

I – FICHE D'IDENTITE DU PROJET

Acronyme du projet (*bref nom de 12 caractères au plus*)
FERTILITE

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

Projet : finalisé

Titre du projet

Déterminisme génétique et étude métabolique des problèmes de fertilité des vaches laitières hautes productrices

Coordinateur du projet (*Nom, prénom, fonction, organisme*)

DUPONT Joëlle, CR1, INRA Nouzilly

Résumé du projet (*maximum 3000 caractères, en français et en anglais*)

(contextes socio-économique et scientifique, objectifs, programme des travaux, résultats attendus) :

Depuis plusieurs années, la fertilité des vaches laitières hautes productrices (VLHPs) n'a cessé de se dégrader. Des travaux réalisés par les généticiens indiquent que cette baisse de fertilité est liée à l'intensité de la sélection sur la production laitière. En effet, ces VLHPs mobilisent de façon excessive leurs réserves énergétiques, ce qui les conduit à pénaliser leur reproduction.

Afin de mieux appréhender le déterminisme génétique qui sous-tend cette baisse de fertilité, un programme de détection de QTL chez les bovins a été entrepris entre 1996 et 2000 par le département de génétique Animale de l'INRA en collaboration avec l'UNCEIA et le GIE LABOGENA. Ce programme a permis la détection de trois QTLs impliqués dans la baisse de fertilité, mesurée par le taux de réussite à l'insémination artificielle (IA). Ces QTLs sont localisés sur les chromosomes 1, 3 et 7. L'hiver dernier, l'équipe d'André Eggen (Laboratoire de Génétique biochimique et de Cytogénétique [LGBC], INRA, Jouy en Josas) a entrepris une cartographie fine du QTL de fertilité situé sur le chromosome 3. Dans le même temps, à partir du modèle d'indexation officiel, F. Guillaume et T. Druet (SGQA) ont utilisé les données nationales pour essayer de déterminer si ce QTL avait des effets plus ou moins tôt après l'IA. L'ensemble de ces travaux a permis de confirmer l'existence du QTL, de réduire son intervalle de localisation à une dizaine de cM, d'exclure l'anomalie CVM (Complex Vertebral Malformations) de la liste des gènes candidats et enfin de montrer que ce QTL intervenait dans les échecs de gestation intervenant entre 0 et 90 jours après l'IA.

Le objectifs de ce projet sont, d'une part, de poursuivre le travail visant à identifier les gènes et les mutations présentes dans les QTLs impliqués dans la baisse de fertilité, et d'autre part, compte tenu de la forte corrélation négative entre cette baisse de fertilité et l'intensité de la mobilisation des réserves énergétiques, d'étudier le rôle des voies métaboliques candidates (insuline, acides gras), dans la fonction de reproduction chez la vache. Ce travail permettra de mieux comprendre à terme, les relations entre génotype et phénotype.

Les travaux se dérouleront en quatre étapes. La première étape sera prise en charge par M. Gautier (équipe d'A. Eggen). Elle consistera à rechercher de nouveaux marqueurs dans la région du QTL de fertilité située sur le chromosome 3. Ces marqueurs permettront de se rapprocher le plus possible du gène en cause, en supposant qu'il est unique.

La deuxième étape sera réalisée à la fois à Jouy en Josas dans l'équipe d'A. Eggen et à Nouzilly dans l'équipe de P. Monget. Elle aura pour but d'identifier parmi les gènes compris dans la région du QTL, ceux qui sont exprimés dans des tissus « candidats » au phénotype (tissus impliqués principalement dans la reproduction ou dans le métabolisme, axe hypothalamo-hypophysaire, ovaires, thyroïde, tissu adipeux, surrénales...) par une approche de type CREA (Chromosome Region Expression Array). Les BACs couvrant cette région du QTL seront préparés et déposés sur des membranes. Ces travaux nous permettront de trouver des candidats « expressionnels » parmi les candidats positionnels.

La troisième étape sera consacrée à l'approvisionnement des animaux porteurs des haplotypes Fertil «-/-» et Fertil « +/+ » dans l'étable nouvellement construite à Nouzilly. En effet, afin de réaliser des études phénotypiques fines (mesure de la prise alimentaire, de la production laitière, de l'état corporel, étude de différents paramètres sanguins sans oublier des mesures du métabolisme et des observations du comportement social et sexuel) des femelles devront être identifiées. Ces animaux seront choisis sur la base des génotypes et des pedigrees en collaboration avec A. Malafosse et S. Fritz (UNCEIA).

Enfin, en dernière partie de ce projet, nous proposons d'étudier le rôle d'un système métabolique candidat dans les interactions métabolisme/reproduction. En effet, ces vaches laitières hautes productrices mobilisent très fortement leurs réserves énergétiques pendant le pic de lactation, ce qui peut conduire à des désordres métaboliques avec des répercussions non négligeables sur la fonction de reproduction. Plus précisément, une étude de certains composants de métabolisme glucidique et lipidique sera menée au niveau de l'axe gonadotrope (ovaire, hypophyse et hypothalamus) chez la vache. Les résultats de cette étude fourniront davantage d'informations qui permettront de mieux caractériser les animaux « Fertil -/- » et « Fertil +/+ » sur le QTL du chromosome 3 et de mieux comprendre les problèmes de fertilité des VLHPs. Ce projet est complémentaire de celui présenté par Patrice Humblot et Sébastien Fritz (UNCEIA) portant sur l'étude du polymorphisme de gènes candidats.

Mots-clés (5 maximum) :

Vache haute productrice, fertilité, lait, génétique

NOM et prénom du coordinateur de projet :

DUPONT Joëlle
Titre :CR1, INRA Nouzilly
Tel :02 47 42 77 89
Fax : 02 47 42 77 43
e-mail : jdupont@tours.inra.fr

Institution (Unité), Entreprise :

Adresse :Unité de Physiologie de la Reproduction et des Comportements, INRA 37380 Nouzilly

Nom du Directeur de l'unité: Danielle Monniaux

EQUIPES PARTENAIRES :

Equipe N°	Nom Prénom du correspondant principal par équipe	Titre ou grade, Appartenance	Directeur d'unité	Adresse
1	Dupont Joëlle	CR1 INRA	Danielle Monniaux	Unité Physiologie de la Reproduction et des Comportements , INRA 37 380 Nouzilly
2	Eggen André (non bénéficiaire de subvention)	DR2 INRA	Edmond Paul Cribiu	Laboratoire de Génétique biochimique et de Cytogénétique Domaine de Vilvert, INRA-CRJ 78350 Jouy-en-Josas
3	Faverdin Philippe (non bénéficiaire de subvention)	DR2 INRA	Jean-Louis Peyraud	INRA, UMR Production de lait 35 590 St-Gilles
4	Malafosse Alain (bénéficiaire de subvention en 2004)	Directeur Adjoint UNCEIA	Alain Malafosse	UNCEIA, 75 595 Paris cedex 12

I – FICHE D'IDENTITE DU PROJET

Acronyme du projet (*bref nom de 12 caractères au plus*) **GENIFER**

Champ thématique :

1.2 – Précision des phénotypes

2. - Recherche des déterminismes génétique et environnementaux de la variabilité de la fertilité / interactions génotype environnement

Projet : générique ; finalisé

Titre du projet

Mesures phénotypiques et étude du polymorphisme de gènes candidats du QTL de fertilité femelle du chromosome 3 en race Prim'Holstein

Coordinateur du projet (*Nom, prénom, fonction, organisme*)

Patrice Humblot, Direction Scientifique, Dpt R&D UNCEIA

Résumé du projet (*maximum 3000 caractères, en français et en anglais*)

(contextes socio-économique et scientifique, objectifs, programme des travaux, résultats attendus) :

Dans l'espèce bovine, plusieurs QTL en relation avec les données de reproduction ont été détectés avec les index officiels de fertilité basés sur l'utilisation des données de non retour après insémination collectées en routine au niveau national. Aujourd'hui, le programme de Sélection Assistée par Marqueurs (34000 bovins génotypés en 4 ans) a permis de mettre en évidence que le QTL du BTA03 était le principal QTL de Fertilité en race Prim'holstein.

