TABLE DES MATIERES

I. INTRODUCTION

1. CCR5
 - 1.1. Classification des chimiokines et de leurs récepteurs
 - 1.2. Structure de CCR5
 - 1.3 Pharmacologie
 - 1.4. Domaines de liaison des ligands
 - 1.5. Expression cellulaire de CCR5
2. CCR5, co-récepteur du VIH
 - 2.1. L'interaction avec Env de VIH
 - 2.2. CCR5 dans la transmission et la progression du VIH
 - 2.3. Le tropisme du VIH
3. Cascades de signalisation des récepteurs couplés aux protéines G
 - 3.1. Les récepteurs couplés aux protéines G
 - 3.2. Voies de signalisation intracellulaire induites par l'activation de CCR5
 - 3.3. Chimiotactisme
 - 3.4. Signalisation impliquée dans la fonction co-réceptrice pour le VIH-1
4. Désensibilisation et endocytose du récepteur
 - 4.1. Modèle général pour les RCPGs
 - 4.2. Désensibilisation et endocytose de CCR5
 - 4.3. Voies alternatives d'endocytose
5. Interactions indépendantes des protéines G
6. Oligomérisation des récepteurs couplés aux protéines G

II. BUT DU TRAVAIL

III. RECHERCHE DE NOUVEAUX PARTENAIRES INTRACELLULAIRES DE CCR5

1. Introduction
2. Résultats
 - 2.1. Recherche de partenaires de CCR5 par la technique du double-hybride
 - 2.1.1. Criblages de la banque de leucocytes humains
 - 2.2. Glutathione-S-Transférase (GST)-Pull-down
 - 2.2.1. Production des protéines de fusion
 - 2.2.2. Analyse des gels monodimensionnels de polyacrylamide
 - 2.2.3. Analyse des gels de polyacrylamide bidimensionnels et identification des protéines par spectrométrie de masse
3. Discussion

VI. ETUDE DES PHENOMENES D'OLIGOMERISATION DU RECEPTEUR CCR5

1. Introduction
2. Résultats
 - 2.1. Immunoprécipitations
 - 2.1.1. Immunoprécipitation des oligomères de CCR5
 - 2.1.2. Caractérisation des clones cellulaires
 - 2.1.3. Co-Immunoprécipitation des dimères
 - 2.1.4. BRET
 - 2.1.5. CCR5 homodimérise en l'absence de ligands
 - 2.1.6. Effets des ligands de CCR5 sur la dimérisation du récepteur
 - 2.1.7. Effet de MC-1 sur la dimérisation du récepteur
 - 2.1.8. CCR2b homodimérise en l'absence de ligands

- 2.1.9. Modulation de l'homodimérisation de CCR2b par des anticorps monoclonaux
- 2.1.10. CCR5 et CCR2b hétérodimérisent en l'absence de ligands
- 2.1.11. Modulation de l'hétérodimérisation par les chimiokines
- 2.1.12. MCP-1 module négativement la formation des hétérodimères CCR5/CCR2b
- 2.1.13. CCR2b et CCR5 n'interagissent pas avec des récepteurs non-apparentés
- 2.2. Etudes des implications fonctionnelles de la co-expression des récepteurs CCR5 et CCR2b
 - 2.2.1. La co-stimulation de CCR5 et CCR2b ne démontre pas de coopérativité dans l'activation des cascades intracellulaires
 - 2.2.2. MCP-1 inhibe la liaison de MIP-1 β sur les membranes des cellules co-exprimant CCR5 et CCR2b
 - 2.2.3. MIP-1 β inhibe la liaison de MCP-1 sur les membranes des cellules co-exprimant CCR5 et CCR2b
 - 2.2.4. Les anticorps monoclonaux ne déplacent pas la liaison des ligands
 - 2.2.5. Mesure de la co-endocytose de CCR5 et de CCR2b au sein des cellules CHO-K1
- 2.3. Discussion

V. CONCLUSIONS GENERALES ET PERSPECTIVES

VI. MATERIEL ET METHODES

1. Réaction de polymérisation en chaîne (PCR)
2. Construction des plasmides
3. Cellules et milieux de culture
4. Transformation et transfection
5. Criblage d'une banque d'ADNc par la technique du double-hybride
6. Extraction et solubilisation des leucocytes mononucléés circulants (PBMC)
7. GST-pulldown
8. Séparation des protéines par électrophorèse à une dimension
9. Séparation des protéines par électrophorèse à deux dimension
10. Coloration des gels
11. Spectrométrie de masse
12. Immunoprécipitation
13. Immunodétection
14. Cytométrie de flux
15. Endocytose des récepteurs
16. Mesure de la mobilisation de calcium intracellulaire (test Aequorine)
17. Préparation des membranes et tests de liaisons
18. BRET

VII. BIBLIOGRAPHIE

VIII. PUBLICATIONS

IX. RESUME