

Figure 1 : Représentation schématique de la régulation de l'homéostasie glucidique. L'homéostasie glucidique repose sur un principe d'équilibre entre d'un côté les apports exogènes de glucose et la PEG et d'un autre côté de la consommation et du stockage du glucose. Cette balance glycémique est très finement régulée notamment sous le contrôle de deux hormones principales, l'insuline et le glucagon.

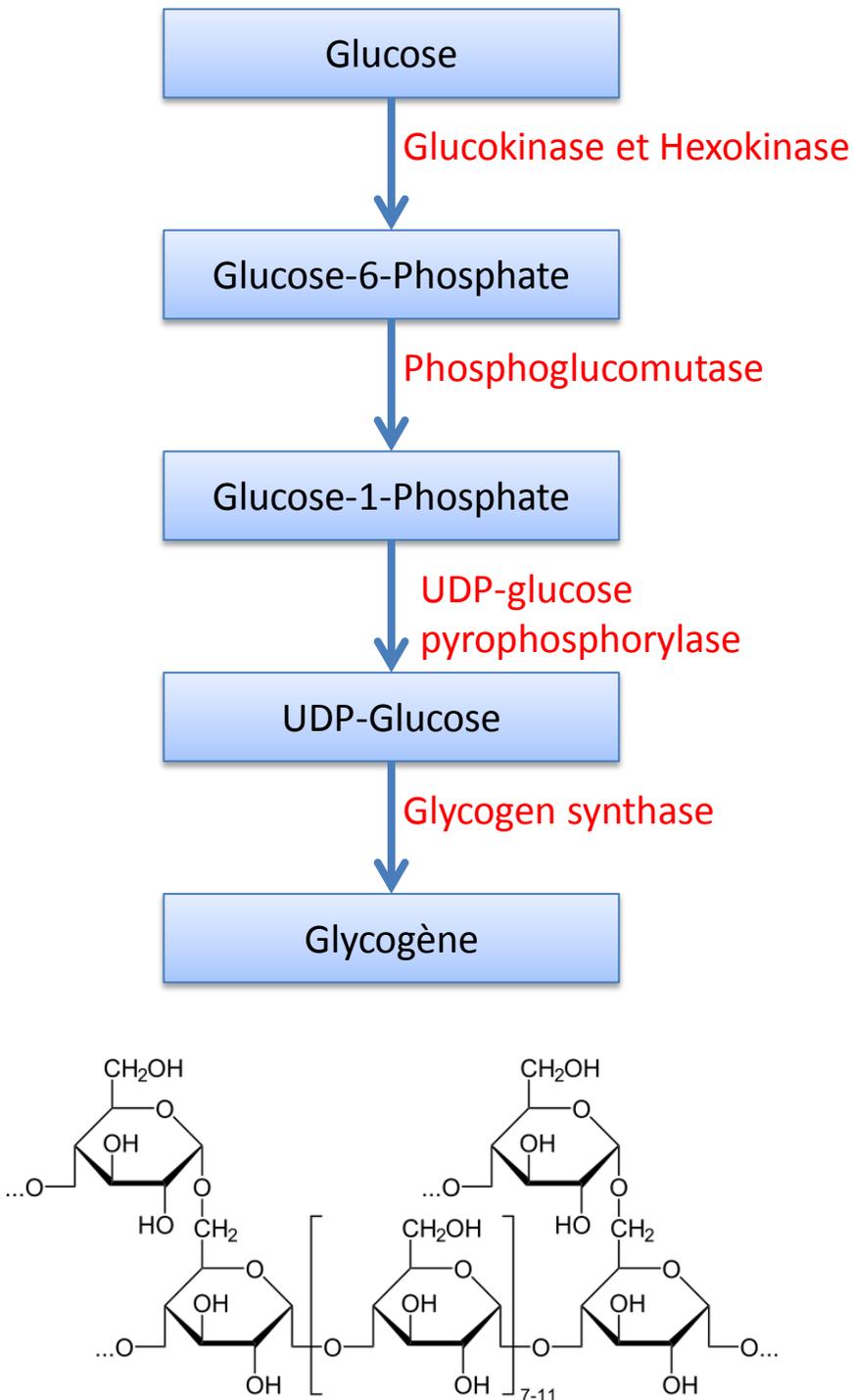


Figure 2 : La glycogénogenèse. Représentation schématique de la glycogénogenèse avec, en rouge, le nom des enzymes impliquées; En bas, représentation schématique d'une molécule de glycogène formée par un assemblage de molécules de glucose.

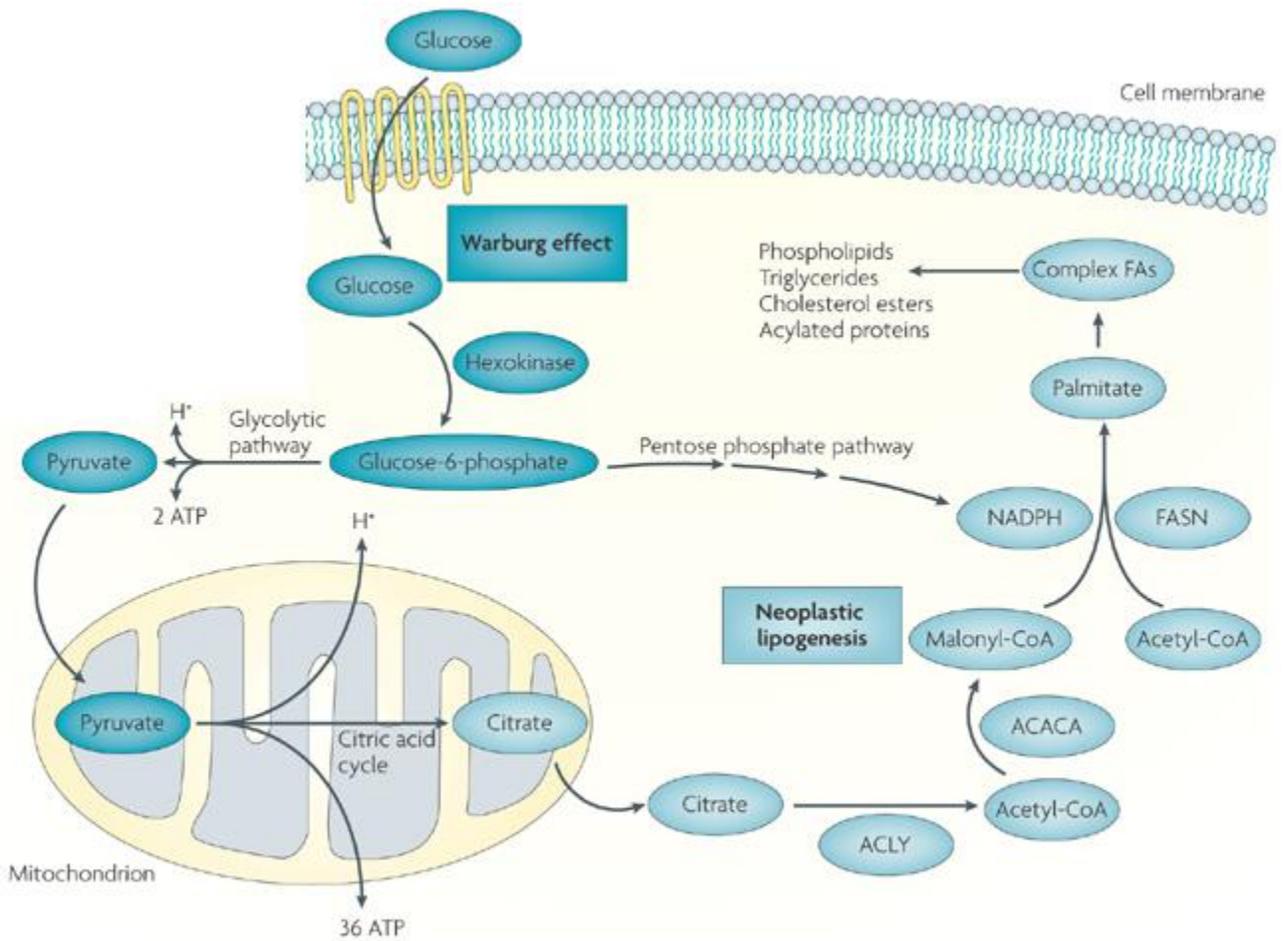


Figure 3 : La lipogénèse à partir du glucose. Représentation schématique de la lipogénèse à partir du glucose . Le glucose entre dans les hépatocytes par GLUT2 et dans les adipocytes par GLUT4. La voie de la glycolyse produit du pyruvate qui, par l'intermédiaire du citrate dans la mitochondrie, donne de l'acétylCoA. Ce dernier va être utilisé dans le cytosol pour produire des lipides. D'après Menendez & Lupu *Nat Rev Cancer*. 2007.

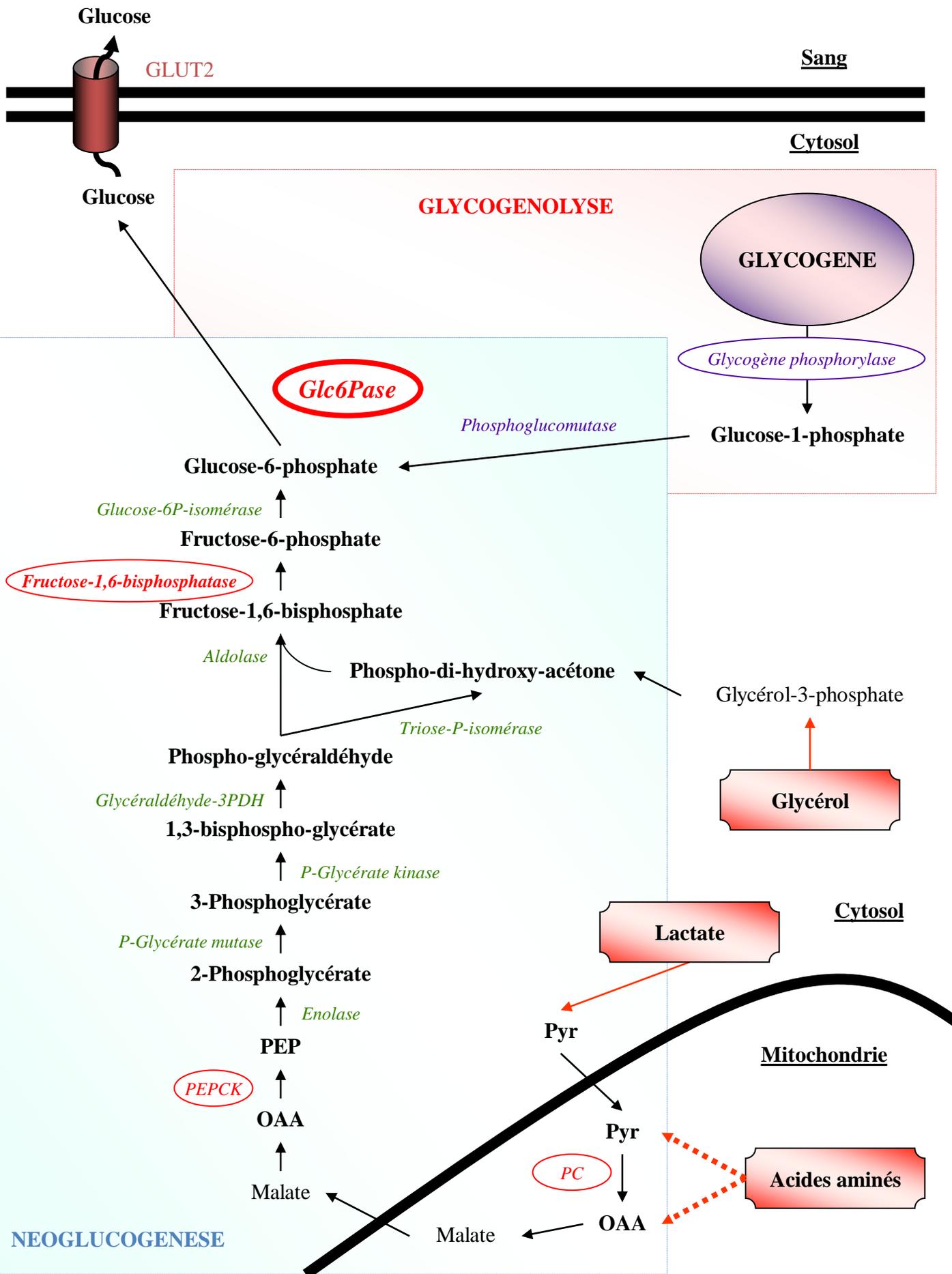


Figure 4 : Représentation schématique de la production endogène de glucose décrivant les deux voies de production de glucose : la néoglucogénèse et la glycogénolyse. Les enzymes clés de la néoglucogénèse sont entourées en rouge. OAA : OxaloAcetic Acid; PC : Pyruvate Carboxylase; PEPCK : Phosphoenolpyruvate carboxykinase; PEP : Phosphoenolpyruvate

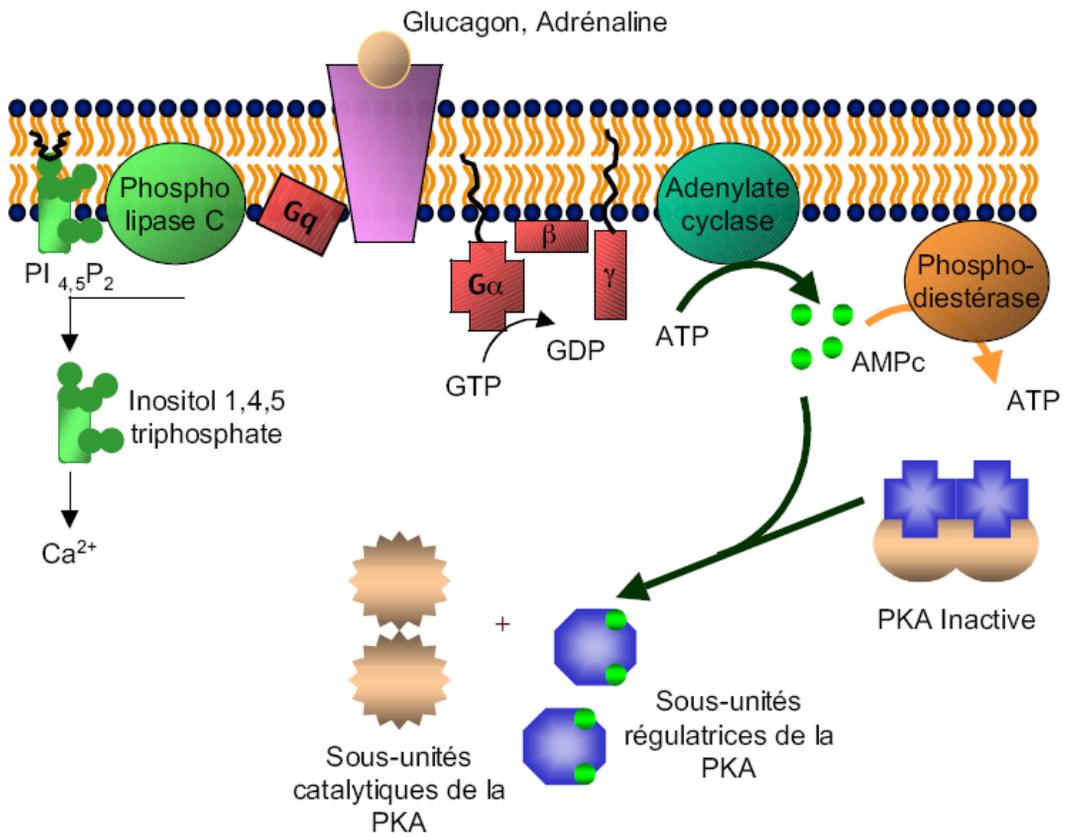


Figure 5 : Voies de signalisation induites par la liaison du glucagon ou de l'adrénaline à leur récepteur. D'après Jiang G. et al., *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab*, 2003.

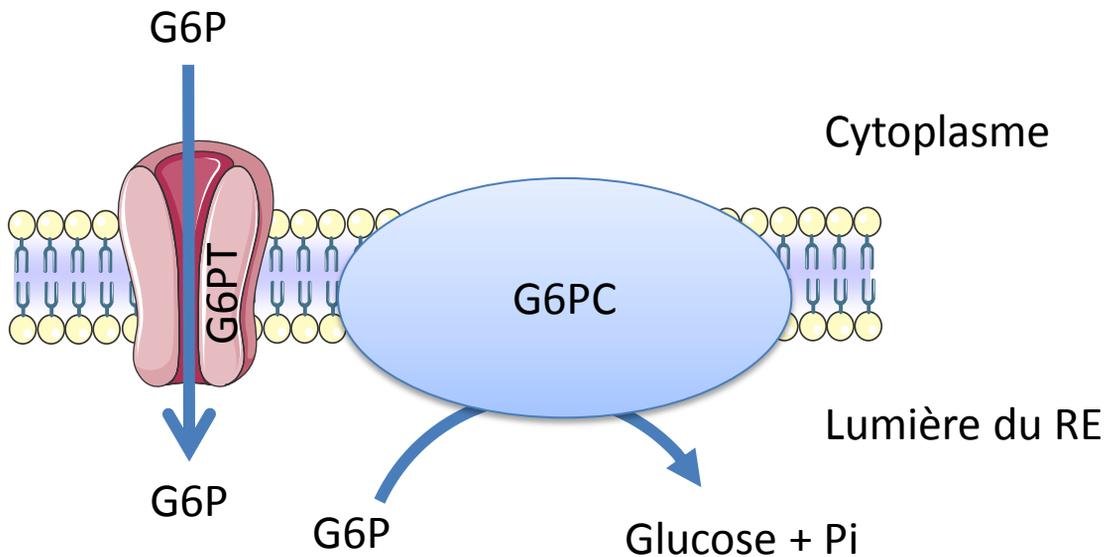


Figure 6 : Représentation schématique du complexe G6Pase. La G6Pase est composée de deux sous-unités, la G6PT qui transporte le G6P à l'intérieur du réticulum le rendant ainsi accessible au site catalytique de la sous unité G6PC qui transforme alors le G6P en glucose et phosphate inorganique.

