



HAL
open science

Vers la production d'organoïdes testiculaires chez les poissons : stratégies et avancées

Nathalie Chênais, Rafael Nóbrega, Manon Thomas, Béatrice Porcon, Adèle Branthonne, Agnès Burel, Aurelien Dupont, Francis Gouttefangeas, Catherine Labbé, Jean-Jacques Lareyre

► To cite this version:

Nathalie Chênais, Rafael Nóbrega, Manon Thomas, Béatrice Porcon, Adèle Branthonne, et al.. Vers la production d'organoïdes testiculaires chez les poissons : stratégies et avancées. *Organoïdes et recherche agronomique*, Jun 2022, Paris, France. hal-03911859

HAL Id: hal-03911859

<https://hal.inrae.fr/hal-03911859>

Submitted on 23 Dec 2022

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.

Vers la production d'organoïdes testiculaires chez les poissons : stratégies et avancées

Chênais Nathalie ⁽¹⁾, Nóbrega Rafael Henrique ⁽²⁾, Thomas Manon ⁽¹⁾, Porcon Beatrice ⁽¹⁾, Branthonne Adele ⁽¹⁾, Burel Agnès ⁽³⁾, Dupont Aurelien ⁽³⁾, Gouttefangeas Francis ⁽⁴⁾, Labbe Catherine ⁽¹⁾, Lareyre Jean-Jacques ⁽¹⁾

¹ Department of Fish Physiology and Genomics, INRAE, 35042 Rennes cedex, France

² Department of Reproductive and Molecular Biology, São Paulo State University, Botucatu, Brazil

³ Microscopy Rennes Imaging Center, 35000 Rennes cedex, France.

⁴ CMEBA, 35042 Rennes cedex, France.

E-mail: nathalie.chenais@inrae.fr

Contexte :

Les mécanismes impliqués dans le renouvellement des cellules germinales souches chez les mâles immatures ou chez les individus adultes sexuellement matures restent très mal connus, en particulier chez les poissons. La production d'organoïdes testiculaires est une approche de choix pour étudier les interactions moléculaires entre les cellules somatiques et les cellules germinales ainsi que les modes de divisions symétriques et/ou asymétriques des cellules souches germinales. En effet, au contraire des cultures 2D, les organoïdes pourraient permettre de reproduire une niche germinale plus proche de celle rencontrée *in vivo*.

La greffe des cellules germinales souches embryonnaires ou adultes préalablement cryopréservées est la seule technique opérationnelle pour la conservation des ressources génétiques et la régénération de cohortes d'intérêt. Cette technique ouvre des applications en production aquacole comme la production de populations monosexes sans hormone ou la production interspécifique d'alevins. La production d'organoïdes testiculaires devrait permettre d'amplifier les cellules germinales souches *in vitro* avant leur cryopréservation ou après leur décongélation.

Objectif de l'étude :

Les travaux présentés ont pour objectif de produire des organoïdes testiculaires chez les poissons téléostéens. Une première approche a consisté à développer une matrice extracellulaire endogène décellularisée (issues de testicules de truites sexuellement immatures) qui pourrait être plus favorable à la production d'organoïdes testiculaires. Une deuxième approche est conduite en parallèle pour tester la possibilité d'obtenir des organoïdes testiculaires à partir de cellules testiculaires issues de mâles adultes et cultivées en présence de matrices extracellulaires commerciales.

Résultats :

Nous avons développé avec succès une procédure de décellularisation adaptée au tissu testiculaire de truites mâles sexuellement immatures sans altération majeure de la matrice extracellulaire. La procédure de décellularisation sera présentée en détail ainsi que la qualité des matrices extracellulaires décellularisées (dECM) obtenues en mettant l'accent sur la préservation de ses composants majeurs et de son intégrité structurale par coloration histologique, immunofluorescence en 2D et 3D, microscopie électronique à balayage et à transmission. La préservation du microenvironnement de ces dECM ouvre des perspectives prometteuses quant à leur recolonisation par les cellules germinales souches.

Nos résultats préliminaires de cultures en hydrogels commerciaux (Vitrogel et Matrigel) montrent la capacité des cellules testiculaires à former des amas cellulaires. L'utilisation de cellules testiculaires issues de lignées rapportrices différentes de zebrafish transgéniques montre que ces amas cellulaires sont bien formés par la réagrégation spontanée des cellules préalablement dissociées, et non par une digestion partielle des testicules. Les amas cellulaires obtenus en Matrigel présentent des contours plus réguliers par comparaison au Vitrogel. Les amas cellulaires obtenus en Matrigel révèlent une majorité de cellules vivantes après 7 jours de culture et la présence de cellules germinales. Des changements de morphologie et de densité cellulaire sont observés au cours du temps de culture suggérant un remodelage progressif des amas cellulaires.

Les études futures viseront à mieux caractériser la structuration de ces amas cellulaires et à améliorer le milieu de culture pour favoriser la croissance et la structuration de ces amas cellulaires.

Le projet a été financé par le projet européen Aquaexcel3.0 (H2020 INFRAIA-2019-1, n° 871108).