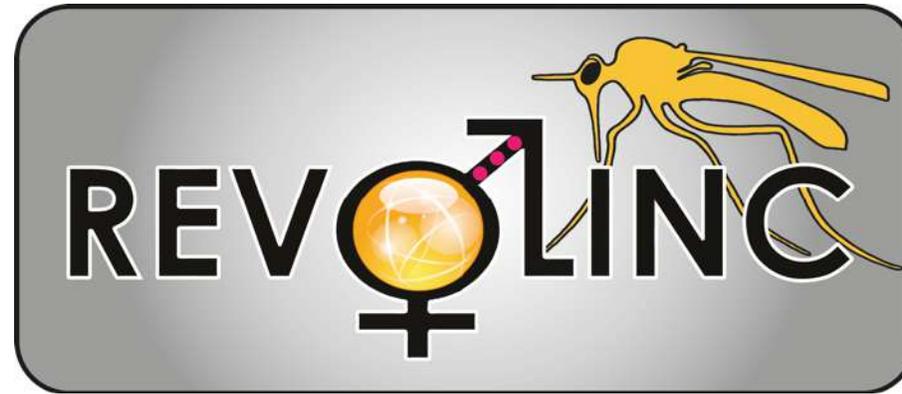




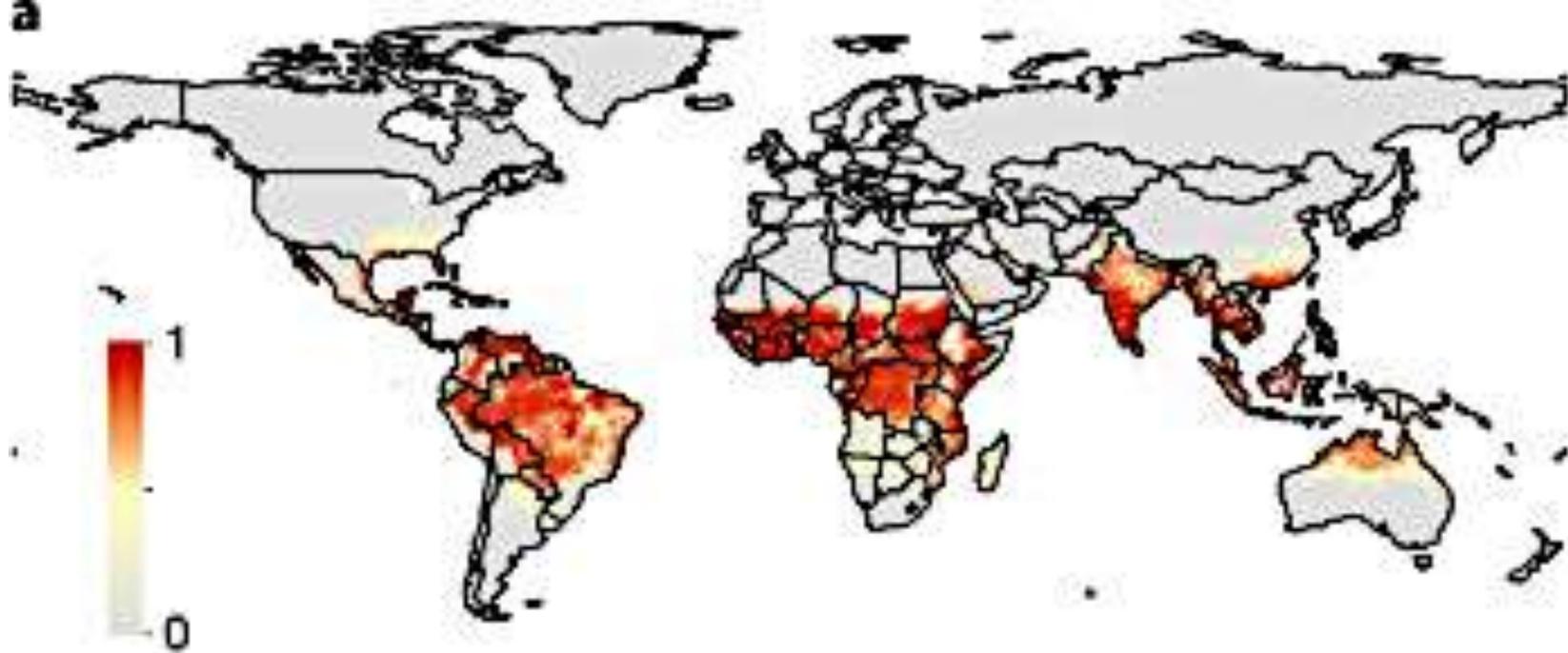
Développement de souches de SEXAGE
pour les moustiques du genre AEADES

Célia LUTRAT
Doctorante

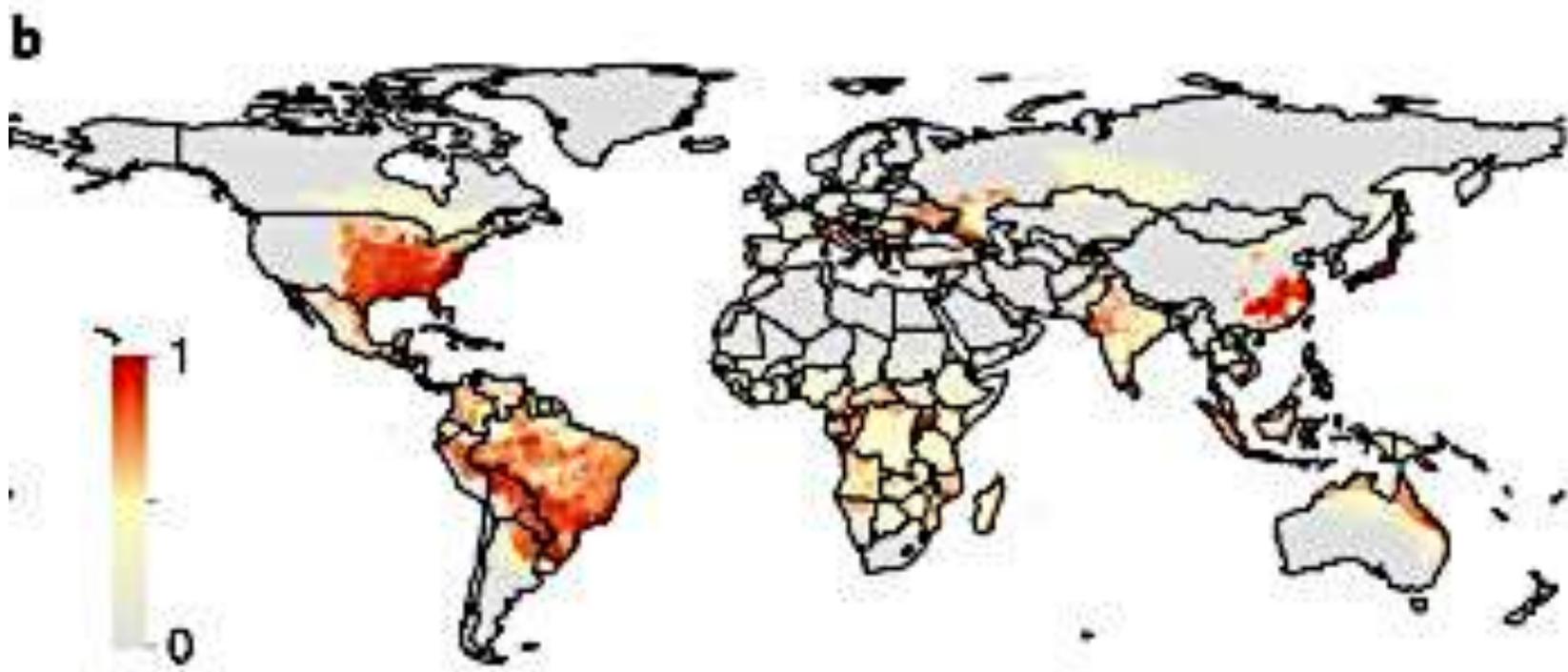
celia.lutrat@cirad.fr



REVOLutionizing **IN**sect **C**ontrol

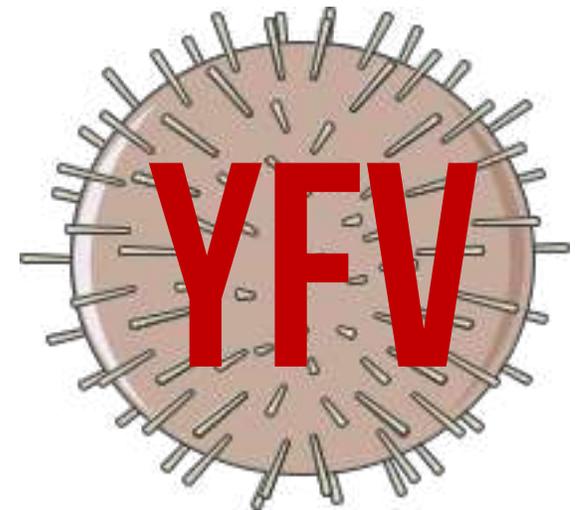
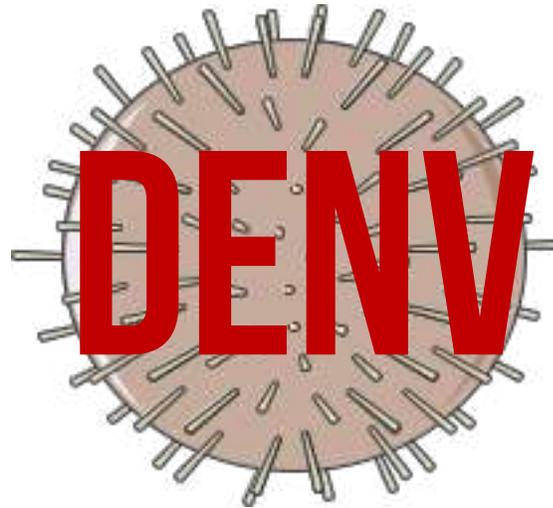
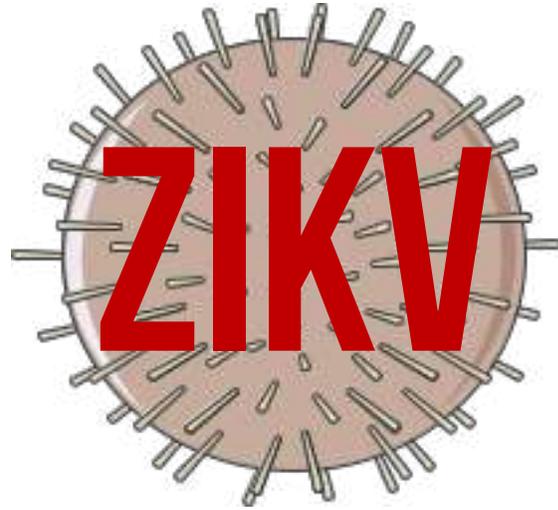


Aedes albopictus
et *Aedes aegypti*,
des espèces invasives

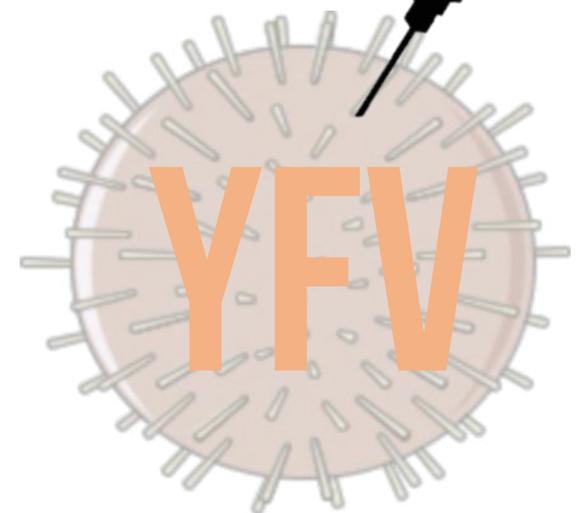
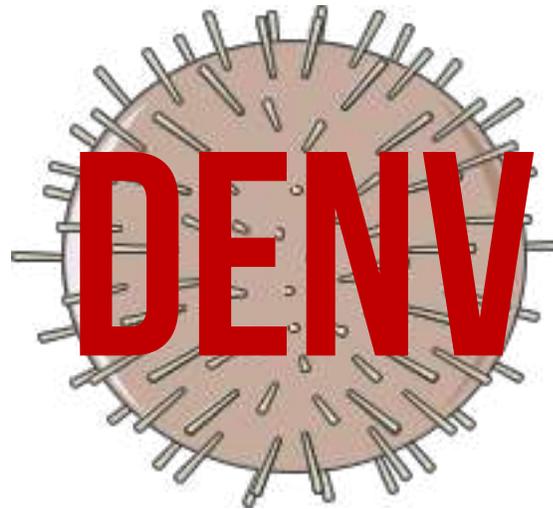
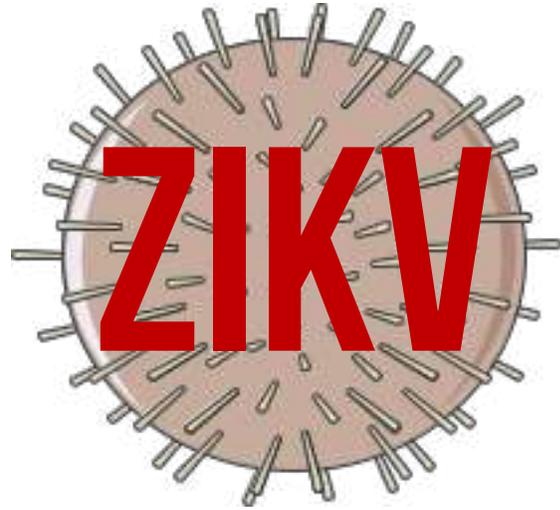


(Kraemer et al. 2019)

