (100 nM), s'opposant à l'effet cytotoxique induit par une concentration calcique élevée maintenue de façon prolongée. Cela requiert une dépense énergétique importante, combinant un système d'échangeurs ioniques  $Na^+/Ca^{2+}$ , de pompes dépendantes de l'ATP [3] sur la membrane plasmique [4] et un pompage des ions  $Ca^{2+}$  vers des citernes intracellulaires dérivées du réticulum endoplasmique par des pompes calciques dépendantes de l'ATP [5]. La compartimentalisation des ions  $Ca^{2+}$  qui en résulte engendre d'importants gradients calciques entre les différents organites [6].

Le signal calcium consiste en une libération rapide et transitoire des

ions  $Ca^{2+}$  emmagasinés dans ces réservoirs, et se manifeste par une « décharge de calcium » dont l'amplitude et la fréquence dépendent directement du *stimulus* extracellulaire [7, 8]. Cette décharge de calcium se propage dans toute la cellule, et contrôle les mécanismes de transduction des signaux délivrés au niveau de la membrane plasmique.

Actuellement, l'un des mécanismes les mieux décrits de la signalisation cellulaire impliquant les ions  $Ca^{2+}$  est la voie d'activation de la phospholipase C qui catalyse l'hydrolyse du phosphatidylinositol 4,5-biphosphate ( $PIP_2$ ) en deux seconds messagers [7] : l'inositol 1,4,5-triphosphate ( $IP_3$ ) et le diacylglycérol (DAG) [9]. Le récepteur de l' $IP_3$  est un canal à calcium tétramérique localisé dans la membrane du réticulum endoplasmique dont l'ouverture provoquée par la fixation d' $IP_3$  entraîne une libération massive d'ions  $Ca^{2+}$  [7, 10]. La dynamique du calcium ainsi libéré est décrite selon deux modèles principaux [11]. Dans le premier modèle (*Ca<sup>2+</sup>-gating model*), le calcium libéré dans le cytosol (calcium ionisé intracellulaire ou  $[Ca^{2+}]_i$ ) a une origine intracellulaire et provient, soit des réservoirs sensibles à l' $IP_3$ , soit des réservoirs insensibles à l' $IP_3$  qui impliquent un mécanisme de libération de  $Ca^{2+}$  induit par le  $Ca^{2+}$  qui a été décrit d'abord dans le réticulum sarcoplasmique [8, 12] et a également été étudié dans les hépatocytes [13].

Dans le second modèle (*Ca<sup>2+</sup>-capacitative model*), l'augmentation du  $[Ca^{2+}]_i$  résulte de la libération de calcium de réservoirs sensibles à l' $IP_3$  proches de la membrane plasmique qui provoque une entrée de calcium extra-

cellulaire après ouverture de canaux calciques situés dans la membrane plasmique [14]. L'activation de ces derniers serait, dans ce cas, la conséquence d'une interaction entre le réticulum endoplasmique et la membrane plasmique quoique celle-ci soit présumée indirecte, et réalisée par un messager qui a été identifié [15]. Dans le réticulum sarcoplasmique, l'ADP-ribose cyclique entraîne la libération de  $Ca^{2+}$  *via* les récepteurs de la ryanodine [16].

Toutefois, les réservoirs dérivés du réticulum endoplasmique ne sont pas les seuls compartiments cytoplasmiques impliqués dans les flux calciques. Les mitochondries [17] sont également des cibles potentielles de cette vague de calcium mais sans intervenir dans la transmission des signaux cellulaires. En effet, l'augmentation du  $[Ca^{2+}]_i$  est suivie en l'espace de quelques secondes par une élévation de la concentration de calcium mitochondrial et par l'oxydation de NADH entraînée par l'activation de déshydrogénases sensibles aux variations des concentrations de calcium. Les ions  $Ca^{2+}$  de la mitochondrie joueraient un rôle dans le couplage entre le transport des protons au niveau de la membrane interne et la synthèse d'ATP.

