

# Phénotypage de lignées transgéniques de poisson zèbre d'intérêt pour l'étude du système immunitaire

Nam Do Khoa<sup>1</sup>, Aurélie Lunazzi<sup>1</sup>, Elodie De Job<sup>2</sup>, Pierre Affaticati<sup>2</sup>, Arnim Jenett<sup>2</sup>, Jean Stéphane Joly<sup>2</sup>, Pierre Boudinot<sup>1</sup> & Christelle Langevin<sup>1</sup>

<sup>1</sup> INRA, Unité de Virologie et Immunologie Moléculaires, Jouy en Josas

<sup>2</sup> CNRS, TEFOR Core Facility, Gif sur Yvette

TEFOR: TRANSGENESE POUR LES ETUDES FONCTIONNELLES CHEZ LES ORGANISMES MODELES

Projet Grand Emprunt Infrastructures 2012-2018

- ❖ Transgénèse – Mutagénèse – Phénotypage
- ❖ Deux espèces: le poisson zèbre et la drosophile
- ❖ Trois sites de phénotypage chez le poisson zèbre /trois expertises
  - Peau-Muscles-Gonades : LPGP-INRA Rennes
  - Système Nerveux Central: TEFOR core facility-CNRS Gif sur Yvette
  - Système Immunitaire: VIM-INRA Jouy en Josas