Les Aedes peuvent
être vecteurs de virus



Seule la fièvre jaune
possède
un vaccin efficace





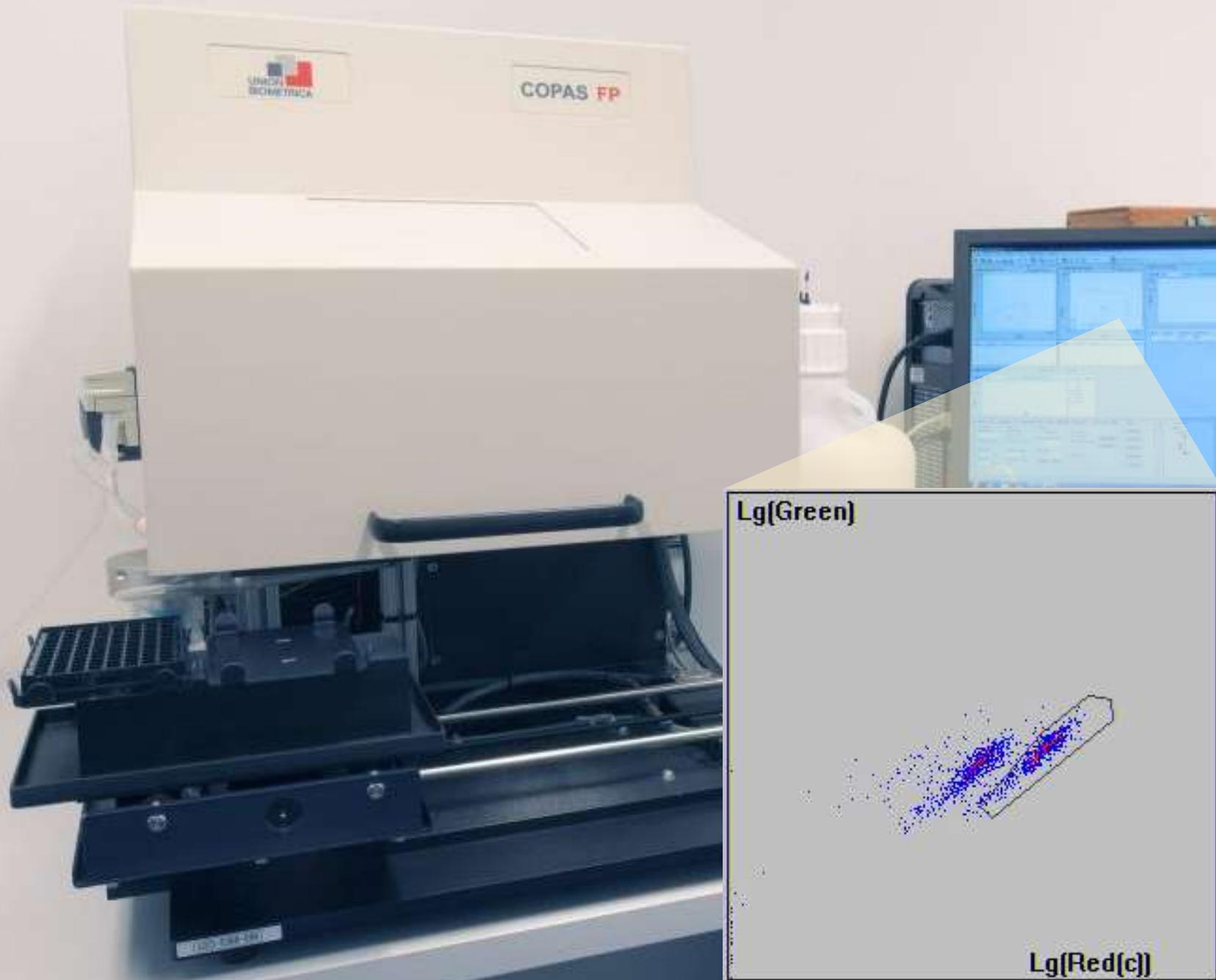
*La Technique de l'Insecte Stérile (TIS),
une méthode de lutte anti-vectorielle durable*



Le TRI DES MÂLES
est actuellement une
des étapes limitantes

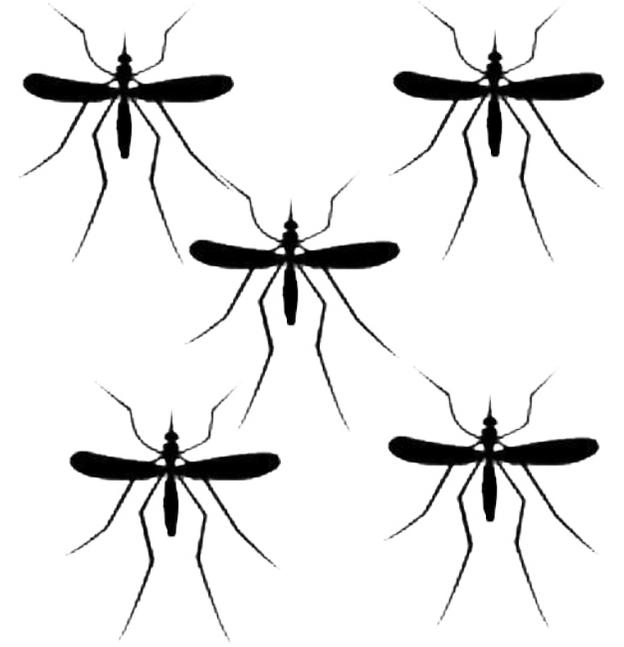
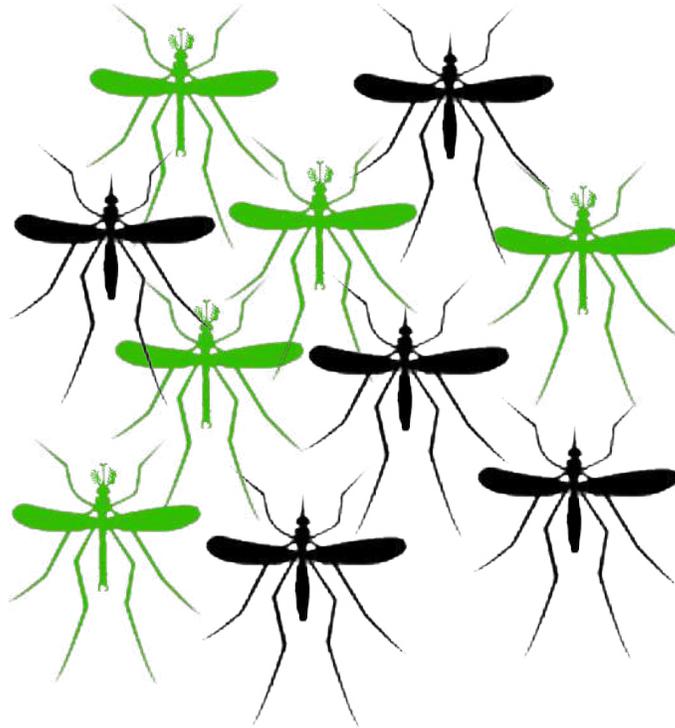


Objectif :
développer des souches permettant le tri **AUTOMATISÉ**
des larves **NÉONATES**,
avec des alternatives **NON-TRANSGÉNIQUES**



Le **COPAS** permet de trier des néonates en fonction de leur fluorescence

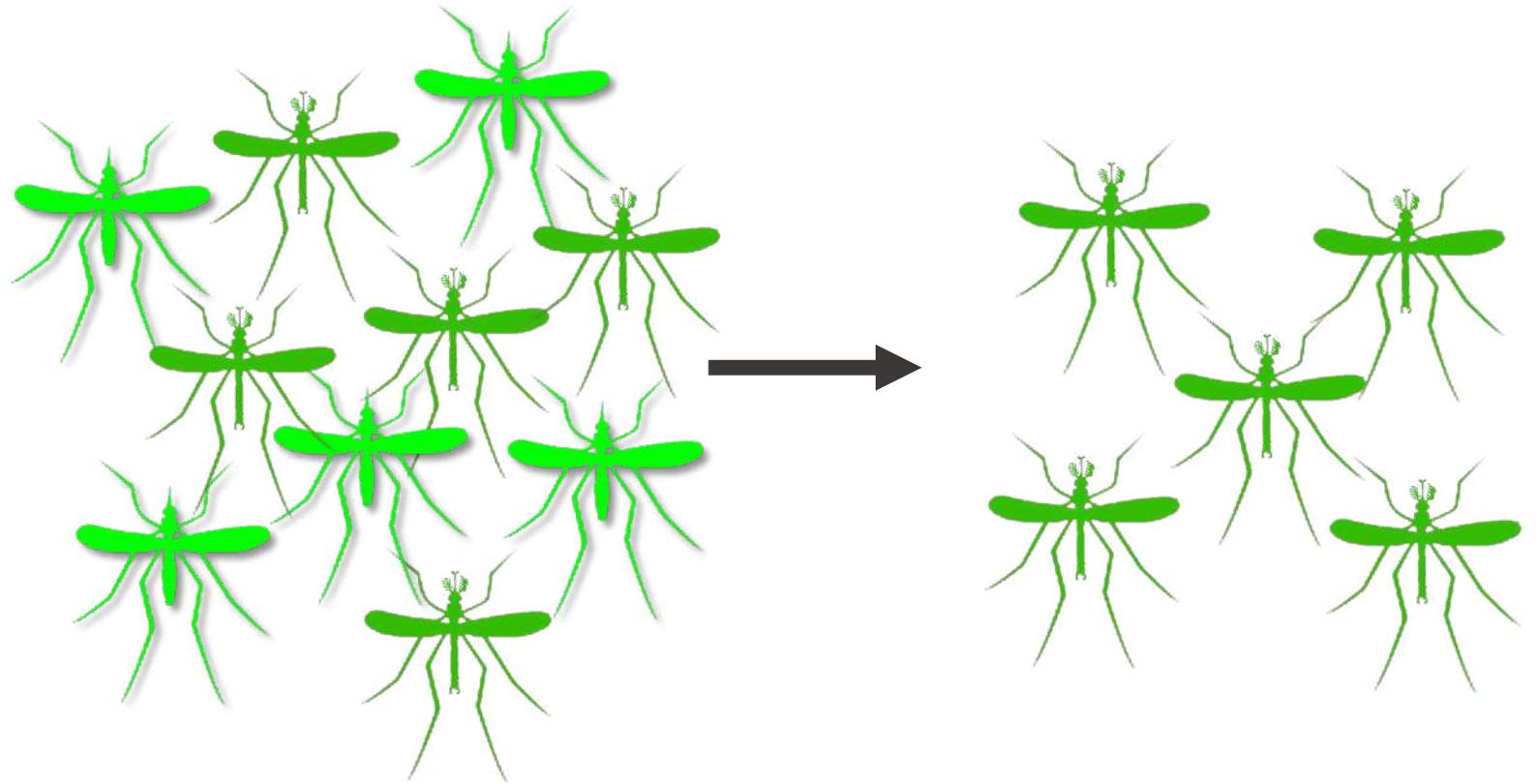
Avec une lignée M
on récupère
des **FEMELLES WT**



$mm + mM$

mm

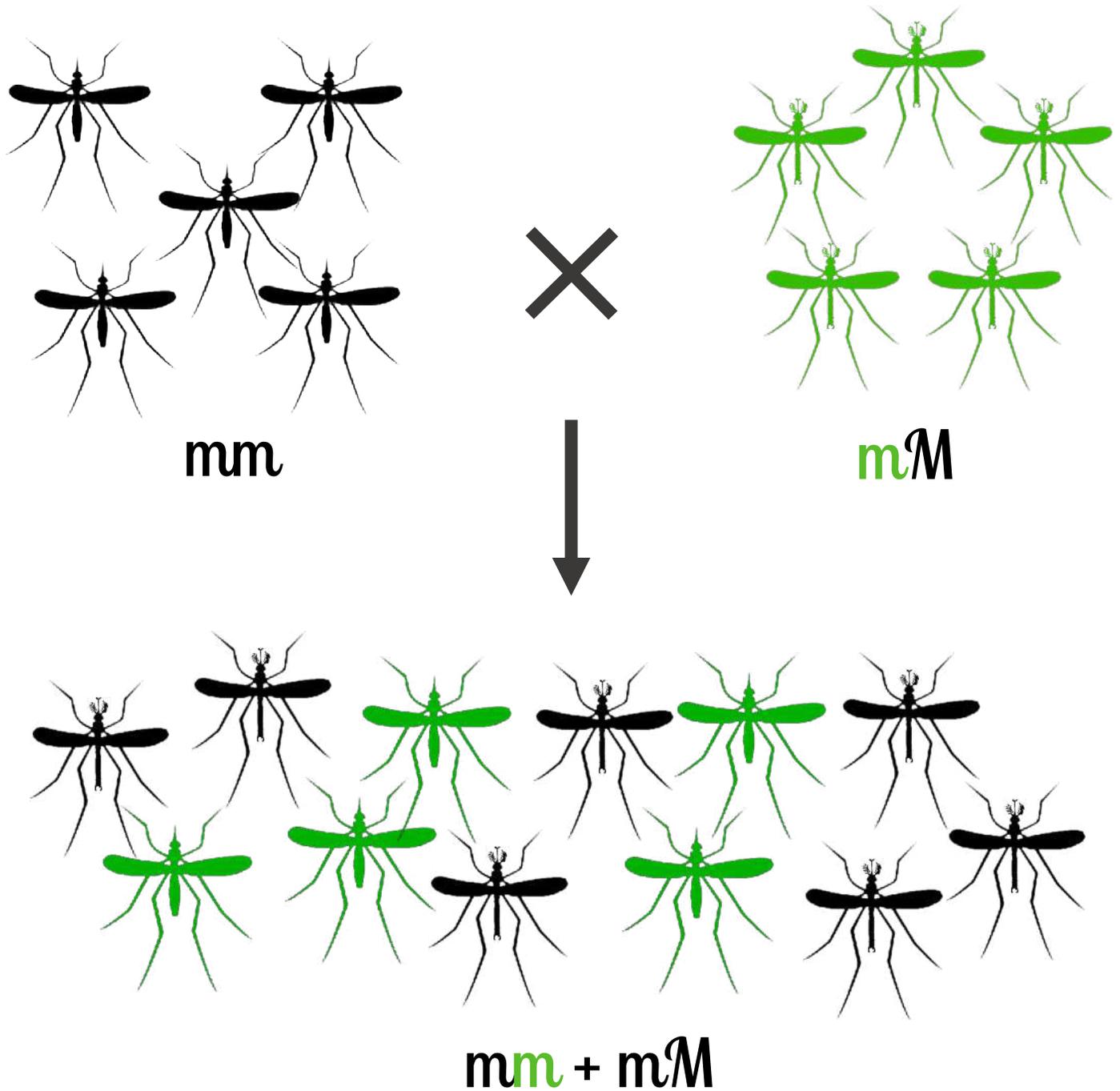
Avec une lignée m
on récupère des
MÂLES
TRANSGÉNIQUES



