

Fiche de demande appel à projets innovants défi clé RIVOC 2021

(Budget maximal 15 000 €)

(2 à 3 pages maximum, à envoyer à rivoc-projet@umontpellier.fr)

TITRE du projet	Explorer le métabolome des mollusques hôtes intermédiaires de la bilharziose pour identifier des biomarqueurs de résistance
Acronyme	ResiMetaMol
Mots Clefs (5)	Ecologie de la santé, Espèces invasives, Adaptation, Bilharziose, Mollusque
Porteur du projet (Nom, coordonnées Email)	Richard GALINIER richard.galinier@univ-perp.fr
Nom de l'équipe (UMR, entreprise, association, structure)	UMR 5244 Interactions Hôtes Pathogènes Environnements (IHPE) Equipe Mécanismes Moléculaires d'Adaptation et de Plasticité (2MAP) Membres associés P1: Pr D. Duval, R. Pichon et E. Simphor (Doctorants)
Autres partenaires en région Occitanie : nom des co-porteurs et nom des entités	<p>Ce projet ouvre un champ nouveau d'investigation dans la caractérisation des biomarqueurs associés aux interactions hôtes / parasite. Cette collaboration nécessite donc des partenaires spécialistes dans le domaine de la métabolomique, à la fois dans la genèse des données, mais surtout dans leur analyse.</p> <p>P2. Pr C. Bertrand. CRIOBE USR3278 (Centre de Recherches Insulaires et Observatoire de l'Environnement). Spécialisé en métabolomique comparative, il s'est intéressé à l'étude des médiateurs chimiques impliqués dans la symbiose plante/bactérie. Actuellement, il travaille sur i) les états physiologiques du corail induits par différents stress abiotiques (UV, pesticides, température) par une approche métabolomique non ciblée de l'holobionte, ii) la caractérisation de biomarqueurs pour détecter précocement le virus de la Sharka dans les vergers en Occitanie (projet cofinancé par la région).</p> <p>P3. Dr A. Turtoi. IRCM (Institut de Recherche en Cancérologie de Montpellier), équipe Microenvironnement tumoral et résistance au traitement. Spécialisé dans le métabolisme cellulaire, il travaille sur le métabolisme des cellules cancéreuses, mais également sur sa modification lors des phénomènes de résistance aux traitements chimiothérapeutiques. Il se focalise également sur le dialogue moléculaire entre cellules cancéreuses et fibroblastes du stroma pouvant afficher soit un phénotype défensif, soit collaboratif.</p>
Collaborations antérieures intersites en région Occitanie	Appel à projet exploratoire du labex CEMEB en 2017-2018, co-porteur. Titre : Convergent evolution in ape malaria agents : from genotype to phenotype. (Acronyme: CONVERGE) Partenaire: Dr F. Prugnolle, Laboratoire MIVEGEC UMR 5290 Montpellier

