

Table des matières

Résumé	10
Liste des abréviations.....	14
Introduction	19
Chapitre 1 : Les récepteurs à 7 domaines transmembranaires ou récepteurs couplés aux protéines G.....	20
1-1 : Signalisation cellulaire :	20
1-2 : Les récepteurs à 7 domaines transmembranaires (7TM) : Généralités.	20
1-3 : Classes des récepteurs 7TM :	21
1.3.1 : La famille 1 ou A :	21
1.3.2 : La famille 2 ou B :.....	22
1.3.3 : La famille 3 ou C :.....	22
1.3.4 : Les familles D, E et F :.....	23
1.4 : Structure tridimensionnelle des récepteurs 7TM :	23
1.4.1- Structure tridimensionnelle des récepteurs classe A :.....	23
1.4.2- Structure tridimensionnelle des récepteurs classe B :.....	25
1.4.3- Structures tridimensionnelle des récepteurs classe C :	25
1.5 : Activation des récepteurs 7TM :	26
1.5.1 : Famille des Protéines G hétérotrimériques:	27
1.5.1.1 : Les sous-unités alpha :	27
1.5.1.2 : Le dimère G $\beta\gamma$:	29
1.5.2 : Cycle d'activation de la protéine G :.....	30
1.5.3 : Arrêt de la signalisation :.....	31
1.5.4 : Signalisation β -arrestine – dépendante :	31
Chapitre 2 : Oligomérisation des RCPGs	33
2.1 : Concept d'oligomérisation des RCPGs :.....	33
2.2 : Équilibre entre monomères et oligomères :.....	34
2.3 : Techniques utilisées pour mettre en évidence les oligomères de récepteurs :	35

2.3.1 : La co-immunoprécipitation ;.....	36
2.3.2 : Les techniques de transfert d'énergie par résonance FRET/BRET;.....	36
2.4 : Les interfaces d'oligomérisation :.....	40
2.5 : Stabilité des oligomères :	42
2.6 : Rôle du ligand dans l'oligomérisation :	43
2.7 : Allostérie et modulation allostérique :	44
2.8 : Les conséquences fonctionnelles de l'oligomérisation des récepteurs :	45
2.8.1 : Impact de l'oligomérisation sur l'ontogénie du récepteur.....	45
2.8.2 : Impact de l'oligomérisation sur la pharmacologie des protomères :.....	45
2.8.3 : Impact de l'oligomérisation sur la signalisation cellulaire des protomères: .	47
2.8.4 : Impact de l'oligomérisation sur l'internalisation du récepteur:.....	48
Chapitre 3 : Les chimiokines et leurs récepteurs	50
3.1 : Les chimiokines :.....	50
3.2 : Structure des chimiokines :.....	51
3.3 : Interaction chimiokine-Récepteur:	51
3.4 : Les récepteurs aux chimiokines :.....	52
3.4.1 : Le récepteur CXCR4 :.....	54
3.4.2 : Le récepteur CCR7 :.....	56
3.5 : Oligomérisation des récepteurs aux chimiokines :	58
3.5.1 : Oligomères constitutifs :	58
3.5.2 : Conséquences fonctionnelles de l'oligomérisation des récepteurs aux chimiokines:	60
3.5.2.1 : Impact de l'oligomérisation sur la liaison du ligand: coopérativité négative de liaison:	60
3.5.2.2 : Impact de l'oligomérisation sur la signalisation cellulaire :.....	61
3.5.3 : Conséquences fonctionnelles de l'hétéromérisation de CXCR4 avec d'autres récepteurs :	63
Chapitre 4 : La lymphopoïèse B.....	68
4.1 : La lymphopoïèse B :.....	68

