



Master 2 Reproduction et Développement
Stage de recherche 2025-2026

Prénom et NOM de l'encadrant : Anahi MOLLA HERMAN

Téléphone : 0610370711

Mail : anahi.molla-herman@college-de-france.fr

Prénom et NOM du/de la responsable d'équipe : JEAN-RENE HUYNH

Intitulé de l'équipe d'accueil : DEVELOPEMENT DES CELLULES GERMINALES

Site internet de l'unité : <https://www.college-de-france.fr/fr/evolution-and-development-of-germ-cells>
<https://www.germcells.fr>

Prénom et NOM du/de la directeur-riche d'Unité : Marie-Hélène VERLHAC

Adresse du Laboratoire ou de l'Unité : CIRB Collège de France
11 Place Marcelin Berthelot 75005 Paris

Résumé du thème de recherche de l'équipe d'accueil (une dizaine de lignes maximum) :

Pendant l'ovogenèse de la mouche *Drosophila*, les cystes des cellules germinales traversent une zone mitotique et une zone méiotique où le futur œuf est sélectionné dans une structure de l'ovariole appelée germarium. Pendant ce processus, diverses sources de dommages à l'ADN peuvent survenir (défauts de réparation des DSBs méiotiques, surexpression d'éléments transposables, présence de stress réplicatif...). Cependant, il est crucial de préserver l'intégrité de son génome pour ne pas transmettre des effets délétères aux futures générations.

Au laboratoire, nous avons découvert que la variante d'histone H2Av joue un rôle crucial dans l'ovogenèse et la lutte contre diverses sources de dommages à l'ADN. En effet, les femelles mutantes pour H2Av sont stériles, surexpriment les transposons, ont un défaut de formation des piRNAs et ont une accumulation des DSBs. En conséquence, elles présentent une activation des barrières de contrôle, qui entraîne un arrêt de l'ovogenèse et la formation d'ovaires atrophiés. De façon intéressante, nous avons découvert que la protéine Arp6 joue un rôle en amont, introduisant H2Av dans les nucléosomes, puisque la mutation d'Arp6 entraîne l'apparition d'un phénotype similaire à la mutation d'H2Av (manuscrit en préparation).

D'un point de vue évolutif, chez la majorité d'eukaryotes H2A.X peut être phosphorylé et joue un rôle dans la réponse des dommages à l'ADN. H2A.Z joue un rôle dans l'activité transcriptionnelle. Cependant, chez la *Drosophila*, l'unique protéine H2Av combine les deux fonctions. De façon étonnante, alors que les histones jouent un rôle fondamental dans la régulation de l'expression génique, peu est connu sur le rôle des histones et histones variantes dans la répression des éléments transposables et l'intégrité du génome.

Les défauts d'H2A.Z et H2A.X sont souvent associés à diverses maladies, comme le cancer (sein, uterus, ovaire, prostate...). Étudier la fonction de H2Av chez la *Drosophila* pourra aider dans la compréhension de l'étiologie des maladies associées aux histones variantes.



Master 2 Reproduction et Développement Stage de recherche 2025-2026

Titre du projet de stage :

Rôle de H2Av dans l'intégrité du génome et l'ovogenèse de *Drosophile*.

Projet de stage : (une vingtaine de lignes maximum)

Afin de mieux comprendre quel est le mécanisme d'action de H2Av dans l'ovogenèse et la fertilité chez la *Drosophile*, nous avons 4 objectifs complémentaires à atteindre :

