



Rapport de Stage

Santiago Labale

Encadré par le Professeur Takarada Takeshi,
Directeur du Département de Sciences Régénératives de l'Université
d'Okayama

Stage

Pendant mon séjour au Département de Sciences Régénératives, je consacrai mes efforts à deux projets en lien avec la régénération des tendons, organes particulièrement sensibles à la dégénération en raison de leur pauvreté en cellules et vaisseaux sanguins.

Établissement d'une lignée cellulaire rapporteuse pour le gène *TNMD*

Le premier de ces projets fut l'établissement d'une lignée cellulaire rapporteuse pour le gène *TNMD*, dont l'importance pour le développement et la régénération des tendons est avérée mais mal comprise. Une lignée cellulaire rapporteuse se caractérise par la co-expression d'un gène rapporteur facilement détectable, ici le gène codant pour une protéine fluorescente *tdTomato*, avec le gène d'intérêt, ici *TNMD*. Ceci permet d'étudier plus facilement les conditions d'expression du gène d'intérêt.

Pour cela, nous avons construit deux vecteurs via différentes techniques de biologie moléculaire, et nous nous sommes servis de la technique CRISPR/Cas9 pour introduire de manière ciblée dans la région 3'UTR du gène *TNMD* la séquence nécessaire à la co-expression de *tdTomato*. (Fig. 1a). Ensuite, nous avons réalisé un protocole d'induction de ténocytes établi, et nous avons suivi l'évolution de la fluorescence et de l'activité de gènes marqueurs des tendons (Fig. 1b).

Les résultats montrent que l'expression de *TNMD* (mais pas celle des autres marqueurs de tendons) est diminuée dans la lignée rapporteuse par rapport à la lignée WT. De plus, aucune fluorescence n'a pu être détectée. Afin de résoudre ces problèmes, on pourrait induire de manière transitoire l'expression de la protéine recombinante Cre. Ainsi, on pourrait éliminer le gène floxé de résistance à la néomycine, qui n'est plus nécessaire.

