HAL
open science

Les QTL protéiques : un outil de compréhension de la qualité du foie gras ?

Yoannah François, Caroline Molette, Alain Vignal, Stephane Davail, Christel C. Marie-Etancelin

To cite this version:

Yoannah François, Caroline Molette, Alain Vignal, Stephane Davail, Christel C. Marie-Etancelin. Les QTL protéiques : un outil de compréhension de la qualité du foie gras ?. 11. Journées de la Recherche Avicole et des Palmipèdes à Foie Gras, Mar 2015, Tours, France. 1241 p. hal-02738993

HAL Id: hal-02738993

https://hal.inrae.fr/hal-02738993v1

Submitted on 2 Jun 2020

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

LES QTL PROTEIQUES : UN OUTIL DE COMPREHENSION DE LA QUALITE DU FOIE GRAS ?

François Yoannah[1,2,3,4], Molette Caroline[2,1,3], Vignal Alain[1,2,3], Stéphane Davail[4], Marie-Etancelin Christel[1,2,3*]

[1] *INRA, GenPhySE - 31326 Castanet-Tolosan*
[2] *Université de Toulouse, INP, ENSAT, GenPhySE - 31326 Castanet-Tolosan*
[3] *Université de Toulouse, INP, ENVT, GenPhySE - 31076 Toulouse*
[4] *Université de Pau et des Pays de l'Adour, IPREM-EEM - 40004 Mont de Marsan*

cmarie@toulouse.inra.fr

RÉSUMÉ
Grâce à une carte génétique composée de 354 marqueurs et à un dispositif expérimental en croisement de canards communs, nous avons pu localiser 8 QTL relatifs à des caractères de qualité du foie gras et 43 QTL relatifs à des abondances de protéines solubles (pQTL) quantifiées à partir d'électrophorèses bidimensionnelles. Certaines protéines telles que l'alpha-énolase (ENO1), la phosphoglycérate mutase ou la péroxirédoxine 3 présentent jusqu'à 3 QTL. Pour les pQTL et les QTL de qualité du foie co-localisant en un point du génome, une détection de QTL bi-caractères a été réalisée. Deux loci supposés pléiotropiques ont été identifiés : l'un sur le chromosome APL15 impactant à la fois le taux de fonte du foie et les protéines CCT7 et ENO1 impliquées dans le processus glycolytique, et l'autre sur le chromosome APL23 concernant les taux globaux de protéines et de lipides du foie ainsi que les protéines FABP7 et PDIA7. Cette approche originale permet donc d'identifier des voies métaboliques sous-jacentes à des caractères de qualité du foie gras qui sont génétiquement déterminés.

ABSTRACT
The QTL of proteins: a tool for understanding the fatty liver's quality?
Thanks to a genetic map consisting of 354 markers and an experimental design based on crossbred common ducks, we localized 8 QTL related to the quality traits of fatty liver's and 43 QTL related to the abundances of soluble proteins (pQTL) quantified from two-dimensional electrophoresis. Some proteins such as alpha-enolase (ENO1), phosphoglycerate mutase or peroxiredoxin 3 have up to 3 QTL. For pQTL and quality liver QTL co-locating at the same point in the genome, a two-trait QTL detection was performed. Two loci suspected to be pleiotropic were identified: one on chromosome APL15 impacting both the liver melting rate and ENO1 and CCT7 proteins involved in the glycolytic process, and the other on chromosome APL23 impacting the rates of protein and fat in the liver as well as FABP7 and PDIA7 proteins. This unique approach allows us to identify some underlying metabolic pathways of liver quality traits that are genetically regulated.

