

**Titre du projet** (*maximum 2 lignes*) : Intérêt de

Intérêt de l'approche eQTL (QTL d'expression) pour l'identification de gènes responsables de la variabilité de caractères quantitatifs.

**Résumé du projet**

(contextes socio-économique et scientifique, objectifs, programme des travaux, organisation en tâches) :

**Contextes socio-économique et scientifique**

Les dix dernières années ont été marquées par l'identification de nombreuses régions QTL (*quantitative trait loci*) responsables d'une part substantielle de la variabilité génétique de différents caractères, et ce dans différentes espèces (bovins, porcs, volailles, poissons, ...). L'intégration de données moléculaires de type QTL dans l'évaluation génétique des reproducteurs est un enjeu important pour les unités privées ou collectives de sélection afin de rester compétitives au niveau mondial. En effet, de telles données qui sont obtenues très précocement dans la vie de l'animal vont permettre d'optimiser les schémas de sélection. Par ailleurs, ces données peuvent être particulièrement importantes pour les caractères nécessitant des protocoles coûteux de mesures des performances ou encore pour les caractères d'héritabilité faible pour lesquels la sélection par des méthodes classiques est peu efficace.

Cependant, la primo-localisation des régions QTL identifiées massivement cette dernière décennie, reste grossière (20 à 40 cM), permettant uniquement une sélection indirecte (dite sélection assistée par marqueurs ou SAM) qui est loin d'être optimale car très coûteuse à mettre en place. Pour lever les limites de la SAM, il est nécessaire de connaître avec plus de précision la localisation du QTL, l'idéal étant d'aller jusqu'à la découverte du gène causal permettant ainsi d'envisager une sélection directe sur la mutation causale. Le passage de la primo-localisation à la découverte des gènes causaux est actuellement laborieux : moins de dix gènes ont ainsi été identifiés dans les espèces animales. Des innovations méthodologiques permettant d'accélérer l'identification de ces gènes font partie des défis majeurs de la génétique animale pour les prochaines années. C'est dans ce cadre que s'inscrit notre projet.

**Objectif du projet**

L'objectif est de transférer, dans les espèces animales d'élevage, une méthodologie innovante mise en place récemment chez la levure (Brem et al, 2002) et la souris (Schadt et al, 2003) et d'évaluer son efficacité dans l'identification des gènes responsables de la variabilité de caractères quantitatifs. Cette méthodologie consiste, par analyse de liaison génétique réalisée non plus sur des mesures de performances (comme cela est fait pour une analyse QTL), mais sur des données d'expression génique, à identifier des régions dites eQTL pour *expression quantitative trait loci*. Une région eQTL contrôle ainsi la variabilité d'expression d'un gène ou d'un groupe de gènes qui lui sont liés. Si certaines régions QTL et eQTL, identifiées dans un seul et même dispositif, sont co-localisées, il est possible que le gène responsable des variations phénotypiques pour le caractère d'intérêt soit aussi responsable de la variation d'expression des gènes reliés à la région eQTL. Notre objectif est donc d'utiliser cette stratégie dite "eQTL" pour tenter de mieux caractériser fonctionnellement les régions QTL responsables de la variabilité d'un caractère quantitatif, permettant ainsi d'avoir de solides hypothèses quant au gène causal sous-jacent.

Cette stratégie sera mise en place dans le cadre de la recherche de gènes responsables de la variabilité des caractères " engraissement " et " croissance et qualité de la viande " chez le poulet de chair, pour lesquels nous avons déjà détecté ou sommes en train de détecter des régions QTL. Pour cela, le projet s'appuie sur deux modèles issus de sélections divergentes, basées d'une part sur la vitesse de croissance et d'autre part sur l'adiposité, et qui sont deux lignées de poulets croissance lente et rapide et deux lignées de poulets maigres ou gras. Concernant le premier modèle, une comparaison du transcriptome musculaire des poulets à croissance rapide et lente est en cours, et devrait révéler des

gènes différentiellement exprimés entre lignées divergentes.

Fort de ces deux modèles, notre projet vise à évaluer l'efficacité de deux variantes de la stratégie eQTL. La première, effectuée sur les lignées grasse et maigre, considèrera l'expression de plusieurs milliers de gènes (grâce à une puce à ADN générique) qui seront alors mis en relation avec les quelques zones QTL déjà identifiées pour l'engraissement (Tâche 1a). La seconde, effectuée sur les lignées croissance lente et rapide, se focalisera sur les gènes différentiellement exprimés entre lignées qui seront alors mis en relation avec l'ensemble des marqueurs couvrant le génome, incluant ainsi les différents QTLs identifiés pour une vingtaine de caractères (Tâche 1b).