Dans le cadre de GENANIMAL, un programme (CARTOFINE) visant à préciser la localisation de principaux QTLs bovins est en cours et a permis de réduire l'intervalle de localisation de ce QTL. Les génotypages des taureaux sur 159 SNP de cette petite région sont en cours et devraient aboutir à l'identification de mutation en association avec le QTL : ensemble de mutations candidates. Dans le même temps, à partir des informations collectées en routine, des analyses statistiques ont pu préciser que ce QTL est détecté à partir des taux de non retour à 90 jours indiquant que ses principaux effets interviennent entre 0 et 90 jours après l'insémination.

Des données acquises dans les conditions expérimentales et en ferme dans lesquelles on combine l'enregistrement des données de non retour, des sources de variation des résultats et les informations issues de dosages hormonaux réalisés à des moments critiques, montrent dans des dispositifs prévus pour analyser l'impact des facteurs d'environnement que les différences de fertilité se manifestent sur des événements distincts (Absence de fécondation, Mortalité embryonnaire précoce (MEP), Mortalité embryonnaire tardive (MET), avortements plus tardifs) dont le poids sur le taux de mise bas est inégal et sur lesquels l'impact respectif des effets génétiques et d'environnement est variable. Actuellement tous ces événements sont confondus dans la composante fertilité estimée à partir de la seule analyse des taux de non retour. Par exemple, l'absence d'identification des femelles inséminées à un mauvais moment du fait des variations liées à la détection des chaleurs représente une source de bruit de fond importante. Par ailleurs en se basant uniquement sur les taux de non retour, ce même "défaut" dans l'identification des périodes d'œstrus provoque un amalgame des situations dans l'estimation des fréquences des MEP et des MET qui résultent de processus physiopathologiques différents. L'ensemble de ces imprécisions rend difficile voire quasiment impossible l'identification et la validation du (ou des) gène(s) sous-jacent(s) au QTL à ce stade de connaissance (après cartographie fine).

Ce projet repose sur la mise en place d'un dispositif d'étude en ferme où la fertilité de groupes de filles de taureaux génotypés pour les mutations candidates du QTL sera suivie en combinant l'enregistrement des principales sources de variation liées à l'environnement et les données de dosages hormonaux permettant l'identification des échecs aux différents stades de gestation.

Résultats attendus : les informations récoltées permettront d'éviter les confusions éventuelles liées à des effets de facteurs génétiques et des facteurs d'environnement à différentes périodes. Ce programme est une suite logique au travail en cours de cartographie fine du QTL de fertilité du chromosome 3. De plus, l'ADN stocké et les informations collectées pourront être de nouveau utilisées pour étudier les mutations candidates d'autres QTL de fertilité (même si les travaux de cartographie fine de ces QTL sont moins avancés aujourd'hui).

Ce projet apparaît également comme indispensable aux études de génomique fonctionnelle ultérieures projetées pour connaître l'impact d'un tel QTL sur des événements de reproduction tels que la croissance folliculaire, l'expression des chaleurs, la maturation ovocytaire (suite OVOAGENAE) et/ou le développement embryonnaire précoce (prog Dupont). En effet, il permettra de caractériser le statut des animaux au QTL et également de mieux cibler les périodes où doivent être réalisées les études de génomique fonctionnelle.

Mots-clés (5 maximum) :

Bovins, QTL, Fertilité, Génétique, Environnement

NOM et prénom du coordinateur de projet :

HUMBLLOT Patrice

Titre : Directeur Scientifique

Tel : +33 1 43 53 51 10

Fax : +33 1 43 53 51 01

e-mail :patrice.humblot@unceia.fr

Institution (Unité), Entreprise :

UNCEIA Département Recherche Développement

Adresse :13 rue Jouët, 94703, Maisons Alfort Cedex

Nom du Directeur de l'unité ou du responsable dans l'entreprise : Maurice BARBEZANT

EQUIPES PARTENAIRES :

Equipe N°	Nom Prénom du correspondant principal par équipe	Titre ou grade, Appartenance	Directeur d'unité	Adresse
1	Humblot Patrice	DVM,HDR UNCEIA R&D	Maurice Barbezant	13 rue Jouët, 94703, Maisons Alfort Cedex
2	Mathieu Gautier	INRA LGBC	Eggen André	INRA, 78350, Jouy en Josas
3	Tom Druet	INRA SGQA	JP Bidanel	INRA, 78350, Jouy en Josas
4	Yves Amigues	LABOGENA	MY Boscher	78350, Jouy en Josas
5	Grimard Bénédicte	UMR 1198 INRA-ENVA	JP Renard	7 Avenue du Général de Gaulle 94703, Maisons Alfort

I – FICHE D'IDENTITE DU PROJET

Acronyme du projet : MAMMIFERT

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

Action de Recherche finalisée en Physio-pathologie

Projet : finalisé

Titre du projet

Utilisation des souris recombinantes congéniques pour le clonage positionnel rapide de QTL chez les mammifères : application aux QTL de fertilité chez la souris, le bœuf domestique et l'Homme.

Coordinateur du projet (*Nom, prénom, fonction, organisme*)

Vaiman Daniel, Directeur d'unité INSERM, organisme : INRA

Résumé du projet (*maximum 3000 caractères, en français et en anglais*)

(contextes socio-économique et scientifique, objectifs, programme des travaux, résultats attendus)

L'infertilité est un caractère agronomique d'importance, dans la mesure où les retours en chaleur des vaches laitières après insémination dépassent les 30%, ce qui implique un énorme coût économique à l'échelle nationale. Curieusement, le paramètre « reproduction » n'est pour le moment pas pris en compte dans les schémas de sélection. Cet état de fait résulte du peu d'information disponibles sur les gènes impliqués, et ceci toutes espèces de mammifères confondues. La minceur des connaissances disponibles provient (i) de la difficulté évidente d'obtenir des familles informatives, (ii) de la faible motivation médicale à comprendre l'étiologie des infertilités dans l'espèce humaine, dans la mesure où des réponses technologiques pallient efficacement les difficultés liées à la reproduction. Nous proposons de découvrir des gènes modulateurs de la fertilité en analysant 54 lignées interspécifiques (*Mus musculus* x *Mus spretus*) de souris recombinantes congéniques (RC). L'analyse des phénotypes de ces lignées permet instantanément de localiser subchromosomiquement des caractères biologiques complexes. Nous avons validé ce modèle par une analyse préliminaire de phénotypes de fertilité mâle sur 17 lignées. Nous proposons une extension de cette analyse à l'ensemble des lignées, au volet femelle, et à l'étude des enzymes de la glycosylation dans le contexte gonadique et gamétique (ces modifications post-traductionnelles pouvant en effet jouer un rôle déterminant dans l'interaction gamétique). Exploitant l'extrême richesse de bioinformation disponible dans l'espèce murine (richesse que nous compléterons expérimentalement par des approches transcriptomiques, par miniarrays et RT PCR en temps réel), nous escomptons identifier moléculairement les gènes sous-tendant la variabilité des phénotypes en une période très courte (inférieure à deux ans). Au cours de cette période et par la suite, nous validerons dans l'espèce bovine les régions QTL et les gènes identifiés chez la souris, par des approches combinant la cartographie comparée, le séquençage et l'analyse de l'expression de gènes candidats. Les gènes les plus amont dans les cascades physiologiques seront analysés plus finement par transgénése additive dans le modèle murin, dans l'idée d'aboutir à une meilleure compréhension des mécanismes impliqués. Enfin, pour les phénotypes humains semblables à ceux de la souris, l'analyse génétique de patients sera réalisée.

En conclusion, l'étude proposée est un premier pas vers l'introduction de nouveaux caractères d'intérêt dans les schémas de sélection bovine. Par ailleurs, elle contribuera à la compréhension d'une fonction biologique à l'heure actuelle peu élucidée chez les mammifères.

