

« INNOVATIONS TECHNOLOGIQUES ET MALADIES RARES ENDOCRINIENNES, DU SOIN À LA RECHERCHE »

MARDI
10 DÉCEMBRE
2019



Apport des approches sur "cellules uniques" dans la compréhension des maladies du développement gonadique

Antoine ROLLAND - 10 Décembre 2019

Inserm U1085, Rennes



« INNOVATIONS TECHNOLOGIQUES
ET MALADIES RARES ENDOCRINIENNES,
DU SOIN À LA RECHERCHE »

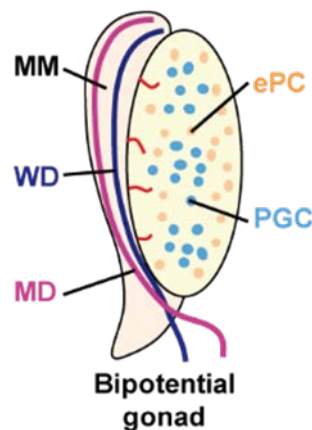
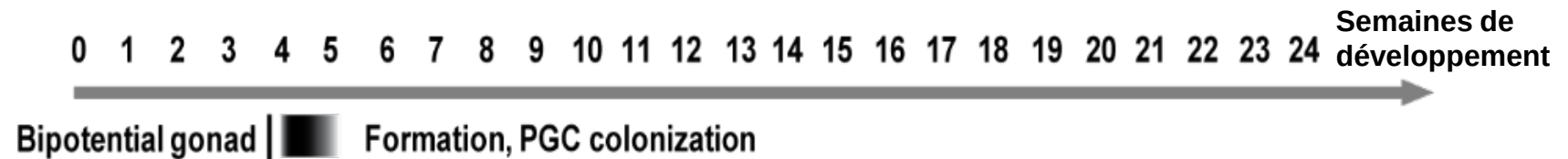
MARDI
10 DÉCEMBRE
2019



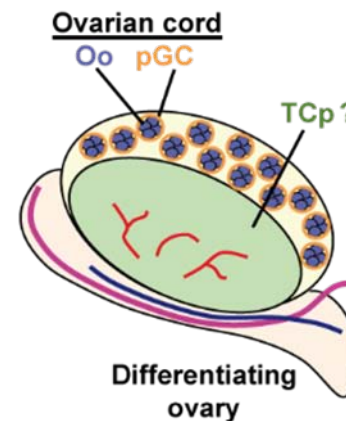
COLLOQUE RECHERCHE
FIRENDO - 3^{ème} ÉDITION -



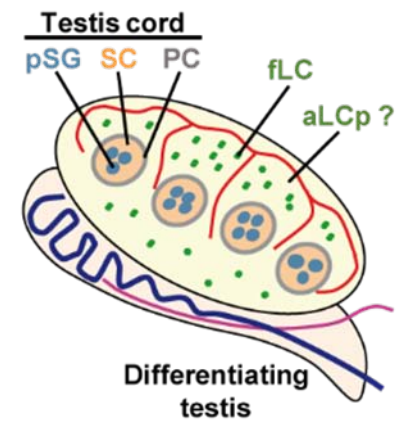
Formation et développement de la gonade humaine



WT1 GATA4
LHX9 NR5A1



WNT4 FOXL2
RSPO1



SRY FGF9
SOX9 DHH

Projet Sinergia (Fonds National Suisse)

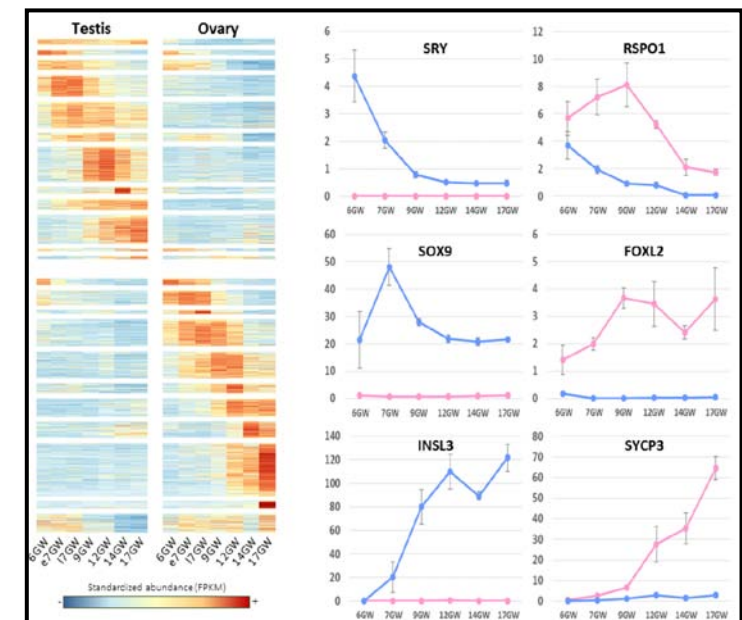
- ➔ Du séquençage de patients à la génomique fonctionnelle chez la souris
- ➔ Nouveaux facteurs impliqués dans le development gonadique

Tâche #1: Single cell RNA-seq sur gonades foetales humaines (Irset, Rennes)

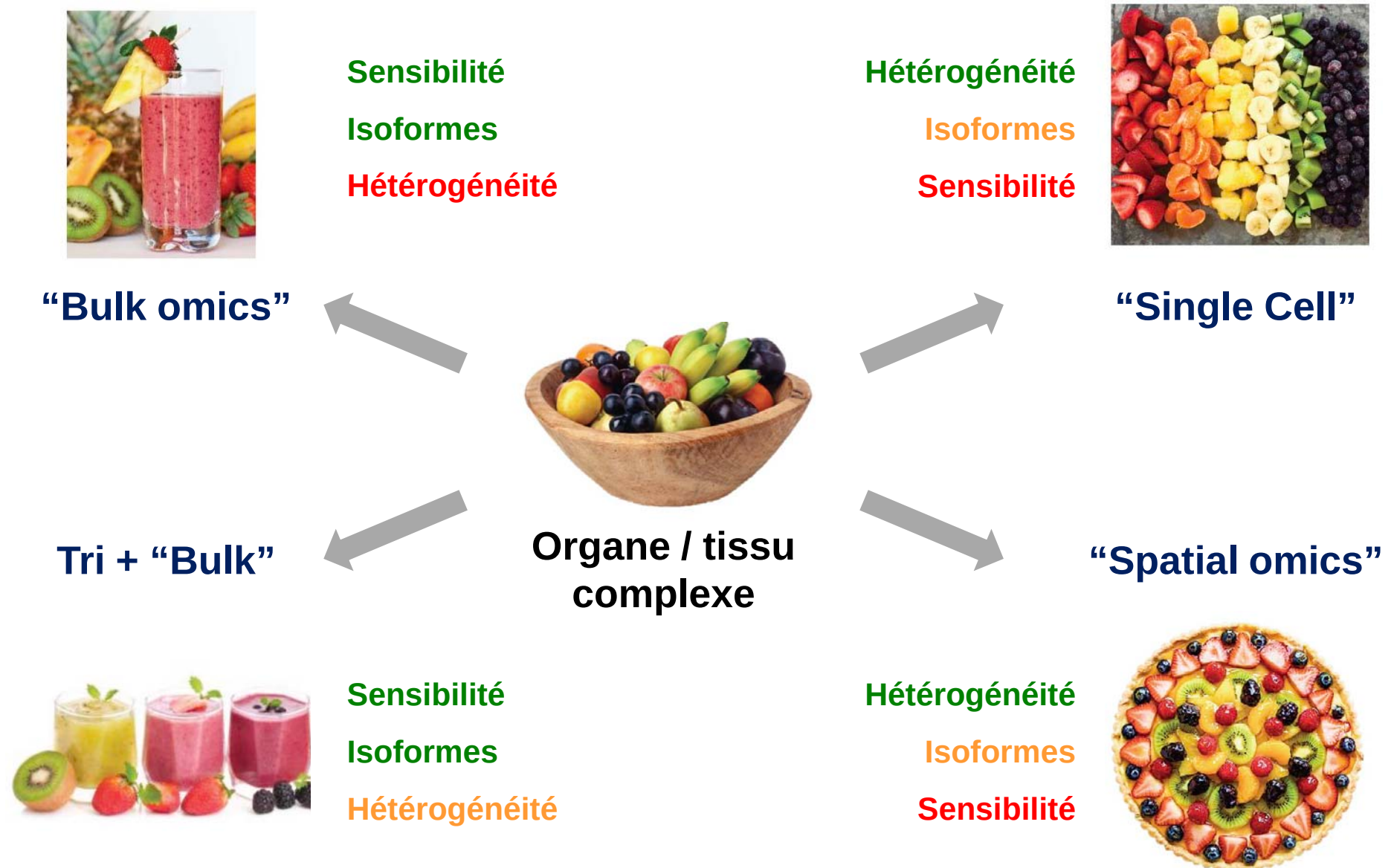
Tâche #2: WES sur patients atteints de DSD (Anna Lauber-Biason & Brian Stevenson, Fribourg et Lausanne)

Tâche #3: Modèles murins de DSD par CRISPR/Cas9 (Serge Nef, Genève)

Bulk RNA-seq
(Lecluze et al., revision)



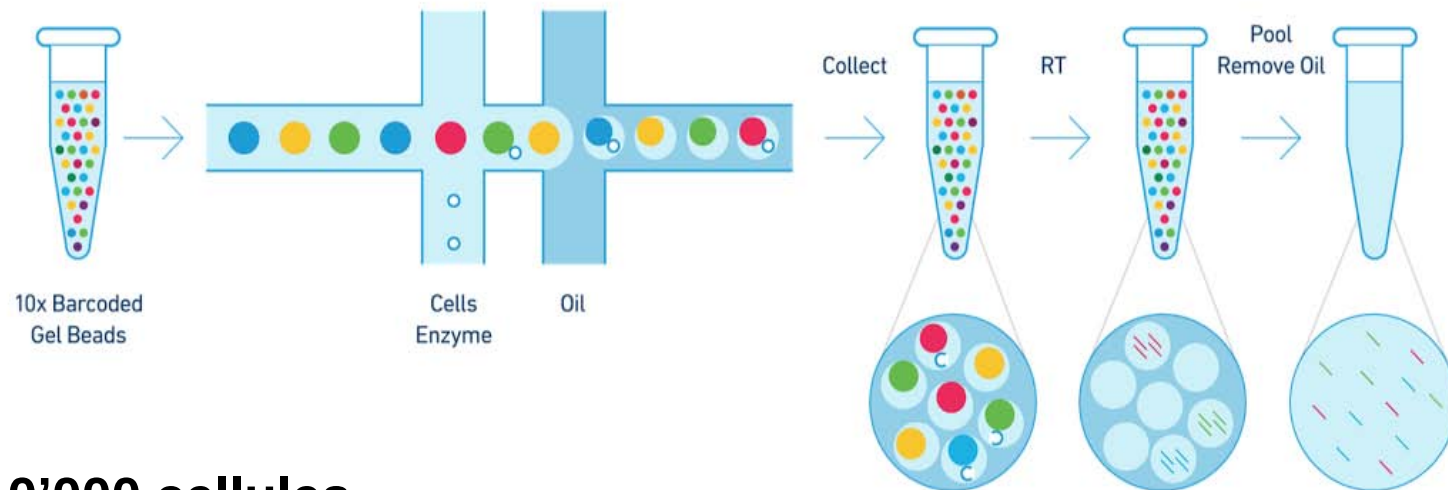
Intérêt des approches à l'échelle de la "cellule unique"?



