

**PROGRAMME INSTITUTS ET  
INITIATIVES**

**Appel à projet – campagne 2021**

**Proposition de projet de recherche doctoral (PRD)**

**IMer - Institut de la Mer**

**Intitulé du projet de recherche doctoral (PRD): Développement et fonctions du système  
neurosecréteur caudal chez la roussette**

**Directrice ou directeur de thèse porteuse ou porteur du projet (titulaire d'une HDR) :**

NOM : **Tostivint** Prénom : **Hervé**  
Titre : Professeur des Universités ou  
e-mail : herve.tostivint@mnhn.fr  
Adresse professionnelle : Laboratoire de physiologie. 7, rue Cuvier, 75005 Paris  
(site, adresse, bât., bureau)

**Unité de Recherche :**  
Intitulé : Physiologie moléculaire et adaptations  
Code (ex. UMR xxxx) : UMR 7221 MNHN, CNRS

**École Doctorale de rattachement de l'équipe (future école doctorale de la doctorante ou du doctorant) :** ED227-Sciences vie homme : évolution écolog

**Doctorantes et doctorants actuellement encadrés par la directrice ou le directeur de thèse (préciser le nombre de doctorantes ou doctorants, leur année de 1<sup>e</sup> inscription et la quotité d'encadrement) : 1 - 2017-10%**

-----  
**Co-encadrante ou co-encadrant :**

NOM : **Sourdaine** Prénom : **Pascal**  
Titre : Professeur des Universités ou HDR   
e-mail : pascal.sourdaine@unicaen.fr

**Unité de Recherche :**  
Intitulé : Laboratoire de biologie des organismes et des écosystèmes aquatiques  
Code (ex. UMR xxxx) : FRE 2030, MNHN, CNRS, SU, IRD 207, UCN, UA

**École Doctorale de rattachement :** **Choisissez un élément :**  
Ou si ED non Alliance SU : **ED 497 · NBISE · École doctorale  
Normande de biologie intégrative, santé, environnement**



**Co-encadrante ou co-encadrant :**

NOM :

Prénom :

Titre : Choisissez un élément : ou

HDR

e-mail :

**Unité de Recherche :**

Intitulé :

Code (ex. UMR xxxx) :

Choisissez un élément :

École Doctorale de rattachement :

Ou si ED non Alliance SU :

Doctorantes et doctorants actuellement encadrés par la directrice ou le directeur de thèse (préciser le nombre de doctorantes ou doctorants, leur année de 1<sup>e</sup> inscription et la quotité d'encadrement) :

Cotutelle internationale :  Non  Oui, précisez Pays et Université :

Selon vous, ce projet est-il susceptible d'intéresser une autre Initiative ou un autre Institut ?

Non  Oui, précisez Choisissez l'institut ou l'initiative :

## **Description du projet de recherche doctoral (*en français ou en anglais*) :**

*Ce texte sera diffusé en ligne : il ne doit pas excéder 3 pages et est écrit en interligne simple.*

*Détailler le contexte, l'objectif scientifique, la justification de l'approche scientifique ainsi que l'adéquation à l'initiative/l'Institut.*

*Le cas échéant, préciser le rôle de chaque encadrant ainsi que les compétences scientifiques apportées. Indiquer les publications/productions des encadrants en lien avec le projet.*

