

AMASGEN

Approches Méthodologiques et Applications de la Sélection GENomique chez les bovins laitiers

Responsable Scientifique du Projet : Vincent DUCROCQ
Vincent.Ducrocq@jouy.inra.fr

INRA
SGQA
Domaine de Vilvert
78361 JOUY EN JOSAS

Mots clés : sélection génomique, sélection assistée par marqueur, bovins laitiers, évaluation génétique, QTL

Résumé

Le projet AMASGEN s'inscrit dans le sous-axe C de l'axe thématique « Génomique animale » de l'appel d'offre. Il vise explicitement à valoriser les approches génomiques les plus récentes pour améliorer et étendre les méthodes de sélection assistée actuellement utilisées chez les bovins laitiers. L'objectif est de renforcer la compétitivité de la France en matière de génétique bovine laitière en l'aidant à rester dans le peloton de tête en matière de sélection assistée par marqueurs. Dans un secteur extrêmement concurrentiel au niveau international, cela passe par l'élaboration en interne d'outils statistiques et informatiques performants pour l'estimation de la valeur génétique des taureaux et des vaches au moment de leur naissance à partir de l'information génomique maintenant disponible grâce aux puces SNP à haut débit (BovineSNP50 BeadChip d'Illumina en l'occurrence). Pour cela, on dispose depuis Avril 2008 des génotypes complets de 3300 taureaux testés des 3 principales races laitières françaises. La difficulté méthodologique essentielle est le développement d'une approche robuste et fiable de prédiction de valeur génétique « génomique » dans un contexte où on dispose d'un nombre de génotypes prédicteurs (SNP) considérablement plus élevé que le nombre de phénotypes. Par ailleurs, cette nouvelle approche doit pouvoir capitaliser le savoir faire français en matière de sélection assistée par marqueurs, en incluant de façon optimale notre connaissance de la localisation de certains QTL à gros effet. Parallèlement, ces évolutions doivent être prises en compte pour enrichir les évaluations génétiques nationales, et non pas les décrédibiliser –comme ce serait le cas si on n'y prend garde. Les cinq tâches de ce projets couvrent ces différents aspects : mise au point de la méthodologie de prédiction de valeurs génétiques à partir de l'information génomique et étude de sa robustesse, obtention d'équations de prédiction et création d'une puce SNP de « sélection génomique », validation sur des vaches génotypées à l'aide de cette puce, combinaison de l'évaluation génomique avec les évaluations génétiques existantes (évaluation assistée par marqueurs puis évaluation nationale), étude de l'effet d'une sélection génomique sur la validité des évaluations génétiques nationales et internationales actuelles. Ce projet de recherche est fortement soutenu par les professionnels de la génétique bovine française, représenté ici par l'Union Nationale des Coopératives d'Elevage et d'Insémination Animale (UNCEIA).

Partenaires du projet

Equipe 1 (Equipe du Responsable Scientifique du projet) :
INRA, SGQA (Station de Génétique Quantitative Appliquée), Jouy-en-Josas
Responsable scientifique : Vincent DUCROCQ

Equipe 2 :
INRA, SAGA (Station d'Amélioration Génétique des Animaux), Jouy-en-Josas
Responsable scientifique : Christèle ROBERT

Equipe 3 :
UNCEIA, Paris
Responsable scientifique : Laurent JOURNAUX

CapSeqAn

Capture de séquences sur microarrays pour séquençage ciblé de régions d'intérêt : développement sur des études pilotes en génomique animale

Responsable Scientifique du Projet : Karine HUGOT
Karine.Hugot@jouy.inra.fr

INRA
LREG
Domaine de Vilvert
78361 JOUY EN JOSAS

Mots clés : Animaux de rente, outils et ressources, bioinformatique

Résumé

La détection de polymorphismes, tels que les SNP (Single Nucleotide Polymorphisms) ou les CNV (Copy Number Variations) dans des régions génomiques candidates associées à des caractères complexes ou des maladies dans des animaux d'intérêt économique est un prérequis pour le génotypage et l'identification des causes qui expliquent les variations phénotypiques. Par ailleurs, le séquençage de régions génomiques communes dans des espèces proches est un outil important pour les études phylogénétiques ou évolutives et la caractérisation de gènes orthologues. Une difficulté majeure pour la réalisation du séquençage de ces régions cibles chez plusieurs animaux est d'isoler spécifiquement la matrice d'ADN à partir de milliards de paires de bases présentes dans les génomes mammifères ou autres grands génomes.

Dans le projet CapSeqAn, nous proposons de développer une méthode d'enrichissement de régions génomiques d'intérêt par capture sur microarrays. Il s'agit d'une méthode émergente et prometteuse comme alternative au clonage conventionnel ou aux méthodes de PCR. Cette technique associée avec le séquençage haut débit massivement parallèle accélérera la caractérisation de large régions génomiques candidates de nombreux individus choisis pour un caractère donné.

A travers 3 études pilotes de thématiques scientifiques différentes, le projet CapSeqAn pose deux questions, en relation avec les activités du CRB GADIE et des besoins de ses utilisateurs :

- 1) Est-il pertinent et faisable de proposer la capture de régions génomiques d'intérêt en service à la communauté animale. Nous transférerons au CRB GADIE et optimiserons la technique en partie décrite dans des publications récentes. Nous travaillerons ici sur deux régions candidates : le locus MITF* chez les porcs porteurs de mélanomes (modèle MeLiM) et le locus POLL** lié au phénotype sans corne chez le bovin.
- 2) Est-il possible de développer la technologie pour des applications complémentaires telles que la détection de CNV avant séquençage et la capture de séquences hétérologues

d'espèces proches. Ici, nous mènerons une étude pilote sur le MHC*** du porc (et autres Suidae) et du poulet (et autres Galloanserae).