Si la communauté scientifique s'accorde dans son ensemble à reconnaître le rôle primordial du calcium dans les compartiments cellulaires précédemment cités, la question concernant la régulation du calcium nucléaire est actuellement sujette à des controverses [18]. Des travaux récents ont démontré que le calcium est impliqué dans la dégradation de l'enveloppe nucléaire et dans l'activation de la transcription [19, 20]. En outre, il a été montré que la phos-

phorylation du facteur de transcription CREB est induite par le calcium 30 secondes après la dépolarisation cellulaire. La concentration du calcium dans le noyau contrôle l'action de diverses protéases et nucléases, la fonction de la calmoduline nucléaire dans la synthèse de l'ADN, le début et la progression de la mitose, l'expression des gènes et la réparation de l'ADN. Le calcium est aussi impliqué dans la régulation du cycle de la méiose en intervenant dans la dégradation des cyclines par la  $\text{Ca}^{2+}$ /calmoduline kinase II [21].

C'est, en fait, le mode de transport du calcium vers le noyau qui demeure au centre des divergences entre les nombreuses équipes qui l'étudient [22-24]. Ainsi, deux approches s'opposent actuellement. La première propose un libre passage de la vague de calcium à travers l'enveloppe nucléaire [22]. Selon la seconde hypothèse, la concentration calcique nucléaire,  $[\text{Ca}^{2+}]_n$ , serait réglée par un mécanisme semi-autonome [23]. La présence sur l'enveloppe nucléaire d'une calcium ATPase, de récepteurs spécifiques de l' $\text{IP}_3$  [25] et de l' $\text{IP}_4$  [26] et la mise en évidence des enzymes et des métabolites issus du cycle des phosphoinositides [27, 28] à l'intérieur du noyau plaident en faveur de cette hypothèse.

William *et al.* [29] ont montré que dans les cellules de muscle lisse de la grenouille, la concentration du calcium est plus importante dans le noyau que dans le cytosol. Ces cellules, stimulées par dépolarisation, répondent par une augmentation de la teneur en  $\text{Ca}^{2+}$  cytoplasmique uniquement. Des observations similaires ont été décrites pour les cellules musculaires de la paroi vasculaire humaine. Il semble que la double membrane nucléaire forme une barrière imperméable à toute diffusion de calcium pour des concentrations supérieures à 300 nM [30]. En revanche, pour des cellules neuronales de mammifères en culture [31], le rapport  $[\text{Ca}^{2+}]_n/[\text{Ca}^{2+}]_c$  est supérieur à 1 et une stimulation par divers agonistes des canaux ioniques dépendants du  $\text{Ca}^{2+}$  induit une augmentation de la  $[\text{Ca}^{2+}]_n$  supérieure ou égale à celle observée dans le cytosol. Certaines études [32, 33] ont montré

que les concentrations en  $\text{Ca}^{2+}$  nucléaire et cytoplasmique ne diffèrent pas. Brini *et al.* [33] utilisaient de l'æquorine recombinante dans le noyau (*m/s n° 1, vol. 10, p. 123*). Ces résultats ont été cependant réfutés dans un article récent [34] utilisant une technique identique. Selon Badminton *et al.* [34], la barrière de calcium nucléocytoplasmique est bien une réalité.

Toutes ces données (parfois contradictoires) ne permettent pas de conclure quant à l'existence d'un mécanisme de transmission du signal calcique dans le noyau et/ou un possible contrôle autonome de l'homéostasie calcique nucléaire. S'il apparaît que dans certaines cellules la vague de calcium traverse sans difficulté l'enveloppe nucléaire, il semble difficile de n'envisager que la libre diffusion pour expliquer les nombreux mécanismes contrôlés par le calcium dans le noyau.

Afin de mettre en évidence une éventuelle régulation autonome du calcium nucléaire, il nous a paru indispensable d'analyser les échanges calciques dans un système nucléaire isolé et fonctionnel. Celui-ci consiste en une préparation de noyaux de foie de rat [35] dépourvus de toute contamination cytoplasmique [36, 37]. Ces noyaux présentent une morphologie intacte et constituent un matériel idéal pour la mesure des flux calciques nucléaires [25, 26].

