



Caractérisation des sous-unités principales et auxiliaires des canaux sodium dépendant du potentiel exprimées dans le système nerveux central de l'insecte *Periplaneta americana* (Thèse de Doctorat d'Université)

Submitted by Luzia Bossé on Wed, 06/24/2015 - 10:28

Titre	Caractérisation des sous-unités principales et auxiliaires des canaux sodium dépendant du potentiel exprimées dans le système nerveux central de l'insecte <i>Periplaneta americana</i> (Thèse de Doctorat d'Université)
Type de publication	Thèse, HDR
Type	Thèse
Année	2010
Langue	Français
Date de soutenance AAAA-MM-JJ	2010-01-29
Numéro national	2010ANGE0014
Nombre de pages	316
Diplôme	Doctorat en Biologie des organismes
UFR	UFR Sciences
Auteur	Moignot, Bénédicte [1]
Directeur	Legros, Christian [2]
Pays	France
Université	Université d'Angers
Ville	Angers
Mots-clés	https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-00491350/document [3]

Résumé en
anglais

In insects, only one gene encodes the α pore-forming subunit of voltage-gated sodium channel (Nav). In addition, four to five genes encode the β auxiliary subunits. Although the American cockroach, *Periplaneta americana*, is a model in insect neurophysiology, few data describe the molecular structures at the base of the Nav. The aim of our study was to characterize the subunits expressed in the nerve cord (NC), the terminal abdominal ganglion (TAG) and DUM neurons of this particular species. First, we showed that the molecular diversity of the α subunit is generated by alternative splicing in NC and TAG. The main alternative exons identified in the cloned cDNA are A (loop L1), EFGHG1129 (loop L2) and G1 (IIIS3-S4). Despite of the molecular diversity, only one 6153-bp cDNA encoding PaNav1 has been identified. This isoform is characterized by the alternative exons (J, A; E; F; G1129, H and G1) highly expressed in the NC and TAG. On the opposite, only one type of cDNA has been identified in DUM neurons. Altogether, these results show that molecular diversity is lower at the cellular level. Moreover, a bioinformatic analysis showed the optional exons I and F are the most divergent currently known exons between insect orders. In addition, we discovered two full-length cDNAs encoding atypical α subunits named PaFPC1 and PaFPC2. They contain 1553 amino acid residues and differ from each other by eight punctual mutations. They share 59% protein identity with PaNav1. The absence of the inactivation particle MFMT suggests that these novel subunits mediate original electrophysiological properties. However, a detailed phylogenetic analysis puts forward that PaFPC is a novel member of the insect Nav channels. Hence; this discovery shows for the first time the existence of an ancestral duplication event of the Nav gene in insects. Finally, we cloned two cDNA populations encoding auxiliary subunits named PaTEH1.1 and PaTEH1.2. A phylogenetic analysis clarifies the relationships between the different families of insect auxiliary subunit. Moreover, a preliminary electrophysiological study showed that PaTEH1.1 increased significantly the expression of the pore-forming subunit of insect Nav in *Xenopus oocytes*. In conclusion, our results constitute new insights in insect ion channels field. In addition, they open new research perspectives for understanding the molecular basis of the membrane excitability in insects.

Résumé en français

Chez les insectes, un seul et unique gène code la sous-unité principale α des canaux sodium dépendant du potentiel (Nav). De plus, quatre à cinq gènes codent les sous-unités auxiliaires β . Bien que la blatte, *Periplaneta americana*, soit un modèle en neurophysiologie, il n'existe aucune donnée sur les structures moléculaires des canaux Nav de cette espèce. L'objectif de cette thèse était de caractériser les canaux Nav exprimés au niveau de la chaîne nerveuse (CN), du dernier ganglion abdominal (DGA) et des DUM neurones octopaminergiques. Tout d'abord, nous avons mis en évidence que la diversité moléculaire de la sous-unité principale est générée par épissage alternatif au niveau de trois régions du canal. Les combinaisons d'exons majoritaires identifiées parmi les ADNc de CN et du DGA sont l'exon A seul (boucle L1), la combinaison EFHG1129 (boucle L2) et l'exon G1 (IIS3-S4). En dépit de cette diversité moléculaire, nous n'avons isolé qu'un seul ADNc de 6153 pb codant une sous-unité principale dénommée PaNav1. La combinaison d'exons alternatifs caractérisant cette isoforme (J, A, E, F, G1129, H, G1) s'est alors avérée représentative des ADNc les plus exprimés dans la CN et le DGA. Par contraste, dans les neurones DUM, nous n'avons identifié qu'une seule population d'ADNc codant chaque région citée précédemment. Par ailleurs, une analyse bioinformatique à partir des génomes séquencés d'insecte a permis de montrer que les exons optionnels I et F sont les moins conservés entre les différents ordres d'insecte. Parallèlement à la caractérisation des sous-unités principales classiques, nous avons découvert un nouveau gène codant des sous-unités α atypiques nommées PaFPC1 et PaFPC2. Ces dernières comptent 1153 résidus d'acide aminé dont huit qui les distinguent. Elles partagent seulement 59% d'identité protéique avec PaNav1. L'absence du motif moléculaire impliqué dans l'inactivation des canaux Nav suggère que ces nouvelles sous-unités possèdent des propriétés électrophysiologiques originales. Une analyse phylogénétique détaillée a permis de montrer que PaFPC1 se branche à la base des sous-unités α des canaux Nav d'insecte. Cette découverte montre alors pour la première fois l'existence d'un événement de duplication du gène des canaux Nav chez les insectes. Finalement, nous avons clonés deux populations d'ADNc codant des sous-unités auxiliaires nommées PaTEH1.1 et PaTEH1.2. Grâce à la récente mise à disposition du génome de plusieurs espèces d'insecte, nous avons pu conduire une étude phylogénétique clarifiant la situation des sous-unités auxiliaires de canaux Nav au sein de ce taxon. De plus, une étude électrophysiologique préliminaire dans des ovocytes de xénope a permis de montrer que PaTEH1.1 se comporte comme une protéine chaperonne. C'est à dire qu'elle augmente significativement l'expression des sous-unités principales d'insecte. Ainsi, nos résultats originaux offrent un nouveau regard sur les canaux Nav et ouvrent de nouvelles perspectives quant à la compréhension des acteurs moléculaires à la base de l'excitabilité membranaire chez les insectes.

URL de la notice

<http://okina.univ-angers.fr/publications/ua12901> [4]

Président du jury

Rt-pcr, Canaux sodium dépendant du potentiel, Blattes -- Analyse cladistique, Électrophysiologie, Système nerveux central, Phylogénie, Canaux à sodium, Insectes -- Propriétés électriques

Titre traduit

Characterization of alpha pore-forming and beta auxiliary subunits of the voltage gated sodium channels expressed in the central nervous system of the insect *Periplaneta Americana*

Liens

[1] [http://okina.univ-angers.fr/publications?f\[author\]=7706](http://okina.univ-angers.fr/publications?f[author]=7706)

[2] <http://okina.univ-angers.fr/christian.legros/publications>

[3] [http://okina.univ-angers.fr/publications?f\[keyword\]=19029](http://okina.univ-angers.fr/publications?f[keyword]=19029)

[4] <http://okina.univ-angers.fr/publications/ua12901>

