



**HAL**  
open science

## Le Cycle de formation de l'oeuf

Joël Gautron

► **To cite this version:**

Joël Gautron. Le Cycle de formation de l'oeuf. Doctorat. Master 2 Biologie de la reproduction  
Département de Biologie Animale et Génétique Faculté des Sciences et Techniques Université de  
Tours, Tours (France), France. 2021. hal-04218045

**HAL Id: hal-04218045**

**<https://hal.inrae.fr/hal-04218045>**

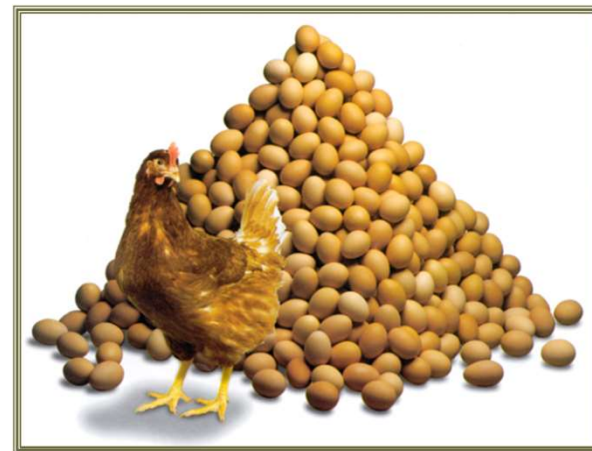
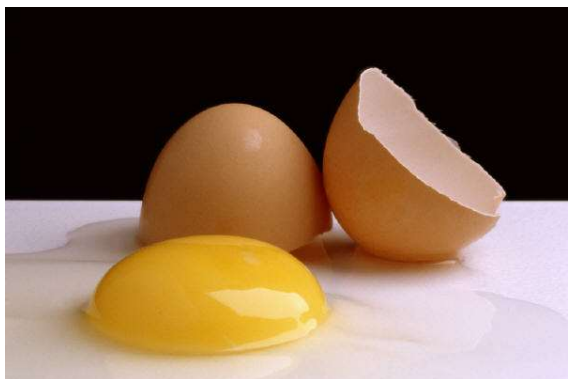
Submitted on 26 Sep 2023

**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.



Distributed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License



# Le Cycle de formation de l'œuf



Joël Gautron  
INRAE, UMR BOA  
Université de Tours  
37380 Nouzilly  
[Joel.gautron@inrae.fr](mailto:Joel.gautron@inrae.fr)



# ➤ Production d'œufs

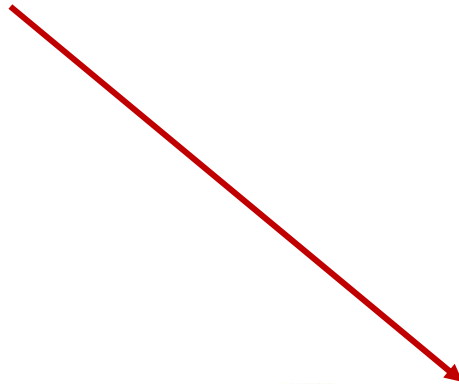
## Les œufs et les poules

### Souches Pondeuses

(plus de 300 œufs par an)  
Non valorisables pour la viande

### Souches chair (viande)

(150 œufs par an)  
Non valorisables pour les œufs  
de consommation



**L'Œuf de consommation**  
un produit de base pour  
l'alimentation humaine



**L'Œuf à couvrir**  
une enceinte close et autosuffisante pour  
permettre le développement d'un poussin

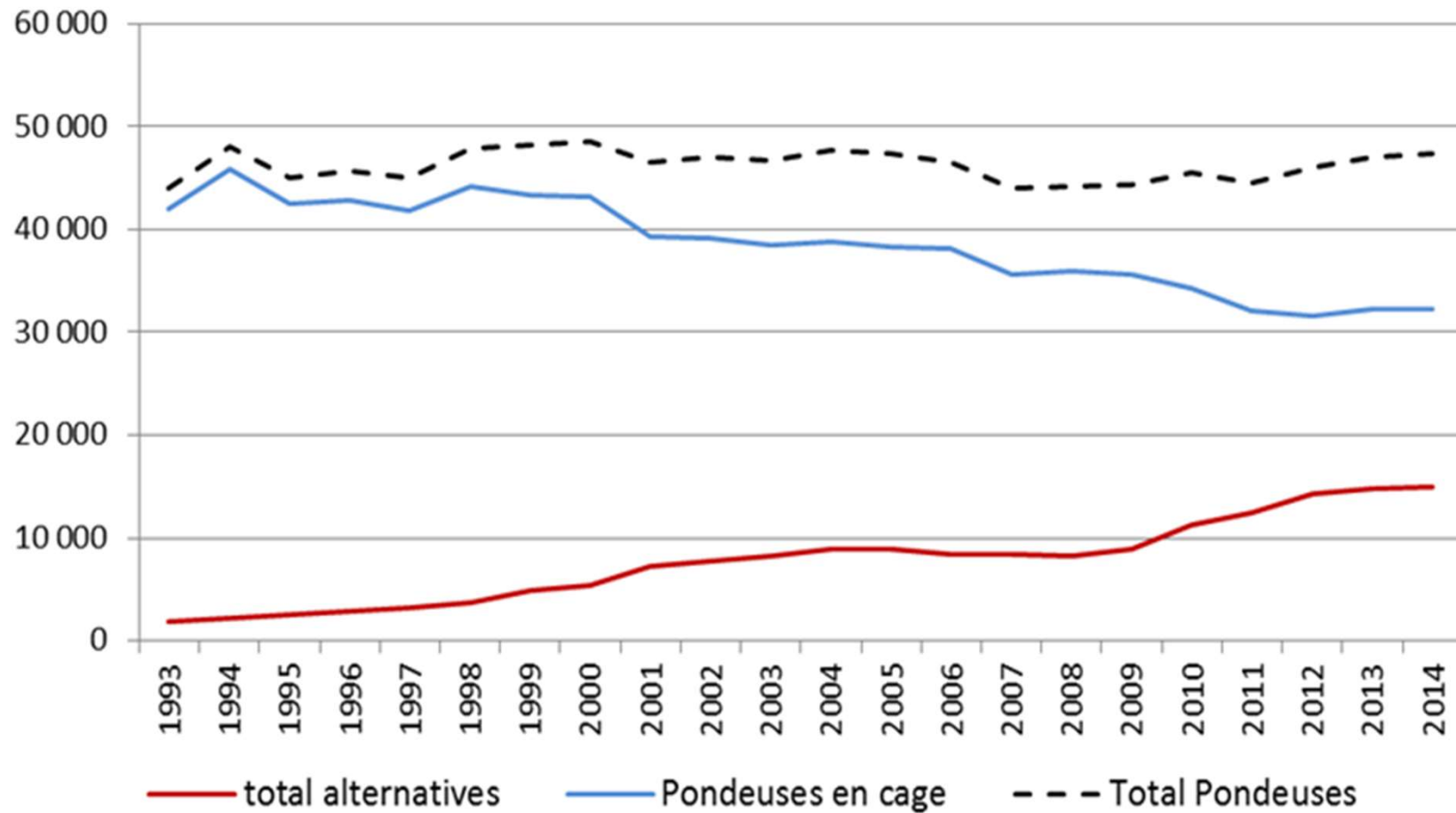
# Performances de (re)production

## 2 types de poules

	Pondeuse	viande
Maturité sexuelle	Précoce	Tardive
Age au premier œuf	16-18 sem	24-25 sem
Pic de ponte (90% de ponte)	22 sem	28 Sem
Nb œufs produits/an	320	150-200
Durée de production	70-90 sem	Max 40

# Performances de (re)production

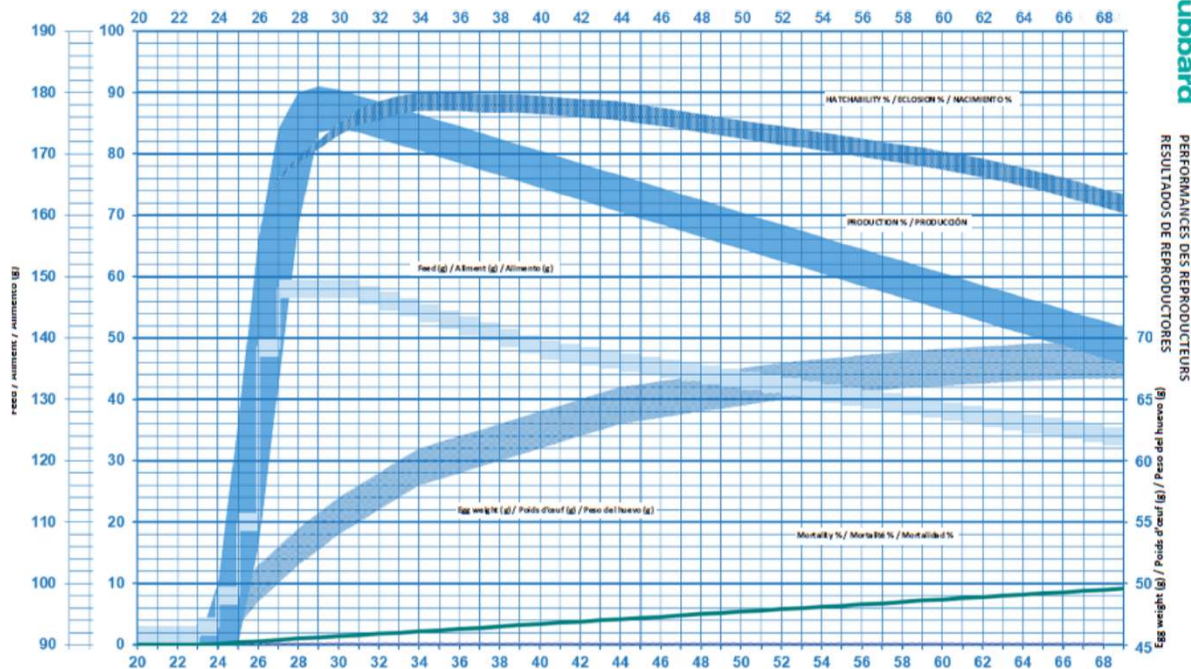
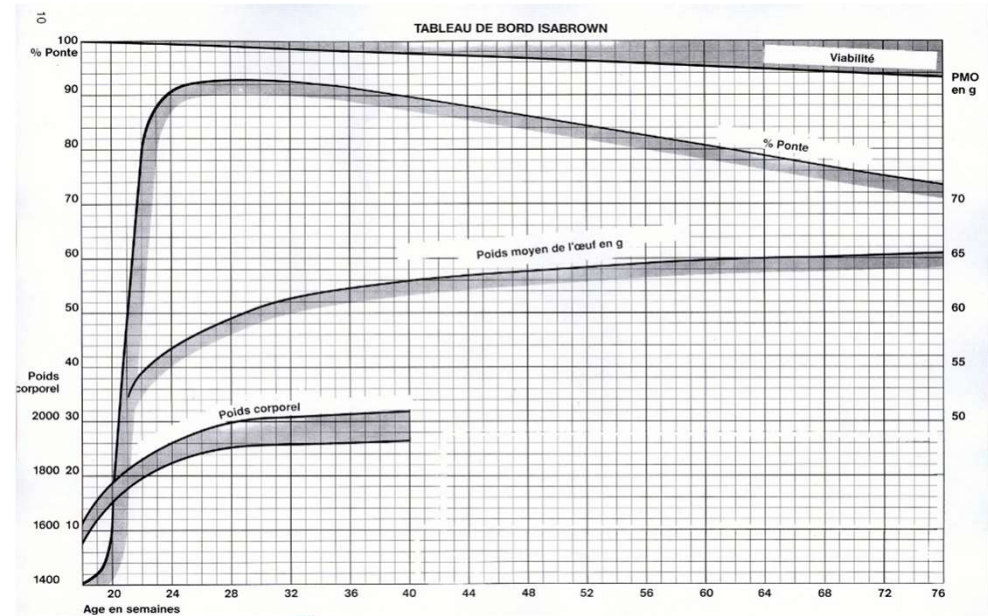
## Nombre de poules pondeuses en France (milliers)



# Performances de (re)production

## Tableau de bord des poules

Souche pondeuse



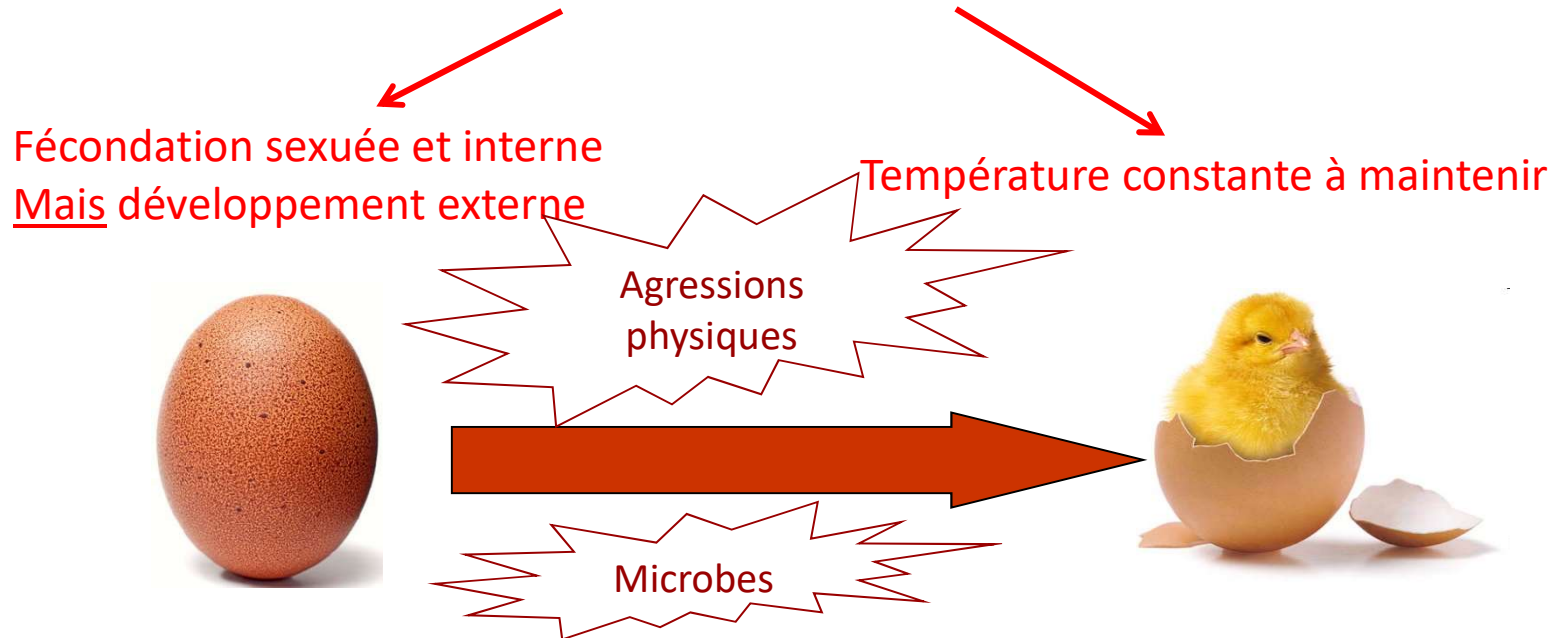
Souche chair

# L'œuf de poule

L'Œuf, un produit de base pour l'alimentation humaine

Chambre isolée pour le développement embryonnaire

**Les oiseaux sont ovipares et homéothermes**



**Doit contenir la totalité des composants nécessaires au développement embryonnaire**

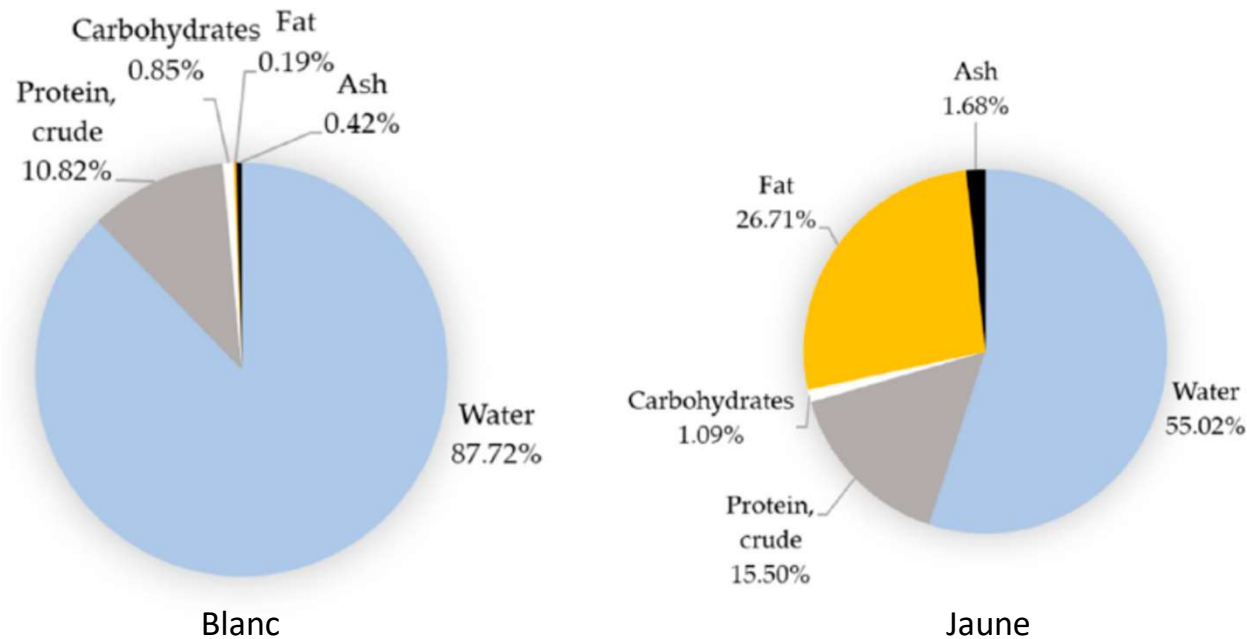
- Éléments nutritionnels parfaitement équilibrés
- Nombreux composés avec un large spectre d'activités biologiques
- Systèmes de protection (défenses naturelles)

- Défense physique (coquille principalement)
- Défense chimique (activité antimicrobienne des protéines de l'œuf)

# Une composition adaptée à la consommation humaine

## ➤ L'œuf en tant qu'aliment

- Composition globale du blanc et du jaune d'œuf





# Une composition adaptée à la consommation humaine

## ➤ L'œuf en tant qu'aliment

- **Caractéristiques nutritionnelles de l'œuf pour 100 g (2 œufs)**

- **Calories : 155**

- **Protéines totales : 12,3 g**

Valeur biologique élevée (référence OMS 100/ lait vache 86)

- **Lipides totaux : 11,9 g**

- richesse en phospholipides : 31 % (soit 3,4 g)

- Majorité d'acides gras insaturés

- Présence d'acides gras indispensables (acide linoléique)

- cholestérol : 0,42 g (1,2 g / 100 g de jaune)

- Forte digestibilité: 98% Triglycérides, 90% Phospholipides

- **Richesse en vitamines :**

- Toutes les vitamines sont présentes sauf la vitamine C.

- Grande richesse en Choline (essentielle au développement neuronal)

- **Richesse en minéraux :** phosphore, fer et soufre

# Une composition adaptée à la consommation humaine

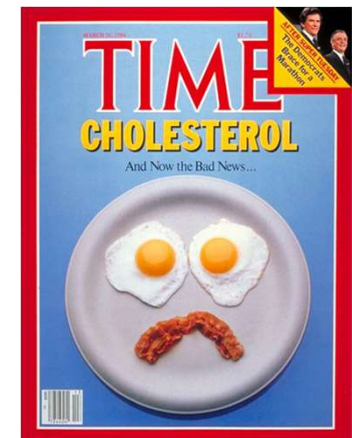
## > L'œuf en tant qu'aliment

- Qualité nutritionnelle de l'œuf

### L'œuf, une mauvaise réputation non justifiée

Pourquoi cette mauvaise réputation ?

- 1968 « the american heart association » indique qu'il faut consommer moins de 3 œufs par semaine → association supposée entre cholestérol alimentaire et sanguin
- 26 mars 1984, une de « time magazine » dévastatrice pour l'œuf
- Dès 1995, les recommandations ont changé suite aux résultats obtenus in vitro et in vivo
- **Le cholestérol alimentaire n'est pas associé au cholestérol sanguin, mais avec la prise alimentaire d'acides gras saturés (Acide myristique (14:0) et palmitique (16:0))**



*Réhault-Godbert et al 2019; Nys et al., 2018; Griffin 2011, Miranda et al., 2015; Hayes et al., =1992; Pronczuk et al., 1994*

# Une composition adaptée à la consommation humaine

## > L'œuf en tant qu'aliment

- Qualité nutritionnelle de l'œuf

- L'absorption alimentaire d'acide linoléique (C 18:2 n-6) diminue le taux de cholestérol sanguin et l'acide alpha-linoléique (C18:3 n-3) réduit le risque de maladie cardiovasculaire
- Dans l'œuf, Les acides gras saturés dont l'acide myristique (14:0) sont faibles et les acides gras insaturés dont l'acide linoléique sont élevés (1,38 g/100g).

Name	Average Content (g/100g)
FA saturated	2.64
FA 4:0	<0.05
FA 6:0	<0.05
FA 8:0	<0.05
FA 10:0	<0.05
FA 12:0	<0.05
FA 14:0	0.024
FA 16:0	1.96
FA 18:0	0.65
FA monounsaturated	3.66
FA 18:1 n-9 cis	3.51
FA polyunsaturated	1.65
FA 18:2 9c,12c (n-6)	1.38
FA 18:3 9c,12c,15c (n-3)	0.061
FA 20:4 5c,8c,11c,14c (n-6)	0.12
FA 20:5 5c,8c,11c,14c,17c (n-3) EPA	0
FA 22:6 4c,7c,10c,13c,16c,19c (n-3) DHA	0.09
Cholesterol	0.398

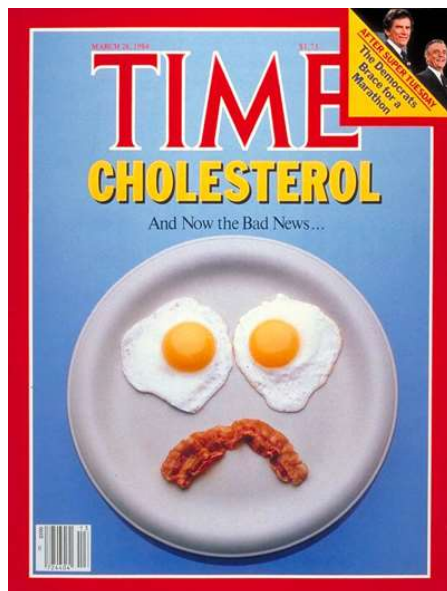
*Réhault-Godbert et al 2019; Nys et al., 2018; Griffin 2011, Miranda et al., 2015; Hayes et al., =1992; Pronczuk et al., 1994*

# Une composition adaptée à la consommation humaine

## ➤ L'œuf en tant qu'aliment

- Qualité nutritionnelle de l'œuf

**L'œuf est excellent pour la santé.**

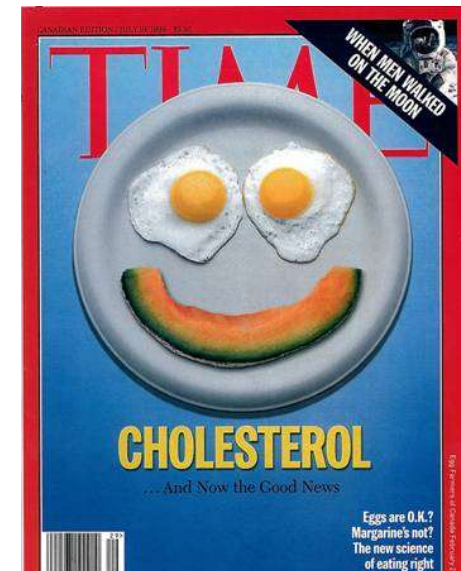


26 mars 1984

**Peut-on manger des œufs tous les jours ?**

**Oui** des études ont montré que si le niveau de cholestérol est normal, on peut consommer de nombreux œufs par jour sans affecter le niveau de cholestérolémie.

**Si votre niveau de cholestérol est élevé**, il faut ramener sa consommation à 4 par semaine en diminuant les autres sources de protéines animales, les matières grasses (notamment les graisses saturées).

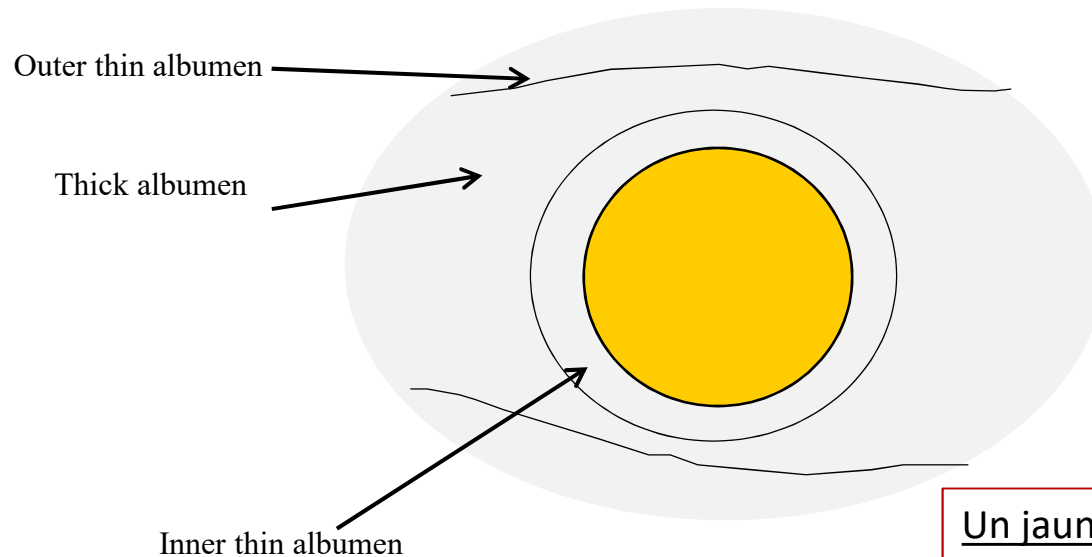


19 juillet 1999

# Une composition adaptée au développement du poussin

Un blanc d'œuf riche en eau (88%),  
protéines et glucides

- *Différentes textures de blanc*
- *Molécules antimicrobiennes*



Un jaune d'œuf à la composition adaptée

- *Le gamète féminin (Disque clair de 3,5 mm)*
- *Des réserves nutritionnelles (lipides, protéines) et de défenses (anticorps)*
- *Entouré d'une membrane vitelline fine et translucide*

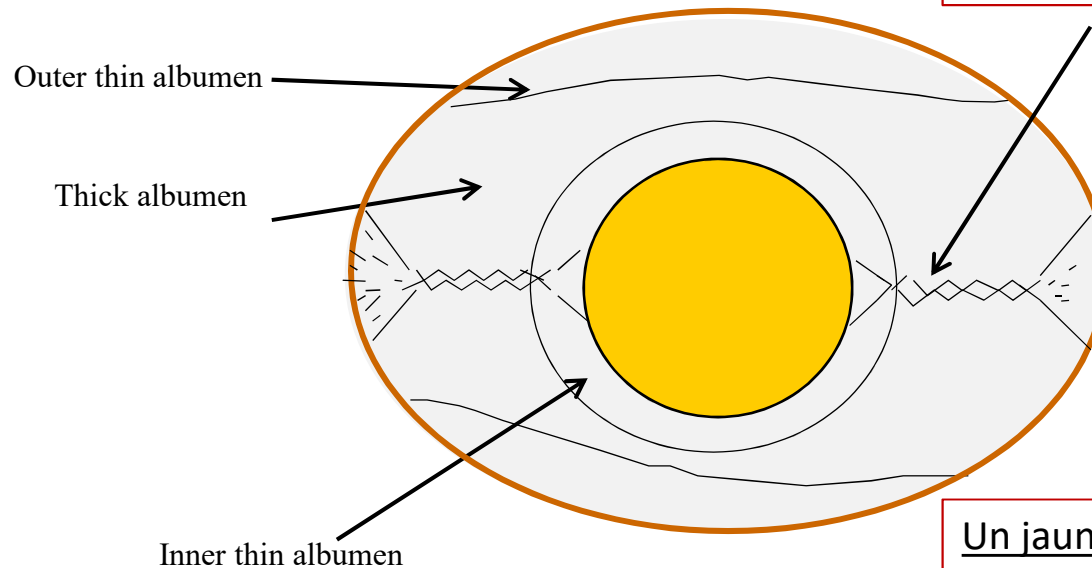
# Une composition adaptée au développement du poussin

Un blanc d'œuf riche en eau (88%), protéines et glucides

- *Différentes textures de blanc*
- *Molécules antimicrobiennes*

Des chalazes qui maintiennent le jaune en suspension

*Protection du jaune contre les chocs.  
Rôle d'amortisseur*



Une coquille minérale

- *Assure la protection physique*
- *Assure la protection thermique*
- *Assure les échanges gazeux*
- *Source de calcium pour l'embryon*

Un jaune d'œuf à la composition adaptée

- *Le gamète féminin (Disque clair de 3,5 mm)*
- *Des réserves nutritionnelles (lipides, protéines) et de défenses (anticorps)*
- *Entouré d'une membrane vitelline fine et translucide*

# La formation de l'œuf

## ✓ Quels sont les organes impliqués dans la formation de l'œuf ?

- L'ovaire
- L'oviducte gauche
- Le foie
- Mais plus encore .....

