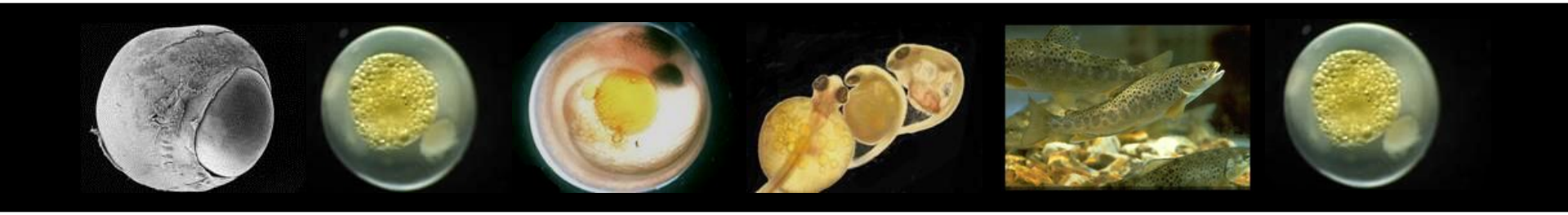
Les déterminismes génétiques et environnementaux du sexe chez les poissons

(*La valse … des gènes déterminants majeurs du sexe chez les poissons*)

Yann Guiguen (INRA)



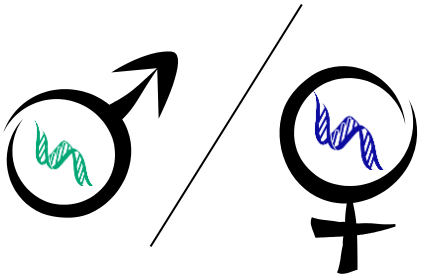
INRA- INSTITUT NATIONAL DE LA RECHERCHE AGRONOMIQUE
UR1037 • LPGP • Sex Differentiation and Oogenesis Group
Campus de Beaulieu • 35042 Rennes cedex • France
https://www4.rennes.inra.fr/lpgp

ALIMENTATION
AGRICULTURE
ENVIRONNEMENT

Les déterminismes du SEXE

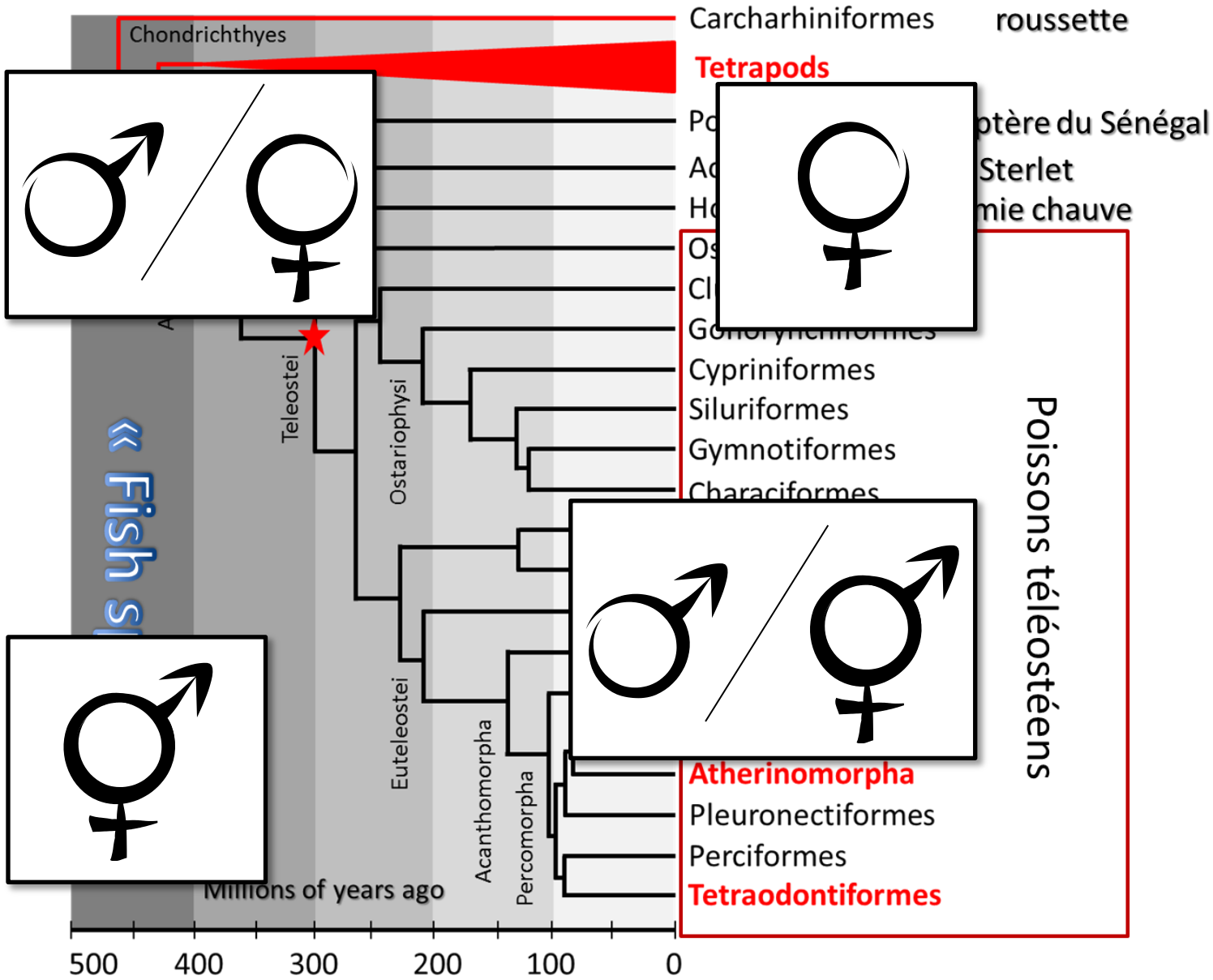
Une question clef de la biologie du développement et de de l'évolution

Un questionnement depuis « la nuit des temps »

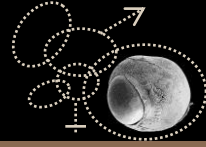


Des connaissances fondamentales et des finalités …
agronomiques,
médicales,
environnementales

Les « Poissons »



Déterminismes du SEXE des poissons



DETERMINISME GENETIQUE

↓

DIFFERENCIATION SEXUELLE

↙ ↘

♀ ♂

DETERMINISME ENVIRONNEMENTAL

température, pH, stress, interactions sociales

↓

DIFFERENCIATION SEXUELLE

↙ ↘

♀ ♂

DETERMINISME GENETIQUE

DETERMINISME ENVIRONNEMENTAL

↓

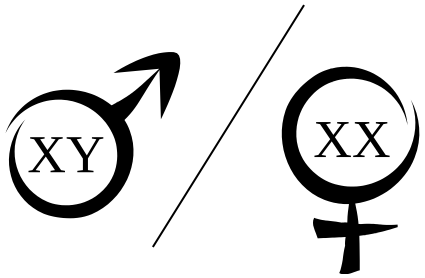
DIFFERENCIATION SEXUELLE

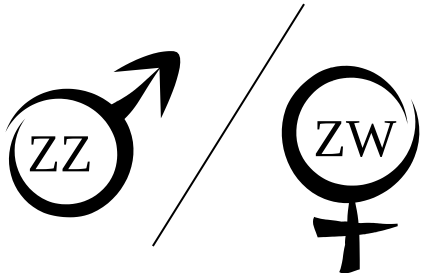
↙ ↘

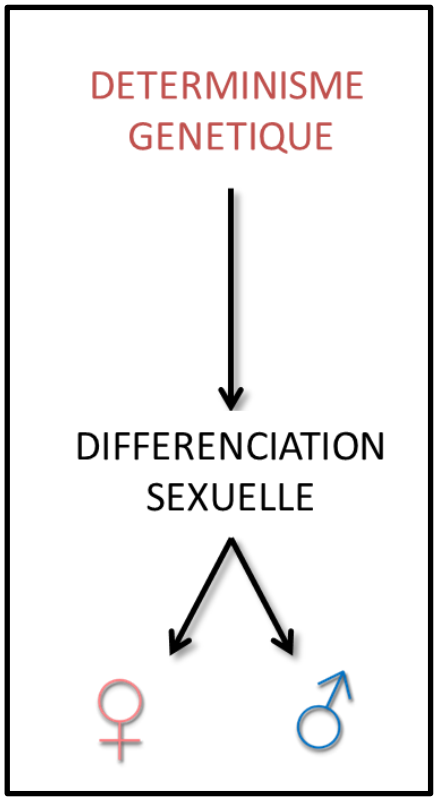
♀ ♂

Déterminismes du SEXE des poissons

Monofactoriel simple



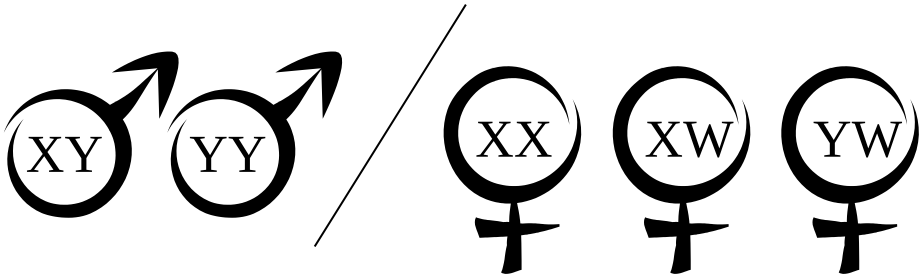




Déterminismes des espèces hermaphrodites ??

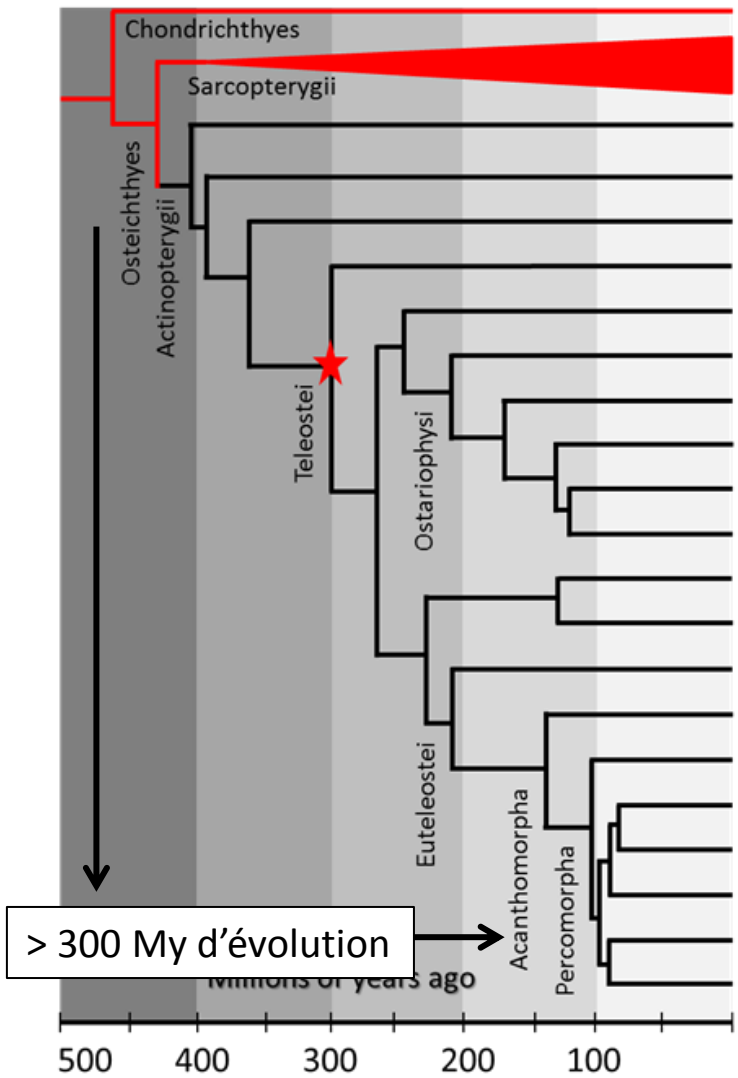
Déterminismes Polygéniques

Chromosomes sexuels multiples



Peu d'hétérochromosomie

Déterminants du SEXE des poissons



Tetrapods ***Sry, Dm-W***

Salmonidae ***sdY***

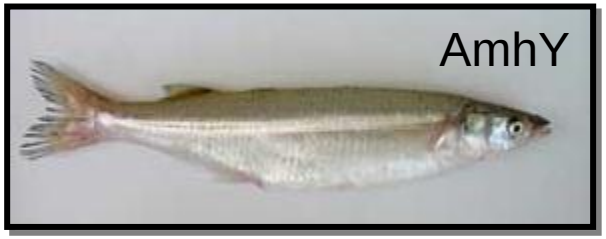
Atherinomorpha ***gsdfY, dmrt1bY, amhY***

