

APPEL A PROJETS DE THÈSE 2026 CONCOURS DE L'ED 658 – Sciences du vivant

Formulaire à compléter et déposer par les porteurs du projet de thèse HDR via l'adresse mail suivante :
ed658@univ-amu.fr OU/ET romane.haddadi@univ-amu.fr

MERCI DE METTRE EN SUJET DU MAIL : Concours ED 658 2026 porteur de projet
Ces dossiers seront publiés pour que les candidats postulent.

au plus tard le 3 mars 2026.

INTITULÉ DU PROJET

Caractérisation de variants régulateurs et gènes impliqués dans le développement du sepsis

1- Directrice ou directeur de thèse HDR

NOM	Chevillard	Prénom	Christophe
Téléphone portable		Courriel	Christophe.chevillard@inserm.fr
Unité de recherche (UR) de rattachement			
Code (acronyme et n°) de l'UR à AMU :			
Nom de l'UR :	TAGC/ U inserm 1090		
Directrice ou directeur de l'UR			
Nom	Chevillard	Prénom	Christophe

2- Codirectrice ou codirecteur de thèse, le cas échéant

NOM	Pradel	Prénom	Lydie
Téléphone portable	0634360008	Courriel	Lydie.pradel@univ-amu.fr
Unité de recherche (UR) de rattachement			
Code (acronyme et n°) de l'UR à AMU :		TAGC UMR U1090	
Nom de l'UR :	TAGC Thoeries and Approaches of Genomic Complexity		
Directrice ou directeur de l'UR			
Nom	Chevillard	Prénom	Christophe

SPECIALITE : (Rayer les mentions inutiles)

Bio-informatique et Génomique / ~~Biochimie Structurale~~ / ~~Biologie du Cancer~~ / ~~Biologie du Développement~~ / ~~Biologie Végétale~~ / ~~Biotechnologie~~ / ~~Immunologie~~ / ~~Microbiologie et interactions hôte-pathogènes~~ / ~~Neurosciences~~

SOUS JURY POUR LE CONCOURS : (Rayer les mentions inutiles)

JURY 1 : BIOLOGIE CELLULAIRE
JURY 2 : ~~MICROBIOLOGIE~~ GENOMIQUE
JURY 3 : ~~NEURSOCIENCES~~

APPEL A PROJETS DE THÈSE 2026 CONCOURS DE L'ED 658 – Sciences du vivant

MERCI DE REMPLIR TOUTES LES INFORMATIONS EN FRANÇAIS ET EN ANGLAIS

Description de la problématique de recherche - Project description

FR_

Le sepsis est un syndrome multifactoriel caractérisé par une évolution dynamique et un pronostic clinique dépendant de plusieurs facteurs tels que le processus physiopathologique, l'environnement et le génotype des patients atteints. L'OMS le classe comme une priorité mondiale depuis 2017 ; il est responsable d'un décès sur cinq dans le monde, soit environ 11 millions de décès par an (1). En France, l'incidence annuelle du sepsis est estimée à 403/100 000, avec un taux de mortalité de 23 % et des séquelles dans 15 % des cas. Son coût moyen est estimé à environ 16 000 € par hospitalisation (2). Aux États-Unis, il est responsable de plus d'un décès sur trois, ce qui en fait la première cause de dépenses hospitalières et de mortalité (3). Le sepsis est aujourd'hui présenté comme une dérégulation de la réponse immunitaire à une infection – bactérienne, virale, fongique ou parasitaire –, entraînant un dysfonctionnement d'organe (4). Le choc septique est un stade avancé du sepsis et est caractérisé par une hypotension sévère et persistante et un risque accru de dysfonction multiple d'organes. La réponse immunitaire provoque des lésions tissulaires et organiques, pouvant entraîner une défaillance multiviscérale, voire le décès, et induire une mortalité importante (jusqu'à 45 %). Peu de marqueurs permettent de prédire l'évolution du sepsis vers un choc septique chez les patients. Par conséquent, la prédiction de l'évolution du sepsis vers des formes graves demeure un défi. Cette évolution dépend de facteurs liés au pathogène, tels que l'espèce, l'inoculum, la virulence et l'immunogénicité. Elle dépend également des caractéristiques de l'hôte comme l'âge, le statut immunitaire, l'environnement et des facteurs génétiques (3). Les mécanismes physiopathologiques des manifestations cliniques du sepsis restent mal compris. Les analyses moléculaires ont révélé de multiples profils de réponse au niveau de l'expression génique, des protéines et métabolites sécrétés, ainsi que des populations leucocytaires.

