

Stage proposé par

Nom et adresse du Laboratoire ou de l'Unité :
Génétique Animale et Biologie Intégrative – INRA- 78350 Jouy-en-Josas
Téléphone : 0134652576
Mail : pierre.calvel@agroparistech.fr
katayoun.Goudarzi@inra.fr
Site internet : <http://www6.jouy.inra.fr/gabi>
Directeur du Laboratoire ou de l'Unité : Claire Rogel-Gaillard

Intitulé de l'équipe d'accueil : Modèles animaux et Différenciation Tissulaire (MoDiT)

Prénom et NOM du Responsable de l'équipe : Jean-Luc Vilotte

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

L'équipe MoDiT, créée début 2014, vise à analyser la fonction biologique de gènes impliqués dans le développement et la différenciation tissulaire et/ou récemment trouvés associés à des défauts du développement précoce, pouvant affecter le tissu nerveux. Ces anomalies génétiques regroupent notamment des ataxies et axonopathies, identifiées à travers notre participation à l'ONAB (Observatoire National des Anomalies Bovines).

L'ensemble de ces gènes est de fonction globalement méconnue, à expression multi-tissulaire, voire ubiquiste. Nos analyses s'appuient principalement sur la production de modèles transgéniques souris. Cette production est réalisée par nos soins et peut consister en une surexpression d'un gène, son invalidation ou sa mutagenèse dirigée

Titre du projet de stage : Effet de l'expression de la protéine Doppel dans les cellules de Sertoli sur la fertilité mâle chez la souris.

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

Pierre CALVEL, Tel : 01.44.08.18.52, Mel : pierre.calvel@agroparistech.fr
Katayoun Moazami-Goudarzi, Tel : 01 34 65 25 72, Mel : katayoun.Goudarzi@inra.fr

Projet de stage :

La maîtrise de la reproduction chez les mammifères d'élevage constitue un champ de recherche en pleine expansion, impliquant des enjeux économiques et sociétaux importants. Dans ce contexte, le gène *Prnd*, codant pour la protéine Doppel, a été identifié comme un acteur majeur de la fertilité mâle chez de nombreuses espèces. Il est fortement exprimé dans le testicule et nos récents travaux suggèrent une expression importante de ce gène dans les cellules germinales mâles et dans les cellules de Sertoli chez la souris adulte. Par ailleurs, l'invalidation de ce gène conduit à une stérilité associée à un défaut tardif de spermatogénèse, sans pour autant que les causes de ce phénotype ne soit élucidées (récente revue de Allais-Bonnet et Pailhous, 2014). Nous nous proposons d'étudier le phénotype de stérilité murine associé à l'invalidation complète du gène *Prnd* chez la souris en recherchant l'origine cellulaire du phénotype de stérilité observé chez ces animaux. Dans un premier temps, nous avons réalisé une lignée de souris contenant une construction AMH-*Prnd* introduite par transgénèse additive dans des souris FVB/N *Prnd* invalidées. Ce modèle de sauvetage fonctionnel, qui nous a montré qu'une ré-expression de Doppel limitée aux seules cellules de Sertoli permet une récupération partielle de la fertilité des souris mutantes, fera l'objet d'une étude complète lors de ce stage. Dans un second temps, cette stratégie sera reproduite pour permettre une réexpression ciblée de Doppel dans les cellules germinales mâles, en plaçant le promoteur du gène *VASA* en amont du gène *Prnd*. L'introduction de cette construction *VASA-Prnd* par transgénèse additive dans les souris mâles FVB/N *Prnd* invalidées permettra d'évaluer si l'expression de Doppel dans les cellules germinales est également requise pour la production d'un sperme fertile. Enfin, une recherche de promoteurs testicule-spécifique en amont de Doppel et de leurs facteurs de transcription associés sera entreprise.

Techniques mises en œuvre par le stagiaire : Clonage, géotypage, dissection de l'appareil urogénital de souris, analyse histologique d'échantillons biologiques, Immunofluorescence, Hybridation in Situ, PCRq, microscopie électronique, recherche de promoteurs transcriptionnels.

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

A Case of Wiedemann-Steiner Syndrome Associated with a 46,XY Disorder of Sexual Development and Gonadal Dysgenesis.

Calvel P, Kusz-Zamelczyk K, Makrythanasis P, Janecki D, Borel C, Conne B, Vannier A, Béna F, Gimelli S, Fichna P, Antonarakis SE, Nef S, Jaruzelska J. *Sex Dev.* 2015

The dynamic transcriptional profile of Sertoli cells during the progression of spermatogenesis.

Zimmermann C, Stévant I, Borel C, Conne B, Pitetti JL, Calvel P, Kaessmann H, Jégou B, Chalmel F, Nef S. *Mol Endocrinol.* 2015

Loss of function mutation in the palmitoyl-transferase HHAT leads to syndromic 46,XY disorder of sex development by impeding Hedgehog protein palmitoylation and signaling.

Callier P*, Calvel P*, Matevossian A*, Makrythanasis P, Kurosaka H, Vannier A, Thauvin-Robinet C, Bernard P, Borel C, Mazaud-Guittot S, Rolland AD, Desdoits-Lethimonier C, Guipponi M, Zimmermann C, Kuhne F, Conne B, Santoni F, Lambert S, Huet F, Mugneret F, Jaruzelska J, Faivre L, Wilhelm D, Jégou B, Trainor PA, Resh MD, Antonarakis SE, Nef S. *Plos Genetics.* 2014

An essential role for insulin and IGF1 receptors in regulating sertoli cell proliferation, testis size, and FSH action in mice.

Pitetti JL, Calvel P, Zimmermann C, Conne B, Papaioannou MD, Aubry F, Cederroth CR, Urner F, Fumel B, Crausaz M, Docquier M, Herrera PL, Pralong F, Germond M, Guillou F, Jégou B, Nef S. *Mol Endocrinol.* 2013

Insulin and IGF1 Receptors Are Essential for XX and XY Gonadal Differentiation and Adrenal Development in Mice.

Pitetti JL*, Calvel P*, Romero Y, Conne B, Truong V, Papaioannou MD, Schaad O, Docquier M, Herrera PL, Parada LF, Wilhelm D and Nef S. *Plos Genetics.* 2013

Identification of genital tract markers in the human seminal plasma using an integrative genomics approach.

Rolland AD, Lavigne R, Dauly C, Calvel P, Kervarrec C, Freour T, Evrard B, Rioux-Leclercq N, Auger J, Pineau C. *Hum Reprod.* 2012

The Glucocorticoid-induced leucine zipper (GILZ) Is essential for spermatogonial survival and spermatogenesis.

Romero Y, Vuandaba M, Suarez P, Grey C, Calvel P, Conne B, Pearce D, de Massy B, Hummler E, Nef S. *Sex Dev.* 2012

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

L. Helary 2016 M2 AgroCampus Rennes Amandine Duchesne

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.

M. Le Marchand (P Calvel, 2016-2017, M2 ReproDev)

K. Chachondia (JL Vilotte, 2012, Master Européen AgroParisTech)

M. Khalifé (JL Vilotte, 2009-2011, Thèse UVSQ, post-doctorante)
B. Passet (JL Vilotte, 2010-2012, Thèse UVSQ, IE1 INRA)

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 profils

Ce sujet peut-il donner lieu à une thèse ?

Oui