Approche sur “cellule unique” de la différenciation gonadique

- ➔ Progression des lineages cellulaires dans la gonade foetale humaine
- ➔ Programmes génétiques contrôlant la différenciation des gonades

Technologie de single-cell RNA-seq de 10X Genomics



- ➔ Jusqu'à 10'000 cellules
- ➔ Jusqu'à 8 échantillons par run
- ➔ ~ 7 min par run
- ➔ Cellules de 0 à 50 μm
- ➔ 0,4 % à 7,6% de doublets

Caractérisation de la différenciation gonadique à l'échelle de la cellule unique



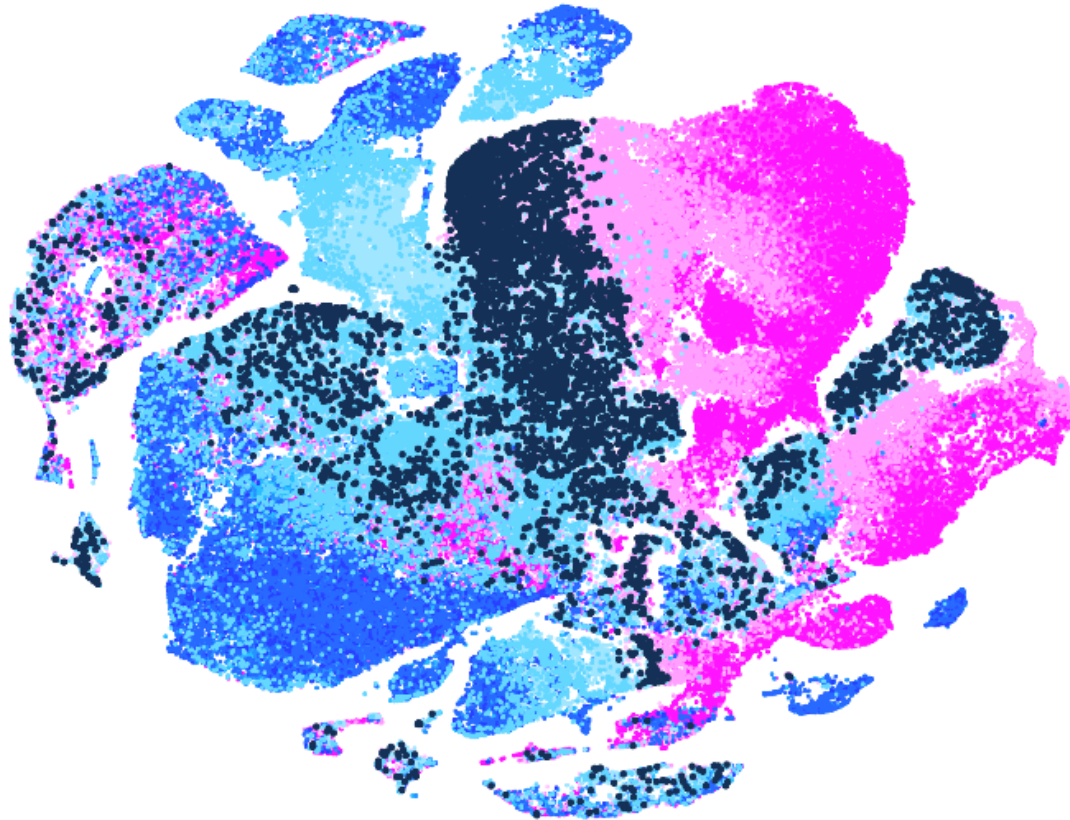
~ 150'000 cellules

→ Gonades XX (N=15)

→ Gonades XY (N=15)

→ De 6 à 12 semaines de dvpt

Caractérisation de la différenciation gonadique à l'échelle de la cellule unique



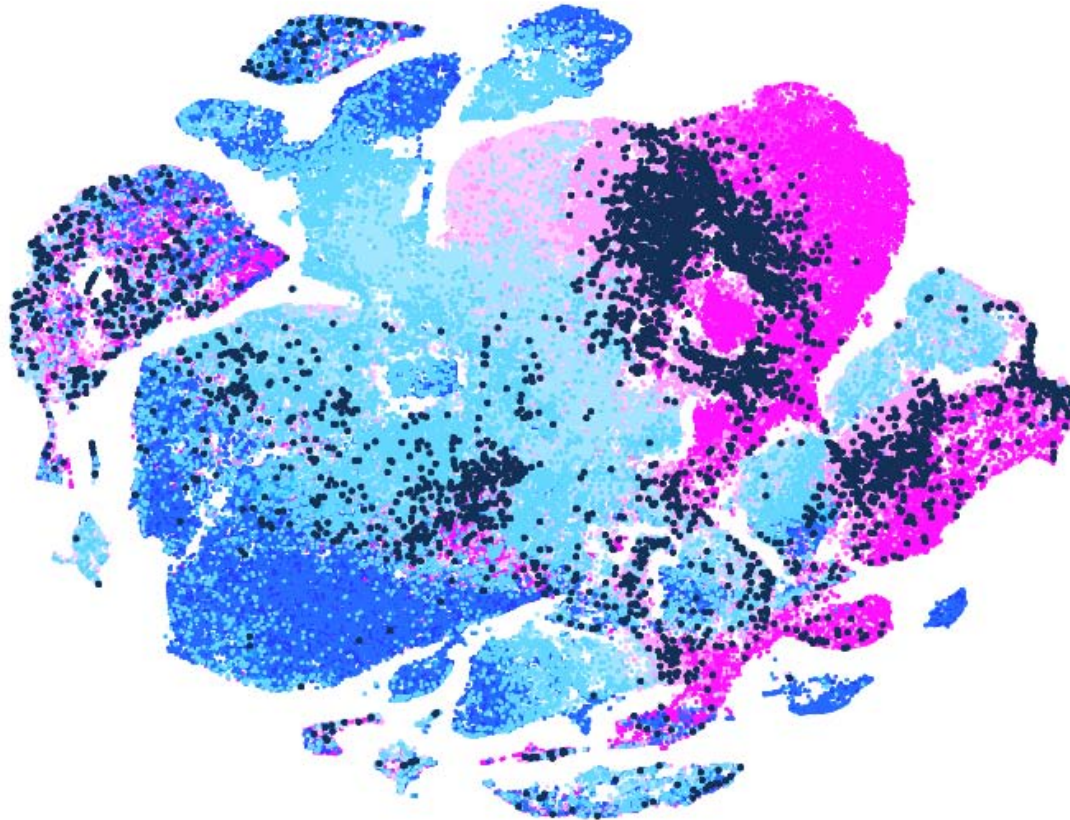
~ 150'000 cellules

→ Gonades XX (N=15)

→ Gonades XY (N=15)

→ De 6 à 12 semaines de dvpt

Caractérisation de la différenciation gonadique à l'échelle de la cellule unique



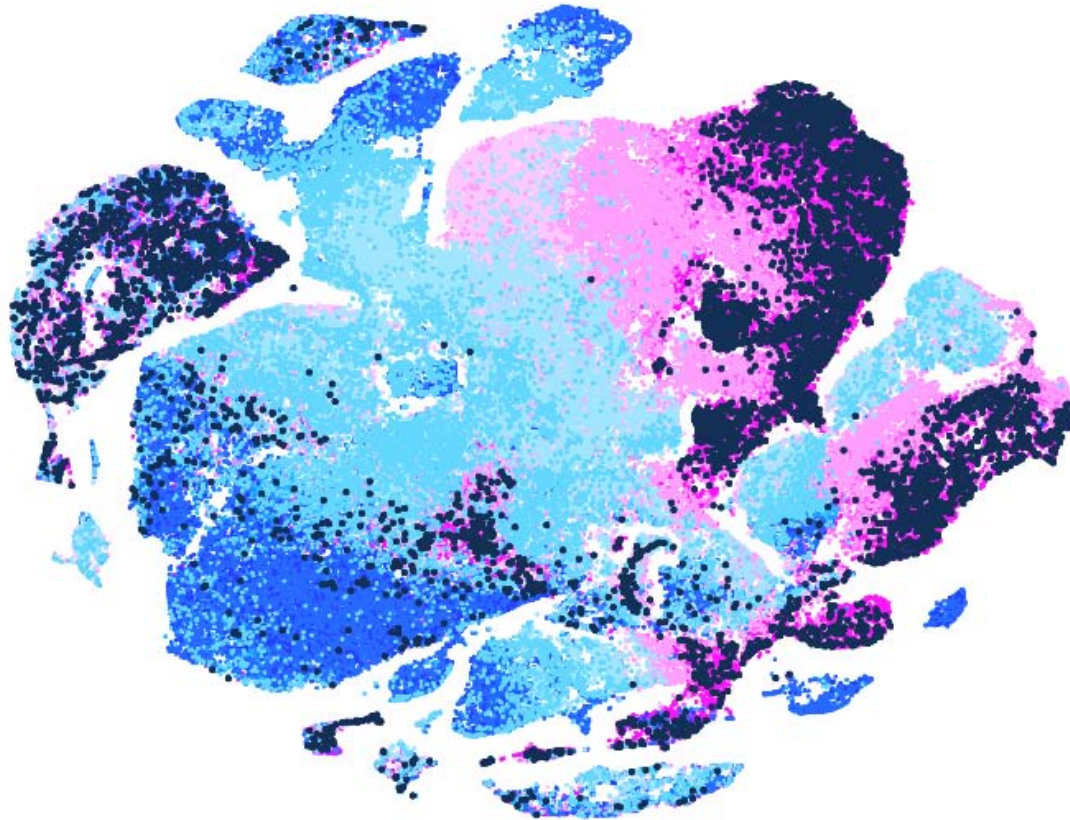
~ 150'000 cellules

➔ Gonades XX (N=15)

➔ Gonades XY (N=15)

➔ De 6 à 12 semaines de dvpt

Caractérisation de la différenciation gonadique à l'échelle de la cellule unique



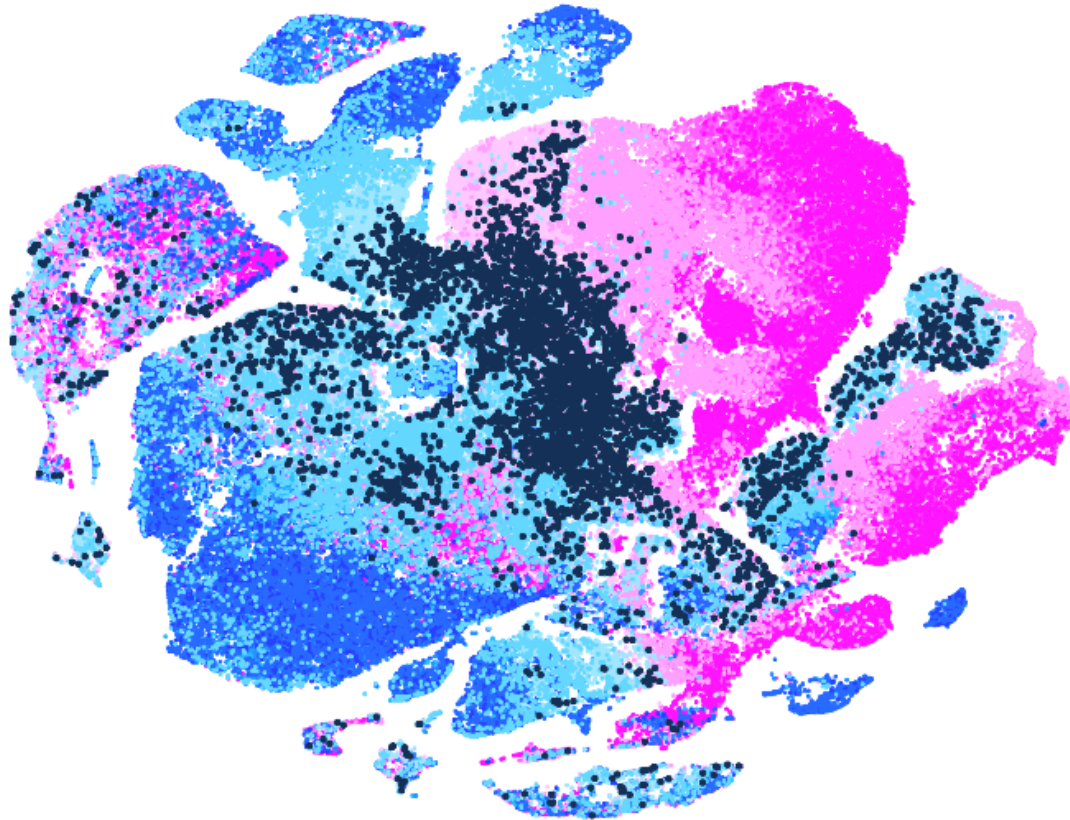
~ 150'000 cellules

→ Gonades XX (N=15)

→ Gonades XY (N=15)

