



HAL
open science

Obtention de cellules de lapin de type ES dotées de caractéristiques comparables à celles des cellules ES humaines

Suzy S. Markossian, Thierry Joly, Pascal Salvetti, Pierre Savatier, Marielle Afanassieff

► **To cite this version:**

Suzy S. Markossian, Thierry Joly, Pascal Salvetti, Pierre Savatier, Marielle Afanassieff. Obtention de cellules de lapin de type ES dotées de caractéristiques comparables à celles des cellules ES humaines. 2èmes Journées d'Animation Scientifique du Département PHASE, Oct 2007, Tours, France. 2007. hal-02816732

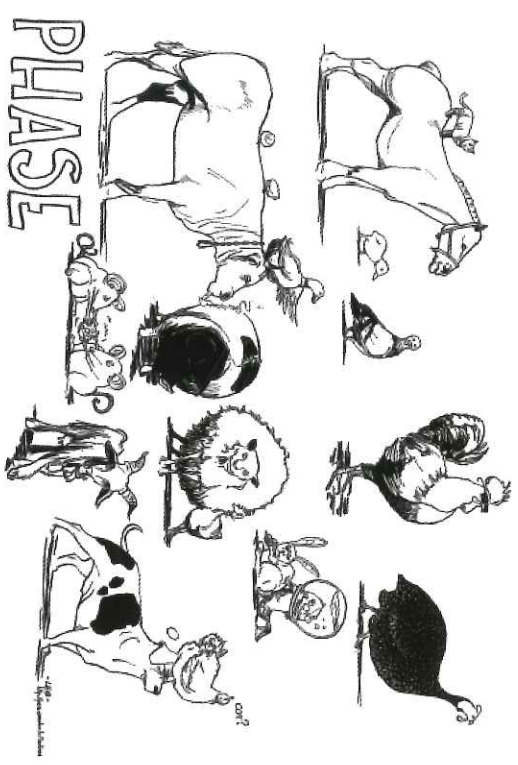
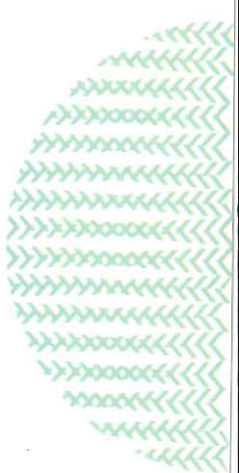
HAL Id: hal-02816732

<https://hal.inrae.fr/hal-02816732v1>

Submitted on 6 Jun 2020

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



**2^{èmes} Journées d'Animation Scientifique
du Département de
Physiologie Animale et Système d'Elevage**



**Tours
22, 23 et 24 octobre 2007**

**ALIMENTATION
AGRICULTURE
ENVIRONNEMENT**



**2^{èmes} Journées d'Animation Scientifique
du Département PHASE**

**Les 22, 23 et 24 octobre 2007
Maison des Sports de Touraine - Tours-Nord**

Programme Scientifique

Lundi 22 octobre 2007

Animation transversale "Systèmes d'élevage"

9h15 - 10h00

Accueil des participants, enregistrement et pause café

Amphithéâtre Camille Danguillaume

10h00 - 12h00

Débat en plénière : les grands verrous auxquels sont confrontés les filières d'élevage.
Points de vue croisés de 2 responsables professionnels :
Rebillard Jacques, Elevateur et Vice-Président du Conseil Régional de Bourgogne
Tillon Jean-Pierre, Directeur scientifique du groupe In Vivo

12h00 - 13h30

Déjeuner

13h30 - 16h00

Plénière consacrée aux actions en cours ou prévues dans le cadre de programmes d'études sur les systèmes d'élevage :
13h30 - 14h20 : Comment l'objet d'étude "système d'élevage" est pris en compte dans des programmes de recherche
14h20 - 15h10 : Comment l'intégration à l'échelle de l'animal et la prise en compte de temps sont pris en compte dans des programmes de recherche
15h10 - 16h00 : Débat autour du contenu du 3^{èmes} sous champ du CTS : Acceptabilité technique, économique et sociale des innovations.