$mm + mM$

mM

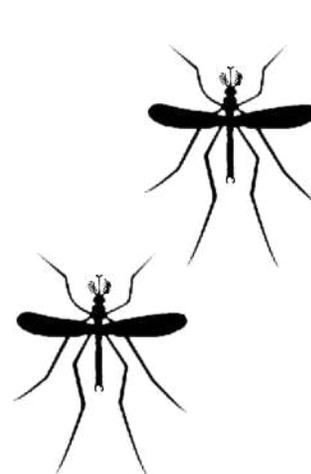
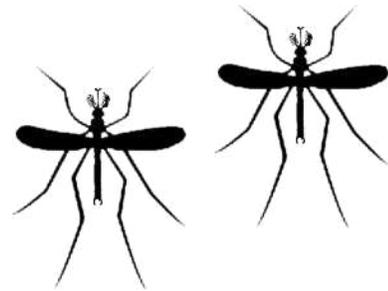
On CROISE
les femelles WT
et les
mâles transgéniques



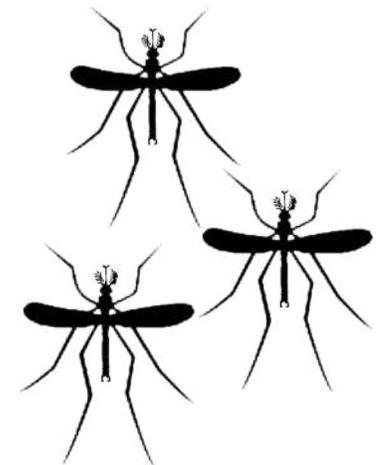
Au **COPAS** on peut
récupérer les

MÂLES

NON-TRANSGÉNIQUES



mM

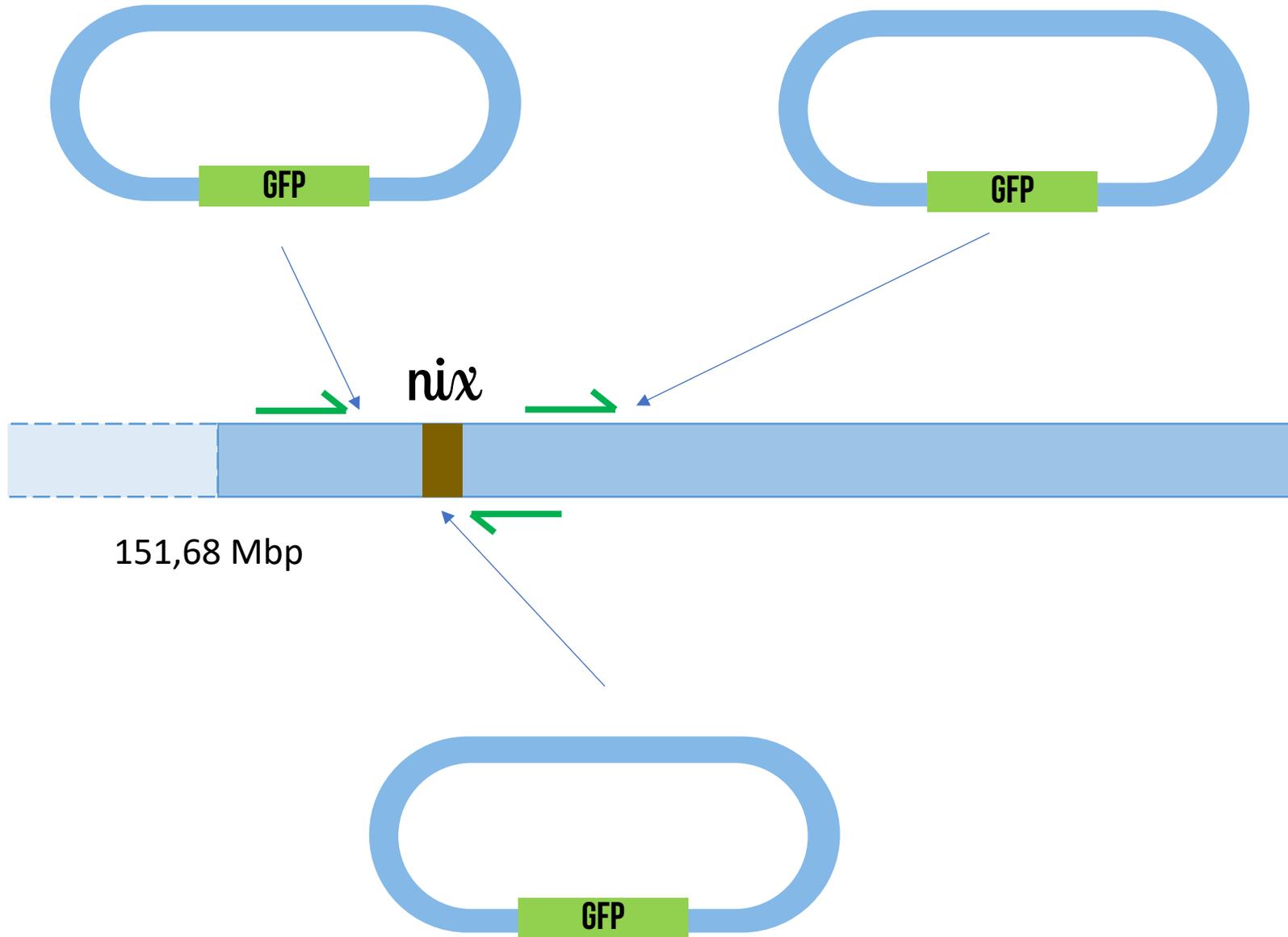




Lignée M
Aedes aegypti



Chez *Ae. aegypti*, le locus M est assez bien connu



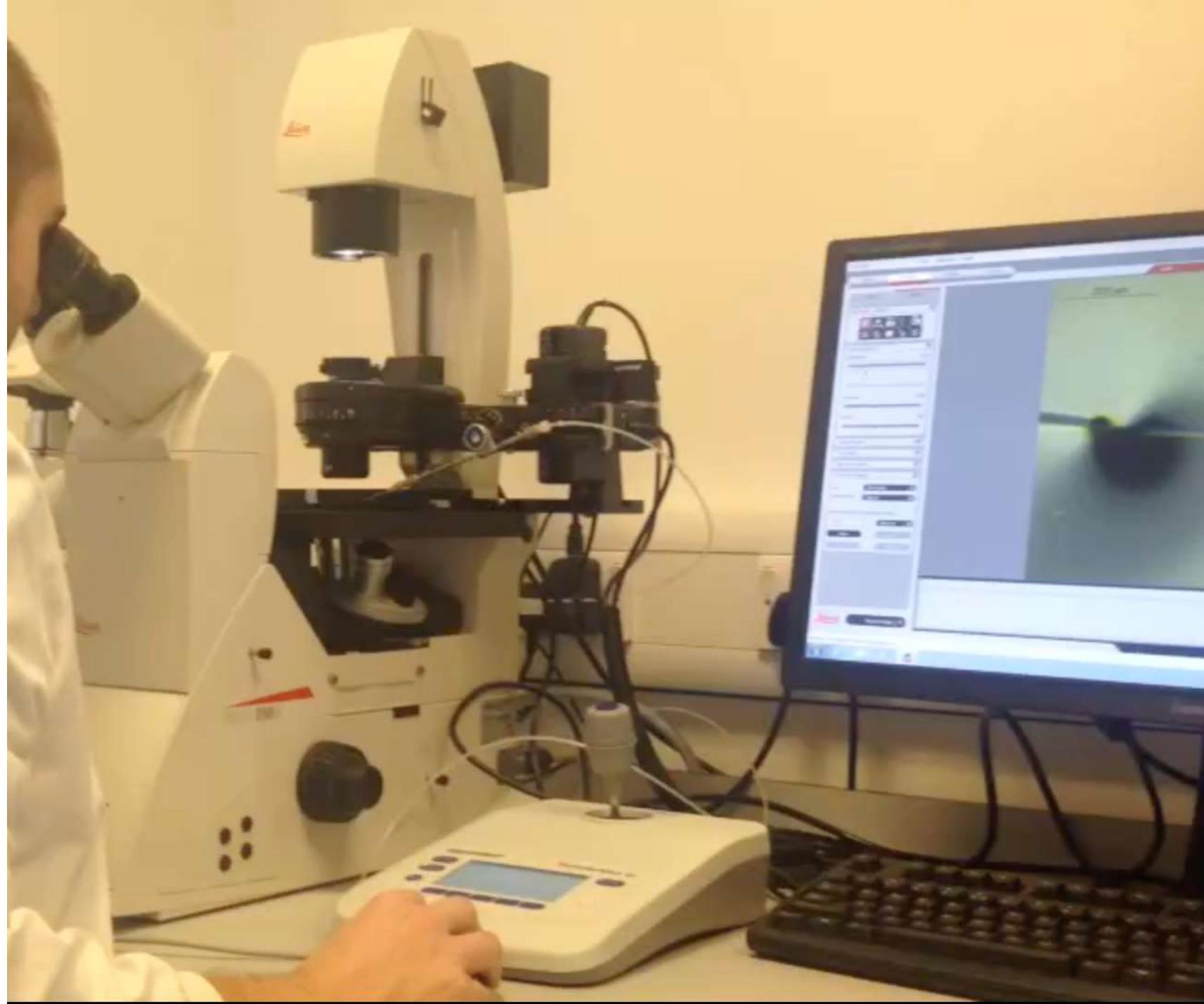
DESIGN de plasmides
et ARNg pour l'ajout
d'une GFP dans le
locus *M* par
CRISPR-Cas9

INJECTION

*d'embryons d'une
souche exprimant*

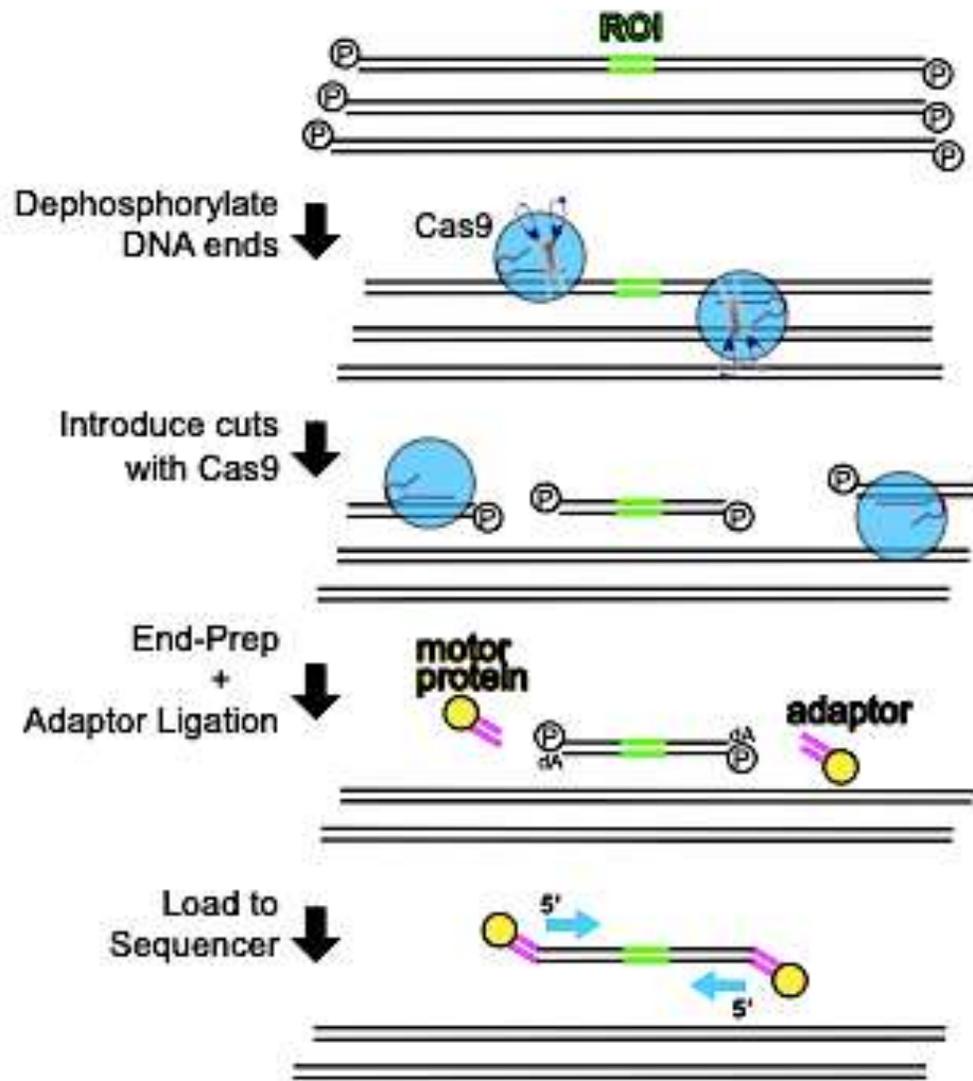
Cas9

âgés de moins de 2h





L'unique larve transgénique en G1 a donné naissance à une **GSS** !



