Avis de Soutenance

Madame FATIMA BOULANOUAR

Biologie-Santé - Spécialité Bioinformatique et Génomique

Soutiendra publiquement ses travaux de thèse intitulés

Étude génomique du genre Malassezia et des mycovirus associés

dirigés par Monsieur Stéphane RANQUE et Monsieur Anthony LEVASSEUR

Thèse soutenue le ***lundi 11 décembre 2023*** à 14h00
Lieu : IHU – Méditerranée Infection 19-21 Boulevard Jean Moulin 13005 Marseille
Salle : 8

Composition du jury proposé

M. Stéphane RANQUE	Aix-Marseille Université (AMU)	Directeur de thèse
M. Alexandre ALANIO	Université de Paris Cité	Rapporteur
Mme Laurence LACHAUD	Université de Montpellier	Président
Mme Céline BROCHIER	Université Claude Bernard Lyon 1	Rapporteure
M. Anthony LEVASSEUR	Aix-Marseille Université (AMU)	Co-directeur de thèse

Mots-clés : Malassezia,mycovirus,génomique,pangenome,bio informatique,

Résumé :

La révolution en cours dans le domaine de la génomique ouvre la voie à des avancées majeures dans notre compréhension de la biologie et de l'évolution génétique. L'objectif de ce présent manuscrit consiste à explorer de manière approfondie deux axes de recherche dans le domaine de la mycologie et de la génomique. Notre travail s'articule autour de l'identification et la caractérisation des mycovirus infectant les levures du genre Malassezia, ainsi que de la description du pan-génome des levures Malassezia, dans le but d'apporter une contribution significative à la compréhension de leur rôle en santé humaine. Le premier axe de recherche visa à étudier les mycovirus associés aux levures du genre Malassezia. Tout d'abord, nous avons réalisé une revue de littérature scientifique répertoriant les différentes méthodes, les plus récentes et les plus pertinentes, utilisées pour détecter et la caractériser les mycovirus. Afin d'explorer la diversité des mycovirus associés au genre Malassezia, nous avons, dans un deuxième temps, effectué une analyse in silico du mycovirome en utilisant les données de séquençage de transcriptomes de différentes espèces de Malassezia disponibles dans les bases de données. Au moyen d'un pipeline bioinformatique dédié que nous avons développé, nous avons identifié trois nouvelles signatures potentielles de Totiviridae dans les transcriptomes de M. globosa et de M. restricta, deux espèces de levures parmi les plus abondantes du mycobiome de la peau humaine. Nous avons précisé leur classification taxonomique par une approche phylogénétique. En parallèle, nous avons mené une étude épidémiologique qui consistait à screener des échantillons cliniques analysés au Laboratoire de Mycologie de l'AP-HM. Nous avons désigné des amorces spécifiques ciblant les séquences de mycovirus associés à

Malassezia identifiés par nous ou dans des études antérieures. Nous avons utilisé la technique de "RNase assay" sur des extraits d'ARN totaux, pour détecter d'éventuels nouveaux virus. Cette approche globale nous a permis de détecter à la fois des variants connus et de nouveaux mycovirus potentiels dans les souches de levures que nous avons analysées, enrichissant ainsi notre connaissance de la diversité des virus infectant ces levures. À ce jour, il existe très peu d'études comparatives basées sur le pan-génome des espèces du genre Malassezia, ce qui laisse un vaste territoire d'exploration pour une meilleure compréhension de la diversité génomique au sein de ce groupe. Dans un deuxième axe, nous avons caractérisé les core- et pan-génomes de l'ensemble des génomes des levures du genre Malassezia disponibles à ce jour. À travers une analyse rigoureuse, nous avons déterminé les caractéristiques génétiques communes et la variabilité génomique entre les différentes souches analysées. Cette étude génomique constitue une ressource précieuse pour les futures investigations visant à mieux comprendre le rôle des espèces de Malassezia dans les maladies cutanées et l'homéostasie de la peau, ouvrant ainsi de nouvelles perspectives pour la recherche médicale. L'ensemble de ces travaux constituent une contribution significative vers une meilleure connaissance des mycovirus associés au genre Malassezia et à la caractérisation du pan-génome de ces levures. Nos résultats ouvrent la voie à de nouvelles avancées vers une meilleure compréhension du rôle de ces levures dans les maladies qu'elles causent, ainsi que dans la dysbiose ou le maintien de l'homéostasie des communautés microbiennes de la peau. La poursuite des recherches sur les interactions complexes de ces virus avec Malassezia devrait fournir des clés pour la connaissance de la biologie de ces virus et l'impact réel qu'ils peuvent avoir sur leur hôte, dans la perspective de les utiliser pour le biocontrôle des maladies dans lesquelles leurs levures hôtes sont impliquées.

LE DOYEN

Georges LEONETTI

Résumé

La révolution en cours dans le domaine de la génomique ouvre la voie à des avancées majeures dans notre compréhension de la biologie et de l'évolution génétique. L'objectif de ce présent manuscrit consiste à explorer de manière approfondie deux axes de recherche dans le domaine de la mycologie et de la génomique. Notre travail s'articule autour de l'identification et la caractérisation des mycovirus infectant les levures du genre *Malassezia,* ainsi que de la description du pan-génome des levures *Malassezia*, dans le but d'apporter une contribution significative à la compréhension de leur rôle en santé humaine.