- * Le gène MITF est localisé dans une région génomique de prédisposition au mélanome cutané chez le porc MeLiM, un modèle biomédical pour le cancer de la peau chez l'homme. L'étude vise à associer le polymorphisme dans ce locus à la pathologie.
- ** L'étude du polymorphisme du locus POLL contribuera à identifier du déterminisme génétique de l'hérédité chez les bovins.
- *** L'étude du MHC chez le poulet et le porc vise à caractériser le très haut polymorphisme de cette régions à 2 niveaux : SNP et CNV. Le MHC est une région pilote pour les analyses évolutives.

Partenaires du projet

Equipe 1 (Equipe du Responsable Scientifique du projet) :
INRA, LREG (Laboratoire de Radiologie et Etude du Génome), Jouy-en-Josas
Responsable scientifique : Karine HUGOT

Equipe 2 :
CEA, LREG (Laboratoire de Radiologie et Etude du Génome), Jouy-en-Josas
Responsable scientifique : Emmanuelle BOURNEUF

Equipe 3 :
INRA, LGbC (Génétique Biochimique et Cytogénétique), Jouy-en-Josas
Responsable scientifique : André AGGEN

Equipe 4 :
INRA-AgroParis Tech, LGBC (Génétique et Diversités Animales), Jouy-en-Josas
Responsable scientifique : Bertrand BED'HOM

Equipe 5 :
CNG / IG (CEA)
Responsable scientifique : Yvo GUT



COGEBI

Impact de la recombinaison et de la conversion génique biaisée sur l'évolution de génomes : application à la génomique comparative

Responsable Scientifique du Projet : Laurent DURET

Université de Lyon 1 UMR 5558 LBBE

Mots clés : Génomique comparative, tests de sélection, recombinaison, annotation du génome des animaux , évolution du génome

Résumé

L'identification des éléments fonctionnels (gènes, éléments régulateurs) dans les gros génomes eucaryotes tels que ceux des animaux ou des plantes est un problème majeur. L'annotation des séquences s'appuie fortement sur la génomique comparative: en analysant les patrons de variation de séquences entre différentes espèces ou au sein des populations, il est possible de repérer les traces de la sélection et ainsi d'identifier les éléments fonctionnels dans les séquences.

A ce jour, les méthodes développées pour détecter la sélection font l'hypothèse que l'évolution des séquences ne dépend que de 3 processus: mutation, dérive génétique et sélection. Nous avons récemment montré que dans certains taxons (notamment les oiseaux et les mammifères), l'évolution des séquences est fortement affectée par la recombinaison, du fait du processus de conversion génique biaisée (BGC). Ce processus mime l'action de la sélection et peut donc confondre les tests classiques de sélection. Le BGC peut parfois même contrer l'effet de la sélection et conduire à la fixation de mutations délétères.

Nous proposons d'étudier en détail l'impact du BGC sur l'évolution des régions fonctionnelles et des paysages génomiques (densité en gènes, composition en base, ...) chez les animaux. Nous allons d'abord réaliser des développements théoriques de génétique des populations pour étudier comment le BGC peut interférer avec la sélection et comment il peut affecter l'évolution de la recombinaison. Nous développerons ensuite de nouvelles méthodes bioinformatiques pour détecter la sélection. Ces méthodes tiendront compte du BGC ainsi que de la non-homogénéité et non-stationnarité des processus de substitution.

Nous utiliserons ces outils pour quantifier l'impact du BGC sur l'évolution des gènes protéiques chez les animaux. Nous évaluerons également l'interférence entre BGC et sélection en étudiant l'usage des codons.

Nous avons montré que le BGC conduit parfois à la fixation de mutations désavantageuses. Il est donc possible que le BGC soit responsable du maintien de certaines mutations délétères dans les populations humaines. Pour déterminer si cet effet est quantitativement important, nous analyserons le spectre des mutations qui sont impliquées dans des maladies génétiques. De plus nous étudierons la distribution taxonomique du BGC parmi les animaux pour déterminer quels taxons sont affectés par ce processus et identifier les facteurs qui contribuent à la prévalence du BGC. Nous étudierons notamment l'impact des réarrangements chromosomiques sur les changements de taux de recombinaison et donc

sur le BGC. De plus nous étudierons si la recombinaison affecte les patrons d'insertion et de délétion (et donc la densité en gènes) dans les génomes animaux.

Enfin, nous réévaluerons l'intensité de la sélection dans différents compartiments génomiques, dans les taxons pour lesquels des alignements de génomes complets et des données de polymorphisme sont disponibles. Nous allons notamment quantifier la sélection positive sur les régions promotrices (qui jouent un rôle essentiel dans l'évolution adaptative) pour lesquelles nous suspectons un effet important du BGC. Nous évaluerons également la sélection positive dans tous les compartiments génomiques pour lesquels il existe des indices qu'ils sont fonctionnels.

Notre projet permettra de caractériser les conséquences fonctionnelles et évolutives de ce processus nouvellement découvert (le BGC), et devrait donc fortement influencer la recherche en génomique animale, à la fois sur le plan conceptuel et pratique. Du point de vue fondamental, nous comprendrons si, et dans quelle mesure, la dynamique de fixation des mutations avantageuses ou délétères est affectée par le BGC. Ensuite nous évaluerons l'impact du BGC sur les paysages génomiques dans les taxons animaux. De plus, notre projet aboutira à des développements théoriques et bioinformatiques qui seront essentiels pour l'annotation des éléments fonctionnels dans les génomes qui sont affectés par le BGC (non seulement les mammifères et les oiseaux, mais aussi d'autres eucaryotes tels que plantes, champignons, ciliés).

