



RQR

*Réseau Québécois
en reproduction*

**11^{ème} Symposium annuel du
Réseau Québécois en reproduction
13-14 novembre 2018
New Residence Hall, Montréal**

**11th Annual Symposium of the
Réseau Québécois en reproduction
November 13-14 2018
New Residence Hall, Montréal**

À tous les membres du RQR, stagiaires et autres participants,

Il me fait plaisir de vous souhaiter la bienvenue à cette 11^{ème} édition du Symposium du RQR. Notre Symposium annuel est tellement essentiel pour le RQR qu'il est presque devenu synonyme du réseau lui-même (combien de fois avez-vous entendu « Je vais au RQR cette année » ?). Le Symposium est non seulement notre meilleure opportunité de réseautage au sein de notre communauté régionale en biologie de la reproduction, mais également une excellente occasion de présenter notre science, qui est indéniablement de premier ordre.

Le Symposium de cette année mettra en vedette une liste exceptionnelle de conférenciers invités. Le premier jour, l'invité de l'axe 3, le [Dr Martin Matzuk](#) du Baylor College of Medicine, présentera une conférence intitulée « Genetic and Chemical Approaches to Fertility and Contraception ». Le deuxième jour, les invités des axes 1 et 2 seront à l'honneur. La [Dre Shanna Swan](#), de l'Icahn School of Medicine at Mount Sinai, traitera du thème « Altering the Fetal Hormonal Environment : Endocrine Disruption and Male Reproductive Development », et le [Dr Miguel Ramalho-Santos](#) de University of Toronto donnera une présentation sur « Epigenetic Regulation of Pluripotency ».

Grâce à une importante initiative proposée par notre comité de mobilisation des connaissances, nous avons également invité [Frédéric Fortin](#) du Centre de développement du porc du Québec. Le sien sera le premier d'une série de séminaires donnés lors de notre Symposium annuel dans le but de sensibiliser les membres du RQR aux enjeux liés à la reproduction auxquels font face les différentes industries de l'élevage québécois. Nous espérons que cette série de séminaires fournira aux scientifiques du RQR de nouvelles idées et perspectives et aidera à créer de nouveaux partenariats de recherche en collaboration avec l'industrie.

Nous nous attendons à un symposium interactif et passionnant, ici, au New Residence Hall de McGill University, au centre-ville de Montréal. S'il vous plaît, profitez de chaque occasion pour bénéficier de cet événement.

Au plaisir d'interagir avec vous tous,

Derek Boerboom, Directeur du RQR

To all RQR members, trainees and other participants,

It is my pleasure to welcome you to this 11th edition of the RQR Symposium. Our yearly Symposium is so vital to the RQR that it has almost come to be synonymous with the network itself (how many times have you heard "I'm going to the RQR this year"?). Not only is the Symposium our best networking opportunity within our regional reproductive biology community, but also a great opportunity to showcase our science, which is undeniably first-rate.

This year's Symposium will feature an outstanding slate of invited speakers. On the first day, axis 3 invitee [Dr. Martin Matzuk](#) from Baylor College of Medicine will present a talk entitled "Genetic and Chemical Approaches to Fertility and Contraception". On the second day, the guests of axes 1 and 2 will take center stage. [Dr. Shanna Swan](#) from Icahn School of Medicine at Mount Sinai will speak on the topic of "Altering the Fetal Hormonal Environment: Endocrine Disruption and Male Reproductive Development", and [Dr. Miguel Ramalho-Santos](#) from the University of Toronto will present a talk entitled "Epigenetic Regulation of Pluripotency".

As an important new initiative proposed by our Knowledge Translation committee, we have also invited [Frédéric Fortin](#) from the Centre de Développement du Porc du Québec. His will be the first in a series of seminars given at our yearly Symposium aimed at increasing awareness among RQR members of issues related to reproduction faced by the different Quebec livestock industries. It is our hope that this seminar series will provide RQR scientists with new ideas and perspectives, as well as help to create new collaborative research partnerships with industry.

We look forward to an exciting and interactive symposium here at McGill's New Residence Hall in downtown Montreal. Please take every opportunity to profit from this event.

Looking forward to interacting with all of you,
Director

Derek Boerboom, RQR



Table des matières

Mot du directeur	1
Table des matières	2
Programme	3
Résumés session I (présentations orales)	5
Résumés session II (présentations orales)	11
Conférence Frédéric Fortin	16
Résumés session d'affiches I	17
Conférence Martin Matzuk	45
Résumés session d'affiches II	46
Conférence Shanna Swan	75
Résumés session III (présentations orales)	76
Résumés session IV (présentations orales)	79
Conférence Miguel Ramalho-Santos	86
Notes	87
Partenaires financiers	88
Liste des participants	89

Table of contents

Message from the Director	1
Table of content	2
Agenda	3
Session I abstracts (oral presentations)	5
Session II abstracts (oral presentations)	11
Conference Frédéric Fortin	16
Poster session I abstracts	17
Conference Martin Matzuk	45
Poster session II abstracts	46
Conference Shanna Swan	75
Session III abstracts (oral presentations)	76
Session IV abstracts (oral presentations)	79
Conference Miguel Ramalho-Santos	86
Notes	87
Financial Partners	88
List of participants	89

Programme du 11^e Symposium du Réseau Québécois en reproduction
Agenda of the 11th Symposium of the Réseau Québécois en reproduction

Mardi 13 novembre – Tuesday November 13th

9h00 – 10h00	Inscription <i>Inscription</i>
10h00 – 10h15	Mot de bienvenue <i>Welcome</i>
10h15 – 11h30	Présentations: Session I <i>Presentations: Session I</i>
11h30 – 13h00	Dîner <i>Lunch</i>
13h00 – 14h00	Présentations: Session II <i>Presentations: Session II</i>
14h00 – 14h30	Court séminaire en production animale/ <i>Animal production short seminar</i> Frédéric Fortin-CDPQ <u>Les enjeux du secteur porcin en reproduction</u>
14h30 – 16h00	Pause-café et session d'affiches I <i>Coffee Break and Poster Session I</i>
16h00 – 17h00	Conférencier invité /Invited speaker *** Dr. Martin Matzuk (Baylor College of Medicine, Texas) <u>Genetic and Chemical Approaches to Fertility and Contraception</u>
17h00 – 17h15	Remise du Prix MdC du RQR <i>RQR KT Award Presentation</i>
17h15 – 19h00	Cocktail sponsorisé par le SSR <i>Cocktail sponsored by the SSR</i>

Mercredi 14 novembre - Wednesday November 14th

9h00 – 10h30	<u>Session d'affiches II</u> <u>Poster Session II</u>
10h30 – 11h30	Conférencière invitée/ <i>Invited Speaker</i> *** <u>Dr. Shanna Swan (Icahn School of Medicine at Mount Sinai)</u> <u><i>Altering the Fetal Hormonal Environment: Endocrine Disruption and Male Reproductive Development</i></u>
11h30 – 12h00	Présentations: <u>Session III</u> <i>Presentations: <u>Session III</u></i>
12h00 – 13h30	Dîner Lunch
13h30 – 15h00	Présentations: <u>Session IV</u> <i>Presentations: <u>Session IV</u></i>
15h00 – 15h15	Pause-café Coffee Break
15h15 – 16h15	Conférencier invité/ <i>Invited Speaker</i> *** <u>Dr. Miguel Ramalho-Santos (Lunenfeld-Tanenbaum Research Institute)</u> <u><i>Epigenetic Regulation of Pluripotency</i></u>
16h15 – 16h30	Remise des prix – Fermeture de la session <i>Awards presentation – Closing of session</i>

**Présentations – Presentations : Session I
13 novembre – November 13th
10h15 – 11h15**

**Présidente – Chair : Clémence Belleannée
Co-présidente – Co-Chair : Laura Girardet**

I. Caractérisation des Isoformes d'Akt dans l'ovaire et leurs impacts sur la réserve ovarienne: résultats préliminaires

Dadou L. Lokengo, PhD Student, Université du Québec à Trois-Rivières (Page 6)

10h15 – 10h30

II. La voie de signalisation SLIT-ROBO participe à la régulation de la stéroïdogenèse dans les cellules de Leydig

Emmanuelle Martinot, Postdoctoral Fellow, Université de Montréal (Page 7)

10h30 – 10h45

III. Étude du profil épigénétique spermatique au cours de la maturation post-testiculaire.

Hong Chen, PhD Student, Université Laval (Page 8)

10h45 – 11h00

IV. Action antitumorale de la mélatonine dans le cancer placentaire: rôle de la réponse UPR, de l'autophagie et de l'apoptose

Josianne Bienvenue-Pariseault, PhD Student, INRS- Institut Armand Frappier (Page 9)

11h00 – 11h15

V. The effects of a folate deficiency on the sperm epigenome and the implications in embryo development

Ariane Lismer, MSc Student, McGill University (Page 10)

11h15 – 11h30

Caractérisation des Isoformes d'Akt dans l'ovaire et leurs impacts sur la Réserve Ovarienne: Résultats Préliminaires

Dadou L. Lokengo¹, Laurence Tardif¹, Sophie Parent¹, Eric Asselin¹

¹Université du Québec à Trois-Rivières

La réserve ovarienne (R.O.) est un des déterminants de la fertilité. Son altération aboutit au vieillissement ovarien (V.O.) et à l'infertilité. Ces dernières décennies, les femmes tendent à repousser leur premier accouchement au-delà de 35 ans, l'infertilité due au V.O. va grandissante. Cet épuisement se fait par la croissance et l'atréxie folliculaires, phénomènes régulés par Akt. L'accent mis sur la thérapeutique concernant le V.O. appelle à élucider ses mécanismes. Les études établissent le rôle d'Akt dans la folliculogénèse mais pas ceux de ses trois isoformes. Cependant, elles peuvent avoir des rôles spécifiques. En cela, cette étude paraît utile car pouvant ouvrir la voie à des thérapeutiques spécifiques pour les femmes atteintes de V.O. précoce et désireuses de concevoir. Notre objectif est de caractériser ces isoformes dans l'ovaire et déterminer leur impact sur la R.O. Avec des souris sauvages et Knock Out utéro-ovariens spécifiques d'isoformes d'Akt obtenues grâce au système PR-Cre (45 et 100 jours), nous avons étudié l'expression de ces isoformes et comparé le nombre de follicules après coloration à l'hématoxyline et éosine, l'expression de certaines cibles d'Akt par immunohistochimie. Les résultats tendent à montrer que ces isoformes montrent une expression variable et qu'il n'y a pas d'effet significatif de leur annulation à 45 jours; cet effet devient significatif à 100 jours. Il ressort que c'est la double annulation de certaines isoformes (1 et 3) qui altère la R.O. Certaines cibles d'Akt (Bad, Fox03a) sont phosphorylées par certaines isoformes (Akt3 et Akt1) que par d'autres (Akt2) pour la protection de la R.O.

La voie de signalisation SLIT-ROBO participe à la régulation de la stéroïdogénèse dans les cellules de Leydig

Emmanuelle Martinot¹ and Derek Boerboom¹

¹Université de Montréal

Les ligands SLITs (SLIT1, 2, 3) sont des glycoprotéines sécrétées agissant via les récepteurs trans-membranaires ROBOs (ROBO1, 2, 3, 4). La signalisation SLIT-ROBO régule les processus cellulaires d'adhésion, de prolifération et de survie dans divers organes (cerveau, poumons, reins, coeur, glandes mammaires, ovaires...) dont le testicule, dans lequel il a été montré chez la drosophile qu'elle module l'adhésion des cellules souches à leur niche. A ce jour, cette étude est la seule à s'être intéressée au rôle de cette voie de signalisation dans le testicule, sur lequel nous nous sommes penchés en utilisant le modèle murin. Nous montrons que les acteurs de la voie SLIT-ROBO sont exprimés dans les principaux types cellulaires du testicule (Leydig, Sertoli, cellules germinales). Pour la suite de ce travail, nous nous sommes focalisés sur les cellules de Leydig. Nous montrons, in vitro, que l'activation de la voie dans la lignée cellulaire MA10 et dans les cellules primaires de Leydig conduit à une diminution de l'expression des gènes codant les enzymes stéroïdogènes Star, Cyp11a1 et Cyp17a1, accompagnée d'une diminution de la concentration de progestérone (MA10) et de testostérone (Leydig primaire) dans le milieu de culture. Cette répression de la stéroïdogénèse est due à une diminution de la phosphorylation (et donc de l'activation) du facteur de transcription CREB, dépendante non pas de la PKA, mais de la kinase AKT. Ce travail identifie pour la première fois le rôle de la voie SLIT-ROBO dans la fonction testiculaire, en particulier la fonction endocrine, chez les mammifères.

Étude du profil épigénétique spermatique au cours de la maturation post-testiculaire.

Hong Chen¹, Marie-Pier Scott-Boyer¹, Arnaud Droit¹, Claude Robert¹, Clémence Belleannée¹

¹Université Laval

Contexte général. Le génome spermatique étant hypercondensé, les modifications épigénétiques au cours de la maturation post-testiculaire sont considérées comme étant limitées. Bien que des études aient montré que l'épigénome spermatique pouvait être modifié en transitant dans l'épididyme (la méthylation de l'ADN et des petits ARN non codant), peu de données existent en ce qui concerne le profil dynamique de méthylation de l'ADN spermatique entre le testicule et les différents segments de l'épididyme.

Objectifs et méthodes. Notre objectif est de cartographier le profil de méthylation de l'ADN spermatique au cours de la maturation post-testiculaire des gamètes mâles. Les spermatozoïdes provenant du testicule et des différentes régions épididymaires (caput, corpus et cauda) de souris transgéniques (Acr3-EGFP, CAG/su9-DsRed2) ont été isolés par cytométrie en flux. Après extraction de l'ADN, le profil de la méthylation de l'ADN a été réalisé par Séquençage au Bisulfite de Représentation Réduite (RRBS, Diagenode).

Résultats. La purification des spermatozoïdes testiculaires et épididymaires a été estimée entre 90% et 98% par validation au microscope à fluorescence. Nous avons identifié 5546 sites de méthylation modifiés entre le caput et le testicule, 2228 entre le corpus et le testicule, mais seulement 227 entre le cauda et le testicule. Ces modifications de méthylation ont principalement été trouvées dans les régions intergéniques.

Conclusion et perspective. De nombreux sites différenciellement méthylés ont été identifiés au cours de la maturation post-testiculaire spermatique. Ultiment, le rôle potentiel de ces signatures sera évalué au cours du développement embryonnaire et postnatal après injection intracytoplasmique de spermatozoïdes.

Action antitumorale de la mélatonine dans le cancer placentaire: rôle de la réponse UPR, de l'autophagie et de l'apoptose

Josianne Bienvenue-Pariseault^{1,2,3,4}, Lucas Sagrillo-Fagundes^{1,2,3,4}, Philippe Wong-Yen^{1,2,3,4}, Cathy Vaillancourt^{1,2,3,4}

¹INRS-Institut Armand-Frappier, ²Centre de recherche interdisciplinaire sur le bien-être, la santé, la société et l'environnement (CINBIOSE), ³Réseau Québécois en Reproduction (RQR), ⁴BioMed

Contexte : Le choriocarcinome placentaire affecte une grossesse sur 40 000. Les femmes ayant ce cancer sont traitées avec des chimiothérapies qui entraînent un risque tératogénique pour les grossesses subséquentes. La mélatonine, via une action sur le stress du réticulum endoplasmique (RE), l'autophagie et l'apoptose, exerce un effet cytotoxique dans les cancers ovariens et du sein. Cependant, son effet dans les cellules de choriocarcinomes placentaires (BeWo) n'a jamais été établi. **Hypothèse** : La mélatonine exerce une action antitumorale dans les BeWo. **Objectifs** : Déterminer dans les BeWo, si la mélatonine a un effet sur : 1) le stress du RE, 2) l'autophagie et 3) l'apoptose. **Méthodologie**: Les cellules BeWo ont été exposées ou non à la mélatonine (1mM) sous normoxie (8%-O₂). L'expression protéique et l'ARNm des facteurs impliqués dans le stress du RE, l'autophagie ainsi que l'apoptose ont été analysées par immunobuvardage et RT-qPCR. **Résultats** : La mélatonine, comparée au DMSO, augmente significativement les taux protéiques de GRP78 (400%), IRE1α (257%), PERK (190%), P-eIF2α (108%), ATF4 (85%) et CHOP (58%), mais n'affecte pas TRAF2, NFκB et le clivage de l'ARNm XBP1. La mélatonine augmente la phosphorylation d'AMPK (670%) et les taux protéiques d'ATG7 (97%), mais n'a pas d'effet sur le flux autophagique. Elle augmente les taux protéiques de Parp clivé (74%) et a tendance à augmenter le ratio Bax/BCL2. **Conclusion** : Cette étude suggère que l'action antitumorale de la mélatonine dans le choriocarcinome placentaire est médiée par l'induction de la voie du stress du RE UPR-PERK qui conduit à l'apoptose.

The effects of a folate deficiency on the sperm epigenome and the implications in embryo development

Ariane Lismer¹, Christine Lafleur², Vanessa Dumeaux³, Sarah Kimmins^{1,2}

¹Department of Pharmacology and Therapeutics, McGill University, Montreal, Québec, Canada., ²Department of Animal Science, McGill University, Sainte Anne de Bellevue, Québec, Canada., ³PERFORM Center Concordia University, Montreal, Quebec, Canada.

A father's environmental exposure to toxicants and poor diet influence disease transmission across generations, potentially through epigenetic inheritance (Lambrot et al., 2015 & Li et al., 2017 & Carone et al., 2010).

To investigate if a paternal folate deficiency outside periods of epigenetic reprogramming altered the sperm epigenome, we fed wildtype (WT) C57BL/6 males a folate sufficient (FS, 2.0 mg/kg) or folate deficient (FD, 0.3 mg/kg) diet beginning at weaning for a full spermatogenic cycle. In order to determine whether there can be cumulative damages to the sperm epigenome, we also fed a FS or FD diet to a transgenic (TG) mouse model overexpressing the lysine-specific histone demethylase KDM1A in sperm. The WT and TG male mice fed either a FS or FD diet were then bred to WT C57BL/6 females on a regular diet. Pregnancy losses and a quantitative skeletal analysis were assessed on embryonic day 18.5 mice. We performed ChIP-sequencing for H3K4me3 on the sperm of the adult sires to quantitate for differential histone enrichment across treatment groups.

Paternal folate deficiency in WT and TG males was associated with an increase number of pre-implantation losses. Skeletal analysis at embryonic day E18.5 revealed a significant increase in severe abnormalities in the offspring sired by FD TG. In addition, preliminary analysis suggests that sires on the FD diet have altered H3K4me3 enrichment in their sperm. Analysis is ongoing.

This work will contribute to the broader understanding of how paternal lifestyles can influence embryonic development and offspring health.

**Présentations – Presentations : Session II
13 novembre – November 13th
13h00 – 14h00**

**Présidente – Chair : Sylvie Girard
Co-présidente – Co-Chair : Virginie Gaudreault**

I. Epidermal growth factor receptor-mediated activation of Rho kinase triggers physical uncoupling of the cumulus granulosa cells from the oocyte during meiotic maturation

Laleh Abbassi, PhD Student, McGill University (Page 12)

13h00 – 13h15

II. Mouse embryos are susceptible to cohesion fatigue

Adélaïde Allais, PhD Student, Université de Montréal (Page 13)

13h15 – 13h30

III. Adverse effects of environmental contaminants on the spermatogonial stem cell epigenome and transcriptome are palliated by omega-3 fatty acids

Mathieu Dalvai, Research Professional, Université Laval (Page 14)

13h30 – 13h45

IV. Tetraploidy leads to inner cell mass deficiency in the early mouse embryo

Lia Mara Gomes Paim, PhD Student, Université de Montréal (Page 15)

13h45 – 14h00

Epidermal growth factor receptor-mediated activation of Rho kinase triggers physical uncoupling of the cumulus granulosa cells from the oocyte during meiotic maturation

Laleh Abbassi^{1,2,4,5}, Stephany El-Hayek^{1,3,4,5}, Hugh J. Clarke^{1,2,3,4,5}

¹Research Institute, McGill University Health Centre, ²Division of Experimental Medicine, ³Departments of Biology, ⁴Department of Obstetrics and Gynecology, ⁵McGill University

During oocyte growth in mammals, the surrounding granulosa cells elaborate many specialized actin-rich filopodia, termed transzonal projections (TZPs), that contact the oocyte plasma membrane and enable transmission of essential signals and metabolites. During meiotic maturation, the TZPs are lost, freeing the germ cell of these granulosa-cell regulatory influences prior to fertilization. Here we have defined the signalling pathway that regulates TZIP-loss. We show that, in cumulus cell-oocyte complexes (COCs) containing fully grown immature oocytes, a high level of cyclic GMP (cGMP) in the cumulus cells is required to prevent a spontaneous slow loss of the TZPs. During maturation, activation of EGFR signaling triggers a rapid loss of the TZPs. This loss occurs independently of oocyte maturation, indicating that it is regulated entirely by signaling within the cumulus cells. Suppression either of ERK MAP kinase signalling or of phosphodiesterase-5 activity, which selectively hydrolyzes cGMP, fully blocks the EGF-induced TZIP-loss. Moreover, inhibition of Rho-associated kinase (ROCK), whose activity promotes actomyosin contractility and filopodial retraction in neuronal axons and dendrites, also blocks TZIP retraction. Strikingly, ROCK activity is blocked by cGMP-regulated protein kinase G, mechanistically linking the decrease in cGMP to TZIP loss. Thus, prior to oocyte maturation, high levels of cGMP in the cumulus cells maintain TZPs and, during maturation, EGFR-regulated decrease in cGMP enables activation of ROCK, which triggers retraction of the TZPs likely via actomyosin contractility. Our results reveal a new role for cGMP in regulating cumulus cell-oocyte communication and identify the molecular mechanism underpinning TZIP loss during maturation.

