

CARACTERISATION FONCTIONNELLE DE PROTEINES IMPLIQUEES DANS L'INTERFERENCE MEIOTIQUE

FUNCTIONAL CHARACTERISATION OF PROTEINS INVOLVED IN CROSSOVER INTERFERENCE

Etablissement **Université Paris-Saclay GS Life Science and Health**

École doctorale **Structure et Dynamique des Systèmes Vivants**

Spécialité **Biologie moléculaire et cellulaire**

Unité de recherche **Institut de Biologie Intégrative de la Cellule**

Encadrement de la thèse **Eric ESPAGNE (detailResp.pl?resp=36848)**

Financement du 01-10-2021 au 31-12-2024 origine **ANR (CO-PATT ; 2021-2024)** Employeur **CNRS**

Début de la thèse le **1 octobre 2021**

Date limite de candidature **1 juillet 2021**

Mots clés - Keywords

Méiose, Recombinaison, Intérférence génétique, Génétique moléculaire, Cytologie

Meiosis, Recombination, Molecular genetic, Genetic interference, Cytology

Profil et compétences recherchées

Le/la candidat-e aura obtenu un Master durant lequel il/elle aura fait un stage de recherche en biologie cellulaire et/ou moléculaire. Il/elle devra faire preuve de bonnes connaissances et compétences en génétique.

Veuillez joindre à votre candidature sur le portail emploi du CNRS (<https://emploi.cnrs.fr/> ; offre UMR9198-ERIESP-002) vos CV, relevé de notes officiel de Master et une lettre de motivation expliquant vos motivations et vos travaux de recherche ainsi que les coordonnées (email) de deux référents.

Description de la problématique de recherche - Project description

La recombinaison homologue est un mécanisme universel impliqué dans la stabilité des génomes (réparation) et dans leur évolution (brassage intra-chromosomique). En méiose, elle permet la formation de crossing-over (COs) qui sont essentiels à la ségrégation correcte des chromosomes homologues. Tout défaut de ségrégation conduit à la formation de gamètes aneuploïdes et/ ou à la stérilité.

Cependant, les mécanismes responsables de la formation et de la régulation des COs restent largement inconnus.

La recombinaison méiotique débute par la formation de cassures double brin de l'ADN (CDB) programmées tout le long du génome. La réparation des CDBs en CO et non crossing-over (NCO) se fait préférentiellement en utilisant comme matrice le chromosome homologue. Cette réparation permet également l'appariement des chromosomes homologues ainsi que la mise en place de la structure d'appariement, le complexe synaptonémal. Le processus de recombinaison est donc une étape clé de la méiose. De plus, il doit être très strictement régulé afin d'assurer la présence d'au moins un CO par paire d'homologues (quelle que soit la taille des chromosomes) pour permettre d'établir le lien indispensable à leur ségrégation correcte. Une autre régulation concerne la répartition des COs le long des chromosomes : la désignation d'un CO à une position donnée diminue la probabilité d'avoir un autre CO à proximité par le phénomène d'interférence. Le nombre de COs par paire d'homologues dépend donc de la force de l'interférence et de la taille des axes chromosomiques.

Bien que le phénomène d'interférence soit connu depuis 1916, les mécanismes et les molécules impliquées ne sont toujours pas identifiés. Des approches génétiques et moléculaires chez *Saccharomyces cerevisiae*, ont permis d'identifier une voie de modulation partielle de l'interférence qui implique TopoII et la modification post-traductionnelle (SUMOylation and ubiquitination) de deux protéines de l'axe chromosomique. Nos résultats préliminaires ont montré que cette voie était conservée chez notre organisme modèle le champignon *Sordaria macrospora*. De plus, nous avons trouvé qu'en absence de trois acteurs de cette voie : (i) le nombre des COs était augmenté, (ii) que la répartition des COs le long des chromosomes était modifiée, (iii) la force du signal d'interférence était diminuée et (iv) que ces modifications étaient associées à une modulation de la taille de l'axe des chromosomes.

A partir de ces résultats préliminaires robustes, l'objectif de ce projet de thèse sera de comprendre les mécanismes et les acteurs impliqués dans la répartition des COs et donc dans l'interférence, chez *S. macrospora*, en combinant des approches de génétique, de biologie moléculaire, de génomique et de cytologie à haute résolution. Trois axes sont proposés :

(1) La caractérisation précise des trois acteurs déjà identifiés en utilisant les approches très performantes d'imagerie offertes par ce système modèle.

(2) Identifier de nouveaux acteurs impliqués dans la mise en place de l'interférence ou de sa régulation (comme les protéines impliquées

dans la conformation ou dans les modifications post-traductionnelles de la chromatine), en utilisant des approches de biologie moléculaire, de génomique et de génétique.

