

Les spermatogonies souches chez un Elasmobranché :
Caractérisation moléculaire et cellulaire de la niche adulte et développement de la
transplantation pour une approche fonctionnelle et de conservation.

Directeur de thèse : SOURDAINE Pascal
Courriel : pascal.sourdaïne@unicaen.fr
Tél. : 0231565687

Co-encadrante : GAUTIER Aude
Courriel : aude.gautier@unicaen.fr
Tél. : 0231565164

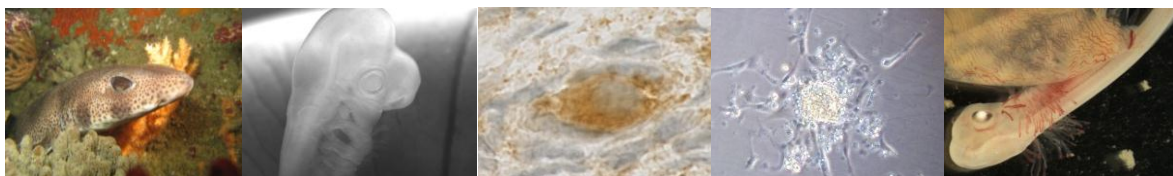
L'Unité Mixte de Recherche BOREA, Biologie des Organismes et Ecosystèmes Aquatiques, a pour objectif l'étude de la biologie évolutive et l'écologie des organismes aquatiques. En particulier, l'équipe d'accueil explore les mécanismes moléculaires et physiologiques des fonctions de reproduction et de développement.

L'étude des cellules souches germinales est à l'origine de concepts importants qui dépassent le cadre des gamétogenèses car applicables à toute cellule souche adulte : le concept de la niche et la plasticité des cellules souches¹. L'objectif principal de cette thèse est de poursuivre la **caractérisation des spermatogonies souches (SSCs) chez la petite roussette**. L'anatomie testiculaire de cet Elasmobranché permet un accès aisé à la niche et aux différentes générations de spermatogonies qui ont été caractérisées au niveau cellulaire², moléculaire^{3,4} et *in vitro*⁵. De plus, l'analyse phylogénétique de gènes confirme l'intérêt de la roussette pour les approches évolutives⁶. Déjà initiée, la **caractérisation moléculaire et évolutive de la chimiokine SDF1 et de son récepteur CXCR4** sera poursuivie compte tenu de l'importance de ce couple dans le maintien des SSCs dans la niche et dans leur prolifération *in vitro*^{7,8}. L'approche fonctionnelle de SDF1/CXCR4 sur la prolifération et migration *in vitro* des spermatogonies se fera par l'utilisation d'un antagoniste de CXCR4, voire par une approche CRISPR Cas-9 en développement au sein de l'équipe. De plus, notre accès récent au génome de la roussette a permis d'identifier **nanos2**, un marqueur de cellule souche germinale chez des poissons téléostéens donc **un excellent candidat à caractériser**⁹. L'étude ciblée de ces protéines permettra d'assurer la valorisation nécessaire de la thèse. Par ailleurs, une analyse de la zone germinative par imagerie MALDI a révélé **un marqueur inédit de la niche des SSCs qui sera aussi exploré**. Enfin, le caractère souche de spermatogonies cultivées sera évalué par leur **transplantation à des embryons receveurs**, un test fonctionnel dont la mise au point reste à achever. Cette approche reste un défi car ce serait la première transplantation de SSCs chez un Elasmobranché et aussi une méthode de conservation d'un patrimoine génétique applicable aux espèces en danger d'extinction¹⁰.

Le(la) candidat(e) sélectionné(e) devra avoir de solides connaissances en biologie cellulaire, biologie moléculaire, biologie de la reproduction et du développement. Il(elle) devra connaître les techniques de base en biologie moléculaire (PCR, hybridation *in situ*...) et en culture cellulaire. Pour mener à bien ce projet, il(elle) bénéficiera de collaborations bien établies (S. Mazan, CNRS Banyuls...) et de l'accès à des plateaux techniques de la SF ICORE. Pour prétendre au concours de l'école doctorale NBISE pour une allocation ministérielle, **le(la) candidat(e) doit avoir un très bon dossier académique**.

