

Master 2 Reproduction et Développement Stage de recherche 2024-2025

Stage proposé par Amélie Bonnet-Garnier (Chargée de Recherche INRAE)

Nom et adresse du Laboratoire ou de l'Unité :

UMR de Biologie, Reproduction, Epigénétique, Environnement et Développement (BREED), INRAE,
Centre Antony-Jouy-en-Josas, domaine de Vilvert, 78352 Jouy en Josas Cedex

Téléphone : 01 34 65 23 79

Mail : amelie.bonnet-garnier@inrae.fr

Site internet : <https://www6.jouy.inrae.fr/breed/>

Directrice de l'Unité : Pascale Chavatte-Palmer

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

Prénom et NOM du Responsable de l'équipe : Amélie Bonnet-Garnier et Alice Jouneau

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

Les recherches de l'équipe EPEE ont pour objectif de comprendre comment les premières étapes du développement des mammifères sont déterminantes pour la construction du phénotype de l'individu et comment l'environnement dans lequel elles se déroulent affecte à court et long terme ce phénotype. Au cours de la période préimplantatoire, sur laquelle se focalisent les recherches de EPEE, trois événements déterminants pour la construction du phénotype ont été identifiés : (i) la reprogrammation épigénétique du génome embryonnaire, (ii) son activation transcriptionnelle et (iii) la mise en place de la pluripotence et la différenciation des premiers lignages extraembryonnaires au stade blastocyste.

Titre du projet de stage : Etude de l'effet de la production *in vitro* sur le taux d'aneuploïdie des ovocytes et des embryons bovins

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

Amélie BONNET-GARNIER 01 34 65 23 79. amelie.bonnet-garnier@inrae.fr

Projet de stage : (une vingtaine de lignes maximum)

Depuis 2013 les biotechnologies de la reproduction sont largement utilisées par les entreprises de sélection bovine françaises pour accélérer et diffuser le progrès génétique en produisant plusieurs embryons d'un même fond génétique *in vitro*. Or, une grande proportion de ces embryons produits *in vitro* (PIV) n'aboutit pas une gestation après transferts d'embryons dans des femelles receveuses ni à la naissance de veaux. En effet, environ 45% des embryons PIV initient une gestation contre 60% pour des embryons collectés *in vivo*. Cette différence de taux d'implantation provient d'une plus faible qualité des embryons PIV due au protocole *in vitro* mis en œuvre pour produire ces embryons. Ce protocole se décompose en trois étapes majeures réalisées *in vitro* : une étape de maturation ovocytaire *in vitro* (MIV), une étape de fécondation *in vitro* (FIV) et enfin une étape de culture *in vitro* jusqu'au stade blastocyste, stade auquel l'embryon sera transplanté dans une femelle receveuse. Plusieurs publications (Hornak et al., 2016, Brooks et al., 2022) font état d'un pourcentage élevé (20 à 40%) d'aneuploïdies qui auraient une origine précoce : soit un défaut de maturation ovocytaire soit une polyspermie ou encore des erreurs lors de la première mitose. De plus, selon Demyda-Peyrás et al. (2013), la composition du milieu de MIV et de FIV (notamment la présence de sérum) pourrait influencer l'incidence des anomalies de méiose ou de fécondation.

Master 2 Reproduction et Développement Stage de recherche 2024-2025

L'objectif du stage est donc d'analyser des ovocytes maturés *in vitro* ou des embryons fécondés *in vitro* après fixation puis marquage en fluorescence des fuseaux et de l'ADN. Il s'agira de déterminer les fréquences d'apparition d'erreur de ségrégation chromosomique ou de fécondation (non expulsion du GP, anomalie du fuseau méiotique, nombre de pronoyau au stade zygote, identité parentale du pronoyau, contenu des blastomères au stade 1C et 2C) dans deux conditions de cultures différentes. Certains embryons seront micro-injectés avec des ARNm codants pour des protéines fluorescentes ce qui permettra le suivi en live de la première mitose et d'identifier précocement les causes d'aneuploïdies.

Les expériences de production d'embryons sont réalisées par la société privée Eliance dans le cadre d'un projet participatif financé par Apis-Gen

Techniques mises en œuvre par le stagiaire :

Production *in vitro* d'embryons. Immunodétection en fluorescence.
Time-lapse et suivie en fluorescence sous atmosphère contrôlée des embryons.
Acquisition et traitement d'images (Microscope confocal, ImageJ et Imaris).

