

**Postdoctoral Researcher (18 months)**  
**at Université de Bretagne Occidentale, Marine European University Institute**  
**Marine Environment laboratory (LEMAR), France.**  
**Development of 2D and 3D cell culture**  
**of hemolymphatic cells from oyster *Crassostrea gigas*.**

We are seeking a talented candidate in cellular biology to join our team of marine biologists specialized in responses and adaptation of marine invertebrates to global changes. This postdoctoral project aims to develop and standardize a reliable marine 2D and 3D cell culture using hemocytes of the oyster *Crassostrea gigas*, as a new tool for marine ecotoxicological studies, replacing animal studies, and for studies on human pathologies as cancer. This new marine Cg cell model need to be controlled at several duration of the culture by analysis of living cells (imaging of structure, shape, migration), purity of cell types (biomarker of hemocytes), cell functionality and metabolism (biochemical and immune activities). We will compare different modes of culture (changes in physical conditions with/without biological adjuvants) from rapid to long-term culture duration. This 2D and 3D Cg cell model has a great innovation potential for bioassays, since it will be used to identify, quantify and predict cellular mechanisms impacted by environmental changes such as heat and acidification (future climate scenarios), harmful algal blooms (causing mortality in raring areas) and microplastics (emergent pollution). The model could also be used to explore some intracellular pathways which could help to better understand some human pathologies.

**Key words:** *cell culture, microscopy, bioassays, molecular biology, marine invertebrates.*

**Duration:** 18 months, starting in end of 2021 (preferably September)

**Location:** Université de Bretagne Occidentale, IUEM (Institut Universitaire Européen de la Mer), laboratory LEMAR (Laboratoire de l'Environnement Marin) located in Plouzané technopole, near Brest, France. <https://www-iuem.univ-brest.fr/lemar>

**Supervisors:** Stéphanie MADEC (UBO-LEMARstephanie.madec@univ-brest.fr) and Charlotte CORPOREAU (IFREMER -LEMAR charlotte.corporeau@ifremer.fr)

**Project description :**

The project MarineCell aims to to use marine invertebrate 2D and 3D cellular models as new models in industry, R&D and in marine and human biology research. At the LEMAR laboratory, we study the marine bivalves adaptation to climate changes at both the individual and molecular levels [2–6]. However, for *C. gigas*, we lack an in vitro cellular model to identify the cellular mechanism. Indeed, there is as yet no marine invertebrate cellular culture model of a duration of more than a week, whereas marine fish cell lines and spheroids already exist [14]. This post-doctoral project proposes an innovative approach to develop the 2D and 3D *C. gigas* hemocyte culture by playing on the physical (T°C, pH, gaz, salts, osmolarity) and biological (extracts; adjuvants) cells microenvironment. The aim is to develop 2D culture model (hemocytes) and 3D model benefiting from innovations in health biology (Incucyte© and Pico© technologies). These 2D and 3D have a great application potential in private and academic research, to identify the marine bivalve responses to emergent contaminants (microplastics, toxic algae [7]), pollutants [8]) and to environmental changes [2,4,5,9], as an alternative solution to animal models in ecotoxicology.

The project is divided in 2 objectives :

**Objective 1 Development of 2D and 3D cellular cultures : advantages/disadvantages and potential applications.**

- Development of *C. gigas* hemocytes 2D cellular cultures and optimization of the 2D culture characterization : hemocytes quantity, viability, structural state, differentiation, proliferation, metabolism, functionality.
- Development of 3D cellular cultures (spheroids) of *C. gigas* hemocytes and cardiomyocytes
- Comparative analysis of the culture medium changes (physical microenvironment and biological composition) on the 2D and 3D cultures by using functional and cellular imagery (« Live-cell analysis »).
- Development of standardized on 2D and 3D cellular models.

