

SeQuaMol

Qualité Moléculaire de la semence



INRA
SCIENCE & IMPACT



Franz Marc, The Red Bull

De « l'épigénétique en paille », ou l'épigénome des spermatozoïdes de taureaux

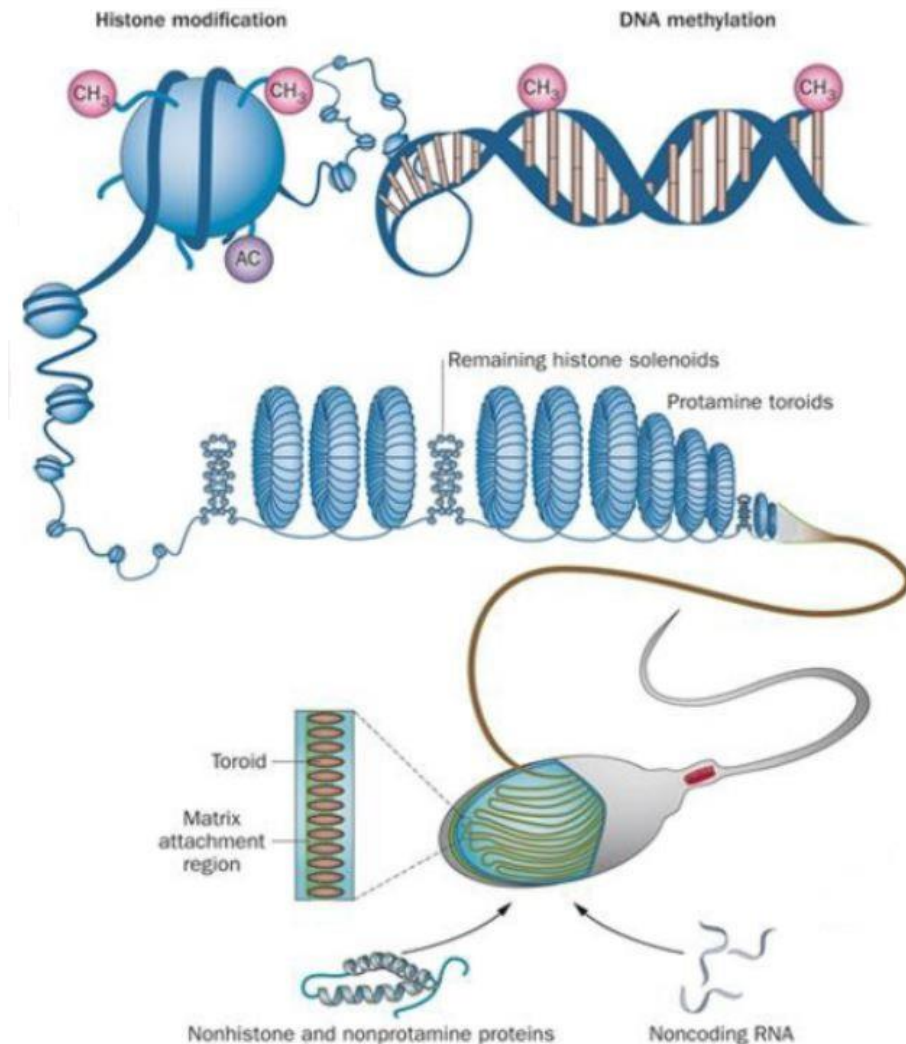
H. Kiefer, Académie d'Agriculture, 14 novembre 2018



ALIMENTATION
AGRICULTURE
ENVIRONNEMENT

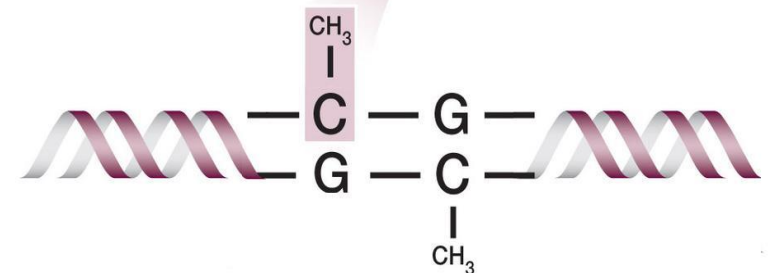
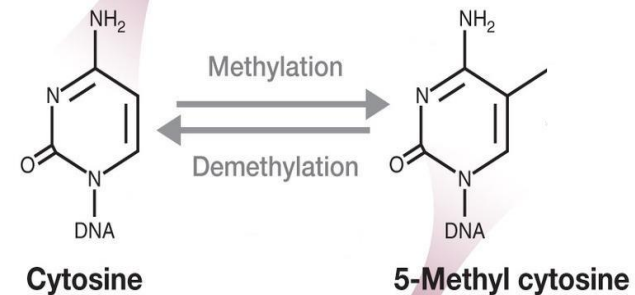
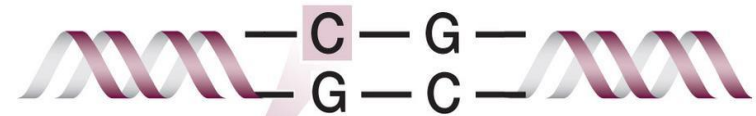
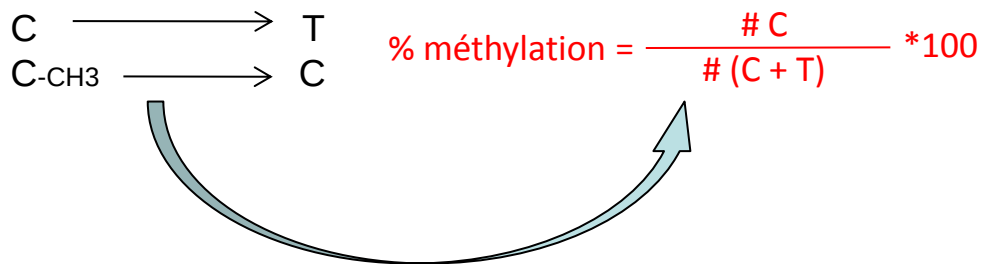
L'épigénome des spermatozoïdes est unique

- ❖ Rôle majeur dans la compaction du génome paternel
- ❖ Morphologie du spermatozoïde
- ❖ Protection contre l'oxydation durant le transit par l'épididyme et les voies génitales femelles
- ❖ Porte une information cruciale pour le développement de l'embryon et le phénotype à long terme de la descendance



La méthylation de l'ADN

- ❖ Stable mais sensible à l'environnement
- ❖ Quantifiable à différentes échelles
- ❖ Analysable comme un polymorphisme de séquence après traitement au bisulfite de sodium :



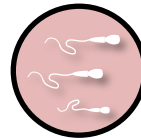
<https://www.caymanchem.com/images/articles/screen/2153-1.jpg>

Fertilité chez l'homme et méthylation de l'ADN spermatique



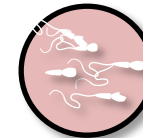
- **Spermatogenèse défectueuse**

Oligospermie



Marques *et al.* 2008
Laqqan *et al.* 2017

Oligoasthénospermie



Boissonnas *et al.* 2010

- **Perturbations environnementales**

Métabolisme



Donkin *et al.* 2016

Tabac



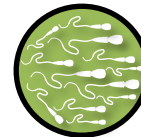
Jenkins *et al.* 2017

Perturbateurs endocriniens



Wu *et al.* 2017

- **Infertilité idiopathique**



Urduingio *et al.* 2015

La qualité de la semence bovine, un enjeu économique...



- 7 millions d'inséminations animales réalisées en France en 2016 (ruminants), ~100 millions dans le monde
- Support du progrès génétique
- Impact sur les élevages et la durabilité des filières bovines

...Mais encore très peu de données sur le méthylome spermatique bovin !

- Variations du méthylome spermatique autour de la puberté (plateforme EDMA, Lambert *et al.*, 2018)
- Régions différenciellement méthylées en fonction de la fertilité (MBD-sequencing, Kropp *et al.*, 2017)
- Régions différenciellement méthylées en fonction de la fertilité chez le buffle (MeDIP-chip, Verma *et al.*, 2014)

Caractérisation du méthylome spermatique bovin et de ses variations à la base près

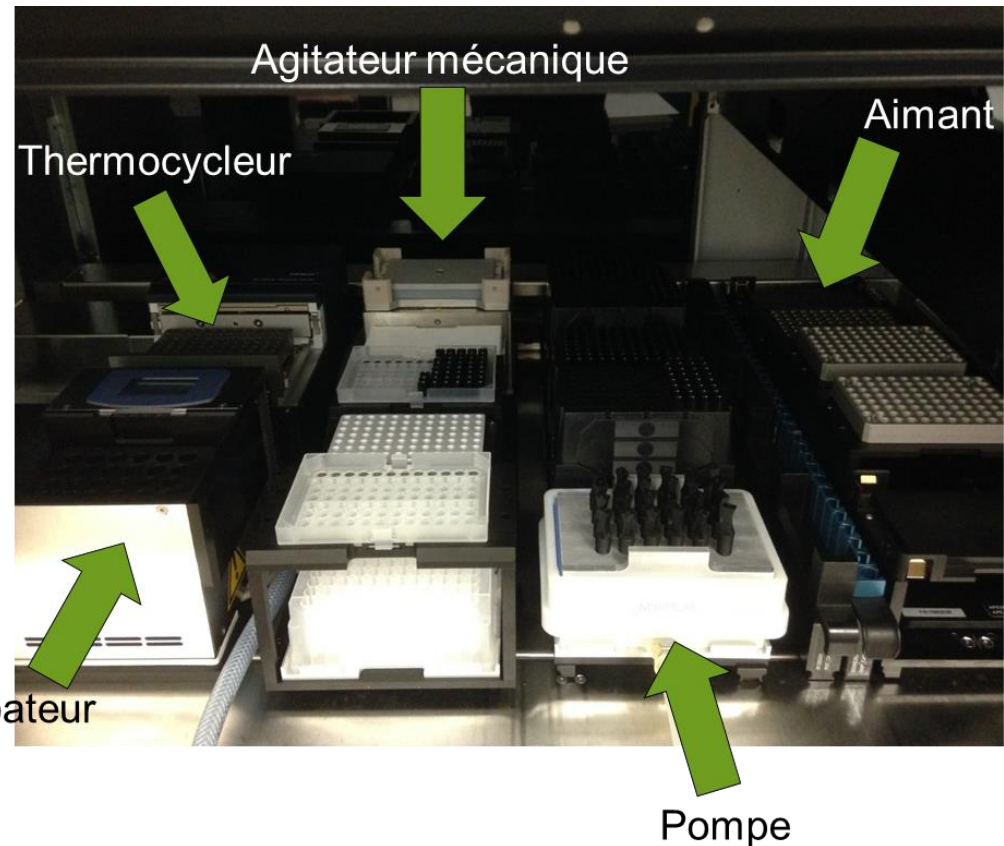


Reduced Representation Bisulfite Sequencing (RRBS)