Mouse embryos are susceptible to cohesion fatigue

Adélaïde Allais¹ and Greg FitzHarris^{1,2}

¹Centre de recherche du CHUM (CRCHUM), Université de Montréal, QC, Canada,
²Département d'obstétrique-gynécologie, Université de Montréal, QC, Canada

Preimplantation embryos often comprise cells with the correct (euploid) and wrong number of chromosomes (aneuploid) due to chromosome segregation errors. Such 'mosaic' embryos may reduce reproductive success, but how these errors arise remains unclear. The timing of early embryo cell divisions is variable and is emerging as a potential indicator of embryo health in clinics. In somatic cells, extended mitosis can cause premature separation of sister chromatids, a phenomenon known as 'cohesion fatigue'. Therefore, we set out to determine whether embryos are susceptible to cohesion fatigue. We manipulated the duration of mitosis in two-cell stage embryos with the Anaphase-Promoting-Complex inhibitor. Live 3D-confocal imaging of Sir-Tubulin, H2B:RFP and MajSatTALE:mClover revealed that mitotic arrest triggered a pronounced spindle elongation and loss of chromosome alignment. Fixed cell experiments confirmed a time dependent loss of chromosome alignment and revealed that almost all the misaligned chromosomes were prematurely separated sister chromatids, as opposed to sister-pairs. The loss of sister cohesion was preceded by an increase in inter-kinetochore distances. Formal counting of the proportion of separated sisters by labelling kinetochores after spindle disassembly revealed that 4% of all sister pairs had individualized by 6 hours of mitotic arrest, and 66% by 24 hours. Strikingly, live cell and fixed experiments suggest that the earliest cohesion fatigue events can happen as little as 2 hours into mitosis, a timescale not dissimilar from the normal duration of mitosis. We therefore speculate that cohesion fatigue may be a previously unappreciated cause of aneuploidy in the preimplantation embryo.

Funding:CIHR Operating Grant

Adverse effects of environmental contaminants on the spermatogonial stem cell epigenome and transcriptome are palliated by omega-3 fatty acids

Mathieu Dalvai¹ and Janice L. Bailey¹

¹Research Center on Reproduction, Development and Intergenerational Health, Department of Animal Sciences, Laval University, Québec City, Canada

Environmental contaminants, including persistent organic pollutants (POPs) and methyl-mercury (CH₃Hg), have been associated with epigenetic changes following *in utero* and adult exposure. Perturbation of the germline epigenome is of concern as it may impact the development of future generations. Moreover, the impact of multiple pollutants remains poorly established. We used mouse spermatogonial stem cells (SSCs) as an *in vitro* model to test three hypotheses pertaining to paternal transmission of environmental exposures:

1. **An environmentally-relevant POPs mixture ± CH₃Hg perturbs SSC proliferation.**
2. **POPs+CH₃Hg synergistically disrupt the SSC transcriptome and epigenome.**
3. **Phenotypes are offset by omega-3 fatty acids (n-3).**

Time- and dose-dependent experiments showed that POPs reduce SSC proliferation while n-3 have no effect (n=3; P < 0.01). CH₃Hg increases SSC proliferation until 50 nmol/L (n=3; P < 0.05) but reduces proliferation at 100 nmol/L (n=3; P < 0.01). Surprisingly, a combination of POPs+ CH₃Hg at levels observed in European and Canadian populations which are below regulatory agency recommendations, increased proliferation (n=3; p < 0.001). These effects are prevented by n-3 (n=3; p < 0.05). Transcriptomic analysis further demonstrated that n-3 partially restore gene expression, while chromatin immunoprecipitation revealed that H3K4me₃, H3K27me₃ and H2A.Z variant are modulated corresponding to gene expression.

Together, these results support all three hypotheses. Environmentally-relevant contaminants synergistically disrupt the epigenome and transcriptome of SSC, which could explain paternally-mediated effects on offspring development and challenge the relevance of regulatory agency guidance values. Moreover, n-3 may be a nutri-epigenetic strategy to protect or reverse SSC from these perturbations.

Tetraploidy leads to inner cell mass deficiency in the early mouse embryo

Lia Mara Gomes Paim² and Greg FitzHarris^{1,2}

¹Université de Montréal , ²Centre de Recherche du CHUM, Montréal, Canada, H2X 0A9

We have recently shown that embryo binucleation - commonly observed in human embryos in the clinics - leads to tetraploidy, chromosomal instability and aneuploidy. However, whether binucleation affects development in other ways is unclear. We thus investigated the effects of binucleation on cell fate decisions in mouse. We induced binucleation in 2-cell embryos and used a combination of micromanipulation techniques and high resolution imaging to analyse embryo development. Tetraploid blastocysts had dramatically reduced rates of OCT4-positive cells (7.6%) as compared to controls (13.4%), indicating a failure to develop a proper Inner Cell Mass (ICM). By tracking individual cells in live embryos we found that blastocoel formation occurs in tetraploid embryos when there are too few inner cells to effectively form an ICM. To determine the role of cell numbers, we used a micromanipulation technique to remove one nucleus out of 2-cell binucleated embryos to assess whether the same ICM deficiency phenotype would occur in diploid embryos with cell numbers reduced to the level found in tetraploid embryos. Remarkably, these embryos were able to develop normal rates of OCT4-positive cells (18%). Moreover, chimeric embryos possessing 50:50 diploid and tetraploid cells developed an ICM that was mostly composed of diploid cells (77%). Thus ICM deficiency is not simply attributable to a halving of cells in tetraploid embryos, and our ongoing analyses suggest a change in cell cycle length in tetraploid embryo cells may contribute. Tetraploidy therefore compromises embryo health by jeopardising ICM formation by multiple means at the time of blastocoel formation.

Conférencier invité - Invited Speaker

Frédéric Fortin



Il détient un baccalauréat en agronomie de l'Université Laval (2000) et une maîtrise en science animale (expertise : génétique quantitative) de l'Université McGill (2003). Il a travaillé deux ans en recherche et développement pour la compagnie Génétiporc. Depuis les quinze dernières années, il est responsable du secteur génétique au Centre de développement du porc du Québec. Dans le cadre de son travail, il dirige les projets de R et D en génétique, le programme d'évaluation génétique et les épreuves de la Station d'évaluation des porcs de Deschambault. Il a également participé au développement et au transfert de connaissance en génétique des secteurs ovins et bovins. Il préside depuis 2007 le comité génétique national du Centre canadien pour l'amélioration des porcs.

Il présentera un court séminaire le mardi 13 novembre intitulé : ***Les enjeux du secteur porcin en reproduction.***

Session d'affiches I – Poster Session I
13 novembre – November 13th
14h30 – 16h00

1. Régulation des phosphatases à double spécificité (DUSP) par les FGF dans les cellules de granulosa chez la brebis. *Lauriane Relav, PhD Student, Université de Montréal (Page 20)*
2. Augmentation de l'utilisation des lipides comme source d'énergie chez les cardiomyocytes fœtaux de rat atteints de restriction de croissance intra utérine. *Loïze Maréchal, PhD Student, Université de Montréal (Page 21)*
3. Developmental anomalies of bovine haploid androgenetic embryos. *Luis Aguila, Postdoctoral Fellow, Université de Montréal (Page 22)*
4. Regulation of human follicle-stimulating hormone β expression (FSHB) by activins in pituitaries of transgenic mice. *Luisina Ongaro, Postdoctoral Fellow, McGill University (Page 23)*
5. Can the embryonic linker histone H1Foo modulate somatic cell reprogramming? *Mariana Priotto de Macedo, PhD Student, McGill University (Page 24)*
6. *In vivo* ablation of the conserved GATA binding motif in the Amh promoter significantly impairs Amh expression. *Marie France Bouchard, Research Professional, Université Laval (Page 25)*
7. Inflammatory changes across gestation in relation to pregnancy complications. *Marie-Eve Brien, PhD Student, Université de Montréal (Page 26)*
8. Blocage de la voie des œstrogènes et du récepteur ER α dans le tissu adipeux blanc lors du développement de l'obésité. *Martin Morin, PhD Student, Université de Sherbrooke (Page 27)*
9. In utero exposure to environmental contaminants and folic acid affects male fertility transgenerationally in a rat model. *Maryse Lessard, PhD Student, Université Laval (Page 28)*
10. Altérations dans l'expression génique du cerveau du jeune embryon suivant une exposition prénatale à l'alcool durant la préimplantation. *Mélanie Breton-Larrivée, BSc Student, Université de Sherbrooke (Page 29)*

11. Optimization of a three-dimensional co-culture model of bilayered human breast acini using luminal and myoepithelial cell lines. *Melany Juarez, MSc Student, INRS-Institut Armand Frappier (Page 30)*
12. Beneficial effects of TUDCA on early embryo development are mediated through the TGR5 receptor. *Naomi Dicks, PhD Student, McGill University (Page 31)*
13. Détermination des marqueurs spécifiques de l'inflammation impliqués dans la prééclampsie et l'effet de l'activité physique. *Nozha Raguema, PhD Student, Université de Montréal (Page 32)*
14. SF-1 est essentiel pour la fonction reproductive des souris femelles matures. *Olivia Smith, PhD Student, Université de Montréal (Page 33)*
15. Le facteur de transcription MEF2 active directement le promoteur du gène Bmal1 dans les cellules de Leydig MA-10 de souris. *Oona Delmas, PhD Student, Université Laval (Page 34)*
16. Perinatal Exposure to an Environmentally-Relevant Mixture of Brominated Flame Retardants Disrupted Cell-Cell Interactions and Thyroid Homeostasis in Rat Mammary Glands at Puberty. *Rita-Josiane Gouesse, PhD Student, INRS-Institut Armand Frappier (Page 35)*
17. Identifying Novel Targets for the Nuclear Receptor COUP-TFII in MA-10 Leydig Cells. *Samir Mehanovic, PhD Student, Université Laval (Page 36)*
18. Two spatially distinct populations of the actin nucleator myo10 are associated with transzonal projection dynamics in mouse ovarian follicles. *Sibat Anam, MSc Student, McGill University (Page 37)*
19. Impact de l'inhibition du récepteur de LIF par *Toxoplasma gondii* dans les fonctions placentaires. *Sophie Chagneau, PhD Student, INRS-Institut Armand Frappier (Page 38)*
20. Reprogrammation du cistrome de LRH-1 par une accessibilité différentielle de la chromatine suite au signal ovulatoire. *Stéphanie Bianco, Research Professional, Université de Sherbrooke (Page 39)*
21. Endogenous mediator of inflammation in preovulatory follicles: Role of HMGB1. *Virginie Gaudreault, MSc Student, Université de Montréal (Page 40)*

22. Effects of organophosphate esters on a human granulosa cell line.
Xiaotong Wang, PhD Student, McGill University (Page 41)
23. L'activation de la kinase AMPK dans les cellules de Leydig réprime l'expression des gènes PLAU et Akr1b7 induite par une augmentation d'AMPc intracellulaire.
Zoheir Demmouche, PhD Student, Université Laval (Page 42)
24. Last-minute K-fibre establishment underpins age-related chromosome segregation errors in mouse oocytes. *Aleksandar Mihajlović, Postdoctoral Fellow, Université de Montréal (Page 43)*
25. Functional studies of tribbles homolog 2 (TRIB2) in ovarian granulosa cells.
Aly Warma, PhD Student, Université de Montréal (Page 44)

Régulation des phosphatases à double spécificité (DUSP) par les FGF dans les cellules de granulosa chez la brebis

Lauriane Relav¹, Anthony Estienne¹, Christopher Price¹

¹Université de Montréal

Les DUSP représentent une soixantaine d'enzymes, déphosphorylant les résidus sérine/thréonine et tyrosine de leurs substrats. Vingt-trois DUSP sont impliquées dans la voie des MAPK, activée par les FGF (*Fibroblast Growth Factors*). Les travaux précédents du laboratoire montrent que FGF18 induit l'apoptose des cellules de granulosa du follicule ovarien contrairement à FGF2, et que FGF18 n'active pas la voie des MAPK, contrairement à FGF2. Nous émettons l'hypothèse que les FGF modulent l'expression des DUSP.

À partir d'ovaires de brebis, nous avons isolé les cellules de granulosa des petits (1-3mm), moyens (3-5mm) ou gros follicules antraux (>5mm) de 8 animaux afin d'en extraire les ARN. Aussi, les cellules de granulosa des petits et moyens follicules antraux ont été mises en culture sans sérum, puis stimulées par FGF2 ou FGF18, à différents temps (1, 2, 4, 8h) ou doses (1, 10, 100ng). Les niveaux d'ARNm codant pour les DUSP ont été évalués par RT-qPCR.

Ainsi, 16 DUSP sont exprimées dans les follicules antraux indépendamment de leur taille. *In vitro*, FGF2 augmente rapidement à 1h les niveaux d'ARNm pour *DUSP1*, puis ils diminuent au niveau basal dès 2h. Les niveaux d'ARNm pour *DUSP5* sont augmentés à tous les temps mesurés, alors que pour *DUSP6* l'augmentation n'est qu'à 8h. Par contre, dans les cellules stimulées par FGF18, aucune DUSP ne présente de variation d'expression génique aux temps et doses testés.

Le rôle de FGF2 et FGF18 dans la voie des MAPK pourrait donc être médié par les variations de l'expression des DUSP.

Augmentation de l'utilisation des lipides comme source d'énergie chez les cardiomyocytes fœtaux de rat atteints de restriction de croissance intra utérine

Loïze Maréchal^{1,2}, Michèle Brochu¹, André Tremblay^{1,2}

¹Université de Montréal, ²CHU Sainte-Justine

Les maladies cardiovasculaires sont la deuxième cause de mortalité au Canada. On sait désormais qu'elles peuvent être d'origine génétique ou environnementale, mais également découler d'un développement fœtal inadéquat. En effet, des études épidémiologiques ont montré qu'un environnement utérin défavorable prédispose les individus à des pathologies cardio-métaboliques telles que l'obésité ou l'hypertension une fois adulte. Le retard de croissance in-utéro (RCIU) est défini par un poids fœtal inférieur de dix percentiles à celui d'une population normale du même âge gestationnel. Un modèle animal de RCIU, développé dans le laboratoire depuis plusieurs années, consiste à donner une diète faible en sodium à des rattes dans leur dernière semaine de gestation. La caractérisation des animaux a montré que la perfusion et le remodelage du placenta sont diminués chez les mères recevant la diète spéciale. Les cardiomyocytes embryonnaires produisent principalement leur énergie grâce à la glycolyse, tandis que le cœur adulte utilise l'oxydation des acides gras comme source énergétique. Il existe donc une réorganisation métabolique importante durant la période périnatale. Nous pensons que le stress cellulaire induit par la RCIU conduit les cardiomyocytes fœtaux à utiliser préférentiellement les lipides comme source énergétique. Nous montrons une augmentation de l'expression de différents acteurs de l'entrée et de l'oxydation des acides gras dans les cardiomyocytes fœtaux chez les individus RCIU. De plus, le profil lipidomique des cardiomyocytes montre une accumulation de lipides chez les fœtus RCIU. Ce remodelage métabolique précoce relève d'une adaptation du métabolisme à la RCIU, pouvant prédisposer l'individu à des troubles cardiovasculaires futurs.

Developmental anomalies of bovine haploid androgenetic embryos

Luis Aguila¹, Jacinthe Therrien¹, Monica Garcia², Lawrence Smith¹

¹Centre de recherche en reproduction et fertilité (CRRF), Université de Montréal

²Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México

Haploid embryonic stem cell lines obtained from androgenetic-derived haploid embryos (ahESC) have been obtained in mice and humans. However, most bovine haploid androgenetic embryos (bhaE) fail to develop to the blastocyst stage, which precludes their use to derive ahESC. To further our understanding of the factors involved in the poor developmental potential of bhaE, *in vitro* matured oocytes were fertilized, and the oocyte's telophase-stage spindle were removed to obtain haploid zygotes, which were then compared to parthenogenetic-derived haploid embryos and diploid controls. Developmental assessments were performed at 20 h (pronuclear formation), 48 h (cleavage), 144 h (morula), and 168 h (blastocyst) post insemination (hpi). Embryo quality was assessed on the basis of the embryo morphology and total number of cells, and nuclear status was assessed at 48 and 72 hpi. Results indicated that first cleavage rates were similar among andro- and parthenogenetic haploid zygotes (66% to 72%, respectively), which were lower compared to the diploid group (90%, $p < 0.05$). However, early developmental beyond first cleavage was severely affected in androgenetic when compared to parthenogenetic embryos ($p \leq 0.05$), suggesting that the paternal genome is less capable to support haploid development as compared to maternal. Analysis of nuclear morphology showed that haploid androgenetic embryos underwent mitosis/cytokinesis failure around the time of transcriptional activation (at 8-cell stage), suggesting that the mitotic machinery necessary for continuous cell divisions and blastocyst formation is deficient in bhaE. Further experiments are being performed to identify the molecular mechanisms involved in the developmental failure of bovine haploid androgenetic embryos.

Regulation of human follicle-stimulating hormone β expression (FSHB) by activins in pituitaries of transgenic mice

Luisina Ongaro¹, Gauthier Schang¹, T. Rajendra Kumar², Mathias Treier³, Chu-Xia Deng⁴, Daniel Bernard¹

¹McGill University, ²University of Colorado, ³Max-Delbrück Center for Molecular Medicine, ⁴University of Macau

Follicle-stimulating hormone (FSH) is an essential regulator of mammalian fertility. The hormone is synthesized by pituitary gonadotrope cells in response to GnRH and/or pituitary activins. Activins bind to activin type I/type II receptor complexes, which phosphorylate SMAD proteins. SMADs accumulate in the nucleus where they bind to *FSH β* subunit (*Fshb*) promoter in combination with FOXL2. Female mice with gonadotrope-specific loss of *Smad4* and *Foxl2* are FSH deficient and sterile. It is unclear whether human *FSH β* expression is also regulated by activins. We used mice harboring a 10-kb human *FSH β* transgene (hereafter hFSHB), expressing the corresponding mRNA and protein in the pituitary gland. We cultured pituitaries from hFSHB mice and measured murine *Fshb* and human *FSHB* mRNA expression. As expected, murine *Fshb* was stimulated by exogenous activins. Basal *Fshb* mRNA levels were greatly reduced by follistatin-288 (activin antagonist) or SB431542 (activin type I receptor inhibitor), demonstrating an essential role for endogenous activin signaling in murine *Fshb* expression. Activins stimulated and the inhibitors attenuated human *FSHB*, however the effects were smaller when compared with murine *Fshb* expression. Finally, we assessed whether FOXL2 and SMAD4 regulate human FSHB expression by crossing hFSHB transgenic mice with animals carrying floxed alleles for *Foxl2* and *Smad4*. Ablation of FOXL2 and SMAD4 impaired basal and activin-stimulated of murine *Fshb* and human *FSHB* expression. Collectively, the data indicate that the human *FSHB* gene is activin responsive, and that its expression is dependent on FOXL2 and SMAD4. This suggests that mechanisms of *Fshb*/*FSHB* regulation may be conserved between species.

Can the embryonic linker histone H1Foo modulate somatic cell reprogramming?

Mariana Priotto de Macedo¹, Werner Giehl Glanzner¹, Vitor Braga Rissi¹, Karina Gutierrez¹, Luke Currin¹, Naomi Dicks¹, Serge McGraw², Vilceu Bordignon¹

¹Department of Animal Science, McGill University, ²Centre de Recherche CHU Ste-Justine

Histone H1 family proteins bind to linker DNA and modulate chromatin functions including gene transcription and DNA repair. The oocyte-specific variant, H1Foo, is expressed in oocytes and blastomeres of early developing embryos before the major genome activation transition, suggesting a critical role on development and cell programming. In support of this, it was shown that expression of H1foo in embryonic stem cells maintained the expression of pluripotent genes, preserved the DNA methylation profile, and prevented cell differentiation. Although H1Foo seems to be reprogrammed in embryos produced by somatic cell nuclear transfer (SCNT), its role on normal cell reprogramming and development has not been fully characterized. This study aims to investigate if H1Foo expression in somatic cells improves cell reprogramming. Recombinant bovine H1foo mRNA (rbH1Foo) was synthesized from a pUCIDT-AMP plasmid using the mMESSAGING mMACHINE T7 Ultra Transcription Kit (Thermo Fisher Scientific). Bovine and porcine fibroblasts were electroporated with 40ng/μl rbH1Foo mRNA and fixed at 12 and 48h following electroporation to determine nuclear localization of H1Foo by immunofluorescence. The rate of cells showing strong fluorescent signal for bH1Foo was 86.4% and 83.9% at 12h, and 91.9% and 89% at 48h after electroporation for bovine and porcine cells, respectively. None of the electroporated bovine and porcine control cells showed positive fluorescent signal for bH1Foo. Preliminary results indicate normal development to the blastocyst stage and total cell number in porcine SCNT embryos produced from rbH1Foo mRNA transfected fibroblast cells. Next steps will evaluate effects on gene transcription in donor cells and SCNT embryos.

