

Jeudi 19 Mars 2020

Pôle Physique, Amphithéâtre Recherche

Campus des Cézeaux

8H45



# JOURNEE DES DOCTORANTS DU LMGE 8EME EDITION

VIRGINIE ROUGERON : AFRICAN GREAT APES  
PLASMODIUM VIVAX-LIKE GENOMICS SHED NEW  
INSIGHTS INTO HUMAN PLASMODIUM VIVAX EVOLUTION

  
UNIVERSITÉ  
Clermont  
Auvergne



Laboratoire

Microorganismes :

Genome

of Environnement



## Journée Des Doctorants du LMGE – 8ème édition

### Programme

8h45	Ouverture de la 8ème édition des JDD du LMGE
9h-10h	African great apes <i>Plasmodium vivax</i> -like genomics shed new insights into human <i>Plasmodium vivax</i> evolution – <b>Rougeron Virginie</b>
10h-10h30	Pause-café
10h30-11h	Réémergence virale épidémique : coxsackievirus A6 et entérovirus A71 de la maladie pied-main-bouche aux atteintes neurologiques sévères – <b>Tomba Ngangas Stéphanie</b>
11h-11h20	Importance écologique des interactions entre bactéries phototrophes anoxygéniques et plantes terrestres dans différents écosystèmes – <b>Vergne Antoine</b>
11h20-11h40	Caractérisation microphysique et bio-chimique des nuages précipitants et impact sur la dynamique du phytoplancton – <b>Noirmain Fanny</b>
12h-14h	Pause repas
14h-14h20	Development of a multicellular model of the cerebral microvascular endothelial interface for the functional study of enterovirus neurovirulence – <b>Lopes-Coqueiro Igor</b>
14h20-14h40	Les diatomées, modèles d'organismes pour étudier et décrypter le transfert de radionucléides dans les biocénoses dont la radioactivité est issue d'une activité humaine ((TE)NORM) – <b>Baker Lory-Anne</b>
14h40-15h	Système de sécrétion de type VI chez <i>Klebsiella pneumoniae</i> : dialogue moléculaire et/ou arme antibactérienne – <b>Merciecca Thomas</b>
15h-15h20	Developing a Skin-like Model to Study the Pathogenesis of Hand, Foot and Mouth Disease (HFMD) – <b>Bondarabadi Mahya</b>
15h20	Clôture de la 8ème édition des JDD du LMGE – Pause-café

## **African great apes *Plasmodium vivax*-like genomics shed new insights into human *Plasmodium vivax* evolution**

Rougeron Virginie

UMR IRD 224-CNRS 5290-Université de Montpellier

MIVEGEC : Maladies Infectieuses et Vecteurs : Ecologie, Génétique, Evolution et Contrôle

virginie.rougeron@ird.fr

Although *Plasmodium vivax* is responsible for the majority of malaria infections outside Africa, little is known about its evolution and pathway to humans. Its closest genetic relative, *Plasmodium vivax*-like, was discovered in African great apes and is hypothesized to have given rise to *P. vivax* in humans. To unravel the evolutionary history and adaptation of *P. vivax*, we generated using long and short read sequence technologies. Through technical accomplishment, two new genomes of *P. vivax*-like and further additional draft sequences were obtained. Phylogenetic analyses clearly show that *P. vivax*-like parasites form a genetically distinct clade from *P. vivax*. Concerning the relative divergence dating, we show that the evolution of *P. vivax* in humans did not occur at the same time as the other human malaria agents, thus suggesting that the transfer of Plasmodium parasites to humans happened several times independently over the history of the Homo genus. We further identify several key genes that exhibit signatures of positive selection exclusively in the human *P. vivax* parasites. We then demonstrate that some gene families important for red blood cell (RBC) invasion (a key step of the life cycle of these parasites) have undergone lineage-specific evolution in the human parasite (e.g. Duffy Binding and Reticulocyte Binding Proteins). The genome-wide analysis performed provides new insights into the biology and adaptive evolution of *P. vivax* to different host species. We also recently developed the larger population genomic study of *P. vivax* that showed the existence of not one but two *P. vivax*-like species circulating in African great apes and allowed us to obtain new evidences for an Asian origin of the current human *P. vivax* parasites. Future studies will focus on functional genomic of such parasite ligands in order to unravel their species-specific evolution.

