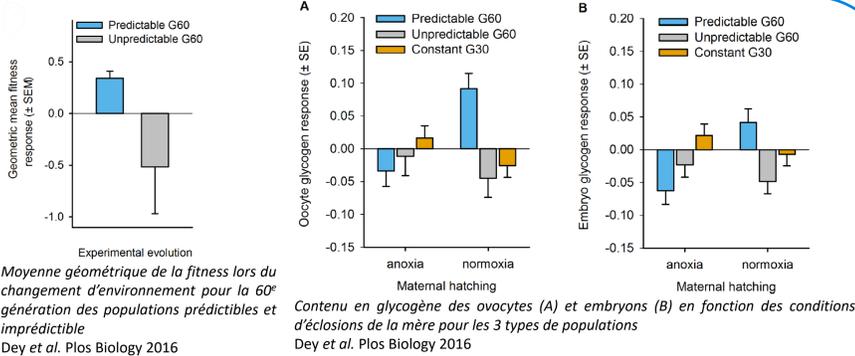


Adaptation de *C. elegans* à un environnement fluctuant par évolution d'un effet maternel

Les organismes vivent dans des **environnements qui varient temporairement**. Selon la théorie de l'évolution, si ces variations sont périodiques, ou au moins prédictibles, il peut exister une adaptation à celles-ci. Il a été montré¹ qu'un **effet maternel** émerge si on a une alternance régulière entre 2 conditions d'éclosion de *C. Elegans* (normoxie/anoxie) par ajout de **glycogène** dans les ovocytes qui éclosent en anoxie. On se demande ici si le même mécanisme peut expliquer l'adaptation de *C. Elegans* à une éclosion en anoxie non plus périodique, mais annoncée par un flash lumineux².

Résultats précédents du laboratoire : contexte d'étude



Pour les population à l'environnement prédictible, lorsque la mère a éclo en conditions de normoxie, il y a une **augmentation de la quantité de glycogène** chez ses descendants, ce qui leur permettra une meilleure survie lors d'une éclosion en anoxie: il y a une adaptation.

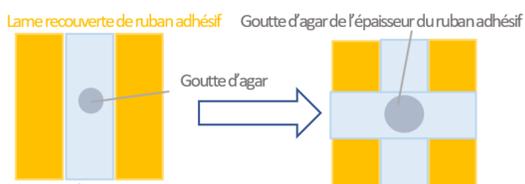
Dans de nouvelles expériences, il a été montré que la **fitness** augmentait aussi pour les population dont l'éclosion en anoxie était précédée d'un **flash lumineux** à la génération précédente (données non publiées). On cherche ici à savoir si cette adaptation est également due au glycogène, objet d'un **trade-off métabolique**: il réduit le stress hyperosmotique dangereux en anoxie et fournit de l'énergie mais réduit la production de glycérol, précurseur lipidique nécessaire à la croissance.

Protocole de prise d'image

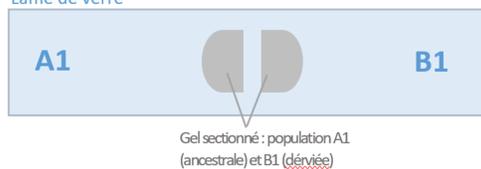
Pour mesurer la quantité de glycogène, on prend des photos des vers colorés à la **vapeur de diiode**. Des prises de vues sans colorations sont également réalisées pour permettre la comparaison et évaluer la part de coloration due au diiode.

• **Décongélation des vers** : Centrifuger, enlever l'éthanol pur, ajouter de l'éthanol à 90° (0,5mL) puis répéter avec l'éthanol 70° (0,5mL) et le M9 (0,3 mL, milieu salin)

• **Préparation des gels d'agarose** (Agar noble + eau)
= Faire une fine couche sur lame



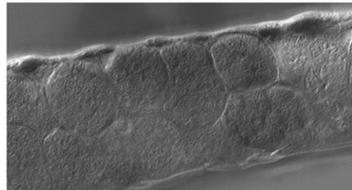
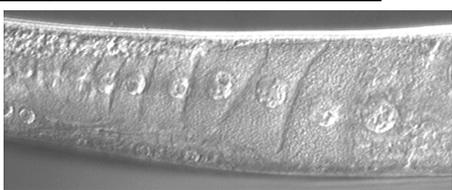
• **Disposition des vers sur les plaques**



• **Coloration à la vapeur de diiode (selon les cas)**: retourner la lame au-dessus du flacon de diiode pendant 2min30

• **Prise de vues au microscope optique** (x640, en moins de 40min si coloration): embryons antérieurs et postérieurs, ovocytes antérieurs et postérieurs

• **Analyse de contraste par ordinateur**



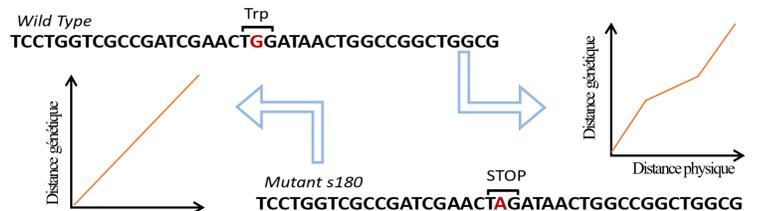
Conclusions

Projet non terminé: pas d'analyse d'image pendant le stage. De nombreux blocs d'individus restent à étudier pour avoir les données sur toutes les populations: projet à long terme, en attente d'un chercheur pour continuer ce travail.

