

Stage proposé par Amélie Bonnet-Garnier et Alice Jouneau
Chargées de recherches INRA

Nom et adresse du Laboratoire ou de l'Unité :
UMR 1198 Biologie du Développement et Reproduction INRA, 78352 Jouy en Josas Cedex.

Téléphone : 01 34 65 23 79 et 01 34 65 25 68
Mail : amelie.bonnet-garnier@jouy.inra.fr et alice.jouneau@jouy.inra.fr

Site internet :
Directeur du Laboratoire ou de l'Unité : Corinne Cotinot

Intitulé de l'équipe d'accueil : EPEE : Embryon et Pluripotence , Epigénétique et environnement

Prénom et NOM du Responsable de l'équipe : Véronique Duranthon

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

Dans l'embryon, la pluripotence est un état transitoire qui se met en place dans les précurseurs de l'épiblaste au sein de l'ICM et prend fin avec la gastrulation. Des données convergentes obtenues d'abord *in vitro* puis *in vivo*, indiquent que la pluripotence se manifeste sous deux états, naïf d'abord, caractéristique des cellules de l'ICM, puis amorcé, lors de la maturation de l'épiblaste. Notre objectif est de comprendre comment les mécanismes épigénétiques et les voies de signalisation coopèrent pour mettre en place la pluripotence et contrôler la transition entre ses deux états. Nous nous intéressons également à la dynamique de la structure chromatinienne, via les modifications épigénétiques qui sont susceptibles de moduler l'activité transcriptionnelle du génome.

Titre du projet de stage : Etude de l'organisation de l'hétérochromatine en lien avec l'état de pluripotence au cours du développement précoce chez la souris

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

Amélie Bonnet-Garnier 01 34 65 23 79. amelie.bonnet-garnier@jouy.inra.fr
Alice Jouneau : 01 34 65 25 68 alice.jouneau@jouy.inra.fr

Projet de stage : (une vingtaine de lignes maximum)

Il existe différents types de cellules pluripotentes chez la souris qui ont été dérivées *in vitro*, et qui du point de vue transcriptionnel correspondent à différents stades de développement de l'épiblaste *in vivo*. Sur ces lignées cellulaires, de nombreuses données, déjà acquises par de nombreuses équipes dont la nôtre, permettent de définir le paysage épigénétique : méthylation de l'ADN, organisation de l'hétérochromatine, distribution des marques d'histones. En revanche très peu de données sont disponibles dans l'embryon et on ne sait donc pas dans quelle mesure les lignées cellulaires pluripotentes reflètent la réalité du paysage épigénétique « *in embryo* ».

Au cours du stage, l'étudiant étudiera l'organisation de l'hétérochromatine et notamment la distribution des marques d'histones dans l'embryon au cours de la mise en place de l'épiblaste. Des analyses fonctionnelles du rôle de cette organisation sur la mise en place de la pluripotence pourront également être réalisées à l'aide d'inhibiteurs de la machinerie épigénétique.

Mots-clés : chromatine, méthylation de l'ADN, H3K9me3, H3K27me3, pluripotence, épiblaste.

Techniques mises en œuvre par le stagiaire :

Collecte et dissection d'embryons de souris sous loupe binoculaire.

Immunomarquage et hybridation *in situ* d'ADN en fluorescence développées au laboratoire sur le matériel spécifique qu'est l'embryon en préservant la structure en trois dimension des noyaux.

Analyse des images à l'aide de logiciels spécialisés (ImageJ, Amira).

RT-PCR quantitative afin de quantifier les taux de transcriptions de gènes ou de séquences d'intérêts
Western-Blot afin de quantifier le niveau global des protéines d'intérêts.