- Objectif 1 : où est localisé H2Av de façon pangénomique ?
J'ai développé une collaboration avec Raphael Margueron de l'institut Curie pour faire des expériences de Cut&Run (similaire à ChIP-seq) pour décrire où est localisé H2Av sur l'ensemble de la chromatine (séquences répétées, transposons, piRNAs clusters, gènes liés à la répression des transposons...). A l'aide d'un anticorps spécifique pour H2Av, nous allons faire des expériences de Cut&Run avec des ovaires contrôle et mutants pour *H2Av* et *Arp6*. L'ADN récupéré sera analysé par séquençage à haut débit et par des expériences de qRT-PCR.
Les résultats seront croisés aux données de RNA-seq et Small RNA-seq des mutants *H2Av* déjà obtenus au laboratoire, pour faire une corrélation des *loci* dérégulés avec les localisations de H2Av.
Résultat attendu : génération d'une carte pangénomique de la localisation de H2Av.
- Objectif 2 : comment est introduit H2Av dans les nucléosomes ?
Des mutants pour *Arp6* seront comparés aux mutants de *dmp18*, qui dépose H2Av dans les nucléosomes dans le disque d'aile. Des doubles mutants *Arp6,dmp18* seront analysés, suivi d'expériences d'immunofluorescence et Western Blot, pour évaluer la déposition de H2Av dans la chromatine. Le phénotype des ovaires sera analysé par immunofluorescence et microscopie confocale, afin de savoir si ces gènes ont un effet synergique ou bien s'ils sont dans la même voie.
Résultat attendu : description du mécanisme de déposition de H2Av dans la chromatine.
- Objectif 3 : quand est-ce que H2Av est importante au cours du processus d'ovogenèse ?
A l'aide de promoteurs spécifiques déjà disponibles au laboratoire, nous allons diminuer l'expression de H2Av dans différentes régions du germaire. Ensuite, nous ferons d'expériences d'immunofluorescence et microscopie confocale.
Résultats attendus : description de la zone exacte où H2Av est importante pour la fertilité lors de la formation de la lignée germinale.
- Objectif 4 : est-ce que la phosphorylation de H2Av est importante dans l'ovogenèse ?
Nous avons fait des lignées transgéniques de H2Av qui ne peuvent pas être phosphorylées. Dès lors, elles ressemblent à H2A.Z d'autres organismes et la réponse aux dommages à l'ADN ne peut pas avoir lieu. Nous devons analyser si les mouches homozygotes sont bien fertiles et si la fonction de préservation de l'intégrité du génome est altérée.
Résultats attendus : séparation de fonction de H2Av chez la *Drosophile* (en comparaison avec H2A.Z et H2A.X).



Master 2 Reproduction et Développement
Stage de recherche 2025-2026

Techniques mises en œuvre par le stagiaire :

apprendre des techniques couramment utilisées dans notre laboratoire :

- croisements génétiques, disséquer des ovaires de drosophile sous la loupe, faire des expériences d'immunofluorescence suivie de microscopie confocale.
- participer à la mise au point du Cut&Run et qRT-PCR avec l'encadrante.
- participer à l'analyse des séquences obtenues et les comparer aux résultats de transcriptomiques et petits ARNs déjà obtenus dans le laboratoire.
- faire de tests de fertilité.

Tout le matériel est disponible au laboratoire.

Les objectifs sont réalisables pour la durée de stage M2 avec l'encadrante.

Publications du Responsable de stage au cours des 5 dernières années :

Anahi MOLLA HERMAN:

***Corresponding author.**

[Role of H2Av in Drosophila oogenesis and genome integrity control.](#)

Maud Ginestet, Clément Carré, Anahi Molla-Herman* and Jean-René Huynh*.

(Manuscrit en préparation)

[Transcriptomic analysis of meiotic genes during the mitosis-to-meiosis transition in Drosophila females.](#)

Vallés AM, Rubin T, Macaisne N, Dal Toe L, **Molla-Herman A**, Antoniewski C, Huynh JR.

Genetics. 2024 Oct 7;228(2):iyae130. doi: 10.1093/genetics/iyae130.

[Rhino breaks the deadlock in Drosophila testis.](#)

Molla Herman A*, Brasset E*.

PLoS Genet. 2021 Sep 2;17(9):e1009702. doi: 10.1371/journal.pgen.1009702.