EN_

Sepsis is a multifactorial syndrome characterized by dynamic course and a clinical outcome depending on several factors, such as the pathophysiological process, the environment, and the genotype of the affected patients. The WHO has classified it as a global priority since 2017; responsible for one in five deaths worldwide, or approximately 11 million deaths per year (1). The annual incidence of sepsis in France is estimated at 403/100,000, with a death rate of 23% and sequelae in 15% of cases. Its average cost is estimated at approximately €16,000 per hospitalization (2). In the United States, it is responsible for more than one in three deaths, making it the leading cause of hospital expenditure and mortality (3). In 2016, the scientific community updated the definition of sepsis, presenting it as a dysregulation of the immune response to an infection -whether bacterial, viral, fungal, or parasitic-, leading to organ dysfunction (4). This immune response causes tissue and organ damage, leading to multiple organ failure and even death, leads to a significant mortality (up to 45%). Few markers predict the progression of sepsis to septic shock in patients with organ dysfunction. Thus, predicting the progression of sepsis to severe forms remains a challenge. This progression depends on factors related to the pathogen, such as species, inoculum, virulence, and immunogenicity. But it also depends on host characteristics such as age, immune status, environment, and genetic factors (3). The pathophysiological mechanisms of the clinical manifestations of sepsis remain poorly understood. Molecular profiling has revealed multiple response patterns in gene expression, secreted proteins and metabolites, and leukocyte populations.

Mots clés – Keywords

FR_ Sepsis, Choc septique, GWAS, MPRA (Massive Parallel Reporter Assay), séquences régulatrices, variants, marqueurs, réponse immune, épigénétique, cohorte de patients, validation fonctionnelle

EN_ Severe sepsis, GWAS, MPRA (Massive Parallel Reporter Assay), regulatory region, variants, markers, immune response, epigenetics, patient cohort, functional validation

APPEL A PROJETS DE THÈSE 2026 CONCOURS DE L'ED 658 – Sciences du vivant

Thématique / Domaine / Contexte - Theme / Field / Context

FR_ Le projet s'articule autour de 2 aspects : i) l'identification de SNPs (Single Nucleotides Polymorphisms) associés au sepsis grâce à des études d'association à l'échelle du génome (Genome-Wide Association Studies, GWAS) puis la réalisation d'un MPRA (Massive Parallel Reporter Assay) permettant de tester simultanément l'effet sur la transcription de milliers de séquences contenant les SNPs ; et ii) une étude transcriptomique et épigénétique sur des PBMC (Peripheral Blood Mononuclear Cells) issus de patients ayant développé ou non un choc septique afin d'identifier les gènes et les voies métaboliques dérégulés, ainsi que les régions régulatrices conduisant au choc septique.

i) Les GWAS ont montré que les variants génétiques ou SNPs ou allèles sont associés à des traits ou à des pathologies dans le génome (5). La majorité des variants sont localisés dans des régions non codantes et sont probablement des variants régulateurs de gènes. Les variants génétiques causaux ne peuvent cependant pas être identifiés directement, les « tags SNPs » utilisés dans les GWAS sont en déséquilibre de liaison avec les variants causaux. Pour identifier les séquences régulatrices et les variants causaux, il est donc nécessaire de faire des expériences. Grâce à 9 études GWAS (6-14), nous avons identifié 4 000 variants associés au sepsis. La technique de MPRA (15) a été réalisée au laboratoire afin de tester simultanément 24 000 séquences obtenues à partir de ces 4 000 variants (financement Inserm, GOLD) dans la lignée cellulaire myéloïde humaine (K562). Après transfection de la librairie, les cDNA ont été extraits et quantifiés à partir des cellules K562 traitée ou non traitée avec du LPS (Lipopolysaccharide), utilisées comme modèle de sepsis (14). Les analyses issues de cette expérience de MPRA permettront d'identifier les régions régulatrices clés impliquées dans le développement du sepsis ainsi que les variants présentant une différence significative d'activité transcriptionnelle entre l'allèle de référence et l'allèle alternatif (les analyses sont actuellement en cours dans le cadre d'un stage M2 financé par l'institut MarMaRa).