→ De 6 à 12 semaines de dvpt

Caractérisation de la différenciation gonadique à l'échelle de la cellule unique



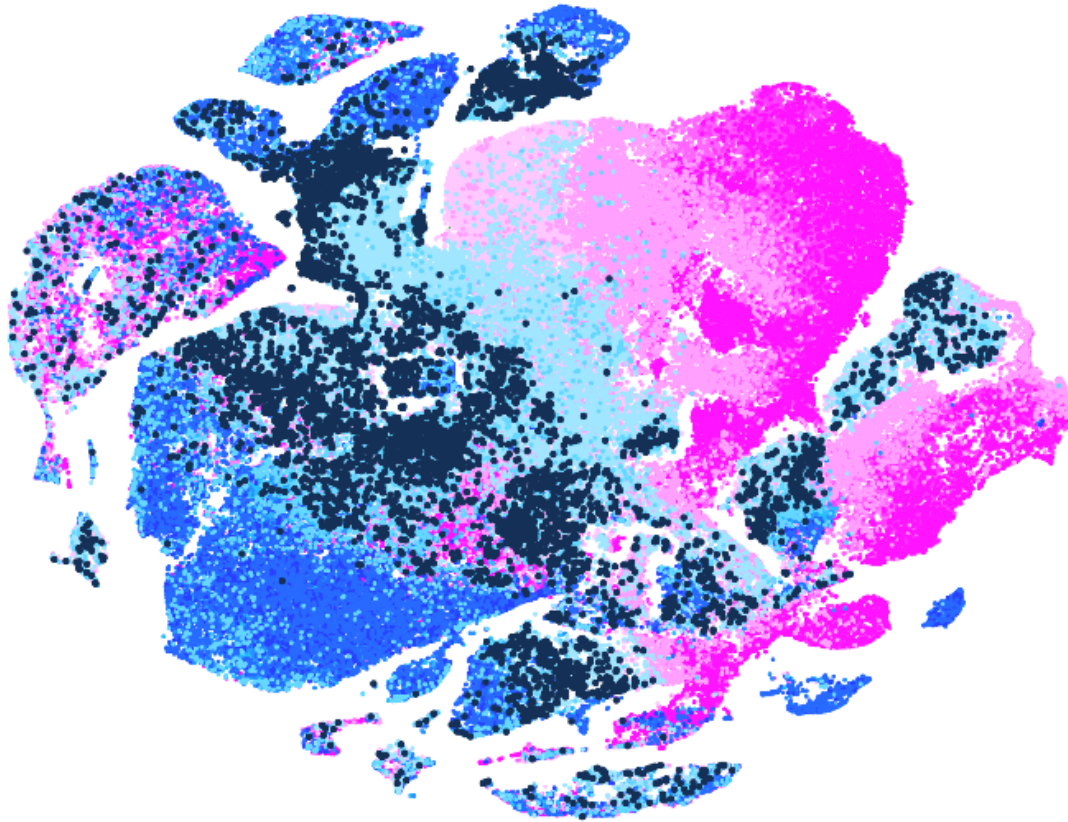
~ 150'000 cellules

→ Gonades XX (N=15)

→ Gonades XY (N=15)

→ De 6 à 12 semaines de dvpt

Caractérisation de la différenciation gonadique à l'échelle de la cellule unique



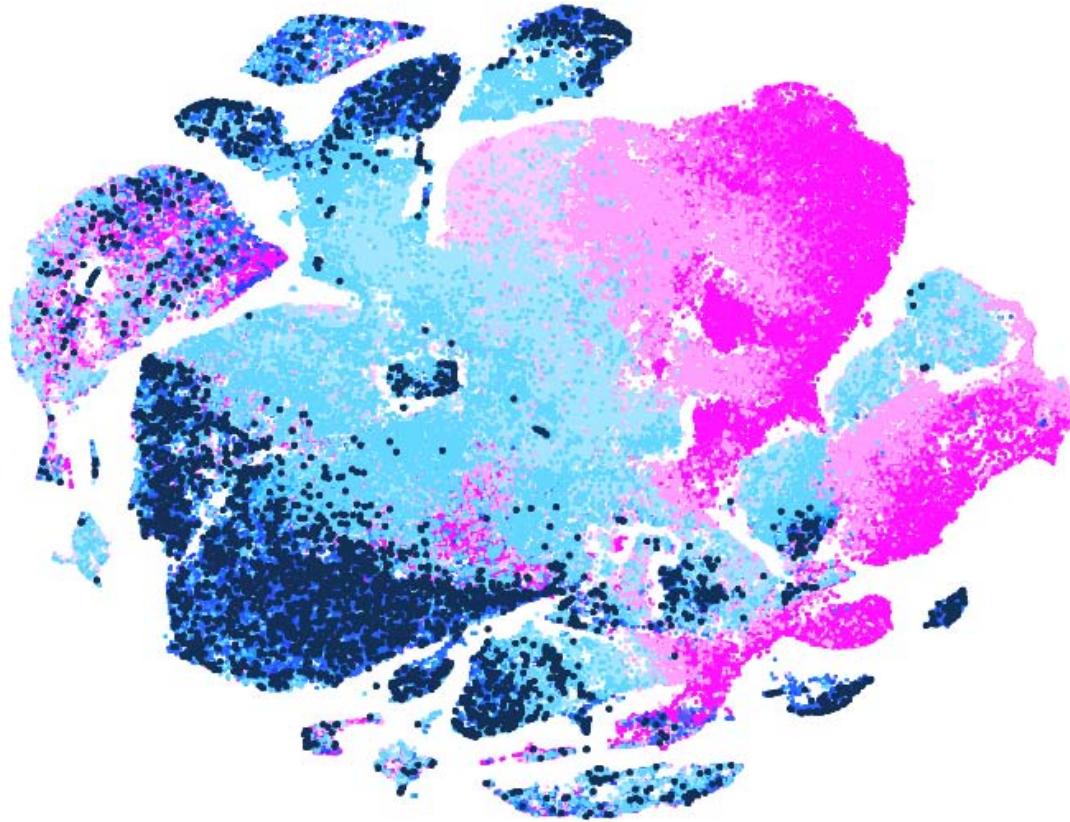
~ 150'000 cellules

→ Gonades XX (N=15)

→ Gonades XY (N=15)

→ De 6 à 12 semaines de dvpt

Caractérisation de la différenciation gonadique à l'échelle de la cellule unique



~ 150'000 cellules

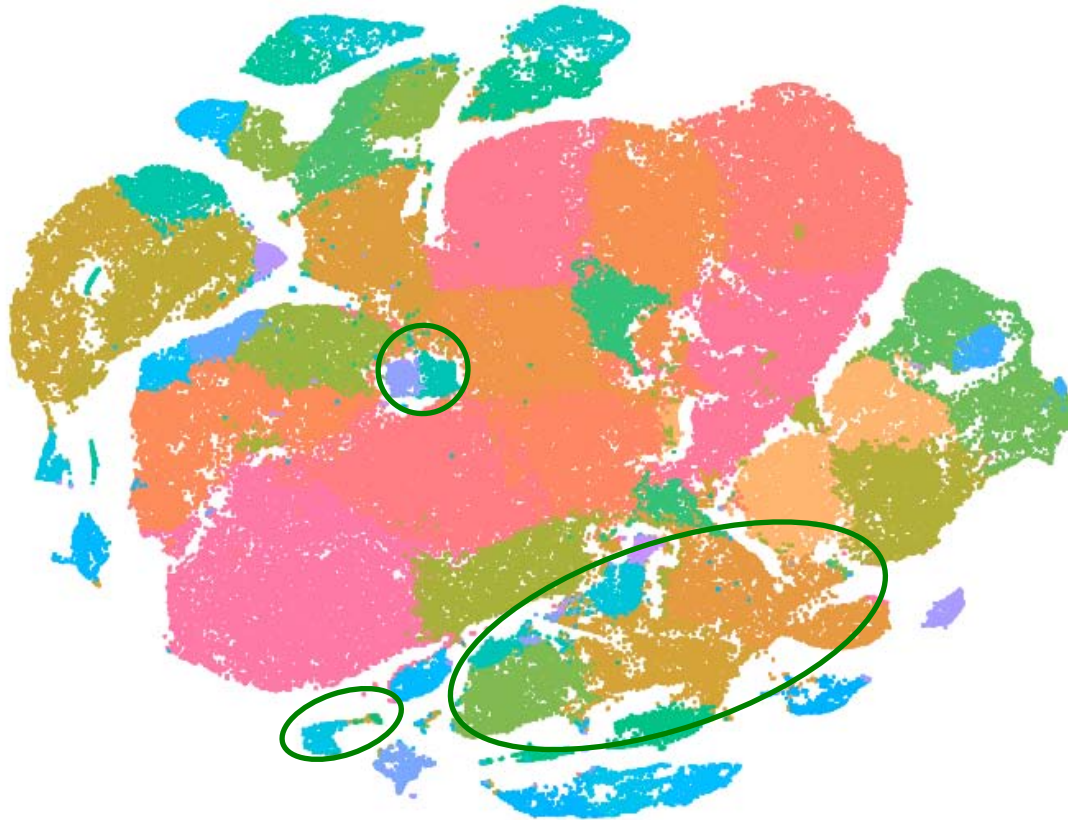
→ Gonades XX (N=15)

→ Gonades XY (N=15)

