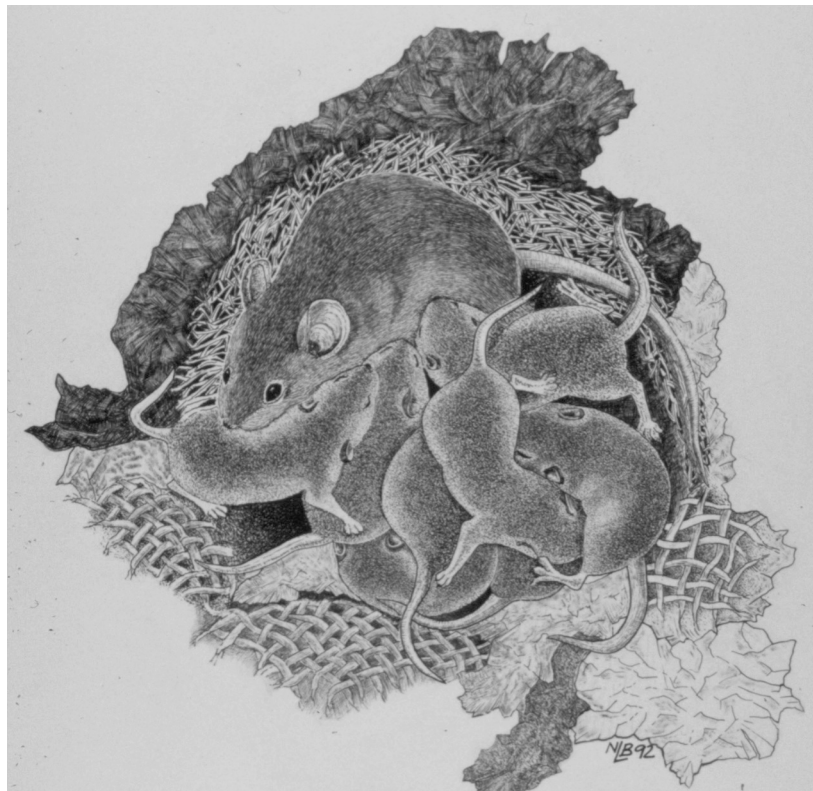


COURS DE GENÉTIQUE DE LA SOURIS

Année Universitaire 2009-2010

PROGRAMME



**PROGRAMME
COURS DE GENETIQUE DE LA SOURIS**

2009-2010

*du 11 janvier au 5 février 2010
(Audition des projets le 16 février 2010)*



Le Cours de Génétique de la Souris

a lieu au

Centre d'Enseignement de l'Institut Pasteur
Pavillon Louis Martin (Bât. 09)
28, rue du Docteur Roux
75724 PARIS CEDEX 15

Conférences : Salle n° 3 « Module 4 » (Bâtiment Social 06)

Travaux Pratiques : Rez-de-chaussée du Pavillon Louis Martin

Cours de Génétique de la Souris 2009-2010

■ 1ère semaine ■

ENSEIGNEMENT THEORIQUE : Anatomie, Anatomie pathologique; Physiologie de la souris et gestion des expériences; Génétique formelle; Cartographie génétique ; Les méthodes d'exploration du comportement chez la souris.

ENSEIGNEMENT PRATIQUE : Culture de cellules souches embryonnaires ; Transfection des cellules ; Autopsie de mutants; Utilisation du système inductible Cre/loxP ; Superovulation ; Exploration du comportement chez la souris.

Lundi 11 Janvier

9h00 Accueil des participants et introduction générale.

