



## OFFRE DE THESE

### 'ENDYMION'

#### **RÉGULATION EPIGÉNÉTIQUE DU DÉVELOPPEMENT: DEMETHYLATION ACTIVE DE L'ADN ET METHYLATION DE L'ARN CHEZ L'HUÎTRE *C. gigas*, UN MODELE DISTANT.**

*Caractériser et comprendre les mécanismes épigénétiques du développement, leur évolution et leurs implications transgénérationnelles chez un modèle distant soumis à un environnement changeant, par séquençage haut débit (hMeDIP-, MeRIP-, RNA-seq...) et études fonctionnelles (CRISPR/Cas9...).*

#### **1. Laboratoire d'accueil**

**UMR BOREA** (Biologie des ORganismes et Ecosystèmes Aquatiques)

**MNHN, CNRS 7208, UPMC, IRD 207, UNICAEN, UA**

<http://www.borea.mnhn.fr>

Université de Caen Normandie, Esplanade de la Paix, 14000 Caen, France

Responsable du Laboratoire : Pr. Pascal Sourdain (Caen)

Responsable scientifique : **Dr. Guillaume RIVIERE** (<http://borea.mnhn.fr/fr/users/guillaume-riviere>)

Directeur de thèse: Dr Guillaume RIVIERE/ Pr Pascal FAVREL

Téléphone : 02.31.56.51.13

Fax : 02.31.56.53.46

E-mail : [guillaume.riviere@unicaen.fr](mailto:guillaume.riviere@unicaen.fr)

**L'UMR BOREA** a pour objectif l'étude de la biologie évolutive et de l'écologie des organismes aquatiques. Il s'agit de comprendre, par une approche multidisciplinaire et intégrative, l'origine, le rôle et les mécanismes de l'évolution de la biodiversité aquatique (des molécules aux écosystèmes) et de contribuer à prédire ses réponses vis-à-vis des changements globaux, anthropiques et climatiques. Le stage se déroulera au sein de l'équipe 2 "**Reproduction et Développement des Organismes Aquatiques: Evolution, Régulations, Adaptations**" dans le cadre de l'axe thématique « **Régulation génétique et épigénétique du développement et de la reproduction** », dédié à l'étude des mécanismes moléculaires qui contrôlent le développement et la reproduction. Ces études se font à deux échelles d'analyse : 1) celle des gènes et des réseaux de gènes susceptibles d'intervenir dans les processus morphologiques et physiologiques ; 2) celle des mécanismes responsables de l'expression de ces gènes. Sur les deux niveaux, les facteurs environnementaux au sens large sont susceptibles d'intervenir et leur prise en compte est une composante inhérente d'un des axes transversaux de l'UMR.

#### **2. Contexte scientifique, objectifs et approches techniques**

Les mécanismes **épigénétiques** sont cruciaux pour le **développement** des Vertébrés et des Insectes. En effet, la **méthylation de l'ADN (1) et celle de l'ARN (2,3) contrôlent la régulation pré- et post-transcriptionnelle** de l'expression des gènes, qui permettant la **différenciation** des cellules à partir d'un génome unique et la **transmission de phénotypes différenciés** au travers des divisions cellulaires (2,4,5). Par ailleurs, les mécanismes épigénétiques étant fortement influencés par **l'environnement**, leur rôle dans la transmission de **traits de vie** a été largement démontré. Par exemple, la détermination des castes chez l'abeille repose sur la méthylation différentielle d'un sous-



ensemble de gènes en fonction de la nourriture donnée aux larves (6); chez le poisson-zèbre, la méthylation des ARNs maternels accumulés pendant l'ovogenèse, déclenche leur dégradation chez l'embryon et l'activation du génome zygotique (7,8). Néanmoins, ces mécanismes restent **très mal connus chez les organismes distants**, soulevant de nombreuses questions sur leur origine, leur évolution et leurs fonctions. Or, nos résultats récents démontrent l'importance de la méthylation de l'ADN dans le développement de l'**huître *C. gigas*** (9,10), un mollusque d'intérêt développemental, évolutif, écologique et économique. De plus, de manière cruciale dans un contexte de changement global et de pollution, des effets embryotoxiques de perturbations de l'environnement pendant la gamétogenèse sont liés à des modifications épigénétiques (11). Cependant, les mécanismes sous-jacents, comme le contrôle de la dynamique de la méthylation de l'ADN ainsi que le rôle de la méthylation de l'ARN restent énigmatiques, notamment dans le contexte de l'influence de l'environnement sur la transmission trans-générationnelle de traits de vie.

**Le but de ce projet est de caractériser les rôles de la déméthylation active de l'ADN et de la méthylation de l'ARN dans le développement de l'huître.** Pour cela, les cinétiques développementales de la 5-hydroxyméthylcytosine (ADN) et de la 6-méthyladénosine (ARN) seront caractérisées (**ELISA, F-DotBlot**). En parallèle, l'expression précoce des acteurs putatifs de ces mécanismes sera étudiée (**hybridation *in toto*, RT-qPCR et exploitation de banques de données** génomiques et transcriptomiques). Les gènes cibles de ces marques seront déterminés pendant l'embryogenèse par **immunoprécipitation et séquençage (hMeDIP-seq, MeRIP-seq)**. Des approches d'**invalidation par édition du génome (microinjection de constructions CRISPR/Cas9)** puis investigation des phénotypes associés (**caractérisation des mutations, marqueurs moléculaires, études morphologiques**) seront développées pour élucider la fonction des gènes liés à la déméthylation active de l'ADN (Active DNA Demethylation, DAD) et à la méthylation de l'ARN. Ces études seront également menées en fonction de facteurs environnementaux déterminants (température, contaminants et phytotoxines algales).