Compte tenu des résultats obtenus par Brem et al., et Schadt et al., nous espérons identifier quelques régions eQTL dites "hot spot" contrôlant un grand nombre de gènes. Afin d'objectiver la sélection du gène "chef d'orchestre" de la variation d'expression de ce groupe de gènes, nous mettrons en place des outils permettant d'une part, une annotation ontologique du groupe de gènes (recherche de fonctions communes à ce groupe) et d'autre part, une recherche d'éléments *cis* dans les promoteurs de ces gènes. Cette seconde tâche vise ainsi à mieux cerner la ou le(s) fonction(s) couverte(s) par ce groupe de gènes et ainsi de mieux appréhender la nature du gène les contrôlant en amont. Enfin, une troisième tâche a pour objectif de valider le ou les gènes candidats fonctionnels et positionnels sélectionnés. Une première étape consistera à vérifier que ce ou ces gènes candidats sont bien présents dans un segment conservé entre haplotypes Q ou q (allèles au QTL d'intérêt) (méthode dite *Identity-by-descent*). Si tel est le cas, ce gène sera alors séquencé afin de le valider formellement par identification de la mutation causant la variabilité du caractère d'intérêt.

### **Programme des travaux (organisations des tâches, durées et coûts)**

**Tâche 1a :** Utilisation d'une puce poule contenant 6500 gènes uniques, élaborée dans le cadre du programme national INRA AGENAE. Hybridation des 2 x 20 descendants extrêmes pour le "gras" des 5 familles de pères, hétérozygotes à une des 5 régions QTL "engraissement". Adaptation du programme QTLmap pour une analyse de liaison multipoint sur des milliers de phénotypes expressionnels qui représentent les 6500 gènes. Adaptations méthodologiques au regard des milliers de tests statistiques à effectuer et des variables à considérer (gènes pris isolément ou en combinaison). Analyse eQTL en ne prenant en compte que les régions QTL.

Durée : janvier 2005 à Septembre 2006, Coût : 68500 €

**Tâche 1b :** analyse par RT-PCR de 10 gènes ou par puce dédiée si une centaine de gènes est différentiellement exprimée entre lignées croissance. Analyse eQTL sur l'ensemble du génome.

Durée : janvier 2005 à décembre 2006, Coût : 47500 €.

**Tâche 2 :** annotation fonctionnelle : recherches d'ontologies et d'éléments *cis* pour les groupes de gènes reliés à une région eQTL.

Durée : septembre 2006 à septembre 2007, coût 9000 € partagés entre 2 équipes.

**Tâche 3 :** Evaluation des gènes candidats positionnels et fonctionnels par *Identity-by-descent* (génotypage de SNPs) puis séquençage.

Durée : juin 2007 à décembre 2007, coût : 15000 €.

### **Champ thématique (selon la classification de l'Appel à Projets) :**

Projet :    x générique ;     finalisé

**Responsable scientifique (nom prénom)** :

**Lagarrigue Sandrine**

**Fonction :**

MC I- Agrocampus Rennes

**Organisme (intitulé, sigle, Adresse)**

UMR de Génétique Animale INRA-Agrocampus

Rennes

Tél. : 02 23 48 54 65, Fax : 02 23 48 54 70, Mel : lagarrig@roazhon.inra.fr

**Responsable scientifique (nom prénom)** :

**Duclos Michel**

**Fonction :**

CR – SRA, Unité Qualité des produits avicoles

**Organisme (intitulé, sigle, Adresse)**

SRA, INRA- Nouzilly

Tél. : 02 47 42 79 23, Fax : 02 47 42 77 78, Mel : duclos@tours.inra.fr

**Chef de projet :** : *Lagarrigue Sandrine*

**Liste des partenaires publics :**

<b>Nom des laboratoires (intitulé, sigle, nom du Directeur, nom du responsable)</b>	<b>Affiliations : EPST, Université...</b>	<b>Ville</b>
UMR de Génétique Animale INRA-Agrocampus Rennes, GA, M. Douaire, <i>S. Lagarrigue</i>	EPST	Rennes
<b>Station de Recherche avicole INRA – Nouzilly, SRA, Y. Nys, M. Duclos</b>	EPST	Nouzilly
UMR 6061 CNRS-Université de Rennes I, équipe Génétique Humaine, UMR6061, C. Prigent , <i>J. Mosser</i>	EPST	Rennes
<b>Laboratoire de Génétique cellulaire, INRA – Toulouse, LGC, P. Mulsant, F. Pitel et A. Vignal</b>	EPST	Toulouse
UMR 6074, IRISA / INRIA Rennes, IRISA, C. Labit, <i>J. Nicolas IRISA</i>	EPST	Rennes

**Durée du projet :** 36 mois