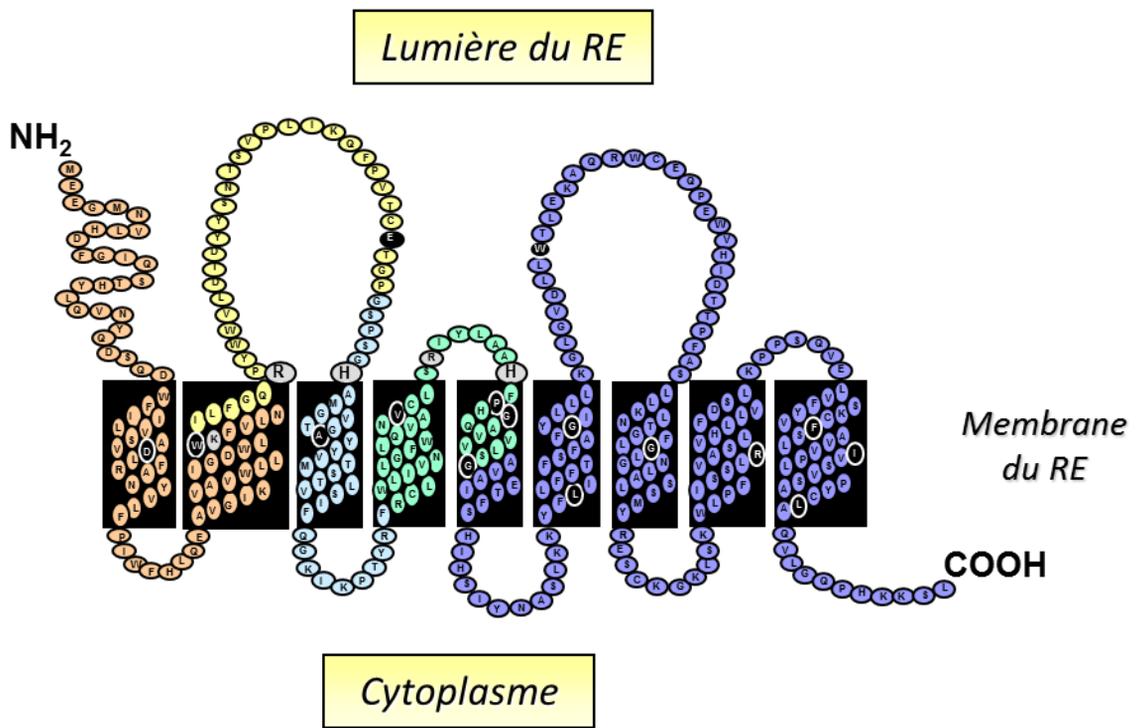


Figure 7 : Représentation schématique de la G6PC. D'après Pan et al, *J Biol Chem*, 1998.

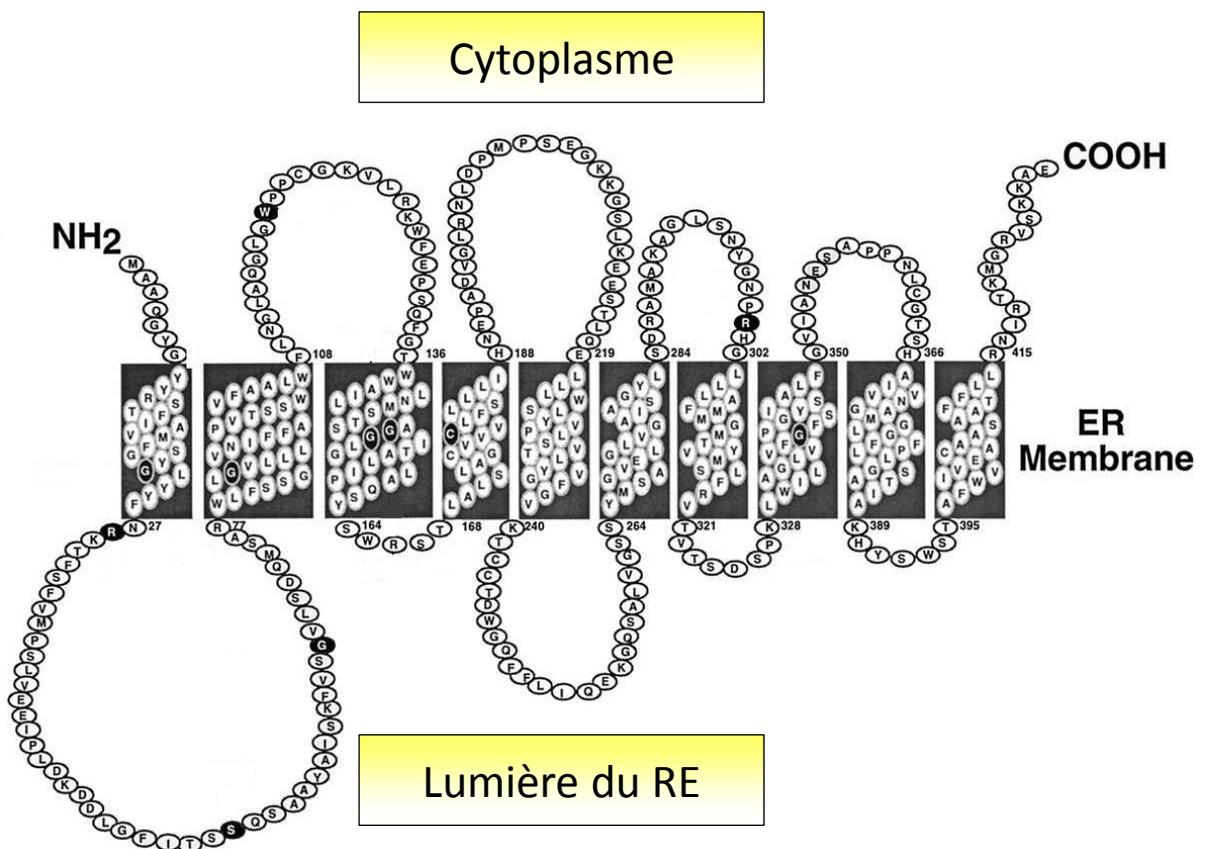
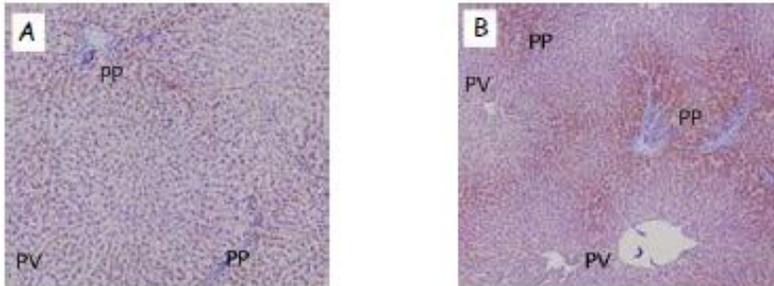
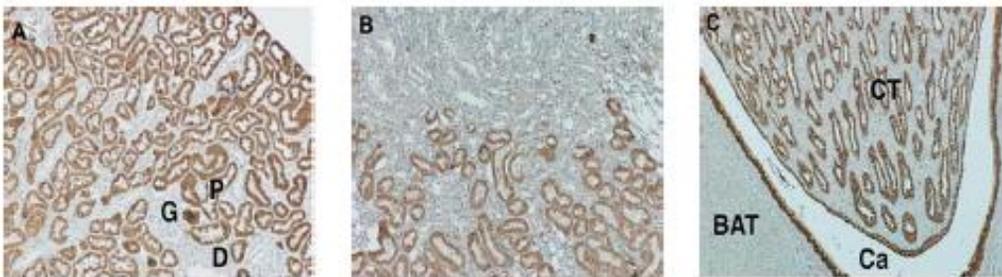


Figure 8 : Représentation schématique de la G6PT. D'après Pan et al, *J Biol Chem*, 1999.

A Localisation cellulaire de la G6PC dans le foie de rat nourri (A) et à jeun (B).



B Localisation cellulaire de la G6PC dans le rein de rat à jeun. Coupe du cortex rénal (A) : Transition entre la région corticale et la médulla (B) : coupe du bassinnet (C)



C Localisation cellulaire de la G6PC dans le duodénum (A, B) et l'iléum (C) de rat à jeun.

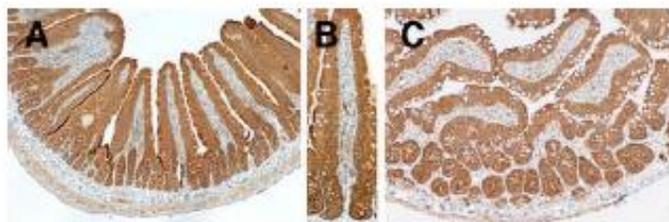


Figure 9 Localisation cellulaire de la G6PC dans les tissus néoglucogéniques. Après fixation, les tissus sont marqués en présence d'un anticorps anti-G6PC. L'immunomarquage est brun tandis que les noyaux sont marqués en bleu par l'hématoxyline. PP : PériPortal, PV : PériVeineux, G : Glomérus, D, Tubules Distaux, P : Tubules Proximaux, CT : Tubes Colecteurs, Ca : Calices, BAT : Tissu adipeux brun. D'après Rajas,F et al, *Histochem Cell Biol*, 2007.

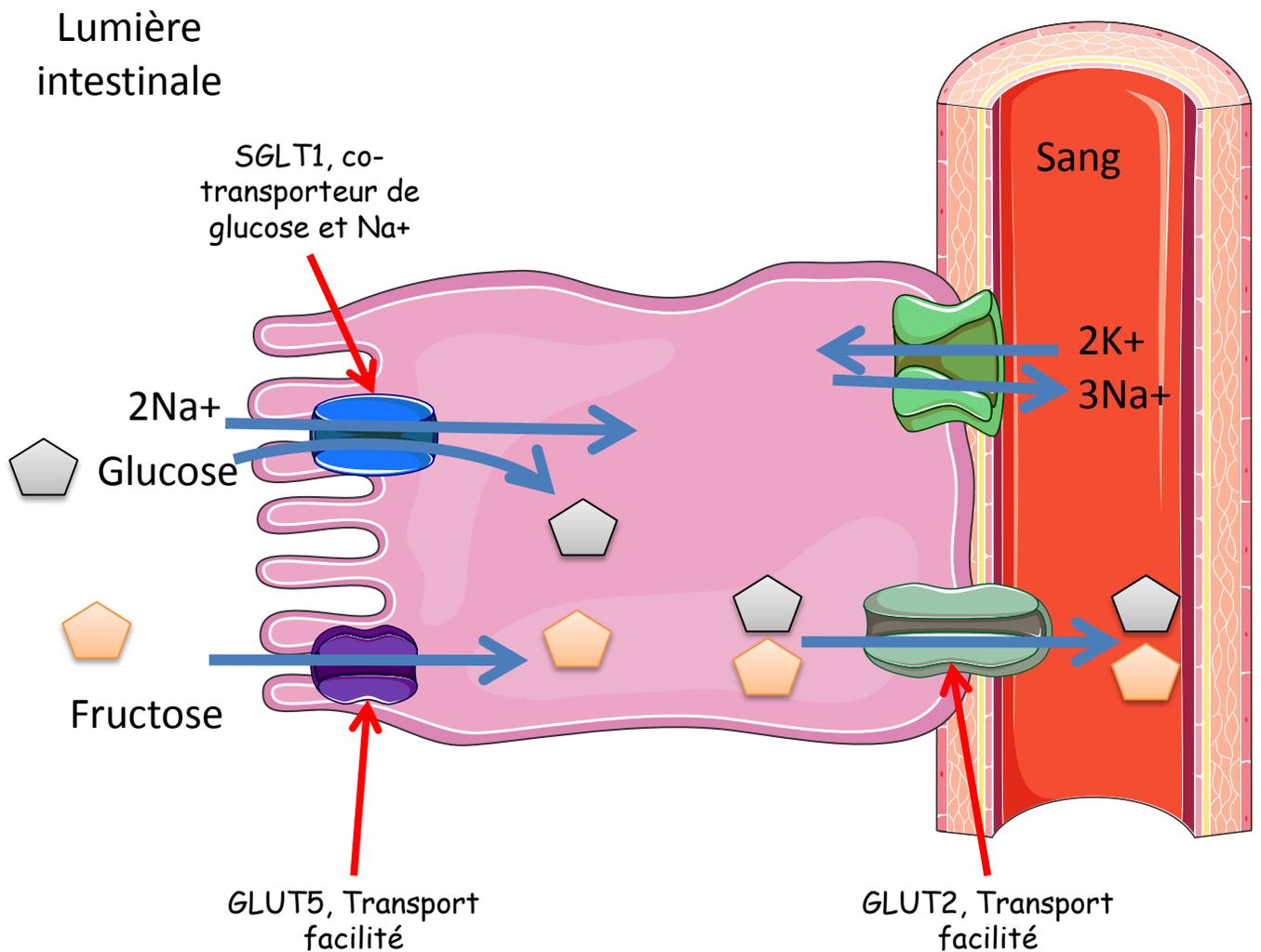


Figure 10 : Représentation schématique de l'absorption intestinale du glucose et du fructose. Le glucose est capté au niveau de la lumière intestinale par un co-transporteur sodium-glucose SGLT1. Ce transport est rendu possible grâce à la création d'un gradient par une pompe Na^+/K^+ située dans la membrane basale. Une fois dans la cellule, le glucose ressort librement dans le sang par GLUT2. Concernant le fructose, il est capté par GLUT5 puis une fois dans la cellule sort via GLUT2.

Lumière intestinale

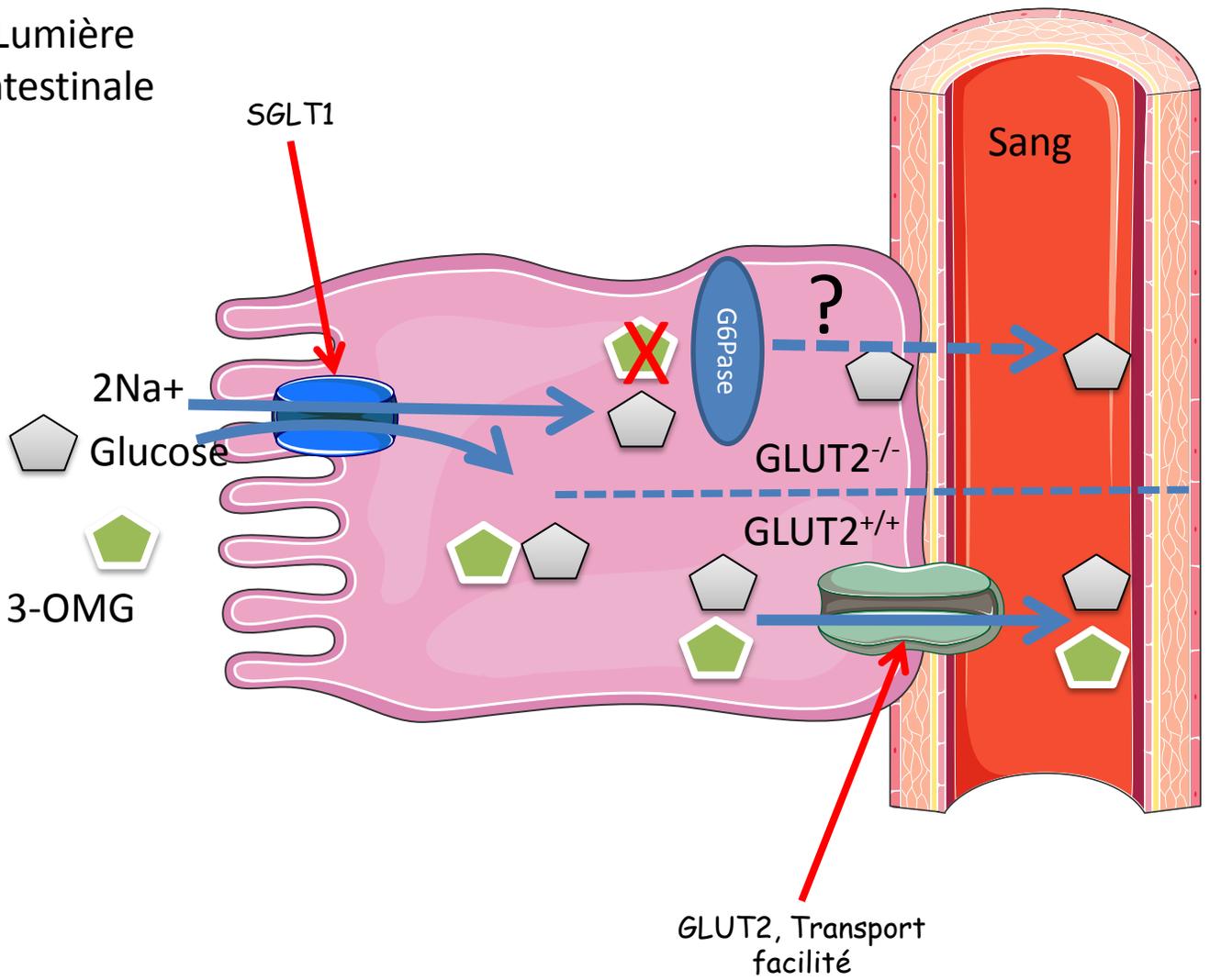


Figure 11 : Représentation schématique de l'absorption intestinale du glucose en absence de GLUT2. Le glucose et le 3OMG sont captés au niveau de la lumière intestinale par un co-transporteur sodium-glucose SGLT1. Une fois dans la cellule, en absence de GLUT2 seul le glucose peut sortir vers le sang . D'après Stümpel F. et al., *PNAS*, 2001.