# **Réémergence virale épidémique : coxsackievirus A6 et entérovirus A71 de la maladie pied-main-bouche aux atteintes neurologiques sévères**

Tomba Ngangas Stéphanie, LMGE EPIE

Directeurs de thèse : Mirand Audrey et Bailly Jean-Luc

3ème année

Mots clés : Émergence virale, Entérovirus A, Recombinaison génétique, Pathogénicité

Les entérovirus (EV) humains sont des virus entériques de la famille des *Picornaviridae* ; classés en quatre espèces taxonomiques (A à D). Les infections à EV symptomatiques sont associées à des atteintes neurologiques, respiratoires, cardiaques, musculaires, cutanéomuqueuses.

La maladie pied-main-bouche (PMB) se caractérise par une éruption cutanée et des ulcérations buccales. Elle affecte essentiellement les enfants de moins 5 ans et se transmet par voie fécale-orale. L'entérovirus A71 (EV-A71), le coxsackievirus A16 (CV-A16) et le coxsackievirus A6 (CV-A6) sont les trois principaux types de l'espèce A associés aux cas de maladie PMB, rapportés dans le monde. Il a été rapporté une recrudescence d'atteintes neurologiques sévères associées à l'EV-A71 en 2016 et la survenue régulière d'épidémies de maladie PMB avec le CV-A6 comme type majoritaire en France.

Ces deux virus ont été choisis comme modèles pour étudier l'épidémiologie des infections ainsi que l'évolution virale et ses conséquences sur la pathogénicité. Les taux de mutation et de recombinaison élevés et la transmission interindividuelle sont deux facteurs majeurs de l'évolution et de la variabilité génétique des EV.

L'analyse des génomes viraux a mis en évidence la structure multi-recombinante des génomes des souches représentant différents génotypes d'EV-A71 indiquant que ces virus auraient émergé à l'issue d'événements de recombinaison. L'exploration des séquences génomiques de CV-A6 par séquençage haut débit montre que la partie codant les protéines de capsid reste homogène et le gène de la 3D polymérase permet d'identifier 5 nouvelles RFs (recombinant forms) détectées dans notre étude.

# **Importance écologique des interactions entre bactéries phototrophes anoxygéniques et plantes terrestres dans différents écosystèmes**

Vergne Antoine, LMGE BioAdapt

Directrices de thèse : Mary Isabelle et Lehours Anne-Catherine

1ère année

Mots clés : Bactéries Phototrophes Anoxygéniques (BPA), Phyllosphère, Bactériochlorophylle (BChl), Fixation d'azote (N)

L'importance écologique des BPA a longtemps été admise comme négligeable dans les écosystèmes aquatiques et terrestres. Pourtant, des communautés de BPA ont été trouvées en abondance dans des systèmes comme les réservoirs d'eau de plantes à phytotelmes telles que les Broméliacées (Lehours *et al.* 2016) ou plus récemment celui de la phyllosphère (Giraud & Fleischman, 2004). Les BPA forment un groupe fonctionnel très diversifié (*i.e.* 6 phyla bactériens) avec comme caractéristique commune une forme de phototrophie utilisant la BChl comme pigment actif et ne conduisant pas à la production d'O<sub>2</sub> (*i.e.* anoxygénique). Caractérisé par une importante variabilité métabolique, ce groupe pourrait avoir une importance non négligeable sur les cycles biogéochimiques (*i.e.* C, N et S) et au niveau global notamment via des interactions avec des plantes terrestres dans différents écosystèmes. En effet, certaines BPA photoautotrophes évoluent en anaérobie par photosynthèse participant donc à la fixation du CO<sub>2</sub> tandis que les autres photohétérotrophes aérobies sont supposées conserver une activité phototrophe afin de se maintenir en conditions défavorables (*i.e.* pauvre en C). Parmi ces dernières, beaucoup sont capables de fixer l'N<sub>2</sub> et pourraient être impliquées dans des associations étroites avec les plantes.

