

BIOMARK

Equipe GA PORC INRA

Juliette Riquet & Catherine Larzul

Génétique Cellulaire, INRA Toulouse

Génétique Quantitative et Appliquée, INRA Jouy

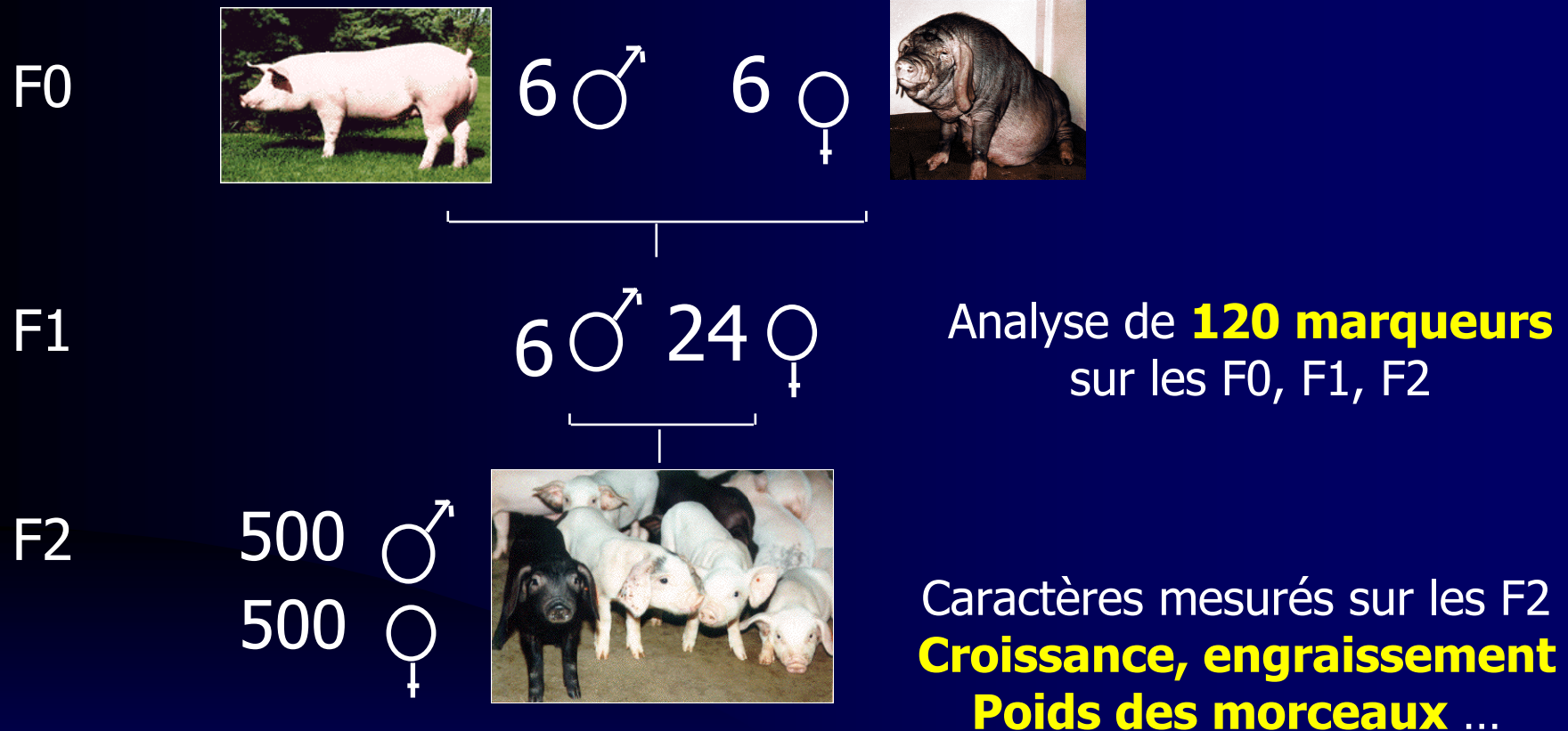
Unités expérimentales du Rheu et du Magneraud, INRA

Bioporc, IFIP Le Rheu

Biomark : le titre complet

Une évaluation minutieuse de plusieurs **QTL**
en ségrégation dans les **lignées commerciales**
françaises en vue de leur **cartographie fine** et
de la mise en place d'une
sélection assistée par marqueur

Carto QTL Meishan x Large White



Quelques effets QTL : Cas du Chr 7

Table IV. Results of QTL analyses for fatness traits. Position and estimated QTL effects at the higher test statistics value.