Références

[1] Krieger T and Simons BD (2015) *Development* 142: 1396–1406. [2] Loppion G *et al.* (2010) *Comp. Biochem. Physiol.*, part D 5: 157–164. [3] Redon E *et al.* (2010) *Reproduction*, 140: 57–71. [4] Bosseboeuf A *et al.* (2014) *Reproduction* 147:125-139 [5] Gautier A *et al.* (2014) *Biol. Reprod.* 91: 1-15. [6] Gribouval L *et al.* (2018) *Scientific Reports (in revision)*. [7] Kanatsu-Shinohara M *et al.* (2012). *Cell Stem Cell* 11: 567–578. [8] Yang Q *et al.* (2013). *J. Cell Sci.* 126: 1009–1020. [9] Bellaïche J *et al.* (2014). *Biol. Reprod.* 90: 1–14. [10] Lee S and Yoshizaki G (2016). *Cryobiology* 72:165-168.



**The spermatogonial stem cells in an Elasmobranch:
Molecular and cellular identification of the adult stem-cell niche and development
of the transplantation for functional and conservation purposes.**

Thesis director : SOURDAINE Pascal
Email : pascal.sourdaine@unicaen.fr
Tel. : (0033)231565687

Co-supervisor : GAUTIER Aude
Email : aude.gautier@unicaen.fr
Tel. : (0033)231565164

The joint unit BOREA, Biology of Aquatic Organisms and Ecosystems, aims to study the evolutionary biology and ecology of aquatic organisms. In particular, the host team investigates the molecular and physiological mechanisms underlying reproduction and development.

The study of germinal stem cells is at the origin of important concepts that go beyond gametogenesis and that are applicable to any adult stem cell: the concept of the niche and the plasticity of stem cells¹. The main objective of this thesis is to continue the **characterization of spermatogonial stem cells (SSCs) in the dogfish**. The testicular anatomy of this Elasmobranch provides easy access to the niche and to the different generations of spermatogonia that have been characterized at the cellular², molecular^{3,4} and *in vitro*⁵ levels. Moreover, the phylogenetic analysis of genes confirms the interest of the dogfish for evolutionary approaches⁶. Already initiated, the **molecular and evolutionary characterization of the chemokine SDF1 and its receptor CXCR4** will be continued given the importance of this couple in maintaining the SSCs in the niche and in their *in vitro* proliferation^{7,8}. The functional approach of SDF1/CXCR4 on *in vitro* proliferation and migration of spermatogonia will be done through the use of a CXCR4 antagonist, or even a CRISPR Cas-9 approach being developed in our team. Our recent access to the genome of the dogfish allowed us to identify *nanos2*, a germ cell marker in teleost fish therefore an **excellent candidate to characterize**⁹. The study of these specific factors will ensure the necessary valorization of the thesis. In addition, an analysis of the germinative zone by MALDI imagery revealed **a new marker of the SSCs niche which will also be explored**. Finally, the stemness of cultured spermatogonia will be assessed by **transplantation to recipient embryos**, a functional test that remains to be optimized. This approach remains a challenge because it would be the first transplantation of SSCs in an Elasmobranch and also a method of genome preservation applicable to endangered species¹⁰.

The successful candidate will have a strong background in cellular, molecular, reproductive and developmental biology. The applicant should know the basic molecular and cell biology techniques (PCR, *in situ* hybridization, cell culture...). To complete this project successfully, he/she will benefit of well-established collaborations (S. Mazan, CNRS Banyuls...) and of the SFR ICORE technical platforms access. To apply for a ministerial grant at the NBISE doctoral school, **the candidate has to present very good academic results.**

References

- [1] Krieger T and Simons BD (2015) *Development* 142: 1396–1406. [2] Loppion G *et al.* (2010) *Comp. Biochem. Physiol.*, part D 5: 157–164. [3] Redon E *et al.* (2010) *Reproduction*, 140: 57–71. [4] Bosseboeuf A *et al.* (2014) *Reproduction* 147:125-139 [5] Gautier A *et al.* (2014) *Biol. Reprod.* 91: 1-15. [6] Gribouval L *et al.* (2018) *Scientific Reports (in revision)*. [7] Kanatsu-Shinohara M *et al.* (2012). *Cell Stem Cell* 11: 567–578. [8] Yang Q *et al.* (2013). *J. Cell Sci.* 126: 1009–1020. [9] Bellaiche J *et al.* (2014). *Biol. Reprod.* 90: 1–14. [10] Lee S and Yoshizaki G (2016). *Cryobiology* 72:165-168.