L'intérêt premier de ce projet de thèse vise à mettre en lumière « Les associations BPA-plantes », ce qui pourrait permettre de développer de nouveaux systèmes de culture pour une agriculture durable. De plus, l'étude des communautés de BPA pourrait permettre de mieux définir les limites de ce groupe fonctionnel et de comprendre l'histoire évolutive des formes de vies primitives.

# **Caractérisation microphysique et bio-chimique des nuages précipitants et impact sur la dynamique du phytoplancton**

Noirmain Fanny, LMGE IRTA

Directeurs de thèse : Latour Delphine et Van Baelen Joël

1ère année

Mots clés : eau nuageuse, précipitation, phytoplancton, cyanobactéries, radars

L'objectif de cette thèse est d'étudier les caractéristiques microphysiques des nuages précipitants en lien avec la composition bio-physico-chimique de l'eau nuageuse d'une part, et avec l'impact des précipitations sur les écosystèmes terrestres et aquatiques d'autre part.

La première phase de la thèse sera d'exploiter les instruments dédiés au profilage microphysique (radar nuage, radar pluie) de l'atmosphère nuageuse afin de définir les propriétés physiques des hydrométéores et de les coupler aux relevés de la composition biochimique de l'eau nuageuse correspondante.

La caractérisation de la diversité et de l'abondance des éléments biologiques photosynthétiques (cyanobactéries et micro-algues) dans les précipitations d'origines diverses permettra 1) d'évaluer l'impact de ces organismes dans le processus de nucléation et 2) d'identifier les dynamiques spatio-temporelles de ces organismes photosynthétiques et de les associer potentiellement à l'origine des masses d'air.

Les précipitations peuvent impacter directement ou indirectement (via le ruissellement) les écosystèmes aquatiques. La quantité et la rythmicité des précipitations peuvent notamment modifier les apports en nutriments et induire des pulses ponctuels favorisant la croissance algale. Inversement, les précipitations et l'intensité des débits entrant peuvent impacter la stratification thermique lacustre et modifier la structuration des communautés phytoplanctoniques en place. En période estivale, les cyanobactéries en particulier peuvent être sensibles à ces modifications ponctuelles de leur environnement qui ne sont actuellement pas ou peu considérées. L'étude à une échelle fine et locale de l'impact des précipitations selon les différents régimes de pluies définis dans la première phase du projet permettra d'évaluer les effets météorologiques sur le fonctionnement d'écosystèmes aquatiques et plus particulièrement sur la structuration des communautés phytoplanctoniques et cyanobactériennes.

# **Development of a multicellular model of the cerebral microvascular endothelial interface for the functional study of enterovirus neurovirulence**

Lopes-Coqueiro Igor, LMGE EPIE

Directeur de thèse : Bailly Jean-Luc

1ère année

Keywords: virus-host interaction, neurotropism, induced pluripotent cells, cell differentiation

Endothelium are made up of a wide variety of endothelial cells, delineate the blood or lymphatic compartment and form interfaces with tissues. They play strategic roles in controlling vasomotricity, homeostasis and inflammation. The nervous system is separated from the bloodstream by several endothelial interfaces: in the brain, for example, the blood circulation is delineated by the brain microvascular endothelial cells that form the interface brain microvascular (brain-blood). This interface may be affected by several pathogens, including enteroviruses (EVs). Neurological complications (encephalomyelitis, flasque paralysis, *etc.*) are rare but are more common in infections with certain neurotropic genotypes (EV-A71).