Trait ^a	SSC	Line cross model					Half/full sib model				
		Position and confidence interval (cM)	F-ratio	Significance level ^b	Additive value ^c (± S.E.)	Dominance value (± S.E.)	Position and confidence interval (cM)	LR ^d	Significance level ^b	Additive value ^c	% variance
Backfat wt (kg)	7	65 (57–73)	39.0	***	-0.33 ± 0.04	-0.20 ± 0.06	65 (56–73)	94.4	***	-0.32	16.3
Leaf fat wt (kg)	7	66 (61–70)	80.2	***	-0.12 ± 0.01	-0.07 ± 0.02	65 (51–72)	139.6	***	-0.12	28.2
Belly wt (kg)	7	65 (57–80)	18.2	***	-0.10 ± 0.02	-0.02 ± 0.02	59 (52–85)	91.7	***	-0.10	7.4
(Back + leaf fat)%	7	65 (59–71)	55.4	***	-1.65 ± 0.17	-0.95 ± 0.26	65 (57–71)	119.4	***	-1.64	21.9
x2 (mm)	7	65 (57–73)	38.6	***	-2.07 ± 0.25	-0.93 ± 0.38	61 (54–69)	101.6	***	-2.10	14.5
x4 (mm)	7	67 (60–74)	40.5	***	-2.00 ± 0.25	-1.43 ± 0.39	64 (55–74)	97.1	***	-2.19	14.5

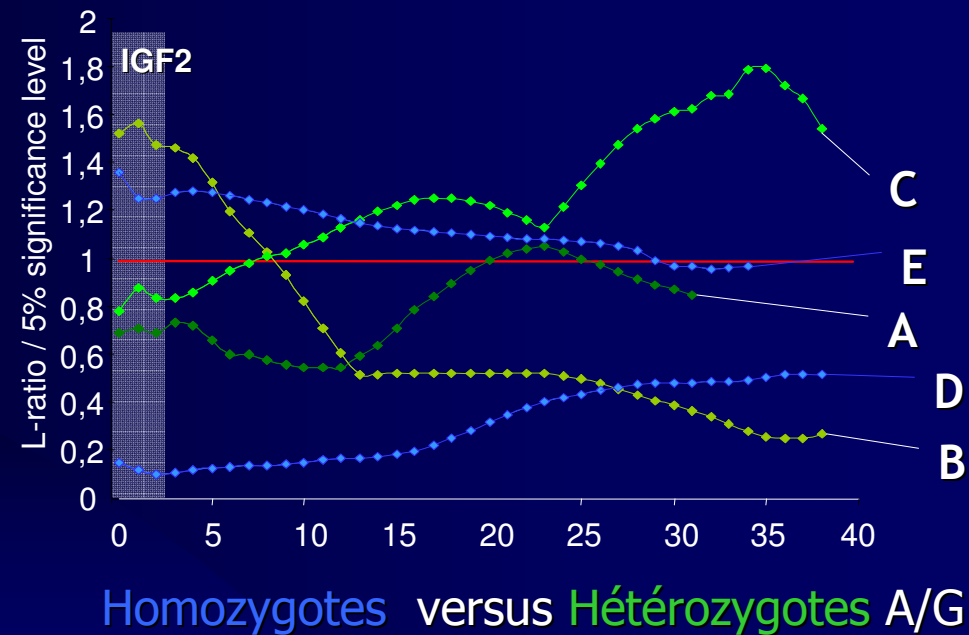
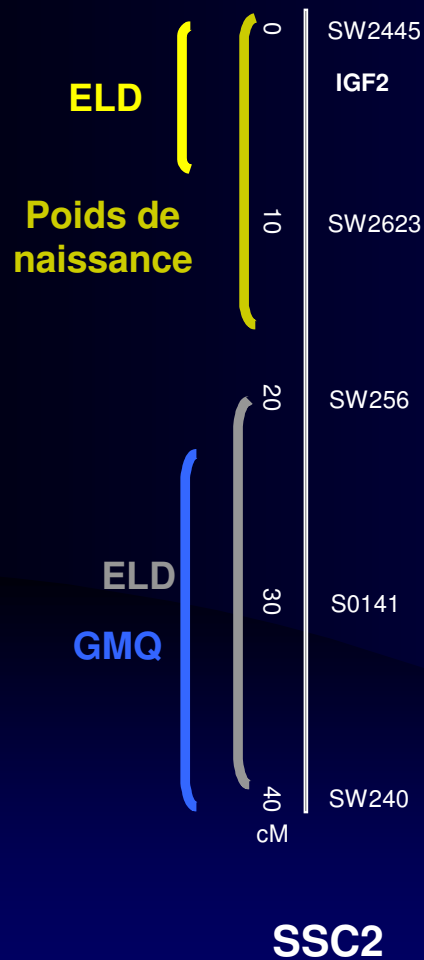
Table III. Results of QTL analyses for leanness traits. Position and estimated QTL effects at the higher test statistics value.

