

Établissement du répertoire immunitaire du forficule : recherche de PAMs par genome mining

Julien Verdon, Wilfrid Jean-Louis, Tiffany Laverre, Manon Boucicot, Celine Zatylny-Gaudin, Christine Braquart-Varnier, Joël Meunier

Chez le forficule Européen, *Forficula auricularia*, le développement de la progéniture prend généralement 4 à 5 mois, de la ponte à l'âge adulte. Les mères s'occupent de leurs œufs pendant deux mois en hiver, puis de leurs juvéniles nouvellement éclos (appelés nymphes) pendant deux semaines au printemps. Les mères forficules fournissent également une protection à court terme contre les agents pathogènes pour leurs œufs et leurs juvéniles. Par exemple, elles éliminent activement les spores fongiques de la coquille des œufs, nettoient et reconstruisent leur nid en présence de pathogènes vivants dans l'environnement et tapissent le nid avec leurs excréments (qui ont des propriétés antimicrobiennes) pour empêcher le développement de micro-organismes. Ces soins sont essentiels à la survie des œufs, car en l'absence des mères, les pontes meurent de moisissures en quelques jours. Cependant, la présence d'une immunité sociale durant la vie familiale, et son importance dans la défense contre les pathogènes, reste largement inexplorée chez cette espèce.

Cette étude se place dans un projet plus large dont le but est d'établir, chez le forficule Européen, le répertoire le plus exhaustif possible, de peptides antimicrobiens (PAMs, également nommées molécules de défense de l'hôte HDPs), conjointement avec une caractérisation complète des hémocytes. En effet, les hémocytes sont des acteurs majeurs de l'immunité en phagocytant ou en encapsulant des microorganismes étrangers et en stockant dans leurs granules (i) les cascades de coagulation et du système phénoloxydase (PO) et (ii) des PAMs.

Compte tenu du coût élevé et de l'identification expérimentale laborieuse des PAMs, de nombreuses méthodes informatiques ont été proposées pour prédire des peptides potentiels à partir de séquences nucléiques et protéiques. Beaucoup de ces outils sont implémentés dans des bases de données spécialisées comme CAMP et APD3 et peuvent également prédire une structure et une ou plusieurs fonctions de ces peptides. Néanmoins, il n'y a pas à ce jour de méthodologie définie pour analyser l'ensemble des séquences contenues dans un génome ou un transcriptome. C'est pourquoi nous proposons de développer une méthodologie d'analyse en utilisant le génome de *Forficula auricularia* comme modèle.

Plusieurs PAMs (appartenant à des familles connues) ainsi que des candidats potentiels ont ainsi été mis en évidence. Parmi ces molécules, une a été synthétisée et testée en activité contre un panel défini de bactéries. Par la suite, d'autres PAMs identifiés, qui présentent le plus d'intérêt par rapport à une analyse de leurs caractéristiques structurales (taille en acides aminées, % de résidus basiques, présence de Cystéines notamment) seront également synthétisés et testés en activités contre un panel de microorganismes (bactéries et champignons). Leur expression et leur localisation tissulaire sera également testée par RT-PCR. Enfin, leur libération dans l'hémolymphe suite à un challenge immunitaire sera évaluée.