10h30 **Enseignement théorique :**
Eléments de génétique formelle (première partie).
Jean-Jacques PANTHIER

13h30 **Travaux pratiques :**
- Bases de la culture de cellules.
Jean-Pierre ROUSSET
- Présentation des cellules souches embryonnaires (ES). Repiquage des cellules sur des fibroblastes embryonnaires traités à la mitomycine (pour amplifier les cellules) et dans des boîtes de bactériologie (pour l'obtention de corps embryoïdes).
Michel COHEN-TANNOUJJI, Sandrine VANDORMAEL-POURNIN, Martin HOULARD

[A 15h00 - Superovulation : Injection i.p. de PMS à des souris femelles (E11)]

Mardi 12 Janvier

9h00 **Enseignement théorique :**
Eléments de génétique formelle (seconde partie).
Jean-Jacques PANTHIER

10h30 **Enseignement théorique :**
Anatomie pathologique de la souris.
Florence BERNEX

[A 13h00 - Superovulation : Injection i.p. d'HCG à des souris femelles (E12) et accouplement avec des mâles *Kit^{W-lacZ/+}*, *Myf5^{lacZ/+}*, *Dct-lacZ/+*, *Pax3^{lacZ/+}*]

14h00 **Travaux-pratiques :**
- Anatomie des rongeurs. Autopsies de quelques mutants.
Céline ROBERT

[A 15h00 - Injection i.p. de PMS à des souris femelles (E10)]

17h00 **Présentation des travaux de recherche des participants (15' d'exposé, 5' de questions)**
- Impact des gènes modificateurs dans l'atteinte hépatique chez les souris CF (*Cystic Fibrosis*).
Myriam ROUAHL.
- Génétique des affections limitant les performances sportives des chevaux. Marie-Capucine DUPUIS

.../...

.../...

Mercredi 13 Janvier

- 9h00 **Enseignement théorique :**
Cartographie génétique chez la Souris (première partie).
Xavier MONTAGUTELLI
- 10h30 **Enseignement théorique :**
La souris et sa reproduction - Conséquences sur la gestion des expériences chez la souris.
Geneviève AUBIN-HOUZELSTEIN
- [A 13h00 - Injection i.p. d'HCG à des souris femelles (E11) et accouplement avec des mâles *Kit^{W-lacZ/+}*, *Myf5^{lacZ/+}*, *Dct-lacZ/+*, *Pax3^{lacZ/+}*]
- 14h00 **Travaux pratiques :**
- Présentation de l'expérience d'induction de la recombinaison Cre dans les cellules ES.
- Repiquage des cellules ES
Michel COHEN-TANNOUDJI, Sandrine VANDORMAEL-POURNIN, Martin HOULARD
- 17h00 **Présentation des travaux de recherche des participants (15' d'exposé, 5' de questions)**
- Du cancer colorectal au mélanome. Coralie DORARD.
- Inactivation du gène *SDHB*. Céline LORIOT.
- Identification de nouveaux effecteurs et gènes cibles dans l'activation de la voie NF kappa B dans les lymphocytes T. Nassima MESSALI

Jeudi 14 Janvier

- 9h00 **Enseignement théorique :**
Cartographie génétique chez la Souris (deuxième partie).
Xavier MONTAGUTELLI
- 10h30 **Travaux pratiques :**
- Changer le milieu de culture des corps embryoides.
- Transfection des cellules ES.
- [A 13h00 - Injection i.p. d'HCG à des souris femelles (E9) et accouplement avec des mâles *Kit^{W-lacZ/+}*, *Myf5^{lacZ/+}*, *Dct-lacZ/+*, *Pax3^{lacZ/+}*]
- 14h00 **Enseignement théorique :**
Apport des modèles transgéniques à l'étude de la régulation de l'expression des gènes.
Dominique DAEGELEN
- 15h30 **Travaux pratiques :**
Changer le milieu de culture des cellules ES transfectées le matin.
- 16h30 **Présentation des travaux de recherche des participants (15' d'exposé, 5' de questions)**
- Etude d'un nouveau gène impliqué dans les paraplégies spastiques héréditaires. Typhaine ESTEVES.
- Rôle des microARN dans les neuroblastomes à haut risque. Charles-Henry GATTOLLIAT.