INTRODUCTION

Aujourd'hui, la qualité technologique et physico-chimique du foie gras est l'un des principaux caractères que la filière des palmipèdes gras souhaite améliorer. Afin d'apporter des éléments de compréhension des mécanismes qui sous-tendent cette qualité, des programmes de recherches explorant le déterminisme de la qualité des foies gras, tant pour des aspects physiologiques que génétiques (Théron *et al.*, 2013), ont été mis en œuvre. Ainsi, l'existence d'un déterminisme génétique du taux de fonte a été démontré (Marie-Etancelin *et al.*, 2011) et des zones du génome du canard impactant la qualité (QTL) ont été identifiées (Kileh-Wais *et al.*, 2013). Nous avons souhaité ensuite disséquer les voies métaboliques sous-jacentes à ces QTL de qualité du foie gras au travers de détections de QTL d'abondances de protéines. Holdt *et al.* (2013) ont en effet montré chez la souris que la co-localisation de QTL de protéines et de QTL de caractères d'intérêt aidait à identifier les mécanismes biologiques de ces caractères.
Cet article présente les résultats des détections de QTL de qualité du foie gras de canard et d'abondances protéiques du foie, ainsi que les voies métaboliques mises en évidence par l'étude conjointe de ces 2 familles de QTL.

1. MATERIELS ET METHODES

1.1. Animaux

Le dispositif animal est un croisement retour (BC) de canards communs réalisé à l'Unité Expérimentale des Palmipèdes à Foie Gras (INRA-UEPFG) par insémination de canes communes (INRA 444) avec de la semence de 3 canards communs F1 (INRA 444 x INRA 37). Cette sous-partie d'un dispositif de plus grande envergure (Kileh-Wais *et al.*, 2013) se compose de 98 canes BC, qui, produites sur 2 années successives et accouplées à 22 mâles de Barbarie, ont donné naissance en 2 lots d'éclosion à 294 mâles mulards, soit exactement 3 canards mulards par mère BC. Les mulards ont été élevés en groupe, gavés en logements collectifs, puis abattus et éviscérés à froid sur place. Les prélèvements de foie pour l'analyse protéomique ont été effectués 20 min *post-mortem*.

1.2. Phénotypes

Les foies gras de chacun des 294 mulards ont été phénotypés pour :
- 8 caractères de qualité du foie gras, soit le poids du foie gras, le taux de fonte (apprécié par stérilisation de 60g de foie), les teneurs en lipides et protéines estimées sur matière sèche, le taux de collagène et les critères trichromatiques c'est-à-dire la luminance du foie et les indices de couleurs rouge et jaune.
- 326 caractères d'abondance de protéines solubles des foies obtenus à l'aide d'électrophorèses bidimensionnelles (figure 1) dont les spots ont été quantifiés à l'aide du logiciel Samespot® (TotalLab Ltd, UK) et identifiés par spectrométrie de masse à la Plateforme INRA-PFEM de Theix.

1.3. Carte génétique

La population commune, *i.e.* les 98 canes BC et leurs 29 ascendants, a été génotypée à l'aide d'un jeu de 354 marqueurs (299 SNP et 55 microsatellites) répartis en 28 groupes de liaisons positionnés sur 28 chromosomes différents du canard commun (*Anas Platyrhynchos* -APL).

1.4. Analyses statistiques

Les détections de QTL ont été réalisées dans la population de canes communes (3 familles de pères, comprenant 98 canes BC au total) à partir des performances de qualité du foie gras et d'abondance protéiques des 294 canards mulards.
Pour ce faire, les performances des mulards, corrigées des effets « année de naissance », « lot d'éclosion » et « gaveur » à l'aide de la procédure GLM de SAS (1999), sont attribuées aux canes BC. Les détections de QTL ont été réalisées à l'aide du logiciel QTLMAP (Elsen *et al.*, 1999) par analyse de liaison selon la méthode de cartographie d'intervalle (Lander et Bolstein, 1989). En premier lieu, la présence d'un QTL est testée caractère par caractère par comparaison des hypothèses H0 « absence de QTL à la position » et H1 « présence d'un QTL à la position ». Le seuil de rejet, obtenu par un total de 10 000 simulations des données sous H0, permet d'identifier les positions et les effets des QTL les plus probables. Puis, lorsque des QTL uni-caractères co-localisent dans un même intervalle de confiance, les caractères correspondants ont été associés 2 à 2 (caractère de qualité ou spot protéique) et des détections de QTL bi-caractères ont été effectuées, en comparant l'hypothèse H0 « absence de QTL à la position influençant la distribution des 2 caractères » et H1 «présence d'un QTL à la position influençant la distribution des 2 caractères ». La probabilité d'existence du QTL est estimée comme précédemment. Quand le QTL bi-caractère atteint un seuil de significativité supérieur au plus significatif des 2 QTL uni-caractère, nous supposons l'existence d'un QTL pléiotropique.

