

## Stratégies d'analyse spatio-temporelle de l'épissage alternatif chez *Caenorhabditis elegans*



**Jonathan MILLET**

ARNA, INSERM U869 (Equipe D. DUPUY, IECB), Bordeaux, FRANCE

L'épissage alternatif est un mécanisme de régulation de l'expression des gènes ayant pris une importance croissante dans l'étude du vivant. Si des méthodes existent pour déterminer les gènes qui y sont soumis, peu d'outils sont disponibles pour suivre ces événements d'épissage in vivo au cours du développement. Pourtant, la caractérisation des régulations sous-jacentes à ces événements et la détermination des facteurs impliqués sont dépendantes de stratégies fiables pour les visualiser dans des conditions physiologiques.

Nous avons développé un système adapté à l'étude d'événements d'épissage basé sur un rapporteur fluorescent bicolore. Nous l'avons appliqué à cinq gènes de l'organisme modèle *Caenorhabditis elegans* et avons suivi leur épissage in vivo.

Parmi les différents gènes suivis, deux d'entre eux suivaient un modèle d'épissage potentiellement stochastique, un autre une absence d'épissage alternatif détectable. Les deux derniers gènes présentent un profil d'épissage spécifique à certains types cellulaires mais ont un effet toxique sur l'organisme lorsque nous les avons exprimés à partir de concatémères extrachromosomiques. Pour remédier à cela, nous avons choisi de mettre en place une méthode simplifiée d'insertion en simple copie des rapporteurs utilisant le CRISPR-Cas.

Nos résultats indiquent que le système rapporteur fonctionne avec succès. Cependant, il peut encore être amélioré pour se rapprocher des taux physiologiques de transcription grâce à une insertion en simple copie dans le génome de l'organisme. Nous avons également révélé un événement sous le contrôle de régulations spatiales, temporelles et conditionnelles. De plus, nous avons créé une série de constructions capables de déterminer les éléments en cis impliqués dans la régulation du gène top-1.