



Biological Resource Centers  
for Domestic Animals

### **4th International Seminar of CRB-Anim Infrastructure**

**CRB-Anim : past, present and futur**

May 30-31, 2022

## **Protéomique de la semence pour prédire la fertilité chez les volailles**

**Valérie Labas<sup>1,2</sup>, Anaïs Vitorino Carvalho<sup>2</sup>**

<sup>1</sup> PIXANIM platform, INRAE, Université de Tours, CHU de Tours, 37380, Nouzilly, France

<sup>2</sup> PRC, INRAE, CNRS, IFCE, Université de Tours, 37380, Nouzilly, France

Corresponding author: [anais.carvalho@inrae.fr](mailto:anais.carvalho@inrae.fr)

L'évaluation de la fertilité des mâles reste un défi dans le domaine de l'élevage. En effet, dans la gestion de la reproduction du bétail, beaucoup moins de mâles sont inclus par rapport au nombre de femelles. Par conséquent, la sélection des mâles a des conséquences importantes, notamment en termes de perspectives économiques, et repose sur leur capacité de reproduction. Actuellement, l'évaluation de la qualité du sperme est principalement basée sur des tests *in vitro* (concentration, morphologie, motilité, intégrité de la membrane...), ce qui est peu corrélé avec la fertilité des mâles observée *in vivo*. Ainsi, le développement d'un outil précis pour le dépistage de la fertilité masculine est encore largement nécessaire.

Dans les spermatozoïdes matures, la transcription et la traduction sont limitées, ce qui fait des protéines des signatures moléculaires (en termes de présence, d'abondance et de modifications) de la capacité de fertilisation des spermatozoïdes. Au cours des dernières décennies, les améliorations technologiques basées sur l'approche de la spectrométrie de masse pour explorer le protéome cellulaire ont explosé. Généralement, ces recherches sont basées sur des méthodes classiques (appelées Bottom-up), impliquant l'identification de protéines à partir de peptides après digestion enzymatique. Bien que très instructive à des fins fondamentales en identifiant les voies moléculaires impliquées dans la capacité de fertilisation des spermatozoïdes, cette stratégie n'est pas compatible avec une utilisation diagnostique en raison des investissements en temps et en argent. Cependant, une autre méthodologie à haut débit, la spectrométrie de masse MALDI-TOF pour cellules intactes (ICM-MS), peut être appliquée directement à une population de cellules isolées et est capable de distinguer différents états cellulaires en caractérisant rapidement les peptides et protéines endogènes intacts impliqués dans diverses fonctions cellulaires. Ainsi, l'approche ICM-MS semble être plus indiquée pour le développement de nouveaux outils de diagnostic basés sur la protéomique.

Nous avons démontré précédemment que l'ICM-MS appliquée aux spermatozoïdes éjaculés permet de discriminer les poulets selon leur statut de fertilité en comparant les profils protéiques de leur sperme et pourrait être utilisée comme un test de diagnostic de fertilité basé sur des modèles mathématiques prédictifs dans un contexte expérimental. Dans le cadre de l'infrastructure du CRB Anim et du financement subséquent (Projet maturation INRA FERTIMALE), nous avons mené une étude pilote, pour appliquer notre protocole ICM-MS standardisé, dans des conditions réelles d'élevage, en utilisant de grandes populations de mâles de fertilité/habilité connue provenant de races distinctes (races pondeuses et races à viande).

La présentation illustrera le développement de cette approche originale et certains des résultats obtenus.





Biological Resource Centers  
for Domestic Animals

### 4th International Seminar of CRB-Anim Infrastructure

CRB-Anim : past, present and futur

May 30-31, 2022

## Proteomics of semen for fertility prediction in poultry

Valérie Labas<sup>1,2</sup>, Anaïs Vitorino Carvalho<sup>2</sup>

<sup>1</sup> PIXANIM platform, INRAE, Université de Tours, CHU de Tours, 37380, Nouzilly, France

<sup>2</sup> PRC, INRAE, CNRS, IFCE, Université de Tours, 37380, Nouzilly, France

Corresponding author: [anais.carvalho@inrae.fr](mailto:anais.carvalho@inrae.fr)

The evaluation of male fertility remains a challenge in animal husbandry. Indeed, in livestock reproduction management, much less males are included compared to the number of females. Consequently, the male selection has important consequences, especially in terms of economic prospects, and lays on their reproduction capacity. Currently, evaluation of sperm quality is mainly based on *in vitro* tests (concentration, morphology, motility, membrane integrity...), which is poorly correlated with the male fertility observed *in vivo*. Thus, the development of an accurate tool for male fertility screening is still largely needed.

In mature spermatozoa, transcription and translation are limited, leading the proteins as molecular signatures (in term of presence, abundance and modifications) of sperm cell fertilizing capacity. During the last decades, the technology improvements based on mass spectrometry approach to explore cell proteome have exploded. Generally, these investigations are based on classical methods (named Bottom-up), involving protein identification from peptides after enzymatic digesting. Whereas very informative for fundamental purposes by identifying the molecular pathways involved in sperm fertilizing capacity, this strategy is not compatible with a diagnostic use due to the time and economic investments. However, another high throughput methodology named Intact Cell MALDI-TOF Mass Spectrometry (ICM-MS) can directly be applied to an isolated cell population and is able to discriminate different cell states by rapidly characterizing the intact endogenous peptides and proteins involved in various cellular functions. Thus, ICM-MS approach seems to be more indicated for the development of new diagnostic tool based on proteomic..

We previously demonstrated that ICM-MS applied on ejaculated spermatozoa discriminates chickens according to their fertility status by comparing of their semen protein profiles and could be used as a fertility diagnostic test based on predictive mathematical models in an experimental context. In the course of the CRB Anim infrastructure and of the subsequent funding (Projet maturation INRA FERTIMALE), we conducted a pilot study, to apply our standardized ICM-MS protocol, in real farming conditions, using large male populations of known fertility/hatchability from distinct breeds (egg laying and meat breeds).

The presentation will illustrate the development of this original approach and some of results obtained with it.