2. RESULTATS ET DISCUSSION

2.1. Approche uni-caractère

Au total, 51 QTL - 8 relatifs à la qualité du foie gras et 43 relatifs aux abondances protéiques (pQTL) - atteignant le seuil de 1% au niveau du chromosome ont été détectés lors de l'approche caractère par caractère (tableau 1). Ces QTL ont des intervalles de confiance en moyenne de 15 cM (variant entre 1 de 35

cM) et un effet de substitution de l'allèle au QTL moyen de 0,51 écart-type phénotypique (variant de 0,33 à 1,50). Les 43 pQTL correspondent à 30 protéines différentes : certaines protéines comme l'alpha-énolase (ENO1), la phosphoglycérate mutase (PGAM1) ou la péroxirédoxine 3 (PRDX3) présentent jusqu'à 3 QTL, tandis que l'alcool déshydrogénase (AKR1A), l'apolipoprotéine A1 (APOA1), la fatty acid synthase (FASN), la malate déshydrogénase (MDH1), la putative parkinson disease (DI-1), la triosephosphate isomerase (TPI) et la voltage-dependent anion-selective channel protein 1 (VDAC1) ont 2 QTL chacune. Parmi les 8 QTL phénotypiques identifiés, tous les caractères de qualité du foie gras ne sont pas représentés puisqu'il y a 2 QTL de teneur en protéines et, de taux de fonte, et 1 QTL pour le poids de foie, la teneur en lipides, et les indices de rouge et de jaune, respectivement.
L'ensemble de ces 51 QTL sont répartis sur 21 des 28 chromosomes de la carte génétique, mais certains chromosomes sont particulièrement remarquables. Ainsi, APL2 ne présente que des QTL de qualité du foie gras sans pQTL et APL18 renferme à lui seul 7 QTL, dont celui de l'énolase pour lequel la substitution allélique au QTL explique 1,5 écart-type phénotypique du caractère. APL24 porte le pQTL le plus significatif puisque la fatty acid synthase (FASN) présente un QTL dont le seuil est inférieur à 0,01%. Enfin, 4 chromosomes (APL15, APL18, APL23 et APL25) contiennent à la fois des QTL de qualité du foie et des pQTL.

2.2. Approche bi-caractères

Seule l'association bi-caractères entre un caractère de qualité du foie et une abondance protéique dont les QTL co-localisent, sera présentée ici. Cependant, la « co-localisation » des QTL uni-caractères reste assez imprécise du fait des intervalles de confiance assez grands (tableau 1). Parmi les 5 chromosomes portant ces 2 types de QTL, les chromosomes APL3, APL18 et APL25 ne présentent pas de co-localisation vraie puisque 2 à 4 marqueurs séparent les 2 QTL. Restent APL23, qui du fait de sa petite taille regroupe tous ses QTL à la position 0, et APL15 pour lequel 3 de ses 4 QTL (taux de fonte, CCT7 et ENO1) se localisent autour du marqueur SNP286.
Les QTL bi-caractères associant un caractère de qualité et une protéine pour les chromosomes APL15 et APL23 sont présentés dans le tableau 2. Pour chacune des 6 approches bi-caractères, on peut supposer l'existence d'un locus pléiotropique puisque le seuil de signification atteint par le QTL bi-caractères est supérieur au seuil atteint par le meilleur des 2 QTL uni-caractères. Sur APL23, on observe une association pléiotropique entre les taux de protéines et de lipides et 2 protéines, la FABP7 (protéine de transport des acides gras) et la PDIA7 (protéine du réticulum endoplasmique aidant à la conformation des protéines lors de leur synthèse), suggérant que ce locusmodifie à la fois les processus de conformation (PDIA3), de transport (FABP7) des protéines et les taux globaux de protéines et de lipides dans le foie gras. APL15 renferme un locus très pléiotropique (figure 2) pour le taux de fonte, caractère crucial pour la qualité du foie gras, et les abondances des protéines ENO1 (enzyme de la glycolyse) et CCT7 (protéine chaperonne du réticulum endoplasmique), laissant supposer que le taux de fonte est régulé via le processus glycolytique. L'association tri-caractères « taux de fonte », « ENO1 » et « CCT7 » conduit à un QTL encore plus significatif qui atteint le seuil de 0,005% (résultats non présentés).

