



Chapitre 5 – Interview

Interview du Dr P.-E. Bougis

Les micrurotoxines et leurs effets sur les récepteurs-canaux GABA-A

Dans cette interview, le Dr Pierre-Edouard Bougis montre comment les micrurotoxines tirées du venin d'un serpent-corail agit sur le récepteur-canal GABA-A.

Vous avez ici la structure bien connue du récepteur GABA avec les deux sites GABA aux interfaces bêta et alpha et le site des benzodiazépines entre les sous-unités alpha et gamma. Vous voyez ici décrite la trace électrophysiologique de l'effet du GABA : vous avez un courant entrant et, en présence de diazepam, qui est une benzodiazépine, vous avez une multiplication des courants unitaires, donc vous avez en fait une intensité du courant GABA qui augmente en présence des benzodiazépines, qui ne se fixent pas sur les sites GABA et qui fixent un site dit allostérique.

Où trouve-t-on les micrurotoxines ?

Dans le venin du serpent corail *Micruurus mipartitus*

Purification et caractérisation chimique des micrurotoxines

Il a été capturé essentiellement au Costa Rica, en Amérique centrale. Ce sont des serpents dits « corail » de par leurs couleurs. Ils produisent très peu de venin. A partir de ce venin, vous avez ici en position centrale la purification de ce venin : vous avez l'absorbance en unités d'absorption, en ordonnées, et, en abscisses, le temps. Vous voyez que la toxine est majoritaire dans ce venin. On a un temps d'élution de 58 minutes environ. Sur la partie supérieure, vous avez la détermination complète de la séquence en amino-acides de cette toxine. Ce type de séquençage, dit de type Edman, se fait par le séquençage de différents peptides qui sont purifiés. Vous avez ici la séquence complète des micrurotoxines puisqu'en fait il y a deux variants avec une inversion arginine histidine entre la toxine 1 et la toxine 2. Enfin, vous avez ici une représentation de la structure 3D (tridimensionnelle) de cette toxine. Elles sont tout à fait classiques dans les venins de serpent. Ce sont des repliements dits « à 3 doigts » : vous voyez qu'il y a trois boucles qui sont décrites ici. C'est un schéma de toxine qui lie effectivement les récepteurs de type pentamérique.

Comment a-t-on montré que les micrurotoxines agissent sur le canal GABA_A ?

En enregistrant le courant GABA_A total.

Nous avons en haut à gauche un tracé électrophysiologique : un courant évoqué en présence de muscimol, un agoniste du récepteur GABA, 5 µM. Ensuite le même tracé mais en présence de 10 nM de micrurotoxine, 100 nM, 300 nM de micrurotoxine, et ensuite un contrôle à 5 µM



de muscimol uniquement. Ce qu'on observe immédiatement, c'est qu'en présence de micrurotoxine, le courant évoqué est amplifié, donc il y a une potentialisation du courant GABA en présence des micrurotoxines.

Nous avons pu obtenir un dérivé radiomarqué des micrurotoxines : c'est essentiellement ajouter un atome d'iode radioactif sur une tyrosine de la molécule de micrurotoxine.

A partir de ce ligand radiomarqué, nous pouvons déterminer ici la quantité de toxine fixée en fonction de la concentration mise en jeu. Vous voyez que nous avons une courbe de saturation. A partir de cette courbe de fixation, nous pouvons déterminer la constante d'affinité de la toxine, qui est ici de 0,51 nM, et aussi sa capacité maximum de fixation en nombre de récepteurs, ici 264 fM par mg de protéines membranaires. Nous avons pu aussi grâce à cela ce dérivé radiomarqué réaliser des études de compétition de fixation de ce dérivé vis-à-vis de différents ligands des récepteurs GABA de type A. Enfin, sur le dernier schéma de cette diapositive, je vous ai représenté ce que l'on pense être l'interaction des micrurotoxines en gris et du GABA en orange. Vous avez deux états : l'état de repos et l'état activé du canal en présence, bien entendu, du GABA. Vous voyez que la micrurotoxine se fixe aux interfaces alpha-bêta. Je vous rappelle que le GABA se fixe aux interfaces bêta-alpha et, à forte concentration du GABA, vous avez une condensation de ces interfaces qui exclut les toxines, ce qui explique les compétitions que vous avez vues précédemment entre le GABA et les toxines radiomarquées.

Comment en amplifiant le courant GABA-A le venin de serpent est-il mortel pour les proies ?

Enfin je dois ajouter que si ce schéma assez simpliste est présenté, l'action des micrurotoxines est un peu plus compliqué au niveau électrophysiologique, étant donné qu'il y a aussi une incidence sur la désensibilisation du récepteur. Si les micrurotoxines potentialisent effectivement dans un premier temps le courant chlore, elles augmentent la désensibilisation, c'est-à-dire l'état réfractaire à une activation secondaire des récepteurs GABA, en présence des micrurotoxines, ce qui aboutit in fine à un blocage de la transmission GABAergique et donc, *in vivo* chez l'animal, à des crises d'épilepsie.

Enfin je voudrais ajouter que, sur le plan physiologique, cette espèce de *Micruurus mipartitus* se nourrit essentiellement d'animaux vermiformes, de vers, dont on sait que l'activité motrice est portée essentiellement par les récepteurs GABA. Donc on peut imaginer qu'il y a un effet positif pour ces serpents à avoir une toxine qui est active sur le récepteur GABA pour aider à la capture de leurs proies.

Bibliographie

Voici l'article (en anglais) du Dr Bougis qui décrit l'action des micrurotoxines et notamment l'accélération de la désensibilisation du récepteur GABA-A (état réfractaire à une nouvelle activation), ce qui *in fine* provoque chez l'animal des crises de type épileptique :



- MmTX1 and MmTX2 from coral snake venom potently modulate GABA_A receptor activity. Rosso JP, Schwarz JR, Diaz-Bustamante M, Céard B, Gutiérrez JM, Kneussel M, Pongs O, Bosmans F, Bougis PE. Proc Natl Acad Sci U S A. 2015 Feb 24;112(8):E891-900.

Ce second document (en anglais aussi) explique l'implication de la transmission GABAergique dans la locomotion des animaux vermiformes, proies favorites de l'espèce de serpent que nous avons étudiée :

- The GABA nervous system in *C. elegans*. Schuske K, Beg AA, Jorgensen EM. Trends Neurosci. 2004 Jul;27(7):407-14.