

**APPELS A SUJETS 2020
CONCOURS DE L'ECOLE DOCTORALE 227 MNHN-SU**

Sujet de la thèse

Apport de grégaires marines à l'histoire évolutive des Apicomplexes et l'adaptation à la vie parasitaire.

UMR UMR7245

Equipe PPL, Parasites et Protistes Libres

Directeur de thèse HDR (Nom et Prénom) Florent Isabelle

Mail Isabelle.florent@mnhn.fr

Co-encadrement (Nom et Prénom) Ponger Loïc, UMR 7196 / INSERM U1154 équipe ARChE

Doctorants en cours d'encadrement par le directeur de thèse en précisant l'année d'inscription

Julie Boisard, octobre 2018, co-encadrement avec Loic Ponger UMR 7196 / INSERM U1154 équipe ARChE

Taux d'encadrement total du directeur de thèse

Actuellement 1 (0.6 si on considère le co-encadrement de J. Boisard avec L. Ponger)

Publications récentes du directeur de thèse avec ses anciens doctorants

-Imboumy-Limoukou KR, Maghendi-Nzondo S, Kouna CL, Bounaadja L, Mbang S, Biteghe JC, Eboumbou C, Prugnolle F, Florent I, Lekana-Douki JB. 2016. Acta Trop.; 163:149-156.

-Souidienne D, Florent I, Dellinger M, Justine J-L, Romdhane MS, Furuya H, Grellier P. 2016. Parasite 23:33

-Cacheux L, Ponger L, Gerbault-Seureau M, Richard F, Escudé C 2016. BMC Genomics 17:916

-Allain T, Chaouch S, Thomas M, Vallée I, Buret AG, Langella P, Grellier P, Polack B, Bermúdez-Humarán LG, Florent I. 2018. Frontiers in Microbiology 8:2707.

-Boisard J, Florent I. 2020, Biology of the Cell, in press

Descriptif du sujet de thèse et méthodes envisagées

Les Apicomplexa, eucaryotes unicellulaires représentant ~6.000 espèces, ont tous adopté un mode de vie parasitaire strict [1]. Ils comprennent des parasites intracellulaires de vertébrés se développant dans un à plusieurs hôtes, responsables de pathologies graves : paludisme, toxoplasmose, cryptosporidioses. Leurs génomes ont été séquencés et font office de références pour la génomique comparative et la reconstruction de l'histoire évolutive des Apicomplexa. Ces parasites de vertébrés ne représentent cependant que la partie émergée de l'iceberg, les Apicomplexa comprenant aussi les grégaires, parasites d'une grande diversité d'hôtes non-vertébrés (polychètes, crustacés, insectes, ...) représentant ~40% de la biodiversité des Apicomplexa [1,2]. Méconnues sur le plan génomique en raison de l'impossibilité actuelle de les cultiver, elles sont principalement extracellulaires, monoxènes et non pathogènes.

Récemment, deux protoapicomplexes photoautotrophes associés aux coraux, *Vitrella* et *Chromera*, ont été séquencés ; l'analyse comparative de leurs génomes avec les données sur *Plasmodium*, *Toxoplasma* et *Cryptosporidium*, a mis à jour des groupes de fonctions perdues (principalement) et acquises lors de la

transition vers le mode de vie parasitaire intracellulaire [3-5]. La vision de cette transition reste cependant incomplète en l'absence de données pour les grégarines, phylogénétiquement situées à la base de la spéciation des apicomplexes, les archigrégarines étant considérées comme ayant divergé le plus tôt [2].

Le laboratoire PPL s'est engagé depuis 2017 dans l'analyse -omique (génomique, transcriptomique) d'eugrégarines intestinales marines (*Porospora gigantea*) et terrestre (*Gregarina acridiorum*), en collaboration étroite avec la Cellule de Soutien de Bioinformatique du département AVIV (Evelyne Duvernois-Berthet et Dr. Loïc Ponger) puis dans le cadre de la thèse de Julie Boisard (ED227, financement CNRS, 2018-2021). Ces travaux ont permis de développer des procédures performantes de génèse et d'analyse de ces données, malgré les difficultés intrinsèques aussi bien méthodologiques qu'analytiques.

Dans le cadre de ce projet, nous souhaitons asseoir notre expertise en complétant l'approche avec deux modèles biologiques marins nouveaux, plus difficiles à étudier sur le plan biologique mais susceptibles d'apporter des éléments de spéciation différents de par leur phylogénie ou leur biologie : l'archigrégarine intestinale *Selenidium pendula* et l'eugrégarine coelomique *Diplauxis hatti* [2].

L'étude de ces deux espèces comprendra : le séquençage des génomes et des transcriptomes, l'assemblage des génomes et la prédiction des gènes ainsi que la fouille experte des données. Celle-ci permettra une analyse comparative avec les eugrégarines intestinales terrestres et marines en cours d'étude au laboratoire, afin de mieux explorer les caractères spécifiques du groupe. Il permettra de mieux comprendre les scénarios évolutifs qui ont accompagné la mise en place du parasitisme chez les Apicomplexa et la conquête progressive des hôtes vertébrés, vers le parasitisme polyxène et vers le mode de vie intracellulaire.

