

Le déterminisme sexuel chez *Scyliorhinus canicula* : fenêtre temporelle et cascades moléculaires

Le déterminisme du sexe correspond à l'ensemble des mécanismes conduisant à l'engagement d'une gonade indifférenciée dans une différenciation mâle ou femelle. Il dépend de facteurs génétiques (XX/XY, ZZ/ZW, autosomes, ...) et /ou environnementaux (température, lumière, ...) selon les espèces. Chez les vertébrés, cette diversité de modes de déterminisme sexuel existe. Les acteurs moléculaires impliqués sont généralement conservés au cours de l'évolution (*amh*, *dmrt1*, *foxl2*...) mais ils sont parfois spécifiques à certaines espèces, tel le déterminant majeur du sexe chez la truite, *sdY*, dérivé d'un gène ancestral de la réponse immunitaire¹. Ainsi, l'étude de la cascade moléculaire du déterminisme du sexe chez une espèce représentative des vertébrés primitifs présente un grand intérêt d'un point de vue évolutif.

La petite roussette, *S. canicula*, s'impose comme un modèle de choix en raison de son abondance locale, son élevage facile et l'accès aisé aux embryons. De plus, nous avons accès à des transcriptomes et à son génome, ce qui a déjà permis la caractérisation moléculaire de cellules germinales souches chez cette espèce^{2,3,4}. Chez les Elasmobranches (raies et requins), la mise en place des ébauches gonadiques et leur différenciation en ovaires ou testicules reste un sujet très peu documenté. Seuls, des éléments de description histologique sont disponibles chez la roussette^{5,6} et chez une raie⁷, des données qui ont été complétées au laboratoire. Enfin, un travail mené en collaboration avec le Dr Guiguen (INRAE) a permis d'identifier son mode de déterminisme du sexe et d'établir un test génétique permettant le sexage d'embryons précoces⁸.

Les objectifs de ce projet de thèse sont 1) de déterminer la fenêtre temporelle du déterminisme du sexe en caractérisant l'expression de facteurs candidats dans les gonades embryonnaires (acteurs classiques du déterminisme du sexe⁹) par RT-PCR, hybridation *in situ* et immunofluorescence, 2) d'exploiter des données de RAD-seq comparant les génomes de mâles et de femelles pour identifier de nouveaux facteurs liés au sexe, 3) d'identifier des interactions protéine/ADN à l'échelle du génome par ChIP-seq afin de hiérarchiser des facteurs candidats du déterminisme du sexe dans cette cascade. Enfin, 4) la capacité de la niche somatique de la gonade embryonnaire à influencer sur le genre des cellules germinales sera évaluée par transplantation de cellules germinales souches adultes chez l'embryon.

La thèse se déroulera à Caen, dans le laboratoire BOREA, Biologie des Organismes et Ecosystèmes Aquatiques, une unité multidisciplinaire (physiologie, écologie...) et multi-tutelles (UCN, MNHN, CNRS, IRD, SU, UA). Le doctorant développera un réseau professionnel en interagissant avec des plateformes de la SF ICORE (CMABio3, PROTOGEN et SESAME), la station marine de Luc-sur-mer (CREC) et l'aquarium La Cité de la Mer de Cherbourg, ainsi qu'avec des chercheurs avec qui nous montons un projet international d'analyse comparée des modes de déterminisme du sexe chez les Elasmobranches. Ces travaux, innovants et ambitieux au niveau technologique sur ce modèle, apporteront des résultats d'intérêt sur le déterminisme du sexe et son évolution chez les vertébrés ainsi que des pistes pour la préservation d'espèces en danger.

Références : ¹ Yano A *et al.* (2012) *Current Biology*, ² Bosseboeuf A *et al.* (2014) *Reproduction*, ³ Gautier A *et al.* (2014) *Biol. Reprod.*, ⁴ Gribouval L *et al.* (2018) *Sci Rep.*, ⁵ Chieffi G. (1959) *Arch. Anat. micr. Morph. Exp.*, ⁶ Thiebold J. (1964) Thèse. Université de Strasbourg, ⁷ Poulakis GR & Grier HJ. (2014) *Environ Biol Fish.*, ⁸ Lavaut E. (2018) Mémoire de stage de master 2, ⁹ Santerre C *et al.* (2014) *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol.*

Profil attendu : Le candidat devra avoir de solides connaissances en biologie moléculaire et cellulaire. Un **dossier académique de bon niveau** est impératif pour candidater au concours oral de l'Ecole Doctorale NBISE attribuant les contrats doctoraux d'établissement. Des connaissances dans les domaines de la reproduction et/ou du développement seront appréciées. Par ailleurs, le candidat devra avoir un niveau d'anglais lui permettant la rédaction de publications et des présentations à des congrès. On attend de la motivation !