ii) En parallèle, une étude transcriptomique et épigénétique sera réalisée sur des PBMC (Peripheral Blood Mononuclear Cells) de patients atteints de sepsis et développant ou non un choc septique (Projet AP-HM Episepsis, collaboration N. Lalevée, M. Leone, C2VN). Ce projet nous permettra d'identifier les voies métaboliques associées au développement du choc septique, les gènes clés dérégulés ainsi que les régions régulatrices régulant ces gènes.

Les régions régulatrices identifiées grâce à ces 2 méthodes seront validées *in fine* par différentes méthodes fonctionnelles.

EN_ The project is structured around two aspects: i) the identification of single nucleotide polymorphisms (SNPs) associated with sepsis through genome-wide association studies (GWAS), followed by a massive parallel report assay (MPRA) to simultaneously test the effect on transcription of thousands of sequences containing the SNPs; and ii) a transcriptomic and epigenetic study on peripheral blood mononuclear cells (PBMCs) from patients who have or have not developed septic shock, in order to identify the genes and metabolic pathways that are deregulated, as well as the regulatory regions leading to septic shock.

i) GWAS have shown that genetic variants, or SNPs (single nucleotide polymorphisms), or alleles, are associated with traits or pathologies in the genome (5). The majority of variants are located in non-coding regions and are likely regulatory gene variants. However, causal genetic variants cannot be directly identified because the SNP tags used in GWAS are in linkage disequilibrium with causal variants. Therefore, to identify regulatory sequences and causal variants, experiments are necessary. Through nine GWAS studies (6–14), we identified 4,000 variants associated with sepsis. The MPRA (Massive Parallel Reporter Assay) technique (15) was performed in the laboratory to simultaneously test 24,000 sequences obtained from these 4,000 variants (Inserm GOLD funding) in the human myeloid cell line (K562). After transfection of the library, cDNAs were extracted and quantified from K562 cells, both untreated or treated with LPS (Lipopolysaccharide), which was used as a sepsis model (14).

ii) In parallel, a transcriptomic and epigenetic study will be conducted on PBMCs (Peripheral Blood Mononuclear Cells) from patients with sepsis, with or without septic shock (AP-HM Episepsis Project, collaboration with N. Lalevée, M. Leone, and C2VN). This project will allow us to identify the metabolic pathways associated with the development of septic shock, the key dysregulated genes, and the regulatory regions that govern these genes.

The regulatory regions identified using these two methods will ultimately be validated by various functional methods.

APPEL A PROJETS DE THÈSE 2026 CONCOURS DE L'ED 658 – Sciences du vivant

Objectifs

FR_ L'objectif de cette étude est de mieux comprendre les mécanismes moléculaires conduisant au choc septique et d'identifier les variants causaux associés au sepsis et choc septique.

Nos objectifs spécifiques sont les suivants :

- i) identifier les régions régulatrices et les allèles responsables de la modulation de l'expression de gènes associés au sepsis grâce au MPRA.
- ii) identifier les voies métaboliques, les gènes et les régions régulatrices qui sont impliqués dans le développement du choc septique grâce à l'étude transcriptomique et épigénétique réalisée sur les échantillons de patients.
- iii) identifier, le cas échéant, les facteurs de transcription (FT) capables de se lier aux variants et régions régulatrices et d'identifier leurs séquences de fixation.

EN_ This study aims to better understand the molecular mechanisms leading to septic shock and to identify the causal variants associated with sepsis and septic shock.

Our specific objectives are:

- i) To identify the regulatory regions and alleles responsible for modulating the expression of genes associated with sepsis by MPRA.
- ii) To identify the metabolic pathways, genes, and regulatory regions involved in the development of septic shock through transcriptomic and epigenetic analysis of patient samples.
- iii) To identify the transcription factors (TFs) capable of binding to variants and regulatory regions, and to identify their binding sequences.

Méthode – Method

FR_ Les résultats du MPRA (5 réplicats par condition non stimulée et stimulée au LPS) seront complétées par des analyses bioinformatiques utilisant des données publiques de ChIPseq, eQTL, GTEx, geneHancer.