Infertility is a very relevant feature for breeding. This is illustrated by the high frequency (30%) of double inseminations required to obtain a gestation in dairy cattle, triggering a huge economical loss at the national scale. Surprisingly, reproductive traits are not taken into account today in animal selection schemes. This is due to the scarcity of available information about fertility genes, whatever the mammalian species considered. The fact that knowledge is rare comes from (i) the obvious difficulty in collecting informative families and (ii) the fact that in medicine, technological answers most generally resolve fertility concerns. In this project, we intend to discover fertility-modulating genes by analyzing a set of 54 recombinant congenic mouse strains originating from an interspecific cross (*Mus musculus* x *Mus spretus*). Phenotype analysis of these strains makes it possible to instantly map complex biological traits at the subchromosomal level. We validated this model by a preliminary study of male fertility phenotypes measured on 17 strains. We propose to extend this analysis to the complete set of 54 strains, to the female side, and to the study of glycosylation enzymes in the gonadic and gametic context (these post-translational modifications are known to play an important role in gametic interaction). Exploiting the huge bioinformation available for mice (information that we

will complement with experimental approaches involving transcriptomics and real-time PCR), we intend to identify genes sustaining the phenotypic variation of fertility in a very short period (less than two years). During this period, and after, we will validate the QTL regions and genes identified in the mouse model on the bovine species, by approaches combining comparative mapping, sequencing and expression analysis of candidate genes. Some genes presumably playing early roles in the cascade leading to an optimal fertility will be finely analyzed by creating transgenic mice. These mice, overexpressing relevant factors could help in the understanding of the biological grounds of mammalian fertility. Finally, infertile patients displaying phenotypes similar to relevant RC mice strains will be analyzed at the sequence level, for the genes identified in the mouse model.

In conclusion, the proposed study constitutes a first step towards introduction of new relevant traits in bovine selection schemes. More over, this study will contribute to a better comprehension of a poorly deciphered biological function in mammals.

Mots-clés (5 maximum) :

Fertilité, Ruminants, Souris Recombinantes Congéniques, Clonage positionnel, QTL

NOM et prénom du coordinateur de projet :
Vaiman Daniel, Directeur d'unité INSERM,
organisme : INRA

Titre : DR2
 Tel : 0143262826
 Fax : 0143264408
 e-mail : vaiman@cochin.inserm.fr

Institution (Unité), Entreprise :

U709 INSERM

Adresse :

Pavillon Baudelocque Hôpital Cochin, 123 Bd de Port-Royal, 75014 Paris

Nom du Directeur de l'unité ou du responsable dans l'entreprise :

Daniel Vaiman

EQUIPES PARTENAIRES :

Equipe N°	Nom Prénom du correspondant principal par équipe	Titre ou grade, Appartenance	Directeur d'unité	Adresse
1	Vaiman Daniel	DR2 INRA	Vaiman Daniel	Pavillon Baudelocque Hôpital Cochin, 123 Bd de Port-Royal, 75014 Paris
2	SERRES Catherine	MCU UNIV PARIS 5	P JOUANNET	Biologie de la Reproduction, Faculté Cochin , 24 rue du Fg St Jacques 75014 PARIS
3	Gautier Mathieu	CR2 INRA	Edmond P. Cribiu	LGBC, INRA 78350, Jouy-en-Josas
4	Xavier Montagutelli	Chef de Laboratoire, Institut Pasteur	PANTHIER Jean-Jacques	Unité postulante de Génétique fonctionnelle de la Souris, Institut Pasteur 25, rue du Dr Roux 75724 Paris cedex 15
5	Philippe Monget	DR2 INRA	Philippe Monget	UMR 6073 INRA/CNRS/Université de Tours, Nouzilly
6	Patrice Humblot	HDR, UNCEIA	M Barbezant	13 rue Jouet,94703, Maisons Alfort UNCEIA Jouy en Josas et UNCEIA Dépt R&D MaisonsAlfort
7	Abderrahman Mafta	PU	Hubert Levézuel	Unité de Génétique Moléculaire Animale UMR1061 ; INRA-Université de Limoges Faculté des Sciences et Techniques 123, Avenue Albert Thomas 87060 LIMOGES cedex
8	DRUET Tom	IR2, SGQA INRA		Station Génétique Quantitative et Appliquée SGQA-INRA, INRA Jouy-en-Josas

I – FICHE D'IDENTITE DU PROJET

Acronyme du projet : **QUALVIGENA**

Champ thématique : **PHYSIO-PATHOLOGIE**

Projet : générique ; **finalisé**

Titre du projet

DETECTION ET VALIDATION DE GENES IMPLIQUES DANS LES QUALITES DE LA VIANDE BOVINE DES TROIS PRINCIPALES RACES A VIANDE EN FRANCE (QUALVIGENA)

Coordinateur du projet (*Nom, prénom, fonction, organisme*)

MALAFOSSE Alain, Directeur Adjoint de l'UNCEIA

Résumé du projet (*maximum 3000 caractères, en français et en anglais*)

(contextes socio-économique et scientifique, objectifs, programme des travaux, résultats attendus) :

Pour regagner des parts de marché, les éleveurs de races à viande sont particulièrement concernés par l'évolution de la consommation de viande bovine qui dépend largement de l'adéquation entre la qualité de la viande et l'attente du consommateur. Pour cela la filière a choisi de privilégier la segmentation du marché en fonction de la qualité. Or les cahiers des charges ne font pas référence au potentiel génétique des animaux à fournir une viande de qualité car les méthodes de sélection classiques ne sont pas applicables faute de mesure des qualités pour évaluer la valeur génétique des animaux. La disponibilité de marqueurs moléculaires de gènes impliqués dans la variabilité génétique des qualités représente un atout majeur pour la filière en permettant d'orienter les animaux porteurs des allèles favorables vers des segments du marché où la qualité est valorisée. Cette nouvelle information pourrait être intégrée par les organismes de sélection pour améliorer le troupeau allaitant non seulement pour des caractères de production, mais aussi de qualité.

L'objet du présent projet est de constituer un puissant outil d'analyse du déterminisme génétique des qualités de la viande indispensable au développement de méthodes de sélection basées sur des informations moléculaires. En sus de la variabilité polygénique, le dispositif expérimental permettra de valider tout marqueur génétique découvert en France ou à l'étranger et d'entreprendre des recherches de nouveaux gènes candidats ou de régions hébergeant des QTL.

La constitution de cet outil repose sur les programmes de testage sur descendance des taureaux d'IA dans les trois races à viande spécialisées : Charolaise, Limousine et Blonde d'Aquitaine. En sus des aptitudes bouchères classiquement contrôlées, la composition de la carcasse, des caractéristiques musculaires et les qualités de la viande seront enregistrées pour 3764 taurillons issus de 126 pères. Le présent projet vient en complément d'un précédent projet (QUALVIGENE) qui portait sur 1712 taurillons. Les qualités de la viande sont mesurées par des jurys entraînés et sont complétées par des mesures physiques (force de cisaillement, chromatographie) ou biochimiques (lipides intramusculaires, collagène, calpastatine, taille des fibres musculaires).

En plus d'une base de données phénotypiques, ce projet comporte la constitution d'une banque d'ADN de tous les taurillons, de leur père et de leur mère. Le présent projet comporte la recherche de marqueurs polymorphes (SNP et microsatellites) dans une dizaine de nouveaux gènes candidats ou nouvelles régions, en sus de ceux que le projet précédent a déjà permis d'étudier (32 SNP et 12 microsatellites). Actuellement ces gènes et régions candidats sont ceux rapportés dans la littérature ou les brevets. Mais cet outil sera utilisable pour tout nouveau gène qui sera mis en évidence dans les programmes INRA *Mugène* (approche génomique fonctionnelle), *Vachotron* (approche QTL) et le programme Européen *GemQual* (approche gènes candidats). Cet outil permettra également, grâce à une approche protéomique de caractériser les profils protéiques des viandes tendres en opposition aux viandes dures.