From: <http://www.hamiltoncompany.com/>

- ❖ Ciblage du séquençage sur les régions denses en CpG :
- ❖ 12,5% des sites CpG analysés en séquençant uniquement 3% du génome bovin
- ❖ Automatisation du protocole pour une meilleure répétabilité (>3000 lignes de commandes)
- ❖ Développement d'un pipeline d'analyses bioinformatiques et biostatistiques



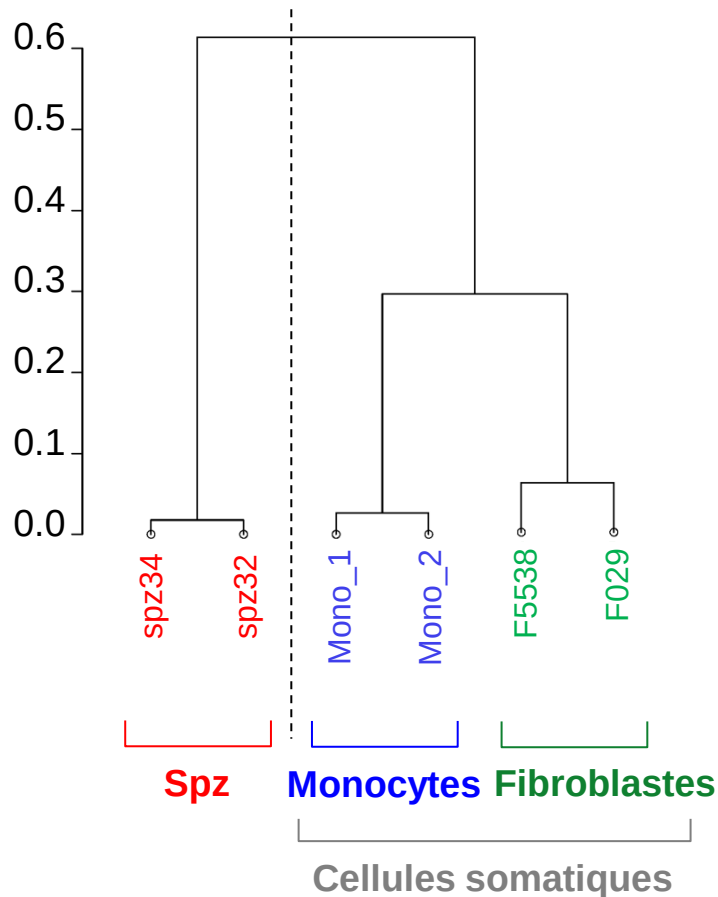
Gu et al., 2011

Perrier, Chaulot-Talmon et al., in prep. .06

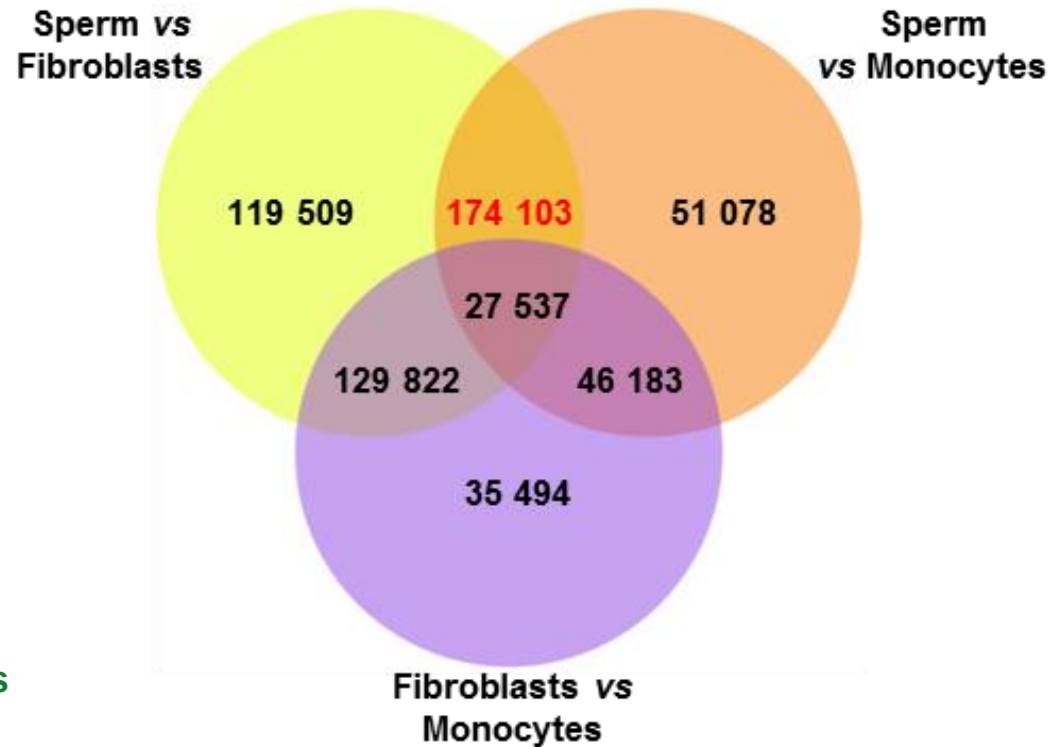
<https://github.com/FAANG/faang-methylation/tree/master/RRBS-toolkit>

Comparaison des méthylomes spermatique et somatiques

CpG différenciellement méthylés (DMC) :



Classification hiérarchique sur 1 580 644 CpG

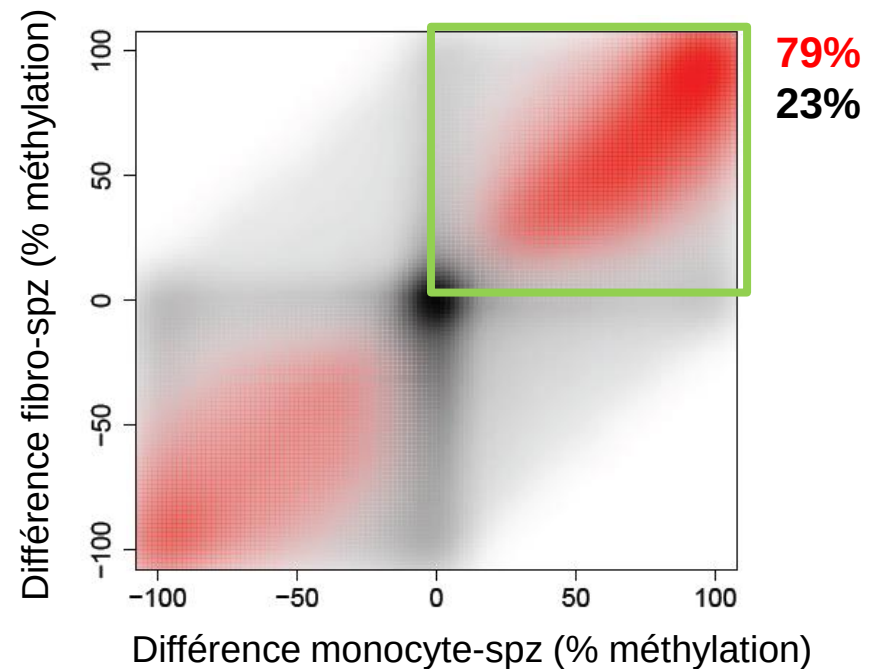
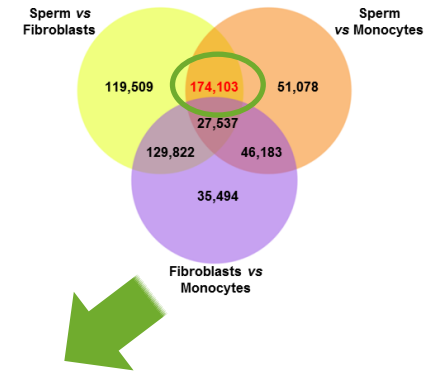


