

Table des matières

REMERCIEMENTS	0
RÉSUMÉ	3
TABLE DES MATIÈRES	5
ABRÉVIATIONS.....	9
I. INTRODUCTION.....	13
A. Les remaniements membranaires.....	13
B. Les phosphoinositides.....	14
B.1 Les PI-monophosphates	16
B.1.1. PI(3)P	16
B.1.2. PI(4)P	17
B.1.3. PI(5)P	17
B.2 Les PI-bisphosphates	17
B.2.1. PI(4,5)P ₂	17
B.2.2. PI(3,4)P ₂	18
B.2.3. PI(3,5)P ₂	18
B.3 Le PI-triphosphate	19
B.3.1. Le PI(3,4,5)P ₃	19
C. Les phosphoinositides phosphatases	19
C.1 Les PI ₃ -phosphatases	20
C.1.1. Famille des PTEN.....	20
C.1.2. La famille des myotubularines.....	21
C.2 Les PI ₄ -phosphatases	22
C.2.1. INPP4A/B	22
C.3 Les PI ₅ -phosphatases	23
C.3.1. Synaptojanine 1 et 2	24
C.3.2. OCRL-1	24
C.3.3. INPP5B	25
C.3.4. INPP5J	25
C.3.4. INPP5K	25
C.3.5. Pharbin.....	26
C.3.6. SHIP1/2	26
D. SHIP2	27
D.1 Activité enzymatique.....	27
D.2 Rôles physiologiques et pathologiques	28
D.2.1. La voie de l'insuline	28
D.2.2. L'opsismodysplasie.....	28
D.2.3. Le cancer du sein	29
D.3 Structure.....	29

D.3.1 Les partenaires de SHIP2	30
D.3.2 Les domaines d'interaction de SHIP2	30
D.3.3 Les autres domaines de liaison mentionnés au cours de ce travail	32
D.4 Les modifications post-traductionnelles de SHIP2	34
D.4.1 La phosphorylation de SHIP2.....	34
D.4.2 L'ubiquitination de SHIP2	36
D.5 SHIP2 et les remaniements membranaires	38
D.5.1. Les partenaires de SHIP2 impliqués dans l'endocytose	39
D.5.2. Les partenaires de SHIP2 impliqués dans la migration et l'adhésion.	40
D.5.3. Les partenaires de SHIP2 impliqués dans l'invasion cellulaire	42
II. BUT DU TRAVAIL	45
III. RÉSULTATS	47
A. L'étude de l'interaction de SHIP2 avec de nouveaux partenaires protéiques identifiés au laboratoire et analyse plus détaillée des motifs PxxP impliqués dans la reconnaissance de la région riche en prolines de SHIP2.....	47
A.1. Identification d'un nouveau partenaire de SHIP2 : IRSp53 et étude de l'impact de la déplétion de SHIP2 et de Mena dans des cellules de cancer du sein.....	47
A.2. SHIP1 interagit également avec Mena	71
A.3. PLC γ 1 interagit avec SHIP2 de manière endogène	72
A.4. Caractérisation des cellules MDA-MB-231 CRISPR Mena.....	73
A.4.1. Les cellules MDA-MB-231 CRISPR Mena prolifèrent plus vite que les CRISPR contrôles	73
A.4.2. Les cellules MDA-MB-231 CRISPR Mena s'étalent plus lentement que les CRISPR contrôles	73
B. La caractérisation de l'ubiquitination de SHIP2 et de certains partenaires.....	74
B.1. Comparaison de l'ubiquitination de SHIP1 et de SHIP2.	74
B.2. Recherche des sites d'ubiquitination potentiels de SHIP1 et de SHIP2.....	77
B.3. L'ubiquitination d'un nouveau partenaire de SHIP2, Mena	77
IV. MATÉRIEL ET MÉTHODES	79
A. Constructions plasmidiques et mutagenèse.....	79
A.1 Les vecteurs d'expression.....	79
A.2 PCR.....	79
A.2.1. La mutagenèse dirigée	79
A.2.2. L'électrophorèse d'ADN sur gel d'agarose	80
A.3 Le clonage d'une séquence d'ADN codant dans un vecteur	80
A.4 Amplification bactérienne et purification des plasmides	80
B. Cellules et milieux de culture.....	82
C. La transfection transitoire.....	83
D. L'extraction des protéines et leur quantification	83
E. Le Western Blot	84
E.1 La séparation des protéines par électrophorèse sur gel.	84
E.2 Le Western blot et immunodétection.	85
E.2.1. Détection par immunofluorescence	86

E.2.2. Détection par chemiluminescence	86
F. La co-immunoprecipitation de protéines	87
F.1 Billes non couplées	87
F.2 Billes couplées à un anticorps	87
F.3 La co-immunoprecipitation	87
G. Immunofluorescence de cellules entières	88
H. Test de prolifération par EdU	89
I. Quantifications et analyses statistiques	91
I.1 Quantifications des Western blots et des immunofluorescences sur cellules	91
I.1.1 western blot	91
I.1.2 Immunofluorescence	92
I.1.3 Test de prolifération EdU	93
I.2 Analyses statistiques des quantifications	93
V. DISCUSSION	95
VI. PERSPECTIVES	103
VII. BIBLIOGRAPHIE	107