***In vivo* ablation of the conserved GATA binding motif in the *Amh* promoter significantly impairs *Amh* expression**

Marie France Bouchard^{1,2}, Francis Bergeron^{1,2}, Louis-Mathieu Harvey^{1,2}, Jasmine Grenier-Delaney^{1,2}, Robert S. Viger^{1,2,3}

¹Reproduction, santé de la mère et de l'enfant, Centre de recherche du CHU de Québec-Université Laval, ²Centre de recherche en reproduction, développement et santé intergénérationnelle (CRDSI), ³Département d'obstétrique, gynécologie et reproduction, Faculté de médecine, Université Laval

GATA4 is an essential transcriptional regulator required for initiating the development of the gonadal primordium, gonadal differentiation, and fertility. Proposed GATA4-regulated gonadal genes include steroidogenic factor 1 (*Nr5a1*), the testis-determining gene (*Sry*), and anti-Müllerian hormone (*Amh*). While *Nr5a1* and *Sry* have been validated as GATA4 targets, controversy remains over whether GATA4 is a positive or negative regulator of *Amh*. Current mouse models with Sertoli-specific ablation of GATA4 are not useful to answer this question. Inactivating *Gata4* before sex determination blocks Sertoli cell differentiation, making a direct assessment of GATA4 in the initiation of *Amh* transcription impossible. *Gata4* knockout after testis differentiation precludes an examination of *Amh* transcription initiation. Looking at maintenance of *Amh* expression is feasible, but the presence of multiple GATA proteins in Sertoli cells complicates interpretation. We used a CRISPR/Cas9-based approach to inactivate the GATA motif of the *Amh* gene to circumvent those problems. Wild-type and *pAmh^{GATAmut}* mice pups were sacrificed shortly after birth when AMH levels are elevated. Total RNA was extracted from testes to assess *Amh* expression. Testes and male embryos were fixed and embedded in paraffin for morphology analysis and immunohistochemistry. We found that the loss of GATA motif in the *Amh* promoter significantly reduced *Amh* expression. However, *pAmh^{GATAmut}* adult male mice presented no anatomical anomalies and had completely regressed Müllerian ducts, suggesting that AMH levels are reduced but sufficient to masculinize the embryo. Thus GATA4 is a positive modulator of *Amh*, ensuring its expression is sufficient and in a correct spatiotemporal manner during development.

Inflammatory changes across gestation in relation to pregnancy complications

Marie-Eve Brien^{1,2,3}, Ines Boufaied^{1,2}, Nathalie Bernard⁴, Jean-Claude Forest^{4,5}, Yves Giguère^{4,5}, Sylvie Girard^{1,2,3}

¹Ste-Justine Hospital Research Center, ²Department of Obstetrics and Gynecology, Université de Montréal, Montréal, Canada, ³Department of microbiology, infectiology and immunology, Université de Montréal, Montréal, Canada, ⁴Centre de recherche du Centre Hospitalier Universitaire de Québec, ⁵Department of Molecular Biology, Medical Biochemistry and Pathology, Faculty of Medicine, Université Laval, Québec, Canada

INTRODUCTION: Preeclampsia (PE), preterm birth (PTB) and intra-uterine growth restriction (IUGR) affect 5-12% of all pregnancies. These pathologies are known to be associated with placental inflammation but, the presence of inflammatory mediators in the maternal circulation, and association with pregnancy complications, is still debated. Our objective was to evaluate changes in inflammatory mediators in the 2nd and 3rd trimesters during normal and pathological pregnancies to identify potential markers associated with complications as well as normal labor.

METHODS: We performed a nested case-control study of 200 women selected from 6000 women recruited at the CHU de Québec. Women with uncomplicated term pregnancy (CTRL); PE; PTB or IUGR were included. Plasma samples from the 2nd and 3rd trimesters were analysed for 28 inflammatory mediators by multiplex.

RESULTS: In uncomplicated pregnancies changes are observed between the 2nd and 3rd trimester, such as decreased PIGF and elevated sFTL-1, endoglin and uric acid levels. Increased levels of MCP-1, CXCL10 and IL-6 were observed in the 3rd trimester. Those gestational age associated changes were also observed in complicated pregnancy. In PE, levels of PIGF and CXCL9 were decreased in the 2nd trimester and increased sFLT-1 and endoglin were also detected. No difference was observed in PTB. In IUGR, increased HMGB1 and IL-1 α were observed.

CONCLUSIONS: This study revealed inflammatory changes in the maternal circulation between the 2nd and 3rd trimester which confirmed that delivery itself is an inflammatory event. Changes in the levels of inflammatory mediators could be used to facilitate early diagnosis of pregnancy complications.

Blocage de la voie des œstrogènes et du récepteur ER α dans le tissu adipeux blanc lors du développement de l'obésité

Martin Morin¹, Joannie Connell¹, Mélanie Breton-Larrivée¹, Stéphanie Bianco¹, Nicolas Gévry¹

¹Université de Sherbrooke

Les œstrogènes et le récepteur aux œstrogènes ER α jouent un rôle majeur dans le métabolisme énergétique et dans la protection contre des pathologies comme l'obésité et le diabète. Si les effets globaux de la perte des œstrogènes sont connus depuis longtemps, les effets moléculaires et cellulaires sont encore loin d'avoir été caractérisés dans leur totalité. C'est dans cette idée que notre équipe a permis précédemment la cartographie des sites de liaison de ER α dans le tissu adipeux blanc viscéral (WAT) de la souris. La méthylation de l'ADN est une marque épigénétique permettant de fermer des régions de la chromatine à la machinerie de transcription. De manière intéressante, des données de méthylation de l'ADN du WAT de souris obèses, publiées précédemment, montrent un changement global et majeur du méthylome avec la prise de poids.

Nous avons alors comparé nos résultats de recrutement de ER α à la chromatine avec ces données de méthylation et identifié que près du tiers des régions recrutant ER α sont retrouvées méthylées chez la souris obèse. Ces régions sont de plus associées à des gènes impliqués dans la différenciation des cellules adipeuses et dans le métabolisme énergétique cellulaire. Nous avons aussi pu mesurer et constater que l'obésité provoque une diminution du recrutement de ER α à la chromatine sur les gènes modèles du récepteur à la progestérone *Pgr* et de la pyruvate déshydrogénase kinase *Pdk4*, ainsi qu'une baisse de leurs expressions.

Ensemble, ces résultats pointent vers une adaptation du WAT pendant l'obésité contre les actions de protection de ER α .

In utero exposure to environmental contaminants and folic acid affects male fertility transgenerationally in a rat model

Maryse Lessard¹, Phanie Charest¹, Pauline Mathilde Herst¹, Mathieu Dalvai¹, Janice L. Bailey¹

¹Centre de recherche en reproduction, développement et santé intergénérationnelle (CRDSI), Département des sciences animales, Faculté des sciences de l'agriculture et de l'alimentation, Université Laval, Québec.

Introduction: Persistent organic pollutants (POPs) contaminate the Arctic food chain, leading to high body burdens in Inuit people. Some POPs are endocrine disruptors and cause reproductive disorders. A strategy is needed to reduce the impact of POPs and improve Inuit health.

Hypotheses: *In utero* exposure to POPs disrupts sperm quality of males in a transgenerational manner. Folic acid (FA) supplementation mitigates the negative effects of POPs.

Methods: Sprague-Dawley F0 founder females divided into four treatments (n=8) received an environmentally-relevant Arctic POPs mixture or corn oil before mating and until parturition. Their diets contained physiological (2 mg/kg) or supplemented (6 mg/kg) levels of FA, while their offspring and subsequent generations received the physiological FA dose without POPs. Fertility parameters were assessed in F1-F4 males (n=12/treatment) following mating with untreated females.

Results: *In utero* exposure of F1 males to POPs decreased sperm viability and motility across three subsequent generations (F2-F4). Sperm quality was partly rescued by FA supplementation in F1-F2, with minimal protective effects in F3-F4. Seminal vesicle weights increased due to FA supplementation in F1, while POPs and POPs*FA interaction increased testis weights in F3 and F4. POPs increased prostate weights in F4 and epididymis weights were altered by POPs*FA interaction in F1-F4.

Conclusion: Developmental POPs exposure transgenerationally harms male reproductive parameters. Although FA supplementation improved many parameters it only mitigated several POPs effects across 4 generations. Nonetheless, FA supplementation and male development merit further investigation, especially considering recent reports that, in men, semen quality is an early predictor of disease.

Altérations dans l'expression génique du cerveau du jeune embryon suivant une exposition prénatale à l'alcool durant la préimplantation

Mélanie Breton-Larivée^{1,2}, Lisa-Marie Legault^{2,3}, Virginie Bertrand-Lehouillier^{2,3}, Serge McGraw^{2,3}

¹Département de biochimie, Université de Sherbrooke, Sherbrooke, Québec, Canada, ²Centre de recherche du CHUSJ, Montréal, Québec, Canada, ³Département de biochimie, Université de Montréal, Montréal, Québec, Canada

Introduction: La consommation d'alcool durant la grossesse peut avoir des conséquences irréversibles, menant à diverses anomalies du développement. L'alcool est reconnu pour altérer les mécanismes impliqués dans les processus menant à la méthylation de l'ADN. Cette dernière est très dynamique tout au long du développement de l'embryon, mais plus particulièrement lors des premières divisions embryonnaires alors que les profils de méthylation sont activement reprogrammés. Nos résultats démontrent qu'une exposition prénatale à l'alcool (EPA) pendant cette vague de reprogrammation altère les futurs profils de méthylation d'ADN du cerveau de l'embryon en développement. Nous ignorons cependant comment cette exposition embryonnaire à l'alcool aura un impact néfaste sur l'expression génique au niveau du cerveau. **Objectif:** Déterminer si une EPA pendant la période de reprogrammation épigénétique va altérer l'expression génique dans le cerveau en développement. **Méthode:** Des souris gestantes ont été soumises à une EPA au jour E2.5, puis nous avons isolé les cerveaux des descendants au jour E10.5 afin d'évaluer l'expression de différents gènes impliqués dans le développement de l'embryon et du cerveau par PCR quantitatif. **Résultats:** Nous avons découvert que divers gènes impliqués dans le développement du cerveau (Nestin, Dclk2), la croissance (Flt1) et les modifications épigénétiques (Dnmt1, Ehmt2) ont subi une diminution d'expression chez les embryons exposés à l'alcool. Les embryons mâles semblent plus affectés que les embryons femelles. **Conclusion:** Une EPA a un effet sur l'expression d'une variété de gènes impliqués dans le développement du cerveau, de la croissance et des modifications épigénétiques dans le cerveau antérieur à la mi-gestation.

Optimization of a three-dimensional co-culture model of bilayered human breast acini using luminal and myoepithelial cell lines

Melany Juarez¹ and Isabelle Plante^{1,2}

¹INRS-Institut Armand-Frappier, ²Réseau Québécois en Reproduction

Mammary glands are complex organs whose development occurs mostly after birth; the functional unit of the mammary epithelium is the bilayered acinus, composed by an inner layer of polarized luminal epithelial cells and an outer layer mainly composed of myoepithelial cells. It has been demonstrated that the tridimensional environment *in vivo* and the bi-directional crosstalk between cells are crucial for proper function, development and differentiation of the mammary gland. Our project aims to develop a 3D bilayered co-culture model and a layered culture model to study the interaction of luminal and myoepithelial cells *in vitro*. Our previous studies demonstrated that when luminal MCF-12A cells and myoepithelial-like Hs578Bst cells are co-cultured in Matrigel, although a few bilayered acini are formed, monolayered acini formed by luminal cells are more numerous. For this project, the optimization of the 3D model includes tests on different extracellular matrices and on the luminal and myoepithelial cell lines available. We aim to achieve the most efficient combination in a replicable model. In parallel, we are also developing a layered culture system using inserts with porous membranes, allowing direct interactions between luminal and myoepithelial cells. Preliminary results have shown that cells seeded on each side of the membrane can communicate by gap junctions, as demonstrated by dye transfer assays. Future experiments will focus on the role of specific junctional proteins using knockout/knock-in techniques. These innovative models will allow to thoroughly study the bidirectional communication between luminal and myoepithelial cells, and its role in mammary gland development and function.

Beneficial effects of TUDCA on early embryo development are mediated through the TGR5 receptor

Naomi Dicks¹, Karina Gutierrez¹, Luke Currin¹, Mariana Priotto de Macedo¹, Werner Glanzner¹, Luis B. Agellon¹, Vilceu Bordignon¹

¹McGill University

Preimplantation development of the embryo is a critical developmental period, particularly in *in vitro* embryo production, where culture conditions impart greater levels of oxidative stress. It has been shown in multiple species that tauroursodeoxycholic acid (TUDCA) in zygote medium can significantly improve blastocyst rate and quality. However, the mechanisms that underlie the beneficial effects of TUDCA are not known. This study aimed to evaluate the necessity of TGR5, a membrane bound G-protein coupled receptor, for the action of TUDCA. Firstly, parthenogenetically-activated (PA) porcine embryos were injected with TUDCA, or cultured with TUDCA in zygote medium (final concentration of 50 μ M). Direct injection of TUDCA into embryos impaired embryo development by reducing cleavage by 56.8%, and reducing blastocyst rates by 53.8%. In contrast, incorporation of 50 μ M TUDCA in the porcine zygote medium improved blastocyst rates by 33.7%, as expected. These results suggested that the beneficial effects of TUDCA are mediated through a cell surface receptor rather than direct interaction with factors within the embryos. Thus, we tested the importance of TGR5 in both PA and *in vitro* fertilized (IVF) embryos. TGR5 or scramble DsiRNA were injected into embryos and development was assessed in the absence or presence of TUDCA. Addition of TUDCA to the culture medium failed to improve development in embryos injected with TGR5 DsiRNA, but not scramble DsiRNA. In fact, blastocyst rates decreased by 38.9% in parthenotes and 50.4% in IVF embryos. These results indicated that the beneficial effects of TUDCA are mediated through the TGR5 receptor.

Détermination des marqueurs spécifiques de l'inflammation impliqués dans la prééclampsie et l'effet de l'activité physique

Nozha Raguema^{1,2,3,4}, Amélie Daniel^{2,5}, Dhafer Benletaifa³, Touhami Mahjoub³, Julie L. Lavoie^{1,2}

¹École de kinésiologie et des sciences de l'activité physique, Université de Montréal, Montréal, ²Centre de recherche du Centre hospitalier de l'Université de Montréal (CRCHUM), ³Laboratoire de Génome Humain et Maladies Multifactorielles, faculté de pharmacie, Monastir, ⁴Faculté des sciences de Bizerte, Université de Carthage, Tunisie, ⁵Faculté des sciences et techniques, Université de tours, France.

Introduction. La prééclampsie est une complication de la grossesse dont les causes restent toujours mal comprises. Des études ont montré que la prééclampsie est associée à un profil inflammatoire systémique exagérée caractérisé par une augmentation de la production des cytokines pro-inflammatoires et une diminution des cytokines anti-inflammatoire. D'autres parts, l'effet préventif de l'entraînement physique sur la prééclampsie a été démontré dans des modèles animaux. Notre objectif est d'étudier l'implication de l'inflammation dans le développement de la prééclampsie et l'effet de l'activité physique chez la femme.

Méthodes. Les biopsies de placenta ont été collectées chez une cohorte de femmes avec prééclampsie ou grossesses normales recrutées à l'Hôpital Farhat Hached (Tunisie). L'énergie dépensée lors d'activités physiques a été analysé en se basant sur les réponses à un questionnaire validé pour la grossesse. L'expression en ARN de composantes pro- et anti-inflammatoires a été évaluée par qPCR.

Résultats. Nous avons observé une augmentation de l'expression des marqueurs pro-inflammatoires TNF- α , IL1- β et IL-6 (aucune différence pour IL1- α et MCP-1) avec une diminution de l'expression du marqueur anti-inflammatoire IL-10 chez les femmes avec prééclampsie par rapport au femmes saines. En plus, nos résultats suggèrent une normalisation de l'expression de certains marqueurs pro-inflammatoires placentaire avec l'activité physique chez les femmes avec prééclampsie.

Conclusions. Un déséquilibre entre les marqueurs pro et anti-inflammatoires dans le placenta semble associé à la prééclampsie. Aussi, en raison de ses effets sur l'inflammation, l'activité physique pendant la grossesse pourrait être un outil de prévention pour la prééclampsie.

SF-1 est essentiel pour la fonction reproductive des souris femelles matures

Olivia E. Smith¹, Marie-Charlotte Meinsohn¹, Fanny Morin¹, Bruce D. Murphy¹

¹Université de Montréal

Le facteur de transcription SF-1 (Nr5a1) est un récepteur nucléaire essentiel au développement du système reproducteur des mammifères. Chez la souris immature, la déplétion de SF-1 dans l'hypophyse ou dans les cellules granulosas ovariennes dérègle la fertilité en dérangeant la croissance folliculaire et empêchant l'ovulation. L'objectif de cette étude est de définir le rôle de SF-1 dans la fonction reproductive des souris matures.

À l'aide d'une recombinaison-Cre liée au récepteur de la progestérone (Pgr), nous avons développé un nouveau modèle murin caractérisé par la déplétion conditionnelle de SF-1 (PgrCre-SF1f/f; cKO, SF1f/f; CON) dans les tissus reproducteurs de la femelle mature, soit l'hypophyse, l'ovaire et l'utérus. L'analyse histologique de ces tissus, l'expression génique et protéique des facteurs impliqués dans la stéroïdogénèse ont permis d'évaluer l'impact de la déplétion de SF-1 dans la fonction reproductive de ces souris.

L'infertilité observée chez les femelles cKO, due notamment à l'absence d'ovulation, est causée par une réduction de la sécrétion des hormones par l'hypophyse, bien que suffisante pour induire un cycle œstral constant. Suite à la livraison exogène d'hormones pour provoquer l'ovulation, un dérèglement dans l'expression génique et protéique des facteurs stéroïdogéniques dans l'ovaire est également détecté, démontrant l'importance de SF-1 dans fonction lutéale ovarienne et le maintien de la gestation chez les souris.

Cette étude est la première à démontrer le rôle essentiel que joue SF-1 dans le maintien de la fonction reproductive chez les souris femelles matures, l'identifiant comme potentielle cible pour de futurs traitements de l'infertilité chez l'humain et d'autres mammifères.

Le facteur de transcription MEF2 active directement le promoteur du gène *Bmal1* dans les cellules de Leydig MA-10 de souris

Oona Delmas¹, Mickaël Di-Luoffo¹, Caroline Daems¹, Jacques J. Tremblay^{1,2}

¹Reproduction, santé de la mère et de l'enfant, Centre de recherche du centre hospitalier universitaire de Québec-Université Laval, Québec, Canada, ²Centre de recherche en reproduction, développement et santé intergénérationnelle, Département d'obstétrique, gynécologie et reproduction, Faculté de médecine, Université Laval, Québec, Canada

Des cellules de Leydig fonctionnelles sont essentielles au développement et au maintien des caractéristiques mâles et à la spermatogenèse. Notre équipe a montré la présence du facteur de transcription MEF2 dans ces cellules. MEF2 est un facteur déterminant du développement d'autres tissus mais son rôle et mécanisme d'action dans les cellules de Leydig demeurent méconnus. Ainsi, une analyse transcriptomique comparant des cellules de Leydig MA-10 sauvages avec des cellules n'exprimant plus MEF2 (knockdown par siRNA) a été réalisée. Un gène dont l'expression était réduite en absence de MEF2 est *Bmal1*, qui code pour un facteur de transcription impliqué dans le rythme circadien et la régulation de l'expression du gène *Star*. Une analyse de la séquence du promoteur *Bmal1* a révélé la présence d'un site de liaison pour MEF2 à -1084 pb. Par transfections transitoires de cellules MA-10, nous avons montré qu'un fragment de -1241 pb du promoteur *Bmal1* est activé de 2 fois par MEF2 alors qu'une construction de -91 pb n'est pas activée. En outre, une mutation qui détruit l'élément MEF2 dans le contexte du promoteur -1241 pb abolit l'activation par MEF2, confirmant que l'élément MEF2 à -1084 pb est nécessaire et suffisant pour l'activation par MEF2. Des expériences d'interaction protéine-ADN sont présentement en cours afin de confirmer la liaison de MEF2 à cet élément. Nos résultats identifient le gène *Bmal1* comme une nouvelle cible pour MEF2 et suggère un rôle pour ce facteur dans la régulation circadienne de la fonction des cellules de Leydig. Subvention des IRSC (MOP-81387).

Perinatal exposure to an environmentally-relevant mixture of brominated flame retardants disrupted cell-cell interactions and thyroid homeostasis in rat mammary glands at puberty

Rita-Josiane Gouesse^{1,2,3}, Mélanie Lavoie¹, Elham Dianati¹, Michael G. Wade⁴, Barbara F. Hales⁵, Bernard Robaire^{5,6}, Isabelle Plante^{1,2,3}

¹INRS, Institut Armand-Frappier, Laval, QC, Canada, ²Centre de recherche Biomed, Université du Québec à Montréal, Montréal, QC, Canada, ³Réseau Québécois en Reproduction, St-Hyacinthe, QC, Canada, ⁴Health Canada, Environmental Health Science and Research Bureau, Ottawa, ON, Canada, ⁵McGill University, Faculty of Medicine, Department of Pharmacology & Therapeutics, Montreal, QC, Canada, ⁶McGill University, Faculty of Medicine, Department of Obstetrics & Gynecology, Montreal, QC, Canada

Mammary gland development requires precise hormonal regulation during puberty, pregnancy and lactation. Exposure to endocrine disruptors, such as brominated flame retardants (BFRs), is ubiquitous and may alter mammary development and function. BFRs are chemical compounds added to consumer products to satisfy flammability standards. We have previously shown that gestational and lactational exposure to BFRs disrupted proteins of the adherens junctions in the mammary glands of rat dams, likely in a PKA-dependant manner. *Here, we hypothesized that perinatal exposure to BFRs also disrupts junctional proteins and signaling pathways that control mammary gland development in pups.* Female Sprague-Dawley rats were exposed through diet to a house dust environmentally relevant mixture of BFRs designed to deliver doses of BFRs of 0 (control), 0.06, 20 or 60 mg/kg/day. Dams were exposed before mating, and during pregnancy and lactation, resulting in perinatal exposure of the pups. Female offspring were euthanized on post-natal day 46 (Post-pubertal) and mammary glands were collected. Exposure to BFRs (0.06 mg/kg/day) significantly down-regulated the levels of adherens junction proteins E-cadherin and β -catenin, and of the gap junction protein p-Cx43. No effects were observed on the protein levels of estrogen and progesterone receptors. However, exposure to this low dose of BFRs, but not higher doses, significantly down-regulated thyroid hormone receptor alpha (TR α) protein levels in the mammary glands of the offspring. Together, our results suggest that perinatal exposure to an environmentally relevant mixture of BFRs disrupts cell-cell interactions and thyroid hormone homeostasis during puberty, a critical period of breast development.

