

Sujet de thèse ouvert au concours de l'ED305

La recombinaison méiotique chez les invertébrés : contrôle des points chauds de recombinaison et impact des variations de l'environnement

Encadrants

Julie Clément (CRCN CNRS), encadrante principale (80%)
Christoph Grunau (PU, UPVD), directeur de thèse (20%)

Contact

Les candidat(e)s sont encouragé(e)s à prendre contact par mail avant de déposer leur dossier de candidature. Mail : julie.clement@univ-perp.fr

Lieu



UMR 5244 IHPE (Interaction Hôtes Pathogènes Environnements), site de Perpignan
<http://ihpe.univ-perp.fr/>

Candidature

Dépôt en ligne avant le 9 juin 2023: <https://www.univ-perp.fr/ecoles-doctorales/ecole-doctorale-energie-environnement/concours-contrats-doctoraux-ed305>

Mots clés

Méiose, recombinaison homologue, évolution des génomes, diversité génétique, impact environnemental, reproduction sexuée

Profil et compétences recherchées

- Titulaire d'un master 2 en biologie moléculaire, écologie/évolution
- Expérience réussie dans la mise en pratique de techniques de biologie moléculaire
- Expérience ou bonnes connaissances en analyse bioinformatique (ChIP-seq, RNA-seq, Long-reads, Analyse de génomes, ...) ou volonté et capacité forte à se former
- Rigueur, dynamisme, assiduité et communication
- Niveau d'anglais permettant de lire des articles et documents, et de communiquer à l'oral et à l'écrit sur des aspects scientifiques

Résumé du projet de thèse

Chez les espèces eucaryotes, la reproduction sexuée implique la formation de gamètes haploïdes lors de la méiose, un processus constitué de deux divisions cellulaires. Lors de la première division de méiose, la recombinaison méiotique brasse le matériel génétique entre les chromosomes maternels et paternels et crée un lien physique entre chromosomes homologues qui est essentiel à leur ségrégation correcte dans les cellules filles. La recombinaison méiotique a donc conséquences directes sur l'évolution des génomes et la fertilité des individus et donc des conséquences indirectes sur la survie et le potentiel adaptatif des populations. Il s'agit d'une force évolutive majeure à prendre en compte dans les études d'évolution et d'adaptation des populations, notamment face aux changements environnementaux. Dans ce projet de thèse, nous proposons d'étudier (i) le contrôle de la localisation des événements de recombinaison chez deux clades d'invertébrés (Mollusques et Cnidaires) et (ii) les variations de fréquence et de distribution des événements de recombinaison face aux perturbations environnementales.

Dans ce travail de thèse, nous testerons l'hypothèse d'une implication de la protéine PRDM9 qui induit l'activité de recombinaison aux sites où elle se fixe grâce à son domaine de liaison à l'ADN. PRDM9 serait apparue chez l'ancêtre commun des métazoaires mais elle a été perdue plusieurs fois au cours de l'évolution dans différents clades, et de façon indépendante. Son activité, mise en évidence chez la souris et l'homme, reste inexplorée chez l'ensemble des invertébrés. Nous avons identifié PRDM9 chez

des escargots d'eau douce et les coraux. Nos premiers résultats sont en faveur d'une conservation de fonction au-delà des Vertébrés. Des approches évolutives et fonctionnelles sont à présent nécessaires pour valider ou non notre hypothèse et comprendre les bases moléculaires du contrôle des cartes de recombinaison chez ces espèces. Nous utiliserons du séquençage Nanopore, des approches de type ChIP-seq, et de la cartographie moléculaire de cassures d'ADN sur du matériel biologique obtenu en conditions naturelles ou généré dans notre molluscarium.

Nous étudierons également comment des variations environnementales biotiques ou abiotiques peuvent impacter la distribution et la fréquence de ces événements de recombinaison. Une approche consistera à comparer les patrons de recombinaison entre des populations soumises à des conditions de températures différentes.

Thématique / Domaine

Recombinaison méiotique, évolution des génomes, reproduction sexuée

Objectif et contexte

Chez les espèces eucaryotes, la reproduction sexuée implique la formation de gamètes haploïdes lors de la méiose. La méiose est un processus constitué de deux divisions cellulaires : la première – la méiose I – sépare les chromosomes homologues (phase réductionnelle) et la seconde – la méiose II – sépare les chromatides sœurs (phase équationnelle). Au début de la première division de méiose, des centaines de cassures double-brins sont formées de façon programmée le long du génome. Elles initient alors la recombinaison méiotique, un processus de réparation de l'ADN qui utilise le chromosome homologue intact pour la réparation. La recombinaison méiotique conduit à des échanges de matériel génétique entre les chromosomes maternels et paternels. Elle permet également la création d'un lien physique (les crossing-overs) entre chromosomes homologues qui est absolument essentiel à leur ségrégation correcte dans les cellules filles. La recombinaison méiotique a donc conséquences directes sur l'évolution des génomes, la fertilité et la performance des individus et donc des conséquences indirectes sur la survie et le potentiel adaptatif des populations. Il s'agit une force évolutive majeure à prendre en compte dans les études d'évolution et d'adaptation des populations, notamment face aux changements environnementaux.