Trait ^a	SSC	Line cross model					Half/full sib model				
		Position and confidence interval (cM)	F-ratio	Significance level ^b	Additive value ^c (± S.E.)	Dominance value (± S.E.)	Position and confidence interval (cM)	LR ^d	Significance level ^b	Additive value ^c	% variance ^e
Loin wt (kg)	7	97 (81–111)	11.4	**	-0.13 ± 0.03	0.16 ± 0.05	141 (127–159)	72	*	-0.13	6.7
Ham wt (kg)	7	71 (54–96)	6.5	+	0.05 ± 0.02	0.06 ± 0.03	14 (119–154)	56.1	+	0.01	2.2
Shoulder wt (kg)	7	67 (61–82)	70.7	***	0.20 ± 0.02	0.01 ± 0.03	66 (61–72)	183.3	***	0.18	22.8
(Ham + loin)%	7	64 (53–73)	9.6	*	0.48 ± 0.17	0.82 ± 0.26	139 (125–156)	65.2	+	-0.27	4.6
ECLC (%)	7	63 (55–70)	18.3	***	1.24 ± 0.26	1.36 ± 0.40	138 (125–157)	65.2	+	-0.40	8.2
X5 (mm)	7	68 (60–86)	17.2	***	-2.85 ± 0.49	-0.22 ± 0.75	67 (32–83)	78.4	**	-2.81	7.6

Quelques effets QTL : cas du Chr 2

- **Empreinte** génétique

- Un QTL avec modification de l'empreinte
- Un QTL imprinté + un autre QTL



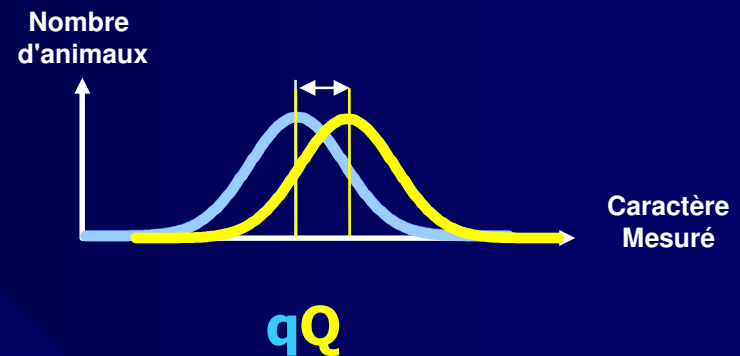
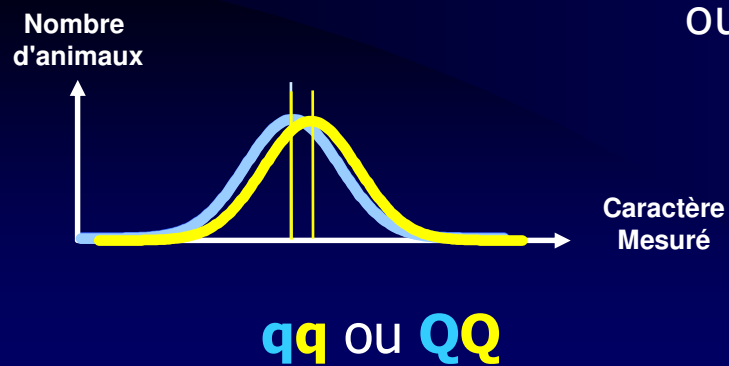
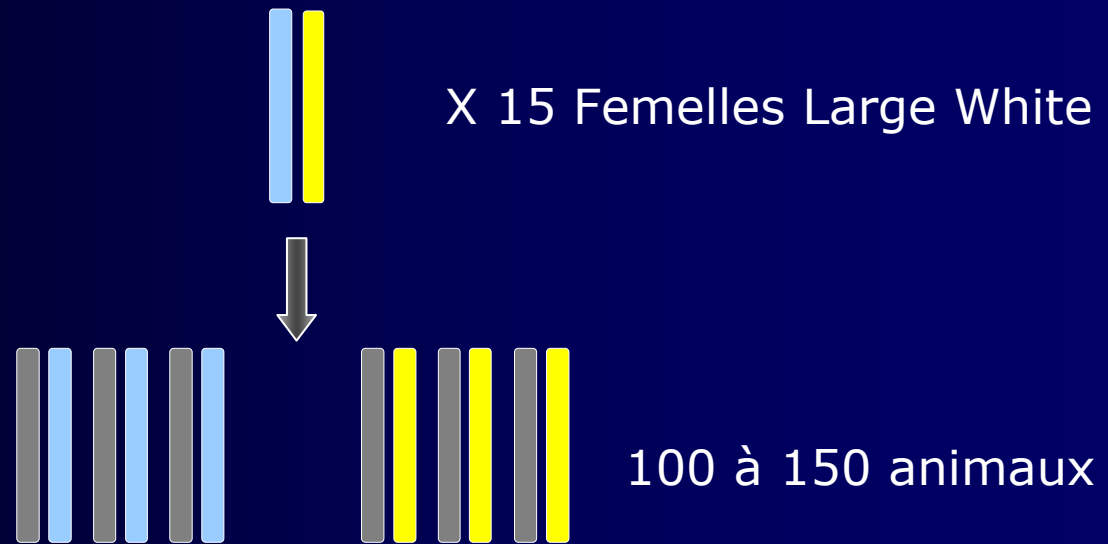
Cartographie de QTL

