



**HAL**  
open science

## Génomique : réalisation et perspectives

Sandrine Lagarrigue, Elisabeth Le Bihan-Duval

► **To cite this version:**

Sandrine Lagarrigue, Elisabeth Le Bihan-Duval. Génomique : réalisation et perspectives. 8. Journées de la Recherche Avicole, Mar 2009, Saint-Malo, France. hal-02751410

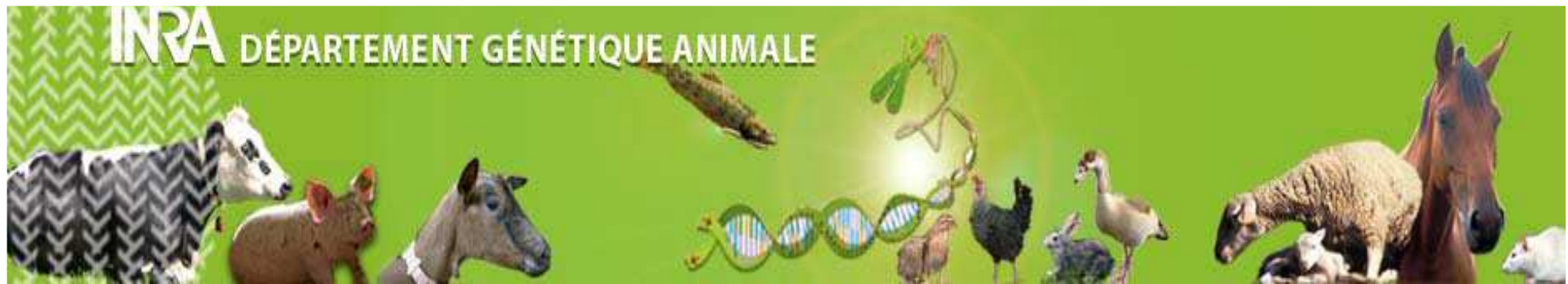
**HAL Id: hal-02751410**

**<https://hal.inrae.fr/hal-02751410>**

Submitted on 3 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.



# Génomique réalisation et perspective

**Sandrine Lagarrigue**

[sandrine.lagarrigue@agrocampus-ouest.fr](mailto:sandrine.lagarrigue@agrocampus-ouest.fr)

***Unité de Génétique Animale, INRA - Agrocampus Ouest, RENNES***

***Elisabeth Le Bihan-Duval***

[Elisabeth.Lebihan@tours.inra.fr](mailto:Elisabeth.Lebihan@tours.inra.fr)

***Unité de Recherches Avicoles, INRA, TOURS***



Institut National de la Recherche Agronomique

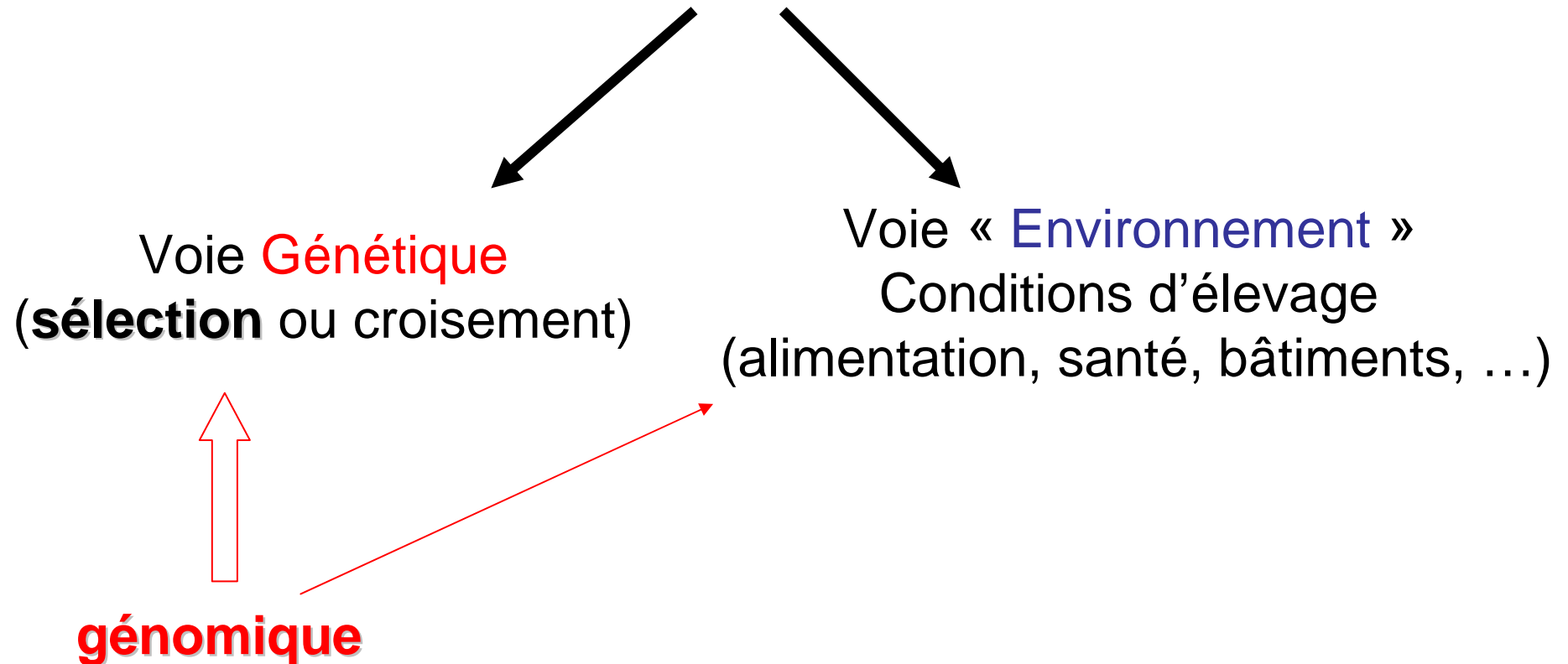
***Huitièmes Journées de la Recherche Avicole,  
St Malo, 25 et 26 mars 2009***



# Un des enjeux en élevage

---

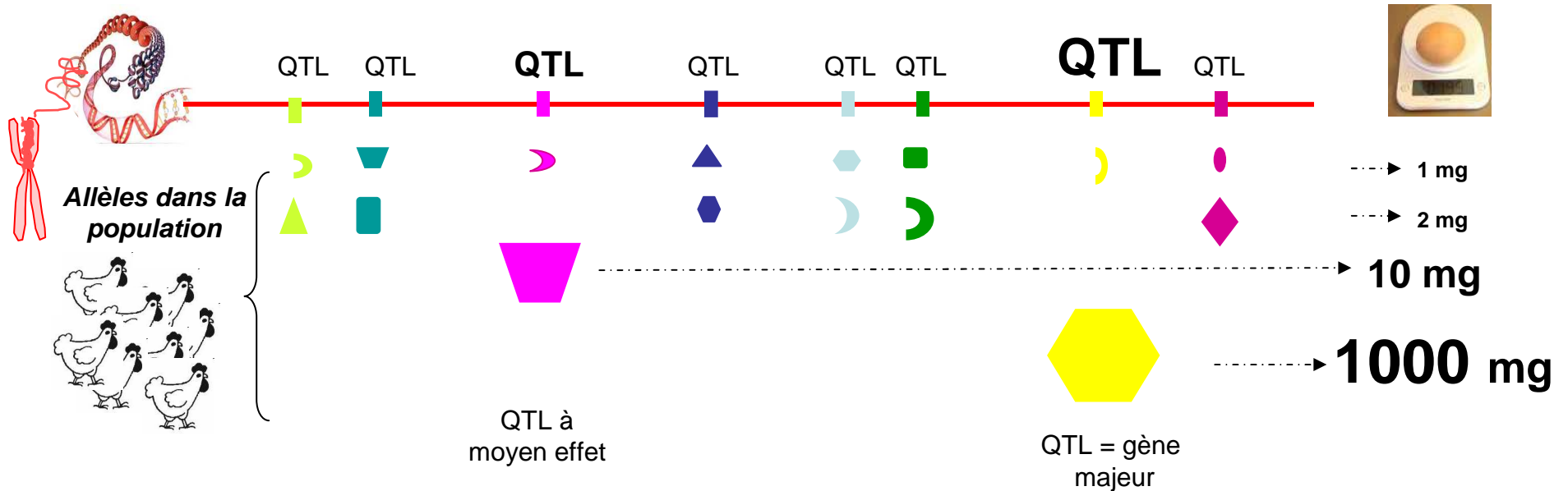
## Maîtriser les caractères d'intérêt économiques



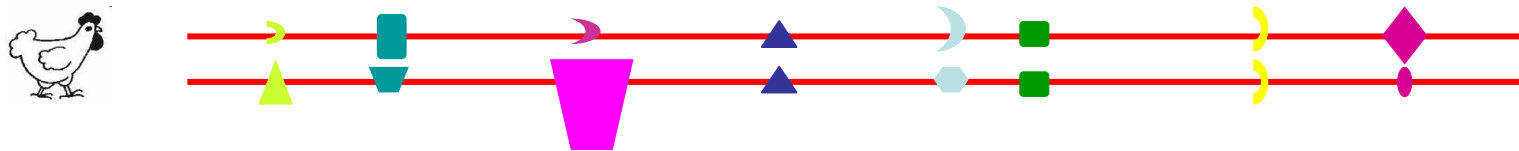
# Ce que l'on aimerait ...