## ✓ Quand se forme l'œuf ?

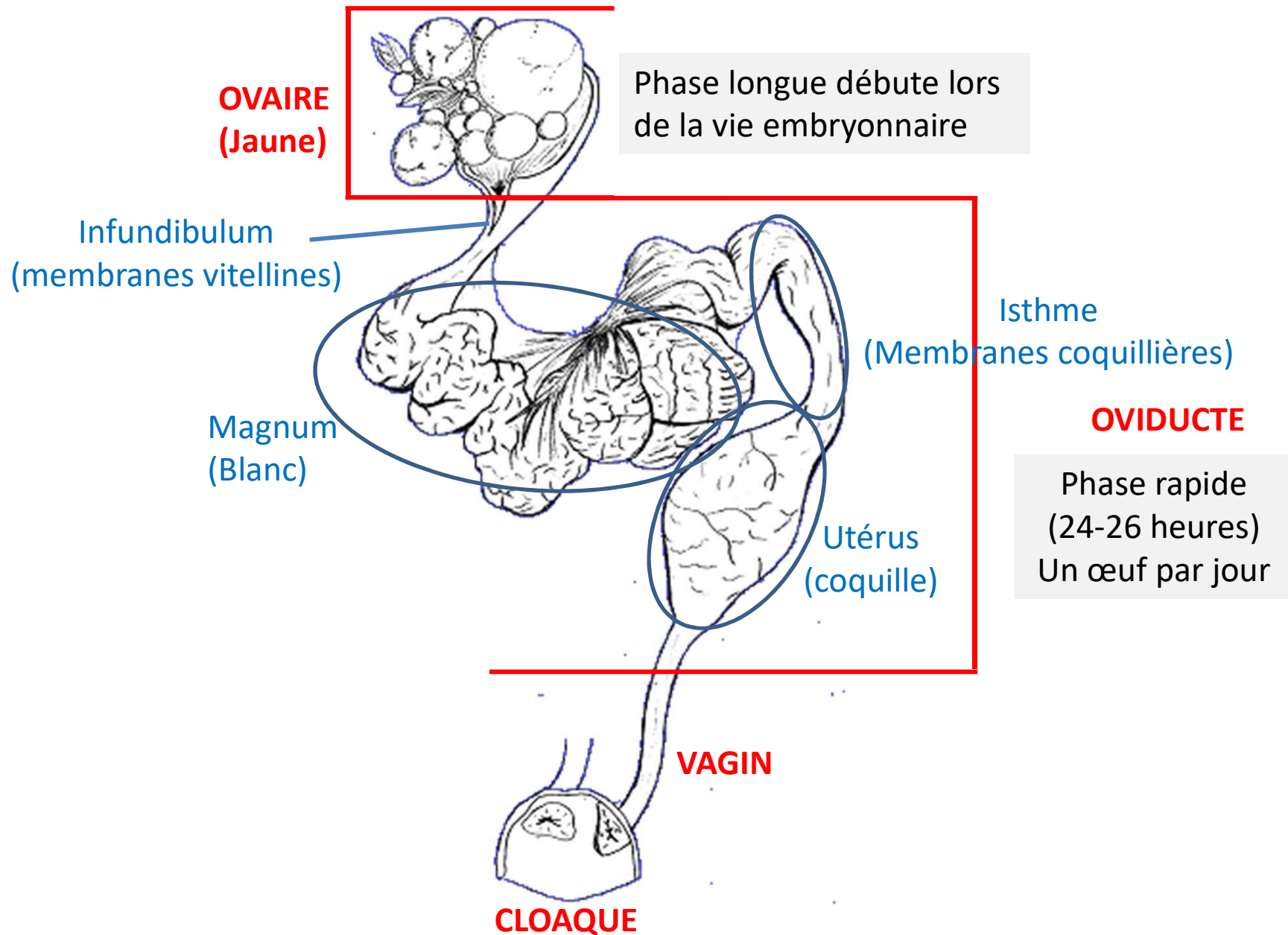
- Tous les jours (presque)
- Après la maturité sexuelle, mais initiée avant.

## ✓ Quelles en sont les principales étapes ?

- Tout commence sur l'ovaire
- Le foie entre en jeu
- Le jaune est ovulé dans l'oviducte
- Les membranes vitellines sont achevées
- Le blanc d'œuf vient s'accumuler
- Les membranes coquillières sont déposées
- L'œuf est minéralisé
- Il est expulsé via le vagin (oviposition)

# L'appareil reproducteur de la femelle adulte

Seul l'appareil reproducteur gauche se développe lors de la maturité sexuelle





# Tout commence lors de l'embryogénèse

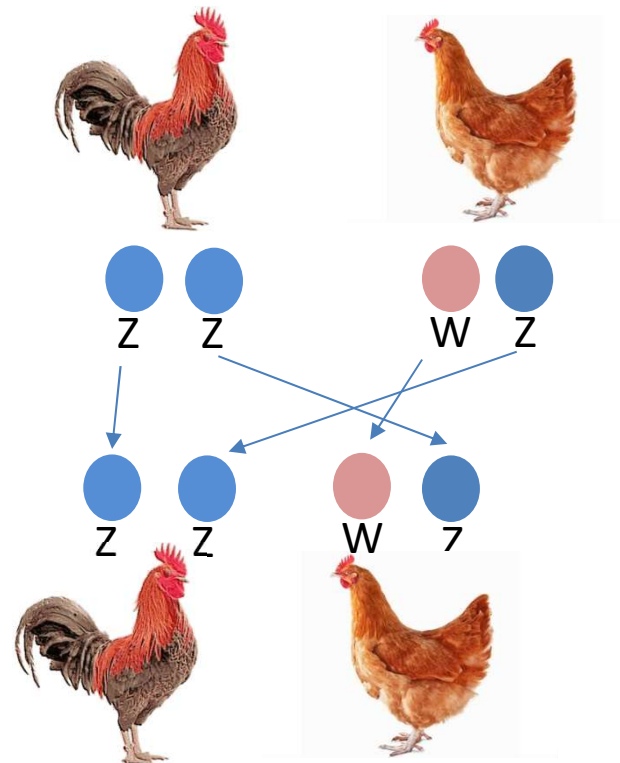
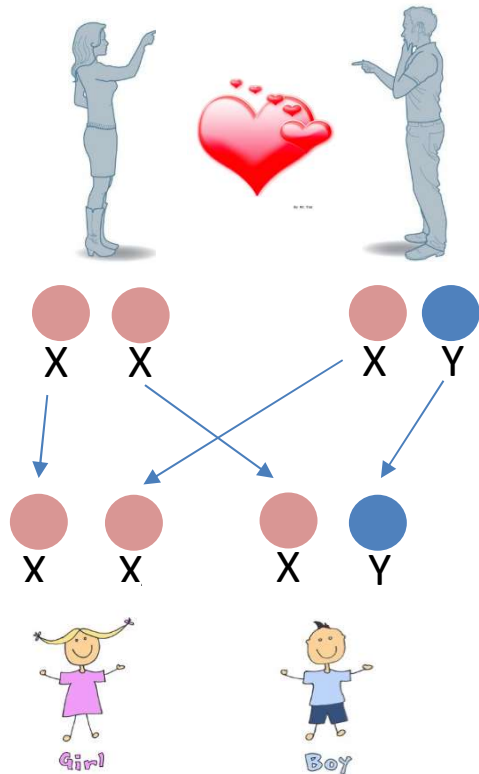
## La gamétogénèse

- ✓ Oogénèse débute au jour 7 de la vie embryonnaire (ED7) de la future poule → oocytes primaires
- ✓ Jusqu'à ED14 → divisions mitotiques (oocytes primaires diploïdes)
- ✓ Oocytes ne sont PAS renouvelés pendant la vie de la poule et constituent donc le stock final.
- ✓ Du stade ED16 à ED18, début de la méiose bloquée en prophase de la première division. Maintien de ce stade pendant des mois et années (maturité sexuelle et mise en place de la hiérarchie folliculaire)

# Tout commence lors de l'embryogénèse

## La gamétogénèse

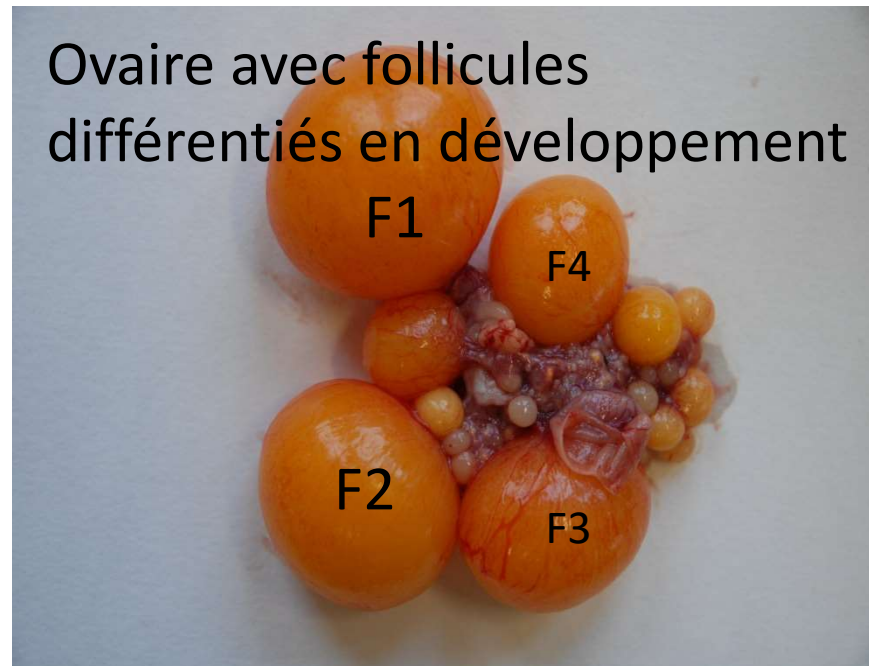
- ✓ 12000 oocytes sont présents sur l'ovaire à l'éclosion du poussin
- ✓ Déterminisme sexuel porté par la femelle (à l'opposé des humains)



# Tout continue sur l'ovaire

## Le développement folliculaire

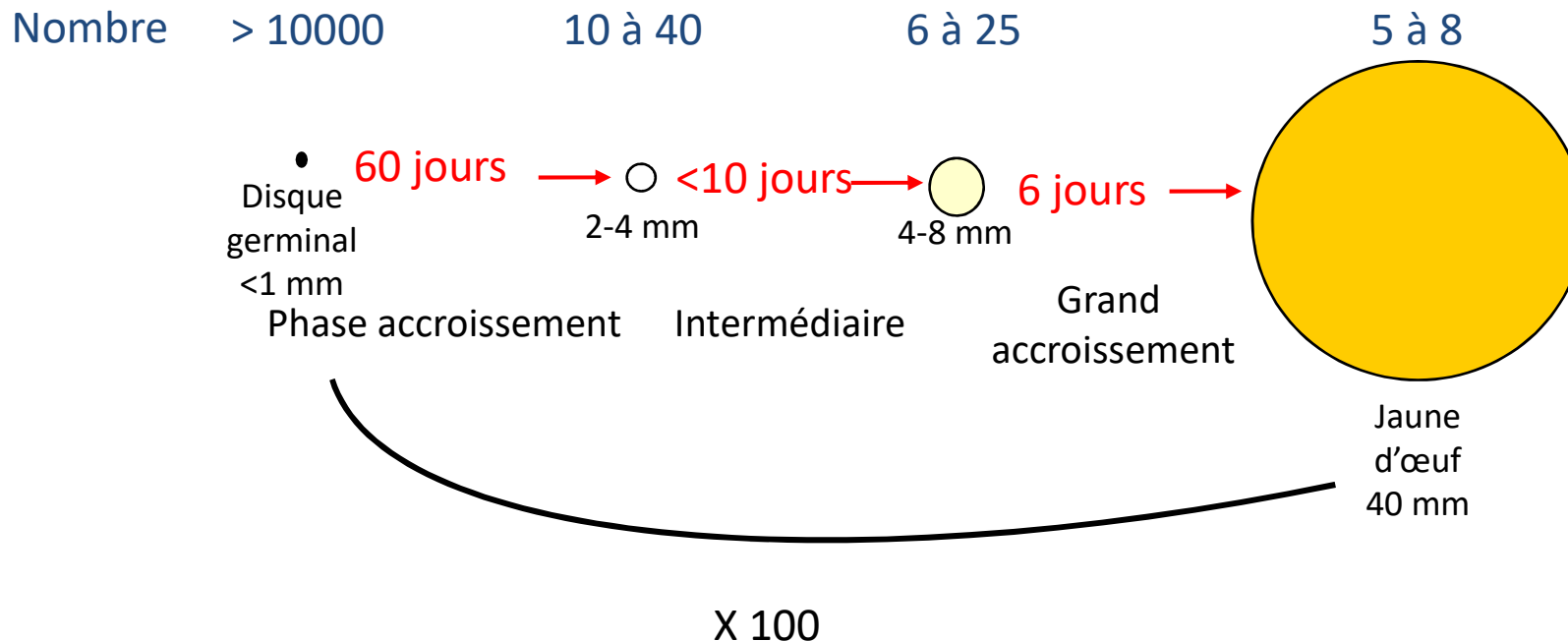
- ✓ 12000 oocytes produits durant l'embryogénèse
- ✓ Moins de 2000 formeront un jaune d'oeuf
- ✓ Les oocytes se transforment en follicule à la maturité sexuelle
- ✓ Mise en place d'une hiérarchie folliculaire
  - ✓ Sélection des oocytes sous la dépendance des hormones de l'axe hypophysaire-hypothalamique (neuropeptides, gonadotrophines, gonadoliberines, hormones stéroïdiennes).



# Tout continue sur l'ovaire

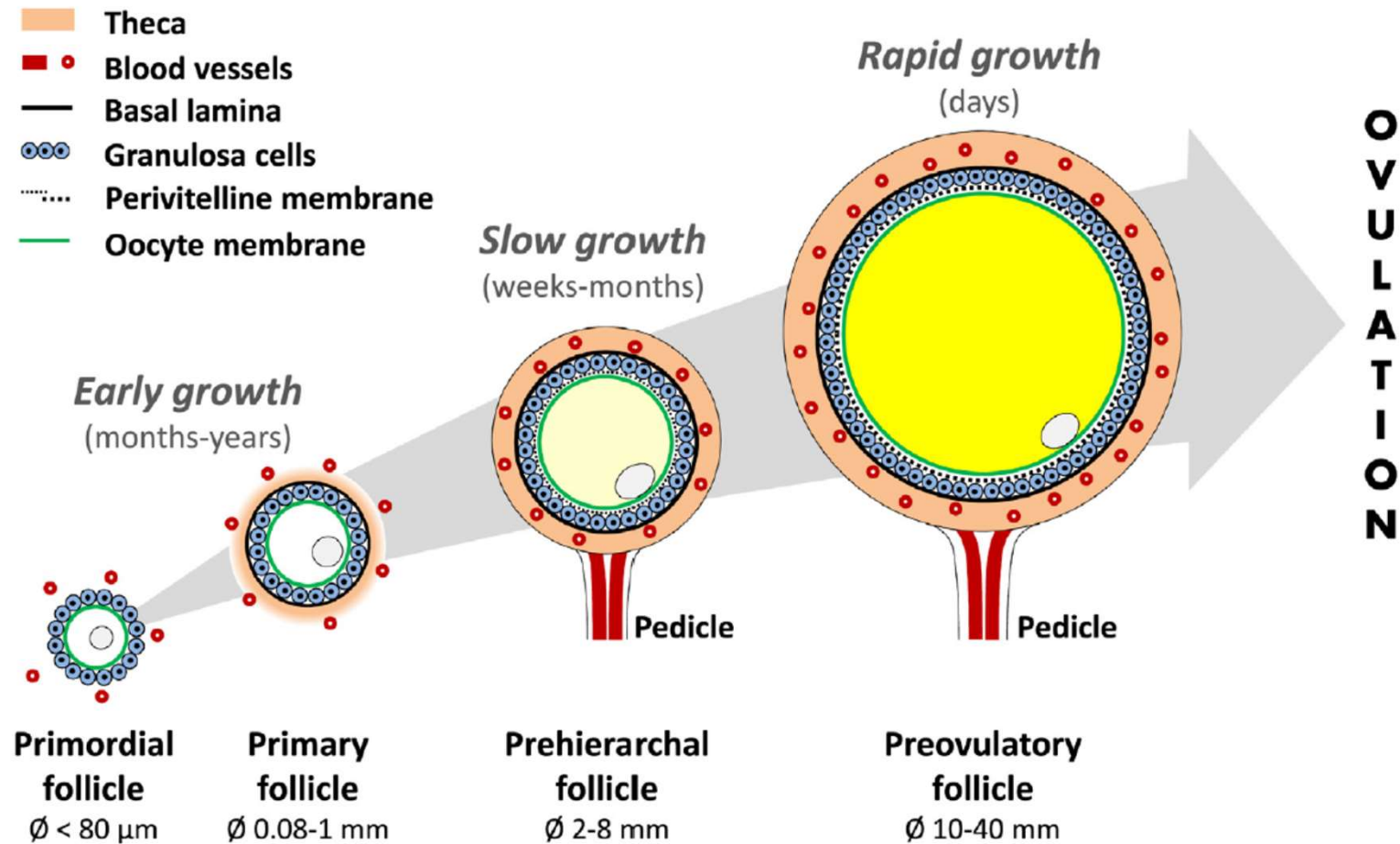
## Le développement folliculaire

- ✓ 12000 oocytes produits durant l'embryogénèse
- ✓ Moins de 2000 formeront un jaune d'œuf
- ✓ Les oocytes se transforment en follicule à la maturité sexuelle
- ✓ Mise en place d'une hiérarchie folliculaire
  - ✓ Sélection des oocytes sous la dépendance des hormones de l'axe hypophysaire-hypothalamique (neuropeptides, gonadotrophines, gonadoliberines, hormones stéroïdiennes).



# Tout continue sur l'ovaire

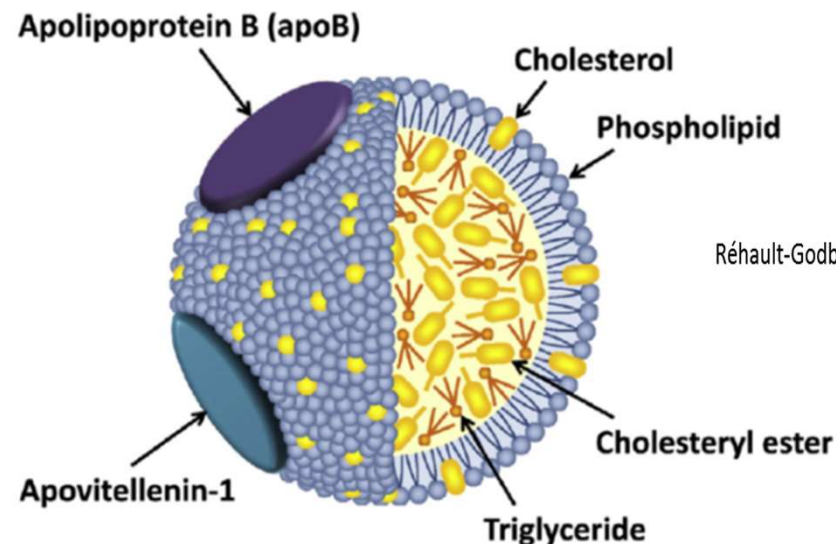
## Le développement folliculaire



# Tout continue sur l'ovaire

## La synthèse et le transfert des constituants du jaune

- ✓ Lipides et précurseurs protéiques du jaunes sont synthétisés dans le foie et secrétés dans la circulation sanguine pour atteindre l'ovaire et transfert à l'oocyte.
- ✓ Sous le contrôle des œstrogènes fortement induits à la maturité sexuelle (accroissement 15-20 fois de la lipogenèse et la lipémie)
- ✓ Transfert des précurseurs du jaune dans le follicule ovarien
- ✓ Lipides sont produits et transportés sous formes de VLDL



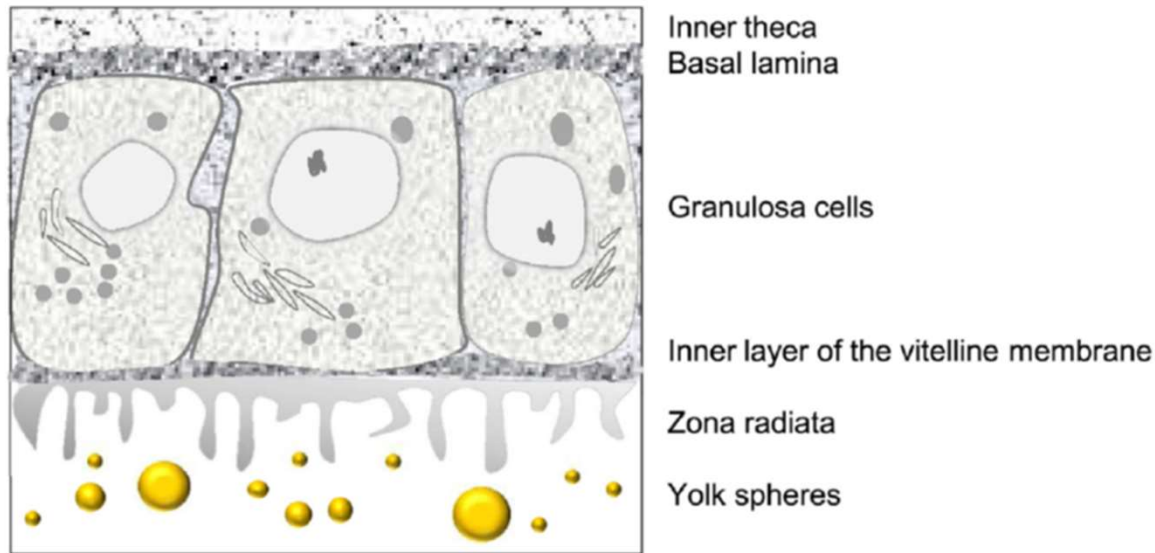
Réhault-Godbert et Guyot, *Encyclopedia of Reproduction*, (2018)

- ✓ Chez la poule, les VLDL sont très stables pour permettre leur transport et transfert au jaune. Implication de l'apovittellenin-1 qui est un puissant inhibiteur des lipases

# Tout continue sur l'ovaire

## La synthèse et le transfert des constituants du jaune

- ✓ Intervention importante de la vitellogénine internalisée avec les VLDL et autres composants dans l'oocyte avant leur excrétion sous forme de granules par exocytose



Réhault-Godbert et Guyot, *Encyclopedia of Reproduction*, (2018)

- ✓ Les Igs du jaunes proviennent du plasma et sont originaires des lymphocytes B

# Le jaune d'œuf

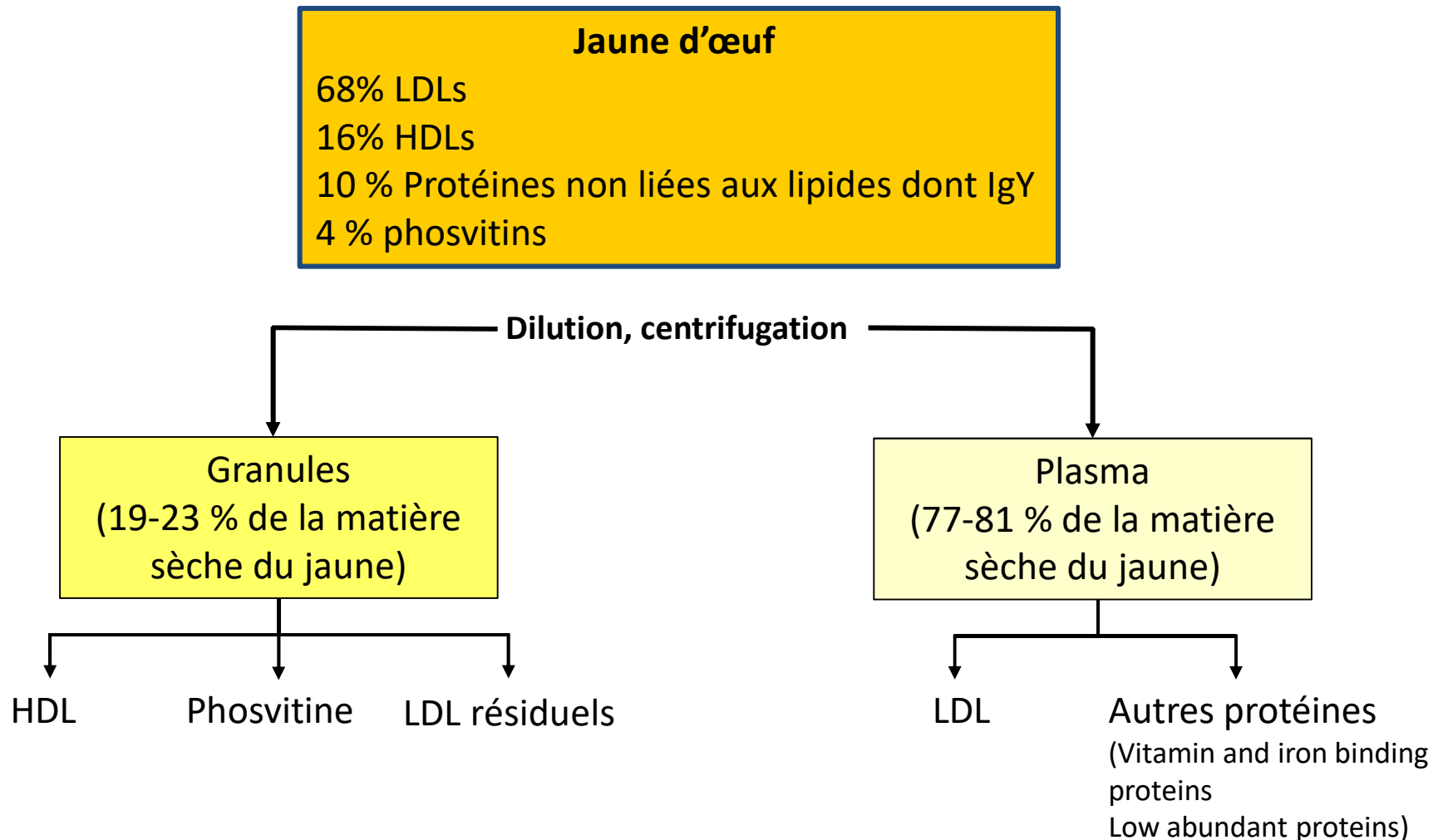
La fonction biologique des constituants du jaune est de fournir à l'embryon des nutriments et des composés biologiquement actifs pour permettre le développement harmonieux du poussin

	Jaune (100g)
eau	49
protéines	16.1
sucre	0.5
Lipides	34.5
Minéraux	1.6 (P, Ca, K)
Calories (Kcal)	364
Igs	7-10 mg/ml
Vitamines	A, D, E, B1, B2, B3, B5, B6, B8, B12



# Le jaune d'œuf

La fonction biologique des constituants du jaune est de fournir à l'embryon des nutriments et des composés biologiquement actifs pour permettre le développement harmonieux du poussin

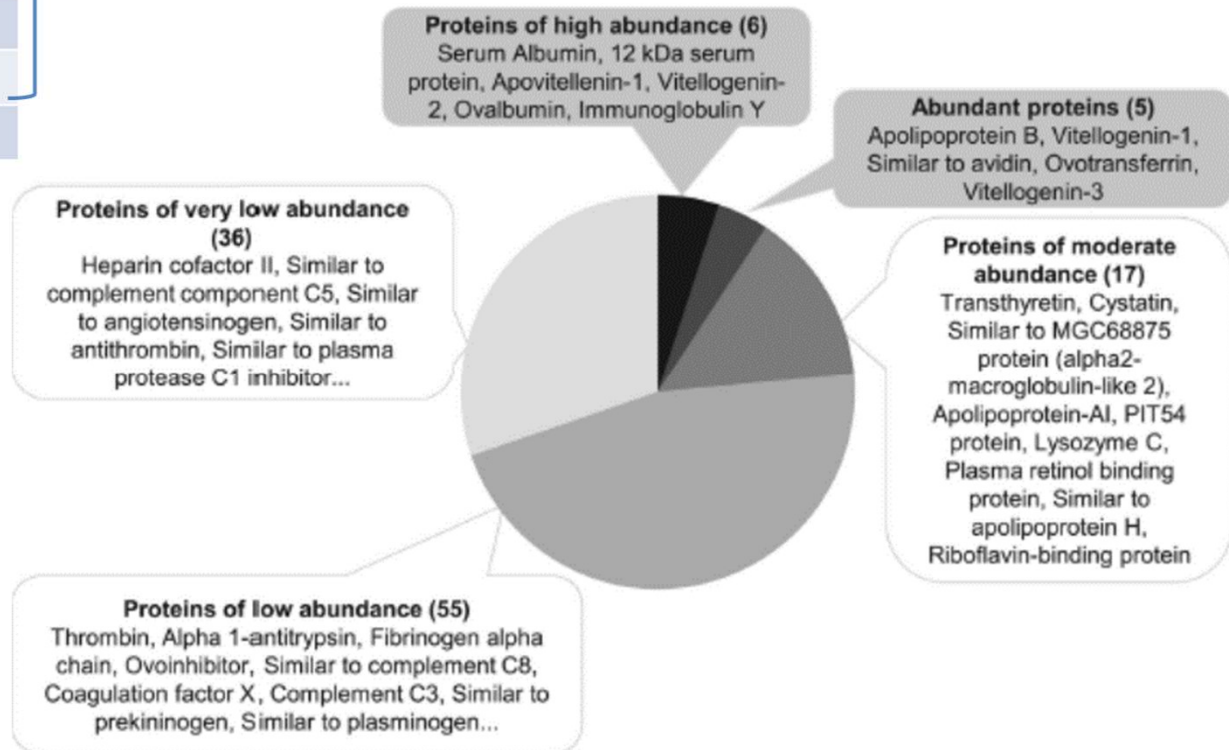


# Le jaune d'œuf

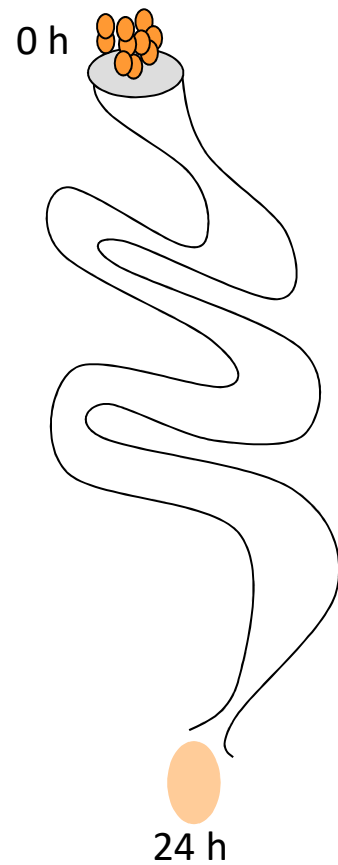
## Les protéines du jaune

Protéine	% protéine jaune
Apo-vitelline 1	20-22
Apolipoprotéine B	
Lipovitelline 1	33-35
Lipovitelline 2	
α livétine	30
B livétine	
Y livétine	
phosvitine	11
<b>Autres protéines (&gt;250)</b>	2-4