Ces résultats constitueront un travail pionnier et important au niveau fondamental qui ouvre de nombreuses perspectives. En effet, aucune étude à ce jour ne porte à notre connaissance sur la DAD ou la méthylation de l'ARN chez un invertébré non insecte. De plus, les résultats attendus participeront à une meilleure connaissance de l'évolution de la régulation épigénétique du développement et de sa régulation, et permettront de mieux cerner les implications des contraintes environnementales dans ce contexte. Par ailleurs, le succès d'une approche CRISPR/Cas9 chez les bivalves *in vivo* constituerait une première mondiale. L'ensemble de ces résultats devrait contribuer à la levée de verrous scientifiques et techniques importants et ouvrir de très nombreuses perspectives de recherches.

### **3. Financement**

Ce travail s'inscrit dans le cadre général d'un axe de recherches thématique principal de l'équipe, mais bénéficie également du soutien de l'axe transversal 'génomique fonctionnelle' dans le cadre du **projet incitatif 'MARMEET'** (Methylation de l'ARN chez les Mollusques et dEveloppEmenT' - UMR BOREA - G. Rivière/S. Baratte). Les études fonctionnelles font l'objet d'une tâche du **projet CNRS EC2CO 'GANESH'** ('Étude fonctionnelle des Gènes impliqués dans les ANomalies Embryo-larvaires chez l'Huître creuse *Crassostrea gigas* dans le cadre d'une exposition à un herbicide' – ECODYN – R. Sussarellu).

Le sujet de thèse a été sélectionné pour le concours de l'**EDN BISE** école Doctorale Normande Biologie Intégrative, Santé, Environnement afin de bénéficier d'une bourse ministérielle.



#### 4. Profil du(de la) candidat(e)

Le/la candidat(e) doit avoir une formation **Master 2 recherche en biologie moléculaire et/ou marine**. Il/elle doit montrer de la **curiosité**, de la persévérance et un intérêt pour l'étude de la **physiologie animale**, sa **régulation moléculaire** et le travail de laboratoire. Une expérience des **techniques de base de la biologie moléculaire**, ainsi que des **connaissances en épigénétique et bioinformatique** sont vivement souhaitées. Un attrait pour la nouveauté, un esprit créatif, de bonnes capacités rédactionnelles et de recherche bibliographique seraient autant d'atouts.

#### 5. Candidature

Dès que possible par **CV + Lettre de motivation + relevés de notes L3 - M1 - M2 1er semestre + recommandation(s)** à [guillaume.riviere@unicaen.fr](mailto:guillaume.riviere@unicaen.fr)

#### **Bibliographie**

1. Smith ZD, Meissner A. DNA methylation: roles in mammalian development. *Nat Rev Genet* 2012 14(3):204–20.
2. Zhao BS, He C. Fate by RNA methylation: m6A steers stem cell pluripotency. *Genome Biol* 2015;16:43.
3. Wang X, Lu Z, Gomez A, Hon GC, Yue Y, Han D, et al. N6-methyladenosine-dependent regulation of messenger RNA stability. *Nature* 2014;505(7481):117–20.
4. Laurent L, Wong E, Li G, Huynh T, Tsirigos A, Ong CT, et al. Dynamic changes in the human methylome during differentiation. *Genome Res* 2010 20(3):320–31. Available from:
5. Bibikova M, Laurent LC, Ren B, Loring JF, Fan J. Review Unraveling Epigenetic Regulation in Embryonic Stem Cells. *Cell*. 2008;123–34.
6. Elango N, Hunt BG, Goodisman MAD, Yi S V. DNA methylation is widespread and associated with differential gene expression in castes of the honeybee, *Apis mellifera*. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2009;106(27):11206–11.
7. Zhao BS, Wang X, Alana V, Lu Z, Shi H, Kuuspalu A, et al. m6A-dependent maternal mRNA clearance facilitates zebrafish maternal-to-zygotic transition. *Nature* (in press) 2017 doi://dx.doi.org/10.1038/nature21355
8. Wang Y, Li Y, Toth JI, Petroski MD, Zhang Z, Zhao JC. N6-methyladenosine modification destabilizes developmental regulators in embryonic stem cells. *Nat Cell Biol* 2014;16(2):191–8.
9. Riviere G, Wu G, Fellous A, Goux D, Sourdain P, Favrel P. DNA Methylation Is Crucial for the Early Development in the Oyster *C. gigas*. *Mar Biotechnol* 2013; 15(6):739–53.
10. Saint-Carlier E, Riviere G. Regulation of Hox orthologues in the oyster *Crassostrea gigas* evidences a functional role for promoter DNA methylation in an invertebrate. *FEBS Lett* 2015; 589(13):1459–66.
11. Barranger A, Heude-Berthelin C, Rouxel J, Adeline B, Benabdelmouna A, Burgeot T, et al. Parental exposure to the herbicide diuron results in oxidative DNA damage to germinal cells of the Pacific oyster *Crassostrea gigas*. *Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol*. 2016;180:23–30.