Nos études effectuées dans ce système ont montré que les noyaux isolés d'hépatocytes de foie de rat sont perméables au calcium pour des concentrations extranucléaires n'excédant pas 300 nM. Au-delà de cette concentration, aucune entrée supplémentaire de calcium n'est observée. En revanche, en présence d'ATP ou d'inositol 1,3,4,5-tétraphosphate ( $\text{IP}_4$ ), la capture du calcium par les noyaux excède de deux ou trois fois celle observée dans des conditions de diffusion passive. Néanmoins, l'action de ces deux effecteurs sur l'entrée de calcium n'est pas la même. Lorsque l' $\text{IP}_4$  est l'effecteur, la capture de calcium n'est possible que pour des concentrations de calcium extranucléaire supérieures à 300 nM, c'est-à-dire lorsque le gradient calcique va de l'extérieur vers

l'intérieur du noyau. Cela semble indiquer que la liaison de l' $\text{IP}_4$  sur son récepteur induit probablement un mécanisme de diffusion facilitée du calcium. En revanche, si l'effecteur est l'ATP, la capture du calcium extranucléaire est effective pour des concentrations de  $\text{Ca}^{2+}$  extracellulaires faibles (à partir de 50 nM). L'ATP agit donc selon un mécanisme semblable à celui décrit sur le réticulum endoplasmique où l'hydrolyse d'ATP par les  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPases permet l'accumulation du  $\text{Ca}^{2+}$  contre un gradient de concentration. Nous avons, par ailleurs, observé que lorsque la concentration calcique extranucléaire croît de 1 à 10  $\mu\text{M}$  (figure 1), l'action de l'ATP décroît

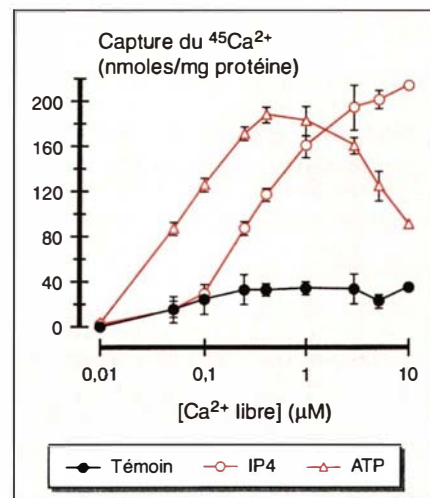


Figure 1. **Entrée du calcium nucléaire.** Capture du calcium par le noyau en présence d'ATP (1 mM) ou d' $\text{IP}_4$  (100 nM) pour des concentrations de calcium libre variables. Les noyaux purifiés sont incubés en présence de différentes concentrations de  $\text{Ca}^{2+}$  de manière à obtenir les concentrations en calcium libre indiquées [43] et de  $^{45}\text{Ca}^{2+}$  servant de traceur isotopique. L'incubation se fait à 37 °C pendant 5 min et la réaction est arrêtée par filtration sous vide. En l'absence d' $\text{IP}_4$  ou d'ATP, aucune capture significative de  $^{45}\text{Ca}^{2+}$  n'a pu être mesurée, ce qui implique qu'aucune diffusion libre de  $\text{Ca}^{2+}$  n'a lieu vers le noyau.