**98%**  
Protéines  
majeures



# Tout continue dans l'oviducte



## infundibulum

Membranes vitellines  
( $< 1$  h)

## Magnum

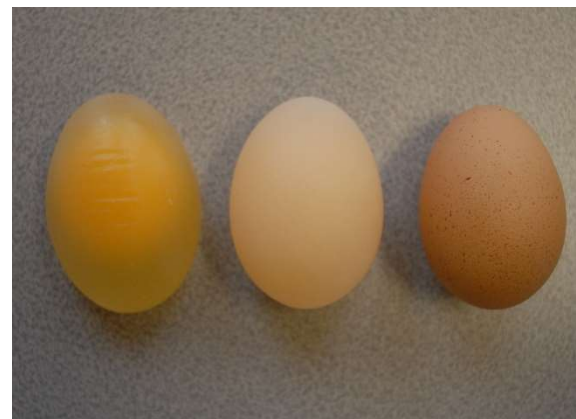
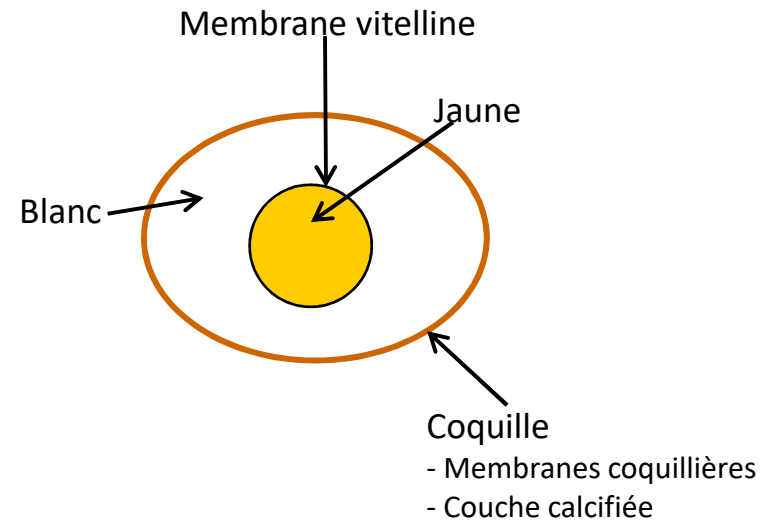
blanc  
(1h – 4h30)

## Isthme

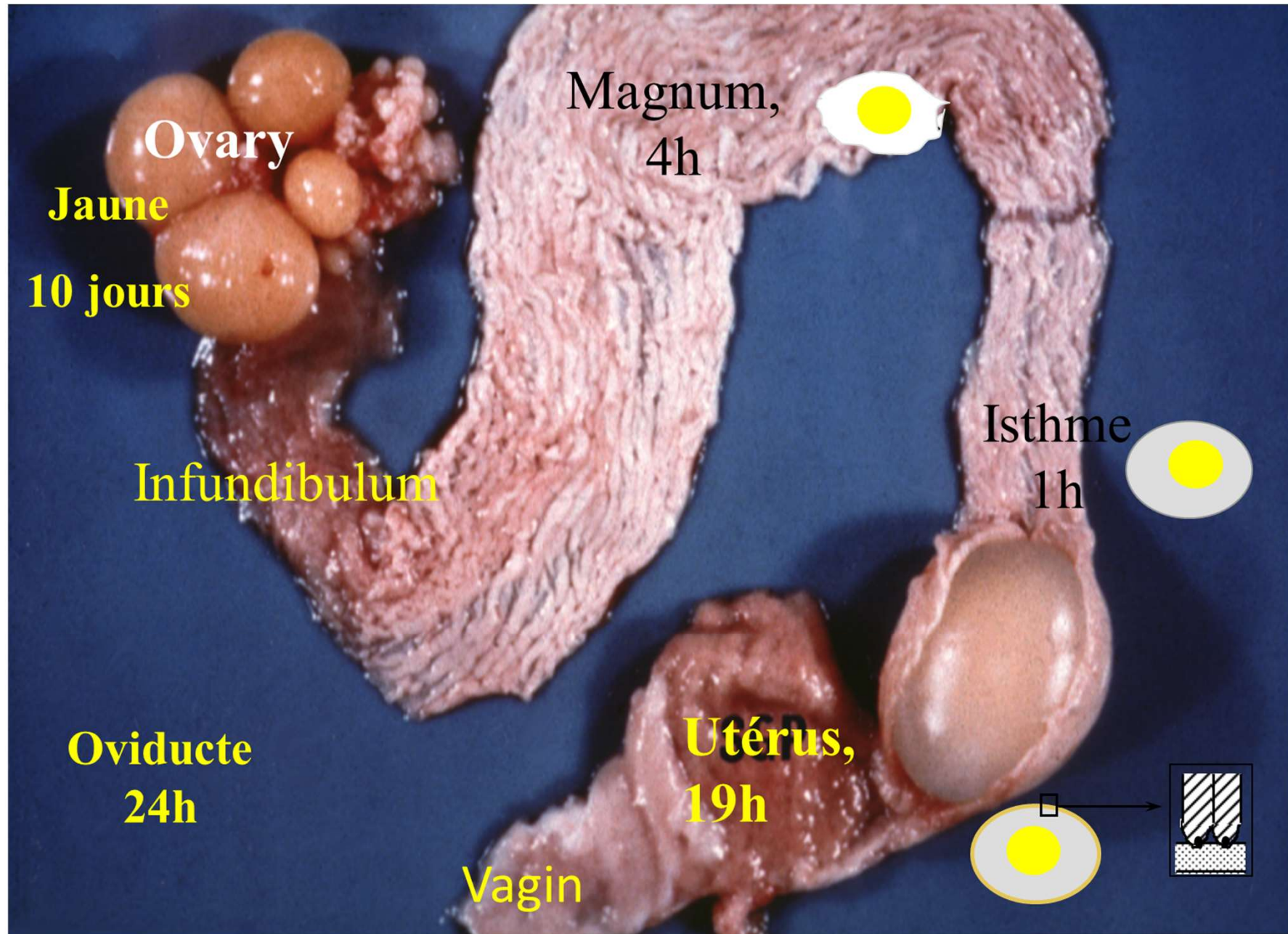
Membranes coquillières  
(4h30-6h)

## Utérus

Calcification de la coquille  
(6h – 24 h)



# Tout continue dans l'oviducte



# L'OVULATION

- ✓ Se produit 24-25 heures avant la ponte de l'œuf et dépendante de la photopériode
- ✓ Sous contrôle hormonal (LH) et dépendante de la maturation folliculaire
- ✓ A 14 heures de lumière par jour, la poule pond de 0 à 8 heures après l'allumage avec un décalage quotidien

Jour	Heure de ponte
1	07:15
2	07:30
3	08:05
4	08:30
...	...
n	11:30
n+1	13:00
n+2	
N+3	07:15

**Série de ponte**

**Pause**

**Nouvelle Série de ponte**

# Tout continue dans l'oviducte

**Infundibulum :** Segment proximal de 10 cm  
Temps de séjour de l'œuf de 30 minutes

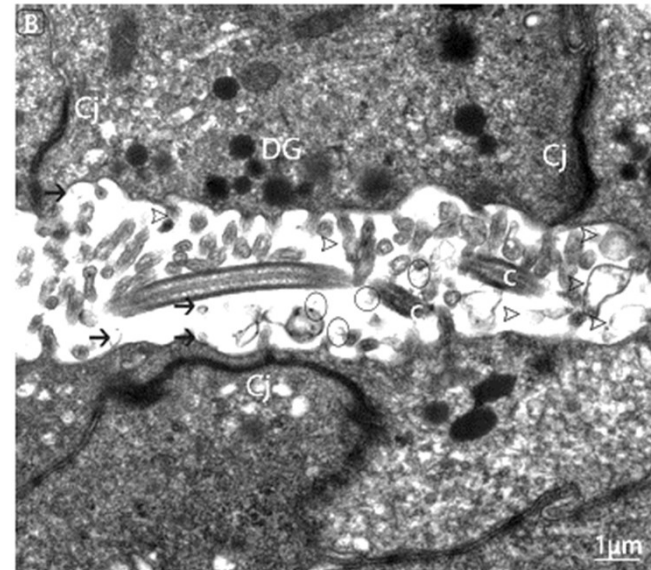
Captation des oocytes

Fécondation éventuelle par les SPZ

Lieu de stockage du sperm (glandes de stockage infundibulaires)

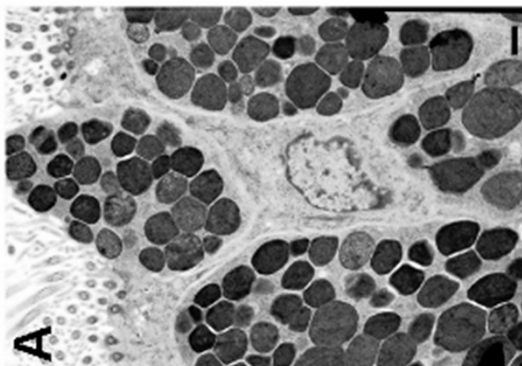
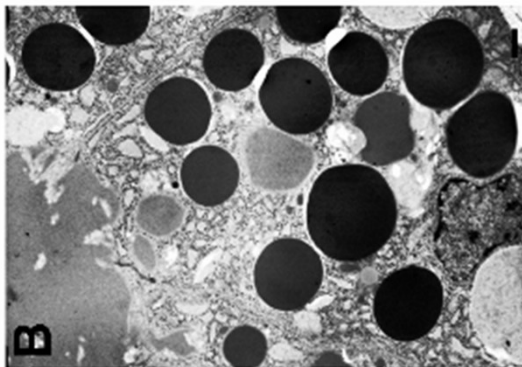
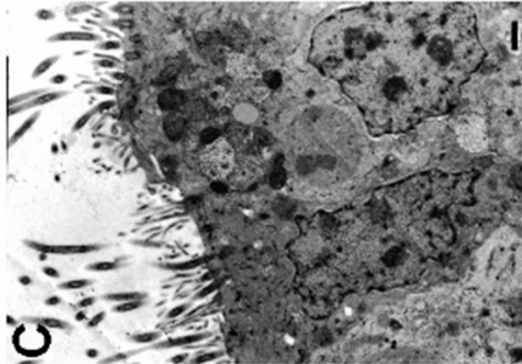
Dépôt de la couche externe des membranes vitellines

- 137 protéines identifiées
- Dont protéines de la *Zona Pellucida* (ZP1, ZP3, ZPC, ZPD...)

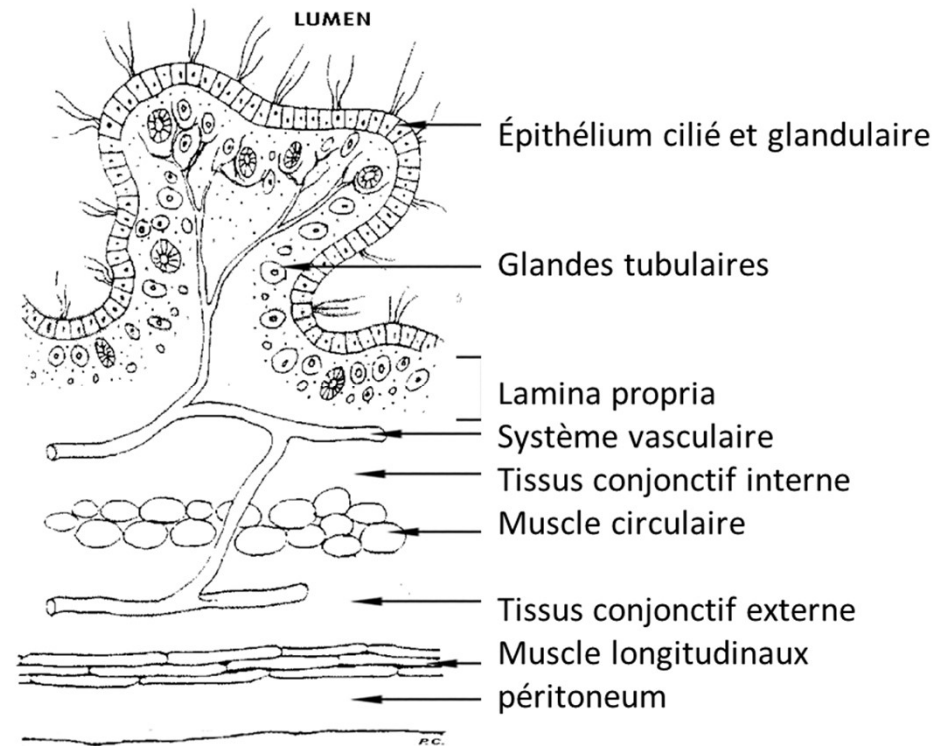


# Tout continue dans l'oviducte

## Magnum: synthèse et sécrétion du blanc d'œuf



- Synthèse continue des protéines
- Stockage dans des granules de sécrétion
- Stéroïdes sexuels dépendance
- La distension médiée par le passage de l'œuf dans l'utérus induite une sécrétion rapide des protéines accumulées
- Formation des chalazes par rotation de l'œuf



# Tout continue dans l'oviducte

## Magnum: synthèse et sécrétion du blanc d'œuf

	Blanc
eau	88.6
protéine	10.6
sucre	0.8
Lipides	0.1
Cendres	0.5
Calories (Kcal)	47
Vitamines	B2, Niacin, Folacin

Protéine	% blanc
Ovalbumine	54
Ovotransferrine	12
Ovomucoïde	11
Ovoglobuline G2	4
Ovoglobuline G3	4
Ovomucine	3.5
Lysozyme	3.4
Ovoïnhibiteur	1.4
Ovoglycoprotéine	1.0
Riboflavin-binding protein	0.8
Ovomacroglobuline	0.5
Cystatine	0.05
Avidine	0.05
Environ 200 autres protéines	4.3

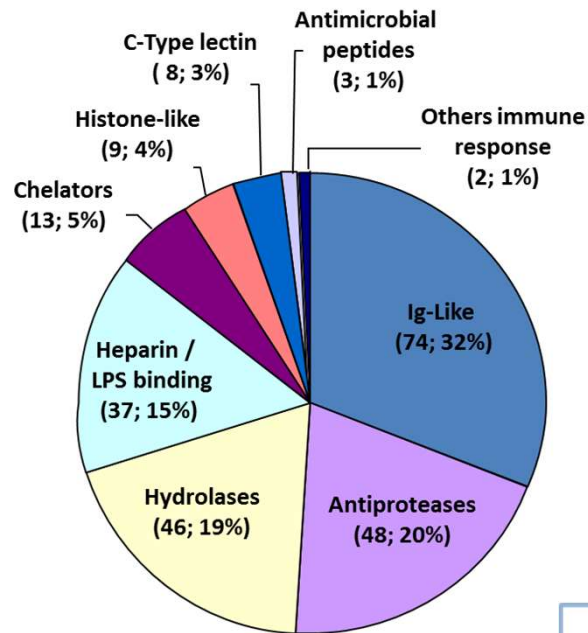
**95.7%**  
Protéines  
majeures



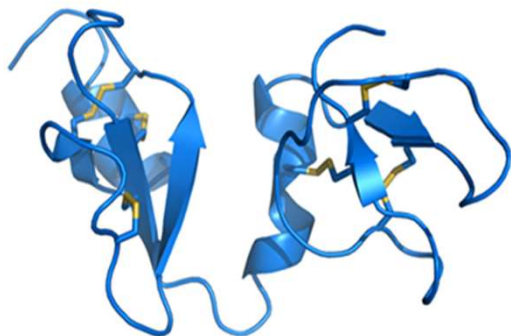
# Tout continue dans l'oviducte

## Magnum: synthèse et sécrétion du blanc d'œuf

Rôle des protéines du blanc dans la protection de l'embryon (défense chimique de l'œuf)



*Beta-défensine aviaire 11*



### Exemple du lysozyme de blanc d'œuf (Additif E1105)

#### Utilisation comme agent antibactérien

- ❖ Conservateur pour les fromages affinés
- ❖ Conservateur utilisé en vinification en remplacement du SO<sub>2</sub> (pour éviter la fermentation par les bactéries lactiques)
- ❖ Principe actif de médicaments: Cantalene®, Glossithiase®, Hexalyse®, Lyso6®, Lysocline®, Lysopaine®, Oroseptol® lysozyme®, Rhinobebe®...

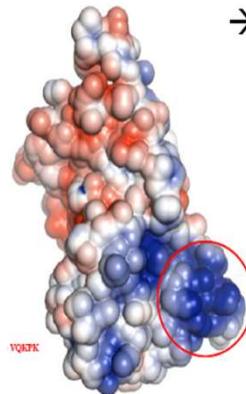


### OVAX

→ Activité antibactérienne

Réhault-Godbert et al., 2013

→ Etude des relations structure-fonction



(12) DEMANDE INTERNATIONALE PUBLIÉE EN VERTU DU TRAITÉ DE COOPÉRATION EN MATIÈRE DE BREVETS (PCT)

(19) Organisation Mondiale de la Propriété Intellectuelle  
Bureau international

(43) Date de la publication internationale  
8 décembre 2011 (08.12.2011)

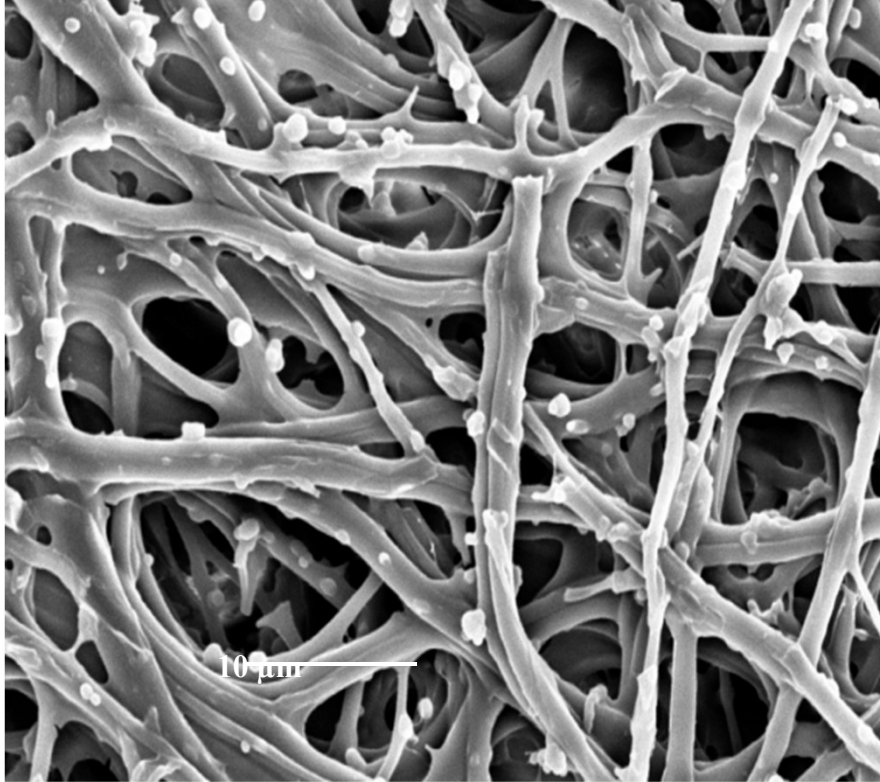
(10) Numéro de publication internationale  
**WO 2011/151407 A1**

PCT

Réhault-Godbert et al., 2011, Brevet

# Tout continue dans l'oviducte

Isthme : synthèse et sécrétion des membranes coquillières



Constituées d'un réseau de fibres fortement entremêlées

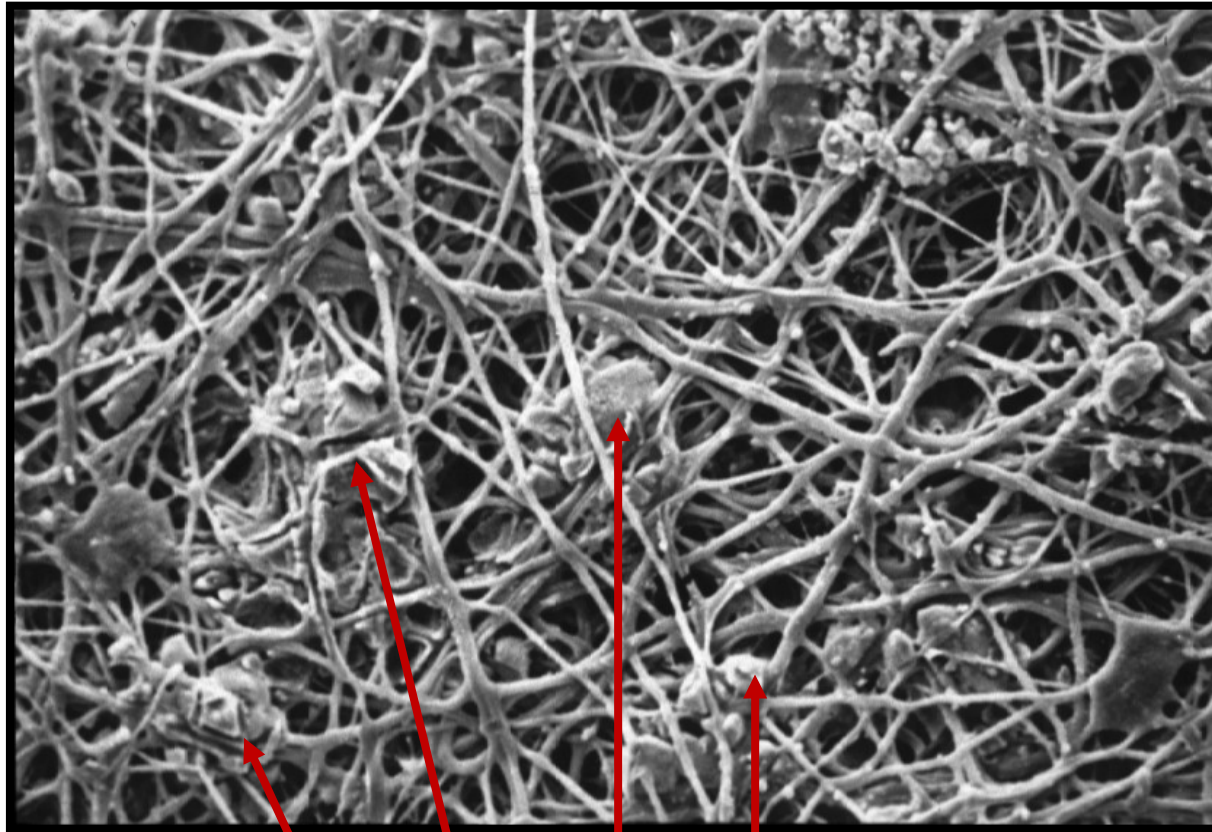
Nombreuses protéines collagéniques, pseudo-collagéniques insolubles et autres protéines solubles

Les membranes coquillières sont le support de la partie calcifiée de la coquille et constituent la partie non calcifiée de la coquille

# Tout continue dans l'oviducte

Isthme rouge : dépôt des noyaux mamillaires et initiation de la calcification

Segment tubulaire à l'interface de l'isthme blanc et de l'utérus



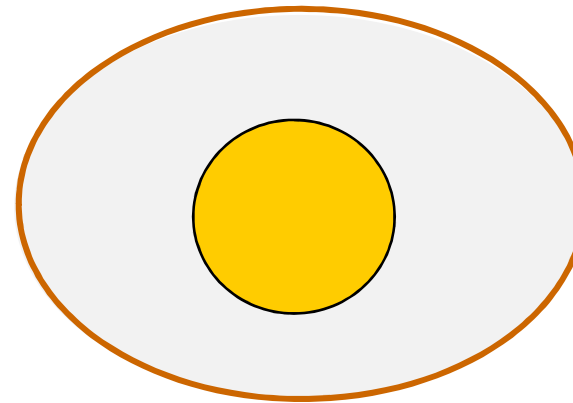
Le carbonate de calcium se dépose en des sites organiques (noyaux mamillaires) en surface de la membrane de l'œuf

# Tout continue dans l'oviducte

## Eggshell in the context of the egg

### Mineral eggshell

- *Ensure the physical protection*
- *Avoid bacterial penetration*
- *Ensure a thermic protection*
- *Allow gaz exchanges*
- *Calcium source for embryo*



