HAL
open science

Eléments de compréhension de la génétique et génomique dans le contexte de la sélection animale

Sandrine Lagarrigue

► **To cite this version:**

Sandrine Lagarrigue. Eléments de compréhension de la génétique et génomique dans le contexte de la sélection animale. Séminaire génomique Bioporc, Nov 2008, Rennes, France. hal-02813147

HAL Id: hal-02813147

<https://hal.inrae.fr/hal-02813147>

Submitted on 6 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.

Éléments de compréhension de la génomique et de ses applications en sélection

Sandrine Lagarrigue :

sandrine.lagarrigue@agrocampus-ouest.fr

*Professeure de génétique animale à Agrocampus-Ouest Traduction : protéomique
UMR598, Génétique Animale, INRA - Agrocampus Ouest*

Sélection classique

2 types d'information

• Pedigree

• Mesure du caractère d'intérêt

BLUP

Estimation de
la valeur génétique
d'un reproducteur

Sélection des meilleurs

Progrès génétique annuel ΔG
régulier

Intensité de sélection
(coût de la mesure)

Précision de l'évaluation

Variabilité
génétique

$\Delta G =$

$$\frac{i \quad r \quad h \quad \sigma_p}{t}$$

t Temps pour obtenir l'évaluation

Que peut apporter la génomique par rapport à la sélection classique ?

Augmenter le progrès génétique annuel ΔG

$$\Delta G = \frac{i^+ r^+ h \sigma_p}{t^-}$$

Intensité de sélection (coût de la mesure) — i^+ — Précision de l'évaluation — r^+ — Variabilité génétique — $h \sigma_p$ — Temps pour obtenir l'évaluation — t^-

Q1 : Comment ?

Q2 : Pourquoi les applications en sélection ont été limitées ces années 1990s-2000s?

Q3 : Pourquoi elles devraient être plus fréquentes dans les années 2010 s?

Notions de génétique et de génomique

Génétique au niveau de l'individu

• 200 types cellulaires

• Le noyau de ces cellules possède un **génom** identique pour toutes les cellules

ADN :

- 4 bases (b) ATCG
- 1 à 3 milliards de b

• Le génome est organisé en **chromosomes** qui sont par paire

• **Un locus** = une position dans le génome

→ 2 formes par locus (**allèle**) :

A1 : ATCGTGT**A**GTGGT...

A2 : ATCGTGT**G**GTGGT...

A1A1 : **homozygote**

A1A2 : **hétérozygote**

• Les locus peuvent :

- **coder des protéines** (gènes) : ~ 40 000 gènes
5% du génome

- être « non codant »
95 % du génome

Nombre de chromosomes variable selon l'espèce

Homme 2 x 23 - Rat 2 x 21

Porc 2 x 19 - Poulet 2 x 39

The karyotype shows 23 pairs of chromosomes. Pairs 1-22 are autosomes, and the 23rd pair consists of the sex chromosomes (X and Y).

Même position des locus chez les individus d'une espèce

Génotyper un individu à un locus ? Connaitre les 2 allèles qui le composent

Un individu a de bonne chance d'être **hétérozygote** à un locus
Si ce locus présente **différents allèles dans la population à des fréq. non négligeables**
→ Un tel locus est dit **polymorphe**

$A_i A_i$: génotype **homozygote**
 $A_i A_j$ ($i \neq j$) : génotype **hétérozygote**

Transmission du matériel génétique à la descendance

Deux individus parents transmettent la moitié de leur matériel génétique à leurs descendants

Polymorphisme
Source 1 de diversité des individus

Haplotypes parentaux
A1B1 **A2B2**

haplotype : combinaison d'allèles portés par différents locus sur un chromosome

La recombinaison : autre source de diversité génétique

Roméo

Individu à $2N$ chromosomes
2 haplotypes

Méiose :
Réplication
Et recombinaison
(crossing-over)

Gamètes à N chromosomes

- 2 haplotypes parentaux
- 2 haplotypes recombines

- Le nombre (ou taux) de recombinaison (r) entre deux locus dépend de la distance qui sépare ces locus

Roméo

Juliette

descendant

Haplotypes recombines

A1B2

A2B1

Haplotypes parentaux

A1B1

A2B2

Recombinaison :

Source 2 de
Diversité
des individus

**Quelques mots sur les locus « codant »
i.e.
les gènes**

Un gène = séquence du génome qui est exprimée dans au moins un type cellulaire (transcrite en ARNm)

Les protéines ont des activités variées

1 cellule

Gène & variation

ADN

Voyons au travers de 2 exemples les conséquences des variations au niveau d'un gène sur la variation d'un caractère

Transcription

ARNm

Traduction

Protéines

Caractère

mesure

Gène & variation

Transcription

Traduction

Processus biologiques

Caractère

Nezer et al., Genetics 2003

Variation de la Masse musculaire

Mc Pherron and Lee, PNAS 1997

Q1 : Comment la génomique peut améliorer l'efficacité de la sélection classique?

