

Université Abderrahmane Mira de Bejaia
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie Physico-chimique
Master I Génétique Fondamentale et Appliquée

TD 1 de Biologie Cellulaire et Moléculaire

1/Donnez les spécificités de la liaison ligand – récepteur dans les voies de la signalisation cellulaire.

2/Donner un exemple d'un mécanisme de communication d'une interaction négative entre récepteurs nucléaires et facteurs transcriptionnels.

3/ Un ligand se lie à deux récepteurs différents avec une valeur de k_d de 10^{-7} pour le récepteur 1 et de 10^{-9} pour le récepteur 2 ; en vers quel récepteur, le ligand montre- il l'affinité la plus forte. Calculez la proportion de récepteurs occupés par le ligand ($[RL]/ RT$) dans le cas de récepteur 1 et dans celui du récepteur 2, si la concentration du ligand est de 10^{-8} M.

4/ Quelles sont les conséquences, sur le fonctionnement du foie, d'une mutation :

- Dans le gène qui code pour une AMPC phosphodiesterase ?
- Dans le gène codant un récepteur de glucagon ?
- Dans le gène codant la phosphorylase kinase ?

5/ Donner le mécanisme de signalisation cellulaire en cas de molécule de signalisation:

- Photon de lumière ;
- Monoxyde d'azote (NO)

6/ Les esters de phorbol, qui sont des composés isolés à partir des plantes, ont une structure similaire à celle du glycérol. Comment l'addition d'esters de phorbol affecte-t-elle les voies de signalisation de cellule en culture ?

Bon courage

Université Abderrahmane Mira de Bejaia
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie Physico-chimique
Master I Génétique Fondamentale et Appliquée

TD 2 de Biologie Cellulaire et Moléculaire

1/ Qu'est-ce qui différencie une ' petite protéine G ' d'une ' grande protéine G ' ?

2/ Lorsque la protéine G se dissocie du récepteur, cela entraîne une diminution d'affinité du récepteur pour le ligand. Mais des **mutations** affectant certains **récepteurs** peuvent être responsables de divers états pathologiques. Citez brièvement une à deux maladies avec leurs conséquences.

3/ -C'est quoi une protéine Ras ?

- L'activité de Ras est régulée en partie par deux protéines.

Un facteur d'échange des nucléotides guanyliques (GEF) et une protéine activatrice de GTPase (GAP). La protéine GEF se lie à Ras-GDP et stimule la dissociation du GDP fixé. La protéine GAP se lie à Ras-GTP et stimule l'activité GTPasique intrinsèque de Ras.

Comment l'activité de la voie de signalisation en aval de Ras est-elle affectée en présence de GEF ? Comment l'est-elle en présence de GAP ?

4/ Le domaine SH3, qui comprend approximativement 60 A.A, reconnaît et se lie sur des motifs structuraux présents chez d'autres protéines. Le motif reconnu par le domaine SH3 a été trouvé en construisant une protéine de fusion entre le domaine SH3 et une glutathion -S-transférase (GST).

Les fusions avec GST permettent de réaliser facilement des purifications en utilisant une colonne d'affinité.

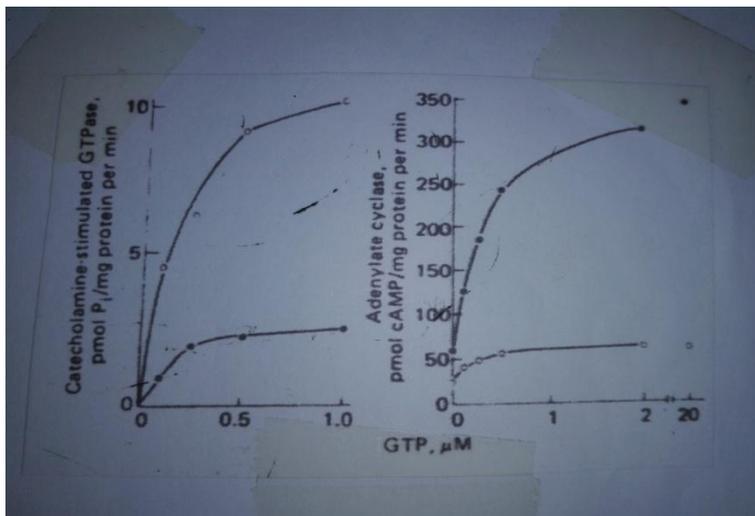
a. Quel est le principe de cette méthode ? et quel substrat utilisé ?

Après avoir marqué la protéine GST-SH3 purifiée avec la biotine elle a été utilisée pour cibler des filtres contenant des colonnes d'*E.coli* exprimant une banque d'ADNc. Deux clones différents ont été identifiés qui lient des domaines SH3 : dans les deux cas, on a montré que la liaison se produit au niveau de courtes séquences d'Acides aminés riche en proline.

b. Pourriez-vous utiliser cette méthode pour trouver des ADNc de protéines se liant à des domaines SH2 ? Justifiez votre réponse.

c. De nombreuses protéines se lient à des courtes séquences d'acides aminés présentes dans d'autres protéines. A votre avis, en quoi ces genres d'interaction diffèrent-ils de types d'interaction existant entre les sous unités protéiques des enzymes à sous unités multiples ?

Exercice 1 : La figure suivante représente les résultats d'une expérience qui démontre l'influence de la toxine du choléra sur les activités de GTPase et d'adénylate cyclase.



- Absence de toxine
- Présence de toxine

Figure 1 :

- Donner un titre à la figure 1 puis Interpréter les résultats obtenus.
- Discuter le mécanisme de signalisation cellulaire de l'effet de cette toxine mis en évidence dans cette expérience.

Bon courage

Université Abderrahmane Mira de Bejaia
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie Physico-chimique
Master I Génétique Fondamentale et Appliquée

TD 3 de Biologie Cellulaire et Moléculaire

1/ L'insuline est une hormone à multiples fonctions dont la régulation du métabolisme énergétique. Elle contrôle en particulier l'utilisation et le stockage des nutriments dans le foie, les muscles et le tissu adipeux.

- a. Représenter les caractéristiques de son récepteur.
- b. Après la fixation de l'insuline à son récepteur, donner les mécanismes moléculaires des voies de la signalisation cellulaire activées et les réponses cellulaires respectives.

2/ Les récepteurs des cytokines activent la voie de signalisation Jak-STAT et fournissent un chemin rapide vers le noyau. Rapporter la voie de signalisation mise en cause.

3/ Donner le mécanisme de la voie de signalisation par lequel $TNF\alpha$ active NF κ B ?

4/ Les tyrosines phosphatases de type récepteur sont des protéines à traversée membranaire unique dont les ligands et les fonctions sont en grande partie inconnus.

-Expliquer dans les grandes lignes comment la voie de signalisation déclenchée par ces récepteurs putatifs peut être étudiée en remplaçant leurs domaines extracellulaires par un domaine extracellulaire provenant d'un récepteur à facteur de croissance comme le récepteur à EGF ?

5/ donner un exemple de voie de signalisation qui dépend d'une protéolyse régulée.

Bon courage