*Préciser le profil d'étudiant(e) recherché.*

1. Contexte: L'homéostasie correspond à la capacité qu'ont les organismes vivants à maintenir l'équilibre de leur milieu intérieur en dépit des perturbations incessantes de leur environnement. Chez les vertébrés, le contrôle de l'homéostasie repose largement sur l'action d'un système neuroendocrinien, le complexe hypothalamo-hypophysaire (CHH). Chez les poissons, l'existence d'un second système neuroendocrinien a été mise en évidence. Ce second système a été appelé système neurosécréteur caudal (SNSC) en raison de sa position à l'extrémité caudale de la moelle épinière. Il présente de nombreuses similitudes avec le CHH, tant sur le plan structural que fonctionnel. Ainsi, tout comme lui, il est constitué de neurones endocrines, appelés ici cellules Dahlgren, qui projettent leurs axones dans un organe neuro-hémal, l'urophyse, ainsi baptisée en raison de ses similitudes avec l'hypophyse (urophyse signifiant littéralement, hypophyse caudale). Les cellules Dahlgren synthétisent et libèrent dans l'urophyse plusieurs hormones de nature peptidique dont les plus importantes sont les urotensines. Le SNSC a été décrit dans les années 1950, mais depuis lors a été relativement peu étudié. Il reste donc encore très mystérieux par bien de ses aspects. Les recherches ont toutefois montré qu'il joue un rôle important dans le contrôle de l'équilibre hydrominéral et le stress, notamment pour les espèces confrontées à des eaux de salinité variable. Malgré cela, les conditions physiologiques dans lesquelles il est recruté sont encore loin d'être comprises. De manière intéressante, une étude publiée en 2020 a montré que l'activité du SNSC est très sensible aux variations de température, suggérant que ce système pourrait jouer un rôle critique dans l'adaptation des poissons aux changements climatiques. Nous pensons que jusqu'à présent l'importance fonctionnelle du SNSC a été largement sous-estimée par rapport à celle du CHH et mérite d'être réexaminée avec les outils les plus performants de la recherche actuelle. Le SNSC a été décrit à la fois chez les actinoptérygiens (poissons à nageoires rayonnées) et chez les chondrichthyens (poissons à squelette cartilagineux), ce qui suggère qu'il représente un attribut ancestral des gnathostomes (vertébrés à mâchoires). De manière intéressante il a été montré que chez les élasmobranches (groupe de poissons cartilagineux comprenant les requins et les raies), le SNSC présente une organisation beaucoup plus simple que chez les téléostéens. En effet, chez ces animaux, l'urophyse est absente et les cellules de Dahlgren libèrent leurs produits de sécrétion directement dans une région diffuse située à la surface ventrale de la moelle caudale. Une telle organisation est considérée comme primitive par rapport à celle rencontrée chez les téléostéens.

2. Approche scientifique: L'équipe de H. Tostivint a récemment développé un projet visant à étudier le développement et les fonctions du SNSC chez une espèce modèle, le poisson-zèbre (*Danio rerio*). Cette espèce présente de nombreux avantages qui ont beaucoup contribué à son succès, aussi bien en biologie du développement qu'en physiologie : des œufs faciles à produire, des embryons transparents et la possibilité d'appliquer les méthodes génétiques les plus pointues. Afin



de pouvoir tirer profit au mieux des résultats que nous obtiendrons chez cette espèce, nous pensons que l'utilisation en parallèle d'une autre espèce, avec des particularités biologiques différentes, pourrait apporter des informations très utiles. L'espèce que nous avons sélectionnée pour mener cette approche comparée est la roussette (*Scyliorhinus canicula*). L'intérêt de la roussette tient surtout à son appartenance au groupe des élamobranches. A ce titre, elle possède un SNSC beaucoup plus simple que celui du poisson-zèbre et elle est marine contrairement à lui qui vit en eau douce, ce qui là encore correspond à un trait ancestral.

3. Objectifs de la Thèse: Le projet de thèse que nous soumettons se propose donc d'étudier le SNSC de la roussette en se focalisant sur deux aspects : son développement et ses fonctions. Il s'appuiera sur les connaissances du SNSC acquises par l'équipe de H. Tostivint sur le poisson-zèbre et sur l'expérience de celle de P. Sourdain dans l'utilisation de la roussette comme modèle expérimental. Cette étude sera conduite en lien étroit avec les autres membres de l'équipe de H. Tostivint impliqués dans l'étude du SNSC chez le poisson-zèbre.