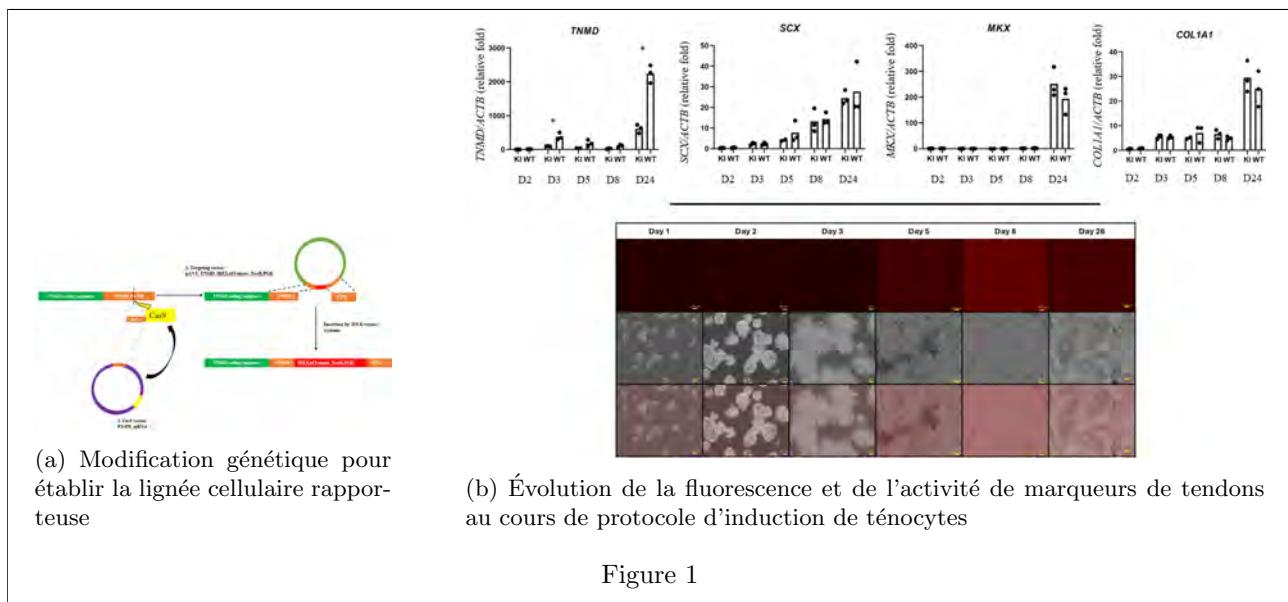


Figure 1

Mésoderme paraxial régionalisé

Pour le second projet, nous nous sommes intéressés aux conditions nécessaires pour obtenir des cellules du mésoderme paraxial (MP) régionalisées. En effet, le MP est l'un des tissus embryonnaires menant à la formation des tendons. À terme, les données obtenues pourront servir à proposer des protocoles d'induction cellulaire de ténocytes régionalisés.

Pour cela, nous avons effectué de nombreuses variations d'un protocole d'induction de MP, et nous nous sommes intéressés aux activités de gènes spécifiques de chaque région de ce tissu.

Les résultats montrent que le maintien de l'identité du MP nécessite d'éviter l'activation de la voie de signalisation TGFB. En effet, l'activation de cette voie réduit de manière systématique les marqueurs du MP. Au contraire, l'inhibition de la voie FGF semble empêcher la différenciation en MP. La voie Wnt joue un rôle central dans la régionalisation du MP: lorsque cette voie est fortement activée, le MP se postérieurise, alors que lorsqu'elle est activée de manière moins intense ou lorsqu'elle est inhibée, le MP s'antériorise (Fig. 2).

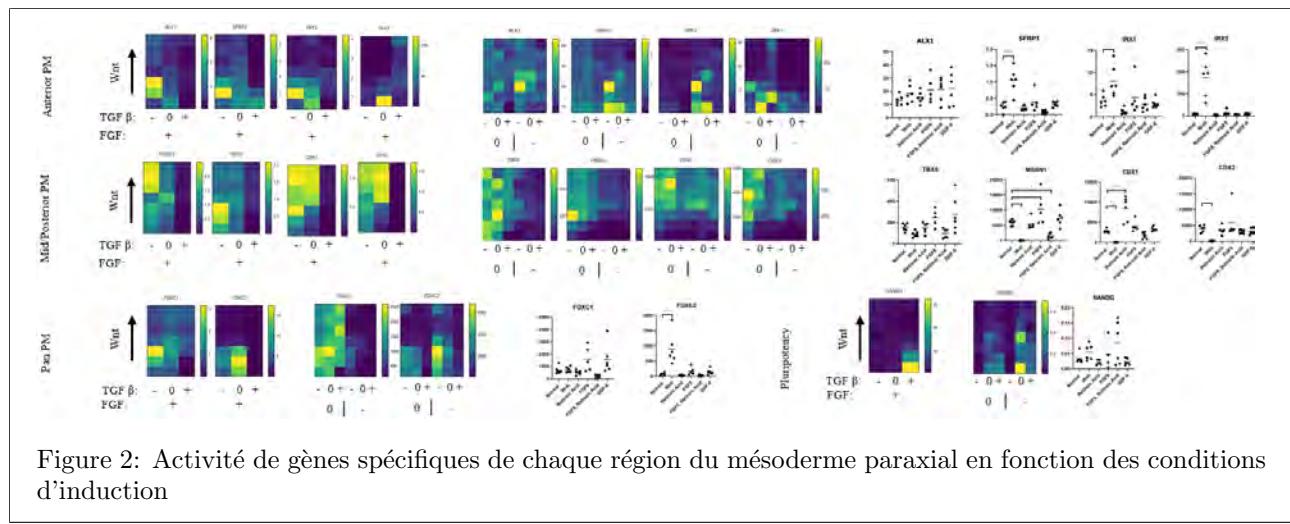


Figure 2: Activité de gènes spécifiques de chaque région du mésoderme paraxial en fonction des conditions d'induction

