

## Analyse transcriptomique comparative de moustiques dont le microbiote a été manipulé artificiellement

Encadrants : Claire Valiente Moro (MCF) et Guillaume Minard (MCF), équipe Dynamique Microbienne et Transmission Viral, UMR 5557 Ecologie Microbienne

Le moustique tigre *Aedes albopictus* est actuellement considéré comme l'une des espèces les plus invasives au monde. Outre son fort pouvoir invasif, cette espèce est au coeur des préoccupations de santé publique puisqu'elle transmet de nombreux pathogènes à l'Homme et aux animaux. A l'heure actuelle, la plupart des pathogènes transmis par ce moustique ne bénéficient pas de traitements ou de vaccins efficaces. Au cours des dernières années, il est devenu évident que le microbiote des moustiques joue un rôle primordial dans leur biologie (immunité, reproduction, ...) et notamment leur compétence vectorielle. De façon intéressante, des travaux ont récemment mis en évidence un rôle du microbiote dans le développement.

Dans ce contexte, le projet proposé a pour objectif de comprendre les mécanismes moléculaires à l'origine du retard de développement observé chez des larves axéniques (dépourvues de microbiote) en comparaison de larves conventionnelles (pourvues de microbiote). Pour cela un séquençage transcriptomique des ARNm extraits a été réalisé à partir de moustiques adultes mâles et femelles qui se sont développés soit en conditions axéniques, soit conventionnelles, soit gnotobiotiques (avec un microbiote contrôlé : associées à une espèce bactérienne connue).

Au total, 64 échantillons ont été séquencés sur une plateforme NextSeq500 (Illumina), single end read, high output, en 2 runs indépendants. Un total de 7 répliques biologiques a été réalisé pour chaque modalité et chaque sexe, excepté pour la modalité conventionnelle où 4 répliques ont été réalisés. Le démultiplexage des séquences a été réalisé par la société de séquençage.

Les étudiants auront donc en charge l'analyse du jeu de données de séquences dans le but de décrire le transcriptome des moustiques selon les différentes modalités d'association au cours du développement larvaire (axéniques, conventionnelles et gnotobiotiques : mono-associée à la bactérie *Carnobacterium maltaromaticum*, mono-associée à la bactérie *Microbacterium oxydans* et mono-associées à la bactérie *Oerskovia* sp.) et de mettre en évidence la présence de gènes différentiellement exprimés entre les différentes modalités étudiées.

Un exemple de protocole est décrit ci-dessous afin de guider les étudiants mais ces derniers seront libres de le modifier pour y intégrer les logiciels et méthodes qui leur semblent les plus pertinents en se basant sur leurs connaissances et la littérature scientifique spécialisée : Exemple : Les lectures de séquençage seront filtrées et nettoyées via le logiciel FASTQC puis cartographiées à partir des génomes séquencés d'*Ae. albopictus*<sup>1</sup>. Les séquences sélectionnées seront ensuite transformées en FPKM puis normalisées avec un nombre équivalent de séquences par échantillon via le logiciel DAVID<sup>2</sup>. Les séquences cartographiées seront ensuite annotées en utilisant les termes GO puis les séquences présentant des variations (ou fold change) significatifs entre conditions expérimentales seront déterminées par tests de ratios de vraisemblances (LRT) implémentées sur le package DeSeq2 sous R<sup>3</sup>.

1. Chen, X.-G. *et al.* Genome sequence of the Asian Tiger mosquito, *Aedes albopictus*, reveals insights into its biology, genetics, and evolution. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **112**, E5907-5915 (2015).

2. Huang, D. W., Sherman, B. T. & Lempicki, R. A. Systematic and integrative analysis of large gene lists using DAVID bioinformatics resources. *Nat Protoc* **4**, 44-57 (2009).

3. Love, M. I., Huber, W. & Anders, S. Moderated estimation of fold change and dispersion for RNA-seq data with DESeq2. *Genome Biol.* **15**, 550 (2014).