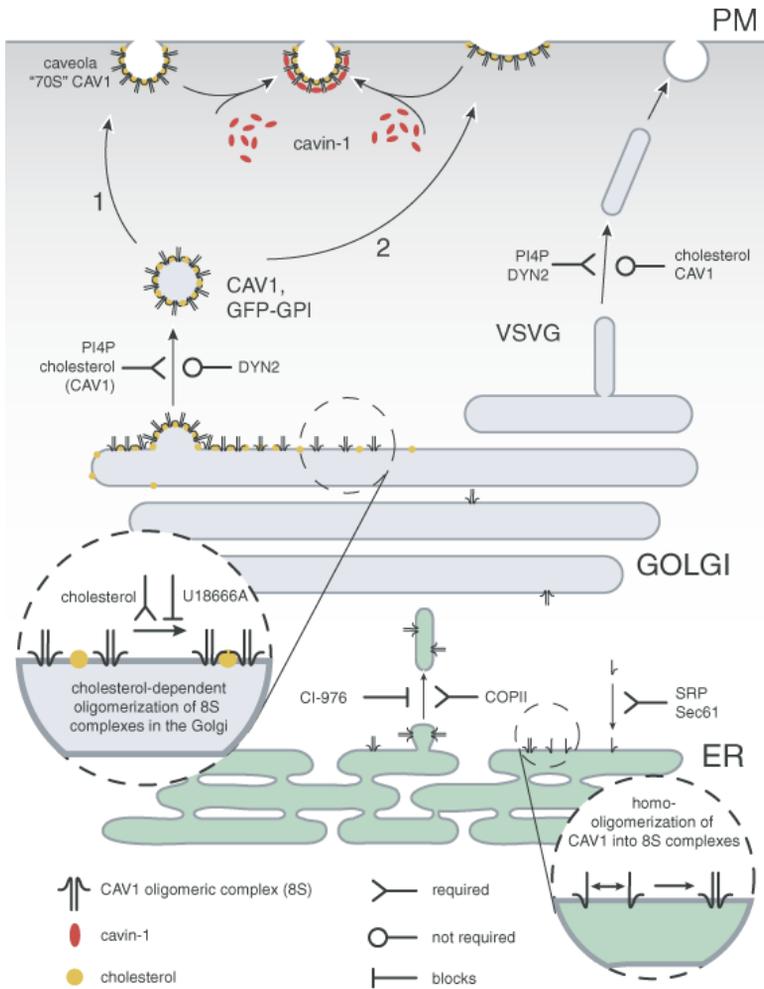
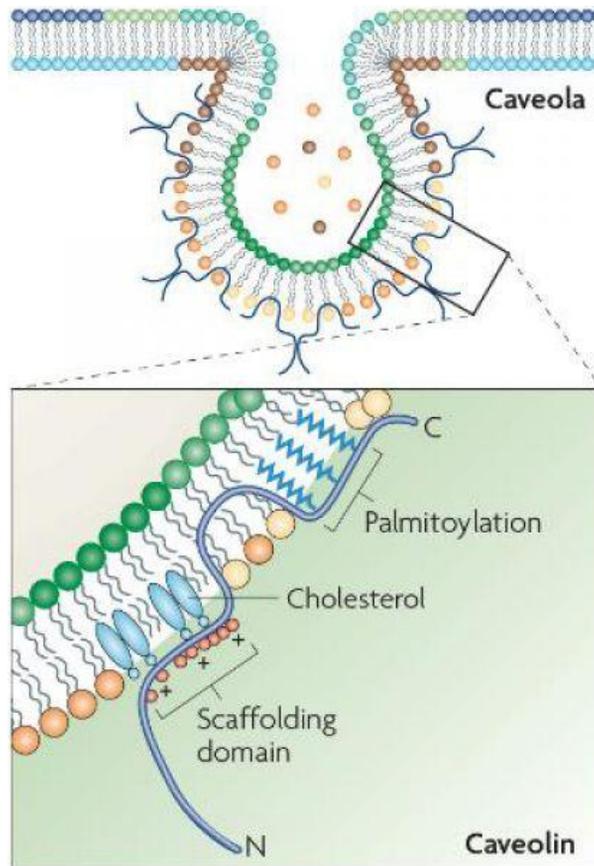


Figure 12 : Représentation schématique de la biogenèse de la cavéoline1 et des cavéoles. La cavéoline, synthétisée dans le RE, est exportée vers la membrane plasmique via une voie transgolgienne. Les éléments de la légende indiquent quels mécanismes sont impliqués dans ce transport. D'après Hayer et al. *Traffic* 2010.

A



B

1	M	S	G	G	K	Y	V	D	S	E	G	H	L	Y	T	V	P	I	R	E	Q	G	N	I	Y	K	P	N	K	Human Caveolin 1	
1																V	G	L	E	T	E	K	A	D	V	Q	L	F	M	D	Human Caveolin 2
1																												M	A	Human Caveolin 3	
31	A	M	A	D	E	L	S	E	K	Q	V	Y	D	A	H	T	K	E	I	D	L	V	-	N	R	D	P	K	H	L	Human Caveolin 1
16	D	D	S	Y	S	H	H	S	G	L	E	Y	A	D	P	E	K	F	A	D	S	D	Q	D	R	D	P	H	R	L	Human Caveolin 2
4	E	E	H	T	D	L	E	A	Q	I	V	K	D	I	H	C	K	E	I	D	L	V	-	N	R	D	P	K	N	I	Human Caveolin 3
60	N	D	D	V	V	K	I	D	F	E	D	V	I	A	E	P	E	G	T	H	S	F	D	G	I	W	K	A	S	F	Human Caveolin 1
46	N	S	H	-	L	K	L	G	F	E	D	V	I	A	E	P	V	T	T	H	S	F	D	K	V	W	I	C	S	H	Human Caveolin 2
33	N	E	D	I	V	K	V	D	F	E	D	V	I	A	E	P	V	G	T	Y	S	F	D	G	V	W	K	V	S	Y	Human Caveolin 3
90	T	T	F	T	V	T	K	Y	W	F	Y	R	L	L	S	A	L	F	G	I	P	M	A	L	I	W	G	I	Y	F	Human Caveolin 1
75	A	L	F	E	I	S	K	Y	V	M	Y	K	F	L	T	V	F	L	A	I	P	L	A	F	I	A	G	I	L	F	Human Caveolin 2
63	T	T	F	T	V	S	K	Y	W	C	Y	R	L	L	S	T	L	L	G	V	P	L	A	L	W	G	F	L	F	Human Caveolin 3	
120	A	I	L	S	F	L	H	I	W	A	V	V	P	C	I	K	S	F	L	I	E	I	O	C	I	S	R	V	Y	S	Human Caveolin 1
105	A	T	L	S	C	L	H	I	W	L	M	P	F	V	K	T	C	L	M	V	L	P	S	V	Q	T	I	W	K	Human Caveolin 2	
93	A	C	I	S	F	C	H	I	W	A	V	V	P	C	I	K	S	Y	L	I	E	I	Q	C	I	S	H	I	Y	S	Human Caveolin 3
150	I	Y	V	H	T	V	C	D	P	L	F	E	A	V	G	K	I	F	S	N	V	R	I	N	L	Q	K	E	I	Human Caveolin 1	
135	S	V	T	D	V	I	A	P	L	C	T	S	V	G	R	C	F	S	S	V	S	L	Q	L	S	O	Human Caveolin 2				
123	L	C	I	R	T	F	C	N	P	L	F	A	A	L	G	Q	V	C	S	S	I	K	V	V	L	R	K	E	V	Human Caveolin 3	

- Domaine membranaire**
- Domaine d'oligomérisation**
- Domaine d'interaction "Scaffolding Domain"**

Figure 13 : Cavéolines et cavéoles.

A : Représentation schématique d'une cavéole à la membrane plasmique et de la cavéoline1 enchassée dans la membrane Parton et al. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2007

B : Séquences des trois cavéolines humaines indiquant les méthionine impliquées dans les différentes isoformes. Razani et al. *Pharmacol Rev.* 2002

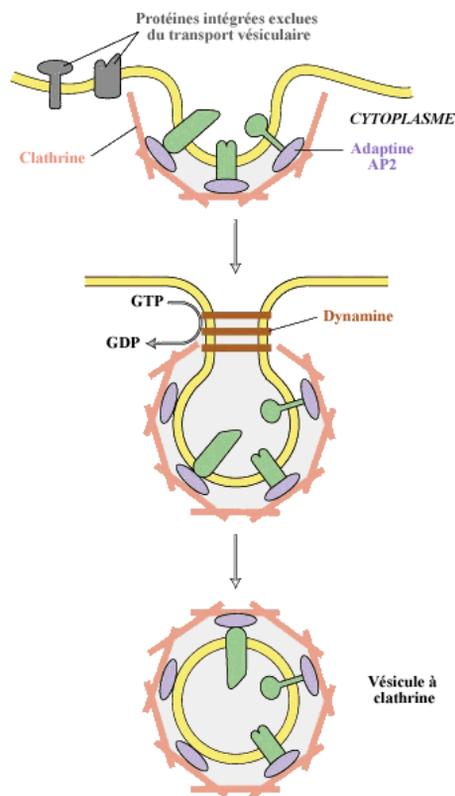


Figure 14 : Représentation schématique du rôle des dynamines dans la libération de vésicules. Cet exemple représente une vésicule de clathrine internalisée. L'étape finale de la formation de la vésicule est menée par une dynamine qui va permettre, en consommant du GTP, la scission membranaire et la fermeture de la vésicule. Le dynasore inhibe cette étape et empêche la finalisation des vésicules.

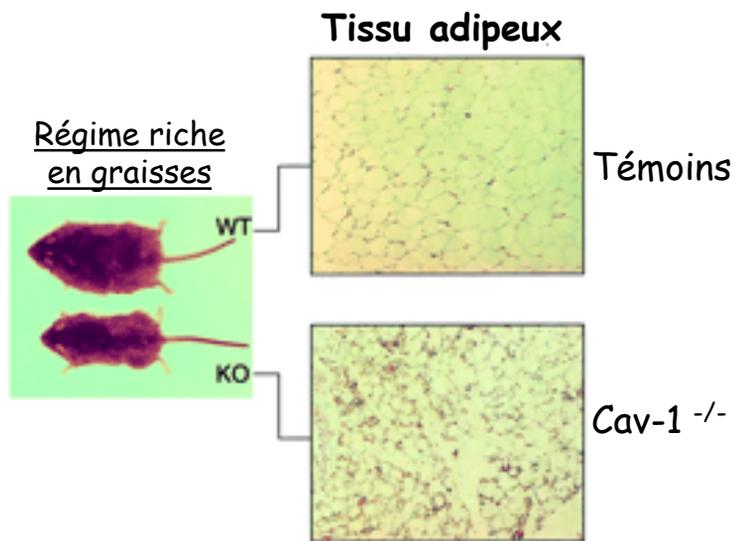


Figure 15 : Phénotype du tissu adipeux chez les souris Cav1^{-/-}. Le marquage à l'hématoxyline/éosine de coupes histologiques du tissu adipeux indique que les adipocytes des souris cav-1^{-/-} présentent moins de gouttelettes lipidiques que ceux extraits des souris témoins. D'après Razani B., et al, *J. Biol. Chem.* 2001.

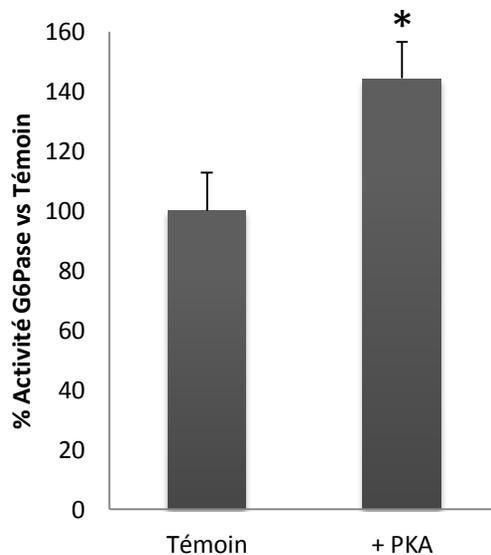


Figure 16 : Effet de la PKA sur l'activité de la G6Pase.

La figure représente l'effet de la PKA sur l'activité G6Pase dans un modèle entérocytaire Caco2. L'activité est exprimée en $\mu\text{mol/h/mg}$ de protéines. Les résultats représentent les moyennes \pm SEM et sont exprimés en fonction de l'activité G6Pase mesurée en absence de PKA ($n=3$). * $P < 0,01$, significativement différent du témoin (Test T de Student pour des valeurs non appariées).

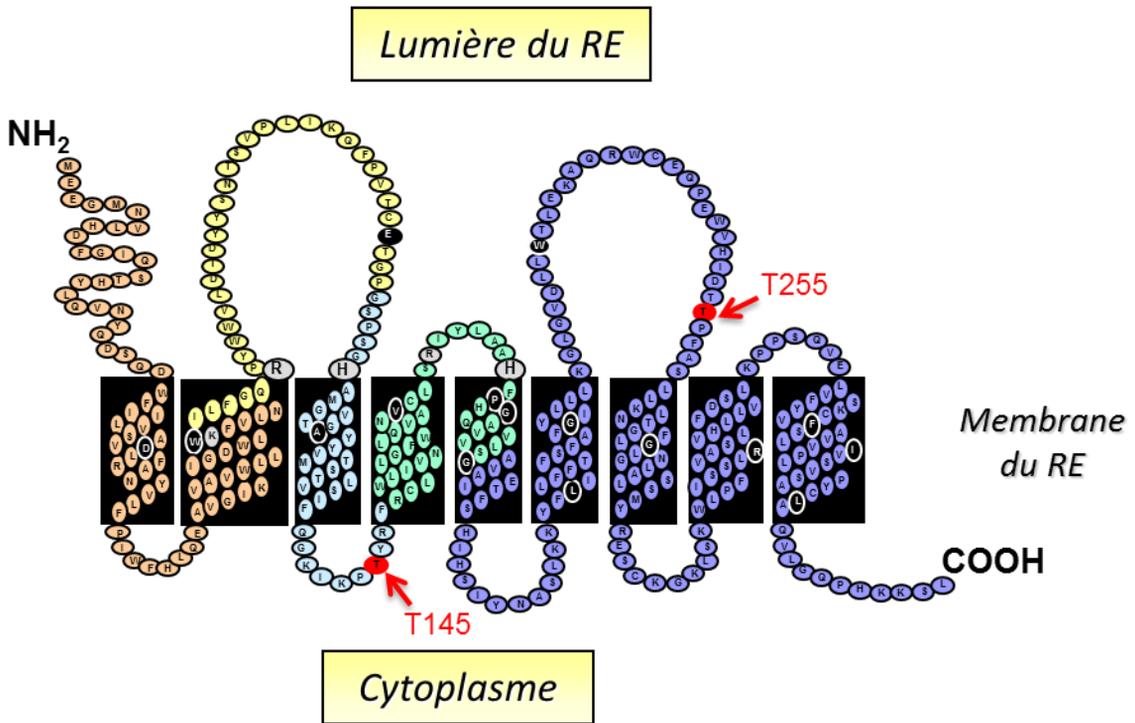


Figure 17 : Représentation schématique de la G6PC. (D'après Pan et al, J Biol Chem, 1998). Les cercles rouges représentent les acides aminés mutés dans cette étude : la thréonine 145 cytoplasmique et la thréonine 255 au niveau de la lumière du réticulum endoplasmique (RE).

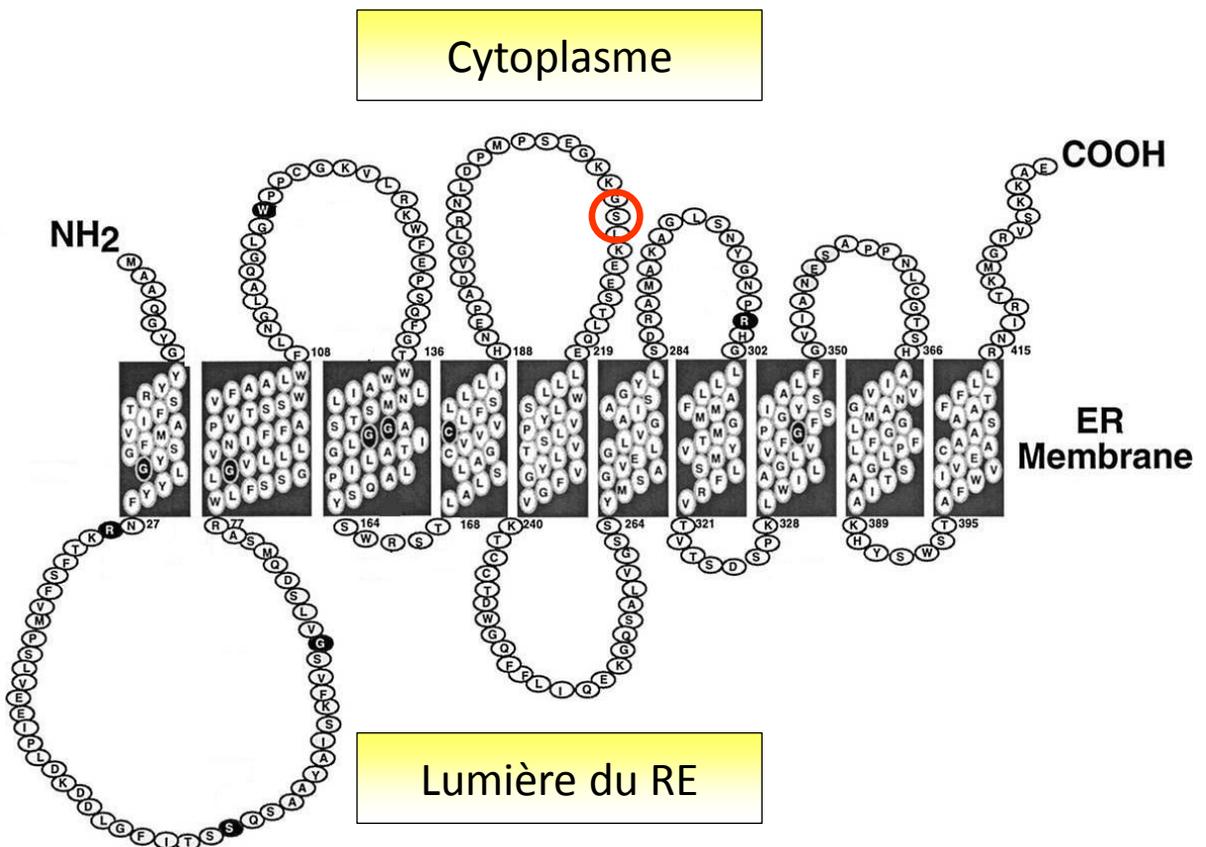


Figure 18 : Représentation schématique de la G6PT. (D'après Pan et al, J Biol Chem, 1999). Le cercle rouge représente la sérine 210 mutée dans cette étude.

