

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 à 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.

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 *in vivo* 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-Gene

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).