

**TITRE DU SUJET :** Caractérisation chez le symbiote *Burkholderia insecticola* de l'insecte *Riptortus pedestris* de fonctions bactériennes impliquées dans la résistance aux peptides antimicrobiens et dans la colonisation de l'organe symbiotique

Responsable du stage : Joy Lachat/Peter Mergaert

Nombre de thèses en cours : 1

Adresse, tél, e-mail :

Institut de Biologie Intégrative de la Cellule, avenue de la Terrasse, Gif-sur-Yvette.

Tel. 06 58 07 92 02.

e-mail: [joy.lachat@i2bc.paris-saclay.fr](mailto:joy.lachat@i2bc.paris-saclay.fr) ou [peter.mergaert@i2bc.paris-saclay.fr](mailto:peter.mergaert@i2bc.paris-saclay.fr)

Possibilité de poursuite en doctorat :  OUI

NON

Présentation de la proposition de stage :  OUI

NON

04/09/17 (Versailles)

05/09/17 (Orsay)

#### INTRODUCTION, CONTEXTE SCIENTIFIQUE :

Les symbioses avec des microorganismes sont répandues dans le monde du vivant, notamment chez les insectes. L'insecte phytophage *Riptortus pedestris* est un ravageur de légumineuses telles que le soja et sévit dans le sud-est de l'Asie comme le Japon et la Corée du Sud. Récemment, il a été démontré que cet insecte possède un symbiote bactérien spécifique, *Burkholderia insecticola*, situé dans une région particulière de son intestin, devenant ainsi l'organe symbiotique. Cet organe, appelé aussi région M4, est constituée de deux rangées de dizaines de cryptes où le symbiote prolifère de manière extracellulaire. Au sein de ces cryptes, l'insecte produit des peptides antimicrobiens appelés CCR ou "Crypt-specific Cysteine Rich peptides". Les bactéries du genre *Burkholderia* étant particulièrement résistantes aux peptides antimicrobiens, ce profil de résistance chez le symbiote *B. insecticola* pourrait être à l'origine de la colonisation spécifique de son hôte *R. pedestris*.

#### PROJET DE RECHERCHE :

Dans le but d'identifier les gènes impliqués dans cette résistance aux peptides antimicrobiens, nous avons généré une banque de mutants de *B. insecticola* à l'aide d'un transposon de type *mariner*. Cette banque de mutants a été mise en culture en présence de plusieurs concentrations de différents peptides antimicrobiens, dont les CCRs. Nous avons séquencé l'ADN des populations bactériennes récoltées avant et après le traitement antimicrobien, nous permettant ainsi de comparer les profils d'insertions par l'approche Tn-seq (Transposon sequencing). En présence des peptides, le caractère essentiel des gènes se traduit par une réduction du nombre d'insertions dans ces gènes. Nous avons ainsi obtenu une liste de gènes candidats essentiels pour la résistance à ces peptides chez le symbiote *B. insecticola* et donc potentiellement impliqués dans la colonisation des cryptes symbiotiques dans l'intestin de l'hôte.

Le stage consistera d'abord à créer les mutants de délétion ou par insertion d'un plasmide chez le symbiote *B. insecticola* pour chacun des gènes identifiés. L'étudiant caractérisera les phénotypes de ces mutants *in vitro* en présence des peptides antimicrobiens, et testera également leurs capacités à coloniser l'organe symbiotique de l'insecte-hôte. Les expériences *in vivo* consisteront à déterminer le nombre de bactéries par insecte, à mesurer plusieurs paramètres du développement de l'hôte, et de réaliser des observations au microscope confocal de la morphologie et colonisation des cryptes.

## APPROCHES METHODOLOGIQUES :

Biologie moléculaire, microbiologie, création de mutants bactériens par délétion/insertion, dissections d'insectes, tests phénotypiques *in vitro* et *in vivo* chez l'insecte, microscopie à fluorescence et microscopie confocale.

L'étudiant apprendra les méthodes d'élevage et de dissections d'insectes que nous possédons au laboratoire.