Introgession d'une mutation: Quel impact des recombinaisons sur la sélection et l'adaptation ?

L'adaptation qu'on observe chez les organismes pose la question des mécanismes qui en sont à l'origine. Chez *C. elegans* on s'intéresse surtout à des lignées hermaphrodites qui se reproduisent seuls (**selfing**), les **recombinaisons chromosomiques** sont donc un facteur important d'adaptation. On cherche à introgresser dans la population du laboratoire une mutation qui modifie ces taux de recombinaison, pour ensuite établir une compétition et comparer la sélection sur populations avec et sans modificateurs de recombinaison.

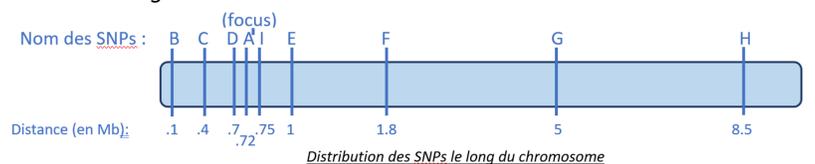
Présentation de la mutation d'intérêt



La **mutation s180** change la distribution des recombinaisons le long du chromosome³, le taux de recombinaison des sauvages étant connu⁴. On cherche à l'**introgresser** dans la population adaptée aux conditions du laboratoire (A), en conservant sa diversité génétique, à partir d'une population homozygote pour cette mutation (BC), obtenue via le *Caenorhabditis Genetic Center*.

Suivi de l'introgession

Pour réaliser l'introgession, on effectue un croisement AxBC puis des retrocroisements successifs avec A, en **suivant l'origine des différentes parties** du chromosome suite aux recombinaisons grâce à des **SNPs**, trouvés par informatique car le génome de *C. elegans* est connu.

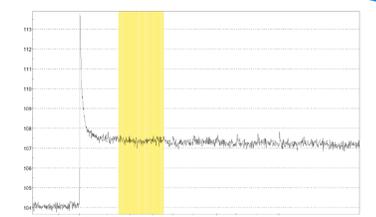
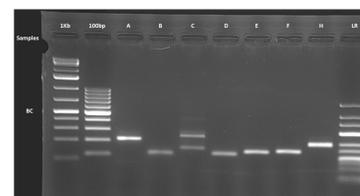


Pour le suivi des SNPs, on utilise le pyroséquençage : on extrait l'ADN d'une population (après reproduction), on l'amplifie par PCR puis on réalise le séquençage des SNPs, afin de déterminer quels descendants seront utilisés pour la prochaine étape de reproduction. La suite de l'étude se concentre sur la mise en place du protocole de pyroséquençage (PCR suivi d'un séquençage spécifique)

Validité des primers de PCR

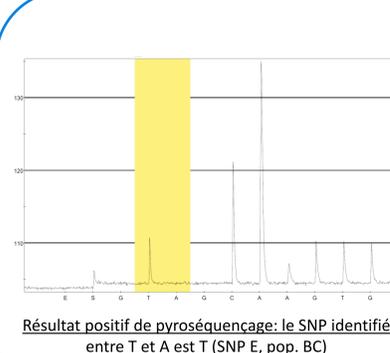
Après un premier test de **pyroséquençage** sur 10 populations (8 F1,2 homozygotes et 2 populations initiales du laboratoires), on abandonne les primers G et I qui ne donnent aucun résultat sur aucune des populations:

Analyse de pyroséquençage sans résultat (SNP I, pop BC)



Pour s'assurer de la spécificité des autres produits de PCR on réalise une **électrophorèse**. La taille des produits correspond à celle à attendu, et pour C on isole la bande la plus petite: après migration sur gel de tout le produit de la PCR, on extrait l'ADN du gel.

Résultats préliminaires et perspectives



Une seule nouvelle expérience de PCR a pu être menée, mais elle a donné beaucoup de **résultats non concluants**. Elle doit être recommencée pour s'assurer que le problème ne vient pas de l'opérateur.

Une fois la méthode éprouvée, les croisements pourront être effectués pour effectivement suivre l'introgession de la mutation s180 dans la population. Dans le cas contraire, il serait possible d'utiliser des **enzymes de restrictions** spécifique d'une des deux formes des SNPs.

Bibliographie et remerciements

1: DEY S, PROULX SR, TEOTÓNIO H (2016), *Adaptation to Temporally Fluctuating Environments by the Evolution of Maternal Effects*, PLoS Biol 14(2):e1002388, doi:10.1371/journal.pbio.1002388

2: Données non publiées (DEY S, 2016/2017)

3: GEORGE CHUNG, ANN M. ROSE, MARK I.R. PETALCORIN, JULIE S. MARTIN, ZEBULIN KESSLER, LUIS SANCHEZ-PUJIDO, CHRIS P. PONTING, JUDITH L. YANOWITZ, AND SIMON J. BOULTON (2015), *REC-1 and HIM-5 distribute meiotic crossovers and function redundantly in meiotic double-strand break formation in Caenorhabditis elegans*, Genes & Development 29:1969–1979,

4: ROCKMAN M., KRUGLYA L., *Recombinational Landscape and Population Genomics of Caenorhabditis elegans*

Je tiens à remercier tout particulièrement **Verónica PEREIRA, Snigdha DEY et François MALLARD**, qui m'ont accompagnée tout au long de ces deux projets pour la démarche et les manipulations, et les financements du labo pour leur soutien.