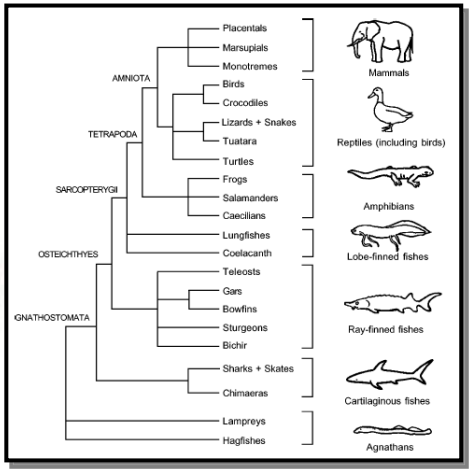
Tetraodontiformes ***amhrIIY***

… + sox3
… + gsdfY
… + dmrt1Z

La valse des gènes déterminants du sexe chez les poissons

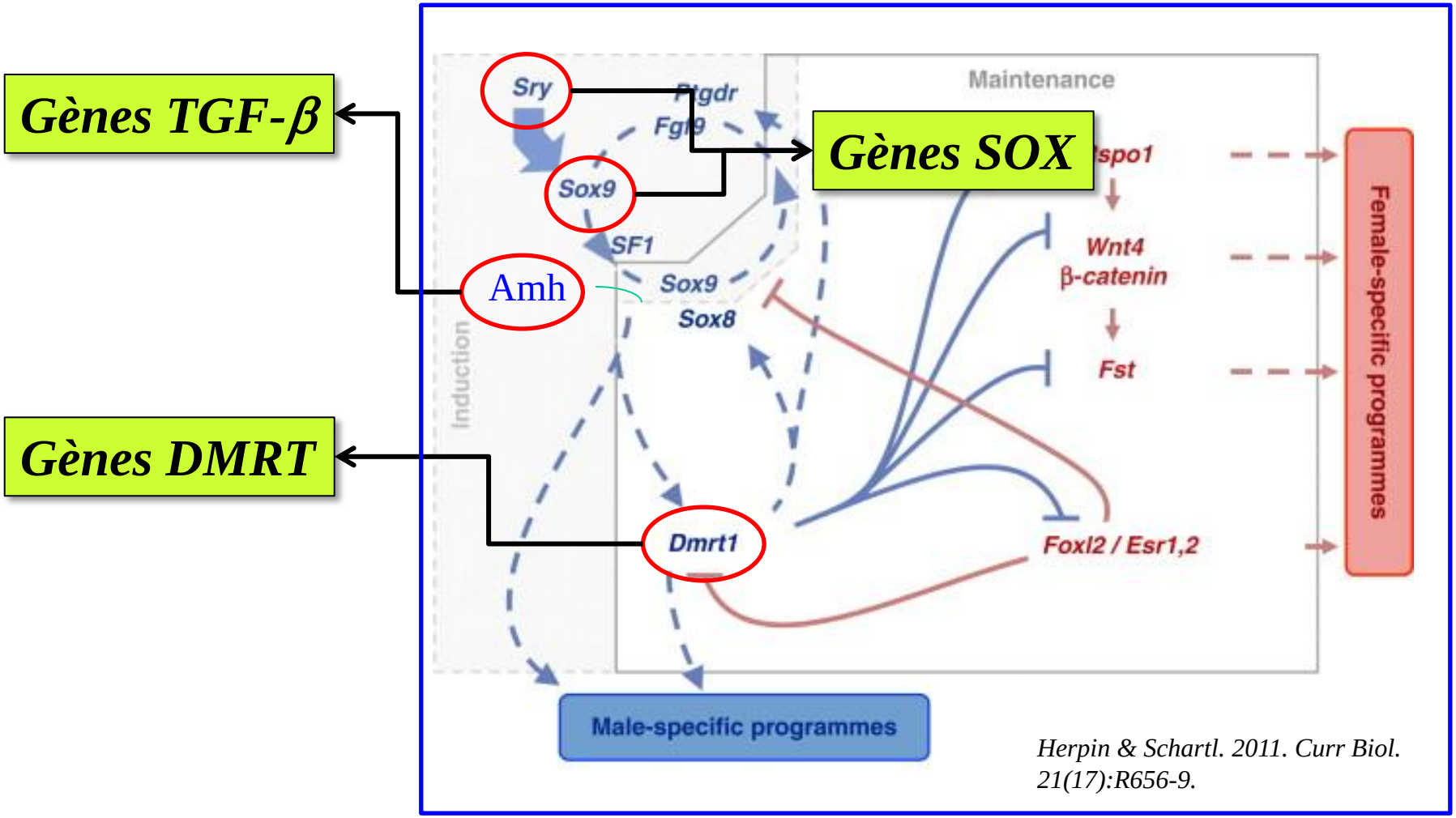
« Usual suspects » / innovations ?





« Usual suspects » SD

Déterminants majeurs « présumés coupables »



Herpin & Schartl. 2011. Curr Biol. 21(17):R656-9.

« Usual suspects », Gènes DMRT1

Medaka, *Oryzias latipes*

XX/XY

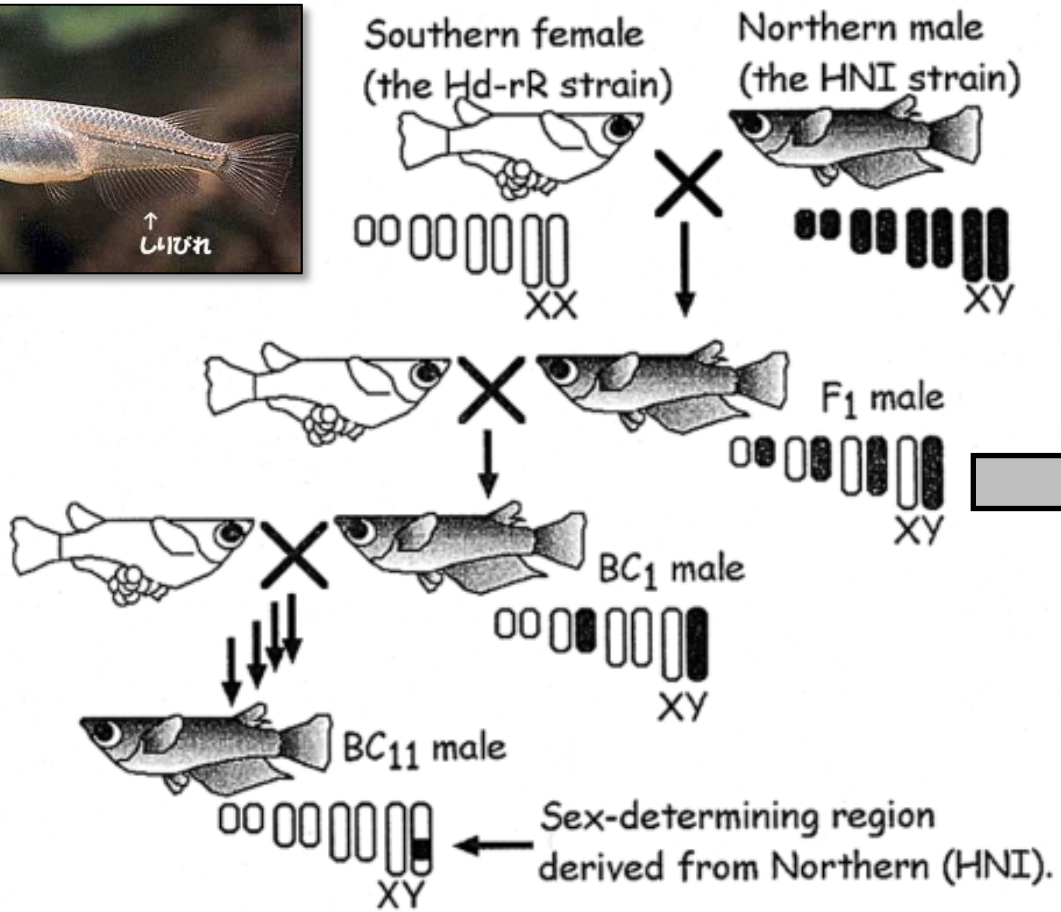
Matsuda M, Nagahama Y, Shinomiya A, Sato T, Matsuda C, Kobayashi T, Morrey CE, Shibata N, Asakawa S, Shimizu N, Hori H, Hamaguchi S,
Sakaizumi M. (2002).

DMY is a Y-specific DM-domain gene required for male development in the medaka fish.

Nature. 2002 May 30;417(6888):559-63.

« Usual suspects », Gènes DMRT1

Lignée congénique



Approche génétique / Recherche recombinants
(mâles XX, femelles XY)

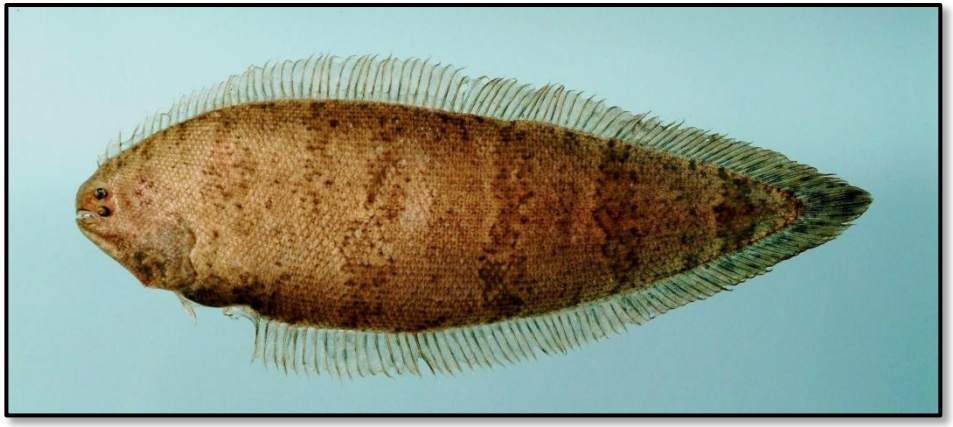
dmrt1Yb,
le déterminant
majeur du sexe
chez *O.latipes* est
une copie
dupliquée sur le CR
Y du gène *dmrt1*

Duplication
&
Insertion

« Usual suspects », Gènes DMRT1

Half-smooth tongue sole (*Cynoglossus semilaevis*)

