

Avis de Soutenance

Madame Shivashakthi SHIVARAMAN

Aspects moléculaires et cellulaires de la biologie

Soutiendra publiquement ses travaux de thèse intitulés

Dystrophies musculaires liées au collagène VI : progression physiopathologique dans un modèle poisson zèbre de la myopathie de Bethlem

Travaux dirigés par Madame Florence RUGGIERO

Soutenance prévue le **lundi 20 juillet 2026** à 14h00

Lieu : ENS (salle de thèse) Site Monod 46 allée d'Italie 69007 Lyon

Composition du jury proposé

Mme Florence RUGGIERO	Directrice de recherche	CNRS Lyon	Directrice de thèse
Mme Fransiska MALFAIT	Professeure	Université de Gand Belgique	Examinatrice
Mme Marie BREAU	Directrice de recherche	INSERM Paris	Rapporteuse
Mme Sandrine BRETAUD	Maître de conférences	Lyon 1 Université	Co-encadrante de thèse
M. Ulrich VALCOURT	Professeur des universités	Lyon 1 Université	Examinateur
M. Tom VAN AGTMAEL	Professeur	Université de Glasgow Royaume-Uni	Rapporteur

Mots-clés : Myopathie, collagène, poisson zèbre, tissu conjonctif, cross-talk tissulaire, séquençage snRNA

Résumé :

La myopathie de Bethlem (BM) est une maladie rare causée par des mutations sur les gènes codant le collagène VI (ColVI). Les mécanismes liant le déficit en ColVI, protéine de la matrice extracellulaire, aux dysfonctionnements musculaires et malformations osseuses, qui se détériorent avec l'âge, restent à élucider. Mon projet de thèse vise à combler ces lacunes en utilisant une lignée de poisson zèbre modèle de la BM qui reproduit fidèlement le tableau clinique de la maladie et permet une analyse détaillée de sa progression avec l'âge. Mon projet s'articule autour de trois axes principaux : (1) Analyse de la progression des phénotypes musculaires et osseux par des analyses morphométriques et d'histologie, et la microtomographie aux rayons X ; (2) Caractérisation du ColVI, notamment en créant une lignée de poissons exprimant la protéine de fusion ColVI α 1-NeonGreen pour étudier la dynamique de la biosynthèse du ColVI et de sa dégradation; (3) Réalisation d'une étude transcriptomique à l'échelle du noyau unique (snRNAseq) pour identifier les signatures génétiques liées à la progression de la BM. Mes résultats montrent que le ColVI mutant s'assemble en agrégats irréguliers dans la matrice extracellulaire, qui évoluent vers une absence de la protéine avec l'âge, et s'accompagnent de l'apparition de défauts osseux (mâchoire et vertèbres). Ces observations suggèrent que les défauts musculaires et osseux sont liés, comme rapporté en clinique. La création d'une lignée knock-in fluorescente me permet aujourd'hui de visualiser en temps réel les anomalies de biosynthèse, de sécrétion et de dégradation du ColVI, en contexte sauvage et BM. Enfin, l'analyse bioinformatique des données de snRNAseq se concentrera sur les gènes impliqués dans les dysfonctionnements mitochondriaux, l'inflammation et le remodelage matriciel, caractéristiques de la BM. Mes travaux offriront de nouvelles perspectives pour le diagnostic et le traitement des myopathies liées au déficit en ColVI.

Summary:

Bethlem Myopathy (BM) is a progressive congenital myopathy caused by mutations in collagen VI (ColVI) genes. The mechanisms linking extracellular matrix abnormalities to muscle dysfunction and the unexplored facet of BM, bone deformities, are still misunderstood. My PhD project aims to address these gaps using a zebrafish model for BM developed in my host lab. This model reliably was shown to faithfully replicate BM pathology, enabling detailed investigation of disease progression. The key tasks include: (1) analyzing muscle-bone phenotypes over time via morphometrics, histology, X-ray, and advanced μ CT scans; (2) studying ColVI synthesis and supramolecular assembly using biochemistry and immunofluorescence, and generating a zebrafish line expressing the ColVI α 1 chain fluorescently tagged to analyze real-time ColVI dynamics; and (3) performing single-nuclei RNA sequencing to identify gene signatures of BM onset and progression. My findings revealed progressive ColVI misassembly as patchy aggregates, leading to reduced or absent extracellular deposition of ColVI. This correlates with skeletal muscle defects and the appearance of bone deformities (jaw malformations, altered vertebrae, and over-ossification) over time. This suggests that muscle weakness indirectly contributes to bone defects, a hypothesis also favored by clinicians working on the disease. I successfully generated a fluorescent knock-in zebrafish line that will allow visualize ColVI secretion, supramolecular assembly, and breakdown in real-time, allowing deeper insights into pathological events. To further investigate BM progression, I performed single-nuclei RNA sequencing to uncover molecular pathways affected by ColVI deficiency. Ongoing bioinformatics analysis focuses on mitochondrial dysfunction, inflammation, and matrix remodelling. I believe my findings will highlight the role in the progression of BM pathophysiology, offering insights for diagnostics and therapies in ColVI-related disorders.