



université PARIS-SACLAY

« MÉCANISMES MOLÉCULAIRES DE LA DÉTECTION ODORANTE : OLIGOMÉRISATION DES RÉCEPTEURS OLFRACTIFS » PAR SERIGNE FALLOU WADE

Présentée par : Mr Serigne Fallou WADE Discipline : Biologie Laboratoire : NOeMI

Résumé :

Le système olfactif permet aux êtres vivants de reconnaître et de discriminer un nombre quasi-illimité de molécules odorantes. La première étape de la détection odorante résulte d'une interaction entre les protéines de liaison aux odorants (OBPs) dans le mucus olfactif, les odorants et les récepteurs olfactifs (ROs) situés sur les cils des neurones sensoriels olfactifs émergeant dans l'épithélium olfactif. Cependant, la relation entre l'activation du récepteur et son état conformationnel et d'association n'est pas bien connue. Les ROs appartiennent à la famille des récepteurs couplés aux protéines G (RCPGs). L'oligomérisation est un processus important lors de la maturation et l'acheminement à la membrane plasmique des RCPGs ainsi que pour leur pharmacologie. Dans cette étude, il s'agissait d'élucider l'état d'homo-dimérisation des ROs de mammifères, et sa possible implication dans l'activation du récepteur lors de la stimulation par le ligand odorant. Pour cela, j'ai utilisé les méthodes de

co-immunoprécipitation et de transfert d'énergie en résonance, FRET (Fluorescence Resonance Energy Transfer) et BRET (Bioluminescence Resonance Energy Transfer). Mes résultats montrent que le RO humain OR1740 existe sous forme de dimères en système d'expression hétérologue levure, que la dimérisation a lieu dès les premières étapes de la biosynthèse, et est constitutive à la membrane plasmique. De plus, la liaison de l'agoniste sur le dimère du RO induit une modulation des niveaux de BRET. La courbe en cloche obtenue pour la variation de BRET en fonction de la concentration en ligand odorant est en accord avec les précédents résultats de l'équipe INRA, selon lesquels le ligand induit un changement de conformation du dimère vers un état inactif à forte concentration en odorant. Cette démonstration de l'homo-dimérisation d'un RO confirme et valide l'une des hypothèses à la base de notre modèle décrivant les interactions tripartites entre OBPs, odorants, et ROs impliqués dans la première étape de la détection odorante.

Abstract:

The living organisms have evolved the sense of smell to recognize and distinguish odors. The first step of odorant molecule detection involves an interaction between odorants, possibly carried through the olfactory mucus by Odorant-Binding Proteins (OBPs), and the olfactory receptors (ORs) present on the ciliae of olfactory sensory neurons emerging from the olfactory epithelium. However, the relationship between receptor activation and its association/conformational state remains largely unknown. The mammalian ORs belong to the G Protein Coupled Receptors (GPCRs) super-family. GPCR oligomerization is thought to play an important role in the maturation pathway, the trafficking to the cell surface and the functional response of the receptors. Using co-immunoprecipitation method, fluorescence resonance energy transfer (FRET) and bioluminescence resonance energy transfer (BRET) approaches, I addressed the question whether mammalian ORs exist as homo-oligomers and whether this phenomenon is involved in receptor signaling upon odorant ligand activation. My results clearly demonstrate that the OR1740, a human OR, can self-associate into dimers in a yeast heterologous expression system, that dimers are formed early in the biosynthetic pathway, and are constitutively expressed at the plasma membrane. Moreover, an odorant agonist binding induces a modulation in BRET levels, suggesting a conformational rearrangement of the receptor related to its activation/signaling state. The bell-shaped curve observed for the variation of its functional response as a function of odorant ligand concentration corroborates previous results of the INRA team, according to which ligand-mediated conformational change can promote an inactive state of the OR dimers at high ligand concentration. This demonstration of OR homo-dimerization supports and validates one of the hypotheses at

the basis of our model for tripartite OBP-odorant-OR partnership.

INFORMATIONS COMPLÉMENTAIRES

Ralf JOCKERS, Directeur de Recherche, à l'Institut Cochin/Inserm U1016/CNRS UMR8104 /UMR-S8104 - Paris - Rapporteur

Marc TRAMIER, Ingénieur de Recherche CNRS, à l'Université de Rennes 1/UMR 6061 - Rennes - Rapporteur

Edith PAJOT-AUGY, Directeur de Recherche, à l'INRA/Laboratoire de Neurobiologie de l'Olfaction et Modélisation en Imagerie (NOeMI) - Jouy-en-Josas - Directeur de thèse

Jean-Louis BANERES, Directeur de Recherche, à l'Université de Montpellier/UMR 5074 - Montpellier - Examineur

Fabienne MEROLA, Directeur de Recherche, à l'Université Paris Sud 11/Laboratoire de Chimie Physique d'Orsay - UMR 8000 - Orsay - Examineur

Marc NADAL, Professeur des Universités, à l'Université de Versailles Saint-Quentin-en-Yvelines/ Institut de Génétique et Microbiologie - Versailles - Examineur

Jean-Pierre ROSPARS, Directeur de Recherche, à l'INRA/Unité Physiologie de l'Insecte : Signalisation et Communication (PISC) - UMR 1272 - Versailles - Examineur

Contact : dredval service FED : theses@uvsq.fr