3.1. Développement du SNSC : Pour mieux comprendre l'origine embryologique du SNSC, il est indispensable d'en apprendre plus sur les neurones qu'il contient. Ces neurones, les cellules de Dahlgren, sont à ce jour très mal connus, surtout au niveau moléculaire. La première partie de notre projet a pour but de combler cette lacune. Elle vise à en établir à la fois le transcriptome et le protéome, c'est à dire la liste des gènes et des protéines qu'ils expriment. Pour déterminer leur transcriptome et leur protéome, il est important de pouvoir isoler ces neurones. Chez la plupart des élamobranches étudiés, il a été montré que les cellules de Dahlgren sont des cellules de taille exceptionnellement importante (diamètre pouvant atteindre 150  $\mu\text{m}$ ), ce que nous avons récemment pu confirmer chez la roussette (résultats non publiés). Nous comptons mettre à profit cette particularité des cellules de Dahlgren de la roussette pour pouvoir en isoler le contenu (ARNs et protéines) par une procédure de microdissection laser. Les données transcriptomiques et protéomiques qui seront recueillies pourront être comparées à celles obtenues en parallèle chez le poisson-zèbre à divers stades de développement : au moment où les cellules commencent à être visibles (lors de l'éclosion) puis au moment où elles commencent à sécréter leurs hormones (fin de la phase juvénile) et enfin chez l'adulte. Nous faisons l'hypothèse que les facteurs exerçant un rôle clé dans la spécification des cellules de Dahlgren sont des facteurs de transcription dont l'expression est très conservée chez la roussette et le poisson-zèbre. Les propriétés fonctionnelles de ces facteurs pourront être testées chez le poisson-zèbre par invalidation de leur gène. Des expériences d'hybridation *in situ* seront menées chez la roussette pour valider la localisation de ces facteurs. L'analyse du transcriptome et du protéome des cellules de Dahlgren devrait également nous permettre d'en apprendre davantage sur l'origine de l'urophyse. Nous faisons l'hypothèse en effet que le développement de l'urophyse est contrôlé en partie des signaux émis par les cellules de Dahlgren. Une comparaison des données transcriptomiques et protéomiques entre les deux espèces devrait permettre de révéler leur existence chez le poisson-zèbre.

3.2. Fonctions du SNSC : Les fonctions du SNSC reposent avant tout sur les hormones qu'il sécrète. L'analyse du transcriptome et du protéome des cellules de Dahlgren de la roussette permettra d'établir un inventaire de ces hormones et là encore de les comparer à celles produites chez le poisson-zèbre. Cette analyse permettra aussi d'identifier les récepteurs aux hormones ou aux neurotransmetteurs qu'ils expriment. Pour comprendre l'action des hormones sécrétées par les cellules de Dahlgren, il est important de pouvoir déterminer d'une part, dans quelles circonstances physiologiques elles sont produites et d'autre part, quelle est la nature de leur organes cibles. Pour cela, des roussettes seront soumises à deux types de stress physiologiques : stress osmotique et stress thermique, caractérisés par une exposition à des eaux de salinité et de température variables, respectivement, avec suivi des paramètres physicochimiques de l'eau, dont pH et O<sub>2</sub>. Les changements d'activités du SNSC qui en découleront seront évalués grâce à une analyse du transcriptome et du protéome des cellules de Dahlgren dans ces différentes conditions. La nature exacte des récepteurs des urotensines est à ce jour inconnue chez les élamobranches. Une recherche de ces récepteurs dans le génome de la roussette sera effectuée. Leur expression sera



ensuite examinée par PCR quantitative et hybridation in situ, notamment dans les organes importants pour l'osmorégulation, comme la glande rectale. D'autres paramètres de l'état physiologique des roussettes seront également contrôlés. L'étude des propriétés fonctionnelles des cellules de Dahlgren pourra être également menée par des approches in vitro. Cette approche nécessitera la mise au point de leur culture in vitro.

