

A1.1

MODIFICATION DE LA PROTÉINE DOK-1 SUITE À L'ACTIVATION DES MACROPHAGES AVEC DU LPS.

Álvarez de Celis, Héctor & Duplay Pascale.

INRS-Institut Armand-Frappier, Laval, Qc.

Trois membres de la famille des protéines Dok, Dok-1, Dok-2 et Dok-3 sont exprimés chez le macrophage. Les protéines Dok-1 et Dok-2 régulent de façon négative la réponse des macrophages au LPS (1). Nous souhaitons caractériser le mécanisme par lequel Dok1 et Dok2 régule les voies de signalisation initiées après stimulation du récepteur du LPS, TLR-4. Une étude récente a montré qu'à la fois Dok-1 et Dok-2 sont phosphorylés sur tyrosine après activation des macrophages par le LPS. Dans cette étude, les auteurs ont émis l'hypothèse que la protéine Dok-1 était rapidement dégradée puisque indétectable par l'anticorps monoclonal A3 après 30 min de stimulation avec du LPS. Pour vérifier cette hypothèse, nous avons utilisé des anticorps dirigés contre différents domaines de la protéine Dok-1. Nous montrons que la protéine Dok-1 n'est pas dégradée mais est la cible d'une modification post-traductionnelle suite à la stimulation des cellules par le LPS, modification qui masque le site de reconnaissance de l'anticorps A3. À l'aide de tests de déphosphorylation par des phosphatases spécifiques, nous avons déterminé que la modification correspondait à une phosphorylation d'une ou de plusieurs tyrosines dans le domaine PTB de la protéine Dok-1. Nous planifions exprimer des protéines Dok-1 possédant des mutations ponctuelles ciblant spécifiquement les résidus modifiés suite à une stimulation LPS et tester fonctionnellement l'effet de ces mutations. Finalement la localisation de la protéine Dok-1 en microscopie confocale sera aussi réalisée. L'ensemble de ces résultats devrait nous permettre de clarifier le rôle des protéines Dok suite à l'activation des macrophages par le LPS.