- 1a) Identifier tous les locus responsables des variations du caractère d'intérêt (QTL)
- 1b) Pour chaque QTL, connaître les différentes formes possibles (allèles)

Estimer leur effet sur le caractère

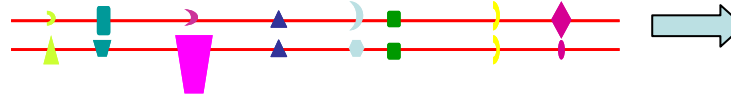


- 2) Génotyper chaque individu (2 allèles) aux différents QTL du caractère  
 → Valeur génétique G = somme des effets de tous les allèles



## Ce que l'on aimerait ...

Une goutte de sang

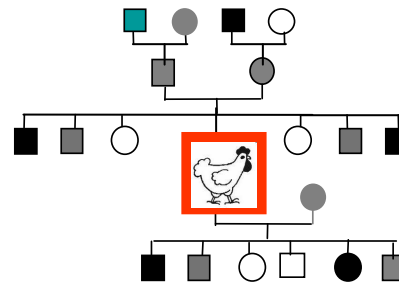


**Valeur génétique G**  
d'un reproducteur

- obtention très rapide

## Aujourd'hui, sur le terrain ...

- Mesure du caractère d'intérêt
- + • Pedigree



**Estimation**  
**Valeur génétique G**  
d'un reproducteur

- Obtention + ou - tardive dépendant du temps (t) nécessaire pour que le caractère soit mesurable

- Sa précision (CD) dépend du nbre d'animaux apparentés mesurés  
→ coût de mesure  
→ intensité de sélection (i)

$$\Delta G = \frac{i \quad CD \quad h \sigma_p}{t}$$

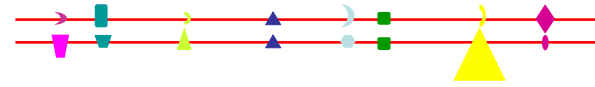
Variabilité génétique



-

# Ce que l'on aimerait ...

Une goutte de sang

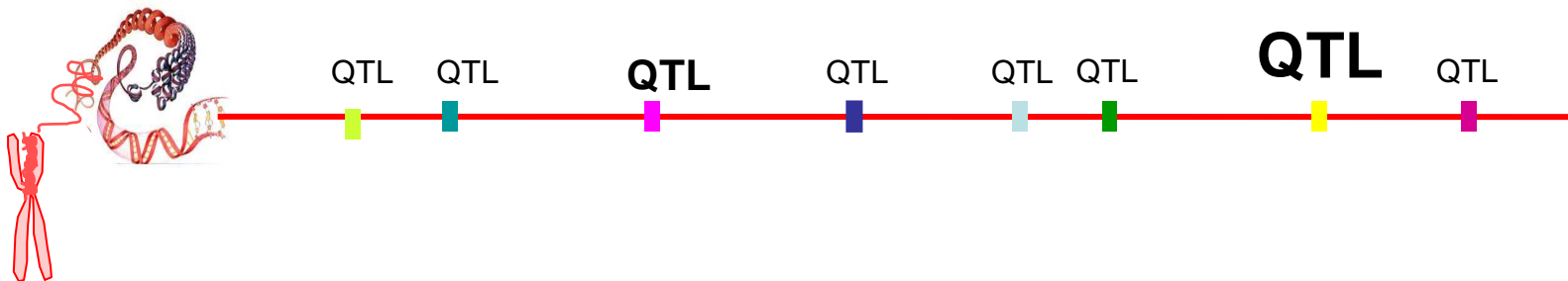


**Valeur génétique G**  
d'un reproducteur

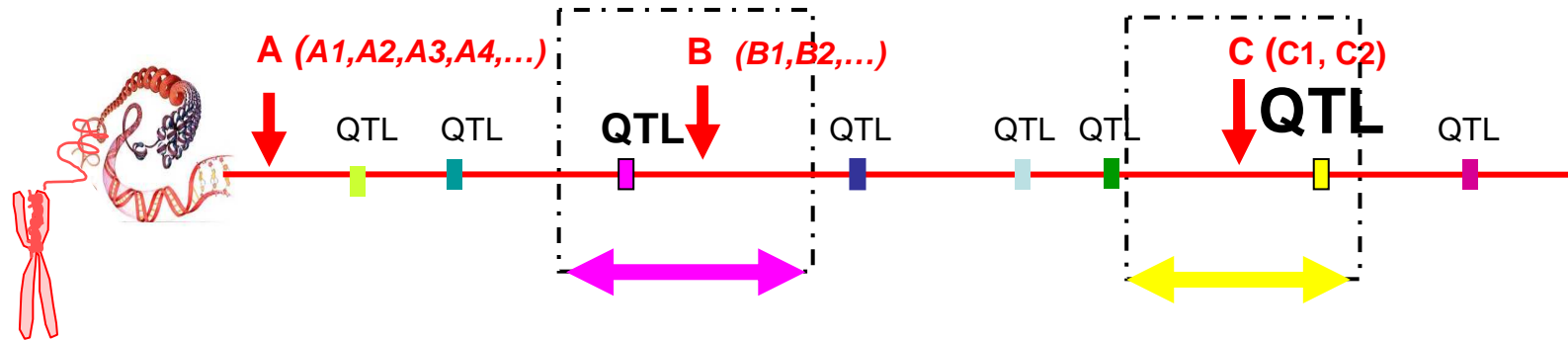
- *obtention très rapide*



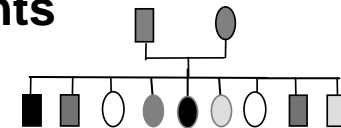
**Ou en est-on aujourd'hui**  
**En détection de QTLs d'un caractère ?**



# Années 95s et 2000s : Localisation des QTL à effet **moyen** à **fort**



- Dispositifs familiaux d'animaux de qq centaines de descendants



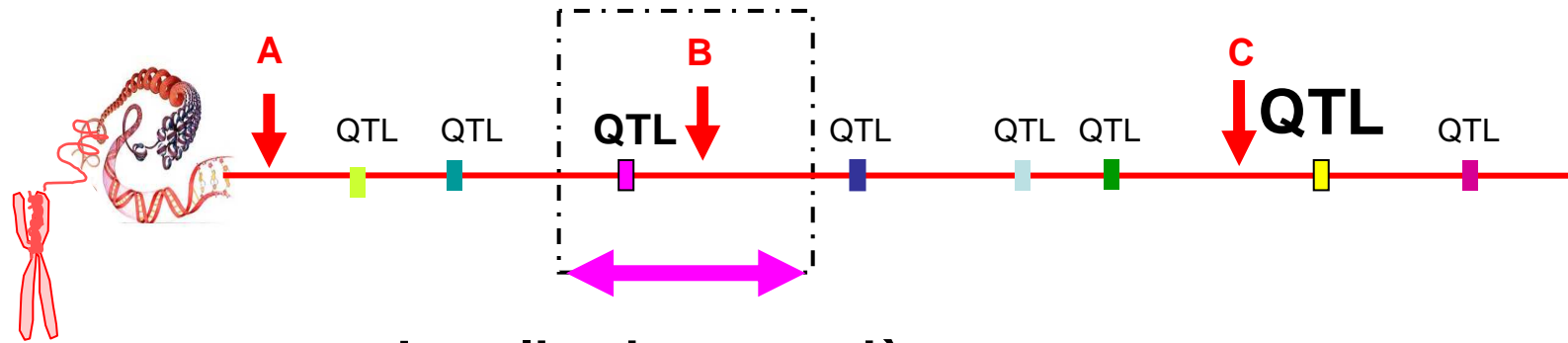
## Années 90

- cartes génétiques = Ensemble de marqueurs bien répartis dans le génome et facilement « génotypable »

**Microsatellite** : Répétition d'un motif de 1 à 4 nt ; marqueur multiallélique

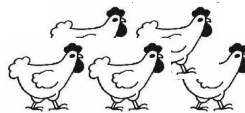
A1 : AGGGCA TATATATATATA GCAGCATCT ( TA )<sub>6</sub>  
 A2 : AGGGCA TATATATATATATATATA GCAGCATCT ( TA )<sub>9</sub>  
 A3 : AGGGCA TATATATATATATATATATATA GCAGCATCT ( TA )<sub>11</sub>  
 A4 : AGGGCA TATATATATA GCAGCATCT ( TA )<sub>5</sub><sup>6</sup>

# Années 95s et 2000s : Localisation des QTL à effet moyen à fort



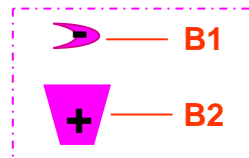
Localisation grossière

⇒ limite les applications en **Sélection Assistée par Marqueurs (SAM)**

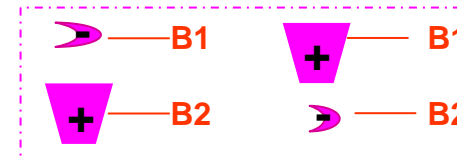
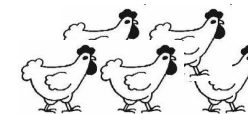


**SAM**

Nécessité d'avoir un « déséquilibre de liaison »  
Entre marqueur et QTL  
→ rare si le marqueur est  
Assez éloigné du QTL



*Situation rare*

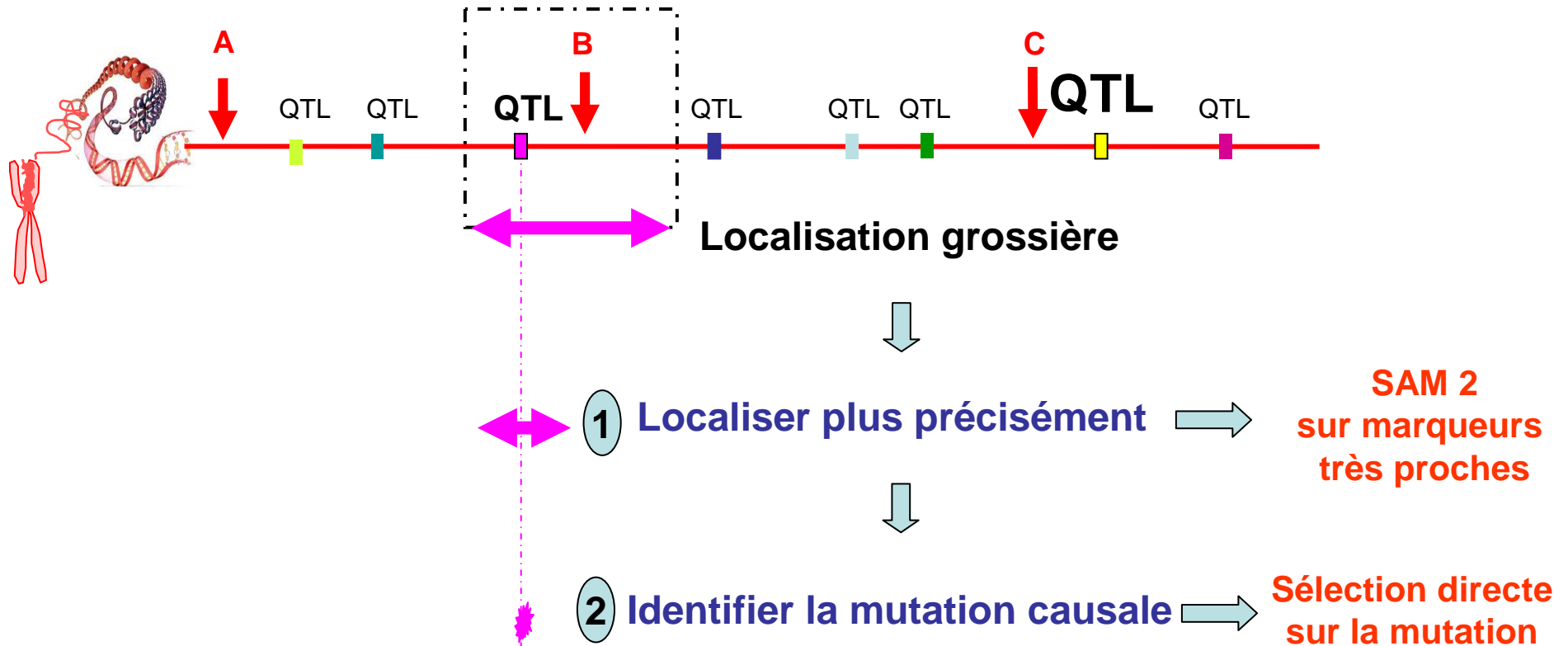


*Situation fréquente*

**SAM inefficace**



# Les solutions



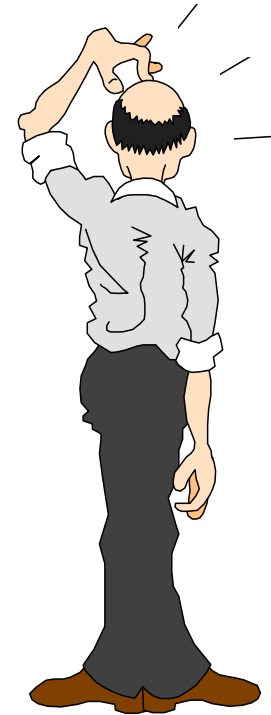
QTL localisés :  
~1500 en bovin  
~1000 QTL en porc  
~700 QTL en volaille