**Objective 2 Define the application potential of 2D cellular model of *C. gigas* hemocytes to understand the cancer biology**

By its way of living in the intertidal zones, the *C. gigas* oyster has particular capacities of adaptation to extreme changes of the environment in which it lives (large temperature variations of temperature, of pH, of salinity, of oxygen, of nutrients), and we demonstrated it is naturally able to reprogram its metabolism towards Warburg [1,2,10]. The Warburg effect is one of the cancer cell characteristics in Human [11]. It's a real metabolic reprogramming towards aerobic glycolysis, allowing cancer cells to satisfy the energy needs depending on the tumor microenvironment [12,13]. The 2D *C. gigas* hemocytes cultures represent an interesting model to study the Warburg effect in microenvironment conditions so extreme than they couldn't be explored in vertebrate cellular models. The 2D hemocytes could be become a new Warburg model for cancer biology [1]. This objective 2 aims to:

- Develop metabolic biomarkers of Warburg (genes expression, proteins, metabolites, OXPHOS function, glycolysis, oxidative stress)
- Characterize the impact of physical conditions (temperature, pH, oxygen, salts, osmolarity) and biological (extracts, adjuvants) of the cellular microenvironment on Warburg metabolism.

**Partnerships :**

The project involves several partners which will offer their scientific and technic support (2D and 3D cultures, gene expression, cellular functions analysis, metabolism) and access to cellular biology equipment (thermostatic incubators, flow cytometry, live cell imager) and functional imagery (epifluorescence microscopy, transmission electron microscopy).

**Required profile :** PhD in Cellular biology

- Required skills : cellular culture, biochemistry, statistics, excellent English oral and writing skills, autonomy and aptitude for team work
- Preferable skills : experience in live-cell analysis (seahorse © ; Incucyte© ou Pico ©) would be an advantage

**Eligibility criteria** (required by the financial institutions of the grant):

The candidate will have stayed 18 months minimum out of France between 1 May 2017 and the project starting, and have a PhD not more than 3 years.

**To apply:**

Applications have to be sent before 15 June 2021 to [stephanie.madec@univ-brest.fr](mailto:stephanie.madec@univ-brest.fr) et [charlotte.corporeau@ifremer.fr](mailto:charlotte.corporeau@ifremer.fr) and include:

- a motivation letter
- a complete CV
- name and contact details of at less three referents

**Chercheur postdoctoral (18 mois)**  
**à l'Université de Bretagne Occidentale, Institut Universitaire Européen de la Mer,**  
**Laboratoire de l'Environnement Marin (LEMAR), France.**  
**Développement de cultures cellulaires 2D et 3D**  
**d'hémocytes d'huître creuse *Crassostrea gigas***

Nous recherchons un.e candidat.e talentueux.se pour rejoindre notre équipe spécialisée dans l'étude des impacts des changements de l'environnement sur les organismes aquatiques, et en particulier l'effet sur les mécanismes cellulaires des bivalves. Ce projet de postdoctorat vise tout d'abord à développer et standardiser un modèle cellulaire marin robuste, en particulier le modèle hémocytaire d'huître en culture longue, comme nouveau modèle pour des études en écotoxicologie marine, afin de remplacer les études sur les animaux entiers. La standardisation d'un tel modèle implique de contrôler la culture sur plusieurs aspects : observations cellulaires par microscopie, contrôle de la pureté de culture, contrôle de la fonctionnalité et du métabolisme des cellules tout au long de la cinétique de culture et en testant différentes conditions de culture (facteurs physiques avec/sans adjuvants). Une fois que le modèle cellulaire sera fiable, il pourra être utilisé pour étudier et prédire les mécanismes cellulaires impactés par les changements environnementaux (grâce à des bioessais) tels que le réchauffement et l'acidification des océans, par des algues toxiques ou les nanoplastiques, ou pour explorer le potentiel de certaines voies intracellulaires pour mieux comprendre certaines pathologies humaines.