A faire :

séquencer le site
d'insertion du
transgène par
nCATS

(Gilpatrick et al. 2019)

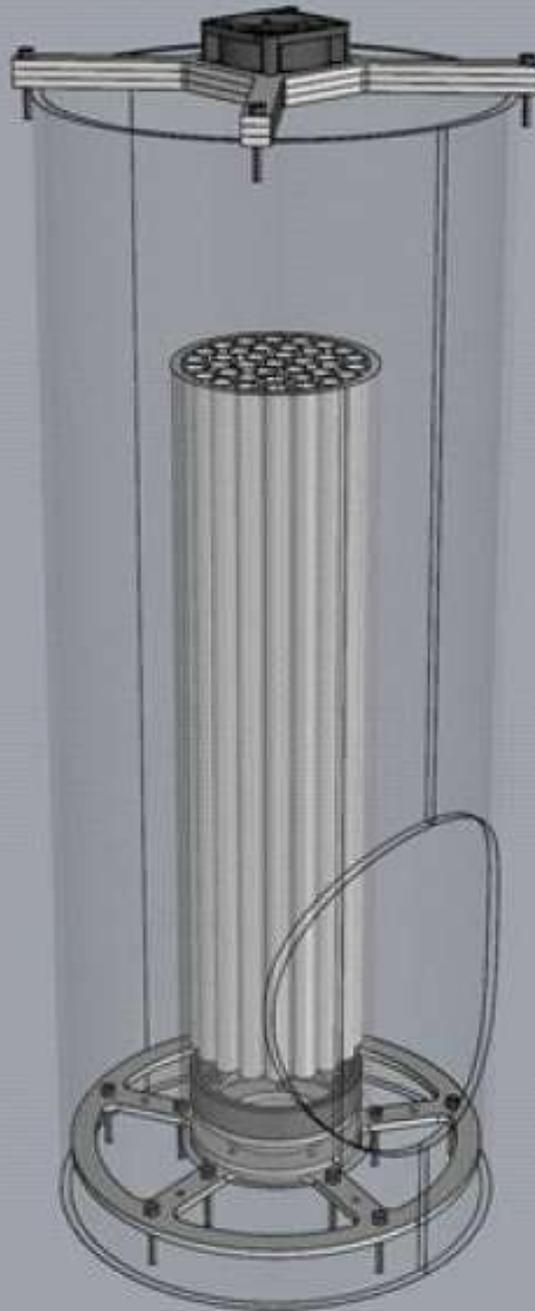
A faire :

test de compétitivité
des mâles
transgéniques avec le

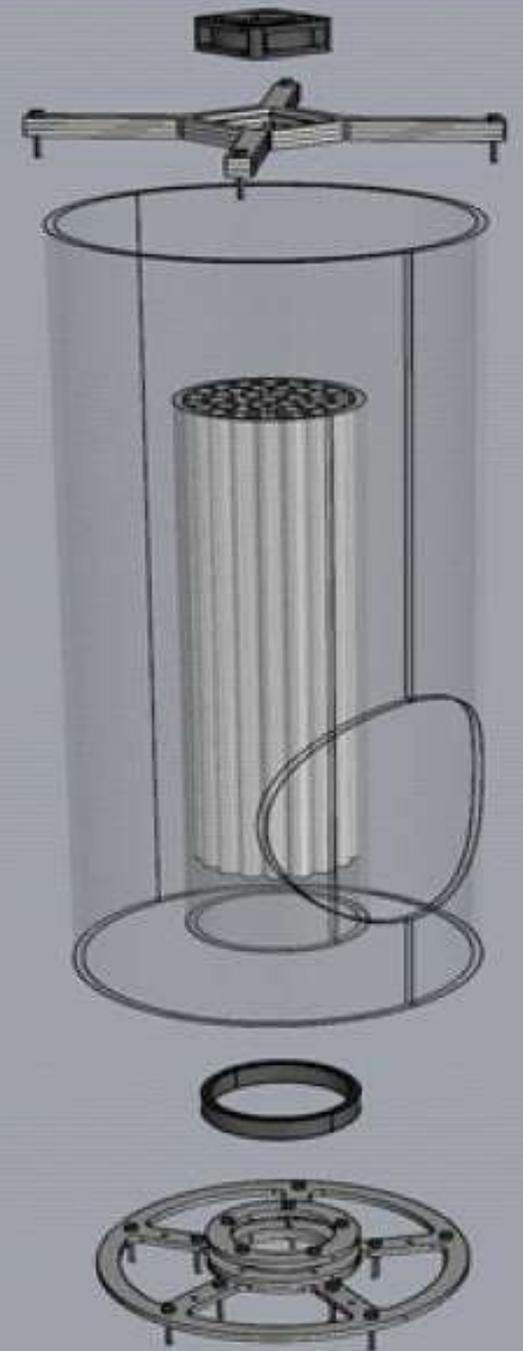
FLIGHT TEST DEVICE

(Culbert et al. 2018)

(A)

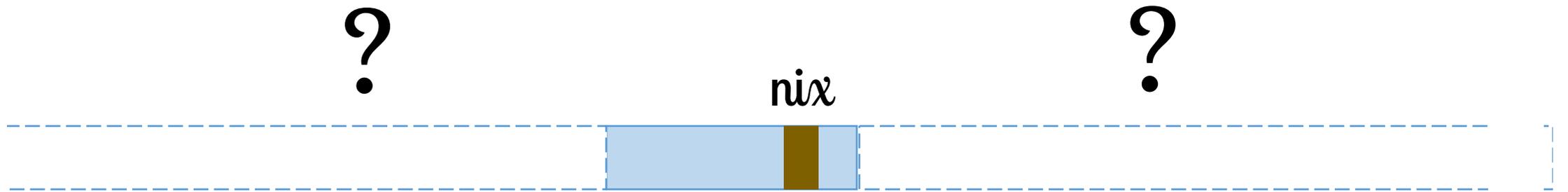


(B)

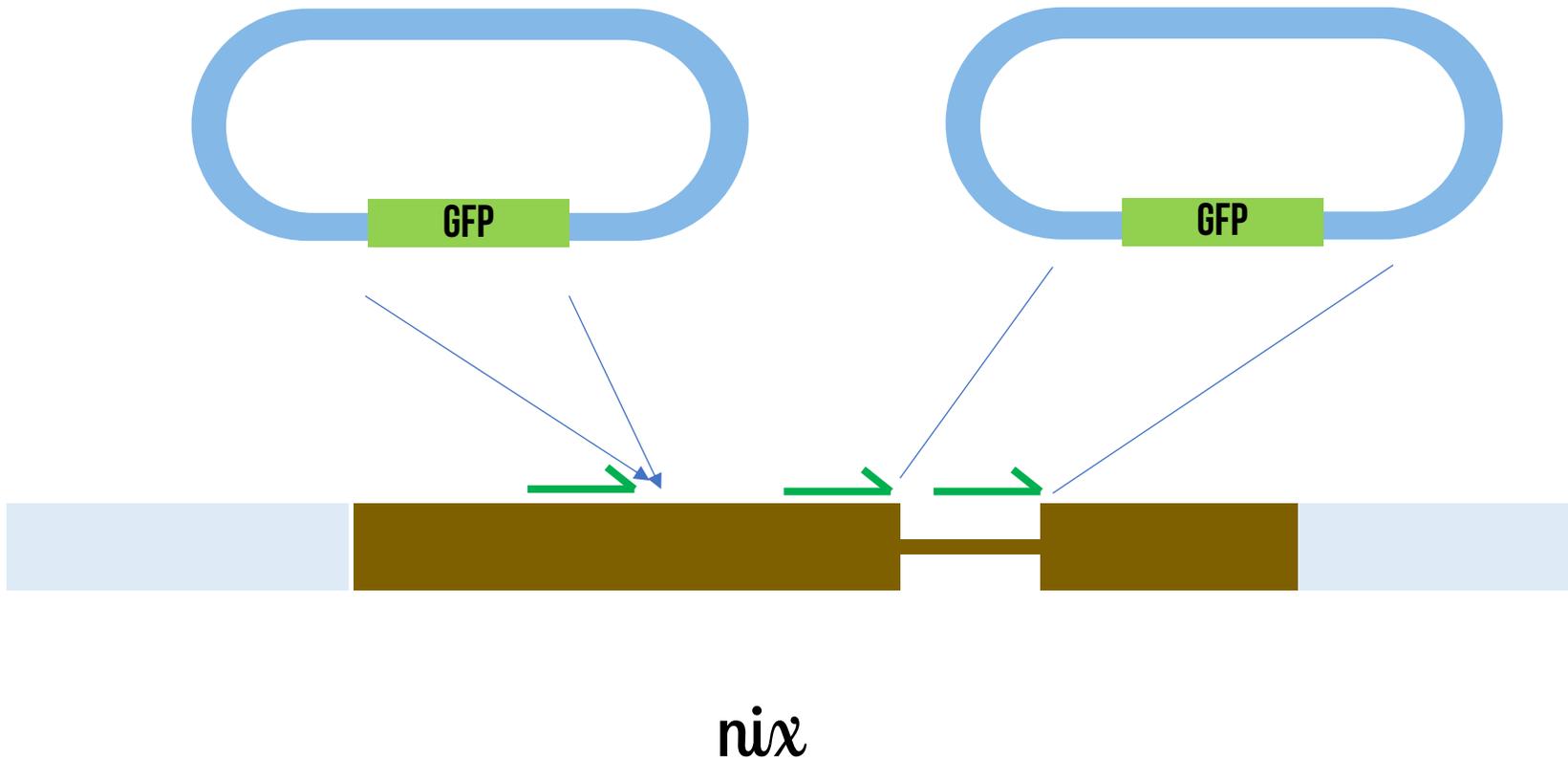




Lignée M
Aedes albopictus



*Chez *Ae. albopictus*, on connaît mal le M-locus*



DESIGN *et* **INJECTION**

de plasmides pour

insérer des

INTRONS ARTIFICIELS

codant une GFP

dans le gène *nix*

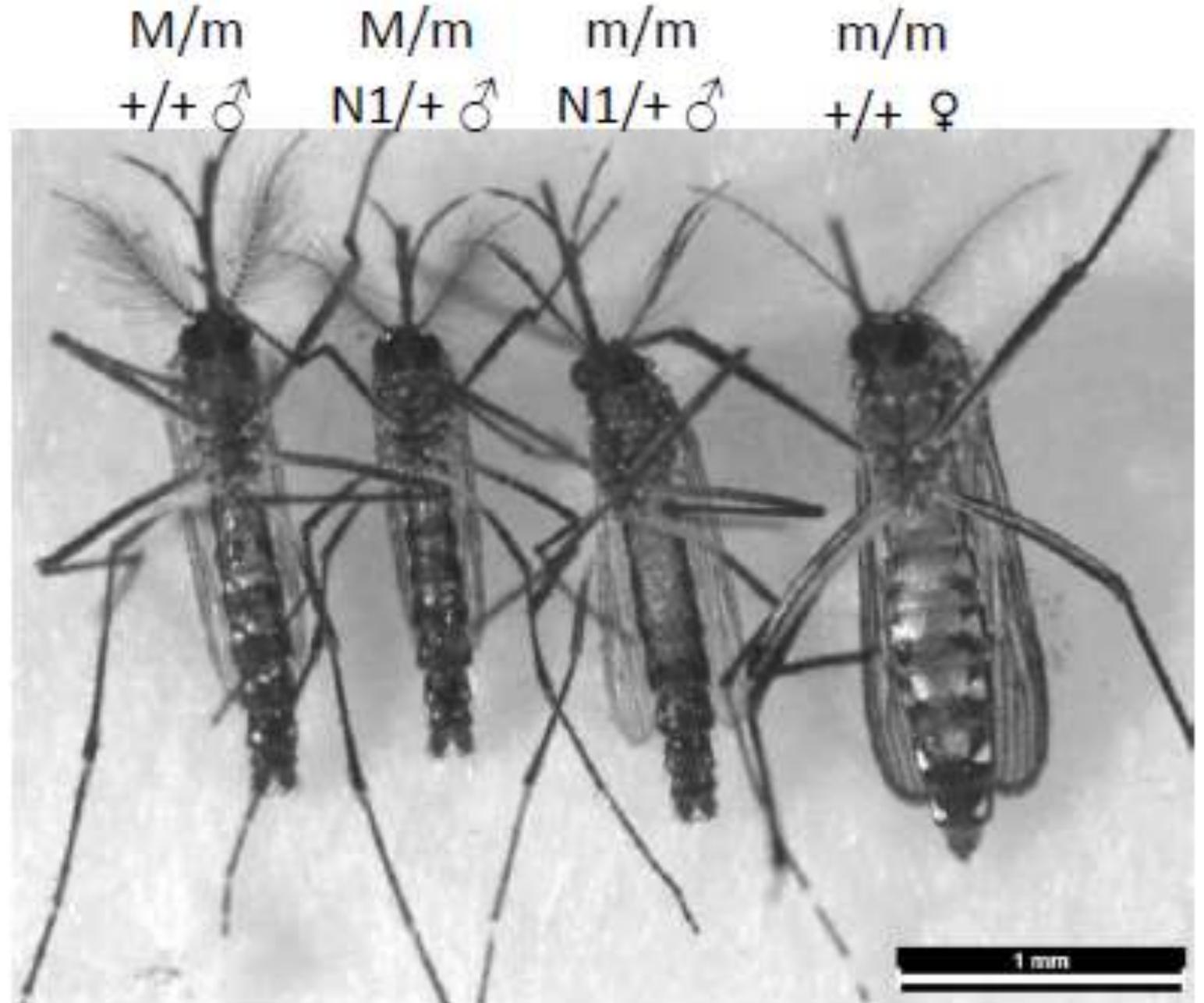
0 transgénique sur plus de 10 000 larves G1