(3) Comprendre les relations entre la longueur/conformation de l'axe chromosomique (et donc de ses composants), la localisation des CDBs et celle des COs ainsi que la régulation du signal de l'interférence.

Ce projet devrait permettre de mieux comprendre les contraintes imposées par le signal de l'interférence sur la distribution des COs à l'échelle du chromosome et du génome. Les résultats de ce projet intéresseront la communauté scientifique étudiant la méiose per se, la fertilité humaine ainsi que celle impliquée dans les programmes d'amélioration des plantes.

Shuffling of maternal and paternal alleles through meiotic recombination increases genetic diversity in the progeny and ensures the accurate segregation of homologous chromosomes during the first meiotic division. Errors in segregation lead to the formation of aneuploid gametes and/or sterility. However, the mechanisms responsible for both formation and regulation of crossing-overs (COs) remain largely unknown.

Meiotic recombination starts with the formation of programmed DNA double strand breaks (DSBs). The repair of DSBs preferentially uses the homologous chromosome as a template, generating COs and non-crossing-overs (NCOs). Their accurate repair is essential for both the pairing of homologous chromosomes and the establishment of the pairing structure called the synaptonemal complex. The formation of both DSBs and COs is tightly regulated. The choice between NCO and CO is crucial to ensure the presence of at least one CO per homologous pair (independently of the size of the chromosomes) to allow the required link essential for their proper segregation. In addition, the occurrence of a CO at one position disfavors the occurrence of a CO nearby, leading to evenly spaced COs along the chromosomes by the phenomenon called interference. As this phenomenon requires the propagation of an inhibition signal along the chromosome, the number of COs per bivalent depends, therefore, on both the length of the axis and the strength of the interference signal.

Although CO interference was first described in 1916, the actors of this essential regulatory process remain unknown. The only pathway known to play a role in interference modulation is the Topoll pathway, involved in the posttranslational modifications (SUMOylation and ubiquitination) of two axis components in *Saccharomyces cerevisiae*. Our preliminary results show that this pathway is conserved in our model system *Sordaria macrospora*. We showed, moreover, that in three null mutants of this pathway: (i) the number of COs is increased, (ii) their location along chromosomes is changed, (iii) interference strength is decreased and (iv) chromosome axis lengths are changed when compared to wild type.

Based on these robust preliminary results, the overarching goal of this project will be to understand the mechanisms and players involved in CO interference of *S. macrospora* by combining genetics, molecular biology, genomics and cytological approaches. Three axes are proposed:

(1) Precise characterization and role of the three mutants (above) with modified CO interference using the high resolution of the single-cell imaging approaches available in this model organism,

(2) Search for new actors of the CO interference process (e.g. proteins involved in chromatin conformation or in post-translational modifications, or axis composition).

(3) Characterize the relationship between axis length and CO interference on the one hand, and between DSB localization and CO patterning on the other hand.

By shedding a new light on the molecular mechanisms that govern CO number and patterning along chromosomes, the project will deepen our understanding of the basic logic of CO patterning and of its molecular mechanisms, which constitute a critical knowledge for the scientific communities working either on human fertility or plant breeding.

Thématique / Contexte

Ce poste, financé par un financement ANR (CO-PATT ; 2021-2024), se déroulera au sein de l'I2BC, une très grande unité mixte de recherche CNRS, CEA et Université Paris-Saclay. L'institut, situé à la fois sur le campus de recherche de Gif-sur-Yvette et le campus de la Faculté d'Orsay groupe près de 700 personnes réparties entre 65 équipes de recherche et 13 plateformes technologiques de haut niveau. Le projet sera développé dans l'équipe « Recombinaison et Appariement Méiotique », composée de 5 chercheurs, 1 Ingénieur de recherche et d'un doctorant, sous la direction de E. Espagne et S. Boissard. Le laboratoire se situe pour le moment à Orsay (bâtiment 400), un déménagement dans des nouveaux locaux à Gif-sur-Yvette est prévu en 2022.

Les techniques de biologie moléculaire et de cytologie nécessaires au projet sont parfaitement mises au point et l'équipement requis est disponible dans l'équipe ou dans un environnement proche. Les nombreuses plateformes techniques de l'I2BC sont un atout pour le projet.

Objectifs

A partir de résultats préliminaires robustes, l'objectif de ce projet de thèse sera de comprendre les mécanismes et les acteurs impliqués dans la répartition des COs et donc dans l'interférence, chez *S. macrospora*, en combinant des approches de génétique, de biologie moléculaire, de génomique et de cytologie à haute résolution. Trois axes sont proposés :

(1) La caractérisation précise des trois acteurs déjà identifiés en utilisant les approches très performantes d'imagerie offertes par ce système modèle.