Années 90s-2000s  
étapes laborieuses

Moins de 20 mutations  
identifiées

**Fin 2000s - Années 2010s**

**Peut-on faire mieux grâce aux avancées de la génomique ?**



# Années 2000s : séquençage de génome complet

2004 Poule, depuis 2006 : Bovin Cheval Porc...

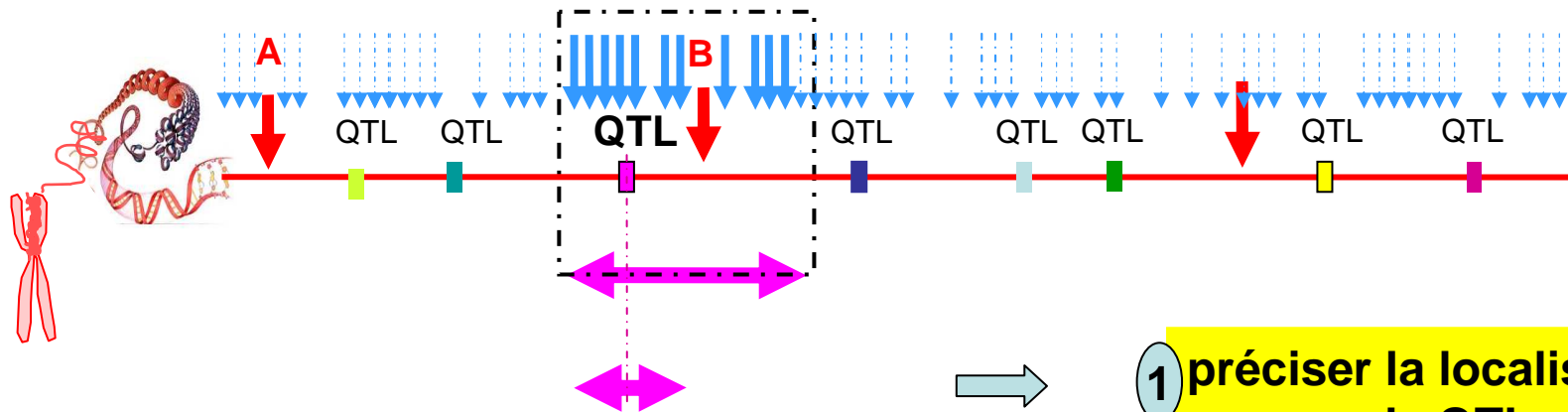
- Identification de nouveaux marqueurs type :
  - microsatellites
  - ou SNP → très nombreux dans les génomes (1 nt tous 1000nt)

A1 : ATCGTGCTATGACGCTGATGACATTAT

A2 : ATCGTGCTATGATGCTGATGTCATTAT

Cependant technique de génotypage de SNPs coûteuse

→ génotypage des familles d'animaux sur les marqueurs dans les régions QTL



1 préciser la localisation de QTL

# Années 2000s : séquençage de génome complet

- Prédiction de gènes (bioinformatique) : ~ 30000 à 40000 gènes prédits



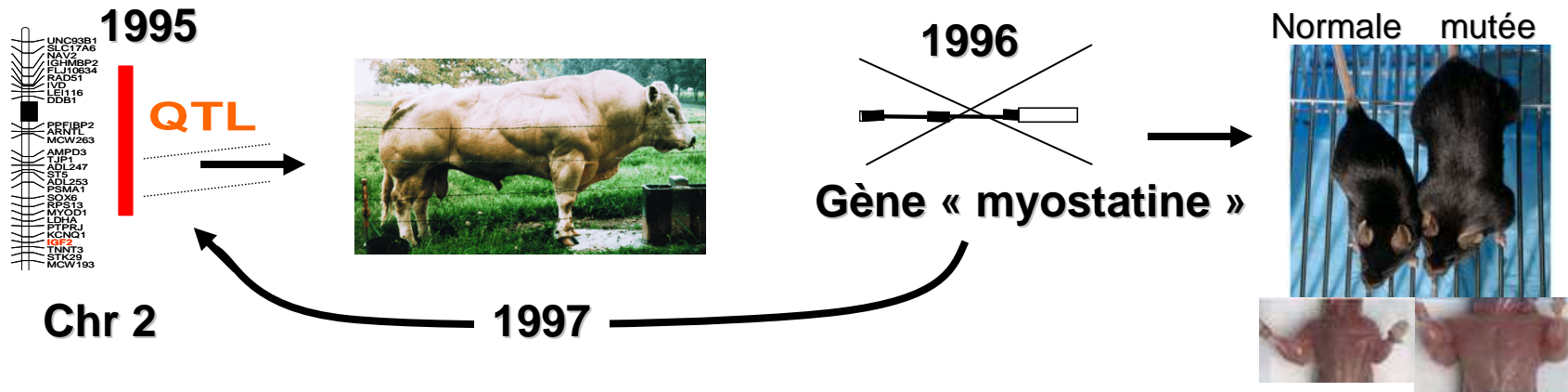
→ Meilleure connaissance du contenu en gènes d'une région QTL

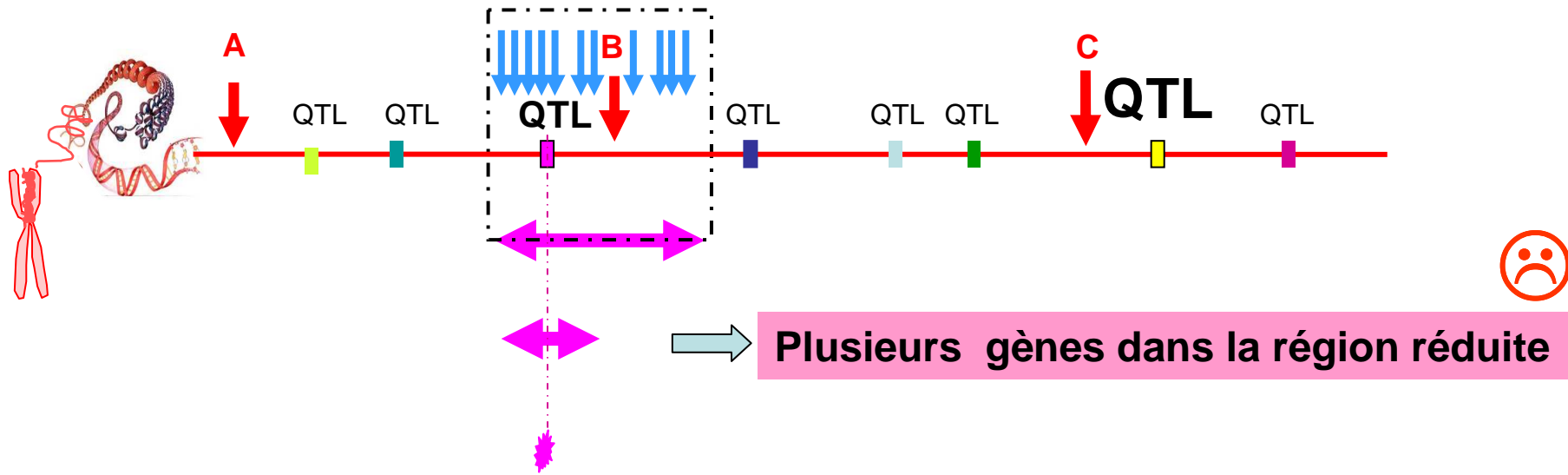


Nombreux gènes à fonction inconnue !



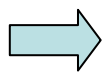
➔ Collection de mutants artificiels chez la souris  
 Invalider chacun des 40 000 gènes prédits => observer les phénotypes résultant





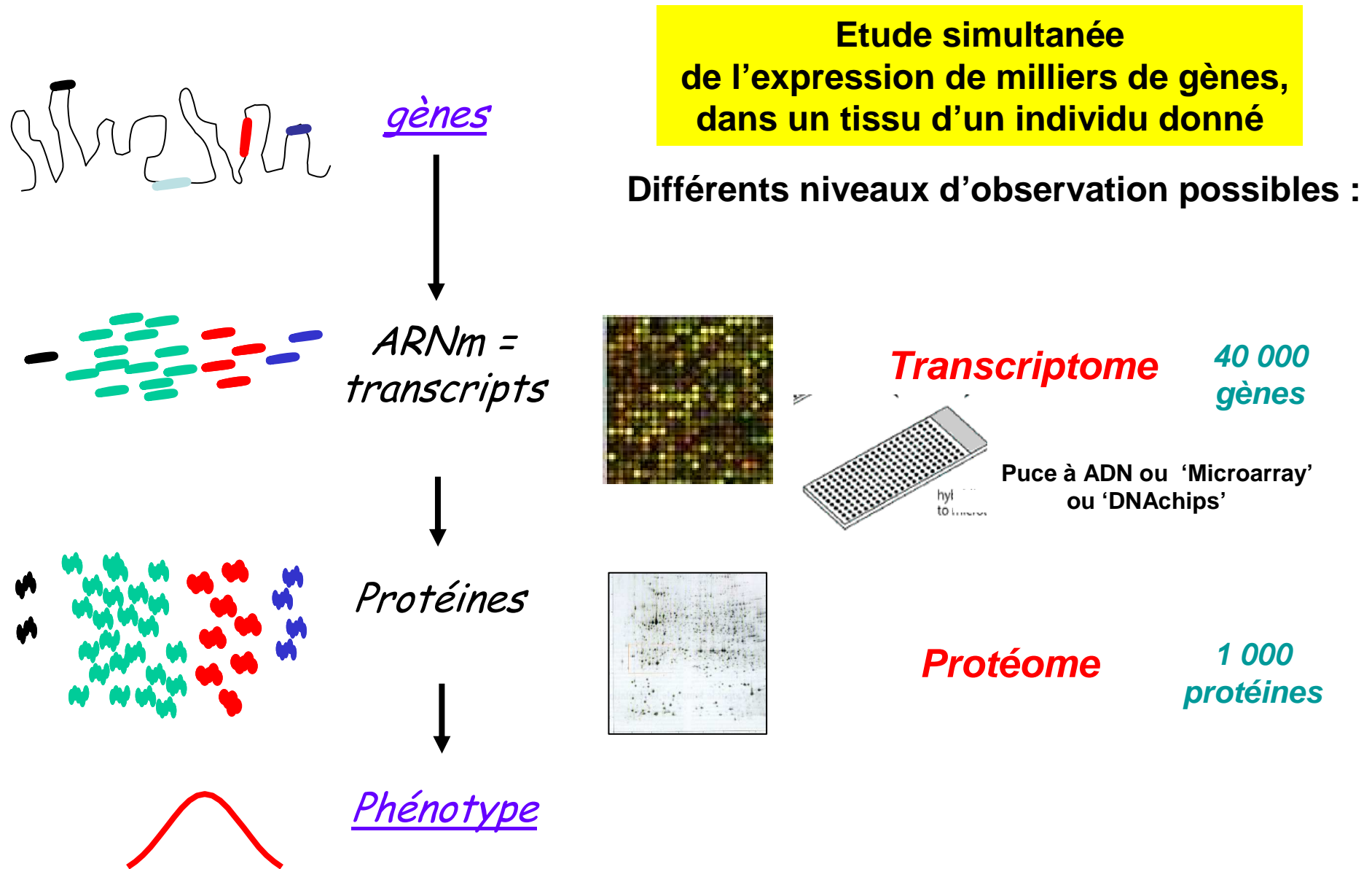
Lien entre le gène recherché et le caractère reste « vague » !

