



UMR 5244 Univ Perpignan via Domitia-CNRS-IFREMER-Univ Montpellier  
Interactions Hôtes-Pathogènes-Environnements (IHPE)  
Université de Perpignan via Domitia  
58, avenue Paul Alduy, Bât R, F-66860 Perpignan Cedex, France  
Tel : 33 (0)4 68 66 20 50 Fax : 33 (0)4 68 66 22 81  
<http://ihpe.univ-perp.fr>

## Projet de stage de Master 1

Mise en place d'approches expérimentales *in vitro* pour le transfert de gènes dans les cellules Bge, une lignée cellulaire de *Biomphalaria glabrata*, un mollusque d'eau douce, hôte intermédiaire de *Schistosoma mansoni*

### Lieu d'accueil :

Laboratoire des Interactions-Hôtes-Pathogènes-Environnement, UMR5244, Perpignan

Site web: <http://ihpe.univ-perp.fr/>

Directeur : Guillaume Mitta [mitta@univ-perp.fr](mailto:mitta@univ-perp.fr)

### Encadrants :

Benjamin Gourbal [benjamin.gourbal@univ-perp.fr](mailto:benjamin.gourbal@univ-perp.fr)

David Duval [david.duval@univ-perp.fr](mailto:david.duval@univ-perp.fr)

### Contexte.

Suite d'un projet initié par le laboratoire financé par un BQR UPVD.

### Techniques qui seront principalement utilisées :

Culture cellulaire, transfection, retro transposition, clonage, cytométrie en flux, Western-blot, biologie moléculaire

La bilharziose est une maladie affectant plus de 230 millions de personnes dans le monde. Elle est provoquée par des trématodes du genre « *schistosoma* ». Le cycle de vie de ce parasite nécessite deux hôtes obligatoires : l'Homme et un mollusque d'eau douce. L'Homme est l'hôte définitif dans lequel les parasites mâles et femelles se reproduisent et le mollusque d'eau douce est l'hôte intermédiaire dans lequel le parasite se multiplie de façon asexuée.

Notre équipe s'intéresse aux interactions hôte/parasite et en particulier aux interactions moléculaires entre cet hôte intermédiaire principalement *Biomphalaria glabrata* et un de ses parasites, le trématode *Schistosoma mansoni*. Différentes approches moléculaires comparatives ont permis d'identifier des candidats pouvant jouer un rôle dans la reconnaissance et l'élimination du parasite par l'hôte ou encore des facteurs essentiels au succès parasitaire (1, 2, 3, 4). Cependant, une majorité de ces analyses sont condamnées à rester corrélatives en absence d'outils moléculaires permettant d'élucider les fonctions des candidats mis en évidence. A l'heure actuelle, l'analyse fonctionnelle des gènes *in vivo* s'avère très limitée chez *B. glabrata* et constitue dès lors un véritable frein pour appréhender l'immunité et les interactions immunobiologiques. Si l'inactivation de gènes classiquement utilisée chez les organismes dits modèles (souris, Arabidopsis...) demeure l'outil de choix pour ces études fonctionnelles, cette approche est encore en phase exploratoire chez *Biomphalaria* ou *Schistosoma* (5). Néanmoins, il demeure possible de réduire l'expression d'un gène en interférant sur son ARN par l'utilisation



**UMR 5244 Univ Perpignan via Domitia-CNRS-IFREMER-Univ Montpellier  
Interactions Hôtes-Pathogènes-Environnements (IHPE)**

Université de Perpignan via Domitia  
58, avenue Paul Alduy, Bât R, F-66860 Perpignan Cedex, France  
Tel : 33 (0)4 68 66 20 50 Fax : 33 (0)4 68 66 22 81

<http://ihpe.univ-perp.fr>

d'ARN anti-sens comme les siRNA (small interfering) ou les dsRNA (double-strand). Développer ces nouvelles approches (gain et perte de fonction) devient donc un objectif majeur pour aller plus loin dans l'analyse des interactions moléculaires hôte-parasite.