→ De 6 à 12 semaines de dvpt



Identification des différents types cellulaires gonadiques



Identification des différents types cellulaires gonadiques



HBA1

Identification des différents types cellulaires gonadiques

Globules rouges

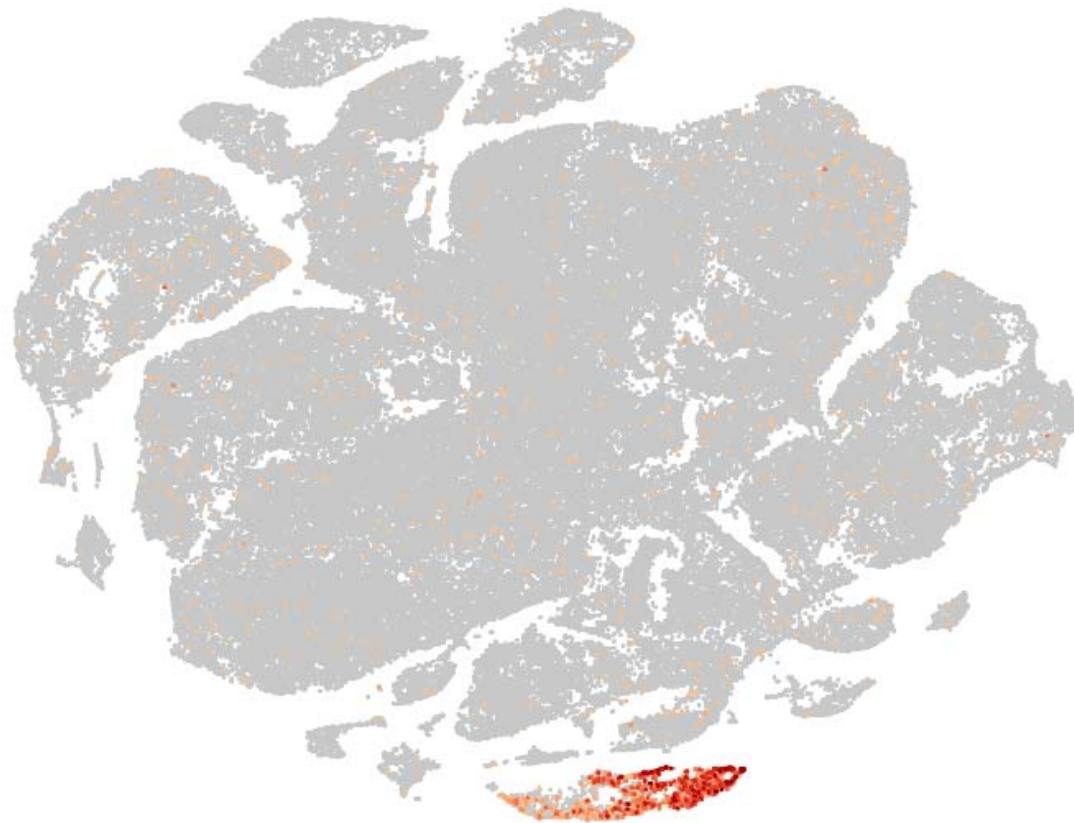
HBA1

Vaisseaux sanguins

CD34



Identification des différents types cellulaires gonadiques

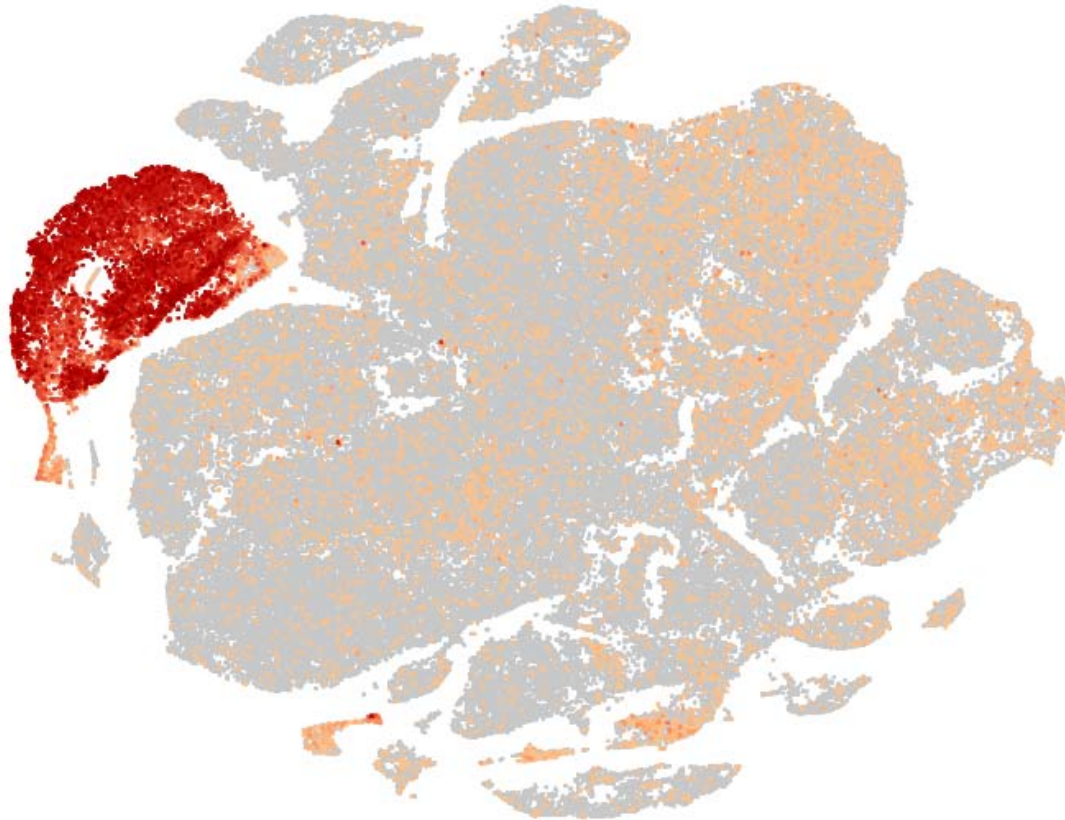


Globules rouges HBA1

Vaisseaux sanguins CD34

Macrophages **CD68**

Identification des différents types cellulaires gonadiques



Globules rouges HBA1

Vaisseaux sanguins CD34

Macrophages CCL3

Cellules germinales { **POU5F1**

Cellules germinales { POU5F1
STRA8

Différenciation des cellules somatiques gonadiques

WT1+ NR5A1+



Différenciation des cellules somatiques gonadiques

**Epithélium
coelomique**

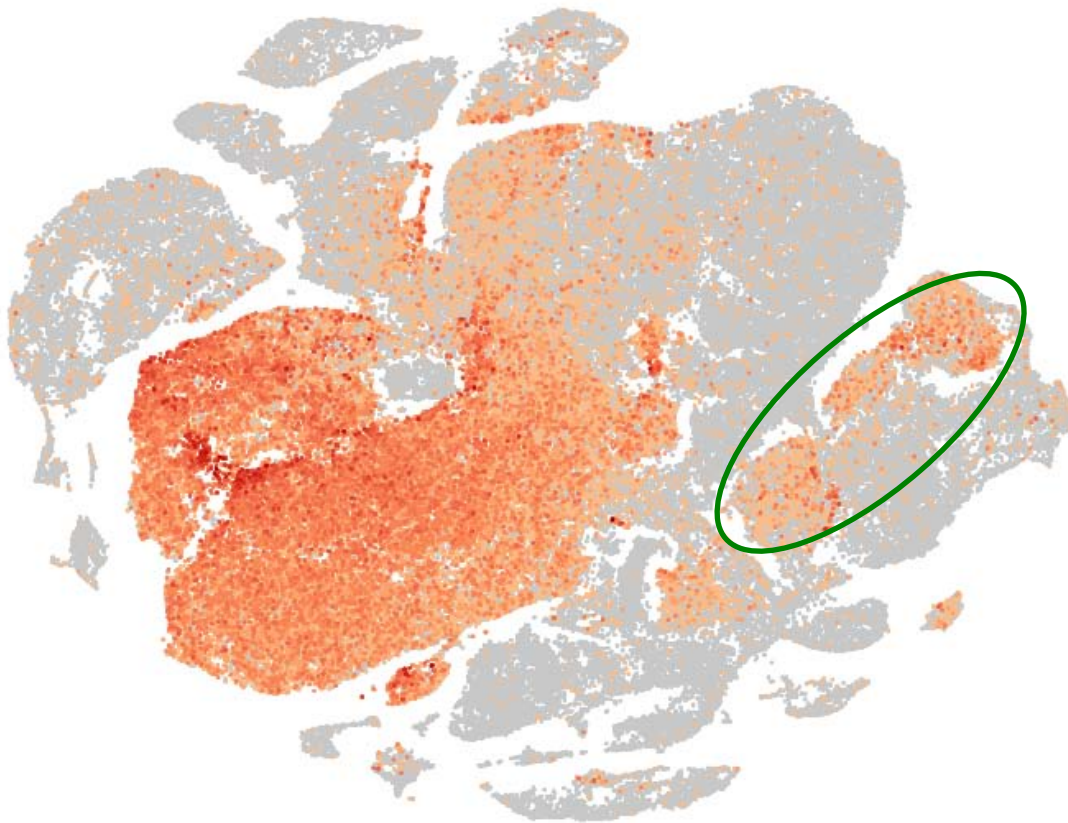
**UPK3B
PDGFRA
NPY**



Différenciation des cellules somatiques gonadiques

**Epithélium
coelomique**

**UPK3B
PDGFRA
NPY**



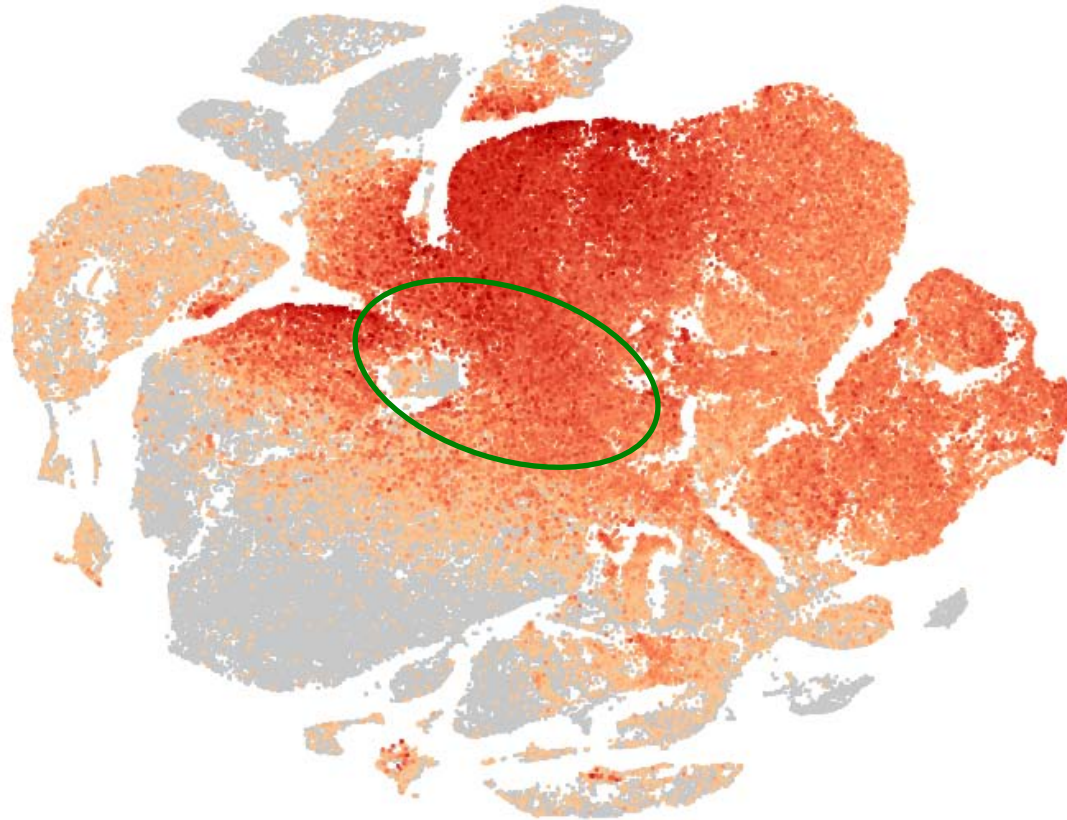
Différenciation des cellules somatiques gonadiques