Les DMC spécifiques des spermatozoïdes sont hypométhylés

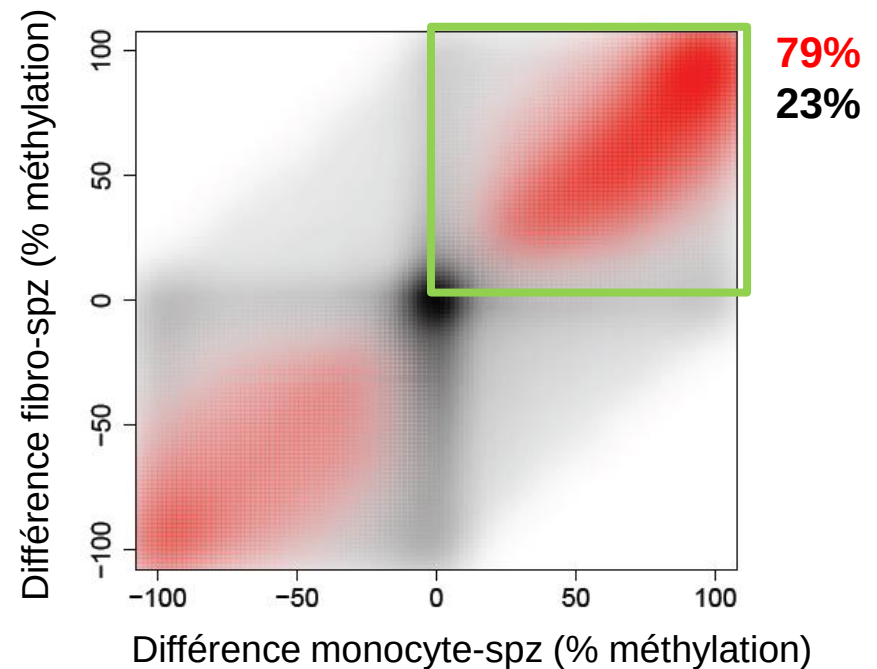
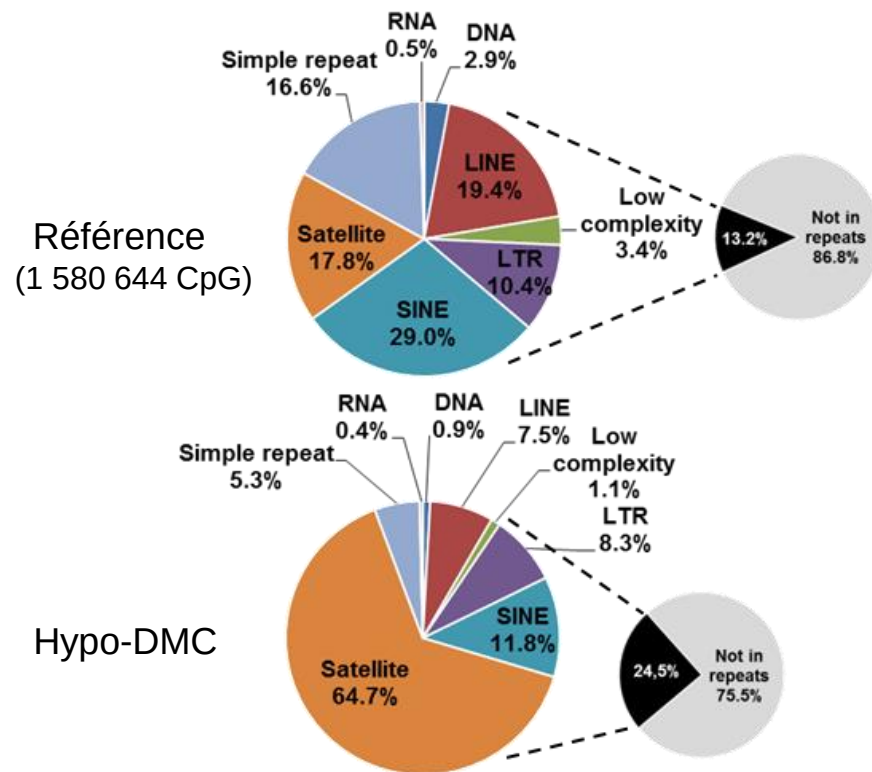
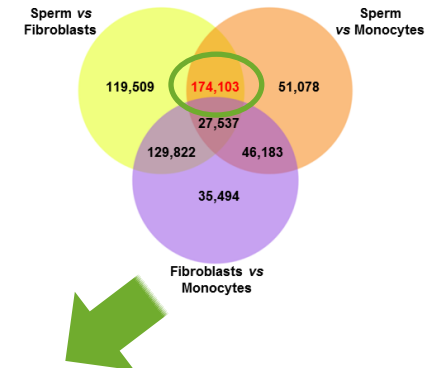
Fonctions biologiques enrichies pour les gènes contenant des hypo-DMC :

- ❖ Adhésion cellulaire
- ❖ Méiose et spermatogenèse
- ❖ Synthèse des piRNA

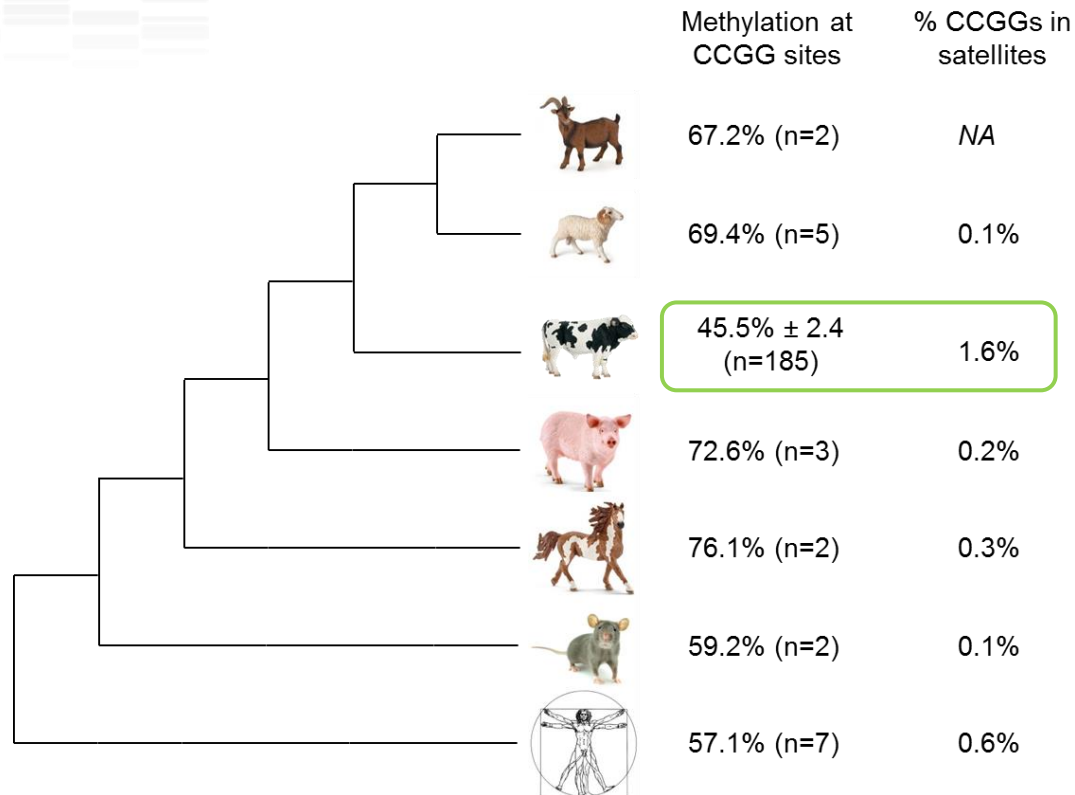
- Positions analysées (1 580 644 CpG)
- DMC spécifiques des spz



Les séquences satellites sont hypométhylées dans les spermatozoïdes de taureaux



Les spermatozoïdes bovins sont moins méthylés que ceux d'autres espèces (LUMA)

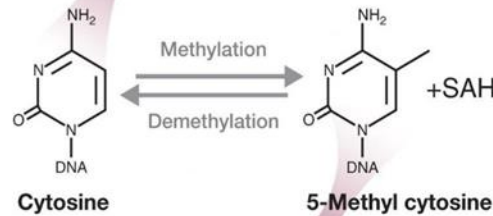
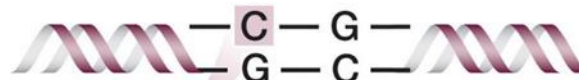


- ❖ La faible méthylation globale des spermatozoïdes bovins pourrait être due à l'**abondance des séquences satellites** dans le génome bovin et à leur **statut hypométhylé**

Variations inter-individuelles du méthylome spermatique

3

Race



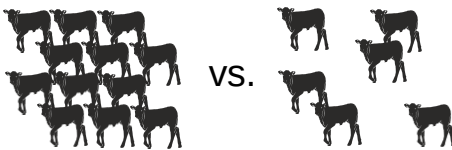
1

Age à la collecte



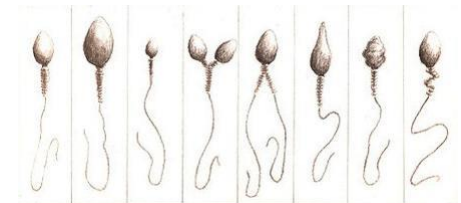
4

Fertilité



2

Anomalies morphologiques

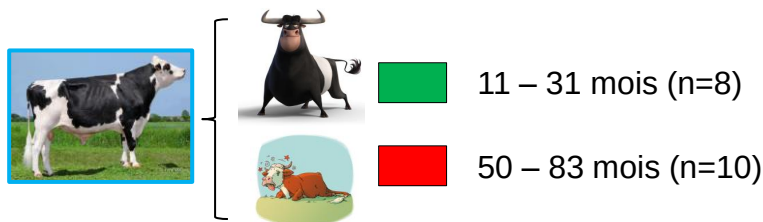


n=94

Pourquoi s'intéresser à l'âge du taureau ?



