

Sujet de thèse: Approche qualitative et quantitative de la neurogenèse au cours du cycle de vie de la seiche *Sepia officinalis* et influence de la lumière.

Directeur de thèse:
Laure BONNAUD-PONTICELLI

L. Bonnaud-Ponticelli

Co-directeur(s) titulaire(s) HDR:

Co-directeur(s) non-titulaire(s) HDR:

Equipe:

Développement et Reproduction: Evolution, Adaptations, Régulations
Groupe Evo-Devo des Céphalopodes

Publications récentes des directeurs de thèse avec leurs anciens doctorants:

S. Navet, thèse 2010 (6 art 2008-2017); A. Buresi-Thèse 2013 (6 art 2012-2017)

Depuis 2014:

Buresi A., Croll R.P., Tiozzo S., Bonnaud L. and Baratte S. 2014. *Journal of Comparative Neurology*. 522(13): 3004-19.

Navet S., Baratte S., Bassaglia Y., Andouche A., Buresi A. and Bonnaud L. 2014. *Journal of Marine Science and Technology* 22(1): 15-24.

Buresi A., Andouche A., Navet S., Bassaglia Y., Bonnaud-Ponticelli L., Baratte S. 2016. *Developmental Biology* 415(1): 143-56.

Navet S., Buresi A., Baratte S., Andouche A., Bonnaud-Ponticelli L. and Bassaglia Y. 2017. *Plos One*. accepté

Descriptif du sujet de thèse et méthodes envisagées:

Résumé : Le projet de recherche proposé porte sur la dynamique de la neurogenèse en lien avec les conditions environnementales, la lumière, chez la seiche, *Sepia officinalis*. Il s'agit d'étudier dans une perspective évolutive le système nerveux central (SNC) au cours de l'embryogenèse et de la croissance pour tester 1) l'hypothèse d'une relation entre la neurogenèse et l'acquisition des capacités cognitives 2) l'impact de la lumière sur ces fonctions à différentes étapes du cycle biologique.

Ce sujet prend son origine et constitue la suite d'un projet EMBRC et d'un projet franco-brésilien financé par Sorbonne Universités (Projet DYNA).

Le processus de neurogenèse pendant le développement et la croissance donne aux organismes la capacité d'augmenter leurs performances et/ou de renouveler des cellules en sénescence. Bien décrit chez les vertébrés ce processus reste très largement méconnu chez les métazoaires non-vertébrés. Les céphalopodes grandissent de façon continue pendant leur vie adulte et ils montrent des comportements complexes et des capacités cognitives uniques au sein des Lophotrochozoaires.

Ces comportements d'apprentissage mais également locomoteurs sont pour la majorité induits visuellement et contrôlés par le SNC, incluant le cerveau et les lobes optiques. Le SNC se met en place au cours du développement à partir de cordons ganglionnaires qui se développent, et migrent antérieurement pour se condenser en un cerveau. Le cerveau est fonctionnel dès le stade embryonnaire 24 mais l'apprentissage n'apparaît qu'en fin de développement (stade 30). La neurogenèse d'un point de vue quantitatif et qualitatif au cours du développement reste à établir. Par ailleurs, nous avons montré dans l'équipe une maturation tardive de la partie sensorielle du cerveau, laissant supposer une maturation post-éclosion sous l'effet d'inducteurs environnementaux (Buresi et al., 2012). De plus, après la reproduction, les céphalopodes meurent questionnant le processus de sénescence au niveau du système nerveux. Le nombre de neurones sera mesuré dans le SNC au cours du développement, chez le juvénile et le jeune et enfin chez l'adulte (mâle et femelle) au cours de la reproduction et après. La différenciation fonctionnelle des neurones sera étudiée en focalisant sur le système dopaminergique qui est connu pour contrôler chez l'adulte des processus tels que perception de l'environnement, mémorisation et capacités cognitives. Les céphalopodes sont les seuls non-vertébrés à produire des quantités très importantes de catécholamines, dont la dopamine. Ainsi, le suivi du nombre de neurones dopaminergiques relativement aux neurones totaux permettra d'établir un lien avec la maturation comportementale au cours du développement. La localisation des neurones dopaminergiques et des récepteurs (RD) et une quantification de l'expression des enzymes de synthèse (tyrosine hydroxylase-TH) et des RD au niveau du SNC nous permettra d'établir le lien avec des fonctions sensorielles et/ou motrices et d'évaluer l'impact des inducteurs environnementaux de la neurogenèse et de la différenciation.

