



STAGE DE RECHERCHE M2 ECOLOGIE EVOLUTION GENOMIQUE

Rentrée 2018

Etude de l'évolution des modes de reproduction

**Laboratoire de Biologie et Modélisation de la Cellule
Ecole Normale Supérieure de Lyon**

Encadrants : Marie Delattre (marie.delattre@ens-lyon.fr)

Nous nous intéressons aux changements cellulaires qui conditionnent l'émergence de nouveaux modes de reproduction. Nous utilisons pour cela les nématodes, qui présentent une grande diversité de stratégie reproductive, et sont facilement cultivables au laboratoire.

Le sujet de stage concerne l'étude de l'espèce *Mesorhabditis belari*, pour laquelle nous avons récemment décrit un mode de reproduction nouveau et inattendu [1]. Dans cette espèce, on trouve une majorité de femelles et seulement 8% de mâles. Les mâles sont nécessaires pour la fécondation des ovocytes et la production d'embryons.

Cependant, la majorité des embryons après fécondation n'utilisera pas l'ADN paternel, qui ne se décondensera pas.

Ces embryons « gynogénétiques » se développeront seulement à partir de l'ADN maternel et donneront des individus femelles. Dans l'autre catégorie d'ovocytes, l'ADN du spermatozoïde va se décondenser après la fécondation et être utilisé lors du développement zygotique. Ces embryons dits « amphimixiques » donneront exclusivement naissance à des mâles (voir Figure). Ainsi dans cette espèce, les gènes des mâles ne sont jamais transmis aux femelles, et les femelles produisent juste assez de mâles pour féconder tous leurs ovocytes.

Cette stratégie de reproduction, qui consiste à produire des mâles alors qu'ils ne participent pas au brassage génétique, et qui permet la production des mâles en coordonnant précisément le déroulement de la méiose femelle et le devenir de l'ADN paternel est remarquable et pose de nombreuses questions.

Pour un stage de M2, nous proposons plusieurs sujets possibles qui concernent les changements cellulaires à l'origine de ce mode de reproduction :

Sujet I. Quels sont les facteurs qui entraînent le développement d'un ovocyte vers le devenir mâle ou femelle ?

Pour répondre à cette question nous avons isolé les embryons amphimixiques et gynogénétiques et avons identifié des ARN spécifiques de chaque catégorie par une analyse transcriptomique comparative. Il s'agira

i) de confirmer l'expression différentielle de certains candidats par qRT-PCR, ii) de localiser des ARN candidats par expérience d'in situ, iii) d'analyser l'expression spatio-temporelle des protéines correspondantes par marquage anticorps.

Sujet II. Existe-t-il un chromosome sexuel chez *Mesorhabditis belari* ?

Les embryons amphimixiques ne produisent que des mâles. Si le déterminisme du sexe est chromosomique de type XY, on s'attendrait à ce que la moitié de ces embryons donnent aussi des femelles. Le déterminisme du sexe pourrait donc être non chromosomique, ou bien, s'il existe un chromosome sexuel, un biais de ségrégation pendant la spermatogenèse entrainerait la production exclusive de spermatozoïdes fonctionnels portant le Y par exemple.

L'analyse cytologique des chromosomes de nématodes ne permet pas d'identifier les chromosomes sexuels. Par l'analyse comparée du génome des mâles et des femelles nous avons identifié des gènes qui sont présents chez les femelles et fortement dupliqués chez les mâles. Pour comprendre s'ils sont impliqués dans le déterminisme du sexe, nous réaliserons i) des expériences de DNA Fish pour voir si ces gènes et leurs duplicats sont présents sur le même chromosome, ii) des expériences de qRT-PCR sur différents tissus et des marquages anticorps pour savoir si leur expression est cohérente avec un rôle dans le déterminisme du sexe, iii) une recherche de leur présence et fonction dans l'espèce voisine du genre *Mesorhabditis*, qui présente un mode de reproduction classique mâle/femelle.

Sujet III. Les femelles de *M. belari* sont-elles des clones de leur mère ?

Nous cherchons à comprendre si le génome des femelles est stable, ou s'il reste au contraire dynamique, malgré l'asexualité. Après fécondation, lorsque l'ADN paternel n'est pas utilisé, la méiose de l'ovocyte est incomplète, permettant le maintien de la diploidie dans les embryons femelles. En fonction du type de méiose (réductionnel, équationnel, avec ou sans recombinaison, mécanismes de gene conversion, etc.), le génotype des filles sera identiques à celui de la mère, ou au contraire, une diversité génétique entre génération sera possible. Pour répondre à ces questions nous i) utiliserons des approches bioinformatiques pour calculer le pourcentage d'hétérozygote dans le génome des femelles, et pour détecter des évènements

de conversion de gène, ii) détecterons des SNP à l'état hétérozygote et analyserons leur distribution dans la descendance d'une femelle (par des techniques de PCR pour une analyse à petite échelle, complétée par une analyse Bar-seq pour une plus grande cartographie des SNPs du génome) , iii) analyserons par immunocytologie les figures de méiose femelles, pour détecter les cross-over, le nombre de cassure double-brin par chromosome dans cette espèce, et quelle étape de la méiose est déficiente.