Induced pluripotent cells (iPSCs) can generate any type of differentiated cells, including brain microvascular endothelial cells. Differentiated cells acquire phenotypic properties characteristic of the brain microvascular interface when grown *in vitro*. Many efforts have been made to develop cellular models that mimic the structure and functions of the brain microvascular interface *in vivo*, by co-cultivating endothelial cells with neural cells.

The main hypothesis of the thesis is that enteroviruses can cause dysfunction of the brain microvascular interface and compromise the homeostasis of the neural microenvironment. Our research project proposes to develop a physiologically relevant model adapted to the functional study of enterovirus neurovirulence.

In our experiments, we will use differentiated iPSC cells in an extracellular matrix with growth factors to reproduce a cerebral microvascular endothelium. First, we will perform a phenotypic characterization by immunofluorescence of molecular markers present on the model of cerebral microvascular interface. We will also evaluate the endothelial properties of differentiated cells such as tubular structure formation, transendothelial resistance and cell permeability. Next, we will assess the sensitivity of these cells to different enterovirus genotypes. After standardizing the experimental modalities of infection, we will co-cultivate brain-derived microvascular endothelial cells derived from iPSC with neurons and astrocytes to study the molecular mechanisms of invasion of enterovirus interface model system. A model of the brain microvascular interface is needed to study the pathophysiology of neurotropic enteroviruses and translational research on neurological damage caused by these viruses.

**Les diatomées, modèles d'organismes pour étudier et décrypter le  
transfert de radionucléides dans les biocénoses dont la radioactivité est  
issue d'une activité humaine ((TE)NORM)**

Baker Lory-Anne, Geolab (1) et LMGE BioAdapt (2)

Directeurs de thèse : Beauger Aude (1) et Biron David (2)

1ère année

Mots clés : Radioactivité naturelle, anthropisation, diatomées, diversité, tératologie

Le projet de thèse s'inscrit dans l'axe « (TE)NORM & Biocénoses » de la Zone Atelier Territoires Uranifères (ZATU) qui a pour ambition de réaliser des projets qui permettront de lever des verrous scientifiques conceptuels et méthodologiques dans la détermination et la compréhension de l'impact de la radioactivité naturelle et des radionucléides sur les biocénoses. Une question importante dans les biotopes caractérisés par un relargage à faibles doses de radionucléides suite à une activité anthropique est leur transfert vers le vivant et ses conséquences de la molécule aux biocénoses peuplant ces biotopes. Des études récentes ont permis de démontrer que des espèces de diatomées dans des sources minérales naturellement radioactives en Auvergne présentent des déformations au niveau de leur squelette externe siliceux (frustule). De plus, le frustule des diatomées est approprié pour étudier les mécanismes de transfert des radionucléides. Ainsi, nous étudierons les peuplements de diatomées dans le site ATELIER (mine de Rophin), plus spécifiquement de l'amont à l'aval d'un cours d'eau caractérisé par un gradient de radioactivité. Puis, les peuplements de diatomées du site ATELIER seront ensuite comparés à ceux de biotopes naturellement radioactifs (c.-à-d. sources minérales (sites observatoires de la ZATU)) afin de déterminer si l'origine de la radioactivité a un impact spécifique. Dans un second volet, nous analyserons des communautés de diatomées fossiles ayant peuplées le site ATELIER et des sites observatoires de la ZATU afin de déterminer l'impact ou pas de l'exploitation de la mine d'uranium sur la structuration et le fonctionnement des diatomées dans ces biotopes.