**Eggshell is the only non-consumable part of an egg.....**

**... but its quality is crucial for the marketing of the egg and the reproduction**

# Desynchronization between calcium intakes and requirements

Calcium come from the diet

Mineralisation occurred during the night when there is no diet available



Need for shell calcification

0

--+

+++

+++

+++

+++

Availability of calcium

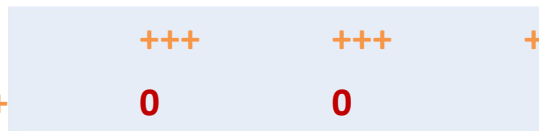
+++

+++

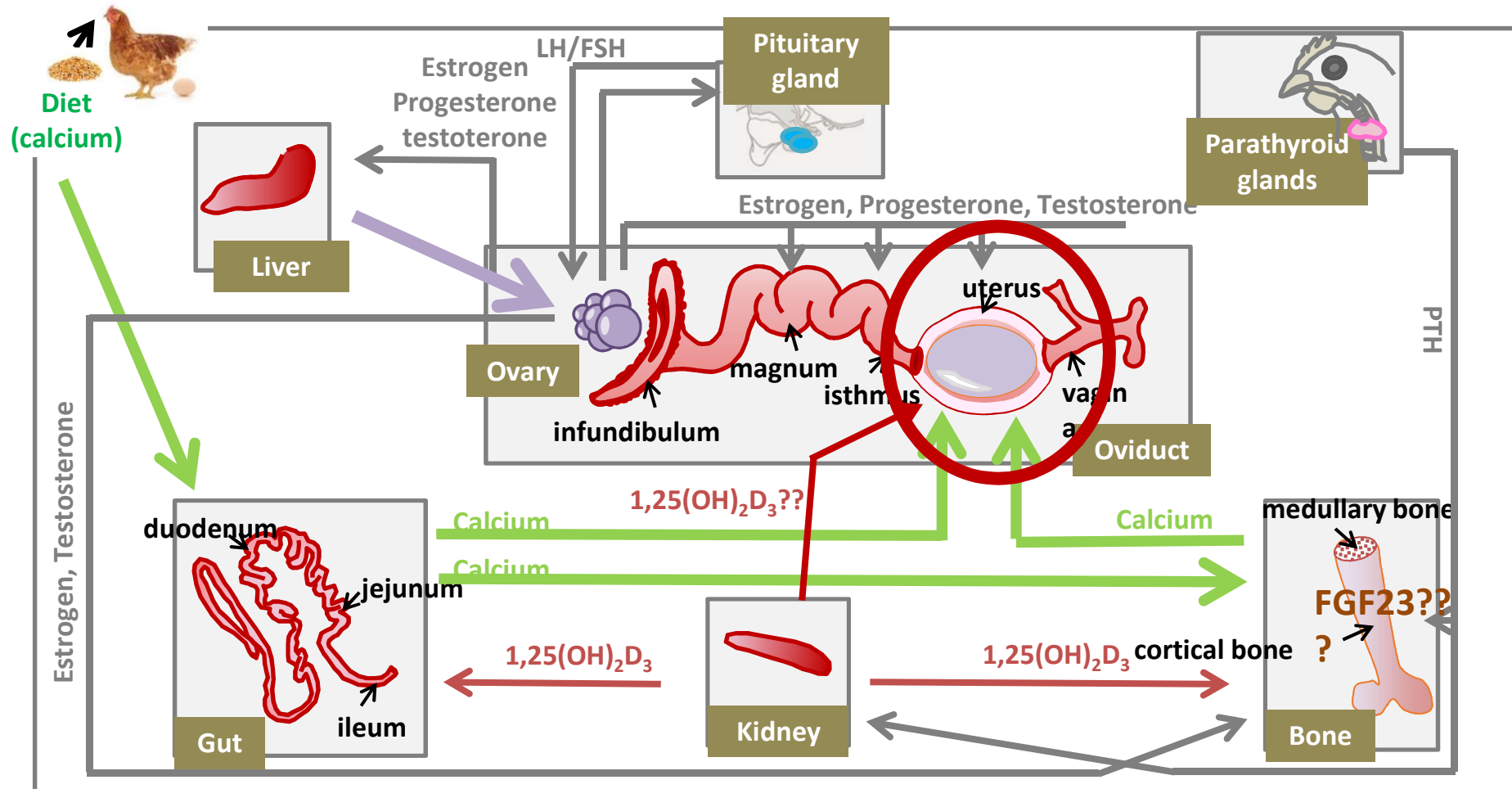
0

0

0

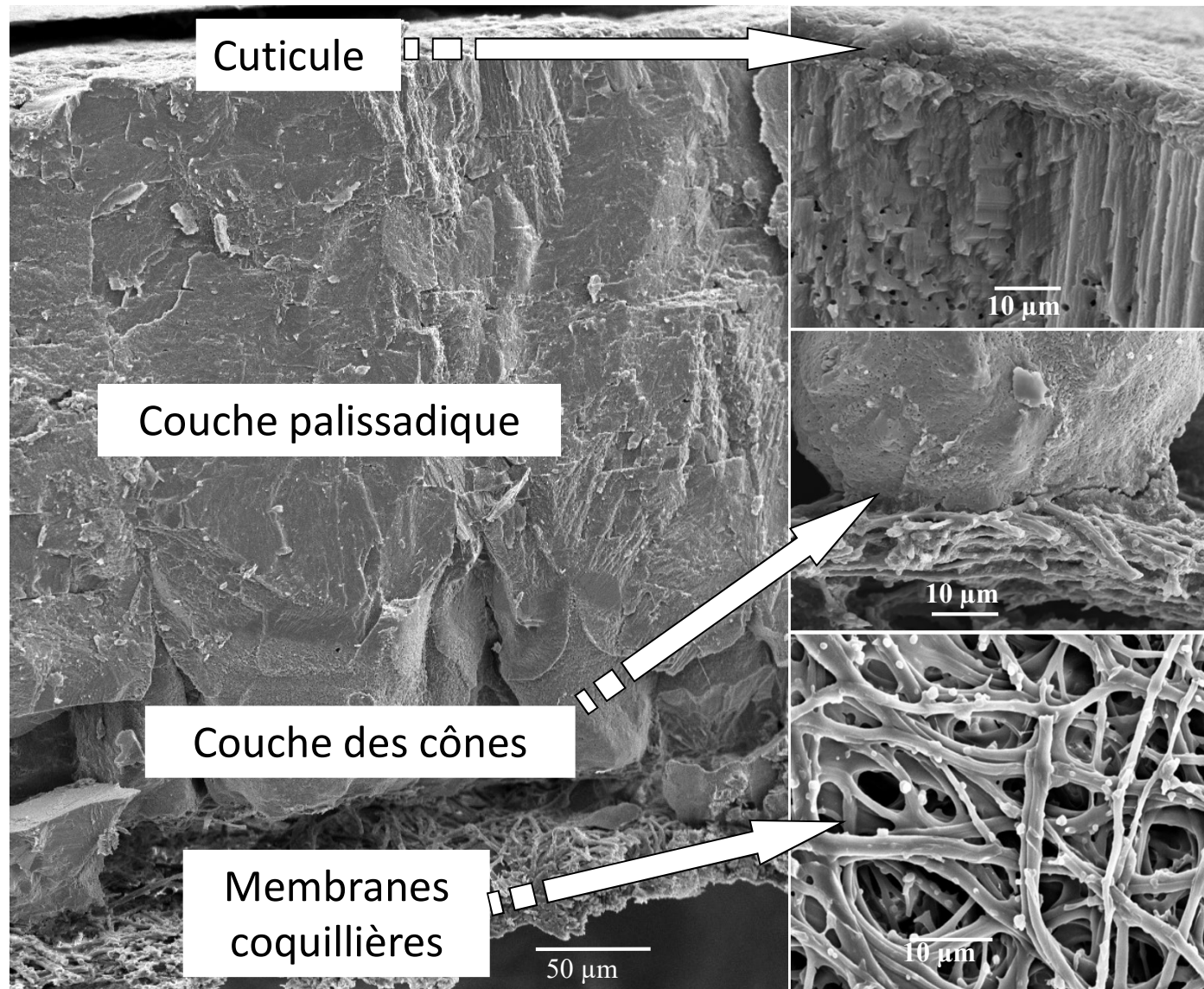


# Régulation of calcium metabolism in laying hens



# Tout continue dans l'oviducte

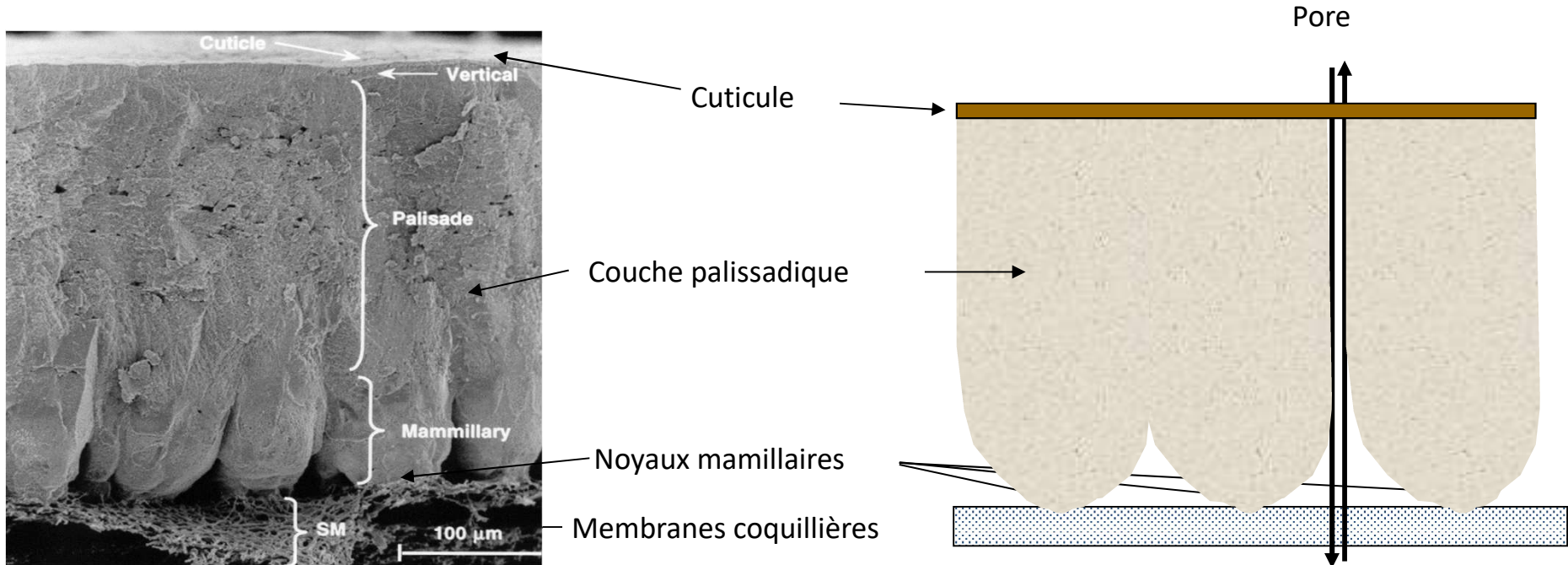
Utérus : Biominéralisation de la coquille



# Tout continue dans l'oviducte

## Utérus : Biominéralisation de la coquille

- ✓ Eggshell biomineralization in uterus (fast process)
- ✓ 5-6 g of mineral (calcium carbonate) are deposited within a 20 h period



## Quelle est la composition de la coquille ?

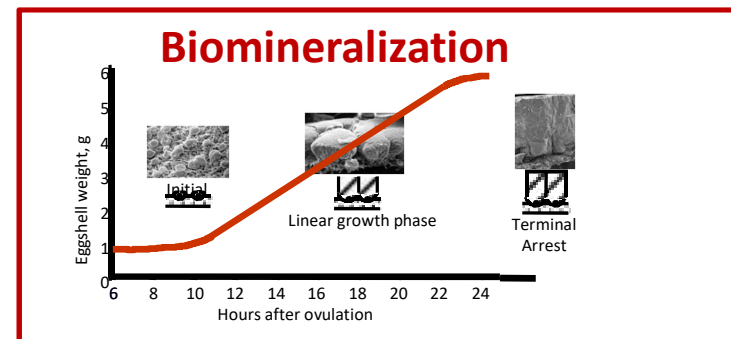
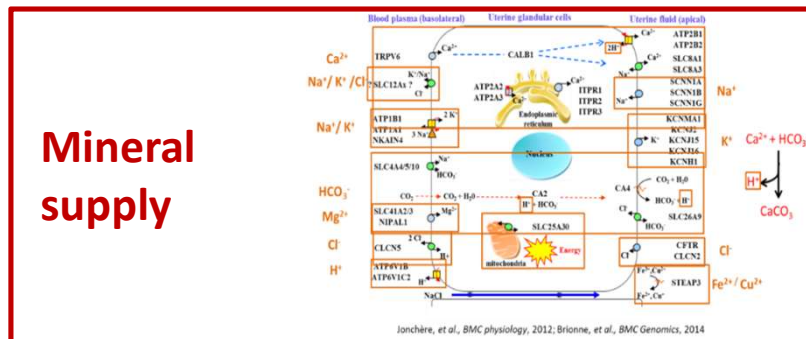
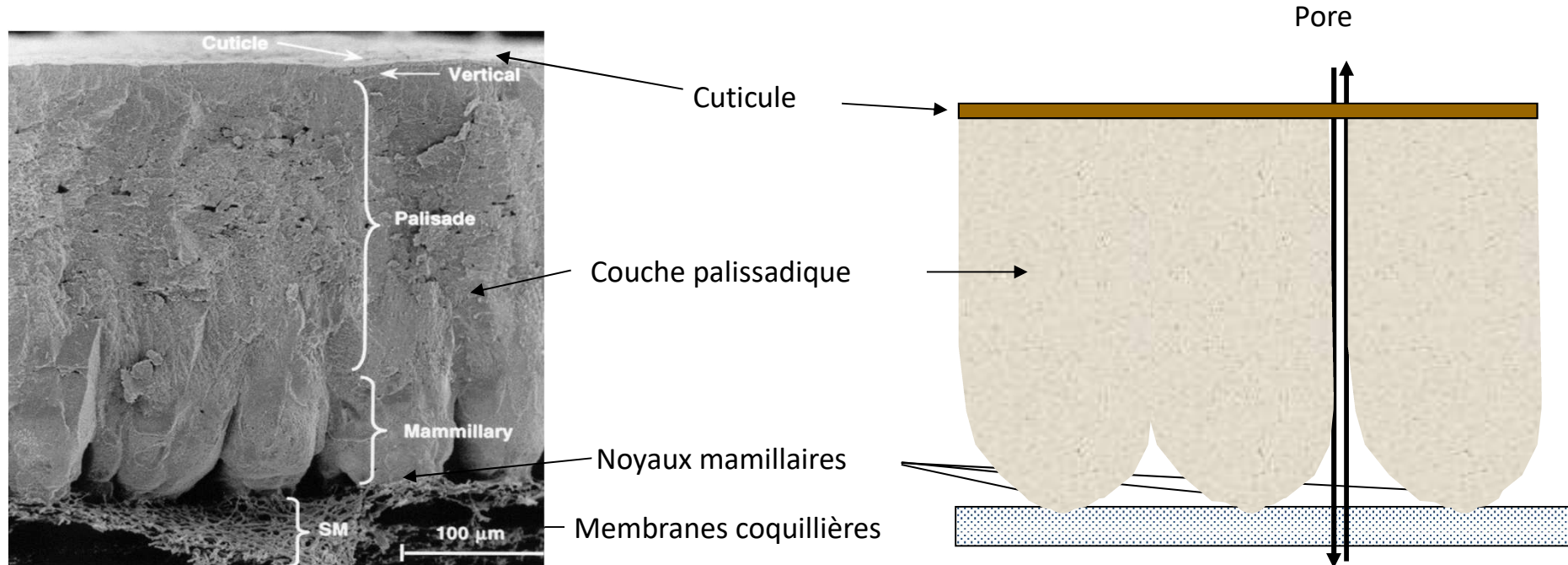
- 95 % de minéral (carbonate de calcium)
- 3,5 % de matière organique (protéines et sucres complexes)
- 1,5 % d'eau



# Tout continue dans l'oviducte

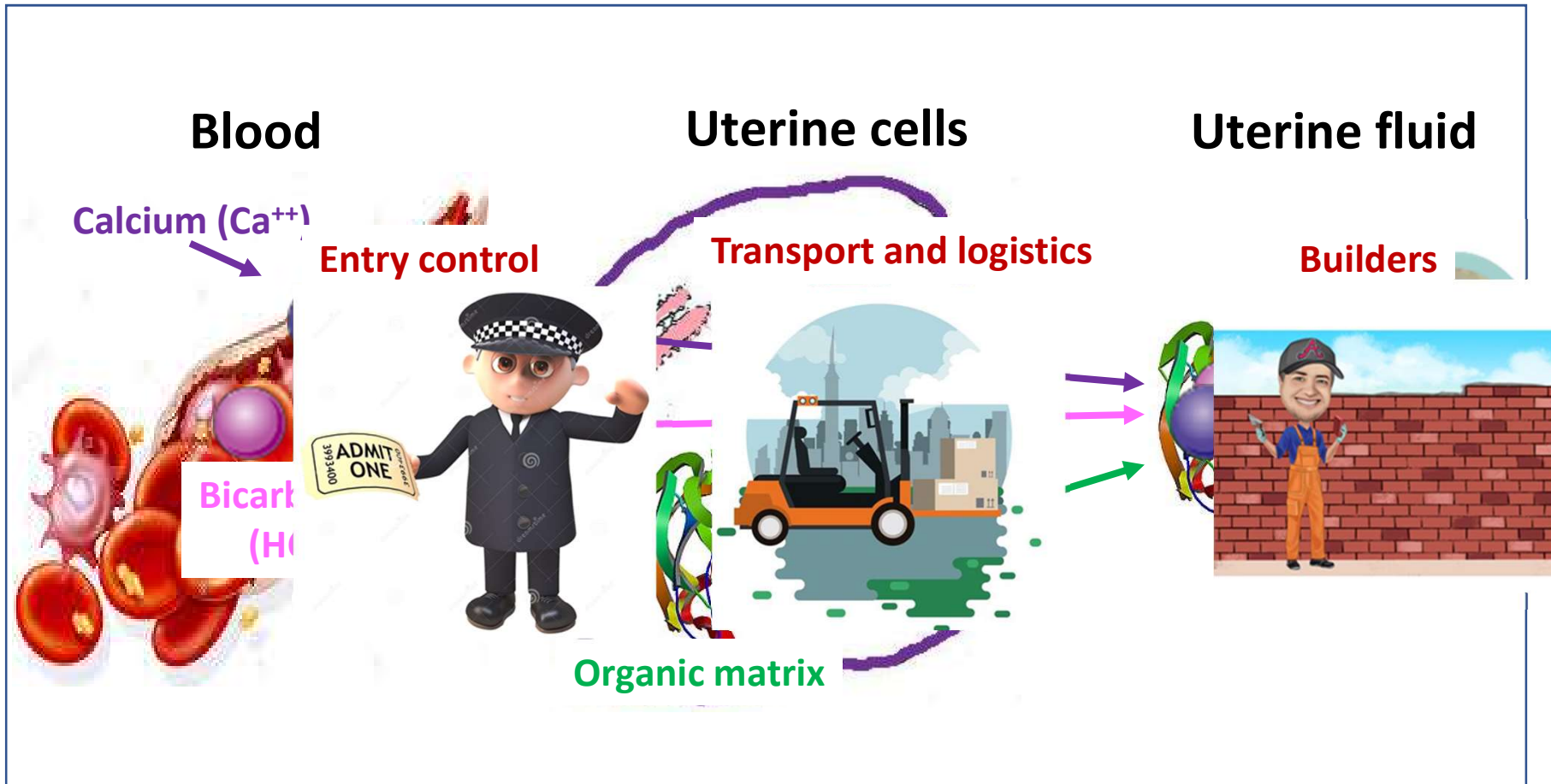
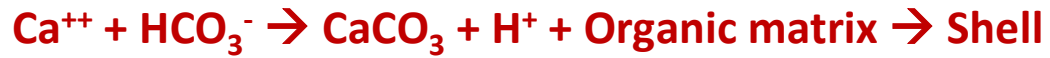
## Utérus : Biominéralisation de la coquille

- ✓ Eggshell biomineralization in uterus (fast process)
- ✓ 5-6 g of mineral (calcium carbonate) are deposited within a 20 h period



# Tout continue dans l'oviducte

Utérus : Biominéralisation de la coquille






# Regulation of mineral supply

## 3 Potential pathways




### Transcellular





-  Carbonic Anhydrase 2
-  Carbonic Anhydrase 4
-  SLC4A4-A5-A10
-  SLC26A9
-  TRPV2-3
-  Calbindin-1
-  ATPA2/3
-  ITPR1/2/3
-  ATP2B1-B2
-  SLC8A1-A3

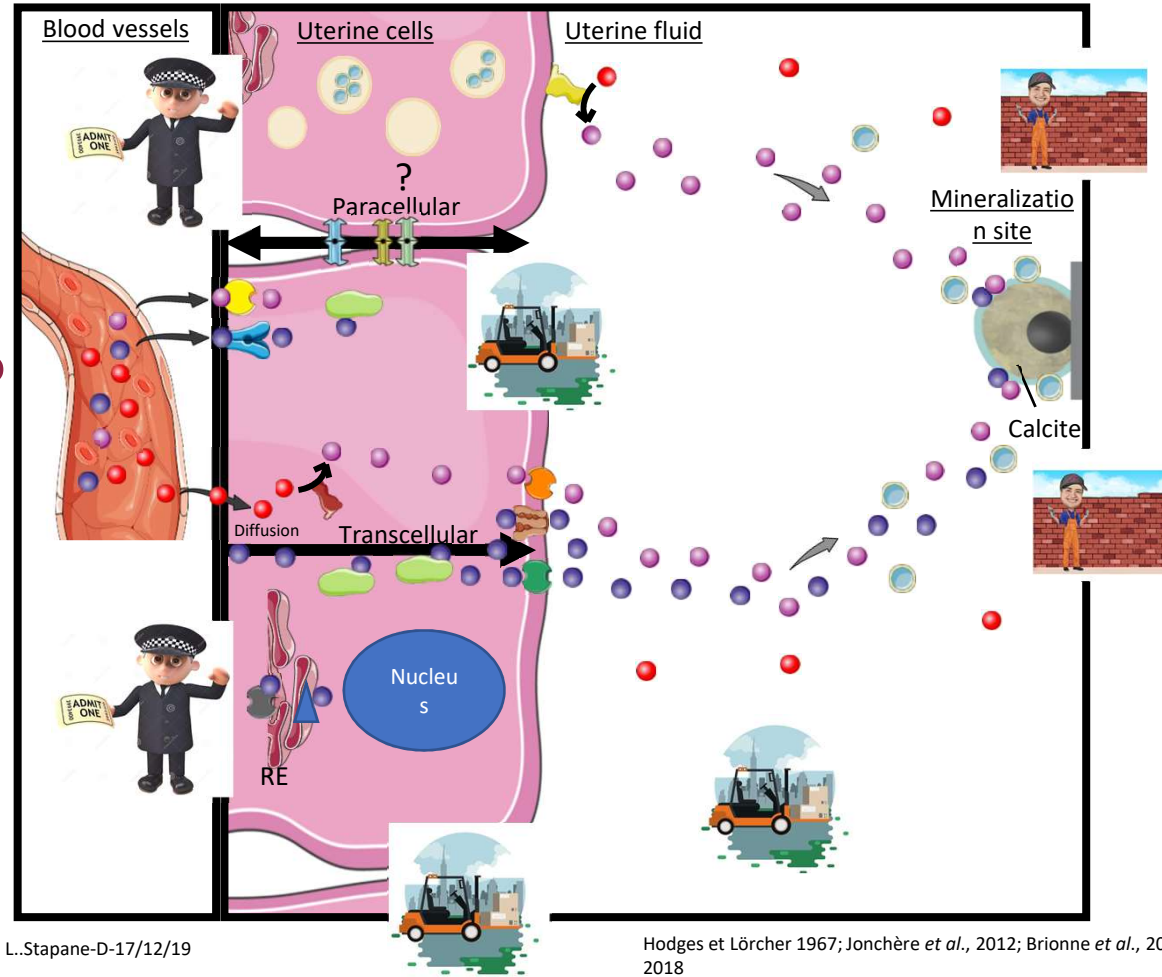
### Vesicular

-  Extra and intra cellular vesicles
-  Annexins
-  EDIL3/MFGE8

### Paracellular ?

-  Claudins
-  JAM
-  Occludin/TJP

-   $\text{HCO}_3^-$
-   $\text{Ca}^{2+}$
-   $\text{CO}_2$
-  ACC

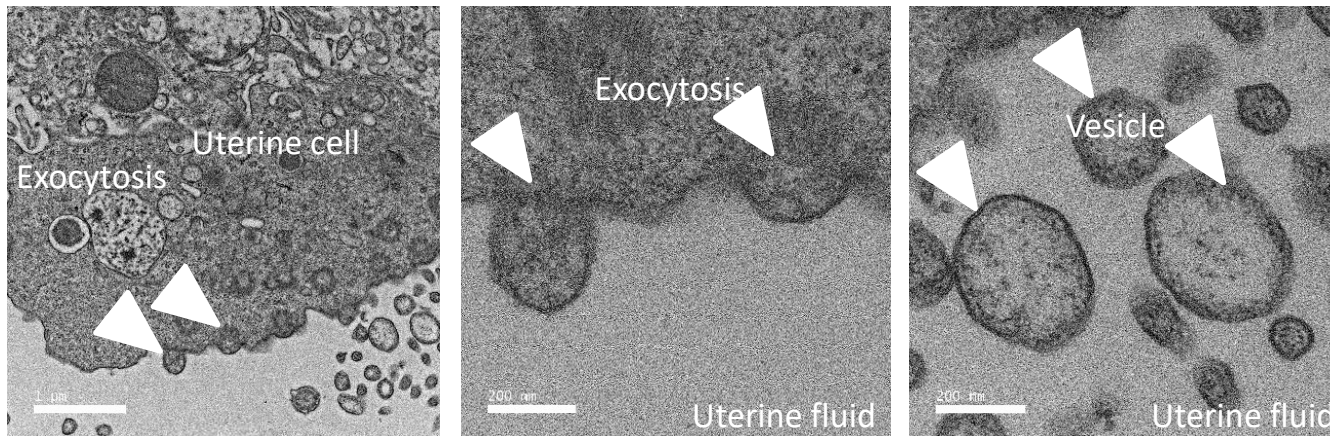


Adapted from L..Stapane-D-17/12/19

Hodges et Lörcher 1967; Jonchère *et al.*, 2012; Brionne *et al.*, 2014; Nys et Le Roy, 2018

# Involvement of extracellular vesicles in uterus

## ● Uterus and uterine fluid (TEM)

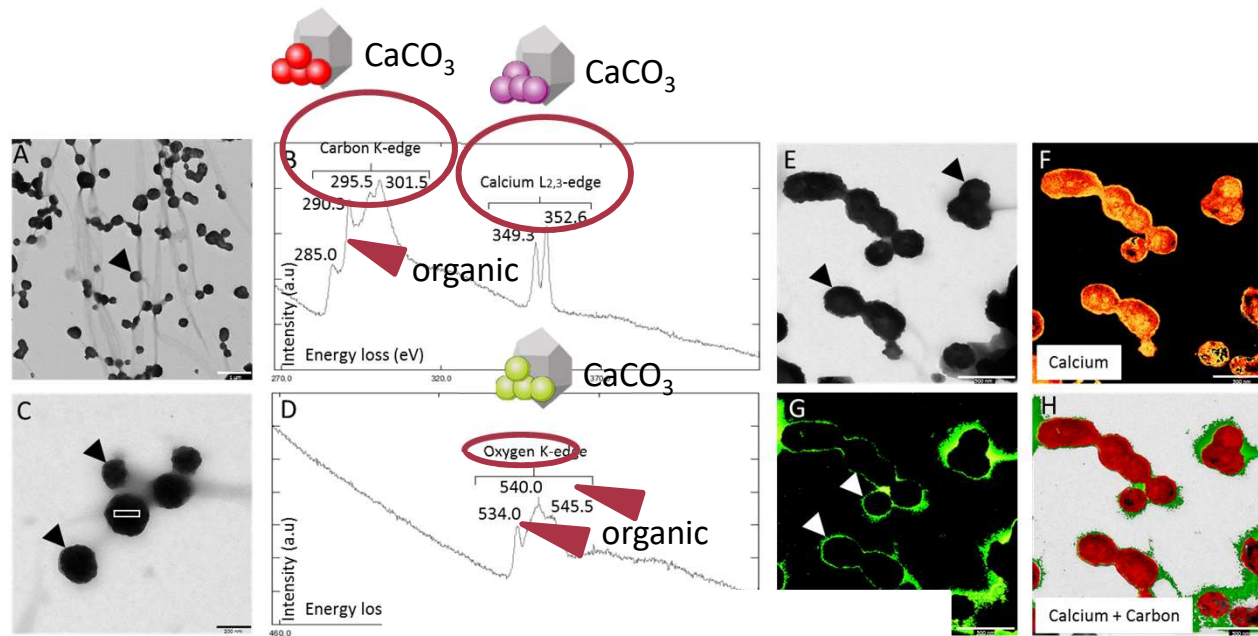


→ Exocytosis activity and presence of extracellular vesicles

Do these vesicles contain calcium carbonate?

# Presence of CaCO<sub>3</sub> in uterine fluid extracellular vesicles

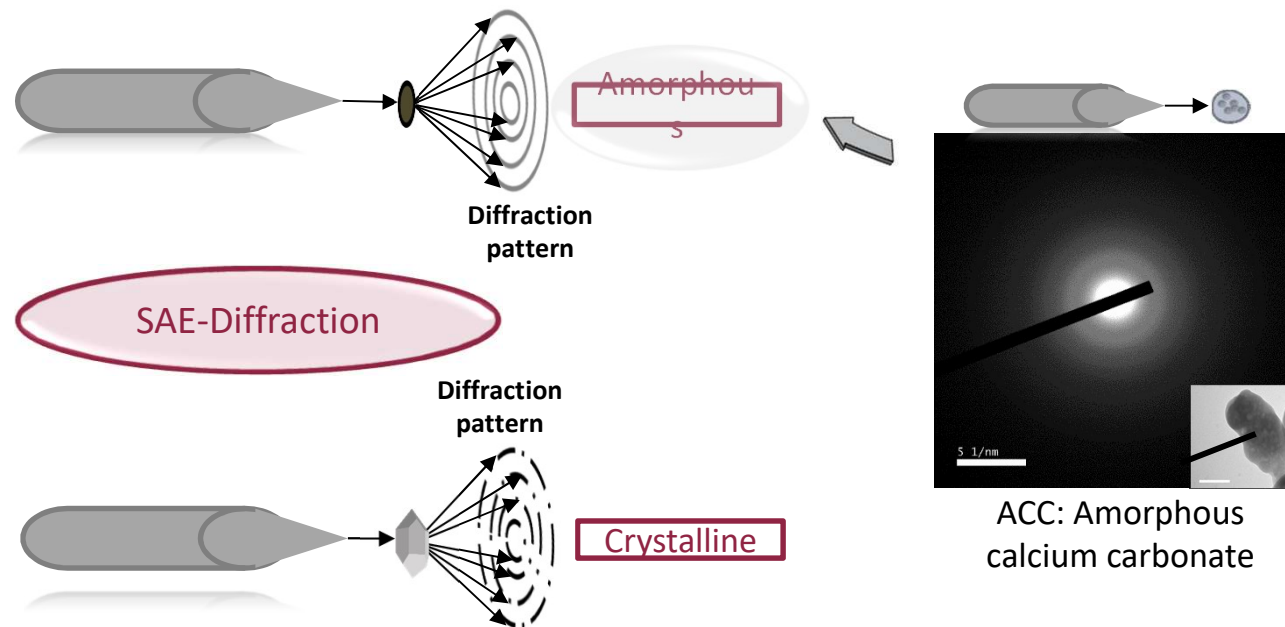
- Uterine fluid in transmission electron microscopy coupled with EELS elemental analysis



Uterine fluid vesicles contain CaCO<sub>3</sub>

# Presence of CaCO<sub>3</sub> in uterine fluid extracellular vesicles











- Electron diffraction on uterine fluid vesicles to determine the shape of the mineral

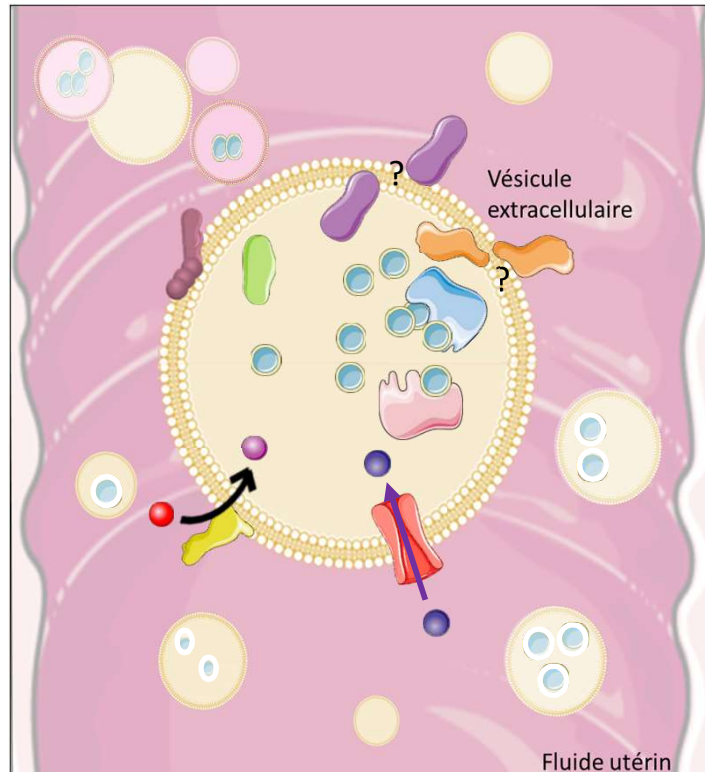



The CaCO<sub>3</sub> contained in the vesicles is in amorphous form: ACC


# Eggshell biomineralization

## Involvement of vesicular system to transport and stabilize Amorphous calcium carbonate (ACC)




-  EDIL3
-  ANXA1
-  ANXA2
-  ANXA8
-  CA4
-  PDCD6IP
-  Syntenin-1
-  Ovalbumin
-  Ezrin
-  Lysozyme



 ANX supplied  $\text{Ca}^{2+}$  ?