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

[Improving the Quality of Oocytes with the Help of Nucleolotransfer Therapy.](#) Benc M, Strejcek F, Morovic M, Bartkova A, Murin M, Gad A, **Bonnet-Garnier A**, Percinic FP, Laurincik J. Pharmaceuticals (Basel). 2021 Apr 2;14(4):328. doi: 10.3390/ph14040328.

[Histone remodeling reflects conserved mechanisms of bovine and human preimplantation development.](#) Zhou C, Halstead MM, **Bonnet-Garnier A**, Schultz RM, Ross PJ. EMBO Rep. 2023 Mar 6;24(3):e55726. doi: 10.15252/embr.202255726.

[Human Sperm Morphology as a Marker of Its Nuclear Quality and Epigenetic Pattern.](#) Bendayan M, Caceres L, Saïs E, Swierkowski-Blanchard N, Alter L, **Bonnet-Garnier A**, Boitrelle F. Cells. 2022 May 30;11(11):1788. doi: 10.3390/cells11111788.

[H3K27me3 at pericentromeric heterochromatin is a defining feature of the early mouse blastocyst.](#) Pailles M, Hirlemann M, Brochard V, Chebrou M, Oudin JF, Marks H, Jouneau A, **Bonnet-Garnier A**. Sci Rep. 2022 Aug 16;12(1):13908. doi: 10.1038/s41598-022-17730-x.

[Transcription of rRNA in early mouse embryos promotes chromatin reorganization and expression of major satellite repeats.](#) Chebrou M, Koné MC, Jan HU, Cournut M, Letheule M, Fleurot R, Aguirre-Lavin T, Peynot N, Jouneau A, Beaujean N, **Bonnet-Garnier A**. J Cell Sci. 2022 Mar 15;135(6):jcs258798. doi: 10.1242/jcs.258798.

[The epigenome of male germ cells and the programming of phenotypes in cattle.](#) Kiefer H, Sellem E, **Bonnet-Garnier A**, Pannetier M, Costes V, Schibler L, Jammes H. Anim Front. 2021 Dec 17;11(6):28-38. doi: 10.1093/af/vfab062. eCollection 2021 Dec.

[Transient Changes of Metabolism at the Pronuclear Stage in Mice Influences Skeletal Muscle Phenotype in Adulthood.](#) Bertrand-Gaday C, Letheule M, Blanchet E, Vernus B, Pesseme L, **Bonnet-Garnier A**, Bonnieu A, Casas F. Int J Mol Sci. 2020 Sep 29;21(19):7203. doi: 10.3390/ijms21197203.

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

Sara Stachovicova, en thèse depuis 2023, ED ABIES, (A Bonnet-Garnier / M Morovic - co-tutelle Univ Nitra Slovaquie)

Marion Bendayan, en thèse depuis 2022, ED SDSV, F Boitrelle (HDR), C Dupont et A Bonnet-Garnier

Master 2 Reproduction et Développement **Stage de recherche 2024-2025**

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.

M2

Carlyne Samson (A Bonnet-Garnier) M2 G2E (Univ Paris Saclay); 2023-24 (thèse à Marseille)

Fabien Lebel (A Jouneau) M2 (Univ Rennes) 2023-24 - en CDD dans l'unité BREED

Margot Mattei (A Bonnet-Garnier) M2 Reproduction (Univ Tours), 2021-22 (Formation paramédicale)

Edith Oozoukou (A Jouneau), M2 ReproDev, 2020-21

Marion Bendayan (A Bonnet-Garnier et F Boitrelle) M2 ReproDev 2019-20

Yael Wilkie (A Bonnet-Garnier) M2 ReproDev en 2018-19 (CDD dans le privé)

Thèse :

Mélanie Pailles (M2, UPMC) - (A Jouneau HDR / A Bonnet-Garnier HDR) - en thèse depuis 2018- soutenance en juillet 2022 - ED ABIES - En recherche de Pos-doc

Romina Via-Y-Rada-Fernandez (M2, Paris Saclay) (S. Calderari) - en thèse depuis 2018 soutenance en novembre 2022 - ED BioSign - En CDI Servier

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 ?

Cette proposition conviendrait particulièrement à un étudiant médecin ou vétérinaire

Ce sujet peut-il donner lieu à une thèse ? Non