

Sujet de thèse: Métabolisme des lipides membranaires et modulation homéo-visqueuse en fonction de la pression hydrostatique, chez les crevettes profondes et littorales.

Directeur de thèse:
Bruce Shillito, enseignant-chercheur (MCU), responsable d'équipe.

Courrier électronique : Bruce.Shillito@upmc.fr

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

Aucun

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

Dr. Antonin Lamazière (MCU-PH) ERL INSERM 1157/UMR7203, Faculté de Médecine Pierre et Marie Curie, site Saint Antoine.

Equipe:

Adaptations aux Milieux EXtrêmes (AMEX, équipe 3). Equipe composée de 4 enseignants-chercheurs, 1 ingénieur en mécanique, 1 technicienne en biologie moléculaire.

Publications récentes des directeurs de thèse avec leurs anciens doctorants:

doctorante Delphine COTTIN (2007-2009)

- Cottin D., Brown A., Oliphant A., Mestre N., Ravaux J., Shillito B., Thatje S. (2012) Sustained hydrostatic pressure tolerance of the shallow water shrimp *Palaemonetes varians* at different temperatures: Insights into the colonisation of the deep sea. *Comp. Bioch. Physiol.*, A, 162, 357-363doi:10.1016/j.cbpa.2012.04.005

- Cottin D., Shillito B., Cheretemps T., Thatje S., Léger N., Ravaux J. (2010) Comparison of heat-shock responses between the hydrothermal vent shrimp *Rimicaris exoculata* and the related coastal shrimp *Palaemonetes varians*. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 393, 9-16.

- Cottin D., Ravaux J., Léger N., Halary S., Toullec J.Y., Sarradin P.M., Gaill F., Shillito B. (2008) Thermal biology of the deep-sea vent annelid *Paralvinella grasslei*: in vivo studies. *J. Exp. Biol.*, 211, 2196-2204.

Descriptif du sujet de thèse et méthodes envisagées:

Les membranes biologiques sont des assemblages complexes de lipides, de protéines et de polysaccharides. Elles peuvent être définies d'un point de vue biophysique par un certain nombre de propriétés mécaniques et notamment la fluidité membranaire, un élément crucial pour le fonctionnement cellulaire. Le comportement dynamique des membranes dépend directement de variables environnementales telles que la température et la pression, mais également la composition moléculaire, en particulier la composition en lipides (1, 2). La théorie homéo-visqueuse propose que chaque organisme adapte la composition moléculaire de ses membranes, en fonction des paramètres environnementaux (température, pression), afin de maintenir une fluidité "universelle" garante de leur bon fonctionnement (3). Ainsi il est classique d'observer chez les ectothermes des milieux froids une augmentation des proportions de chaînes insaturées dans les phospholipides, pour compenser la rigidification des membranes par le froid (4).

Si ce phénomène d'adaptation ou d'acclimatation homéo-visqueuse est relativement bien établi en fonction de la température (5), il n'en va pas de même pour la pression hydrostatique. En milieu marin, certains organismes effectuent des migrations bathymétriques très importantes au cours de leur cycle de vie (6), et des corrélations ont été suggérées entre composition des membranes et profondeur (et donc pression : 7). Pour autant, la nature des ajustements effectués (composition lipidique), ainsi que leur dynamique temporelle (adaptation, acclimatation), enfin les mécanismes de cette régulation (enzymes impliquées) demeurent encore largement méconnus (8). Ceci s'explique en partie par le peu de données expérimentales obtenues, sur des organismes difficiles à maintenir vivants en laboratoire.

Le projet a pour but d'explorer la réponse homéo-visqueuse d'invertébrés marins face à une variation de pression, et ce pour la première fois en milieu contrôlé. Il s'appuiera sur l'étude de la crevette hydrothermale *Mirocaris fortunata* (Dorsale médio-Atlantique), présente à des profondeurs variant de 800 m à plus de 3000 m. Fait remarquable, cet organisme profond s'acclimata bien en captivité, et est maintenu à l'aquarium public d'Océanopolis depuis plusieurs années déjà, soit à pression naturelle (1700 m de profondeur simulée), soit à pression atmosphérique (9). Il s'agit là d'une occasion unique de disposer d'organismes profonds vivants, dans les conditions contrôlées d'un laboratoire. Une autre espèce de crevette, côtière (*Palaemonetes varians*, littoral européen) sera étudiée en parallèle. Grâce à des aquariums pressurisés, nous avons pu montrer que cet organisme survit au moins une semaine à 1000 m de profondeur simulée (10).