4. Adéquation à l'Institut de la Mer: Le projet que nous soumettons s'inscrit dans l'axe " Les Changements globaux, risques et adaptations". Il vise à mieux caractériser les mécanismes utilisés par les poissons marins pour s'adapter aux variations de leur environnement, notamment sur le plan osmotique et thermique, deux paramètres fortement impactés par le changement climatique actuellement en cours. L'originalité de ce projet tient au fait qu'il cherche à revisiter, avec des moyens nouveaux, plus performants, le rôle adaptatif du SNSC, un système neuroendocrinien découvert dans les années 1950 mais assez peu étudié depuis lors. En se focalisant sur la roussette, comme représentant d'un groupe de poissons d'intérêt de par leur position phylogénétique, leurs particularités biologiques et de leur importance dans les équilibres des écosystèmes marins, ce projet peut également contribuer à fournir des informations critiques pour leur conservation. En effet, plus de 40% des espèces de raies et de requins actuelles sont déclarées comme très menacées par l'Union internationale pour la conservation de la nature (IUCN) et ces espèces sont également particulièrement sensibles à la désoxygénation des océans.

5. Rôle des encadrants: H. Tostivint : coordination générale, microdissection laser, immunohistochimie, hybridation in situ, PCR quantitative, analyse transcriptomique (Plateforme iGenSeq de l'ICM, Cellule de Soutien Bioinformatique du Département AVIV du MNHN). P. Sourdain : fourniture des roussettes, expérimentations in vivo (station marine université de Caen), microdissection laser, immunohistologie, hybridation in situ, analyse protéomique (plateforme Proteogen, Université de Caen), approches in vitro.

6. Publications en rapport avec le projet: 1) Tostivint H et al., 2019. Revisiting the evolution of the somatostatin gene family: already five genes in the gnathostome ancestor. *Gen Comp Endocrinol* 279:139-147. 2) Sobrido-Cameán D, Tostivint H et al., 2020. Differential expression of five prosomatostatin genes in the central nervous system of the catshark *Scyliorhinus canicula*. *J Comp Neurol* 528:2333–2360. 3) Quan FB, ..., Tostivint H, Wyart C (2020) Somatostatin 1.1 contributes to the innate exploration of zebrafish larva. *Sci. Rep* 10:15235. 4) Gribouval L, Sourdain P, et al., 2018. The *nanos1* gene was duplicated in early Vertebrates and the two paralogs show different gonadal expression profiles in a shark. *Sci Rep.* 8: 6942. 5) Bosseboeuf A, ..., Sourdain P and Auvray P. 2019. A potential antineoplastic peptide of human prostate cancer cells derived from the lesser spotted dogfish (*Scyliorhinus canicula* L.). *Mar. drugs*, 17, 585. 6) Bosseboeuf A, ..., Sourdain P\* and Auvray P\*. 2019. K092A and K092B, two peptides isolated from the dogfish (*Scyliorhinus canicula* L.), with potential antineoplastic activity against human prostate and breast cancer cells. *Mar. drugs*, 17, 672.

7. Profil du candidat recherché: Le candidat sera avant tout jugé sur sa motivation. De bonnes connaissances en neurobiologie et en physiologie comparée sont également requises. Une expérience pratique en histologie fonctionnelle (hybridation in situ et immunohistochimie), en imagerie et/ou en analyse de données d'expression génique (qPCR quantitative, ...) sera appréciée.

**Merci d'enregistrer votre fichier au format PDF et de le nommer :  
«ACRONYME de l'initiative/institut – AAP 2021 – NOM Porteur.euse Projet »**

*Fichier envoyer simultanément par e-mail à l'ED de rattachement et au programme :  
[cd\\_instituts\\_et\\_initiatives@listes.upmc.fr](mailto:cd_instituts_et_initiatives@listes.upmc.fr) avant le 20 février.*