- QTL **Large White x Meishan**
- **Carto fine QTL** SSC 1, 2, (4), 7
 - SSC 1 : dominance de l'allèle LW maigre
 - SSC 2 : empreinte parentale / une mutation publiée
 - SSC 7 : dominance de l'allèle MS, allèle maigre
- Approches employées :
 - Cartographie fine : animaux **backcross recombinants**
 - Connaissance de la région : cartographie locale
 - Connaissance de la diversité : Etude **d'haplotypes**

Biomark : les objectifs

- Etude de la ségrégation **intra lignée** de QTL dans les **populations commerciales** :
 - 40 familles INRA (BC chinois, LWxPi, LWxDu, synthétique)
 - 16 familles OSP (Stations contrôle : Le Rheu + Le Magneraud)
 - 4 familles OSP (chez les OSP)
- Mise en place d'une **ressource** (ADN + perf) sur plus de 7000 animaux
- Génotypage dans les régions QTL (simple point + multipoint)

Cartographie fine de QTL



Biomark : les objectifs

- Etude de la ségrégation **intra lignée** de QTL dans les **populations commerciales** :
 - 40 familles INRA
 - 16 familles OSP (Le Rheu + Le Magneraud)
 - 4 familles OSP
- Mise en place d'une **ressource** (ADN + perf) sur plus de 7000 animaux
- Génotypage dans les régions QTL (simple point + multipoint)
- Comparaison des **haplotypes**

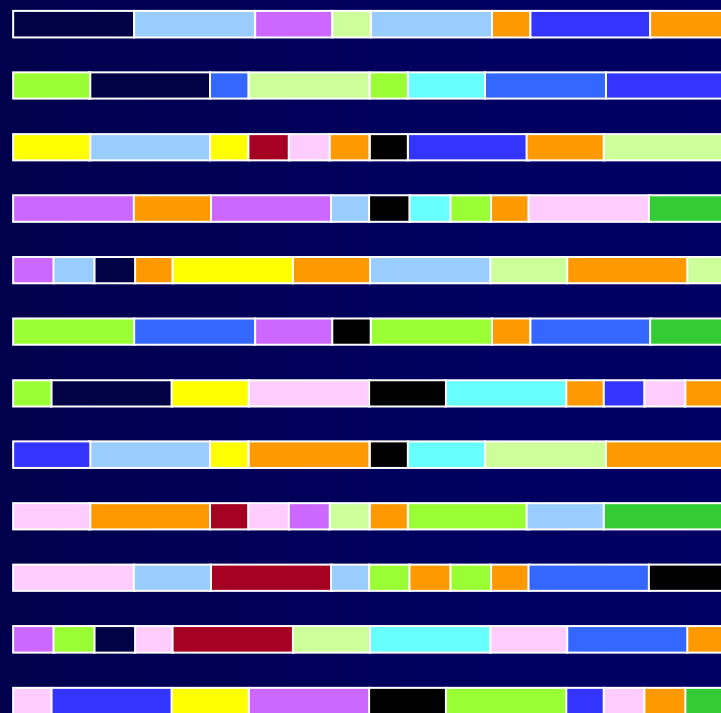
Etude d'haplotypes

MS
LW



MS
MS
MS

LW
LW
LW



Q
Q
q
q
Q
q
Q
q
q
q
Q
Q
q



Résultats au Rheu & au Magneraud

- 5 Large White
- 4 Landrace
- 2 Piétrain
- 1 Duroc
- 3 Synthétiques : 1 Redone, 1 DRB et 1 Solbeck

- 14 testés au Rheu et au Magneraud (50 desc./élev.)
- 2 (Piétrain + DRB) testés au Rheu (environ 50 desc.)

