

Etude transcriptomique, génétique et fonctionnelle de la gamétogenèse chez l'huître creuse *Crassostrea gigas*

FRE 3484 CNRS INEE Université de Caen Basse-Normandie: L. Bigot, MP. Dubos, N. Dheilly, P. Favrel, K. Kellner, C. Lelong, AS. Martinez, G. Rivière, C. Santerre, P. Sourdain

Ifremer, Laboratoire Génétique et Pathologie: L. Dégremont, E. Flahauw, PJ. Hatt, S. Heurtebise, S. Lapègue

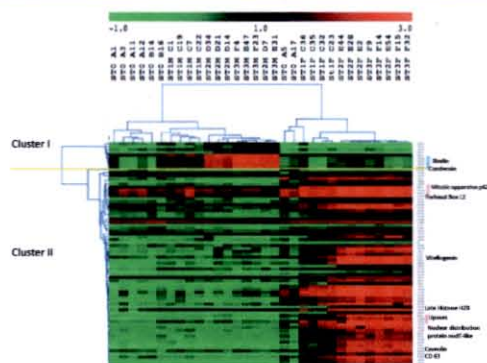
UMR 6061 CNRS-Université de Rennes 1: N. Azzouzi, F. Galibert

UMR 6539 CNRS- Ifremer-IRD-Université de Bretagne Occidentale: P. Boudry, C. Corporeau, C. Fabioux, E. Guévelou, A. Huvet, R. Sussarellu

Le projet GAMETOGENES vise à améliorer les connaissances des bases physiologiques et génétiques de la reproduction et des métabolismes associés chez un mollusque d'importance économique l'huître creuse, *Crassostrea gigas*. Il a pour objectifs (1) la définition de marqueurs clés de la gamétogenèse, de l'investissement reproducteur et du déterminisme du sexe chez une espèce hermaphrodite à protandrie irrégulière (2) la recherche de QTL de survie aux mortalités estivales ou à l'effort de reproduction dont le succès repose sur l'augmentation de la densité de marqueurs sur les cartes génétiques existantes (SNP en particulier) et sur les liens qui pourront être établis entre ces cartes de liaison et une carte physique (3) le développement d'outils pour valider la fonctionnalité des gènes d'intérêt.

Transcriptomique

L'analyse du transcriptome de la gonade de l'huître par puces à oligonucléotides 4x44K montre une divergence très significative des patterns d'expression génique en fonction du stade ou du sexe. Parmi 637 gènes différentiellement exprimés au cours de la gamétogenèse, 326 gènes le sont chez les mâles et 251 chez les femelles dont nombreux sont orthologues de gènes impliqués dans la gamétogenèse d'autres espèces. Ainsi, deux gènes orthologues de Sox8/9 et de la beta-caténine ont été identifiés et leur pattern d'expression pourrait indiquer qu'ils codent des facteurs clés des cascades du déterminisme sexuel mâle et femelle respectivement. Enfin, 429 gènes présentent une expression corrélée à l'effort de reproduction mâle (28) ou femelle (401) et constituent ainsi d'excellents marqueurs pour la détection de QTL associés à ce caractère.

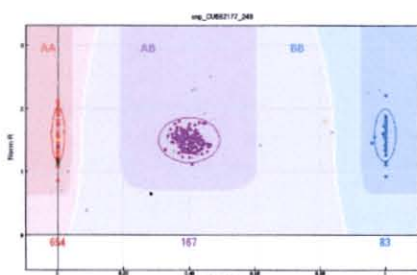


Expression spatiale de l'ARNm de la β-caténine.
Une expression est observée dans les cellules germinales précoces, dans les spermatocytes et spermatozoïdes chez les mâles et les oocytes à tous les stades chez les femelles. Une expression somatique n'est pas exclue.

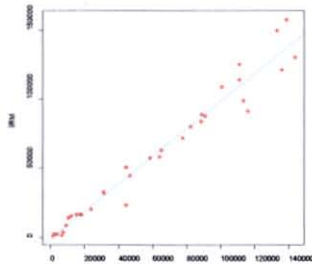
Clustering hiérarchique obtenu sur 32 profils de gonades d'huîtres (colonne) montrant 2482 gènes différentiellement exprimés (ligne) et 4 groupes principaux de gènes dont l'expression dépend du stade et/ou du sexe.