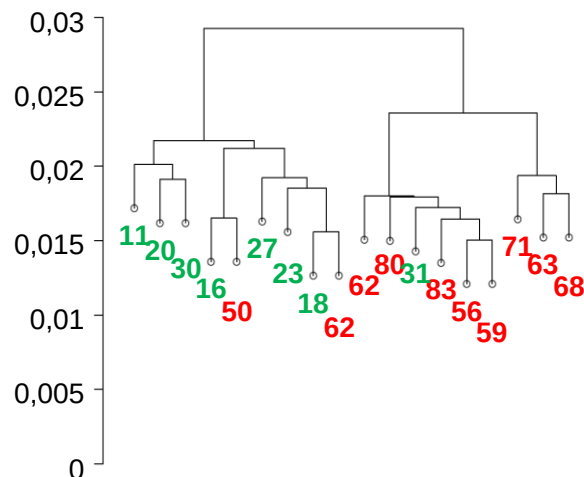
- ❖ **Avant 2009**, sélection des taureaux sur les performances de leur descendance → mise sur le marché après 3 ans
- ❖ Sélection génomique **depuis 2009** → commercialisation de semence dès la puberté atteinte et la production stabilisée
- ❖ L'âge a un effet sur le méthylome spermatique :
 - Homme : modifications associées au vieillissement (Jenkins et al., 2018)
 - Taureaux : modifications associées à la puberté (Lambert et al., 2018)



L'âge à la collecte de l'éjaculat a un effet majeur sur le méthylome spermatique



Classification hiérarchique
(1 603 235 CpG)

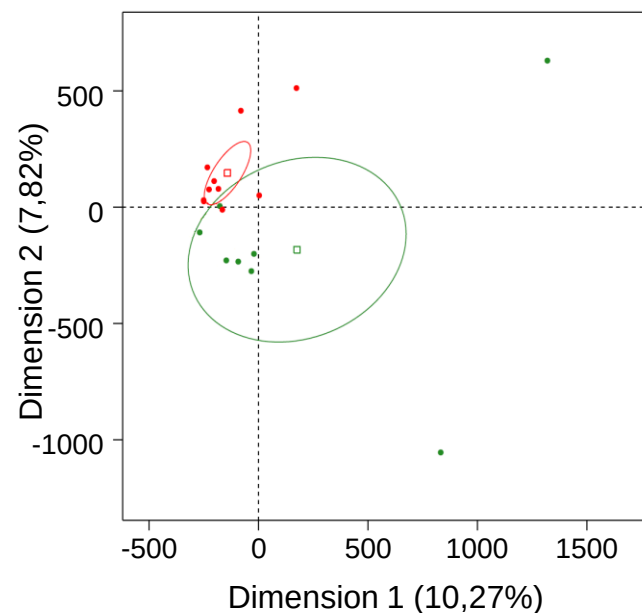


11 – 31 mois (n=8)



50 – 83 mois (n=10)

ACP
(1 603 235 CpG)



Variations inter-individuelles du méthylome spermatique

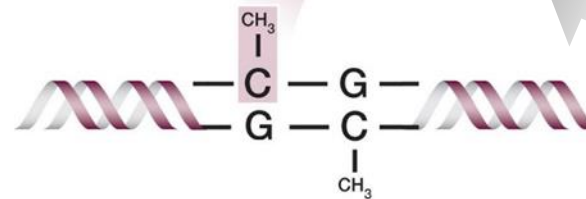
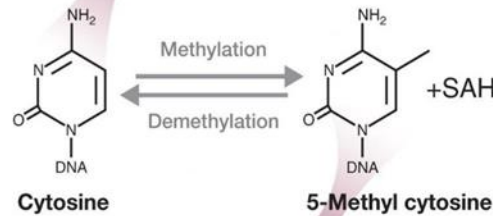
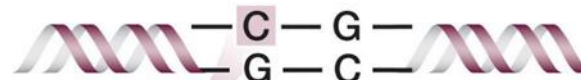
3

Race



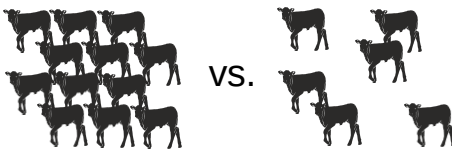
1

Age à la collecte



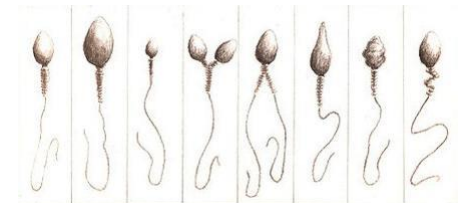
4

Fertilité



2

Anomalies morphologiques

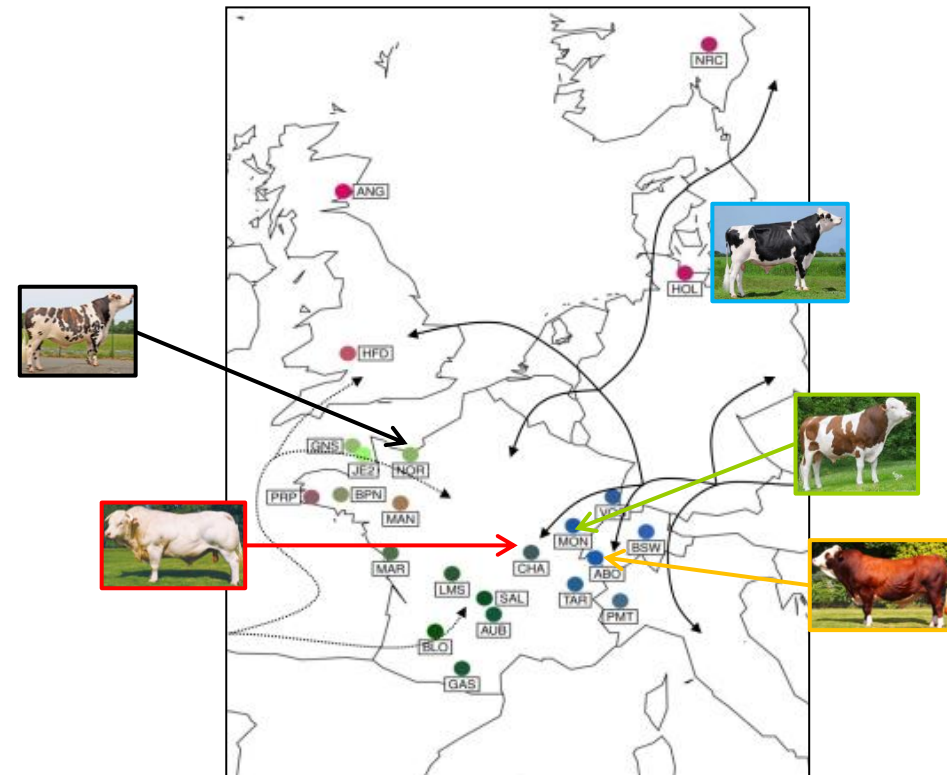
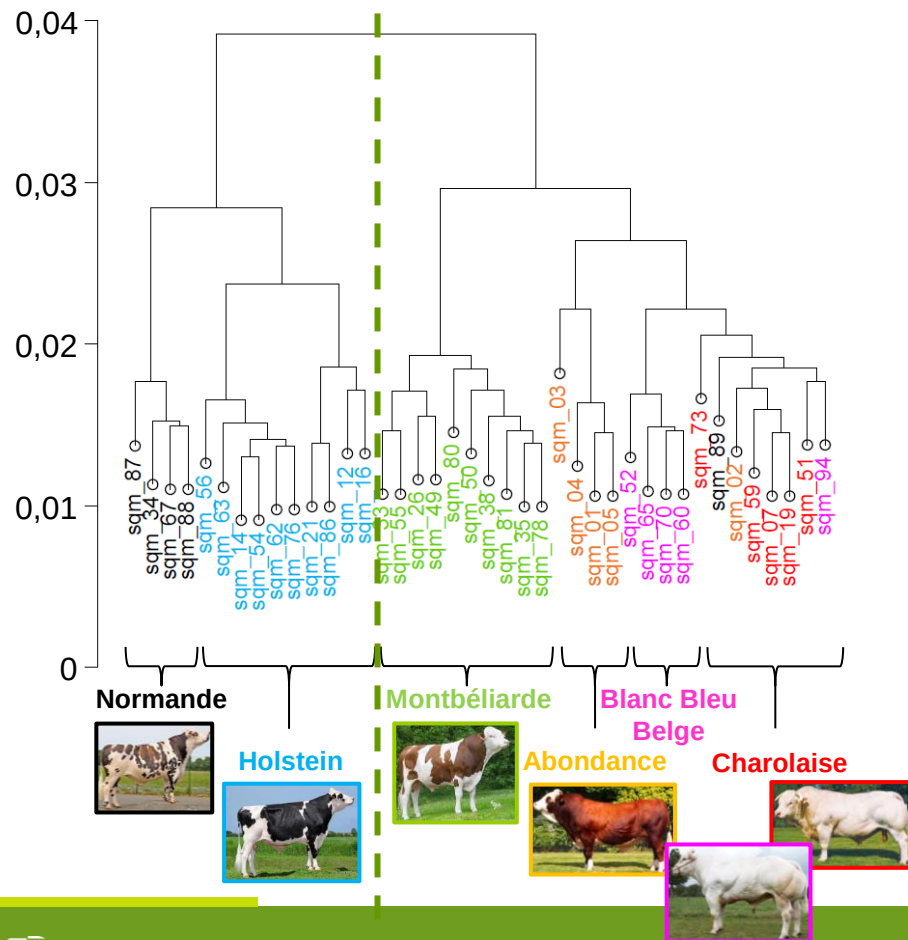


n=94

La race forge le méthylome spermatique bovin



Classification hiérarchique (1 310 963 CpGs)