Identifying novel targets for the nuclear receptor COUP-TFII in MA-10 Leydig cells

Samir Mehanovic¹, Raifish E. Mendoza-Villarroel¹, Philippe Talbot¹, Jacques J. Tremblay^{1,2}

¹Reproduction, Mother and Child Health, Centre de recherche du CHU de Québec-Université Laval, Québec, Canada, ²Centre for Research in Reproduction, Development and Intergenerational Health, Department of Obstetrics, Gynecology, and Reproduction, Faculty of Medicine, Université Laval, Québec, Canada

In males, Leydig cells are the main producers of testosterone and insulin-like 3 (INSL3), hormones which are both essential for sex differentiation and reproductive functions. Chicken ovalbumin upstream promoter-transcription factors I and II (COUP-TFI/NR2F1 and COUP-TFII/NR2F2) belong to steroid/thyroid hormone nuclear receptor superfamily of transcription factors. Homozygous deletion of the *Coup-tfii* gene in mice causes embryonic development delay, edema, and severe hemorrhage by E9.5, and death by E10. Furthermore, COUP-TFII is expressed in steroidogenically active adult Leydig cells and plays a major role in their differentiation. Until now, four target genes have been identified for COUP-TFII in Leydig cells: steroidogenic acute regulatory protein (*Star*), *Insl3*, 3 α -hydroxysteroid dehydrogenase enzyme (*3 α -Hsd*), and anti-Müllerian hormone receptor (*Amhr2*). As expected, steroid production in COUP-TFII-depleted Leydig cells was diminished indicating an important role in steroidogenesis. To broaden current knowledge of the COUP-TFII role in Leydig cells, we performed microarray analyses of COUP-TFII-depleted MA-10 Leydig cells. The obtained results were analyzed using Partek analysis software and DAVID online resource database. The microarray data revealed 298 genes that were differentially expressed in COUP-TFII-depleted MA-10 cells. Many of the affected genes are proven to be involved in lipid biosynthesis, lipid metabolism, male gonad development, and steroidogenesis. In COUP-TFII-depleted MA-10 Leydig cells, some of the downregulated genes include: *Hsd3b1*, *Cyp11a1*, *Prlr*, *Pdgfra*, *Shp/Nr0b2*, *Ear1/Nr1d1*, *Fdx1*, *Inha* and *Gsta3*. We validated the microarray data for few genes by quantitative RT-PCR. Our data provides additional evidence strengthening importance of the role of COUP-TFII in Leydig cells. Supported by CIHR (MOP-81387).

Two spatially distinct populations of the actin nucleator myo10 are associated with transzonal projection dynamics in mouse ovarian follicles

Sibat Anam^{1,2,3}, Qin Yang^{1,3}, Sofia Granados Aparici^{1,3}, Hugh Clarke^{1,2,3}

¹Department of Obstetrics and Gynecology, McGill University, Montreal, Quebec, Canada,

²Division of Experimental Medicine, McGill University, Montreal, Quebec, Canada,

³Research Institute, McGill University Health Center, Montreal, Quebec, Canada

Oocyte growth requires communication between the oocyte and the somatic granulosa cells that surround it. Throughout growth, granulosa cells and the oocyte are separated by an extra-cellular layer termed the zona pellucida. In order to maintain communication between the two, granulosa cells establish physical contact with the oocyte via filopodia-like structures known as transzonal projections (TZPs). These projections allow the direct transfer of essential nutrients and cell signals from the granulosa cells to the oocyte. Because the actin nucleator myosin 10 (MYO10) has been implicated in filopodial formation, we investigated the role of MYO10 in TZP dynamics. Using immunofluorescence, we observed populations of MYO10 foci at two discrete locations in follicles throughout oocyte growth. A small number of large foci were located at the oocyte-facing side of the innermost layer of granulosa cells, while a larger number of small foci were present within the zona pellucida. During meiotic maturation, a decrease in the number of small foci occurred as TZPs were lost. RNAi mediated knockdown of *Myo10* in the oocyte also decreased the number of small foci in the zona pellucida. These results suggest that the small foci originate from the oocyte, whereas the large foci may originate from the granulosa cells. Future studies are directed toward understanding the role of the two populations of MYO10 foci in TZP dynamics.

Supported by Canadian Institutes for Health Research and the National Institutes of Health.

Impact de l'inhibition du récepteur de LIF par *Toxoplasma gondii* dans les fonctions placentaires

Sophie Chagneau¹, Louis-Philippe Leroux¹, Thierry Fournier², Carlos Reyes-Moreno³, Cathy Vaillancourt¹, Maritza Jaramillo¹

¹INRS - Institut Armand Frappier, ²INSERM UMR-S1139 Université Paris Descartes, ³Université du Québec à Trois-Rivières

Contexte: *Toxoplasma gondii* (*T. gondii*) est responsable de la toxoplasmose congénitale, une zoonose entraînant des fausses couches et de graves anomalies neurologiques et oculaires fœtales et néonatales. Dans notre laboratoire, nous avons démontré que *T. gondii* régule traductionnellement de nombreux ARNm dans des macrophages primaires murins et identifié l'ARNm du récepteur de LIF (LIFR) comme cible réprimée par le parasite. LIF (*leukemia inhibitory factor*) est une cytokine essentielle au bon déroulement de la grossesse, notamment à l'implantation embryonnaire. Nous supposons qu'en inhibant l'expression de LIFR, *T. gondii* pourrait entraîner des défauts d'implantation.

Objectifs: Déterminer la modulation de la voie LIF/LIFR par *T. gondii* et ses conséquences fonctionnelles dans la lignée cellulaire HIPEC 65 dérivée de trophoblastes extravilloux de placenta humain de premier trimestre.

Résultats: *T. gondii* réduit le niveau protéique du LIFR dans les cellules HIPEC 65. De plus, l'activation des voies JAK2-STAT1 et JAK2-STAT3 par le LIF est réduite dans les cellules HIPEC 65 par *T. gondii*. Afin d'évaluer l'effet de la modulation de ces voies de signalisations par le parasite sur les fonctions des trophoblastes extravilloux, la migration et l'invasion ont été analysées. Nous observons une réduction de la migration cellulaire par *T. gondii* en réponse au LIF.

Conclusion: La modulation de l'axe LIF-LIFR par *T. gondii* pourrait contribuer à la pathologie de la toxoplasmose congénitale chez les femmes enceintes primo-infectées lors du premier trimestre de grossesse.

Reprogrammation du cistrome de LRH-1 par une accessibilité différentielle de la chromatine suite au signal ovulatoire

Stéphanie Bianco¹, Anne-Marie Bellefleur^{2,6}, Éline Beaulieu^{1,5}, Charles Joly Beauparlant³, Arnaud Droit³, Kristina Schoonjans⁴, Bruce D. Murphy², Nicolas Gévry¹

¹Université de Sherbrooke, ²Université de Montréal, ³Université Laval, ⁴Ecole polytechnique fédérale de Lausanne, ⁵University of Ottawa, ⁶Boviteq

Dans l'ovaire, la croissance et la maturation folliculaires sont des processus complexes qui impliquent une série de changements morphologiques et physiologiques, aussi bien dans les ovocytes que dans les cellules somatiques, menant à l'ovulation et à la lutéinisation, processus essentiels de la fertilité chez les femelles. Compte tenu de la complexité de l'ovulation, la caractérisation des éléments régulateurs à l'échelle du génome est essentielle pour comprendre les mécanismes qui régissent l'expression de gènes spécifiques dans le follicule en cours de différenciation.

Nous avons donc utilisé une approche de biologie des systèmes pour déterminer les mécanismes transcriptionnels globaux au cours des premières étapes du processus ovulatoire. Suite au signal hormonal qui initie l'ovulation, les cellules de la granulosa subissent une modification majeure des éléments régulateurs distaux, ce qui induit une reprogrammation du cistrome de l'indispensable récepteur nucléaire LRH-1 (liver receptor homolog-1). De manière intéressante, cette réorganisation cistromique de LRH-1 corrèle parfaitement avec les changements importants de l'expression des gènes des cellules de la granulosa. En effet, la stimulation hormonale du follicule pré-ovulatoire active plusieurs processus dépendant de LRH-1, dont le remodelage du cytosquelette et la migration cellulaire, événements essentiels à l'ovulation et à la lutéinisation.

Ainsi, notre analyse multi-omique intégrative combinant FAIRE-seq, ChIP-seq et RNA-seq, a permis de mettre en évidence le réseau de régulation spécifique de LRH-1 contrôlant les premiers événements de l'ovulation. Nos résultats démontrent également la puissance de l'utilisation d'approches globales complémentaires pour définir avec précision les événements moléculaires multiples et rapides caractéristiques des processus de reproduction.

Endogenous mediator of inflammation in preovulatory follicles: Role of HMGB1

Virginie Gaudreault^{1,2}, Anthony Estienne^{1,3}, Christopher A. Price^{1,3}, Sylvie Girard^{1,2}

¹Université de Montréal, ²Centre de recherche du CHU Sainte-Justine, ³Centre de Recherche en Reproduction et Fertilité

Inflammation plays a key role in folliculogenesis, particularly during ovulation. One type of inflammation is called sterile inflammation which is induced by damage-associated molecular pattern – DAMPS, particularly *high mobility group box 1* (HMGB1) a nuclear protein involved in gene transcription. Evidence shows that extracellular HMGB1 is inflammatory and has been shown to be elevated in polycystic ovary syndrome (PCOS) and infertility.

Objective: Determine the implication of HMGB1 in preovulatory follicle in physiological conditions.

Methods: Folliculogenesis was stimulated in C57bl6 mice by PMSG and 48h later hCG administered to induce ovulation. Subcellular localisation of HMGB1 was determined at different times in isolated granulosa cells (ELISA) or by immunohistochemistry (ovaries). In another set of experiments, granulosa cells were isolated after PMSG stimulation and cultured 12h prior to hCG stimulation for confocal analysis of HMGB1 subcellular localisation.

Results: PMSG-stimulated mouse ovaries had increased cytoplasmic concentration of HMGB1 in their granulosa cells which then decreased 8h following hCG administration. Similarly, decreased HMGB1 protein levels were observed in antral and pre-ovulatory follicles, by immunohistochemistry ($p < 0.001$). Furthermore, confocal analysis revealed that HMGB1 is localised mainly to the nucleus of granulosa cells but is also found in the cytoplasm prior to its secretion.

Conclusion: We conclude that HMGB1 protein levels are regulated during the preovulatory period, and that this molecule may play a role in the inflammatory pathway of ovulation.

Effects of organophosphate esters on a human granulosa cell line

Xiaotong Wang¹, Barbara Hales¹, Bernard Robaire^{1,2,3}

¹Department of Pharmacology and Therapeutics, ²Department of Obstetrics and Gynecology, ³Research Institute of the McGill University Health Centre

Use of the polybrominated diphenyl ether (PBDE) flame retardants has been regulated due to their adverse health effects. The PBDEs have been replaced by organophosphate esters (OPEs), but little information is available on their safety. Previous studies suggested that exposure to OPEs may be detrimental to female fertility. Here we focused on the effects of commonly used OPEs on ovarian granulosa cells. To test the hypothesis that OPEs will alter the cellular characteristics of granulosa cells to a lesser extent than PBDEs, we compared the effects of a major PBDE, 2,2',4,4' tetrabromodiphenyl ether (BDE-47), to those of three OPEs, tris(methylphenyl) phosphate (TMPP), triphenyl phosphate (TPHP) and isopropylated triphenyl phosphate (IPPP). KGN immortalized human granulosa cells were exposed to BDE-47 or an OPE (0.001 – 100 μ M) for 48h. Effects on cell counts, lysosome numbers, and lipid droplets were determined using fluorescent dyes and high content imaging. All the chemicals tested caused concentration-dependent decreases in cell survival, with IC₅₀ values for IPPP < TMPP < BDE-47 < TPHP. Exposure to BDE-47, TMPP or IPPP decreased the number of lysosomes per cell whereas TPHP had no effect. The number of lipid droplets increased significantly after exposure to low concentrations of IPPP (3.2 μ M), TMPP (5 μ M) or TPHP (10 μ M), whereas BDE-47 exhibited a significant effect only at 100 μ M. Thus, some OPEs have effects on KGN cells at lower concentrations and to a greater extent than BDE-47, suggesting that these alternatives may be more toxic. Supported by CIHR.

L'activation de la kinase AMPK dans les cellules de Leydig réprime l'expression des gènes *PLAU* et *Akr1b7* induite par une augmentation d'AMPc intracellulaire

Zoheir Demmouche¹, Houssein.S Abdou¹, Jacques J. Tremblay^{1,2}

¹Reproduction, Santé de la mère et de l'enfant, Centre de Recherche du Centre Hospitalier Universitaire de Québec-Université Laval, Québec, Canada, ²Centre de recherche en Reproduction, développement et santé intergénérationnelle, Département d'obstétrique, gynécologie et reproduction, Faculté de médecine, Université Laval, Québec, Canada

Dans les cellules de Leydig, la LH induit une augmentation d'AMPc intracellulaire augmentant l'expression de gènes impliqués dans la stéroïdogénèse. La dégradation subséquente de cet AMPc en AMP conduit à l'activation de la kinase AMPK. Cette dernière exerce un rétrocontrôle négatif sur la stéroïdogénèse en phosphorylant des protéines présentement inconnues, réprimant ainsi l'expression de gènes de la stéroïdogénèse. Notre objectif est d'identifier de nouveaux gènes dont l'expression est modulée lorsque l'AMPK est activée. Pour y parvenir, une analyse plus poussée de données de microarray déjà disponibles au laboratoire a été réalisée comparant le transcriptome des cellules de Leydig MA-10 où la stéroïdogénèse est induite normalement et induite en présence d'un activateur de l'AMPK. Cette analyse a permis de mettre en évidence de nouveaux gènes candidats tels *PLAU* et *Akr1b7*, en plus de gènes précédemment caractérisés dont *Star* et *Nur77* validant l'approche. *PLAU* code pour la sérine protéase uPA impliquée dans la synthèse du cholestérol par les macrophages. *Akr1b7* code pour une aldose réductase qui élimine l'isocaproaldéhyde produit lors de la première étape de la stéroïdogénèse. La variation dans l'expression de ces gènes après activation de l'AMPK a été confirmée par qPCR. Un fragment du promoteur des gènes *PLAU* et *Akr1b7* est en cours d'isolation afin de réaliser des transfections pour identifier les éléments de réponses ciblés par l'AMPK. AMPK étant la première kinase identifiée réprimant la stéroïdogénèse, manipuler son activité et ses cibles ouvrira de nouvelles voies thérapeutiques pour les pathologies hormono-dépendantes. Subvention des IRSC (PJT-148738).

Last-minute K-fibre establishment underpins age-related chromosome segregation errors in mouse oocytes

Aleksandar I. Mihajlović¹, Caitlin Mehrotra¹, Greg FitzHarris¹

¹CRCHUM, Université De Montréal, 900 Rue St Denis, Montreal, H2X0A9 Canada

Chromosome segregation errors that arise during the first meiotic division (MI) lead to aneuploidy, the incidence of which increases with age and is considered major contributing factor of age-related decline in female fertility. Accurate segregation requires timely formation of stable end-on attachments between kinetochores and microtubules (K-fibres) prior to anaphase. Here, we examined temporal dynamics of K-fibre formation in young and old oocytes during MI. We observed increased frequency of lagging chromosome in old (58.8%) versus young oocytes (26.7%), alluding to erroneous K-fibre formation in old oocytes. In both groups, the proportion of stable end-on microtubule-kinetochore attachments gradually increased over time at the expense of lateral attachments reaching maximum level at the time-point just prior to anaphase. The proportion of merotelic misattachments, initially higher in old oocytes, eventually decreased to the level equivalent to that of young oocytes as the MI progressed, suggesting that the error-correction mechanisms operate in old oocytes. Strikingly, the proportion of chromosomes lacking stable MT-kinetochore attachments gradually decreased over time in young oocytes and became negligible prior to anaphase, but remained constantly high (20-30%) throughout MI in old oocytes. However, at the anaphase onset, all chromosomes in both groups become stably attached, suggesting that large proportion of chromosomes in old oocytes rapidly stabilize their attachments just prior to anaphase. Consistently, lagging chromosomes, indicative of segregation error, possessed incorrect microtubule-kinetochore attachments. We propose that this sudden formation of stable kinetochore-microtubule attachments might be error-prone and explain the increased incidence of chromosome segregation errors found in old oocytes.

Functional studies of tribbles homolog 2 (TRIB2) in ovarian granulosa cells

Aly Warma¹, Christopher A. Price¹, David W. Silversides¹, Jacques G. Lussier¹, Kalidou Ndiaye¹

¹Centre de recherche en reproduction et fertilité, Département de biomédecine vétérinaire, Faculté de médecine vétérinaire, Université de Montréal, Saint-Hyacinthe, Québec, J2S 7C6, Canada

The declining fertility of dairy cows leads to significant economic losses in the agricultural and dairy industries each year. The causes associated with fertility decline are diverse but involve the ovary. We previously identified *TRIB2* as a differentially expressed gene in granulosa cells (GC) of bovine preovulatory follicles and other studies have shown that *TRIB2* mRNA is rapidly induced by mitogens in *Drosophila*. However, no study has investigated *TRIB2* function in GC. This study aimed to further investigate *TRIB2* regulation and study its function in GC of bovine follicles.

GC were obtained from follicles at different developmental stages: small follicles (SF), dominant follicles at day 5 of the oestrous cycle (DF), ovulatory follicles 24h post-hCG injection (OF), and corpus luteum at day 5 of the oestrous cycle (CL). In addition to this *in vivo* model, an *in vitro* model of cultured GC was used for functional studies using the CRISPR-Cas9 approach.

RT-qPCR analyses showed greatest expression of *TRIB2* mRNA in GC of DF, while the weakest expression was in OF ($P < 0.0001$). Significant decline in *TRIB2* mRNA expression was observed at 6h post-hCG through 24h post-hCG as compared to 0h ($P < 0.001$). *In vitro* studies showed that FSH stimulates *TRIB2* expression ($P < 0.05$) while inhibition of *TRIB2* using CRISPR-Cas9 resulted in significantly reduced GC proliferation ($P < 0.05$).

These results support a physiologically and relevant role of *TRIB2* in the growing follicle. Upon completion, this project could lead to innovative ways to control the ovarian function.

Conférencier invité - Invited Speaker

Dr Martin M. Matzuk



Dr. Martin M. Matzuk is Director of the Center for Drug Discovery, Director of Clinical Chemistry at Ben Taub Hospital, and Stuart A. Wallace Chair, Robert L. Moody, Sr. Chair, and Professor in the Department of Pathology & Immunology at Baylor College of Medicine (BCM). Martin is a reproductive biologist, cancer biologist, and clinical pathologist. He is acknowledged for his elucidation of TGF β superfamily, germ cell, and hormonal signaling pathways using functional genomics approaches. He graduated with a B.A. with honors in biology from the University of Chicago, earned his M.D. and Ph.D. from Washington University School of Medicine, performed residency training in clinical pathology at the University of Pennsylvania and BCM, and joined the BCM faculty in 1993. He has published more than 340 papers, generated over 100 mouse models, and lectured at >170 symposia. Matzuk has mentored more than 50 students, postdoctoral fellows, and medical fellows in his 25 years as a faculty member at BCM, and he was the recipient of the 2015 Trainee Mentoring Award from the Society for the Study of Reproduction. Matzuk's other honors include the Richard Weitzman Award from the Endocrine Society, HypoCCS Award from Eli Lilly, Society for the Study of Reproduction Research Award, Pfizer Outstanding Investigator Award from the American Society for Investigative Pathology, Roy Greep Award from The Endocrine Society, and the International Fundacion IVI Award in Reproductive Medicine.

On Tuesday, Dr. Matzuk will give a talk entitled: “***Genetic and Chemical Approaches to Fertility and Contraception***”.