- Caractères d'intérêt sont dits "complexes" : il peut exister différents chemins biologiques pour un phénotype donné

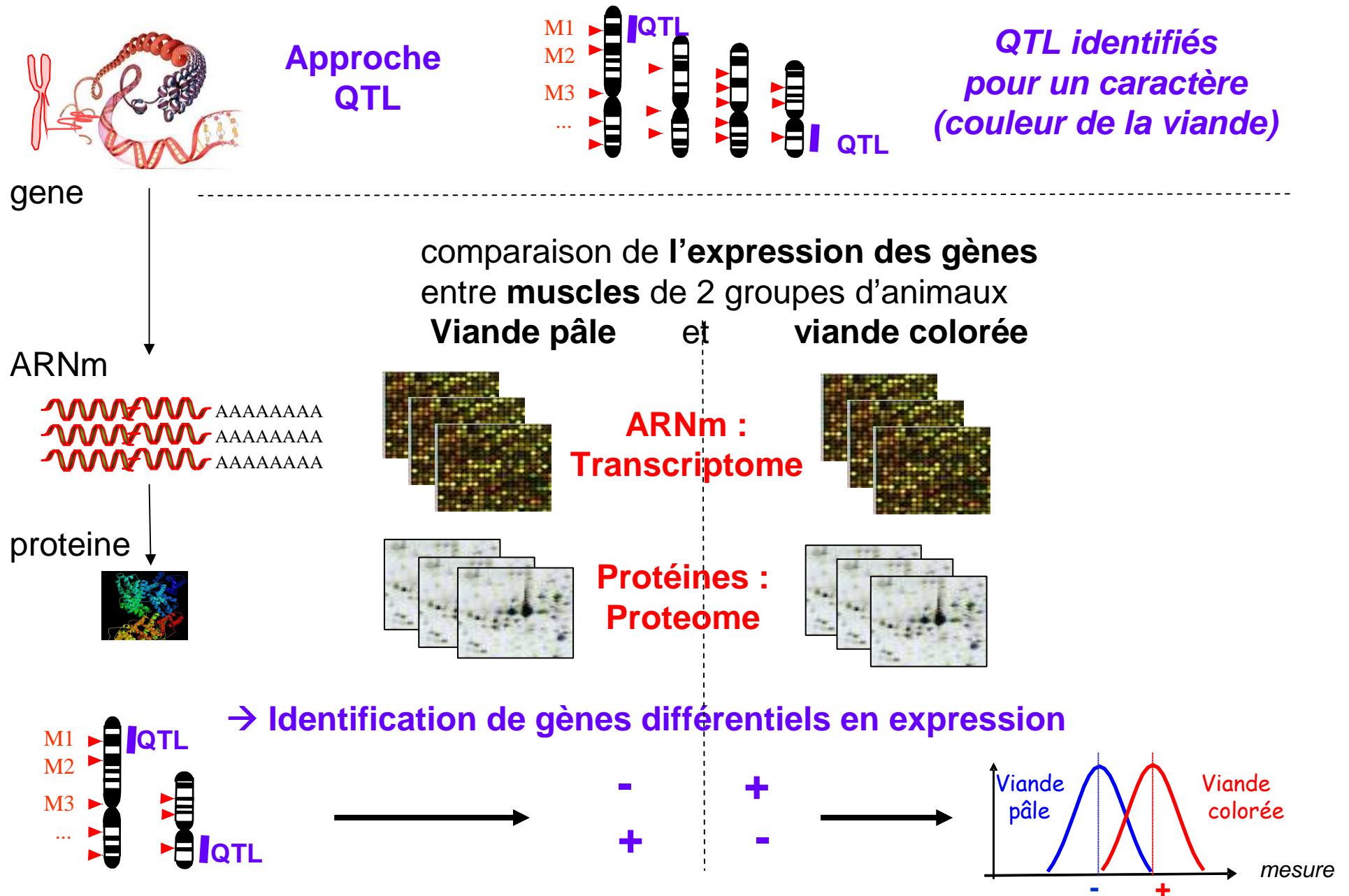


Décomposer le caractère en caractères plus élémentaires  
 → Devenue possible grâce à la Génomique fonctionnelle

# Qu'est ce que la génomique fonctionnelle ?



# Exemple d'une application possible

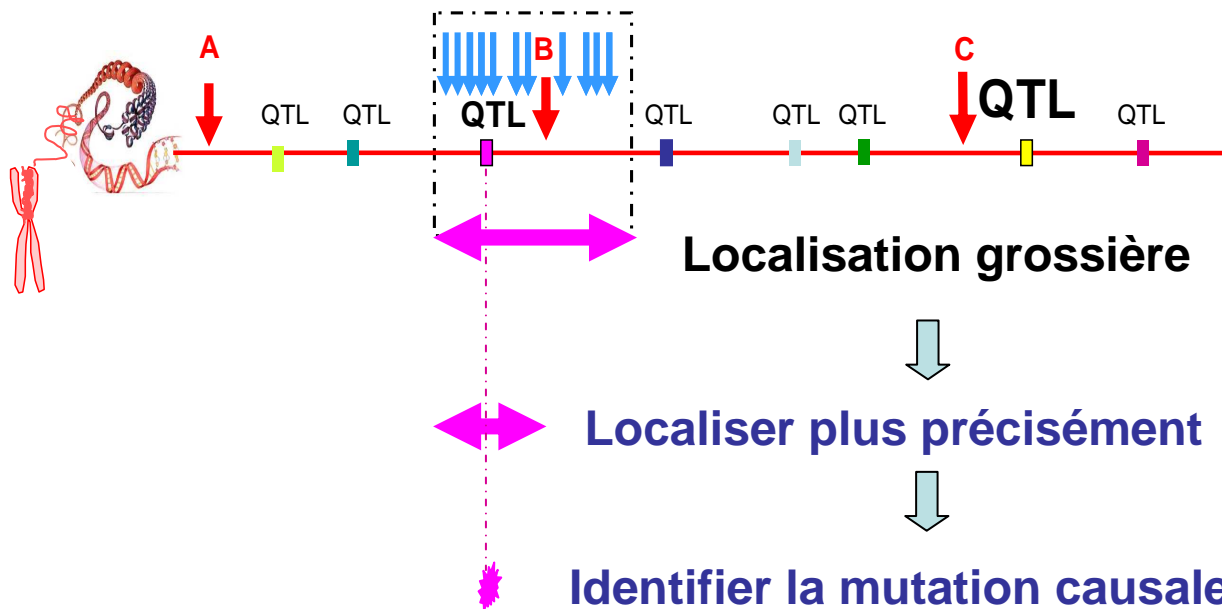
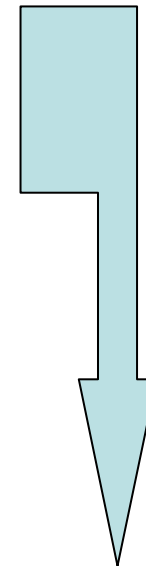


# Conclusion 1

- Séquençage complet de génomes  
et tous les co-produits (accès aux gènes et à de nombreux marqueurs)
- Techniques de génomique fonctionnelle



Une accélération de l'identification  
des mutations sous jacentes aux QTLs  
à moyen ou fort effets sur la variation d'un caractère

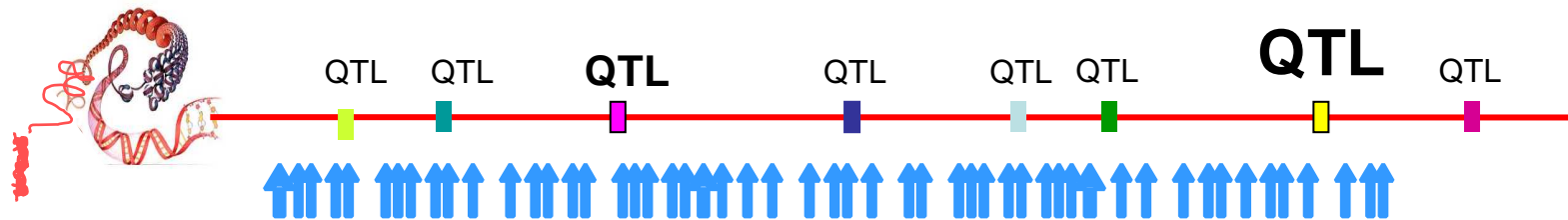


Sélection directe  
sur la mutation  
causale



# Ce que l'on aimerait ...

- 1a) Identifier tous les locus responsables d'une part de variation du caractère d'intérêt (QTL)  
- les QTL à forts, moyens mais aussi petits effets -
- 1b) Estimer leur effet sur le caractère



## Années 2008-2009

Technologies de génotypage à haut débit de ces SNP (puce à ADN SNP)

200 euros pour génotyper un individu sur 50 000 marqueurs SNP

# Sélection sur l'ensemble du génome et non pas sur qq QTL → Sélection génomique (*genome wide selection*)

## Sélection sur marqueurs (SAM) généralisée à l'ensemble du génome

(grâce au génotypage de dizaine de milliers de marqueurs)