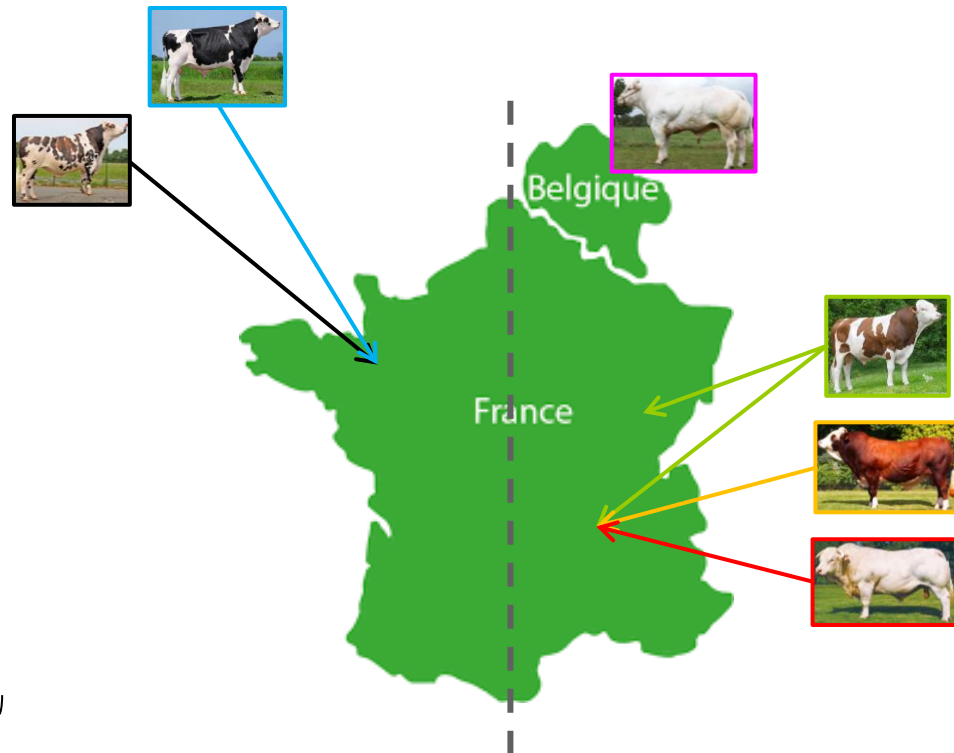
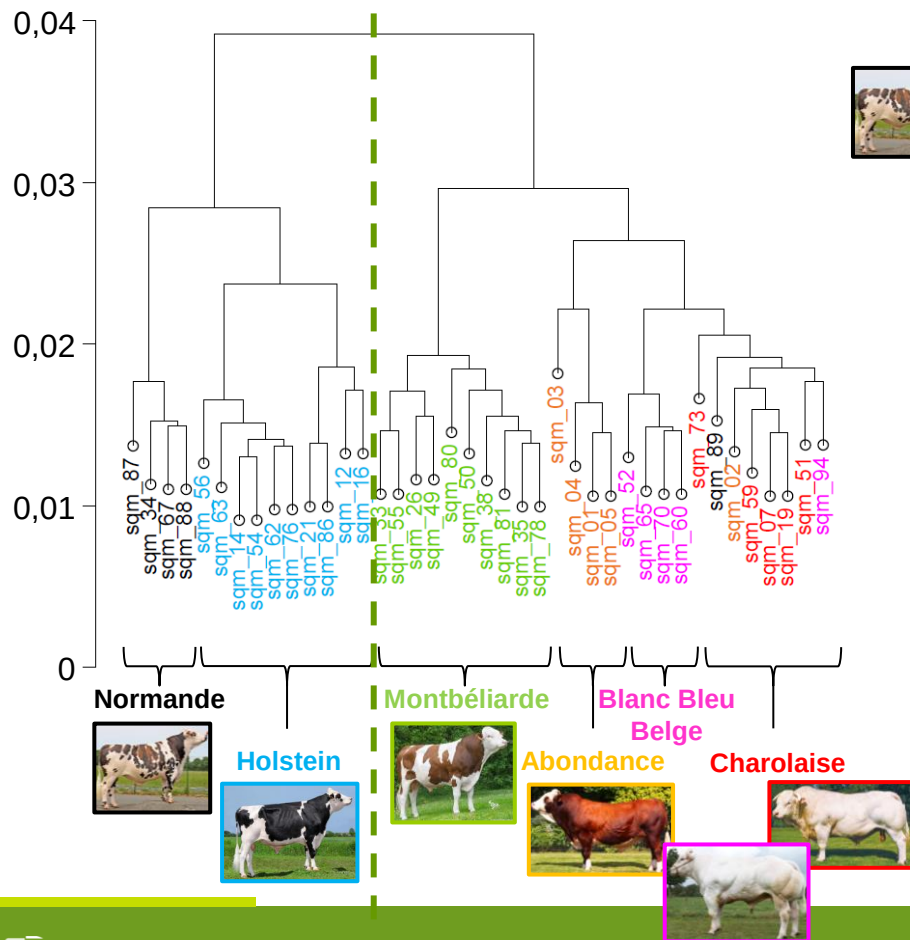


Genetic history of french cattle from dense SNP data
(Gautier *et al.*, 2010)

La race forge le méthylome spermatique bovin



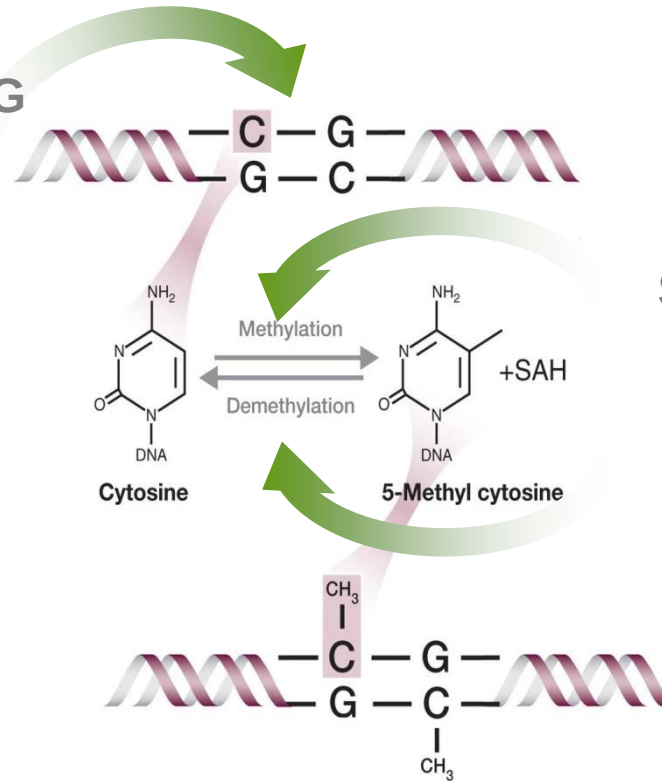
Classification hiérarchique (1 310 963 CpGs)



Partition Est-Ouest → origines génétique des taureaux et géographique des centres de production de semence sont confondues