Vendredi 15 Janvier

- 9h00 **Travaux pratiques :**
- Localisation d'une mutation récessive : présentation des objectifs et discussion sur la stratégie.
- 11h00 **Enseignement théorique :**
Exploration du comportement chez la Souris.
Sylvie GRANON-CRESSANT
- [A 13h00 - Injection i.p. d'HCG à des souris femelles (E10) et accouplement avec des mâles *Kit^{W-lacZ/+}*, *Myf5^{lacZ/+}*, *Dct-lacZ/+*, *Pax3^{lacZ/+}*]
- 14h00 **Travaux pratiques :**
- Analyse du comportement sur des souris consanguines C57BL/6 et 129/Sv :
Observation générale et test moteur (1^{ère} séance).
Sylvie GRANON-CRESSANT et Nicolas TORQUET
- Fixation des cellules ES transfectées, coloration X-Gal et observation de l'expression de la GFP.
Michel COHEN-TANNOUDJI, Sandrine VANDORMAEL-POURNIN, Martin HOULARD

Cours de Génétique de la Souris 2009-2010

■ 2ème semaine ■

ENSEIGNEMENT THEORIQUE : *Transgénèse et inactivation ciblée; Mutagenèse conditionnelle; Méiose et recombinaison génétique; Knock-out et knock-in ; Embryologie moléculaire; Développement précoce, mise en place des axes et gastrulation; Mutagenèse non ciblée ; la souris, modèle d'étude de cancérogenèse.*

ENSEIGNEMENT PRATIQUE : *Culture de corps embryoïdes ; Localisation génétique d'une mutation récessive à l'aide de marqueurs génétiques; Méthodes d'analyse de l'expression des gènes chez l'embryon; Exploration du comportement chez la souris.*

Lundi 18 Janvier

- 9h00 **Travaux pratiques :**
- Stratégie à utiliser pour localiser une mutation récessive avec une haute résolution.
- Amplification de microsatellites à partir de l'ADN de souris backcross.
- Préparation des gels d'agarose.
- 11h30 **Travaux pratiques :**
- Culture des corps embryoïdes. Transférer les corps embryoïdes dans une boîte de culture cellulaire.
Michel COHEN-TANNOUDJI, Sandrine VANDORMAEL-POURNIN, Martin HOULARD
- 13h30 **Travaux pratiques :**
- Analyse du comportement sur 24h des souris consanguines C57BL/6 et 129/Sv :
Mise en place des souris des binômes 1 et 2.
- 14h00 **Travaux pratiques :**
- Présentation d'expériences de recombinaison homologue dans les cellules embryonnaires souches. Analyse du phénotype d'embryons hétérozygotes ou homozygotes pour une mutation nulle.
Shahragim TAJBAKHSH

Mardi 19 Janvier

- 9h00 **Travaux pratiques :**
- Analyse des données de localisation de la mutation patchwork avec Gene-Link.
- Culture des corps embryoïdes. Examen au microscope.
- 11h00 **Enseignement théorique :**
Régulation génétique par les petits ARNs non codants.
Christophe ANTONIEWSKI
- 13h30 **Travaux pratiques :**
- Analyse du comportement sur 24h des souris consanguines C57BL/6 et 129/Sv :
Retrait des souris des binômes 1 et 2 - Mise en place des souris des binômes 3 et 4.
- 14h00 **Travaux pratiques :**
- Localisation de la mutation patchwork: amplification de microsatellites à partir de l'ADN de souris backcross.
- Préparation des gels d'agarose.
- 16h30 **Enseignement théorique :**
Le développement précoce de l'embryon de souris.
Joël AGHION

.../...

.../...