[tRNA Fragments Populations Analysis in Mutants Affecting tRNAs Processing and tRNA Methylation.](#)

Molla-Herman A*, Angelova MT, Ginestet M, Carré C, Antoniewski C*, Huynh JR.

Front Genet. 2020 Oct 9;11:518949. doi: 10.3389/fgene.2020.518949.

Jean-René HUYNH :

[Transcriptomic analysis of meiotic genes during the mitosis-to-meiosis transition in Drosophila females.](#)

Vallés AM, Rubin T, Macaisne N, Dal Toe L, Molla-Herman A, Antoniewski C, **Huynh JR**.

Genetics. 2024 Oct 7;228(2):iyae130. doi: 10.1093/genetics/iyae130.

[Lethal Giant Disc is a target of Cdk1 and regulates ESCRT-III localization during germline stem cell abscission.](#)

Hermant C, Matias NR, Michel-Hissier P, **Huynh JR**, Mathieu J.

Development. 2024 Apr 15;151(8):dev202306. doi: 10.1242/dev.202306.

[Conserved meiotic mechanisms in the cnidarian *Clytia hemisphaerica* revealed by Spo11 knockout.](#)

Munro C, Cadis H, Pagnotta S, Houliston E, **Huynh JR**.

Science Adv. 2023 Jan 27;9(4):eadd2873. doi: 10.1126/sciadv.add2873.



Master 2 Reproduction et Développement Stage de recherche 2025-2026

[Premeiotic pairing of homologous chromosomes during *Drosophila* male meiosis.](#)

Rubin T, Macaisne N, Vallés AM, Guilleman C, Gaugué I, Dal Toe L, **Huynh JR.**

Proc Natl Acad Sci U S A. 2022 Nov 22;119(47):e2207660119. doi: 10.1073/pnas.2207660119.

[The deubiquitinase USP8 targets ESCRT-III to promote incomplete cell division.](#)

Mathieu J, Michel-Hissier P, Boucherit V, **Huynh JR.**

Science. 2022 May 20;376(6595):818-823. doi: 10.1126/science.abg2653.

[tRNA Fragments Populations Analysis in Mutants Affecting tRNAs Processing and tRNA Methylation.](#)

Molla-Herman A, Angelova MT, Ginestet M, Carré C, Antoniewski C, **Huynh JR.**

Front Genet. 2020 Oct 9;11:518949. doi: 10.3389/fgene.2020.518949.

[Collective Cell Sorting Requires Contractile Cortical Waves in Germline Cells.](#)

Chanet S, **Huynh JR.**

Current Biology 2020 Nov 2;30(21):4213-4226.e4. doi: 10.1016/j.cub.2020.08.045.

Autres informations: Anahi MOLLA HERMAN, PhD et HDR et membre du CoDir de l'École Doctorale SDV PSL et membre du CoDir du Programme Gradué PSL.

Étudiants actuellement en thèse ou en M2 dans l'équipe d'accueil. Pour chaque étudiant indiquez le nom du responsable de thèse, l'année du début de la thèse et l'École Doctorale de rattachement.

M2 : Bleuvenne Ferrandon. Responsable : Soline Chanet et Jean-René Huynh.

Étudiants ayant préparé ou soutenu leur thèse ou leur M2 dans l'équipe d'accueil au cours des six dernières années. Pour chaque étudiant indiquez le nom du responsable de l'étudiant, l'année du début de la thèse et de fin de la thèse, l'École Doctorale de rattachement et le devenir de l'étudiant.

Maud Ginestet : 2022-2025. Responsable : Anahi Molla-Herman. 4^{ème} année de thèse (FRM). Elle soutiendra le 16 septembre 2025. ED « Complexité du Vivant ».

Cette proposition de stage s'adresse-t-elle spécifiquement à un étudiant scientifique, médecin ou vétérinaire ou bien est-il ouvert à tous les profils ?

Tous les profils sont les bienvenus.

Ce sujet peut-il donner lieu à une thèse ? OUI