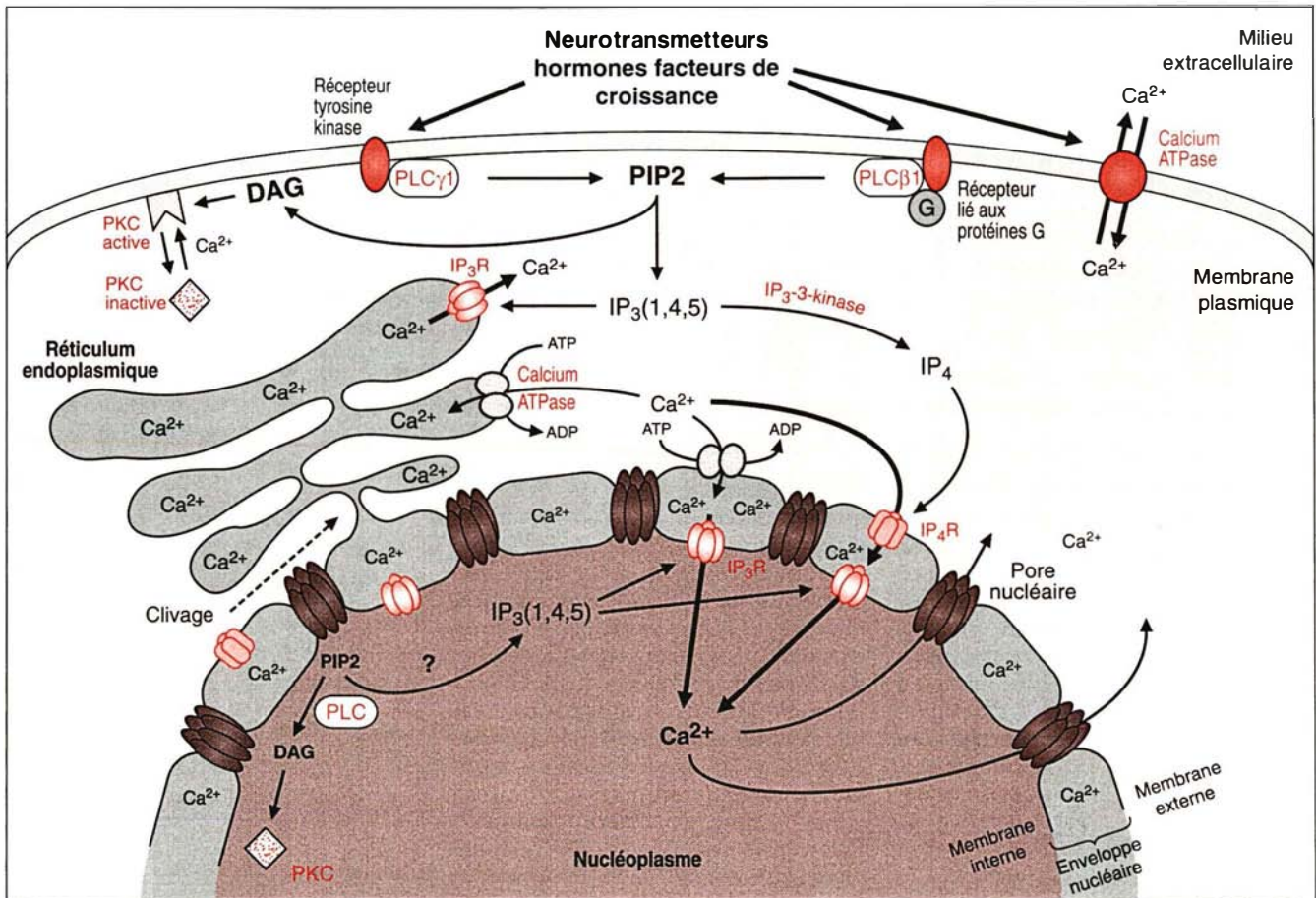


Figure 2. **Mécanismes du transport du calcium.** Les facteurs extracellulaires transmettent un signal à la cellule en se fixant sur leurs récepteurs spécifiques localisés dans la membrane plasmique. Certains récepteurs sont couplés à des protéines G qui activent la phospholipase C $\beta$ 1 (PLC $\beta$ 1) et d'autres sont des récepteurs tyrosine kinase qui activent la phospholipase C $\gamma$ 1 (PLC $\gamma$ 1). Ces phospholipases hydrolysent le phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate et libèrent ainsi l'inositol 1,4,5-triphosphate (IP $_3$ ) et le diacylglycérol (DAG). L'IP $_3$  en se fixant spécifiquement sur son récepteur (IP $_3$ R) localisé dans le réticulum endoplasmique provoque la libération de calcium. Sous l'effet de stimulations hormonales, le calcium extracellulaire peut entrer dans le cytosol par l'ouverture de canaux calciques situés dans la membrane plasmique et vice versa. A la suite de l'élévation de la concentration de calcium cytoplasmique, la protéine kinase C (PKC) inactive se transloque vers la membrane plasmique où la liaison au DAG la rend active. Le signal calcique se propage vers le noyau délimité par l'enveloppe nucléaire. Celle-ci est constituée d'une membrane externe distincte de la membrane interne. Dans la membrane nucléaire externe se trouvent la pompe à calcium dépendante de l'ATP et le récepteur de l'inositol 1,3,4,5-tétraphosphate (IP $_4$ R). Cette localisation facilite l'entrée de calcium dans le lumen nucléaire et ne peut avoir lieu qu'en présence d'ATP ou d'IP $_4$ . L'IP $_4$  est obtenu dans le cytosol par phosphorylation de l'IP $_3$  par l'IP $_3$ -3-kinase. Selon nos travaux et ceux d'autres groupes, l'IP $_3$ R est localisé dans la membrane nucléaire interne. En accord avec ce modèle, l'action de l'IP $_3$  (relayée par son récepteur IP $_3$ R) est de provoquer la libération du Ca $^{2+}$  du lumen nucléaire vers le nucléoplasme, d'où le Ca $^{2+}$  peut diffuser à travers les pores nucléaires vers le cytosol. De cette façon, le transport du calcium dans le noyau se fait en deux étapes réglées par des molécules spécifiques présentes dans les membranes nucléaires externe et interne. Ce modèle nécessite une production d'IP $_3$  dans le noyau qui n'a pas encore été démontrée expérimentalement. Le clivage montré dans la figure est le clivage entre le réticulum endoplasmique et le noyau qui a lieu lors de la purification des noyaux (pour détails, voir [36]). La plupart des études concernant le transport calcique nucléaire qui ont permis d'établir ce modèle ont été réalisées sur des noyaux de cellules de foie de rats ainsi purifiés. DAG : diacylglycérol ; PKC : protéine kinase C ; PIP $_2$  : phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate ; PLC : phospholipase C ; IP $_3$  : Inositol 1,4,5-triphosphate ; IP $_4$  : inositol 1,3,4,5-tétraphosphate ; IP $_3$ R : récepteur de l'IP $_3$  ; IP $_4$ R : récepteur de l'IP $_4$ .