 CA4 supplied  $\text{HCO}_3^-$  ?

LYZ and OVA stabilized ACC ?  
EDIL3 adress vésicles ?

-   $\text{CO}_2$
-   $\text{HCO}_3^-$
-   $\text{Ca}^{2+}$
-  ACC




# Regulation of mineral supply

## 3 Potential pathways




### Transcellular





-  Carbonic Anhydrase 2
-  Carbonic Anhydrase 4
-  SLC4A4-A5-A10
-  SLC26A9
-  TRPV2-3
-  Calbindin-1
-  ATPA2/3
-  ITPR1/2/3
-  ATP2B1-B2
-  SLC8A1-A3

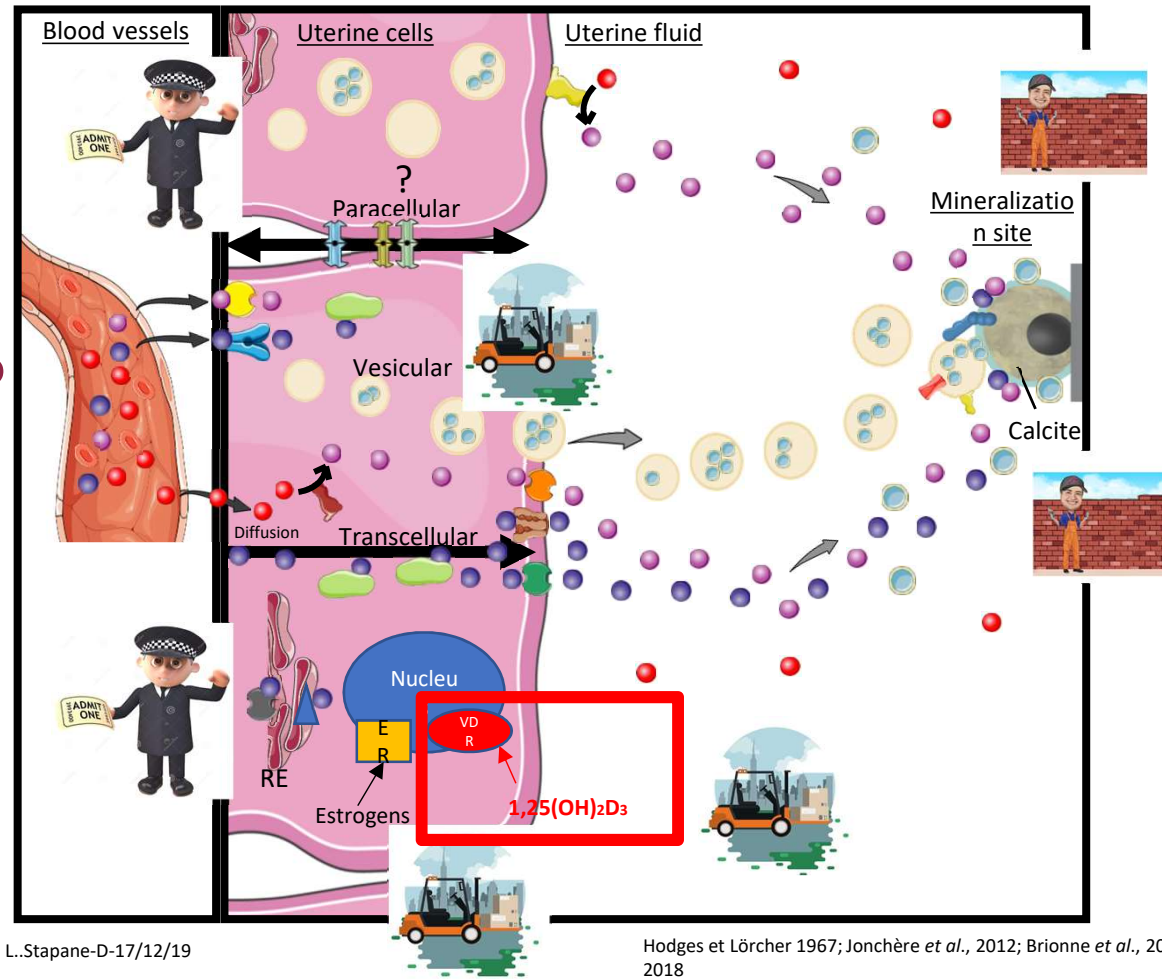
### Vesicular

-  Extra and intra cellular vesicles
-  Annexins
-  EDIL3/MFGE8

### Paracellular ?

-  Claudins
-  JAM
-  Occludin/TJP

-   $\text{HCO}_3^-$
-   $\text{Ca}^{2+}$
-   $\text{CO}_2$
-  ACC



Adapted from L..Stapane-D-17/12/19

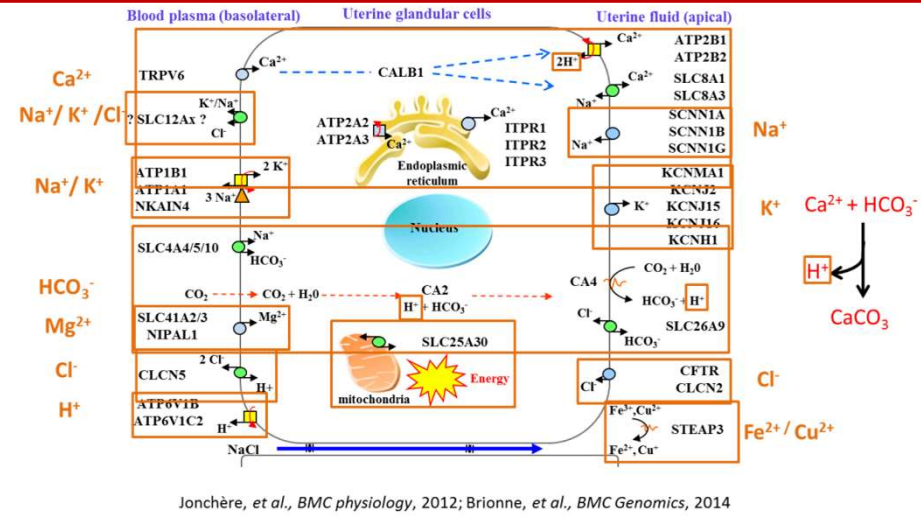
Hodges et Lörcher 1967; Jonchère *et al.*, 2012; Brionne *et al.*, 2014; Nys et Le Roy, 2018



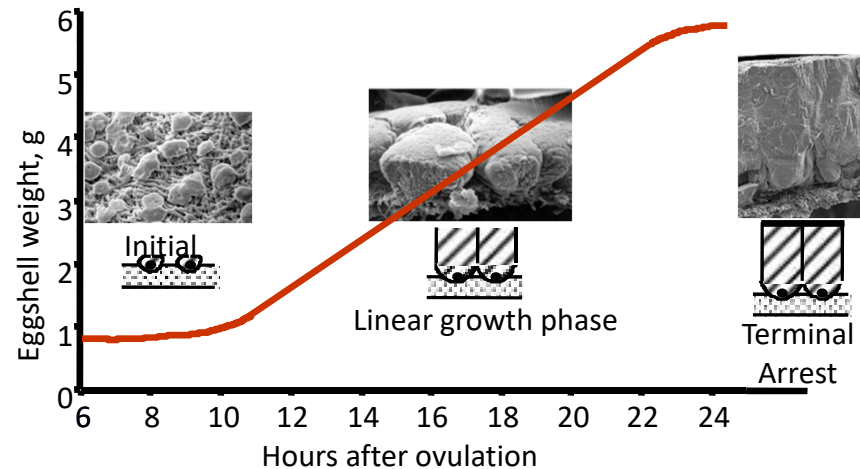
# Tout continue dans l'oviducte

## Utérus : Biominéralisation de la coquille

Supply of minerals for shell mineralization



3 main phases in the uterine fluid (acellular milieu)



# Tout continue dans l'oviducte

Utérus : Biominéralisation de la coquille

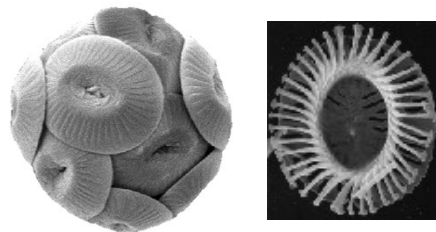
→ **PROCESSUS UNIVERSEL ET CONSERVE SUR TERRE**

\* Dépôts de minéraux sous conditions physiologiques dans un organisme vivant qui aboutit à la formation de structures très diversifiées avec des formes, des tailles et des couleurs différentes

**Biominéralisation acellulaire dite contrôlée**



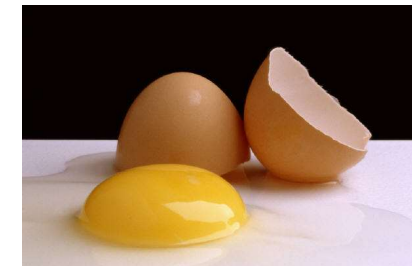
Perle



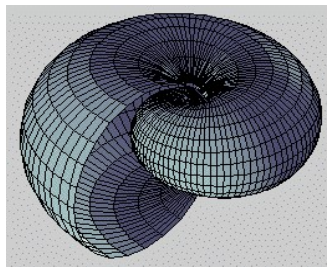
Coccolithes



Corail



Coquilles d'oiseaux



Coquilles de mollusques



gastéropodes

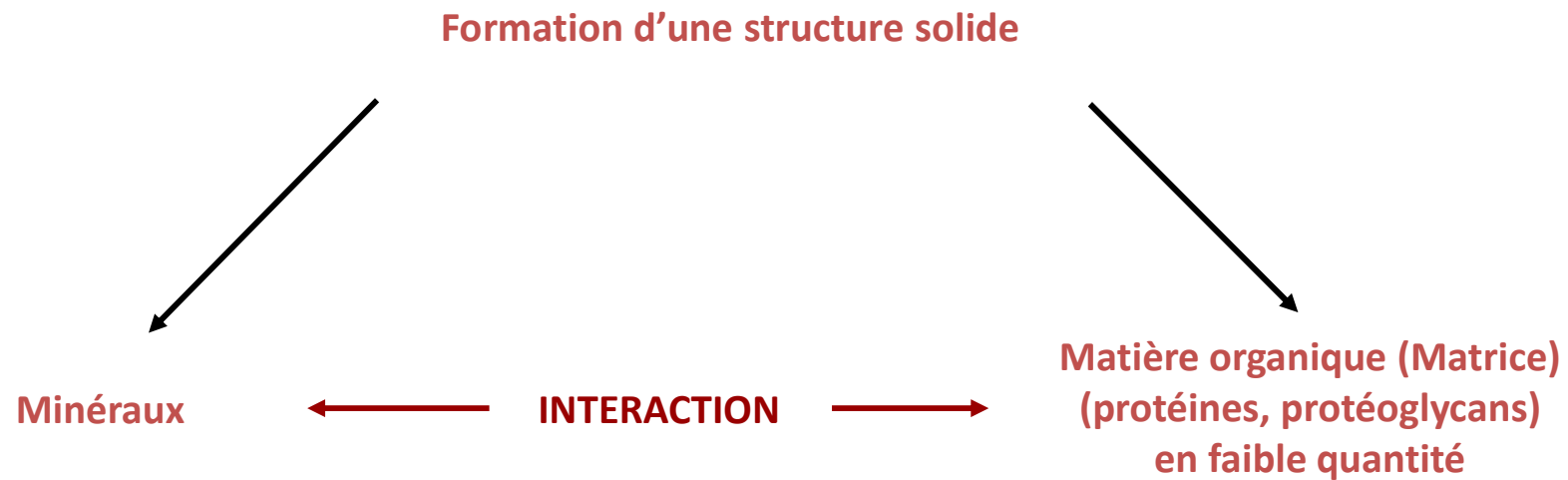


# Tout continue dans l'oviducte

Utérus : Biominéralisation de la coquille

→ **PROCESSUS UNIVERSEL ET CONSERVE SUR TERRE**

Malgré la diversité de formes et de fonctions, les structures biominérales se forment toujours selon les mêmes principes



# Tout continue dans l'oviducte

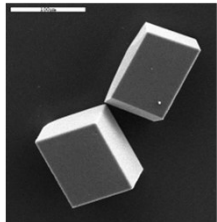
Utérus : Biominéralisation de la coquille

→ **PROCESSUS UNIVERSEL ET CONSERVE SUR TERRE**

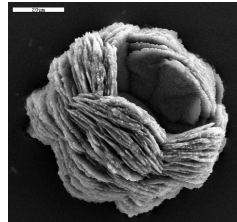
Malgré la diversité de formes et de fonctions, les structures biominérales se forment toujours selon les mêmes principes

→ 95% de carbonate de calcium sous forme de calcite

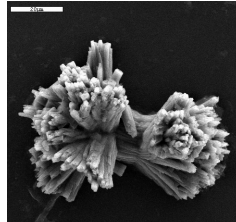
Calcite



Aragonite



Vatérite



Interaction

Quantité

**Propriétés mécaniques**

- Environ 300  $\mu\text{m}$  d'épaisseur
- Résiste à 4 kg de pression

Contrôle du processus de calcification

→ 3,5% de matière organique (matrice organique)

*Protéines et protéoglycanes*

# Tout continue dans l'oviducte

## Utérus : Biominéralisation de la coquille

### → PROCESSUS UNIVERSEL ET CONSERVE SUR TERRE

Malgré la diversité de formes et de fonctions, les structures biominérales se forment toujours selon les mêmes principes

Un espace biologiquement compartimenté (utérus pour la poule)

C'est dans cet espace que les entrées ioniques et organiques sont contrôlées pour atteindre les conditions physico-chimiques précises

Une hypersaturation du milieu

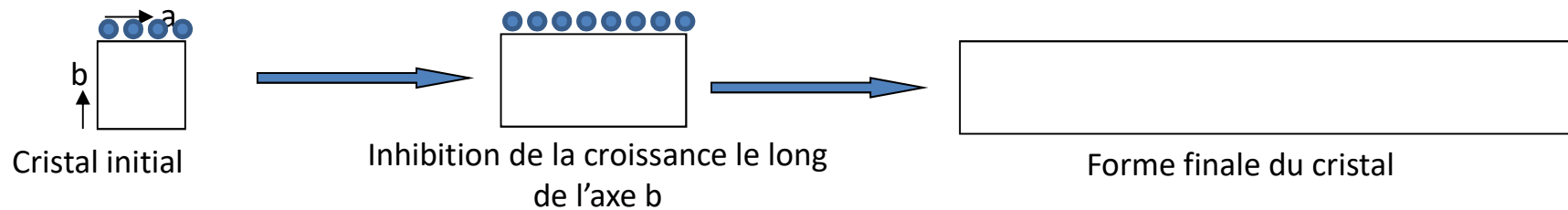
→ Les ions constitutifs du minéral doivent se trouver en conditions saturantes

La nucléation et la croissance du minéral

→ L'initiation de la cristallisation se fait à partir de sites se trouvant dans le milieu (nucléation)

**La matrice organique joue souvent ce rôle dans les biominéraux**

- Elle inhibe la croissance du minéral selon un ou plusieurs axes



# Tout continue dans l'oviducte

## Utérus : Biominéralisation de la coquille

### → PROCESSUS UNIVERSEL ET CONSERVE SUR TERRE

Malgré la diversité de formes et de fonctions, les structures biominérales se forment toujours selon les mêmes principes

Un espace biologiquement compartimenté (utérus pour la poule)

C'est dans cet espace que les entrées ioniques et organiques sont contrôlées pour atteindre les conditions physico-chimiques précises

Une hypersaturation du milieu

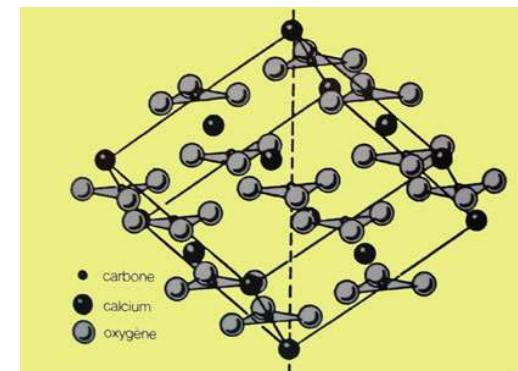
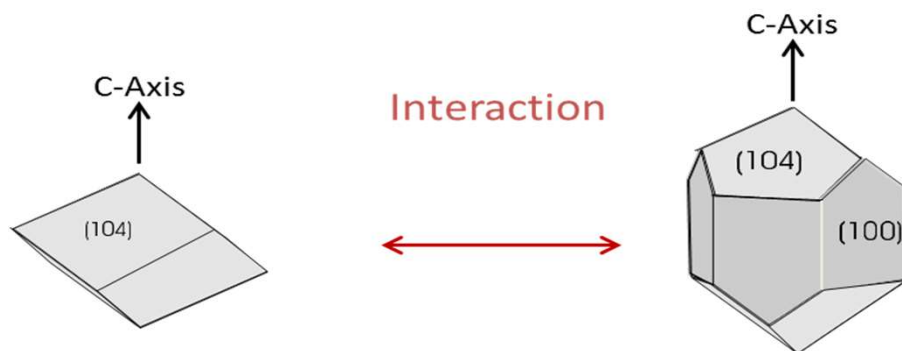
→ Les ions constitutifs du minéral doivent se trouver en conditions saturantes

La nucléation et la croissance du minéral

→ L'initiation de la cristallisation se fait à partir de sites se trouvant dans le milieu (nucléation)

**La matrice organique joue souvent ce rôle dans les biominéraux**

- Elle inhibe la croissance du minéral selon un ou plusieurs axes



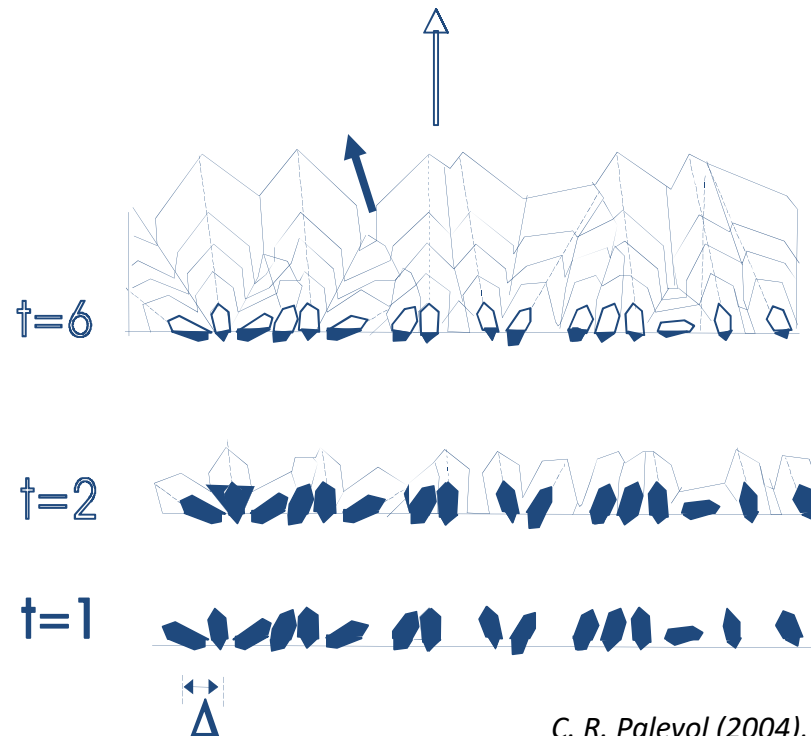
# Tout continue dans l'oviducte

Utérus : Biominéralisation de la coquille

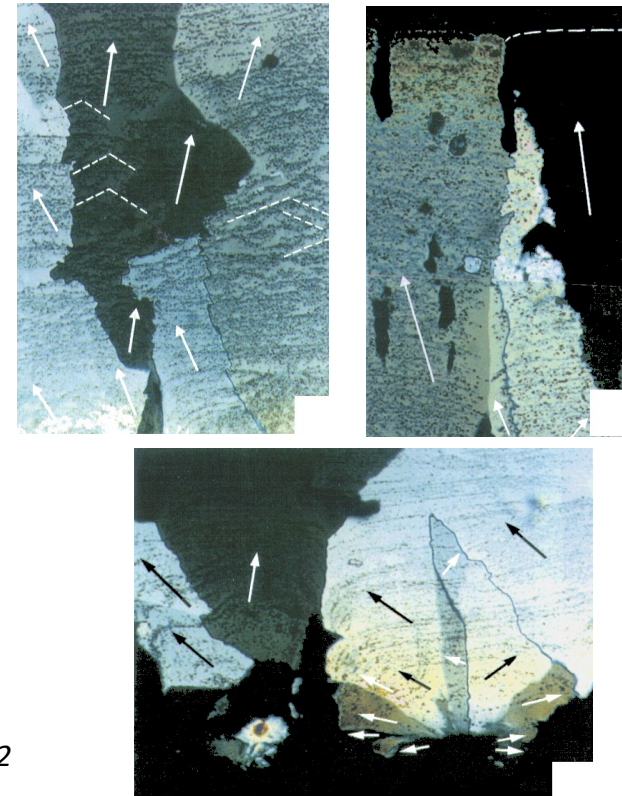
→ **PROCESSUS UNIVERSEL ET CONSERVE SUR TERRE**

→ Séquence temporelle de la nucléation, de la croissance

→ Modulée par la matrice organique



*C. R. Palevol (2004), 3, 549-562*

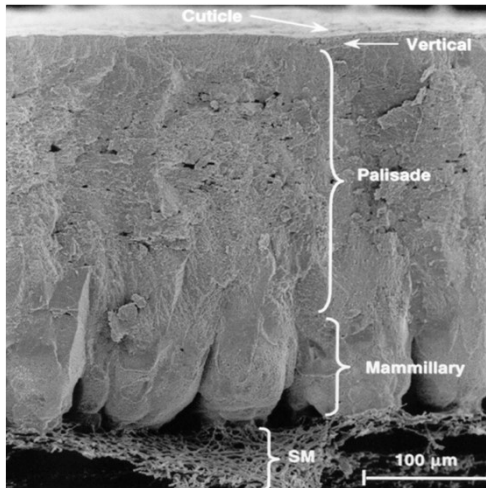


→ **Identification et caractérisation des protéines de la matrice organique**

# Tout continue dans l'oviducte

Utérus : Biominéralisation de la coquille

→ PROCESSUS UNIVERSEL ET CONSERVE SUR TERRE



*Gallus gallus*



*coturnix japonica*



*Meleagris gallopavo*



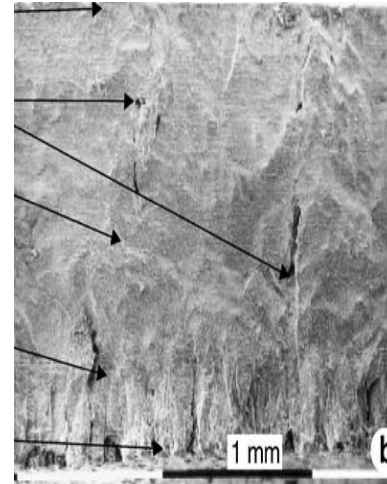
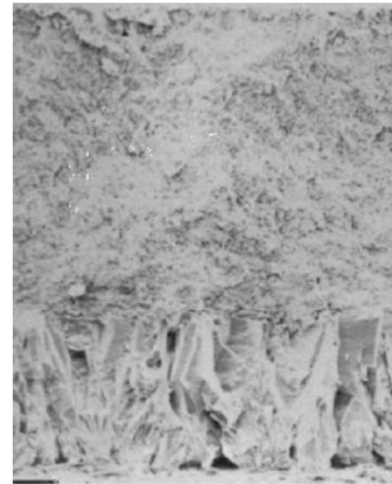
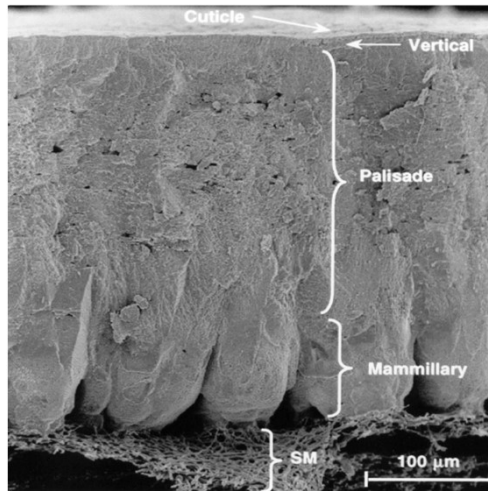
*Anas platyrhynchos*