A : T145

		Gene ID
[Homo	MGTAGVYYVMVTSTLS-IFQGK-IKP T YRFRCLNVILWLGFWAVQLNVCLSRYYLAAHFP	2538
[Rattus	MGTAGVYYVMVTSTLA-IFRGK-KKS T YGFRCNLVVWLWGYWAVQLNVCLSRYYLAAHFP	25634
[Mus	MGAAGVYYVMVTSTLA-IFRGK-KKP T YGFRCNLNVILWLGFWAVQLNVCLSRYYLAAHFP	14377
[Canis	MGTAGVYYVMVTSTLS-IFRGR-KRP T YRFRCLNILLWLGFWAVQLNVCLSRYYLAAHFP	403492
[Gallus	MGSSCVWYVMVTAALS ^Y TVRWKEKSAVTLHRLTWSLLWTFWIIQISVCISR ^V FIATHFP	424171
[Xenopu	MGSAGIYYVMVTAIIT-IMLKK-KET S LSNWCMRGALWTGFWAVQVCVCLSRIFLAAHFP	379852
[Danio	MGAAGVYYTLVTSILA-IMLSKGGK S TNSLYLRGSLWTLFWTVQICVCLSRVFIAAHFP	445118

B : T255

[Homo	EKAQRWCEQPEWVHIDT T PFASLLKNLGTLFGLGLALNSSMYRESCKGKLSKWLPFRLSS
[Rattus	EKAKRWCEQPEWVHLD T PFASLFKNLGTLLGLGLALNSSMYRKSCKGELRKS ^L LPFRLAC
[Mus	EKAKRWCEQPEWVHLD T PFASLFKNLGTLLGLGLALNSSMYRKSCKGELS ^L KLLPFRFAC
[Canis	EKARRWCEQPEWVHIDT T PFASLLKNVGTFLFGLGVALNSSMYRESCKGKLSKWFPFRLSC
[Gallus	PKAKKWCANPDWINIDT T PFAGLVRNLGAFFGLGIGINSEMFIT ^S CKGKNSCKLSFRVLC
[Xenopu	EKAKRWCAQPEWIHINT T PFAGLLRNLGIFFGGLALNSKLYQESCRGKKG ^S QTFRLCC
[Danio	EKAQKWCANPAWVHLD T PFASLLRMGTFLFGLGLGHSPLYTES---KKSSNAFVRITC

C : S210

		Gene ID
[Homo	VSFLC ^L LLLIHNEPADVGLRNLDMPSEGGK S SLK-EESTLQ ^E ELLLSPYLWVWLSTGYLVVF	2542
[Rattus	V ^S FFC ^L LLLIHNEPADVGLRNLDPAPSKGKK S SK-EESTLQ ^D ELLLSPYLWVWLSTGYLVVF	29573
[Mus	V ^S FFC ^L LLLIHNEPADVGLRNLDPAPSKGKK S SK-EESTLQ ^D ELLLSPYLWVWLSTGYLVVF	14385
[Canis	VSFLC ^L LLLIHNEPADVGLRNLDPTPSKGKK S SLK-DESTLQ ^E ELLLSPYLWVWLSTGYLVVF	489375
[Gallus	V ^S FFVCLVLIKNEPADVGLPNIDQGT ^K KGKK S PS-DNSTLAELLLSPYLWVWLSTGYLVVF	419789
[Xenopu	ASVLC ^L LILIKNEPSDVGLKNIEPGPKKG Q ASQSGDETTLKEFLLSPYLWLLCAGYLVVF	550110
[Danio	TSIFCL ^L IIIRNEPSEVGLPNIEAGAKKGK S SK-NESTFKEFIFSPYLWMLSLGYLVVF	406465

Figure 19 : Conservation des acides aminés Ser/Thr phosphorylables de la G6PC (A et B) et de la G6PT (C) au cours de l'évolution.

Les acides aminés mutés dans notre étude (en rouge), sont relativement conservés au cours de l'évolution de l'homme au poisson zèbre. **A** : conservation de la thréonine 145 de la G6PC. **B** : conservation de la thréonine 255 de la G6PC. **C** : conservation de la sérine 210 de la G6PT.

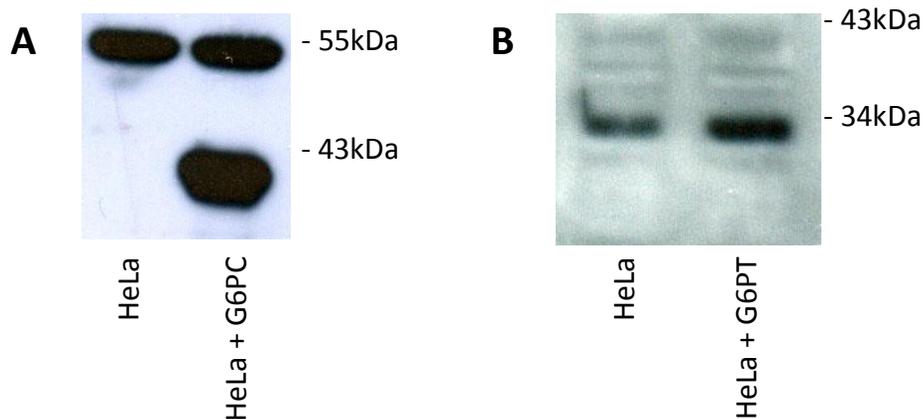


Figure 20 : Détection des protéines du système G6Pase à l'aide d'anticorps spécifiques.

A : Anticorps anti-G6PC

Western-blot obtenu en présence de l'anticorps anti-G6PC réalisé à partir de protéines de cellules HeLa ou de cellules HeLa surexprimant la G6PC. La bande à 55kDa n'est pas spécifique. Sur la droite de la figure sont indiquées les masses moléculaires des marqueurs de migration.

B : Anticorps anti-G6PT

Western-blot obtenu en présence de l'anticorps anti-G6PC réalisé à partir de protéines de cellules HeLa ou de cellules HeLa surexprimant la G6PC. Sur la droite de la figure sont indiquées les masses moléculaires des marqueurs de migration.

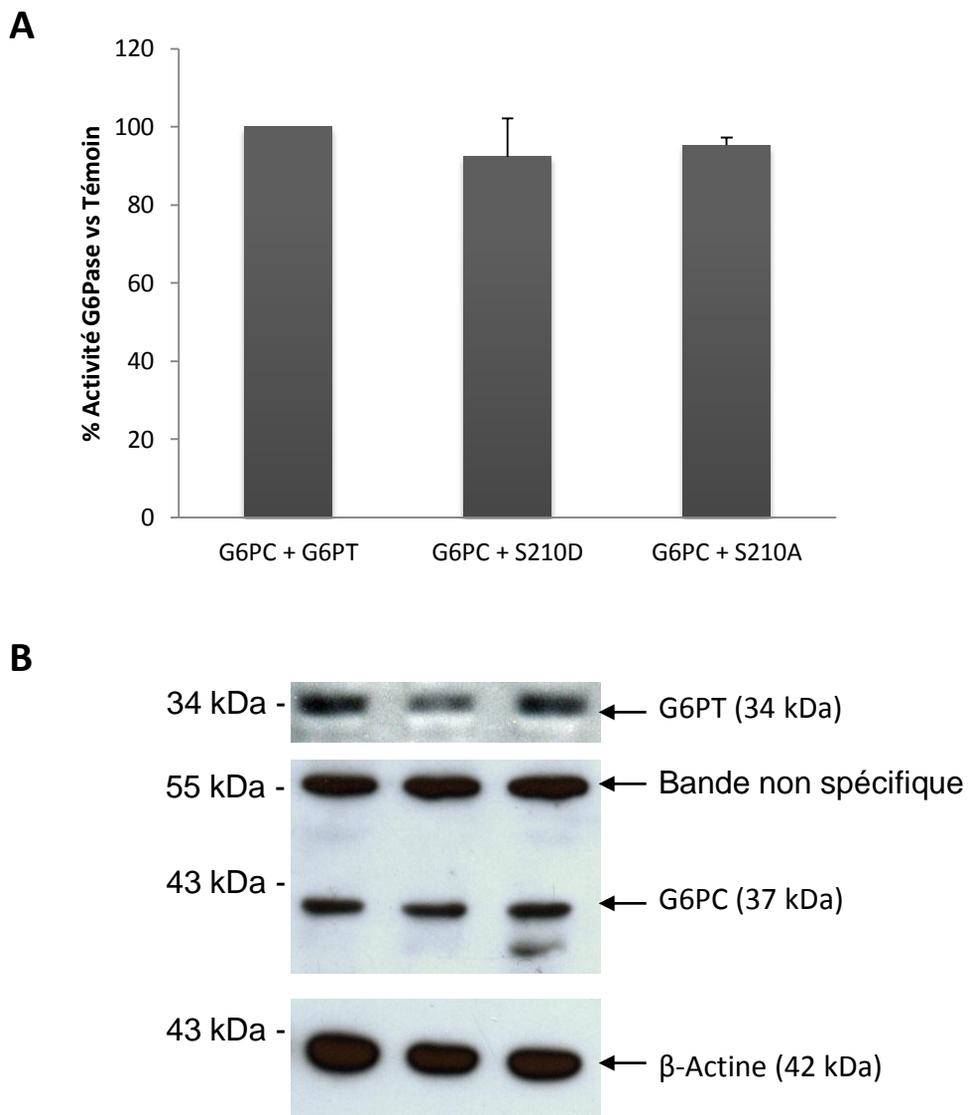


Figure 21 : Effets de la mutation de la sérine 210 de la G6PT en aspartate et en alanine sur l'activité G6Pase exprimée en fonction de l'activité de la forme sauvage.

A: Représente l'activité G6Pase relative des mutants S210D et S210A surexprimés dans les cellules HeLa par rapport à celle du témoin. L'activité du témoin, représentée par la co-transfection des formes sauvages de G6PC et de G6PT, est égale à $7,37 \pm 0,63 \mu\text{mol/h/mg}$ de protéines ramenée à 100%. Les résultats représentent les moyennes \pm SEM ($n=3$).

B: Analyse par western-blot des protéines en utilisant soit un anticorps anti-G6PT, soit un anti-G6PC, soit un anti- β -actine. Sur la gauche de la figure B sont indiquées les masses moléculaires des marqueurs de migration. Entre parenthèses, la masse moléculaire apparente de la protéine sur la droite de la figure.

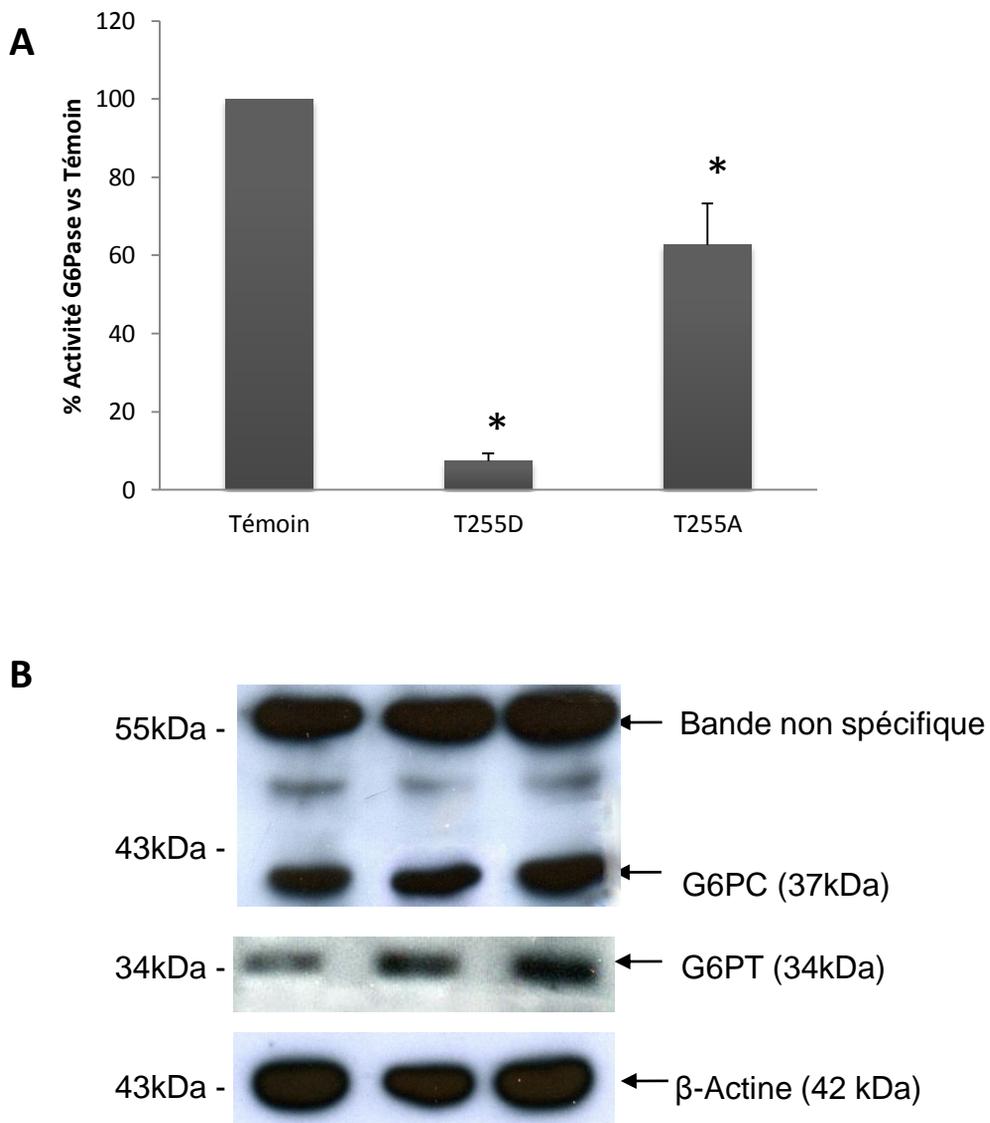


Figure 22 : Effets de la mutation de la Thréonine 255 de la G6PC en aspartate et en alanine sur l'activité G6Pase exprimée en fonction de l'activité de la forme sauvage.

A: Représente l'activité G6Pase relative des mutants T255D et T255A surexprimés dans les cellules HeLa par rapport à celle du témoin. L'activité du témoin, représentée par la transfection de la forme sauvage de G6PC, est égale à $7,85 \pm 1,22 \mu\text{mol/h/mg}$ de protéines ramenée à 100%. Les résultats sont représentés \pm SEM (n=3). * : $P < 0,01$, significativement différent du témoin (Test T de Student pour des valeurs non appariées).

B: Analyse par western-blot des protéines en utilisant soit un anticorps anti-G6PC, soit un anti-G6PT, soit un anti- β -actine. Sur la gauche de la figure B sont indiquées les masses moléculaires des marqueurs de migration. Entre parenthèses, la masse moléculaire apparente de la protéine sur la droite de la figure.

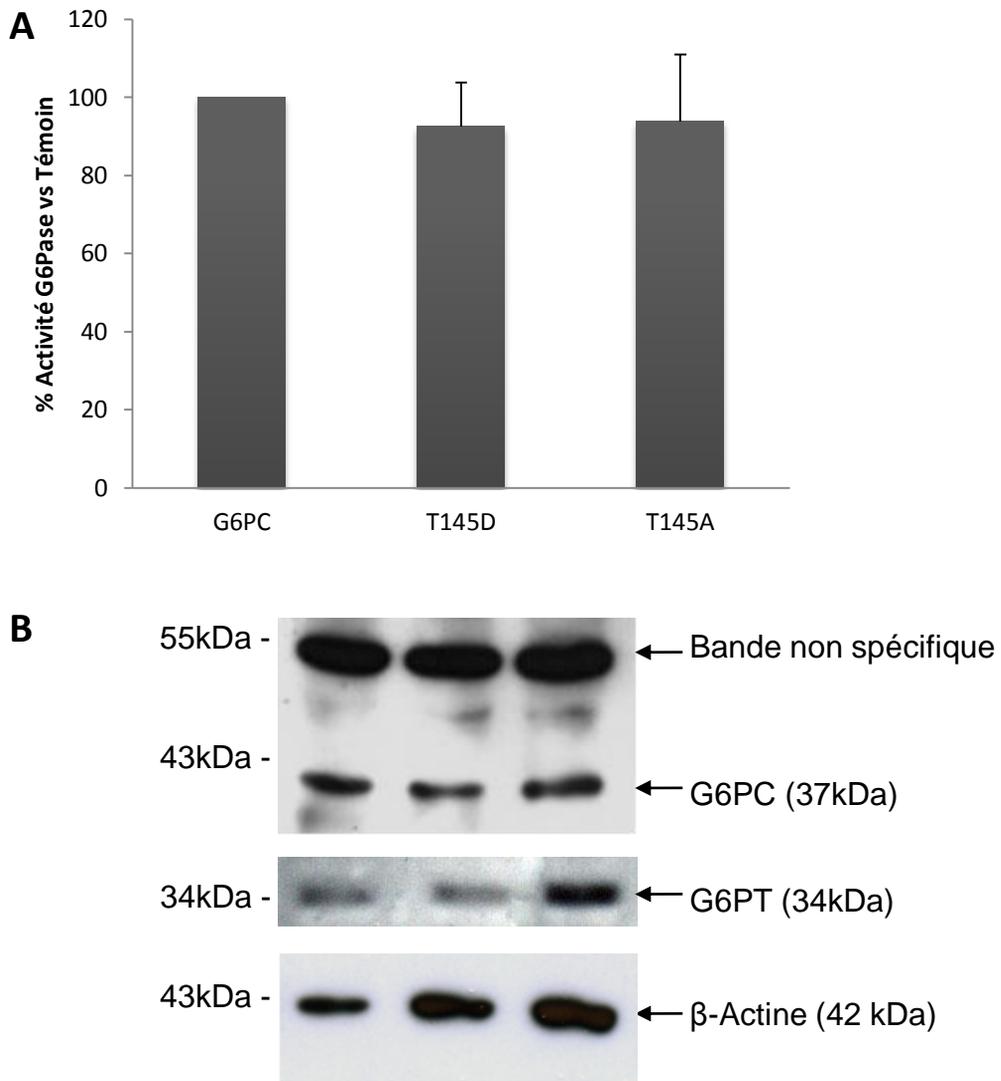


Figure 23 : Effets de la mutation de la Thréonine 145 de la G6PC en aspartate ou en alanine sur l'activité G6Pase exprimée en fonction de l'activité de la forme sauvage.

A: Représente l'activité G6Pase relative des mutants T145D et T145A surexprimés dans les cellules HeLa par rapport à celle du témoin. L'activité du témoin, représentée par la transfection de la forme sauvage de G6PC, est égale à $7,85 \pm 1,22 \mu\text{mol/h/mg}$ de protéines ramenée à 100%. Les résultats sont représentés \pm SEM (n=3). * : $P < 0,01$, significativement différent du témoin (Test T de Student pour des valeurs non appariées).

B: Analyse par western-blot des protéines en utilisant soit un anticorps anti-G6PC, soit un anti-G6PT, soit un anti- β -actine. Sur la gauche de la figure B sont indiquées les masses moléculaires des marqueurs de migration. Entre parenthèses, la masse moléculaire apparente de la protéine sur la droite de la figure.