Les PBMC de patients sont actuellement en cours de prélèvement à leur admission en soins critiques ou le jour de leur sepsis (T0-CTL) ayant une évolution favorable (T1-CTL) et de patients prélevés à leur admission en soins critiques ou le jour de leur sepsis (T0-CS) ayant développé un choc septique (T1-CS). Les PBMC sont divisés en deux aliquotes. Une partie des cellules est fixée et congelée pour réaliser des expériences de ChIP-seq (H3K27ac, marque activatrice enhancer et promoteur et H3K27me3, marque répressive). L'autre partie des cellules servira à la réalisation d'expériences de RNA-seq et à des validations en qPCR.

Les analyses bio-informatiques combinées aux résultats expérimentaux obtenus permettront d'identifier des variants génétiques causaux. Les régions régulatrices et les variants seront modifiés par mutagenèse dirigée et testés fonctionnellement par luciferase assay. L'impact des régions régulatrices et des variants régulateurs identifiés sur l'expression des gènes voisins sera également évalué en utilisant l'édition génomique CRISPR/Cas9 (délétions et mutations ponctuelles) dans des lignées cellulaires humaines. L'expression des gènes identifiés sera également analysée à l'aide des données générés auparavant dans notre modèle murin de souris (16). Des expériences d'EMSA (Electrophoretic Mobility Shift Assay) à partir de séquences mutées ou non mutées seront réalisées le cas échéant afin d'identifier quel(s) facteur(s) de transcription est(sont) capable(s) de se lier à ces régions régulatrices et aux variants de référence et alternatif(s).

APPEL A PROJETS DE THÈSE 2026 CONCOURS DE L'ED 658 – Sciences du vivant

EN_ The results of the MPRA (5 replicates per condition, unstimulated and stimulated with LPS) will be complemented by bioinformatic analyses using publicly available ChIP-seq, eQTL, GTEx, and geneHancer data.

PBMCs are currently being collected from patients who have a favorable outcome (T1-CTL) upon admission to the ICU or on the day of their sepsis (T0-CTL), and from patients who have developed septic shock (T1-CS) upon admission to the ICU or on the day of their sepsis (T0-CS). The PBMCs are divided into two aliquots. One portion of the cells is fixed and frozen for ChIP-seq experiments (H3K27ac, activating Enhancer and Promoter mark, and H3K27me3, repressive mark). The other portion of the cells will be used for RNA-seq experiments and qPCR validation.

Bioinformatic analyses combined with experimental results allow for the identification of causal genetic variants. Regulatory regions and variants will be modified by site-directed mutagenesis and functionally tested using a luciferase assay. The impact of the identified regulatory regions and variants on the expression of neighboring genes will also be evaluated using CRISPR/Cas9 genome editing (deletions and point mutations) in human cell lines. The expression of the identified genes will also be analyzed using previously generated data in our mouse model (16). EMSA experiments using mutated and non-mutated sequences will be performed as appropriate to identify which transcription factor(s) are capable of binding to these regulatory regions and to the reference and alternative variants.