Mercredi 20 Janvier

- 9h00 **Enseignement théorique :**
Les méthodes d'analyse du lignage cellulaire chez la souris.
Sigolène MEILHAC
- 11h00 **Enseignement pratique :**
Modélisation de la forme par la croissance orientée.
Jean-François LE GARREC & Sigolène MEILHAC
- 13h30 **Travaux pratiques :**
- Analyse du comportement sur 24h des souris consanguines C57BL/6 et 129/Sv :
Retrait des souris des binômes 3 et 4 - Mise en place des souris des binômes 5 et 6.
- 14h00 **Travaux pratiques :**
1- Observation générale et test moteur (2^{ème} séance).
Sylvie GRANON-CRESSANT et Nicolas TORQUET
2- Localisation de la mutation patchwork : dépôt des produits de PCR sur gel d'agarose. Analyse des résultats.

Jeudi 21 Janvier

- 9h00 **Travaux pratiques :**
- Localisation de la mutation patchwork : amplification des microsatellites
- Préparation des gels d'agarose
- 11h00 **Enseignement théorique :**
Gastrulation et établissement des axes de l'embryon chez la souris.
Jérôme COLLIGNON
- 13h30 **Travaux pratiques :**
- Analyse du comportement sur 24h des souris consanguines C57BL/6 et 129/Sv :
Retrait des souris des binômes 5 et 6.
- 14h00 **Visite Musée de l'Institut Pasteur**
- 15h00 **Présentation des travaux de recherche des participants (15' d'exposé, 5' de questions)**
- Analyse d'un croisement entre lignées consanguines de souris *Mus spretus* pour identifier des gènes impliqués dans la résistance à la peste. Charlotte LEBLANC.
- Sexage des animaux de rente par voie transgénique: une étude pilote chez la souris. Prisca FEUERSTEIN.
- Icat (*inhibitor of b-catenin and TCF4*) dans le développement normal et pathologique des mélanocytes. Mélanie DOMINGUES.

Vendredi 22 Janvier

- 9h00 **Travaux pratiques :**
- Localisation de la mutation patchwork: migration des produits d'amplification.
- 10h30 **Enseignement théorique :**
Transgénèse utilisant des vecteurs lentiviraux : exemple d'utilisation pour la génération de rats transgéniques.
Ignacio ANEGON
- 14h00 **Travaux pratiques :**
- Localisation de patchwork : collecte et analyse des résultats
- 15h30 **Enseignement théorique :**
Mutagenèse conditionnelle chez la Souris.
Frédéric JAISSER

Cours de Génétique de la Souris 2009-2010

■ 3ème semaine ■

ENSEIGNEMENT THEORIQUE : *Petits ARNs et interférence ARN; Empreinte parentale ; Cartographie génétique par analyse de SNPs; Mutagenèse à l'ENU.*

ENSEIGNEMENT PRATIQUE : *Culture cellulaire; Localisation de séquences d'ADN à l'aide de lignées recombinantes consanguines; Examen d'embryons E9,0-E13,0 ; Analyse embryologique de mutants du squelette; Utilisation des gènes rapporteurs chez l'embryon; Manipulation des embryons précoces et fécondation in vitro; Recherches dans les bases de données génétiques.*

Lundi 25 Janvier

- 9h00 **Travaux pratiques :**
- Localisation de séquences d'ADN à l'aide de lignées recombinantes consanguines (RI) : amplification par PCR des fragments d'ADN à localiser.
Préparation du gel pour vérifier les amplifications.
- 10h00 **Présentation des travaux de recherche des participants (15' d'exposé, 5' de questions)**
- 2 étudiants
- 11h00 **Travaux pratiques :**
- Utilisation de l'ARN interférence et des antibiotiques pour l'étude de la translecture :
Décongélation des cellules
- 14h00 **Travaux pratiques :**
- Dissection d'embryons E9, E10, E11 et E12 de génotype sauvage et *Kit^{W-lacZ/+}*, *Myf5^{lacZ/+}*, *Dct-lacZ/+*, *Pax3^{lacZ/+}*, fixation et coloration X-Gal O/N
- 18h00 **Travaux pratiques :**
- Superovulation de femelles donneuses d'embryons (fécondation *in vitro*) : injection de PMS.

