

Proposition de stage

Parcours Master 2 « Microbiologie, Environnement, Santé »

1. Laboratoire / Entreprise d'accueil :

Intitulé : Unité de Glycobiologie Structurale et Fonctionnelle (UGSF) – UMR 8576
CNRS/Université Lille1/USC INRA 1409
Adresse : Bâtiment C9, Cité Scientifique, 59655 Villeneuve d'Ascq CEDEX
Responsable du Laboratoire / Entreprise : Professeur Christophe D'HULST
Responsable de l'encadrement : Dr Patricia NAGNAN-LE MEILLOUR
Téléphone : 03 20 43 40 10
Fax : 03 20 43 65 55
E-mail : patricia.le-meillour@univ-lille1.fr
Co-encadrant éventuel :

Perspectives de poursuite de thèse :

oui

avec une bourse spécifique

oui, thèse sur financement ANR PHEROMALE

2. Titre, description du sujet, approches utilisées, références (2 pages maximum) :

PHEROMALE : Analyse du sécrétome et du bactériome olfactif de brebis en fonction de la perception des odeurs du mâle.

Le stage de Master 2 proposé fait partie d'un projet, PHEROMALE, financé par l'ANR (2016-2020).

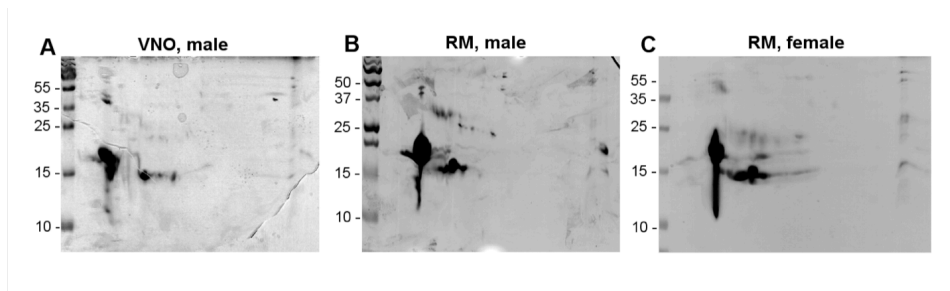
Contexte :

Chez les ovins, la reproduction est saisonnée. En dehors de cette période (septembre-février), béliers et brebis sont en repos sexuel (mars-août). Pendant cette période, les femelles sont en anoestrus, elles n'ont pas de cycle ovarien. Cependant, si elles sont mises en contact avec un mâle actif, leur axe gonadotrope est réactivé et des ovulations sont possibles. Ce phénomène est appelé « effet mâle ». C'est une technique intéressante pour réguler la reproduction des ovins dans un cadre d'élevage durable et respectueux de l'environnement. En effet, l'utilisation de l'effet mâle est une alternative à l'administration d'hormones exogènes qui peuvent agir comme des perturbateurs endocriniens si ingérés avec la viande. Cette technique permettrait aussi d'obtenir les produits animaux (lait, viande) en dehors des périodes habituelles de reproduction.

A l'heure actuelle, l'utilisation de l'effet mâle en élevage est limitée. On sait depuis longtemps que les odeurs du mâle peuvent se substituer au mâle lui-même pour induire l'ovulation chez les brebis, et les éleveurs se servent de la toison de bélier pour

synchroniser les cycles des femelles. L'objectif du projet PHEROMALE est d'identifier les odeurs du mâle actives sur les femelles et de comprendre leur mécanisme d'action au niveau du système olfactif de la brebis. En particulier, au niveau le plus périphérique du système olfactif, nous allons examiner l'impact des odeurs du bélier sur la composition du mucus nasal contenant les protéines impliquées dans la réception des odeurs.

Chez le Porc, nous avons montré que le mucus nasal est composé en majeure partie d'une trentaine d'isoformes d'OBP (Odorant-Binding Proteins) générées par des modifications post-traductionnelles de 3 produits de gènes (Nagnan-Le Meillour et al., 2014). La composition de ce sécrétome olfactif varie en fonction de l'âge et du sexe des animaux chez le Porc (Figure ci-dessous), et en fonction du stress chez le Rat. Nous avons donc émis l'hypothèse que le sécrétome olfactif de la brebis peut être modifié par la perception des odeurs du mâle.



Programme pour le stage de Master 2:

L'objectif du stage de Master 2 est de comparer les secrétomes olfactifs de brebis avant et après l'exposition aux odeurs du mâle, chez les mêmes individus. Nous rechercherons des variations quantitatives et qualitatives des protéines de brebis, et d'éventuelles protéines du bactériome symbiotique, par les méthodes de protéomique.

Matériels et méthodes :

- le mucus nasal de femelles en anoestrus a déjà été collecté par le coordinateur du projet ANR, Matthieu Keller, à la ferme expérimentale de l'INRA de Nouzilly (UEPAO). La méthode est non invasive et non stérile, la cavité nasale est « essuyée » avec une gaze qui est placée dans un flacon de verre stocké à -20 ou -80°C.
- Les protéines seront extraites et analysées par électrophorèse bidimensionnelle (2D-E), les spots obtenus seront découpés et soumis à digestion trypsique puis analysés par spectrométrie de masse (MALDI-TOF) pour identifier les protéines eucaryotes et procaryotes (analyse des banques de données). Mois 1-3.
- Pour comparer les secrétomes de brebis en anoestrus et en oestrus, les échantillons seront analysés par 2D-DIGE, qui permet de faire migrer les deux échantillons sur le même gel, grâce au couplage avec des marqueurs fluorescents (Cye Dye). Mois 3-5.

Les séquences ovines et bactériennes étant disponibles, la caractérisation des protéines ne présente pas de risque. Par contre, l'analyse du bactériome du mucus nasal « in situ » n'a jamais été effectuée.