Partenaires du projet

Equipe 1 (Equipe du Responsable Scientifique du projet) :

Université de Lyon 1 UMR 558 LBBE

Responsable scientifique : Laurent DURET

Equipe 2 :

Université de Montpellier 2 UMR 5554 ISEM

Responsable scientifique : Nicolas GALTIER



FIBERFISH

Identification et caractérisation fonctionnelle de gènes régulateurs de l'hyperplasie musculaire, une composante essentielle de la croissance et de la texture du muscle chez les poissons

Responsable Scientifique du Projet : Pierre-Yves RESCAN
Pierre-Yves.Rescan@rennes.inra.fr

INRA – SCRIBE
Campus de Beaulieu
35042 RENNES

Mots clés : Poisson, croissance du muscle, hyperplasie musculaire, génomique expressionnelle, génomique fonctionnelle

Résumé

La consommation de poisson est un élément important de l'équilibre nutritionnel. Aujourd'hui la production aquacole doit être accrue pour compenser la raréfaction des ressources halieutiques. Chez le poisson la croissance du muscle (la production de chair) résulte en grande partie de la formation continue de nouvelles fibres musculaires qui s'ajoutent à celles formées pendant le développement embryonnaire. Cette néomyogénèse (ou hyperplasie musculaire), qui n'existe nettement que chez les poissons, est aussi corrélée à un dépôt important de collagène favorable à la texture. Les gènes impliqués spécifiquement dans la formation continue de fibres musculaires ne sont pas connus. Dans ce projet nous proposons d'étudier le réseau transcriptionnel associé à la néomyogénèse du poisson en cherchant tout d'abord à (i) identifier les gènes spécifiquement activés dans les zones où elle se produit, en recourant aux techniques des microréseaux et à l'hybridation in situ à moyen débit. Puis à (ii) évaluer expérimentalement les propriétés myogéniques de gènes candidats de l'hyperplasie au moyen de morpholinonucléotides antisens et de la transgénèse.

Partenaires du projet

Equipe 1 (Equipe du Responsable Scientifique du projet) :
INRA Centre de Rennes UPR 1037 SCRIBE
Responsable scientifique : Pierre-Yves RESCAN

Equipe 2 :
IFREMER UMS 3109 ELA
Responsable scientifique : Xavier COUSIN



GAMETOGENES

Génomique de la gamétogenèse chez l'huître creuse *Crassostrea gigas*

Responsable Scientifique du Projet : Pascal FAVREL

Université Caen Basse-Normandie UMR 100 PE2M

Mots clés : *Crassostrea gigas*, génétique, gamétogenèse, transcriptomique, physiologie

Résumé

Ce projet vise à améliorer les connaissances sur les bases physiologiques et génétiques de la reproduction et des métabolismes associés chez un mollusque d'importance économique l'huître creuse, *Crassostrea gigas*, espèce dont le phylum se situe à une position phylogénétique clé parmi les animaux bilatériens.

La grande fécondité des huîtres qui produisent leurs semences en abondance et les relâchent dans un environnement hostile, est perçue comme une réponse évolutive à une intense et imprévisible mortalité au cours des premiers stades de développement (le modèle orme-huître de Williams, 1975*). L'évolution a façonné la physiologie de cette espèce pour optimiser sa contribution à la reproduction. En conséquence, la gamétogenèse a un impact majeur sur de nombreuses fonctions physiologiques à l'origine de compromis génétiques et phénotypiques entre la reproduction et la survie. La gamétogenèse est aussi un processus biologique dont le contrôle est important dans le contexte de l'aquaculture d'une espèce.

Ce projet bénéficie de l'acquisition récente de données génomiques chez *C. gigas* rassemblées sur une base unique de données riche de plus de 50000 séquences nucléotidiques (hébergée par Sigenae). Un criblage génétique de ces données sera effectué par des techniques de transcriptomique haut débit (Puces à ADN et PCR quantitative en temps réel) pour identifier des gènes spécifiquement exprimés au cours des différents stades de développement des gonades pendant un cycle annuel de reproduction. Ceci permettra de définir des marqueurs pertinents de l'investissement reproducteur et également des processus génétiques du déterminisme du sexe chez une espèce hermaphrodite à protandrie irrégulière. L'étude du caractère quantitatif de l'allocation à la reproduction sera approchée par la recherche de QTL (quantitative trait loci), c'est-à-dire des zones du génome (balisées par des marqueurs) liées à ce caractère. Ceci pourra être réalisé grâce à l'amélioration de la densité de marqueurs (SNP en particulier) sur les cartes génétiques existantes et aux liens qui pourront être établis entre ces cartes de liaison et une carte physique qui sera obtenue au cours de ce projet, grâce à la construction d'un panel RH (hybrides cellulaires irradiés).

Avec la perspective d'associer les données génétiques et phénotypiques, quelques méthodologies innovantes de la post-génomique seront développées et adaptées à notre modèle marin exotique compte tenu de son appartenance au clade fort peu étudié des Lophotrocozoaires pour lequel nous ne disposons pas de cultures cellulaires. Pour explorer la fonction de certains gènes impliqués dans les processus reproducteurs, des méthodologies qui ont fait leurs preuves dans d'autres modèles animaux seront testées



Appel à projets ANR 2008 du programme de GENOMIQUE Axe Génomique Animale

comme l'interférence à l'ARN (RNAi), l'endocrinologie inverse ou les approches pharmacologiques. L'aboutissement de ces méthodes audacieuses devrait fournir des données uniques sur l'implication fonctionnelle de certains gènes dans la reproduction chez un Lophotrochozoaire. Ces résultats attendus constituent l'étape préliminaire indispensable à l'exploitation des ressources génétiques de l'huître dans un but de domestication ou d'amélioration des caractères génétiques.

(*Williams GC (1975). Sex and Evolution. Princeton University Press, Princeton, NJ.)

