

Sujet de stage M2.

Identification des gènes orthologues du récepteur de l'ecdysone chez des crustacés modèles en écotoxicologie.

Les activités anthropiques génèrent une pollution chimique qui impacte les écosystèmes aquatiques depuis des décennies. Notamment, les insecticides sont largement utilisés et retrouvés dans les eaux de surface et souterraines dans plusieurs pays et sont identifiés comme posant un risque prépondérant sur la biodiversité aquatique. Les crustacés, dont les amphipodes, sont des espèces non-cibles des insecticides du fait de leur proximité phylogénétique avec les insectes (*Arthropoda*). Ils ont un système endocrine très différent de celui des vertébrés et une voie importante pour leur développement et reproduction est celle régulée par les hormones ecdystéroïdes (Ec) (Hyde et al 2019, Hyne et al 2011). Ceci explique que les connaissances et les outils d'évaluation disponibles aujourd'hui pour l'étude des phénomènes de perturbation endocrinienne chez les vertébrés (mammifères, poissons), par exemple l'utilisation de récepteurs biologiques pour la mise en œuvre de tests *in vitro* pour la détection de substances chimiques dans les matrices environnementales (Filer et al 2014) ne permettent pas aujourd'hui l'évaluation de la présence de certains insecticides et produits dérivés présentant un risque de dérégulation hormonale pour les arthropodes aquatiques. Les crustacés sont aujourd'hui proposés comme modèles pour développer une telle approche bioanalytique dite de « mode d'action », ciblant des substances pouvant être caractérisées par l'activation du récepteur nucléaire (NR) Ecdyson Receptor (EcR)). Les analyses de génomique comparative et phylogénétique ont récemment permis d'identifier certains NR chez des espèces du genre *Gammarus* (Gouveia et al 2017, Gismondi 2018). Si le nombre d'espèces de crustacés dont le génome est séquencé et annoté est aujourd'hui limité (Colbourne et al 2011, Kao et al 2016, Poynton et al 2018), de nombreuses ressources transcriptomiques et génomiques sont aujourd'hui disponibles pour différents ordres de crustacés. Cette disponibilité doit nous permettre d'améliorer l'identification des gènes de NR chez différentes espèces, grâce à la combinaison de recherche d'homologie de séquence et d'approches phylogénétique pour l'identification de gènes orthologues.

Dans le cadre d'un projet financé par l'ANSES en collaboration entre le laboratoire d'écotoxicologie d'Irstea et du CIIMAR à Porto (équipes M Santos, P. Castro) sur le développement d'outils bioanalytiques pour l'étude de la perturbation endocrinienne chez les Crustacés, le travail du stage se focalisera sur l'identification des orthologues du récepteur nucléaire EcR chez des crustacés utilisés comme espèces sentinelles en écotoxicologie, en profitant de toutes les ressources –omiques disponibles et d'analyses phylogénétiques.

Le travail du stage consistera à:

- 1) Identifier les séquences candidates par alignement (i.e. BLAST), en utilisant les bases de données disponibles (i.e. OrthoDB, autres ressources publiées) et de data sets du laboratoire (RNA-seq et protéomes). L'étudiant sera aussi amené à réaliser une analyse préliminaire des data sets pour les rendre plus facilement utilisables (fusion, élimination de redondances, identification des isoformes majeurs).
- 2) Effectuer des analyses phylogénétiques sur les gènes potentiellement orthologues pour valider leur annotation fonctionnelle. L'étudiant(e) effectuera des traductions *in silico* (e.g. ExPASy or transdecoder), des alignements multiples et se familiarisera avec la construction d'arbres phylogénétiques (i.e. SeaView).
- 3) Développer une interface graphique du pipeline.

L'étudiant(e) sera formé(e) à la compréhension et l'utilisation des concepts de base de génomique et de phylogénétique à partir de l'utilisation de différentes approches bioinformatiques.

Laboratoire d'accueil : Equipe d'écotoxicologie Irstea - Centre de Lyon UR "Riverly" 5 rue de la Doua - BP 32108, 69616 Villeurbanne Cedex, France. Contact : davide.degli-esposti@irstea.fr

Identification of ecdysone receptor orthologues in crustacean ecotoxicological models.

Anthropogenic activities have left a chemical pollution legacy affecting the entire ecosystem in the last decades. In particular, insecticides are largely used and are frequently detected in surface and ground waters in many countries.

Crustaceans, as amphipods, are not-target species of insecticides due to their phylogenetic proximity to the insects, another clade of the *arthropoda* phylum. They have endocrine systems highly different from that of vertebrates, and an important pathway is based on ecdysteroids (Ec) signalling (Hyde et al 2019, Hyne et al 2011). Thus, crustaceans are promising model to identify insecticides based on a Mode of Action approach, characterized by the activation of the nuclear receptor (NR) Ecdysone Receptor (EcR). Phylogenetic analysis and comparative genomics approaches have recently allowed the identification of other NRs of the *Gammarus* genus (Gouveia et al 2017, Gismondi 2018). While a small number of fully annotated crustacean genomes are today available (Colbourne et al 2011, Kao et al 2016, Poynton et al 2018), transcriptomic and genomics resources have increased in the last decade. The increased availability of *-omics* resources from these *taxa* allows us to improve the identification of NR genes in different species, combining the efficacy of sequence homology searches to the evolutionary approach proposed by phylogenetics to identify orthologous genes. Orthologs are genes that are related by vertical descent from a common ancestor and encode proteins that tend to be similar in function in different species (Kooning et al 1996, Altenhoff et al 2012).

The internship will focus on the identification of orthologues of the key nuclear receptor involved in the ecdysone response (EcR) in environmentally relevant crustacean species, taking advantage of all available *-omics* data and phylogenetic analyses.

The expected work plan will be:

- 1) Identifying the potential candidate sequences by sequence alignment (i.e. BLAST), taking advantage of public and internal databases, (i.e. OrthoDB, other publicly available resources, and RNA-seq datasets obtained by the host laboratory).
- 2) Performing phylogenetic analyses of the potential orthologues to validate the functional annotation of the candidate sequences. The student will perform *in silico* translation (e.g. ExPASy or transdecoder), multiple sequence alignments and phylogenetic trees (i.e. SeaView).
- 3) Possibility of developing a GUI for the developed pipeline, to be further used in the laboratory.

The student will be lead to the understanding of basic concepts of genomics and phylogenetics using diversified bioinformatics tools.

Hosting laboratory: Equipe d'écotoxicologie Irstea - Centre de Lyon UR "Milieux aquatiques, écologie et pollutions" 5 rue de la Doua - BP 32108, 69616 Villeurbanne Cedex, France

Contact: davide.degli-esposti@irstea.fr

Laboratoire d'accueil : Equipe d'écotoxicologie Irstea - Centre de Lyon UR "Riverly" 5 rue de la Doua - BP 32108, 69616 Villeurbanne Cedex, France

Contact : davide.degli-esposti@irstea.fr