Chez la plupart des espèces étudiées jusqu'à présent, la localisation de ces cassures double-brin d'ADN n'est pas aléatoire le long du génome mais correspond à de petites régions de 1000 à 2000 paires de bases d'ADN appelées points chauds de recombinaison (ou hotspots)[1]. Chez les mammifères, ces hotspots correspondent à des séquences d'ADN spécifiques liées par le domaine à doigts de zinc (ZnF) de PRDM9[2]. Une propriété remarquable de PRDM9 est la diversité importante et l'évolution rapide de ce domaine ZnF[3–5]. Une conséquence est l'évolution rapide des cartes de recombinaison chez les espèces ayant PRDM9, ce qui leur conférerait peut-être un potentiel adaptatif plus important. PRDM9 serait apparu chez l'ancêtre commun des métazoaires mais sa perte totale ou partielle a été reportée pour plusieurs taxons de façon indépendante[6]. Les espèces n'ayant pas de PRDM9 ont des hotspots évolutivement stables localisés dans des régions de type promoteur, régions qui sont justement évitées par PRDM9. Le rôle de PRDM9 en méiose n'a pour l'instant pas été exploré en dehors des vertébrés, une raison étant son absence chez les espèces modèles d'invertébrés (drosophile, nématode). Pourquoi PRDM9 a-t-il été perdu chez plusieurs taxons ? Quelle est le rôle fondamental de PRDM9 chez les espèces qui l'ont conservé ? Est-ce que PRDM9 remplit toujours le rôle de localisation des sites de recombinaison et ces derniers ont-ils les mêmes caractéristiques que celles identifiées chez les Mammifères ? C'est dans ce contexte scientifique que s'inscrit ce projet de thèse. Nous proposons ici d'étudier la fonction de PRDM9 en méiose chez plusieurs espèces proches d'escargot d'eau douce et chez différentes espèces de coraux pour lesquelles nous avons récemment identifié la présence PRDM9 en étudiant leur génome récemment publié.

Nous poserons tout d'abord les questions suivantes: Où sont localisés les hotspots le long des génomes? Est-ce que PRDM9 est essentielle pour la progression de la méiose et la fertilité? Est-ce que PRDM9 joue un rôle dans la localisation des hotspots chez les invertébrés?

Par ailleurs, l'accélération des changements globaux (ex. augmentation de la température) pose d'importantes questions en termes d'adaptation des populations aux changements et de modification de leur aire de répartition. La plasticité des mécanismes moléculaires, des modifications épigénétiques et génétiques contribuent, entre autres, au phénomène d'adaptation mais peuvent avoir des conséquences à plus long terme sur l'évolution des génomes, notamment en modifiant la fréquence et la distribution des événements de recombinaison méiotique[7]. Nous proposons alors d'explorer comment la recombinaison méiotique contrôlée par PRDM9 peut être modifiée par des changements de l'environnement biotique ou abiotique.

Dans ce travail de thèse, nous utiliserons des approches complémentaires: le génotypage du ZnF de PRDM9 par technologie Nanopore[4], la cartographie moléculaire des hotspots[8], l'histologie et la manipulation génétique d'un escargot. Nous bénéficierons de la collection unique de matériel biologique dans le laboratoire accueillant le projet, et des méthodes et outils qui y sont développés pour des espèces non modèles. Nous aurons également accès à une collection importante de matériel biologique provenant de populations naturelles issues de sites aux conditions environnementales contrastées. Cette première exploration du rôle de PRDM9 en dehors des vertébrés permettra d'établir dans quelle mesure ce mécanisme de localisation des hotspots est conservé et comment ce mécanisme peut être impacté par des facteurs environnementaux.

Méthode

- Séquençage de PRDM9 et analyse de diversité
- Cartographie moléculaire des cassures double-brin d'ADN (approches de type CHIP-seq)
- Transcriptomique (long-read RNA-seq)
- Histologie, immunocytochimie, RNAscope
- Création de lignées et de croisements
- Cartographie des sites de recombinaison par génétique single-cell des gamètes.

Résultats attendus

- Caractérisation de la diversité de PRDM9 chez plusieurs espèces d'escargots d'eau douce et plusieurs espèces de coraux : diversité du doigt de zinc, analyses phylogénétiques, évolution moléculaire.
- Cartographie des sites de recombinaison, et leur caractérisation moléculaire (motifs d'ADN, contenu en éléments du génome) et chromatinienne (modifications d'histones H3K4me3, H3K36me3, ATAC-seq) pour différents génotypes et croisements.
- Caractérisation transcriptomique et histologique des méiocytes
- Identification des sites de recombinaison réparés par crossing-overs, fréquence de recombinaison puis évaluation de l'impact de modifications environnementales sur la distribution et la fréquence de ces événements.