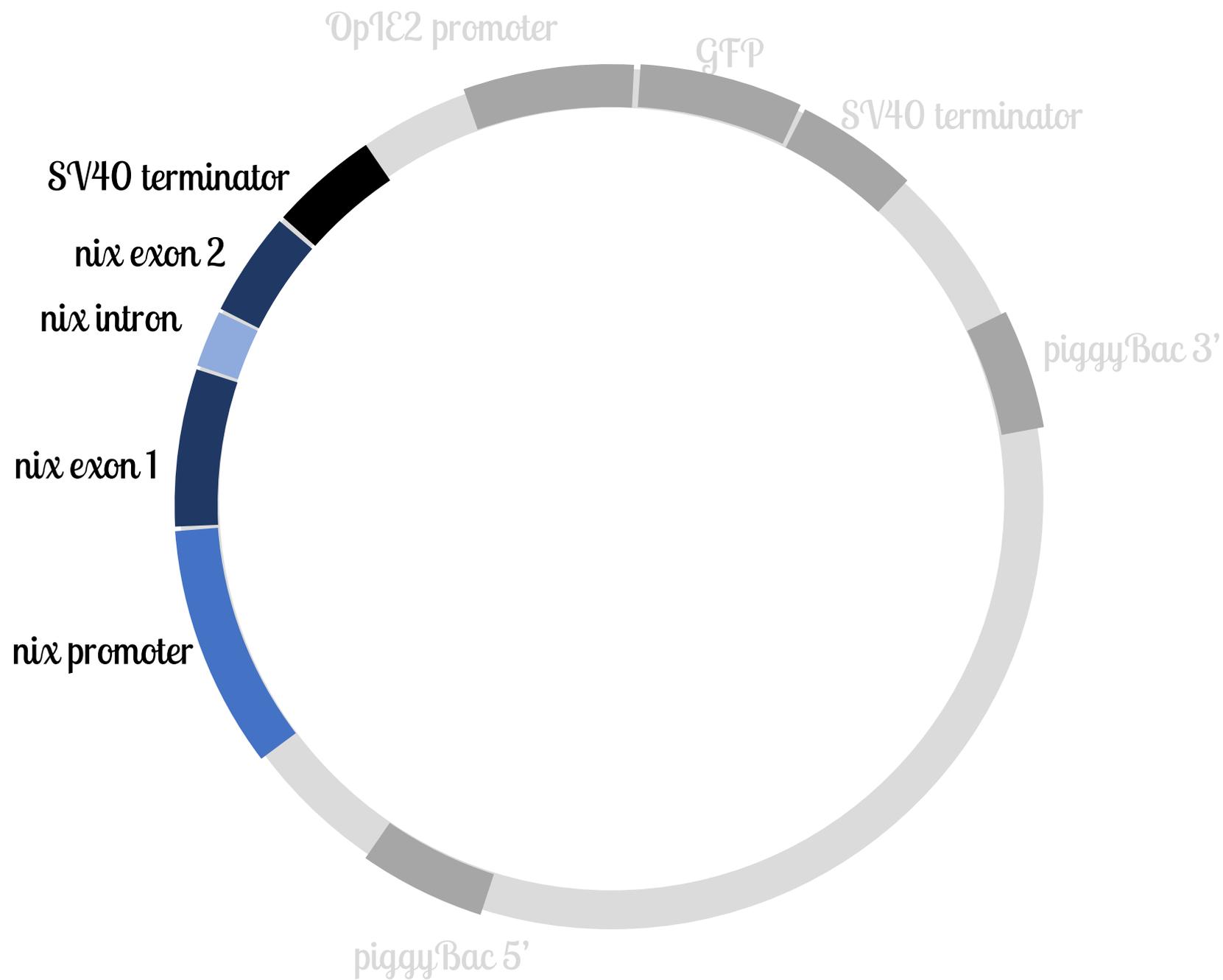


Lignée M

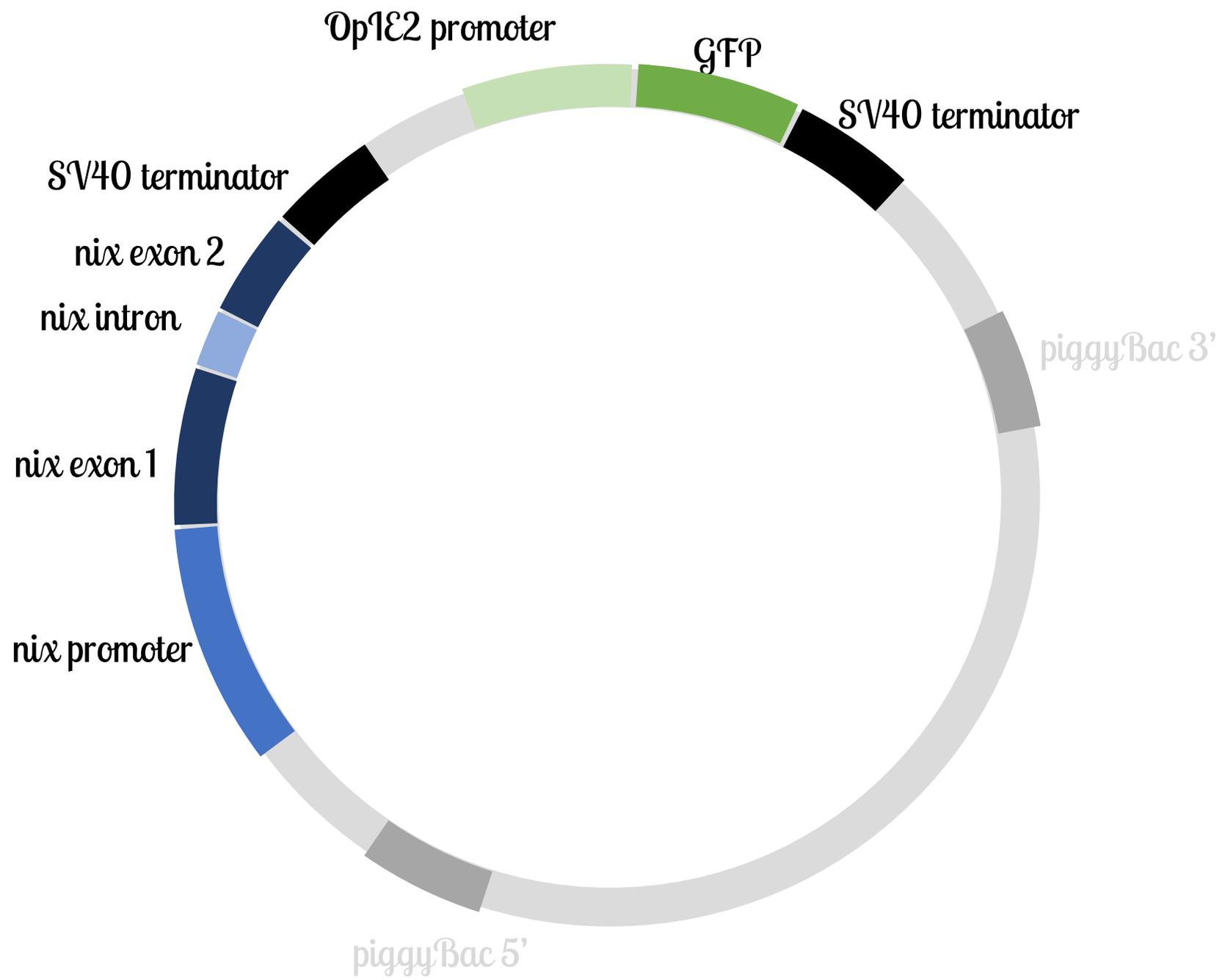
Etude du M-locus d'*Aedes albopictus*

Chez *Ae. aegypti*,
nix est **NÉCESSAIRE** et
SUFFISANT à induire
la masculinisation
(Aryan et al. 2018)

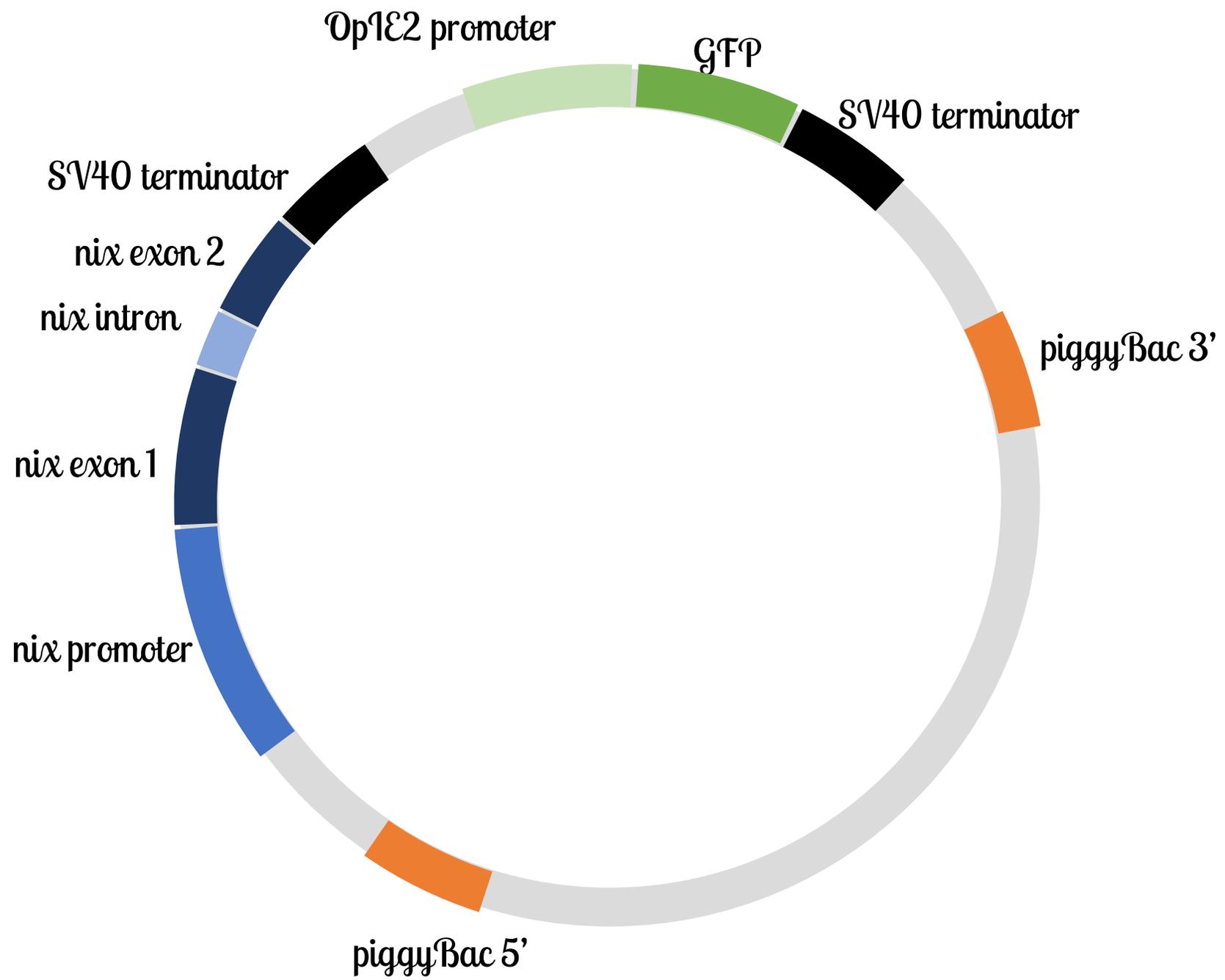




CONSTRUCTION et
INJECTION d'un
plasmide équivalent
pour *Ae. albopictus*



CONSTRUCTION et
INJECTION d'un
plasmide équivalent
pour *Ae. albopictus*



CONSTRUCTION et
INJECTION d'un
plasmide équivalent
pour *Ae. albopictus*

G1 : récupération des transgéniques

GFP+ males	GFP+ females
22	7*

Résultats intéressants en G1 et G2

G2 : caractérisation des transgéniques

Males		Females	
GFP+	GFP-	GFP+	GFP-
395	53	186*	149

On a plus de mâles
que de femelles
transgéniques

G1 : récupération des transgéniques

GFP+ males	GFP+ females
22	7*



x3

G2 : caractérisation des transgéniques

Males		Females	
GFP+	GFP-	GFP+	GFP-
395	53	186*	149



x2

* dont femelles avec déformations visibles

On a plus de mâles
transgéniques
que non-
transgéniques en G2

G1 : récupération des transgéniques

GFP+ males	GFP+ females
22	7*

G2 : caractérisation des transgéniques

Males		Females	
GFP+	GFP-	GFP+	GFP-
395	53	186*	149



x7

* dont femelles avec déformations visibles

G1 : récupération des transgéniques

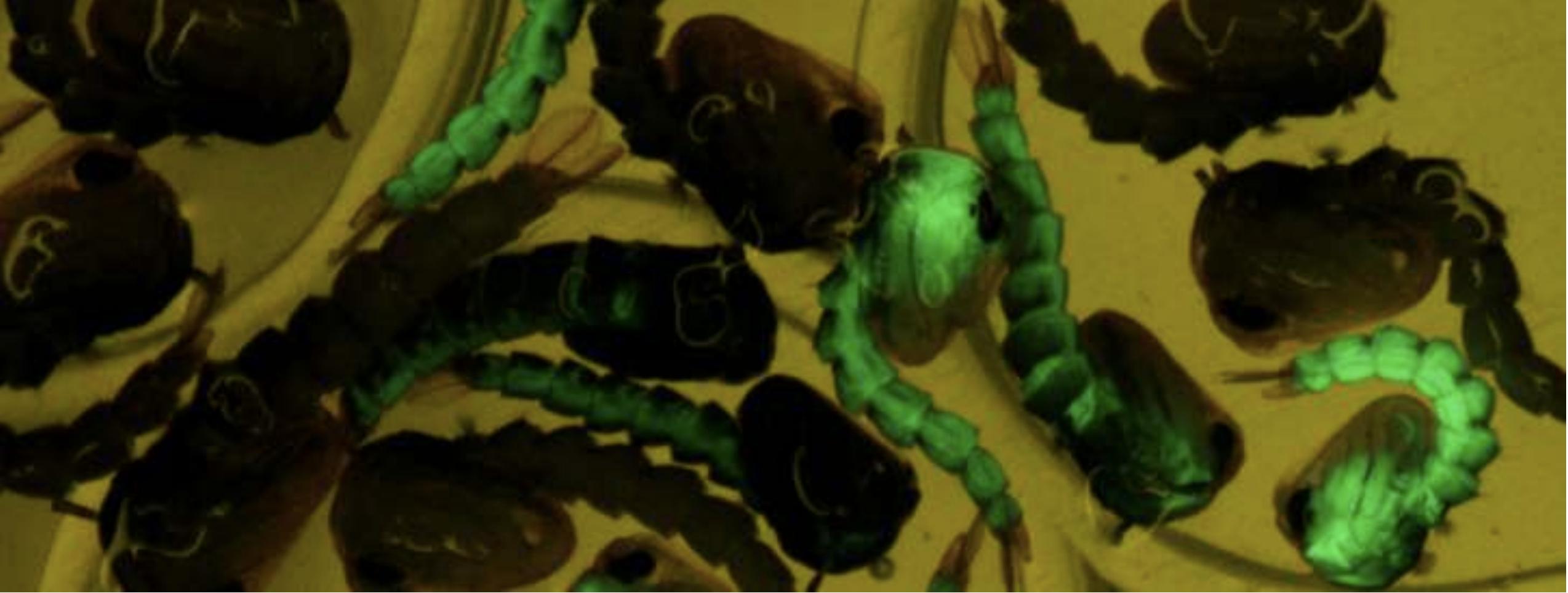
GFP+ males	GFP+ females
22	7*

On a des femelles
masculinisées ou
« malformées »