L'analyse conjointe des données de qualité et des haplotypes trouvés dans les gènes candidats ou les régions étudiés, permettra de vérifier l'existence de QTL en ségrégation dans ces races, de quantifier l'effet de substitution et d'évaluer le degré de liaison utilisable pour une sélection sur marqueur moléculaire

Mots-clés (5 maximum) :

Viande bovine, Qualité, Polymorphisme, Déséquilibre de liaison, Protéomique.

NOM et prénom du coordinateur de projet :
MALAFOSSE Alain

Titre : Directeur Adjoint

Tel : +33 1 40 04 53 89

Fax : +33 1 40 04 53 79

e-mail : Alain.Malafosse@uncea.fr

Institution (Unité), Entreprise :
Union Nationale des Coopératives d'Élevage et d'Insémination Animale (UNCEIA)

Adresse : 149 rue de Bercy 75595 Paris CEDEX 12

Nom du Directeur de l'unité ou du responsable dans l'entreprise :
Maurice BARBEZANT

EQUIPES PARTENAIRES :

Equipe N°	Nom Prénom du correspondant principal par équipe	Titre ou grade, Appartenance	Directeur d'unité	Adresse
1 UNCEIA	MALAFOSSE Alain	Directeur Adjoint	BARBEZANT Maurice	149 rue de Bercy 755975 PARIS Cedex 12
2 INRA-SGQA	RENAND Gilles	DR2, Equipe : <i>Bovins à viande.</i>	BIDANEL Jean-Pierre	INRA Centre de Recherche de Jouy-en-Josas, SGQA, 78352 JOUY-en-JOSAS Cedex
3 UGMA	LEVEZIEL Hubert	DR2, Unité : <i>Gén. Mol. Anim.</i>	LEVEZIEL Hubert	Faculté des Sciences et Techniques, UGEMA, 123 avenue Albert Thomas, 87630 LIMOGES Cedex.1,65
4 INRA-URH	HOCQUETTE Jean-François	DR2, Equipe : <i>Croiss. Métabo. du Muscle</i>	COULOMB Jean-Baptiste	INRA Centre de Recherche de Theix, URH, 63122 StGenes Champanelle
5 INRA-QUAPA	LEPETIT Jacques	CR1, Equipe : Biophysique Muscle	RENOU Jena- Pierre	INRA Centre de Recherche de Theix, QuaPA, 63122 StGenes Champanelle
6 INRA-UMPE	ROUSSET Sylvie	IR2, Equipe : Métabo, Prot.Energ., Qualit.Sensorielle	BOIRIE Yves	Laboratoire de nutrition humaine, Unité de Métabolisme Protéino Energétique, 58 rue Montalembert, 63009 CLERMONT FERRAND Cedex 01
7 IE Service Qualité viande	DENOYELLE Christophe	Chef de projet, responsable du laboratoire.	LUCBERT Jacques	Laboratoire d'analyses et de technologies des viandes, Route d'Epinay VILLERS-BOCAGE
8 IE Service Sélection	JOURNAUX Laurent	Coordinateur génétique, Bovins allaitants	MOCQUOT Jean-Claude	INSTITUT DE L'ELEVAGE, 149 Rue de Bercy 75012 PARIS
9 UCEF	REVERSE Patrick	Directeur Technique.	VILLMAGNE Michel	UNION CENTRE EST FRANCE, Sourcieux, 42600 CHALAIN LE COMTAL
10 UCATRC	CHOPARD Luc	Directeur Technique.	LACROIX Maurice	UCATRC, Site de Marmilhat, BP 47, 63370 LEMPDES
11 MIDATEST	JACOB Hervé	Resp. Services Techniques.	BIAU Jacques	Midatest, Domaine du Perrier, BP1, 24140 MAURENS

I – FICHE D'IDENTITE DU PROJET

Acronyme du projet **QualViVol** (pour Qualité des Viandes de Volailles)

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

Projet : générique ; finalisé

Titre du projet

Approche de génomique fonctionnelle et positionnelle pour l'identification des gènes responsables des variations de qualité technologique des viandes chez le poulet.

Coordinateur du projet (*Nom, prénom, fonction, organisme*)

Le Loup Philippe, directeur de l'Institut Technique de l'Aviculture

Résumé du projet (*maximum 3000 caractères, en français et en anglais*)

(contextes socio-économique et scientifique, objectifs, programme des travaux, résultats attendus) :

Si la viande de volaille reste en France l'une des principales viandes consommées, on assiste aujourd'hui à une forte progression de la part des produits élaborés (découpes, jambons de volaille, etc.) au détriment des volailles consommées en carcasses entières. Ceci pose la question de l'adaptation de la viande à ces nouvelles formes d'utilisation et renforce l'importance de la qualité technologique. Celle-ci se définit comme l'aptitude de la viande à être conservée en cru ou transformée et fait intervenir de nombreux paramètres tels que le pouvoir de rétention en eau, la couleur ou la texture. Les fortes estimations d'héritabilités obtenues chez le Poulet ont montré que les caractéristiques physico-chimiques du muscle pouvaient être efficacement sélectionnées et influencer favorablement la couleur, le pouvoir de rétention en eau et la texture de la viande. Si ces résultats soulignent les possibilités offertes par la sélection pour améliorer la qualité, sa mise en œuvre est aujourd'hui freinée par la nécessité d'abattre les animaux pour estimer la qualité. Ceci implique des coûts de mesures importants et une diminution de l'efficacité de la sélection. Disposer de marqueurs moléculaires permettrait donc d'accroître les efforts de sélection sur la qualité de la viande.

Ce projet vise à identifier dans une population commerciale des QTLs de qualité de viande, en transposant les résultats obtenus sur des génotypes expérimentaux et en exploitant les nouvelles données d'expression de gènes obtenues par une approche de génomique fonctionnelle. Chez le poulet, les réserves musculaires en glycogène disponibles au moment de la mort (mesurées au travers du potentiel glycolytique ; PG) constituent un élément déterminant de la qualité technologique *via* leur effet sur le pH ultime. Nous avons obtenu dans une population commerciale de poulet standard une très forte corrélation génétique (-0,97) entre PG et pHu, ce dernier étant génétiquement fortement corrélé à plusieurs indicateurs de qualité des viandes (couleur, pouvoir de rétention en eau et texture). Nous souhaitons sur ce même dispositif commercial, pour lequel des prélèvements de muscle ont été réalisés, établir le profil d'expression des gènes dans le filet pour des groupes d'animaux à fort ou faible PG. Une démarche analogue sera réalisée sur un dispositif de croisement F2 entre des lignées expérimentales à faible ou fort engraissement abdominal, au sein duquel nous avons établi un lien entre engraissement et pH de la viande. Nous espérons ainsi élargir la liste de gènes potentiellement impliqués dans les différences de potentiel glycolytique et de critères de qualité. Pour cette première étape, nous utiliserons une approche globale basée sur l'usage de puces à ADN fournies par Agenae.

Dans une seconde étape, nous envisageons une étude plus approfondie pour une partie des gènes choisis en fonction des informations disponibles sur leur fonction et leur co-localisation éventuelle avec des régions chromosomiques impliquées dans les variations du pH ultime (étude QTL en cours au laboratoire). Nous réaliserons une mesure individuelle de l'expression de ces quelques gènes par RT-PCR en temps réel sur les animaux du dispositif F2 maigre/gras, par ailleurs génotypés pour 133 marqueurs microsatellites uniformément répartis sur le génome. La mise en relation des données de marqueurs moléculaires et des données d'expression de gènes différenciellement exprimés entre les animaux à fort ou faible PG nous permettra soit d'affiner les zones QTLs déjà suggérées par l'analyse du pHu soit d'en suggérer de nouvelles impliquées dans les variations de PG.

