

Stage proposé par

Nom et adresse du Laboratoire ou de l'Unité :
Unité de Biologie de la Reproduction, Environnement, Epigénétique et Développement
INRAE domaine de Vilvert,
78352 Jouy-en-josas

Téléphone : 01 34 65 22 53
Mail : maelle.pannetier@inrae.fr
Site internet : <https://www6.jouy.inrae.fr/breed/>
Directeur du Laboratoire ou de l'Unité : Dr. Pascale Chavatte-Palmer

Intitulé de l'équipe d'accueil : Différenciation Gonadique et ses Perturbations

Prénom et NOM du Responsable de l'équipe : Eric PAILHOUX

Résumé du thème de recherche de l'équipe (une dizaine de lignes maximum)

La fertilité d'un individu dépend d'une part de la quantité et de la qualité des gamètes, et d'autre part, du dialogue harmonieux des cellules germinales avec les cellules somatiques au sein des gonades. Ces paramètres sont déterminés très tôt chez le fœtus de mammifère, dès le moment où les cellules germinales colonisent les crêtes génitales. La multiplication de ces cellules germinales primordiales est une première étape clef de l'acquisition de la fertilité. Une deuxième étape concerne leur différenciation et leur entrée en méiose. Tout au long des différenciations des cellules germinales, les cellules somatiques des gonades vont se co-différencier et jouer un rôle clé dans l'élaboration des futurs gamètes et le développement des dimorphismes sexuels. Notre équipe s'intéresse aux gènes impliqués dans ces processus de différenciation dans les deux sexes, en caractérisant leur fonction et/ou leur régulation chez des modèles animaux tels que la souris, le lapin, et les ruminants.

Titre du projet de stage :

Différenciation sexuelle des cellules germinales et reprogrammation épigénétique dans le testicule fœtal bovin.

Prénom, NOM, téléphone et adresse e-mail du Responsable du stage:

Maëlle PANNETIER
01 34 65 22 53
maelle.pannetier@inrae.fr

Projet de stage : (une vingtaine de lignes maximum)

La fertilité des individus, ainsi que la transmission d'informations génétiques et épigénétiques à leur descendance sont intimement liées au bon déroulement de la différenciation de la lignée germinale. Les premières étapes de cette différenciation débutent dès la vie *in utero* chez les mammifères, de façon concomitante pour les femelles et les mâles, bien que les cellules germinales prennent des voies radicalement différentes. Alors que les cellules germinales XX s'engagent dans la première phase de division méiotique dans l'ovaire fœtal, les cellules germinales XY des testicules cessent de proliférer (blocage en phase G0 / G1 du cycle cellulaire), tandis qu'apparaissent les premiers marqueurs de différenciation et que s'initie la reprogrammation épigénétique de leur génome. Si ces processus sont bien décrits chez la souris, ils semblent différer chez l'homme et ils gardent encore leur part de mystère chez les espèces d'élevage telles que les ruminants. Ainsi, la détermination du « destin mâle » des cellules germinales primordiales XY ou la dynamique de leurs reprogrammations épigénétiques sont totalement inconnues dans l'espèce bovine. Or, ces étapes très

précoces qui déterminent la fertilité de l'adulte en devenir, pourraient être affectées par des changements d'environnement. Par exemple, il a été montré que l'alimentation maternelle pendant la gestation avait un impact sur la fertilité du futur taureau. La compréhension des processus de détermination / différenciation précoce des spermatogonies chez les fœtus apparaît alors cruciale.

Ainsi, chez les bovins, nous avons d'abord déterminé le stade développemental d'intérêt. Puis, par des analyses immunohistologiques et transcriptomiques, nous avons mis en évidence que les processus de détermination / différenciation des cellules germinales XY semblaient être très rapides chez les bovins, car des profils très différents ont été obtenus à partir d'animaux du même stade gestationnel (+/- quelques heures). En particulier, une re-méthylation est rapidement détectée par immunofluorescence, et le pattern associé suggère qu'elle concernerait les séquences centromériques des chromosomes bovins (séquences satellites).

Le stage proposé aura pour principaux objectifs (i) de mieux décrire le déroulement de la reprogrammation de l'épigénome des cellules germinales dans le testicule fœtal, à l'aide de différents marqueurs (immunofluorescence simple et double) et de techniques d'imagerie de pointe (apoptome) et (ii) de caractériser les séquences qui sont rapidement re-méthylées par la technique de DNA FISH (collaboration intra-unité ; Amélie Bonnet-Garnier). En parallèle, des données de transcriptomique à haut débit (RNA-sequencing) obtenues à partir de différents échantillons (avant, pendant et après cette étape cruciale) sont disponibles et seront à analyser au cours du stage (analyses bio-informatiques et validations RT-qPCR). Ces données transcriptomiques seront utiles pour décrire les processus de différenciation des cellules germinales XY dans les testicules fœtaux bovins.

Techniques mises en œuvre par le stagiaire :

Immunofluorescence sur coupes. DNA FISH sur coupes. Acquisition et traitement d'images (Apoptome, puis ImageJ ou Photoshop). Analyses de données issues de RNA-sequencing (outil bio-informatique : DAVID, EnrichR..). Extractions d'ARN et RT-qPCR.

Publications du Responsable de stage au cours des 5 dernières années :

Eozenou C, Lesage-Padilla A, Mauffré V, Healey GD, Camous S, Bolifraud P, Giraud-Delville C, Vaiman D, Shimizu T, Miyamoto A, Sheldon IM, Constant F, **Pannetier M**, Sandra O. *FOXL2 is a Progesterone Target Gene in the Endometrium of Ruminants. Int J Mol Sci.* **2020** Feb 21;21(4):1478.

