



## STAGE DE RECHERCHE M2 ECOLOGIE EVOLUTION GENOMIQUE

Rentrée 2017

---

### Impact de la symbiose sur le développement : Etude du dialogue moléculaire hôte-bactérie pendant la métamorphose d'un insecte endosymbiotique

#### INSA de Lyon – laboratoire BF2I

Encadrants : Anna Zaidman-Rémy ([anna.zaidman@insa-lyon.fr](mailto:anna.zaidman@insa-lyon.fr)), Aziz Heddi ([abdelaziz.heddi@insa-lyon.fr](mailto:abdelaziz.heddi@insa-lyon.fr))

#### Contexte

La symbiose entre les animaux et les bactéries, très répandue dans le monde vivant, est essentielle à de nombreux aspects de la physiologie de l'hôte animal. De nombreux insectes se nourrissant sur des milieux nutritionnellement déséquilibrés (céréales, sève de plantes, sang) ont développé une symbiose mutualiste avec des bactéries intracellulaires (endosymbiotes) qui complètent leur nutrition et améliorent leur *fitness*. Cette association durable entre un organisme eucaryote pluricellulaire et un procaryote implique un **dialogue moléculaire entre les deux partenaires** permettant l'établissement, le maintien et le contrôle de cette association.

Au laboratoire *Biologie Fonctionnelle, Insectes et Interactions* (UMR INRA/INSA-Lyon), notre équipe *Symbiose et Signalisations Immunitaires* s'intéresse aux **interactions moléculaires et cellulaires entre le charançon des céréales *Sitophilus oryzae* et sa bactérie symbiotique intracellulaire *Sodalis pierantonius***. Très tôt au cours du développement embryonnaire, le charançon met en place des cellules spécialisées, les bactériocytes, regroupées en un organe appelé le bactériome. Les bactériocytes hébergent les symbiotes et les protègent de la réponse immunitaire humorale de l'insecte. L'étude de cette symbiose présente deux intérêts majeurs : i- socio-économique : *Sitophilus* est l'un des plus importants insectes ravageurs de cultures et stocks céréaliers ; interférer avec la symbiose pourrait ouvrir de nouvelles stratégies de contrôle de ce coléoptère ; ii- cognitif : la symbiose chez *Sitophilus* est relativement récente au regard de l'évolution ; son étude permet d'analyser les étapes précoces de l'établissement d'une symbiose intracellulaire entre les eucaryotes et les procaryotes.

#### Objectifs du stage

*pierantonius* au cours du développement de cet insecte holométabole [1]. Au moment de la métamorphose de la larve en adulte, le bactériome unique observé chez la larve se dissocie, et les bactériocytes forment de multiples bactériomes le long de l'intestin du futur adulte. Nous avons montré que la charge bactérienne augmente drastiquement pendant les premiers jours de la vie adulte, et que cette amplification bactérienne correspond à un besoin accru en acides aminés au moment de la formation de la cuticule protectrice de l'insecte. Une fois la cuticule formée, l'insecte élimine et recycle son partenaire bactérien par des mécanismes d'apoptose et d'autophagie [1 ; 2]. L'insecte module donc le nombre de ses symbiotes en fonction de ses besoins physiologiques et développementaux.

Nous nous intéressons actuellement à disséquer les processus cellulaires et le dialogue moléculaire impliqués dans la réorganisation de la symbiose pendant la métamorphose. De manière intéressante, nous avons mis en évidence, par une approche d'imagerie, une migration des bactériocytes larvaires à l'origine de la formation des bactériomes adultes. La technique du Dual RNAseq nous a permis d'analyser conjointement les réponses transcriptomiques de l'hôte et du symbiote au cours de ce processus de réorganisation (Maire *et al.*, en préparation). **Ce travail a révélé de nombreux gènes candidats potentiellement impliqués dans ce dialogue moléculaire hôte-symbiote. Le projet de master consistera à déterminer leur implication dans ces processus cellulaires.**

### Techniques abordées

Il s'agit d'un projet de **génomique fonctionnelle** faisant appel à une palette de méthodes complémentaires. La fonction des gènes candidats sera appréhendée par une approche de **génétique inverse** par l'ARN interférence (ARNi), qui permet d'inhiber spécifiquement l'expression d'un gène. Le phénotype sera recherché à l'échelle de l'organisme (viabilité, développement), de la cellule (morphologie, nombre de symbiotes) et de la molécule (expression de gènes effecteurs), grâce à des techniques de **biologie moléculaire** (ARNi, RT-qPCR, qPCR, RT-PCR *in situ*), de **biologie cellulaire** et d'**imagerie** (Fluorescent In Situ Hybridization, immunomarquages, coupes histologiques, microscopie, cytométrie en flux), et de **biochimie** (Western blot). Toutes ces techniques sont optimisées et largement utilisées au laboratoire. L'étudiant bénéficiera d'un encadrement scientifique et technique important et d'un environnement de recherche dynamique. Ce stage lui permettra d'acquérir une expertise dans des techniques très variées de biologie expérimentale et une méthodologie de recherche.

L'équipe *Symbiose et Signalisations Immunitaires* est pionnière dans l'étude des signalisations immunitaires hôte-symbiote [3]. Ce projet implique actuellement trois enseignants-chercheurs, une assistante-ingénieure, deux ingénieures et un doctorant. Nous recherchons un/e étudiant/e très motivé/e pour intégrer notre équipe et participer au développement de ce projet prometteur, qui est susceptible de s'ouvrir sur une thèse de doctorat.

L'équipe travaille en collaboration avec de nombreux laboratoires en France (IGFL à Lyon, CEA de Grenoble, UMR INRA1355- CNRS 7254-Université de Nice Sophia Antipolis, UMR5558 BBE, UMR5557 EM, UMR 6556 GBPC, Université Paris Sud) et à l'étranger (Institut Cavanilles de Biodiversitat i Biología Evolutiva, Universitat de València, University of Utah, University of Yale).

### Bibliographies associées

- [1] Vigneron A, Masson F, Vallier A, Balmand S, Rey M, Vincent-Monégat C, Aksoy E, Aubailly-Giraud E, Zaidman-Rémy A, Heddi A. (2014) Insects recycle endosymbionts when the benefit is over. *Curr Biol.* 24(19):2267-73
- [2] Masson F, Moné Y, Vigneron A, Vallier A, Parisot N, Vincent-Monégat C, Balmand S, Carpentier MC, Zaidman-Rémy A, Heddi A. (2015) Weevil endosymbiont dynamics is associated with a clamping of immunity. *BMC Genomics* 16:819.
- [3] Login FH, Balmand S, Vallier A, Vincent-Monégat C, Vigneron A, et al. (2011) Antimicrobial peptides keep insect endosymbionts under control. *Science* 334: 362-365.