

Le tic tac de l'horloge épigénétique : un nouvel outil d'estimation de l'âge des poissons au service de l'évaluation des stocks halieutiques

Le champ de la génomique gagne peu à peu tous les domaines de la recherche. Vous avez peut-être déjà entendu parler de l'ADN mitochondrial utilisé comme code-barres pour confirmer le nom d'une espèce non identifiable à l'œil nu, comme lorsque l'on cherche à savoir quelle espèce se cache dans un produit transformé (Pollack *et al.* 2018). Peut-être avez-vous lu des études axées sur la prédiction des effets du changement climatique à partir de la variation génétique existante au sein d'une population donnée (par exemple, Capblancq *et al.* 2020). Autre application fascinante : saviez-vous que la génomique (ou épigénomique) était de plus en plus utilisée pour estimer l'âge des spécimens ? Cet outil, appelé horloge épigénétique, peut être utile dans tous les domaines, de l'identification des risques de maladies liées à l'âge chez l'être humain à l'estimation de la croissance des thons dans le cadre des évaluations de stock.

La théorie de l'horloge épigénétique est assez bien pensée. Lorsqu'un individu prend de l'âge, son ADN évolue avec lui. Dès lors que l'on quantifie les altérations qui surviennent à un rythme prévisible dans la structure de l'ADN, on peut, avec quelques formules algébriques simples, calculer depuis combien de temps ces altérations se produisent et, partant, estimer l'âge de l'individu.

Plus particulièrement, le vieillissement de l'ADN se manifeste sous diverses formes, notamment au niveau épigénétique. Le vieillissement épigénétique se distingue du mode plus connu d'altération de l'ADN, qui se caractérise par la dégradation de la séquence même du génome ou par des mutations du génome pouvant entraîner le dysfonctionnement de certaines protéines et, à terme, entraîner le déclin de l'individu. À l'inverse, les processus épigénétiques modifient la structure de la molécule sans

porter atteinte à la séquence de l'ADN. Le vieillissement épigénétique se produit quand des groupements méthyle supplémentaires viennent se fixer sur les groupements phosphate formant le squelette de la molécule d'ADN dans des régions clés, appelées dinucléotides CpG, où une cytosine précède une guanine dans le code génétique. En présence de groupements méthyle supplémentaires, il est plus difficile pour les enzymes de se lier à l'ADN et de démarrer la fabrication des protéines. Puisque la synthèse des protéines est freinée, la productivité cellulaire décroît, entraînant une baisse générale de vivacité dans l'organisme et une augmentation des risques de maladies causées par des dérèglements cellulaires, comme les cancers. En fait, si la méthylation de l'ADN offre un outil particulièrement performant pour estimer l'âge des organismes, c'est en partie parce que, plutôt que de faire appel à des indicateurs indirects, elle quantifie directement l'un des principaux mécanismes de vieillissement.

L'observation de la méthylation (et de l'horloge épigénétique qui la mesure) présente un autre avantage indéniable : l'efficacité de la collecte de données. Moyennant quelques travaux préparatoires en laboratoire pour sélectionner la portion du génome la plus intéressante à observer, ainsi que quelques analyses statistiques destinées à quantifier la relation entre l'âge connu et le taux de méthylation dans ces régions clés du génome (comme on le fait pour n'importe quelle courbe de prédiction de l'âge à partir d'une variable), il est possible d'estimer l'âge d'un organisme par séquençage hautement ciblé de l'ADN traité par bisulfite – en génomique, cela nous donne un test prêt à l'emploi. Une fois que la méthodologie est en place pour une espèce, le nombre de spécimens pouvant être analysés simultanément n'a de limite que la capacité de séquençage du laboratoire.

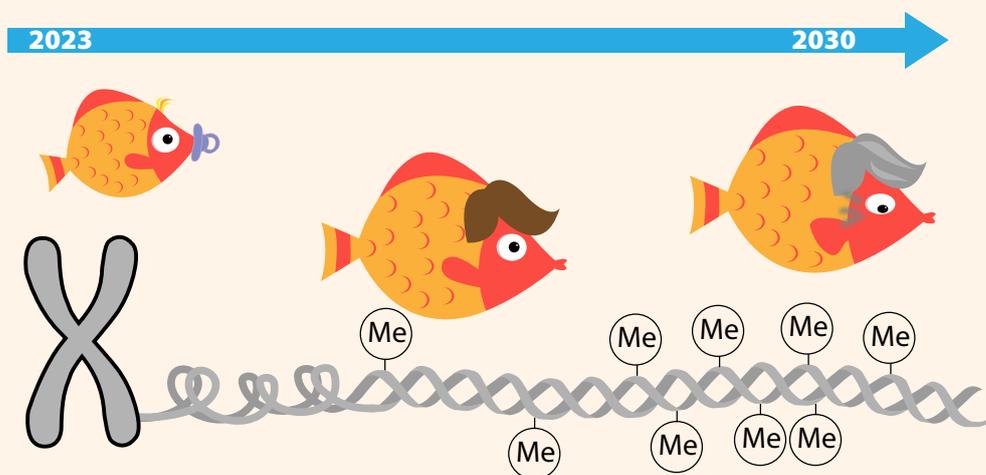
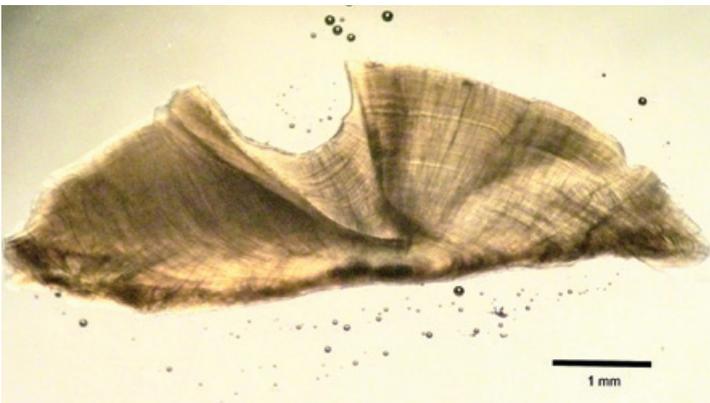