d'autant plus fortement que la concentration est élevée. L'action de l'IP<sub>1</sub>, en revanche, augmente lorsque la concentration du calcium extranucléaire croît fortement (par exemple, lors de l'arrivée d'une onde calcique à proximité du noyau).

Le noyau cellulaire est constitué d'un nucléoplasme (ou matrice nucléaire) entouré d'une membrane lipidique double, l'enveloppe nucléaire (figure 2). Cette enveloppe est formée d'une membrane externe et d'une membrane interne [38] fusionnant localement au niveau d'une structure complexe et très organisée, le pore nucléaire [39]. Ces deux membranes sont bien distinctes, que ce soit du fait de leur composition protéique, leur densité, leur environnement ou de leur fonction. En effet, si la membrane externe forme un continuum avec le réticulum rugueux et lisse, le rapport cholestérol/lipides de ces deux membranes et leur composition en protéines sont différents. La membrane interne est étroitement liée au réseau de lamines du nucléoplasme, et nos études plus récentes montrent que le récepteur nucléaire de l'IP<sub>3</sub> y est localisé exclusivement alors que le récepteur de l'IP<sub>4</sub>, ainsi que la pompe à Ca<sup>2+</sup> dépendante de l'ATP sont localisés sur la membrane nucléaire externe. La localisation du récepteur de l'IP<sub>3</sub> dans les membranes nucléaires est encore débattue. Notre groupe a montré qu'il est présent exclusivement dans la membrane nucléaire interne [23]. Ce résultat a été confirmé par le groupe de Peterson *et al.* [40] utilisant des techniques de microscopie confocale. Ils ont montré également que l'ADP-ribose cyclique entraîne des augmentations transitoires de Ca<sup>2+</sup> nucléaire indiquant que le récepteur de la ryanodine est aussi présent dans la membrane nucléaire interne. Les études par *patch-clamp* proposant une localisation du récepteur de l'IP<sub>3</sub> dans la membrane externe nucléaire [39, 42] restent incomplètes. En effet, dans ces expériences de stimulation des membranes externes par l'IP<sub>3</sub>, il aurait été important de vérifier l'effet de l'IP<sub>3</sub> sur les membranes internes. Les résultats des études par microscopie confocale [40], ou des expériences sur des membranes nucléaires internes [23],

sont en ce sens plus convaincants. Nous avons par ailleurs observé que le calcium accumulé en présence d'ATP ou d'IP<sub>4</sub> peut être relargué du noyau après ajout d'IP<sub>3</sub> [36].

