

## Sujet de stage de Master 2 Recherche (2016-2017)

### Première localisation chromosomique de gènes du déterminisme du sexe chez les mollusques - approche comparative chez l'huitre *Crassostrea gigas* et la seiche *Sepia officinalis*.

#### Période et lieu de stage

De Janvier à Juin 2017 (6 mois)

UMR BOREA "Biologie des ORganismes et Ecosystèmes Aquatiques"

MNHN, CNRS-7208, UPMC, IRD-207, UCN, UA

Equipe "Reproduction et développement : évolution, adaptation, régulations"

Ce stage se déroulera à l'Université de Caen Normandie, Esplanade de la Paix, CS 14032, 14032 CAEN cedex 5

#### Responsables de stage

**MCU Christophe Lelong** ([christophe.lelong@unicaen.fr](mailto:christophe.lelong@unicaen.fr) ; 02 31 56 52 93)

**MCU Anne-Sophie Martinez** ([anne-sophie.martinez@unicaen.fr](mailto:anne-sophie.martinez@unicaen.fr); 02 31 56 51 64)

**Pr Laure Bonnaud-Ponticelli** ([bonnaud@mnhn.fr](mailto:bonnaud@mnhn.fr); 01 40 79 53 48)

#### Contexte scientifique et objectifs du stage

Le déterminisme du sexe est un processus physiologique indispensable à la reproduction sexuée animale et donc à la pérennisation d'une espèce. Pourtant, il reste mal connu chez certains groupes phylogénétiques comme les Lophotrochozoaires, un groupe majeur des Bilatériens. Parmi les Lophotrochozoaires, les Mollusques présentent une grande diversité de modes de reproduction, à l'image de l'huitre creuse *Crassostrea gigas* et de la seiche *Sepia officinalis*.

L'huitre est un bivalve hermaphrodite successif à développement indirect alors que la seiche est un céphalopode gonochorique à développement direct. Les connaissances sur le déterminisme sexuel de l'huitre, encore fragmentaires, concernent la caractérisation et l'expression d'acteurs moléculaires comme Foxl2 ou Sox9 (1) et leurs régulations épigénétique et environnementale (2, 3). Il n'existe aucune donnée moléculaire sur le déterminisme sexuel de la seiche. Cependant, les récentes acquisitions transcriptomiques (4,5) et génomiques (6,7) constituent une base solide pour mieux approcher ce mécanisme.

Chez les Mammifères, le caryotypage est une approche cytogénétique très informative pour la compréhension du déterminisme sexuel car elle permet de distinguer les chromosomes sexuels, morphologiquement distincts. Cependant, chez de nombreux organismes comme les Mollusques, l'existence d'hétérochromosomes sexuels n'a pas été démontrée. La localisation de gènes du déterminisme sexuel par Hybridation *In Situ* en Fluorescence (FISH) sur chromosomes est alors indispensable pour aborder l'organisation chromosomique de ces gènes et ainsi le mécanisme physiologique lui-même. Ainsi, par exemple, un nombre de copies d'un gène différent selon le sexe peut suggérer un déterminisme sexuel dose-dépendant, comme c'est le cas pour Dmrt1 chez le poulet. De même, une co-localisation chromosomique de gènes (comme pour Foxl2 et la  $\beta$ -caténine chez l'homme) permet une exploration de synténie (localisation de plusieurs gènes sur le

même chromosome, indépendamment de leur liaison génétique) et constitue un prérequis indispensable pour aborder les régulations des gènes groupés en clusters.

L'objectif de ce stage est donc d'appréhender le déterminisme sexuel chez l'huitre et la seiche par la localisation chromosomique de gènes clés de ce mécanisme, par caryotypage couplé à l'Hybridation *In Situ* en Fluorescence. Des gènes connus et conservés du déterminisme sexuel des deux sexes seront ciblés, comme *Dsx/Dmrt1*, *Sox9/30* (mâle) et *Foxl2* et la  $\beta$ -caténine (femelle). Ces gènes ont déjà été identifiés comme des acteurs du déterminisme sexuel chez l'huitre (1, 2, 3) et parmi eux, certains (*Dsx/Dmrt1* et *Foxl2*) ont aussi été identifiés dans les ESTs de *S. officinalis* (Bonnaud, comm. perso.).