Plusieurs axes spécifiques seront abordés :

- 1- Inventaire du patrimoine protéique déduit de l'analyse des génomes, exploration de l'architecture moléculaire des structures/fonctions clés des apicomplexes (complexe apical, IMC (complexe sous-membranaire), mitochondrie, apicoplaste, motilité) et évaluation du maintien de voies métaboliques en référence aux autres (proto)apicomplexes.
- 2- Recherche et reconstruction de potentiels génomes mitochondriaux et d'apicoplaste à partir des données génomiques.
- 3- Identification des gains et pertes de gènes/fonctions en comparaison des occurrences documentées chez les protoapicomplexes et autres apicomplexes, établissement de scénarios évolutifs.
- 4- Etudes phylogénétiques des composants conservés.

L'abondante littérature disponible pour *Plasmodium*, *Toxoplasma*, *Cryptosporidium* ainsi que les données génomiques et post-génomiques disponibles, serviront de référence pour fouiller ces données nouvelles de grégarines ; les études comparatives s'appuieront sur les travaux récents avec *Vitrella* et *Chromera* [3-5] et les travaux émergents sur quelques grégarines [6-7].

Les analyses seront principalement réalisées bio-informatiquement. En fonction des résultats obtenus, des expérimentations pourront être mises en œuvre pour : 1) la validation expérimentale de certains modèles de gènes par RT-PCR/séquençage Sanger, 2) la confirmation de la présence d'une mitochondrie et/ou d'un apicoplaste (microscopie électronique à transmission).

1. Portman N, Slapeta J. Trends Parasitol, 2014. 30(2): p. 58-64.
2. Desportes I, Schrevel L. Brill, editor, 2013.
3. Janouskovec J et al., PNAS, 2015. 112(33): p. 10200-7.
4. Templeton TJ, Pain A. Parasitology, 2016, 143(1): p. 1-17.
5. Woo YH et al., Elife, 2015, 4: p. e06974.
6. Janouskovec J. et al., eLife, 2019, 8.
7. Mathur, V., et al., Current biology, 2019, 29:2936-2941 e293

Stratégie de publication

Stratégies de publication classiques dans des journaux de génomique, biologie, biochimie, microbiologie, parasitologie, pour les résultats expérimentaux. Effort particulier de rédaction de revues sur des thèmes en lien avec le sujet de thèse.

Faisabilité en trois ans avec échéancier

Année 1: genèse des données moléculaires (génomomes, transcriptomes) nécessaire à l'assemblage et l'annotation (prédiction des gènes) des génomes des deux grégarines marines (en collaboration avec la CSB). Déduction des protéomes théoriques et fouille experte des données. Reconstitution des voies métaboliques et identification des composants moléculaires impliqués dans l'architecture, l'ultrastructure et la dynamique des zoïtes.

Année 2: Reconstruction des génomes d'organites. Génomique comparative et inventaire des gains et pertes de gènes vis à vis des apicomplexes de vertébrés documentés et des données disponibles pour les protoapicomplexes. Analyses phylogénétiques pour les composants conservés. Caractérisation des éléments répétés.

Année 3: localisation subcellulaire de composants clefs par microscopie de fluorescence et de la mitochondrie ou de l'apicoplaste, par microscopie électronique à transmission. Synthèse/rédaction.)

Profil du candidat recherché

Une formation solide est requise en biologie des organismes dont les microorganismes eucaryotes, comprenant la maîtrise de la littérature en histoire évolutive des microorganismes eucaryotes, ainsi que des compétences dans les approches bioinformatiques d'assemblage, d'annotation, de fouille et d'analyse de données. Idéalement le doctorant aura également des compétences en biologie cellulaire eucaryote, biologie moléculaire et imagerie.

Financement hors salaire (missions, séminaires, fonctionnement, ...)

Le projet de thèse s'inscrit dans un des axes prioritaires de l'équipe PPL pour le prochain quadriennal,). Une demande ANR-2020 (sélection second tour) est en cours, incluant la thématique de ce projet de thèse mais couvrant aussi d'autres modèles biologiques de grégarines marines. Des demandes de financement seront également faites auprès de l'ATM ou département AVIV ainsi que le programme EMBRC.

Des collaborations solides (ANR) sont établies avec l'équipe du Dr. L. Guillou sur la biologie comparées des Alvéolés ainsi qu'avec des collègues du Génoscope impliqués en génomique comparative des protistes parasites.

Le doctorant sera amené à faire des congrès nationaux et internationaux qui seront pris en charge sur le budget de l'équipe PPL ou ARChE.

Disponibilité du matériel nécessaire le cas échéant

*Les échantillons biologiques sont déjà disponibles pour l'espèce *Diplauxis hatti* ; les échantillons biologiques pour *Selenidium pendula* seront obtenus suite à une campagne d'échantillonnage, soit via nos collaborateurs à la station biologique de Roscoff. Il est également possible d'obtenir les hôtes de ces grégarines via le Service Mer de la station biologique de Roscoff (nous avons expérimenté cela dans le passé, pour ces deux espèces de grégarines). Les données de séquençage seront obtenues grâce au financement par l'équipe PPL ou sur appel d'offre dédié (interne au MNHN ou externe). Le doctorant pourra utiliser le matériel informatique de la CSB et le cluster de calcul du Muséum.*