Références bibliographiques

1. Rudd KE, Johnson SC, Agesa KM, Shackelford KA, Tsoi D, Kievlan DR, et al. Global, regional, and national sepsis incidence and mortality, 1990–2017: analysis for the Global Burden of Disease Study. *Lancet Lond Engl.* 2020;395(10219):200-11.
2. Pandolfi F, Guillemot D, Watier L, Brun-Buisson C. Trends in bacterial sepsis incidence and mortality in France between 2015 and 2019 based on National Health Data System (Système National des données de Santé (SNDS)): a retrospective observational study. *BMJ Open.* 19 mai 2022;12(5):e058205.
3. Meyer NJ, Prescott HC. Sepsis and Septic Shock. *N Engl J Med.* 4 déc 2024;391(22):2133-46.
4. Singer M, Deutschman CS, Seymour CW, Shankar-Hari M, Annane D, Bauer M, et al. The Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3). *JAMA.* 23 févr 2016;315(8):801-10.
5. Montalbano A, Canver MC, Sanjana NE. High-Throughput Approaches to Pinpoint Function within the Noncoding Genome. *Mol Cell.* 2017 Oct 5;68(1):44-59. doi: 10.1016/j.molcel.2017.09.01
6. Jallow M. et al. 2009, *Nat Genet.* Genome-wide and fine-resolution association analysis of malaria in West Africa. Jallow M. et al. 2009, *Nat Genet.*
7. Novel genetic polymorphisms associated with severe malaria and under selective pressure in North-eastern Tanzania. Ravenhall M. et al. 2018, *Plos Genet.*
8. Band et al, 2019, *Nat Com.* Insights into malaria susceptibility using genomewide data on 17,000 individuals from Africa, Asia and Oceania. *Malaria Genomic Epidemiology Network.*
9. Band G. et al, 2015, *Nature* A novel locus of resistance to severe malaria in a region of ancient balancing selection. *Malaria Genomic Epidemiology Network.*
10. Timmann C. et al. 2012. *Nature.* Genome-wide association study indicates two novel resistance loci for severe malaria.
11. Ding k. et al, 2013, G3(Bethesda) Genetic variants that confer resistance to malaria are associated with red blood cell traits in African-Americans: an electronic medical record-based genome-wide association study.
12. Milet J. et al, 2019, *Hum Genet.* First genome-wide association study of non-severe malaria in two birth cohorts in Benin.
13. Man M. et al. 2013, *Pharm. J.* Beyond single-marker analyses: Mining whole genome scans for insights into treatment responses in severe sepsis.
14. Rosier F. et al, 2021, *IJMS,* Genetic Predisposition to the Mortality in Septic Shock Patients: From GWAS to the Identification of a Regulatory Variant Modulating the Activity of a CISH Enhancer.
15. Santiago-Algarra D et al, Recent advances in high-throughput approaches to dissect enhancer function. *F1000Res.* 2017 Jun 19; 6:939.
16. Rosier F et al, Transcriptional Response in a Sepsis Mouse Model Reflects Transcriptional Response in Sepsis Patients. *Int J Mol Sci.* 2022 Jan 13;23(2):821.

Conditions scientifiques matérielles et financières du projet de recherche - Scientific, material, and financial conditions of the research project

FR_ Le TAGC/U inserm 1090 dispose du matériel nécessaire à la réalisation de ce projet : matériel classique de biologie cellulaire et moléculaire ainsi que d'une plateforme de culture cellulaire, une plateforme de séquençage (TGML) et une plateforme de CRISPR et screening. Le laboratoire bénéficie de fonds récurrents pour le projet et du financement Episepsis (AP-HM Episepsis Project, collaboration with N. Lalevée, M. Leone, and C2VN).

EN_ The TAGC/U inserm 1090 laboratory has the necessary equipment to carry out this project: standard cell and molecular biology equipment, a cell culture platform, a TGML sequencing platform, and a CRISPR and screening platform. The laboratory receives recurring funding for this project and funding from the Episepsis project (AP-HM Episepsis project, in collaboration with N. Lalevée, M. Leone, and C2VN).

**APPEL A PROJETS DE THÈSE 2026
CONCOURS DE L'ED 658 – Sciences du vivant**

Profil et compétences recherchées - Profile and skills required

FR_Etudiant ayant validé le Master 2 rigoureux et motivé ayant des compétences en techniques de biologie moléculaires expérimentales et en analyses de données bio-informatiques :

- Maîtrise des concepts classiques de Biologie moléculaire,
- Maîtrise des approches de biologie expérimentales avancées : génomique et analyse des données (technologies de séquençage haut débit tels que ChIP-seq, RNA-seq ...), analyses bioinformatiques et statistiques,
- Maîtrise des langages et outils analytiques (par ex. R, Python) pour traiter et interpréter des jeux de données biologiques complexes.

EN_A rigorous and motivated Master's student with skills in experimental molecular biology techniques and bioinformatics data analysis is sought, having successfully completed the second year of a Master's program. The ideal candidate will possess:

- A solid understanding of classical molecular biology concepts,
- Proficiency in advanced experimental biology approaches: genomics and data analysis (high-throughput sequencing technologies such as ChIP-seq, RNA-seq, etc.), bioinformatics and statistical analysis,
- Proficiency in analytical languages and tools (e.g., R, Python) for processing and interpreting complex biological datasets.