Nicol B, Grimm SA, Chalmel F, Lecluze E, **Pannetier M**, Pailhoux E, Dupin-De-Beyssat E, Guiguen Y, Capel B, Yao HH. *RUNX1 maintains the identity of the fetal ovary through an interplay with FOXL2. Nat Commun.* **2019** Nov 11;10(1):5116.

Herpin A, Schmidt C, Kneitz S, Gobé C, Regensburger M, Le Cam A, Montfort J, Adolphi MC, Lillesaar C, Wilhelm D, Kraeussling M, Mourot B, Porcon B, **Pannetier M**, Pailhoux E, Ettwiller L, Dolle D, Guiguen Y, Scharl M. A novel evolutionary conserved mechanism of RNA stability regulates synexpression of primordial germ cell-specific genes prior to the sex-determination stage in medaka. *PLoS Biol.* **2019** Apr 4;17(4):e3000185.

Gobé C, Elzaiat M, Meunier N, André M, Sellem E, Congar P, Jouneau L, Allais-Bonnet A, Naciri I, Passet B, Pailhoux E, **Pannetier M**. Dual role of DMXL2 in olfactory information transmission and the first wave of spermatogenesis. *PLoS Genet.* **2019** Feb 8;15(2):e1007909.

Bertho S, Herpin A, Branthonne A, Jouanno E, Yano A, Nicol B, Muller T, Pannetier M, Pailhoux E, Miwa M, Yoshizaki G, Scharl M, Guiguen Y. The unusual rainbow trout sex determination gene hijacked the canonical vertebrate gonadal differentiation pathway. *Proc Natl Acad Sci U S A.* **2018** Dec 11;115(50):12781-12786.

David SA, Piégu B, Hennequet-Antier C, **Pannetier M**, Aguirre-Lavin T, Crochet S, Bordeau T, Couroussé N, Brionne A, Bigot Y, Collin A, Coustham V. An assessment of fixed and native chromatin preparation methods to study histone post-translational modifications at a whole genome scale in skeletal muscle tissue. *Biol Proced Online.* **2017** Aug 29;19:10.

Pannetier M, Chassot AA, Chaboissier MC, Pailhoux E. Involvement of FOXL2 and RSPO1 in

Ovarian Determination, Development, and Maintenance in Mammals. **Sex Dev.** 2016;10(4):167-184.

Allais-Bonnet A, Castille J, **Pannetier M**, Passet B, Elzaïat M, André M, Montazer-Torbati F, Moazami-Goudarzi K, Vilotte JL, Pailhoux E. A specific role for PRND in goat foetal Leydig cells is suggested by prion family gene expression during gonad development in goats and mice. **FEBS Open Bio.** 2016 Jan 14;6(1):4-15

Autres informations:

Etudiants actuellement en thèse ou en M2 dans l'équipe d'accueil. Pour chaque étudiant indiquez le nom du responsable de thèse, l'année du début de la thèse et l'Ecole Doctorale de rattachement

Manon Chadourne.

Responsable de thèse : Béatrice Mandon-Pépin (co-direction Eric Pailhoux)
Début de thèse : Octobre 2017.
ED BioSigne

Audrey Albina

Responsable M2: Maëlle PANNETIER
M2 Reprodev : 2019-2020

Laury Cocquerel

Responsable M2 : Geneviève Jolivet
M2 Predictive and Integrative Animal Biology: 2019-2020

Etudiants ayant préparé ou soutenu leur thèse ou leur M2 dans l'équipe d'accueil au cours des six dernières années. Pour chaque étudiant indiquez le nom du responsable de l'étudiant, l'année du début de la thèse et de fin de la thèse, l'Ecole Doctorale de rattachement et le devenir de l'étudiant.

- **Master 2 et Thèses :**

Maëva Elzaïat

Responsable de thèse : Maëlle PANNETIER (co-direction Eric Pailhoux)
M2 Reprodev 2010-2011
Thèse 2011-2015
ED BioSigne
ATER, puis Post-doctorat à l'Institut Jacques Monod (Equipe R. Veitia)

Alix Luangpraseuth,

Responsable de thèse : Béatrice Mandon-Pépin (Codirection avec C. Cotinot)
M2 Reprodev 2010-2011,
Thèse 2011-2015
ED Gènes Génomes, Cellules.
Changement d'orientation

Clara Gobé

Responsables de thèse : Maëlle PANNETIER (co-direction Eric Pailhoux)
M2 Reprodev 2013-2014
Thèse 2014-2018
ED BioSigne
Post-doctorat à l'Institut Cochin (Equipe D. Vaiman ; J. Cocquet)

- **Master 2 uniquement :**

Mathilde Bourdon,

Responsable : Geneviève Jolivet
M2 Reprodev 2014-2015,
Médecin

Fanny Husson,

Responsable : Béatrice Mandon-Pépin
M2 Reprodev 2014-2015,
AI CNRS, UMR 7622 – Biologie du Développement UPMC

Saïdine Olcaïd,

Responsable: Dominique Thépot
M2 Génétique, Génomes et Evolution, 2014-2015,
Changement d'orientation

Pauline Dubois

Responsable : Eric Pailhoux
M2 Reprodev 2017-2018,
Médecin

Jedida Ndong

Responsable: Eric Pailhoux
M2 Reprodev : 2018-2019
Changement d'orientation

Cette proposition de stage s'adresse-t-elle spécifiquement à un étudiant scientifique, médecin ou vétérinaire ou bien est-il ouvert à tous les profils ?

Tous les profils

Ce sujet peut-il donner lieu à une thèse ?

Oui