ZZ/ZW

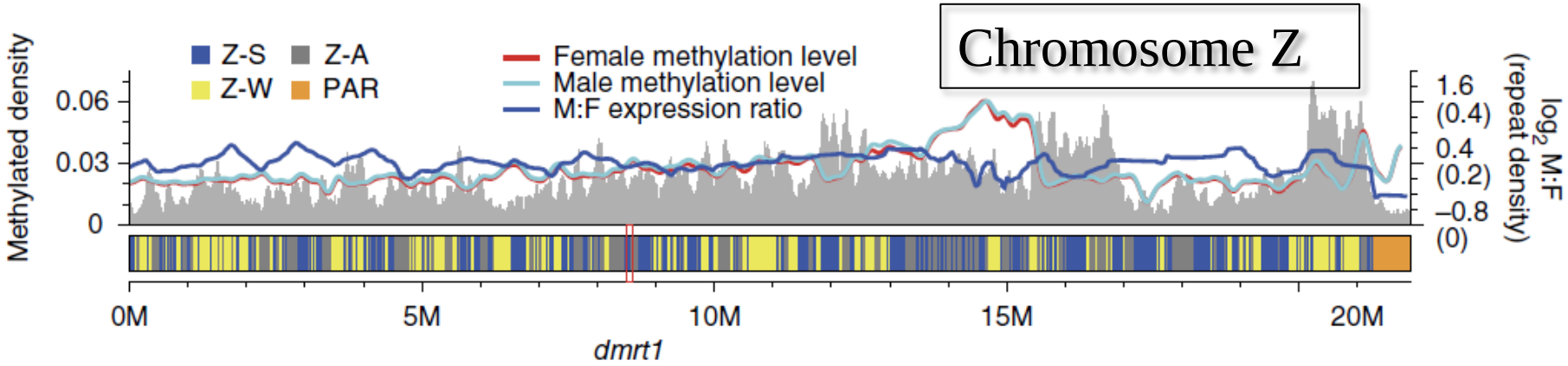


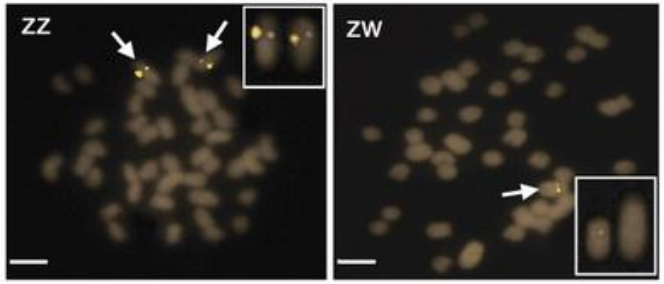
nature genetics

Chen et al., 2014. Nat Genet. 2014 ;46(3):253-60. doi: 10.1038/ng.2890. Epub 2014 Feb 2.

Whole-genome sequence of a flatfish provides insights into ZW sex chromosome evolution and adaptation to a benthic lifestyle

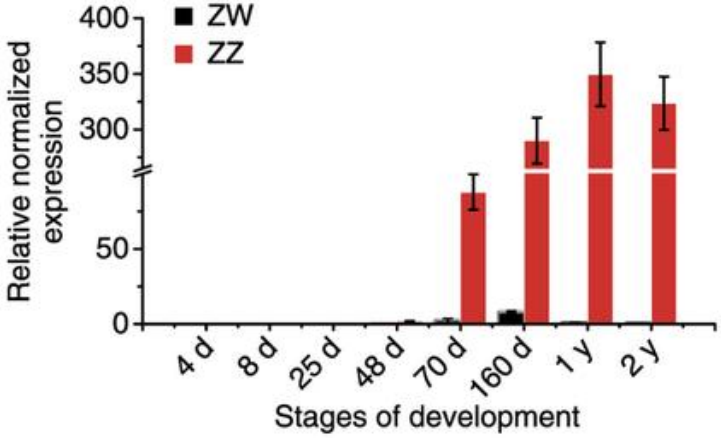
« Usual suspects », Gènes DMRT1

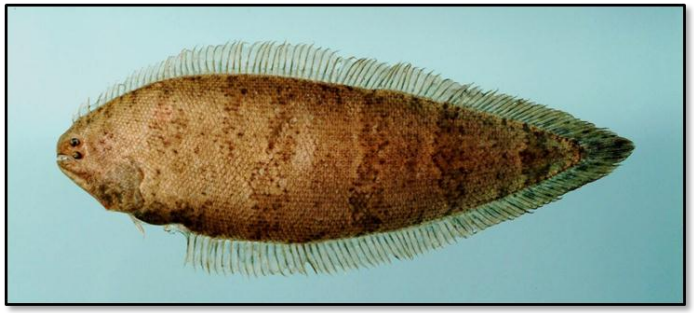




Pas de copie fonctionnelle de *dmrt1* sur le chromosome W

Double dosage de *dmrt1* chez ZZ





« Usual suspects », Gènes TGF-β

AMH

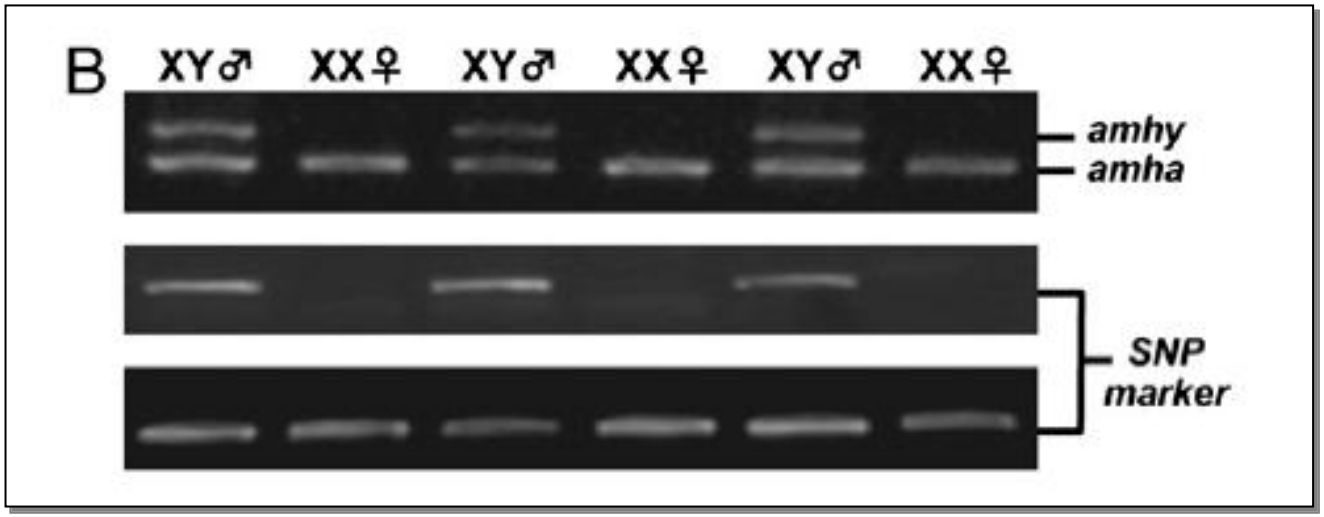
Le pejerrey de Patagonie (*Odontesthes hatcheri*)

XX/XY

A Y-linked anti-Müllerian hormone duplication takes over a critical role in sex determination

Ricardo S. Hattori[a], Yu Murai[a], Miho Oura[a], Shuji Masuda[a], Sullip K. Majhi[a], Takashi Sakamoto[a], Juan I. Fernandino[b], Gustavo M. Somoza[b], Masashi Yokota[a], and Carlos A. Strüssmann[a,1]

Proc Natl Acad Sci U S A 109:2955–2959.



Duplication & Insertion

« Usual suspects », Gènes TGF-β

AMHR2

Le Torafugu
(*Takifugu rubripes*)

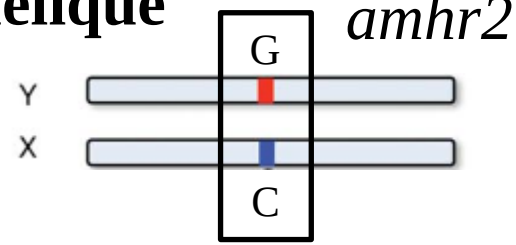
XX/XY

OPEN ACCESS Freely available online PLoS GENETICS

A Trans-Species Missense SNP in *Amhr2* Is Associated with Sex Determination in the Tiger Pufferfish, *Takifugu rubripes* (Fugu)

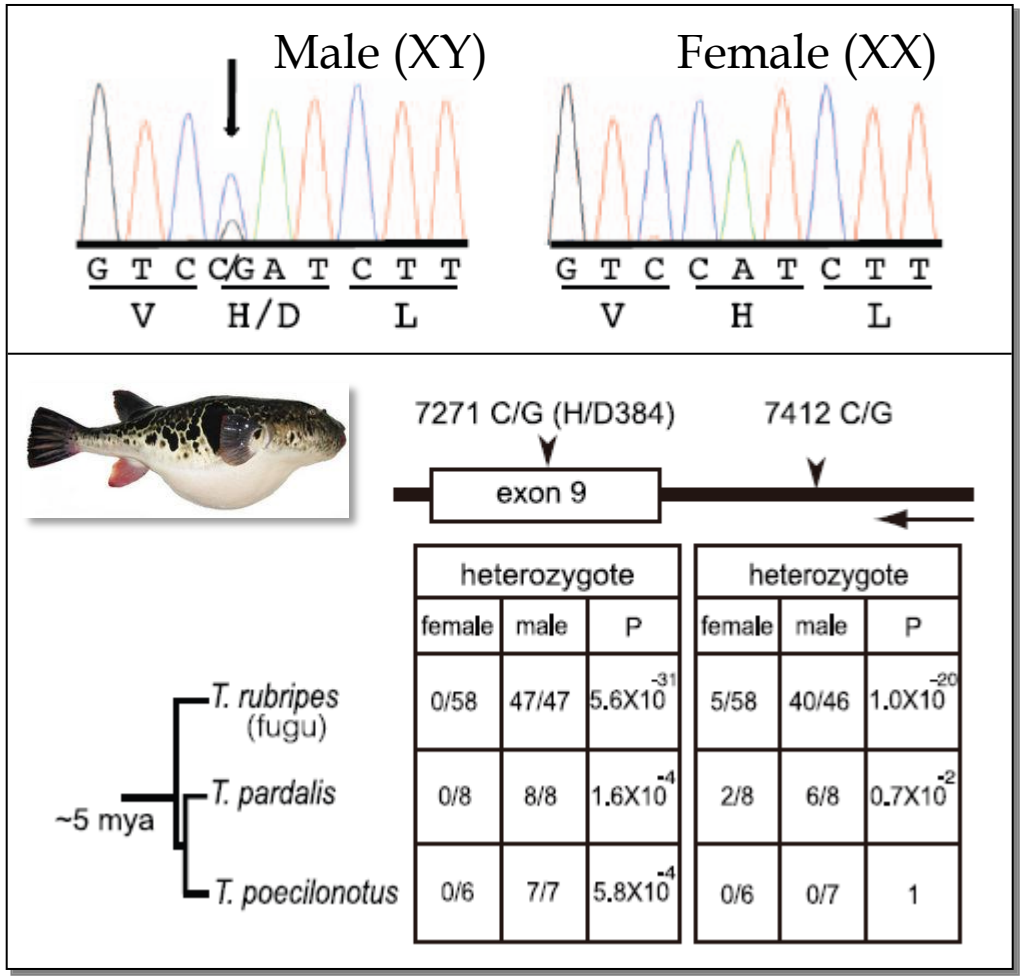
Takashi Kamiya[1], Wataru Kai[1], Satoshi Tasumi[1], Ayumi Oka[1], Takayoshi Matsunaga[1], Naoki Mizuno[1], Masashi Fujita[1], Hiroaki Suetake[2], Shigenori Suzuki[3], Sho Hosoya[1], Sumanty Tohari[4], Sydney Brenner[4], Toshiaki Miyadai[2], Byrappa Venkatesh[4], Yuzuru Suzuki[1], Kiyoshi Kikuchi[1]*

Diversification allélique



« Usual suspects », Gènes TGF-β

Les CDS *amhr2Y* et *amhr2X* ne diffèrent que par un SNP



	heterozygote			heterozygote		
	female	male	P	female	male	P
T. rubripes (fugu)	0/58	47/47	5.6×10^{-31}	5/58	40/46	1.0×10^{-20}
T. pardalis	0/8	8/8	1.6×10^{-4}	2/8	6/8	0.7×10^{-2}
T. poecilonotus	0/6	7/7	5.8×10^{-4}	0/6	0/7	1