Publications des Responsables de stage au cours des 5 dernières années :

- Three-Dimensional Distribution of UBF and Nopp140 in Relationship to Ribosomal DNA Transcription During Mouse Preimplantation Development. Koné MC, Fleurot R, Chebrou M, Debey P, Beaujean N, Bonnet-Garnier A. Biol Reprod. 2016 Apr;94(4):95. doi: 10.1095/biolreprod.115.136366. Epub 2016 Mar 16.
- From Naive to Primed Pluripotency: In Vitro Conversion of Mouse Embryonic Stem Cells in Epiblast Stem Cells. Tosolini M, Jouneau A. Methods Mol Biol. 2016;1341:209-16. doi: 10.1007/7651_2015_208.
- Acquiring Ground State Pluripotency: Switching Mouse Embryonic Stem Cells from Serum/LIF Medium to 2i/LIF Medium. Tosolini M, Jouneau A. Methods Mol Biol. 2016;1341:41-8. doi: 10.1007/7651_2015_207.
- Stable methylation at promoters distinguishes epiblast stem cells from embryonic stem cells and the in vivo epiblasts. Veillard AC, Marks H, Bernardo AS, Jouneau L, Laloë D, Boulanger L, Kaan A, Brochard V, Tosolini M, Pedersen R, Stunnenberg H, Jouneau A. Stem Cells Dev. 2014 Sep 1;23(17):2014-29. doi: 10.1089/scd.2013.0639.
- iTRAQ proteome analysis reflects a progressed differentiation state of epiblast derived versus inner cell mass derived murine embryonic stem cells. Fröhlich T, Kösters M, Graf A, Wolf E, Kobolak J, Brochard V, Dinnyés A, Jouneau A, Arnold GJ. J Proteomics. 2013 Sep 2;90:38-51. doi: 10.1016/j.jprot.2013.03.015. Epub 2013 Apr 18.
- Efficient derivation of bovine embryonic stem cells needs more than active core pluripotency factors. Maruotti J, Muñoz M, Degrelle SA, Gómez E, Louet C, Díez C, de Longchamp PH, Brochard V, Hue I, Caamaño JN, Jouneau A. Mol Reprod Dev. 2012 Jul;79(7):461-77. doi: 10.1002/mrd.22051. Epub 2012 May 31.
- Naive and primed murine pluripotent stem cells have distinct miRNA expression profiles. Jouneau A, Ciaudo C, Sismeiro O, Brochard V, Jouneau L, Vandormael-Pournin S, Coppée JY, Zhou Q, Heard E, Antoniewski C, Cohen-Tannoudji M. RNA. 2012 Feb;18(2):253-64. doi: 10.1261/rna.028878.111. Epub 2011 Dec 27.
- Genome organization and epigenetic marks in mouse germinal vesicle oocytes. Bonnet-Garnier A, Feuerstein P, Chebrou M, Fleurot R, Jan HU, Debey P, Beaujean N. Int J Dev Biol. 2012;56(10-12):877-87. doi: 10.1387/ijdb.120149ab.
- 3D-FISH analysis of embryonic nuclei in mouse highlights several abrupt changes of nuclear organization during preimplantation development. Aguirre-Lavin T, Adenot P, Bonnet-Garnier A, Lehmann G, Fleurot R, Boulesteix C, Debey P, Beaujean N. BMC Dev Biol. 2012 Oct 24;12:30. doi: 10.1186/1471-213X-12-30.

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

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.

Delphine Dubé (Véronique Duranthon, HDR), 2012-2016; soutenance octobre 2016 ED BioSigne. A changé totalement d'orientation

Maimouna Coura Koné (Nathalie Beaujean HDR, Amélie Bonnet Garnier) 2012-2016; soutenance novembre 2016 - ED ABIES. Actuellement en Post-doctorat

Matteo Tosolini (Alice Jouneau HDR- Amélie Bonnet Garnier) 2013-2016; soutenance décembre 2016 - ED SDSV. Actuellement en CDI chez Diagenode (Belgique)

Anne-Clémence Vaillard (Alice Jouneau, HDR) (2010-2013) Soutenance décembre 2013. ED GGC. Actuellement en CDI chez Diagenode (Belgique)

Marie Cournut (Amélie Bonnet-Garnier) M2 Génétique, Biologie Cellulaire et Développement Paris XI Orsay en 2013 -Agrégée en biologie, Professeur

Saïfidine Olcaïd (Dominique Thépot et Amélie Bonnet-Garnier) M2 Génétique, Génomes et Evolution Paris XI Orsay en 2015 - A changé totalement 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 ?

ouvert aux étudiants scientifiques

Ce sujet peut-il donner lieu à une thèse ?

Oui si financement obtenu par le concours de l'école doctorale