Partenaires du projet

Equipe 1 (Equipe du Responsable Scientifique du projet) :
Université Caen Basse-Normandie UMR 100 PE2M
Responsable scientifique : Pascal FAVREL

Equipe 2 :
IFREMER LGP
Responsable scientifique : Sylvie LAPEGUE

Equipe 3 :
CNRS UMR 6061 IGD
Responsable scientifique : Francis GALIBERT

Equipe 4 :
Université de Bretagne Occidentale Brest UMR 6539 LEMAR
Responsable scientifique : Caroline BAFIOUX



LactoScan

Phénotypage et génotypage pour la détection et l'utilisation de QTL influençant significativement la composition fine des laits bovins et ovins

Responsable Scientifique du Projet : Didier BOICAHRD
Didier.Boichard@jouy.inra.fr

INRA
SGQA
Domaine de Vilvert
78361 JOUY EN JOSAS

Mots clés : Phénotypage, génotypage, QTL, acides gras, protéines

Résumé

Ce projet a pour objectif de déterminer les principaux facteurs génétiques et d'environnement influençant la composition fine du lait en matière grasse et protéique. Il inclut 3 tâches mais fait partie d'un programme plus large de 6 tâches, trois d'entre elles bénéficiant de soutiens non-ANR. (1) adapter les spectromètres moyen infra rouge (MIR) des différents laboratoires d'analyse laitière pour l'export des spectres complets et développer une base de données de spectres ; (2) développer des équations de calibration pour prédire la composition en acides gras du lait dans les trois espèces laitières à partir de données de chromatographie, à partir d'échantillons de 4 fermes expérimentales ; (3=task 1) développer une méthode de référence pour l'analyse quantitative des protéines et dériver des équations de calibration à partir des données de références et de MIR ; (4=task 2) collecter des données de spectres, des échantillons de lait et de sang et des données d'alimentation et de conduite d'environ 12 000 vaches et 3 000 brebis, venant compléter les données des bases nationales, et prédire les compositions en acides gras et protéines à partir de ces spectres ; (5=task3) génotyper environ les deux tiers de ces animaux avec une puce SNP, localiser finement les QTL, et analyser les autres facteurs de variation ; (6) élaborer des stratégies de conduite d'élevage et d'alimentation pour une maîtrise de la composition du lait.

Les étapes 3, 4 et 5 font l'objet du présent projet et sont notées respectivement task1, task2 et task3. Plus spécifiquement, l'étape 1 vise à établir un profil quantitatif et qualitatif des 12 protéines majeures du lait (caséines, alpha lactalbumine, beta lactoglobuline, lactoferrine, lactoperoxydase, ...) à partir de méthodes résolutive standard (RP-HPLC) ou innovantes (UPLC) combinées à la spectrométrie de masse. L'objectif est d'identifier et de quantifier les variants génétiques connus (voire inconnus) et leurs isoformes. Le second objectif est d'obtenir des équations de calibration MIR de la composition protéique à partir de spectres MIR. La tâche 2 vise à constituer un large échantillon d'étude issu de fermes commerciales, en bovins et ovins. 12 000 vaches de trois races et 3 000 brebis Lacaune seront concernées. Quatre type d'information sont collectées : des échantillons de lait, des échantillons de sang pour extraction d'ADN,



Appel à projets ANR 2008 du programme de GENOMIQUE Axe Génomique Animale

des spectres MIR et des données d'enquête sur la conduite et l'alimentation. La tâche 3 est l'étape de génotypage. Environ les deux tiers des échantillons seront choisis sur la base des spectres pour extraction d'ADN. Plusieurs solutions de génotypage sont envisagées en fonction de leur coût en 2010. La plus conservatrice au niveau budgétaire est présentée et elle constituera sans doute la version minimale. Une puce dédiée de 1536 SNP sera développée pour cibler des régions présélectionnées sur la base d'information externe, en particulier les protocoles du Pin et Sarde x Lacaune. Elle inclura également des marqueurs du reste du génome mais à une moindre densité. Les données seront analysées en combinant liaison et déséquilibre de liaison (LDLA). Par ailleurs, les autres facteurs de variation seront identifiés.

Partenaires du projet

Equipe 1 (Equipe du Responsable Scientifique du projet) :
INRA, SGQA (Station de Génétique Quantitative et Appliquée), Jouy-en-Josas
Responsable scientifique : Didier BOICHARD

Equipe 2 :
CNIEL
Responsable scientifique : Koenraad DUHEM

Equipe 3 :
Institut de l'Elevage
Responsable scientifique : Mickaël BROCHARD

Equipe 4 :
UNCEIA
Responsable scientifique : Sébastien FRITZ

Equipe 5 :
INRA, GPL (Unité Génomique et Physiologie de la Lactation)
Responsable scientifique : Patrice MARTIN

Equipe 6 :
France Contrôle Laitier
Responsable scientifique : Christophe LECOMTE



MEETAC

Valorisation des données transcriptomiques bovines à l'interface mère-embryon pour une compréhension intégrée de l'implantation

Responsable Scientifique du Projet : Olivier SANDRA
Olivier.Sandra@jouy.inra.fr

INRA
BDR
Domaine de Vilvert
78361 JOUY EN JOSAS

Mots clés : Implantation, transcriptome, bovine, intégrative database, biomarkers

Résumé

Ce projet a pour objectif de déterminer les principaux facteurs Au delà de son intérêt fondamental, la compréhension des mécanismes de l'implantation est de première importance chez les espèces domestiques d'élevage car les pertes embryonnaires pendant la période peri-implantatoire représentent plus de 35% des échecs de gestation. En conséquence, quand la gestation ne s'établit pas convenablement, la mise à la reproduction doit être répétée (insémination animale ou transfert d'embryons) ce qui entraîne un allongement de l'intervalle entre deux mises à la reproduction qui se traduit par des pertes économiques pour les éleveurs. Les pertes embryonnaires au moment de l'implantation sont diagnostiquées par très peu de marqueurs (progestérone, protéine spécifique de gestation) qui identifient les pertes embryonnaires que tardivement. Une méthode de diagnostic qui identifierait ces pertes embryonnaires précoces est une nécessité et un défi pour l'éleveur laitier et ce diagnostic pourrait être issue d'une investigation en profondeur de la compréhension des éléments du dialogue foeto-maternel. Au cours de ces 10 dernières années, des analyses transcriptomiques à haut débit ont permis une meilleure compréhension de la physiologie utérine (souris, homme, mammifères d'élevage) et du développement embryonnaire (souris, mammifères d'élevage) que ce soit en conditions physiologiques ou pathologiques. Le traitement intégré dans un même corpus des données issues à la fois des compartiments embryonnaires et utérins est de première importance pour comprendre les mécanismes d'établissement de la gestation car elle résulte d'un ajustement fonctionnel des deux parties.

