



SERVICE DE LA RECHERCHE ET DE LA VALORISATION (SRV)

Ecole doctorale 305 « Energie Environnement »

AVIS DE PRESENTATION DE TRAVAUX EN VUE DE L'OBTENTION DU DOCTORAT

Madame Nélia LUVIANO APARICIO EPOUSE : Malod soutiendra sa thèse le **29 janvier 2021 à 14h00** à **Soutenance en visioconférence**, salle **Soutenance en visioconférence**, un doctorat de l'Université de Perpignan Via Domitia, spécialité **Biologie**.

TITRE DE LA THESE : La méthylation de l'ADN chez *Biomphalaria glabrata*, rôle et impact sur la génération de la plasticité phénotypique

RESUME : La compréhension des mécanismes moléculaires qui permettent l'adaptation rapide des mollusques vecteurs de parasites à de nouveaux environnements est importante pour le contrôle des maladies. L'adaptation rapide est difficile à expliquer par la génétique mendélienne traditionnelle et il existe des preuves solides qui soutient que les mécanismes épigénétiques sont à l'origine des adaptations rapides chez plusieurs espèces. J'ai me suis focalisé sur une marque épigénétique appelée la méthylation de l'ADN, qui est modulée par l'environnement et joue un rôle dans la plasticité phénotypique chez de nombreuses espèces, principalement les plantes et les vertébrés. Néanmoins, le rôle de la méthylation de l'ADN dans la génération de variations phénotypiques chez les invertébrés a été très peu étudié. J'ai abordé la question du rôle de la méthylation de l'ADN dans la génération de la plasticité phénotypique et de son héritabilité chez l'escargot *B. glabrata*, l'hôte intermédiaire du parasite *Schistosoma mansoni*, l'agent pathogène de la schistosomiase, une maladie tropicale négligée. La méthylation de l'ADN chez *B. glabrata* est régulée par l'infection du parasite *S. mansoni* et par le stress environnemental, de plus, il a été démontré que la méthylation de l'ADN affecte son expression génique, suggérant que la méthylation de l'ADN peut affecter la variation phénotypique et donc l'adaptation de l'escargot à de nouveaux environnements. Pour étudier le rôle de la méthylation de l'ADN dans la génération de la variation phénotypique, une manipulation expérimentale de la méthylation de l'ADN chez l'escargot était nécessaire. Par conséquent, deux approches ont été proposées dans cette thèse pour introduire des épimutations chez l'escargot *B. glabrata*: 1) Épimutagenèse aléatoire en utilisant des inhibiteurs chimiques de DNMTs et par ségrégation conséquente des épimutations dans les lignées d'autofécondation et 2) Par la méthylation des cytosines d'un locus ciblé avec un outil d'édition épigénétique qui consiste à l'utilisation d'un vecteur plasmidique codant pour l'ADN méthyltransférase de novo (DNMT3) fusionnée avec l'enzyme dCas9 (Cas9 avec l'activité nucléase désactivé). Pour l'approche d'épimutagenèse aléatoire, un nouvel inhibiteur des enzymes DNMT a montré des effets d'inhibition de la méthylation dans deux générations consécutives, en montrant un effet épigénétique multigénérationnelle et sans montrer d'effet toxique ni dans la survie ni dans la fécondité de l'escargot *B. glabrata*. De plus l'inhibiteur Flv1 a montré être efficace dans deux autres espèces de mollusques, l'escargot d'eau douce *Physa acuta* et l'huître creuse *Crassostrea gigas*, ce qui suggère que cet inhibiteur représente un potentiel outil moléculaire pour moduler la méthylation de l'ADN chez les mollusques et potentiellement chez d'autres invertébrés qui présentent une méthylation dans le contexte CpG dans leur génome. Dans le cas de l'approche d'épimutagenèse ciblé, j'ai testé plusieurs méthodes de transfection et j'ai trouvé une méthode de transfection qui permet d'introduire deux vecteurs plasmidiques avec un promoteur viral SV40 de façon in vivo dans un embryon de l'escargot *B. glabrata*. La transfection a été effectuée un stade tardif du développement, au stade gastrula, ce qui a entraîné une incorporation mosaïque du vecteur dans les cellules transfectés. Toutefois, la méthode a permis de méthyler certains sites CpG du gène ciblé.

Directeurs de thèse :

Christoph GRUNAU, Interactions Hôtes-Pathogènes-Environnements - Université de Perpignan Via Domitia

Céline COSSEAU, Interactions Hôtes-Pathogènes-Environnements - Université de Perpignan Via Domitia

Laboratoire où la thèse a été préparée : Interactions Hôtes-Pathogènes-Environnements

Le jury sera composé de :

M. Guillaume RIVIÈRE, Maître de conférences, Université Caen Normandie (**Rapporteur**)

M. Paul BRINDLEY, Directeur de recherche, The George Washington University (**Rapporteur**)

M. Christoph GRUNAU, PR, Université de Perpignan Via Domitia (**Directeur de thèse**)

Mme Marie LOPEZ, Chargé de recherche, Institut de Biomolécules Max Mousseron (**Examineur**)

M. Thierry LAGRANGE, Directeur de recherche, Université de Perpignan Via Domitia (**Examineur**)

Mme Céline COSSEAU, Maître de conférences, Université de Perpignan Via Domitia (**CoDirecteur de these**)

M. Benoît PUJOL, Chargé de recherche, Université de Perpignan Via Domitia (**Examineur**)

Direction de la Recherche et de la Valorisation
52, avenue Paul Alduy - 66860 PERPIGNAN CEDEX 09
Téléphone : 04.68.66.17.36 - Email : emilie.vegara@univ-perp.fr