

Transgenic studies of Early Acting Genes in Ovarian Development in mouse and goats

(TEGOD)

Responsable Scientifique du Projet : Mr PAILHOUX Eric
eric.pailhoux@jouy.inra.fr

UMR 1199 Biologie du Développement et Reproduction (BDR)
INRA Domaine de Vilvert
Bâtiment J. Poly
78350 JOUY EN JOSAS

Mots clés : Gene invalidation ; interfering RNA ; Gonad differentiation ; Goat ; Mouse.

Résumé

La modification génique ciblée constitue un outil très performant pour acquérir des connaissances de génomique fonctionnelle, mais également pour la création d'organismes d'intérêt agronomique. Cette technique très utilisée chez la souris, grâce à l'existence dans cette espèce de cellules souches embryonnaires (ES), commence à être employée dans les espèces d'intérêt agronomique. Chez la chèvre, le premier exemple d'invalidation génique, via la recombinaison homologue en fibroblastes puis le transfert nucléaire, vient d'être réalisé par une équipe chinoise pour le gène PRNP (Yu et al. (2006) J. Gen. Virol. 87, 1019-1027). Une approche également très prometteuse pour l'invalidation génique ciblée consiste à exprimer, de façon stable et permanente, des ARN interférents spécifiques du transcrite à inactiver. Ainsi, l'objectif premier de ce projet est de tester la faisabilité de ces deux approches chez la chèvre et de s'approprier ces technologies à l'INRA. Pour ce faire, le modèle d'étude choisi est le locus caprin PIS (Polled Intersex Syndrome), du fait d'une part de l'avancement des travaux sur ce locus et d'autre part, de son importance dans la différenciation, puis la fonctionnalité de la gonade femelle. Le second objectif de ce projet est d'élucider les interactions géniques qui président au développement de l'ovaire normal, comparativement dans 2 espèces de mammifères, la chèvre et la souris.

Pour mener à bien ce projet, le partenariat mis en place est capital. Le partenaire 1 (i) est un spécialiste de la différenciation sexuelle chez les animaux domestiques, (ii) est à l'origine avec le partenaire 2 de la découverte du locus PIS, et (iii) a déjà réalisé avec succès l'addition génique chez la chèvre. Le partenaire 2 (i) est un spécialiste des techniques de transgénèse additive chez la souris, (ii) et a obtenu des résultats avec le système d'ARN interférents chez la brebis. Le partenaire 3 (i) est un des leaders mondiaux de la différenciation sexuelle chez la souris et (ii) maîtrise parfaitement l'invalidation génique ciblée dans cette espèce.

Quatre axes de recherche constituent notre projet, 2 chez la chèvre et 2 chez la souris. Chez la chèvre, le premier objectif est de réaliser une invalidation du gène FOXL2 (gène clé du locus PIS) par la technique de recombinaison homologue en cellules fibroblastiques puis reconstitution d'embryons par transfert de noyaux (knock-out). Le second objectif est également de réaliser l'extinction génique de FOXL2, mais cette fois en ciblant son ARN messager à l'aide d'ARN interférents spécifiques (knock-down). Le résultat attendu est un phénotype d'inversion sexuelle à l'état homozygote, ce qui démontrerait que FOXL2 est le seul gène (parmi ceux co-régulés par PIS) impliqué dans la survenue des différents phénotypes liés à la mutation PIS. Chez la souris les deux objectifs concernent le gène Rspo1 qui est le premier gène humain isolé pour son implication dans les pathologies d'inversion sexuelle de type mâle XX. Un objectif consiste à réaliser son invalidation ciblée, l'autre à additionner le gène caprin chez la souris. Les deux expériences devraient nous renseigner sur le rôle de ce gène, récemment découvert, dans le développement de l'ovaire mais aussi d'autres organes. Certains résultats nous laissent supposer que RSPO1 pourrait être une cible de FOXL2 et pourrait interagir avec SRY. Les résultats obtenus dans le cadre de ce projet devraient permettre de démontrer ces liens putatifs.



INRA

Programme dont la gestion et l'animation sont confiées à l'INRA

Partenaires du projet

Equipe 1 (Equipe du Responsable Scientifique du projet) :
UMR 1199 Biologie du Développement et Reproduction (BDR), INRA, JOUY EN JOSAS
Responsable scientifique : Mr PAILHOUX Eric

Equipe 2 :
UR 339 Laboratoire de Génétique biochimique et de cytogénétique (LGBC), INRA, JOUY-EN-JOSAS
Responsable scientifique : Mr CRIBIU Edmond Paul

Equipe 3 :
U 636 Génétique du Développement normal et pathologique, INSERM, NICE
Responsable scientifique : Mme CHABOISSIER Marie-Christine



INRA

Programme dont la gestion et l'animation sont confiées à l'INRA