L'ensemble de ces résultats nous a amenés à développer l'hypothèse selon laquelle le *lumen* nucléaire (c'est-à-dire l'espace compris entre la membrane externe et interne du noyau) possède une fonction semblable à celle des réservoirs de calcium cytoplasmiques. Ce modèle, illustré sur la figure 2, permet d'envisager la présence à la périphérie du noyau d'un réservoir de calcium alimenté par sa face cytoplasmique selon un mode actif (Ca<sup>2+</sup>-ATPase) ou par diffusion facilitée (présence d'un gradient calcique et d'IP<sub>4</sub>). Ce calcium emmagasiné peut être relargué dans la matrice nucléaire. En effet, selon notre modèle, l'IP<sub>3</sub> serait capable, en se liant à ses récepteurs de la membrane interne, de libérer rapidement (en quelques secondes) le calcium concentré dans le *lumen*. Le retour au niveau basal se ferait plus lentement par diffusion du calcium à travers les pores nucléaires.

En accord avec le modèle proposé dans cette revue, fondé sur le travail mené dans notre laboratoire et confirmé par d'autres groupes de recherche, le transport du Ca<sup>2+</sup> dans le noyau est réglé par des molécules spécifiques situées dans l'enveloppe nucléaire. Cette enveloppe sert de bouclier pour le Ca<sup>2+</sup> et, de notre point de vue, la diffusion des ions Ca<sup>2+</sup> ayant un rôle fonctionnel à l'intérieur du noyau n'existe pas. L'accumulation du Ca<sup>2+</sup> dans l'enveloppe nucléaire constitue le point majeur de cette hypothèse. Le Ca<sup>2+</sup>, à partir de l'enveloppe nucléaire, peut être libéré dans le nucléoplasme à partir de l'activation des récepteurs IP<sub>3</sub> situés dans la membrane interne. Dans le cadre de ce scénario, l'IP<sub>3</sub> doit prendre naissance à l'intérieur du noyau et des preuves expérimentales pour étayer ce phénomène sont activement recherchées ■

#### Note ajoutée aux épreuves

Hennager *et al.* [44] ont démontré que l'IP<sub>3</sub>R fait face au nucléoplasme et peut ainsi être activé par l'IP<sub>3</sub> synthétisé à l'intérieur du noyau. C'est de cette façon que l'IP<sub>3</sub> nucléaire règle le calcium nucléaire et les fonctions qui en dépendent. En fait, le principal message de cette mini-synthèse est soutenu par les données expérimentales décrites dans ce travail [44].

#### RÉFÉRENCES

1. Davis TN. What is new with calcium ? *Cell* 1992 ; 71 : 557-64.
2. Capiod T, Méry PF, Pacaud P, Takeda K. Des portes s'ouvrent sur les allées et venues des ions calcium. *médecine/sciences* 1995 ; 11 : 1027-33.
3. Carafoli E. The Ca<sup>2+</sup>-pump of the plasma membrane. *J Biol Chem* 1992 ; 267 : 2115-8.
4. Sanchez-Armas S. Role of sodium-calcium exchange in regulating intracellular calcium in nerve terminals. *Am J Physiol* 1987 ; 252 : C595-C603.
5. Petersen CCH, Peterson OH, Berridge MJ. The role of endoplasmic reticulum calcium pump during cytosolic calcium spiking in pancreatic acinar cells. *J Biol Chem* 1993 ; 268 : 22262-4.
6. Jaffe LF. The path of calcium in cytosolic calcium oscillations: a unifying hypothesis. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991 ; 88 : 9883-7.
7. Berridge MJ. Inositol trisphosphate and calcium signalling. *Nature* 1993 ; 361 : 315-25.
8. Claret M, Mauger JP. Hormones, oscillations et vagues calciques. *médecine/sciences* 1994 ; 10 : 393-5.
9. Nishizuka Y. Studies and perspectives of protein kinase C. *Science* 1986 ; 233 : 305-12.
10. Mauger J. Régulation du récepteur de l'inositol 1,4,5-triphosphate. *médecine/sciences* 1994 ; 10 : 1013-7.
11. Verjans B, Petersen CCH, Berridge MJ. Over expression of inositol 1,4,5-trisphosphate 3-kinase in *Xenopus* oocytes inhibits agonist-evoked capacitative calcium entry. *Biochem J* 1994 ; 304 : 679-82.
12. Endo M. Calcium release from the sarcoplasmic reticulum. *Physiol Rev* 1977 ; 57 : 71-108.