G2 : caractérisation des transgéniques

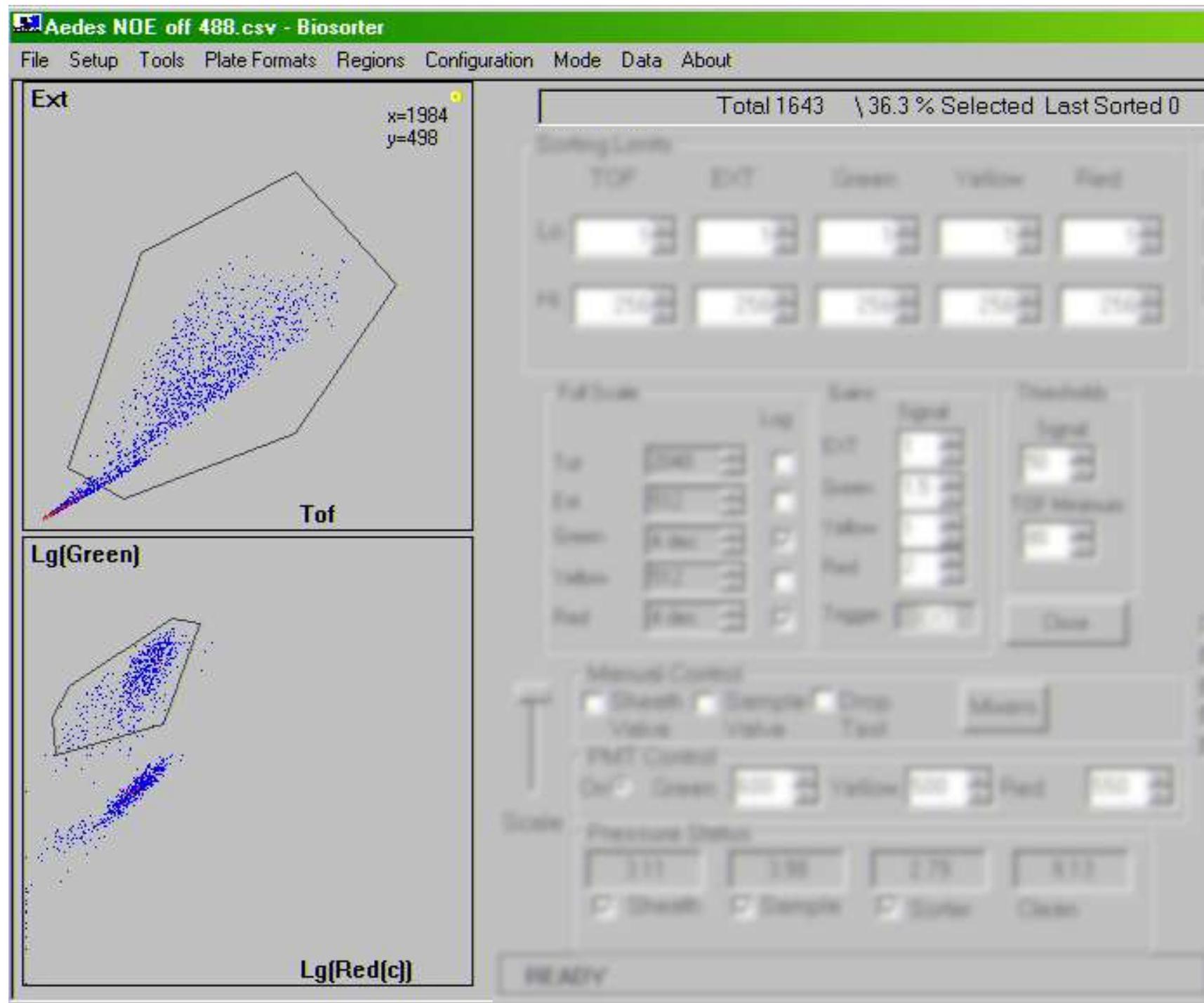
Males		Females	
GFP+	GFP-	GFP+	GFP-
395	53	186*	149

* dont femelles avec déformations visibles



En G3, obtention de plusieurs **LIGNÉES M-LINKED**

Ces lignées peuvent
être passées au
COPAS pour
récupérer des
MÂLES
TRANSGÉNIQUES

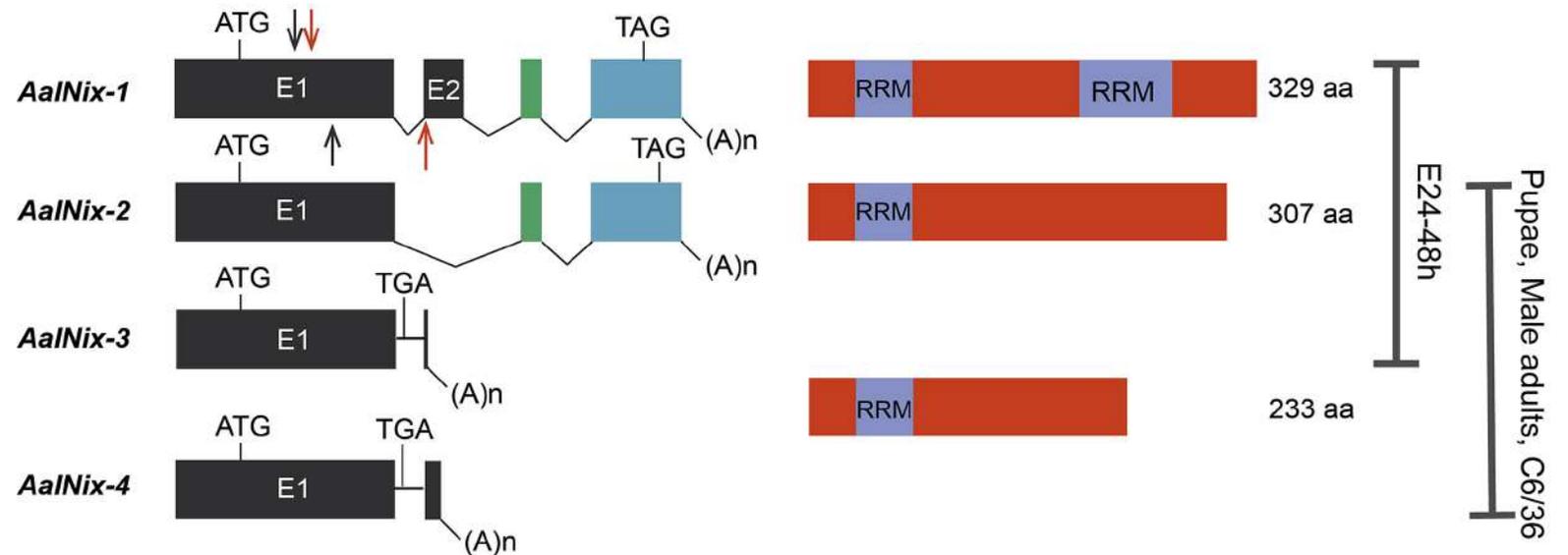


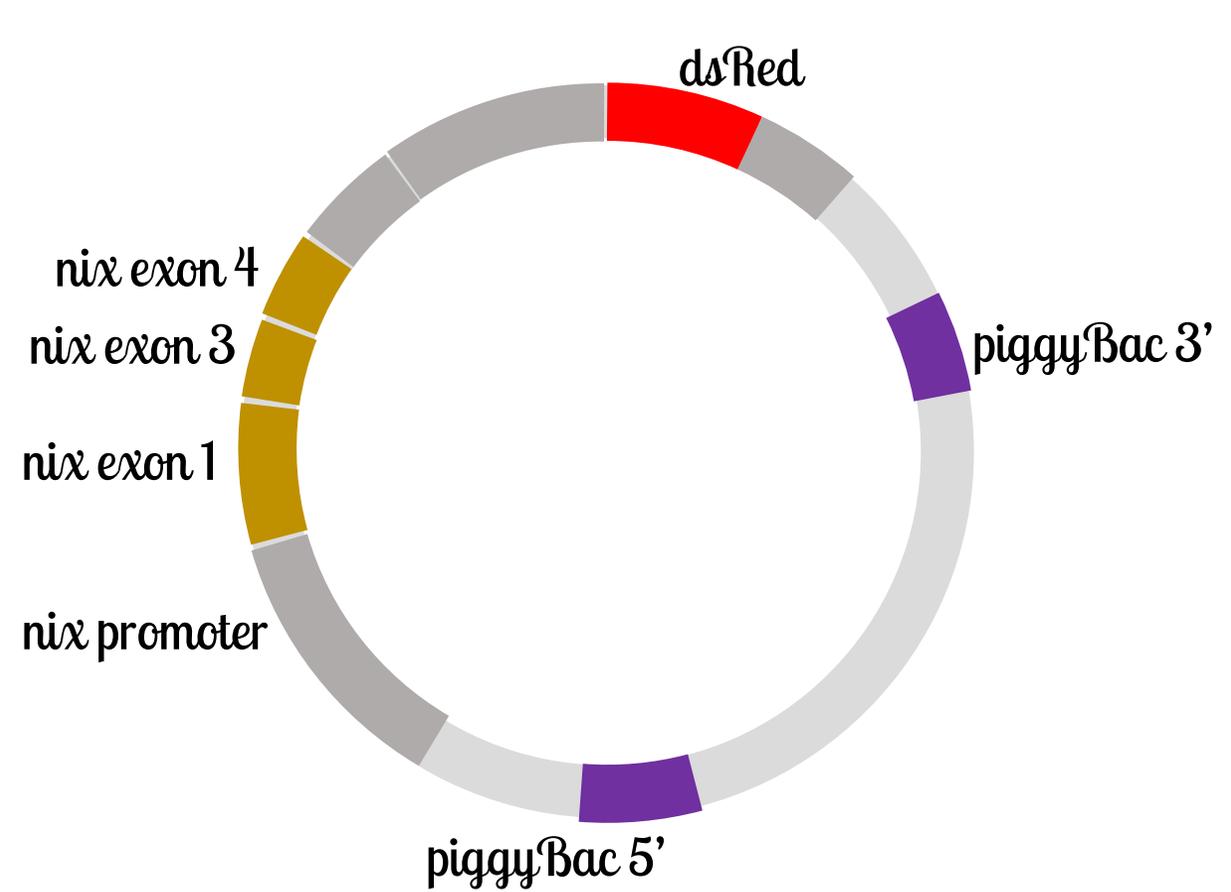
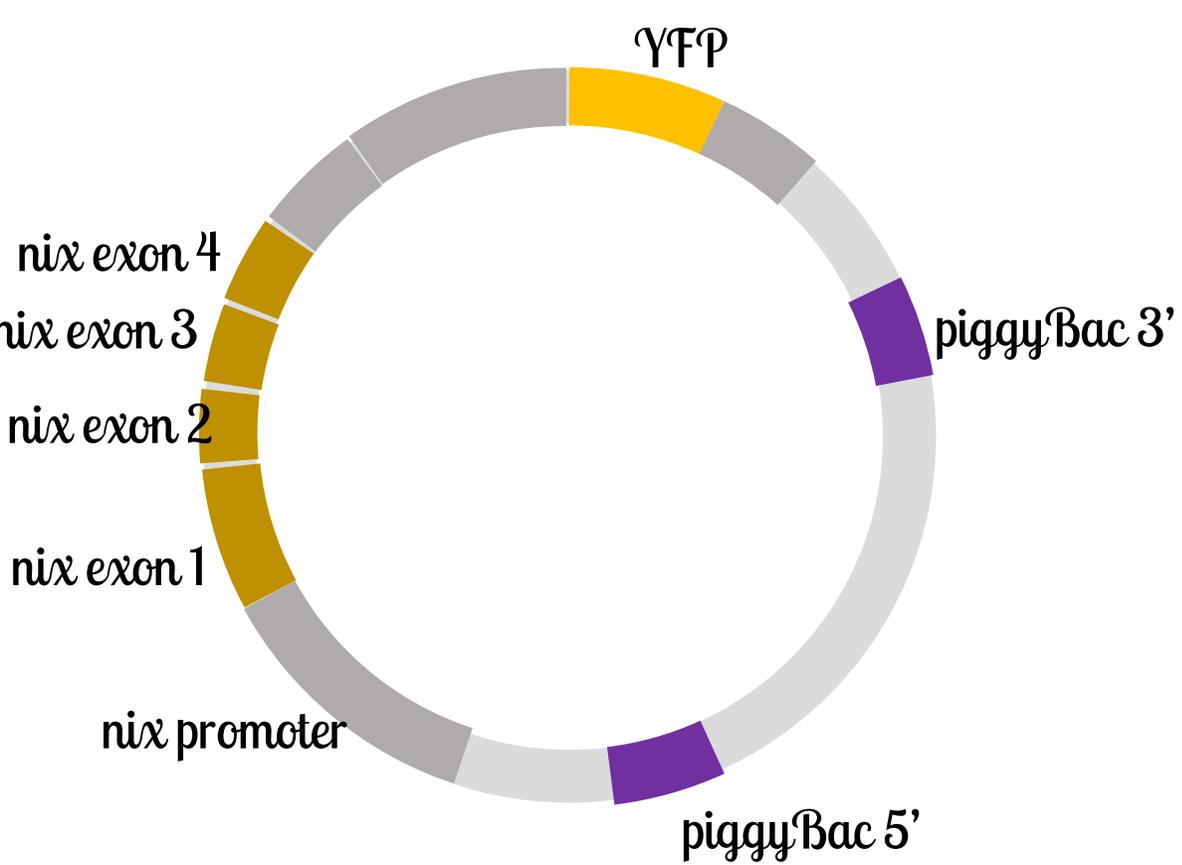


En G3, obtention de **LIGNÉES** partiellement **MASCULINISANTES**

Pendant ce temps ...
on a appris que *nix*
était plus complexe
qu'on le croyait !