Schéma simplifié du vieillissement épigénétique. Des groupements méthyle supplémentaires (Me) viennent se fixer sur les groupements phosphate formant le squelette d'une molécule d'ADN, ce qui en modifie la structure.



Le procédé de prélèvement des otolithes d'un thon n'est pas simple et nécessite de tuer le poisson. (© Malo Hosken, CPS)



Vue au microscope d'un otolithe (prélevé sur un vivaneau rouge). (© CPS 2012)

Pourtant, la méthode de référence pour estimer l'âge des poissons reste à ce jour l'otolithométrie. Le procédé consiste à prélever les petites concrétions calcaires (otolithes) de chaque spécimen (après ouverture de la cavité cérébrale du poisson), à fixer les délicates structures calcaires dans de la résine, à préparer des coupes d'un millimètre d'épaisseur pour ensuite les observer au microscope et (si on a de la chance) à compter le nombre d'anneaux de croissance, qui peuvent servir d'indicateur indirect du nombre d'années vécues. Le procédé est chronophage et difficilement automatisable, et le dénombrement des anneaux peut être étonnamment subjectif. En outre, et c'est particulièrement pertinent pour un grand nombre d'espèces pêchées dans le Pacifique, les otolithes des espèces strictement tropicales ne présentent pas d'anneaux saisonniers bien distincts, car ces espèces ne sont pas exposées à des cycles saisonniers marqués ou

à de grands changements de régime. Par conséquent, pour des espèces telles que la bonite, même la méthode de référence sera de peu de secours pour estimer l'âge des poissons.

Bien entendu, les horloges épigénétiques présentent aussi des lacunes. La précision d'une horloge épigénétique est fonction des données utilisées pour la calibrer. On utilise l'otolithométrie pour la quasi-totalité des poissons téléostéens. Ainsi, l'incertitude relative à la détermination de l'âge par les otolithes se répercute dans les intervalles de confiance de l'horloge. En outre, les calculs des horloges épigénétiques génèrent eux aussi des incertitudes. En particulier, la méthylation est liée à l'âge biologique d'un organisme, et non à son âge chronologique. Cette limite nous renvoie au fait que l'horloge observe un mécanisme réel de vieillissement, qui variera en fonction de l'individu en réponse à des facteurs génétiques et environnementaux. Par exemple, chez l'être humain, la dégradation précoce de la qualité de vie peut être attribuée à divers facteurs : antécédents familiaux, alimentation déséquilibrée, tabagisme, sédentarité, ou proximité d'une activité polluante. On observe des variations similaires chez les poissons. L'observation directe de l'âge biologique au moyen d'une horloge épigénétique est extrêmement utile dans certains contextes (par exemple, pour la prédiction du risque de mortalité toutes causes confondues), mais les estimations relatives à l'âge absolu peuvent perdre en exactitude et en précision si l'ensemble de données d'entraînement est à certains égards peu représentatif de la population, par exemple s'il existe un biais spatial ou temporel ou si les données ne représentent que certaines classes d'âge.

Malgré ces risques, la datation épigénétique ne cesse de gagner en popularité. Aujourd'hui, il existe des horloges épigénétiques transcendant la barrière des espèces. On trouve ainsi une horloge unique pour tous les mammifères analysés (Wang

et al. 2020) et des horloges humaines présentant un tel niveau de sensibilité qu'elles peuvent s'appliquer à plusieurs types de tissus (Voisin et al. 2020). Certains chercheurs tentent également de comprendre comment les profils de méthylation se conservent d'un taxon à l'autre. Cette information permettra d'accélérer la mise au point de tests pour les espèces dont le génome n'a pas encore été cartographié et pour celles qui ne peuvent faire l'objet d'un calibrage indépendant (comme la bonite). La Communauté du Pacifique travaille à la construction d'horloges épigénétiques pour les vivaneaux profonds, tels que le vivaneau la flamme (*Etelis coruscans*), et le thon germon (*Ibunnus alalunga*). Ces outils contribueront aux futures évaluations des stocks, dans la mesure où ils permettront de mieux comprendre la structure d'âge des stocks de vivaneaux et de générer des informations essentielles sur l'âge en vue de la toute première étude de marquage-recapture d'individus apparentés (« close-kin mark-recapture » ou CKMR) pour le germon, qui vise à estimer la taille absolue de la population adulte du stock de germon du Pacifique Sud.