# Tout continue dans l'oviducte

Utérus : Biominéralisation de la coquille

→ PROCESSUS UNIVERSEL ET CONSERVE SUR TERRE



*Gallus gallus*



*Numida meleagris*



*Struthio*

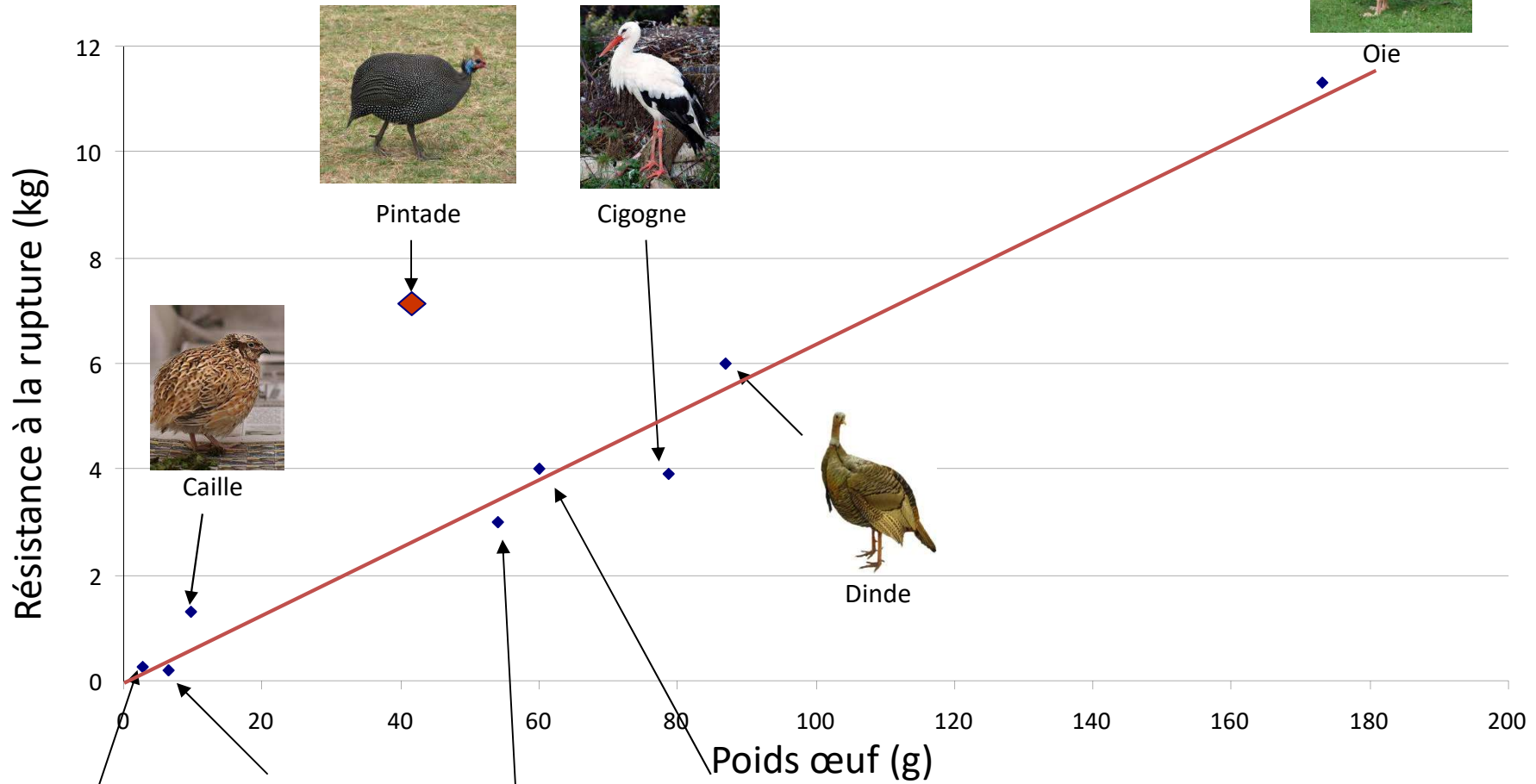


*Sankofa pyrenaica*

# Tout continue dans l'oviducte

Utérus : Biominéralisation de la coquille

→ PROCESSUS UNIVERSEL ET CONSERVE SUR TERRE



Moineau



Merle noir



Canard



Poule

# Tout continue dans l'oviducte

Utérus : Biominéralisation de la coquille

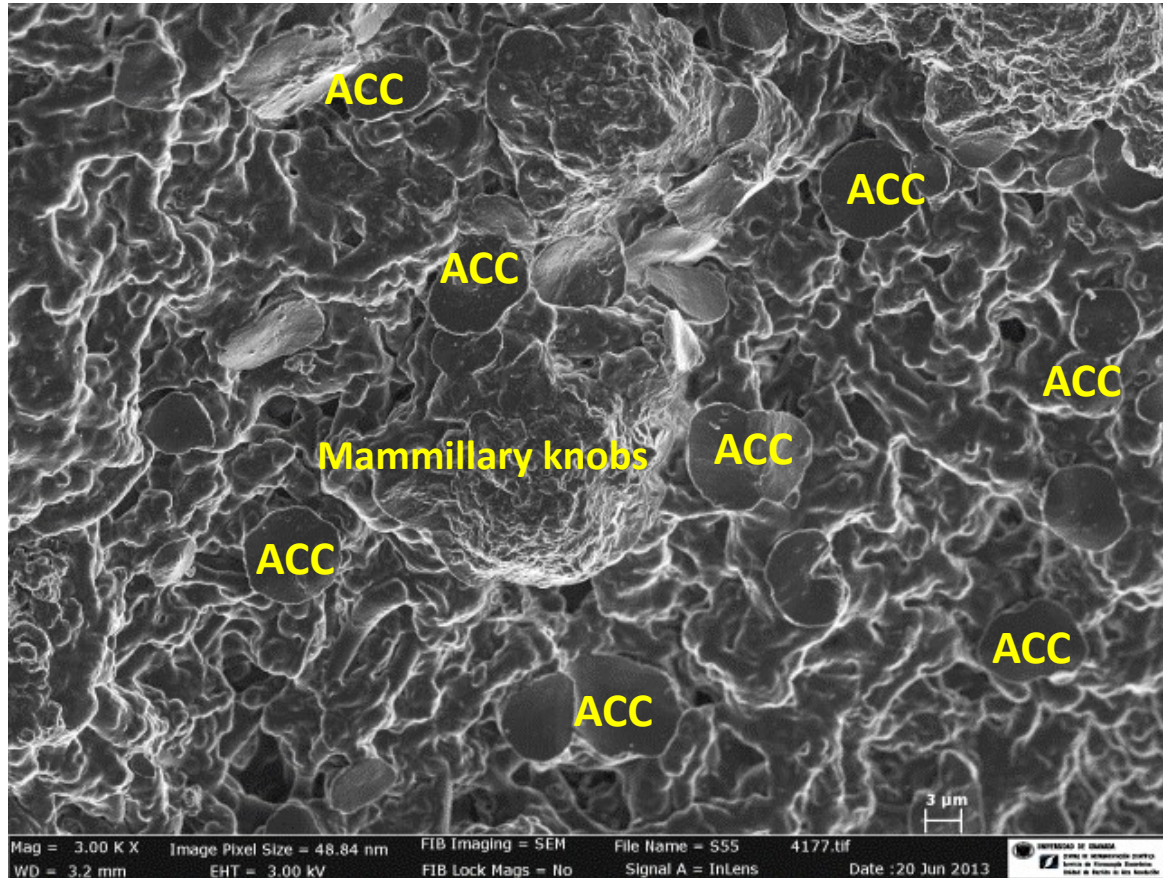
→ PROCESSUS UNIVERSEL ET CONSERVE SUR TERRE

La coquille des œufs d'oiseaux possède des propriétés mécaniques remarquables



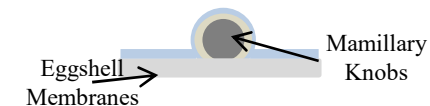
# Tout continue dans l'oviducte

## Utérus : Biominéralisation de la coquille



- Carbonate de calcium amorphe (ACC)
- Calcite

### Premier évènements de nucléation



### Time 1 (5-6 h Post ovulation):

Particules d'ACC se déposent de manière massive sur la totalité des membranes coquillières

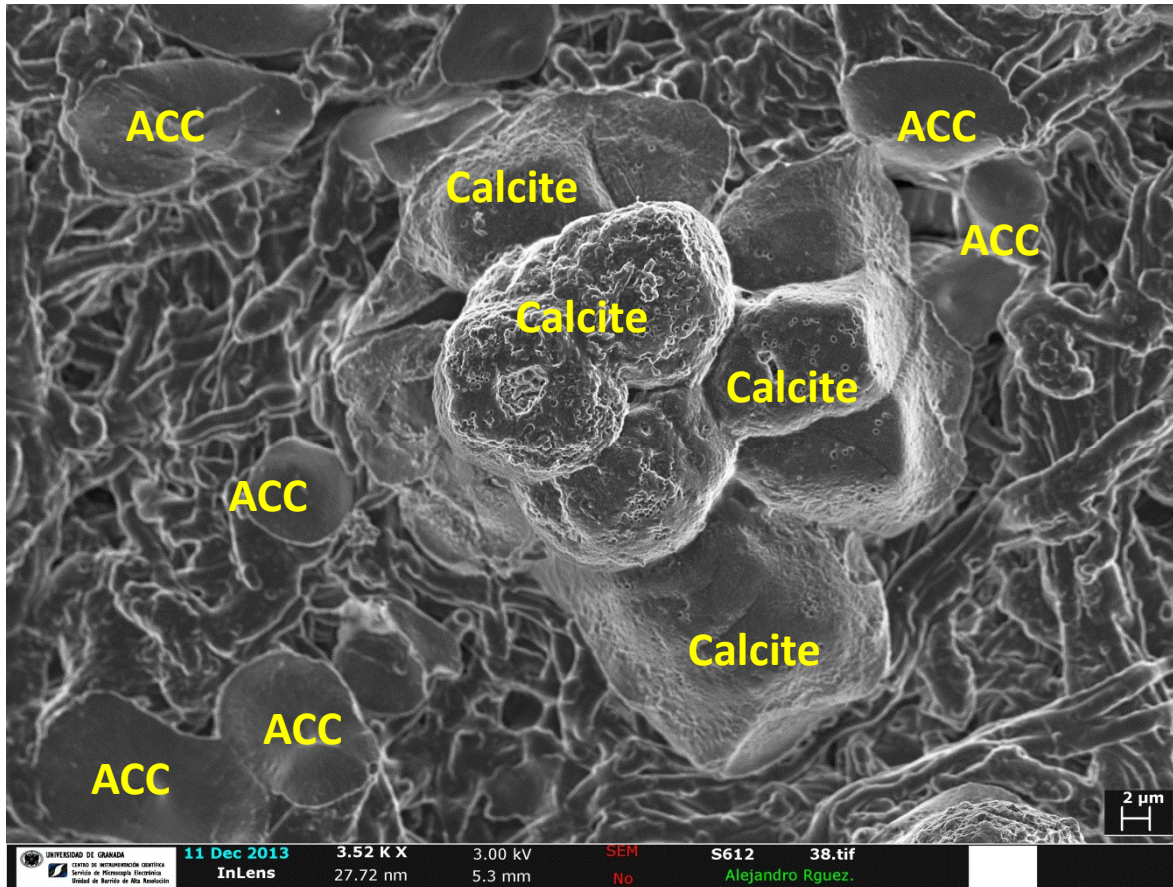
Images: A. Rodriguez-Navarro, University of Granada

# Tout continue dans l'oviducte

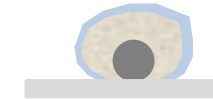
Utérus : Biominéralisation de la coquille

✓ **Role of amorphous calcium carbonate (ACC)**

ACC  
Calcite



Calcite formation



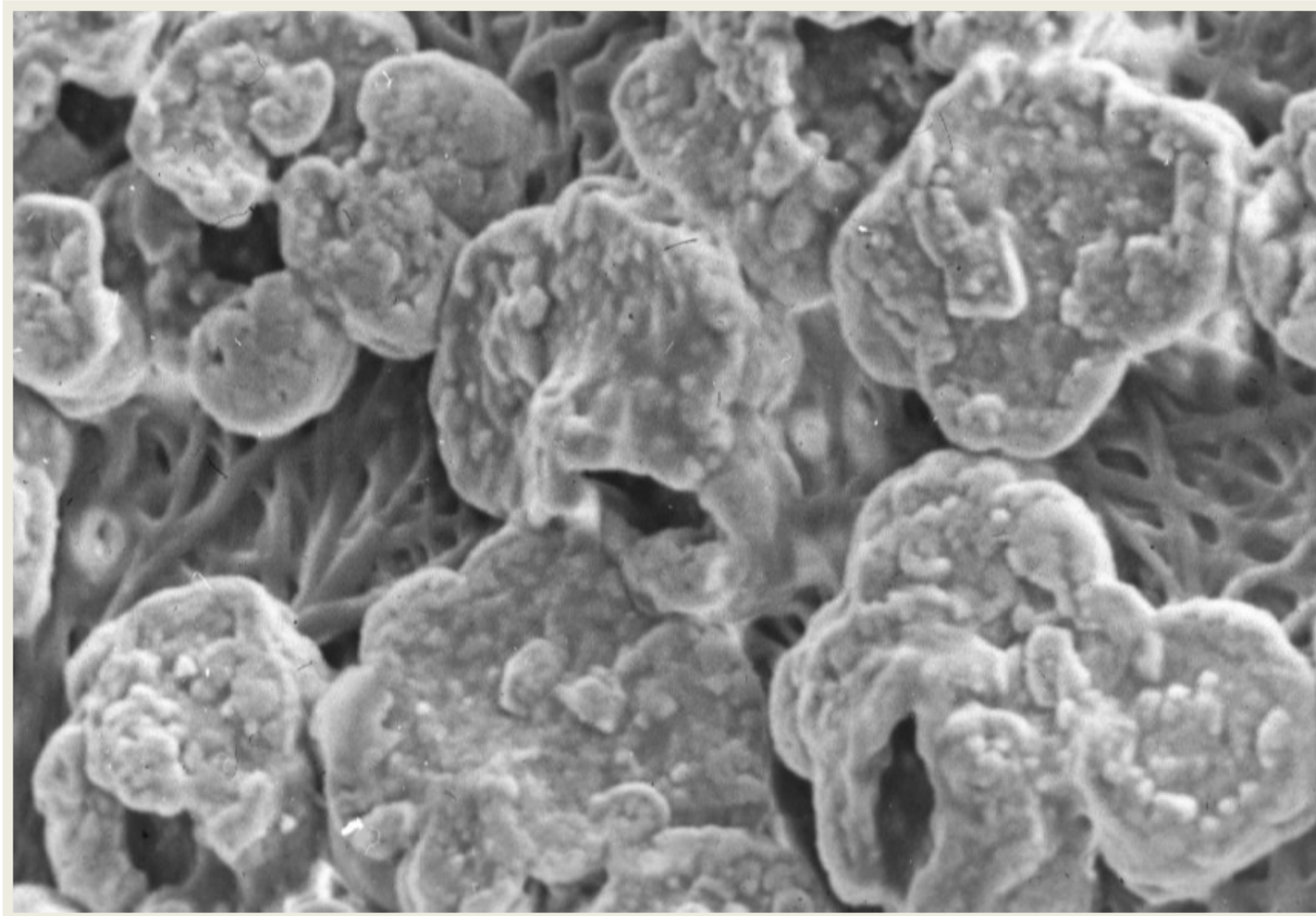
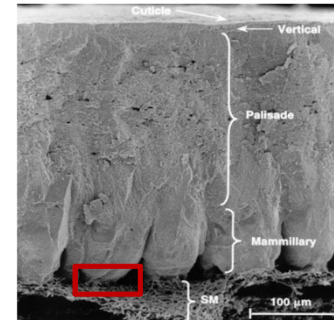
**Time 2 (6-7 h post ovulation):**  
Transformation directe de l'ACC  
en agrégats de calcite sur les  
noyaux mammillaires

Images: A. Rodriguez-Navarro, University of Granada

# Tout continue dans l'oviducte

Utérus : Biominéralisation de la coquille

La phase initiale

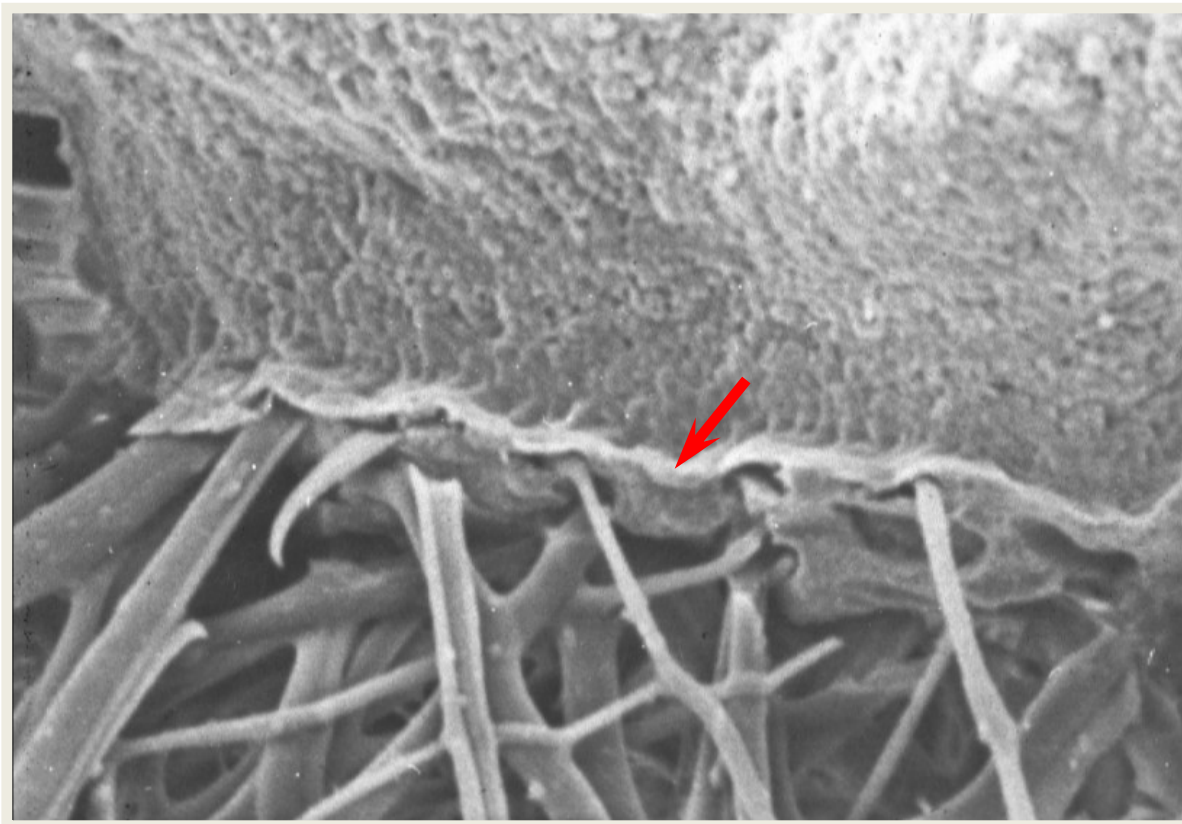
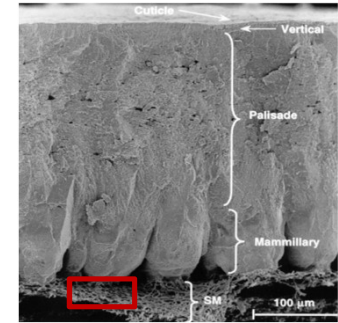


Peu à peu les noyaux mamillaires sont recouverts de calcite

# Tout continue dans l'oviducte

Utérus : Biominéralisation de la coquille

La phase initiale

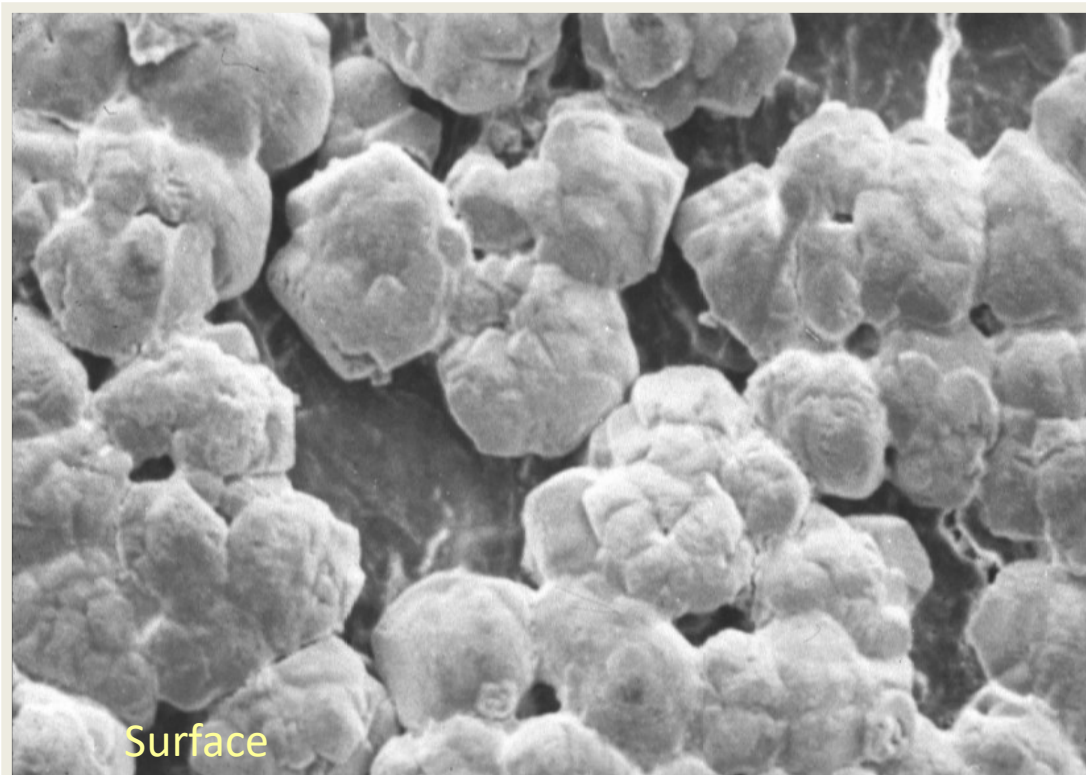
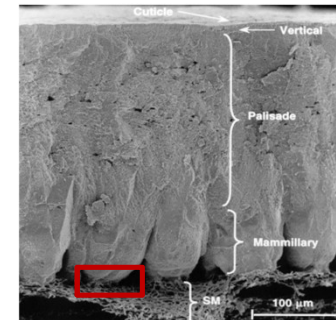


La couche calcifiée est étroitement liée aux fibres de la membrane de la coquille

# Tout continue dans l'oviducte

Utérus : Biominéralisation de la coquille

La phase initiale



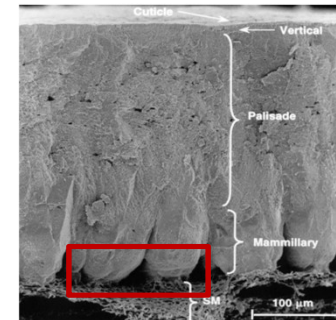
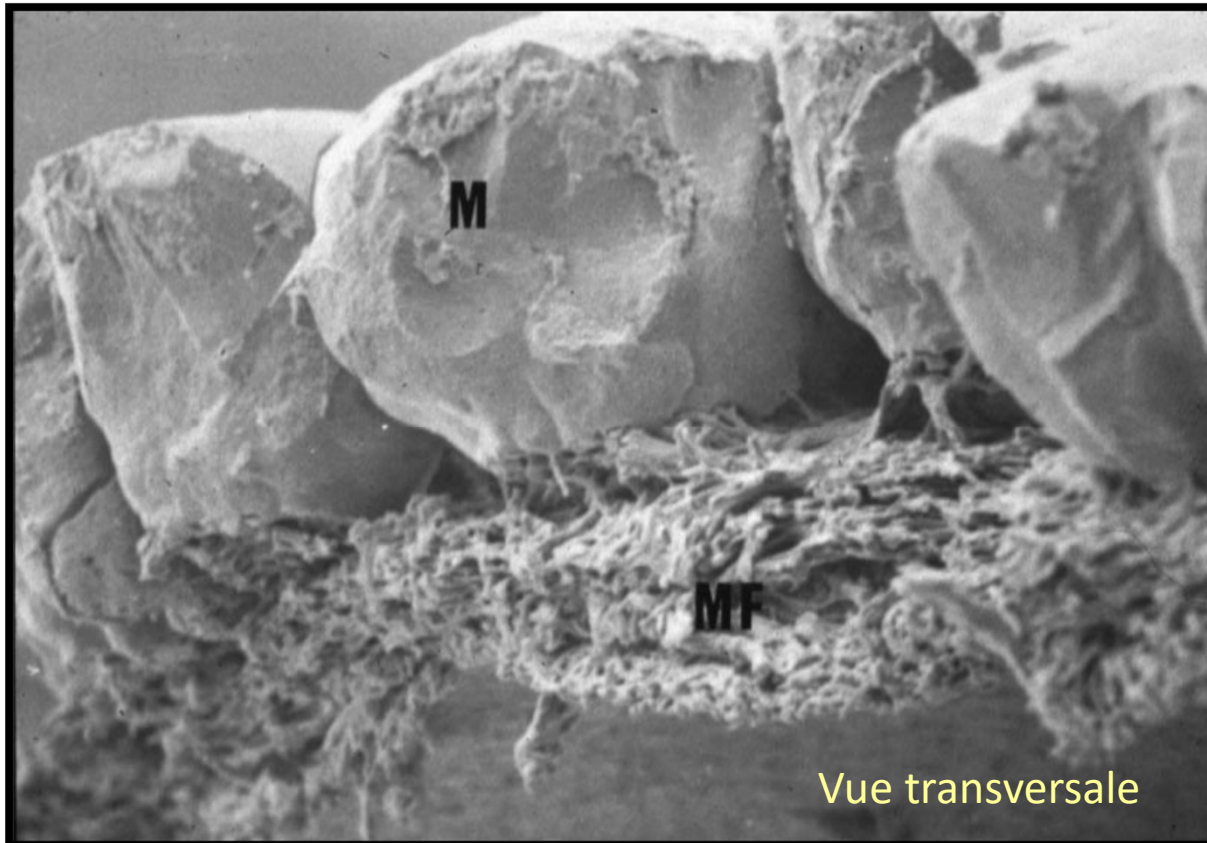
Les noyaux mamillaires recouverts de carbonate de calcium (calcite) forment des cônes qui fusionnent au fur et à mesure que la calcification se poursuit



# Tout continue dans l'oviducte

Utérus : Biominéralisation de la coquille

La phase de croissance

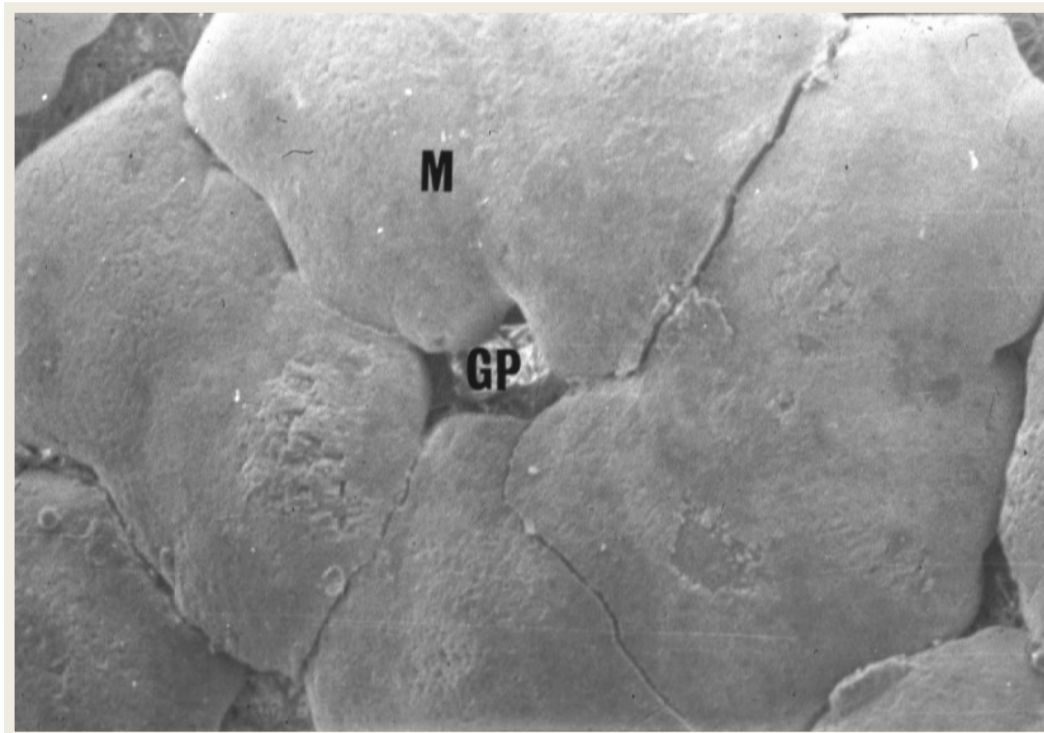
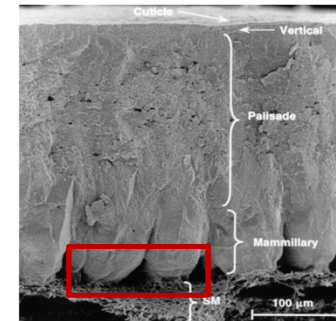


Les noyaux mamillaires recouverts de carbonate de calcium (calcite) forment des cônes qui fusionnent au fur et à mesure que la calcification se poursuit

# Tout continue dans l'oviducte

Utérus : Biominéralisation de la coquille

La phase de croissance

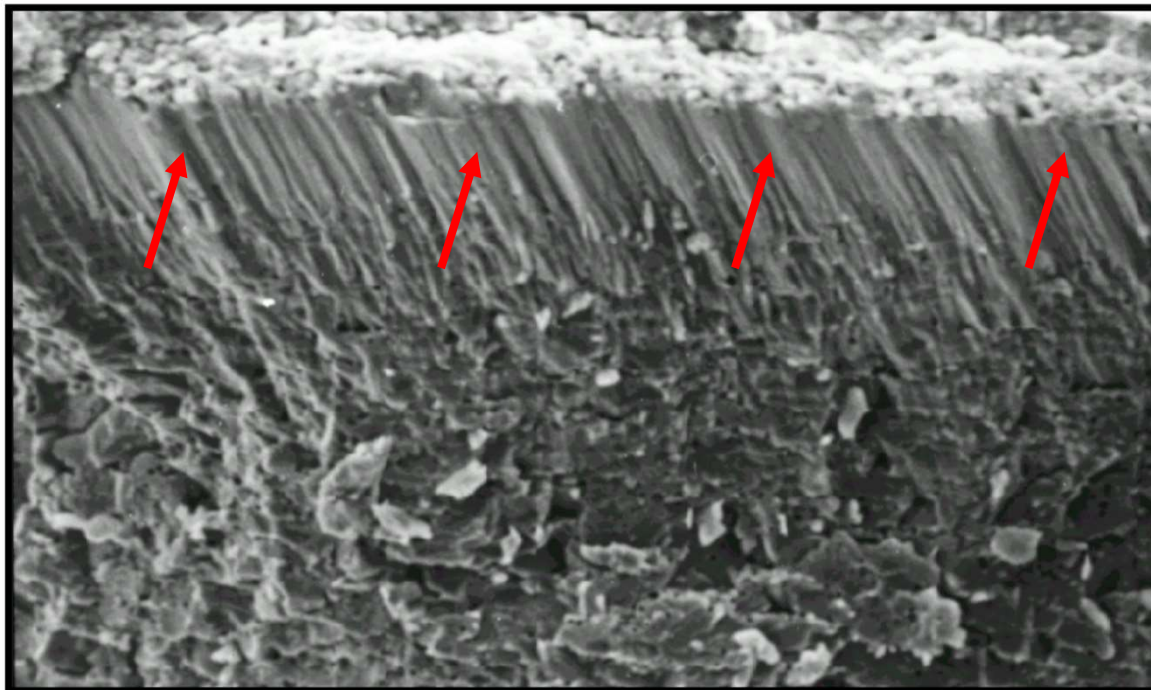
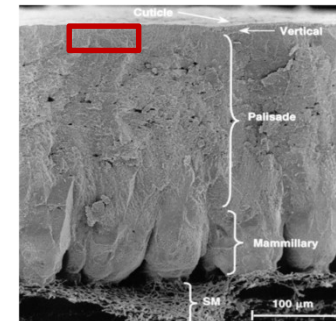