Sources génétiques de variations inter-individuelles de méthylation

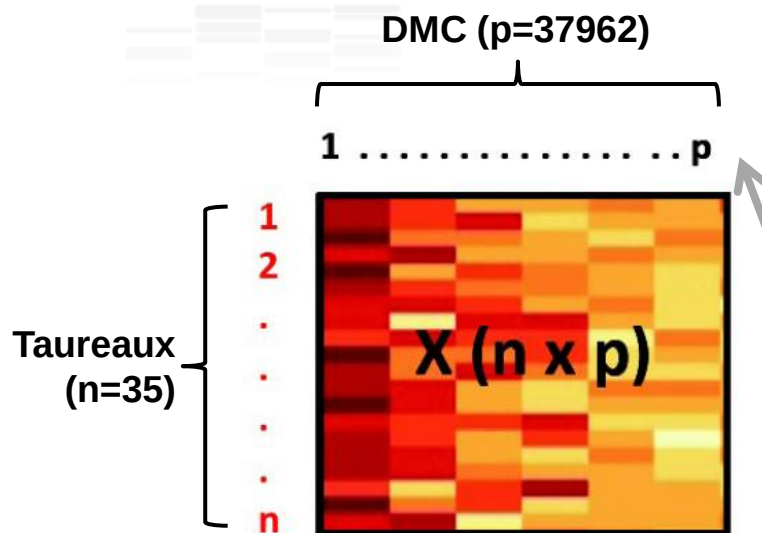
SNP ciblant des CpG
=
Effet direct



SNP ciblant la machinerie
épigénétique
=
Effet indirect

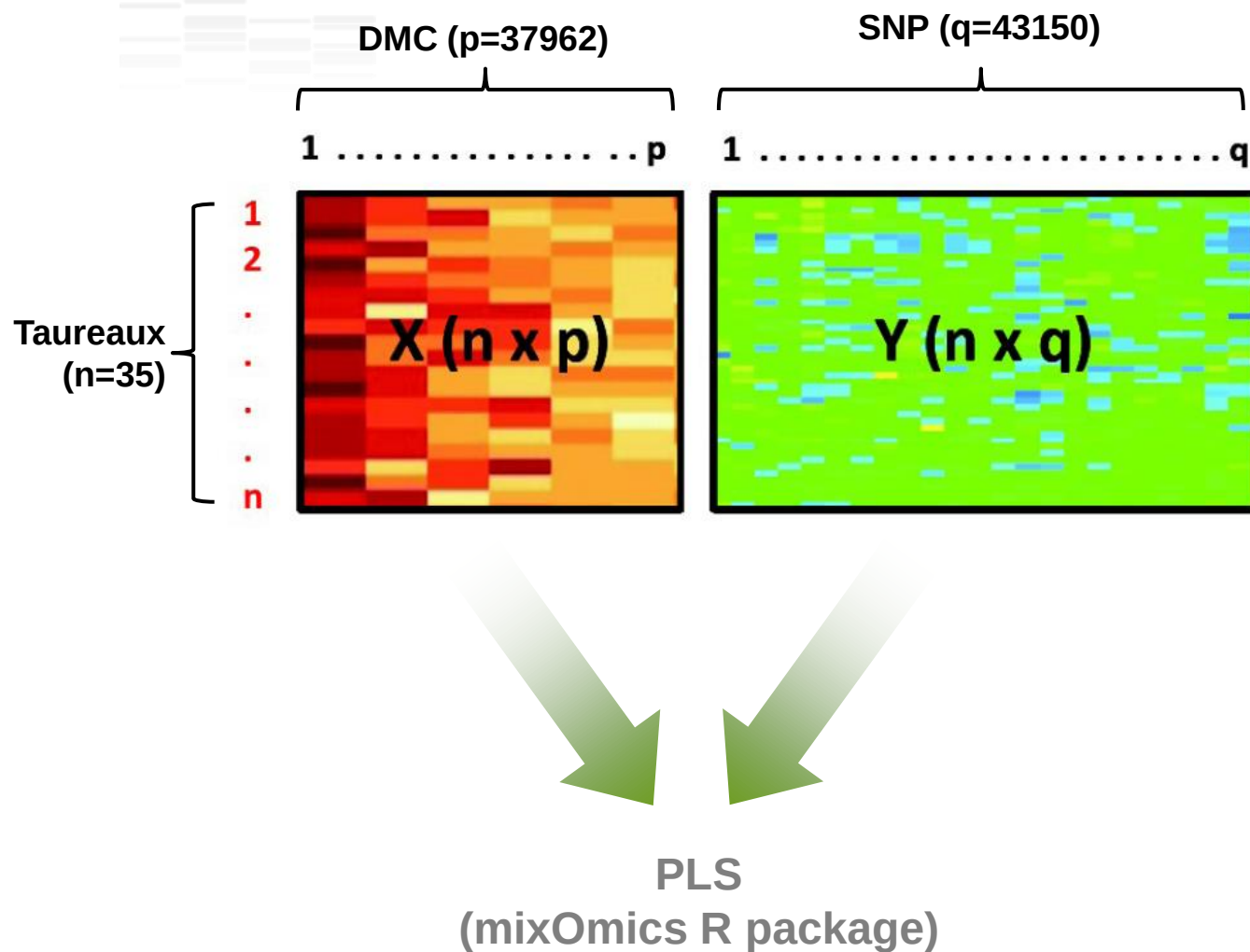
Stratégie : prendre en compte l'information génétique dans les analyses de méthylation pour estimer indirectement l'effet de l'origine géographique des centres

Intégration de données

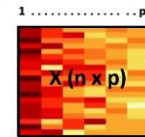
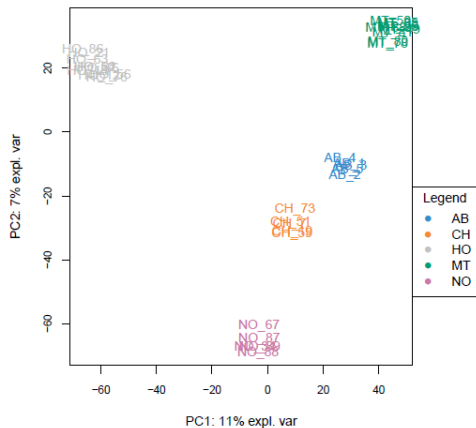
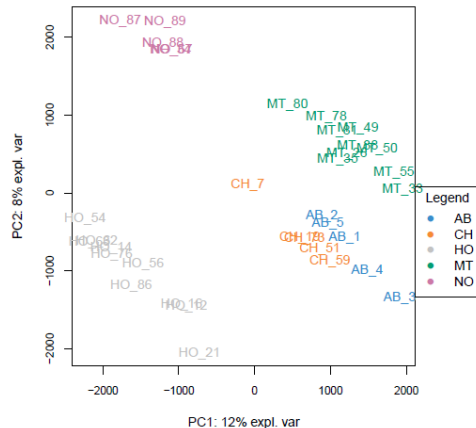


Comparaison	DMC
NO vs. CH	10 656
NO vs. AB	13 959
NO vs. MT	11 029
HO vs. MT	10 898
HO vs. CH	8 969
HO vs. AB	11 298
HO vs. NO	9 386
MT vs. CH	7 606
MT vs. AB	7 352
CH vs. AB	7 628
Total DMC	98 581
DMC uniques	37 962

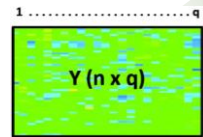
Intégration de données



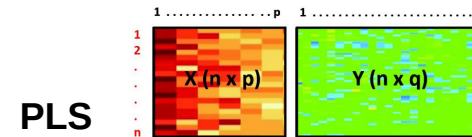
L'intégration des informations génétique et épigénétique préserve la partition Est-Ouest



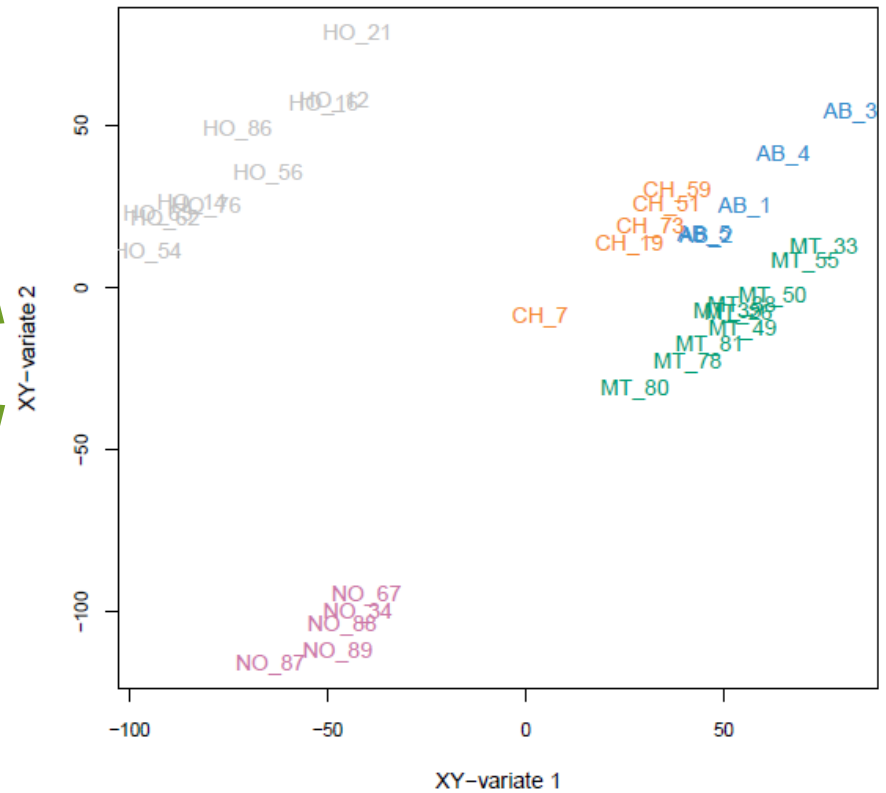
ACP sur DMC entre races



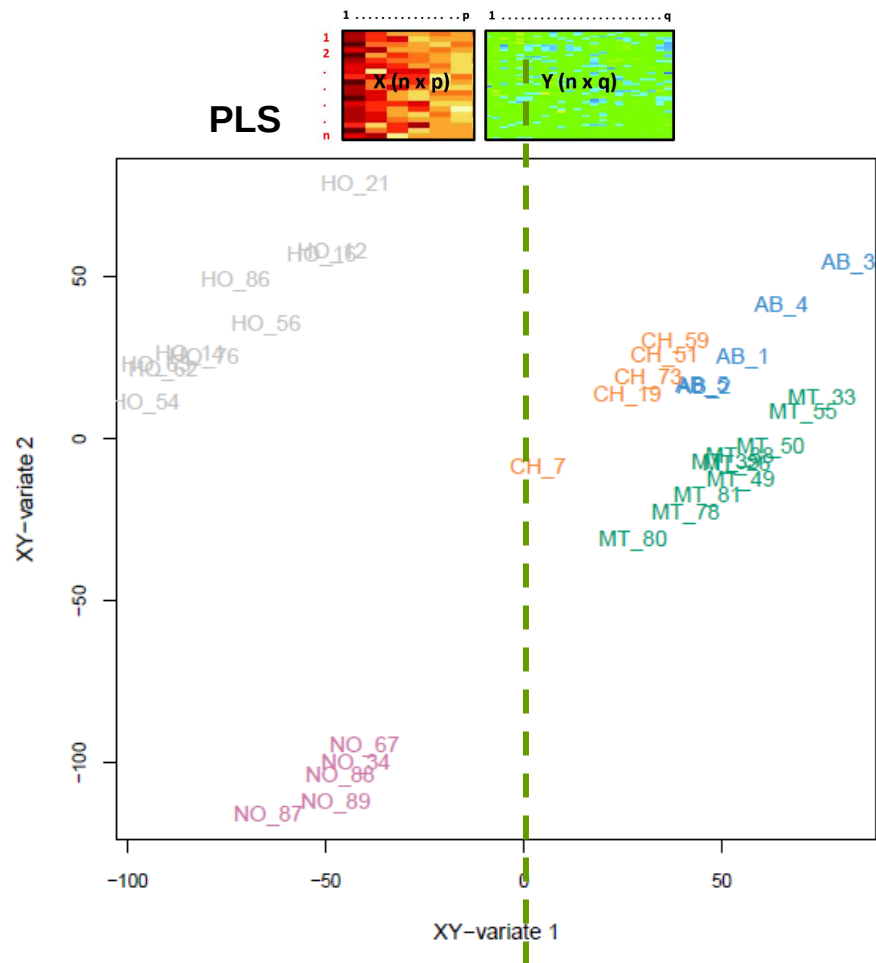
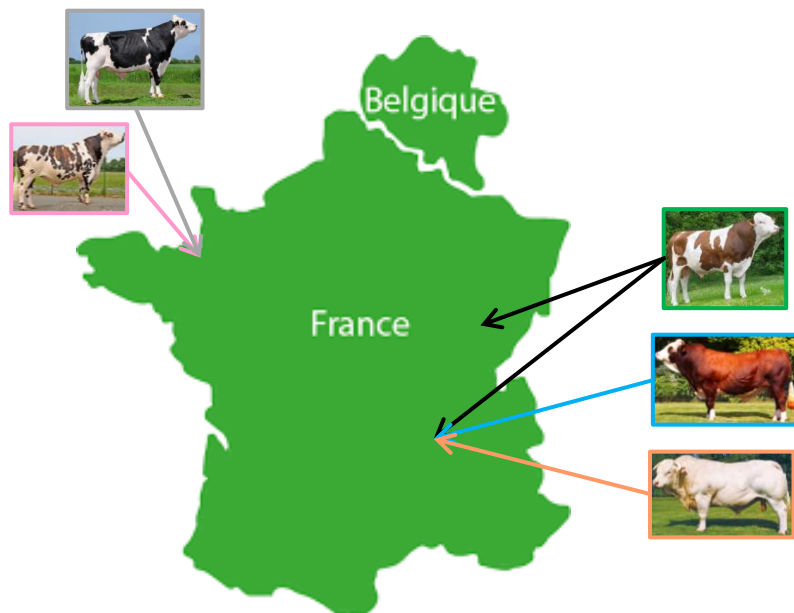
ACP sur SNP