**Epithélium
coelomique**

**UPK3B
PDGFRA
NPY**



Différenciation des cellules somatiques gonadiques



**Epithélium
coelomique**

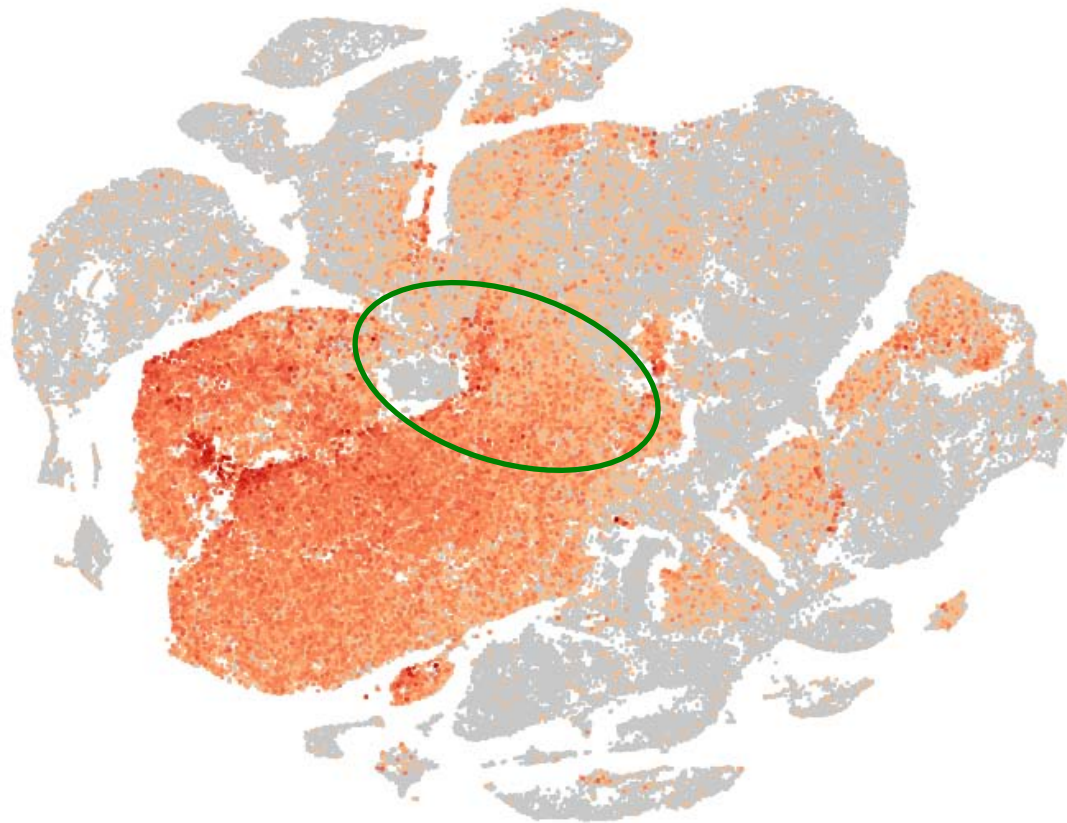
**UPK3B
PDGFRA
NPY**



**Progéniteurs
somatiques**

**PDGFRA
NPY**

Différenciation des cellules somatiques gonadiques



**Epithélium
coelomique**

**UPK3B
PDGFRA
NPY**



**Progéniteurs
somatiques**

**PDGFRA
NPY**

Différenciation des cellules somatiques gonadiques



**Epithélium
coelomique**

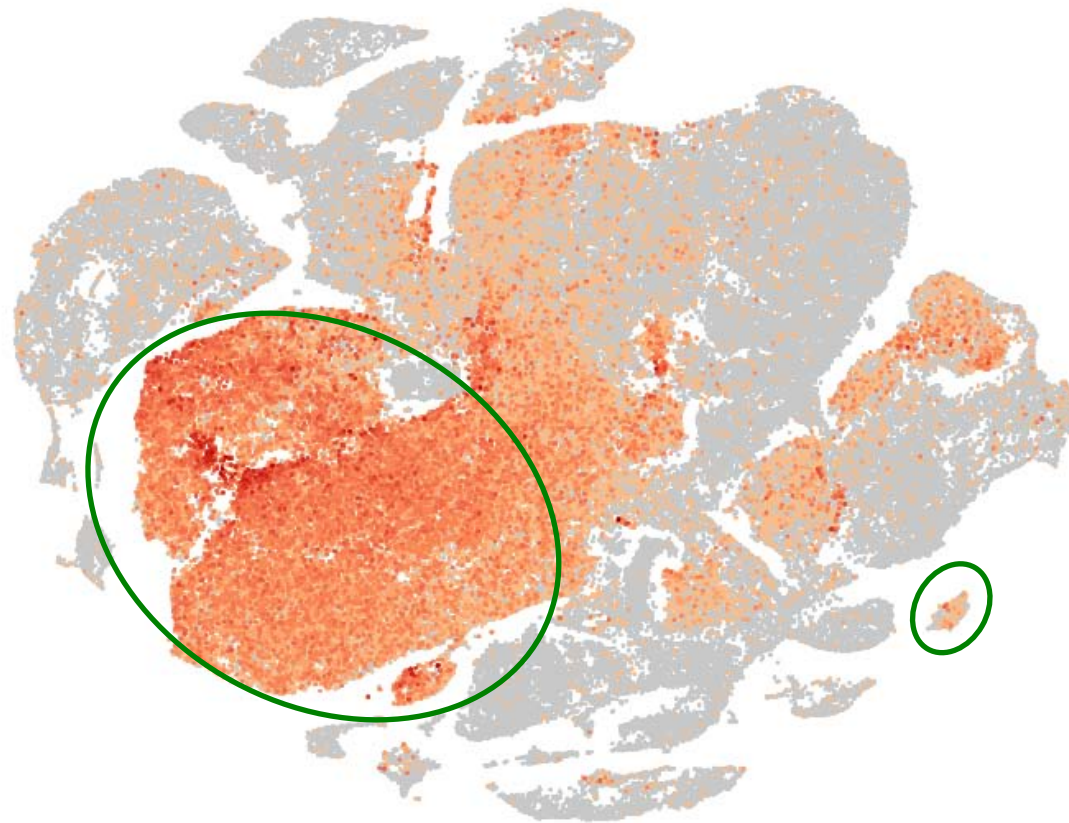
**UPK3B
PDGFRA
NPY**



**Progéniteurs
somatiques**

**PDGFRA
NPY**

Différenciation des cellules somatiques gonadiques



**Epithélium
coelomique**

**UPK3B
PDGFRA
NPY**

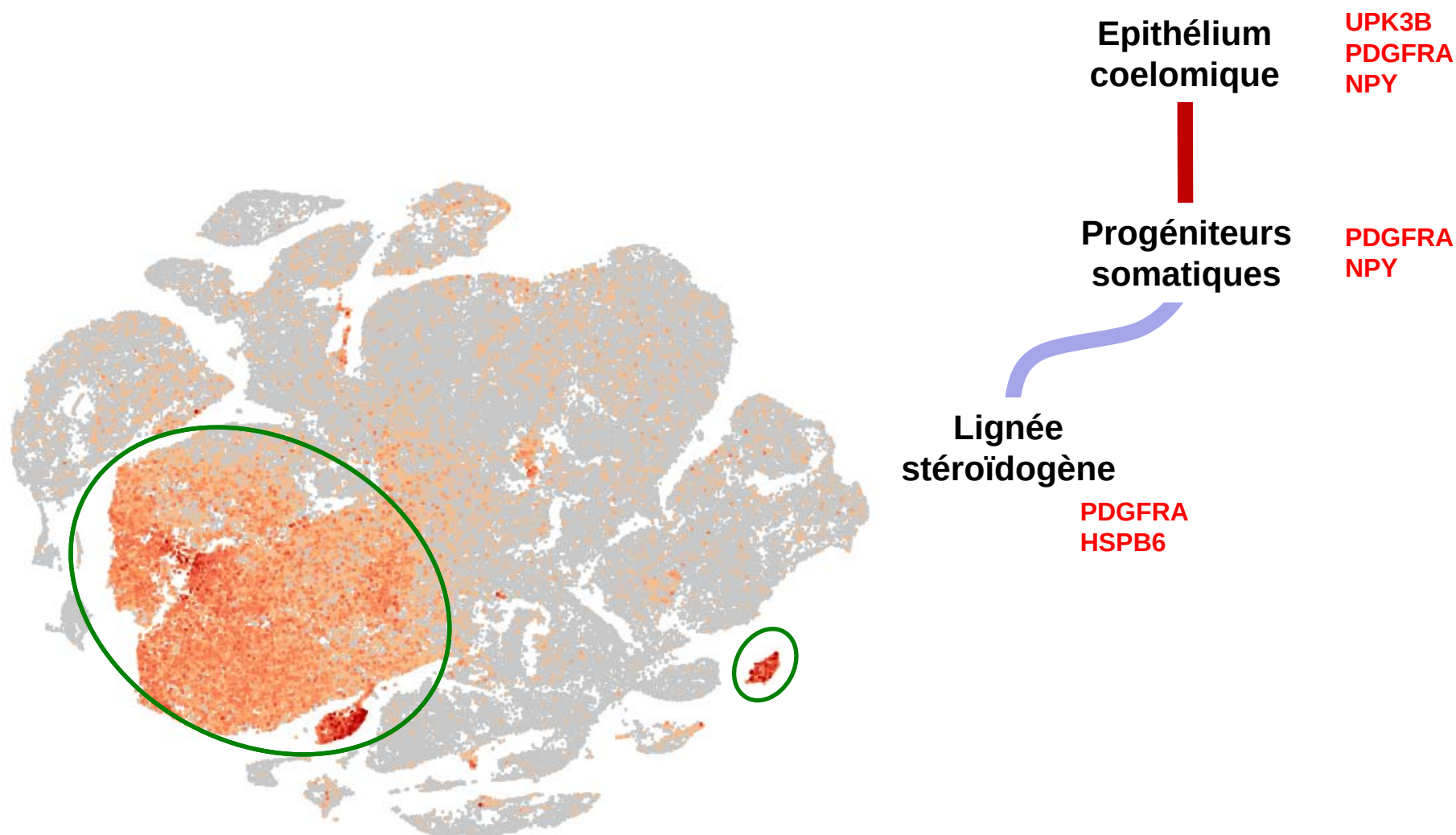
**Progéniteurs
somatiques**

**PDGFRA
NPY**

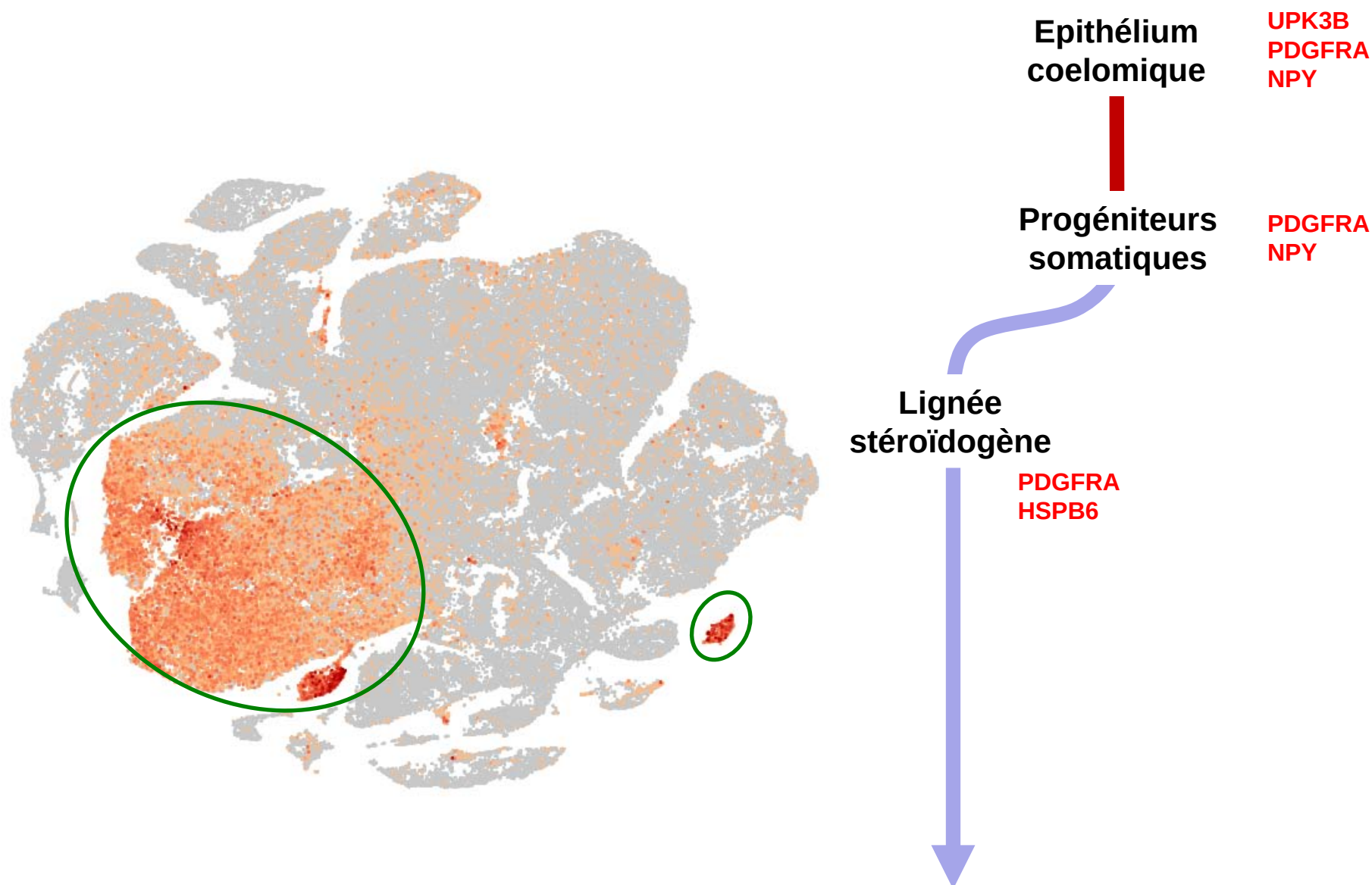
**Lignée
stéroïdogène**

**PDGFRA
HSPB6**

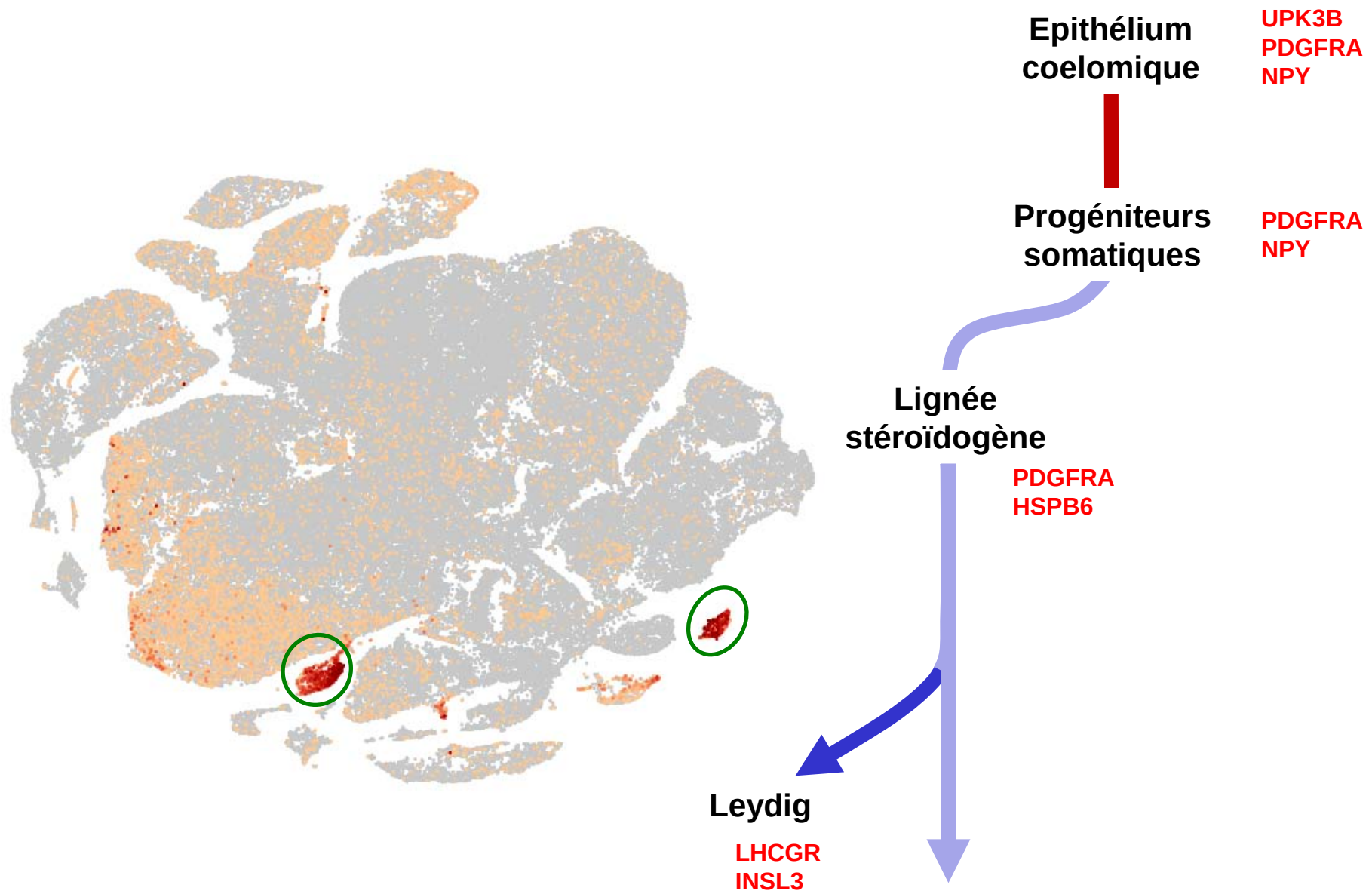
Différenciation des cellules somatiques gonadiques