Précisions sur l'encadrement

- Suivi hebdomadaire au travers de réunions de synthèse (avec la co-encadrante), Bilan trimestriel détaillé et décisions stratégiques (directeur et co-encadrante), comité de suivi individuel annuel avec des membres extérieurs.
- Présentations régulières lors des réunions d'équipe, et une fois par an aux doctoriales (journée scientifique d'unité) et lors de réunions spécifiques de projet.
- Mise en place d'un plan de gestion de données, utilisation du cahier de laboratoire électronique
- Utilisation d'outils collaboratif pour la gestion de projet et le partage de documents et d'informations.

Conditions scientifiques matérielles (conditions de sécurité spécifiques) et financières du projet de recherches

IHPE dispose d'un laboratoire de biologie moléculaire récemment rénové, d'un laboratoire de protéomique, d'une salle du vivant (expérimentation animale) et d'un laboratoire de culture cellulaire.

Nous disposons également d'un des plus grands molluscariums au monde, avec des élevages uniques d'escargots d'eau douce. L'étudiant aura accès à deux plateformes (« Bioenvironnement » et « Epigénomique Environnementale ») présentes sur le site et pourra bénéficier du soutien technique et scientifique de la part des membres d'IHPE et des plateformes.

Plusieurs demandes de financement sont en cours et nous disposons d'un soutien fort financier du laboratoire d'accueil (mise en commun des fournitures des laboratoires).

L'étudiant(e) en thèse sera fortement encouragé(e) à postuler à des appels à projets dédiés aux doctorant(e)s pour réaliser des projets annexes et/ou encadrer des étudiants de niveau Licence ou Master.

Objectifs de valorisation des travaux de recherche du doctorant : diffusion, publication et confidentialité, droit à la propriété intellectuelle,...

Plusieurs publications dans des journaux internationaux de rang A

Participation à des congrès nationaux et internationaux.

L'ensemble des résultats sera diffusé selon les principes de la science ouverte : mise à disposition des données brutes, du code, des résultats exploitables, et des manuscrits.

L'étudiant(e) sera fortement encouragé(e) à participer à des événements à destination du grand public (Fête de la Science, Pint Of Science, Déclics...).

Collaborations envisagées

Des collaborations nationales et internationales sont envisagées pour mener à bien le projet.

Notamment :

- Des collaborateurs réguliers en métropole française (au sein d'IHPE et d'autres laboratoires comme le CEFE, l'IGH et l'ISEM à Montpellier et le LBBE à Lyon)
- Des collaborateurs réguliers hors métropole (IFREMER Polynésie Française, Université de La Réunion, FioCruz Brésil, Bénin, Sénégal,...)

Ouverture internationale

Grâce aux collaborations et à la participation à des congrès internationaux, l'étudiant(e) aura l'occasion d'entrer en contact avec un réseau international important. L'étudiant(e) sera également encouragé(e) à postuler à des bourses de voyage lui permettant d'effectuer un séjour à l'étranger pour se former à de nouvelles techniques ou réaliser des expérimentations sur le terrain.

Références bibliographiques

1. Tock AJ, Henderson IR. Hotspots for Initiation of Meiotic Recombination. *Front Genet.* 2018;9 November.
2. Grey C, Baudat F, de Massy B. PRDM9, a driver of the genetic map. *PLOS Genet.* 2018;14:e1007479.
3. Vara C, Capilla L, Ferretti L, Ledda A, Sánchez-Guillén RA, Gabriel SI, et al. PRDM9 Diversity at Fine Geographical Scale Reveals Contrasting Evolutionary Patterns and Functional Constraints in Natural Populations of House Mice. *Mol Biol Evol.* 2019;36:1686–700.
4. Alleva B, Brick K, Pratto F, Huang M, Camerini-Otero RD. Cataloging Human PRDM9 Allelic Variation Using Long-Read Sequencing Reveals PRDM9 Population Specificity and Two Distinct Groupings of Related Alleles. *Front Cell Dev Biol.* 2021;9 November.
5. Damm E, Ullrich KK, Amos WB, Odenthal-Hesse L. Evolution of the recombination regulator PRDM9 in minke whales. *BMC Genomics.* 2022;23:1–16.
6. Baker Z, Schumer M, Haba Y, Bashkirova L, Holland C, Rosenthal GG, et al. Repeated losses of PRDM9-directed recombination despite the conservation of PRDM9 across vertebrates. *eLife.* 2017;6:1–34.
7. Henderson IR, Bomblies K. Evolution and Plasticity of Genome-Wide Meiotic Recombination Rates. *Annu Rev Genet.* 2021;55:23–43.
8. Brick K, Pratto F, Sun CY, Camerini-Otero RD, Petukhova G. Analysis of Meiotic Double-Strand Break Initiation in Mammals. Elsevier Inc.; 2018.