

## Projet de thèse PEPIM

**Titre : Exploration de la fonction immunitaire des peptides du venin de la fourmi *Tetramorium bicarinatum* en vue de leur sélection et développement en tant que molécules immunomodulatrices**

**Lieu :** Laboratoire Biologie et toxicologie des substances bioactives- Institut National Universitaire Champollion- 81000 Albi

**Durée :** 3 ans

**Financement prévu :** région Occitanie/INU Champollion

**Profil recherché :** Étudiant(e) ayant une formation en Biologie cellulaire et moléculaire. L'étudiant(e) devra maîtriser les concepts théoriques des techniques de biologie moléculaire et cellulaire qui seront utilisées lors du projet et au moins certaines d'un point de vue pratique. Les techniques mobilisées seront entre autres : la culture cellulaire, l'immunocytochimie, le Western blot, la RT-qPCR.

**Contact :**

Elsa Bonnafé : elsa.bonnafe@univ-jfc.fr

Arnaud Billet : arnaud.billet@univ-jfc.fr

### Présentation détaillée du projet de thèse

Les venins animaux sont des cocktails chimiques complexes constitués en partie de peptides (toxines) dont la fonction est de tuer et/ou paralyser des proies, le plus souvent, en modulant des récepteurs et des canaux ioniques.

Les fourmis appartiennent à l'un des groupes d'organismes venimeux les plus abondants et diversifiés avec plus de 16 000 espèces actuellement décrites. Leurs venins ont déjà montré de nombreuses activités biologiques dont des activités antimicrobiennes, hémolytiques, cytolytiques, paralytiques, insecticides et anti ou pro-douleur. L'équipe BTSB s'intéresse aux venins de fourmi, en particulier celui de *Tetramorium bicarinatum* (1), dont la composition est essentiellement de nature peptidique. La caractérisation structurale et fonctionnelle de certains de ces peptides nous a amené à nous poser la question de l'origine évolutive de ces derniers et en particulier du lien existant entre la fonction venimeuse et la fonction immunitaire chez ces insectes sociaux. En effet, l'équipe a pu montrer qu'*in vivo*, en absence de stimulation, les gènes codant certains peptides du venin s'exprimaient dans des cellules impliquées dans la fonction immunitaire et qu'un challenge bactérien induisait une production plus importante de ces peptides (Thèse MESRI Valentine Barassé 2020).

Ce projet, en continuité avec les recherches du laboratoire, a donc comme objectif d'évaluer l'implication des peptides retrouvés dans le venin de *Tetramorium bicarinatum* dans l'immunité innée des fourmis et plus généralement des insectes. Ce projet s'inscrit dans un cadre de recherche fondamental visant à étoffer la connaissance concernant la fonction des peptides de venin au sein de l'organisme producteur et de recherche appliqué afin de mieux connaître et sélectionner les peptides immunomodulateurs pour des applications en santé humaine. Ce projet fait donc suite à des travaux antérieurs montrant l'implication potentielle de certains peptides au sein de l'immunité innée de *Tetramorium bicarinatum* mais aussi d'autres travaux récemment publiés montrant le potentiel immunomodulateur de ces derniers sur des cellules de mammifères (2).

Ce projet se subdivisera en plusieurs tâches :

**Tâche 1 : sélection des peptides à étudier sur la base :**

- D'études antérieures montrant leur expression dans les organes de l'immunité de la fourmi et en particulier le corps gras.
- D'études menées sur des lignées de cellules immunitaires humaines montrant un effet modulateur de l'activité calcique de certains peptides du venin.
- De la recherche de nouveaux candidats exprimés dans les organes de l'immunité.

### **Tache 2 : Étude *in vitro* des effets d'une stimulation bactérienne sur la synthèse et la sécrétion des peptides sélectionnés.**

Le choix d'une approche *in vitro* est le résultat d'études antérieures réalisées *in vivo* au sein de notre unité de recherche. Nous avons montré que certains gènes codant nos peptides étaient exprimés dans une sous population d'adipocytes et que la réponse individuelle des fourmis à un challenge bactérien par voie orale était assez variable en raison de la difficulté à contrôler l'exposition des fourmis aux bactéries. Nous avons alors choisi de poursuivre cette étude par une approche *in vitro* pour mieux contrôler les paramètres de l'infection et pour confirmer précisément la spécificité du patron d'expression de ces gènes.

Un protocole de culture primaire d'adipocytes est en cours de développement. Après mise en culture, les cellules seront stimulées par des endotoxines ou des constituants de la paroi bactérienne (Lipopolysaccharides LPS et peptidoglycanes PGN) et leur réponse sera évaluée en déterminant :

- Le niveau d'expression des gènes codant les peptides de venin sélectionnés par RT-qPCR
- La présence des peptides dans les cellules par immunocytochimie et western blot.
- La sécrétion des peptides dans le milieu de culture par spectrométrie de masse et/ou western blot
- L'activation des voies immunitaires classiques Toll et Imd par RT-qPCR

### **Tache 3 : Étude *in vitro* de l'effet des peptides de venins sur des cellules immunitaires d'insectes.**

L'activation de cellules immunitaires par les peptides de venin sera évaluée sur des lignées cellulaires de drosophiles (mbn2 et S2). En effet de nombreux outils sont disponibles pour l'étude de l'activation des voies de l'immunité d'autres nombreuses voies de signalisation sur ces modèles cellulaires. Ces cellules sont en culture dans notre laboratoire et les protocoles pour étudier certains phénotypes d'activation déjà disponibles. La réponse des cellules sera analysée par :

- L'évaluation de l'activation des voies Toll et Imd par des approches d'immunocytochimie, de western blot et de RT-qPCR.
- Du suivi du devenir des peptides après leur contact avec les cellules par spectrométrie de masse, immunocytochimie et western blot.

Les résultats attendus permettront d'avancer dans la caractérisation des mécanismes d'action de ces peptides, et d'orienter efficacement les recherches futures sur la valorisation, notamment en biosanté humaine.

1. A. Touchard, *et al.*, Deciphering the Molecular Diversity of an Ant Venom Peptidome through a Venomics Approach. *J. Proteome Res.* **17**, 3503–3516 (2018).
2. K. Duraisamy, *et al.*, P17 induces chemotaxis and differentiation of monocytes via MRGPRX2-mediated mast cell–line activation. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 1–17 (2021).