Surface de la couche calcifiée avec apparition d'un pore obtenu en absence de fusion des pores

# Tout continue dans l'oviducte

Utérus : Biominéralisation de la coquille

La phase terminale

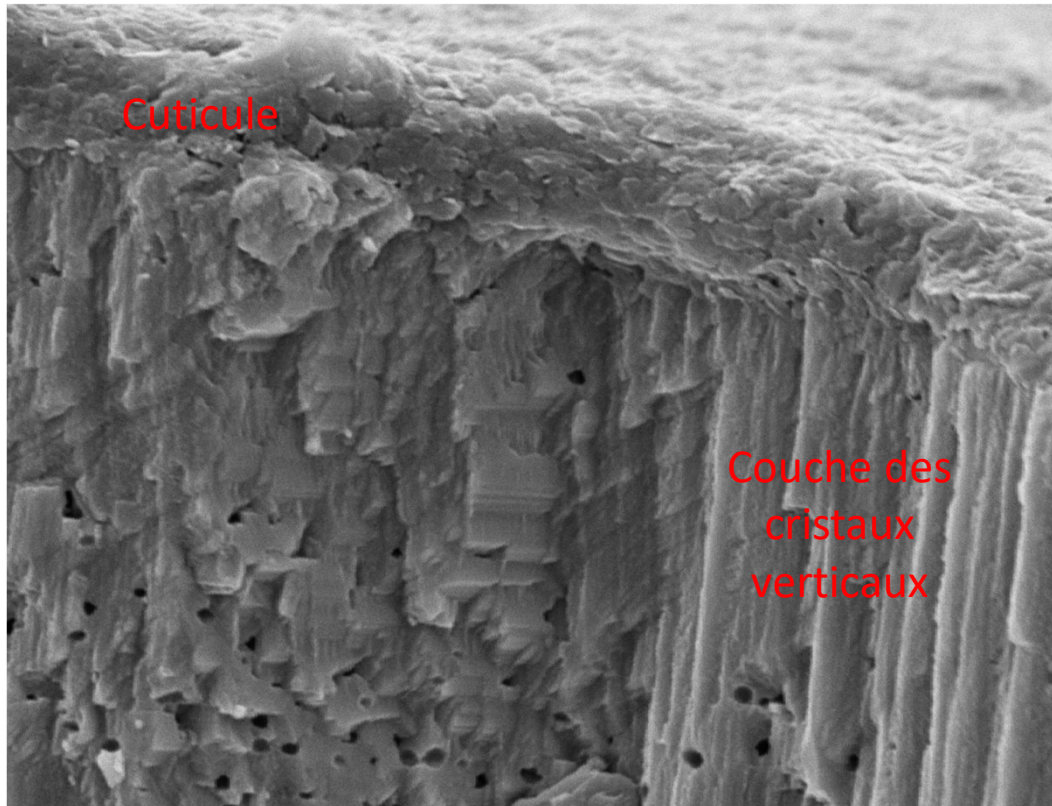


En surface de la couche calcifiée apparaît une couche monocristalline de calcite (Couche des cristaux verticaux)

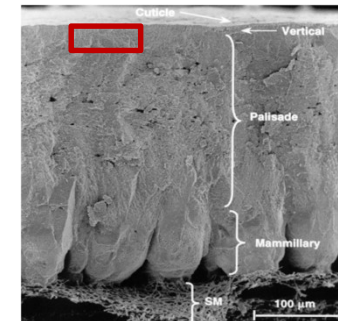
# Tout continue dans l'oviducte

Utérus : Biominéralisation de la coquille

La phase terminale



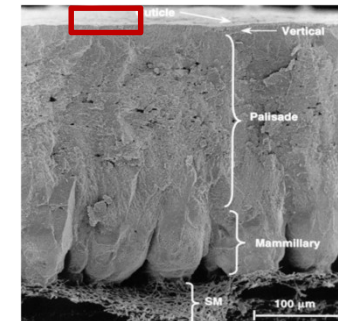
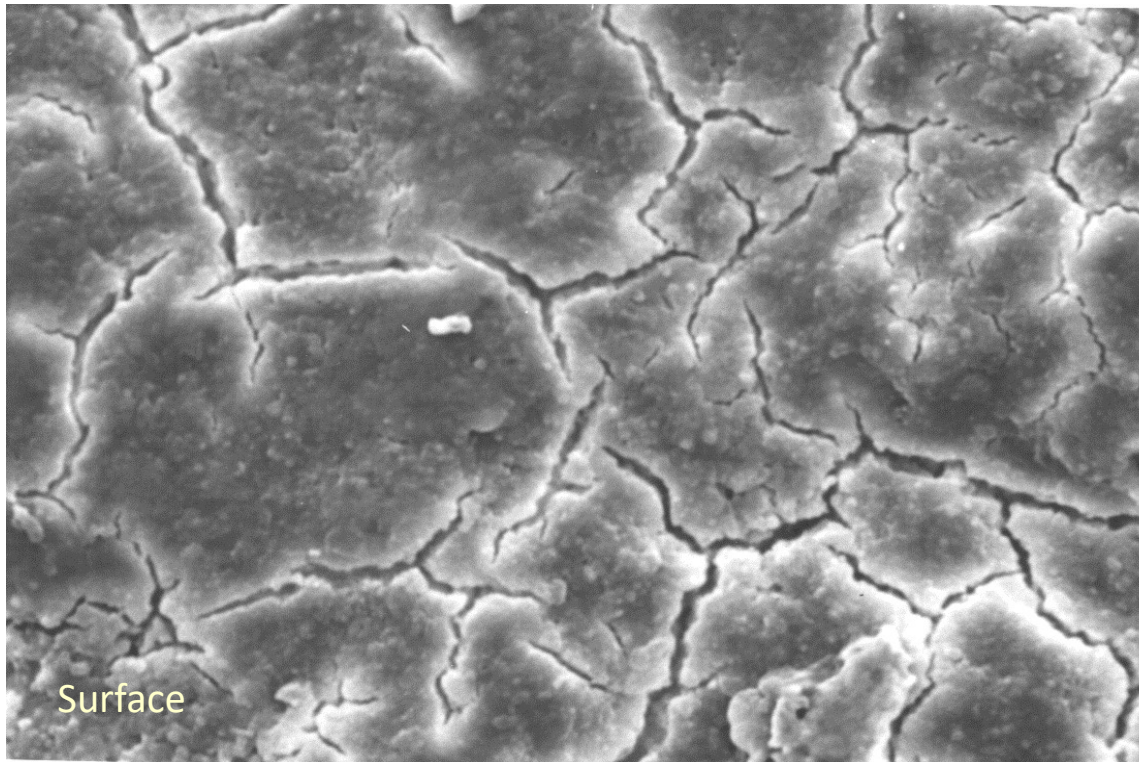
La minéralisation s'arrête. Une fine couche de matière organique vient se déposer en surface (cuticule)



# Tout continue dans l'oviducte

Utérus : Biominéralisation de la coquille

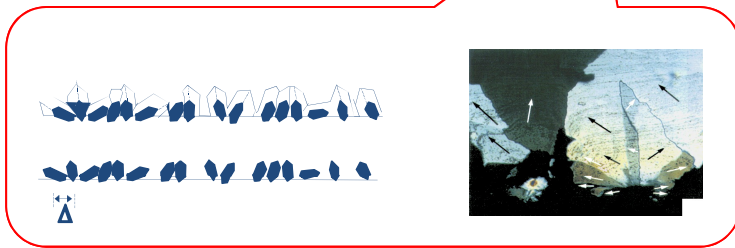
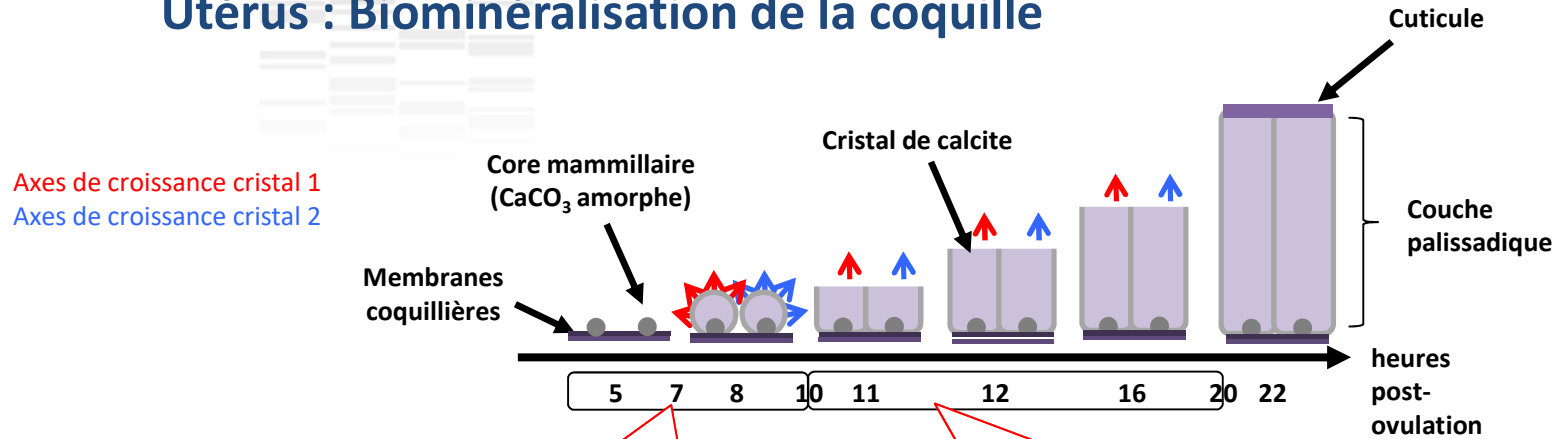
La phase terminale



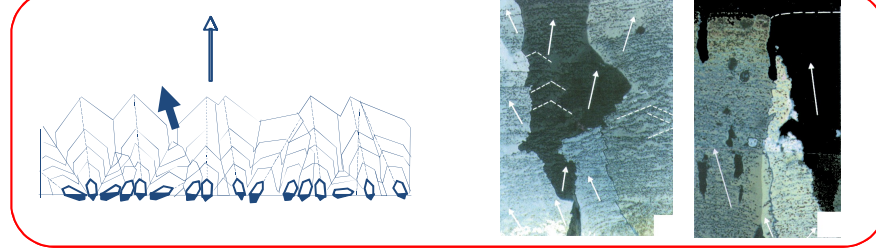
La cuticule recouvre la totalité de l'œuf. En séchant, elle se fissure pour permettre les échanges gazeux via les pores

# Tout continue dans l'oviducte

## Utérus : Biominéralisation de la coquille



COMPETITION ENTRE LES CRISTAUX



CROISSANCE ANISOTROPE  
(⊥ aux membranes coquillières et // à l'axe c)

Rôle déterminant des protéines de la matrice

Approches globales et non hiérarchisées  
 ✓ Plus de 900 protéines  
 ✓ Plus de 600 transcrits spécifiques

Lesquelles ? Quand ?

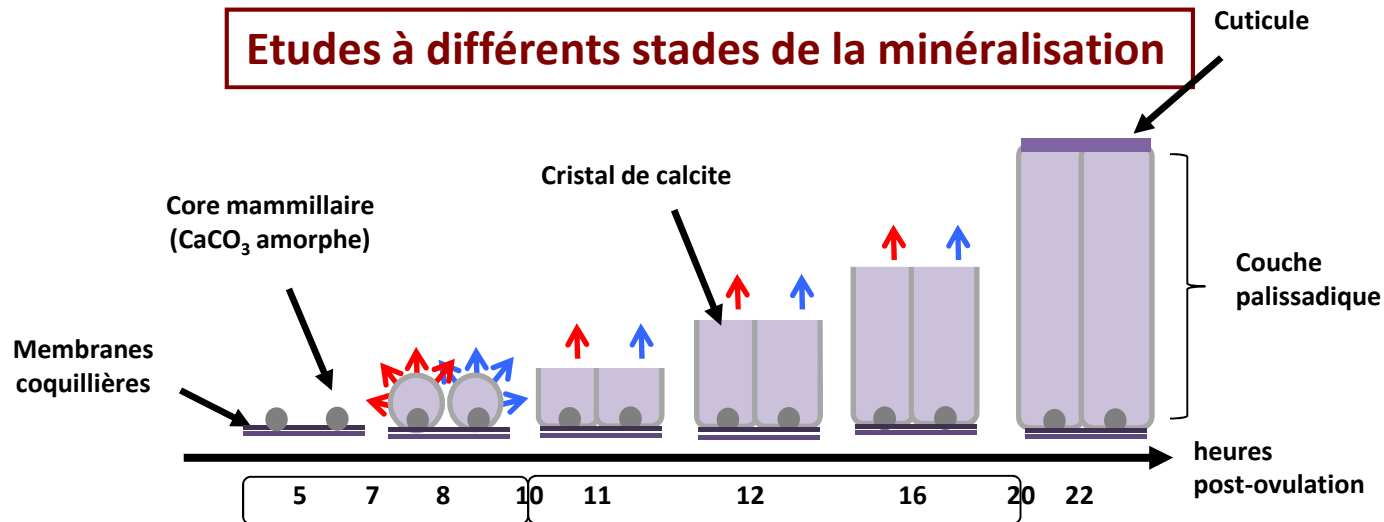
Où ? Pourquoi faire ?

Comment faire ?

# Tout continue dans l'oviducte

## Utérus : Biominéralisation de la coquille

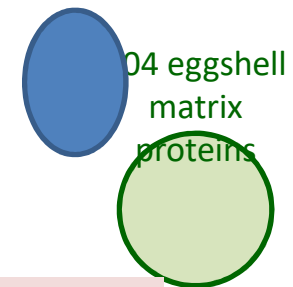
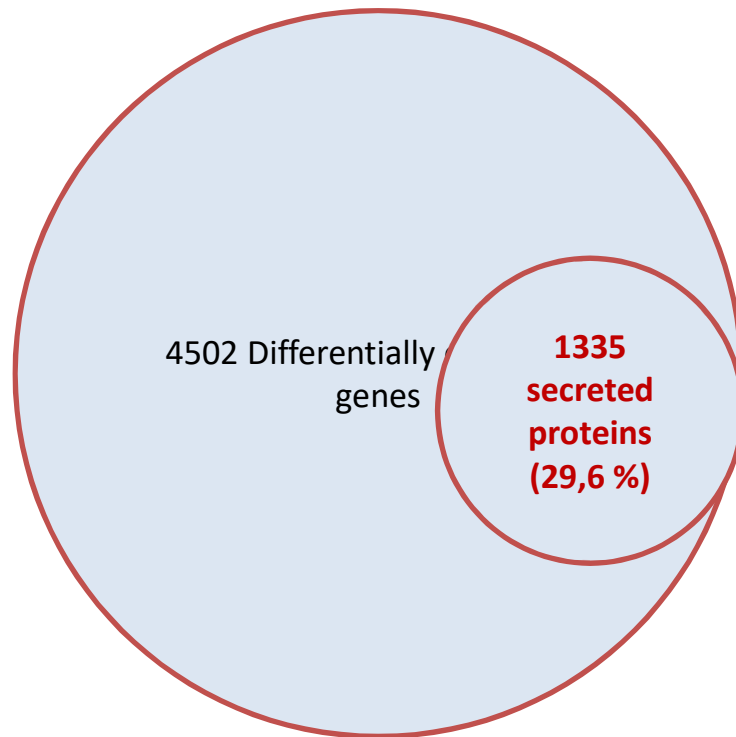
Hierarchiser les acteurs moléculaires prépondérants lors du processus de minéralisation



High-throughput quantitative proteomics, Uterine RNA-seq, statistical and bioinformatic functional analyses of matrix proteins

To sort major protein candidates involved in particular key points of the eggshell mineralization

# Identification of molecular actors involved in eggshell calcification



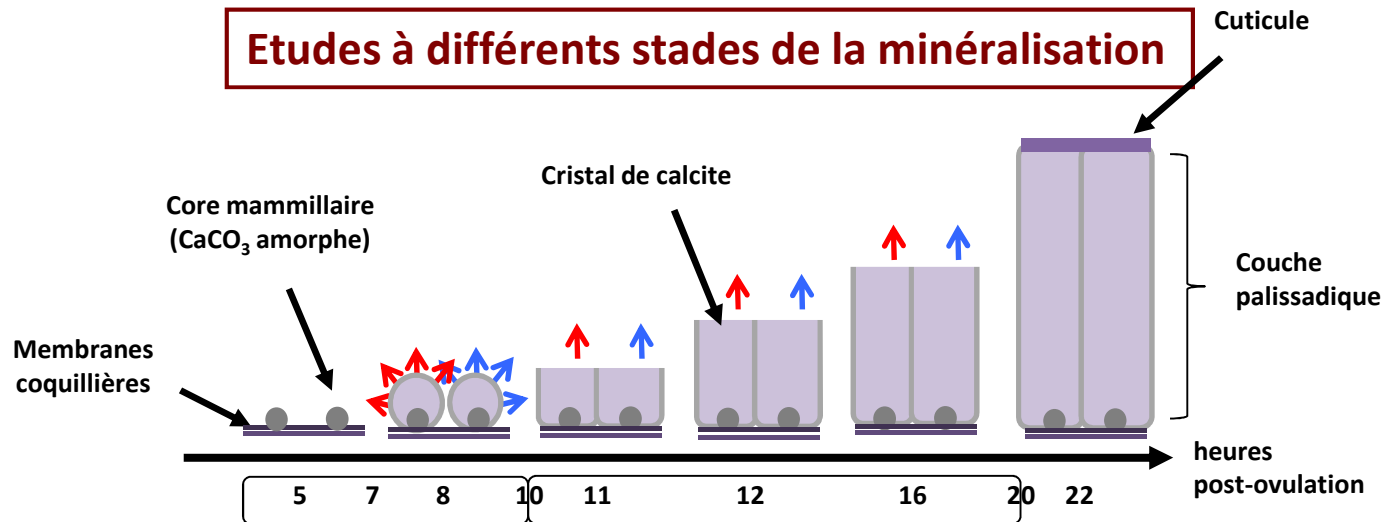
**444 Main candidate proteins to be involved in the shell biomineralization process**



# Tout continue dans l'oviducte

## Utérus : Biominéralisation de la coquille

Hierarchiser les acteurs moléculaires prépondérants lors du processus de minéralisation



**Proteomics and transcriptomics:  
Distribution and variation of abundance of 444 matrix proteins**

**Predicted functional activities of the identified matrix proteins ?**

(Marie et al., 2014, 2015a,b)



Literature, data mining and bioinformatics tools

Classification in 3 different groups according to their potential functions

Associated to mineralization process

Involved in the regulation of activity of proteins

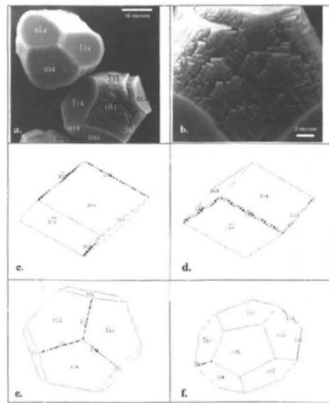
Antimicrobial and other proteins



# Eggshell biomineralization

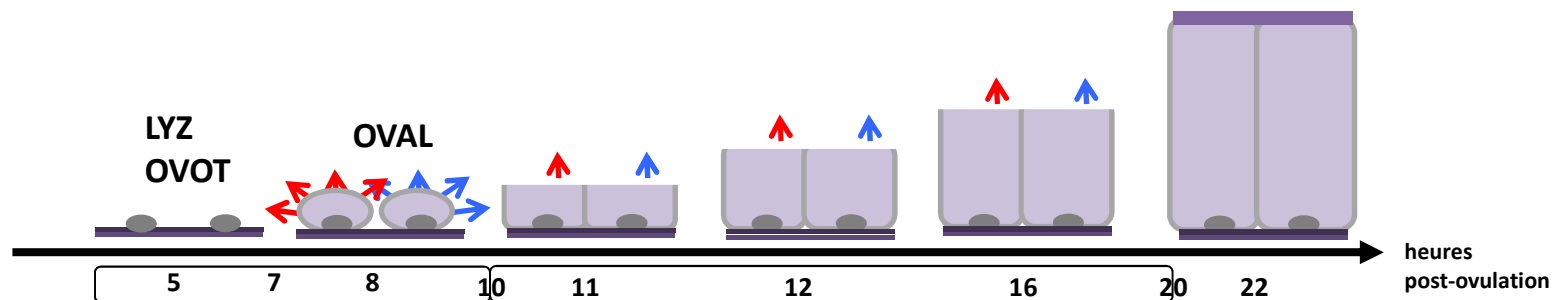
## ❑ Proteins having a direct involvement in eggshell mineralization

- ✓ Proteins with established role in the **biomineralisation**



### Ovotransferrin is a Matrix Protein of the Hen Eggshell Membranes and Basal Calcified Layer

J. GAUTRON<sup>a</sup>, M.T. HINCKE<sup>b</sup>, M. PANHELEUX<sup>a</sup>, J.M. GARCIA-RUIZ<sup>c</sup>, T. BOLDICKE<sup>d</sup> and Y. NYS<sup>a,\*</sup>

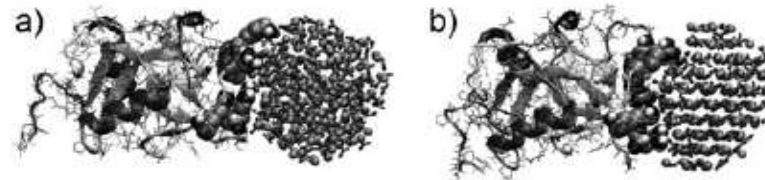


# Eggshell biomineralization

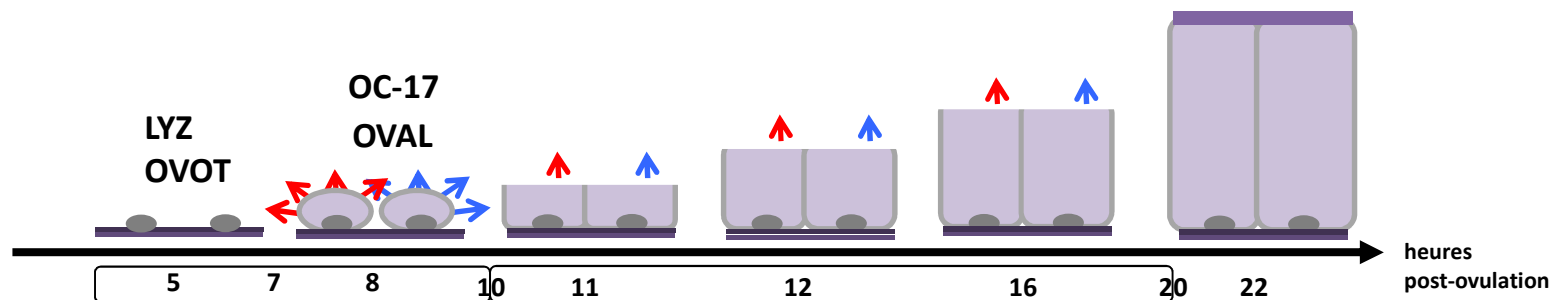
## □ Proteins having a direct involvement in eggshell mineralization

✓ Proteins with established role in the **biomineralisation**

Freeman et al, 2010



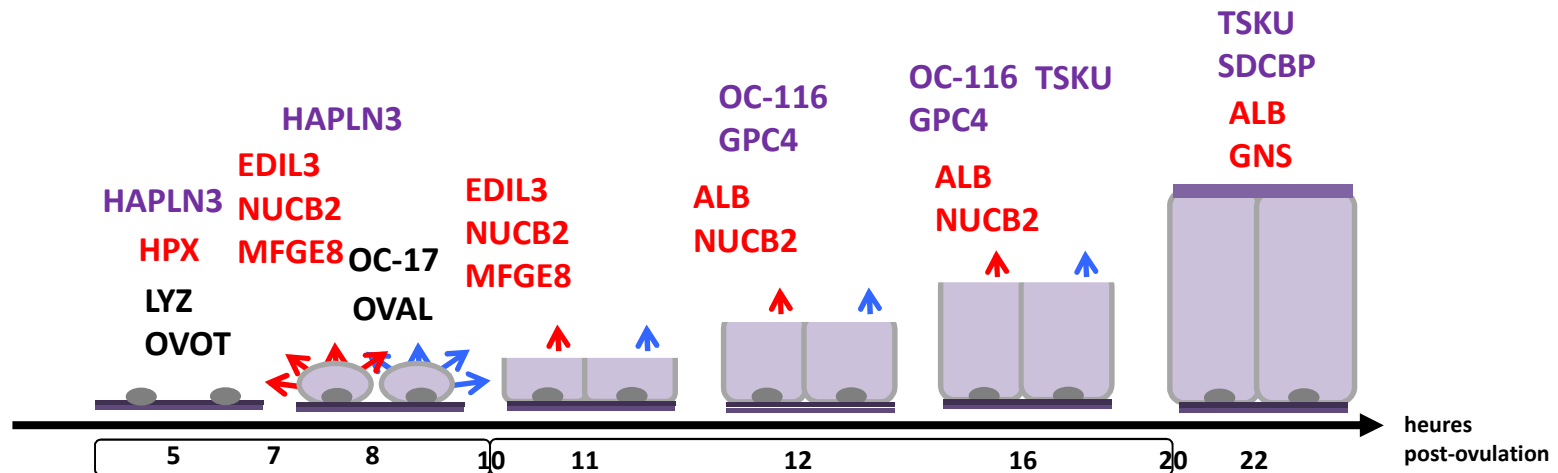
*Figure 1.* Ovocleidin-17 bound to an amorphous (a) and a crystallized (b) calcium carbonate nanoparticle containing 192 formula units. The



# Eggshell biomineralization

## □ Proteins having a direct involvement in eggshell mineralization

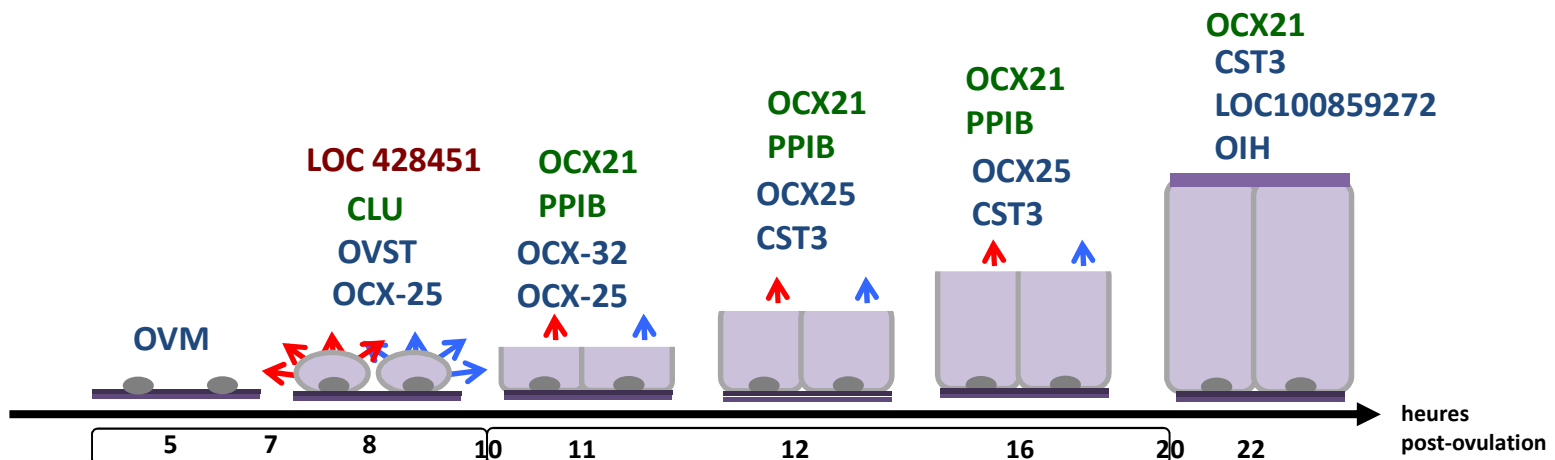
- ✓ Proteins with established role in the **biomineralisation**
- ✓ **Calcium binding proteins (CaBPs)** interacting with calcium, favoring crystal nucleation and driving the morphology of crystals
  - *Proteins with EF-hand and EGF-like calcium binding domains*
- ✓ **Proteoglycans** and proteoglycan binding proteins
  - proteoglycans have a negative charge to attract Ca<sup>2+</sup> ions