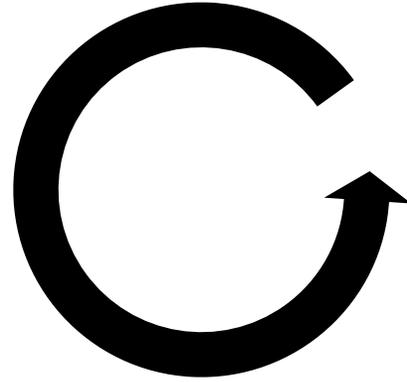
(Liu et al. 2020)





CONSTRUCTION et INJECTION de plasmides

permettant d'exprimer les autres isoformes de *nix*



Résultats en cours d'obtention



Lignées m



*Injections aléatoires de plasmides
codant différents gènes de fluorescence*

Chez *Ae. aegypti*,
sur env. 40 lignées,
aucune n'est
parfaitement
m/M-linked.

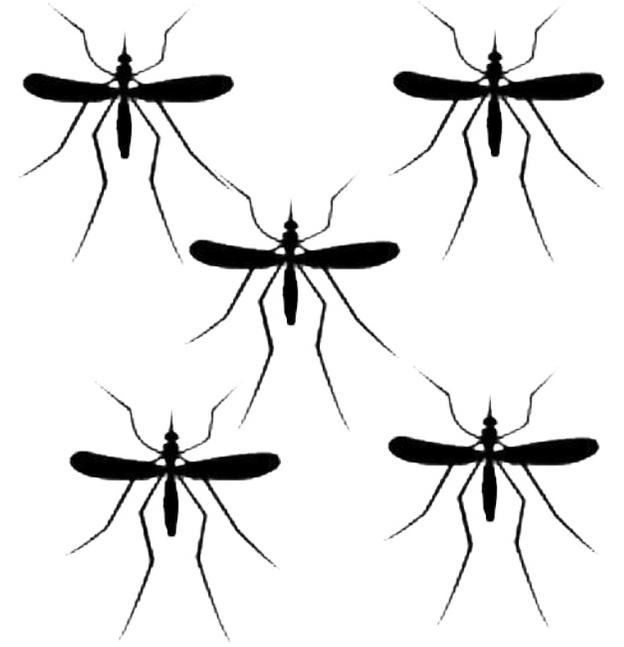
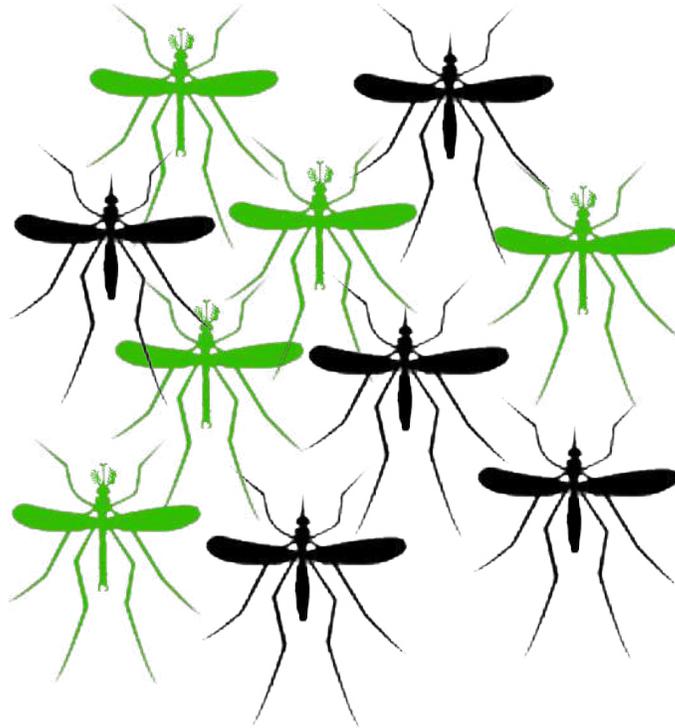


Chez Ae. albopictus,
sur >40 familles avec
plusieurs insertions
chacune :
2 souches m-linked
mais non exploitables
en l'état



Obtention de mâles non-transgéniques
Aedes albopictus

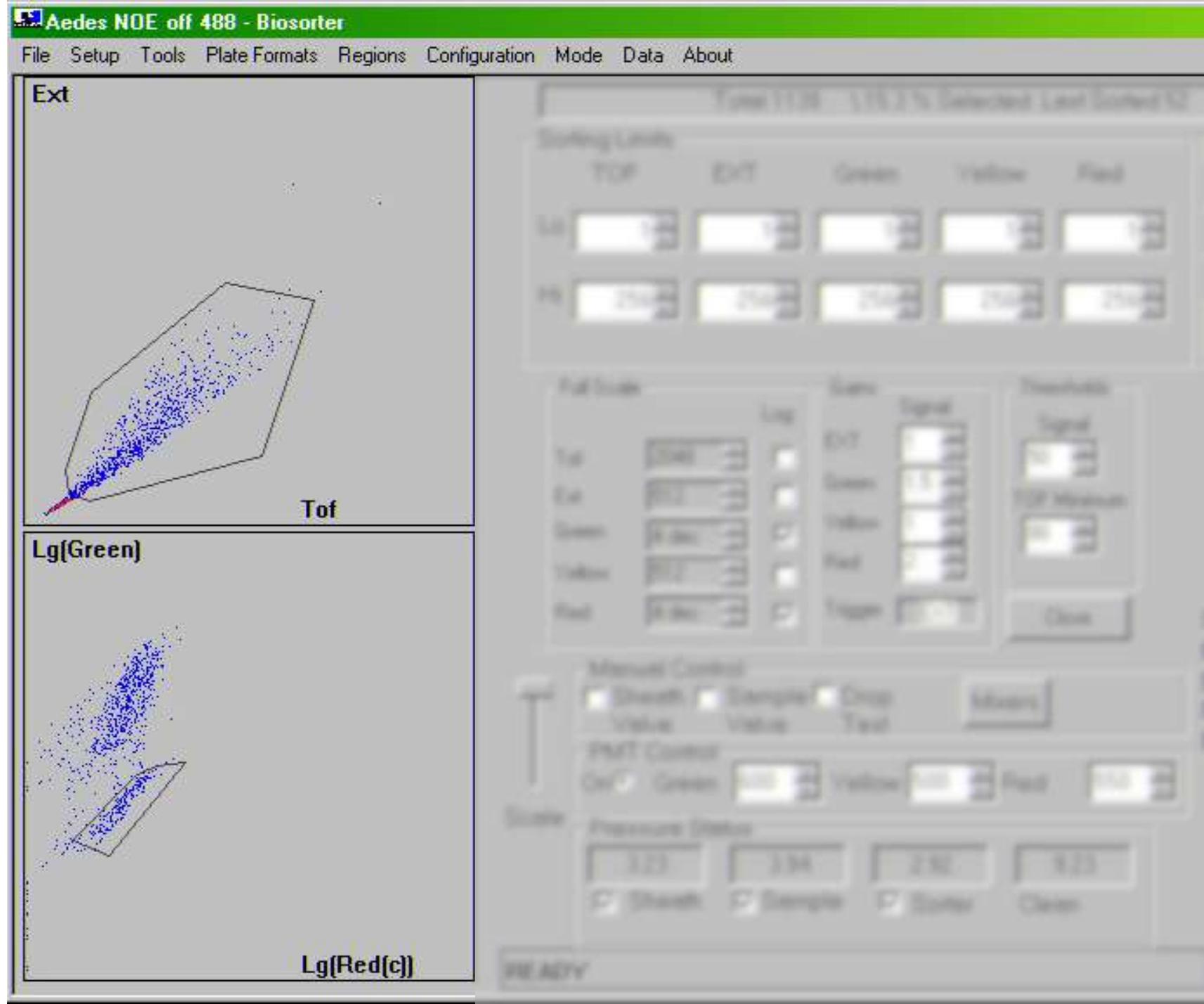
Avec une lignée M
on récupère
des femelles WT