2.3. Discussion

Notre démarche d'étudier de façon associée un QTL de qualité du foie et un pQTL nous permet d'identifier des voies métaboliques sous-jacentes au caractère de qualité du foie gras concerné. Il semble cependant que les gènes qui codent directement ces protéines (CCT7 et ENO1 pour APL15 ; FABP7 et PDIA7 pour APL23) ne sont pas directement impliqués dans la régulation. En effet, tenant compte de la conservation entre les caryotypes de la poule et du canard, ces gènes ne sont pas positionnés sur les chromosomes où nous avons identifié les QTL relatifs à leurs protéines. Nous mettons ainsi en évidence les régulations en « trans » des protéines, probablement en lien avec les nombreuses modifications post-traductionnelles qu'elles subissent. Ainsi, on notera que le locus pléiotropique d'APL15 se situe en proximité du marqueur SNP286, lui-même positionné, sur la séquence de la poule, dans un gène codant pour une protéine chaperonne du réticulum endoplasmique et impliquée dans la maturation de la lipoprotéine lipase (LMF1). Or, la LMF1 jouerait un rôle dans l'activation des lipases et dans la régulation du métabolisme des lipides (Péterfy, 2012). Même s'il faut rester prudent car des réarrangements chromosomiques ont déjà été mis en évidence entre les espèces *Gallus Gallus* et *Anas Platyrhynchos* (Rao *et al.*, 2012), ce résultat fournit une piste intéressante à explorer. Plus globalement, l'ajout de nouveaux marqueurs sur la carte génétique permettrait de valoriser plus complètement ce dispositif, en densifiant les chromosomes déjà couverts et balisant les 12 micro-chromosomes non représentés.

CONCLUSION

Ce travail original est pour l'heure trop préliminaire pour envisager une valorisation en sélection. Néanmoins, cette approche d'identification de QTL d'abondances de protéines du foie gras, associée à la détection de QTL de qualité du foie gras est une démarche intéressante puisqu'elle permet d'identifier, en un point particulier du génome, un lien entre une protéine et un phénotype. Ainsi, 2 locus, l'un sur APL23 et l'autre sur APL15, jouant sur des caractères

de qualité du foie gras, devront être explorés plus finement pour identifier les variations nucléotidiques dans les gènes sous-jacents et comprendre comment ces variations impactent la voie métabolique mise en évidence. D'autres chromosomes, tels qu'APL24 qui porte un pQTL majeur, devront aussi être sujets d'études approfondies.

REMERCIEMENTS

Les auteurs remercient les plateformes Genotoul de Toulouse pour le génotypage des marqueurs, et PFEM de Theix pour l'identification des protéines.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. Elsen J.M., Mangin B., Goffinet B., Boichard D., Le Roy P., 1999. Genet. Sel. Evol., 31, 213-224.
2. Holdt L.M., Delft A. von Nicolaou A., Baumann S., Kostrzewa M., Thiery J., Teupser D., 2013. Genetics, 193, 601–608.
3. Kileh Wais M., Elsen J.M., Vignal A., Feves K., Vignoles F., Fernandez X., Manse H., Davail S., André J.M., Bastianelli D., Bonnal L., Filangi O., Baeza E., Guemene D., Genet C., Bernadet M.D., Dubos F. and Marie-Etancelin C., 2013. Journal of Animal Science, 91(2), 588-604.
4. Lander E.S., Botstein D., 1989. Genetics, 121, 185–199.
5. Marie-Etancelin C., Basso B., Davail S., Gontier K., Fernandez X., Vitezica Z.-G., Bastianelli D., Baéza E., Bernadet M.-D., Guy G., Brun J.-M., Legarra A., 2011. Journal of Animal Science, 89 (3), 669-679.
6. Peterfy M., 2012. Biochim Biophys Acta, 1821, 790–794.
7. Rao M., Morisson M., Faraut T., Bardes S., Fève K., Labarthe E., Fillon V., Huang Y., Li N., Vignal A., 2012. BMC Genomics, 13, 513.
8. Theron L., Bouillier-Oudot M., Marie-Etancelin C., Bonnefont C., Fernandez X., Molette C., 2013. Productions Animales, 26 (5), 415-424.

