

Nice, 8 December 2020

Marie-Christine Chaboissier

## Rapport sur le mémoire de M Amaury Herpin pour l'obtention de l'habilitation à diriger les recherches.

Chargé de recherche à l'INRAE de Rennes Unité 1037, dans l'équipe « sexe, ovogenèse et comportements » depuis 2014, Amaury Herpin a déjà une riche carrière scientifique internationale derrière lui. Amaury Herpin a réalisé son projet doctoral au « Sars International Centre for Marine Molecular Biology/EMBL » à l'université de Bergen en Norvège, en co-tutelle avec l'université de Caen. Il a soutenu sa thèse en 2003 et a rejoint le laboratoire du Prof Manfred Schartl (Université de Würzburg, Allemagne), un des plus éminents spécialistes de la différenciation sexuelle chez le poisson. Dans ce laboratoire, Amaury Herpin a commencé à développer les thématiques de recherche qu'il continue à explorer encore aujourd'hui sur l'évolution et la plasticité des réseaux de régulation génique, acteurs de la détermination du sexe et de la différenciation sexuelle.

Durant les dix années passées en Allemagne, il a occupé plusieurs postes de post-doc à fonctionnaire d'état et a encadré plusieurs étudiants. A l'heure actuelle, A. Herpin a contribué à la formation de 16 étudiants dont 9 doctorants (3 encadrements, 6 en co-encadrements). De plus A. Herpin a montré ses capacités pour obtenir des subventions de l'Agence Nationale de la Recherche, ou du projet AQUAEXCEL Horizon2020 parmi d'autres, nécessaires au financement de sa recherche.

Ces encadrements d'étudiants, ces subventions et de nombreuses collaborations lui ont permis d'effectuer une recherche de qualité, impressionnante par les avancées réalisées dans son domaine : l'identification des mécanismes régissant la détermination du sexe et la différenciation sexuelle chez les poissons de la clade téléosté avec la majeure partie de ses travaux de recherche sur le modèle médaka (*Oryzias latipes*). Ces travaux sont présentés dans un manuscrit, rassemblant un résumé des travaux et des réflexions de M Amaury Herpin et les publications, qu'il a jugé les plus importantes qui jalonnent sa carrière jusqu'à ce jour.

Il existe trois grandes familles de déterminant sexuel mâle, les gènes de la famille *SOX*, de la famille *DMRT* et de la famille *TGF* ainsi que le gène *SdY*, un répresseur de la voie de détermination femelle chez les Salmonidés.

Le médaka possède les chromosomes sexuels X et Y, et les individus XY deviennent des mâles, tandis que les 2 X confèrent une différenciation de type femelle. Cette différence est due au gène *dmrt1bY* porté par le chromosome Y et qui agit comme déterminant mâle. Les espèces proches ne présentent pas toutes ce système de détermination sexuel mais plusieurs gènes stabilisateurs du destin de la gonade sont conservés.

Chez le médaka, il existe deux copies du gène *dmrt1*. *Dmrt1a* est porté par un autosome et *dmrt1bY* est une copie dupliquée il y a 5-10 millions d'années. L'élément transposable Izanagi s'est inséré en amont de *dmrt1bY* amenant des sites de fixation de facteurs de transcription dont *dmrt1* et permet sa répression en *cis* après la période de détermination du sexe et en *trans* par *dmrt1a* chez l'adulte. L'élément transposable Rex s'est quant à lui inséré dans Izanagi fournissant un site de fixation pour *sox5*, répresseur de l'expression de *dmrt1bY*.

C'est le nombre de cellules germinales qui contrôle le devenir sexuel de l'individu dans ces espèces, avec un nombre élevé favorisant le développement femelle tandis qu'un nombre plus faible ou l'absence de CGP (cellules germinales primordiales) promeut la différenciation mâle. Chez l'individu XX, les cellules germinales prolifèrent puis entrent en méiose dans l'ébauche gonadique, tandis que chez les mâles, les CGP deviennent quiescentes. *Dmrt1bY* est exprimé dans les CGP avant la différenciation du soma, favorisant leur entrée en quiescence, puis est exprimé dans les cellules somatiques. *Dmrt1a* est exprimé dans la gonade différenciée et a un patron d'expression spécifiquement testiculaire. Amaury Herpin a identifié une séquence de 11bp dans le 3'UTR de *dmrt1bY* qui confère la stabilité à l'ARNm dans les cellules germinales mais pas dans les cellules somatiques. Ce motif est conservé jusqu'à l'homme suggérant un rôle potentiellement conservé dans cette espèce. Amaury Herpin a également identifié deux protéines susceptibles de se lier à ce motif : Ol-bsf et Olcug-bp1, ce qui permettrait la stabilisation ou la dégradation de l'ARN de *dmrt1bY* selon le contexte cellulaire. Comment *dmrt1bY* induit la différenciation testiculaire, n'est pas encore élucidé mais cela pourrait impliquer un facteur de croissance TGF- $\beta$  : *gsdf* (*gonadal soma-derived factor*). Dans les années à venir, Amaury Herpin clarifiera le mécanisme d'action et les réseaux moléculaires régulés par les deux facteurs *dmrt1*, *dmrt1bY* et *dmrt1a*.

Les projets d'Amaury Herpin concernent également les facteurs TGF- $\beta$  plus globalement, avec l'identification des facteurs qui jouent un rôle clé dans la détermination du sexe et leur mécanisme d'action chez le médaka puis chez d'autres espèces de poisson.

Une autre partie du travail d'Amaury Herpin permettra de comprendre le rôle du pronéphros dans la formation de la gonade du médaka. Les expériences de linéage qu'A. Herpin a conduites, suggèrent une contribution des cellules pronéphrétiques. Des analyses fonctionnelles et transcriptomiques de cellules uniques sont en cours pour caractériser quelle est l'importance de cette structure.

Finalement, indépendamment de l'intérêt fondamental des travaux de M Amaury Herpin, ceux-ci apportent des connaissances qui à plus long terme pourraient faciliter la production d'un seul sexe et ainsi avoir un intérêt économique en aquaculture.

De par ses accomplissements précédents aussi bien scientifiques qu'en management de la recherche, je n'ai aucune réserve sur les compétences de M Amaury Herpin à diriger des recherches. Cela me permet donc d'exprimer un avis très favorable pour que M Herpin puisse faire une présentation de ses travaux en vue de l'obtention de l'habilitation à diriger les recherches.

Marie-Christine Chaboissier