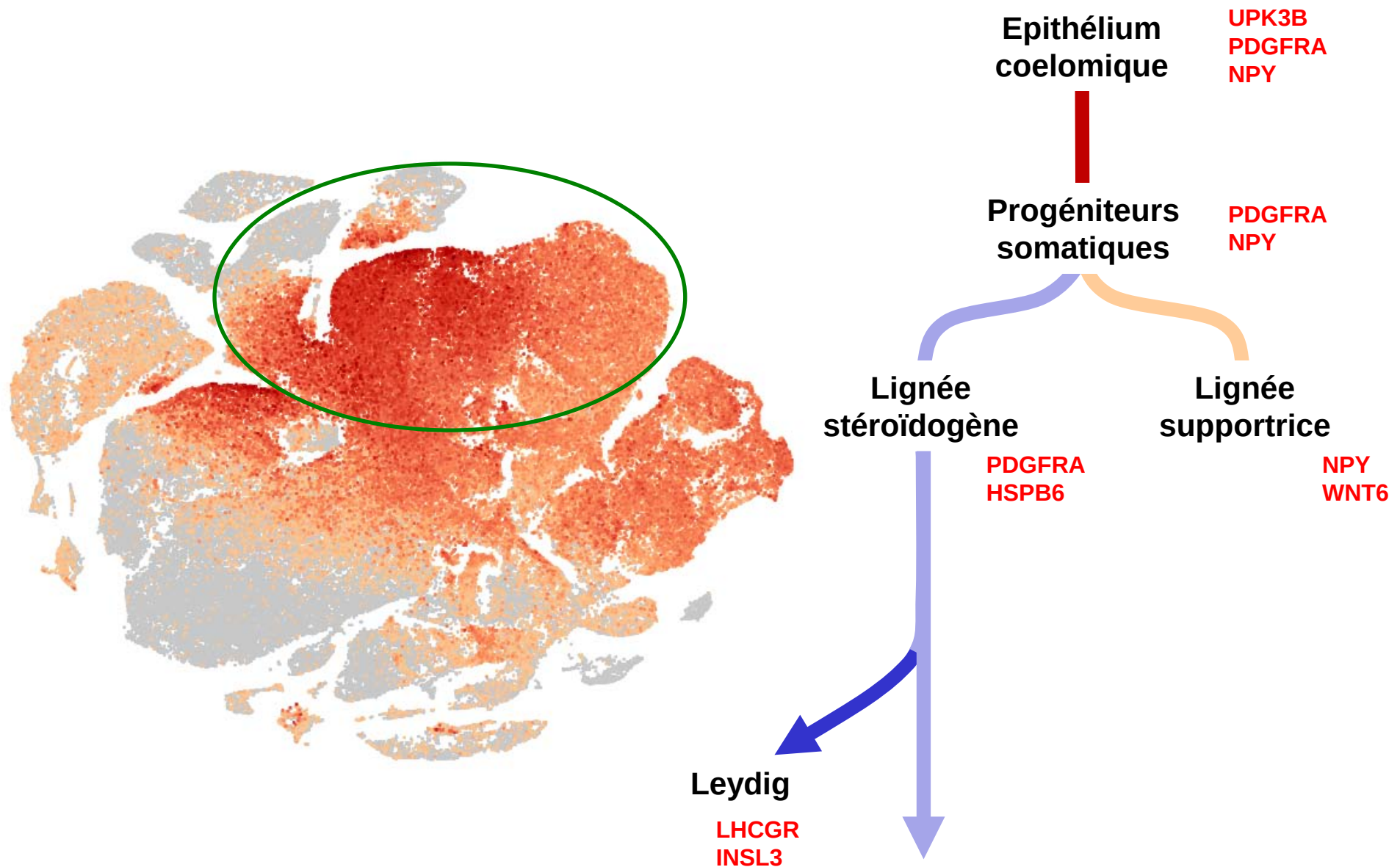
Différenciation des cellules somatiques gonadiques



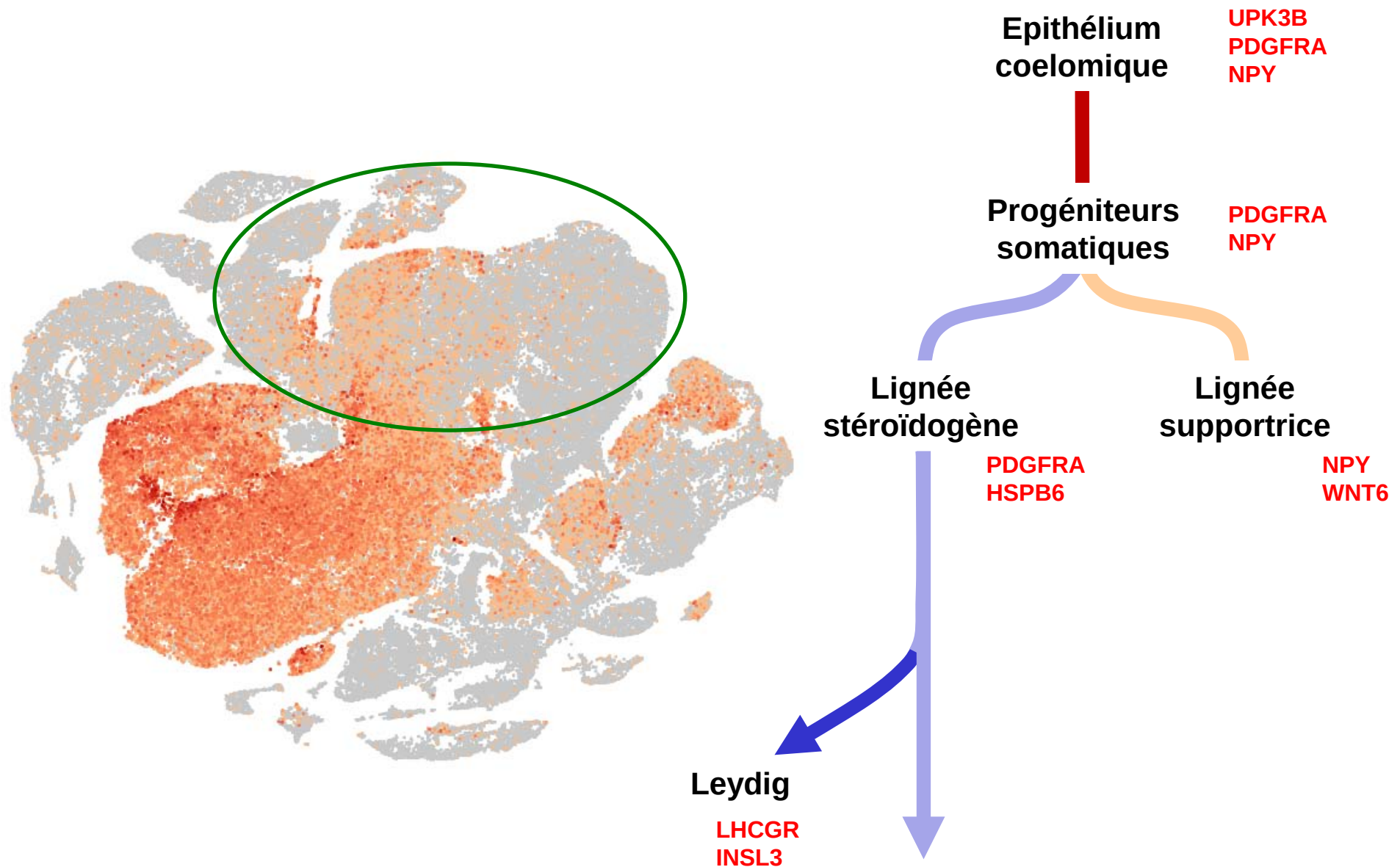
Différenciation des cellules somatiques gonadiques



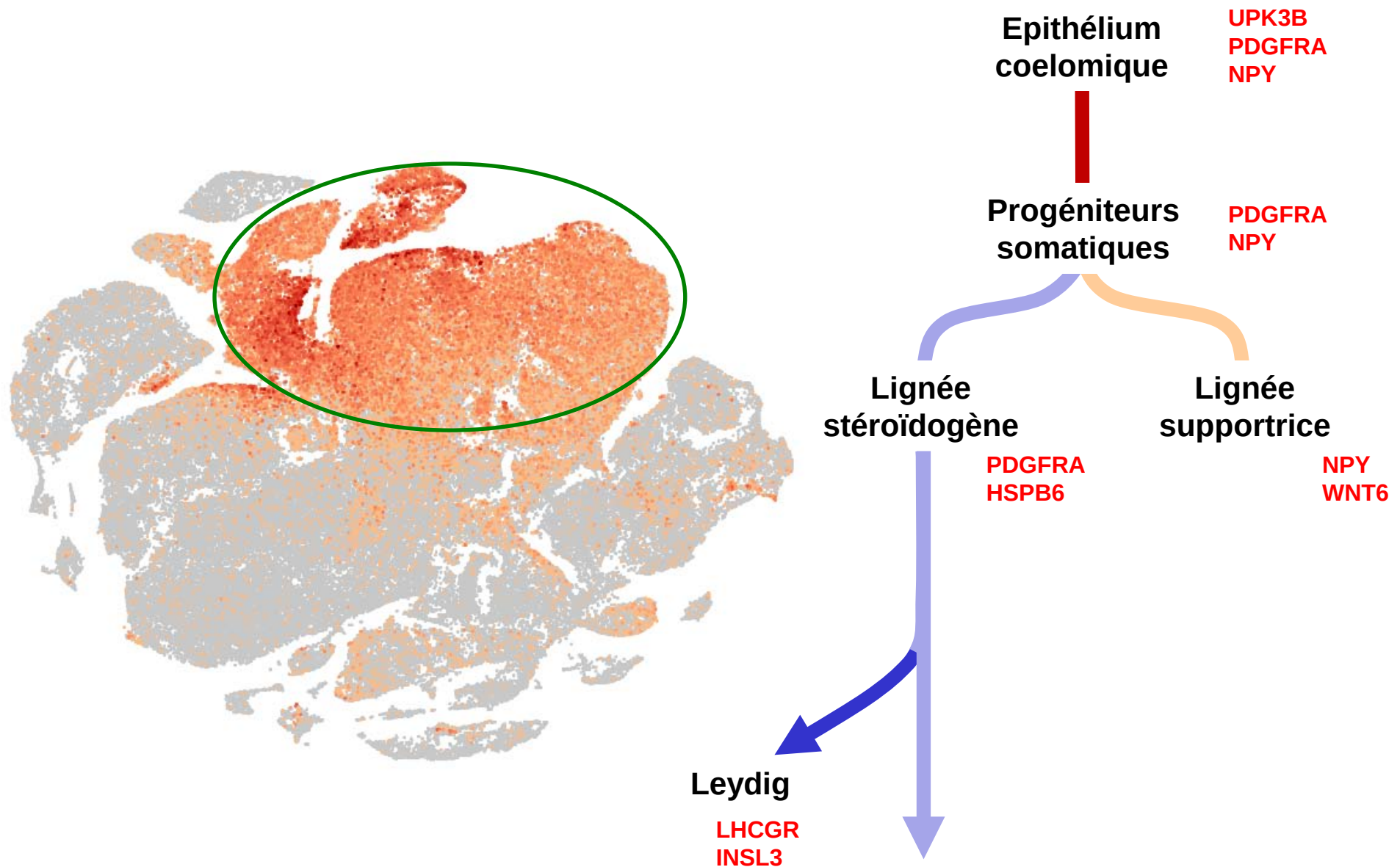
Différenciation des cellules somatiques gonadiques