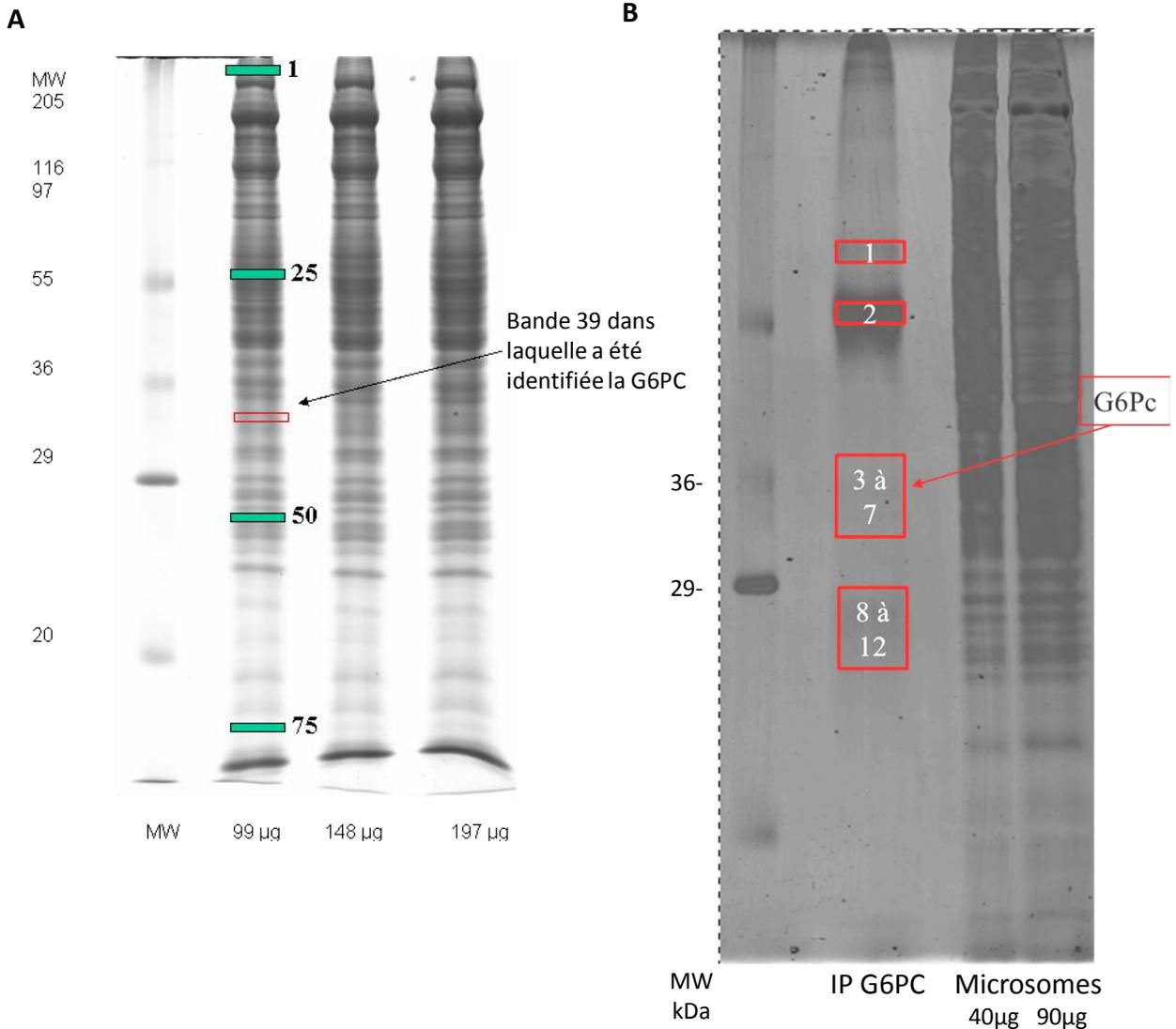


Figure 24: Mise au point de l'analyse de la séquence de la G6PC par spectrométrie de masse.

A: Profil de migration de microsomes de foies déposés en quantités croissantes montrant la complexité protéique des échantillons. La G6PC a pu être identifiée vers 34kDa.

B: Profil de migration de l'IP G6PC et de microsomes de foie. Les cadres rouges représentent les zones dans lesquelles des protéines ont pu être identifiées. La G6PC a pu être identifiée dans la zone contenant les protéines de poids moléculaires situés entre 32 et 38kDa.

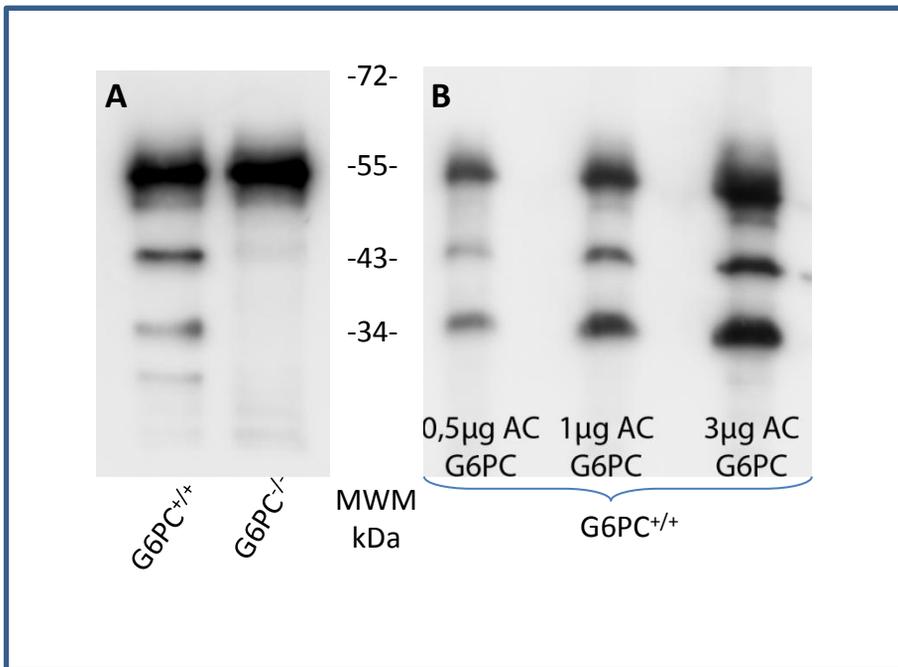


Figure 25 : Mise au point de l'immunoprécipitation de la G6PC.

A : Western-Blot G6PC de l'immunoprécipitation de la G6PC sur des hépatocytes primaires de souris sauvages et G6PC^{-/-}.

B : Western-Blot G6PC de l'immunoprécipitation de la G6PC sur des hépatocytes primaires de souris réalisé avec des concentrations croissantes d'anticorps G6PC.

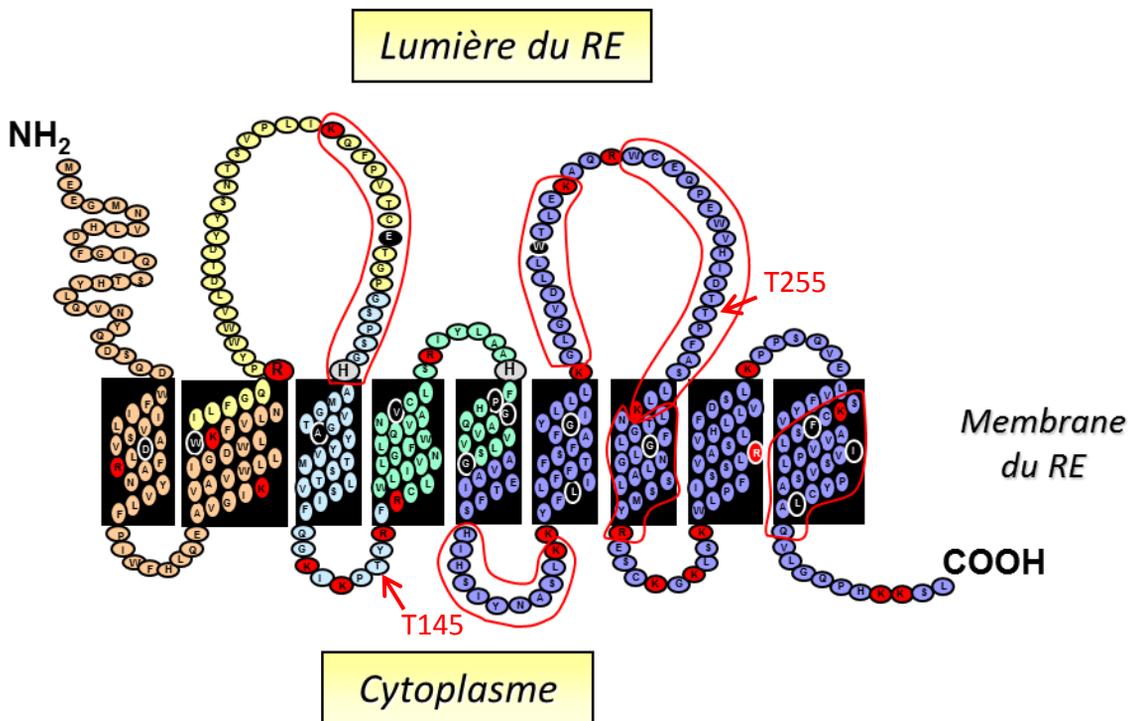


Figure 26 : Représentation schématique des peptides de la G6PC identifiées par MS.

Les peptides de la G6PC identifiés par MS sont entourés en rouge. Les sites de phosphorylation potentiels T145 et T255 sont indiqués par une flèche rouge. Les sites de digestion par la trypsine sont représentés en rouge.

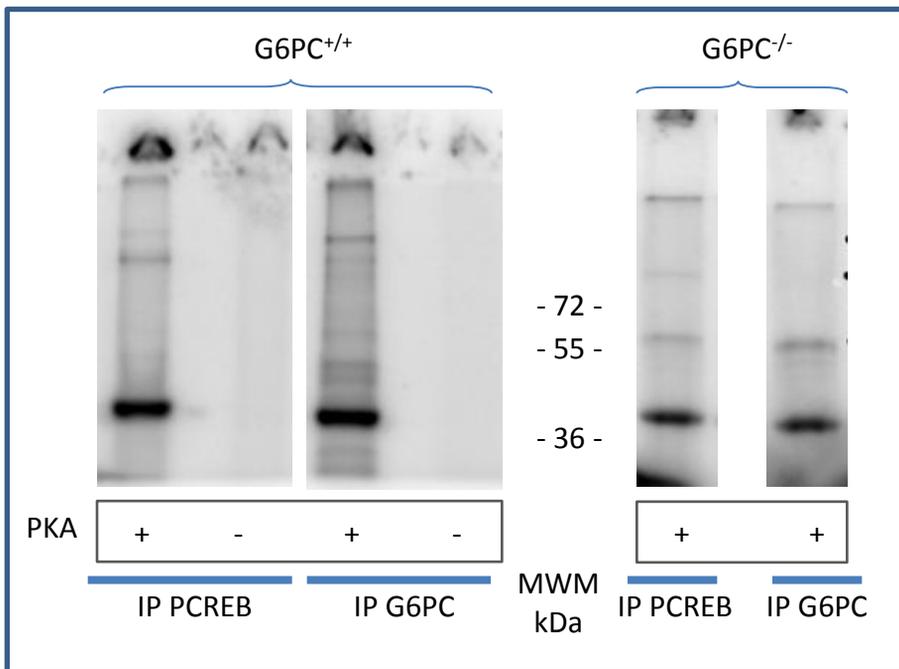


Figure 27 : Analyse de la phosphorylation *in vitro* de la G6PC.

Profil de migration des protéines issues d'hépatocytes de souris sauvages (A) ou *g6pc*^{-/-} (B) phosphorylées *in vitro* par la PKA. PCREB : Protéine CREB phosphorylée utilisée comme témoin positif

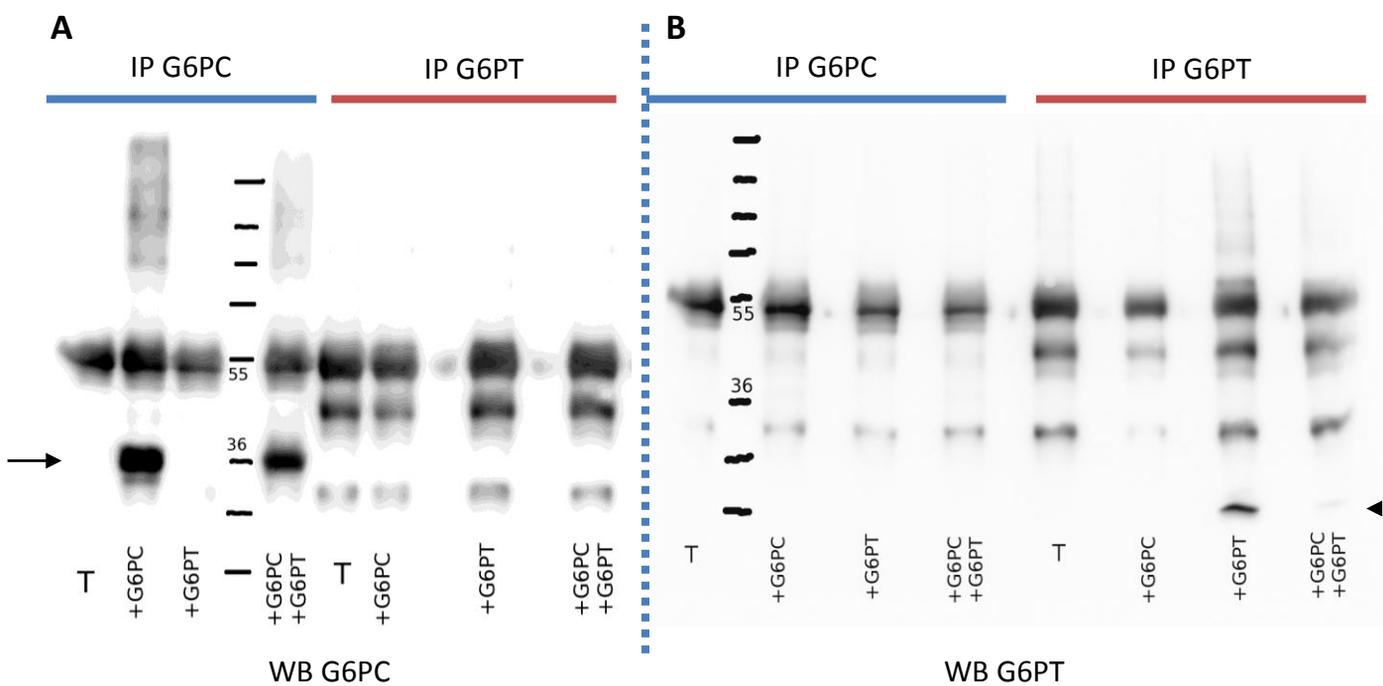


Figure 28 : Analyse de l'interaction entre G6PC et G6PT.

Les cellules surexprimant les ADNc humains de la G6PC et/ou de la G6PT ont été soumises à des immunoprécipitations de la G6PC ou de la G6PT. Les immunoprécipitats ont ensuite été analysés par western blot en utilisant l'anticorps anti-G6PC (A) ou anti-G6PT (B). La flèche indique la position de la G6PC et la pointe de flèche indique la position de la G6PT.

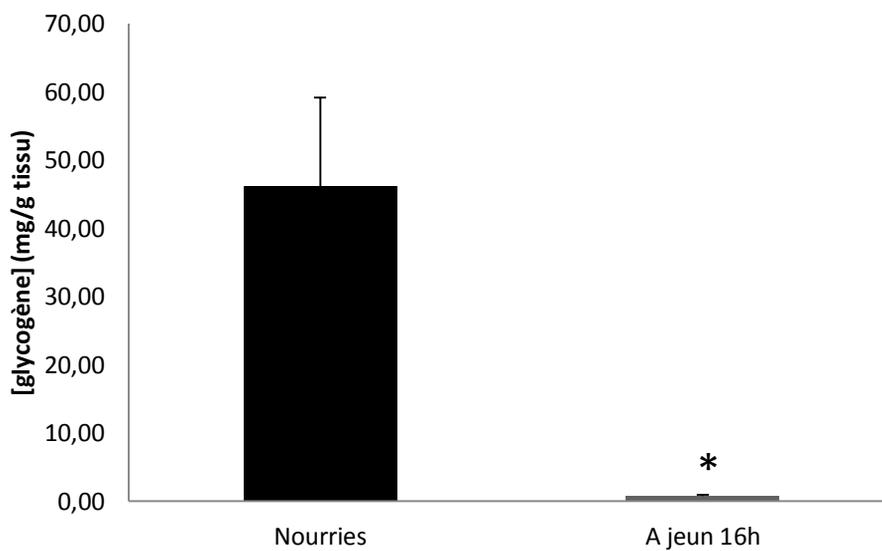


Figure 29 : Analyse de quantité de glycogène hépatique.

Quantité de glycogène contenue dans le foie de souris à l'état nourri ou après 16h de jeûne. Les résultats exprimés en mg/g de tissu représentent la moyenne \pm SEM (n=5). *: $P < 0,01$, significativement différent de l'état nourri (Test T de Student pour des valeurs non appariées).