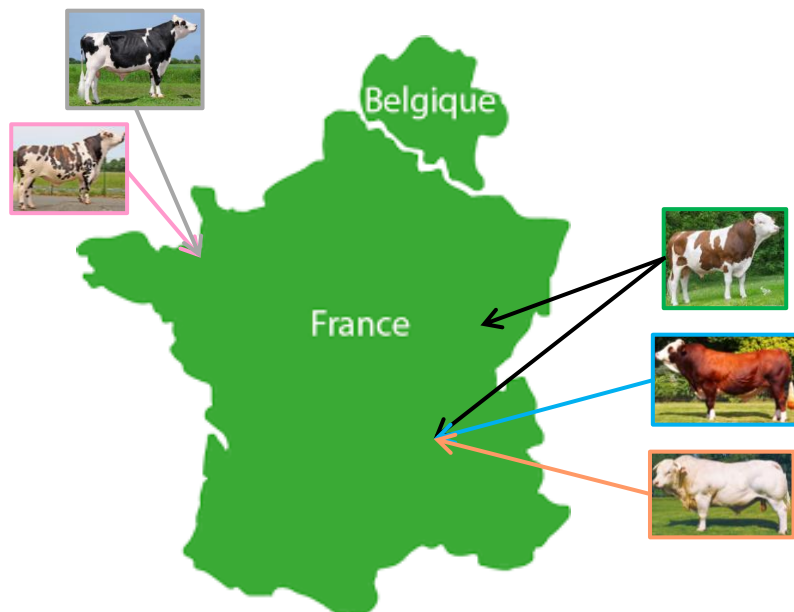
PLS



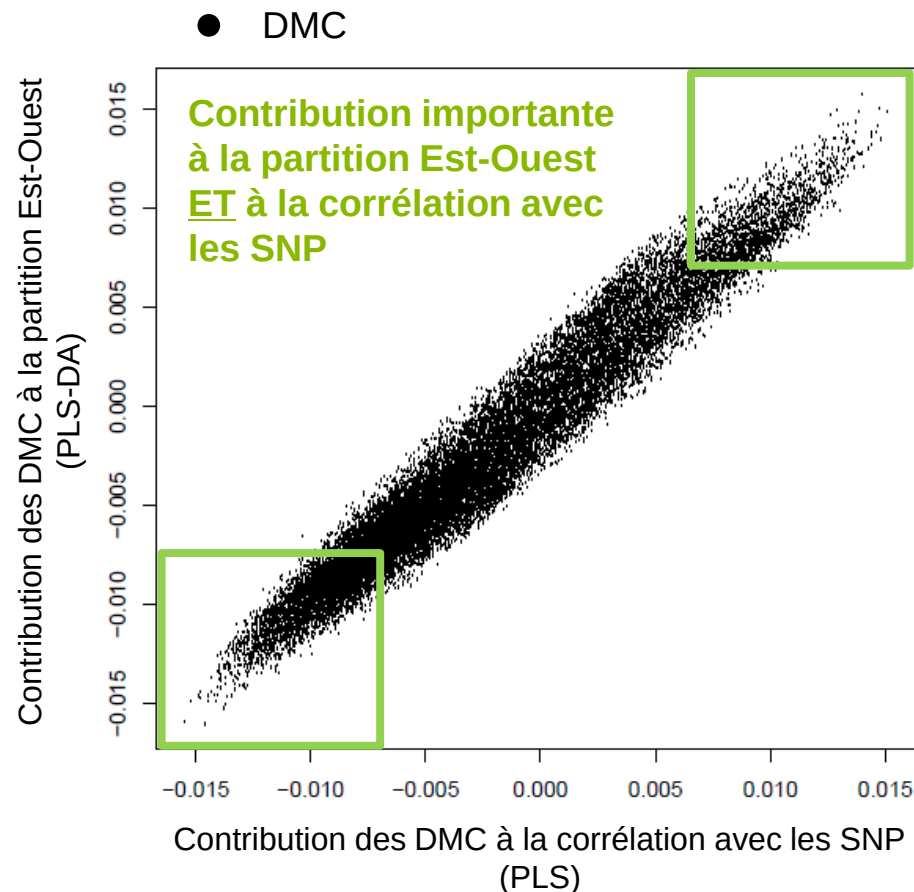
L'intégration des informations génétique et épigénétique préserve la partition Est-Ouest



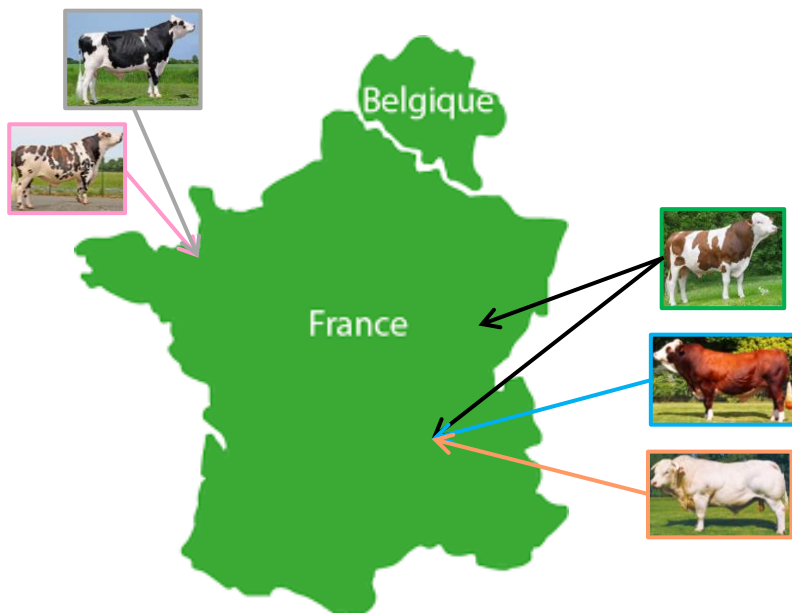
Le rôle de l'environnement est marginal dans la partition Est-Ouest



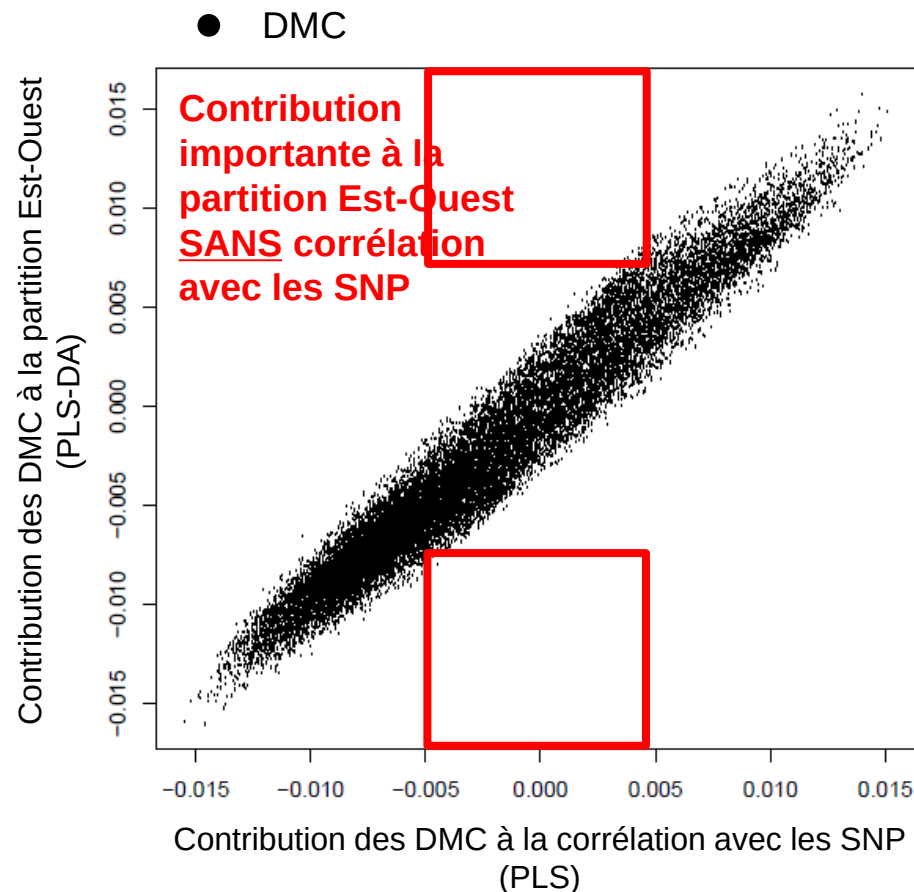
- ❖ Les DMC qui contribuent le plus à la partition Est-Ouest sont ceux qui sont corrélés à des polymorphismes génétiques