16h00 - 16h30

Pause

16h30 - 18h30

Travail en atelier :

Salle Guy Marie

Animateur :
Agabriel Jacques
(UR H)

Salle

Jean Guérard

Animateur :
Aubin Joël (UMR SAS)
Lescoat Philippe
(UMR PRC)

Amphithéâtre

Animateurs :
Druart Xavier et
Lescoat Philippe
(UMR PRC)

Salle Marcel Bois

Animateurs :
Moulin Charles-Henri
(UMR ERRC) et
Perrier Arnette
(UMR SENAH)

Atelier 1 : Les outils de modélisation utilisés pour concevoir et évaluer des systèmes d'élevage

Atelier 2 : Les expérimentations "systèmes" pour étudier des systèmes innovants

Atelier 3 : Modélisation des interactions entre fonctions à l'échelle de l'animal

Atelier 4 : Conception et faisabilité d'une innovation technique

Dîner libre

Mardi 23 octobre 2007

8h45 – 9h30 Accueil des participants, enregistrement et pause café

Amphithéâtre Camille Danguillaume

9h30 – 10h00 Introduction générale - Chemineau Philippe

10h00 – 13h00 Sessions en parallèle :

Salle Jean Guérard (90 places)
Session 1 : CT 1 - Neurobiologie, comportements et adaptations
 Modérateurs : *Veissier Isabelle, Levy Frédéric*

CT 1 Introduction

10h05 Identification des phéromones et de leurs protéines portuses associées à l'oestrus chez les mammifères d'élevage - *Le Darvic Chrystelle*

10h20 Expression des systèmes géniques leptine et insuline dans la muqueuse olfactive chez le rat : rôles possibles - *Badonnel Karine*

10h35 Effets de l'odorisation des mamelles maternelles sur les apprentissages alimentaires olfactifs à l'âge adulte - *Sevelinges Yannick*

10h50 Implication du récepteur minéralocorticoïde dans l'osmorégulation chez la truie arc-en-ciel - *Pruwet Patrick*

11h05 De la cognition dans les émotions chez l'animal ou comment les processus d'évaluation modulent les émotions chez les ovins - *Boissy Alain*

11h20 Une sélection génétique sur un comportement de peur n'affecte pas tous les comportements de peur - *Richard Sabine*

11h35 Variabilité des comportements relationnels chez les agneaux : effets génétiques et environnementaux - *Boissy Alain*

11h50 Les réseaux neuronaux impliqués dans la motivation maternelle et la sélectivité sont différents chez la truie - *Levy Frédéric*

12h05 Importance de la séparation mère-jeune sur l'état des contacts précoces entre les veaux Salets et l'homme dans leurs réponses ulcéreuses à la manipulation - *Bowin Xavier*

12h20 Stratégies comportementales d'adaptation de chèvres laitières à un régime acido-gène - *Giger-Keyverdin Sylvie*

12h35 Sélection sur la corticostéroïdémie chez le canard Pékin - *Arnard Isabelle*

12h50 Conclusion du CT 1 par les modérateurs
 13h00 Conclusion du CT 4 par les modérateurs

Amphithéâtre Camille Danguillaume

16h00 – 18h30 Table ronde "L'innovation : quand et comment se protéger et valoriser ?"

Modérateurs : *Perez Jean-Marc* et *Roger-Machart Yves*
 Intervenants : *Pia Magali* (INRA DISUCP), *Le Timevez Reliane* (INRA transfert), *Recoquilly François* (Phytosynthèse), *Durand Denis* (URH), *Fouassier Alexandre* (BioProtein), *Pain Bertrand* (INRA)

20h00 – 23h00 Dîner à la "Raynière" à Saint Antoine du Roche

Départ du bus vers 19h00 de la Maison des Sports puis ramassage dans les hôtels

Mercredi 24 octobre 2007 - matin

8h30 – 12h00 Sessions en parallèle :

Salle Jean Guérard (90 places)
Session 3 : CT 3 - Digestion, alimentation et valeur des aliments
 Modérateurs : *Doreau Michel, Peyraud Jean-Louis*

CT 3 Introduction

8h30 Impact d'une baisse de la teneur en thréonine de l'aliment sur la synthèse et la composition en acides aminés de l'intestin et de la carcasse de porcelets - *Hamard Alice*

8h50 Dépôts protéiques et lipidiques de veaux de boucherie soumis à différents niveaux d'ingestion - *Labussière Etienne*

9h05 Caractérisation comparée des communautés bactériennes de contenu Cæcal, des cæcotrophes et des traces dures chez le lapin par PCR-SSCP - *Michelland Romy*

9h20 Réponse des bactéries du rumen à un changement de régime - *Sadet Sophie*

9h35 Prédiction de l'absorption nette portale du glucose chez les ruminants - *Lonche Christelle*

9h50 Métabolisme splanchnique des acides aminés (AA) en réponse à un déséquilibre alimentaire chez l'agneau - *Kraft Guillaume*

10h05 Conclusion du CT 3 par les modérateurs
 Pause 10h15

Salle Jean Guérard (90 places)
Session 2 - 2^{ème} partie : CT 4 - Dynamique d'élaboration des tissus et produits animaux
 Modérateurs : *Picard Brigitte, Devrioy Eve*