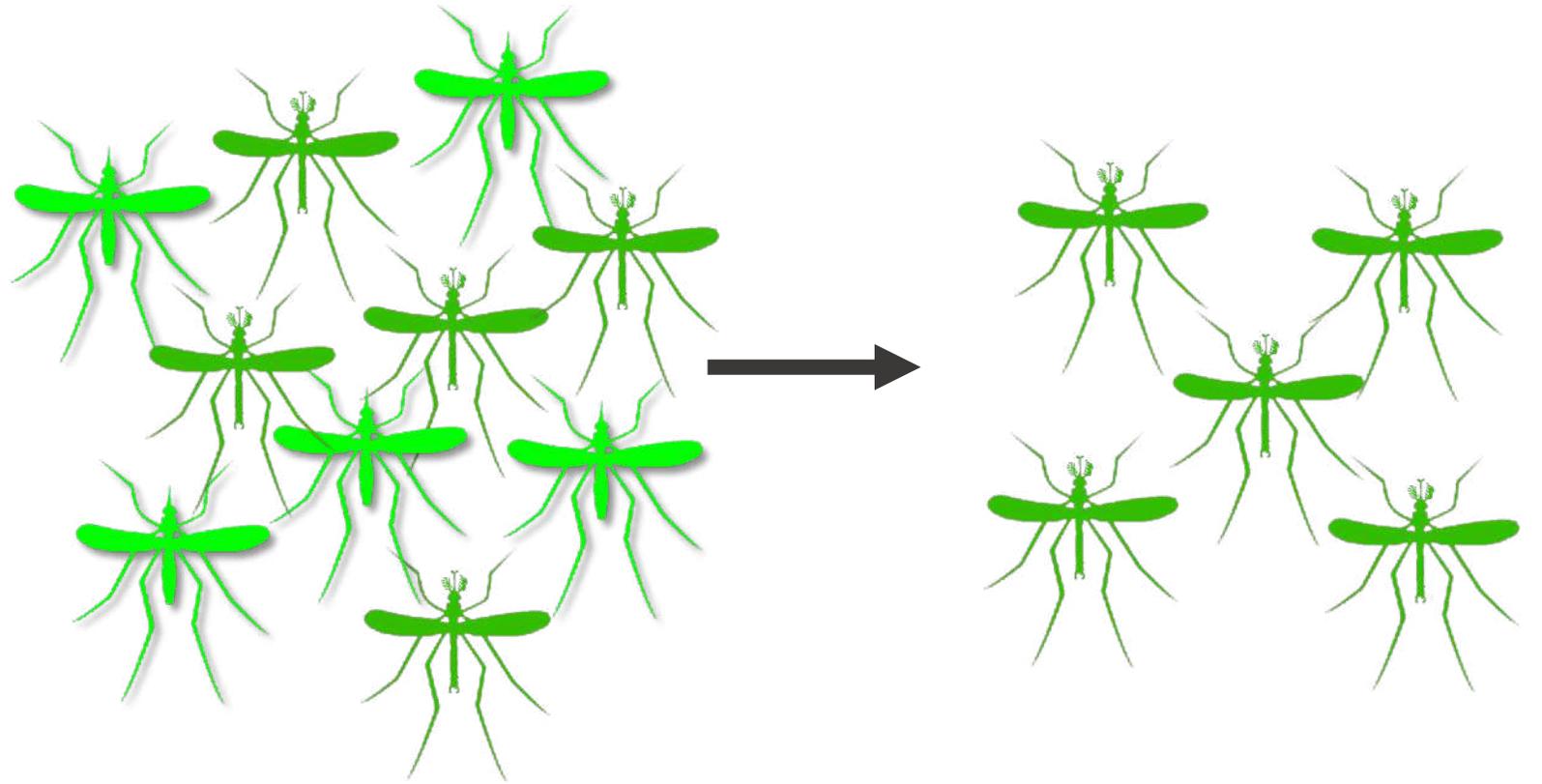
$mm + mM$

mm

On a utilisé SM12
pour récupérer des
femelles non-
transgéniques

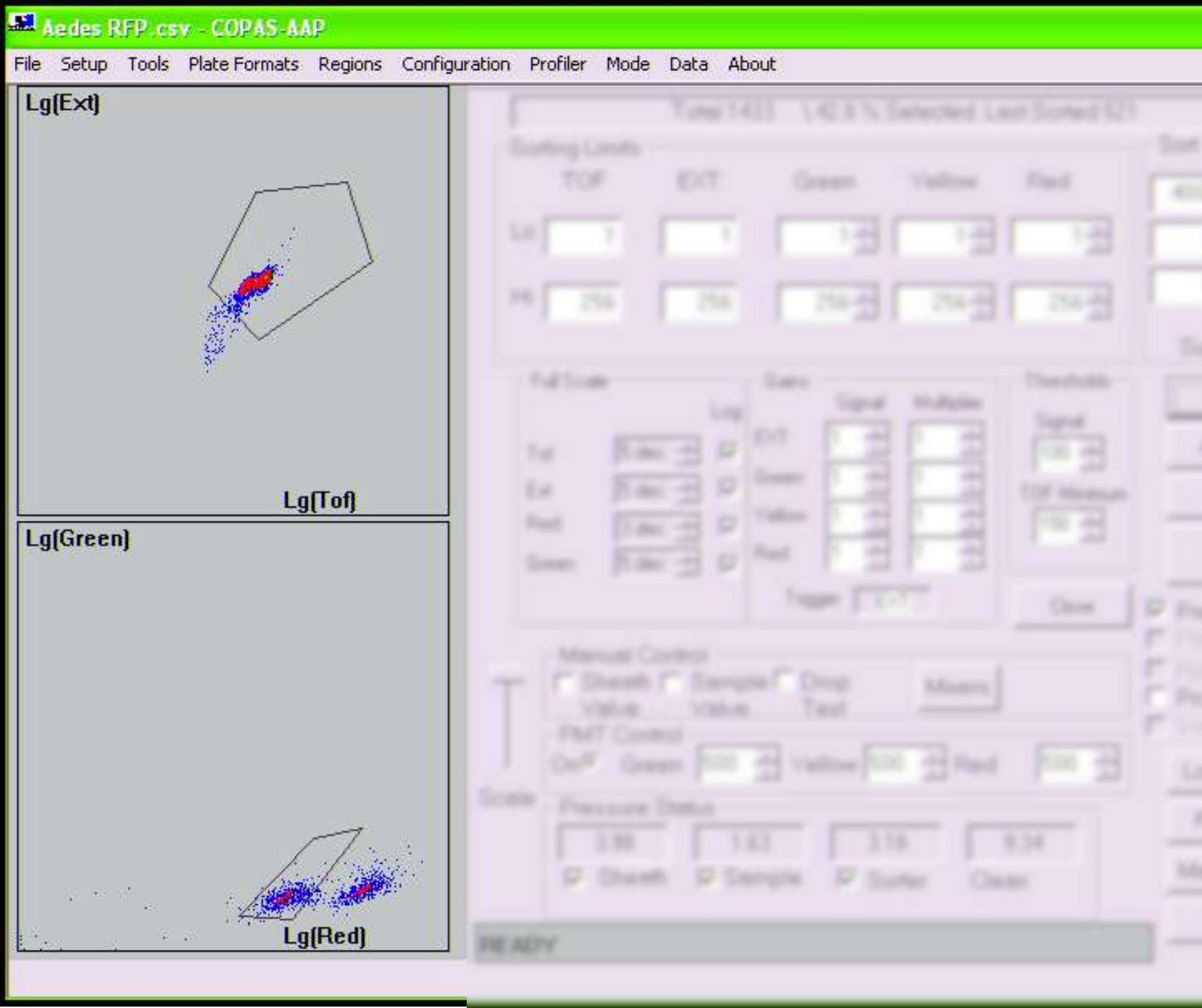


Avec une lignée m
on récupère des
mâles transgéniques



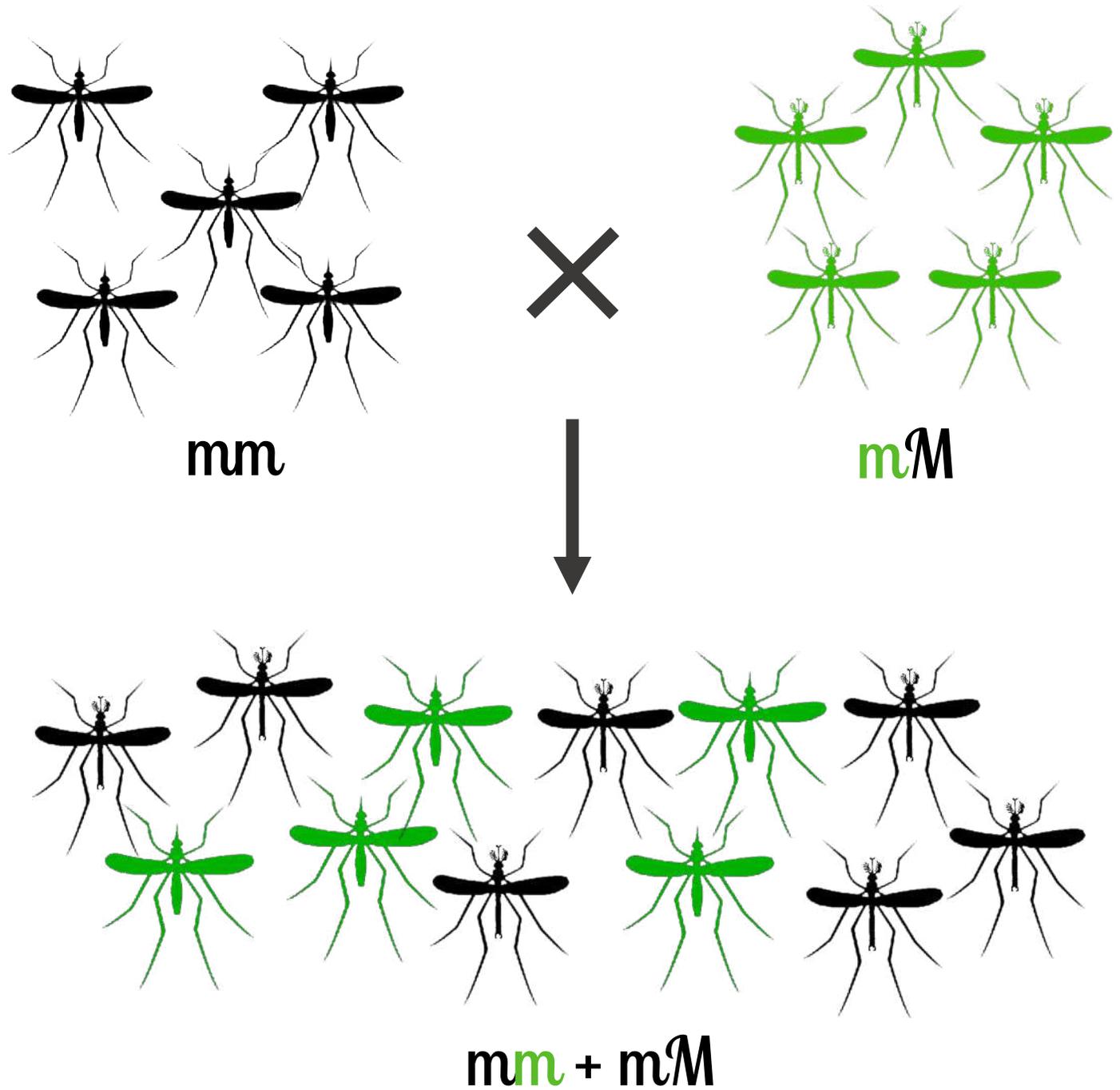
$mm + mM$

mM

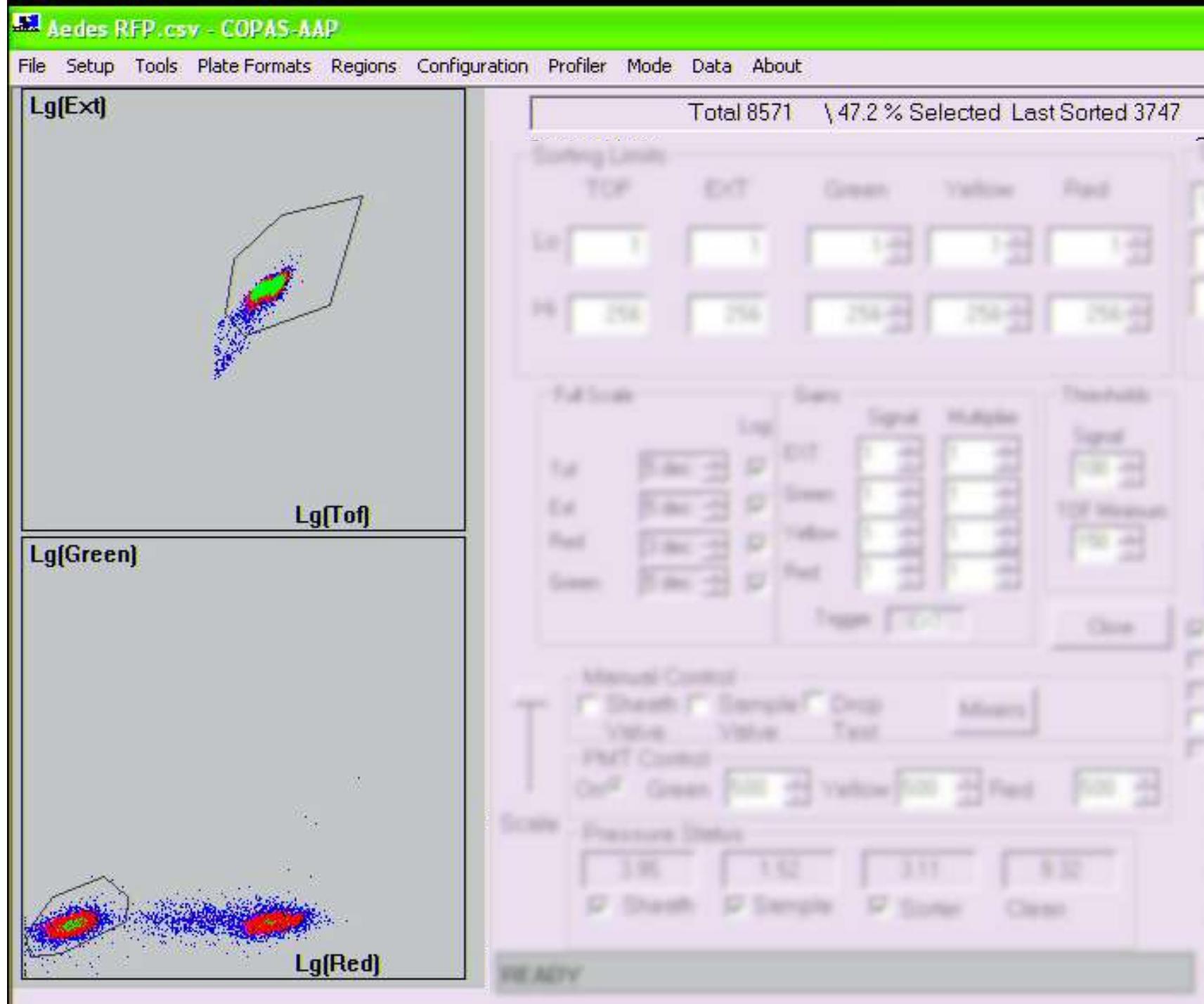


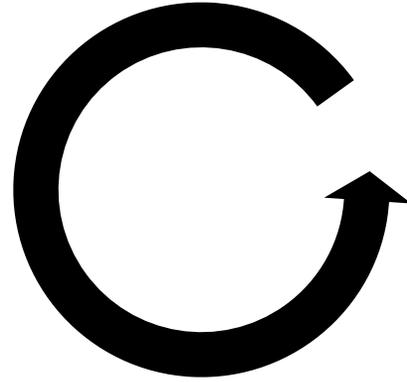
On a utilisé malbR9
pour récupérer des
mâles transgéniques

On croise les femelles
WT et les mâles
transgéniques



Dans leur
descendance,
on a obtenu env.
4000 mâles
non-transgéniques



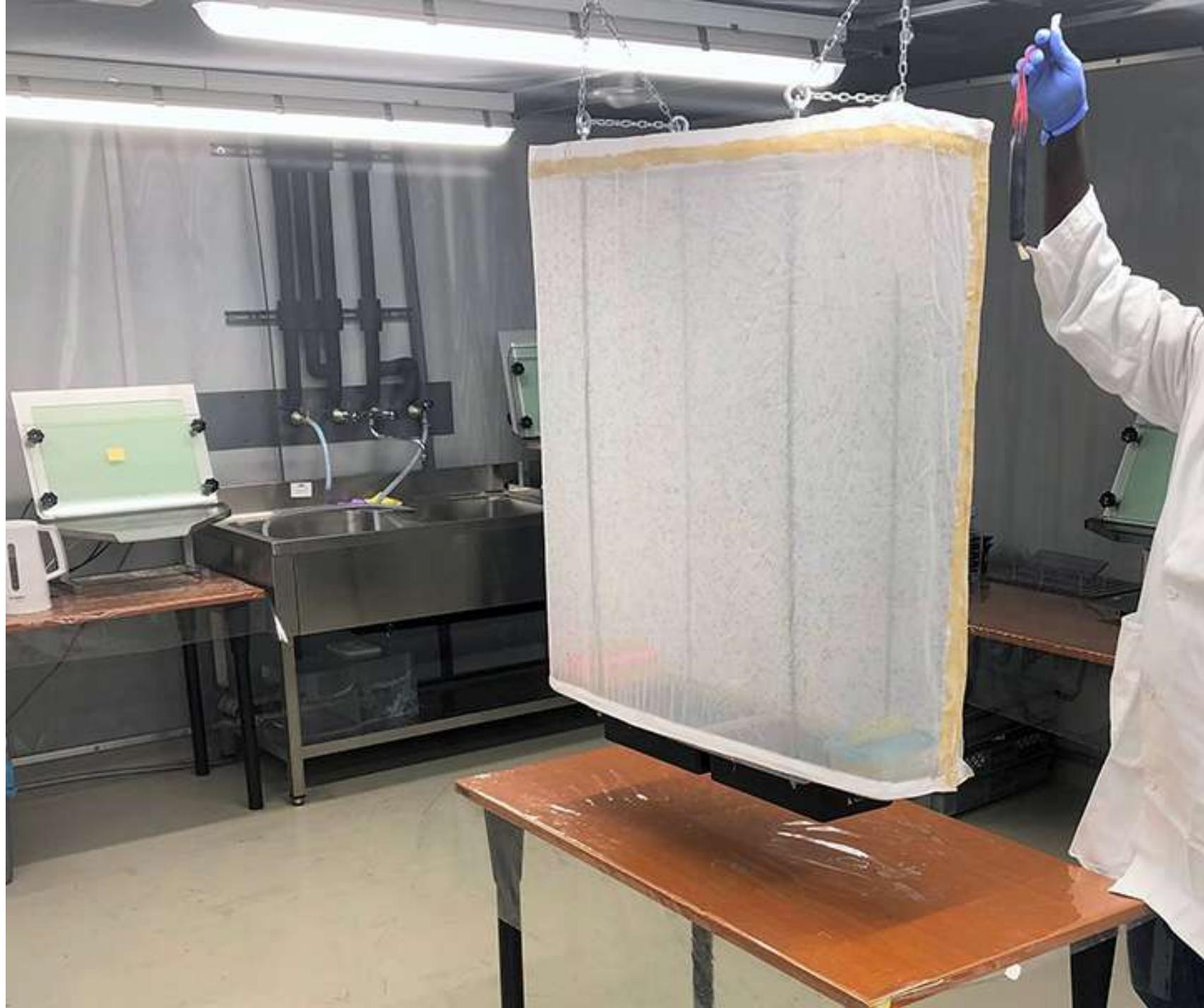


Résultats en cours d'obtention

A faire :

*tester les
performances en
conditions*

d'ÉLEVAGE DE MASSE



REMERCIEMENTS



UMR ASTRE

En particulier :

J. Bouyer
T. Baldet



UMR M3I

En particulier :

E. Marois
S. Blandin



Pour votre invitation, votre
accueil et votre attention



Développement de souches de SEXAGE
pour les moustiques du genre AEADES

Célia LUTRAT
Doctorante

celia.lutrat@cirad.fr