Ce programme veut proposer une vision intégrée des profils de gènes exprimés par l'utérus et l'embryon au cours de la période péri-implantatoire chez le bovin. De telles analyses (profil d'expression de gènes, expression de protéines et interactions) n'ont pas été encore publiées ce qui confère à ce projet un authentique défi depuis le gène jusqu'à la réalité de l'élevage. Une démarche expérimentale et analytique en « va et vient » entre les résultats fournis par les études bioinformatiques et les validations biologiques est nécessaire pour assujettir l'abondance des transcrits à l'identification des réseaux de gènes, pour relier les gènes aux processus biochimiques prédis, pour associer les prédictions obtenus in silico aux résultats obtenus en condition



Appel à projets ANR 2008 du programme de GENOMIQUE Axe Génomique Animale

expérimentale (vivo, vitro) et de façon ultime pour relier ces situations physiologiques expérimentales aux conditions réelles de l'élevage bovin.

Partenaires du projet

Equipe 1 (Equipe du Responsable Scientifique du projet) :
INRA, BDR (Biologie du Développement et Reproduction), Jouy-en-Josas
Responsable scientifique : Olivier SANDRA

Equipe 2 :
INRA, UBIA (Unité de Biométrie et Intelligence Artificielle), Toulouse
Responsable scientifique : Christophe KLOPP

Equipe 3 :
INRA, MIG (Mathématique, Informatique et Génome)
Responsable scientifique : Christophe CARON

Equipe 4 :
UNCEIA
Responsable scientifique : Patrice HUMBLOT

Equipe 5 :
INRA, UCEA (Unité Commune d'Expérimentation Animale), Jouy-en-Josas
Responsable scientifique : Céleste LE BOURHIS



OSCILE

Interactions ovocyte-cellules somatiques, une étude de génomique comparative chez les vertébrés

Responsable Scientifique du Projet : Julien BOBE
Julien.Bobe@rennes.inra.fr

INRA
SCRIBE
Domaine de la Motte au Vicomte
BP 35327
35653 LE RHEU CEDEX

Mots clés : Ovocyte, follicule, transcriptome, vertébrés

Résumé

Le projet OSCILE vise à identifier des acteurs moléculaires, exprimés dans les cellules folliculaires qui entourent l'ovocyte, et qui participent à l'acquisition de la compétence ovocytaire au développement chez les vertébrés. Ce projet repose sur une approche de génomique comparative et porte sur deux vertébrés inférieurs, la truite arc-en-ciel (*Oncorhynchus mykiss*) et le Xénope (*Xenopus laevis*) ainsi que sur deux mammifères, la vache (*Bos taurus*) et la souris (*Mus musculus*). Ainsi, ce projet reposera sur deux espèces d'intérêt agronomique majeur en France, la truite et la vache et deux espèces modèles, la souris et le xénope qui offrent des possibilités expérimentales accrues pour une exploration de la fonctionnalité des gènes.

Le premier volet du travail repose sur une analyse transcriptomique chez les 4 espèces étudiées et réalisée à partir de cellules de granulosa (les cellules qui sont directement au contact de l'ovocyte et qui participent à l'acquisition de la compétence ovocytaire au développement). Cette analyse génomique sera réalisée sur un plateau technique commun (Ouest Génopole) et en utilisant un type de puce à ADN identique pour les 4 espèces (Agilent). Après une analyse statistique des gènes différentiellement exprimés dans chaque espèce, chez les vertébrés inférieurs (truite et Xénope), chez les mammifères (souris et vache) ou chez les 4 espèces, une analyse phylogénomique sera réalisée afin d'identifier les relations d'orthologie et de paralogie entre les gènes.

Le deuxième volet du travail se nourrira de ces résultats et correspondra alors à la fois à une analyse expressionnelle approfondie dans le follicule de chaque espèce en prenant soin d'étudier à la fois les niveaux d'expression et la localisation des ARNs et des protéines candidats au cours des étapes clés d'acquisition de la compétence ovocytaire au développement. Ce travail sera réalisé pour un nombre restreint de gènes communs. Enfin, il sera tiré avantage des différents modèles expérimentaux offerts par nos 4 espèces d'étude pour fournir des informations sur la fonction de certains des gènes étudiés. D'un point de vue cognitif ce projet constitue une approche originale d'analyse comparative des mécanismes folliculaires impliqués dans



Appel à projets ANR 2008 du programme de GENOMIQUE Axe Génomique Animale

l'acquisition de la compétence ovocytaire au développement chez les vertébrés. D'un point de vue évolutif, ce travail permettra une analyse de l'évolution des mécanismes folliculaires liés à l'acquisition de la compétence ovocytaire au développement chez les vertébrés dont le follicule a beaucoup évolué entre les vertébrés inférieurs (follicule sans antrum) et les mammifères (follicule à antrum). D'un point de vue appliqué, l'identification de mécanismes conservés au cours de l'évolution, que ce soit chez les vertébrés inférieurs, les mammifères ou pour l'ensemble des vertébrés, pourrait avoir des applications majeures en élevage. En ce qui concerne les applications biotechnologiques, il est important de noter que notre travail se situe au niveau des cellules somatiques qui jouxtent l'ovocyte et qui offrent la possibilité de mesurer des marqueurs indirects de la qualité ovocytaire.