**Permettant de prendre en compte tous les QTL  
à forts, moyens mais aussi petits effets sur le caractère**

(il existera toujours un marqueur très proche de chacun des QTL)



**Bonne précision de l'évaluation des valeurs génétiques  
sur la seule information moléculaire**

*1er résultats en bovins laits : 54 000 SNP → précision de 0.5 à 0.6*

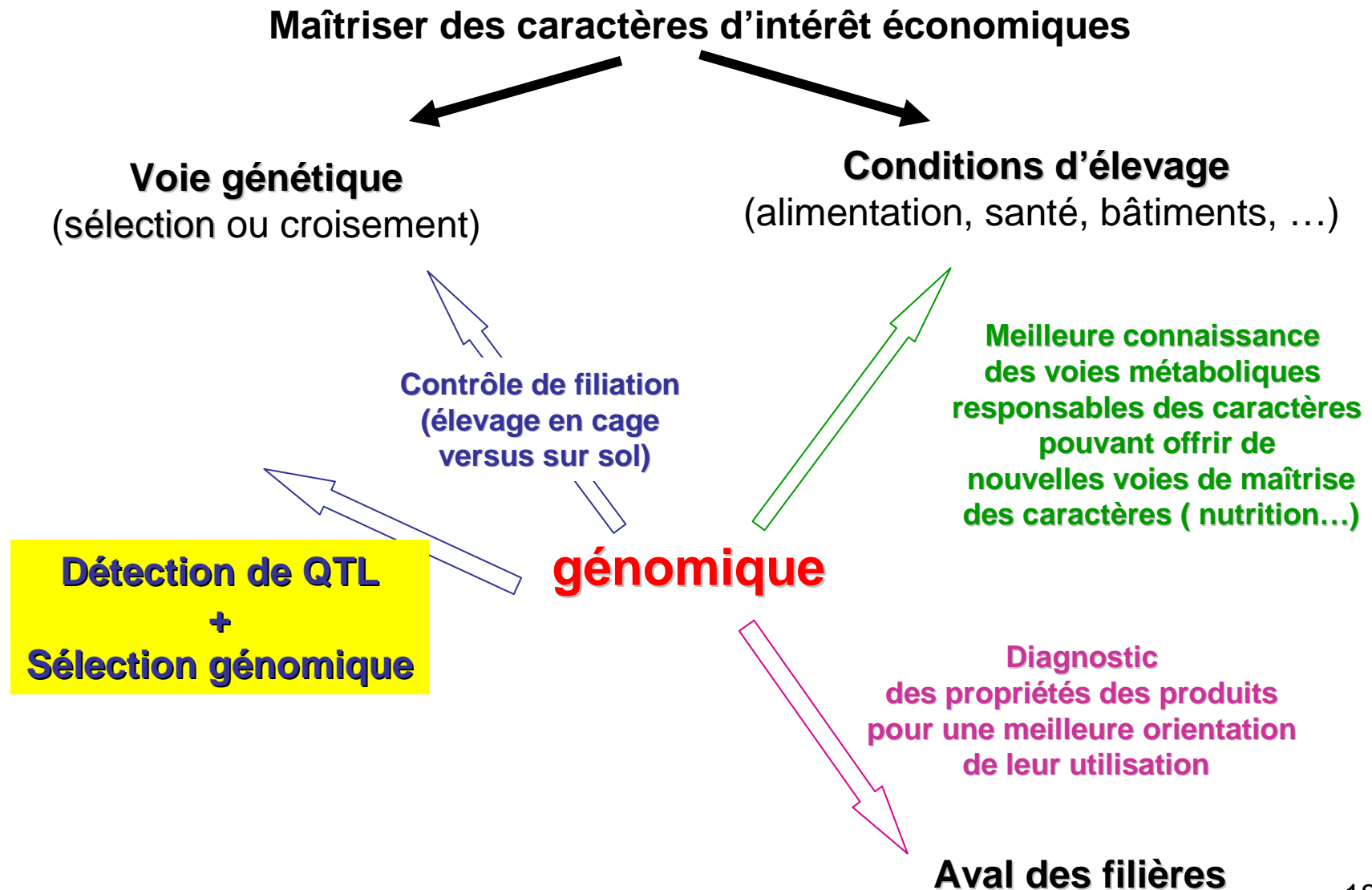
### ***Etape préalable à la sélection génomique***

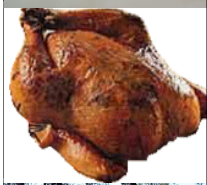
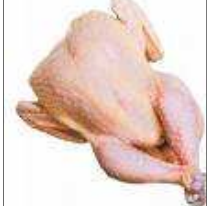
**Prédire les effets sur le caractère d'intérêt des dizaines de milliers de marqueurs  
à partir d'une sous-population représentative de la population d'intérêt**

**Cette sous-population doit**

- 1) être d'effectif élevé (2000 à 3000 individus),**
- 2) être phénotypée pour le caractère d'intérêt**
- 3) être génotypée sur quelques dizaines de milliers de marqueurs.**

# Autres applications possibles





## Identification d'un marqueur génétique de coloration de la viande chez le poulet

- **Unité de Recherches Avicoles  
(Génétique Avicole, Croissance et Métabolisme)**
- **Laboratoire Génétique Cellulaire -  
Génome Aviaire**
- **UMR - Génétique Animale Rennes**

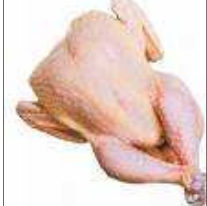


# Contexte socio-économique

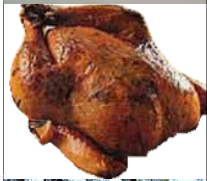
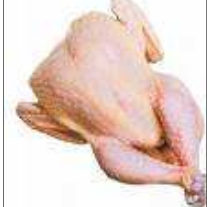
- Consommation de volailles entières en baisse, au profit des découpes et élaborés: des exigences renforcées sur la qualité de la viande

- Forte variabilité des paramètres de qualité, qu'il convient de mieux maîtriser (Gigaud et al., JRA 2009)

- Couleur: rôle important dans l'appréciation des produits. JRA 2007: préférence des consommateurs pour les produits plus colorés (poulets jaunes) ... mais inquiétude face l'origine de cette coloration (« colorants » alimentaires)







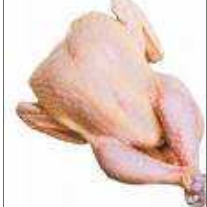
## héritabilités des mesures de qualité

|                       | Souche expérimentale (2001) | Souche commerciale (2005) |
|-----------------------|-----------------------------|---------------------------|
| pH 15min              | 0.49                        | 0.30                      |
| pHu (24h)             | 0.35                        | 0.34                      |
| Pâleur (L*)           | 0.50                        | 0.35                      |
| Coloration rouge (a*) | 0.57                        | 0.25                      |
| Coloration jaune (b*) | 0.55                        | 0.31                      |
| Pertes en eau (%)     | 0.39                        | 0.26                      |
| Réserves en glycogène | ND                          | 0.43                      |
| Pertes cuisson (%)    | ND                          | 0.35                      |
| Dureté                | ND                          | 0.34                      |

**Critères de qualité : héritable mais difficilement sélectionnables (découpe des animaux)**

**➔ Intérêt des test génétiques**

# Détection de QTL dans le croisement entre lignées à croissance lente (CL) ou rapide (CR)



|                  | CR   | CL   | CR/CL |
|------------------|------|------|-------|
| Poids 9 sem.     | 1922 | 683  | ×2.8  |
| % filet          | 11.4 | 10.4 | 1.1   |
| % Gras abdominal | 2.5  | 0.2  | ×12   |



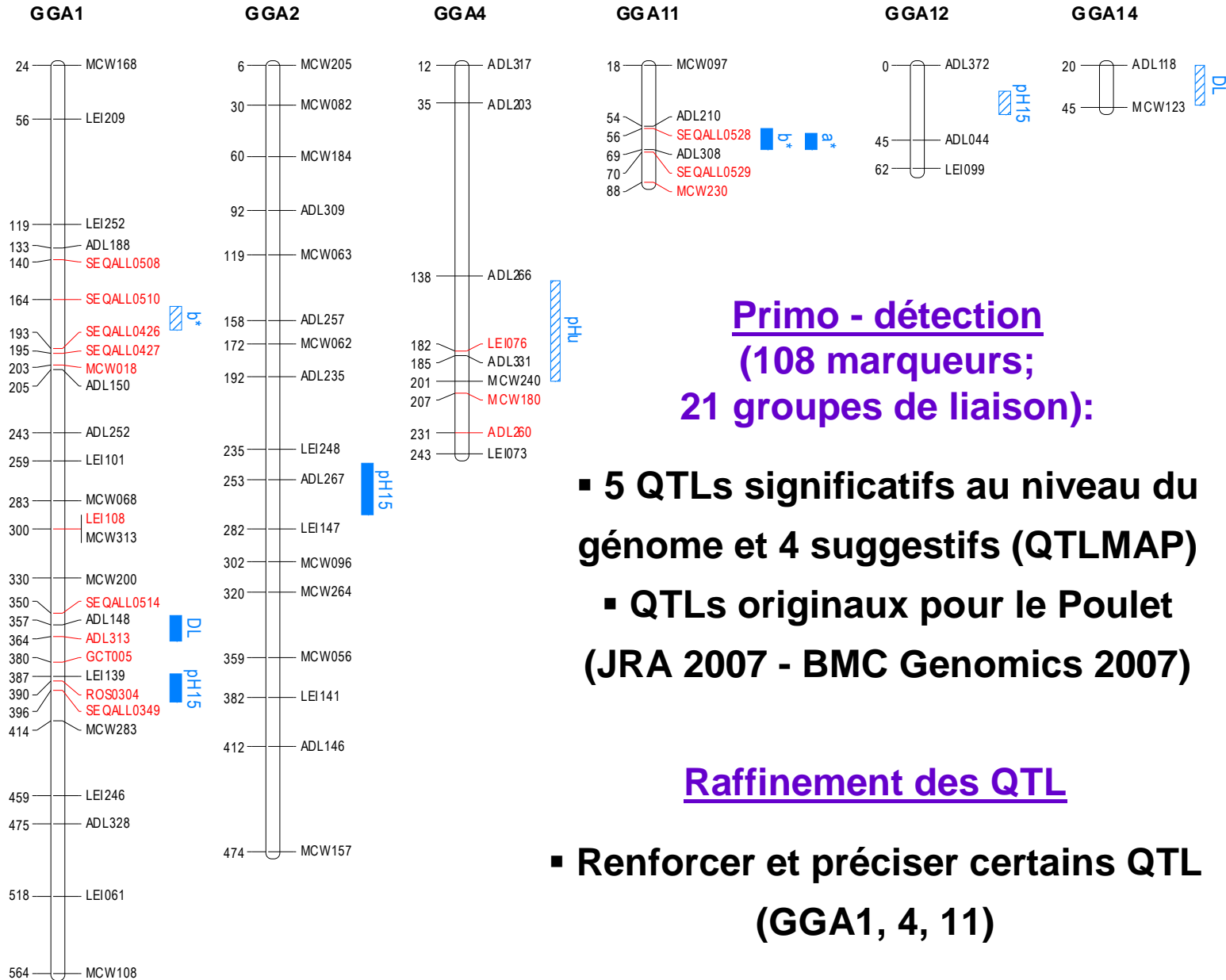
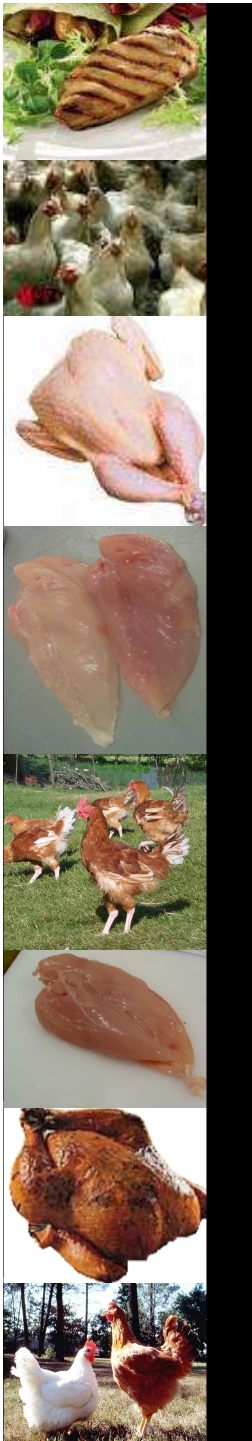
|      |      |      |
|------|------|------|
| pH15 | 6.20 | 6.33 |
| pHu  | 5.74 | 6.14 |
| L*   | 48.3 | 45.6 |
| a*   | -0.2 | 1.6  |
| b*   | 9.4  | 13.3 |