Autres partenaires éventuels hors région Occitanie : nom des co-porteurs et nom des entités	
En cas de co-financement préciser le nom du projet, durée, montant, organisme financeur et la complémentarité avec le présent projet	
Justificatif : 10 à 20 lignes	<p>Face à la rapidité des <i>changements globaux</i> actuels, les variations environnementales auxquelles sont soumis les couples hôtes / pathogènes peuvent altérer la dynamique épidémiologique par la modification de leur aire de répartition et de leurs interactions biologiques. Le réchauffement climatique et l'augmentation des flux de population ont créé dans le nord du bassin méditerranéen des conditions favorables à l'élargissement et à la persistance de l'aire de répartition de certains hôtes vecteurs de maladies parasitaires. Parmi ces hôtes, certains mollusques d'eau douce sont les vecteurs de maladies parasitaires de l'homme, comme la bilharziose ou la fasciolose. En 2013, la présence du trématode <i>Schistosoma</i>, agent de la bilharziose a été signalée en Corse sur des individus n'ayant jamais voyagé en zone d'endémie. Aujourd'hui, cette maladie devenue maladie à déclaration obligatoire peut être considérée comme endémique en Corse et pourrait s'étendre aux autres pays européens du bassin méditerranéen. Devant ce risque sanitaire, il devient urgent de caractériser au mieux les interactions mollusque / parasite afin i) de disposer de biomarqueurs de la résistance des mollusques pour proposer à terme une meilleure gestion de leur population dans le bassin méditerranéen, mais également ii) de comprendre les mécanismes immunitaires de l'hôte et leur plasticité face aux contraintes biotiques et abiotiques.</p>
Objectifs : 10 à 15 lignes	<p>Le succès ou l'échec parasitaire dans l'interaction entre <i>hôte</i> et <i>parasite</i> reflète un dialogue moléculaire complexe entre les mécanismes de défense des hôtes et les mécanismes de virulence des parasites. Nous nous proposons d'explorer cette question dans l'interaction <i>Biomphalaria glabrata</i> / <i>Schistosoma mansoni</i>. Les génomes de ces deux organismes sont séquencés et annotés. Les résultats de ce projet seront éprouvés à d'autres couples hôte/parasite comme celui installé en Corse, <i>Bulinus truncatus</i> / <i>S. haematobium</i>. Nous nous proposons dans ce projet d'explorer l'approche métabolomique comparative pour évaluer la capacité des mollusques à éliminer le parasite. L'étude de l'ensemble des métabolites, des composés organiques de petite taille, peuvent constituer les composants ultimes de la réponse d'un organisme à l'exposition à un agresseur ou de sa capacité intrinsèque à l'éliminer. En complément des approches « omics » classiques, elle devient indispensable pour prédire le potentiel de résistance d'une population, d'un groupe d'organismes voire d'un individu.</p>
Méthodologie : 1 page maximum	<p>Plan d'action : Afin de tester l'hypothèse d'une corrélation entre métabolome et profil de résistance, nous proposons une approche métabolomique comparative sur le compartiment plasmatique et les hémocytes circulants (cellules immunitaires) ponctionnés sur des mollusques résistants et sensibles. Ces mollusques résistants ou sensibles</p>

ont été sélectionnés sur 3 années à partir d'une **même** population de mollusques contre une même souche de parasite.

Pour cela, nous proposons les tâches suivantes :

Tâche 1 : Analyse métabolomique non ciblée par LC/MS sur différentes populations d'escargots afin de tenter de les discriminer et d'identifier des biomarqueurs de la résistance (P2). L'analyse sera réalisée sur un système uHPLC Vanquish Thermo couplé à un détecteur à barrette de diodes Vanquish et à un détecteur de masse de type QExactive plus Orbitrap. La séparation des métabolites du compartiment plasmatique sera réalisée sur une colonne Luna Omega Polar C18. Deux modes d'ionisations positive et négative (ESI+ et ESI-) sur une plage de masse comprise entre 200 et 1500 m/z seront réalisés. 5 composés métaboliques les plus discriminants seront identifiés par une approche MS/MS.

L'étude sera réalisée pour chaque condition sur les plasmas de 15 mollusques pour analyser les variabilités intragroupe (individuelles) et intergroupe (résistant vs sensible) et sur 5 pools indépendants d'hémocytes obtenus chacun à partir de 10 mollusques. Cet échantillonnage permettra d'avoir une analyse qualitative, mais également quantitative (durée 5 mois).

Tâche 2 : Analyse métabolomique ciblée par LC/MS sur une centaine de métabolites (acides aminés, acides du cycle de Krebs et de l'urée) (P3). Cette analyse permettra de compléter les résultats obtenus en Tâche 1 et d'orienter l'analyse des résultats sur les voies de régulation impliquées dans la résistance. L'échantillonnage sera identique à celui réalisé en tâche 1 (durée 2 mois).

Tâche 3 : Analyse protéomique comparative sur les plasmas de mollusques résistants et sensibles (P1). Cette analyse comparative sera réalisée pour chaque condition sur 5 plasmas de mollusques et 5 pools indépendants d'hémocytes. Cette étude permettra de corrélérer les résultats obtenus en tâches 1 et 2 et de cibler les voies métaboliques les plus pertinentes dans la caractérisation de la résistance des mollusques au parasite *Schistosoma* (durée 4 mois).