Partenaires du projet

Equipe 1 (Equipe du Responsable Scientifique du projet) :
INRA, SCRIBE (Station Commune de Recherches en Ichtyophysiologie, Biodiversité et Environnement), Rennes
Responsable scientifique : Julien BOBE

Equipe 2 :
CNRS, IGD (Génétique et Développement), Rennes
Responsable scientifique : Franck CHESNEL

Equipe 3 :
INRA, PRC (Physiologie de la Reproduction et des Comportements), Tours
Responsable scientifique : Svetlana UZBEKOVA

Equipe 4 :
Université de Provence, EBM (Evolution Biologique et Modélisation)
Responsable scientifique : Pierre PONTAROTTI



PIG_FEED

Génétique de l'efficacité alimentaire du porc en croissance

Responsable Scientifique du Projet : Hélène GILBERT
Hélène.Gilbert@jouy.inra.fr

INRA
SGQA
Domaine de Vilvert
78352 JOUY-EN-JOSAS

Mots clés : Efficacité alimentaire, porc, génétique, critères de durabilité

Résumé

L'amélioration de l'efficacité alimentaire du porc est liée à (i) une amélioration de la compétitivité de la production, par la réduction des coûts d'intrants, particulièrement dans un contexte d'augmentation des coûts de l'aliment du bétail et (ii) une diminution de l'impact sur l'environnement, en particulier de l'excrétion de phosphore et d'azote. Par conséquent, l'amélioration directe de l'efficacité alimentaire, à performances constantes, présente un intérêt croissant pour la filière.

La consommation moyenne journalière résiduelle (RFI pour residual feed intake) mesure l'efficacité alimentaire par la différence entre consommation réelle et consommation théorique prédite d'après les besoins de maintenance et de production. Ce caractère a une héritabilité modérée et montre des corrélations avec les caractères de production (croissance, ingestion). Ses relations, en général légèrement défavorables, avec les caractères de reproduction ont essentiellement été analysées chez la souris et la volaille. Par ailleurs, certains modèles biologiques supposent qu'une meilleure efficacité alimentaire (faible RFI) peut entraîner une diminution de la fitness et une augmentation de la susceptibilité à certains facteurs de stress. Si les bases biologiques de la variabilité de RFI ont été évaluées chez les volailles et les bovins allaitants, elles restent mal connues chez le porc.

Le projet PIG_FEED repose sur deux lignées expérimentales de porc sélectionnées de façon divergente pour RFI. Le projet vise à une meilleure compréhension 1) des bases génétiques de RFI et de ses relations génétiques avec les caractères intéressant la production porcine, 2) des conséquences physiologiques de la sélection pour RFI chez le porc en croissance. Grâce au projet PIG_FEED, l'impact de cette sélection sur certaines composantes de la durabilité des élevages porcins, tels que l'environnement, les quantités d'apports alimentaires et de médicaments, et la tolérance à la chaleur, sera évalué. Les lignées RFI sont issues de 5 générations de sélection à partir d'une unique population Large White, ce qui permet d'interpréter les différences de performances entre lignées comme des conséquences de la sélection essentiellement, contrairement aux études rapportées précédemment dans l'espèce porcine qui reposaient sur des comparaisons de races. Les lignées RFI ont fait l'objet d'études préalables qui soutiennent la mise en œuvre du projet PIG_FEED : des divergences



Appel à projets ANR 2008 du programme de GENOMIQUE Axe Génomique Animale

significatives pour RFI, ainsi que pour des caractéristiques de qualité de la viande, de composition de la carcasse, et des mesures de production de chaleur ont été mises en évidence entre les lignées.

Le projet PIG_FEED est composé de quatre tâches :

Dans la tâche 1, les réponses corrélatives à la sélection seront analysées pour les caractères de production et de reproduction, les caractéristiques de comportement alimentaire et le niveau d'activité des animaux. Différents niveaux d'apport alimentaire seront proposés, et leurs conséquences sur les niveaux d'excrétion et les systèmes de régulation biologiques seront évalués.

Dans la tâche 2, nous proposons de génotyper trois générations d'animaux à l'aide d'une puce de SNP de 60K pour mettre en évidence des associations entre des haplotypes de marqueurs génétiques et différents niveaux de RFI. Des génotypages complémentaires dans des régions QTL préalablement identifiées sur un croisement entre des femelles des lignées RFI et des mâles Piétrain x Large White permettront de préciser ces haplotypes. Des stratégies pour utiliser ces associations dans les populations porcines de production pourront alors être proposées.

Dans la tâche 3, trois séries d'analyses transcriptomiques et protéomiques permettront d'évaluer les conséquences de la sélection sur (i) les métabolismes du muscle et du tissu adipeux pendant la croissance, (ii) le métabolisme du muscle à l'abattage et ses conséquences sur la qualité de la viande, (iii) le métabolisme lié à la réponse immunitaire. Ces données permettront de mettre en évidence les voies physiologiques affectées par la sélection.

Dans la tâche 4, les réponses des deux lignées à différents facteurs de stress seront évaluées à travers des challenges immunitaire, digestif et nutritionnel, et un challenge d'exposition à la chaleur, afin d'identifier la capacité relative des lignées à affecter l'utilisation des nutriments à des fonctions physiologiques différentes de la croissance. Ces résultats serviront de base à l'élaboration de stratégies de sélection appliquées à des objectifs d'élevage variés.

Partenaires du projet

Equipe 1 (Equipe du Responsable Scientifique du projet) :
INRA, SGQA (Station de Génétique Quantitative et Appliquée), Jouy-en-Josas
Responsable scientifique : Hélène GILBERT

Equipe 2 :
INRA, SENAH (Systèmes d'élevage, Nutrition Animale et Humaine), Rennes
Responsable scientifique : Jacob VAN MILGEN



Equipe 3 :

INRA, LGC (Laboratoire de Génétique Cellulaire), Toulouse

Responsable scientifique : Juliette RIQUET

Equipe 4 :

INRA, QuaPa (Qualité des Produits Animaux)

Responsable scientifique : Elisabeth LAVILLE

Equipe 5 :

INRA, PsyNuGen (Psychoneuroimmunologie, nutrition et génétique), Bordeaux

Responsable scientifique : Pierre MORMEDE

Equipe 6 :