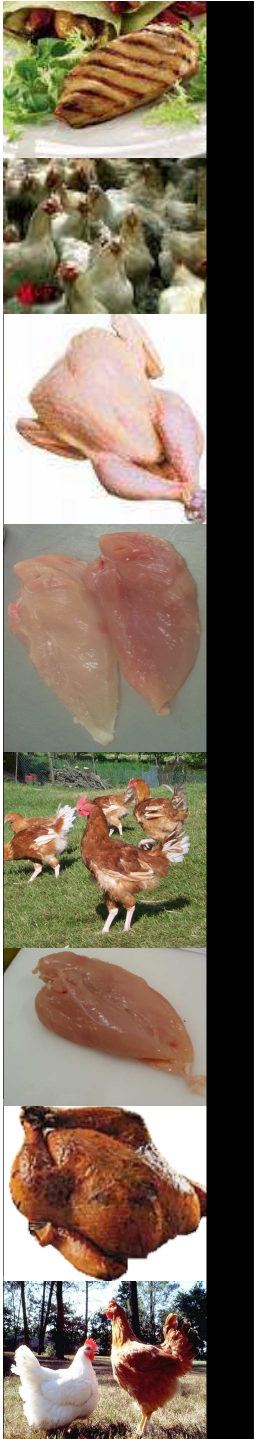
Ricard, 1975

## Chez les F2 (698):

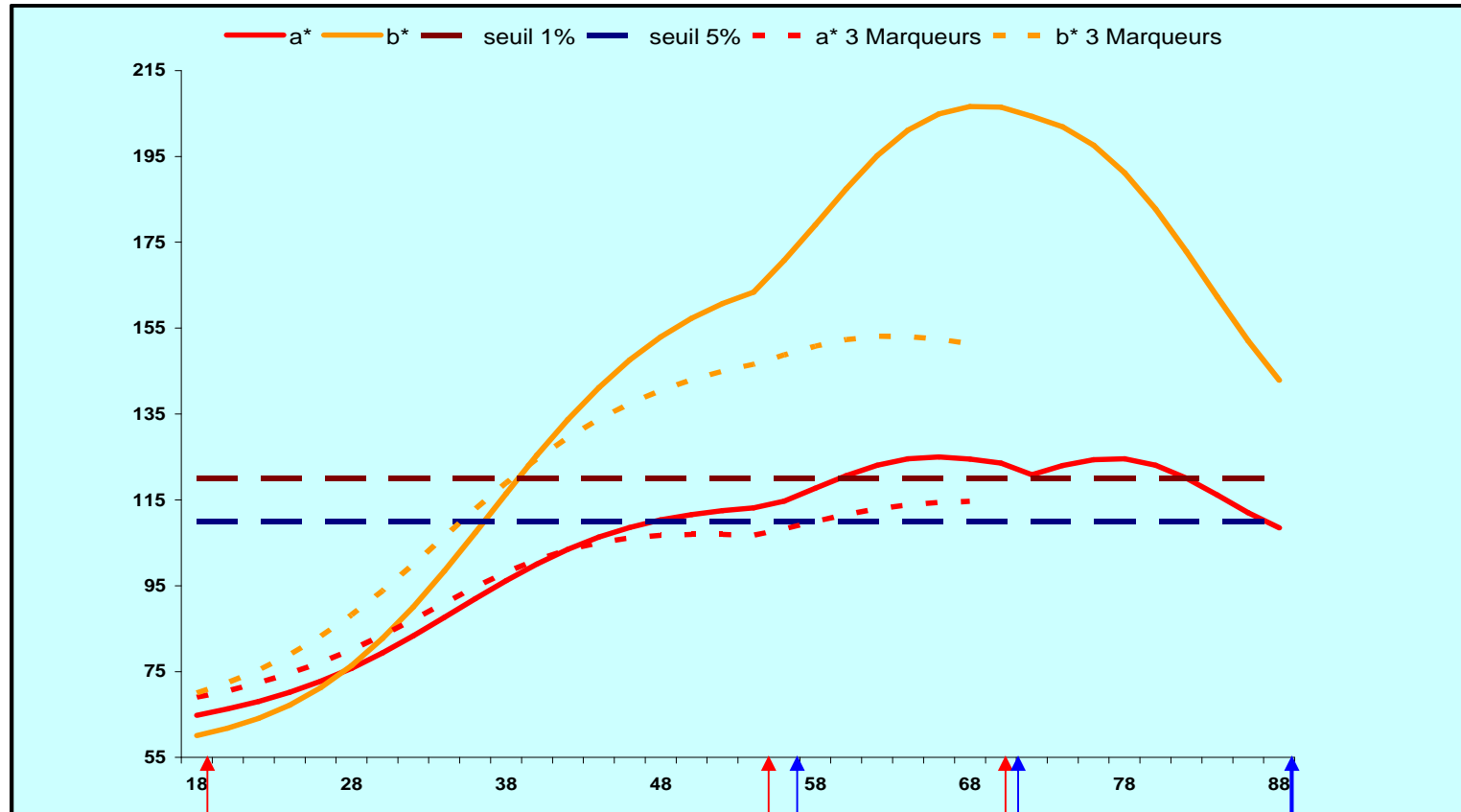
- Poids : 697 g – 1666 g
- % Gras abd. : 0 – 4.8
- pHu : 5.53 – 6.44
- Jaune : 9.1 – 17.6







## GGA11: QTL hautement significatif pour la coloration jaune du filet

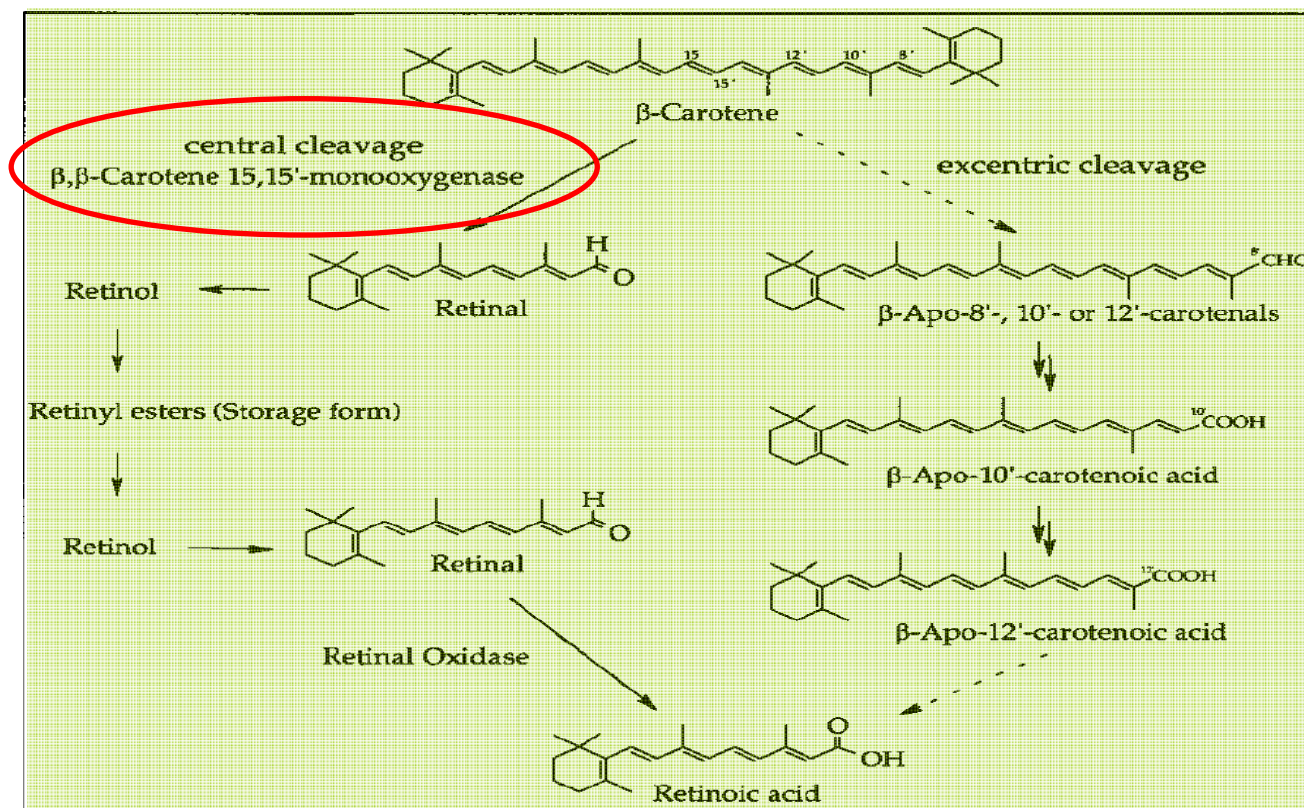


- 5 pères F1 hétérozygotes au QTL
- Effet positif de l'allèle transmis par la lignée CL