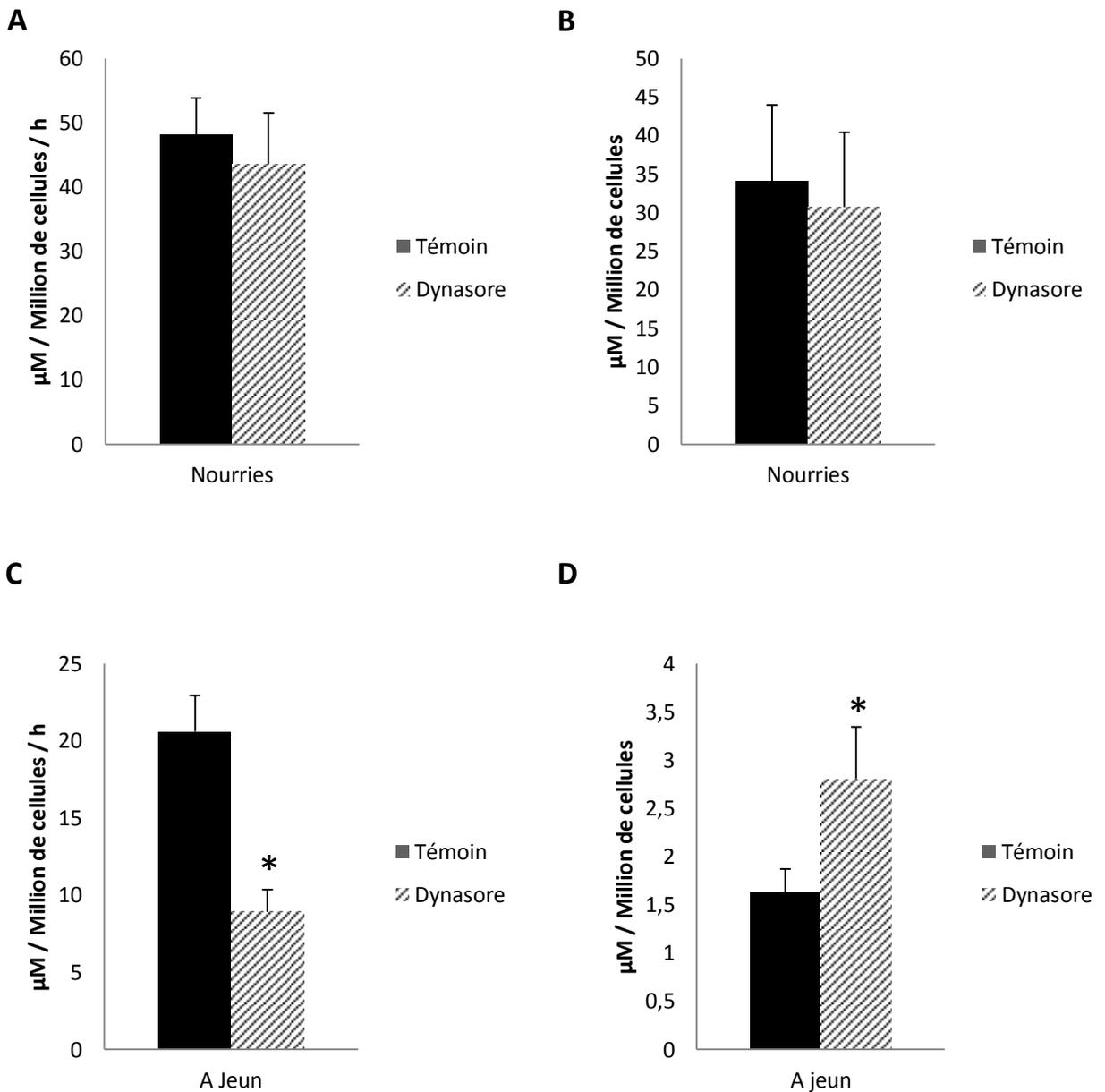


Figure 30: Le dynasore inhibe la sortie de glucose néoglucogénique hépatique et induit une accumulation de glucose intracellulaire.

A: Glucose extracellulaire produit par des hépatocytes issus de souris nourries en absence (barre noire) ou en présence (barre hachurée) de dynasore. Les résultats représentent les moyennes \pm SEM (n=10).

B: Glucose intracellulaire présent dans les hépatocytes issus de souris nourries en absence (barre noire) ou en présence (barre hachurée) de dynasore. Les résultats représentent les moyennes \pm SEM (n=10).

C: Glucose extracellulaire produit par des hépatocytes issus de souris à jeun en absence (barre noire) ou en présence (barre hachurée) de dynasore. Les résultats représentent les moyennes \pm SEM (n=10). *: $P < 0,01$, significativement différent du témoin (Test T de Student pour des valeurs non appariées).

D: Glucose intracellulaire présent dans les hépatocytes issus de souris à jeun en absence (barre noire) ou en présence (barre hachurée) de dynasore. Les résultats représentent les moyennes \pm SEM (n=10). *: $P < 0,01$, significativement différent du témoin (Test T de Student pour des valeurs non appariées).

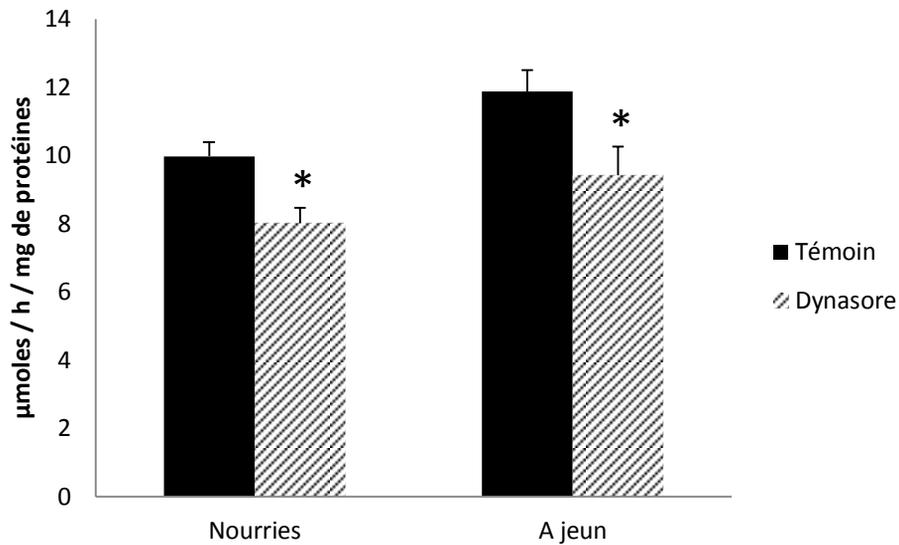


Figure 31 : Activité G6Pase hépatique en fonction de l'état nutritionnel et de la présence de dynasore.

Activité G6Pase mesurée sur dans les hépatocytes de souris nourries ou à jeun en absence (barre noire) ou en présence (barre hachurée) de dynasore. Les résultats représentent les moyennes \pm SEM (n=8). *: $P < 0,01$, significativement différent de du témoin (Test T de Student pour des valeurs non appariées).

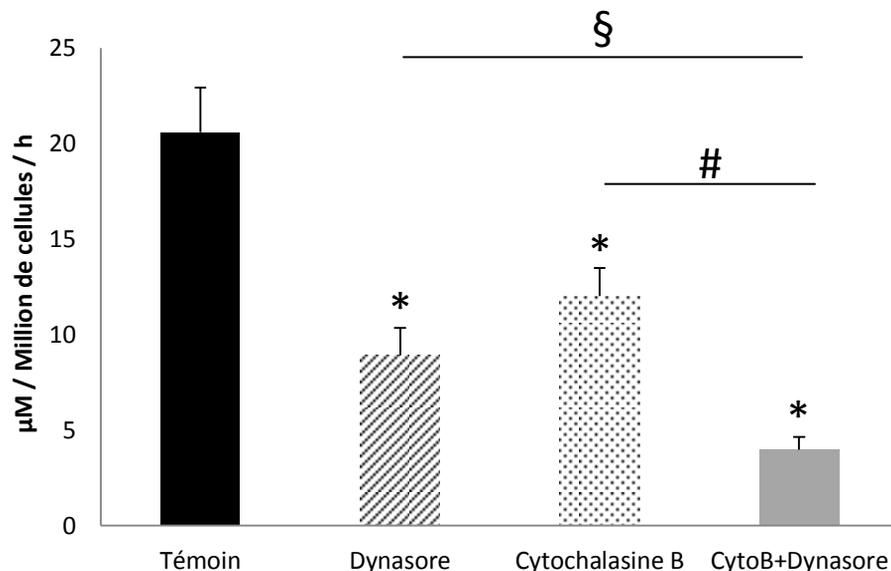


Figure 32. Inhibition de la sortie de glucose néoglucogénique hépatique par la cytochalasine B et le dynasore.

Glucose extracellulaire produit par des hépatocytes issus de souris à jeun (barre noire), traités avec du dynasore (barre hachurée), de la cytochalasine B (barre grise) ou avec les deux simultanément (barre grise foncée). Les résultats représentent les moyennes \pm SEM (n=8). *: $P < 0,01$, significativement différent du témoin, §: $P < 0,01$, significativement différent des mesures obtenues en présence de dynasore, #: $P < 0,01$, significativement différent des mesures obtenues en présence de cytochalasine B (Test T de Student pour des valeurs non appariées).

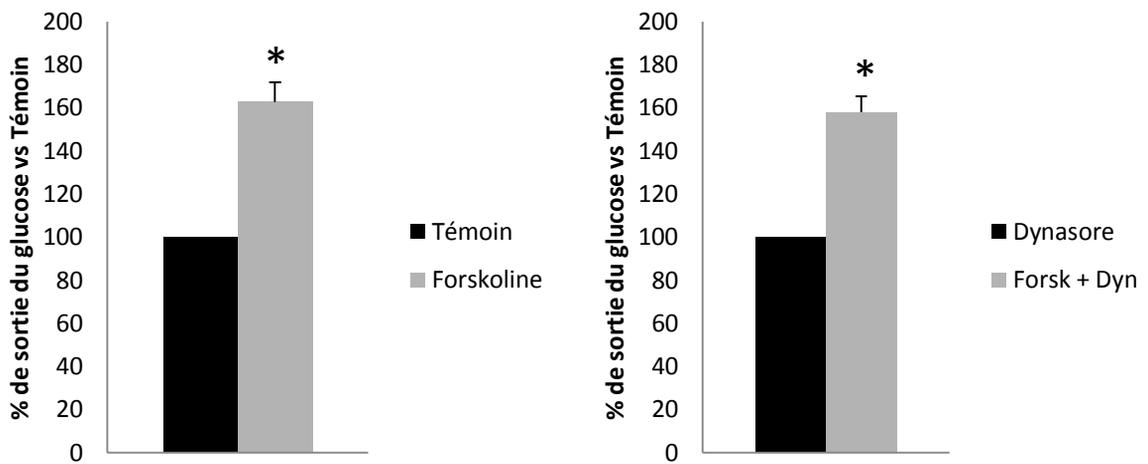


Figure 33. Régulation de la sortie de glucose par la forskoline.

A gauche : Glucose extracellulaire produit par des hépatocytes témoins (barre noire), ou traités avec de la forskoline (barre grise). Les résultats représentent les moyennes \pm SEM (n=8) et sont exprimés en fonction de la sortie de glucose des hépatocytes témoins.

A droite : Glucose extracellulaire produit par des hépatocytes traités avec du dynasore (barre noire) ou du dynasore et de la forskoline (barre grise). Les résultats représentent les moyennes \pm SEM (n=8) et sont exprimés en fonction de la sortie de glucose des hépatocytes traités au dynasore.

*: $P < 0,01$, significativement différent du témoin ou traitement par le dynasore. (Test T de Student pour des valeurs non appariées).

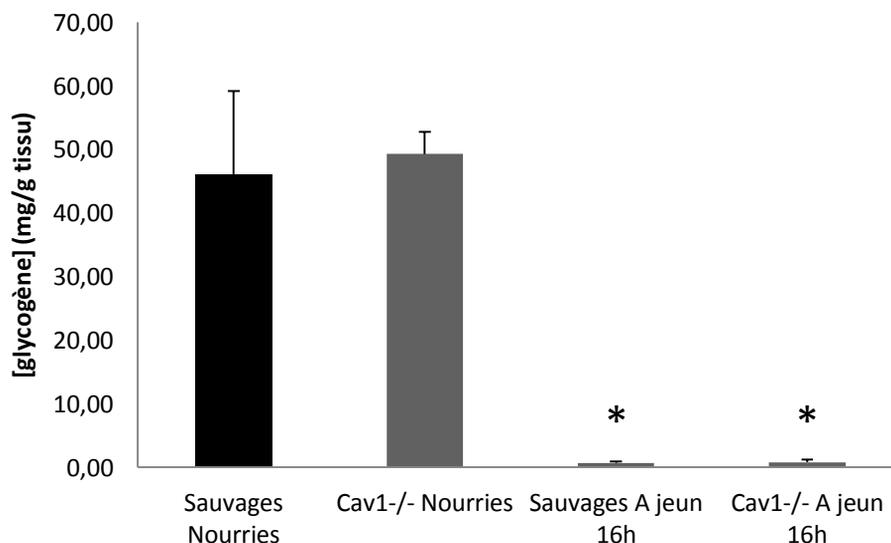


Figure 34. Concentrations hépatiques de glycogène chez les souris sauvages et Cav1-/- nourries ou à jeun.

Quantité de glycogène contenue dans le foie de souris à l'état nourri ou après 16h de jeûne. Les résultats exprimés en mg/g de tissu représentent la moyenne \pm SEM (n=5). *: $P < 0,01$, significativement différent de l'état nourri (Test T de Student pour des valeurs non appariées).

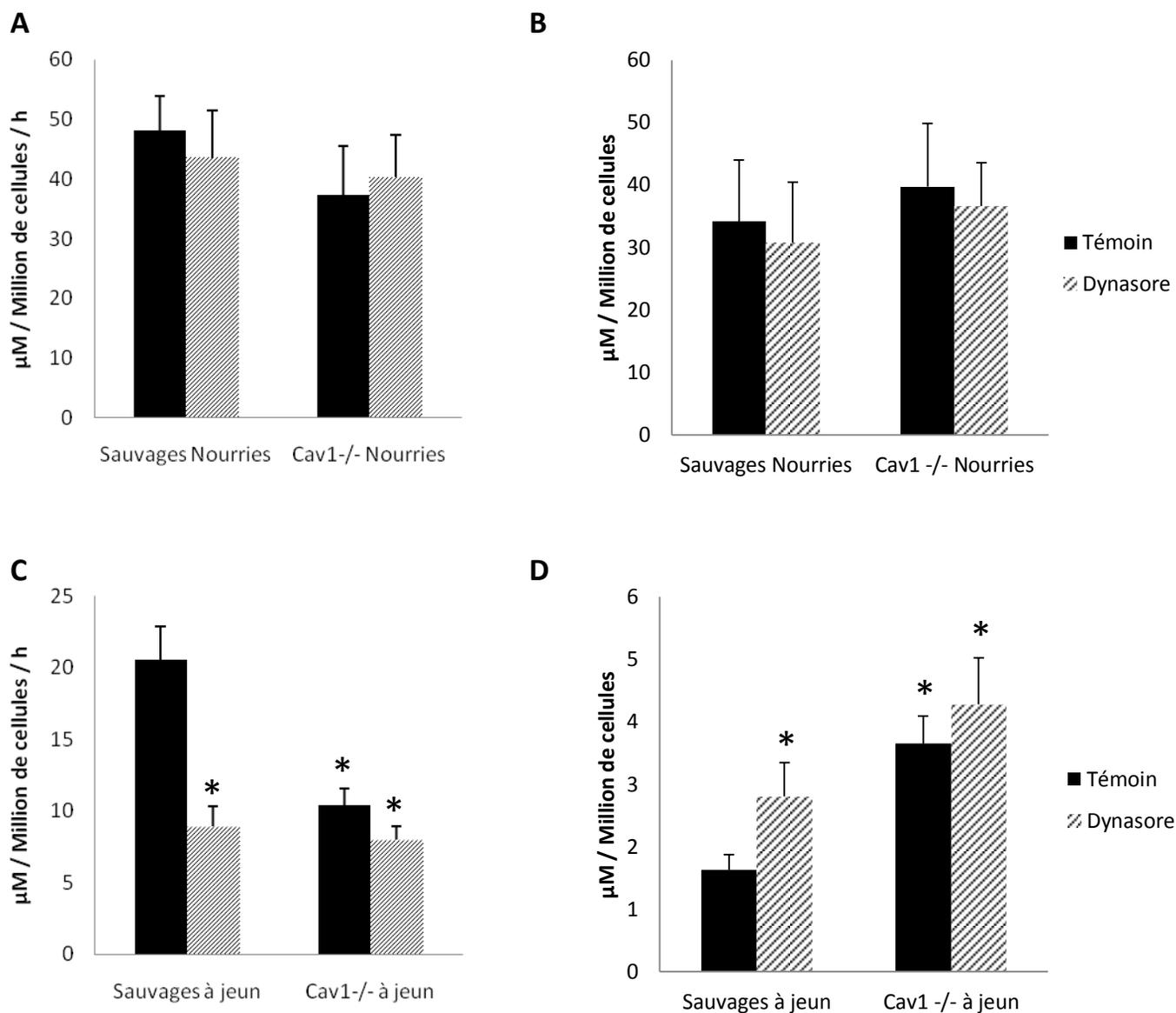


Figure 35. Les hépatocytes de souris Cav1^{-/-} à jeun ont une sortie de glucose plus faible par rapport aux sauvages et ont une accumulation basale de glucose intracellulaire.

A: Glucose extracellulaire produit par des hépatocytes issus de souris sauvages ou Cav1^{-/-} nourries en absence (barres noires) ou en présence (barres hachurées) de dynasore. Les résultats représentent les moyennes ± SEM (n=8).

B: Glucose intracellulaire présent dans les hépatocytes issus de souris sauvages ou Cav1^{-/-} nourries en absence (barres noires) ou en présence (barres hachurées) de dynasore. Les résultats représentent les moyennes ± SEM (n=8).

C: Glucose extracellulaire produit par des hépatocytes issus de souris sauvages ou Cav1^{-/-} à jeun en absence (barres noires) ou en présence (barres hachurées) de dynasore. Les résultats représentent les moyennes ± SEM (n=8). *: P<0,01, significativement différent du témoin (Test T de Student pour des valeurs non appariées).

D: Glucose intracellulaire présent dans les hépatocytes issus de souris sauvages ou Cav1^{-/-} à jeun en absence (barres noires) ou en présence (barres hachurées) de dynasore. Les résultats représentent les moyennes ± SEM (n=8). *: P<0,01, significativement différent du témoin (Test T de Student pour des valeurs non appariées).