En permettant la localisation et l'identification des mutations responsables d'une partie de la variation d'un caractère
= **QTL (Quantitative Trait Locus)**

=> information sur le caractère disponible très tôt dans la vie de l'animal

Génétique des caractères complexes : Modèle polygénique, QTL et gène majeur

Q1 : Comment la génomique peut améliorer l'efficacité de la sélection classique?

Ces informations moléculaires

Progrès génétique

$$\Delta G = \frac{i + r + h \sigma_p}{t}$$

Intensité de sélection (coût de la mesure) — i — Précision de l'évaluation — r — Variabilité génétique — $h \sigma_p$ — Temps pour obtenir l'évaluation — t

- **Caractères dont l'évaluation classique est coûteuse**

- Nécessitant l'abattage de l'animal

(qualité des carcasses, des viandes, ...)

- Difficilement mesurable, par ex. mesure en cage individuelle

(efficacité alimentaire, ...)

- Caractères dépendant du sexe - évaluation des mâles par les apparentés femelles

(taille de portée)

- **Caractères mesurés tardivement** *(longévité, caractères de reproduction,)*

- **Caractères peu héritables** - évaluation classique est peu précise -

(Caractères de reproduction, Résistance à des maladies)

$\uparrow$ i

$\downarrow$ t

$\uparrow$ r

Comment Identifier dans le **génom** des **QTL (Quantitative Trait Locus)** *cad*

des régions et sous jacent des mutations
responsables de la variation d'un caractère

Quelques mots sur les locus « NON codant »

i.e.

Locus « anonymes »

Locus « marqueurs »

Locus « balise du génome »

Recherche de QTL - Outils et principe

Familles

variable pour le caractère d'intérêt
=> Phénotyper les desc. pour le caractère d'intérêt

Carte génétique de l'espèce

= Ensemble de marqueurs positionnés dans le génome :
(Marqueur : locus polymorphe (A1, A2, A3,...))

Objectif : avoir des balises couvrant le génome à pas régulier

Microsatellites: répétition d'un motif de 1 à 4 nt ; multiallélique

A1 : AGGGCATATATATATATAGCAGCATCT (TA)6
 A2 : AGGGCATATATATATATATATATAGCAGCATCT (TA)9
 A3 : AGGGCATATATATATATATATATATATATAGCAGCATCT (TA)11
 A4 : AGGGCATATATATATAGCAGCATCT (TA)5

Année fin 90s : Recherche de QTL - Réalisations

Réalisations 1995-2005

100^{aines} de QTL localisés

- tout caractère
- toute espèce
(bovin, porc, volaille, ...)

Applications

SAM (1)

Sélection assistée par marqueurs

Q2 : Pourquoi les applications en sélection sont encore limitées ?

Année fin 90s : Recherche de QTL - Réalisations

Réalisations 1995-2005

100^{aines} de QTL localisés

- tout caractère
- toute espèce
(bovin, porc, volaille, ...)

Applications

SAM (1)

Sélection assistée par marqueurs

Association préférentielle
entre allèles au marqueur et allèles au QTL
(Déséquilibre de liaison = DL)

Sous
condition

DL total dans la population

~~DL dans la population~~

Cependant situation **RARE !!**

Au cours des générations

lors de la fabrication des gamètes

il y a recombinaison entre les locus marqueur et QTL

et ce d'autant plus que les deux locus sont éloignés

SAM possible intra-famille

Réalisable

- si peu de familles dans la pop. d'intérêt
- si le prix du reproducteur est suffisamment élevé pour absorber les coûts de génotypages aux mq

=> 1ère applications en bovins laitiers

d'où l'intérêt que les marqueurs soient le plus proche possible de la mutation causale

Les solutions

Réalisations 1995-2005

100^{aines} de QTL localisés

- tout caractère
- toute espèce (bovin, porc, volaille, ...)