Ce polymorphisme SNP est conservé chez les Takifugu et corrélé avec le sexe phénotypique

… et conduit à une substitution Asp (D) / His (H) dans le domaine kinase de l'Amhr2

Amhr2H384 serait un allèle associé à une fonction atténuée par rapport à l'Amhr2D384

« Usual suspects », Gènes TGF-β

GSDF

Genetics, 2012 vol. 191 no. 1 163-170

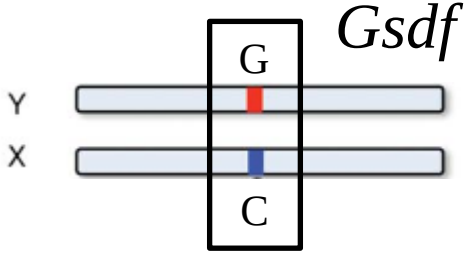
Tracing the Emergence of a Novel Sex-Determining Gene in Medaka, *Oryzias luzonensis*

Taijun Myosho,*,[1] Hiroyuki Otake,* Haruo Masuyama,† Masaru Matsuda,† Yoko Kuroki,‡ Asao Fujiyama,§,** Kiyoshi Naruse,†† Satoshi Hamaguchi,* and Mitsuru Sakaizumi*

Diversification allélique

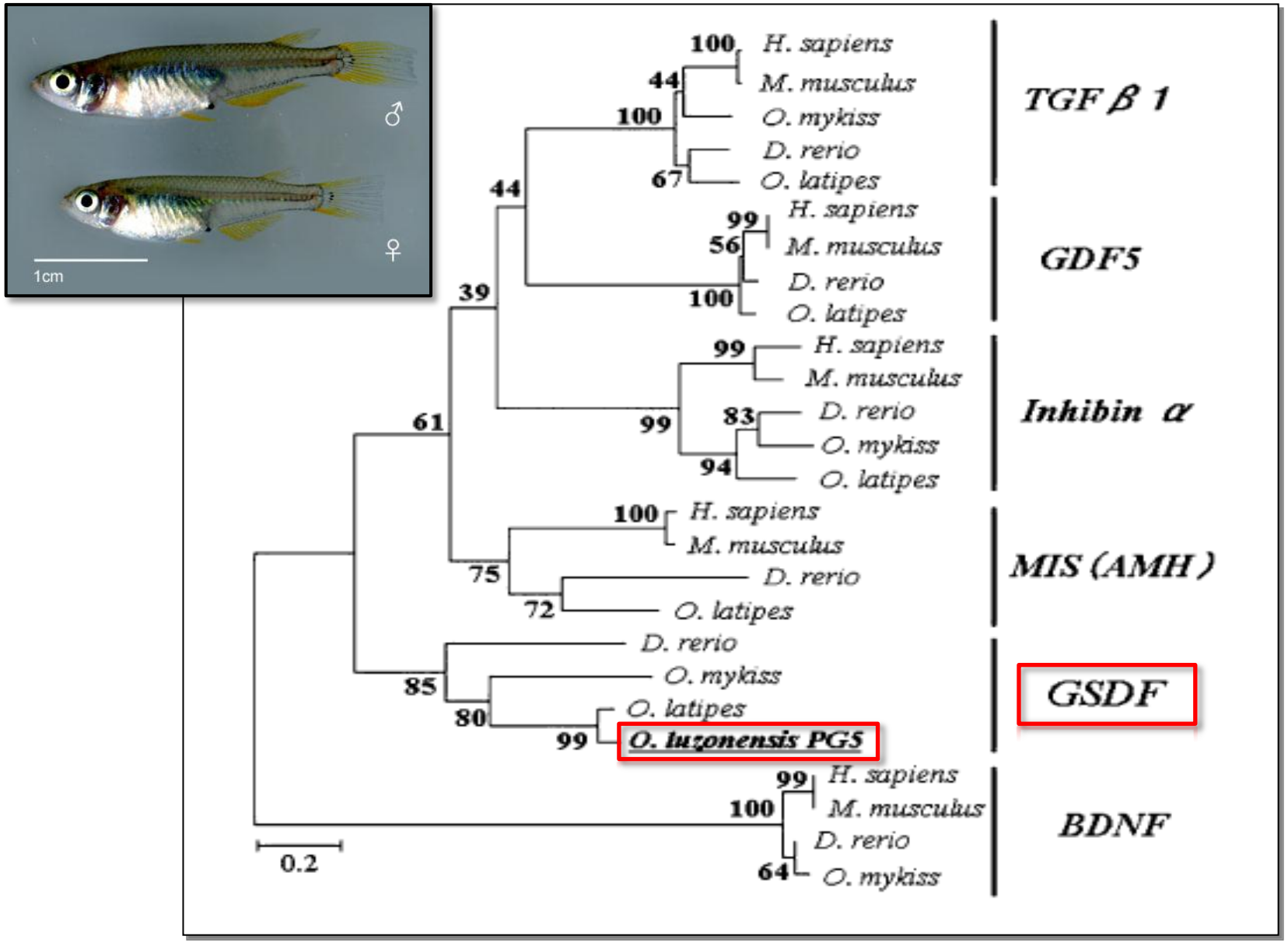
Gsdf

XX/XY



Le medaka
(*Oryzias luzonensis*)

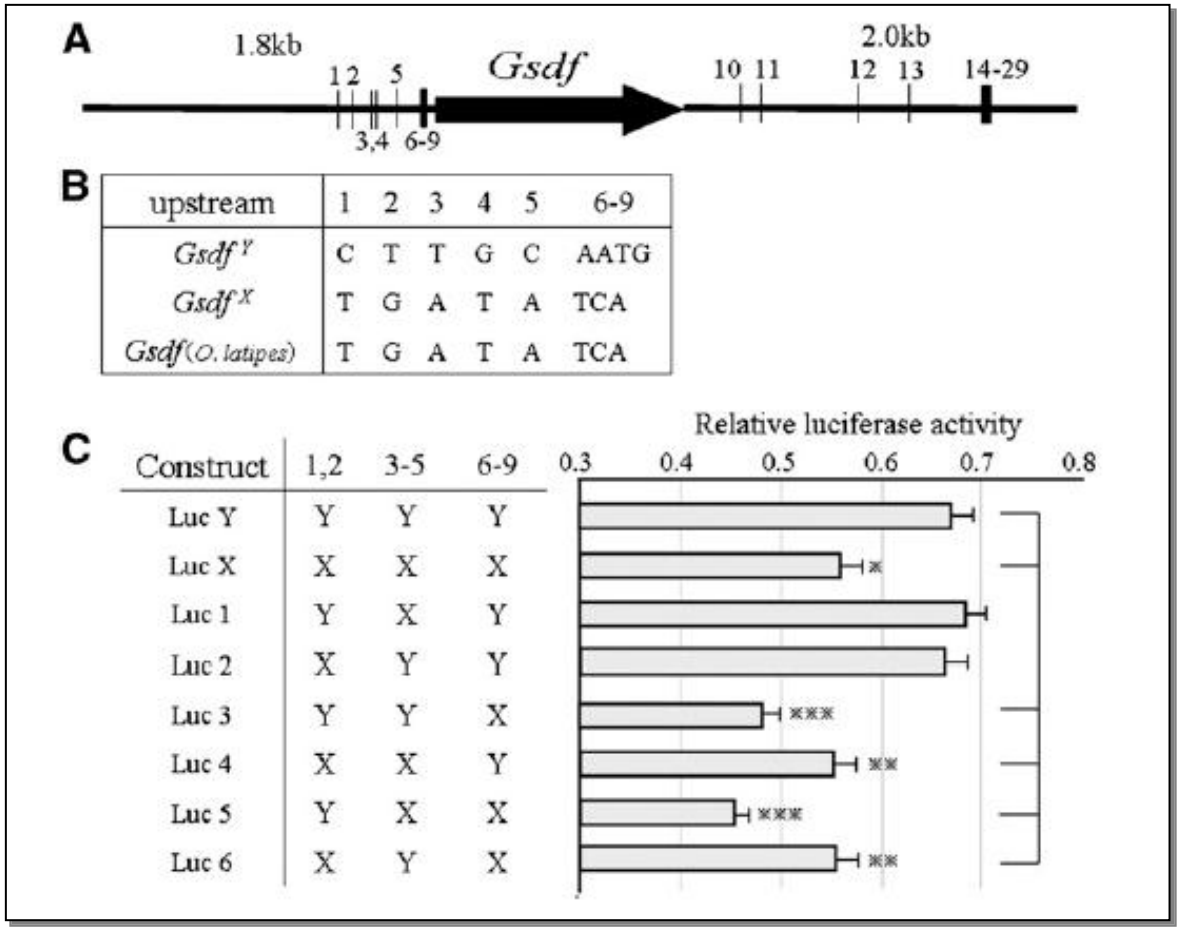
« Usual suspects », Gènes TGF-β



« Usual suspects », Gènes TGF-β

Différences entre allèles X et Y ne changent pas les séquences protéiques de $Gsdf^X$ and $Gsdf^Y$ (mutation synonymes)

Différences dans les séquences promotrices de Gsdf contribuent à un eexpression plus élevée de $Gsdf^Y$

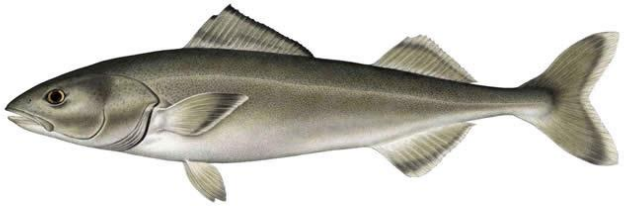


upstream	1	2	3	4	5	6-9
$Gsdf^Y$	C	T	T	G	C	AATG
$Gsdf^X$	T	G	A	T	A	TCA
Gsdf (*O. latipes*)	T	G	A	T	A	TCA

Construct	1,2	3-5	6-9
Luc Y	Y	Y	Y
Luc X	X	X	X
Luc 1	Y	X	Y
Luc 2	X	Y	Y
Luc 3	Y	Y	X
Luc 4	X	X	Y
Luc 5	Y	X	X
Luc 6	X	Y	X

« Usual suspects », Gènes TGF-β

Sablefish, *Anoplopoma fimbria*
(Scorpaeniformes)



XX/XY

Rondeau *et al. BMC Genomics* 2013, **14**:452
http://www.biomedcentral.com/1471-2164/14/452