Génétique

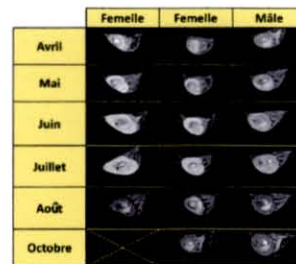
Un des objectifs de cette étude génétique est de rechercher des zones du génome de l'huître (QTLs) impliquées dans l'allocation à la reproduction. Pour cela, un panel de 384 marqueurs SNPs a été développé et les SNPs génotypés avec la technologie BeadXpress Illumina sur des familles ségrégeantes. D'autre part, une méthode basée sur la résonance magnétique permettant de suivre l'allocation à la reproduction des huîtres au cours du temps et de manière non destructive a été validée par rapport à la méthode d'histologie quantitative utilisée classiquement. De nombreux caractères peuvent ainsi être mesurés à partir des niveaux de gris ou des images produites, pour lesquels des QTLs sont en cours de détection.



Exemple de génotypage d'un marqueur SNP avec la technique BeadXpress Illumina.



Corrélation entre la mesure de la surface gonadique par histologie quantitative et IRM ($R^2=0,963$).

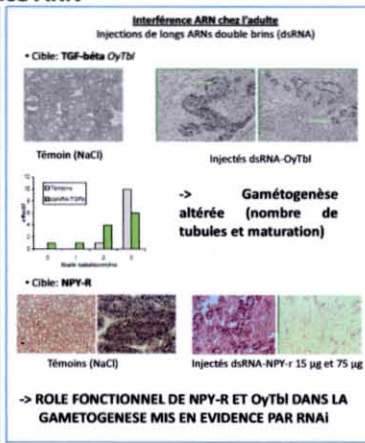
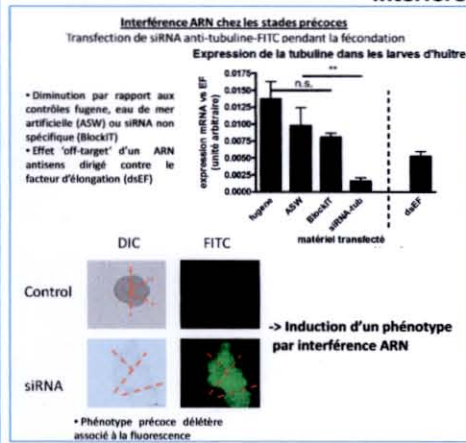


Exemple de suivi IRM de la gamétogenèse chez deux femelles et un mâle au cours du temps.

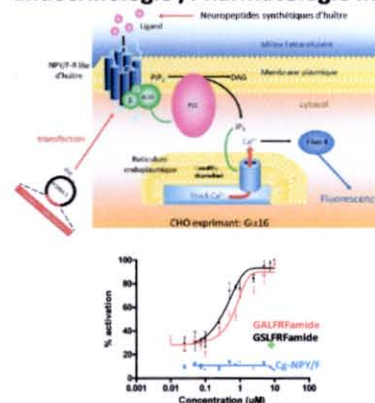
Approches fonctionnelles

Pour éprouver la fonctionnalité de gènes impliqués dans le processus de reproduction chez l'huître, des méthodologies innovantes (interférence ARN chez l'adulte et les stades précoces, Endocrinologie et endocrinologie inverse) ont été développées. Ces approches ont mis en évidence l'importance des gènes de l'homologue du récepteur au neuropeptide Y/F ou du TGF-β.

Interférence ARN



Endocrinologie / Pharmacologie inverse



Le récepteur Cg-NPY/F-R-like d'huître n'est pas activé par le ligand Cg-NPY/F d'huître mais par des peptides de la famille des RFamides spécifiques de mollusques. L'expression différentielle de ce récepteur dans la gonade au cours des premiers stades de la gamétogenèse et dans le SNC en fonction du statut nutritionnel suggère un rôle de cette voie de signalisation dans la coordination du métabolisme énergétique en relation avec la nutrition et la reproduction.