**Mots-clés :** culture cellulaire, microscopie, bioessais, biologie moléculaire, invertébrés marins, huître *Crassostrea gigas*.

**Durée :** 18 mois, à débiter en fin 2021 (de préférence en septembre).

**Lieu :** Université de Bretagne Occidentale, IUEM (Institut Universitaire Européen de la Mer), Laboratoire LEMAR (Laboratoire de l'Environnement Marin) situé au Technopole de Plouzané près de Brest, France. <https://www-iuem.univ-brest.fr/lemar>

**Superviseurs :** Stéphanie MADEC (UBO-LEMAR [stephanie.madec@univ-brest.fr](mailto:stephanie.madec@univ-brest.fr)) et Charlotte CORPOREAU (IFREMER -LEMAR [charlotte.corporeau@ifremer.fr](mailto:charlotte.corporeau@ifremer.fr))

**Description du projet :**

Le projet MarineCell vise à l'utilisation de cellules 2D et 3D d'un invertébré marin, l'huître creuse *Crassostrea gigas*, comme nouveaux modèles en industrie, R&D et pour la recherche en biologie marine et en biologie santé [1]. Au laboratoire LEMAR, nous étudions l'adaptation des mollusques marins au changement climatique à l'échelle des individus, au niveau moléculaire [2–6]. Or, chez *C. gigas*, il nous manque un modèle de culture *in vitro* pour identifier les mécanismes cellulaires. En effet, il n'existe pas à ce jour de culture de cellules de mollusques marins d'une durée de plus d'une semaine, alors qu'il existe déjà des lignées et des sphéroïdes de cultures cellulaires de poissons marins [14]. Ce projet de post-doctorat MarineCell propose une démarche inédite pour développer la culture 2D et 3D des hémocytes de *C. gigas*, en conditionnant *in vitro* le microenvironnement physique (T°C, pH, gaz, sels, Osmolarité), et biologique (extraits, adjuvants du milieu de culture) des cellules. L'objectif est ainsi de développer des modèles 2D (hémocytes seuls) et des organoïdes 3D en bénéficiant des innovations en santé (technologie Incucyte© et Pico©) pour la culture 2D et 3D. Ces modèles 2D et 3D ont un grand

potentiel d'application en recherche privée et académique, pour identifier les réponses des mollusques aux contaminants émergents (microplastiques, algues toxiques [7]), aux polluants [8], et aux changements environnementaux [2,4,5,9] afin de développer une alternative aux modèles animaux en écotoxicologie.

Le projet se décline en 2 objectifs :

**Objectif 1 Développement de cultures de cellules 2D et 3D : avantages/inconvénients et leurs applications potentielles.**

- Développement de culture cellulaire 2D d'hémocytes de bivalves (huîtres *C. gigas*) et mise au point de la caractérisation fine des cultures 2D : quantité des hémocytes, viabilité, état structurel, différenciation, prolifération, métabolisme, fonctionnalité.
- Développement de culture cellulaire 3D (sphéroïdes) d'hémocytes et cardiomyocytes de *C. gigas* caractérisés par des populations hétérogènes en co-culture telles que *in vivo*.
- Analyse comparée de l'impact des changements de milieux de culture (condition physique du microenvironnement ; composition biologique du milieu) sur les cultures 2D et 3D par imagerie cellulaire fonctionnelle « Live-cell analysis ».
- Développement de tests écotoxicologiques standardisés sur les modèles 2D et 3D

**- Objectif 2 : Définir le potentiel d'application du modèle cellulaire 2D des hémocytes de *C. gigas* pour la recherche en biologie du cancer :**