4.1.1 : Le lymphocyte B	68
4.1.2 : Les progéniteurs lymphoïdes communs (CLPs) :	69
4.1.3 : Les cellules précurseurs de progéniteurs B (Pre-pro B) :	69
4.1.4 : Les progéniteurs de cellules B (Pro B) :	69
4.1.5 : Les précurseurs précoces de cellules B (Pré B précoces) :	70
4.1.6 : Les précurseurs tardifs de cellules B (Pré B tardifs) :	70
4.1.7 : Les lymphocytes B immatures :	70
4.1.8 : Les lymphocytes B matures :	71
4.2 : Les récepteurs aux chimiokines et régulation de l'hématopoïèse :	71
But du projet.....	75
Matériel et Méthodes	77
1- Vecteurs d'expression.....	78
2- Culture cellulaire et transfections :	78
3- Modèle murin :	79
4- Mesure de l'hétéromérisation des récepteurs par BRET.....	80
5- Mesure de l'hétéromérisation des récepteurs par complémentation bimoléculaire :	81
6- Mesure de l'association des complexes CXCR4/protéine G par BRET :	82
7- Mesure de l'association des complexes CXCR4 protéine G par co- immunoprécipitation :	83
8- Mesure de l'activation des protéines G par BRET :	83
9- Analyse des sous-populations de lymphocytes B murin et de l'expression des récepteurs par cytométrie de flux :	84
10- Analyse de l'expression des récepteurs humains.....	85
11- Mesure de la migration des lymphocytes ex-vivo :	85
12- Mesure de la migration de lymphocytes in vivo : transfert adoptif :	86
13- Mesure de l'adhésion des cellules	86
14- Mesure de la mobilisation du calcium intracellulaire :	87
15- Mesure de la phosphorylation des MAP kinases par Western Blot :	87
16- Analyse du phosphoprotéome :	88
17- Analyse statistiques :	88
Résultats	90

Résumé:	92
Article 1.	93
Annexe 1: Compléments à l'étude du rôle de CCR7 comme modulateur allostérique de CXCR4	
1 : Interaction physique de la protéine Gai2 avec CXCR4 par co-immunoprécipitation:	97
2 : Activation de Gai3 par CXCR4 en présence et en absence de CCR7 :	99
3: Phosphorylation des kinases par CXCR4 :	101
Discussion	105
Annexe 2 : La chémérine et ses récepteurs	114
I : Introduction :	110
I.1: la chémérine:	112
I.2 : Les récepteurs à la chémérine :	114
I.2.1 : ChemR23 :	114
I.2.2 : Autres récepteurs liant la chémérine : GPR1 et CCRL2 :	115
II : Résumé de l'article :	116
III : Article 2.	119
Figures	
Figure 1 : Les 3 grandes familles des RCPGs.....	
Figure 2: RCPG de la famille A	
Figure 3: un réseau consensus de 24 contacts inter-TM.....	
Figure 4 : Architecture générale des RCPGs.....	
Figure 5 : Changements structuraux des RCPGs suite à leur activation	
Figure 6 : signalisation protéine G-dépendante	
Figure 7: signalisation β -arrestine –dépendante	
Figure 8: Transfert d'énergie de résonance RET	
Figure 9 : courbe de titration entre deux protéines.....	
Figure 10 : Schémas représentant les interfaces de D2R	
Figure 11 : Signalisation par des ligands orthostériques et allostériques des RCPGs	
Figure 12 : Impact d'une oligomérisation de RCPGs sur le trafic membranaire.....	
Figure 13 : Impact d'une oligomérisation de RCPGs sur les propriétés de liaison et de signalisation des RCPGs	
Figure 14: schéma représentant les différents types de chimiokines.....	
Figure 15: Les chimiokines et leurs récepteurs	

Figure 16 : Structure tridimensionnelle des chimiokines

Figure 17: cascade de signalisation de CXCR4.....

Figure 18 : cascade de signalisation du récepteur CCR7

Figure 19 : Un modèle de la transinhibition allostérique de liaison des agonistes sur les hétérodimères des récepteurs aux chimiokines

Figure 20: Un modèle pour l'inhibition de l'activation de CXCR4 par le récepteur viral BIFL1.

Figure 21: Représentation des différents stades de différenciation de la lymphopoïèse B et de leurs différents marqueurs.....

Figure 22: Mouvement des progéniteurs B dans les différentes niches successives de la moelle osseuse

Figure 23. R&D Systems Proteome Profiler Phospho-Kinase Antibody Array

Figure 24: Représentation schématique de la structure de la chémérine

Figure 25 : Les trois récepteurs de la chémérine

Tableaux 120

Tableau 1: principaux variants de GFP

Tableau 3 : Homo- et hétéromères du récepteur CXCR4

Références