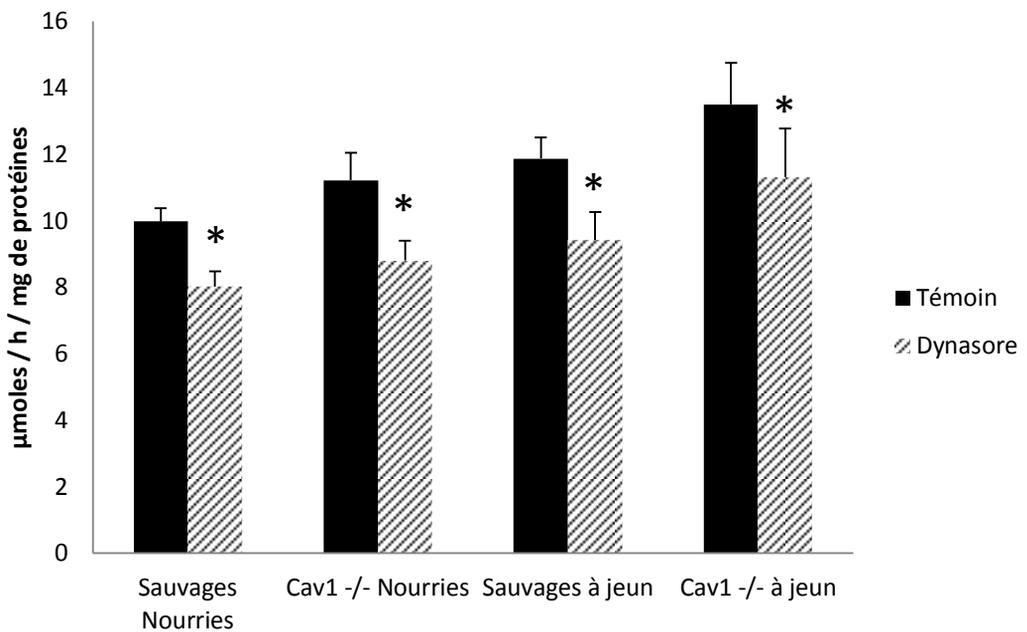


Figure 36 : Activité G6Pase hépatique en fonction de l'état nutritionnel et de la présence de dynasore des souris sauvages et Cav1^{-/-}.

Activité G6Pase mesurée sur dans les hépatocytes de souris nourries ou à jeun en absence (barre noire) ou en présence (barre hachurée) de dynasore. Les résultats représentent les moyennes \pm SEM (n=8). *: P<0,01, significativement différent de du témoin (Test T de Student pour des valeurs non appariées).

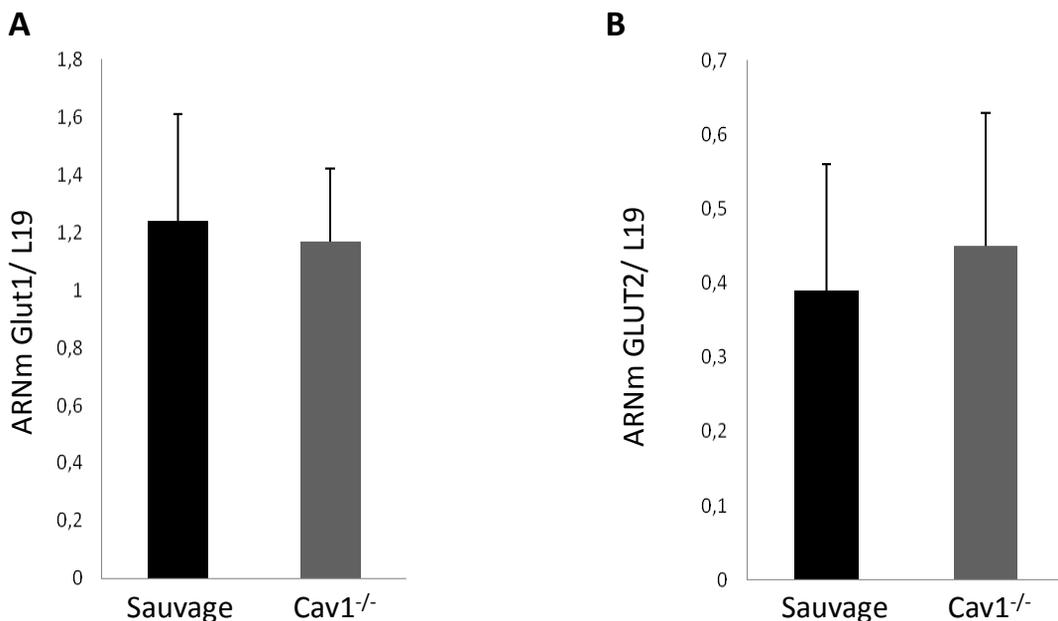


Figure 37 : Expression des transporteurs Glut1 et GLUT2 dans le foie des souris Cav1^{-/-}.

Quantité relative des ARNm de Glut1 (A) et glut2 (B) par rapport aux ARNm L19 mesurée dans le foie des souris sauvages et Cav1^{-/-}.

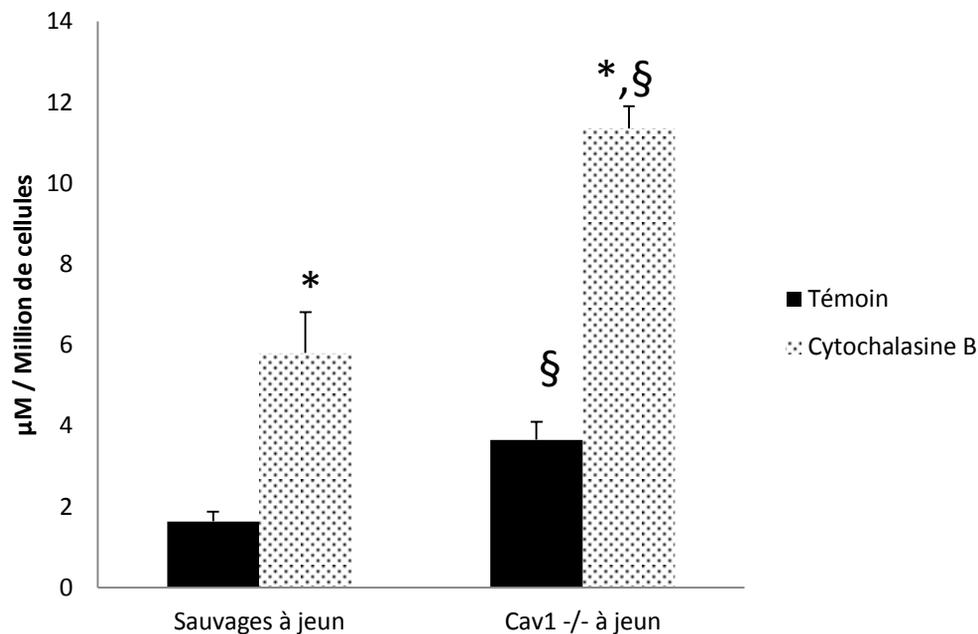


Figure 38: Accumulation de glucose néoglucogénique dans les hépatocytes de souris Cav1^{-/-} induite par la cytochalasine B.

Glucose intracellulaire des hépatocytes issus de souris à jeun sauvages ou Cav1^{-/-} non traités (barre noires) ou traités avec de la cytochalasine B (barre hachurée). Les résultats représentent les moyennes ± SEM (n=8). *: P<0,01, significativement différent du témoin, §: P<0,01, significativement différent des mesures obtenues dans les hépatocytes sauvages (Test T de Student pour des valeurs non appariées).

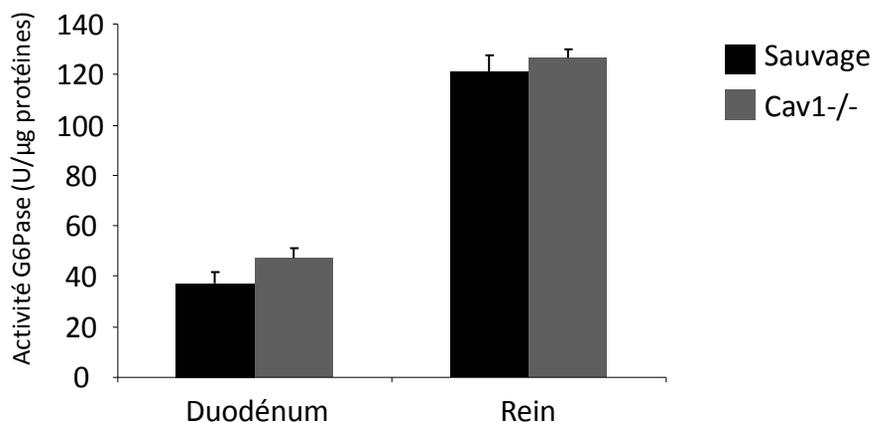


Figure 39 : Activité G6Pase extrahépatique des souris sauvages et Cav1^{-/-} à jeun .

Activité G6Pase mesurée sur dans le duodénum ou le rein de souris sauvages (barres noires) ou Cav1^{-/-} (barres grises). Les résultats représentent les moyennes ± SEM (n=4).

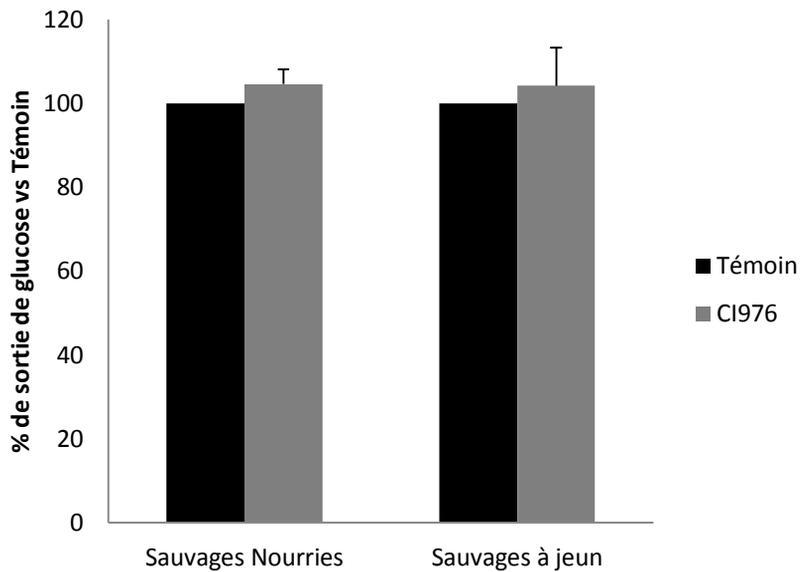


Figure 40: La sortie de glucose ne dépend pas de COP II.

Glucose extracellulaire produit par des hépatocytes issus de souris sauvages non traités (barres noires) ou traitées avec le CI976 inhibiteur de COP II (barres grises). Les résultats représentent les moyennes \pm SEM (n=8).

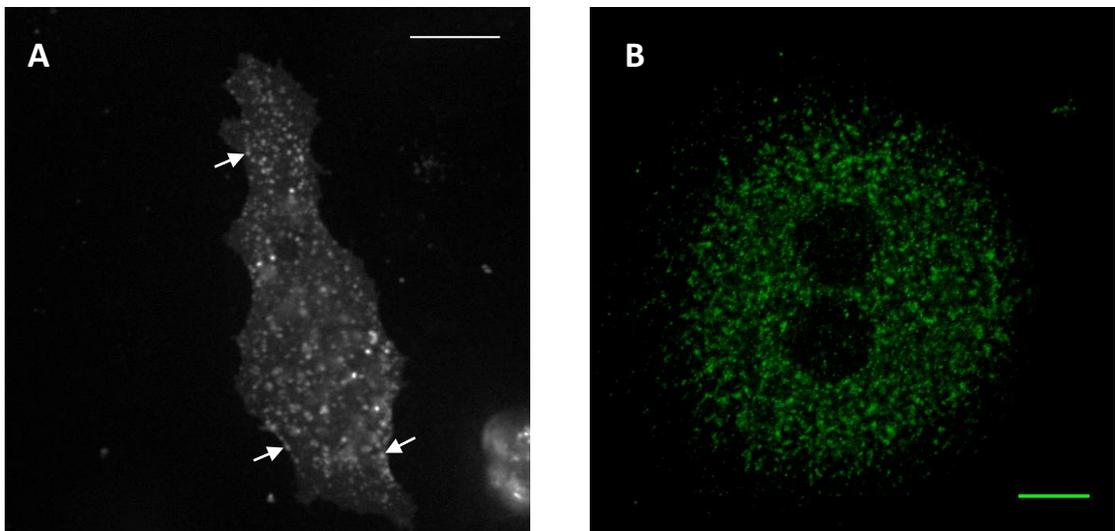


Figure 41: Localisation cellulaire de la Cav1 dans les hépatocytes.

A: Localisation de la protéine chimérique Cav1-GFP dans les cellules HepG2 24h après transfection. La flèche indique une localisation de la Cav1 au niveau de la membrane plasmique. L'échelle représente 10 μ m.

B: Localisation de la protéine Cav1 endogène dans les hépatocytes de souris à jeun par immunofluorescence. L'échelle représente 10 μ m.

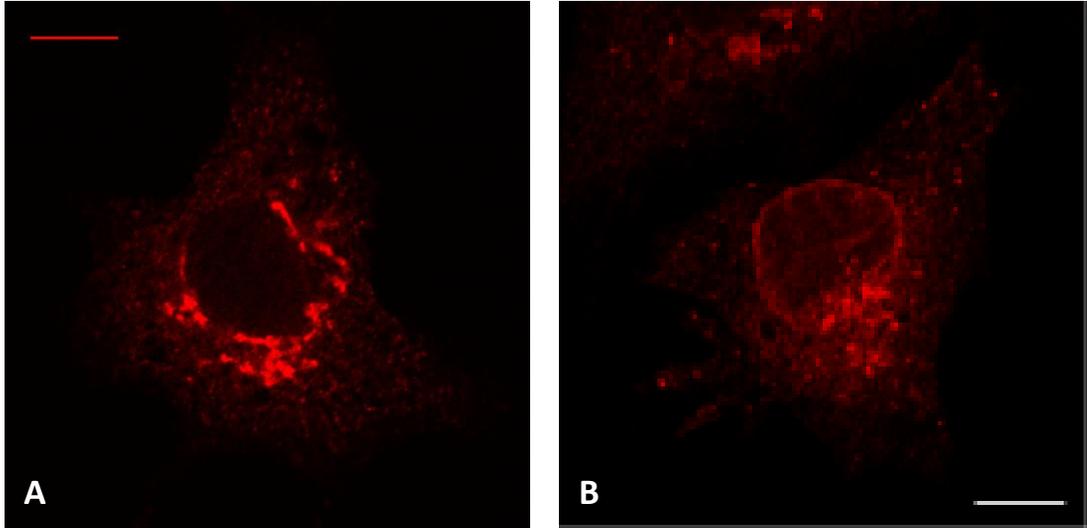


Figure 42: Localisation cellulaire de la G6PC dans les cellules HepG2.

A: Localisation de la protéine chimérique G6PC-mCherry dans les cellules HepG2 24h après transfection. L'échelle représente 10 μm .

B: Localisation de la G6PC endogène dans les cellules HepG2 par immunofluorescence. L'échelle représente 10 μm .

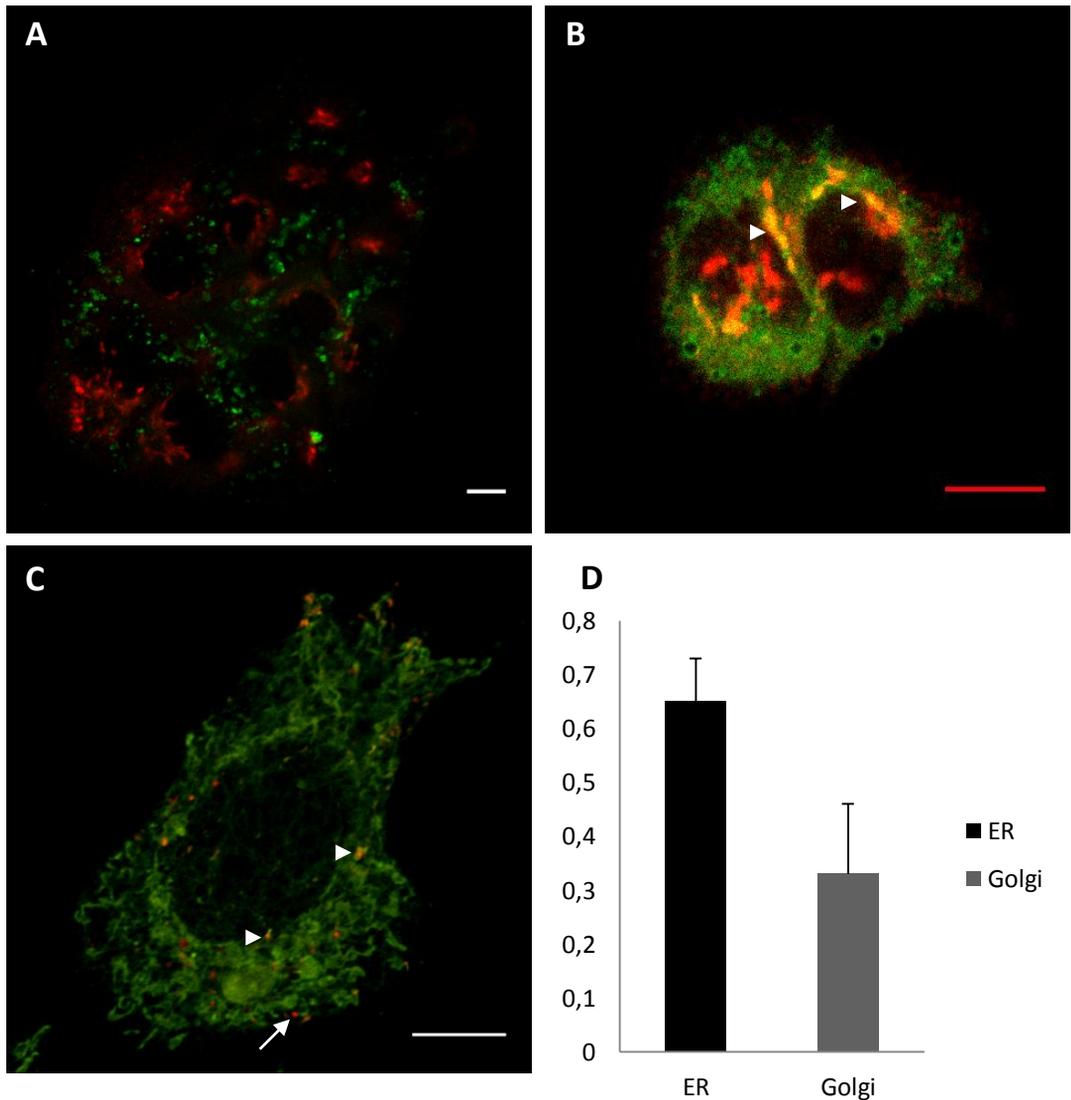


Figure 43: Localisation cellulaire de la G6PC au sein du réticulum endoplasmique et de l'appareil de Golgi.

A: Localisation de la protéine chimérique G6PC-mCherry (rouge) et du Golgi (vert) dans les cellules HepG2. L'échelle représente 10 μm .