Ces différentes zones QTLs devront ensuite être validées au sein du génotype commercial afin d'apprécier l'intérêt réel en terme de sélection. Ceci sera fait sur un dispositif pedigree de 470 animaux déjà caractérisé pour le potentiel glycolytique et les mesures de qualité de viande associées et sur lesquels nous avons prélevé du sang et extrait l'ADN. Plus largement nous souhaitons également valider d'autres régions QTL obtenues sur des génotypes expérimentaux pour des caractéristiques également importantes en terme de qualité des viandes telles que la vitesse de chute du pH, la coloration et le pouvoir de rétention en eau.

Mots-clés (5 maximum) :

Gène, muscle, métabolisme, qualité, poulet

NOM et prénom du coordinateur de projet :
Le Loup Philippe

Titre : Directeur

Tel : 01.45.22.62.40

Fax : 01.43.87.46.13

e-mail : leloup@itavi.asso.fr

Institution (Unité), Entreprise :

Institut Technique de l'Aviculture

Adresse : 28, rue du Rocher 75008 Paris

Nom du Directeur de l'unité ou du responsable dans l'entreprise : Le Loup Philippe

EQUIPES PARTENAIRES :

Equipe N°	Nom Prénom du correspondant principal par équipe	Titre ou grade, Appartenance	Directeur d'unité	Adresse
1	CHAMPAGNE Jean	DT et DS	Philippe LE LOUP	ITAVI, 28 rue du Rocher, 75008 Paris
2	BERRI Cécile LE BIHAN-DUVAL Elisabeth	CR1 CR1	Yves NYS	INRA, Unité de Recherches Avicoles, 37380 Nouzilly
3	PITEL Frédérique	CR1	Philippe MULSANT	INRA, Laboratoire de Génétique Cellulaire, BP 27, Castanet-Tolosan Cédex
4	SANTE Véronique	IE	Jean-Pierre RENO	INRA, Unité Qualité des Produits Animaux, INRA, 63122 Saint-Genès-Champanelle
5	JEGO Yves	Directeur R et D	Stéphane DUTHOIT	HUBBARD S.A.S, B.P. 62144 « La Pohardière » 35221 Châteaubourg cédex

I – FICHE D'IDENTITE DU PROJET

Acronyme du projet (*bref nom de 12 caractères au plus*) **RESISAL**

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

Projet : générique ; finalisé

Titre du projet

Identification par génomique expressionnelle de facteurs de résistance au portage des salmonelles utilisables en sélection.

Coordinateur du projet (*Nom, prénom, fonction, organisme*)

Coudurier Bernard, Directeur, Syndicat des sélectionneurs Avicoles et Aquacoles Français

Résumé du projet (*maximum 3000 caractères, en français et en anglais*)

(contextes socio-économique et scientifique, objectifs, programme des travaux, résultats attendus) :

L'existence d'animaux porteurs asymptomatiques de salmonelles dans les élevages pose un problème majeur pour la sécurité alimentaire et la santé publique. Il est en effet très difficile de repérer puis d'éliminer ces animaux. Malgré d'importantes mesures de prévention dans les élevages et la vaccination de certains animaux, la salmonellose reste une des premières cause de toxi-infections alimentaires collectives dans les pays industrialisés. La sélection génétique d'animaux résistants au portage intestinal représente un moyen de lutte alternatif à l'utilisation controversée des antibiotiques contre la persistance des salmonelles dans les élevages.

Un modèle original d'infection expérimentale chez le poussin d'une semaine a été développé et l'importance de la génétique dans la résistance de l'hôte au portage des salmonelles démontrée. Des lignées de volailles consanguines présentant des différences phénotypiques importantes sur le caractère de portage intestinal de *Salmonella Enteritidis* ont de plus été identifiées. Si l'effet de gènes candidats et de plusieurs QTL a été montré sur la résistance, la majorité des gènes impliqués et des mécanismes de résistance demeurent cependant méconnus en particulier pour ce qui concerne le portage de *S. Enteritidis*. Il apparaît en particulier important d'obtenir une vision globale des grands mécanismes de la réponse immunitaire impliqués dans la résistance et pour lesquelles des résultats prometteurs ont déjà été obtenus.

L'objectif de ce projet est donc d'identifier par micro-array, au niveau des populations cellulaires, les gènes qui sont différemment exprimés entre les animaux sains et au cours du portage asymptomatique de *S. Enteritidis* (3 jours, 1, 2, 4 semaines post inoculation) puis d'identifier les gènes différemment exprimés chez des animaux sensibles et résistants au portage.

Selon une analyse globale du transcriptome, le présent projet se propose, dans une première étape, de détecter et d'identifier l'ensemble des gènes qui s'expriment de façon différentielle chez les différentes populations cellulaires purifiées à partir d'animaux infectés expérimentalement (Partenaires 2, 3, 4 et 7). Ceci pourra se faire par l'acquisition récente sur le centre INRA de Tours d'un trieur de cellules à haut débit (MoFlo, Dakocytomation) qui permettra la purification des lymphocytes, des hétérophiles et des entérocytes à partir des "tonsilles caecales" et d'une partie des caeca (site de portage) (partenaires 2 et 5). Dans une deuxième étape, la confrontation des résultats avec les données de génomique positionnelle permettra de déterminer des gènes cibles impliqués dans le mécanisme de résistance au portage, de rechercher des marqueurs polymorphes entre les deux phénotypes afin de pouvoir typer les animaux et évaluer ainsi la faisabilité d'une sélection génétique assistée par marqueurs (partenaires 1, 3, 4, et 6). Enfin, le rôle des gènes d'intérêts sera validé dans le modèle de lignées consanguines puis sur des lignées commerciales en cours de sélection vis-à-vis de la résistance et de la sensibilité à la salmonellose (partenaires 1, 2, 3, 5, 6 et 7)..

L'ensemble de ce travail contribuera à une meilleure connaissance des mécanismes de résistance génétique de l'hôte au portage des salmonelles, et à l'identification des gènes les plus importants pour la résistance au portage ce qui permettra de préciser les possibilités d'une sélection génétique assistée par marqueurs, chez le poulet et à terme chez d'autres espèces porteuses telles que le Canard.

Mots-clés (5 maximum) :

Salmonella, Enteritidis, sélection, puce ADN, portage asymptomatique, volaille

NOM et prénom du coordinateur du projet

:
Coudurier Bernard

Titre : directeur du SYSAAF

Tel : 02 47 42 78 46

Fax :

e-mail : bernard.coudurier @tours.inra.fr

Institution (Unité), Entreprise :

Syndicat des sélectionneurs avicoles et aquacoles Français

Adresse :

Centre INRA de Tours – Nouzilly 37380 Nouzilly

Nom du Directeur de l'unité ou du responsable dans l'entreprise :

Coudurier Bernard

EQUIPES PARTENAIRES :

Equipe N°	Nom Prénom du correspondant principal par équipe	Titre ou grade, Appartenance	Directeur d'unité	Adresse
1	Coudurier Bernard	director of SYSAAF	B. Coudurier	Syndicat des sélectionneurs avicoles et aquacoles Français Centre INRA de Tours – Nouzilly 37380 Nouzilly
2	VELGE Philippe	CR1	Jean De Rycke	INRA-Tours Nouzilly, U918 Pathologie Infectieuse et Immunologie, 37380 Nouzilly
3	BEAUMONT Catherine	DR2	Y. Nys	INRA-Tours Nouzilly, Station de Recherches Avicoles 37380 Nouzilly
4	DOUAIRE Madeleine	DR2	C. Diot	INRA, UMR, ENSA Genet Anim, 65 Rue St Brieuc, CS 84215, F- 35042 Rennes
5	KERBOEUF Dominique	DR2	JF Vautherot	INRA-Tours Nouzilly, Lab bioagresseur, santé, environnement, 37380 Nouzilly
6	Pitel Frederique	CR1	P. Mulsant	INRA de Toulouse, lab. de génétique cellulaire BP 52627 Castanet-tolozan cedex
7	BESNARD Joel	IR	Besnard Joël	Unité Expérimentale Avicole 37380 Nouzilly