Nous proposons donc de développer ces approches fonctionnelles en particulier chez une lignée de cellules dérivées d'embryon de *B. glabrata*, les cellules Bge (*Biomphalaria glabrata* embryonic cell line). De manière intéressante, ces cellules Bge partagent certains caractères morpho-fonctionnels avec les cellules de défenses immunitaires ou hémocytes du mollusque comme plus particulièrement la phagocytose et l'encapsulation.

La recherche d'un promoteur homologue pour contrôler l'expression d'un cDNA ou d'un ARN interférant a déjà été réalisée. Un promoteur a été sélectionné et fusionné au gène rapporteur GFP. Cette construction permettra d'optimiser les conditions de transfection. L'analyse des différentes conditions se fera par cytométrie en flux. En parallèle, le candidat devra tester différentes constructions plasmidiques pour choisir le meilleur gène de résistance afin d'établir de manière stable des lignées de cellules recombinantes. En fonction de l'avancement des travaux, il est prévu de transfecter ces cellules avec une construction plasmidique contenant la biomphalysine (6) ou Crispr/Cas pour respectivement analyser la possibilité d'utiliser les cellules Bge comme plateforme de production recombinante, mais également étudier l'activité de cette toxine et pour Crispr/cas tenter d'établir des lignées de cellules Bge propice à l'invalidation de gènes par recombinaison homologue. Nous analyserons l'expression de ces deux protéines en Western blot à l'aide d'anticorps spécifiques.

**Financement :** Ce sujet entre dans la cadre de l'ANR AeroSNAIL (Structure-Fonction des toxines de type Aérolysine chez *Biomphalaria glabrata* et *Schistosoma mansoni*). Les expériences proposées pour ce projet, ainsi que la gratification de stage seront financées par cet ANR.

1. Mone, Y. Gourbal, B. Duval, D. Du Pasquier, L. Kieffer-Jaquinod, S. Mitta, G. A large repertoire of parasite epitopes matched by a large repertoire of host immune receptors in an invertebrate host/parasite model. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 2010 4 : e813.
2. Tetreau G, Pinaud S, Portet A, Galinier R, Gourbal B, Duval D. Specific Pathogen Recognition by Multiple Innate Immune Sensors in an Invertebrate. *Front Immunol.* 2017 Oct 5;8:1249
3. Portet A, Pinaud S, Tetreau G, Galinier R, Cosseau C, Duval D, Grunau C, Mitta G, Gourbal B. Integrated multi-omic analyses in *Biomphalaria-Schistosoma* dialogue reveal the immunobiological significance of FREP-SmPoMuc interaction. *Dev Comp Immunol.* 2017 Oct;75:16-27.
4. Pinaud S, Portet A, Allienne JF, Belmudes L, Saint-Beat C, Arancibia N, Galinier R, Du Pasquier L, Duval D, Gourbal B. Molecular characterisation of immunological memory following homologous or heterologous challenges in the schistosomiasis vector snail, *Biomphalaria glabrata*. *Dev Comp Immunol.* 2019 Mar;92:238-252.
5. Ittiprasert W, Mann VH, Karinshak SE, Coghlan A, Rinaldi G, Sankaranarayanan G, Chaidee A, Tanno T, Kumkhaek C, Prangtaworn P, Mentink-Kane MM, Cochran CJ, Driguez P, Holroyd N, Tracey A, Rodpai R, Everts B, Hokke CH, Hoffmann KF, Berriman M, Brindley PJ. Programmed genome editing of the omega-1 ribonuclease of the blood fluke, *Schistosoma mansoni*. *Elife.* 2019 Jan 15;8. pii: e41337
6. Galinier, R. Portela, J. Mone, Y. Allienne, JF. Henri, H. Delbecq, S. Mitta, G. Gourbal, B. Duval, D. Biomphalysin, a new pore-forming toxin involved in *Biomphalaria glabrata* immune defense against *Schistosoma mansoni*. *PLoS Pathog*, 2013,10.1371/journal.ppat.1003216.