13. Sanchez-Bueno A, Cobbold PH. Agonist-specificity in the role of  $Ca^{2+}$ -induced  $Ca^{2+}$ -release in hepatocyte  $Ca^{2+}$  oscillations. *Biochem J* 1993 ; 191 : 169-72.
14. Putney JW, Bird G-St-J. The signal for capacitative calcium entry. *Cell* 1993 ; 75 : 199-201.
15. Randriamampita C, Tsien RY. Emptying of intracellular  $Ca^{2+}$  releases a novel small messenger that stimulates  $Ca^{2+}$  influx. *Nature* 1993 ; 364 : 809-14.
16. Meszaros LG, Bak J, Cho A. Cyclic ADP-ribose as an endogenous regulator of the non-skeletal type ryanodine receptor  $Ca^{2+}$  channel. *Nature* 1993 ; 354 : 76-9.
17. Loew LM, Carrington W, Tuft RA, Fay FS. Physiological cytosolic  $Ca^{2+}$  transients evoke concurrent mitochondrial depolarizations. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994 ; 91 : 12579-83.
18. Hoek JB, Thomas AP. Calcium and the nucleus. *Cell Calcium* 1994 ; 16 : 237-8.
19. Yoon JK, Lau LF. Transcriptional activation of the inducible nuclear receptor gene *nur 77* by nerve growth factor and membrane depolarization in PC12 cells. *J Biol Chem* 1993 ; 268 : 9148-55.
20. Liu F, Thompson MA, Wagner S, Greenberg ME, Green MR. Activating transcription factor 1 can mediate  $Ca^{2+}$  and cAMP-inducible transcriptional activation. *J Biol Chem* 1993 ; 268 : 6714-20.
21. Bachs O, Agell N, Carafoli E. Calmodulin and calmodulin-binding proteins in the nucleus. *Cell Calcium* 1994 ; 16 : 289-96.
22. Allbritton NL, Oancea E, Kuhn MA, Meyer T. Source of nuclear calcium signals. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994 ; 91 : 12458-62.
23. Malviya AN. The nuclear inositol 1,4,5-trisphosphate and inositol 1,3,4,5-tetrakisphosphate receptors. *Cell Calcium* 1994 ; 16 : 301-13.
24. Divecha N, Banfic H, Irvine RF. The nuclear phosphoinositide cycle - does it play a role in nuclear  $Ca^{2+}$  homeostasis? *Cell Calcium* 1994 ; 16 : 297-300.
25. Matter N, Ritz MF, Freyermuth S, Rogue P, Malviya AN. Stimulation of nuclear protein kinase C leads to phosphorylation of nuclear inositol 1,4,5-trisphosphate receptor and accelerated calcium release by inositol 1,4,5-trisphosphate from isolated rat liver nuclei. *J Biol Chem* 1993 ; 268 : 732-6.
26. Köppler P, Matter N, Malviya AN. Evidence for stereospecific inositol 1,3,4,5- $[^3H]$ -tetrakisphosphate binding sites on rat liver nuclei. Delineating inositol 1,3,4,5-tetrakisphosphate interaction in nuclear calcium signalling process. *J Biol Chem* 1993 ; 268 : 26248-52.
27. Divecha N, Banfic H, Irvine RF. The phosphoinositide cycle exists in the nuclei of Swiss 3T3 cells under the control of a receptor (for IGF-1) in the plasma membrane, and stimulation of the cycle increases nuclear diacylglycerol and apparently induces translocation of protein kinase C to the nucleus. *EMBO J* 1991 ; 10 : 3207-14.
28. Payastre B, Nievers M, Boonstra J, Breton M, Verkleij AJ, Van Bergen en Henegouwen PMP. A differential location of phosphoinositidase kinases, diacylglycerol kinase and phospholipase C in the nuclear matrix. *J Biol Chem* 1992 ; 267 : 5078-84.
29. William DA, Fogart KE, Tsien RY, Fay FS. Calcium gradients in smooth muscle cells revealed by the digital imaging microscope using Fura-2. *Nature* 1985 ; 318 : 558-61.