Parmi les facteurs externes nous souhaitons tester l'hypothèse de l'influence de la lumière sur la neurogenèse et le développement du système dopaminergique. Une augmentation du nombre de neurones dopaminergiques en réponse à la lumière a été montrée chez *Xenopus* (Dulcis & Spitzer, 2008). Au cours de l'embryogenèse, les œufs de *Sepia officinalis* sont soumis à de fortes variations de lumière : ils sont entourés par une capsule noire, qui s'amincit au cours du développement laissant passer une quantité croissante de lumière à l'embryon. L'hypothèse à tester est que la lumière a un rôle important positif pour la maturation des systèmes cognitifs en fin d'embryogenèse mais pas sur l'embryon précoce (qui en est protégé).

Les résultats permettront d'élaborer des hypothèses chez les métazoaires sur l'évolution des gènes (enzymes, récepteurs), et des fonctions liées au système dopaminergique ainsi que sur la plasticité évolutive et développementale de la neurogenèse en réponse au facteur lumière.

Méthodes :

A- Analyse de la neurogenèse: compléter les résultats sur la caractérisation quantitative (nombre de neurones) par la méthode Isotopic Fractionator-IF (noyaux marqués par immunomarquage avec l'Ac NeuN). (cerveau, lobes optiques, yeux).

B- Analyse du système dopaminergique (cerveau, lobes optiques, yeux): - Analyse quantitative (nombre de neurones dopaminergiques) par la méthode IF (noyaux marqués avec l'Ac Nurr); localisation des récepteurs dopaminergiques (RD) par hybridation in situ (ISH); analyse de la variation quantitative d'expression par q-RT PCR chez l'embryon

C- Analyse de l'influence de la lumière: étude des variations spatio-temporelles à différentes photopériodes (12/12, lumière continue, obscurité continue) par ISH et qRT-PCR de l'expression des RD et TH (après expérimentation sur des embryons avec et sans capsule).

Stratégie de publication:

Du fait des résultats préliminaires déjà acquis dans le cadre du projet DYNA et du Master 2, une publication est prévue dès l'année 1 sur la « Dynamique de la neurogenèse et structures nerveuses intégratives à l'origine des capacités cognitives ? ». La finalisation du travail sur la localisation spatio-temporelle des récepteurs dopaminergiques et l'acquisition de résultats en q-RT aboutiront à un 2nd article sur « le développement du système dopaminergique chez l'embryon avant éclosion ». Enfin, les résultats obtenus sur l'« Influence de la lumière au cours du développement : impact sur la mise en place du système dopaminergique et l'acquisition des capacités cognitives et comportementales à l'éclosion » constitueront un 3ème article. Ces publications comporteront un volet d'hypothèses évolutives et fonctionnelles au sein des métazoaires.

Réorientation possible du sujet si échecs:

L'équipe d'accueil a toute l'expertise requise sur le développement de la Seiche, ainsi que sur l'ensemble des méthodes mises en œuvre au cours de la thèse. Ce projet de thèse prend sa source dans un projet Sorbonne Universités avec un partenaire brésilien. Les premiers résultats ont validé la faisabilité des méthodes. Deux stages de M2, ont permis d'obtenir des premiers résultats sur la caractérisation des récepteurs et leurs patterns d'expression. Les premières expérimentations sur la photopériode ont été faites en 2016 et complétées en 2017 dans le cadre d'un projet EMBRC, à la station biologique de Roscoff.

Il n'y a donc pas de risque que l'approche envisagée échoue.

Faisabilité sur 3 ans (échancier):

Faisabilité (voir ci-dessus)

Echéancier:

1ère année: Dynamique quantitative du nombre de neurones chez l'embryon, juvéniles, adulte. Dynamique du nombre de neurones dopaminergiques. Rédaction du 1er article.

2nde année: Dynamique spatiotemporelle et quantitative des neurones dopaminergiques et des récepteurs. Analyse phylogénétique des récepteurs dopaminergiques. Rédaction du 2nd article.

3ème année: Détermination des impacts de la lumière sur la neurogenèse du système dopaminergique (neurones et récepteurs). Rédaction du 3eme article et de la thèse.

Profil du candidat recherché:

Le/la candidat.e devra avoir une bonne connaissance de la biologie du développement, de la physiologie et morphologie du système nerveux dans une optique comparative et évolutive