

A C T I V I T É S

DÉFENSE ET RÉSISTANCE CHEZ LES INVERTÉBRÉS MARINS

Philippe ROCH, directeur de recherche au CNRS,
directeur de la DRIM

Durant de nombreuses années, faire de la biologie a consisté en la description des processus qui gouvernent le monde vivant. Le développement de la biochimie et surtout l'explosion récente de la biologie moléculaire en ont fait une science d'intervention permettant de modifier les organismes vivants. C'est bien sûr au

l'IFREMER, le CNRS et l'université de Montpellier 2 depuis le 1 janvier 1993. Plusieurs épizooties importantes touchant divers invertébrés marins cultivés ont amené l'IFREMER à renforcer son potentiel de recherche en immunologie. Quatre chercheurs de la station de Ronce-les-Bains (17390) travaillant en immunologie et biologie moléculaire ont ainsi été transférés à Montpellier. Six autres personnes les y ont rejoints pour former la DRIM. Un seul objectif a été confié : l'amélioration de la résistance des mollusques bivalves (huîtres et moules) et des crevettes Pénéides vis-à-vis de leurs principaux agents pathogènes (protozoaires, bactéries, virus) par la réalisation d'animaux transgéniques exprimant des protéines microbicides ou des séquences antisens antivirales.

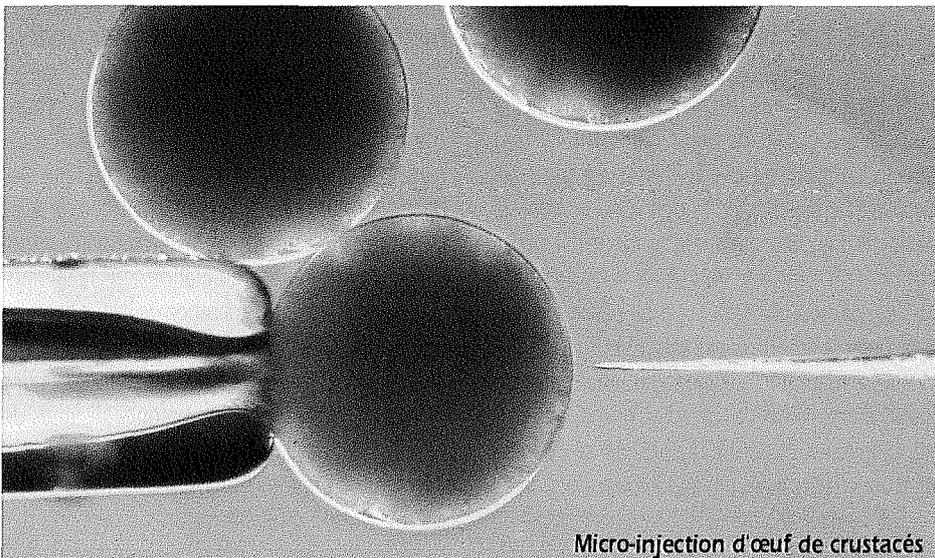
Pour être capable d'augmenter les réactions de défense, il nous faut tout d'abord connaître la nature des réactions de défense telles qu'elles

avérés également actifs contre divers protozoaires responsables de maladies chez l'homme (malaria, leishmaniose, maladie de Chagas).

Notre seconde approche a lieu au niveau des invertébrés marins eux-mêmes. Elle a pour but d'identifier dans le génome des structures génétiques apparentées à celles qui codent pour les peptides antimicrobiens précédemment cités. Nous nous intéressons également à l'hémolymphe où nous cherchons à mettre en évidence des activités antimicrobiennes. De telles activités pourraient être dues à des peptides originaux, propres à nos modèles et dont la structure est encore inconnue. S'ils sont présents, ces peptides devront être purifiés, puis séquencés et leurs gènes isolés en vue d'analyser leur structure et leur modalités d'expression.

Le deuxième axe de recherche de la DRIM peut être qualifié de virologie. Il consiste en la mise au point de vecteurs d'expression génétique permettant la réalisation de transgénèse chez les mollusques bivalves. Pour cela, une première approche consiste à rechercher dans le génome de moules tumorales la présence d'un rétrovirus à l'aide de sondes hétérologues. Outre son intérêt fondamental, car aucun rétrovirus n'est connu chez les invertébrés marins, la connaissance du rétrovirus de la moule nous fournira la machinerie génétique indispensable à la réalisation d'une transgénèse. Une seconde approche vise à séquencer un gène de moule complet, choisi en fonction de ses caractéristiques d'expression, pour en extraire le promoteur. Enfin, cette approche en virologie nous fournira des outils permettant l'établissement de lignées cellulaires de mollusques bivalves. L'absence de telles lignées constitue un handicap majeur dans toute étude d'immunopathologie. La transformation *in vitro* de cellules et d'embryons de moule par des construits génétiques intégrant des oncogènes est abordée à l'aide de plusieurs techniques : micro-injection, électroporation, transfection, bombardement.

Le programme de recherche de la DRIM s'inscrit dans une démarche fondamentale à long terme. Il est mené en coopération avec d'autres laboratoires, tant français qu'étrangers à travers plusieurs contrats (ministère des affaires étrangères, CCE, Italie). Il devrait produire une accumulation de données dans les domaines actuellement peu connus que constituent l'immunologie et la génétique moléculaire des invertébrés marins, tout en apportant des réponses à des besoins économiques précis. ■



Micro-injection d'œuf de crustacés

niveau génétique qu'ont eu lieu les avancées les plus spectaculaires. Il est maintenant relativement aisé d'obtenir l'expression transitoire d'un gène étranger introduit artificiellement dans une cellule. Dans quelques cas (plantes, souris, drosophiles), le gène étranger a pu être intégré au génome de l'hôte, conduisant à l'obtention de tissus ou même d'animaux que l'on dit "transgéniques". Toutes ces modifications dans le patrimoine génétique des êtres vivants ont pour but, soit de réparer les aberrations responsables de pathologies graves, soit une meilleure adaptation aux conditions de culture ou d'élevage, avec le souci d'une utilisation accrue par l'homme.

C'est dans cette dernière problématique que s'inscrit l'unité mixte de recherche "Défense et résistance chez les invertébrés marins (DRIM) associant

s'expriment, non seulement chez les animaux sains, mais aussi chez les animaux malades. Cette orientation Immunologie constitue l'un de nos axes de recherche. Sa finalité réside dans la définition des protéines de défense dont l'expression des gènes chez des animaux manipulés puisse conduire à l'acquisition d'une résistance accrue.

Notre première approche s'intéresse aux pathogènes et consiste à tester l'activité des peptides antimicrobiens déjà identifiés chez les insectes et chez quelques vertébrés (cécropines, défensines, magainines). Bien que surprenante, une telle action hétérologue existe et a été montrée chez les plantes où l'on peut obtenir une augmentation de la résistance aux infections bactériennes par transfert de gènes antibactériens d'insectes. En outre, des peptides connus pour leur activité antibactérienne se sont