(2) Identifier de nouveaux acteurs impliqués dans la mise en place de l'interférence ou de sa régulation (comme les protéines impliquées dans la conformation ou dans les modifications post-traductionnelles de la chromatine), en utilisant des approches de biologie moléculaire, de génomique et de génétique.

(3) Comprendre les relations entre la longueur/conformation de l'axe chromosomique (et donc de ses composants), la localisation des CDBs et celle des COs ainsi que la régulation du signal de l'interférence.

Précisions sur l'encadrement - Details on the thesis supervision

Le projet sera développé dans l'équipe « Recombinaison et Appariement Méiotique », composée de 5 chercheurs, 1 Ingénieur de recherche et d'un doctorant, sous la direction de E. Espagne (eric.espagne@u-psud.fr) et S. Boisnard (stephanie.boisnard@u-psud.fr). Elle/Il participera aux réunions hebdomadaires de l'équipe et présentera son travail en séminaire de département. Un comité de suivi individuel ainsi qu'un tuteur suivront l'avancement des recherches. L'étudiant(e) sera amené(e) à participer à des congrès nationaux ou internationaux.

Conditions scientifiques matérielles et financières du projet de recherche

L'équipement nécessaire au projet est disponible dans l'équipe ou dans un environnement proche. Les nombreuses plateformes techniques de l'I2BC sont un atout pour le projet. Le projet sera financé dans le cadre de l'activité scientifique générale du laboratoire : 2 ANR (2020-2024) et un financement NIH (2020-2025).

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

La valorisation des travaux du doctorant passera par des publications scientifiques dans des revues internationales et des communications à des congrès.

Collaborations envisagées

N. Kleckner, Harvard, USA
L. Zhang, Jinan, Chine
O.C. Martin et M. Falque, UMR GQE-Le Moulon, France
M. Grelon, Institut Jean-Pierre Bourgin, UMR1318 INRAE-AgroParisTech

Références bibliographiques

Publications du laboratoire :

De Muyt, A., Zhang, L., Piolot, T., Kleckner, N., et al.. (2014). *Genes and Dev.* 28, 1111-1123.
Espagne, E., Vasnier, C., Storlazzi, A., et al.. (2011). *Proc Natl Acad Sci U S A* 108,10614-10619.
Kleckner, N., Zickler, D., et al. (2017). *Genes & Development* 31:1880-1893
Storlazzi, A., Gargano, S., Ruprich-Robert, G., Falque, M., et al.. (2010). *Cell* 141, 94-106.
Tessé, S., Bourbon, H., Debuchy, R., Budin, K., Dubois, E., Liangran, Z., Antoine, R., Piolot, T., Vasnier, C., De Muyt, A., Zhang, L., Tessé, S., et al.. (2014). *Proc Natl Acad Sci U S A* 111, E4015-23.
Wang, S., Zickler, D., Kleckner, N., and Zhang, L. (2015). *Cell Cycle* 14, 305-314.
Zhang, L., Espagne, E., De Muyt, A., Zickler, D., et al.. (2014a). *Proc Natl Acad Sci USA* 111, E5059.
Zickler, D., and Kleckner, N. (2015). *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology* 7, a016626.
Zickler, D., and Espagne, E. (2016). *Seminars in Cell and Developmental Biology*, 1-9.

Autres

Berchowitz, L. E., and Copenhaver, G. P. (2010). *Curr. Genomics* 11, 91-102.
Duroc, Y., Lemhemdi, A., Larchevêque, C., Hurel, A., et al.. (2014). *PLoS Genet.* 10, e1004674.
Fernandes, J. B., Duhamel, M., Seguéla-Arnaud, M., et al. (2018). *PLoS Genet.* 14, e1007317.
Lam, I., and Keeney, S. (2015). *Science* 350, 932-937.
Webster, A., and Schuh, M. (2017). *Trends in Cell Biology* 27, 55-68.
Wei, Y., Diao, L., Lu, S., Wang, H., Suo, F., Dong, M., and Du, L. (2017). *Mol Cell* 66, 581-596.e6.
Zhang, L., Wang, S., Yin, S., Hong, S., Kim, K. P., and Kleckner, N. (2014b). *Nature* 511, 551-556

Complément sur le sujet

<https://www.i2bc.paris-saclay.fr/spip.php?article1428> (<https://www.i2bc.paris-saclay.fr/spip.php?article1428>)