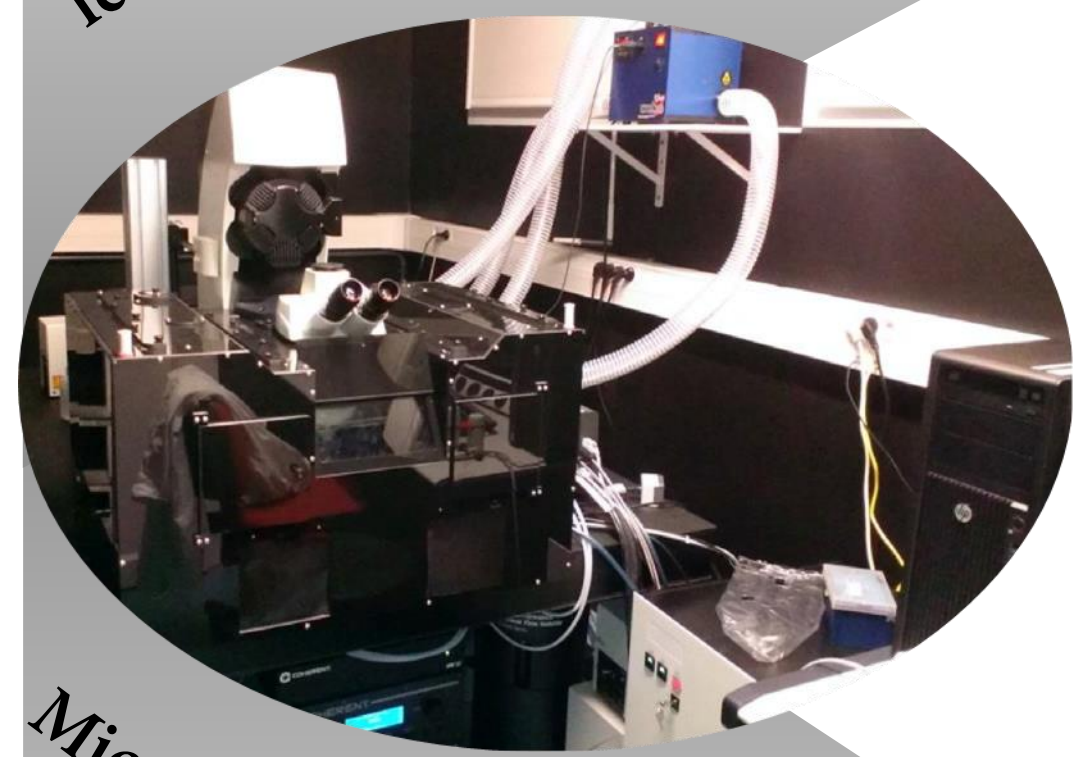
www.tefor.fr

TEFOR est une plateforme de phénotypage des organismes modèles

TEFOR A L'INRA DE JOUY-EN-JOSAS

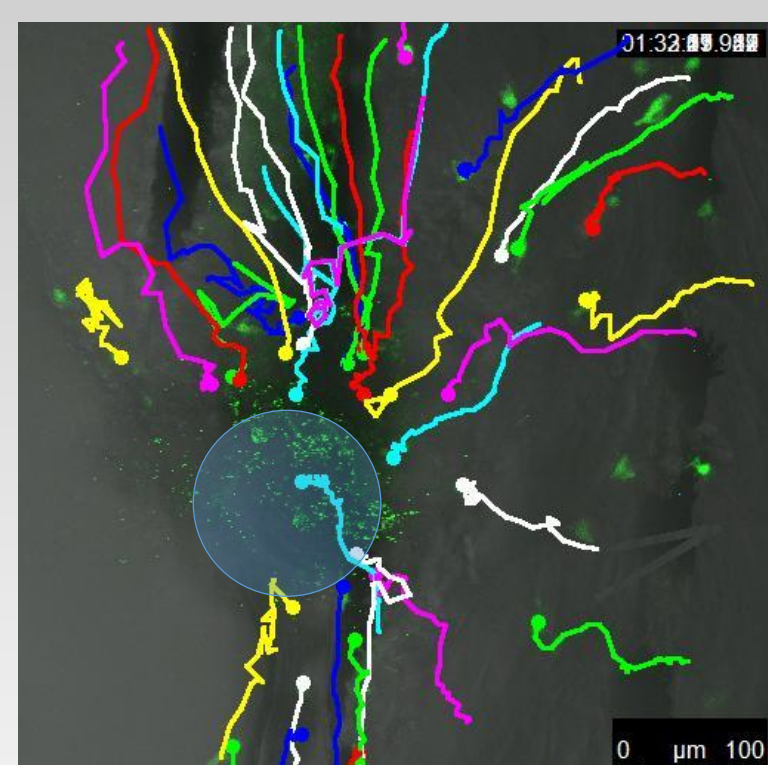
- ❖ Phénotypage de lignées transgéniques de poisson zèbre pour l'étude du système immunitaire:
  - Au cours du développement (larve et juvénile)
  - Sur tissus fixés ou en temps réel

Zone pathogène IERP pour les infections expérimentales



Microscope Sp8 deux photons

- ❖ Caractérisation fonctionnelle:
  - Recrutement des cellules d'intérêt au site d'inflammation