Appréhender l'organisation chromosomique de ces gènes chez l'huitre et la seiche permettra de mieux comprendre le déterminisme sexuel de ces deux espèces et constitue aussi une base pour les études de ce mécanisme physiologique chez d'autres espèces de l'Embranchement des Mollusques, un groupe aux stratégies de reproduction très disparates. Ce travail participera aussi à une meilleure compréhension de l'évolution du déterminisme sexuel au sein des Mollusques, des Bilatériens et plus largement dans le Règne Animal. Enfin, les connaissances acquises dans ce projet sont indispensables pour comprendre, à terme, les régulations de ces gènes d'intérêt lors du déterminisme sexuel.

1. Santerre C., Sourdain P., Adeline B., Martinez A.-S. (2014). Cg-SoxE and Cg- $\beta$ -catenin, two new actors potentially involved in the sex-determining pathway in an hermaphrodite lophotrochozoa, the pacific oyster *Crassostrea gigas*. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 167: 68-76.
2. Santerre C., Sourdain P., Martinez A.-S. (2012). Expression of a Natural Antisense Transcript of Cg-Foxl2 during the Gonadic Differentiation of the Oyster *Crassostrea gigas*: First Demonstration in the Gonads of a Lophotrochozoa Species. *Sexual Development*, 6 (4): 210-221.
3. Santerre C., Sourdain P., Marc N., Mingant C., Robert R., Martinez A.-S. (2013). The oyster sex determination is influenced by temperature - First clues in spat during first gonadic differentiation and gametogenesis? First clues in spat during first gonadic differentiation and gametogenesis. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 165(1): 61-69.
4. Dheilly N., Lelong C., Huvet A., Favrel P. (2011). Development of a Pacific oyster (*Crassostrea gigas*) 31,918-feature microarray: identification of reference genes and tissue-enriched expression patterns. *BMC Genomics*, 12 : 468.
5. Bassaglia Y., Bekel T., Da Silva C., Poulain J., Andouche A., Navet S., Bonnaud L. (2012). ESTs library from embryonic stages reveals tubulin and reflectin diversity in *Sepia officinalis* (Mollusca - Cephalopoda). *Gene*, 498(2) : 203-11.
6. Zhang G. F., Fang X. D., Guo X. M., Li L., Luo R. B., et al. (2012). The oyster genome reveals stress adaptation and complexity of shell formation. *Nature*, 490: 49-54.
7. Albertin C. B., Simakov O., Mitros T., Wang Z. Y., Pungor J. R., Edsinger-Gonzales E., Brenner S., Ragsdale C. W., Rokhsar D. S. (2015). The octopus genome and the evolution of cephalopod neural and morphological novelties. *Nature* 524: 220-224.

### Techniques utilisées

Etablissement de caryotypes sur différents tissus ; Design d'amorces de PCR *in silico*, synthèse et marquage de sondes par *Nick Translation* ; FISH et/ou Dual-FISH (Fluorescent *In Situ* Hybridization) sur chromosomes

### Profil du candidat

Le/la candidat(e) doit avoir une formation Master 2 recherche. Il/elle doit montrer un intérêt pour la biologie marine, la physiologie de la reproduction et/ou la biologie cellulaire et moléculaire. Une expérience de rédaction est vivement souhaitée.

**Pour la candidature, fournir un CV et une lettre de motivation**

***Le financement relatif à la gratification de l'étudiant ainsi qu'à ses expériences pendant 6 mois sera confirmé fin octobre 2016.***

***Une location de chambre universitaire est envisageable (260-370€ / mois).***