Le travail expérimental débutera par des incubations de crevettes à différentes pressions, mais en conditions de température et régime alimentaire identiques. A l'issue des incubations, des profils de plusieurs centaines d'espèces moléculaires de lipides (lipidome) seront analysés à partir de tissus de crevettes par des approches de spectrométrie de masse (plateforme lipidomique du site UPMC/CHU Saint Antoine, co-encadrement A. Lamazière). Cette technologie permettra d'obtenir les empreintes biochimiques correspondant aux différentes conditions expérimentales. Les phénotypes lipidiques de 2 groupes de crevettes incubés 4 mois à 2 pressions différentes sont déjà disponibles (*Mirocaris* à Océanopolis). Les premiers résultats montrent des signatures lipidiques caractéristiques et significativement différentes entre les 2 conditions (modèles statistiques multivariés).

En parallèle, une approche de biologie moléculaire sera menée pour établir des relations phénotype/génotype, en quantifiant l'expression des gènes codant pour des enzymes impliquées dans la synthèse d'acides gras, de phospholipides et de stérols (élongases, désaturases, réductases) (plateforme de PCR en temps réel, IBPS, campus UPMC). A terme, une approche complémentaire est envisagée pour explorer le métabolisme lipidique. Elle consisterait à inhiber spécifiquement des voies métaboliques à l'aide de drogues (inhibiteurs enzymatiques), puis à observer les réponses phénotypiques en fonction des conditions expérimentales.

1 - Winter, Dzwolak (2005) *Phil Trans R Soc A* 363, 537

2 - Brooks (2014) *Int Union Crystall J*, 1, 470

3 - Hazel (1995) *Ann Rev Physiol*, 57, 19

4 - Logue et al (2000) *J Exp Biol* 203, 2105

5 - Guschina, Harwood (2006) *FEBS Letters* 580, 5477

6 - Clarke, Tyler (2008) *Curr Biol* 18, 282

7 - McDonald (1997) *Comp Biochem Physiol Vol* 116A, No. 4, 291

8 - Pond et al (2014) *PLoS ONE* 9(10): e111043. doi:10.1371/journal.pone.0111043

9 - Shillito et al (2015) *Deep-Sea Res Part II*, 121, 137

10 - Cottin et al (2012) *Comp Biochem Physiol A*, 162, 357

Stratégie de publication:

Le premier jeu d'incubations (pressions naturelle et atmosphérique) déjà réalisé avec la crevette profonde *Mirocaris* nous permet d'entrevoir des résultats prometteurs, qui à défaut d'être suffisants pour pouvoir être publiés, permettront d'affiner plus rapidement une stratégie expérimentale. Nous envisageons que le(la) doctorant(e) s'attelle à la rédaction d'une première publication à la fin de la

première année.

Globalement, deux étapes de publication sont envisagées : d'abord analyser les variations de composition lipidiques, pour les deux organismes étudiés, en fonction des pressions d'incubation. Ensuite, explorer les mécanismes de régulation du métabolisme des lipides, en mesurant les variations d'expression d'enzymes clés dans la synthèse des lipides membranaires.

Réorientation possible du sujet si échecs:

Même si nous avons montré une tolérance à la pression des crevettes côtières sur plusieurs jours (Cottin, 2012), le point d'incertitude sur ce travail réside dans la possibilité de pouvoir mener à terme des incubations suffisamment longues pour mettre en évidence une réponse (ou acclimatation) homéovisqueuse chez ces organismes littoraux. Ceci étant, les essais fourniront une gamme d'échantillons ayant subi des incubations à différentes durées, pressions, et températures. Le sujet pourrait alors être réorienté vers la réponse au stress de température en fonction de la pression, en exploitant la transcription de protéines de stress (famille hsp), sujet familier de notre équipe (Cottin 2008, 2010, entre autres, mentionnés plus haut).

Faisabilité sur 3 ans (échancier):

Première année : Analyses des données préliminaires disponibles, et réalisation des incubations de crevettes à Océanopolis, et dans nos locaux, sous différents régimes de pression. Ce travail sera suivi de l'analyse détaillée des données lipidomiques obtenues (ce qui contribuera à orienter d'autres approches expérimentales en aquarium)

Deuxième année : Les lipidomes obtenus nous aideront à nous orienter dans la recherche d'enzymes clé du métabolisme des lipides, possiblement impliquées dans la réponse homéovisqueuse. Des séquences spécifiques de chaque espèce de crevettes seront alors recherchées, en vue de pouvoir quantifier le degré d'expression de ces enzymes en fonction des conditions expérimentales imposées.

Troisième année : analyses des résultats et synthèse des travaux, en vue de la rédaction du manuscrit de thèse.

Profil du candidat recherché:

Bonnes connaissances en Biochimie et métabolisme des lipides. Volonté de se former aux approches statistiques multi-variées. Formation en Océanographie biologique appréciée.