INRA, URZ (Unité de Recherches Zootechniques), Antilles-Guyanne

Responsable scientifique : David RENAUDEAU

Equipe 7 :

INRA, GEPA (Génétique et expérimentation en production animale), Le Magneraud

Responsable scientifique : Yvon BILLON

Equipe 8 :

INRA, LREG (Laboratoire de radiobiologie et d'étude du génome), Jouy-en-Josas

Responsable scientifique : Claire ROGEL-GAILLARD



SEXYTROUT

Caractérisation génétique et fonctionnelle de la mutation masculinisante "mal" chez la truite arc-en-ciel

Responsable Scientifique du Projet : Yann GUIGUEN
Yann.Guiguen@rennes.inra.fr

INRA
SCRIBE
Campus de Beaulieu
35042 RENNES

Mots clés : Aquaculture, déterminisme du sexe, poisson, masculinisation, QTL

Résumé

Au contraire de la situation observée chez les mammifères et les oiseaux, chez lesquels un système majeur de déterminisme du sexe a été maintenu pendant au moins 100 millions d'années, une grande diversité de mécanismes contrôlant le sexe existe chez les poissons. Plus particulièrement, les salmonidés sont considérés comme ayant un système de déterminisme du sexe strictement génétique à hétérogamétie mâle (les mâles XY et femelles XX). Cependant, de manière inattendue, des mâles ont été observés dans des lignées homozygotes génétiquement femelles (XX), obtenues après gynogenèse chez la truite arc-en-ciel *Oncorhynchus mykiss*. Des analyses génétiques de ce phénotype masculinisé (Mal) suggèrent qu'il serait dû à une mutation récessive dans un locus mineur de déterminisme du sexe appelé mal. Ce projet de recherche combine des approches génétiques, génomiques et transcriptomiques pour identifier ce locus mal au niveau moléculaire. Trois stratégies convergentes seront développées pour atteindre cet objectif. Premièrement, une approche de type clonage positionnel doit permettre de localiser le locus mal sur la carte génétique de la truite arc-en-ciel. Des chromosomes bactériens artificiels (BAC) recouvrant cette région seront ensuite séquencés pour identifier des gènes pouvant correspondre à mal. Deuxièmement, une approche de type gènes candidats visera à identifier les gènes impliqués dans le déterminisme du sexe et la différenciation sexuelle par analyse bioinformatique dans des banques de séquences de truite arc-en-ciel. Ces gènes seront ensuite cartographiés pour tester leur possible co-localisation avec le locus mal. Troisièmement, après caractérisation du phénotype gonadique des individus mal et de l'effet de la température sur leur apparition dans des populations homozygotes génétiquement femelles, les profils d'expression génique seront étudiés pour les différents phénotypes sexuels par puce à ADN, PCR quantitative et hybridation in situ, de manière à identifier les dérégulations des gènes et des réseaux géniques associées à ce phénotype. Ces gènes dérégulés et leurs régulateurs, considérés comme des candidats pour mal, seront également localisés sur la carte génétique. Les gènes candidats identifiés par ces trois stratégies complémentaires, retenus sur la base de leur co-localisation avec le locus mal et de leur profil d'expression compatible avec un rôle dans le déterminisme du sexe ou la différenciation sexuelle, seront séquencés chez des femelles XX et des mâles mal/mal de manière à déterminer le gène et la mutation responsables du phénotype masculinisé. Enfin,

les effets fonctionnels de la mutation mal sur le produit du gène seront étudiés in vitro et in vivo. Trois équipes de recherche avec une expertise reconnue dans le domaine du déterminisme du sexe et de la différenciation sexuelle chez la truite et d'autres poissons interagiront dans le cadre de ce projet, avec des compétences complémentaires en génétique, génomique, transcriptomique, physiologie moléculaire, évolution et biologie du développement. Ce projet fournira une masse d'information sans précédent sur la génétique et la physiologie moléculaire du développement sexuel chez la truite arc-en-ciel, et contribuera fortement à une meilleure compréhension de la base moléculaire et évolutive du déterminisme du sexe et de la différenciation sexuelle chez les poissons. Les résultats obtenus permettront également d'élucider un type d'interaction entre génome et environnement modulant un phénotype. Dans un contexte aquacole, il est aussi attendu qu'une meilleure connaissance de la base génétique et environnementale de ce type de masculinisation permettra aux pisciculteurs de mieux contrôler un phénomène comparable apparu ces dernières années dans les élevages. Enfin, le décryptage des mécanismes environnementaux modulant la différenciation gonadique ouvrirait la voie au développement de nouvelles méthodes de contrôle du sexe chez la truite, basée sur la température, comme alternative aux traitements stéroïdiens actuels utilisés pour la production des géniteurs XX mâles (néomâles) fondateurs des populations monosexes femelles.

Partenaires du projet

Equipe 1 (Equipe du Responsable Scientifique du projet) :
INRA, SCRIBE (Station Commune de Recherches en Ichtyophysiologie, Biodiversité et Environnement), Rennes
Responsable scientifique : Yann GUIGUEN

Equipe 2 :
INRA, LGP (Laboratoire de Génétique des Poissons), Jouy-en-Josas
Responsable scientifique : René GUYOMARD

Equipe 3 :
ENS Lyon (Institut de Génomique Fonctionnelle de Lyon)
Responsable scientifique : Jean-Nicolas VOLFF



SheepSNPQTL

Utilisation d'une puce 60 000 SNP pour cartographier finement des QTL affectant des caractères de production, de résistance aux maladies et de comportement chez les ovins

Responsable Scientifique du Projet : Carole MORENO
Carole.Moreno@toulouse.inra.fr

INRA
SAGA
Chemin de Borde Rouge
Auzeville - BP 52627
31326 CASTANET-TOLOSAN Cedex