Session d'affiches II – Poster Session II
14 novembre – November 14th
9h00 – 10h30

1. Régulation spécifique des isoformes d'Akt lors de la décidualisation in vivo d'un modèle murin PR-Cre. *Pascal Adam, PhD Student, Université du Québec à Trois-Rivières (Page 49)*
2. More than one can bear: Investigating the transferable impact of persistent organic pollutants on the adipocyte transcriptome between mother polar bears and her cubs from Svalbard, Norway. *Pauline Herst, PhD Student, Université Laval (Page 50)*
3. Folic acid partially protects the paternal lineage against developmental disorders due to prenatal exposure to Arctic pollutants. *Phanie Charest, PhD Student, Université Laval (Page 51)*
4. LATS1 et LATS2 maintiennent le destin cellulaire des cellules de Leydig et de Sertoli durant le développement embryonnaire du testicule. *Amélie Ménard, BSc Student, Université de Montréal (Page 52)*
5. Understanding the role of paternal obesity in the transmission of metabolic syndrome across generations. *Anne-Sophie Pépin, PhD Student, McGill University (Page 53)*
6. Identifying and Mitigating Batch Effects in Genome-wide DNA Methylation Data. *Anthony Lemieux, BSc Student, Université de Montréal (Page 54)*
7. Chromatin remodeling in rat germ cells during perinatal development. *Arlette Rwigemera, PhD Student, INRS-Institut Armand Frappier (Page 55)*
8. Les phtalates pourraient participer à la promotion du cancer du sein par augmentation de la prolifération cellulaire via l'activation du récepteur à la progestérone. *Béline Crobeddu, PhD Student, INRS-Institut Armand Frappier (Page 56).*
9. Démonstration des effets biologiques de repousser l'insémination chez les vaches en stress métabolique. *Catherine Chaput, MSc Student, Université Laval (Page 57)*

10. Characterization of the IGSF1 Interactome. *Courtney Smith, PhD Student, McGill University (Page 58)*
11. Rétablissement de l'expression de gènes à empreinte dans les cellules souches embryonnaires par édition épigénétique crispr. *Elizabeth Elder, BSc Student, Université de Montréal (Page 59)*
12. IGSF1 does not regulate FSH synthesis or secretion in vivo or in vitro. *Emilie Brûlé, PhD Student, McGill University (Page 60)*
13. Impact des POPs et de l'acide folique sur le système squelettique des rats fœtaux à 19,5 jours postcoïtum. *Emmanuel Tessougué, MSc Student, Université Laval (Page 61)*
14. Action anti-tumorale de la mélatonine par une augmentation du stress oxydatif des cellules de choriocarcinome humain. *Fatma Kharrat, MSc Student, INRS-Institut Armand Frappier (Page 62)*
15. Regulation and Functional Studies of Ankyrin-repeat and SOCS-box protein 9 (ASB9) in the ovulatory follicle. *Gabriel Benoit, MSc Student, Université de Montréal (Page 63)*
16. Human oocytes harbouring damaged DNA can complete meiosis-I. *Gaudeline Rémillard-Labrosse, Research Professional, Université de Montréal (Page 64)*
17. Deletion of Lats1/2 commits mullerian mesenchymal cells to the myofibroblast cell fate. *Guillaume St-Jean, PhD Student, Université de Montréal (Page 65)*
18. A novel role for Hippo signaling in gonadotropin synthesis. *Gustavo Zamberlam, Researcher, Université de Montréal (Page 66)*
19. Extracellular vesicles: small but mighty claudin cargo. *Jenna Haverfield, Postdoctoral Fellow, McGill University (Page 67)*
20. L'aromatisation de la testostérone en œstrogène chez le mâle altère le métabolisme dans le tissu adipeux blanc. *Joannie Connell, PhD Student, Université de Sherbrooke (Page 68)*
21. Détermination du rôle de la protéine du X-fragile (FMRP) dans l'ovaire. *Karen Nenonene, MSc Student, Université Laval (Page 69)*

22. Étude de la méthylation des ARNs maternels au sein de l'ovocyte. *Karine Dubuc, MSc Student, Université Laval (Page 70)*
23. Implication of mutated DNMT3A in the Pathogenesis of Tatton-Brown-Rahman syndrome. *Karine Doiron, Postdoctoral Fellow, Université de Montréal (Page 71)*
24. Primary cilia: cell antenna and mediators of Hedgehog signalling in the epididymis. *Laura Girardet, PhD Student, Université Laval (Page 72)*
25. Le rôle des isoformes d'Akt dans les processus reproductifs chez la souris. *Laurence Tardif, MSc Student, Université du Québec à Trois-Rivières (Page 73)*
26. Effect of different concentrations of two disaccharides, trehalose and sucrose, on maturation rates of equine oocytes. *Karla Elena Herrera-Hidalgo, MSc Student, Univesrité de Montréal (Page 74)*

Régulation spécifique des isoformes d'Akt lors de la décidualisation in vivo d'un modèle murin PR-Cre

Pascal Adam¹, François Fabi¹, Francis Demontigny¹, Laurence Tardif¹, Sophie Parent¹, Eric Asselin¹

¹Université du Québec à Trois-Rivières

L'une des principales causes d'infertilité est associée à une communication inefficace entre l'embryon et l'endomètre maternel qui permet normalement l'implantation. Afin que ce processus ait lieu avec succès, les cellules endométriales stromales doivent proliférer et se différencier lors de la décidualisation. La protéine kinase Akt est retrouvée sous trois isoformes différents, (1, 2, 3) chacun possédant des rôles physiologiques distincts qui demeurent peu étudiés. Récemment, un effet isoforme spécifique de l'activité d'Akt sur l'expression transcriptionnelle des marqueurs déciduaux prolactine et IGFBP1 dans un contexte *in vitro* a été démontré par notre laboratoire; toutefois, une meilleure compréhension de ces résultats est nécessaire. Notre objectif est donc d'étudier la contribution spécifique des isoformes d'Akt lors de la décidualisation grâce à un modèle *in vivo* novateur. En effet, nous avons développé un modèle murin KO simple et combiné pour chaque isoforme d'Akt spécifiquement dans les tissus exprimant le récepteur à la progestérone (ovaires, utérus et glandes mammaires). Par l'induction artificielle de la décidualisation, nous investiguons l'effet de l'expression, de la localisation intracellulaire ainsi que l'activité de chaque isoformes d'Akt sur l'expression des marqueurs déciduaux. Suite à ces résultats, la régulation isoforme spécifique de l'activité d'Akt sur ces cibles moléculaires en aval tel que p70S6K, I κ B α , GSK3 β et FOXO1 sera étudiée puisque des résultats préliminaires montrent une telle modulation lors d'un contexte non-gestatif, progestérone dominante. L'approfondissement de notre compréhension de l'implication de la voie de signalisation PI3K/Akt dans le processus de la décidualisation permettra d'élaborer de nouvelles cibles thérapeutiques pour le traitement de l'infertilité.

More than one can bear: Investigating the transferable impact of persistent organic pollutants on the adipocyte transcriptome between mother polar bears and her cubs from Svalbard, Norway

Pauline M. Herst¹, Charles Joly², Arnaud Droit², Jon Aars³, Mathieu Dalvai¹, Heli Routti³, Janice L. Bailey¹

¹Laboratory of Sperm Function and Toxicology, Department of Animal Sciences, Faculty of Agriculture and Nutrition, Laval University, Quebec City, Canada, ²Computational Biology Laboratory Research Centre, Faculty of Medicine, Laval University, Quebec City, Canada, ³Norwegian Polar Institute, Fram Centre, NO-9296 Tromsø, Norway

Persistent organic pollutants (POPs) are of great concern in Arctic ecosystems. POPs are lipophilic and bioaccumulate in adipose tissue. Polar bears (*Ursus maritimus*) are highly contaminated and have evolved large fat stores. Recent studies suggest that POPs may affect lipid metabolism in female polar bears, however, the impact on her offspring remains unknown. Females nurse their offspring with contaminated lipid-rich milk – consequently, even very young cubs have higher POPs concentrations in their blood circulation than their mothers. To further understand the vertical (mother-cub) and horizontal (between (non) identical cubs) effects of POPs on lipid metabolism and bear physiology we hypothesize the following:

(1-Vertical) Increasing exposure to POPs in polar bear mothers disrupts the adipose tissue transcriptomes of adult female polar bears and their offspring.

(2-Horizontal) POP-related transcriptomic dysregulation in adipose tissue is sex-specific and differs between male and female polar bear cub pairs.

Adipose tissue biopsies were collected from adult female polar bears and cubs in Svalbard, Norway, in spring 2011-2013 (POPs plasma concentration: 10.46 - 248.62 ng/g wet weight). Total RNA was extracted from biopsies from adult females (n=13) and cub pairs (♂-♂n=5 | ♂-♀n=4 | ♀-♀n=4) were subjected to transcriptomic sequencing analysis. T

his study will broaden our current understanding of POPs and their impact on the lipid metabolism and physiology in apex predators. We will further elucidate coping mechanisms polar bears utilize to adapt to their changing environment. This is a unique opportunity to observe transcriptomic differences between (non) identical cubs including sex-specific traits regarding lipid metabolism.

Folic acid partially protects the paternal lineage against developmental disorders due to prenatal exposure to Arctic pollutants

Phanie L. Charest¹, Maryse Lessard¹, Pauline Herst¹, Pauline Navarro¹, Amanda MacFarlane², Sarah Kimmins³, Jacquetta Trasler³, Mathieu Dalvai¹, Marie-Odile Benoit-Biancamano⁴, Janice L. Bailey¹

¹Université Laval, ²Santé Canada, ³Université McGill, ⁴Université de Montréal

Because of their traditional diet, Inuit people have low folate intake and are highly contaminated by Persistent Organic Pollutants (POPs), which are known to perturb the endocrine system. Inuit also have higher adverse pregnancy outcomes and shorter life expectancy. We hypothesized that folic acid (FA) supplementation attenuates developmental disorders in fetuses and placentas associated with prenatal paternal exposure to POPs over multiple generations.

Founder female rats were divided into four treatment groups and gavaged with corn oil or an Arctic POPs mixture before mating and until parturition. Their diet contained either a physiological (2 mg/kg) or supplemented (6 mg/kg) dose of FA. Twelve F1 males/treatment group were mated to untreated females to produce F2 rats and so on until F4. Females were sacrificed at gestational day 19.5 to collect the fetuses and placentas.

The F1 fetal:placental weight (FW:PW) ratio was reduced by POPs*FA interaction suggesting an inadequate placental efficiency resulting in smaller fetuses ($p < 0.0001$). F1 placentas likely adapted to enhanced fetal needs in the presence of POPs, because the labyrinth zone area was larger whereas the basal zone area was smaller ($p = 0.03$). The FW:PW ratio was reduced in F2 FA-supplemented lineage. Surprisingly, the FA-supplemented lineages exceeded the expected incidence of fetal malformations in F1, F2 and F4 generations.

Intergenerational transmission of the paternal environment was apparent and may occur via the sperm epigenome or placental disruption. Although this study partially supports our hypothesis, FA supplementation may not represent an ideal solution to counteract the consequences of POPs.

[1] Girard et al, 2014, AJRI; 72: 422-434

LATS1 et LATS2 maintiennent le destin cellulaire des cellules de Leydig et de Sertoli durant le développement embryonnaire du testicule

Amélie Ménard¹, Adrien Levasseur¹, Guillaume St-Jean¹, Nour A. Nader¹, Marie Le Gad-Le Roy¹, Marie-Odile Benoit-Biancamano¹, Derek Boerboom¹, Alexandre Boyer¹

¹Université de Montréal

Dans la voie de signalisation Hippo, LATS1/2 (*Large tumor suppressor kinases 1/2*) sont deux kinases fonctionnellement redondantes qui phosphorylent et inhibent YAP et TAZ, deux co-activateurs transcriptionnels impliqués dans la prolifération et la différenciation cellulaire embryonnaire. Afin d'évaluer le rôle de la voie Hippo dans le développement testiculaire, nous avons créé un modèle de souris (*Lats1^{flox/flox};Lats2^{flox/flox};Nr5a1^{cre/+}*) dans lequel *Lats1/2* sont conditionnellement inactivés dans les cellules somatiques du testicule. Les testicules des souris *Lats1^{flox/flox};Lats2^{flox/flox};Nr5a1^{cre/+}* sont caractérisés par une accumulation progressive de cellules fusiformes dans l'interstitium périvitubulaire, par un enroulement anormal des cordons testiculaires et par la perte progressive des cellules exprimant CYP17a1 et SOX9, signifiant que le maintien de l'identité des cellules de Leydig et de Sertoli est affecté. Une apparition progressive de cellules exprimant alpha-SMA dans l'interstitium des animaux *Lats1^{flox/flox};Lats2^{flox/flox};Nr5a1^{cre/+}* accompagnée par l'augmentation de l'expression des gènes *Acta2*, *Cald1*, *Cnn1*, *Cox2* et *Spp*, indiquent que les cellules fusiformes sont des myofibroblastes. De plus, une augmentation de l'expression nucléaire de YAP/TAZ dans les myofibroblastes et de TAZ dans les cellules somatiques des tubules séminifères et une augmentation de l'expression des gènes cibles de YAP/TAZ sont observées dans les testicules des animaux mutants tandis que le nombre de cellules en apoptose n'est pas augmenté. Ces résultats suggèrent que LATS1/2 permettent le maintien du destin des cellules somatiques du testicule et l'inhibition de la transdifférenciation des cellules de Leydig en myofibroblastes en réduisant l'activité de YAP/TAZ. Nos résultats permettent de conclure que la voie Hippo joue un rôle crucial dans le développement testiculaire.

Understanding the role of paternal obesity in the transmission of metabolic syndrome across generations

Anne-Sophie Pépin^{1,2}, Christine Lafleur², Deborah M. Sloboda³, Sarah Kimmins^{1,2}

¹Department of Pharmacology and Therapeutics, McGill University, Montreal, Quebec, Canada, ²Department of Animal Science, McGill University, Ste-Anne-de-Bellevue, Quebec, Canada, ³Department of Biochemistry and Biomedical Sciences, McMaster University, Hamilton, Ontario, Canada

Although there is increasing evidence that paternal preconception environment can affect offspring health, the underlying molecular mechanisms are still elusive, and the role of sperm histone methylation in this phenomena is still understudied. The Kimmins lab has previously established that sperm histone methylation is implicated in transgenerational epigenetic inheritance, using a transgenic mouse model with a compromised sperm epigenome which gave rise to abnormal offspring with reduced survivability.

We sought to investigate whether high-fat diet could alter the sperm epigenome which could explain metabolic disease transmission across generations.

We hypothesized that descendants of males with an altered sperm epigenome will be more sensitized to the detrimental effects of a high-fat diet.

To test this hypothesis, wildtype (n=17 and 25), transgenic (n=15 and 24) and wildtype littermates (n=13 and 23) males were fed for 10-12 weeks a low- or a high-fat diet (10% and 60% kcal fat respectively). Males on the diet were bred to wildtype females to generate the offspring (n=28-59 per sex per group). Metabolic function was assessed at 4 months of age by intraperitoneal glucose and insulin tolerance tests, and blood glucose and serum insulin levels.

Males on a high-fat diet became obese and showed signs of metabolic syndrome. Interestingly, offspring showed sex-specific effects: male descendants of high-fat fed fathers showed altered metabolic functions, while female offspring showed consistent metabolic responses across groups. Furthermore, males sired by non-transgenic obese fathers had baseline metabolic disturbances. These findings indicate a potential epigenetic-environment interaction in the sperm impacting offspring metabolic phenotypes.

Identifying and mitigating batch effects in genome-wide DNA methylation data

Anthony Lemieux^{1,2}, Lisa-Marie Legault^{1,2}, Maxime Caron¹, Serge McGraw^{1,2}

¹Centre de Recherche du CHU Sainte-Justine, Montréal, Canada, ²Département de Biochimie, Faculté de Médecine, Université de Montréal, Canada

Genome-wide sequencing by reduced represented bisulfite sequencing (RRBS) utilizing data sourced from multiple libraries inevitably introduces Batch effects in methylation data. Batch effects are variables associated with different time points, laboratory workers or protocol modifications. They are not well understood but are known to have important impacts on the results. For this project, two different people have conducted the experiment at different time points. Using quality control analysis to analyze the distribution of RRBS methylation data, we filtered samples according to predetermined thresholds. Then, we used Sequence Variant Analyzer (SVA), a tool that has the capacity to estimate the number of surrogate variables (SV). Once the correcting matrix of each variable is calculated, DMRs are calculated with Methylkit and corrected according to the number of SVs chosen. The results of the analysis led us to removed 10 samples due to their high methylation proportion in promoters or because their methylation average was out of the thresholds. SVA estimated 42 SVs for all samples and 30 SVs without samples from the first time point. Those poor results convinced us to rule out samples from the first time point due to a modification in the library preparation protocol. For now, it is possible to observe that the number of DMRs is decreasing with the increasing number of SV accounted for in the correction. Further analyses will be performed to determine if the correction of our results correlates positively or negatively.

Chromatin remodeling in rat germ cells during perinatal development

Arlette Rwigemera¹ and Géraldine Delbès¹

¹INRS-Institut Armand-Frappier

Epigenetic reprogramming is essential for germ cells perinatal development, ensuring genomic imprinting and cell differentiation. While the global kinetic of DNA methylation, that defines this reprogramming, has already been detailed, the dynamic of histone modifications has poorly been described. To better define histone modifications changes in perinatal germ cells (gonocytes), rat gonads were explanted from 16 days of gestation (GD) to 3 days after birth. Activating (H2BK20ac, H3K4me2/3) and repressing (H2AK119Ub, H3K9me2, H3K27me3) histone marks were analyzed by immunofluorescence. In male gonocytes' nucleus, we observed that from GD18 onwards, repressive marks decreased while they did not vary in females. Activating marks also displayed sex-specific patterns: 1- H3K4me2 decreased in male gonocytes but remained stable in female's; 2- H2BK20ac only varied in female gonocytes where it decreased from GD16 and increased after birth; 3- H3K4me3 surged at GD18 in both sexes but remained stable in male gonocytes while declining after birth in females. To tackle which enzymes are involved in the dynamic of H3K4me3, expressions of known modifiers were analyzed based on transcriptomic data from the literature. Interestingly, methyltransferase SETD1A and PRDM9 expression patterns follow H3K4me3 dynamic in male and female, respectively. Our study further details the sex-specific epigenetic reprogramming during gonocytes development. Our results suggest that germ cells' chromatin adopt an open structure, in part through trimethylation of H3K4 which may be catalyzed by sex-specific enzymes. Interestingly, as the H3K4me3 surge precedes DNA methylation in male gonocytes, it would be interesting to test if these two events are interdependent.

Les phtalates pourraient participer à la promotion du cancer du sein par augmentation de la prolifération cellulaire via l'activation du récepteur à la progestérone

Béline Crobeddu^{1,2}, Emanuelle Ferraris¹, Elise Kolasa¹, Isabelle Plante^{1,2}

¹INRS-Institut Armand-Frappier, ²RQR¹INRS-Institut Armand-Frappier, ²Réseau Québécois en reproduction

Les plastifiants sont des molécules ajoutées aux plastiques lors de leur fabrication pour améliorer leur flexibilité. Parmi ceux-ci, le di(2éthylhexyle) phtalate (DEHP), est largement utilisé dans les dispositifs médicaux, et certains jouets pour enfants. Comme le DEHP ne forme pas de liaisons covalentes avec les plastiques, il est relargué de ceux-ci au cours du temps, entraînant une exposition humaine chronique. Bien que le DEHP soit considéré comme un perturbateur endocrinien par son action anti-androgénique et ses conséquences sur la fertilité, ses mécanismes de toxicité sont encore mal connus. L'objectif de ce projet était de déterminer l'effet d'une exposition au DEHP et d'un de ses principaux métabolites, le phtalate de monoéthylhexyle (mEHP), sur le cancer du sein. Des cellules épithéliales mammaires, les cellules T-47D, ont été exposées à des doses environnementales et des doses aiguës de DEHP et de mEHP. Nos résultats ont montré qu'une exposition à 10 000 nM de DEHP et à 0,1 nM de mEHP augmentait la prolifération, l'expression protéique du récepteur à la progestérone (PR) et de sa localisation nucléaire. L'ensemble de ces observations ont été totalement, ou partiellement, inhibé par un antagoniste du PR, la Mifepristone. Ces résultats suggèrent qu'une exposition aux phtalates accroît la prolifération cellulaire *via* la signalisation du PR, pouvant participer à la promotion des cancers du sein hormono-dépendants. Le mécanisme d'activation du PR par le DEHP et le mEHP, ainsi que l'effet d'une exposition périnatale chronique sur le développement de la glande mammaire et du cancer du sein restent à être élucidés.

Démonstration des effets biologiques de repousser l'insémination chez les vaches en stress métabolique

Catherine Chaput¹, Isabelle Dufort¹, Janie Lévesque², Marc-André Sirard¹

¹Université Laval, ²Centre de recherche en sciences animales de Deschambault

En début lactation, la vache subit un stress important occasionné par l'impossibilité de combler l'ensemble de ses besoins énergétiques par sa consommation exogène. Cette période caractéristique appelée balance énergétique négative entraîne un épuisement des réserves corporelles de l'animal et représente un défi métabolique important. Ce déficit au moment de l'insémination entraîne aussi des répercussions épigénétiques chez la future progéniture, soit une baisse de la production laitière ainsi que de la fertilité potentielle future. Malheureusement, depuis maintenant plus de 40 ans on incite les producteurs à inséminer toutes leurs vaches dès le jour 60. Ce contexte favorise alors des dépenses accrues pour l'insémination, les frais vétérinaires et parfois une décision de remplacement prématurée. Ce projet consiste à documenter l'effet de la balance énergétique négative sur la qualité de l'embryon et, en l'occurrence, à identifier des pistes afin d'améliorer la fertilité des bovins laitiers.

La mesure du bêta-hydroxybutyrate a été effectuée à la base de la queue entre 45 et 60 jours post-partum sur douze vaches de race Holstein. Selon la mesure sanguine obtenue, la vache fut déterminée comme faiblement ou gravement en déficit énergétique. Après une synchronisation des chaleurs à l'aide d'hormones ainsi qu'une stimulation ovarienne, la vache fut inséminée et les embryons ont été sélectionnés afin d'être transférés dans deux primipares. Grâce à la plate-forme EmbryoGENE, il fut possible d'obtenir l'état de méthylation de l'ADN au stade blastocyste et de déterminer des marqueurs permettant de prédire l'effet maternel non génétique sur la production de la fille.

Characterization of the IGSF1 Interactome

Courtney L. Smith¹ and Daniel J. Bernard¹

¹Department of Pharmacology and Therapeutics, McGill University, Montreal, Quebec, Canada

The hypothalamic-pituitary-thyroid (HPT) axis controls the synthesis and secretion of thyroid hormones (THs). THs have many actions throughout the body, but are best known for their regulation of growth and metabolism. Central hypothyroidism, a rare endocrine disorder, occurs when defects in the hypothalamus and/or the pituitary cause TH-deficiency. Mutations in the immunoglobulin superfamily, member 1 (*IGSF1*) gene are the most common cause of congenital central hypothyroidism. IGSF1 is a type 1 transmembrane protein of unknown function that is highly expressed in the pituitary gland. To define potential mechanism of IGSF1 action, we will identify its interacting partners using a new proximity interaction labelling method, BioID. The BioID method attaches a BirA* biotinylase onto the protein of interest (bait). In the presence of biotin, BirA* biotinylates interacting and proximal proteins. The biotinylated proteins (prey) are pulled down using streptavidin beads, which have a high affinity for biotin, and are identified using mass spectrometry. As we are most interested in intracellular signaling, we fused BirA* to the intracellular tail of IGSF1. The IGSF1-BirA* fusion protein properly traffics to the plasma membrane and the fusion protein possesses biotinylase activity. Next, we will stably express the IGSF1-BirA* fusion protein in homologous and heterologous cell lines and perform the proteomic screen. In the long-term, our work will define the function of IGSF1 in the pituitary, and may facilitate the discovery of novel causes of congenital central hypothyroidism. Funding Sources: Supported by CIHR, RQR, and McGill Faculty of Medicine.