I – FICHE D'IDENTITE DU PROJET

Acronyme du projet (*bref nom de 12 caractères au plus*)

GFAT (**G**énomique **F**onctionnelle de l'**A**diposité chez la **T**ruite)

Champ thématique (*selon la classification de l'Appel à Projets*) : **Biologie intégrative – Déterminisme génétiques de fonctions physiologiques essentielles pour l'animal.**

Projet : **générique**

Titre du projet

Génomique fonctionnelle de l'adiposité chez la truite d'élevage

Coordinateur du projet (*Nom, prénom, fonction, organisme*)

Babin Patrick, Professeur, Université Bordeaux 1

Résumé du projet (*maximum 3000 caractères, en français et en anglais*)

(contextes socio-économique et scientifique, objectifs, programme des travaux, résultats attendus) :

La stérilisation de la truite arc-en-ciel d'élevage par triploïdisation du génome est une technique employée de façon industrielle qui permet d'obtenir une qualité de chair constante toute l'année en particulier pour les animaux de grande taille destinés à la transformation en produits élaborés. Cependant cette triploïdisation semble induire un dépôt de graisse autour des viscères bien plus important que chez les animaux diploïdes, diminuant les rendements de transformation et de ce fait la rentabilité de la première filière de pisciculture continentale française.

Le but des travaux engagés dans le cadre de ce projet consiste à comparer les effets de l'état de ploïdie du génome et de la quantité de lipides de l'aliment sur le transcriptome des gènes lipidiques et les paramètres biochimiques de ce métabolisme au cours de la période correspondant au cycle de reproduction de la truite diploïde d'élevage.

Une expérimentation a été initiée au début 2003 au sein de la société Viviers de France afin d'élever jusqu'à l'âge de trois ans des truites diploïdes mono sexe femelle et des triploïdes issues de deux géniteurs communs afin de minimiser la variabilité génétique entre les descendants. Chaque lot de truite a ensuite été divisé en deux afin de comparer deux aliments respectivement à 23% et 29% en lipides sur les paramètres étudiés. Les prélèvements biologiques ont été réalisés en particulier au cours de la période correspondant au premier cycle de reproduction des diploïdes et le seront également lors de leur second cycle de reproduction. Les données zootechniques obtenus au cours du premier cycle de reproduction ont montré une différence extrêmement significative de l'adiposité péri-viscérale entre les triploïdes et les diploïdes au cours de la période qui correspond à la fin de l'ovogenèse des femelles diploïdes. Ce résultat devra être confirmé au cours du second cycle de reproduction.

Le programme des travaux consiste à comparer, en fonction de l'état de ploïdie du génome et de la quantité de lipides de l'aliment, l'état du transcriptome lipidique du tissu adipeux péri-viscéral et du foie. Une analyse post-génomique sera réalisée sur nombre limité de gènes pouvant être régulés de façon post-transcriptionnelle. Le contenu quantitatif et qualitatif en lipides et en acide gras du tissu adipeux péri-viscéral, du foie, du muscle et de œufs des animaux sera déterminé et mis en rapport avec les données zootechniques et génomiques.

Des données de génomique fonctionnelle du métabolisme lipidique de la truite ont été récemment obtenues par l'équipe GPP (UMR NUAGE, Université Bordeaux 1) qui coordonne ce projet grâce à l'utilisation de la méthode « Serial Analysis of Gene Expression » (SAGE) (programme AGENAE ; Knoll-Gellida *et al.*, en préparation) en prenant appui sur les données issues du séquençage massif d'ESTs réalisé dans le cadre du programme AGENAE. En utilisant ces résultats et ceux récemment publiés pour le transcriptome du tissu adipeux de mammifère, une puce ADN thématique du métabolisme lipidique de la truite sera utilisée afin d'effectuer la comparaison de l'état du transcriptome entre les quatre lots d'animaux (diploïde-triploïde-aliment riche en lipide ou non) en

particulier au moment du cycle de reproduction ou la différence d'adiposité péri-viscérale est la plus marquée. L'expression différentielle sera validée par la quantification en PCR en temps réel des gènes cibles différentiellement exprimés. Ces travaux de génomique seront effectués par l'équipe GPP. L'analyse du contenu en lipides et en acide gras du tissu adipeux ainsi que du dosage de certaines activités enzymatiques ou anti-oxydantes caractéristiques du tissu adipeux, du foie, du muscle et des œufs seront réalisées par l'équipe Nutrition, Métabolisme, Aquaculture (UMR NUAGE, INRA St Pée sur Nivelle) et corrélée à l'expression différentielle des gènes du métabolisme lipidique. Les résultats permettront d'identifier les gènes ou les réseaux géniques et les modifications biochimiques concomitantes qui sont régulés au cours des phases de dépôt et de mobilisation des réserves lipidiques de la truite. Une meilleure connaissance de la régulation de l'adiposité péri-viscérale est le pré requis à des conditions d'alimentation et de sélection optimisées pour une réduction des dépôts lipidiques péri-viscéraux non commercialisables.

Mots-clés (5 maximum) :

truite – triploïde – tissu adipeux – génomique fonctionnelle – lipides

NOM et prénom du coordinateur de projet :
Babin Patrick

Titre : Professeur

Tel : 05 40 00 87 76

Fax : 05 40 00 89 15

e-mail : p.babin@gpp.u-bordeaux1.fr

Institution (Unité), Entreprise :
Génomique et Physiologie des Poissons (GPP),
UMR NUAGE INRA-IFREMER

Adresse : Université Bordeaux 1
Avenue des facultés, Bât. B2, 33405 Talence cedex

Nom du Directeur de l'unité ou du responsable dans l'entreprise :

responsable GPP : P. Babin

Directeur UMR NuAGE : S. Kaushik

EQUIPES PARTENAIRES :

Equipe N°	Nom Prénom du correspondant principal par équipe	Titre ou grade, Appartenance	Directeur d'unité	Adresse
1	Babin Patrick	Professeur	S. Kaushik	UMR NuAGe, GPP Université Bordeaux 1
2	Corraze Geneviève	CR1 INRA	S. Kaushik	UMR NuAGe, INRA, Station d'Hydrobiologie, 64310 St Pée/Nivelle

I – FICHE D'IDENTITE DU PROJET

Acronyme du projet (*bref nom de 12 caractères au plus*) **Vecteur shRNA**

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

Projet : **X générique**

Titre du projet

Mise au point de vecteurs permettant une expression fiable de gènes codant pour des ARN interférents et des microARN

Coordinateur du projet (*Nom, prénom, fonction, organisme*)

LE PROVOST Fabienne, CR1, INRA

Résumé du projet (*maximum 3000 caractères, en français et en anglais*)

(contextes socio-économique et scientifique, objectifs, programme des travaux, résultats attendus) :

Des études récentes ont montré que les petits ARN double brin de 21-23 pb appelés ARN interférents (siRNA) activent un système cellulaire qui induit une destruction sélective des ARN ayant une séquence exactement complémentaire. Les microARN (miRNA) sont des petits ARN codés par les génomes et qui inhibent spécifiquement la traduction des ARNm en formant des hybrides imparfaits avec la région 3'UTR. Les miRNA exercent par ailleurs un effet de type siRNA lorsqu'ils forment des hybrides parfaits avec leurs ARNm cibles. Les siRNA et miRNA regroupés sous le nom de petits ARN formant des boucles en épingles à cheveux (shRNA) peuvent donc être exploités pour inhiber spécifiquement l'expression de gènes cellulaires ou viraux au niveau de leurs ARNm. Ces propriétés des shRNA sont exploitées de manière systématique chez des invertébrés modèles ainsi que chez les végétaux pour étudier les fonctions des gènes et pour créer des lignées de plantes résistantes à des virus. Ces opérations globalement appelées knockdown par analogie avec le knockout des gènes ne peuvent devenir effectives chez les animaux transgéniques que si les gènes codant pour les shRNA sont exprimés de manière appropriée à l'état de transgènes. En effet, les vecteurs existants permettant l'expression des shRNA sont basés sur l'action de promoteurs de type RNA polymérase III qui sont actifs dans des cellules transfectées ainsi que dans des clones cellulaires stables mais non chez les animaux vertébrés transgéniques. D'autre part, l'introduction de tels vecteurs dans des lentivirus ne permet pas un contrôle tissulaire de leur expression. L'utilisation de longs ARNs double brin induit par ailleurs des interférons cytotoxiques.