30. Al-Mohanna FA, Caddy KWT, Bolsover SR. The nucleus is isolated from large cytosolic calcium ion changes. *Nature* 1994 ; 367 : 745-50.
31. Birch BD, Eng DL, Kocsis JD. Intracellular  $Ca^{2+}$  transients during neurite regeneration of an adult mammalian neuron. *Proc Natl Acad Sci USA* 1992 ; 89 : 7972-82.
32. Brini M, Murgia M, Pasti L, Picard D, Pozzan T, Rizzuto R. Nuclear  $Ca^{2+}$  concentration measured with specifically targeted recombinant aequorin. *EMBO J* 1993 ; 12 : 4813-9.
33. Brini M, Marsault R, Bastimutto C, Pozzan T, Rizzuto R. Nuclear targeting of aequorin. A new approach for measuring nuclear  $Ca^{2+}$  concentration in intact cells. *Cell Calcium* 1994 ; 16 : 259-68.
34. Badminton MN, Kendall JM, Sala-Newly G, Campbell AK. Nucleoplasm-targeted aequorin provides evidence for a nuclear calcium buffer. *Exp Cell Res* 1995 ; 216 : 236-43.
35. Masmoudi A, Labourdette G, Mersel M, Huang FL, Huang KP, Vincendon G, Malviya AN. Protein kinase C is located in rat liver nuclei. *J Biol Chem* 1989 ; 264 : 1172-9.
36. Malviya AN, Rogue P, Vincendon G. Stereospecific inositol 1,4,5- $[^{32}P]$ -trisphosphate binding to isolated rat liver nuclei: evidence for inositol trisphosphate receptor-mediated calcium release from the nucleus. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990 ; 87 : 9270-4.
37. Köppler P, Mersel M, Malviya AN. Subcellular localisation of specific inositol-1,3,4,5- $[^3H]$ -tetrakisphosphate binding sites in rat liver membrane fractions. A comparative evaluation of pH sensitivity and binding characteristics. *Biochemistry* 1994 ; 33 : 14707-13.
38. Dingwall C, Laskey R. The nuclear membrane. *Science* 1992 ; 258 : 942-7.
39. Forbes DJ. Structure and function of the nuclear pore complex. *Annu Rev Cell Biol* 1992 ; 8 : 495-527.
40. Gerasimenko OV, Gerasimenko JV, Tepikin AV, Petersen OH. ATP-dependent accumulation and inositol trisphosphate or cyclic ADP-ribose mediated release of  $Ca^{2+}$  from the nuclear envelope. *Cell* 1995 ; 80 : 439-44.
41. Mak DOD, Foskett JK. Single-channel inositol 1,4,5-trisphosphate receptor currents revealed by patch-clamp of isolated *Xenopus* oocyte nuclei. *J Biol Chem* 1994 ; 269 : 29375-8.
42. Stehno-Bittel L, Lückhoff A, Clapham DE. Calcium-release from the nucleus by IP<sub>3</sub> receptor channels. *Neuron* 1995 ; 19 : 163-7.
43. Fabiato A. Computer programs for calculating total from specified free or free from specified total ionic concentrations in aqueous solutions containing multiple metals and ligands. *Methods Enzymol* 1988 ; 157 : 378-417.
44. Hennager DJ, Welsh MJ., DeLisles S. Changes in either cytosolic or nucleoplasmic inositol 1,4,5-triphosphate levels can control nuclear  $Ca^{2+}$  concentration. *J Biol Chem* 1995 ; 270 : 4959-62.

#### Remerciements

L'Association pour la Recherche sur le Cancer (ARC) pour l'assistance financière, Drs G. Labourdette et L. Freysz pour les discussions scientifiques et Dr J.L. Rodeau pour l'aide du calcul de la concentration en calcium libre.

Jean-Paul Humbert  
Pascal Köppler  
Nathalie Matter  
Dominique Lang  
Anant N. Malviya

Laboratoire de biologie moléculaire et des interactions cellulaires, Cnrs Upr 416, centre de neurochimie du Cnrs, 5 rue Blaise-Pascal, 67084 Strasbourg Cedex, France.

TIRÉS À PART

A.N. Malviya.