Figure 1. Gel d'électrophorèse bi-dimensionnelle composé de 326 spots protéiques

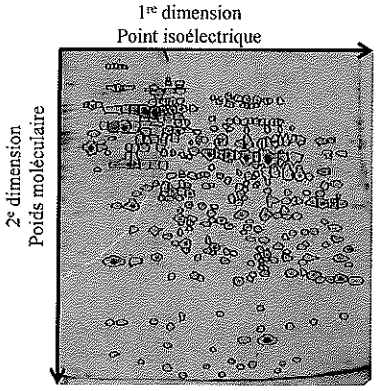

Figure 2. Comparaison des QTL uni- et bi-caractères identifiés sur le chromosome APL15

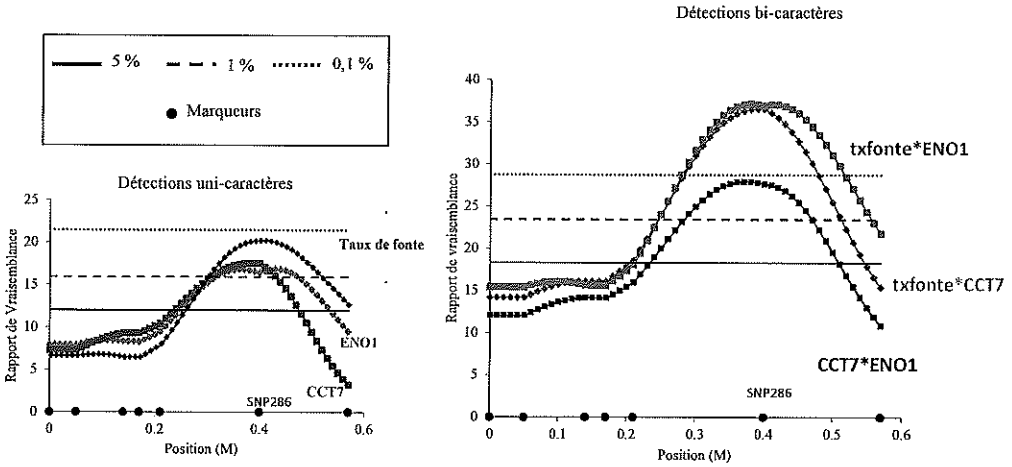

Tableau 1. QTL protéiques et phénotypiques dépassant le seuil de 1% au niveau du chromosome