Ce projet se propose de définir des vecteurs permettant une expression fiable et contrôlée des gènes codant pour des shRNA (siRNA et miRNA) chez les animaux transgéniques. Les modèles utilisés pour cette étude sont des cellules en culture ainsi que des souris et des lapins transgéniques. Les gènes ciblés sont 1°) le gène Prnp allèle VRQ du mouton impliqué dans la survenue de scrapie ; 2°) le gène IE du virus responsable de la maladie d'Aujeszky chez le porc ; 3°) le génome du virus de la septicémie hémorragique du lapin (RHDV). Des siRNA capables d'inhiber leurs gènes cibles ont été définis dans les 3 laboratoires à l'aide de cellules transfectées par des vecteurs contenant des promoteurs de type RNA polymérase III. La transposition aux animaux transgéniques dépend donc de la mise au point de vecteurs d'expression appropriés.

Mots-clés (5 maximum) :

Interférence aux ARN, microARN, transgénése, vecteurs

NOM et prénom du coordinateur de projet :
LE PROVOST Fabienne

Titre : Chargée de Recherches 1^{ère} classe

Tel : 01 34 65 25 69

Fax : 01 34 65 24 78

e-mail : Fabienne.LeProvost@jouy.inra.fr

Institution (Unité), Entreprise :

Laboratoire de Génétique biochimique et Cytogénétique
INRA

Adresse :

Batiment 440

Domaine de Vilvert

78 350 Jouy-en-Josas

Nom du Directeur de l'unité Edmond Paul CRIBIU

EQUIPES PARTENAIRES :

Equipe N°	Nom Prénom du correspondant principal par équipe	Titre ou grade, Appartenance	Directeur d'unité	Adresse
1	LE PROVOST Fabienne	CR1	Edmond-Paul CRIBIU	Laboratoire de Génétique biochimique et Cytogénétique INRA, Bat 440, Domaine de Vilvert, 78 350 Jouy-en-Josas
2	HOUDEBINE Louis- Marie	DR1	Jean-Paul RENARD	Laboratoire de Biologie du Développement et Reproduction, INRA, Bat 440, Domaine de Vilvert, 78 350 Jouy-en-Josas
3	LAUDE Hubert	DR1	Abdenour BENMANSOU R	Laboratoire de Virologie et Immunologie Moléculaire INRA, Bat 440, Domaine de Vilvert, 78 350 Jouy-en-Josas

I – FICHE D'IDENTITE DU PROJET

Acronyme du projet (*bref nom de 12 caractères au plus*) **GenOvul**

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

Projet : **générique** ; **finalisé**

Titre du projet

Exploitation de la variabilité génétique intra et inter-espèces pour l'étude du déterminisme génétique du taux d'ovulation

Coordinateur du projet (*Nom, prénom, fonction, organisme*)

Philippe MULSANT, CR1 INRA

Résumé du projet (*maximum 3000 caractères, en français et en anglais*)

(contextes socio-économique et scientifique, objectifs, programme des travaux, résultats attendus) :

Chez les mammifères, la folliculogénèse ovarienne qui conduit à l'ovulation d'oocytes matures est un processus long et complexe régulé à différents niveaux. Les mécanismes qui sous-tendent la sélection d'un ou plusieurs follicules dominants ainsi que la régulation du nombre de follicules ovulatoires sont très mal connus. Une possibilité pour explorer ces mécanismes est d'étudier le déterminisme génétique du taux d'ovulation et sa variabilité, au sein d'une même espèce et entre espèces.

Dans ce projet, nous proposons d'étudier le déterminisme génétique qui sous-tend la différence de taux d'ovulation entre des races différentes d'une même espèce (mouton) et entre différentes espèces (bovins et porcins).

Nous proposons d'abord d'étudier le déterminisme génétique associé à la variabilité du taux d'ovulation chez la brebis en utilisant deux modèles génétiques présentant une augmentation du taux d'ovulation : Booroola et Lacaune. Dans le modèle Booroola, la mutation causale, responsable de l'hyperprolificité, a été identifiée dans le récepteur *BMPR-1B*. Nous proposons ici d'identifier les cibles de *BMPR-1B* en comparant le transcriptome de cellules de la granulosa provenant de brebis porteuses ou non de la mutation, en présence ou en absence de *BMP4* (ligand de *BMPR-1B*). Ces expériences vont nous permettre de mieux comprendre le mécanisme par lequel le taux d'ovulation est augmenté par cette mutation. Dans le modèle Lacaune, la présence d'un gène majeur au sein d'une région chromosomique de 2 Mb du chromosome 11 a été identifiée, mais aucune donnée n'est disponible ni sur le fonctionnement de l'axe hypothalamus-hypophyse-ovaire, ni sur les mécanismes qui sous-tendent l'augmentation du nombre de follicules ovulatoires. Pour explorer ce fonctionnement et ces mécanismes, nous allons d'abord recueillir des informations sur les profils endocrinologiques de ces animaux en mesurant les taux d'oestradiol, de progestérone, de FSH et de LH à différents stades du cycle sexuel, chez des animaux de type sauvages ou homozygotes pour la mutation. Ensuite, nous identifierons, parmi les gènes présents dans cette région de 2 MB, ceux qui sont exprimés dans l'un des trois principaux compartiments impliqués dans la fonction de reproduction chez la femelle : hypothalamus, hypophyse et follicules ovariens. Puis, nous séquencerons les gènes candidats expressionnels, qui sont aussi positionnels, chez des animaux porteurs homozygotes ou non porteurs pour identifier la mutation causale. Nous comparerons les réponses à *BMP-4*, en terme de sécrétion de progestérone, des cellules de granulosa de brebis porteuses ou non. Enfin, nous générerons des animaux porteurs d'une ou plusieurs mutations, afin de tester l'additivité des effets de ces mutations.

Dans la deuxième partie de ce projet, nous allons comparer le transcriptome de follicules ovariens de porcins et de bovins car le déroulement de leur folliculogénèse et leur taux d'ovulation sont très différents. Nous savons déjà que les patrons d'expression de certains gènes bien connus sont très semblables (*LH-R*, *aromatase*, *PAPP-A*, *IGF BP2*, ...) ou au contraire différent fortement (*IGF-I*, *IGFBP-5*, *IGF type II*) entre ces deux espèces pendant les phases de croissance ou d'atrésie. Nous proposons de réaliser une analyse systématique, sinon exhaustive, de l'expression des gènes au niveau du transcriptome pendant la croissance folliculaire et l'atrésie dans ces deux espèces. La comparaison des résultats obtenus dans l'une et l'autre espèce nous permettra d'identifier les gènes

dont les profils d'expression sont semblables ou au contraire différents ; les premiers correspondent probablement à des fonctions fortement conservées, et les seconds sont sans doute impliqués dans des mécanismes responsables, au moins en partie, des différences de folliculogenèse entre ces deux espèces. De plus, cette comparaison nous permettra de tester différentes hypothèses comme celle d'une contribution différente du système de signalisation BMP dans les espèces mono- versus poly-ovulantes. Enfin, cette approche apportera de nouvelles informations sur la régulation de l'expression des gènes pendant la croissance folliculaire et l'atrésie et ouvrira la voie à de futures études sur les promoteurs de ces gènes.