# Eggshell biomineralization

## □ Proteins involved in the regulation of proteins driving mineralization

- ✓ Proteins involved in the **proper folding of the eggshell matrix** to ensure calcium and mineral interactions and to ensure template to the mineralized structure
- ✓ Proteins **inhibiting or activating proteins present in the mineralization milieu (non cellular)**.
  - *Direct interaction with other proteins.*
    - *Molecular chaperone interact with proteins driving mineralization*
    - *Proteases and protease inhibitors (specific and controlled role during calcification process, either by degrading proteins or regulating processing of proteins into their mature forms)*
- ✓ Mineralization depends of the **degree of protein phosphorylation**
  - *Kinases and Phosphatases*



# And now ?



**Physiology**  
Understand the mechanisms of shell manufacturing and determine the origin of its weaknesses



**Genetics**  
Classical and genomic selection

- Recent Developments and Future Prospects :**
- ✓ Genomic selection (precision, taking into account the male effect)
  - ✓ Taking into account scientific advances in the knowledge of mechanisms
    - ✓ Candidate gene approach

- Mapping genes coding matrix proteins to detect polymorphisms and haplotype related to good quality shell



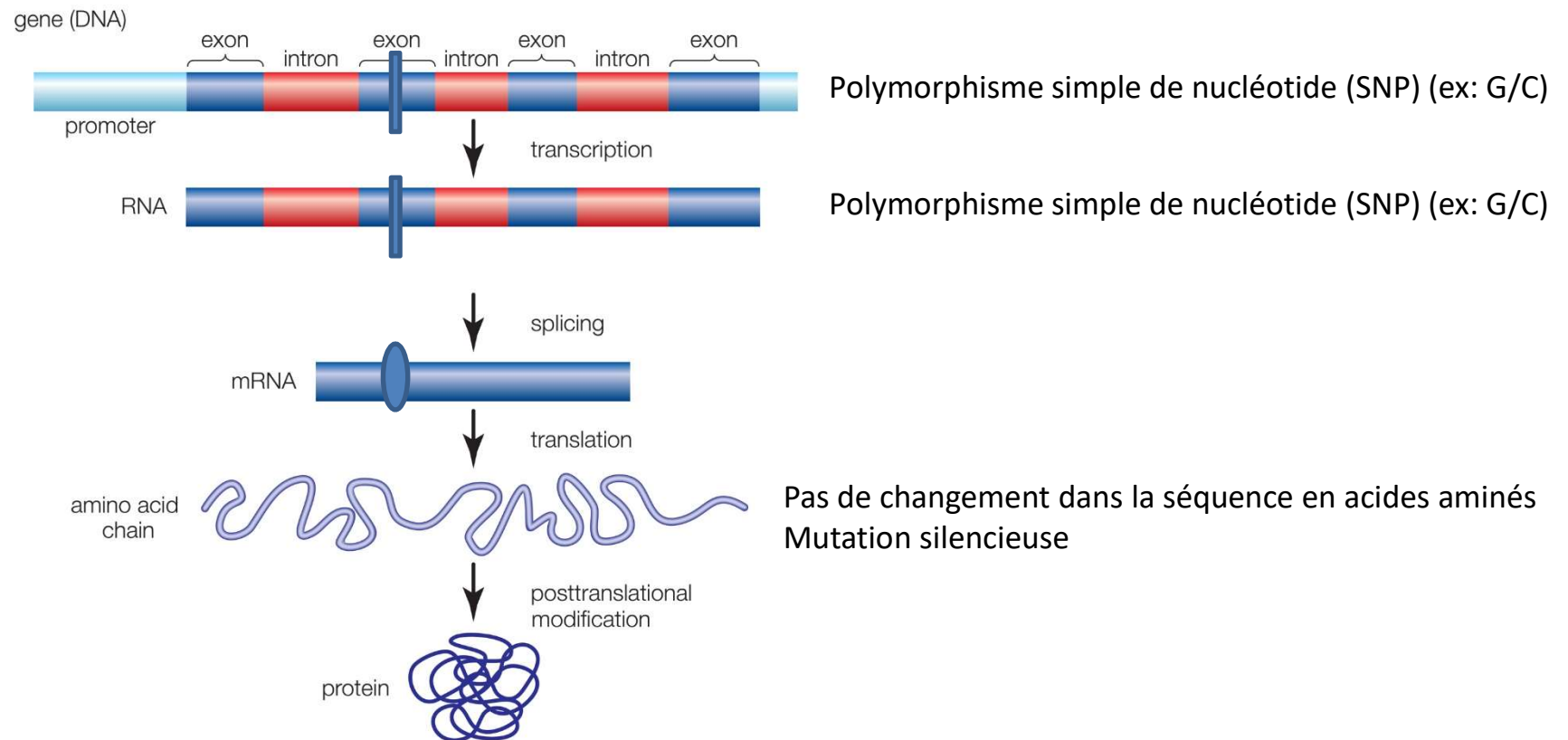
Candidate Genes of eggshell calcification in laying hens (CACAO)

Eggshell Calcification Polymorphism Candidates (POLCACAO)

# Utilisation des avancées récentes en génétique et génomique pour améliorer la solidité de la coquille

Stratégie de sélection pour améliorer les défenses naturelles de l'œuf

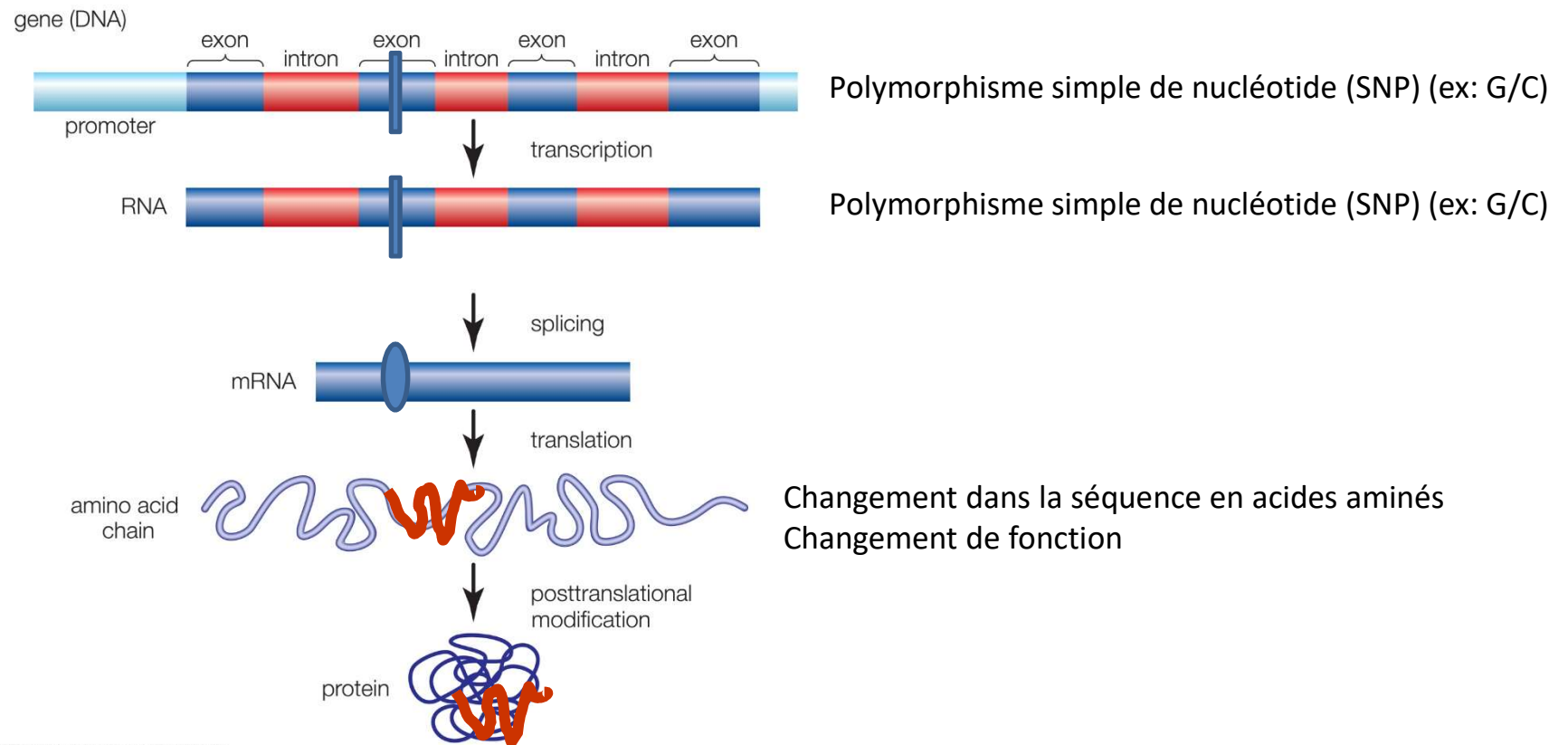
Sélection génomique assistée par marqueurs (MAS)



# Utilisation des avancées récentes en génétique et génomique pour améliorer la solidité de la coquille

Stratégie de sélection pour améliorer les défenses naturelles de l'œuf

Sélection génomique assistée par marqueurs (MAS)

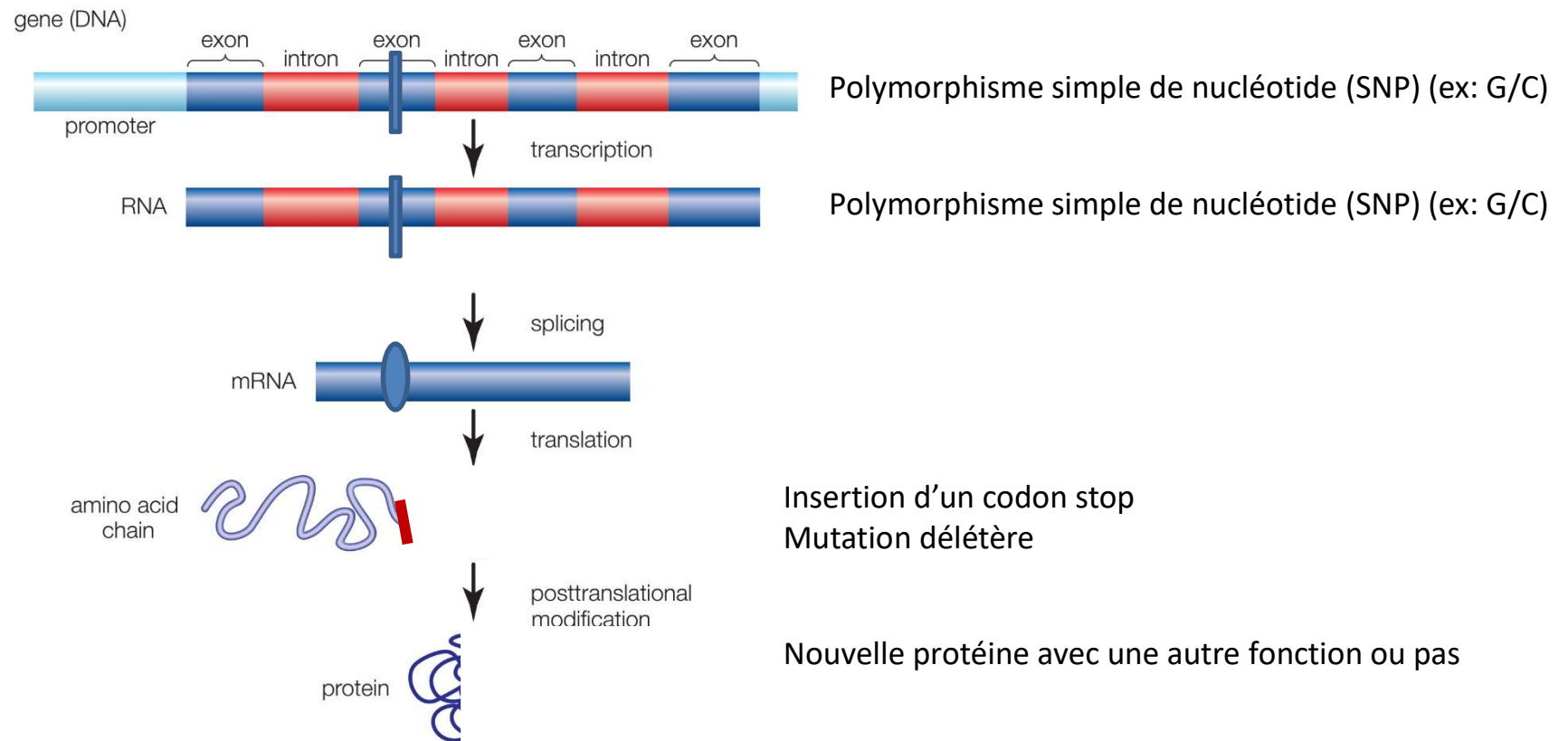




# Utilisation des avancées récentes en génétique et génomique pour améliorer la solidité de la coquille

Stratégie de sélection pour améliorer les défenses naturelles de l'œuf

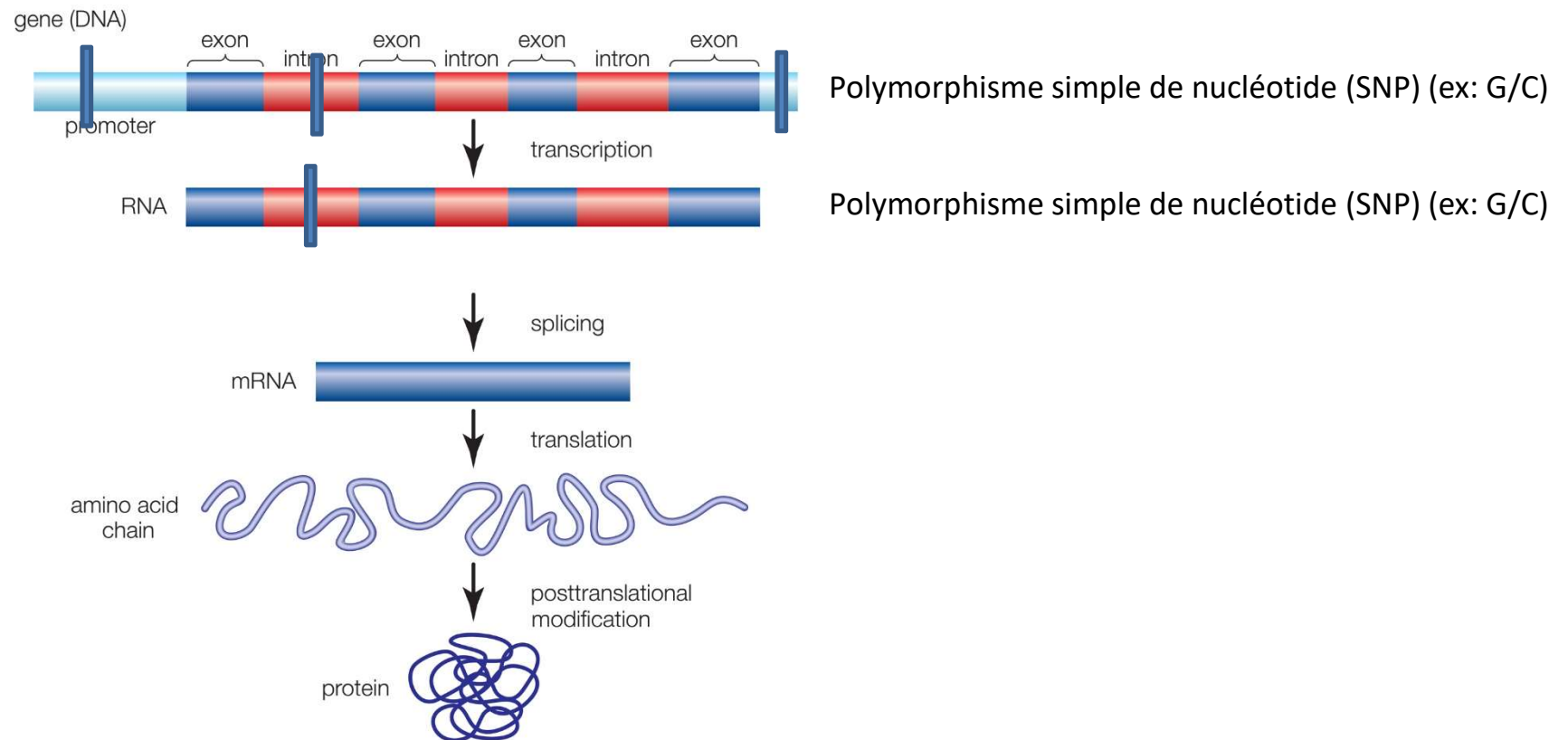
Sélection génomique assistée par marqueurs (MAS)



# Utilisation des avancées récentes en génétique et génomique pour améliorer la solidité de la coquille

Stratégie de sélection pour améliorer les défenses naturelles de l'œuf

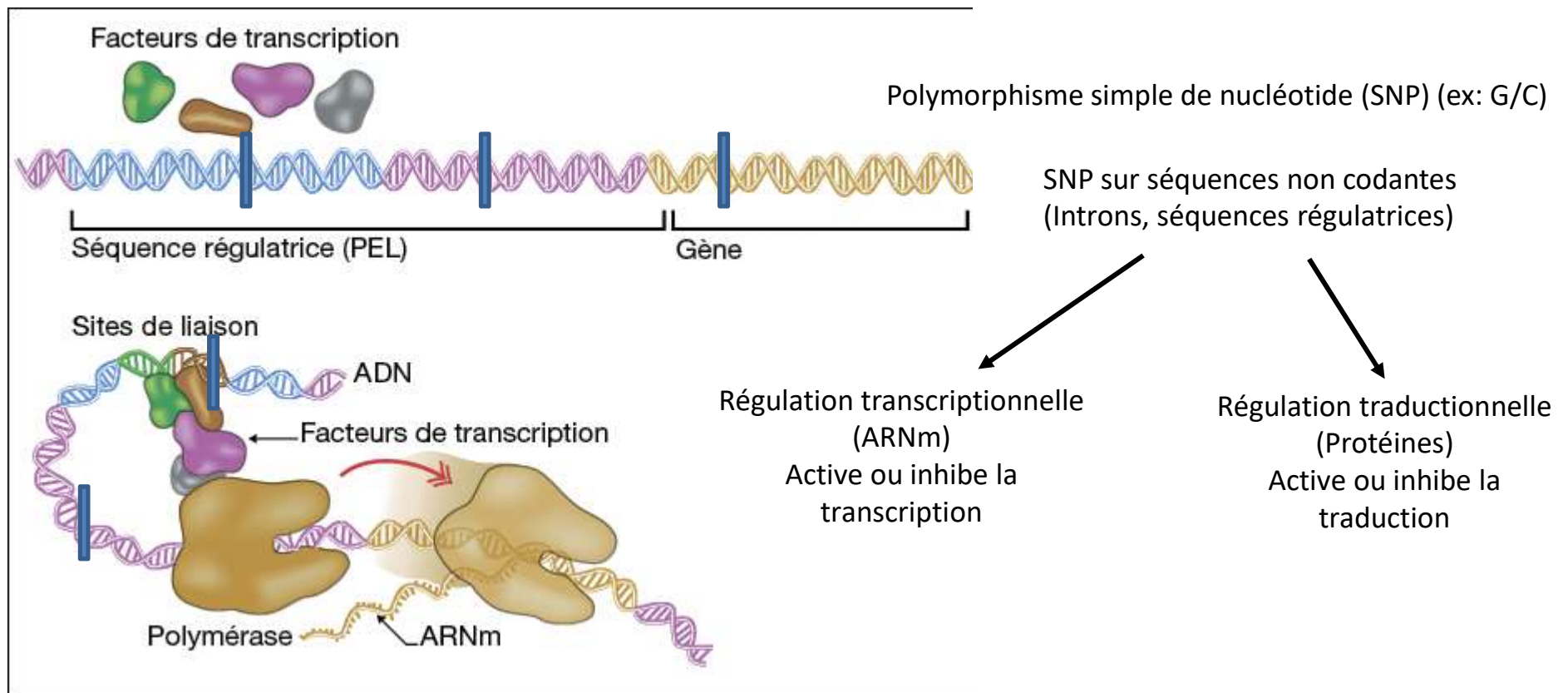
Sélection génomique assistée par marqueurs (MAS)



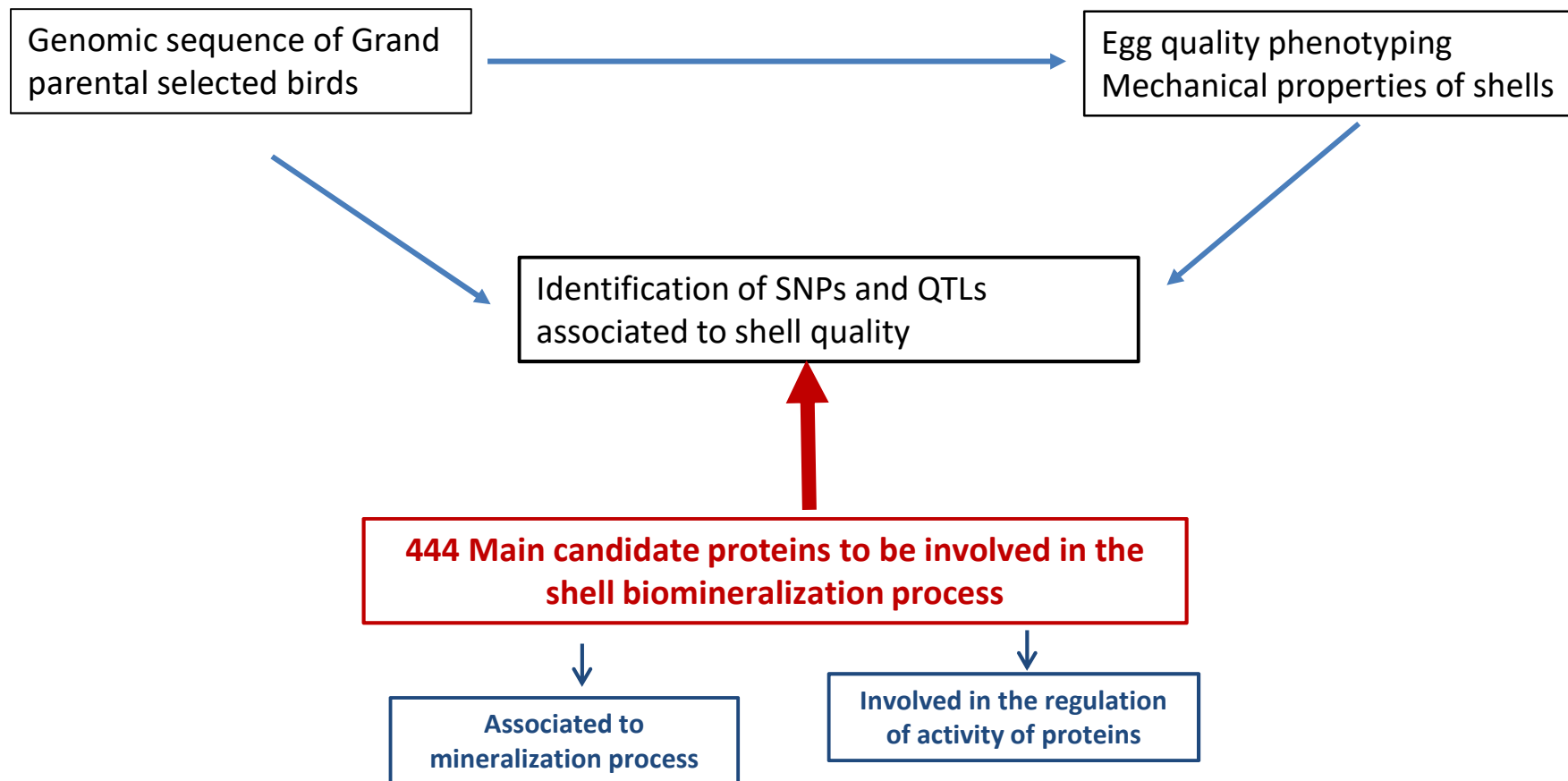
# Utilisation des avancées récentes en génétique et génomique pour améliorer la solidité de la coquille

Stratégie de sélection pour améliorer les défenses naturelles de l'œuf

Sélection génomique assistée par marqueurs (MAS)



# Complementarity of information between proteomics (candidate genes) and genomics results (QTL / Sequencing).



# Utilisation des avancées récentes en génétique et génomique pour améliorer la solidité de la coquille

Stratégie de sélection pour améliorer les défenses naturelles de l'œuf

Sélection génomique assistée par marqueurs (MAS)

Les SNPs ont des conséquences sur le phénotype

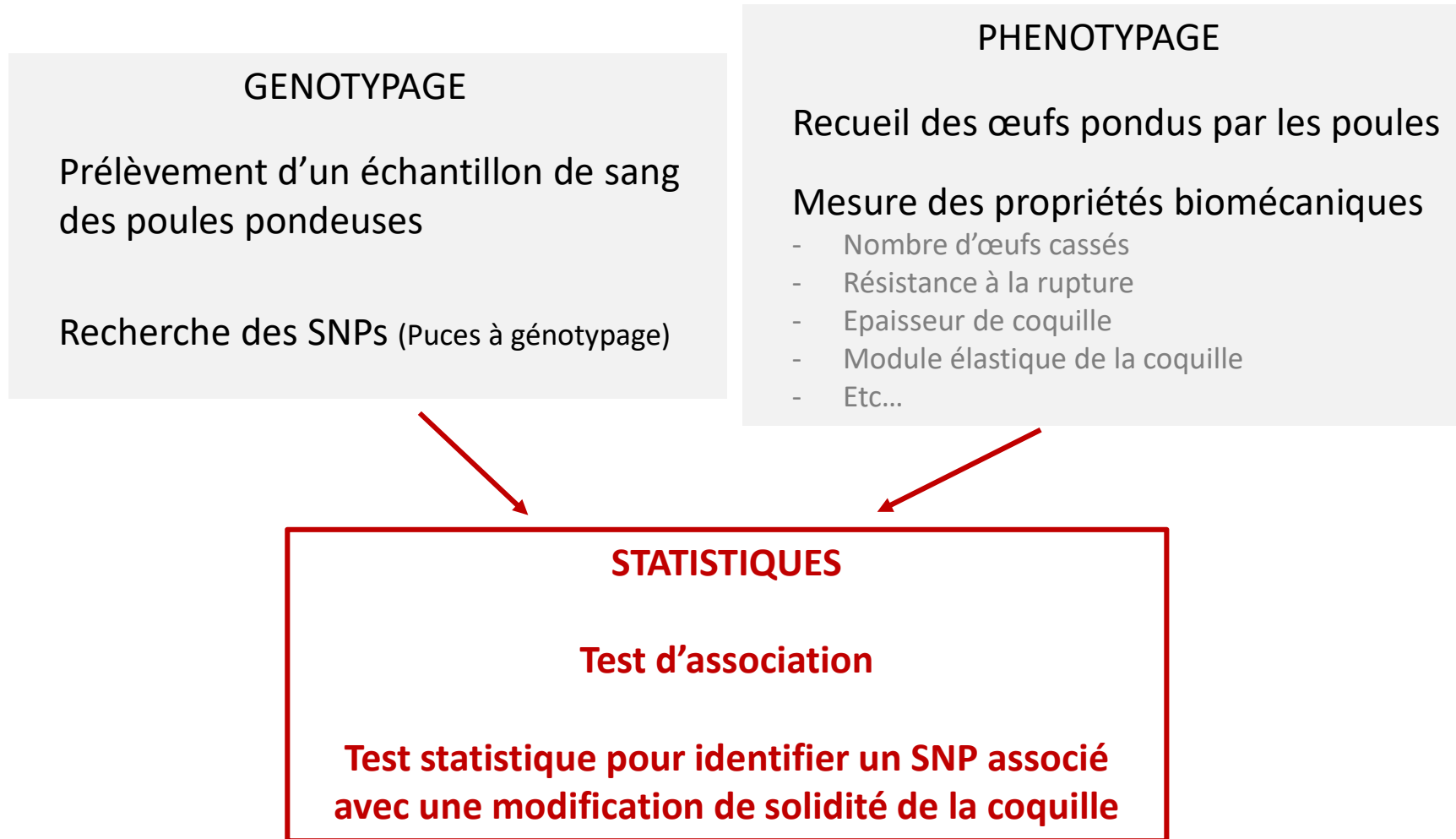
*Le phénotype décrit l'ensemble des caractères observables d'un individu. Il dépend de l'expression des gènes (génotype) et de l'environnement (épigénétique)*

Les SNPs sur les gènes de la matrice organique de la coquille de l'œuf ont des conséquences sur le phénotype de la coquille de l'œuf

- Nombre d'œufs cassés
- Résistance à la rupture
- Epaisseur de coquille
- Module élastique de la coquille
- Etc...

# Utilisation des avancées récentes en génétique et génomique pour améliorer la solidité de la coquille

Sélection génomique assistée par marqueurs (MAS)



# Utilisation des avancées récentes en génétique et génomique pour améliorer la solidité de la coquille

Stratégie de sélection pour améliorer les défenses naturelles de l'œuf



SRA STATION DE RECHERCHES AVICOLEES  
Houziy, 37380 MONNAIE, France

Ian Dunn, Maureen Bain  
Roslin Institute, University of Glasgow



## Sélection assistée par marqueurs (MAS)

Approche gènes candidats

(Environ 16000 génotypages pour 8 gènes et 2066 descendants)

### Tests d'association

P value

*Ovocleidin-116*

Module élastique

P= 0.0004

*Ovocalyxin 32*

Déformation à la fracture

P= 0.006

*Ovocalyxin 32*

Résistance à la rupture

P= 0.001

Les études d'associations suggèrent que les gènes candidats peuvent expliquer les variations des propriétés structurales de la coquille de l'oeuf de poule.