Le rôle de l'environnement est marginal dans la partition Est-Ouest



- ❖ Les DMC qui contribuent le plus à la partition Est-Ouest sont ceux qui sont corrélés à des polymorphismes génétiques



Variations inter-individuelles du méthylome spermatique

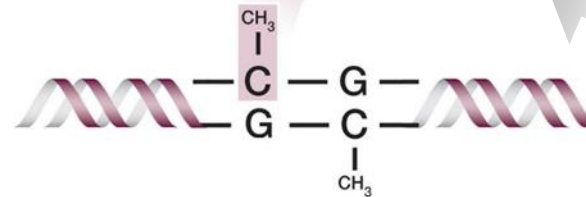
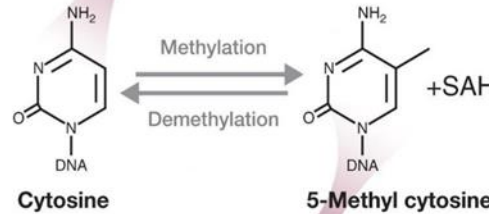
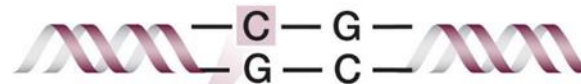
3

Race



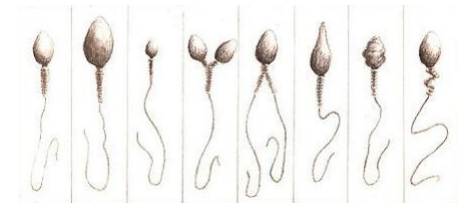
1

Age à la collecte



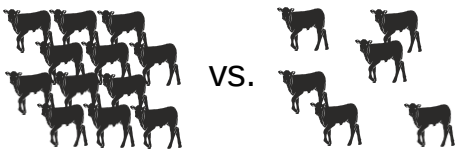
2

Anomalies morphologiques



4

Fertilité



n=94



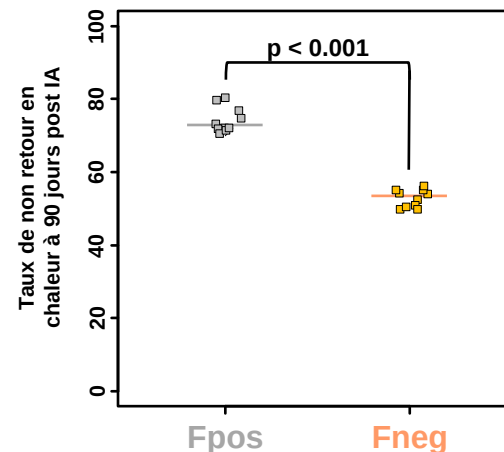
Dispositif expérimental



- ❖ n=10 éjaculats fertiles (**Fpos**) et n=10 éjaculats subfertiles (**Fneg**), à partir des résultats obtenus sur le terrain



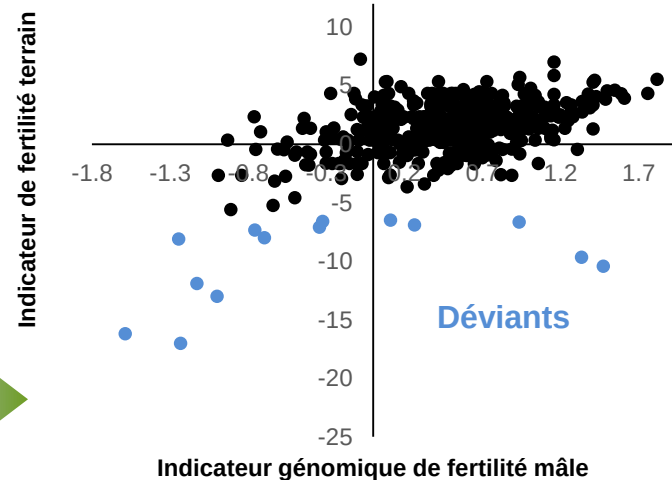
Niveau éjaculat



- ❖ n=10 taureaux déviants (**De**), avec indicateur de fertilité terrain en désaccord avec les prédictions génétiques



Niveau taureau



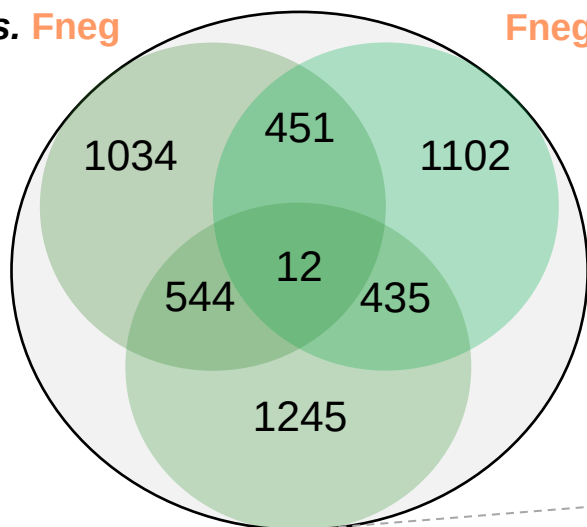
Identification de DMC liés à la fertilité



Total: 4823 DMC

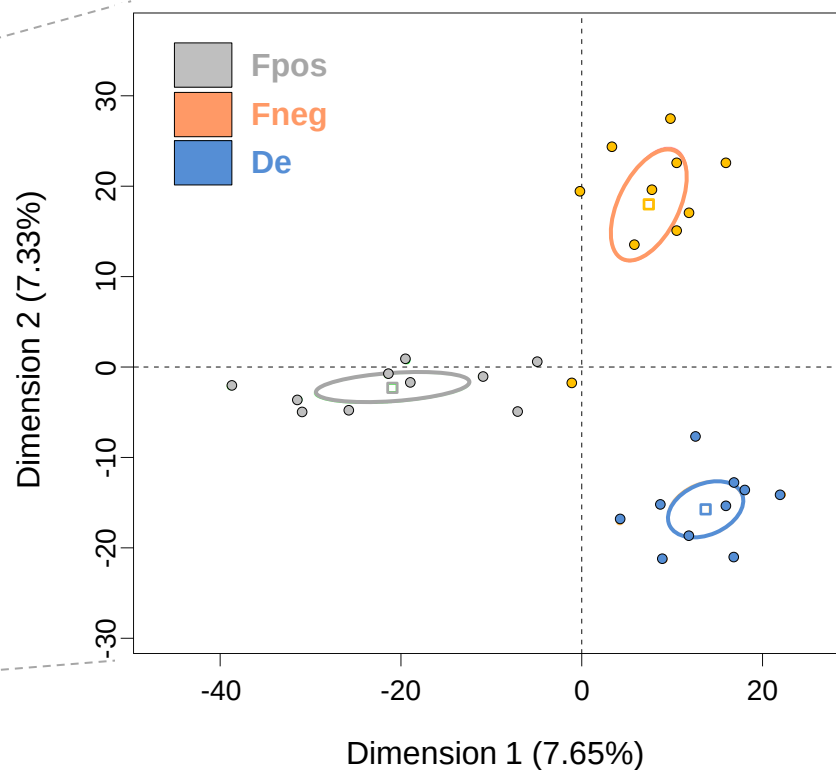
Fpos vs. Fneg

Fneg vs. De



Fpos vs. De

ACP



methylKit, q-value<0.01, meth. diff $\geq$ 25%

Séparation entre groupes de fertilité

Conclusion

- ❖ Variabilité inter-individuelle de l'épigénome spermatique en fonction de l'âge, de la race et de la fertilité du taureau
- ❖ Co-évolution du génome et du méthylome qui pourrait représenter de nouvelles opportunités pour la sélection génomique :
 - Liée à l'histoire de la domestication (faible méthylation et séquences satellites) ?
 - A l'histoire génétique des races ?
 - A l'histoire généalogique des individus ?
- ❖ De nombreux facteurs environnementaux potentiellement sources de variabilité épigénétique restent encore à explorer
- ❖ Impact des pratiques de sélection et d'élevage des reproducteurs, mais aussi de collecte de semence, sur l'épigénome et le phénotype de la descendance ?
- ❖ Nécessité de la mise en place d'un « contrôle qualité épigénétique » systématique de la semence bovine



- **Jean-Philippe Perrier**
- **Luc Jouneau**
- Aurélie Chaulot-Talmon
- François Piumi
- Audrey Prézelin
- Maxime Gasselin
- Hélène Jammes

- Eli Sellem
- Chrystelle Le Danvic
- Sébastien Fritz
- Laurent Schibler

- Maëlle Pannetier
- Hala Al Hadami
- Didier Boichard
- Michaël Weber