L'étude relative au germon illustre parfaitement la contribution des horloges épigénétiques aux travaux de recherche menés dans d'autres domaines, où elles permettent de contourner certains obstacles logistiques. Pour obtenir un résultat fiable, il faudra pouvoir appliquer la méthode CKMR aux données relatives à l'âge et aux séquences génomiques de 25 000 à 30 000 spécimens de germon en l'espace de quelques années. Il est difficilement envisageable, voire impossible, de dater un aussi grand nombre d'otolithes pendant la durée de vie du projet. En outre, l'étude prévoit d'échantillonner des poissons issus de la pêche professionnelle, et on peut s'attendre à ce que les pêcheurs participant au projet ne voient pas d'un bon œil que l'on vienne mutiler leurs précieuses captures pour en extraire des otolithes. Pour déterminer l'âge des poissons, la seule autre méthode envisageable est l'étude des courbes de croissance (longueur-âge), mais elle introduira un niveau d'incertitude inadéquat dans les données relatives à l'âge. Quant à la méthode CKMR, elle nécessite déjà le prélèvement d'une petite quantité de tissus aux fins des analyses génétiques, tissus qui peuvent être utilisés pour les tests épigénétiques. Si l'on exclut le recours aux horloges épigénétiques pour déterminer l'âge des poissons, il sera difficile d'appliquer la méthode CKMR aux germons.

Les avantages de l'épigénétique l'emportent ici sur les inconvénients. Le recours à une horloge épigénétique permet d'éliminer un obstacle logistique majeur dans la recherche halieutique, puisqu'il permet de déterminer simultanément l'âge de centaines d'individus à partir de quelques millimètres cubes de tissu musculaire, prélevé de manière non invasive et non létale. Dans un avenir proche, il sera possible d'appliquer la méthode CKMR à des espèces présentant une biomasse supérieure et de valider les courbes de croissance ou les hypothèses relatives à l'âge à la maturité, qui ont une influence majeure sur les évaluations des stocks. Et les applications de cet outil ne feront que se multiplier et se diversifier à l'avenir.

Bibliographie

- Bravington M., Nicol S., Anderson G., Farley J., Hampton J., Castillo-Jordon C. and Macdonald J. 2021. South Pacific albacore close-kin mark-recapture: Update on design (Project 100b). Information paper to the Western and Central Pacific Fisheries Commission Scientific Committee, 17th Regular Session. <https://purl.org/spc/digilib/doc/8z8d4>
- Capblancq T., Morin X., Geuguen M., Renaud J., Lobreaux S., Bazin E. 2020. Climate-associated genetic variation in *Fagus sylvatica* and potential responses to climate change in the French Alps. *Journal of Evolutionary Biology* 33(6):783–796. DOI: [10.1111/jeb.13610](https://doi.org/10.1111/jeb.13610)
- Li Y. and Tollefsbol T.O. 2011. DNA methylation detection: Bisulfite genomic sequencing analysis. *Methods in Molecular Biology* 791:11–21. DOI: [10.1007/978-1-61779-316-5_2](https://doi.org/10.1007/978-1-61779-316-5_2)
- Pollack S., Kawalek M., Williams-Hill D. and Hellberg R. 2018. Evaluation of DNA barcoding methodologies for the identification of fish species in cooked products. *Food Control* 84:297–304. DOI: [10.1016/j.foodcont.2017.08.013](https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2017.08.013)
- Voisin S., Harvey N.R., Haupt L.M., Griffiths L.R., Ashton K.J., Coffey V.G., Doering T.M., Thompson J.M., Benedict C., Cedernaes J., Lindholm M.E., Craig J.M., Rowlands D.S., Sharples A.P., Horvath S. and Eynon N. 2020. An epigenetic clock for human skeletal muscle. *Journal of Cachexia, Sarcopenia and Muscle* 11:887–898. DOI: [10.1002/jcsm.12556](https://doi.org/10.1002/jcsm.12556)
- Wang T., Ma J., Hogan A., Fong S., Licon K., Tsui B., Kreisberg J., Adams P., Carvunis R., Bannasch L., Ostrander E. and Ideker T. 2020. Quantitative translation of dog-to-human aging by conserved remodeling of the DNA methylome. *Cell Systems* 11(2):176–185. DOI: [10.1016/j.cels.2020.06.006](https://doi.org/10.1016/j.cels.2020.06.006)

Pour plus d'informations :

Giulia Anderson

Généticienne moléculaire (pêches), CPS

GiuliaA@spc.int

Jed Macdonald

Chargé de recherche halieutique principal
(écologie et biologie des thonidés), CPS

JedM@spc.int