

 <small>agriculture • alimentation • environnement</small> 	Diplôme : Ingénieur Agronome Spécialité : Halieutique Spécialisation / option : Aquaculture Enseignant référent : Hervé Le Bris
Auteur : Lucas GENEVE Date de naissance* : 15/11/1996	Organisme d'accueil : INRAE LPGP Adresse : : Bâtiment 16A, Campus de Beaulieu, 35042 Rennes
Nb pages : 30 Annexe(s) : 1	
Année de soutenance : 2020	Maître de stage : Julien BOBE
Titre français : Caractérisation fonctionnelle du gène <i>foxr1</i> chez le médaka (<i>Oryzias latipes</i>)	
Titre anglais : Functional characterization of <i>foxr1</i> gene in the japanese medaka (<i>Oryzias latipes</i>)	
Résumé (1600 caractères maximum) : Les gènes « Forkhead Box » (<i>FOX</i>) codent pour une famille de facteur de transcription, connue pour jouer un rôle clé dans les premiers stades du développement embryonnaire et dans la gonadogenèse chez la plupart des vertébrés. Il a déjà été montré chez le poisson zèbre (<i>Danio rerio</i>) que <i>foxr1</i> est un gène maternel, ovaire spécifique, indispensable à la division et à la prolifération des cellules embryonnaires par contrôle de l'expression des gènes <i>rictor</i> , <i>p21</i> et <i>p27</i> , régulateurs de la survie et du cycle cellulaire. Pour aller plus loin dans la compréhension fonctionnelle de <i>foxr1</i> , et du fait de l'impossibilité pour les poissons zèbre de transmettre la mutation et donc d'obtenir une lignée d'étude stable, l'objectif du travail était de générer une lignée de médaka (<i>Oryzias latipes</i>) mutés à l'aide du complexe de restriction CRISPR/cas9 dirigé sur <i>foxr1</i> . La génération F0 est injectée avec CRISPR/cas9 au stade <i>une cellule</i> . La mutation attendue est vérifiée par séquençage : une délétion de 1232 paires de bases (pb) sur les 5605 pb du gène, supprimant trois exons sur sept. Les poissons ayant développé cette mutation sont sélectionnés par génotypage PCR (<i>polymerase chain reaction</i>) et reproduits entre eux pour obtention d'une génération F1 comportant des hétérozygotes mutés/sauvages, croisés pour obtention des F2 homozygotes mutés/mutés recherchés. Parallèlement, des PCR quantitatives sont réalisés sur différents tissus et sur des embryons à différents stades de développement, et confirment que chez le médaka comme chez le poisson zèbre, <i>foxr1</i> est un gène maternel à expression ovaire spécifique.	
Abstract (1600 caractères maximum) : The family of forkhead box (<i>FOX</i>) transcription factors regulates embryogenesis and gonadogenesis in most vertebrates. In a previous study it has been found that <i>foxr1</i> is a maternal-effect gene that has an ovarian-specific expression in zebrafish (<i>Danio rerio</i>) and may be required for proper cell division and survival during early embryogenesis via the <i>rictor</i> and <i>p21</i> pathways, regulators of cell cycle and survival. To broaden our knowledge on the function of <i>foxr1</i> , we generated a Japanese medaka (<i>Oryzias latipes</i>) CRISPR/cas9 knockout model strain, because of the difficulty in transmitting the mutated <i>foxr1</i> gene in zebrafish model in the previous <i>foxr1</i> study. F0 strain was micro-injected with CRISPR/cas9 and mosaic mutants were identified by PCR genotyping then mated to produce F1. Heterozygotes F1 with the mutation were crossed to obtain F2 with mutant homozygotes. Quantitative PCR were performed on different wild-type medaka tissues and on embryos at different development stages that confirm the maternal effect and ovarian-specific expression of <i>foxr1</i> .	
Mots-clés : Médaka, <i>Oryzias latipes</i> , <i>foxr1</i> , reproduction, embryogénèse, facteur de transcription, gène maternel.	
Key Words : Japanese medaka, <i>Oryzias latipes</i> , <i>foxr1</i> , reproduction, embryogenesis, transcription factor, maternal effect gene.	

* Élément qui permet d'enregistrer les notices auteurs dans le catalogue des bibliothèques universitaires