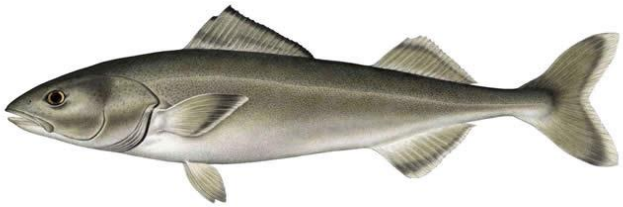
BMC Genomics

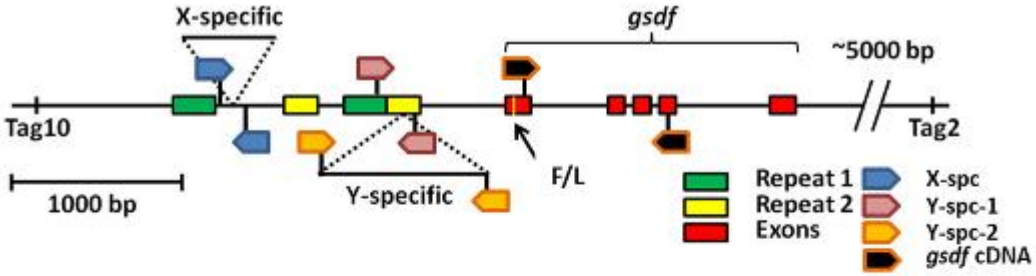
RESEARCH ARTICLE Open Access

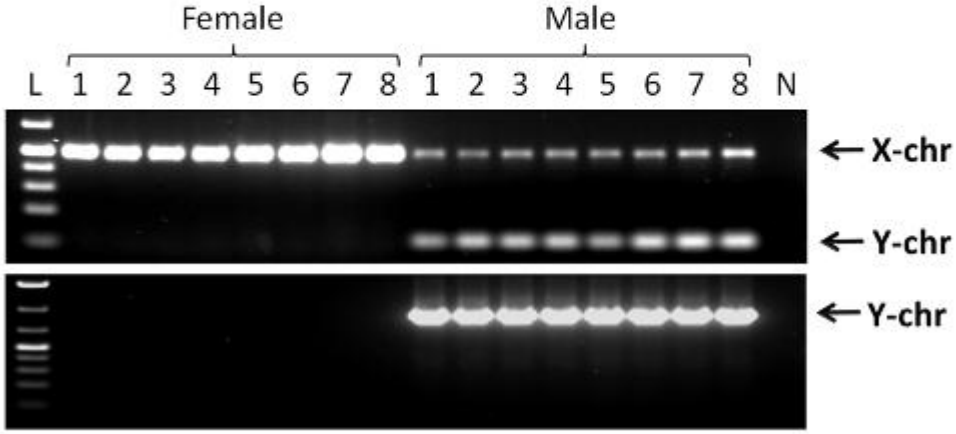
Genomics of sablefish (*Anoplopoma fimbria*): expressed genes, mitochondrial phylogeny, linkage map and identification of a putative sex gene

« Usual suspects », Gènes TGF-β

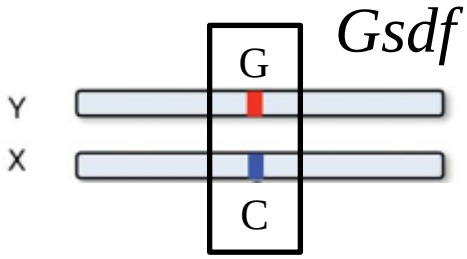
GSDF







Diversification allélique



« Usual suspects », Gènes SOX

Medaka, *Oryzias dancena*

sox3

XX/XY

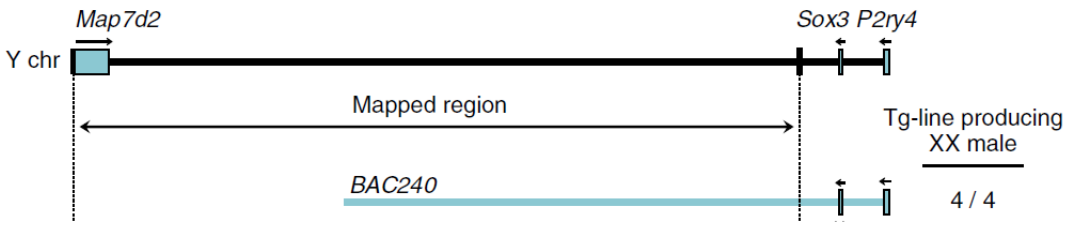
Co-option of *Sox3* as the male-determining factor on the Y chromosome in the fish *Oryzias dancena*

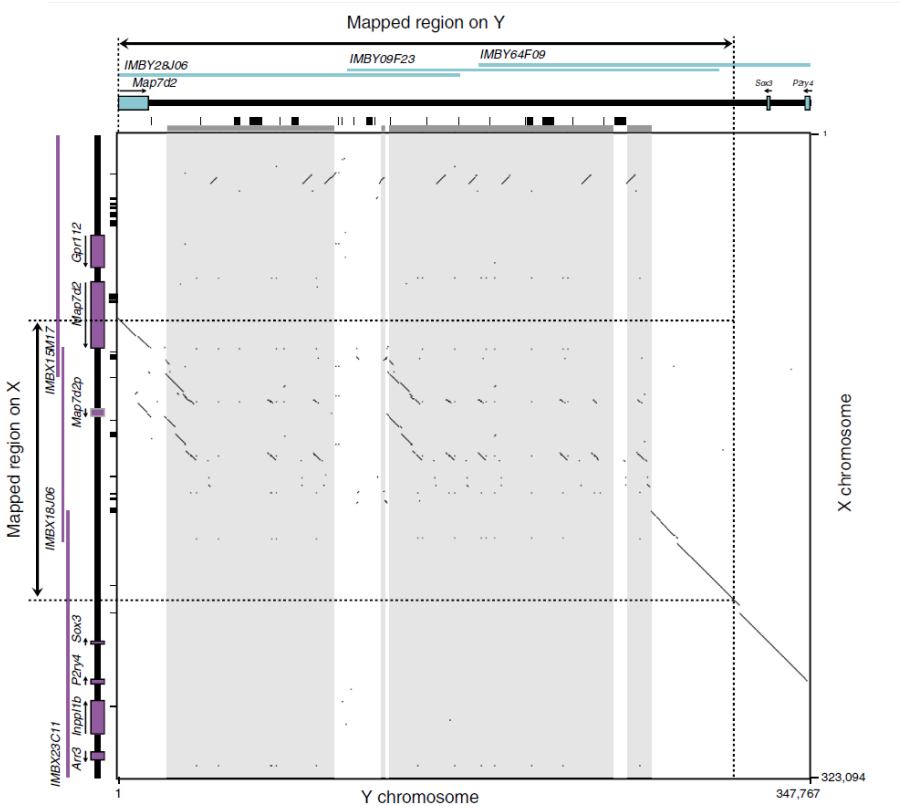
Yusuke Takehana, Masaru Matsuda, Taijun Myosho, Maximiliano L Suster, Koichi Kawakami, Tadasu Shin-I, Yuji Kohara, Yoko Kuroki, Atsushi Toyoda, Asao Fujiyama, Satoshi Hamaguchi, Mitsuru Sakaizumi & Kiyoshi Naruse

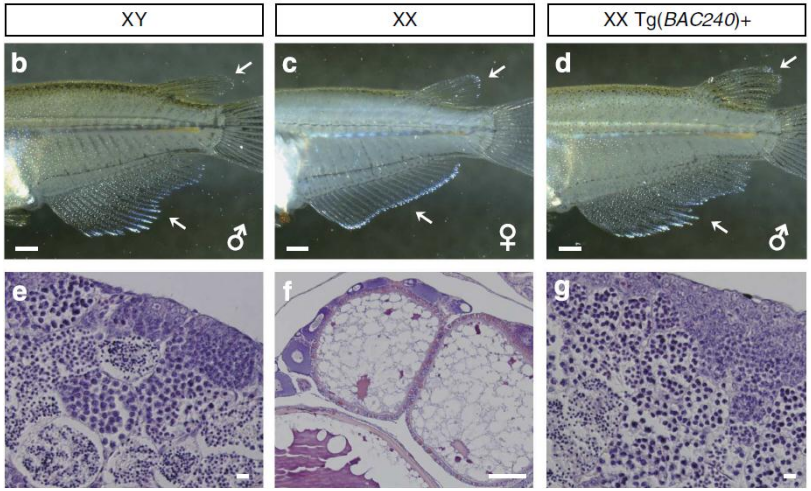
Affiliations | Contributions | Corresponding authors

Nature Communications **5**, Article number: 4157 | doi:10.1038/ncomms5157

« Usual suspects », Gènes SOX







Transgénèse avec séquences cis régulatrices en amont de sox3 + sox3

XX femelles → XX mâles

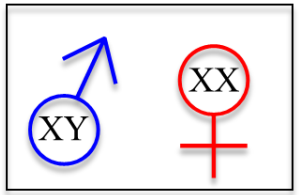
Innovation

Uniquement un cas connu chez les vertébrés (pour l'instant) : chez les salmonidés.

Yano et al., 2012. An Immune-Related Gene Evolved into the Master Sex-Determining Gene in Rainbow Trout. Current Biology. DOI: 10.1016/j.cub.2012.05.045

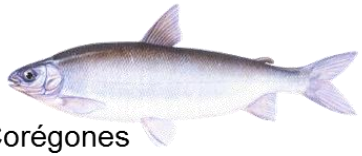
Le SEXE (génétique) des Saumons

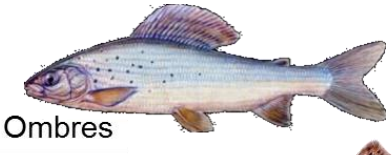
« … les salmonidés … ont tous … un déterminisme génétique du sexe de type hétérogamétie mâle »*



Salmonidae

Coregoninae	Corégones	*Coregonus* *Prosopium* *Stenodus*	??
Thymallinae	Ombres	*Thymallus*	??
Salmoninae	**Truites**	*Oncorhynchus*	XX/XY
	Saumons	*Salmo*	
	Ombles	*Salvelinus*	XX/XY
	Huchons	*Hucho* *Parahucho*	??
	…	*Brachymystax*	??
	…	*Salvethymus* *Acantholingua*	??





* *Davidson et al., 2009. Sex dev, 3:78-87.*

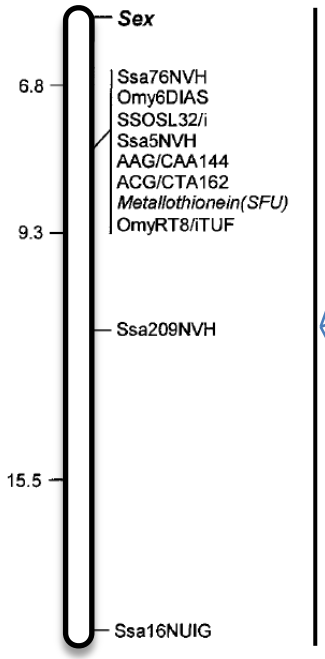
Le SEXE (génétique) des Saumons

Artic char (*Salvelinus alpinus*)

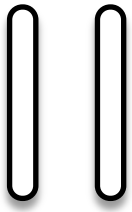
Salmoninae

Trouts	*Oncorhynchus*	XX/XY
Salmons	*Salmo*	XX/XY
Chars	*Salvelinus*	XX/XY

Artic char
Sex chromosome



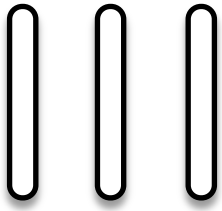
BT2 BT17



Autosomes

Brown trout
(*Salmo trutta*)

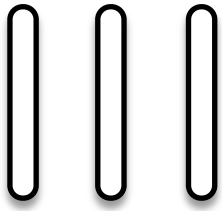
AS2 AS10 AS25



Autosomes

Atlantic salmon
(*Salmo salar*)

RTK RTE RT15



Autosomes

Rainbow trout
(*Oncorhynchus mykiss*)

* *Woram et al., 2003. Genome Research, 13:272-280.*

Le SEXE (génétique) des Saumons

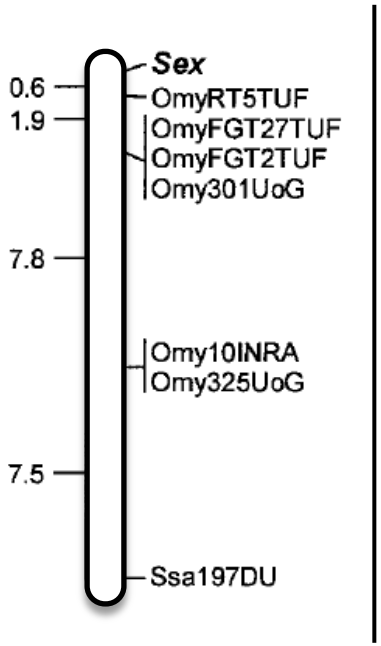
Brown trout (*Salmo trutta*)