De par son mode de vie dans la zone de balancement des marées, l'huître *C. gigas* possède des capacités particulières d'adaptation aux changements extrêmes du milieu dans lequel elle se trouve (larges variations de température, pH, salinité, oxygène, nutriments), et nous avons démontré qu'elle est naturellement capable de reprogrammer son métabolisme vers l'effet Warburg [1,2,10]. L'effet Warburg est l'une des caractéristiques des cellules cancéreuses chez l'homme [11]. C'est une véritable reprogrammation métabolique vers la glycolyse aérobie, permettant aux cellules cancéreuses de satisfaire leurs besoins énergétiques en fonction du microenvironnement de la tumeur [12,13]. Les modèles 2D d'hémocytes de *C. gigas* représentent ainsi un modèle d'intérêt pour étudier l'effet Warburg dans des conditions micro-environnementales si extrêmes, qu'elles ne pourraient pas être explorées chez des espèces modèles vertébrés. Les hémocytes 2D pourraient devenir de nouveaux modèles de Warburg pour la biologie du cancer [1]. Cet objectif 2 a pour but de :

- Développer les biomarqueurs métaboliques de Warburg (expression de gènes, protéines, métabolites, fonction OXPHOS, glycolyse, stress oxydant) dans les cultures 2D d'hémocytes
- Caractériser l'impact des conditionnements du microenvironnement physique (température, pH, oxygène, sels, osmolarité) et biologique (extraits, adjuvants) sur le métabolisme Warburg.

**Collaborations :**

Ce projet implique plusieurs partenaires qui offriront leur soutien scientifique et technique (culture cellulaire 2D et 3D, expression de gènes, analyse des fonctions cellulaires, métabolisme) et l'accès à des équipements de biologie cellulaire (enceintes thermostatées, cytomètre en flux, live-cell imager ©) et d'imagerie fonctionnelle (microscope à épifluorescence, microscope électronique à transmission).

**Profil recherché : Doctorat en Biologie Cellulaire**

- Compétences requises : culture cellulaire, biochimie, analyses statistiques, très bonnes qualités orales et rédactionnelles en anglais, autonomie et aptitude au travail en équipe
- Compétences souhaitables: une expérience en « live-cell analysis » (seahorse © ; Incucyte© ou Pico ©) serait un plus

**Critères d'éligibilité** (établis par les organismes financeurs de la bourse):

Le candidat devra avoir passé au minimum 18 mois à l'étranger entre le 1er mai 2017 et le démarrage du projet et avoir une thèse de moins de 3 ans.

**Pour candidater:**

Les candidatures doivent être envoyées avant le **15 juin 2021** à [stephanie.madec@univ-brest.fr](mailto:stephanie.madec@univ-brest.fr) et [charlotte.corporeau@ifremer.fr](mailto:charlotte.corporeau@ifremer.fr), et inclure:

- une lettre de motivation
- un CV complet
- les noms et les coordonnées de trois référents

