

Expression périconceptionnelle dans les cellules du cumulus de 4 gènes localisés dans la région d'un QTL de fertilité femelle chez les vaches Prim'Holstein

Periconceptual expression in cumulus cells of 4 genes located on a QTL of female fertility in Prim'Holstein cows

BRISARD D. (1), COYRAL-CASTEL S. (1,2), TOUZE JL. (1), BOUSSAHA M. (3), DESMARCHAIS A. (1), RAME C. (1), DUPONT J. (1), UZBEKOVA S. (1)

(1) INRA, UMR85 Physiologie de la Reproduction et des Comportements, F-37380 Nouzilly

(2) Institut de l'élevage, Département GIPSIE, 149 rue de Bercy, F-75595 Paris Cedex 12

(3) INRA, UMR 1313 Génétique Animale et Biologie Intégrative F-78350 Jouy-en-Josas

INTRODUCTION

Au cours de la maturation, l'ovocyte devient compétent et apte à soutenir le développement embryonnaire précoce. Ainsi, les cellules du cumulus (CC) entourant l'ovocyte, subissent d'importants changements expressionnels et métaboliques, qui influencent la qualité ovocytaire (Salhab et al, 2011). Chez les vaches Prim'Holstein, portant l'haplotype homozygote « Fertil+ » ou « Fertil- » pour un QTL de fertilité femelle situé sur le chromosome 3 (QTL-Fert-F-BTA3, Guillaume *et al.*, 2007), une différence significative du taux de réussite 35 jours après la 1^{ère} insémination artificielle (IA) a été décrite (Coyral-Castel *et al.*, 2011). Les échecs précoces de gestation laissent supposer une différence de qualité ovocytaire entre ces génotypes. Une analyse transcriptomique préalable à ce travail a montré chez la vache une différence d'expression de nombreux gènes dans les CC après maturation *in vivo* et *in vitro* par rapport aux cumulus des ovocytes immatures (non publié). Dans cette étude nous avons analysé l'expression de 4 gènes situés dans la région du QTL-Fert-F-BTA3 (*QF3B1*, *QF3B2*, *QF3B3*, *QF3B4*) dans CC, ovocyte et blastocyste bovins et comparé leur expression dans les CC chez les génisses « Fertil+ » et « Fertil- ».

1. MATERIEL ET METHODES

1.1. MATERIELS BIOLOGIQUES

Des ovaires de vaches ont été prélevés post-mortem à l'abattoir et ponctionnés pour obtenir des complexes ovocyte-cumulus (COC) immatures, qui ont ensuite été soumis à 22h de maturation *in vitro* (MIV). Des embryons au stade blastocyste ont été obtenus 8 jours après fécondation *in vitro* (FIV). Pour récupérer les COC après maturation *in vivo*, 5 vaches Prim'Holstein adultes (3-5 ans) sans haplotype déterminé et 8 génisses, âgées de 16 à 20 mois, dont 4 « Fertil+ » et 4 « Fertil- » au QTL-Fert-F-BTA3, ont été soumises à Ovum-Pick-Up après un traitement de superovulation juste avant l'ovulation. Les follicules préovulatoires (PO) ont été ponctionnés, puis les CC ont été séparées des ovocytes. L'extraction des ARN totaux des CC et leur conversion en ADNc ont été réalisées.

1.2. ANALYSES

Des gènes dont l'expression a été détectée dans des CC par analyse transcriptomique globale, ont été positionnés sur le génome de *Bos taurus*. Les gènes de la région du QTL-Fert-F-BTA3 qui montrent une différence d'expression après maturation *in vivo* ou *in vitro* vs. CC immatures (ANOVA, $p < 0.05$, correction Benjamini-Hochberg) ont été choisis comme gènes candidats. Leur expression a été ensuite analysée par RT-qPCR dans les CC, ovocytes et blastocystes bovins, ainsi que dans les CC maturées *in vivo* de génisses « Fertil+ » et « Fertil- ».

2. RESULTATS

2.1. EXPRESSION DANS LE CUMULUS

Après l'analyse transcriptomique, 8 gènes situés dans la région du QTL-Fert-F-BTA3 montrent une expression différentielle des CC entourant des ovocytes à différents stades de compétence au développement - immatures, maturés *in vivo* (PO) et après maturation *in vitro*. La RT-qPCR confirme la surexpression significative de 3 transcrits

sur 4 analysés dans les CC après MIV comparativement aux CC maturées *in vivo* ou CC immatures (Figure 1).

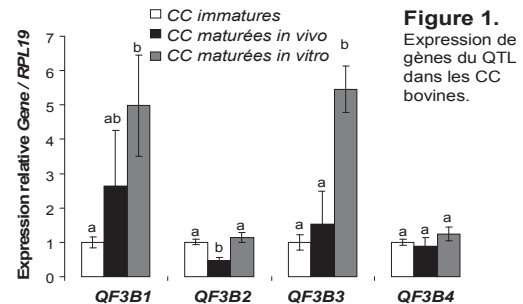


Figure 1. Expression de gènes du QTL dans les CC bovines.

L'augmentation de la protéine codée par le gène *QF3B3* dans les CC matures par rapport aux immatures a été montrée par western blot. Aucun des 4 gènes du QTL analysés dans les CC de follicules PO de génisses « Fertil+ » et « Fertil- » ne varie significativement pas entre les 2 génotypes. Toutefois, ils tendent à être surexprimés chez les « Fertil- » (Figure 2).

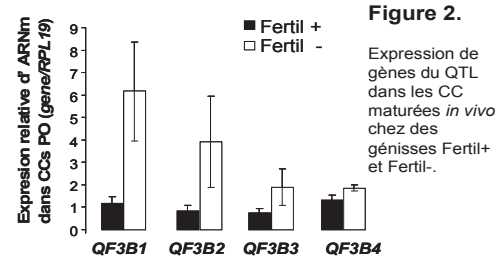


Figure 2.

Expression de gènes du QTL dans les CC maturées *in vivo* chez des génisses Fertil+ et Fertil-.

2.2. EXPRESSION DANS L'OVOCYTE ET L'EMBRYON

Les transcrits des gènes *QF3B3* et *QF3B4* sont détectés dans l'ovocyte, et leur expression augmente très significativement dans les blastocystes, contrairement aux gènes *QF3B1* et *QF3B2* qui montrent une expression ovocytaire et embryonnaire préimplantatoire très faible.

3. DISCUSSION ET CONCLUSION

La surexpression de quelques gènes localisés dans la région du QTL-Fert-F-BTA3 dans les CC entourant des ovocytes moins aptes au développement embryonnaire (MIV vs PO) pourrait être liée à une qualité ovocytaire moindre chez les « Fertil- » par rapport aux « Fertil+ », mais un plus grand nombre d'animaux sera nécessaire pour conclure. Par ailleurs, l'analyse d'expression de gènes de ce QTL dans les ovocytes, les embryons et l'oviducte pourrait permettre de mieux comprendre les dysfonctionnements de fertilité des vaches « Fertil- » autour de la conception : de l'ovocyte préovulatoire au développement de l'embryon et à l'implantation.

Ce travail a été financé par l'ANR Genanimal et ApisGene (projets OSCILE et Fertility-2)

Coyral-Castel S *et al.*, 2011. *Theriogenology*, 75:1239-1250

Guillaume, F., *et al.*, 2007. *Anim. Genet.*, 38, 72-74

Salhab M., *et al.*, 2011 *Theriogenology*, 75(1):90-104