CT 4 Introduction 10h45

10h50 Polynormisme au locus CSN1S1 : un facteur de STRESS (Splicing, Transport, Reclutement Endoplasmique, Structuration et Sécrétion) - *Badaoui Bouabid*

11h05 Transcrits indicateurs d'activité et de mort des CEM purifiés du lait chez les ruminants en monothérapie - *Bouhidand Marlon*

11h20 Etude du développement de la glande mammaire chez le jeune ruminant allaité - *Dessaige Frédéric*

11h35 Application du couplage des approches métabolomique et comparative à l'étude des effets de l'ingestion de lait contaminé en polluants organiques (HAPs ou PCB/PCDD/Fs) chez le rat adulte - *Schroeder Henri*

11h50 Conclusion du CT 4 par les modérateurs

Amphithéâtre Camille Danguillaume (300 places)

8h30 Session 4 : CT 2 - Reproduction, développement embryonnaire et larvaire, biotechnologies de la reproduction

Modérateurs : *Morniaux Danielle, Le Ball Pierre-Yves, Duranton Véronique, Brillard Jean-Pierre*

CT 2 Introduction

8h35 L'embolisation des artères utérines durant la gestation induit une programmation fœtale chez l'agneau - *Charvate-Palmer Pascale*

8h50 Contrôles moléculaires de la compétence germinale des cellules souches embryonnaires de poulet - *Lavial Fabrice*

9h05 Génomique comparative de la détermination sexuelle chez les poissons : analyse moléculaire des chromosomes sexuels chez le platy *Xiphophorus maculatus* - *Volff Jean-Nicolas*

9h20 *Response1* et *FOXJ2* appartiennent à deux voies anti-testiculaires distinctes au cours de la différenciation ovarienne chez la chèvre - *Kocer Ayhan*

9h35 Recherche de transcrits ovaires exprimés au cours du développement fœtal chez la truie - *Baillet Adrienne*

9h50 Deux nouveaux membres de la superfamille des "GF beta" sont exprimés très préférentiellement dans la glande môle de truie et sont différentiellement exprimés au cours de la différenciation sexuelle et la spermatogénèse - *Larreyre Jean-Jacques*

10h05 Conclusion du CT 2 par les modérateurs

10h35 Le diamètre de la transferrine contrôle la phagocytose des corps résiduels par les cellules de Sertoli - *Gaillou Florian*

11h05 Importance relative des voies de signalisation dépendantes de l'AMPc/PKA ou des β arrestines dans la réponse à l'hormone folliculo-stimulante (FSH) - *Durand Guillaume*

11h20 Bases moléculaires de l'homonormodulation de la réponse FSH induite par des anticorps anti-eCG potentialisants - *Wehbi Vanessa*

11h35 CPFB et les séruméthionine kinases Aurora-A, AMPK et ERK1/2 : implication dans la maturation de l'ovocyte chez le bovin ? - *Uzbekova Svetlana*

11h50 Les voies de signalisation impliquées dans le déclenchement de la réaction acrosomique chez le spermatozoïde de coq - *Lemoine Manuela*

11h50 Conclusion du CT 2 par les modérateurs

12h00 - 14h00

Déjeuner autour des posters
Sessions posters CT2, CT3 et CT5
(merci aux auteurs de se tenir devant leur poster)

14h00 - 16h25

Amphithéâtre Camille Danguillaume

Tous Champs thématiques
Modérateur : **Coulon Jean-Baptiste**
14h00 Démarche qualité dans un processus de recherche : quel bénéfice ?
Durand Derys, Debencourt Olivier

Session 5 : CT 5 - Conception de systèmes biotechniques d'élevage et évaluation de leur durabilité
Modérateurs : **Faverdin Philippe, Agabriel Jacques**

14h15 CT 5 Introduction
14h20 Modélisation multi-organes et multi-espèces du métabolisme des lipides
Blazy Pierre

14h35 Analyse par modélisation de la variation des performances d'une population de porcs selon l'apport en lysine et la stratégie alimentaire
Brossard Ludovic

14h50 Alimentation séquentielle chez le poulet : implication des processus d'apprentissage alimentaire
Leterrier Christine

15h05 Stratégies d'alimentation et détection de l'oestrus chez la vache laitière conduite en vèlages groupés
Cutillac Erwan

15h20 Analyse multiple de l'utilisation d'une ration de maïs grain à volonté par le jeune bovin Blond d'Aquitaine
Garcia Florence

15h35 Evaluation multicritère du bien-être
Borrau Raphaëlle

15h50 Analyse comparée des stratégies de reproduction des poissons téléostéens d'eau douce : applications à la domestication de nouvelles espèces en aquaculture
Telichea Fabrice

16h05 Les invariants dans les systèmes d'élevage : objets pour une approche socio-technique des innovations
Moulin Charles-Henri