Applications

SAM

Sélection assistée par marqueurs

Sous condition

Nécessité d'un DL dans la population d'intérêt

Années 90s-2000s
Passage long
2 à 7 ans

Localisation plus fine

SAM 2nde génération

Identification de la mutation

Sélection sur gène
Sélection directe sur la mutation

Q3 . Peut-on faire mieux dans un avenir proche grâce à la génomique ?

Avancées attendues fin des années 2000 :

Densifier les cartes génétiques par l'ajout de nouveaux marqueurs : les SNP

SNP (*single nucleotide polymorphism*) = **mutation au niveau d'une base**

A1 : ATCGTGCTATGACGCTGATGACATTAT
A2 : ATCGTGCTATGATGCTGATGTCATTAT

Marqueurs bi-alléliques

Mais bcp plus nombreux dans les génomes que les microsatellites : **1 SNP / 1000 nt**

⇒ Identification devenue possible grâce aux évolutions des tech. de séquençage qui ont permis une baisse drastique des prix

~1 milliard de nucléotides

Méthode « Sanger »

- Plusieurs mois
- Qq millions de \$

Méthode « pyroséquençage »

- en qq jours,
- Qq dizaines de milliers \$

• Programme d'identification de ~50 000 SNP dans différentes espèces animales (bovin, porc, poule)
Par réséquençage de fragments du génome chez différents individus de populations différentes de l'espèce

Les avancées de ces dernières années

1- De plus en plus d'espèces à génome séquencé

- Poulet (2004)

Bovin

Cheval ...

accès à la séquence

=> prédiction des gènes

Étapes de séquençage de génomes complets

1 – Construction de banque de grands fragments
(=> banque de BAC)

((2 –contig de BAC)
Identification des BAC qui se chevauchent grâce à la présence de marqueurs communs))

3 – Séquençage

4 – Assemblage (bioinformatique)

5 – prédiction de gènes (bioinformatique)

Porc

séq 1 ...TAAGTCTGATCGGGATCCNGCCAC
seq 2 TGTAGTAGATATTGTCATCGCA...
seq 3 ATCCNGCCACTGCAGTGTGATGTAGTAGATATT
Assemblage ...TAAGTCTGATCGGGATCCNGCCACTGCAGTGTGATGTAGTAGATATTGTCATCGCATCGCA...

LOC728979 ← ← LOC645261 ← ← LOC644285 33 CCNH
RASA1 →

Bovin
Poule
Cheval

Les difficultés, aujourd'hui

1- Nombreux gènes à fonction inconnue !

=> 2/3 des gènes prédits

Les difficultés, aujourd'hui

1- Nombreux gènes à fonction inconnue !

Les avancées attendues

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

Les difficultés, aujourd'hui

1- Nombreux gènes à fonction inconnue !

2- 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

Les avancées attendues

Observer les événements biologiques intermédiaires entre les variations du génome et les variations du caractère
Devenue possible grâce à la Génomique fonctionnelle

Qu'est ce que la génomique fonctionnelle ?

Transcriptome - Principe

L'intensité d'un spot est proportionnelle au niveau d'expression d'un gène précis pour un tissu d'un animal donné

Photo de l'expression des gènes (au niveau ARNm) d'un tissu d'un individu à un stade physiologique précis

Illustration d'une application possible

Approche
QTL

QTL identifiés
pour un caractère
(couleur de la viande)

gene

ARNm

proteine

comparaison de l'expression des gènes
entre **muscles** de 2 groupes d'animaux
Viande pâle et **viande colorée**

ARNm :
Transcriptome

Protéines :
Proteome

→ Identification de gènes différentiels en expression

-
+

+
-

Transcriptome - Outils disponibles

Puces à ADN pan-génomique :

- puce académique à 20 000 gènes : 50 E
- puce commerciale (Affymetrix) à 40 000 gènes : 300 E (1)

• Alternative à venir : séquençage à haut débit d'ARNm tout venant

=> permet de quantifier les niveaux d'expression des gènes assez exprimés

=> permet de s'affranchir de l'outil « puce à ADN »

**Les difficultés, début des années 2000,
sont donc peu à peu levées cette fin des années 2000
=> Nouveaux outils disponibles**

