

Proposition de Stage M2 S4 NEUROSCIENCES **Année Universitaire 2010-2011**

1. Equipe d'Accueil de Master (EAM) :

Intitulé et numéro de l'Unité : UMR 1272, Physiologie de l'insecte, Signalisation et Communication

Nom du Responsable de l'Unité : Dr Anton

Nom du Responsable de l'Équipe : Pr Martine Maïbèche

Intitulé de l'équipe d'accueil : Réception, Transduction et Modulation

Adresse : 7 Quai Saint-Bernard, Paris 05

Nom du responsable de l'encadrement : Martine Maïbèche

Tél. : 01 44 27 65 92

Fax. : 01 44 27 65 09

E-mail : martine.maibeche@snv.jussieu.fr

2. Titre du sujet : Inactivation phéromonale chez la drosophile

3. Description du sujet :

Notre équipe a pour but d'évaluer la contribution des événements périphériques (antennaires) dans la réponse olfactive et sa modulation chez l'insecte. Nous utilisons comme modèle la communication phéromonale chez différentes espèces, dont des lépidoptères et la drosophile. Le sujet proposé porte sur une étape encore très mal comprise, celle de l'inactivation du signal olfactif. Cette étape permet d'éviter une sur-stimulation des sites récepteurs et participe à la dynamique de la réponse en permettant une réinitialisation du système de détection. Des processus enzymatiques seraient impliqués, via une dégradation rapide des molécules phéromonales après leur interaction avec les récepteurs. Les enzymes extracellulaires correspondantes sont encore peu connues chez les insectes, drosophile incluse. Chez la drosophile, la seule phéromone volatile identifiée est le 11-cis-vaccenyl acétate (cVA). Le cVA joue le rôle à la fois de phéromone d'aggrégation et d'anti-aphrodisiaque, en inhibant le comportement de cour des mâles vis-à-vis des femelles récemment accouplées. Au niveau antennaire, la protéine de transport du cVA et son récepteur ont été identifiés (Kurtovic et al., 2007 ; Ha and Smith, 2006), mais les mécanismes impliqués dans son inactivation sont encore inconnus. La nature chimique du cVA (dérivé d'ester), laisse supposer qu'il serait dégradé par des estérases, enzymes sur lesquelles nous avons accumulé un savoir-faire chez les lépidoptères. Une étude assez ancienne révèle qu'in vitro, le cVA est dégradé par une estérase, appelée EST6 (Costa, 1989). Cette estérase est exprimée dans l'antenne des adultes (Ludwig et al., 1993), mais son implication dans la dégradation antennaire du cVA n'a jamais été étudiée. Le gène codant cette estérase est connu (flybase.bio.indiana.edu) et un mutant null EST6⁰ est disponible au laboratoire, ce qui permet de proposer une étude intégrée « du gène au comportement » afin de déterminer le rôle de cette enzyme dans la dynamique de la réponse au cVA, aux niveaux antennaire et comportemental. Nous avons obtenu des résultats préliminaires encourageants. Par ailleurs, un screening est en cours au laboratoire afin d'identifier d'autres gènes d'estérases antennaires sur lesquelles les mêmes approches sont envisagées.

Les objectifs de ce stage sont donc :

-
- (1) d'étudier les comportements dépendants du cVA chez les mutants EST6⁰ et de les comparer aux phénotypes sauvages : réalisation et analyse de tests comportementaux. Le comportement de cour a été étudié, il faut désormais tester le comportement d'aggrégation
 - (2) d'étudier la réponse des neurones olfactifs sensibles au cVA chez les mutants EST6⁰ vs lignée sauvages : réalisation de tests électrophysiologiques afin d'évaluer si l'absence d'expression de cette estérase chez les mutants a un impact sur la réponse des neurones au cVA (amplitude et cinétique des réponses, tests d'adaptation olfactive).
 - (3) de participer à la caractérisation *in vitro* de cette enzyme : production de l'enzyme recombinante, test d'activité *in vitro*.
 - (4) Selon le temps imparti : participation ponctuelle à l'identification d'autres estérases candidates : analyse bioinformatique du génome (toutes les estérases de drosophile sont annotées, sélection des gènes spécifiquement exprimés dans les antennes par RT-PCR, hybridation *in situ*).

Le sujet est particulièrement original dans le domaine, car aucune donnée *in vivo* n'est disponible actuellement chez les insectes. Les résultats obtenus permettront donc de jeter les bases pour une meilleure compréhension de l'inactivation du signal phéromonal chez l'insecte. Au cours de ce stage, l'étudiant(e) sera formé(e) à des techniques variées : électrophysiologie, analyse comportementale, biologie moléculaire.

Références :

- R. Costa, J. Evol. Biol 2 (1989) 395-416.
A. Kurtovic, A. Widmer and B.J. Dickson, Nature 446 (2007) 542-546.
T.S. Ha and D.P. Smith, J. Neurosci. 26 (2006) 8727-8733.
MZ Ludwig, NA Tamarina and RC Richmond PNAS 90(1993) 6233-623