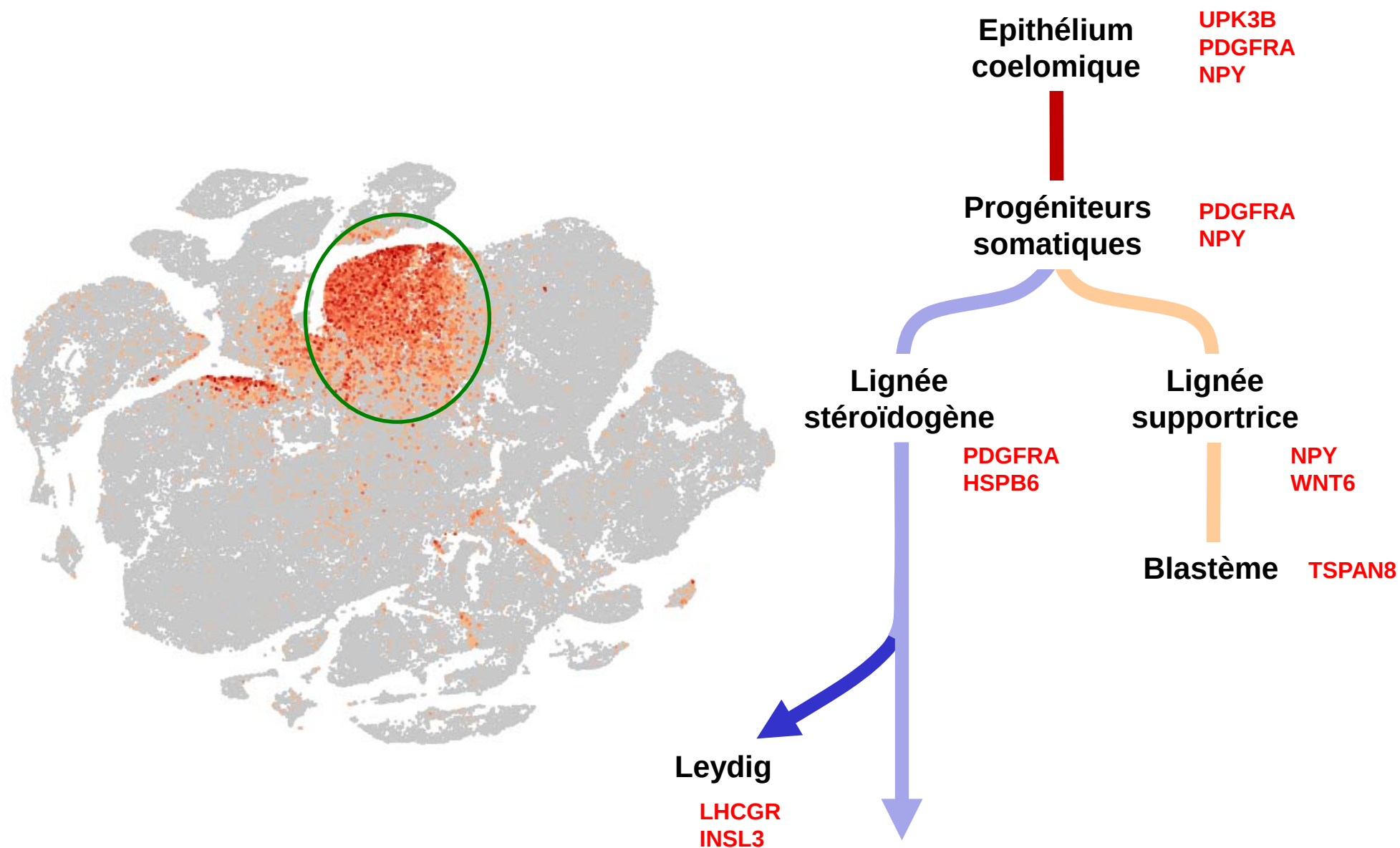
Différenciation des cellules somatiques gonadiques



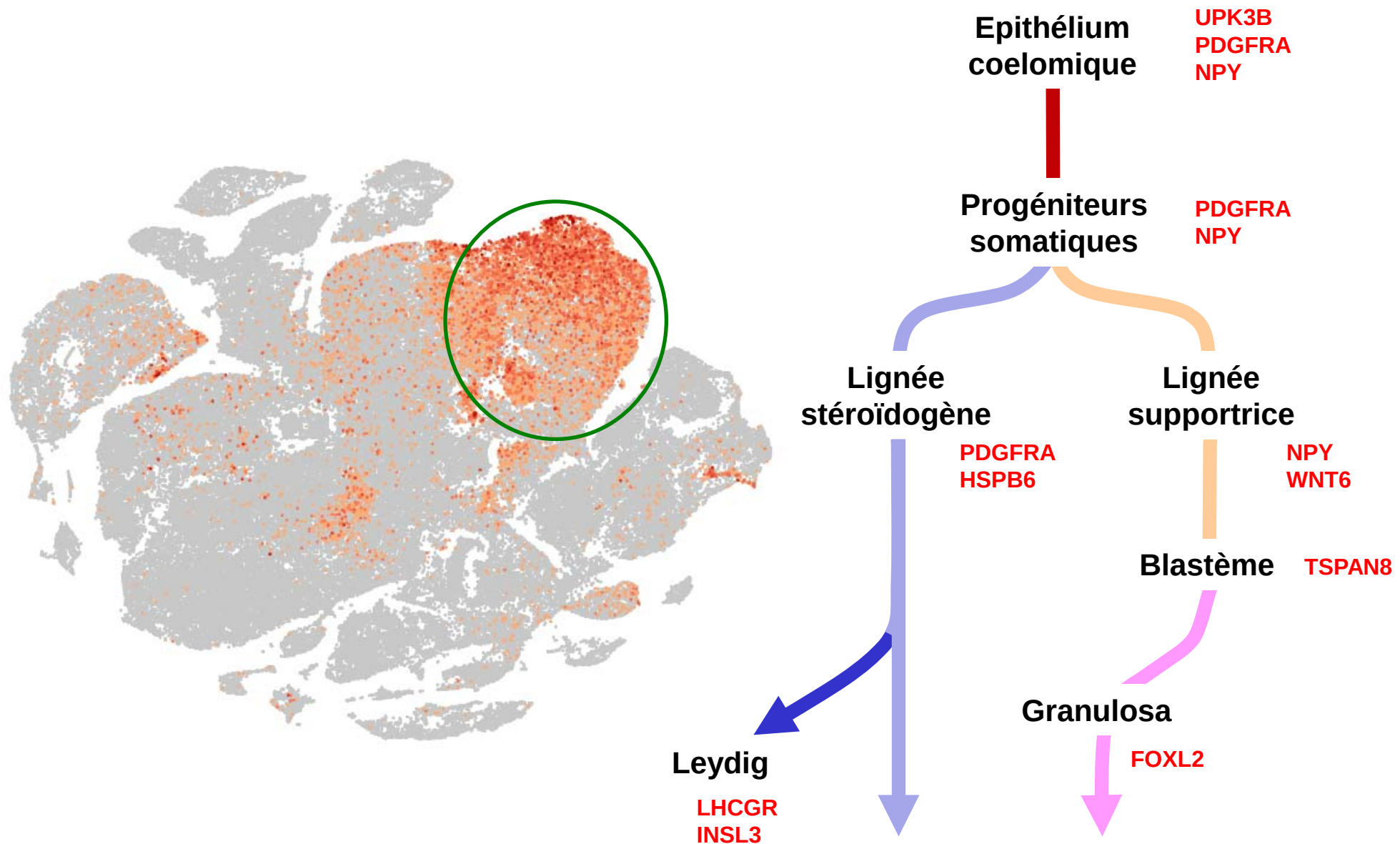
Différenciation des cellules somatiques gonadiques



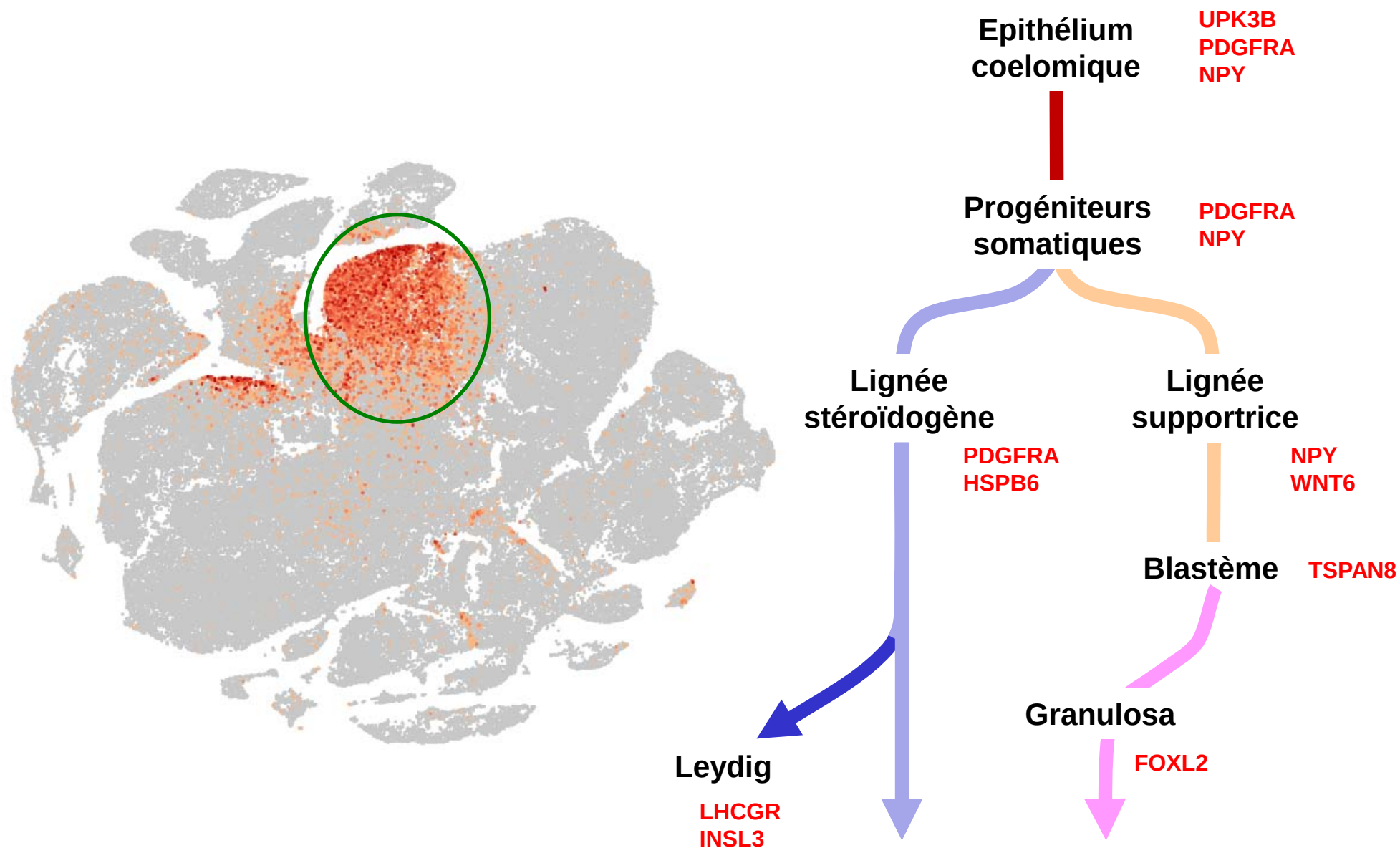
Différenciation des cellules somatiques gonadiques



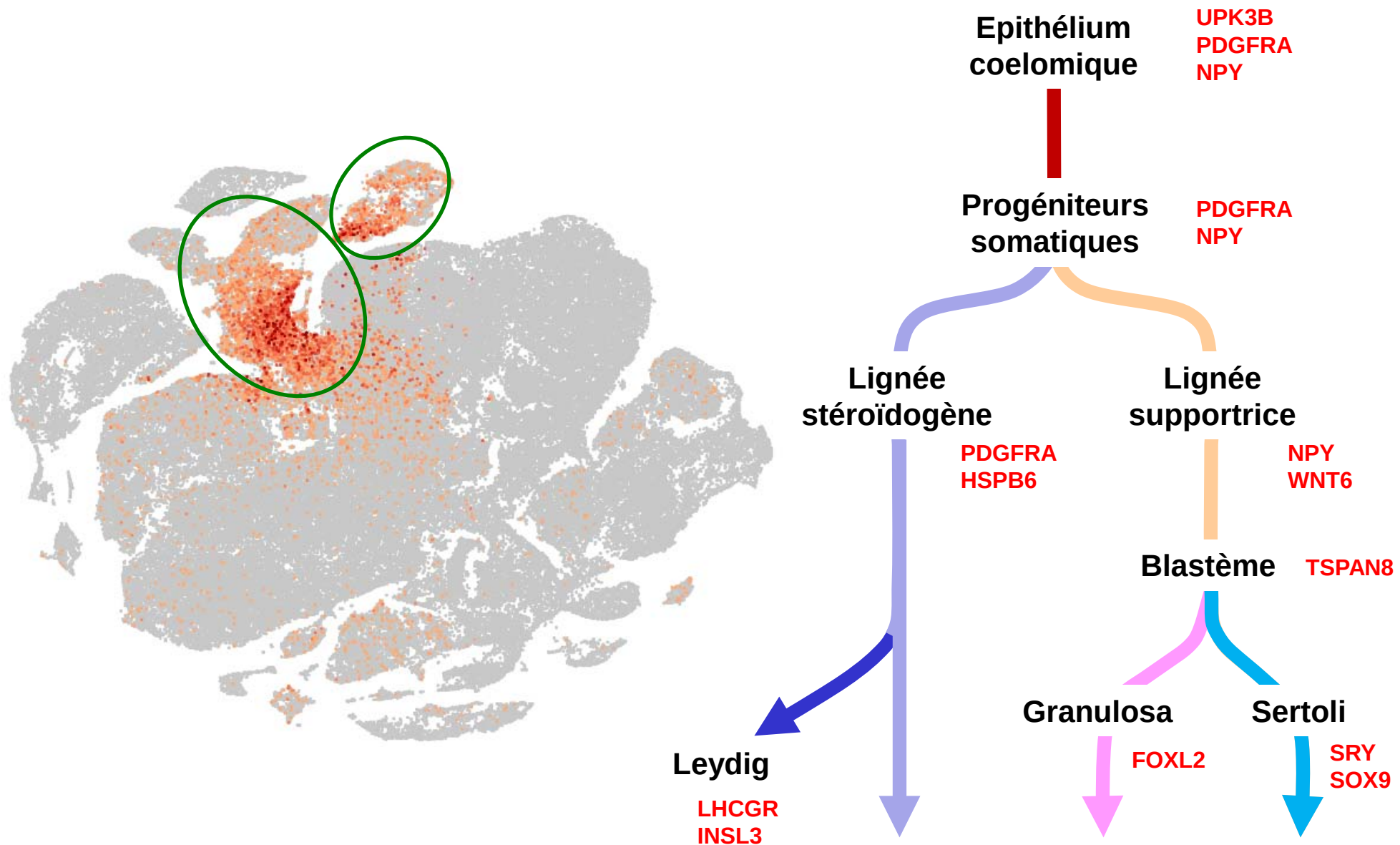
Différenciation des cellules somatiques gonadiques