Ma vie au Japon

Mon séjour au Japon fut rempli d'expériences uniques, de nourriture délicieuse et de rencontres que je chérirai pour toujours. En travaillant côté à côté avec mes collègues japonais, je pus découvrir des aspects de la culture du pays qui m'auraient autrement passé inaperçus. Bien sûr, mes collègues m'invitaient souvent à des restaurants, à des réunions et me donnaient des recommandations expertes lors de mes voyages. Mais

en plus, en échangeant sur nos vies, nos relations et nos visions du monde, je pus avoir un aperçu réel d'une perspective culturelle complètement différente de celle avec laquelle j'ai grandi. Bien entendu, cela m'a permis de mieux comprendre le Japon et les Japonais, mais aussi de mieux comprendre ma propre culture, et cela constitue une magnifique leçon d'ouverture d'esprit.



En dehors de ma vie quotidienne à Okayama, cette expérience fut l'occasion de beaucoup voyager au Japon, et donc d'explorer avec liberté des endroits que je rêvais de visiter. J'ai donc eu la chance de visiter des grandes villes telles que Osaka, Kyoto, Tokyo et Hiroshima. J'ai également exploré énormément les alentours d'Okayama, qui cachent des lieux d'exception relativement peu connus. Ainsi, j'ai par exemple passé un week-end dans le village d'Itabara, situé dans les montagnes de Tottori, et j'ai visité la ville de Kurashiki, dont le quartier historique ne cessa de m'impressionner.

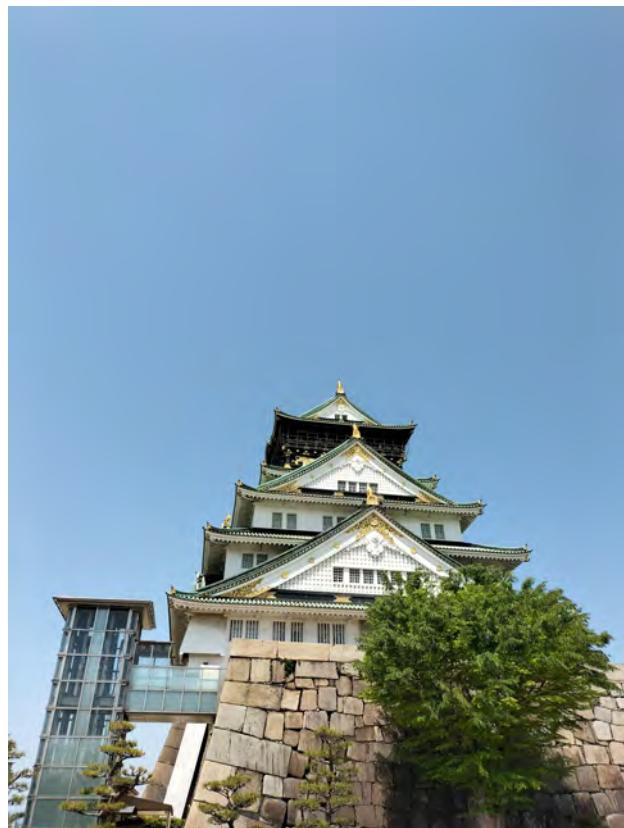
L'immense beauté du pays et de la culture, la gentillesse et le respect avec lequel j'ai été accueilli partout,

et le sentiment de sécurité qui règne m'ont donné une sensation de liberté et d'envie de découvrir que j'ai rarement rencontrées.

En somme, ce fut une expérience inoubliable pendant laquelle j'ai suivi une formation de qualité tout en découvrant une culture merveilleuse sous un angle unique. Je souhaite donc remercier l'Association des Anciens Boursiers Francophones de la JSPS pour leur soutien financier via une bourse Takenoko, grâce à laquelle j'ai pu profiter au maximum de mon séjour au Japon. Je voudrais également remercier Mme. Anne-Lise Poquet, pour avoir accepté d'être ma marraine et avoir donc rendu possible ma candidature, ainsi que pour son soutien tout au long du séjour.