I2

## Approche gène candidat

- gène BCMO1 ( $\beta$ - $\beta$  carotène 15,15' monoxygénase): un très bon candidat fonctionnel



## Diapositive 25

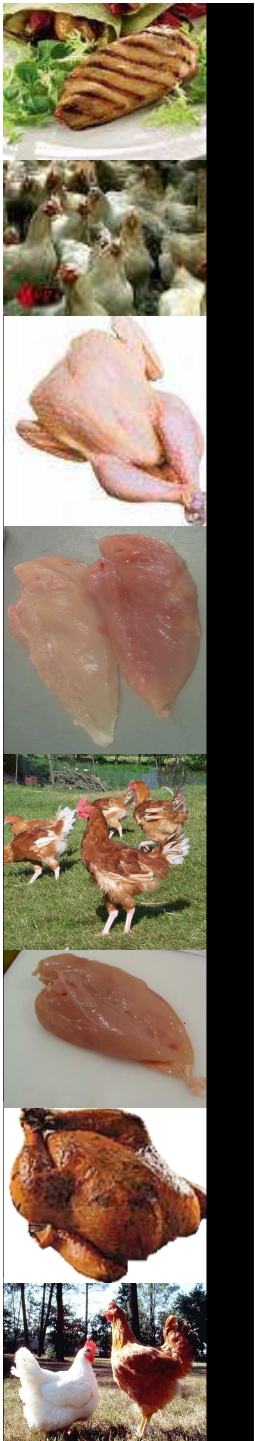
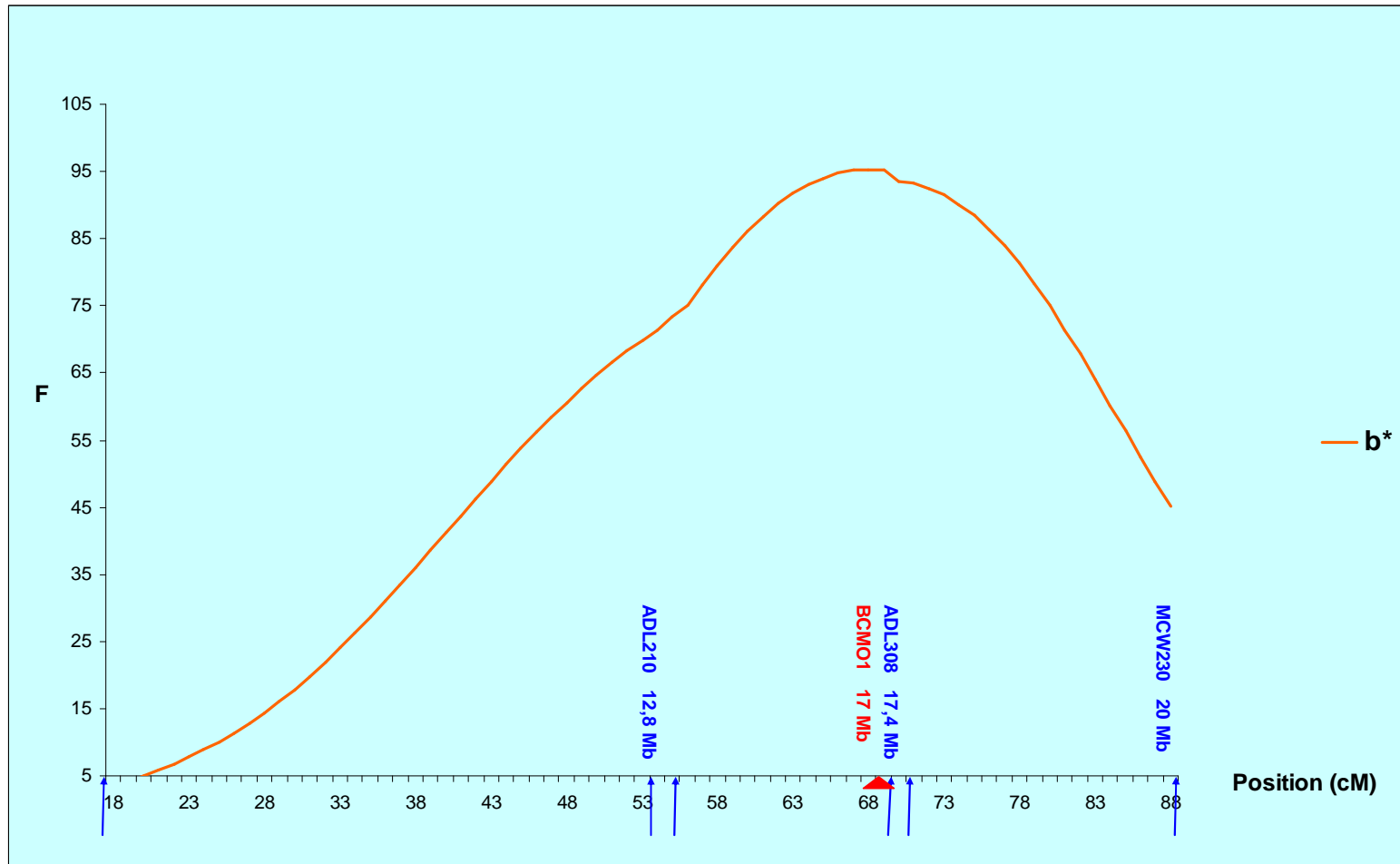
---