Date limite de candidature : 18 mai 2020

Si vous êtes intéressé, merci de transmettre par email un CV, une lettre de motivation ainsi que vos relevés de notes de L3, M1 et 1^{er} semestre de M2 aux deux encadrantes de thèse :

Dr Aude Gautier, aude.gautier@unicaen.fr et Dr Anne-Sophie Martinez, anne-sophie.martinez@unicaen.fr

Sex determination in *Scyliorhinus canicula*: time window and molecular cascades.

Sex determination corresponds to all mechanisms leading to the commitment of an undifferentiated gonad in a male or female differentiation. It depends of genetic factors (XX/XY, ZZ/ZW, autosomes, ...) and/or environmental factors (temperature, light, ...) depending on the species. In vertebrates, this diversity of modes of sex determination exists. The molecular actors involved are generally conserved during evolution (*amh*, *dmrt1*, *foxl2*...) but they are sometimes specific to some species, such as the major sex determinant in trout, *sdY*, derived from an ancestral gene of the immune response¹. So, study of the molecular cascade of sex determination in a species representative of primitive vertebrates is of great interest from an evolutionary point of view.

The lesser spotted dogfish, *S. canicula*, is emerging as a model of choice due to its local abundance, its easy breeding and easy access to embryos. In addition, we have access to transcriptomes and to its genome, which has already allowed the molecular characterization of germinal stem cells in this species^{2,3,4}. In Elasmobranchs (rays and sharks), the establishment of the gonadal anlage and its differentiation into ovary or testes remains a poorly documented subject. Only elements of histological description are available in the lesser spotted dogfish^{5,6} and in a ray⁷, data which have been completed in the laboratory. Finally, a study carried out in collaboration with Dr Guiguen (INRAE) allowed to identify its mode of sex determination and to establish a genetic test allowing the sexing of early embryos⁸.

The objectives of this thesis project are 1) to determine the temporal window of sex determination by characterizing the expression of candidate factors in the embryonic gonads (classical sex-determining actors⁹) by RT-PCR, *in situ* hybridization and immunofluorescence, 2) to use RAD-seq data comparing male with female genomes in order to identify new sex-linked genes, 3) to identify genome-wide protein/DNA interactions using ChIP-seq in order to rank the candidates within this sex determination gene network. Finally, 4) the ability of the somatic niche of the embryonic gonad to influence germ cell gender will be assessed by transplanting adult germinal stem cells into the embryo.

The thesis will take place in Caen, in BOREA laboratory, Biology of Aquatic Organisms and Ecosystems, a multidisciplinary research unit (physiology, ecology...) affiliated to UCN, MNHN, CNRS, IRD, SU and UA. The PhD student will develop a professional network by interacting with technical platforms of the SF ICORE (CMABio3, PROTEOGEN and SESAME), the rearing facilities of the marine station in Luc-sur-mer (CREC) and the aquarium of the Cité de la Mer in Cherbourg, as well as with researchers with whom we are setting up an international project of comparative analyses of the sex-determination systems within Elasmobranchs. This innovative and technologically ambitious work on this model will provide results of high interest on sex determination and its evolution in vertebrates, as well as tracks for the preservation of threatened species.

References : ¹ Yano A *et al.* (2012) *Current Biology*, ² Bosseboeuf A *et al.* (2014) *Reproduction*, ³ Gautier A *et al.* (2014) *Biol. Reprod.*, ⁴ Gribouval L *et al.* (2018) *Sci Rep.*, ⁵ Chieffi G. (1959) *Arch. Anat. micr. Morph. Exp.*, ⁶ Thiebold J. (1964) Thèse. Université de Strasbourg, ⁷ Poulakis GR & Grier HJ. (2014) *Environ Biol Fish.*, ⁸ Lavaut E. (2018) Mémoire de stage de master 2, ⁹ Santerre C *et al.* (2014) *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol.*

The candidate should have a strong background in molecular and cellular biology. **Good academic results** are compulsory for the oral competition at the Doctoral School NBISE. Knowledge in the fields of reproduction and/or development will be appreciated. Furthermore, the candidate must have a level of English that allows him/her to write publications and present at conferences. Motivation is expected!

Closing date for application: Monday 18 May 2020

If you are interested, please send by email a CV, an application letter as well as your academic marks of L3, M1 and 1st semester of M2 to the two thesis supervisors.

Dr Aude Gautier, aude.gautier@unicaen.fr and Dr Anne-Sophie Martinez, anne-sophie.martinez@unicaen.fr