(a) Kitano Tenmangu, Kyoto



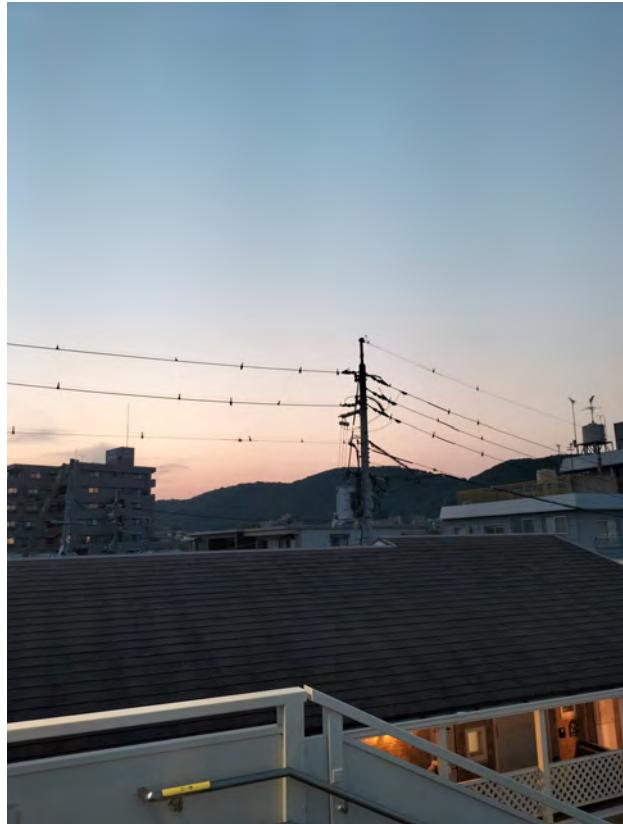
(b) Château d'Okayama



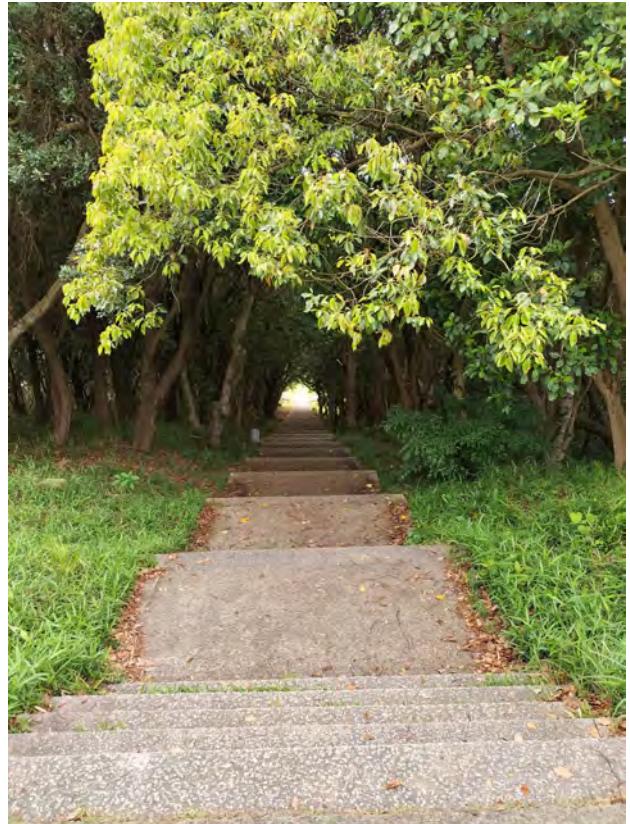
(c) Dotombori, Osaka



(d) Tunnel d'Itaibara, préfecture de Tottori



(a) Coucher du Soleil depuis la station Hokaiin, Okayama



(b) Sanctuaire Ushimado, Ushimado



(c) Village submergé, Setouchi