- Le Rheu : Animaux de race pure
- Magneraud : Testage sur truies Large White

Caractères mesurés

- **Production**: poids, épaisseurs de lard, longueur carcasse, poids morceaux, TVM et composantes = **33 caractères**
 - **Qualité de viande**: pH, couleur (L a b), imbibition, perte d'exsudat, PG, %MS = **16 caractères**
 - **Aplombs**: grille Nucleus = **8 caractères**
 - **Nombre côtes/vertèbres** = **4 caractères**
 - **Tétines**: fonctionnelles, fausses, intercalaires, invaginées, râpées = **6 caractères**
-
- Au total: **67 caractères analysés pour 16 marqueurs et 16 pères soit environ 15000 tests**

Résultats sur animaux Bioporc (en station)

	SSC1a 3 marqueurs	SSC1b 3 marqueurs	SSC2 2 marqueurs	SSC4 3 marqueurs	SSC6 3 marqueurs	SSC7 2 marqueurs
7	<i>TMP2*</i> <i>bardière*</i>					
16	<i>hachage*</i>	<i>apl_h**</i>				<i>total_tetines*/**</i>
104					<i>G2**/***</i> <i>Jambon*/**</i> <i>TVM** Bardière*</i>	
108			<i>G1*** G2*** M2* TVM*** ELmoy***</i> <i>ELcou*** ELdos* ELrein* TMP2***</i> <i>ELjambon* Bardière*** Longe**</i>		<i>Tête**</i>	
109	<i>ELdos*</i>					<i>apl_c**</i>
127	<i>pds_deng**</i> <i>ELdos*/** ELmoy*</i> <i>gmq2* longueur**</i>		<i>Longueur***</i>		<i>apl_e**</i>	
129						<i>gmq3***</i>
140			<i>a fs*</i>	<i>Jambon**</i>		
143			<i>apl_d**</i>	<i>fausses_tétines**</i> <i>pds_21j*</i> <i>ELjambon*</i>	<i>Bardière** ELdos*</i> <i>apl_d**</i>	<i>PG* Jambon**</i>
149	<i>G1*</i>	<i>G1*** G2** TVM**</i> <i>USdos** USrein**</i>				
154	<i>b ld**</i>				<i>apl_g**</i>	
169	<i>bardière**</i>	<i>Jambon*</i>	<i>M2**</i>			
172	<i>nombre_côtes*</i>			<i>M2*</i>		
201						
203	<i>total_tetines*</i>				<i>Longueur*</i>	<i>a ld**</i>
215				<i>gmq2*</i>	<i>l ld*</i>	

Pour chaque combinaison région* père, caractères avec proba(allèle) * < 0.002; ** < 0.001 et *** < 0.0001

En italique, caractères pour lesquels interaction allèle*élevage significative

Résultats sur les 4 familles Bioporc (OSP)

Région	Père	Marqueur	Caractère	Effet en écart-type	Probabilité
SSC2	50796 (Taizumu)	S0141	TMP2	0.59	< 0.0001
			USdos	-0.59	< 0.0001
SSC7	50465 (Neckar)	MCS25E7T7	pH24_lon	-0.59	< 0.0001
		SW1856	pH24_lon	-0.62	< 0.0001
		SW1856	L_fm	0.97	< 0.0001
	50796 (Taizumu)	MCS25E7T7	n_cote	-0.69	< 0.0001
		SW1856	n_cote	-0.81	< 0.0001
		SW1856	exsudat	-0.58	< 0.0001