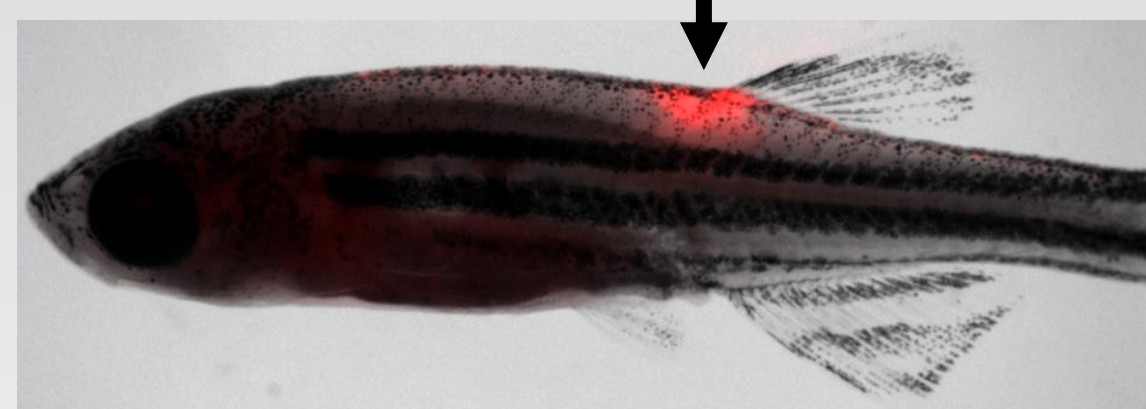
Photoablation

Imagerie en temps réel

Analyse d'images: tracking

- Activité de phagocytose *in vivo* de pathogènes fluorescents

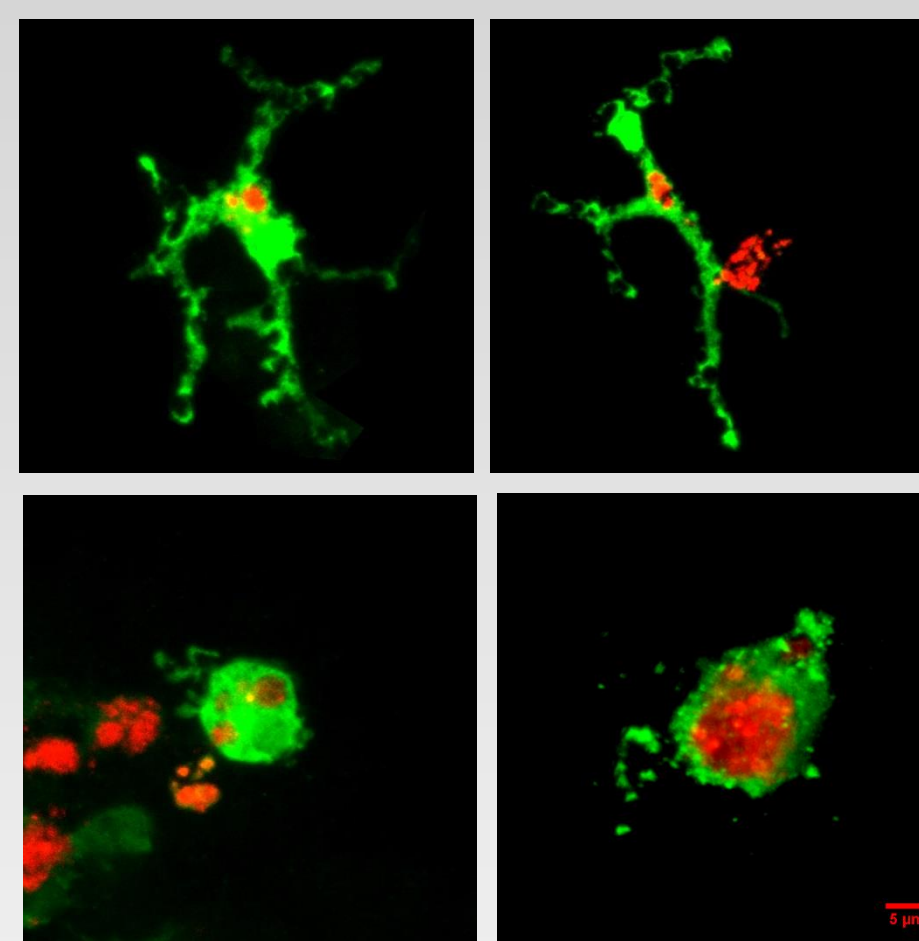
Injection intramusculaire d'E.coli-Alexa594 en lignées mpeg:GFP (macrophages)



Observation *in vivo* de cellules GFP<sup>+</sup> phagocytaires de différentes morphologies