Le premier axe de recherche vise à étudier les mycovirus associés aux levures du genre *Malassezia*. Tout d'abord, nous avons réalisé une revue de littérature scientifique répertoriant les différentes méthodes, les plus récentes et les plus pertinentes, utilisées pour détecter et caractériser les mycovirus. Afin d'explorer la diversité des mycovirus associés au genre *Malassezia*, nous avons, dans un deuxième temps, effectué une analyse *in silico* du mycovirome en utilisant les données de séquençage de transcriptomes de différentes espèces de *Malassezia* disponibles dans les bases de données. Au moyen d'un pipeline bioinformatique dédié que nous avons développé, nous avons identifié trois nouvelles signatures potentielles de *Totiviridae* dans les transcriptomes de *M. globosa* et de *M. restricta*, deux espèces de levures parmi les plus abondantes du mycobiome de la peau humaine. Nous avons précisé leur classification taxonomique par une approche phylogénétique. En parallèle, nous avons mené une étude épidémiologique qui consistait à screener des échantillons cliniques analysés au Laboratoire de Mycologie de l'AP-HM. Nous avons désigné des amorces spécifiques ciblant les séquences de mycovirus associés à *Malassezia* identifiés par nous ou dans des études antérieures. Nous avons utilisé la technique de "RNase assay" sur des extraits d'ARN totaux, pour détecter d'éventuels nouveaux virus. Cette approche globale nous a permis de détecter à la fois des variants connus et de nouveaux mycovirus potentiels dans les souches de levures que nous avons analysées, enrichissant ainsi notre connaissance de la diversité des virus infectant ces levures.

À ce jour, il existe très peu d'études comparatives basées sur le pan-génome des espèces du genre *Malassezia*, ce qui laisse un vaste territoire d'exploration pour une meilleure compréhension de la diversité génomique au sein de ce groupe. Dans un deuxième axe, nous avons caractérisé les core- et pan-génomes de l'ensemble des génomes des levures du genre *Malassezia* disponibles à ce jour. À travers une analyse rigoureuse, nous avons déterminé les caractéristiques génétiques communes et la variabilité génomique entre les différentes souches analysées. Cette étude génomique constitue une ressource précieuse pour les futures investigations visant à mieux comprendre le rôle des espèces de *Malassezia* dans les maladies cutanées et l'homéostasie de la peau, ouvrant ainsi de nouvelles perspectives pour la recherche médicale.

L'ensemble de ces travaux constituent une contribution significative vers une meilleure connaissance des mycovirus associés au genre *Malassezia* et à la caractérisation du pan-génome de ces levures. Nos résultats ouvrent la voie à de nouvelles avancées vers une meilleure compréhension du rôle de ces levures dans les maladies qu'elles causent, ainsi que dans la dysbiose ou le maintien de l'homéostasie des communautés microbiennes de la peau. La poursuite des recherches sur les interactions complexes des virus avec *Malassezia* devrait fournir des clés pour la connaissance de la biologie de ces virus et l'impact réel qu'ils peuvent avoir sur leur hôte, dans la perspective de les utiliser pour le biocontrôle des maladies dans lesquelles leurs levures hôtes sont impliquées.

Abstract

The ongoing revolution in genomics is paving the way for major advances in our understanding of biology and genetic evolution. The aim of this manuscript is to explore in depth two lines of research in the field of mycology and genomics. Our work revolves around the identification and characterisation of mycoviruses infecting yeasts of the *Malassezia* genus, as well as the description of the *Malassezia* yeast pan-genome, with the aim of making a significant contribution to understanding their role in human health.
The first line of research aimed at studying the mycoviruses associated with yeasts of the *Malassezia* genus. Firstly, we reviewed the scientific literature to describe the most recent and relevant methods used to detect and characterise mycoviruses. To explore the diversity of mycoviruses associated with the *Malassezia* genus, we then carried out an *in silico* analysis of the mycovirome using transcriptome sequencing data from various *Malassezia* species available in the NCBI SRA database. Using a dedicated bioinformatics pipeline that we developed, we identified three new potential *Totiviridae* signatures in the transcriptomes of *M. globosa* and *M. restricta*, two of the most abundant yeast species in the human skin mycobiome. We clarified their taxonomic classification using a phylogenetic approach. At the same time, we carried out an epidemiological study, which involved screening clinical samples analysed at the AP-HM Mycology Laboratory. We designed specific primers targeting sequences of *Malassezia*-associated mycoviruses identified by us or in previous studies. We used the RNase assay on total RNA extracts to detect any new viruses. This global approach enabled us to detect both known variants and potential new mycoviruses in the yeast isolates we analysed, thereby enriching our knowledge of the diversity of viruses infecting these yeasts.
To date, there have been very few comparative studies based on the pan-genome of species in the *Malassezia* genus, which leaves a vast area for exploration in order to gain a better understanding of the genomic diversity within this group. Our second line of research was to characterise the core and pan-genomes of all the yeast genomes of the *Malassezia* genus available to date. Through a rigorous analysis, we have determined the common genetic characteristics and genomic variability between the different strains analysed. This genomic study is a valuable resource for future investigations aimed at better understanding the role of *Malassezia* species in skin diseases and skin homeostasis, opening up new perspectives for medical research.
All of this work represents a significant contribution towards a better understanding of the mycoviruses associated with the *Malassezia* genus and the characterisation of the pan-genome of these yeasts. Our results pave the way for new advances towards a better understanding of the role of these yeasts in the diseases they cause, as well as in dysbiosis or in maintaining the skin microbial communities homeostasis. Further research into the complex interactions of viruses with *Malassezia* should provide keys to understanding the biology of these viruses and the real impact they can have on their host, with a view to using them for biocontrol of the diseases in which their yeast hosts are involved.

Keywords : Genomics, *Malassezia*, mycoviruses, pangenome.