Mots clés : Ovin, SNP, QTL, cartographie, méthodes

Résumé

Au cours des quinze dernières années, dix protocoles de détection de QTL ont été conduits chez les ovins en France. Des populations en ferme ou provenant d'élevages expérimentaux INRA ont été utilisées pour mesurer un grand nombre de caractères économiquement importants (caractères de production laitière et bouchère, de résistance aux maladies et de comportement...). Le typage de 100 à 200 marqueurs microsatellites sur ces populations a permis d'identifier une centaine de QTL. Mais ce type de 'genome scan' lâche (faible densité de marqueurs) peut conduire à la non détection de QTL à effet majeur et donne des localisations généralement très approximatives des QTL détectés qui ont des intervalles de confiance de 20 à 60 cM. De tels intervalles de confiance permettent de faire seulement une sélection assistée par marqueur de première génération (SAM1) trop coûteuse pour sa mise en œuvre en ovins. Seule une cartographie fine ou mieux la détection des mutations causales permettent de mettre en œuvre une stratégie de sélection économiquement rentable (SAM2 ou SAG (sélection assistée par gène)). Les exemples de la sélection sur les gènes PrnP ou BMP15 (myostatine) illustrent parfaitement cette faisabilité en ovin. La disponibilité en 2008 d'une puce ovine haute densité (60 000 SNP) nous a conduit à reconsidérer nos protocoles passés afin d'accéder rapidement à une cartographie fine qui permettra de proposer des gènes candidats pour nos QTL.

Dans ce projet, nous proposons d'utiliser ce nouvel outil pour cartographier finement près de 70 QTL affectant des caractères de production et des caractères fonctionnels (résistance aux maladies, comportement) mesurés sur 1800 animaux issus de 5 des 10 protocoles QTL existants. L'objectif majeur de notre projet est de cartographier finement des QTL dans des intervalles de 2 à 5 cM (au lieu de 20 à 60 cM précédemment). Cette étape nous permettra de proposer des gènes candidats et/ou des groupes de SNP qui pourront être typés sur des animaux additionnels (intra et inter race) à l'aide de puces dédiées pour un coût réduit. Cette approche globale va nous permettre de progresser sur deux autres sujets. En premier lieu, cette information complétée par le génotypage de 100 hybrides irradiés va nous permettre de calculer la première carte ovine 60 000 SNP (en collaboration avec le consortium international de génomique ovine), puisque la seule carte disponible actuellement est



virtuelle. Par ailleurs, cette information va pouvoir aussi être utilisée pour tester des approches de sélection génomique. Enfin, l'utilisation d'une telle quantité de marqueurs constitue un nouveau challenge en génétique animale, et va donc nécessiter l'adaptation de méthodes existantes.

Partenaires du projet

Equipe 1 (Equipe du Responsable Scientifique du projet) :
INRA, SAGA (Station d'Amélioration Génétique des Animaux), Toulouse
Responsable scientifique : Carole MORENO

Equipe 2 :
INRA, LGC (Laboratoire de Génétique Cellulaire), Toulouse
Responsable scientifique : Bertrand SERVIN

Equipe 3 :
INRA, BIA (Biométrie et Intelligence Artificielle), Toulouse
Responsable scientifique : Christophe KLOPP

Equipe 4 :
AGRIS Sardegna DIRPA, Italie
Responsable scientifique : Antonello CARTA

Equipe 5 :
INRA, URH (Unité de Recherches sur les Herbivores), Clermont Theix
Responsable scientifique : Alain BOISSY

Equipe 6 :
INRA, ENVT IHAP (Ecole Nationale Vétérinaire – Interactions Hôte-Agents Pathogènes)
Toulouse
Responsable scientifique : Gilles FOUCRAS



SwAn
**Anomalies congénitales chez le porc :
cartographie génétique fine des gènes sous-jacents**

Responsable Scientifique du Projet :

Juliette RIQUET
Juliette.Riquet@toulouse.inra.fr

INRA
LGC
Chemin de Borde Rouge
Auzeville - BP 52627
31326 CASTANET-TOLOSAN Cedex

Mots clés : Porc, anomalie congénitale, étude d'association, puce SNP, sélection assistée par marqueurs

Résumé

Les anomalies congénitales les plus courantes chez le porcelet sont les hernies (ombilicale, scrotale ou inguinale), la cryptorchidie, le splayleg et dans une moindre mesure l'intersexualité et l'hermaphrodisme ainsi que l'atrésie anale. La fréquence d'animaux atteints est de 3% dans les populations commerciales porcines. En plus d'une perte économique directe, ces défauts ont un impact réel sur la santé et le bien-être des animaux. Certaines anomalies sont létales, d'autres nécessitent l'abattage des animaux. Pour toutes ces anomalies de nombreux arguments plaident en faveur d'un déterminisme génétique sous-jacent.

Dans le cadre du projet SwAn, nous proposons de rechercher les gènes responsables des anomalies congénitales majeures chez le porc. Dans le cadre de l'appel d'offre ANR, nous proposons à travers le projet SwAn (1) de poursuivre et d'affiner la réalisation d'une collection d'échantillons pertinents, (2) de réaliser une étude d'association à l'aide d'une puce internationale de 60 000 marqueurs SNP, (3) d'identifier et de caractériser certains gènes sous-jacents et (4) de proposer aux professionnels, des schémas de sélection adaptés.

Partenaires du projet

Equipe 1 (Equipe du Responsable Scientifique du projet) :
INRA, LGC (Laboratoire de Génétique Cellulaire), Toulouse
Responsable scientifique : Juliette RIQUET



Equipe 2 :

INRA, SGQA (Station de Génétique Quantitative et Appliquée), Jouy-en-Josas

Responsable scientifique : Catherine LARZUL

Equipe 3 :

INRA, BDR (Biologie du Développement et Reproduction), Jouy-en-Josas

Responsable scientifique : Eric PAILHOUX

Equipe 4 :

ENV Toulouse UPR Clinique élevages porcins et avicoles

Responsable scientifique : Guy-Pierre MARTINEAU

Equipe 5 :

IFIP

Responsable scientifique : Marie-José MERCAT