## **Système de sécrétion de type VI chez *Klebsiella pneumoniae* : dialogue moléculaire et/ou arme antibactérienne**

Merciecca Thomas, LMGE CMES

Directrice de thèse : Forestier Christiane

1ère année

Mots clés : *K. pneumoniae*, SST6, biofilms, activité antibactérienne, interactions hôte-pathogène

Les interactions hôte-pathogènes sont de plus en plus étudiées pour comprendre les mécanismes mis en jeu dans la pathogénicité. Cependant, les moyens mis en œuvre par les bactéries pour pouvoir s'implanter au sein de microbiotes complexes tel que le microbiote intestinal, sont encore mal connus.

Au sein des bactéries Gram négatifs, le système de sécrétion de type VI (SST6) agit comme une arbalète délivrant ainsi des effecteurs toxiques au sein des cellules cibles. Ce système protéique complexe joue un rôle dans l'interaction avec les cellules eucaryotes, mais aussi dans la compétition bactérienne, ce qui représente un avantage sélectif pour l'implantation du pathogène au sein de sa niche intestinale. Ces îlots de pathogénicité, comprenant l'ensemble des gènes impliqués dans la machinerie moléculaire du SST6, sont prévalents au sein des génomes de différentes souches de *K. pneumoniae* mais leur rôle reste à définir.

L'objectif de ce travail est de comprendre le rôle du SST6 chez *K. pneumoniae*, pathogène opportuniste responsable d'infections nosocomiales, par des approches in vitro et in vivo. Deux îlots de pathogénicité codant des SST6 (nommés 1 et 2) ont été identifiés dans le génome de la souche de référence CH1157 via une analyse in silico et des mutants isogéniques invalidés dans ces systèmes ont été créés.

Des résultats préliminaires semblent indiquer que lorsque le SST6-2 est délété, *K. pneumoniae* forme plus de biofilm comparativement à la souche sauvage. Enfin, une diminution de la colonisation intestinale associée à une plus grande biodiversité du microbiote murin est observée lors d'une infection per os par le mutant invalidé dans le SST6-1 comparativement à la souche sauvage.

# **Developing a Skin-like Model to Study the Pathogenesis of Hand, Foot and Mouth Disease (HFMD)**

Bondarabadi Mahya, LMGE EPIE

Directrice de thèse : Mirand Audrey

1ère année

Keywords: Skin-model, keratinocytes, organoids, enteroviruse, hand, foot and mouth disease

This project aimed at developing a skin-like model to study the pathogenesis of hand, foot and mouth disease (HFMD) which can be caused by several types of enteroviruses. Hand, foot and mouth disease is a very common childhood disease characterized by vesicular eruption of the soles and the palms and by oral ulcerations. It is usually a benign illness, but some children can develop more severe symptoms (body-wide skin rashes, large skin blisters ...). A national sentinel surveillance network composed of primary care pediatricians is currently in place in France.

During this project, we will be focusing on the following research objectives:

- Develop a culture model system for human keratinocytes (human epidermis like culture)
- Grow the epidermis-like culture on a basal layer including dermal fibroblast and dermal microvascular endothelial cells)
- Compare different EV types for their ability to infect the cell types in the skin-like tissue

With this project, we aim to achieve the following results:

- Establishment of a skin-like model to study pathogenesis of HFMD
- Elucidation of host immune effectors or viral genetic factors involved in the dermatropism of enteroviruses

This project also includes two secondments, which are as follows:

- A three-month secondment at the National Institute for Public Health and the Environment focused on clinical network formation for HFMD outbreaks
- A three-month secondment at the Technical University of Denmark focused on linking epidermis to connective tissue harbouring dermal fibroblasts and microvascular endothelial cells

# DOCTORANTS



STEPHANIE TOMBA NGANGAS

ANTOINE VERGNE

FANNY NOIRMAIN

IGOR LOPES-COQUEIRO

LORY-ANNE BAKER

THOMAS MERCIERCA

MAHYA BONDARABADI

## ORGANISATION

AIZAT ABDUL HAMID    LAURA JOSEPH    MARINA CHAUVET  
MAXIME FUSTER    MAXIME DUVAL

