



MASTER 2 BIOINFORMATIQUE ANNEE 2023-2024

Titre du sujet de stage :

Caractérisation de la diversité transcriptomique des allergies retardées au médicaments (toxidermies)/
Développement d'un pipeline d'analyse de données de bulk RNAseq

Nom, adresse de l'Unité d'accueil / Nom du responsable de l'Unité :

CIRI, INSERM U1111-CNRS UMR5308_université Lyon 1-ENS Lyon (Directeur : FL Cosset)

Nom, adresse de l'Equipe d'accueil/ Nom, tel, adresse e-mail du responsable d'Equipe à contacter :

Laboratoires d'accueil :

Immunité de l'épiderme et allergie (Responsable Marc Vocanson)

Nom de l'Encadrant :

Tauber Marie, MD/PhD; marine-alexia.lefevre@inserm.fr ; tél : 04 37 28 23 43 (possibilité de co-encadrement par le BIBS à discuter)

Vocanson Marc, PhD; marc.vocanson@inserm.fr ; tél : 04 37 28 23 48

Nous recherchons un étudiant de M2 bio-informatique pour établir un workflow complet d'analyse de bulk RNAseq au sein d'une équipe pluridisciplinaire de recherche dans le domaine de l'immunologie/allergie cutanée. Le but de ce stage de Master 2 sera de déboucher soit sur une thèse de bio-informatique dans la même thématique mais avec travail axé sur l'analyse de jeux de données de scRNAseq couplé à du TCRseq et/ou à de la transcriptomique spatiale, soit sur un poste de Bioinfo financé dans l'équipe.

Résumé du Sujet de stage :

Les hypersensibilités retardées aux médicaments également appelées toxidermies sont des allergies médicamenteuses allant de formes bénignes, telles que l'exanthème maculo-papuleux médicamenteux (EMP) se présentant comme une éruption cutanée isolée sans atteinte d'organe, aux formes graves, mortelles dans 30% des cas, telles que les nécrolyses épidermiques toxiques (NET) encore appelées syndromes de Lyell. Dans ces formes extrêmes, la réaction allergique entraîne une nécrose et un décollement complet de l'épiderme à l'origine de tableaux cliniques proches des grands brûlés. Il existe d'autres toxidermies sévères avec atteintes d'organes mais n'entraînant pas

de décollement épidermique telles que le DRESS syndrome (Drug reaction with eosinophilia and systemic symptoms). La physiopathologie des NET est encore mal comprise, notamment sur le plan de la réponse immunitaire engagée. Il est classiquement admis qu'il existe un recrutement et une activation de lymphocyte T (LT) CD8⁺ dans la peau de patients atteints de toxidermie, quelle que soit la forme. Notre équipe a récemment montré qu'il existait dans le sang et la peau de patients atteints de NET, une expansion de clones LT CD8⁺ ayant un profil activé (CD38^{high}) et fortement cytotoxique. Le rôle de ces lymphocytes dans la physiopathologie n'est cependant pas déterminé. Nous émettons l'hypothèse d'une interaction anormale entre LT CD8⁺ clonaux et kératinocytes de l'épiderme, à l'origine de la nécrose épidermique complète spécifiquement observée dans les NET et non dans les autres formes de toxidermies.

La première étape de ce projet de recherche consiste à caractériser les points communs et différences du tissu cutané lésionnel de patients souffrant de NET en comparaison à des toxidermies « contrôles », telles que l'EMP et le DRESS. Pour cela, nous réaliserons un séquençage de l'ARN total extrait de la peau lésionnelle (punch 4 mm) de patients atteints de NET (n=5) en comparaison à des toxidermies soit bénignes (EMP, n=10), soit sévères mais non associées à un décollement épidermique (DRESS, n=5) et des contrôles sains appariés en âge et en sexe (n=10).

Nous disposerons des fichiers fastq de RNAseq bulk en janvier 2024.

L'objectif de ce projet sera donc d'établir un workflow complet d'analyse RNAseq :

- Les étapes de pre-processing jusqu'à la génération de la table de comptes seront réalisées avec GALAXY : contrôle qualité et nettoyage (ex : FastQC, TrimGalore, Trimmomatic), mapping (ex : Bowtie), matrice de comptes (ex : HTseqCount).
- Par la suite, le logiciel R (ex : DESeq2, ggplot...) sera utilisé pour l'exploration des données à partir de la matrice de compte :
 - o Visualisation des données (ex : PCA)
 - o Normalisation et analyse différentielle
 - o Clustering (ex : heatmap)

- Enfin, une analyse d'enrichissement sera effectuée (ex : GO, GSEA, KEGG) afin d'identifier les voies spécifiquement modulées en fonction des types de toxidermies.

Le but étant de générer un pipeline d'analyse réutilisable dans les suites pour d'autres jeux de données, nous souhaiterions donc que les étudiants produisent un workflow fonctionnel sur galaxy et un script complet en R markdown.

Publications d'intérêt :

1. Duong TA et al, Lancet 2017 doi: 10.1016/S0140-6736(16)30378-6.
2. Villani A, et al. Sci Adv 2021 doi: 10.1126/sciadv.abe0013.
3. White K D, et al. JACI 2015 doi:10.1016/j.jaci.2015.05.050.
4. Hoetzenecker, et al. F1000Research 2016 doi:10.1016/j.jaci.2015.05.050.