B, C: Localisation de la protéine chimérique G6PC-mCherry (rouge) et du réticulum (vert) dans les cellules HepG2. Les pointes de flèches indiquent des co-localisation entre les deux structures. La flèche indique une localisation de la G6PC extérieure au réticulum. L'échelle représente 10 μm .

D: Coefficient de Pearson estimant la co-localisation de la G6PC avec le RE ou le Golgi. Un coefficient égal à 1 indique une co-localisation parfaite et un coefficient égal à 0 une exclusion. Les résultats représentent la moyenne \pm SEM, n=4.

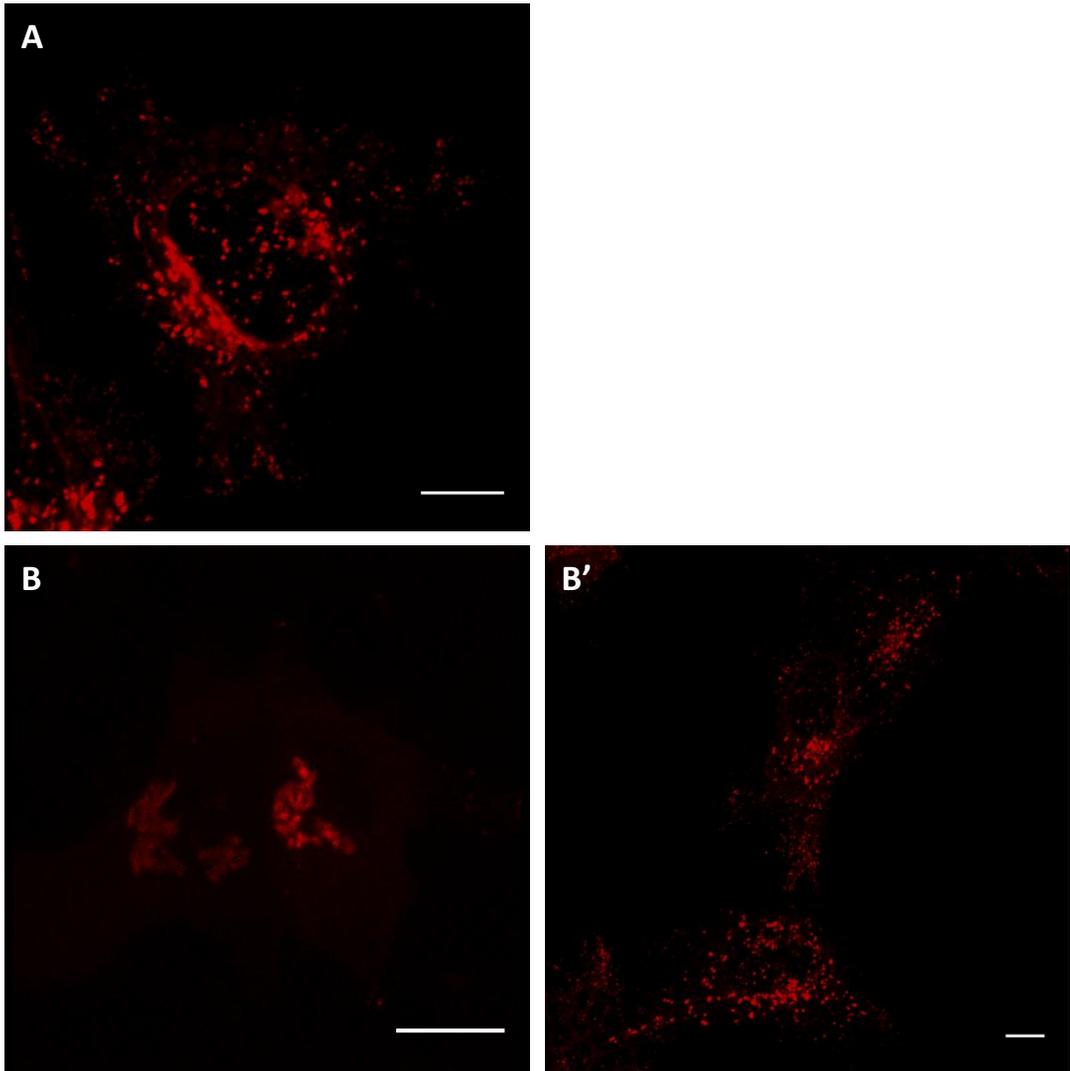


Figure 44: Localisation cellulaire de la G6PC en présence ou non de dynasore.

Localisation de la protéine chimérique G6PC-mCherry en absence de dynasore (**A**). En présence de dynasore, 40% des cellules observées présentent une localisation recentrée vers le noyau (**B**) et 60% une localisation semblable aux cellules non traitées (**B'**). L'échelle représente 10 μm .

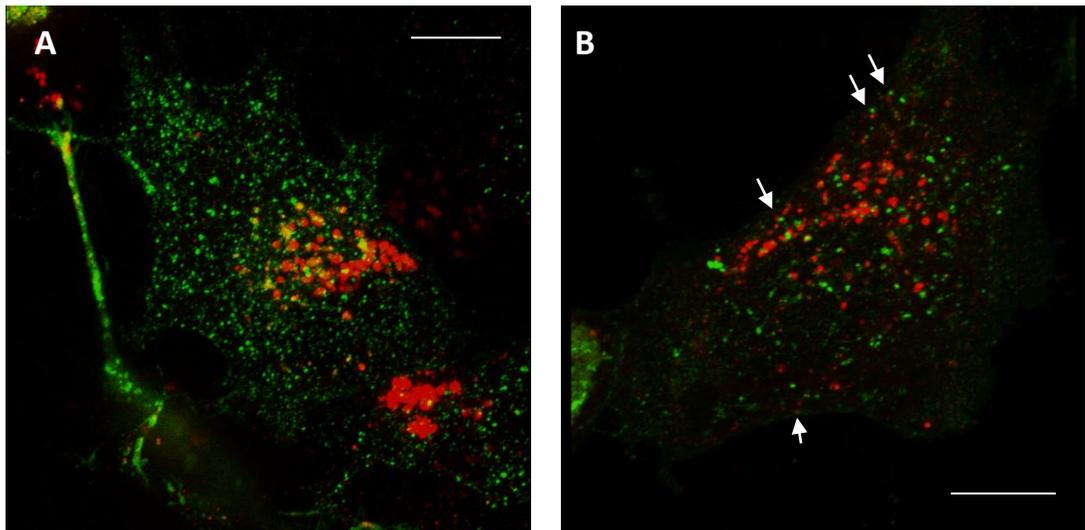


Figure 45: Co-localisation de la G6PC et de la Cav1 dans les cellules HepG2.

Localisation des protéines chimériques G6PC-mCherry (rouge) et Cav1-GFP (vert) dans les cellules HepG2. Les deux protéines co-localisent dans une région périnucléaire, correspondant probablement au RE (A), ou sont fortement rapprochées dans des régions proches de la membrane plasmique (B, flèches blanches). L'échelle représente 10 μm .

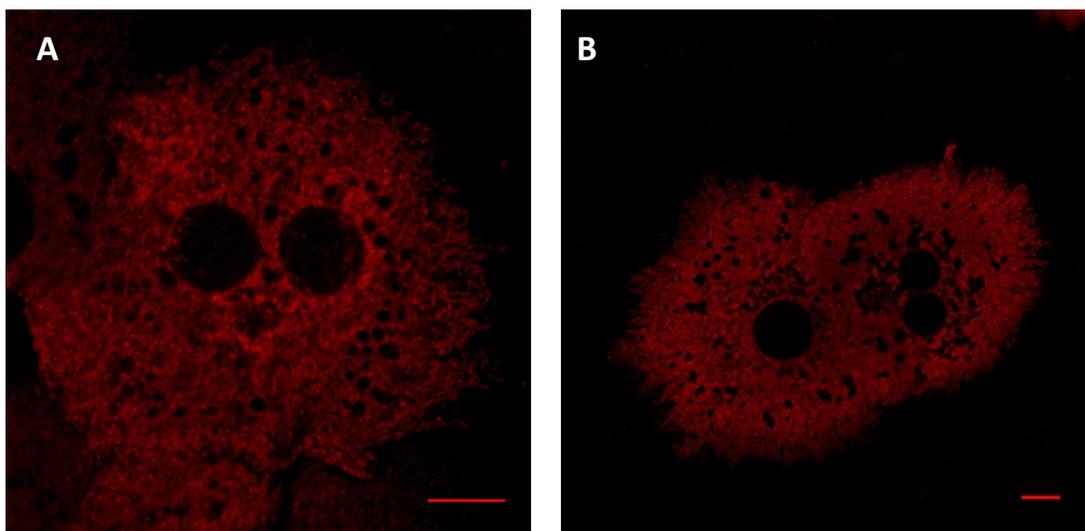


Figure 46: Localisation de la G6PC endogène.

Localisation par immunofluorescence de la G6PC endogène dans les hépatocytes de souris à jeun sauvages (A) ou Cav1^{-/-} (B). L'échelle représente 10 μm .

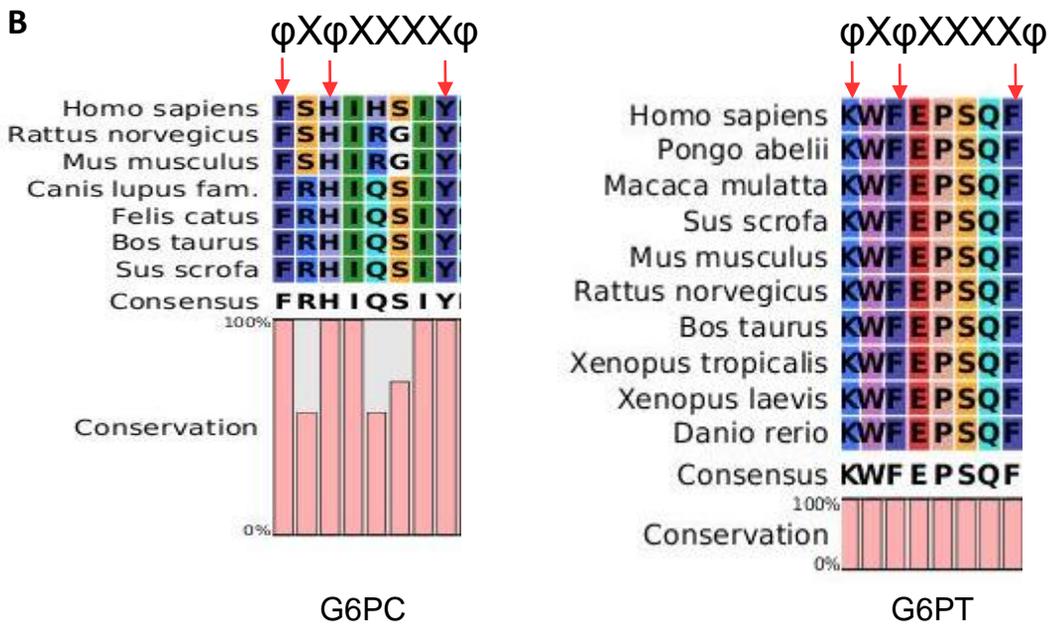
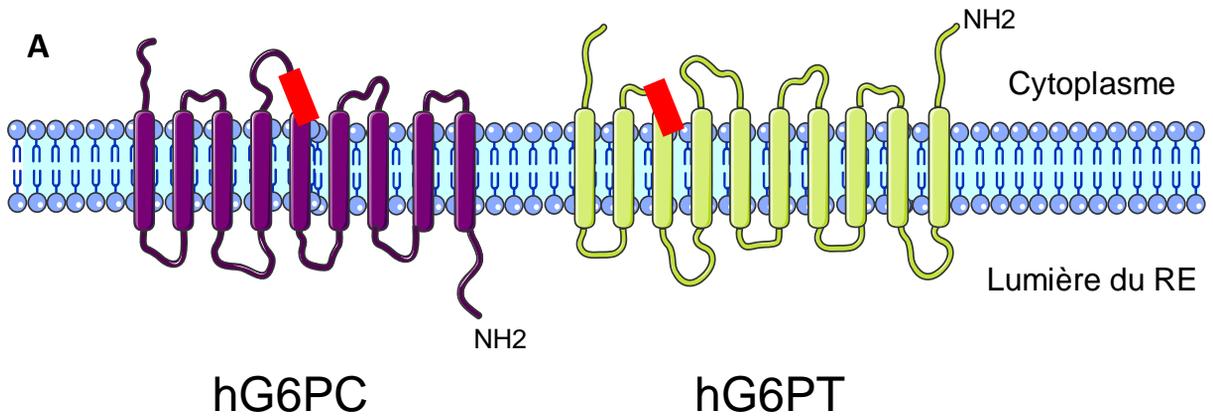


Figure 47 : Sites de liaison potentiel des sous-unités de la G6Pase avec la Cav1.

A: La localisation des sites potentiels d'interaction de la G6PC (violette) et de la G6PT (verte) avec le « scaffolding domain » de la Cav1 est indiquées en rouge.

B: Conservation de la séquence de ces domaines de liaison dans la G6PC (à gauche) et dans la G6PT (à droite) au cours de l'évolution.

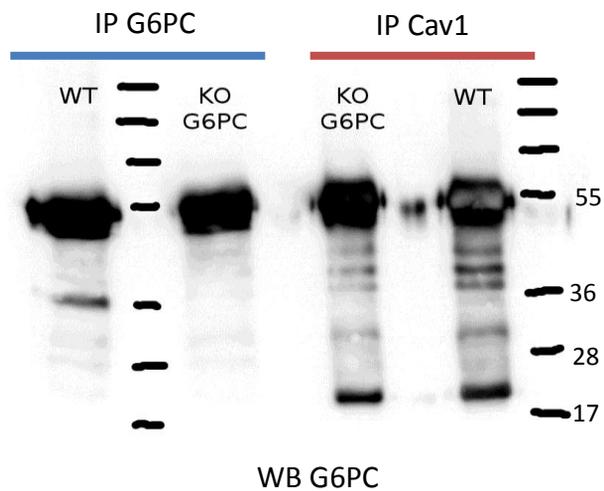


Figure 48 : Analyse de l'interaction entre G6PC et Cav1 dans le foie de souris.

Les lysats de foie de souris sauvages ou $g6pc^{-/-}$ ont été soumis à des immunoprécipitations de la G6PC ou de la Cav1. Les immunoprécipitats ont ensuite été analysés par western blot en utilisant l'anticorps anti-G6PC.

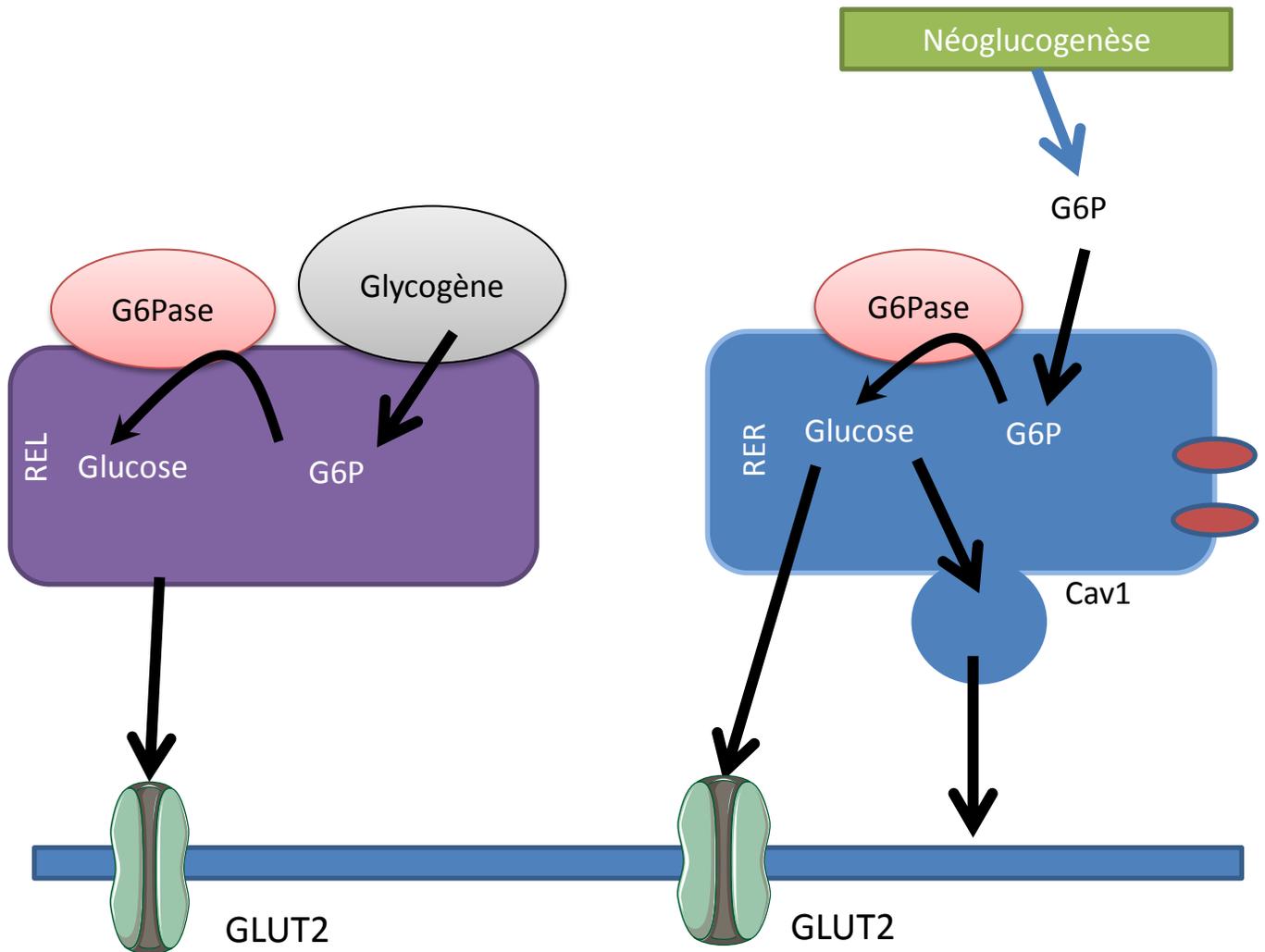


Figure 49 : Schéma récapitulatif du concept proposé lors de la discussion générale.

Cette figure reprend les idées majeures suggérées lors de ces travaux montrant l'existence de deux pools de G6P dont l'un, représenté par le RER, est relié à la sortie vésiculaire du glucose dépendante de la Cav1.

RER: Réticulum Endoplasmique Rugueux

REL : Réticulum Endoplasmique Lisse