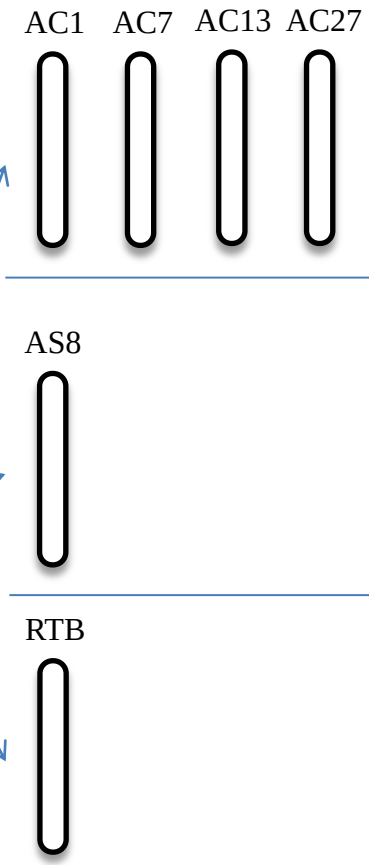
Salmoninae

Trouts	*Oncorhynchus*	XX/XY
Salmons	*Salmo*	XX/XY
Chars	*Salvelinus*	XX/XY

Brown trout

Sex chromosome





Autosomes

Artic char (*Salvelinus alpinus*)

Autosomes

Atlantic salmon (*Salmo salar*)

Autosomes

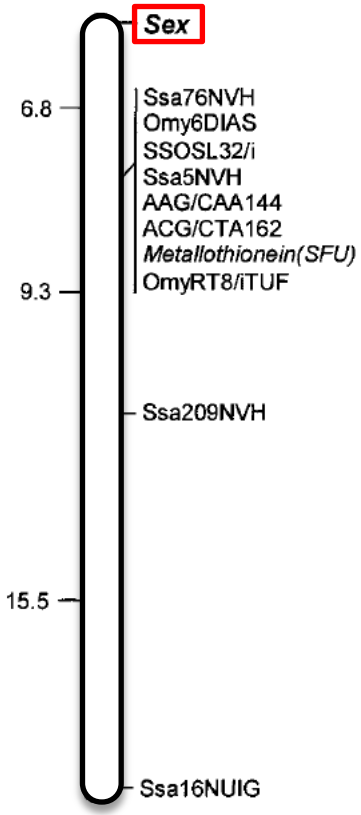
Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)

** Woram et al., 2003. Genome Research, 13:272-280.*

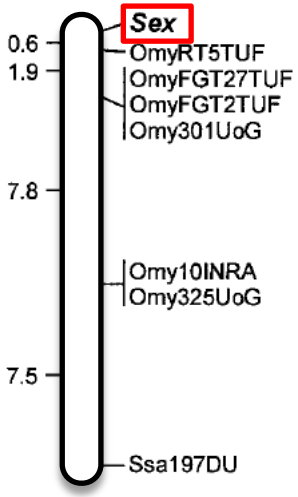
Le SEXE (génétique) des Saumons

Les chromosomes sexuels des Salmonidés sont différents ….

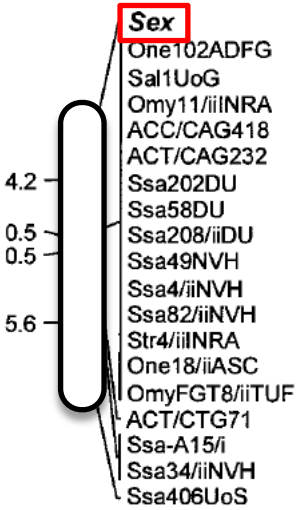
Omble Arctique (*Salvelinus alpinus*)



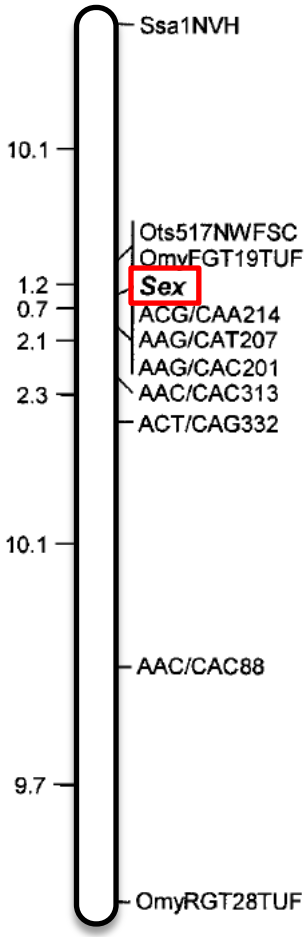
Truite fario (*Salmo trutta*)



Saumon Atlantique (*Salmo salar*)



Truite arc-en-ciel (*Oncorhynchus mykiss*)



Et leur déterminant majeur du sexe ?

** Woram et al., 2003. Genome Research, 13:272-280.*

Différentiation gonadique & NGS…

Séquencage 454 Titanium
de gonades embryonnaires
à 35 dpf

↓

XX ♀

350,638 séquences ovariennes
/
349,465 séquences testiculaires

XY ♂

Expression de gènes connus pour être différentiellement exprimés

XX ♀

gene name	F hits	M hits	Ratio F/M
cyp19a1a	89	5	18
hsd3b	31	6	5
star	28	7	4
fst	13	1	13

XY ♂

gene name	F hits	M hits	Ratio M/F
amh	33	108	3
sox9a2	0	7	7
tbx1a	1	11	11
tbx1b	1	9	9

Différentiation gonadique & NGS…

Séquencage 454 Titanium
de gonades embryonnaires
à 35 dpf

↓

XX ♀

350,638 séquences ovariennes
/
349,465 séquences testiculaires

XY ♂

Expression de nouveaux gènes exprimés uniquement dans le testicule

XX ♀

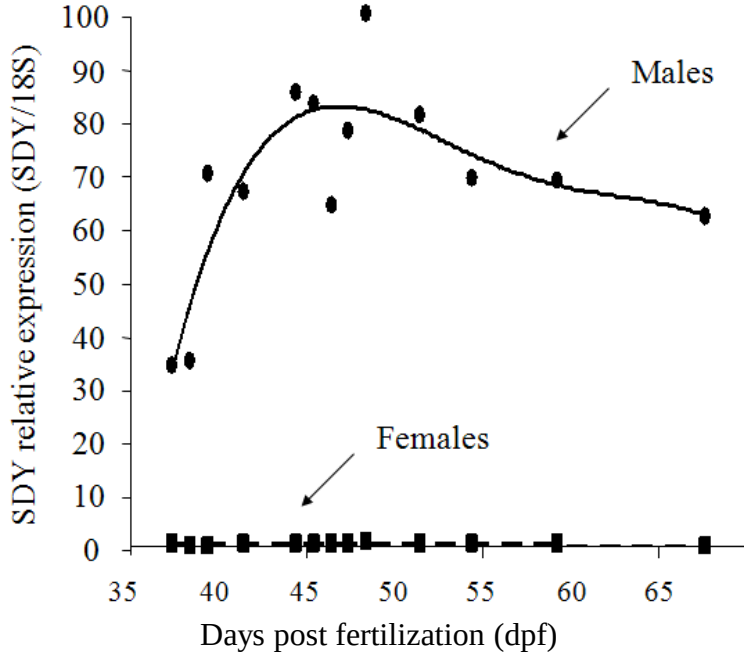
gene name	F hits	M hits	Ratio F/M
cyp19a1a	89	5	18
hsd3b	31	6	5
star	28	7	4
fst	13	1	13

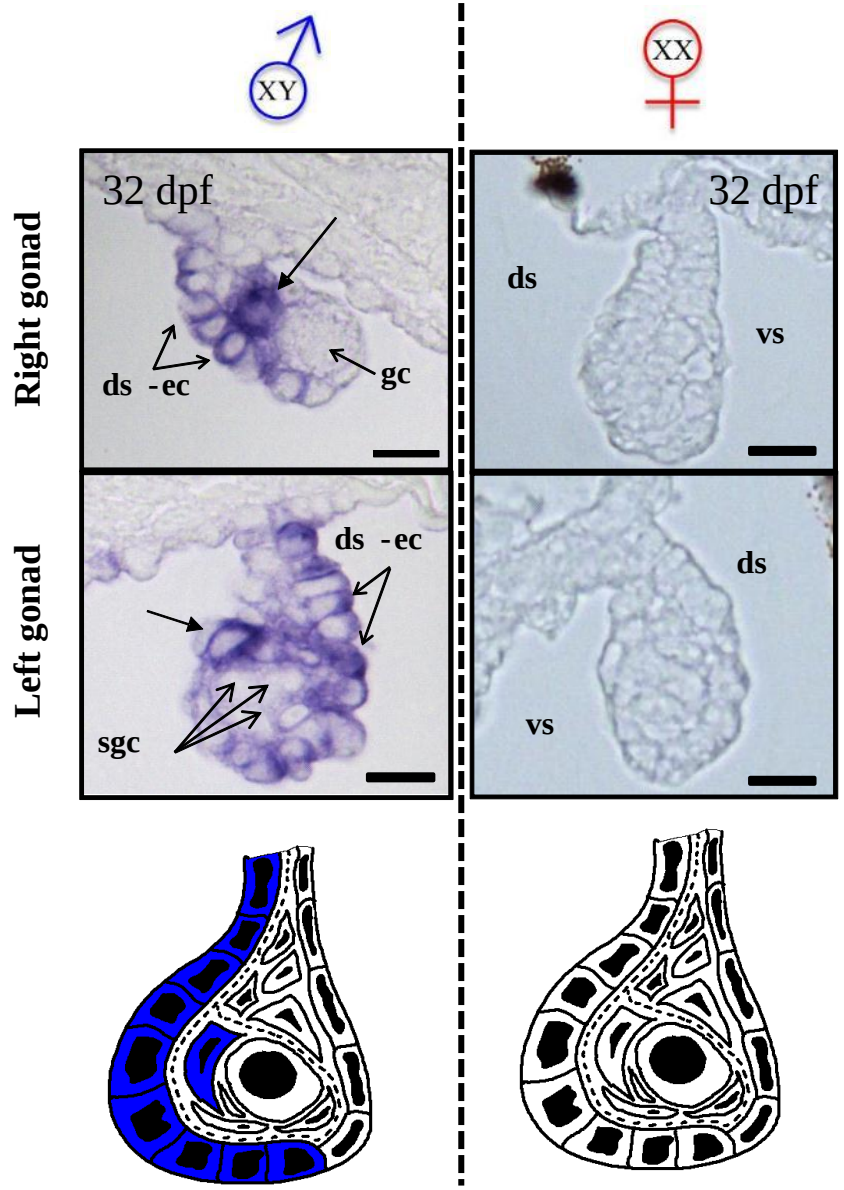
XY ♂

gene name	F hits	M hits	Ratio M/F
amh	33	108	3
sox9a2	0	7	7
tbx1a	1	11	11
tbx1b	1	9	9
unknown	1	155	155