- [1] C. Corporeau, A. Huvet, V. Pichereau, L. Delisle, C. Quéré, C. Dubreuil, S. Artigaud, C. Brenner, M. Meyenberg Cunha-De Padua, N. Mazure, *Crassostrea gigas*, une huître au service de la recherche sur le cancer, médecine/sciences. 35 (2019) 463–466. <https://doi.org/10.1051/medsci/2019079>.
- [2] C. Corporeau, D. Tamayo, F. Pernet, C. Quéré, S. Madec, Proteomic signatures of the oyster metabolic response to herpesvirus OsHV-1  $\mu$ Var infection, J Proteomics. 109 (2014) 176–187. <https://doi.org/10.1016/j.jprot.2014.06.030>.
- [3] L. Delisle, B. Petton, J.F. Burguin, B. Morga, C. Corporeau, F. Pernet, Temperature modulate disease susceptibility of the Pacific oyster *Crassostrea gigas* and virulence of the Ostreid herpesvirus type 1, Fish Shellfish Immunol. 80 (2018) 71–79. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2018.05.056>.
- [4] L. Delisle, M. Pauletto, J. Vidal-Dupiol, B. Petton, L. Bargelloni, C. Montagnani, F. Pernet, C. Corporeau, E. Fleury, High temperature induces transcriptomic changes in *Crassostrea gigas* that hinders progress of Ostreid herpesvirus (OsHV-1) and promotes survival, J Exp Biol. (2020) jeb.226233. <https://doi.org/10.1242/jeb.226233>.
- [5] M. Fuhrmann, L. Delisle, B. Petton, C. Corporeau, F. Pernet, Metabolism of the Pacific oyster, *Crassostrea gigas*, is influenced by salinity and modulates survival to the Ostreid herpesvirus OsHV-1, Biology Open. 7 (2018) bio028134. <https://doi.org/10.1242/bio.028134>.
- [6] C. Offret, S. Paulino, O. Gauthier, K. Château, A. Bidault, C. Corporeau, P. Miner, B. Petton, F. Pernet, C. Fabioux, C. Paillard, G.L. Blay, The marine intertidal zone shapes oyster and clam digestive bacterial microbiota, FEMS Microbiol Ecol. (n.d.). <https://doi.org/10.1093/femsec/fiaa078>.
- [7] R. Sussarellu, M. Suquet, Y. Thomas, C. Lambert, C. Fabioux, M.E.J. Pernet, N. Le Goic, V. Quillien, C. Mingant, Y. Epelboin, C. Corporeau, J. Guyomarch, J. Robbens, I. Paul-Pont, P. Soudant, A. Huvet, Oyster reproduction is affected by exposure to polystyrene microplastics, Proceedings Of The National Academy Of Sciences Of The United States Of America. 113 (2016) 2430–2435. <https://doi.org/10.1073/pnas.1519019113>.
- [8] Y. Epelboin, C. Quéré, F. Pernet, V. Pichereau, C. Corporeau, Energy and Antioxidant Responses of Pacific Oyster Exposed to Trace Levels of Pesticides, Chem. Res. Toxicol. 28 (2015) 1831–1841. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrestox.5b00269>.
- [9] E. Guévelou, A. Huvet, R. Sussarellu, M. Milan, X. Guo, L. Li, G. Zhang, V. Quillien, J.-Y. Daniel, C. Quéré, P. Boudry, C. Corporeau, Regulation of a truncated isoform of AMP-activated protein kinase  $\alpha$  (AMPK $\alpha$ ) in response to hypoxia in the muscle of Pacific oyster *Crassostrea gigas*, J. Comp. Physiol. B, Biochem. Syst. Environ. Physiol. 183 (2013) 597–611. <https://doi.org/10.1007/s00360-013-0743-6>.
- [10] L. Delisle, M. Fuhrmann, C. Quéré, M. Pauletto, V. Pichereau, F. Pernet, C. Corporeau, The Voltage-Dependent Anion Channel (VDAC) of Pacific Oysters *Crassostrea gigas* Is Upaccumulated During Infection by the Ostreid Herpesvirus-1 (OsHV-1): an Indicator of the Warburg Effect, Mar Biotechnol. 20 (2018) 87–97. <https://doi.org/10.1007/s10126-017-9789-x>.
- [11] O. Warburg, On the origin of cancer cells, Science. 123 (1956) 309–314.
- [12] J.S. Burns, G. Manda, Metabolic Pathways of the Warburg Effect in Health and Disease: Perspectives of Choice, Chain or Chance, Int J Mol Sci. 18 (2017). <https://doi.org/10.3390/ijms18122755>.
- [13] H.T. Nia, L.L. Munn, R.K. Jain, Physical traits of cancer, Science. 370 (2020) eaaz0868. <https://doi.org/10.1126/science.aaz0868>.
- [14] MN Faber, JM Sojan, M saraiva, P van West, C J Secombes, Development of a 3D spheroid cell culture system from fish cell lines for in vitro infection studies: Evaluation with *Saprolegnia parasitica*, J Fish Dis. (2021) doi: 10.1111/jfd.13331.