Mots-clés (5 maximum) :

Ovulation, génétique, variabilité, espèces, races

NOM et prénom du coordinateur de projet :
Philippe MULSANT

Titre : CR1 INRA

Tel : 05 61 28 51 14

Fax : 05 61 28 53 08

e-mail : mulsant@toulouse.inra.fr

Institution (Unité), Entreprise :

Adresse : INRA, Laboratoire de Génétique cellulaire
Auzeville BP 27
31326 Castanet Tolosan

Nom du Directeur de l'unité ou du responsable dans l'entreprise : Philippe MULSANT

EQUIPES PARTENAIRES :

Equipe N°	Nom Prénom du correspondant principal par équipe	Titre ou grade, Appartenance	Directeur d'unité	Adresse
1	Mulsant Philippe	CR1	Philippe Mulsant	INRA LGC 31326 Castanet
2	Monget Philippe	DR2	Danielle Monniaux	INRA PRC 37380 Nouzilly
3	Bodin Loys	IR1	Edouardo Manfredi	INRA SAGA 31326 Castanet-Tolosan

I - FICHE D'IDENTITE DU PROJET

Acronyme du projet (*bref nom de 12 caractères au plus*) : **CHRONOBOS**

Champ thématique (*selon la classification de l'Appel à Projets*) : **Génomique et approches innovantes**

Projet : générique

Titre du projet

Domestication et diversité génomique (SNPs) actuelle et ancienne : Application au bœuf et aux petits ruminants

Coordinateur du projet (*Nom, prénom, fonction, organisme*)

HUGHES, SANDRINE, CR2 CNRS

Résumé du projet (*maximum 3000 caractères, en français et en anglais*)

(contextes socio-économique et scientifique, objectifs, programme des travaux, résultats attendus) :

La diversité génétique d'une espèce conditionne la potentialité de sélectionner dans le futur des races selon des impératifs encore inconnus, par exemple la résistance à des maladies encore non déclarées. Il est donc important pour l'avenir de connaître la diversité actuelle afin de mieux la protéger dans le futur et de la maintenir à un niveau élevé. Si la diversité génétique de la plupart des mammifères domestiques actuels (à l'exception du mouton) est relativement bien connue en ce qui concerne l'ADN mitochondrial, elle l'est beaucoup moins du côté du génome nucléaire puisque pratiquement seuls des marqueurs neutres (microsatellites) ont été analysés.

Dans un premier temps, notre projet vise donc à identifier plusieurs marqueurs nucléaires variables selon les races bovines, c'est-à-dire potentiellement sélectionnés selon des critères phénotypiques ou de résistance, nous permettant d'avoir une meilleure image de la diversité génomique. Ainsi, plus d'une douzaine de gènes candidats seront séquencés sur un large échantillonnage de bovins, incluant notamment des races rustiques, afin de mettre en évidence des SNP diagnostiques. Ceci sera également appliqué aux moutons et aux chèvres dans un but comparatif.

Dans un second temps, nous proposons une approche innovante : utiliser la paléogénétique pour tenter d'évaluer la diversité passée des espèces domestiques à la fois dans le temps et l'espace, notamment depuis les débuts de la domestication au Proche-Orient il y a 11 000 ans jusqu'à sa diffusion en Europe au Néolithique par les voies danubienne et méditerranéenne, voir africaine pour le boeuf. L'approche paléogénétique a une plus grande chance d'aboutir quand le nombre de copies de l'ADN analysé est élevé, comme c'est le cas pour l'ADN mitochondrial. Pour cette raison, nous commencerons par compléter les études de la diversité mitochondriale déjà réalisées chez les bovins et initiés chez les petits ruminants. Cette étude nous permettra d'identifier des échantillons dont l'ADN est relativement bien conservé, et donc de regarder ensuite la diversité nucléaire présente chez ces espèces par le biais des marqueurs nouvellement déterminés (SNP). Cette approche de paléogénétique s'effectuera en étroite collaboration avec des archéozoologues, puisqu'elle nécessite de travailler sur des fossiles clairement déterminés (individus sauvages ou domestiques) et sur des sites archéologiques pertinents pour la question posée.

Ces deux approches, la production de données génétiques modernes et anciennes, seront complétées par une approche paléo-parasitologique visant le suivi des parasites inféodés aux trois espèces domestiques étudiées (bœuf, chèvre, mouton) sur les deux voies de diffusion, afin de corrélérer une éventuelle diminution de la diversité génétique à une exposition des populations domestiques à ces parasites durant ce processus.

L'objectif de ce projet est donc d'améliorer nos connaissances de la diversité des espèces domestiques afin qu'elle puisse être mieux prise en compte pour la conservation et la sélection de nouvelles races. Ce projet propose pour cela une approche innovante et très interdisciplinaire basée sur la complémentarité de 4 équipes spécialisées en génétique des populations actuelles, paléogénétique et archéozoologie.

Mots-clés (5 maximum) :

Paléogénétique, Domestication, Diversité, Marqueurs SNP nucléaires, Boeuf

Abstract (maximum 3000 caractères, en anglais)

(contextes socio-économique et scientifique, objectifs, programme des travaux, résultats attendus) :

The genetic diversity of domestic species determines the potential of a future selection of breeds capable of responding to new challenges, e.g., to resist to yet unknown diseases. Thus, it is important to know the diversity of extant species to better protect it in the future and to maintain it at a high level. If the genetic diversity of mitochondrial DNA for the majority of extant domestic mammals is relatively well known (with the exception of the sheep), our knowledge of the nuclear genome diversity is poor. So far, only neutral markers (microsatellites) have been analysed.

Our project aims in the first place at the identification of nuclear markers that vary in different extant cattle breeds, i.e., markers that were presumably selected to satisfy phenotypical criteria or needs of resistance. This will allow us to get a better view of the genomic diversity. To identify diagnostic small nuclear polymorphisms (SNPs), more than a dozen of candidate genes will be sequenced in a large bovine sampling including rustic breeds. For comparative reasons, this approach will also be applied to sheep and goats.

Secondly, we propose an innovative approach: We will use palaeogenetics to evaluate the ancient diversity of domestic species at a large time and space scale, i.e., from the beginning of domestication in the Near East 11,000 years ago to the diffusion of the domesticates in Europe during Neolithic times via the Danubian and Mediterranean route, as well as in Africa in the case of cattle. Since the analysis of DNA extracts from fossils has a higher yield when genetic loci with a high copy number are analysed, as it is the case for mitochondrial DNA, we will first complete the studies of the mitochondrial diversity that are underway for cattle and initiated for the small ruminants. This study will allow us to identify fossil samples in which DNA is well preserved that will then be used to analyse the nuclear diversity at the level of newly determined markers (SNPs). This paleogenetic approach will be developed in close collaboration with archaeozoologists since it is necessary to analyse specimens where the distinction between wild and domestic is unambiguously established. Moreover, the fossil samples have to come from archaeological sites that are relevant for the question studied.

These two approaches, the production of modern as well as ancient genetic data, will be complemented by a palaeoparasitological approach that aims at tracking back on their migration routes the specific parasites of the three analysed domestic species (cattle, goat and sheep). This shall reveal an eventual genetic diversity of variable resistance to parasites in different geographical regions.

The overall goal of the project is an improvement of our knowledge about the biodiversity of domestic species and of the way how it should be managed in the coming years to preserve the genetic potential for the selection of new breeds.

This project presents an innovative and very interdisciplinary approach based on the complementarity of four research groups that are specialised in population genetics of extant populations, in palaeogenetics and archaeozoology.

Key-words (maximum 5) :

Paleogenetic, Domestication, Diversity, Nuclear SNP markers, Cattle

NOM et prénom du coordinateur de projet :

HUGHES SANDRINE

Titre : CR2

Tel : 04 72 43 29 48

Fax : 04 72 44 05 55

e-mail : hughes@biomserv.univ-lyon1.fr

Institution (Unité), Entreprise :

Laboratoire de Biologie Moléculaire de la Cellule, CNRS
UMR 5161 - INRA LA 1237

Adresse : Ecole Normale Supérieure de Lyon, 46 Allée
d'Italie 69364 Lyon Cedex 07

**Nom du Directeur de l'unité ou du responsable dans
l'entreprise :** ERIC GILSON