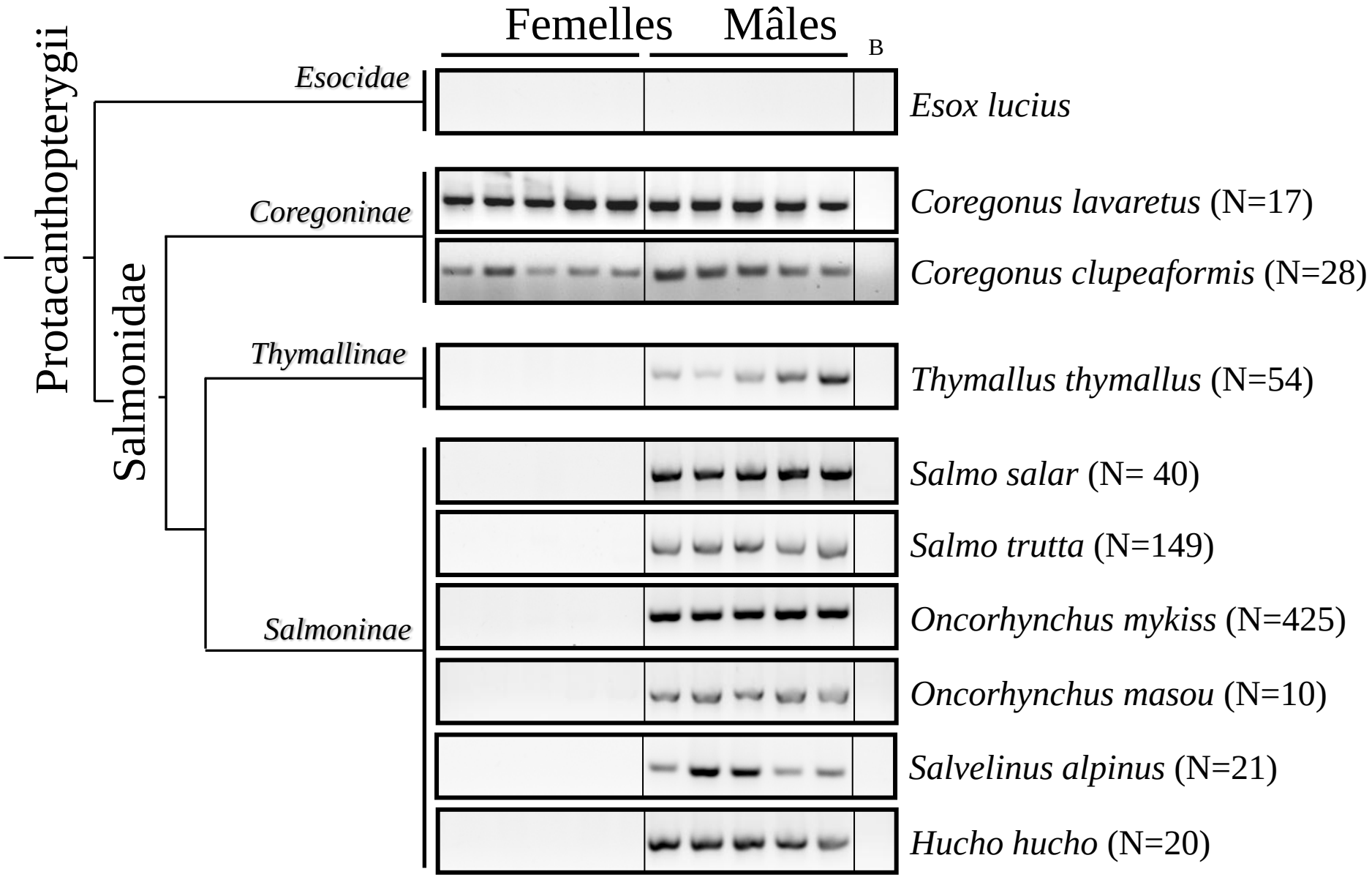
?

… Expression de « unknown » …





Un gène lié au SEXE ?



Et ensuite ?

sdY est il le déterminant majeur du sexe chez les salmonidés ?
/ preuves fonctionelles

Suffisant pour la differentiation testiculaire

Transgénèse additive de *sdY* chez des femelles génétiques

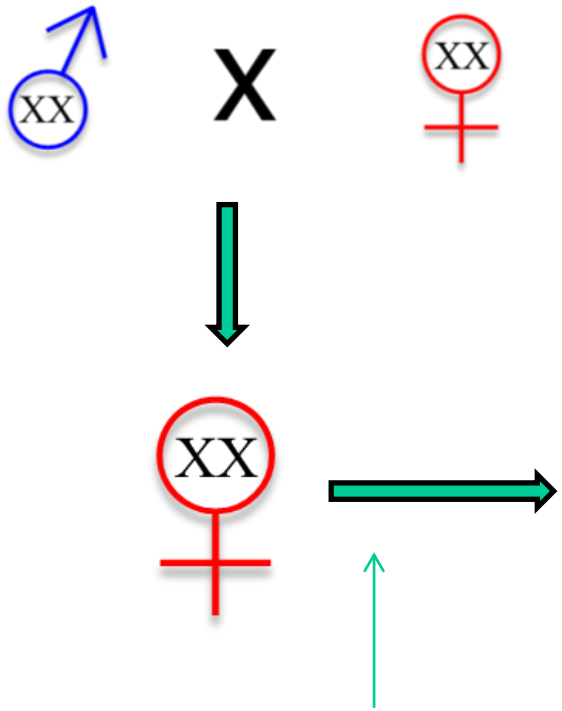
Nécessaire pour la differentiation testiculaire

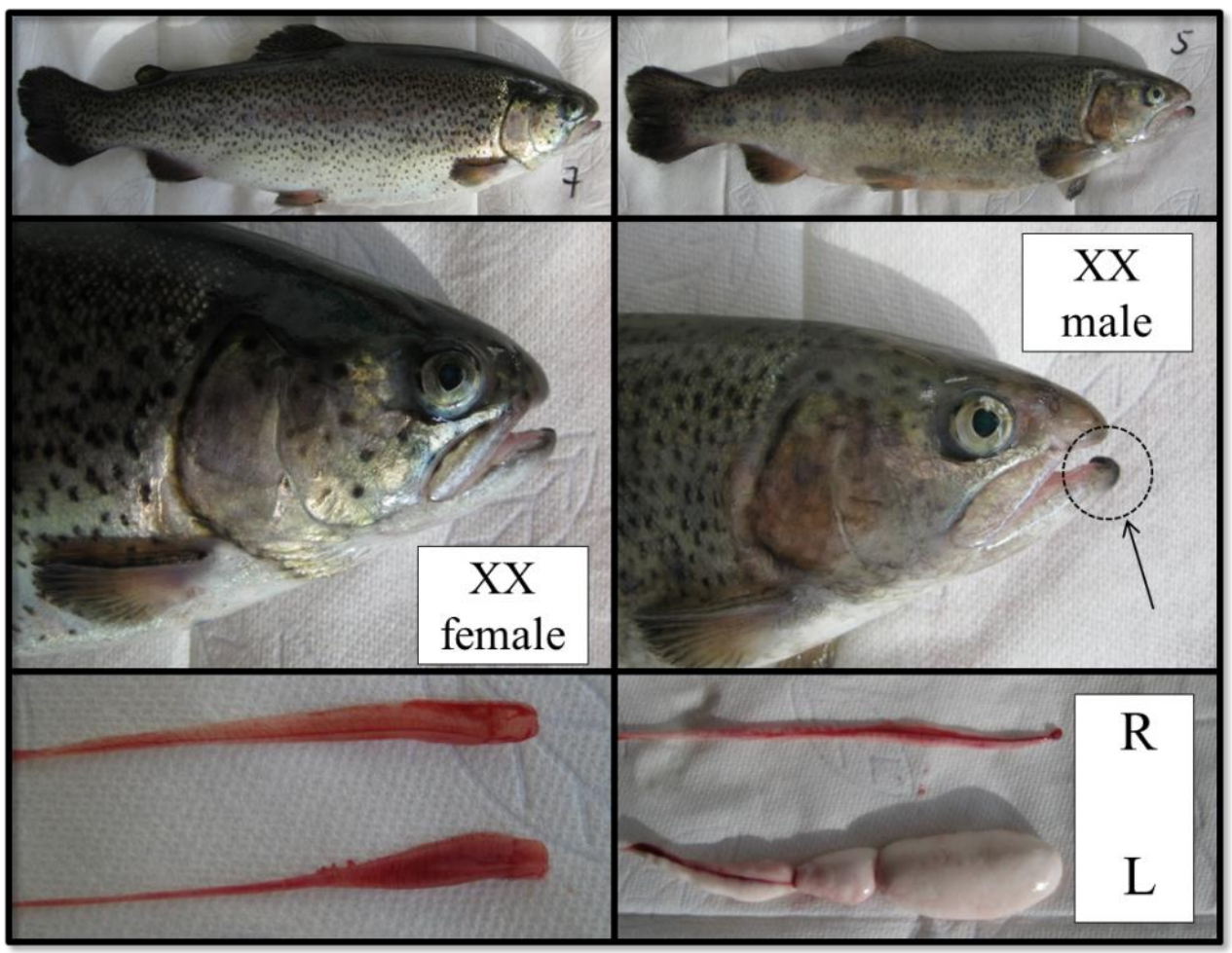
Knockout de *sdY* chez des mâles génétiques

sdY / transgénèse additive

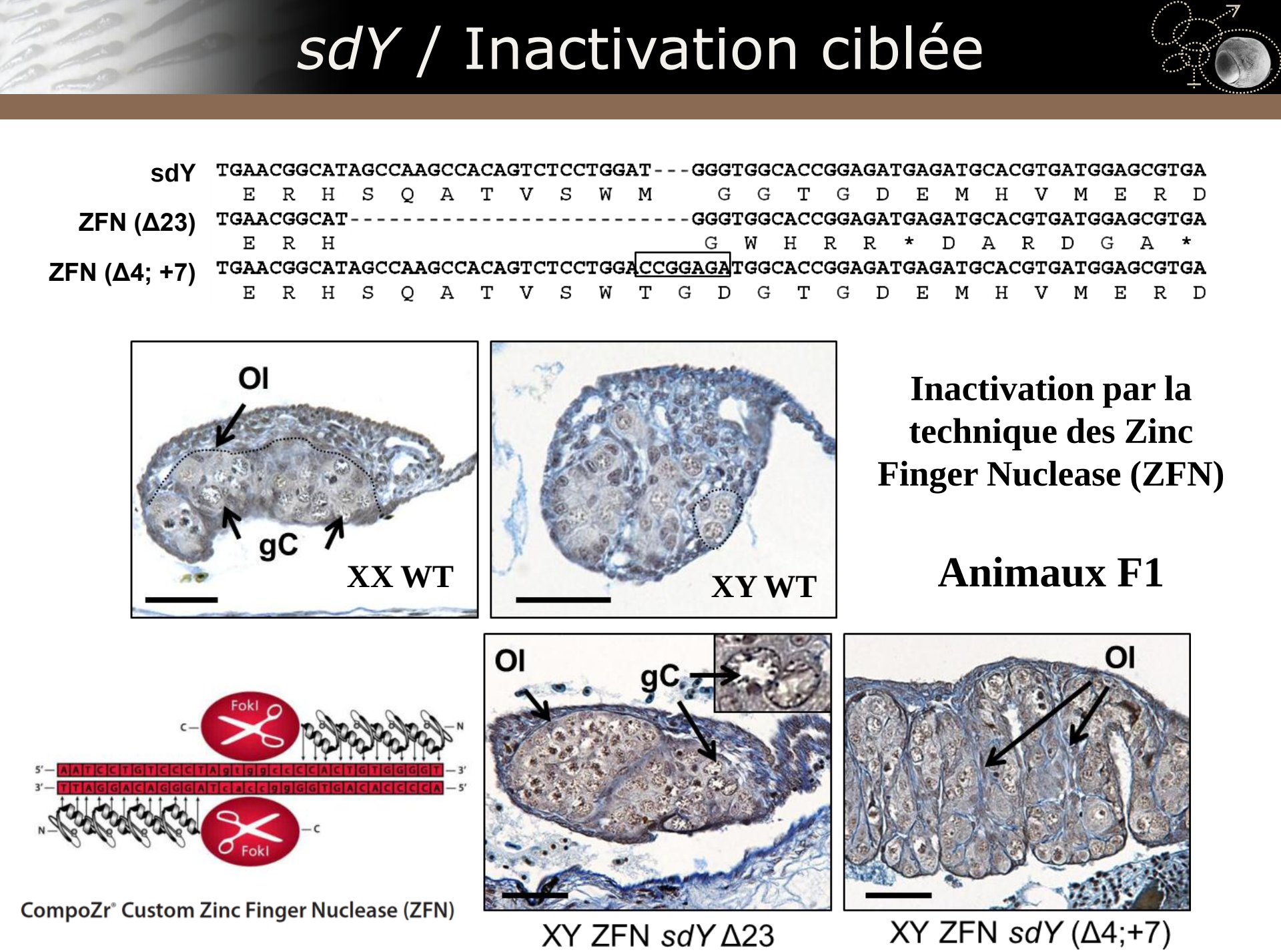
- Surexpression de *sdY* par transgénèse additive chez des femelles génétiques (XX)

6 mâles / 30 animaux XX





sdY / Inactivation ciblée



sdY c'est quoi ?

