

Transcriptome épидидymaire et testiculaire chez le ver rat

Présenté par Gatti Jean-Luc
Courriel : gatti@tours.inra.fr

Approche génomique et protéomique des mécanismes intervenant dans le contrôle de la fertilité du gamète mâle. J-L Dacheux *Projet soutenu dans le cadre de l'édition 2004 de l'appel à projets GENANIMAL*

Projet cofinancé par IFIP/CASDAR/Dept PHASE

Unités et organismes concernés UMR85 Physiologie de la Reproduction et des Comportements, Institut National de la Recherche Agronomique, F-37380 Nouzilly, France (2004-06)

Benoît **Guyonnet**^(1,2,3,4,5), Guillemette **Marot**⁽⁶⁾, Jean-Louis **Dacheux**^(1,2,3,4), Marie-José **Mercat**⁽⁵⁾, Sandrine **Schwob**⁽⁵⁾, Florence **Jaffrézic**⁽⁶⁾, Jean-Luc **Gatti**^(1,2,3,4)

Projet soutenu dans le cadre de l'édition 2004 de l'appel à projets GENANIMAL

¹UMR85 Physiologie de la Reproduction et des Comportements, Institut National de la Recherche Agronomique, F-37380 Nouzilly, France; ²UMR6175 Physiologie de la Reproduction et des Comportements, Centre National de la Recherche Scientifique, F-37380 Nouzilly, France; ³Université François Rabelais de Tours, F-37041 Tours, France; ⁴Haras Nationaux, F-37380 Nouzilly, France; ⁵Pôle Génétique, IFIP Institut du Porc, F-35650 Le Rheu, France; ⁶UR337 Station de Génétique Quantitative et Appliquée, Institut National de la Recherche Agronomique, F-78350 Jouy en Josas, France

Mots clefs : fertilité mâle, maturation épидидymaire, porc in, transcriptome

Résumé

La qualité des spermatozoïdes (mobilité et les différentes étapes de reconnaissance ovocytaire) est liée à leur différenciation post-testiculaire lors de leur transit dans l'épididyme. La connaissance de la génomique fonctionnelle de cet organe et l'identification des facteurs contrôlant son activité sont primordiales pour comprendre les mécanismes d'acquisition de la fécondance des gamètes mâles. Actuellement, malgré les nombreuses recherches concernant la maturation des spermatozoïdes et l'acquisition de leur pouvoir fécondant, aucun des mécanismes impliqués dans ces phénomènes physiologiques ont été identifiés.

Principaux résultats obtenus et applications envisageables

A l'aide de la puce porcine à ADN produite dans le cadre du programme AGENAE (GEO : GPL3729), nous avons 1) étudié l'expression des gènes testiculaires et épидидymaires chez le ver rat afin d'identifier des gènes « marqueurs » de ces tissus, 2) étudié les variations de ces transcriptomes au cours du développement post-natal, 3) comparé ces transcriptomes chez des verrats de fertilité contrastée.

L'analyse transcriptomique des testicules, des canaux efférents, de neuf zones épидидymaires et du canal déférent a été effectuée chez quatre verrats Large White adultes, sélectionnés sur leur qualité de reproducteur. Les transcrits différenciellement exprimés sont obtenus par des tests-T et -F modifiés et l'utilisation de deux algorithmes de classification combinés pour rechercher les unités transcriptionnelles et de classes de transcrits. L'analyse a permis de retrouver des gènes testiculaires et épидидymaires connus mais aussi des gènes nouveaux ou pas encore décrits dans ces tissus chez le porc. Les profils d'expression régionalisés de certains gènes ont été confirmés par des analyses par PCR et PCR en temps réel (QPCR). Des recherches à partir des termes « Gene Ontology » associés aux gènes ont permis de mettre en évidence des fonctions physiologiques pour chacune des classes de transcrits. Cette étude a permis de montrer entre autre qu'un certain nombre de composés liés à la réponse immunitaire innée était exprimé différenciellement le long de l'épididyme et la présence d'une nouvelle voie de

régulation possible de la fonction du canal efférent par les sécostéroïdes en particulier a vitamine D.

Au cours du développement post-natal, l'étude des transcriptomes testiculaire et épидидymaire a montré une régionalisation de l'épididyme dès l'âge de 1 mois. Cette régionalisation évolue jusqu'à sa mise en place définitive à l'âge de 8 mois. Cette évolution de la régionalisation du tissu se traduit par une variation des profils d'expression des gènes au cours du développement post-natal. Au niveau testiculaire, des groupes de gènes présentent de forte variation de leur expression chez les animaux de 4 mois, âge auquel débute la puberté. Parmi ces gènes, nous avons identifié des gènes spécifiques des cellules de Sertoli et de Leydig liées à l'activité de spermatogenèse. L'analyse des évolutions spatio-temporelles des différents transcrits d'intérêt est en cours.

La comparaison au niveau transcriptomique de verrats de fertilité contrastée montre l'existence de gènes épидидymaires avec des différences d'expression corrélées à la fertilité. Des analyses supplémentaires par une approche en Q-PCR sur un groupe sélectionnés de trente de ces gènes montre que malgré le faible nombre de verat (16 animaux) et l'écart réduit des fertilités (entre 73 % et 93%) pour au moins 10% d'entre eux, le différentiel et la relation avec la fertilité étaient retrouvés par cette technique.

Perspectives

L'ensemble de ces résultats ouvre la possibilité à des études portant sur les processus biochimiques responsable de la formation et du maintient de la régionalisation de l'épididyme ainsi que des mécanismes impliqués dans l'acquisition de la fertilité par les spermatozoïdes. Par la suite il sera peut être possible de déterminer si un groupe de transcrits sélectionnés peut permettre la prédiction de la fertilité des verrats.

Publications issues des travaux soutenus dans le cadre du projet ANR

Guyonnet B, Marot G, Dacheux JL, Mercat M-J, Schwob S, Jaffrezic F, Gatti JL. (2009). The adult boar testicular and epididymal transcriptomes. *BMC Genomics*, 10:369
<http://www.biomedcentral.com/content/pdf/1471-2164-10-369.pdf>

Guyonnet Benoît, Jean-Louis Dacheux, Florence Jaffrézic, Anne Lacoste, Guillemette Marot, Marie-José Mercat, Jean-Luc Gatti (2007). Recherche et identification de gènes différentiellement exprimés dans l'épididyme de verat par une approche transcriptomique. *Journée de la Recherche Porcine*, 39, 297-298.
<http://www.journees-recherche-porcine.com/texte/2008/genetique/regen02.pdf>

Guyonnet B, Dacheux JL, Jaffrezic F, Lacoste A, Marot G, Mercat M-J, Schwob S, Gatti JL. The adult boar testicular and epididymal transcriptome. 41st Annual Meeting of the Society for the Study of Reproduction SSR Mai 2008, Hawaï USA. *Biol. Reprod. March 16, 2009 78 (1 Supplement) 175-176*
http://www.biolreprod.org/cgi/content/meeting_abstract/78/1_MeetingAbstracts/175-c?sid=a94565af-07e8-4807-b0f8-d2d1d849973a

Guyonnet B., Dacheux JL., Dacheux F., Jaffrézic F., Lacoste A., Marot G., Mercat MJ., Gatti JL. Transcriptomic analysis of differentially expressed genes along the boar epididymis. IV International workshop on epididymis, Dec 2006, Châtel Guyon, poster.