Rétablissement de l'expression de gènes à empreinte dans les cellules souches embryonnaires par édition épigénétique crispr

Elizabeth Elder¹, Virginie Bertrand-Lehouillier¹, Lisa-Marie Legault¹, Nicolas Gévry², Vilceu Bordignon³, Serge McGraw¹

¹Centre de recherche du CHU Sainte-Justine, Université de Montréal, ²Département de biologie, Université de Sherbrooke, ³Département de sciences animales, McGill University

Au début de l'embryogénèse, l'embryon subit une vague de reprogrammation des marques de méthylation de l'ADN afin d'instaurer le programme embryonnaire. Cependant, la méthylation qui régule les gènes à empreintes (e.g. H19, Peg13), qui acquièrent une empreinte épigénétique parentale lors de la gamétogénèse, et les gènes empreintes-*like* (e.g. famille des Xlr) doivent échapper à cette reprogrammation. Un dérèglement dans le maintien de ces empreintes occasionnera une perte permanente des profils épigénétiques puisque l'embryon n'est pas apte à les rétablir. En conséquence, des erreurs épigénétiques héréditaires seront transmises de cellules en cellules causant des troubles majeurs dans la régulation de l'expression génique. Pour ce projet, nous proposons de restaurer l'expression génique normale des gènes à empreinte par méthylation ciblée de l'ADN avec un système CRISPR/dCas9-DNMT3A d'édition de l'épigénome. Pour répondre à cette question, nous avons développé un modèle de cellules souches embryonnaires de souris (*Dnmt1^{Tet/Tet}*) dans lesquelles l'enzyme responsable du maintien de la méthylation de l'ADN, l'ADN méthyltransférase 1, est robustement activée et inactivée par un traitement à la doxycycline, nous permettant ainsi d'induire la perte de méthylation de l'ADN sur l'ensemble du génome. Grâce à cette approche innovatrice, nous pourrions étudier l'expression génique ainsi que le remodelage du microenvironnement de la chromatine suite à la reméthylation de l'ADN. Cette étude permettra d'approfondir la compréhension de l'apparition de dérèglements épigénétiques et d'améliorer l'utilisation des techniques d'édition de l'épigénome pendant le développement embryonnaire.

IGSF1 does not regulate FSH synthesis or secretion *in vivo* or *in vitro*.

Emilie Brûlé¹, Yining Li², Gauthier Schang², Ying Wang², Daniel Bernard^{1,2}

¹Department of Anatomy and Cell Biology, McGill University, ²Department of Pharmacology and Therapeutics, McGill University

Loss of function mutations in the X-linked immunoglobulin superfamily, member 1 (*IGSF1*) gene result in central hypothyroidism, often associated with macroorchidism. *Igsf1*-deficient mice are also centrally hypothyroid, due to impaired thyrotropin-releasing hormone (TRH) receptor expression and TRH action in the pituitary. The mechanisms underlying testicular enlargement are unclear and disputed. IGSF1 was originally characterized as an inhibin co-receptor. As inhibins negatively regulate follicle-stimulating hormone (FSH), it was hypothesized loss of IGSF1 would lead to impaired inhibin action, elevated FSH, and, as a result, enhanced Sertoli cell proliferation during post-natal development. However, IGSF1 does not associate with inhibin A or B in heterologous binding assays. More recently, IGSF1 was proposed to inhibit signaling by the activin type IB receptor (ALK4). As activins stimulate FSH, the loss of this inhibition should lead to enhanced FSH levels. However, neither humans nor mice with IGSF1-deficiency have elevated FSH. Moreover, the methods used to demonstrate IGSF1 regulation of human *FSHB* promoter-reporter were conducted in a heterologous assay system in which such reporters lack activin/ALK4-dependent activity. Here, we further demonstrate that, when over-expressed in a homologous cell system (L β T2 cells), IGSF1 does not impair induction of murine or human *Fshb*/*FSHB* promoter-reporters by activin A or a constitutively active form of ALK4. Preliminary data further indicate that *Fshb* mRNA expression is similarly antagonized by inhibin A and B in primary cultures of pituitaries from wild-type and *Igsf1*-deficient mice. Collectively, the available data fail to support a role for IGSF1 in FSH regulation by activins, inhibins, or otherwise.

Impact des POPs et de l'acide folique sur le système squelettique des rats fœtaux à 19,5 jours postcoïtum.

Emmanuel Tessougué¹, Phanie L. Charest¹, Amanda MacFarlane², Sarah Kimmins³, Mathieu Dalvai¹, Janice L. Bailey¹

¹Université Laval, ²Département de biologie, Santé Canada, Ottawa, ON, Canada, ³Université McGill

Introduction : Les Polluants Organiques Persistants (POPs) sont des perturbateurs endocriniens qui altèrent les fonctions reproductrices. Quelques publications suggèrent que les POPs pourraient perturber l'ostéogenèse et le développement squelettique.

Hypothèses : Une exposition *in utéro* à une mixture de POPs mimant la contamination dans l'arctique induit des malformations osseuses chez les fœtus de rat qui peuvent être transmises aux générations suivantes par les pères. Ces effets peuvent être limités par une supplémentation en acide folique (AF).

Méthodologie : Quatre groupes de rats femelles Sprague-Dawley (F0) ont été gavés avec un mélange de POPs (500µg/kg) ou d'huile de maïs (contrôle). Elles ont été soumises à un régime alimentaire contenant une dose basale de 2mg/kg (1x) ou supplémenté à 6 mg/kg (3x) d'acide folique (AF). Les femelles ont été accouplées à des mâles non traités pour faire la génération F1 et les mâles F1 avec des femelles non traitées pour produire les générations suivantes.

Résultats : Le développement squelettique des fœtus à 19,5 dpc a été analysé grâce à la mise au point de la technique de la double coloration (bleu Alcian/rouge Alizarine) pour les rats, suivie d'une observation microscopique. Une grille d'évaluation du développement osseux a été créée pour normaliser nos observations. L'analyse morphologique de la génération F1 est actuellement en cours.

Conclusion : Une analyse statistique de nos paramètres nous permettra d'évaluer l'incidence des POPs sur le développement osseux des fœtus de rat et d'identifier le potentiel effet protecteur de l'acide folique.

Action anti-tumorale de la mélatonine par une augmentation du stress oxydatif des cellules de choriocarcinome humain

Fatma Kharrat^{1,2} and Cathy Vaillancourt^{1,2,3,4}

¹INRS-Institut Armand-Frappier, ²CINBIOSE, ³BioMed, ⁴Réseau Québécois en reproduction

Contexte: La mélatonine est un puissant antioxydant produit par les cellules trophoblastiques placentaires et les protégeant du stress oxydatif. Dans les cellules tumorales placentaires, cette indolamine induit plutôt la mort cellulaire, mais on n'a jamais investigué comment elle exerce cet effet. **Hypothèse:** La mélatonine augmente le stress oxydatif dans les cellules de choriocarcinome placentaire entraînant leur mort. **Objectifs:** Déterminer l'effet de la mélatonine sur 1-le taux des espèces réactives de l'oxygène (EROs); 2-l'expression et/ou l'activité des enzymes oxydantes (xanthine oxydase-XO) et antioxydantes (superoxydes dismutases-SODs, glutathionne peroxydase-GPx et la catalase-CAT); 3-la peroxydation des lipides et 4-la carbonylation des protéines dans un modèle de choriocarcinome placentaire humain, les cellules BeWo. **Méthodes:** Les BeWo ont été exposées en normoxie (8%-O₂) à la mélatonine (0–1mM) et exposées ou non à des inducteurs des EROs. Les niveaux des EROs ont été mesurés par l'essai de Carboxy-DCFDA, l'expression des enzymes a été analysée par immunobuvardage et leur activité par colorimétrie ou fluorimétrie. La peroxydation lipidique a été analysée par le test de l'acide thiobarbiturique (TBARS) et la carbonylation des protéines par fluorimétrie. **Résultats:** La mélatonine semble augmenter le taux des EROs et l'expression de la XO mais diminuer l'expression et l'activité des SODs, de la GPx et de la CAT par rapport au véhicule (DMSO) dans les BeWo. La mélatonine augmente aussi la peroxydation des lipides et la carbonylation des protéines dans ces cellules. **Conclusion:** Nos résultats montrent que la mélatonine augmente le stress oxydatif dans les cellules de choriocarcinome placentaire, suggérant un effet anti-tumoral pour cette indolamine.

Regulation and functional studies of ankyrin-repeat and SOCS-box protein 9 (ASB9) in the ovulatory follicle

Gabriel Benoit¹, Aly Warma¹, Jacques Lussier¹, Kalidou Ndiaye¹

¹Centre de recherche en reproduction et fertilité, Département de biomédecine vétérinaire, Faculté de médecine vétérinaire, Université de Montréal, Saint-Hyacinthe, Québec, J2S 2M2, Canada

Ankyrin-repeat and SOCS-box protein 9 (ASB9) is a member of the large SOCS-box containing proteins family and acts as the specific substrate recognition component of E3 ubiquitin ligases in the process of ubiquitination and proteasomal degradation. We previously identified ASB9 as a differentially expressed gene in granulosa cells (GC) of bovine ovulatory follicles. This study aimed to further investigate ASB9 mRNA and protein regulation, identify binding partners in GC, and study its function. GC were obtained from small follicles (SF: 2-4 mm), dominant follicles at day 5 of the estrous cycle (DF), and ovulatory follicles, 24 hours following hCG injection (OF). RT-qPCR analyses showed a 104-fold greatest expression of *ASB9* in GC of OF than in DF ($P < 0.0001$). Steady-state levels of *ASB9* in follicular walls analyzed at 0, 6, 12, 18 and 24 hours after hCG injection showed a significant induction of *ASB9* expression at 12 and 18 hours ($P < 0.001$), reaching a maximum induction at 24 hours post-hCG ($P < 0.0001$) as compared to 0 hour. These results were confirmed in western blot analysis showing strongest ASB9 protein amounts in OF. Yeast two-hybrid screening of OF-cDNAs library resulted in the identification of 10 ASB9 binding partners in GC confirmed by co-immunoprecipitation analyses. Functional studies using CRISPR-Cas9 approach revealed that ASB9 inhibition could lead to increased GC proliferation and modulation of target genes expression. Overall, these results support a physiologically relevant role of ASB9 in the ovulatory follicle by targeting specific proteins likely for degradation, and contributing in reduced GC proliferation.

Human oocytes harbouring damaged DNA can complete meiosis-I

Nicola Dean², Gaudeline Rémillard-Labrosse¹, Jacob Ruiter-Ligeti³, Adélaïde Allais¹, Shao Guang Jin³, Weon-Young Son³, Jin-Tae Chung³, Melissa Pansera³, Sara Henderson³, William Buckett³, Greg FitzHarris¹

¹CRCHUM, ²CHUM, ³MUHC Reproductive Center

Chromosomal abnormalities such as aneuploidies and DNA damage are considered a major threat to the establishment of healthy eggs and embryos. Recent landmark studies conducted in mouse found that oocytes with heavily damaged DNA can resume meiosis and undergo Germinal Vesicle Breakdown (GVBD), but then arrest in metaphase of meiosis-I as a result of a mechanism that involves Spindle Assembly Checkpoint (SAC) signalling. Such a mechanism could prevent the generation of fertilisable metaphase-II eggs possessing damaged DNA. Here we corroborate these findings in mouse, finding that two mechanistically different DNA-damaging agents prevent polar body extrusion. Strikingly, however, we find that the impact of DNA damage in the human oocyte is the opposite. DNA damage can prevent human oocytes from undergoing GVBD. Importantly however, oocytes that progress past GVBD complete meiosis-I and extrude the first polar body despite harbouring high levels of DNA damage, revealing the absence of a DNA-damage-induced SAC response. The results cast further doubt on the function of the Spindle Assembly Checkpoint in the human oocytes, and suggest that DNA damage accumulation in meiosis-I, such as during *in vitro* maturation procedures, does not prevent the formation of a morphologically-normal Metaphase-II egg.

Deletion of Lats1/2 commits müllerian mesenchymal cells to the myofibroblast cell fate

Guillaume St-Jean¹, Mayra Tsoi¹, Adrien Levasseur¹, Charlène Rico¹, Marilène Paquet¹, Alexandre Boyer¹, Derek Boerboom¹

¹Centre de Recherche en Reproduction et Fertilité (CRRF), Université de Montréal, Saint-Hyacinthe, Québec, Canada

Development of the female reproductive tract results from the invagination, elongation and differentiation of the embryonic Müllerian ducts. Here, we investigated the potential roles of Hippo, a signaling pathway known to regulate proliferation and differentiation during embryogenesis, in the development of the female reproductive tract. Concomitant targeting of the key Hippo pathway kinases Lats1 and Lats2 in the Müllerian mesenchyme was achieved by crossing mice bearing floxed alleles to the *Amhr2*(Cre) strain. Analysis of the urogenital tracts of e15.5, e17.5 and newborn mutant mice showed the presence of ectopic cells that were positive for myofibroblastic markers such as α -SMA, vimentin and PTGS2, and were often accompanied by an increased deposition of collagen. RT-qPCR and microarray analyses confirmed the myofibroblastic nature of this ectopic cell population. Immunohistochemistry conducted on the reproductive tracts of 1 day-old mice confirmed the knockdown of LATS1 and LATS2, along with the increased expression of the LATS1/2 substrates YAP and TAZ in targeted cells. RT-qPCR analyses also showed an increased expression of the Hippo pathway target gene *Ctgf*, a known driver of myofibroblastic differentiation. Adult mutant mice were found to be sterile due to severe malformations of the uterus, oviducts and ovaries. Additional analyses are being conducted to identify the mechanisms underlying the commitment to the myofibroblast cell fate in the targeted Müllerian mesenchymal cells.

A novel role for Hippo signaling in gonadotropin synthesis

Gustavo Zamberlam¹, Ariane Lalonde-Larue¹, Alexandre Boyer¹, Esdras Corrêa dos Santos¹, Xiang Zhou², Daniel Bernard², Derek Boerboom¹

¹Université de Montréal, ²McGill University

Activins are part of a family of ligands that were discovered based on their ability to stimulate FSH secretion by cultured pituitary cells. They signal via proteins called SMADs, which are essential for FSH synthesis in pituitary gonadotrope cells. The activity of the SMAD pathway can be altered by crosstalk with the Hippo pathway in several tissues and cell types, but whether the Hippo pathway is involved in regulating gonadotropin (FSH or LH) synthesis has not been determined. The core Hippo signaling pathway consists of a kinase cascade that regulates the activity of the functionally redundant transcriptional co-regulators YAP and TAZ. To elucidate the roles of YAP and TAZ in gonadotropin secretion, we first cultured pituitary cells from mouse strains bearing *Yap/Taz* floxed alleles. Following treatment with an adenovirus to drive Cre expression (and thereby inactivate the floxed genes), cells were cultured in the presence of activin A. Basal *Lhb* expression and both basal and activin A-stimulated *Fshb* expression were increased in pituitary cells after *Yap/Taz* depletion. Using a conditional gene targeting approach (cKO), we found that gonadotrope-specific inactivation of *Yap* and *Taz* resulted in increased circulating levels of FSH and LH, along with a slight sperm density increase in adult male mice. cKO female mice had augmented circulating LH (but not FSH) levels, which were associated with a hyperfertility phenotype characterized by higher ovulation rates and larger litter sizes. Together, these results indicate that YAP/TAZ exert a suppressive effect on gonadotropin synthesis.

Extracellular vesicles: small but mighty claudin cargo

Jenna Haverfield^{1,2} and Aimee Ryan^{1,2},

¹Research Institute of the McGill University Health Centre, ²Department of Human Genetics, McGill University, ³Department of Paediatrics, McGill University

Tight junctions (TJs) are multi-protein structures that must undergo dynamic remodelling to support numerous reproductive and developmental events. For example, during spermatogenesis, TJs remodel to facilitate spermatocyte migration through the blood-testis barrier, and during embryo morphogenesis, TJs remodel to spatially reorganise blastomeres during compaction and blastocyst formation. Yet, surprisingly, we know very little about how TJs are assembled and disassembled between cells. We hypothesised that extracellular vesicles, nano-sized membranous structures that cargo biological material between cells, are important mediators of TJ remodelling. To test this, we performed large-scale MDCK cell cultures, which endogenously express TJs, and isolated vesicles using differential centrifugation. We identified two populations of vesicles using transmission electron microscopy and nanosight tracking analysis: i) exosomes, between 50-100nm, and ii) microvesicles, >100nm. Next, we characterised the expression profile of these vesicles using immunoblot, and found that they are enriched with several claudin transmembrane proteins, key components of the TJ. Treatment with *C. perfringens* enterotoxin, which selectively removes claudins from cell membranes, significantly increased claudin expression within the vesicles up to 3-fold, suggesting that extracellular vesicles are important mediators of claudin remodelling. Moreover, we found a 50% reduction in the expression of vesicle-bound CD9, indicating that claudin trafficking within cells may be regulated by tetraspanins. Lastly, we are currently performing mass spectrometry to identify other vesicle-bound proteins that may be implicated in TJ remodeling. Together, we provide the first evidence that extracellular vesicles mediate claudin signalling, which suggests that vesicle-mediated intercellular communication may be a novel regulator of TJ remodeling.

L'aromatisation de la testostérone en œstrogène chez le mâle altère le métabolisme dans le tissu adipeux blanc

Joannie Connell¹, Martin Morin¹, Stéphanie Bianco¹, Nicolas Gévry¹

¹Université de Sherbrooke

La stéroïdogenèse joue un rôle important dans la reproduction sexuée tant chez la femelle que chez le mâle. Bien que les œstrogènes soient souvent associés aux femelles, une quantité non négligeable d'œstrogènes, en particulier d'œstradiol (E2), est retrouvée chez le mâle. Cet E2 provient en grande partie de l'aromatisation de la testostérone par une enzyme appelée aromatase (CYP19).

Le récepteur nucléaire ER α permet de médier le mode d'action des œstrogènes. Il est retrouvé dans de nombreux types cellulaires dont le tissu adipeux. Il a d'ailleurs été démontré que la délétion du gène codant pour ER α , de même que la délétion ou l'inhibition de l'aromatase, mènent à l'obésité autant chez la souris femelle que la souris mâle.

D'une manière intéressante, la distribution des tissus adipeux blancs est différente entre la femme et l'homme. Le tissu adipeux sous-cutané est plus prédominant chez la femme, tandis que l'homme présente plus de tissu adipeux viscéral. À la ménopause, les mécanismes cellulaires impliquant l'œstrogène sont perturbés, la distribution des tissus adipeux blancs change et une obésité androïde devient plus fréquente chez la femme.

Les mécanismes d'action des œstrogènes semblent apporter un effet protecteur dans le tissu adipeux blanc, mais dans des dépôts différents selon le sexe. Les rôles moléculaires et cellulaires des stéroïdes dans le métabolisme des lipides ne sont pas clairs. Notre modèle d'étude vise à identifier les voies de signalisations impliquées dans ce métabolisme et il nous permettra de comprendre les différences métaboliques entre les tissus adipeux des femelles et des mâles.

Détermination du rôle de la protéine du X-fragile (FMRP) dans l'ovaire

Claude Robert¹, Karen Nenonene¹, Isabelle Gilbert¹, Alexandre Bastien¹

¹Université Laval

Les déterminants d'un ovocyte compétent au développement ne sont pas encore bien documentés. Par contre, il est accepté que le processus de maturation cytoplasmique implique l'accumulation d'ARNm. Nous avons récemment rapporté que les canaux allant des cellules du cumulus à l'ooïde, appelés projections transzonales, sont capables d'assurer le transport de grosses molécules telles des granules d'ARN. Dans le souci d'éclaircir ces processus, nos travaux actuels visent à caractériser les fonctions de protéines candidates. L'hypothèse du projet est que les granules d'ARNm sont formés et transportés à l'aide des protéines de la famille FXRP (Fragile-X Related Proteins). Ces protéines sont surtout étudiées pour leurs rôles dans le cerveau et les muscles. Par contre, il est connu qu'un dérèglement de l'expression du gène FMR1 est une cause importante des cas de ménopause précoce chez la femme. Nous avons confirmé l'expression des trois protéines dans les cellules folliculaires et l'ovocyte bovin. Nous avons déterminé la présence des FXRP tout au long de la folliculogénèse. FMRP s'exprime de manière plus abondante dans les follicules primordiaux tandis que FXR1P et FXR2P sont présents de manière plus abondante à partir du follicule secondaire. Dans les follicules antraux, on remarque la présence de ces trois protéines dans les TZPs. Nos résultats nous poussent donc à présumer que la présence abondante de FMRP tôt dans la folliculogénèse supporte sa participation à la formation du réseau transzonal tandis que FXR1P servirait au transport des granules d'ARN et FXR2P serait impliqué dans la formation de ces granules.

Étude de la méthylation des ARNs maternels au sein de l'ovocyte

Karine Dubuc¹, Isabelle Gilbert¹, Claude Robert¹

¹Université Laval

Durant la croissance de l'ovocyte, une grande majorité des ressources nécessaires au développement précoce sont accumulées. Ces réserves sont utilisées de façon coordonnée pour soutenir les premières divisions cellulaires.

Il est généralement accepté que le contrôle de l'expression génique s'effectue au noyau et que la molécule d'ARN produite sert d'intermédiaire entre l'ADN et la protéine. Lorsqu'un gène s'exprime, l'épigénome change pour permettre la lecture de la séquence d'ADN. Toutefois, depuis quelques années, certaines études démontrent l'importance des modifications post-transcriptionnelles sur l'ARN. Ainsi, l'ARN peut également recevoir l'ajout d'une multitude de molécules, dont la méthylation. Les fonctions de cet épi-transcriptome sont méconnues, mais pourraient permettre de moduler la production de protéines indépendamment du noyau.