16h20 Conclusion du CT 5 par les modérateurs
16h25 - 16h45 Pause

Amphithéâtre Camille Danguillaume

16h45 - 17h30 Conférence plénière :
"Biologie intégrative et modélisation : application en physiologie de la reproduction"
Clement Frédérique (INRA)

17h30 Conclusion des Journées et remise des prix Posters

P130

OBTEINCTION DE CELLULES DE LAPIN DE TYPE ES DOTÉES DE CARACTÉRISTIQUES COMPARABLES À CELLES DES CELLULES ES HUMAINES

MARKOSSIAN Suzy¹, JOLY Thierry², SALVETTI Pascal²,
SAVATIER Pierre¹, AFANASSIEFF Martelle¹

¹ USC Prémastem INRA/INSERM, INSERM U846, 69500 Bron

² Pôle Agrosystèmes, Environnement et Production, ISARA, Lyon
markossian@lyon.inserm.fr

CT 4

INTRODUCTION

Les cellules souches embryonnaires ou cellules ES dérivent des cellules du bouton embryonnaire de blastocystes. Elles possèdent deux propriétés remarquables: (i) elles sont pluripotentes, c'est-à-dire capables de se différencier dans tous les lignages cellulaires composant un organisme adulte; et (ii) elles sont capables de s'autorenouveler, c'est-à-dire de se multiplier indéfiniment sans perdre leur pluripotence. Jusqu'à présent, des lignées de cellules ES ont été isolées uniquement chez les rongeurs et les primates. La difficulté d'obtention de telles lignées chez d'autres espèces réside principalement dans les problèmes d'adaptation des cellules souches blastocytaires aux conditions de culture. Ces dernières doivent être optimisées pour permettre le maintien de l'autorenouvellement des cellules souches. Les différentes tentatives d'obtention de lignées de cellules ES chez des espèces d'intérêt agronomique ont, jusqu'ici, été basées sur les conditions expérimentales utilisées chez la souris et sont restées vaines. Nous avons donc basé notre stratégie sur le développement de méthodes génétiques permettant de promouvoir l'autorenouvellement des cellules blastocytaires mises en culture, dans le but de faciliter l'isolement de lignées de cellules ES chez le lapin.

RESULTATS

Nous avons tout d'abord isolé puis mis en culture des boutons embryonnaires de lapin en utilisant les conditions expérimentales optimales pour l'obtention de lignées de cellules ES de primate. Ces cultures sont réalisées en présence de bFGF sur des fibroblastes embryonnaires de souris inactivés. Nous obtenons ainsi, de façon reproductible, des colonies de cellules compactes, présentant un rapport nucléocytoplasmique élevé et des nucléoles clairement visibles. Ces cellules ressemblent morphologiquement aux cellules ES humaines. Elles sont positives pour l'activité phosphatase alcaline et expriment le gène

d'autorenouvellement Oct-4, deux caractéristiques des cellules ES. Elles se divisent très rapidement et doivent être dissociées mécaniquement et réensemencées tous les deux jours. Elles commencent à se différencier spontanément à partir du 6ème passage. Cette différenciation s'accompagne de la perte d'expression du gène Oct-4.

Afin de promouvoir l'autorenouvellement de ces cellules de lapin de type ES, nous développons actuellement des technologies permettant de surexprimer des facteurs de transcription impliqués dans le contrôle de l'auto-renouvellement des cellules ES de souris et de primate : les facteurs Oct-4, Nanog et Sox-2. Ces technologies sont basées sur la transduction virale à l'aide de vecteurs d'expression lentiviraux dérivés du SIV et la transduction protéique via la protéine TAT de HIV. Nous avons tout d'abord produit et testé différents vecteurs lentiviraux véhiculant le gène marqueur GFP et défini les conditions d'infection des cellules blastocytaires. Nous obtenons ainsi des cellules de lapin de type ES exprimant la GFP. Nous construisons maintenant les vecteurs lentiviraux véhiculant les gènes d'autorenouvellement. Parallèlement, nous avons commencé à tester des milieux de culture contenant des protéines fusions "TAT-Nanog" fournis par le laboratoire de F. Edenhofer de l'Université de Bonn. Nous mettons au point les conditions d'utilisation de ces protéines fusions sur nos cultures de cellules de type ES, afin de pouvoir étudier l'effet de différentes molécules fusions "TAT-protéine d'autorenouvellement".

CONCLUSION

En conclusion, nous obtenons de façon reproductible des cellules de lapin de type ES qui présentent une morphologie et des caractéristiques identiques à celles des cellules ES humaines. Nous développons différentes stratégies pour promouvoir l'autorenouvellement de ces cellules et faciliter ainsi l'isolement de lignées de cellules ES chez le lapin.