

FICHE SUJET DE THESE

| | | |
|---|---|---|
| Sujet N° (à remplir par l'ED) : | FINANCEMENT : <input type="checkbox"/> Demandé <input checked="" type="checkbox"/> Acquis | Origine du financement : INRAE/ANR |
| Titre de la thèse : Étude du rôle des miARN dans le contrôle de la réserve ovocytaire chez le poisson (RESOV) | | 3 mots-clés : Ovogenèse MicroRNA Analyse d'image 3D |
| Unité/équipe encadrante : LPGP, INRAE | | |
| Directrice ou Directeur de thèse : Violette THERMES (directrice) et Frédérique CLÉMENT (co-directrice) | | N° de tél : 02.23.48.57.20 Mail : violette.thermes@inrae.fr Année de l'HDR ou dérogation HDR : 2022 |
| <p><u>Contexte socioéconomique et scientifique (env. 10 lignes) :</u></p> <p>Chez les poissons, la fécondité des femelles repose en grande partie sur la réserve d'ovocytes primaires présents au sein de l'ovaire et à partir de laquelle se forment les ovocytes matures pondus à chaque cycle de reproduction (e.g. les œufs). La constitution de ce stock et sa régulation conditionnent le nombre d'œufs pondus au cours de la vie (taille et fréquence des pontes) et détermine ainsi la fécondité des femelles. L'enjeu de nos recherches est de comprendre les processus fondamentaux qui gouvernent cette réserve d'ovocytes chez les poissons afin d'identifier des leviers potentiels pour la préservation des populations sauvages et l'amélioration des pratiques d'élevage.</p> <p>Chez les poissons itéropares, et contrairement aux mammifères, il est admis que la réserve d'ovocytes est en renouvellement permanent, mais les mécanismes qui sous-tendent l'établissement de cette réserve et sa régulation chez l'adulte ne sont toujours pas élucidés. Une hypothèse assez probable est qu'il existerait, à l'instar des mammifères, un dialogue inter-folliculaire par le biais de facteurs paracrines tels que l'hormone antimüllérienne (AMH), qui permettrait de réguler l'état de la réserve. Il existerait également une autre classe de molécules, les petits ARN non-codants (ou miARN) dont l'implication dans l'ovaire est longtemps restée incertaine mais qui aujourd'hui apparaissent comme de nouveaux acteurs importants dans le contrôle de l'ovogenèse. Au laboratoire, nous avons ainsi récemment montré que deux miARN, miR-202 et miR-187, sont des acteurs clés pour la fécondité des femelles chez le Médaka et qu'ils sont potentiellement impliqués dans le contrôle de la réserve ovocytaire.</p> | | |
| <p><u>Hypothèses et questions posées (env. 8 lignes) :</u></p> <p>La question de recherche posée est celle de la mise en place de la réserve ovocytaire chez la larve et de sa régulation chez l'adulte. Il s'agira de déterminer le rôle des miARN identifiés au laboratoire dans la formation de la réserve chez la larve et son renouvellement chez l'adulte, et d'en comprendre les mécanismes sous-jacents. Nous faisons donc ici l'hypothèse que ces deux miARNs (miR-202 et miR-187) sont impliqués dans la régulation de la réserve ovocytaire et l'objectif du projet consistera à :</p> <ol style="list-style-type: none"> 1) Décrire la contribution des cellules germinales souches dans la formation de la réserve chez la larve et son renouvellement chez l'adulte. 2) Comprendre de quelle façon miR-202, miR-187 et l'AMH influencent l'état de la réserve (formation, renouvellement). 3) Déterminer par quels mécanismes moléculaires ces deux miARN régulent ces processus. | | |
| <p><u>Grandes étapes de la thèse (env. 12 lignes) :</u></p> <p>Le projet se déroulera en quatre étapes :</p> <p>* Tâche 1 : Tout d'abord, on s'attachera à décrire le développement et le maintien de la réserve ovocytaire au cours de la vie des femelles (stades larvaire, juvénile et adulte), et en particulier nous décrirons l'évolution des cellules germinales souches (nombre, distribution et activité cellulaire) par des approches d'imagerie 3D (microscopie confocale) d'ovaires après marquages fluorescents spécifiques (lignée transgénique <i>sox9:gfp</i>, immunohistochimie, hybridation <i>in situ</i> RNAscope).</p> <p>* Tâche 2 : Parallèlement et avec les mêmes approches que dans la tâche 1, nous étudierons l'état de la réserve et son évolution chez les mutants <i>miR-202</i> <i>-/-</i>, <i>miR-187</i> <i>-/-</i> et <i>AMHR2</i> <i>-/-</i> (mutant <i>Hotei</i>), aux stades larvaire, juvénile et adulte.</p> <p>* Tâche 3 : Nous étudierons également les voies moléculaires ciblées par le miR-187 et le miR-202. Nous rechercherons les cibles directes grâce à une approche transcriptomique (RNAseq) qui consistera à identifier les gènes candidats présentant une faible variabilité inter-individuelle chez les WT, une sur-expression chez le mutant et possédant le site de fixation du miARN dans leur région 5'- ou 3'-UTR (analyse <i>in silico</i>).</p> <p>* Tâche 4 : Enfin, nous validerons les cibles les plus prometteuses (2 ou 3 par miARN) en analysant d'une part leur expression cellulaire dans l'ovaire afin de valider leur co-expression avec les miARN et, d'autre part, en analysant le phénotype de reproduction des femelles après déplétion du site de fixation du miARN (par Knock-out CRISPR/Cas9).</p> | | |
| <p><u>Compétences scientifiques et techniques requises par le candidat·e (2 lignes) :</u></p> <p>Des connaissances solides en biologie du développement et en biologie cellulaire et moléculaire, des bases en microscopie, des connaissances en bio-informatique de l'image seraient un plus.</p> | | |
| <p><u>3 publications de l'équipe d'accueil relatives au domaine (5 dernières années) :</u></p> <p>(1) M. Lesage, J. Bugeon, T. Pécot, M. Thomas, T.-K. Ly, N. Hinfray, R. Beaudouin, M. Neumann, R. Lovell-Badge, V. Thermes, An end-to-end pipeline based on open source deep learning tools for reliable analysis of complex 3D images of ovaries.</p> | | |

<https://doi.org/10.1101/2022.08.03.502611>. (En révision dans *Development, Technics and Ressources*).

(2) S. Gay, J. Bugeon, A. Bouchareb, L. Henry, C. Delahaye, F. Legeai, J. Montfort, A. Le Cam, A. Siegel, J. Bobe, **V. Thermes** (2018-09-10). MiR-202 controls female fecundity by regulating medaka oogenesis. *PLoS Genetics*, 14 (9), 1-26, <https://dx.doi.org/10.1371/journal.pgen.1007593>, <https://hal.inrae.fr/hal-01871468>

(3) **F. Clément**, D. Monniaux. [Mathematical modeling of ovarian follicle development: A population dynamics viewpoint](#). *Current Opinion in Endocrinology and Metabolism Research*, 2021, 18:54-61. <https://doi.org/10.1016/j.coemr.2021.02.003>, <https://hal.inria.fr/hal-03146955>

Collaborations nationales et internationales :

Minoru Tanaka, Laboratory of Reproductive Biology, Nagoya University, Japan