Mardi 26 Janvier

- 9h00 **Enseignement théorique :**
La mutagenèse chez la Souris.
Jean-Louis GUENET
- 10h30 **Enseignement théorique :**
From phenotype driven ENU mutagenesis to systemic phenotyping of mouse models for human diseases.
[De la production de phénotypants par mutagenèse à l'ENU à l'exploration phénotypique globale de modèles murins de maladies humaines]
Johannes BECKERS
- 14h00 Ségrégation des chromosomes en méiose : un ménage à quatre.
Bernard de MASSY
- 15h30 **Enseignement théorique :**
L'empreinte parentale.
Andras PALDI

Mercredi 27 Janvier

- 9h00 **Travaux pratiques :**
- Utilisation des lignées RI : Vérification des amplifications sur gel d'agarose.
- 10h30 **Travaux pratiques :**
- Utilisation des lignées RI : Dénaturation des fragments d'ADN amplifiés, lancement de la réaction de pyroséquençage

.../...

.../...

- 14h00 **Travaux pratiques :**
- Utilisation des lignées RI : Analyse des résultats avec MapManager
- 15h00 **Travaux pratiques :**
- Bilan des expériences sur le comportement de la Souris.
Sylvie GRANON-CRESSANT
- [A 17h00 - Superovulation de femelles donneuses d'embryons (fécondation *in vitro*) : injection d'HCG.]

Jeudi 28 Janvier

- 9h00 **Travaux pratiques :**
Fécondation in vitro
- Collecte des spermatozoïdes et capacitation
- Collecte des ovocytes
- Fécondation
Jean JAUBERT et Angélique VINCENT
- 13h30 **Travaux pratiques :**
- Présentation de l'expérience : Utilisation de l'ARN interférence et des antibiotiques pour l'étude de la translecture.
- Amplification des cellules
Jean-Pierre ROUSSET & Isabelle HATIN
- Travaux pratiques :**
- Manipulation des œufs : transfert des œufs dans un milieu de culture.
- 17h30 **Présentation des travaux de recherche des participants (15' d'exposé, 5' de questions)**
- Les cellules souches neurales de la rétine chez *Xenopus tropicalis* et *laevis*. Audrey TOUZOT.
- Recherche de nouveaux gènes de prédisposition aux cancers du sein. Xavier RENAUDIN.

Vendredi 29 Janvier

- 9h00 **Travaux pratiques :**
- Recherche critique d'informations dans les banques de données génétiques
- Recherche de gènes candidats pour la mutation patchwork à partir des données de cartographie génétique
- Utilisation des conservations de synténie entre la Souris et l'Homme
Jean JAUBERT
- Bilan de la recherche de gènes candidats.
- 13h30 **Enseignement théorique :**
Hemimelic extra toes (*Hx*), une mutation exemplaire.
Benoît ROBERT
- 14h15 **Travaux pratiques :**
Comment extraire de l'information sur la fonction des gènes par l'analyse de mutants chez la souris
Benoît ROBERT et Stéphane VINCENT
(préparation de squelettes, examen des embryons E9, E10, E11 et E12 *Kit^{W-lacZ}/+* colorés X-Gal, hybridation in toto, hybridation in situ etc.)
Démonstrations, observations, discussion.
- Travaux pratiques :**
- Observation des œufs au stade 2 cellules.
- 16h30 **Travaux pratiques :**
- Utilisation de l'ARN interférence et des antibiotiques pour l'étude de la translecture :
Changement de milieu
Jean-Pierre ROUSSET & Isabelle HATIN
- 17h00 **Présentation des travaux de recherche des participants (15' d'exposé, 5' de questions)**
- Etude d'un gène activé au cours de l'interaction neurone-glie. Caroline APRA.
- Rôle de la protéine ACK1 dans la voie de signalisation *Cell Wall Integrity* (CWI) chez la levure *Saccharomyces cerevisiae*. Michel BECUWE.