… *sdY* code pour un « Interferon Regulatory Factor 9 »
MAIS tronquée et divergente

Pfam **IRF domain**
(bit score = 143.5, evalue = 1.6e-42)

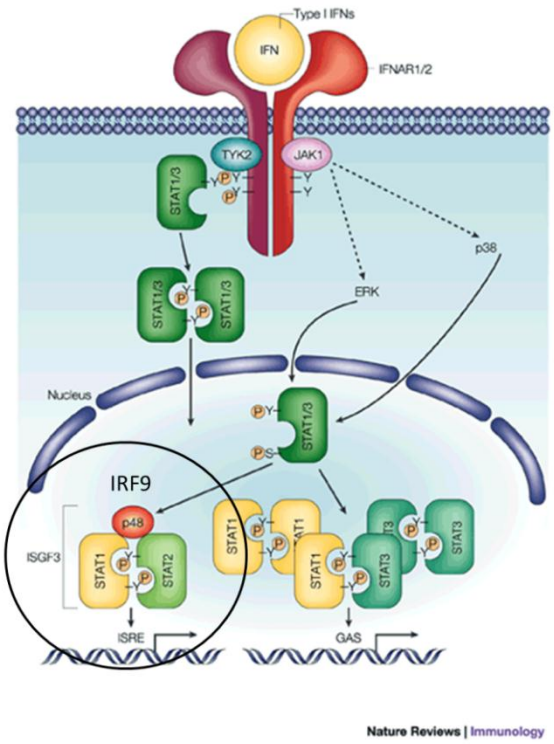
Pfam **IRF-3 domain**
(bit score = 121.3, evalue = 2.6e-35)

Irf9 — **DNA Binding Domain** — **IAD = IRF Association Domain**

42 % identity

SdY — **IAD = IRF Association Domain**

(bit score = 70.6, evalue = 9.2e-20)



Sous fonctionalisation :
Rôle de la voie de l'interferon dans la differentiation du sexe gonadique?

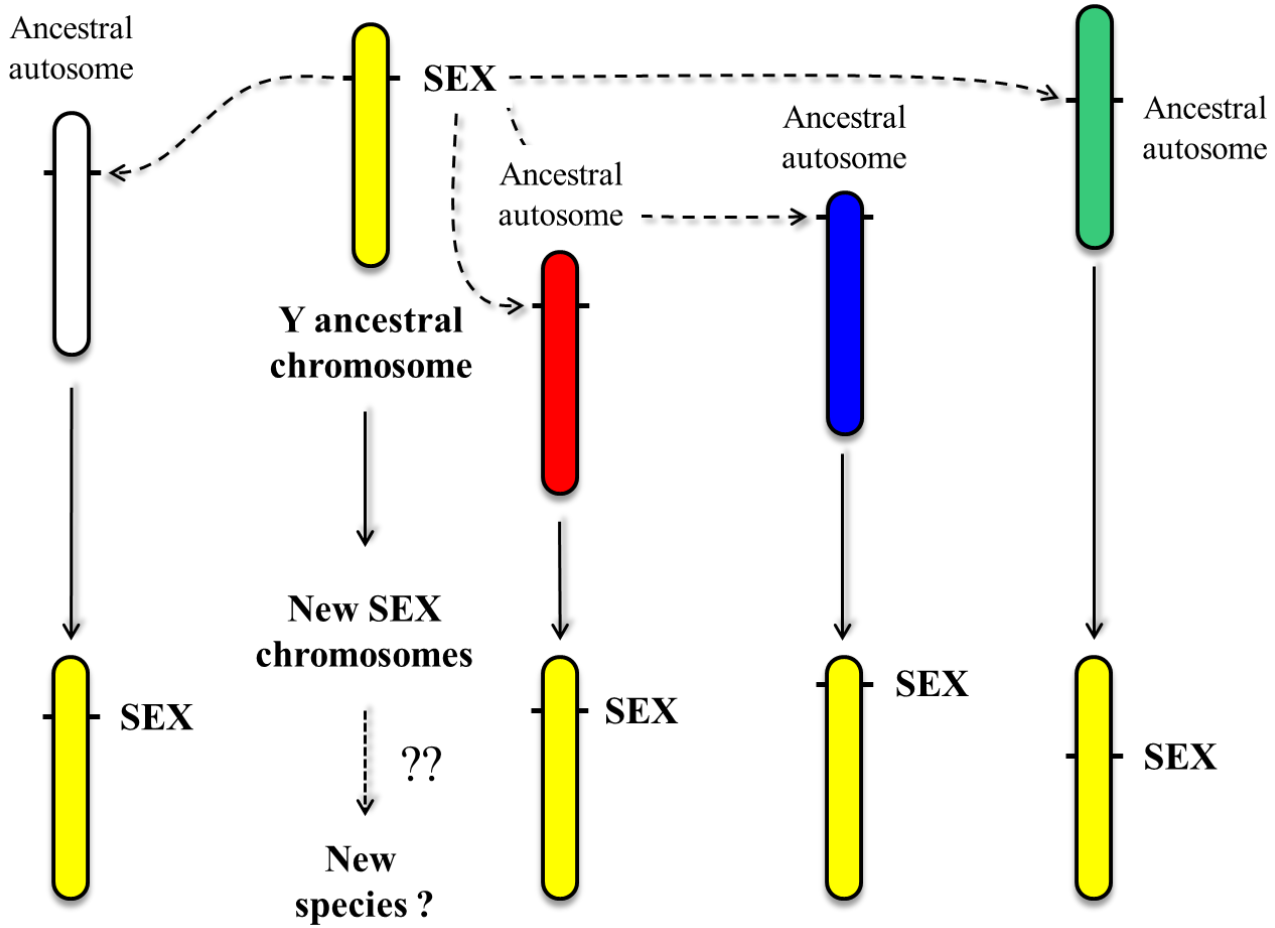
Neo-fonctionalisation :
Evolution d'une nouvelle fonction?

Déterminisme du sexe des Saumons

Les Salmonidés possèdent un locus sexuel ancestral conservé … & et probablement le même déterminant majeur.

SdY est un locus sexuel mobile

« a jumping sex locus »

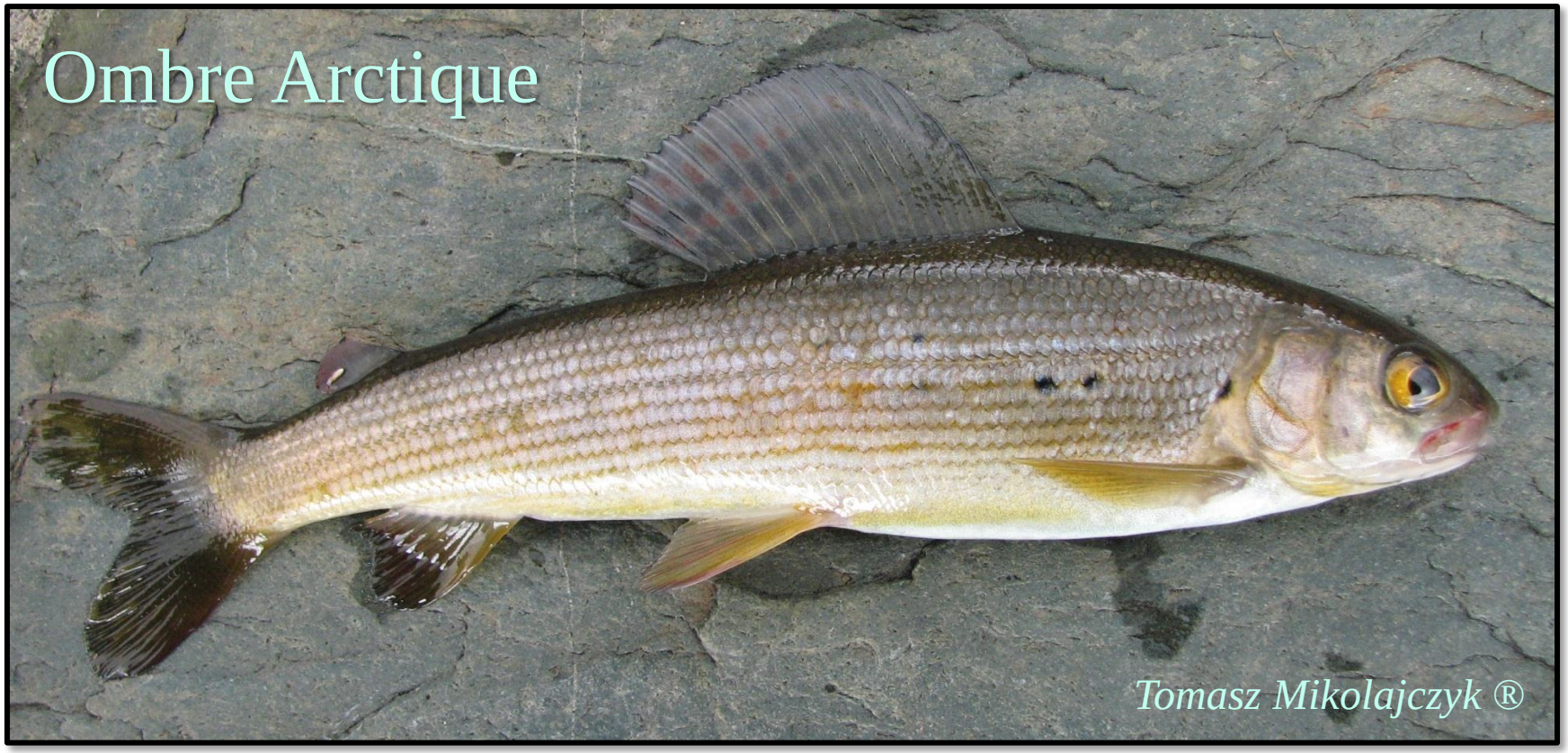
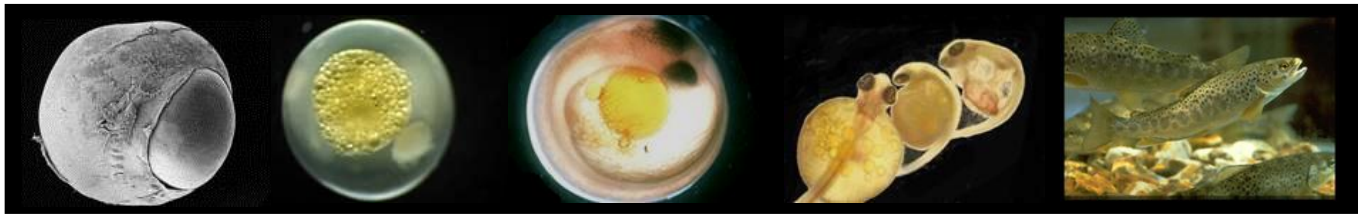


Déterminisme du sexe des poissons

Que nous apprennent les nouveaux déterminants identifiés chez les poissons ces dernières années ?

- Plus de gènes déterminant majeur du sexe (SD) « coupables présumés » que d'innovations évolutives
  - Certains gènes seraient « meilleurs » dans ce rôle de SD, ou syndrome du lampadaire ?
- Pas que des SD facteurs de transcription
  - Par exemple la voie des TGF-β semble fortement représentée.
- Différenciation des chromosomes sexuels
  - D'une différenciation allélique discrète (réduite un seul SNP) à une différenciation forte (hétérochromosomie).
  - Beaucoup de SD sont issus d'une « duplication & Insertion » (différenciation CR faible)
- Turnover très rapide des SD chez les poissons
  - Au sein d'un même genre voire même au sein de la même espèce.
  - Un mécanisme pour éviter la fixation des CR sexuels ?

Merci pour votre attention



INRA
SCIENCE & IMPACT