Génotypage complémentaire

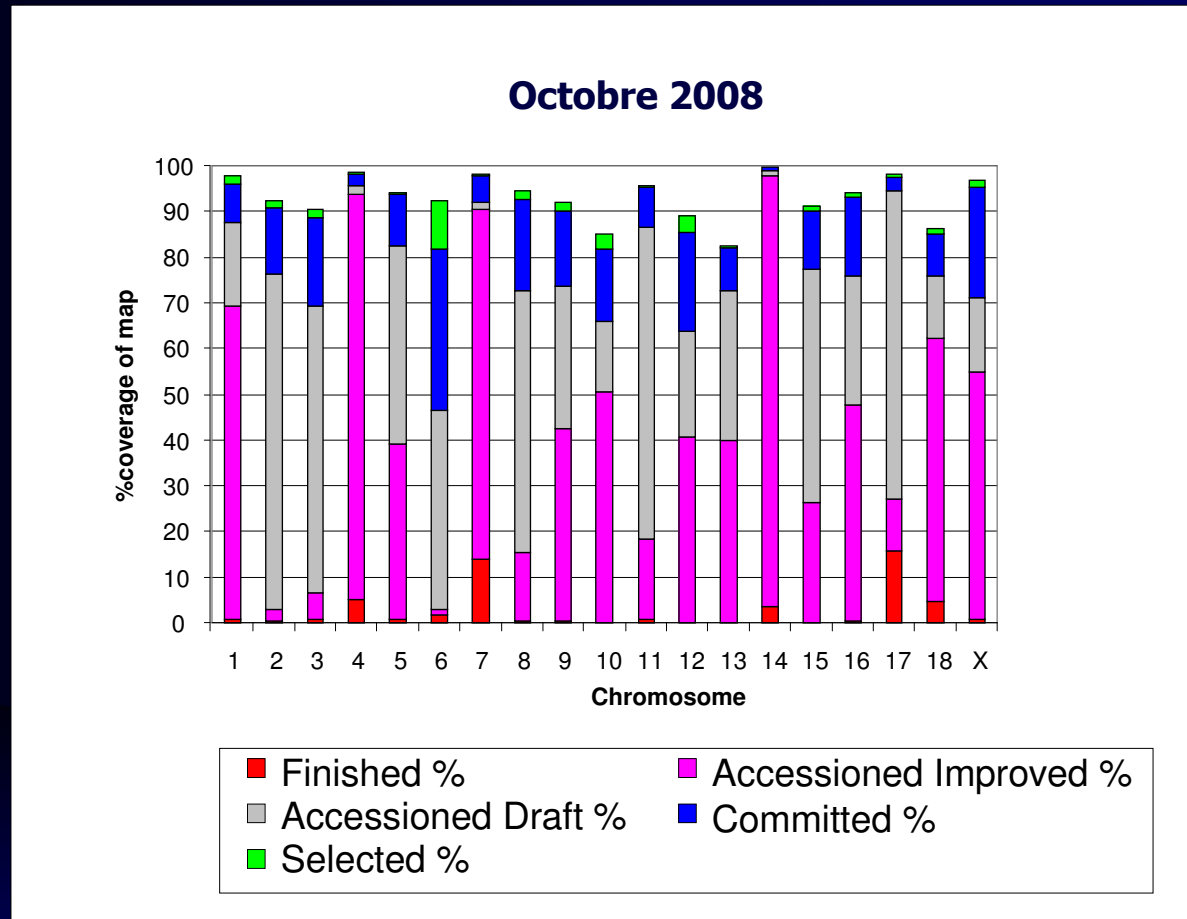
- Pour chaque famille sélectionnée :
 - 16 marqueurs analysés sur les chromosomes 1, 2 & 7

EN COURS

Caractérisation des haplotypes

- Tirer partie du séquençage du génome porcin pour disposer de SNP couvrant le génome

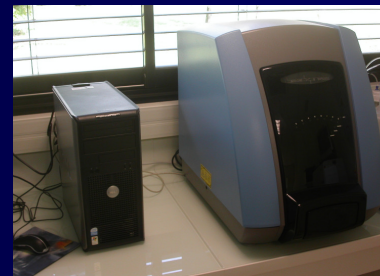
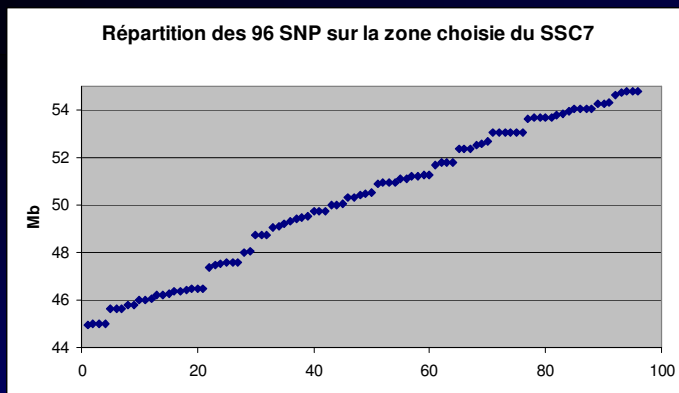
Caractérisation des haplotypes



Clones selected and sent for sequencing cover 93.0% of the physical map.
Clones sequenced cover 77.7% of the physical map.