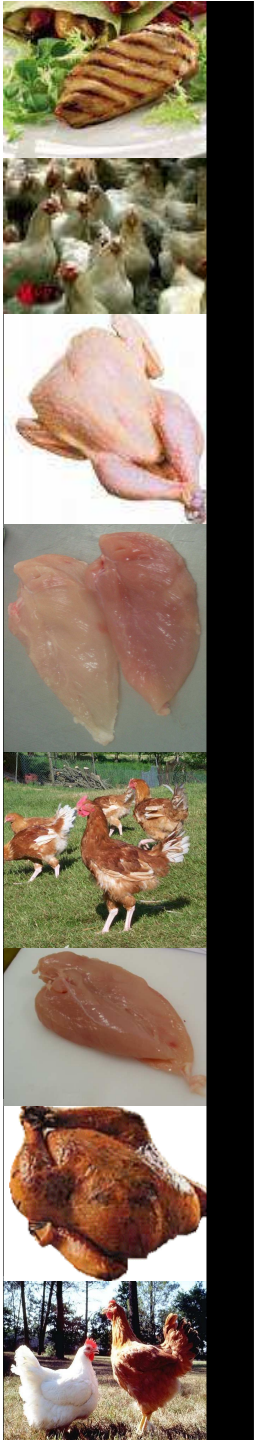
**I2**

INRA; 10/03/2009

# Approche gène candidat

- gène BCMO1: un très bon candidat positionnel

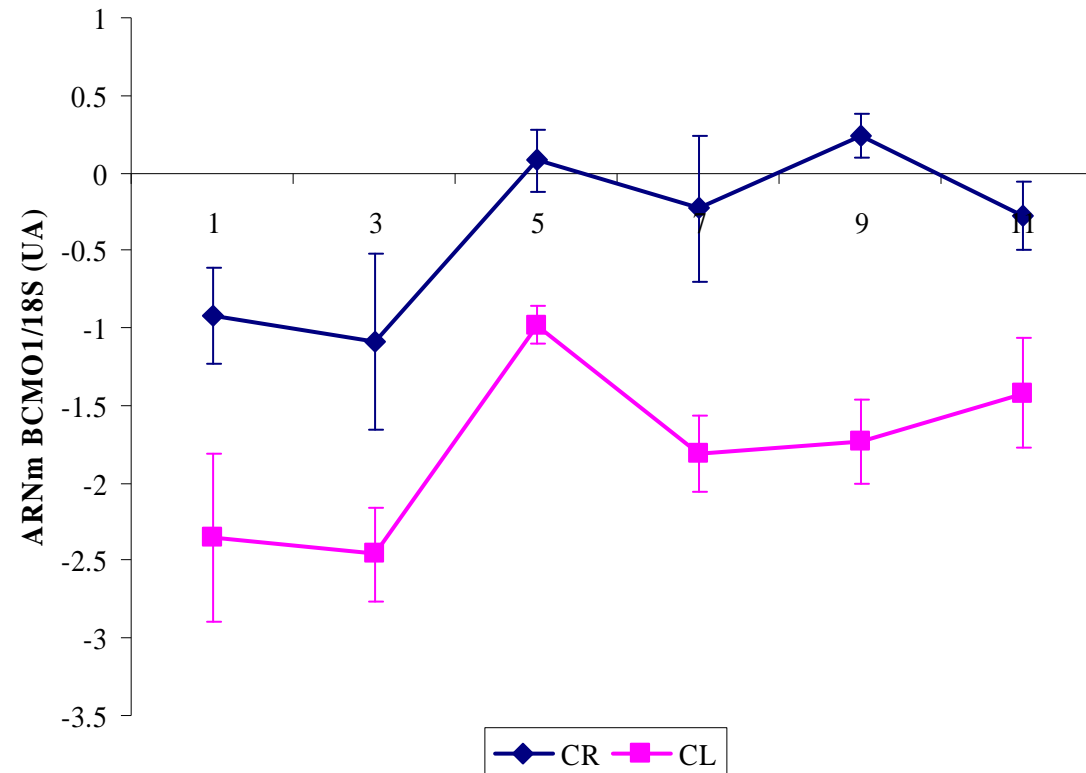


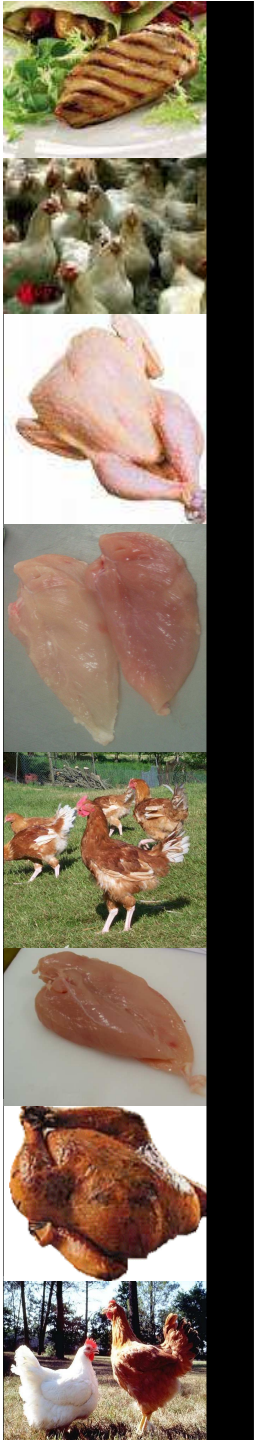


## Approche fonctionnelle: Quantification du niveau d'expression de BCMO1

Niveau d'expression musculaire : CR > CL

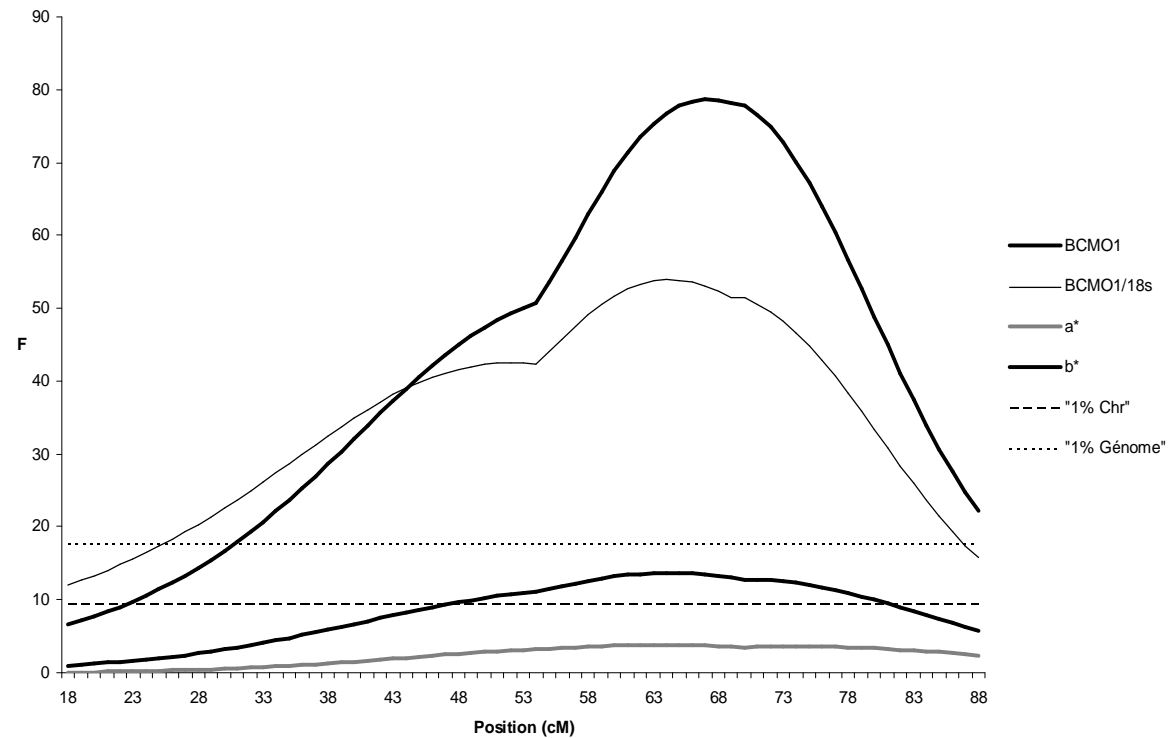
Niveaux relatifs d'ARNm BCMO1/18S  
(unité arbitraire)





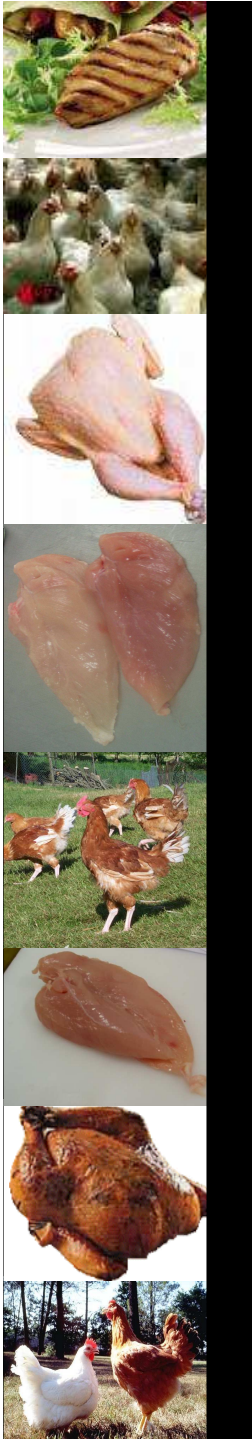
## Détection d'un QTL d'expression (eQTL) pour BCMO1

- 134 descendants F2 d'un même père
- $r$  (expression BCMO1,  $b^*$ ) = - 0.46



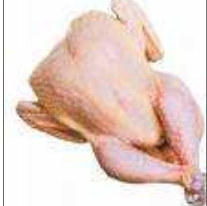
**L'effet du QTL contrôlant la couleur passe par une variation de l'expression de BCMO1**





## Recherche de polymorphismes au sein de BCMO1

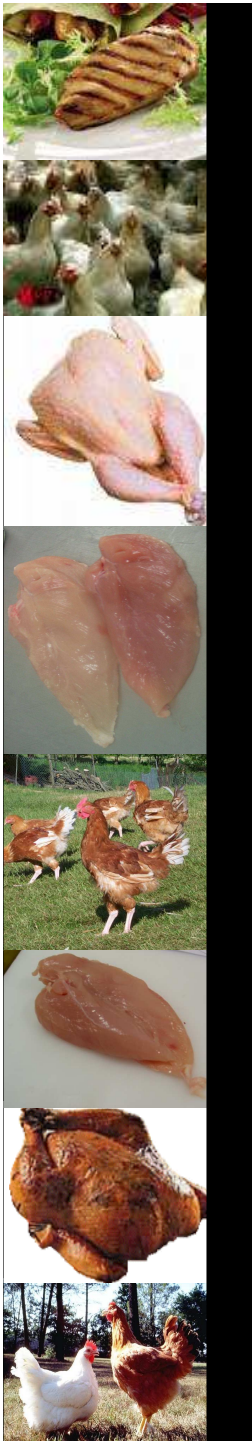
- **BCMO1**: 12 exons, transcrit de 3,046 bps codant pour une protéine de 526 AA.
- Séquençage du gène et de sa partie promotrice (858 pb) chez 5 mâles F1, quelques F0 et F2.
- 23 mutations, 6 hétérozygotes chez 5 pères dont 2 mutations dans le promoteur.
- Rôle fonctionnel sur l'activité du promoteur démontré: mutations causales !!!



## Conclusions et perspectives:

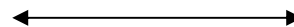
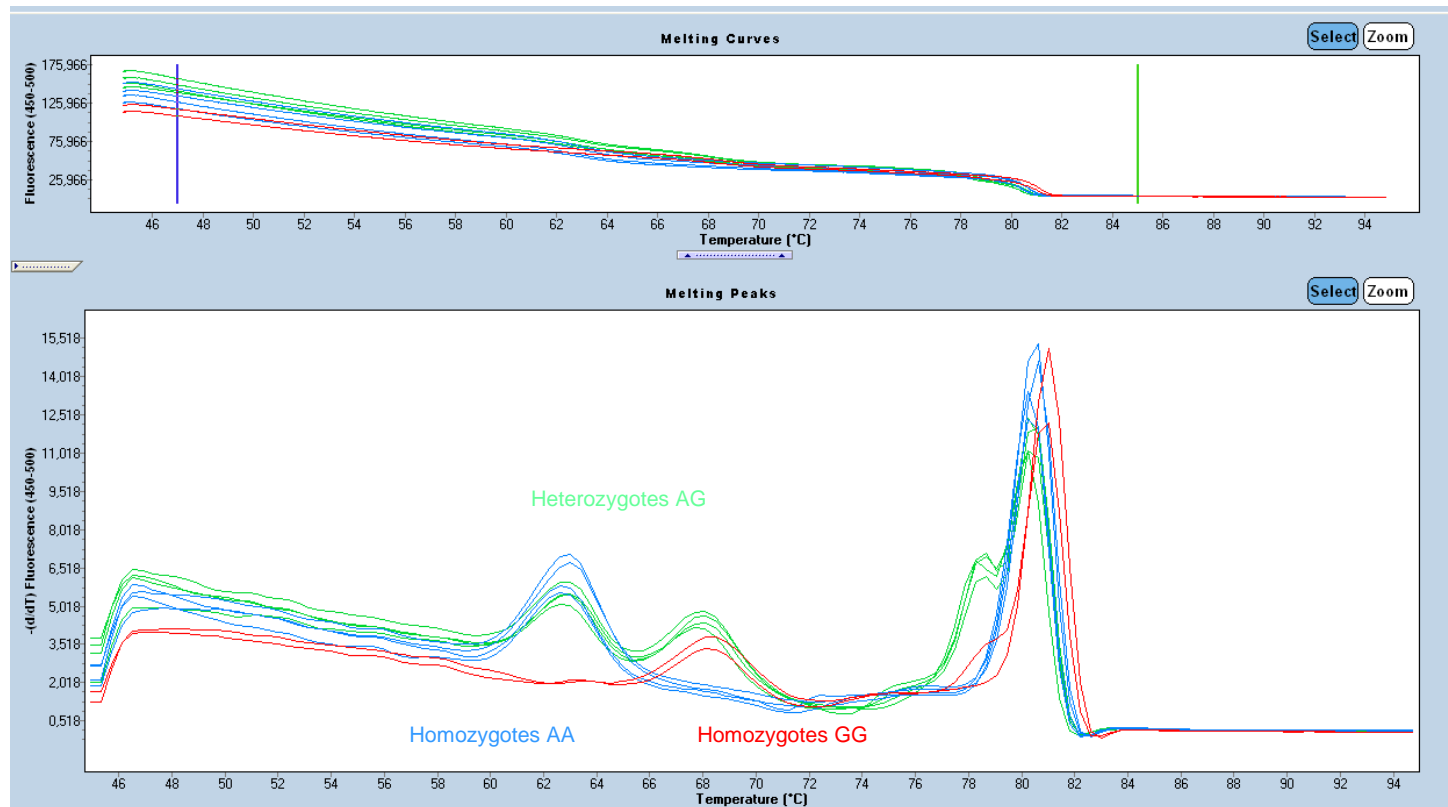
- Réussite liée à la complémentarité des équipes, un intérêt partagé pour le sujet, l'accès et les connaissances des lignées (expertise des sélectionneurs)
- Valider l'intérêt de ce marqueur génétique sur d'autres populations, en particulier commerciales (partenariat). Test génétique (HRM) a été développé ▶
- Préciser effets biologiques du gène (croissance, reproduction...).



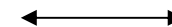


## High Resolution Melting (SNP 2)

- homozygote A/A (probe mismatch) : fluorescence peak at 63 °C
- homozygote G/G (probe perfect match) : fluorescence peak at 68 °C
- heterozygote A/G : fluorescence peaks at 63 °C and 68°C.



Probe dissociation



Fragment dissociation