L'hypothèse du projet est que la gestion des ARN maternels dans l'ovule nécessite une stabilisation de ces molécules grâce à l'ajout de modifications post-transcriptionnelles. Présentement nous caractérisons la présence et la localisation des protéines impliquées dans la méthylation de l'ARN (DNMT2, MBD2) de même que les déméthylases connues (FTO, ALKBH5). Les résultats démontrent une localisation sous-corticale atypique de DNMT2 et de MBD2. Nous avons également mesuré l'abondance de nucléotides modifiés par spectrométrie de masse à partir d'ARN totaux de tissus somatiques que nous voulons comparer avec les ARN maternels d'ovocytes. À terme, le projet vise la caractérisation fonctionnelle de la méthylation de l'ARN dans le gamète femelle.

Implication of mutated DNMT3A in the Pathogenesis of Tatton-Brown-Rahman syndrome

Karine Doiron¹ and Serge McGraw¹

¹Centre de Recherche CHU Ste-Justine

Tatton-Brown-Rahman syndrome (TBRS) is a rare genetic disorder characterized by tall stature, intellectual disability, heart defects and dysmorphic facial features. This disorder is associated to a functional mutation in DNMT3A, an enzyme responsible for establishing DNA methylation modifications implicated in gene regulation, and vital for development. Currently, we do not know how functional mutations in the DNMT3A protein can be at the origin of the neurodevelopmental and other associated problems observed in patients with TBRS. Thus, there is an urgent need to develop human model systems to understand the molecular and cellular causes of TBRS, in order to find potential and specific treatments for patients. Therefore, we propose to use induced-pluripotent stem cells (iPSC), a technology that allows transforming the cells of a patient into stem cells, which can then be reprogrammed into any other cell types of the body. With this approach, we will be able to analyse how newly brain, muscle, bone and heart cells are affected. Overall, this project will uncover the functional impact of DNMT3A mutations, and provide a functional model to test new therapeutic avenues to treat TBRS.

Primary cilia: cell antenna and mediators of Hedgehog signaling in the epididymis

Laura Girardet¹, Agathe Bernet¹, Christian Roy¹, Daniel Cyr², Clémence Belleannée¹

¹Université Laval, Centre de Recherche du CHU de Québec, Qc, Canada., ²INRS–Institut Armand-Frappier, Laval, QC, Canada.

General context. The epididymis is the organ of the male reproductive system responsible for the acquisition of sperm motility and fertilizing abilities. In our laboratory, we recently showed that epididymal basal cells (BC) expose a primary cilium (PC), a solitary sensory antenna that plays an essential role in the transduction of the Hedgehog (Hh) signalling pathway.

Objective. Primary cilia dysfunction being associated with a higher prevalence of male infertility, our goal is to decipher the role of the PC as a mediator of the hedgehog (Hh) pathway in the control of epididymis functions and sperm maturation.

Methods. Our study combined in vitro pharmacological approaches on immortalized Distal Caput 2 (DC2) epididymal epithelial cells and in vivo studies on a conditional knock-out (cKO) mouse model (cKO) in which Arl13b GTPase (that regulates the Hh pathway) is exclusively invalidated in keratin 5-positive BC.

Results. Our first results demonstrated that the Hh agonists Shh and Ihh are present in specific cell types along the murine epididymis. In addition, we determined that ciliated DC2 cells were responsive to Hh agonists through a significant increase of Smo nuclear expression. Our preliminary phenotypical observations of cKO mice epididymides suggested a change the proportion of Krt5-positive cells compare to control mice.

Conclusion. Further reproductive phenotypical analyses of cKO mice (e.g. fertility status, sperm and epithelial cell parameters) will determine the role of PC in the controle of Hh signaling-dependent reproductive functions and will explore the potential role of ciliary components in the diagnosis of male infertility.

Le rôle des isoformes d'Akt dans les processus reproductifs chez la souris

Laurence Tardif¹, Dadou Lokengo¹, Pascal Adam¹, Sophie Parent¹, Eric Asselin¹

¹Département de biologie médicale, Université du Québec à Trois-Rivières, Trois-Rivières, Québec, Canada

L'infertilité est un problème de plus en plus courant dans notre société. En effet, au Canada, 1 couple sur 6 y sera confronter. Lors de l'implantation, la communication entre les tissus maternels et le blastocyste doit être parfaite. Les molécules de signalisation et de réponses cellulaires en sont la clé. L'une d'elles, la protéine kinase Akt (1,2 ou 3) est impliquée lors du cycle ovarien, de la gestation et de l'implantation embryonnaire. En revanche, le rôle spécifique de ces isoformes dans l'endomètre n'est pas connu. Le but est de trouver le rôle spécifique de chaque isoforme d'Akt dans l'endomètre lors du cycle ovarien chez la souris. L'objectif est de comparer la morphologie cellulaire de l'endomètre et des glandes endométriales chez les souris transgéniques. L'hypothèse est qu'un dérèglement des isoformes d'Akt pourrait causer l'infertilité. En utilisant le récepteur à la progestérone et le système Cre-LoxP, les souris C57BL/6 sont knock-out pour un, deux ou les trois isoformes. Les résultats suggèrent qu'en leur absence, la fertilité diminue. Les isoformes n'auraient pas d'effet sur l'épaisseur du stroma. Akt1 et Akt2 permettraient une augmentation de la quantité et la grosseur des glandes endométriales. Tandis qu'Akt3 mènerait à une diminution, sans avoir d'effet sur la grosseur. Finalement, l'analyse de protéines en aval d'Akt sera faite par immunohistochimie. Des études futures pourront être effectués au cours de la grossesse et sur des biopsies de femmes infertiles. Cela permettrait de confirmer un dérèglement des isoformes d'Akt. Cette recherche permet une meilleure compréhension de l'infertilité féminine.

Effect of different concentrations of two disaccharides, trehalose and sucrose, on maturation rates of equine oocytes

Karla Elena Herrera-Hidalgo¹, Angélica Daniela Reyes-Perea^{1,2}, Heloisa siqueira canesin³, katrin hinrichs³, Mouhamadou Diaw¹

¹Université de Montréal, ²UNAM, ³University of Texas A&M

Cryopreservation of equine oocytes is currently not efficient. Vitrification media in themselves appear to be detrimental; this could be due to toxicity of penetrating cryoprotectants, or to osmotic shock related to the high solute concentrations needed to induce cellular dehydration and provide protection against intracellular ice formation. There is essentially no information about the tolerance of equine oocytes to osmotic shock. We assessed the viability and maturation of equine oocytes after exposure to media in which osmolarity was raised only with non-penetrating disaccharides. Oocyte-cumulus complexes (COCs) were collected from slaughterhouse-derived equine ovaries. The COCs were exposed to base medium (M199 with 10% FBS) containing sucrose or trehalose at different concentrations (0, 0.3 or 0.5 M for 30 s, or 0.65 M for 20 s), at room temperature. The COCs were then matured for 30 h in a humidified atmosphere of 5% CO₂ in air. After maturation, oocytes were denuded of cumulus, fixed, stained with Hoechst 33258, and the chromatin configuration evaluated. Differences in rates of maturation to MII between treatment groups and control (0 sugar) were analyzed by Fisher's exact test. Exposure to sucrose at 0.5 M for 30 s or to trehalose at 0.65 M for 20 s significantly reduced maturation rate ($P < 0.05$). The highest maturation rates were found for sucrose at 0.3 M for 30 s or at 0.65 M for 20 s (44% and 49%, respectively, vs. 48% for control). This information will be valuable when designing media for vitrification of equine oocytes.

Conférencière invitée - Invited Speaker

Dr. Shanna Swan



Dr. Shanna Swan is an Environmental and Reproductive Epidemiologist working as Professor of Environmental Medicine and Public Health at the Icahn School of Medicine at Mount Sinai, New York. Since 1998, Dr. Swan's program has been conducting multi-center pregnancy cohort studies (the Study for Future Families (SFF) and The Infant Development and the Environment Study (TIDES)) to better understand how prenatal and early childhood exposure to stressors, including chemicals commonly found in the environment such as phthalates and bisphenol-A, impact the reproductive health and development of children. In 2017, Dr. Swan and colleagues published a high impact met-analysis on sperm count and concentration, which showed a significant ongoing decline in sperm counts of Western men, pointing to impaired male health and decreasing fertility.

On Wednesday, Dr. Swan will give a talk entitled: ***“Altering the Fetal Hormonal Environment: Endocrine Disruption and Male Reproductive Development”***.

**Présentations – Presentations : Session III
14 novembre – November 14th : Session III
11h30 – 12h00**

**Présidente – Chair : Barbara Hales
Co-présidente – Co-chair : Vicky Wang**

**I. Nr5a2 and the ovarian reserve: a new factor in the preservation of primordial
follicles**

Marie-Charlotte Meinsohn, PhD Student, Université de Montréal (Page 77)

11h30 – 11h45

II. GATA2 is required for normal FSH production by male gonadotropes

Gauthier Schang, PhD Student, McGill University (Page 78)

11

Nr5a2 and the ovarian reserve: a new factor in the preservation of primordial follicles

Marie-Charlotte Meinsohn¹, Anthony Estienne¹, Olivia Smith¹, Raj Duggavathi², David Pépin³, Bruce D. Murphy¹

¹Centre de Recherche en Reproduction et Fertilité, Université de Montréal, Saint-Hyacinthe, QC, Canada., ²Department of animal science, McGill University, Sainte Anne de Bellevue, QC, Canada, ³Pediatric Surgical Research Laboratories, Massachusetts General Hospital, Boston, MA, USA

The orphan nuclear receptor Nr5a2 is required for female reproduction as mice with Nr5a2 depleted in granulosa cells are infertile. Based on the role of Nr5a2 in granulosa cell proliferation, we hypothesized that Nr5a2 could act as early as primordial follicle activation. We therefore generated granulosa-specific knockout mice (Nr5a2f/f Amhr2Cre/+). As the process of primordial follicles formation ends around PND 4 and there are no antral follicles at PND13, 4 and 13 days-old ovaries were collected. Histological analysis showed a significantly larger number of primordial follicles at PND4 and PND13 in the cKO mice as well as a significant decrease in the quantity of primary follicles at PND4. qPCR, in situ hybridization and immunofluorescence detection of Nr5a2 confirmed that its depletion was significant at PND4 and showed the existence of two subsets of primordial follicles: those poised to activate expressing Nr5a2, those that are quiescent, negative for Nr5a2. The increase in the quantity of quiescent primordial follicles in the cKO mice was confirmed by the significant increase in expression of markers characteristic of quiescence and a decrease in the mRNA abundance of genes involved in the transition from primordial to primary follicles, in granulosa cells and oocytes. We also showed an increase in primordial follicle formation related genes and a decrease in oocytes apoptosis in Nr5a2 cKO mice.

To conclude, this study is the first implicating Nr5a2 in the activation of primordial follicles and opens new perspectives regarding the maintenance of fertility via the ovarian reserve.

Support: CIHR to BDM.

GATA2 is required for normal FSH production by male gonadotropes

Gauthier Schang¹, Emilie Brûlé², Ulrich Boehm³, Daniel J. Bernard^{1,2}

¹Department of Pharmacology and Therapeutics, McGill University, Montreal, Canada,

²Department of Anatomy and Cell Biology, McGill University, Montreal, Canada,

³Experimental Pharmacology, Center for Molecular Signaling (PZMS), Saarland University School of Medicine, Homburg, Germany

Mammalian reproduction is dependent on follicle-stimulating hormone (FSH) and luteinizing hormone (LH) secreted by pituitary gonadotrope cells. The dimeric hormones share a common α -subunit (CGA) linked to hormone-specific β -subunits (LH β and FSH β). Relative to LH β , the mechanisms regulating FSH β (*Fshb*) synthesis are poorly resolved. Activins are selective regulators of *Fshb* transcription and act via the transcription factors FOXL2, SMAD3, and SMAD4. However, these proteins are co-expressed in other tissues that do not produce FSH. As such, there must be some other yet unidentified factor(s) that endow gonadotropes with the unique ability to express *Fshb*. We were particularly interested in GATA2, as conditional deletion of *Gata2* in mouse pituitaries was previously shown to decrease serum FSH levels in male mice. We hypothesized that GATA2 plays a necessary role in *Fshb* expression in gonadotropes. We generated gonadotrope-specific GATA2 knockouts by crossing floxed *Gata2* animals to mice in which Cre recombinase is expressed from the endogenous GnRH receptor locus, leading to specific genetic recombination in gonadotropes. These animals produced ~50% less FSH compared to littermate controls. In contrast, females had normal fertility, cyclicity, and FSH production. This sex difference suggested a potential role for sex steroids. However, castrated cKO males still produced less FSH compared to castrated controls, indicating that androgens did not account for the sex-specific phenotype. Ultimately, these data show that GATA2 plays an important role in quantitatively normal FSH production in males, but not in females.

**Présentations – Presentations : Session IV
14 novembre – November 14th
13h30 – 15h00**

**Présidente – Chair : Cathy Vaillancourt
Co-présidente – Co-Chair : Andrée-Anne Hudon-Thibeault**

I. L'étrange potentiel traductionnel de l'ovocyte bovin

Mallorie Trottier-Lavoie, BSc Student, Université Laval (Page 80)

13h30 – 13h45

II. Altered transcriptome and epigenome profiles in placentas from complicated pregnancies

Cynthia Duval, PhD Student, Université de Montréal (Page 81)

13h45 – 14h00

III. TGF β /SMAD3 pathway regulates transzonal projection (TZP) formation in growing follicles of the mouse ovary

Sofia Granados Aparici, Postdoctoral Fellow, McGill University (Page 82)

14h00 – 14h15

IV. Long lasting DNA methylation perturbations following preimplantation alcohol exposure and consequences on cognitive functions

Lisa-Marie Legault, PhD Student, Université de Montréal (Page 83)

14h15 – 14h30

V. LGR5 : a potential marker of stem cell in the epididymis ?

Laurie Pinel, PhD Student, INRS- Institut Armand Frappier (Page 84)

14h30 – 14h45

VI. Salto is required for sperm head morphogenesis in Drosophila

Céline Augière, Postdoctoral Fellow, Université Laval (Page 85)

14h45 – 15h00

L'étrange potentiel traductionnel de l'ovocyte bovin

Mallorie Trottier-Lavoie¹, Isabelle Gilbert¹, Claude Robert¹

¹Université Laval

L'un des mécanismes clé dans la survie cellulaire est la synthèse de protéines. Celle-ci est effectuée par les ribosomes qui sont des constituants essentiels à toutes cellules. Cependant, durant le développement embryonnaire précédant l'activation du génome embryonnaire, on observe des profils d'ARN ribosomiaux atypiques ainsi que des mitochondries ayant une forme inhabituelle. Ces deux observations mènent à penser que la traduction des réserves maternelles d'ARNm présents dans l'ovocyte bovin, implique des ribosomes différents que ceux trouvés après l'activation du génome embryonnaire et dans toutes les cellules somatiques. L'hypothèse du projet est que l'ovocyte et les premiers blastomères utilisent des ribosomes différents pour soutenir la synthèse protéique. Dans une cellule somatique, il est possible de retrouver 3 types de ribosomes, soit libres dans le cytoplasme, ceux attachés au réticulum endoplasmique ainsi que les ribosomes mitochondriaux. Dans le but de décrire la population ribosomale, nous quantifions les ARNr dans les ovocytes de souris, bovin et porc. Nous utilisons différentes approches de marquage pour identifier et localiser les ribosomes de même que les mitochondries et le réticulum endoplasmique. Nos résultats démontrent différentes abondances relatives entre les différentes sous-unités, une proximité entre le réticulum endoplasmique et les mitochondries. Cette étroite relation entre les deux organelles a été documentée par microscopie électronique il y a plus de 40 ans. Dans les perspectives, nous allons évaluer s'il est possible que le rapport anormal des sous-unités ribosomales implique que la traduction nucléaire est partiellement sous-contractée aux ribosomes mitochondriaux dans l'ovocyte et les premières cellules souches.

Altered transcriptome and epigenome profiles in placentas from complicated pregnancies

Cyntia Duval^{1,2}, Ines Boufaied², Lisa-Marie Legault^{1,2}, Maxime Carron², Serge McGraw^{1,2}, Daniel Sinnett^{1,2}, Sylvie Girard^{1,2}

¹Université de Montréal, ²Centre de Recherche CHU Ste-Justine

Pregnancy complications, including preterm birth (PTB), intra-uterine growth restriction (IUGR) and preeclampsia (PE) are strongly linked to inflammation. Targeting inflammatory pathways could be a therapeutic option. To identify women that would most benefit, in-depth understanding of inflammatory pathways in the placenta is needed.

Objective: Identify inflammatory pathways activated in one pathology specifically or common to multiple pregnancy complications.

Whole genome mRNA sequencing (TruSeq Library kit) and methylome sequencing with RRBS were executed on human placenta from uncomplicated pregnancies or pregnancies complicated with PTB, IUGR or PE. We set the transcriptomic analysis threshold at +/-0.5 FC and the differentially methylated regions (DMRs) threshold at +/-20%. We compared the list of genes and analysed the pathways with Gene Ontology (Metascape).

Transcriptome analysis showed specific genes regulation in each pathology; PTB (3358 genes), IUGR (507 genes), PE (847 genes) whilst 119 genes were common to all pathologies. GO term analysis of these common genes demonstrated the implication of inflammatory processes such as immune system development and natural killer cell activation. DMRs were observed in 562 genes in PTB and 393 in PE while 83 DMRs were common to PTB and PE. When affected genes were compared to the transcriptomic results, the pathways modulated were different in the methylome.

These results show an association between placental inflammation and pregnancy complications. However, gene expression is not directly modulated by the methylome. Future studies will investigate the specific implication of inflammatory pathways in pregnancy complications, the regulation and the impact on the neurodevelopment of the newborn.

TGF β /SMAD3 pathway regulates transzonal projection (TZP) formation in growing follicles of the mouse ovary

Sofia Granados Aparici¹ and Hugh J. Clarke¹

¹Research Institute - McGill University Health Centre; McGill University; Montreal, Quebec, Canada

Shortly after the initiation of follicular development, an extracellular layer called zona pellucida (ZP) is generated that physically separates the growing oocyte from the proliferating granulosa cells (GCs) that surround it. Since GC-oocyte contact-dependent communication is essential for oocyte development, GCs generate filopodia, termed transzonal projections (TZPs), that penetrate the ZP and establish contact with the oocyte plasma membrane. Previous results in granulosa-oocyte cell complexes (GOCs) have shown that growth-differentiation factor (GDF) 9, an oocyte-secreted TGF β -family ligand, increases the number of TZPs along with the steady-state levels of *Myo10* and *Fscn1*, which encode proteins implicated in filopodial assembly. Therefore, we sought to investigate whether the intracellular TGF β pathway mediators, SMAD3 and SMAD4, regulate the expression of *Myo10* and *Fscn1* genes. Quantitative RT-PCR and immunofluorescent histological sections of mouse ovaries showed a significant increase in relative mRNA and protein levels of *Fscn1* and *Myo10* between day-4 and day-12 of age (enriched in non-growing and growing follicles, respectively). Moreover, ChIP-qPCR revealed that SMAD3, although not SMAD4, was bound to the promoter region of *Fscn1* and *Myo10*. Our results suggest a direct regulation of *Fscn1* and *Myo10* genes by the canonical TGF β /SMAD3 pathway in GCs of growing follicles. Current work focuses on establishing an inducible system to deplete SMAD3 and SMAD4, to study the effect of impaired SMAD signalling on expression of *Fscn1* and *Myo10*, TZP number, and follicular growth. The results may reveal the molecular mechanism of TZP formation and identify a new role for SMAD signaling during early follicle development.

Long lasting dna methylation perturbations following preimplantation alcohol exposure and consequences on cognitive functions

Lisa-Marie Legault^{1,2}, Mélanie Breton-Larrivée¹, Anthony Lemieux¹, Maxime Caron¹, Clara Amegandjin¹, Daniel Sinnett^{1,2}, Elsa Rossignol¹, Graziella DiCristo¹, Serge McGraw^{1,2}

¹Centre de Recherche du CHU Sainte-Justine, Montréal, Canada, ²Département de Biochimie, Faculté de Médecine, Université de Montréal, Canada

Prenatal alcohol exposure (PAE) is known to alter cellular epigenetic profiles during brain development as well as being part of the molecular basis underpinning Fetal Alcohol Spectrum Disorder (FASD) etiology. However, the consequences of an early embryonic PAE (preimplantation) on the future embryo epigenetic landscape remain unknown.

Our objective is to identify DNA methylation dysregulations, in the forebrain of late-gestation mouse embryos, initiated by early PAE, and uncover how early embryonic PAE leads to cognitive impairments in offspring. Using our preclinical model of early alcohol exposure, we exposed pregnant females to binge-like concentration of ethanol at E2.5, and collected FASD and control E18.5 embryos. We established quantitative DNA methylation profiles in forebrains using Methyl-Seq and assessed differentially methylated regions (DMR) 100bp tiles with $>\pm 20\%$ methylation difference between control and ethanol-exposed samples. To test cognitive capacity, we performed 3-chamber maze and novel object recognition tests with prenatally exposed pups, at P40. We observed 314 DMRs in forebrains, with a majority of DMRs being hypermethylated. Gene ontology analysis revealed enrichment for neuronal and synapse function or differentiation, suggesting that the dysregulation of DNA methylation associated with these processes persists through gestation. Behavioral assessment revealed that the exposure caused impairments in social interaction (3-chamber maze), spatial recognition and object recognition (novel object recognition). Our study reveals that an early acute alcohol exposure during the epigenetic reprogramming wave occurring in early embryos triggers long-lasting DNA methylation perturbations in the embryo, which leads to abnormal cognitive function in the developing offspring.

