

UNIVERSITÉ D'ORLÉANS

ÉCOLE DOCTORALE SANTE, SCIENCES BIOLOGIQUES ET CHIMIE DU VIVANT

Laboratoire de Biologie des Ligneux et des Grandes Cultures

THÈSE

 présentée par :

Anaïs LE MAUFF

soutenue le : 17 novembre 2021

pour obtenir le grade de : **Docteur de l'Université d'Orléans**

Discipline/ Spécialité : Neurobiologie

Caractérisation moléculaire et pharmacologique des récepteurs nicotiniques neuronaux chez la tique *Ixodes ricinus*.

THÈSE dirigée par :

Pr. **THANY H. Steeve**

Professeur, Université d'Orléans, France

RAPPORTEURS :

Dr. **ŠIMO Ladislav**

Dr. **SWALE Daniel**

Chargé de recherche, INRAe, Maisons-Alfort, France

Professeur associé, Université d'état de Louisiane, États-Unis

JURY :

Pr. **MORTAUD Stéphane**

Dr. **BELZUNCES Luc**

Dr. **ŠIMO Ladislav**

Dr. **SWALE Daniel**

Dr. **TAILLEBOIS Emiliane**

Pr. **THANY H. Steeve**

Professeur, CNRS d'Orléans, France

Directeur de recherche, INRAe d'Avignon, France

Chargé de recherche, INRAe, Maisons-Alfort, France

Professeur associé, Université d'état de Louisiane, États-Unis

Maître de Conférences, Université d'Orléans, France

Professeur, Université d'Orléans, France

Anaïs LE MAUFF

Caractérisation moléculaire et pharmacologique des récepteurs nicotiques neuronaux chez la tique *Ixodes ricinus*.

L'augmentation des populations de tiques dans le monde, due au changement climatique et au développement de résistance aux acaricides, met en évidence le besoin de nouvelles méthodes de contrôle. La caractérisation de nouvelles cibles moléculaires aux acaricides est donc nécessaire. Les récepteurs à l'acétylcholine de type nicotinique (ou nAChRs) sont des cibles pour les pesticides (comme les néonicotinoïdes) chez les arthropodes et sont peu étudiés chez la tique. Ce sont des protéines transmembranaires formées de cinq sous-unités et qui sont impliquées dans la neurotransmission synaptique rapide. Les objectifs de cette thèse sont de caractériser les profils pharmacologiques des nAChRs neuronaux chez la tique *Ixodes ricinus* et d'identifier de nouvelles molécules acaricides qui pourront être utilisées dans la prévention et la lutte contre les tiques. Pour accomplir ces objectifs de thèse, une nouvelle technique a été mise au point sur cette espèce de tique, la microtransplantation de membranes purifiées provenant du cerveau (ou synganglion) de la tique et leur expression en système hétérologue. Cette technique inédite a permis pour la première fois de caractériser les nAChRs natifs de la tique *I. ricinus*. Nous avons démontré la sensibilité des nAChRs à différents agonistes (acétylcholine et nicotine), antagonistes (alpha-bungarotoxine et méthyllycaconitine), ainsi que la faible sensibilité à des néonicotinoïdes. Néanmoins, l'utilisation d'un modulateur allostérique positif (le PNU-120596) a permis d'augmenter la sensibilité des nAChRs natifs à ces molécules. De plus, nous avons identifié plusieurs sous-unités de nAChRs chez la tique *I. ricinus*. En particulier, nous avons réalisé le clonage de sous-unité de nAChRs. En complément de ces études in-vitro, nous avons mené de nouvelles expériences comportementales sur des tiques adultes pour observer l'effet répulsifs de composés. Pour conclure, ces travaux ont mis en évidence la présence de nAChRs au sein du synganglion de la tique *I. ricinus*. Les résultats obtenus grâce à leur caractérisation moléculaire, électrophysiologique ainsi que l'approche comportementale sont encourageant pour le développement de nouvelles molécules acaricides et répulsives contre *I. ricinus*.

Mots clés : Récepteurs nicotiques neuronaux, Pharmacologie, Etude moléculaire, *Ixodes ricinus*, Acaricide

Molecular and pharmacological characterization of neuronal nicotinic receptors of the tick *Ixodes ricinus*.

The worldwide increase of tick population due to climate change and the development of pesticide resistance highlight the need for new control methods. The characterization of new molecular targets for acaricide is thus necessary. Neuronal nicotinic acetylcholine receptors (nAChRs) are molecular target of pesticide (such as for neonicotinoids) in arthropods and are poorly studied on ticks. These are transmembrane proteins formed with five subunits and are involved in the fast synaptic neurotransmission. Objectives of this thesis is the molecular and pharmacological characterization of neuronal nicotinic receptors for the *Ixodes ricinus* tick and the identification of new acaricide molecules that could be used in tick prevention and control method. To achieve these thesis objectives, a new technique was set up on this tick species, the microtransplantation of purified membranes from the tick brain (or synganglion) and their expression in a heterologous system. This original method allows for the first time the characterization of the native nAChRs from *I. ricinus*. We determined the nAChR sensitivity to different agonists (acetylcholine and nicotine), antagonists (alpha-bungarotoxin and methyllycaconitine), as well as the poor sensitivity to neonicotinoids. Nevertheless, the use of positive allosteric modulator (PNU-120596) provided the native nAChRs sensitivity increasing to these compounds. In addition, we identified and several nAChR subunits at the molecular level. In particular we achieved to clone *I. ricinus* nAChR subunits. Complementary to these in-vitro approaches, we carried out new behavioral assay to assess compound repellent effect on adult ticks. To conclude, this work highlighted the presence of nAChRs in the *I. ricinus* tick synganglion. Results obtained through their molecular, electrophysiological characterization, and the behavioral assay are encouraging for the development of new acaricidal and repellent molecules against *I. ricinus*.

Keywords : Neuronal nicotinic receptors, Pharmacology, Molecular study, *Ixodes ricinus*, Acaricide

LBLGCG

Laboratoire de Biologie des Ligneux et
des Grandes Cultures
USC-INRA 1328

Laboratoire de Biologie des Ligneux et des
Grandes Cultures, UPRES EA 1207 - USC
INRA 1328 - Université d'Orléans – Rue de
Chartres – BP 6759 45067 Orléans Cedex 2