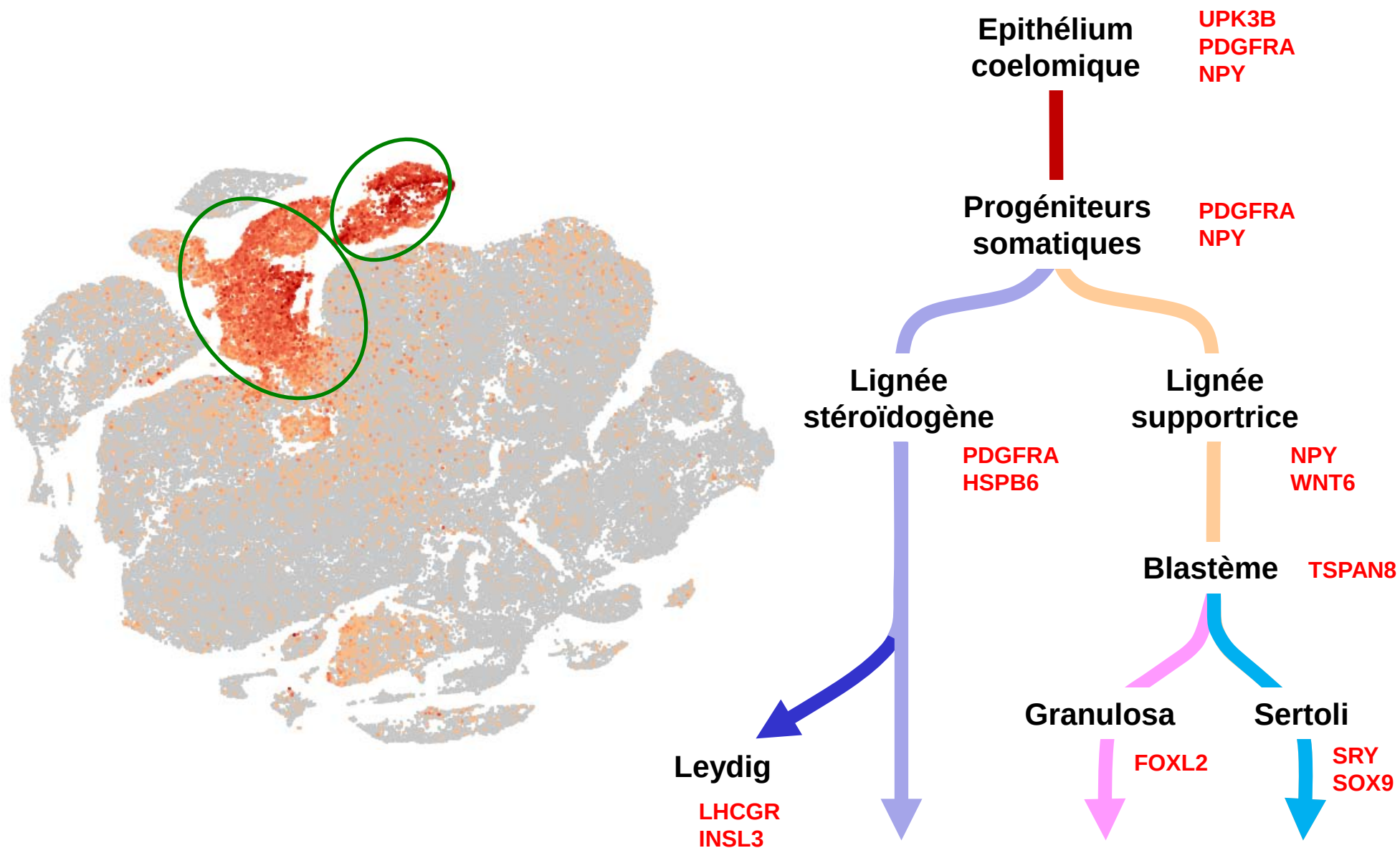
Différenciation des cellules somatiques gonadiques



Différenciation des cellules somatiques gonadiques

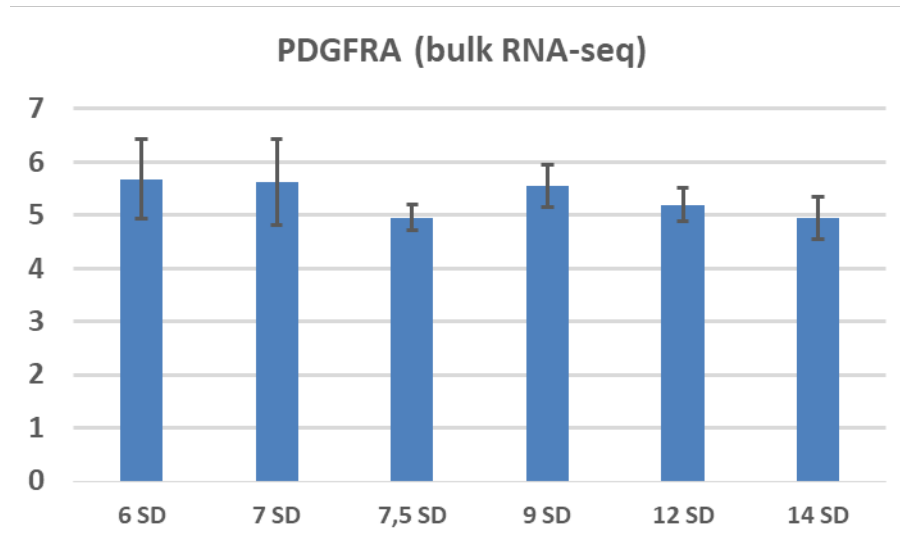


Différenciation des cellules somatiques gonadiques

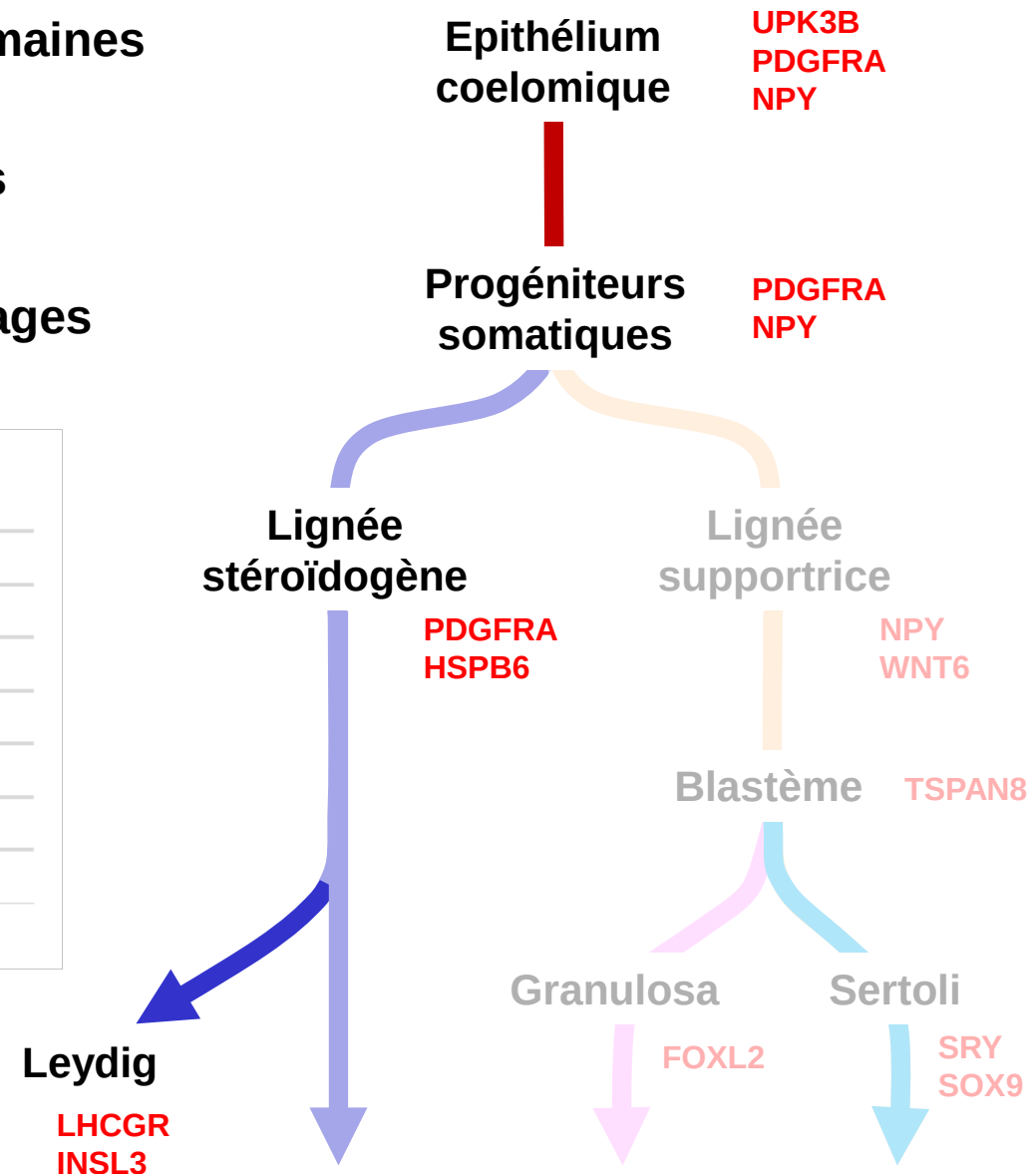


Conclusions

- Diversité des cellules gonadiques humaines
- Différenciation des différents linéages
- Gènes différentiels: intra- & inter-linéages

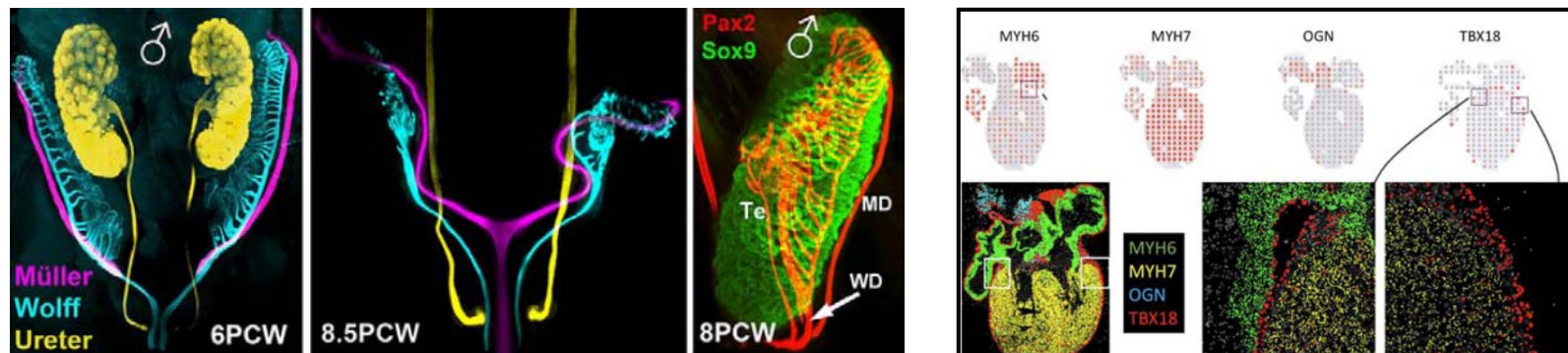


- Priorisation des variants de WES



Perspectives

- Réseau de régulation = **single cell ATAC-seq**
- Sexualisation du tractus = **scRNA-seq & scATAC-seq / mésonéphros**
- Human Gonad Developmental Cell atlas (HuGoDeCa, EU)
Cartographie moléculaire & spatiale des cellules gonadiques



- Human Development Cell atlas (HuDeCa, Inserm)
Biobanque
Atlas cellulaire de l'embryon humain

Remerciements

Equipe 8 « Physiologie et physiopathologie du tractus urogénital »



Frédéric
Chalmel



Nathalie Dejucq-
Rainsford



Bernard Jégou



Aurélie Lardenois



Séverine Mazaud-
Guittot



Bertrand Evrard



Antonio Suglia



Thomas Darde

Professeur Serge Nef – Université de Genève