Tâche 4 : Validation des biomarqueurs de la résistance sur des populations de mollusques non sélectionnés (P1). Les 5 biomarqueurs métaboliques candidats seront dosés sur différentes souches de mollusques (n=4) pour lesquelles les prévalences d'infestation sont connues (durée 2 mois).

Tâche 5 : Intégration des données issues de la métabolomique et de la protéomique comparatives (P1). Afin de caractériser les marqueurs les plus pertinents obtenus par ces deux approches, une analyse canonique régularisée (rCCA) sera développée **pour évaluer la relation** entre les données du métabolome et du protéome (network analysis) à partir des différentes conditions testées (durée 3 mois).

<p>Résultats attendus</p>	<p>Résultats attendus. Ce projet exploratoire s'appuie sur l'existence d'une collection unique de souches de mollusques représentatives de populations naturelles montrant des compatibilités différentes vis-à-vis de différentes souches de parasites. Le génome de <i>Biomphalaria</i> est disponible ce qui permettra d'associer pour la première fois les résultats de métabolomique comparative à ceux issues de la protéomique.</p> <p>Identification de métabolites marqueurs liés à la capacité immunitaire du mollusque pour éliminer le parasite.</p> <p>Originalité et prise risque. Au-delà de la question de la plasticité des interactions hôte/parasite dans un contexte de risques d'émergence ou de ré-émergence de maladies infectieuses, c'est à notre connaissance la première fois que le métabolome sera utilisée pour identifier des marqueurs de résistance chez des invertébrés hôtes intermédiaires ou vecteurs de parasitose humaine. Nous faisons également le pari que cet outil sera à terme utilisé pour étudier la plasticité phénotypique dans la compatibilité hôte / parasite dans un contexte biologique perturbé où l'altération environnementale des rivières, milieu récepteur des eaux usées traitées pourrait être à l'origine d'une augmentation d'une plus grande sensibilité de l'hôte vis-à-vis du parasite.</p>
<p>Budget demandé (avec quelques détails sur le coût des actions)</p>	<p>Budget total 15k€. Budget détaillé : Analyse métabolome non ciblée sur 15x2 échantillons (électrolytes, consommable, colonne) (3.5k€). Identification ciblée pour 5 métabolites candidats (2,5k€), Analyse protéomique pour 6x2 échantillons plasmatiques fractionnés par SDS/PAGE (6k€). Analyse métabolomique ciblée sur 15x2 échantillons (3k€).</p>

3 à 5 références :

- 1 Effects of the Environment on Developmental Plasticity and Infection Success of *Schistosoma* Parasites - An Epigenetic Perspective. *Augusto RC, Duval D, Grunau C.* Front Microbiol. 2019 Jul 9;10:1475.
- 2 Sympatric versus allopatric evolutionary contexts shape differential immune response in *Biomphalaria* / *Schistosoma* interaction. *Portet A, Pinaud S, Chaparro C, Galinier R, Dheilly NM, Portela J, Charriere GM, Allienne JF, Duval D, Gourbal B.* PLoS Pathog. 2019 Mar 20;15(3)
- 3 A multistrain approach to studying the mechanisms underlying compatibility in the interaction between *Biomphalaria glabrata* and *Schistosoma mansoni*. *Galinié R, Roger E, Moné Y, Duval D, Portet A, Pinaud S, Chaparro C, Grunau C, Genthon C, Dubois E, Rognon A, Arancibia N, Dejean B, Théron A, Gourbal B, Mitta G.* PLoS Negl Trop Dis. 2017 Mar 2;11(3)
- 4 Oxidative stress induced by glyphosate-based herbicide on freshwater turtles. *Héritier L, Duval D, Galinier R, Meistertzheim AL, Verneau O.* Environ Toxicol Chem. 2017 Dec;36(12):3343-3350.
- 5 Halocytin and papillosin, two new antimicrobial peptides isolated from hemocytes of the solitary tunicate, *Halocynthia papillosa*. *Galinié R, Roger E, Sautiere PE, Aumelas A, Banaigs B, Mitta G.* J Pept Sci. 2009 Jan;15(1):48-55.