Cours de Génétique de la Souris 2009-2010

■ 4ème semaine ■

ENSEIGNEMENT THEORIQUE : *Technologie des puces à ADN; Lignage et analyse clonale ; Analyse génétique des caractères complexes; Cellules souches embryonnaires et adultes ; Petits ARNs et miARNs.*

ENSEIGNEMENT PRATIQUE : *Exemples d'analyse génétique de caractères complexes; Expérience sur la translecture; Analyse d'un phénotype embryonnaire complexe.*

Lundi 1er Février

- 9h00 **Enseignement théorique :**
Introduction à la Génétique Quantitative.
Xavier MONTAGUTELLI
- 11h00 **Enseignement théorique :**
Analyse de données obtenues sur des puces ADN.
Diana TRONIK-LE ROUX
- 13h30 **Travaux pratiques :**
Observation des blastocystes issus de la fécondation in vitro
- 14h00 **Travaux pratiques :**
- Utilisation de l'ARN interférence et des antibiotiques pour l'étude de la translecture :
Transfection

Mardi 2 Février

- 9h00 **Travaux pratiques :**
- Analyse de croisements pour étudier le déterminisme génétique du lupus érythémateux disséminé : utilisation de MapMaker
Xavier MONTAGUTELLI
- 13h30 **Travaux pratiques :**
- Utilisation de l'ARN interférence et des antibiotiques pour l'étude de la translecture :
Changement de milieu
Jean-Pierre ROUSSET & Isabelle HATIN
- 14h00 **Enseignement théorique :**
Small RNAs description and analysis in male and female ES cells and during the differentiation process.
Constance CIAUDO
- 16h00 **Enseignement théorique :**
Rôle des miRNA dans le contrôle du développement et de la différenciation chez les vertébrés.
Annick HAREL-BELLAN

Mercredi 3 Février

- 9h00 **Travaux pratiques :**
- Analyse de croisements pour étudier le déterminisme génétique du lupus érythémateux disséminé : MapManager QTX et J/qtl.
Xavier MONTAGUTELLI
- 13h30 **Travaux pratiques :**
- Utilisation de l'ARN interférence et des antibiotiques pour l'étude de la translecture :
Changement de milieu
Jean-Pierre ROUSSET & Isabelle HATIN

.../...

.../...

14h00 **Enseignement théorique :**
La résistance au virus de Theiler : Une analyse génétique du phénotype à l'aide de croisements entre lignées sensibles et résistantes au virus de Theiler.
Jean-François BUREAU

15h30 **Enseignement théorique :**
Analyse de l'effet du fonds génétique sur la mutation *ferrochelata* *deficiency* de la Souris.
Recherche de gènes modificateurs.
Marie ABITBOL

Jeudi 4 Février

9h00 **Enseignement théorique :**
Les cellules souches, embryonnaires et somatiques.
Jean-Jacques PANTHIER

10h30 **Enseignement théorique :**
Les cellules souches pluripotentes, des tératocarcinomes de la souris aux perspectives en médecine régénératives chez l'Homme.
Michel COHEN-TANNOUJJI

13h00 **Travaux pratiques :**
- Utilisation de l'ARN interférence et des antibiotiques pour l'étude de la translecture : Dosage des activités β -galactosidase et luciférase. Analyse et interprétation des résultats.
Isabelle HATIN & Jean-Pierre ROUSSET

Vendredi 5 Février

9h00 **Enseignement théorique :**
La souris comme modèle d'étude de cancérogenèse (1) : oncogènes
Boris BARDOT

10h30 **Enseignement théorique :**
La souris comme modèle d'étude de cancérogenèse (2) : suppresseurs de tumeurs
Franck TOLEDO

12h00 Pot de fin de cours

