

Décrire le système olfactif chez la seiche *Sepia officinalis* : approches développementales, moléculaires et fonctionnelles

Sujet de thèse:

Directeur de thèse:

BARATTE

baratte@mnhn.fr

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

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

Equipe:

Equipe 2 - Neurogenèse des Céphalopodes (L. Bonnaud-Ponticelli)

Publications récentes des directeurs de thèse avec leurs anciens doctorants:

Buresi A., Canali E., Bonnaud L. and Baratte S. (2012). Delayed and asynchronous ganglionic maturation during cephalopod neurogenesis evidenced by *Sof-elav1* expression in embryos of *Sepia officinalis* (Mollusca, Cephalopoda). *J Comp Neurology* 521:1482-1496.

Buresi A, Croll R, Tiozzo S, Bonnaud L, Baratte S. (2014) Emergence of sensory structures in the developing epidermis in *Sepia officinalis* and other coleoid cephalopods. *J Comp Neurology*. 522:3004-19.

Buresi A, Andouche A, Navet S, Bassaglia Y, Bonnaud-Ponticelli L, Baratte S (2016). Nervous system development in cephalopods: How egg yolk-richness modifies the topology of the mediolateral patterning system. *Dev Biology* 415:143-156.

Descriptif du sujet de thèse et méthodes envisagées:

> Problématique

Depuis quelques années, l'équipe de recherche développe le modèle Seiche (*Sepia officinalis*) comme modèle Mollusque d'étude de la neurogenèse, pour mieux comprendre l'évolution de la famille des Céphalopodes d'une part, mais également comprendre l'évolution des systèmes nerveux plus largement au sein des Métazoaires. Au sein des Mollusques, les céphalopodes sont particulièrement intéressants car ils présentent un système nerveux complexe et hiérarchisé, analogue à celui des Vertébrés, bien que présentant une architecture nerveuse complètement différente. Les voies sensorielles, visuelles et olfactives, y sont particulièrement développées chez ces prédateurs mais peu d'études se sont encore intéressées à leur description tant au niveau histologique, moléculaire que fonctionnel.

> Objectifs du travail de thèse

Trois approches ont été définies pour étudier l'appareil olfactif de la seiche commune. Elles s'appuieront, pour leur réalisation, sur les compétences de l'équipe et sa maîtrise du modèle, mais également sur des collaborations au sein du laboratoire ou à l'International.

1) Une approche descriptive: caractérisation du système olfactif et de son développement

L'olfaction chez la seiche s'organise autour de deux organes principaux : 1) les organes olfactifs, situés à l'arrière des yeux et projetant un nerf olfactif vers les lobes olfactifs du cerveau ; 2) les ventouses situées sur chaque bras. Une collaboration internationale (avec le Pr. Roger Croll, de l'Université Dalhousie, Halifax, Canada) a permis d'entamer l'exploration des organes olfactifs et des lobes olfactifs (financement IDEX-MITACS en 2016).

Le travail de thèse consistera à :

- poursuivre l'étude des neurotransmetteurs dans ces organes, grâce aux techniques immunohistochimie mais également d'hybridation in situ (enzymes des voies de synthèse). Il s'agira également d'entamer l'étude des ventouses ;
- mener une étude comparative entre les stades de développement pour évaluer le développement et la croissance de ces structures ;
- étudier les connexions nerveuses entre les lobes olfactifs et les glandes optiques situées à proximité et potentiellement impliquées dans l'enclenchement des processus de maturation sexuelle.

2) Une approche moléculaire: recherche et caractérisation des récepteurs olfactifs

La diversité des récepteurs olfactifs n'est pas décrite chez les Céphalopodes. Afin d'engager ce travail, le candidat sera amené :

- à réaliser des transcriptomes d'organes olfactifs et de ventouses ;
- à identifier dans ces transcriptomes les séquences des récepteurs olfactifs et à en réaliser une phylogénie détaillée ;
- à localiser leur expression par hybridation in situ. Il s'agira en particulier de déterminer si les différents types de cellules olfactives sont associés à des signatures moléculaires différentes.

3) Une approche fonctionnelle : recherche des ligands

Si, comme on peut vraisemblablement le supposer, les récepteurs olfactifs des Céphalopodes, appartiennent à la famille des GPCR (récepteurs couplés à la protéine G), une approche fonctionnelle pourra être conduite pour déterminer quels ligands sont reconnus par quels types de récepteurs. Ce travail de désorphanisation se basera sur l'expertise dans l'équipe de la technique dite d' « endocrinologie inversée ». Elle consiste en l'expression artificielle d'un récepteur dans des cellules mammifères en culture et en la mesure d'une réaction fluorescente en présence de ligands potentiels. Par ailleurs, l'UMR d'accueil possède une grande expertise dans l'étude des phéromones de la seiche, en particulier celles impliquées dans la reproduction.

Le travail du candidat consistera ainsi :

- à cloner des récepteurs olfactifs candidats ;
- à réaliser des tests d'endocrinologie inversée pour désorphaniser récepteurs et ligands ;
- à réaliser des tests comportementaux in vivo de réactivité aux molécules.

Stratégie de publication:

Chacune des approches décrites ci-dessus pourra faire l'objet d'une publication. Dans l'hypothèse où les approches 2 et 3 fourniraient des résultats de façon concomitante et rapide, une publication unique sur les récepteurs et leurs ligands pourrait être envisagée.

Réorientation possible du sujet si échecs:

Il y a peu de risques d'échecs dans la mesure où rien n'est décrit et connu. Toute donnée fiable, précise et reproductible devrait donc permettre d'avancer sur la problématique. Des difficultés ponctuelles, mais classiques, pourront émerger concernant certaines techniques employées (clonage, endocrinologie inversée). Toutefois, l'expertise des collègues et collaborateurs apportent une garantie importante pour lever ces blocages.

Faisabilité sur 3 ans (échancier):

L'existence d'outils déjà mis au point et validés chez la seiche et l'existence de résultats déjà bien aboutis permettront d'obtenir des résultats rapidement. La faisabilité est également de très haut niveau puisqu'elle repose sur l'expertise de toute une équipe qui travaille et publie sur le modèle seiche depuis des années. Le travail le plus chronophage sera l'étude fine et précise des différents marqueurs et gènes aux étapes précoces du développement, ainsi que leur cartographie (analyse d'image et de distribution, statistiques, morphométrie). La mise au point de l'endocrinologie inversée sera un point limitant mais néanmoins réalisable de ce travail.

Profil du candidat recherché:

Le candidat devra posséder de bonnes connaissances en Biologie animale (dont Biologie Marine), en Evolution et Phylogénie ainsi qu'une bonne maîtrise des outils de Biologie Moléculaire classiques (PCR, clonage, hybridation in situ).