LGR5: a potential marker of stem cell in the epididymis?

Laurie Pinel¹, Anissa Gagneux¹, Victor Nowak¹, Daniel G. Cyr¹

¹Laboratory for Reproductive Toxicology, INRS-Institut Armand-Frappier, University of Quebec, Laval, QC, Canada, H7V3B7.

The epididymal epithelium is pseudostratified and comprised of various cell types, including principal cells which line the lumen, and basal cells located at the base of the epithelium. The present objective is to determine if there exists a specific subpopulation of stem cells in the epididymis. *In silico* analysis of microarray data from our laboratory was done to identify specific stem cell markers in the epididymis. Data were analyzed by examining basal cell-specific genes and those whose expression varied in non-obstructive versus obstructive azoospermia patients. Using these criteria, we identified a number of pluripotent stem cell markers including Sox2, Oct4, Nanog, and the multipotent stem cell marker LGR5. Immunolocalization of Sox2, Oct4, and Nanog in the rat epididymis indicated that these were expressed throughout the epididymal epithelium and did not appear to be specific for any given population of cells. However, we observed that LGR5 was specifically expressed in a selected number of cells at the base of the epithelium. Epididymal basal cells were subsequently isolated and cultured in matrigel drops under 3-dimensional culture conditions. Organoids were obtained three days later, confirming the presence of stem cells in the epididymis. Early organoids were stained by LGR5 marker but after long-term culture LGR5 staining decreased. Furthermore, AQP9, a marker of principal cells, which was absent in early organoids, became expressed in cells that lined the lumen of the later organoid. Together, these data indicate that a subpopulation of epididymal basal cells express LGR5 and they represent the epididymal stem cell population.

Salto is required for sperm head morphogenesis in *Drosophila*

Céline Augière¹, Jean-André Lapart², Jean-Luc Duteyrat², Elisabeth Cortier², Charline Maire², Joëlle Thomas², Bénédicte Durand²

¹Université Laval, ²Université Claude Bernard Lyon

Spermiogenesis is an essential step of the overall sperm production process. It involves dramatic cell morphological changes, including sperm-tail elongation, nuclear reshaping, cell membrane remodeling, and sperm release. The sperm manchette is a structure playing a critical scaffolding function during nuclear remodeling by linking the nuclear lamina to the cytoskeleton both in mammals and *Drosophila*. By using the *Drosophila* as a model system, we identified the role of Salto, an uncharacterized protein involved in the nuclear shaping and spermatid individualization. As evidenced by confocal microscopy with a fusion Salto-GFP tagged protein, this protein Salto displays a dynamic localization during spermatid differentiation, being progressively relocated from the sperm nuclear manchette to the centriole and acrosome. Following the generation of salto null male flies by CRISPR-Cas9 with homologous directed repair technics, we observed that 1) this mutant was completely sterile due to the impairment of mature sperm production, and 2) exhibited spermatid individualization defects. While spermatogenesis was normal in salto mutant flies, we observed the presence of coiled spermatid nuclei at late maturation stages and stalled individualization complexes. Overall, our functional study sheds light on a novel component involved in cytoskeleton-based cell morphological changes during spermiogenesis in *Drosophila*. Our results thus provide new insights on the mechanisms related to the last step of spermiogenesis and the global comprehension of male fertility control.

These results have been obtained during Céline Augière's doctoral training in France. Dr Augière is now a postdoctoral fellow in the laboratory of Clémence Belleannée, a member of the RQR.

Conférencier invité - Invited Speaker

Dr. Miguel Ramalho-Santos



Dr. Ramalho-Santos received his B.S. and a Masters' in Cell Biology at the University of Coimbra, Portugal, where he worked on the biochemistry of plant aspartic proteases. He went on to receive a PhD in Developmental and Stem Cell Biology at Harvard University, under the co-supervision of Drs. Douglas Melton and Andrew McMahon. His doctoral work focused on stem cell genomics and cell signaling in mouse development. He was hired as a UCSF Faculty Fellow in October of 2003, an independent research position designed as an alternative to a traditional postdoc. He became an Assistant Professor in the Departments of Ob/Gyn and Pathology at UCSF in December of 2007, and was promoted to Associate Professor in July of 2013. He is the recipient of a 2008 NIH New Innovator Award and a 2016 Royan International Research Award in Reproductive Genetics. In July 2018 he relocated to Canada to become the Canada 150 Research Chair in Developmental Epigenetics, Senior Investigator at the Lunenfeld-Tanenbaum Research Institute and Full Professor in the Department of Molecular Genetics, University of Toronto.

On Wednesday, Dr. Ramalho-Santos will give a talk entitled: “***Epigenetic Regulation of Pluripotency***”.

Partenaires financiers – Financial Partners

**Fonds de recherche
Nature et
technologies**

Québec 



Autres partenaires – Other Partners

Reproduction The Journal of the
Society for Reproduction and Fertility

Page couverture – Front page

Crédit photo : **Greg Fitzharris' laboratory**, Université de Montréal

Participants RQR 2018

Nom- Last Name	Prénom - Name	Organisation - Organization	Courriel – E-mail
Abbassi	Laleh	McGill University	laleh.abbassi@mail.mcgill.ca
Abou Nader	Nour	Université de Montréal	nour.abou.nader@umontreal.ca
Adam	Pascal	Université du Québec à Trois-Rivières	pascal.adam@uqtr.ca
Aguila	Luis	Université de Montréal	luis.aguila.paredes@gmail.com
Allais	Adélaïde	Université de Montréal	adelaide.allais@orange.fr
Anam	Sibat	McGill University	sibat.anam@mail.mcgill.ca
Assaf	Roxane	McGill University	roxane.assaf@mail.mcgill.ca
Augière	Céline	Université Laval	celine.augiere@gmail.com
Ayash	Taghreed	McGill University	TAGHREED-h@windowslive.com
Bailey	Janice	Université Laval	janice.bailey@fsaa.ulaval.ca
Banerjee	Ambuja	McGill University	ambuja.banerjee@mail.mcgill.ca
Belleannee	Clemence	Université Laval	Clemence.Belleannee@crchudequebec.ulaval.ca
Benoit	Gabriel	Université de Montréal	gabriel.benoit@umontreal.ca
Benoit-Biancamano	Marie-Odile	Université de Montréal	marie-odile.benoit-biancamano@umontreal.ca
Bernard	Dan	McGill University	daniel.bernard@mcgill.ca
Bernas	Guillaume	Université de Montréal	guillaume.bernas.chum@sss.gouv.qc.ca
Bhat	Maajid	Semex	mbhat@semex.com
Bianco	Stéphanie	Université de Sherbrooke	stephanie.bianco@usherbrooke.ca
Bienvenue-Pariseault	Josianne	INRS- Institut Armand Frappier	josianne.bienvenue@iaf.inrs.ca
Blondin	Patrick	Boviteq	blondinpa@boviteq.com
Boerboom	Derek	Université de Montréal	derek.boerboom@umontreal.ca
Boissonneault	Guylain	Université de Sherbrooke	Guylain.Boissonneault@usherbrooke.ca
Boisvert	Annie	RI-MUHC	annieboisvert@hotmail.com
Bordignon	Vilceu	McGill University	vilceu.bordignon@mcgill.ca
Bouchard	Marie France	Université Laval	Marie-France.Bouchard@crchudequebec.ulaval.ca
Boyer	Alexandre	Université de Montréal	alexandre.boyer.1@umontreal.ca
Breton-Larrivée	Mélanie	Université de Sherbrooke	Melanie.Breton-Larrivee@usherbrooke.ca
Brien	Marie-Eve	Université de Montréal	marieevebrien@gmail.com
Brown	Janine	Smithsonian national zoo	BrownJan@si.edu
Brûlé	Emilie	McGill University	emilie.brule2@mail.mcgill.ca
Cao	Mingju	McGill University	mingju.cao@mcgill.ca
Cavé	Tiphonie	Université de Sherbrooke	tiphanie.cave@gmail.com
Chagneau	Sophie	INRS- Institut Armand Frappier	Sophie.Chagneau@iaf.inrs.ca
Chan	Donovan	RI-MUHC; CHHD program	donovan.chan@mail.mcgill.ca
Chaput	Catherine	Université Laval	catherine.chaput.2@ulaval.ca
Chen	Hong	Université Laval	hong.chen.1@ulaval.ca
Chorna	Eva	McGill University	eva.chorna@mail.mcgill.ca
Clarke	Hugh	McGill University	hugh.clarke@mcgill.ca
Connell	Joannie	Université de Sherbrooke	joannie.connell@usherbrooke.ca
Corrêa dos Santos	Esdras	Université de Montréal	correaesdras@gmail.com
Crobeddu	Bélinda	INRS- Institut Armand Frappier	belinda.crobeddu@iaf.inrs.ca
Currin	Luke	McGill University	luke.currin@mail.mcgill.ca

Cyr	Daniel	INRS- Institut Armand Frappier	daniel.cyr@iaf.inrs.ca
Dalvai	Mathieu	Université Laval	mathieu.dalvai@fsaa.ulaval.ca
de Mattos	Karine	Universite de Montréal	kmattos15@gmail.com
Delbes	Geraldine	INRS- Institut Armand Frappier	geraldine.delbes@iaf.inrs.ca
Delmas	Oona	Université Laval	oona.delmas.1@ulaval.ca
Demmouche	Zoheir	Université Laval	zoheir.demmouche.1@ulaval.ca
Desmarais	Rebecka	Université de Sherbrooke	rebecka.desmarais@usherbrooke.ca
Devine	Patrick	NOVARTIS	patrick.devine@novartis.com
Diao	Fan	McGill University	fan.diao@mcgill.ca
Diaw	Mouhamadou	Universite de Montréal	mouhamadou.diaw@umontreal.ca
Dicks	Naomi	McGill University	naomi.dicks@gmail.com
Doiron	Karine	Universite de Montréal	karine.doiron@mail.mcgill.ca
Dubuc	Karine	Université Laval	karine.dubuc.2@ulaval.ca
Dufort	Daniel	McGill University	daniel.dufort@hotmail.com
Duggavathi	Raj	McGill University	raj.duggavathi@mcgill.ca
DUMARGNE	Marie-Charlotte	McGill University	marie-charlotte.dumargne@mcgill.ca
Duval	Cyntia	Universite de Montréal	cyntia.duval@umontreal.ca
Eilers Smith	Olivia	Universite de Montréal	olivia.smith.1@umontreal.ca
Elder	Elizabeth	Universite de Montréal	elder.elizabeth@icloud.com
Essagian	Charles	RI-MUHC	charles.essagian@muhc.mcgill.ca
Fice	Heather	McGill University	heather.fice@mail.mcgill.ca
fitzharris	greg	Universite de Montréal	greg.fitzharris@umontreal.ca
Ford	Matthew	McGill University	matthew.ford@mail.mcgill.ca
Fortin	Frédéric	CDPQ	ffortin@cdpq.ca
Garcia Vergara	Monica	Universite de Montréal	moniigv_dtk@hotmail.es
Gaudreault	Virginie	Universite de Montréal	virginie.gaudreault@umontreal.ca
Gévry	Nicolas	Université de Sherbrooke	nicolas.gevry@usherbrooke.ca
Ghinet	Mariana-Gabriela	Université de Sherbrooke	mariana.ghinet@usherbrooke.ca
Girard	Sylvie	Universite de Montréal	sylvie.girard@umontreal.ca
Girardet	Laura	Université Laval	lauragirardet@hotmail.fr
Glanzner	Werner	McGill University	wernergiehl@gmail.com
Godin	Philippe	Universite de Montréal	philippe.godin@umontreal.ca
Godin Page	Marie-Helene	McGill University	marie-helene.godinpage@mail.mcgill.ca
Gomes Paim	Lia Mara	Universite de Montréal	liag.paim@gmail.com
Gouesse	Rita-Josiane	INRS- Institut Armand Frappier	rita.gouesse@iaf.inrs.ca
Granados Aparici	Sofia	McGill University	sograap@gmail.com
Gregory	Mary	INRS- Institut Armand Frappier	mary.gregory@iaf.inrs.ca
Gutierrez	Karina	McGill University	karina.gutierrez@mail.mcgill.ca
Hainaut	Mathilde	McGill University	mathilde.hainaut@mail.mcgill.ca
Hales	Barbara	McGill University	barbara.hales@mcgill.ca
Hallal	Tarek	McGill University	tarek.hallal@mail.mcgill.ca
Hamelin Morrissette	Jovane	Université du Québec à Trois-Rivières	jovane.hamelinmorrissette@uqtr.ca
Harwalkar	Keerthana	Université de Montréal	keerthana.harwalkar@mail.mcgill.ca
Haverfield	Jenna	McGill University	jenna.haverfield@mail.mcgill.ca
Herrera Hidalgo	Karla Elena	Universite de Montréal	karla.elena.herrera.hidalgo@umontreal.ca

Herst	Pauline	Université Laval	pmherst@gmail.com
Iskandarani	Lama	McGill University	lama.iskandarani@mail.mcgill.ca
Jacquetta	Trasler	McGill University	Jacquetta.trasler@mcgill.ca
Jaramillo	Maritza	INRS- Institut Armand Frappier	maritza.jaramillo@iaf.inrs.ca
Jeyagaran	Abiramy	McGill University	abiramy.jeyagaran@mail.mcgill.ca
Juarez	Melany	INRS- Institut Armand Frappier	melany.juarez@iaf.inrs.ca
Kandasamy	Herthana	McGill University	herthana.kandasamy@mail.mcgill.ca
KHARRAT	Fatma	INRS- Institut Armand Frappier	Fatma.Kharrat@iaf.inrs.ca
Kirady	Christine	INRS- Institut Armand Frappier	c.kirady@hotmail.ca
L. Charest	Phanie	Université Laval	phanie.l-charest.1@ulaval.ca
Labrecque	Rémi	Semex	rlabrecque@semex.com
Lafontaine	Simon	Université Laval	simon.lafontaine.4@ulaval.ca
Lambrot	Romain	McGill University	romain.lambrot@gmail.com
Landry	David	Institut de recherche de l'hôpital d'Ottawa	davlandry@ohri.ca
Lavoie	Julie	Universite de Montréal	julie.lavoie.3@umontreal.ca
Leclerc	Pierre	Université Laval	pierre.leclerc@crchul.ulaval.ca
Legault	Lisa-Marie	Universite de Montréal	legault.lisamarie@gmail.com
Lemieux	Anthony	Universite de Montréal	anthonylemieux10@gmail.com
Lessard	Maryse	Université Laval	maryse.lessard.1@ulaval.ca
li	zixuan	McGill University	zixuan.li2@mail.mcgill.ca
Lin	Claire	McGill University	yeu-farn.lin@mail.mcgill.ca
Lismer	Ariane	McGill University	ariane.lismer@mail.mcgill.ca
Liu	Xueqing	McGill University	xueqing.liu.ucsf@hotmail.com
Lokengo	Dadou Likonza	Université du Québec à Trois-Rivières	likonza.lokengo@uqtr.ca
LOUNAS	AMEL	Université Laval	amel.lounas.1@ulaval.ca
Lussier	Maude	Universite de Montréal	maude.lussier@umontreal.ca
Maréchal	Loïze	Universite de Montréal	loize.marechal@umontreal.ca
Martel	Josee	McGill University	josee.martel@mail.mcgill.ca
MARTINOT	Emmanuelle	Universite de Montréal	emmanuelle-martinot@hotmail.fr
Mastromonaco	Gabriela	Toronto Zoo	gmastromonaco@torontozoo.ca
Matzuk	Martin	Baylor College of medicine	mmatzuk@bcm.edu
McGraw	Serge	Universite de Montréal	serge.mcgraw@umontreal.ca
Mehanovic	Samir	Université Laval	Samir.mehanovic.1@ulaval.ca
Meinsohn	Marie-Charlotte	Universite de Montréal	marie.meinsohn@gmail.com
Ménard	Amélie	Universite de Montréal	amelie.menard@umontreal.ca
Mihajlovic	Aleksandar	Universite de Montréal	aleksandar.mihajlovic00@gmail.com
Morin	Martin	Université de Sherbrooke	martin.h.morin@usherbrooke.ca
Murphy	Bruce	Université de Montréal	bruce.d.murphy@umontreal.ca
Navarro	Pauline	Université Laval	pauline.navarro.1@ulaval.ca
Ndiaye	Kalidou	Universite de Montréal	k.ndiaye@umontreal.ca
Nenonene	Karen	Université Laval	elolo-ami-karen.nenonene.1@ulaval.ca
Noblanc	Anaïs	McGill University	anais.noblanc@mcgill.ca
Ouelette	Mariette	Université de Montréal	mariette.ouellet.chum@ssss.gouv.qc.ca
O'Flaherty	Cristian	McGill University	cristian.oflaherty@mcgill.ca
Ongaro Gambino	Luisina	McGill University	luisina.ongarogambino@mail.mcgill.ca

Oufqir	Yassine	Université du Québec à Trois-Rivières	Yassine.Oufqir@uqtr.ca
Pastor	William	McGill University	william.pastor@mcgill.ca
Pelletier-Jacques	Geneviève	Semex	gpelletier@semex.com
Pépin	Anne-Sophie	McGill University	anne-sophie.pepin@mail.mcgill.ca
Pepin	Émilie	Université de Montréal	emilie.i.pepin@gmail.com
Phenix	Jasmine	McGill University	jasmine.phenix@mail.mcgill.ca
Pinel	Laurie	INRS- Institut Armand Frappier	laurie.pinel@iaf.inrs.ca
Price	Chris	Université de Montréal	christopher.price@umontreal.ca
Priotto de Macedo	Mariana	McGill University	mariana.priottodemacedo@mail.mcgill.ca
Raguema	Nozha	Université de Montréal	nozharakam@gmail.com
Ramalho-Santos	Miguel	Lunenfeld-Tanenbaum Research Institute	mrsantos@lunenfeld.ca
Ramos	Luz Esther	MUHC	esther_ramos99@hotmail.com
RELAV	Lauriane	Université de Montréal	rlauriane@gmail.com
Remillard	Gaudeline	Université de Montréal	gaudeline.remillard.chum@ssss.gouv.qc.ca
Reyes-Moreno	Carlos	Université du Québec à Trois-Rivières	carlos.reyes-moreno@uqtr.ca
Rezaei	Maryam	McGill University	maryam.rezaei@mail.mcgill.ca
Richard	François	Université Laval	francois.richard@fsaa.ulaval.ca
Rico	Charlène	Université de Montréal	charlene.rico@umontreal.ca
Robaire	Bernard	McGill University	bernard.robair@mcgill.ca
Robert	Claude	Université Laval	Claude.Robert@fsaa.ulaval.ca
Rwigemera	Arlette	INRS- Institut Armand Frappier	arlette.rwigemera@iaf.inrs.ca
sabouhi zarafshan	samin	Université de Montréal	samin.saboohi@gmail.com
Saindon	Andrée-Anne	Université Laval	andree-anne.saindon@crchudequebec.ulaval.ca
Saini	Deepak	McGill University	deepak.saini@mail.mcgill.ca
SALAGNAD	Julie	INRS- Institut Armand Frappier	julie.salagnad@iaf.inrs.ca
Schang	Gauthier	McGill University	gauthier.schang@mail.mcgill.ca
Schmouth	Jean-François	Université de Montréal	jf.schmouth@umontreal.ca
Shafiei	Shiva	McGill University	shiva.shafiei@mail.mcgill.ca
Smith	Courtney	McGill University	courtney.smith2@mail.mcgill.ca
Smith	Lawrence	Université de Montréal	lawrence.c.smith@umontreal.ca
St-Jean	Guillaume	Université de Montréal	guillaume.st-jean.2@umontreal.ca
Sullivan	Robert	Université Laval	robert.sullivan@crchul.ulaval.ca
Swan	Shanna	ICAHN School of Medicine	shanna.swan@mssm.edu
Taketo	Teruko	McGill University	teruko.taketo@mcgill.ca
Tardif	Sarah	INRS- Institut Armand Frappier	sarah.tardif.tremblay@gmail.com
Tardif	Laurence	Université du Québec à Trois-Rivières	laurence.tardif@uqtr.ca
Teng	Katie	McGill University	katie.teng@mail.mcgill.ca
Tessougué	Emmanuel	Université Laval	emmanuel.tessougue.1@ulaval.ca
Tremblay	Jacques J.	Université Laval	jacques-j.tremblay@crchudequebec.ulaval.ca
Trottier-Lavoie	Mallorie	Université Laval	mallorietl@outlook.com
Tubbs	Christopher	San Diego Zoo	ctubbs@sandiegozoo.org
Turrin	Evelyne	Université de Montréal	evelyneturrin@gmail.com
Vaillancourt	Cathy	INRS- Institut Armand Frappier	cathy.vaillancourt@iaf.inrs.ca
Van Der Kraak	Glen	University of Guelph	gvanderk@uoguelph.ca
Van Themsche	Céline	Université du Québec à Trois-Rivières	celine.vanthsche@uqtr.ca

Vasilev	Filip	Universite de Montréal	fvasilev@yahoo.com
Viger	Robert	Université Laval	robert.viger@crchudequebec.ulaval.ca
Vincent	Patrick	Semex	pvincent@semex.com
Wang	Ying	McGill University	ying.wang5@mcgill.ca
Wang	Xiaotong	McGill University	xiaotong.wang3@mail.mcgill.ca
WARMA	Aly	Universite de Montréal	aly.warma@umontreal.ca
Yamanaka	Yojiro	McGill University	yojiro.yamanaka@mcgill.ca
Yan	Han (Aileen)	McGill University	han.yan@mail.mcgill.ca
Yang	Qin	RI-MUHC	qin.yang@mail.mcgill.ca
Zamberlam	Gustavo	Universite de Montréal	gustavo.zamberlam@umontreal.ca
Zhou	Ziyue (Sabrina)	McGill University	ziyue.zhou@mail.mcgill.ca