

Meeting Report – Turin, 3 & 4 may 2018

Genes (relative quantification)

Harmonisation par les Cq des calibrateurs puis modification du threshold

- Envoyé un fichier avec les Cq du calibrateur /target. Faire une moyenne (ou médiane ?) des Cq/target. Estimer la normalité des données. Voir la distribution des écarts à la loi normale des données (dans l'hypothèse où nos valeurs suivent une loi normale). Pour les calibrateurs estimés trop éloignés de la loi normale, modifier la valeur du Cq dans le fichier de calcul (en bougeant le threshold, à faire pour chaque target) et recalculer les deltaCq des échantillons de la plaque en question (a priori pas d'harmonisation générale, à voir en fonction des observations d'André) ;
N.B. : En France, réplica technique/plaque/target donc on enverra 2 valeurs. En Italie, 1 seule valeur/plaque/target (voir fichier en pièce jointe) ;

Virus (absolute quantification)

Ne pas faire d'harmonisation entre plaques (= ne pas toucher au threshold). Harmonisation des échantillons par les standard curves de chaque target sur chaque plaque

- Envoyé un fichier avec les Cq des témoins négatifs/target. Faire moyenne des Cq/target pour déterminer le seuil positif/négatif (ce seuil pourrait être différent selon les target). On verra plus tard pour les échantillons « undertermined » ou « 0 » si on leur donne la valeur du (des) seuil(s) positif/négatif déterminé(s) ;
- Envoyé un fichier avec les Cq des différentes dilutions de chaque standard + la droite de régression linéaire (a et b) + R^2 (voir fichier en pièce jointe). Voir s'il y a une dégradation des standards dans le temps (sur 3 ans) et éventuellement appliquer sur l'ensemble des plaques un coefficient de correction sur a et b (pourrait être différent selon les target) ;
- $R^2 \geq 0.95$ sinon refaire une nouvelle plaque avec un nouvel aliquote du standard en question ;
- Garder au minimum 5 dilutions pour tracer la droite de régression linéaire sinon refaire la plaque ;
- Si les Cq des répliques biologiques sont « aberrants », regarder les Cq des gènes pour ces mêmes échantillons. Si ces derniers sont bons, alors on ne repasse pas les échantillons en qPCR ;

N.B. : les puits vides ont une incidence sur le threshold et donc sur les Cq déterminées par l'appareil (à moins que le contenu des puits vides ne soit pas spécifié au logiciel CFX par un design de plaque; dans ce cas le seuil est défini par les courbes d'amplification des dilutions des standards).

Au vu des différentes choses à vérifier, nous avons décidé de ne plus remplir les fichiers finaux de Lucie pour le moment. Côté français, nous devons finir la biologie moléculaire de V5. Ce laps de temps (≈ 2 mois) nous permettra de prendre des décisions sur ce que l'on fait et quelles modifications on doit apporter aux fichiers finaux.

Nouvelles idées

Le groupe virus de Turin a proposé de conduire des essais préliminaires pour l'analyse de l'expression du gène dorsal 1-a qui est un marqueur de l'état de la réponse immunitaire de l'abeille et qui est, à son tour, lié à la réplication du Deformed Wing Virus. Après la discussion que l'on a eue sur la compatibilité du plan expérimentale des échantillonnages d'Innov'Api avec l'analyse de ce gène, il a été décidé de faire un petit essai préliminaire à Turin. Les résultats seront communiqués aussitôt qu'ils seront disponibles (les échantillons 2017 vont être analysés avant et après les traitements anti-varroa).

Reminders

Vitellogenin, AdipoKinetic Hormone receptor, Insulin Receptor 1: humoral immunity (=adaptive)

Vg: regulate lifespan; improve the health of honey bees. Anti-inflammatory and antioxidant properties.

Synthesized protein assembled and stored in fat body then released into the haemolymph to attach to the oocytes (queen) or the hypopharyngeal glands (foragers) then transformed and excreted into food secretions for larval feeding.

- decline with age : immune senescence, susceptible to oxidative stress

AKHr: receptors localized to the fat body. Mobilize of energy reserves from the fat body (carbohydrate, lipid), needed to fuel the high physical activity (flight, locomotion) = physiological responses to stress

- increase with age

InR1: influences food-choice, eating behaviors, role in regulation of worker social insect behavior.

- increase with age : foraging behavior induced by increase of AKHr. Foragers collect nectar (carbohydrate). Hypoglycemic effect (little known mechanisms).