Détection de *SNP* et caractérisation

- Séquençage d'un million de fragments au CNS en 2006 (**0.25 X**) : (LW, LR, Piétrain, Meishan, Göttingen, Sanglier, Ibérique)
- Printemps 2008 : Détection de SNP séquences **INRA/CNG** versus **Duroc** : **61748 SNP de haute qualité**
- Programmes pilotes sur **SSC7** (PlaGe Toulouse) & **SSC1** (CNG Evry)



Caractérisation à l'échelle du génome

- Bénéficiaire de la **puce 60kSNP** (consortium porcin, 08/08)

Preliminary Information about the Porcine SNP BeadChip

Illumina and the International Porcine SNP Chip Consortium are pleased to announce that we now have a preliminary SNP panel and additional content information available for anyone interested. Information about the content is below. Due to formatting, the preliminary SNP panel is in another document. Again, the deadline to participate in the early access and pricing discounts is 5 pm Pacific Time September 5, 2008. After 5th Sept, early access and pricing will not be available. Don't miss out on this opportunity!

The porcine SNP panel was developed internationally in collaboration with Illumina and leading porcine researchers including Marten Groenen, Richard Croxall, Marcos Ramos and Andrea Foronica at Wageningen University, Christen Bendisen and Jakob Hildegaard at Danish Institute of Agricultural Science, Ralph Wiedmann, Gary Rohrer, Tim Smith and Dan Nissemann at USDA ARS (USDA/ARS, Andy Law and Alan Archibald at Roslin Institute, Larry Schook and Jon Breuer at the University of Illinois, Hae Rothchild, Zhilang Hu, and James Keece at Iowa State University, Curt Van Tassel at USDA ARS, Denis Hahn at INRA, Jerry Taylor and Bob Schreiber at the University of Missouri, and Ben Dunsmore and Robert Affara at Cambridge University.

The Porcine SNP BeadChip is estimated to have more than 50,000 evenly spaced probes once finalized. Content was selected that targets SNPs discovered using Illumina's Genome Analyzer and common SNPs described in publicly available sources. This 12-sample Infinium™ Genotyping BeadChip presents a cost-effective and high-quality solution for interrogating genetic variation in multiple porcine breeds including Duroc, Landrace, Pietran, and Large White.

The preliminary SNP panel submitted by the Porcine Consortium for the Porcine Infinium BeadChip

- A total of 60,212 SNPs
 - 41,667 SNPs with coordinates on build 7 of the reference genome. This build represents approximately 70 % of the porcine genome and SNPs were selected at regularly spaced intervals along all chromosomes.
 - 18,545 SNPs cover the remainder of the 30 % of the genome. To ensure even coverage of these SNPs as much as possible, during the early stages of SNP selection all flanking sequences of the unmapped SNPs were compared to the human genome. In total 4,497 of the 18,545 SNPs have a provisional predicted position on the porcine genome based on the human-pig comparative map.
- For 57,996 SNPs minor allele frequencies were available. Minor allele frequencies were calculated based on the sequences obtained from the Illumina genome analyzer (at average 30x sequence depth), 454 (at average 12x sequence depth) or from SNPs used in genotyping assays. The average minor allele frequency of the SNPs is 0.4.
- 43,972 SNPs that were discovered from deeply sequencing more than 10 % of the porcine genome using Illumina's Genome Analyzer and another 11,770 SNPs discovered by deep sequencing using Roche's 454 sequencer.
- 23 SNPs positioned on the Y-chromosome, 21 of which are Y-specific and are located on the euchromatic short arm.
- 5 SNPs located on the mitochondrial genome
- SNPs derived from a large scale Sanger sequencing project at INRA (1919 SNPs), a 7K iSelect Infinium Genotyping BeadChip previously designed by DIAS and RI (1660 SNPs), dbSNP (336 SNPs) and a list of SNPs compiled by Cambridge University (558 SNPs).
- A targeted average SNP spacing of 44 Kb across the entire genome, offering more than sufficient SNP density for robust whole-genome linkage studies and other applications such as:
 - genome-wide selection
 - determination of genetic merit
 - identification of quantitative trait loci
 - comparative genetic studies

Page 1 of 2
Receipt of this document must be authorized and provided by Marten Groenen (marten.groenen@wur.nl) & Marilyn Murren (murren@illumina.com)

- A total of 60,212 SNPs

- 41,667 SNPs with coordinates on build 7 of the reference genome. This build represents approximately 70 % of the porcine genome and SNPs were selected at regularly spaced intervals along all chromosomes.
- 18,545 SNPs cover the remainder of the 30 % of the genome. To ensure even coverage of these SNPs as much as possible, during the early stages of SNP selection all flanking sequences of the unmapped SNPs were compared to the human genome. In total 4,497 of the 18,545 SNPs have a provisional predicted position on the porcine genome based on the human-pig comparative map.