Caractères	APL	Position (M)	Intervalle de confiance (M)	Effet substitution au QTL[1]	Seuil de signification[2]
EEF2 (*Eukaryotic elongation factor 2*)	1	0,94	0,79-1,03	0,43	*
PRDX3 (*Peroxiredoxin 3*)	1	2,00	1,93-2,15	0,45	**
Taux de fonte	2	0,60	0,58-0,61	0,35	***
Taux de protéines du foie	2	0,59	0,58-0,61	0,50	*
Poids du foie	2	0,61	0,55-0,73	0,51	**
TAL (*Transaldolase*)	3	0,81	0,71-1,02	0,42	*
AKR1A1 (*Alcool déshydrogénase*)	4	0,00	0-0,14	0,44	**
EIF3I (*Eukaryotic translation initiation factor 3*)	4	0,93	0,91-0,94	0,55	*
PRDX3 (*Peroxiredoxin 3*)	4	0,94	0,83-0,94	0,43	**
ALDH7A1 (*Aldéhyde déshydrogénase famille 7*)	5	0,00	0-0,18	0,36	*
MDH1 (*Malate déshydrogénase*)	6	0,16	0,02-0,27	0,55	**
PGAM1 (*Phosphoglycérate mutase*)	6	0,44	0,31-0,54	0,50	**
AKR1A1 (*Alcool déshydrogénase*)	7	0,42	0,40-0,45	0,48	*
APOA1 (*Apolipoprotein A1*)	7	0,69	0,63-0,70	0,52	***
HIBCH (*3-hydroxyisobutyryl-CoA hydrolase*)	10	0,11	0,03-0,20	0,52	***
ETHE1 (*protein ETHE1*)	10	0,39	0,35-0,40	0,45	**
ANXA5 (*Annexine A5*)	11	0,09	0,05-0,13	0,81	*
TPI (*Triose phosphate isomérase*)	11	0,22	0,11-0,24	0,44	*
VDAC1 (*Voltage-dependent anion-selective channel*)	13	0,47	0,29-0,52	0,51	**
FASN (*Fatty acid synthase*)	15	0,25	0-0,35	0,49	*
CCT7 (*TCP1 containing protein 7*)	15	0,38	0,26-0,46	0,46	*
Taux de fonte	15	0,41	0,29-0,52	0,49	**
ENO1 (*Enolase*)	15	0,43	0,26-0,53	0,46	*
ATPB5 (*ATP synthase subunit beta*)	16	0,02	0-0,08	0,33	*
DI-1 ou PARK7 (*Putative Parkinson disease early var 1*)	16	0,21	0,09-0,23	0,33	*
PGAM1 (*Phosphoglycérate Mutase*)	18	0,00	0-0,11	0,40	*
PRDX3 (*Peroxiredoxin 3*)	18	0,04	0-0,12	0,53	**
ENO1 (*Enolase*)	18	0,13	0,11-0,15	1,50	***
GS (*Glutamine synthetase*)	18	0,13	0,09-0,15	1,17	*
Indice de jaune du foie	18	0,67	0,57-0,82	0,50	***
RPS12 (*40S ribosomal protein S12*)	18	0,76	0,65-0,86	0,45	*
ENO1 (*Enolase*)	18	0,85	0,77-0,90	0,46	*
Rab GDP (*Rab-GDP dissociation inhibitor*)	20	0,18	0,06-0,27	0,45	*
CA2 (*Carbonic anhydrase 2*)	21	0,40	0,38-0,51	0,39	**
PDIA3 (*Protein disulfide isomerase A3*)	23	0,00	0-0,01	0,33	***
FABP7 (*Fatty acid binding protein 7*)	23	0,00	0-0,01	0,38	***
Taux de lipides du foie	23	0,00	0-0,01	0,59	**
Taux de protéines du foie	23	0,00	0-0,01	0,60	**
PGAM1 (*Phosphoglycérate mutase*)	24	0,06	0-0,15	0,50	*
APOA1 (*Apolipoprotein A1*)	24	0,14	0,07-0,29	0,36	*
FASN (*Fatty acid synthase*)	24	0,27	0,20-0,29	0,67	***
Indice de rouge du foie	25	0,06	0-0,16	0,71	*
ACADS (*Short-chain specific acyl-CoA dehydrogenase*)	25	0,17	0,08-0,31	0,41	*
DI-1 ou PARK7 (*Putative Parkinson disease early var 1*)	25	0,32	0,25-0,39	0,48	**
ENO1 (*Enolase*)	25	0,38	0,25-0,39	0,48	**
C11orf54 (*Ester hydrolase C11orf54*)	27	0,09	0-0,21	0,46	**
MDH1 (*Malate dehydrogenase*)	27	0,42	0,34-0,48	0,44	**
TTR (*Transthyretin*)	27	0,51	0,45-0,51	0,51	**
VDAC1 (*Voltage-dependent anion-selective channel*)	29	0,08	0-0,12	0,46	***
GS (*Glutamine synthetase*)	29	0,14	0,09-0,17	0,36	*
TPI (*Triose phosphate isomerase*)	Z	0,22	0,18-0,34	0,45	*

[1]en écart-type phénotypique du caractère
*[2] *** : P<0,1% ; ** : P<0,5% ; * : P<1%*

Tableau 2. Seuils de signification atteint par le QTL bi-caractères pour les chromosomes APL15 et APL23

APL15		APL23		
	Taux de fonte (0,1% - 0,5%)		Taux de lipides (0,1% - 0,5%)	Taux de protéines (0,1% - 0,5%)
CCT7 (0,5% - 1%)	<0,05 %	FABP7 (0,05% - 0,1%)	<0,05%	<0,01%
ENO1 (0,5% - 1%)	<0,05 %	PDIA3 (0,05% - 0,1%)	<0,01%	<0,01%

Entre parenthèse, seuil de signification atteint par le QTL uni-caractère