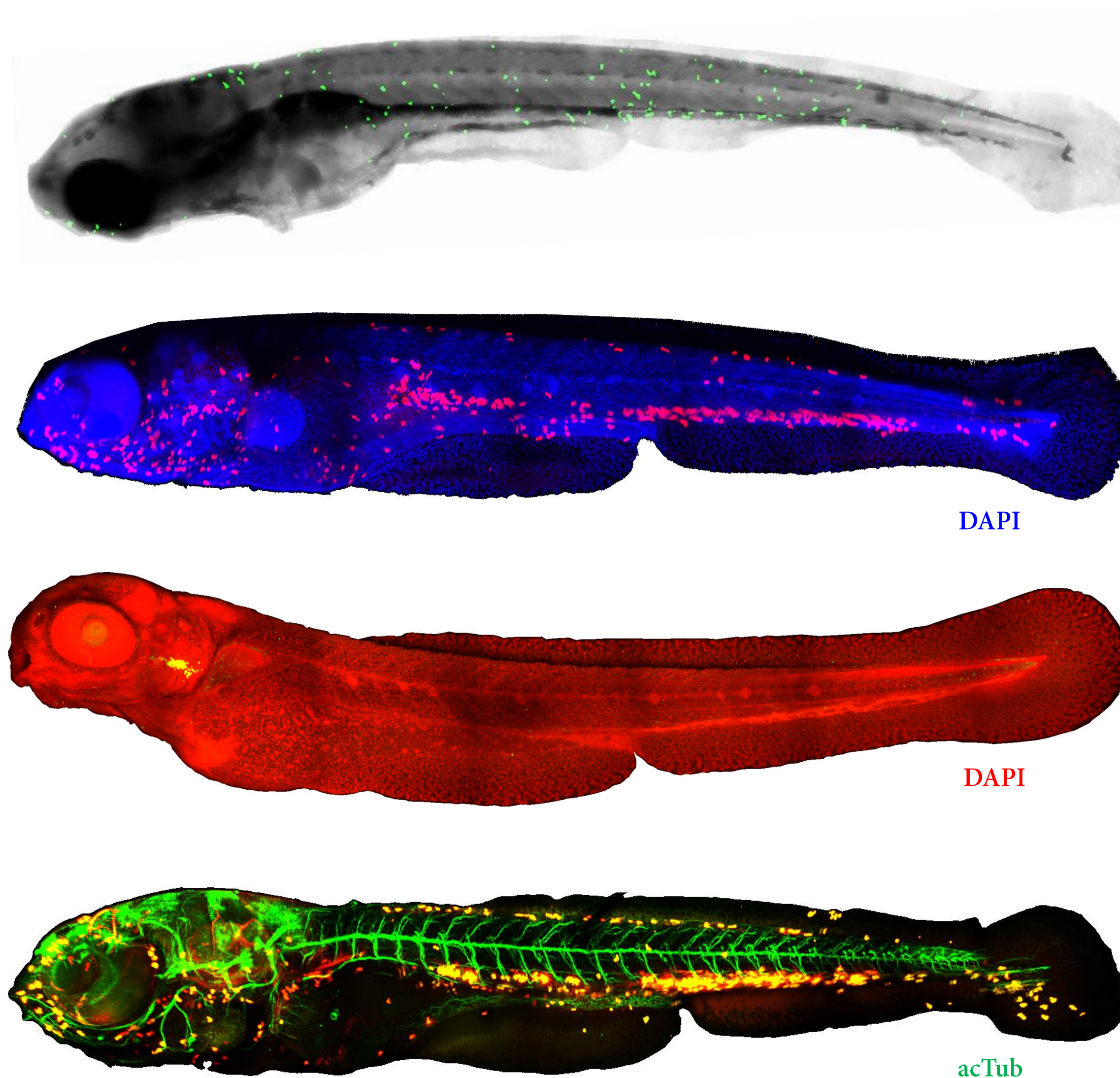
type dendritique

type macrophage



20 µm

TEFOR SHOW CASE



DAPI

DAPI

acTub

0,5 mm

Larves âgées de 10 jours post fertilisation

Contre marquages:

- nucléaires: DAPI
- axonal: tubuline acétylée

Nous avons phénotypé 6 lignées de référence d'intérêt pour l'étude du système immunitaire au stade « précoce » du développement (10dpf). Les images des stades juvéniles seront obtenues après **transparisation**.

- La mise au point de méthodes d'imagerie en temps réel sur des stades juvéniles a permis de visualiser
- le recrutement des cellules d'intérêt au site d'inflammation (injection de pathogène/photoablation)
  - la phagocytose de pathogènes fluorescents par les cellules d'intérêt à proximité du site d'injection.