- For 57,996 SNPs minor allele frequencies were available. Minor allele frequencies were calculated based on the sequences obtained from the Illumina genome analyzer (at average 30x sequence depth), 454 (at average 12x sequence depth) or from SNPs used in genotyping assays. The average minor allele frequency of the SNPs is 0.4.
- 43,972 SNPs that were discovered from deeply sequencing more than 10 % of the porcine genome using Illumina's Genome Analyzer and another 11,770 SNPs discovered by deep sequencing using Roche's 454 sequencer.
- 23 SNPs positioned on the Y-chromosome, 21 of which are Y-specific and are located on the euchromatic short arm.
- 5 SNPs located on the mitochondrial genome
- SNPs derived from a large scale Sanger sequencing project at INRA (1919 SNPs), a 7K iSelect Infinium Genotyping BeadChip previously designed by DIAS and RI (1660 SNPs), dbSNP (336 SNPs) and a list of SNPs compiled by Cambridge University (558 SNPs).

SNPs derived from a large scale Sanger sequencing project at INRA (1919 SNPs), a 7K iSelect Infinium Genotyping BeadChip previously designed by DIAS and RI (1660 SNPs), dbSNP (336 SNPs) and a list of SNPs compiled by Cambridge University (558 SNPs).

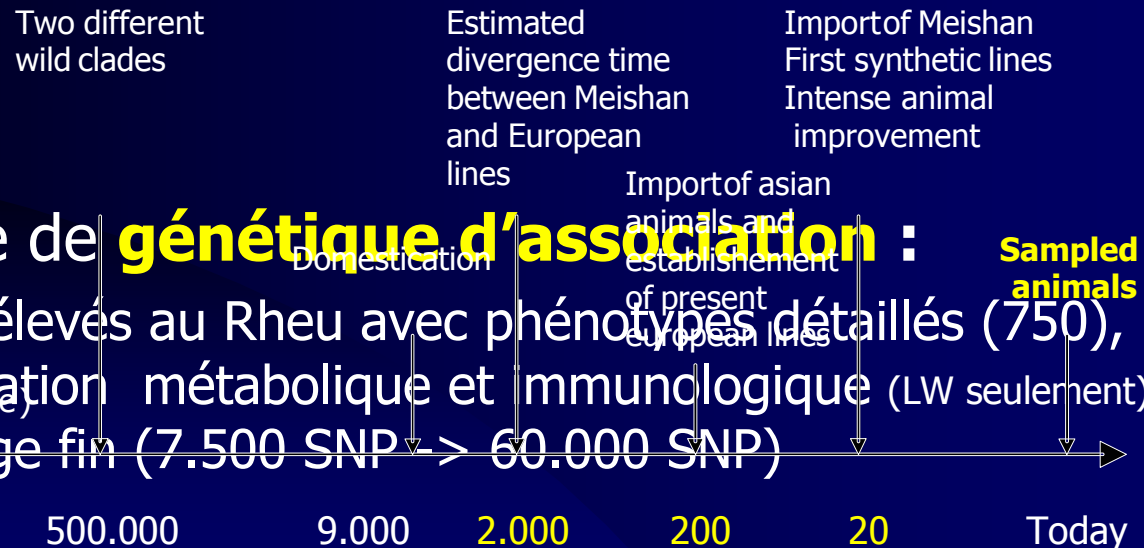
Ce qu'il reste à faire (prolongation 1 an)

- La fin des **typages initiaux** (20 % des animaux) pour arriver à 7600 animaux génotypés.
- La poursuite de la **cartographie multipoint** et analyse **QTL**
- Caractérisation des **haplotypes** (Janvier 2009) avec la puce 60k SNP sur les pères + 2-3 descendants
- Intégration de tous ces résultats :
 - Caractérisation des allèles **Q** et **q** (et q' , q'' ...)
 - Identification de **mutation candidates** (ou associées)

DéLiSus (Genanimal 2007)

- **Détection** du polymorphisme SNP **in silico** et gestion des données à l'échelle du génome
- Etude du **déséquilibre de liaison** :
 - Mise en évidence de traces de sélection

- Programme de **génétique d'association** :
 - Animaux élevés au Rheu avec phénotypes détaillés (750), caractérisation métabolique et immunologique (LW seulement), génotypage fin (7.500 SNP → 60.000 SNP)



Conclusions

- Les régions présentant des effets très forts entre allèles **européen** et **chinois** présentent aussi une variabilité intra européenne importante :
 - Evaluer s'il existe d'autres effets, **de ces allèles ou d'autres**, dans ces régions
 - Confirmation **nécessaire** des effets dans les races où l'on veut les utiliser
- Mise en place possible de sélection **intra européenne** (autres allèles ou allèles asiatiques présents en Europe)
- Mise en place d'une ressource à exploiter plus à fond pour **d'autres régions** du génome, notamment dans les régions qui seront mises en évidence par **DéLiSus**