**Puce à ADN pour
génotyper des milliers de SNP**

**Puce à ADN pour
phénotyper l'expression de milliers de gènes**

Perspectives

- **Acquisition d'outils et de savoir-faire en génomique structurale & fonctionnelle**
+ Travaux sur les organismes modèles
fournissant de nouvelles sources d'information (fonction des gènes)

**=> devraient accélérer l'identification de mutations causales
& donc les applications de la sélection sur gène**

*Il existera toujours des cas difficiles :
la complexité des mécanismes de régulation étant bien supérieure à ce que l'on pouvait
imaginer il y a qq années encore !*

Importance des collaborations avec les professionnels des filières

- => pour cibler les caractères les plus stratégiques pour les filières
- => pour travailler directement sur les populations commerciales
- => pour mesurer un maximum de caractères (caractères classiques, caractères plus élémentaires comme des mesures de métabolites, hormones...)

Autres applications possibles

Améliorer de plus en plus de caractères qui visent des objectifs de plus en plus variés :

Voie génétique
(sélection ou croisement)

Conditions d'élevage
(alimentation, santé, bâtiments, ...)

2 types d'information

• *Pedigree*

• *Mesure du caractère d'intérêt*

Retour au génome
d'intérêt
(introgression)

Contrôle de
filiation

Détection de QTL
+

Genome wide selection

(cf. conférence de
Didier Boichard)

Meilleure connaissance
des voies métaboliques
responsables des caractères
pouvant offrir de
nouvelles voies de maîtrise
des caractères (nutrition...)

génomique

Aval des filières:
Diagnostic
des propriétés des produits
pour une meilleure orientation
de leur utilisation

Remerciements

Laboratoire de Génétique Cellulaire, INRA-Toulouse

Juliette Riquet

Frédérique Pitel

Unité de Recherche Avicole, INRA-Tours

Elisabeth Lebihan-Duval

UMR de génétique animale, INRA- Agrocampus Rennes

Pascale Le Roy

Olivier Demeure

**Formations continues annuelles proposées par
l'UMR à Agrocampus Rennes**

- Analyse génétique de caractères complexes (3j) : 8-10 oct. 2008
- Analyse QTL (4j) : 13 - 16 oct. 2008
- Analyse statistique de données transcriptomiques (5j) : 19-23 janv. 2009

Merci de votre attention

Annexes

Nécessité d'outils lourds à développer (long et coûteux) Engagement fort de l'INRA en lien avec les professionnels

A.G.E.N.A.E

Analyse des GENomes des Animaux d'Elevage
(Moyens financiers, humain et Infrastructures)

Génomique structurale (connaissance des génomes)
→ Recherche de rég. QTLs

Années 90s
Développement des **cartes génétiques**
(marqueurs **microsatellites**)

Se poursuit avec le
Développement de **SNPs**

Travaux de **cartes comparée**
entre espèces 'phares'
et autres espèces

Méthodologie
« **recherche de QTL et eQTL** »
(Généticiens quantitatifs)

Bovin

Porc

poulet

truite

Génomique fonctionnelle
(**Transcriptome**)

début 2000s
Développement de **Puces à ADN**
ou **micro-array**

début 2000s
Développement d'outils
pour la localisation des gènes :
Développement
de cartes d'hybrides irradiés

Modèle polygénique

Majorité des caractères complexes répondent à un modèle génétique « Mixte », mélange de polygénique et de QTL à moyen ou fort effet (gène majeur)

Nombre de locus

Polygène

Gène à effet individualisable

QTL

Gène majeur

Modèle monogénique

Effet

Panel d'hybrides irradiés

Fragmentation des chromosomes de l'espèce d'intérêt par irradiation

Fusion

lignée receveuse (fibroblastes hamster)

Carte d'hybrides irradiés

Principe :

Plus les loci sont proches, plus ils ont de chance de ne pas avoir été séparés lors de l'irradiation

En amplifiant ce loci par PCR dans l'ensemble des clones du panel on obtient des profils qui permettent d'ordonner les loci entre eux

Clones :	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15		90	91	92
Gène 1:	-	-	-			-		-		-		-		-	-				-
Gène 2:	-	-	-			-		-		-		-		-	-				-
Gène 3:	-	-	-					-		-		-		-	-				-
Gène 4:					-				-		-		-	-			-		-

Les distances sont exprimées en **centi Rays (cR)**

⇒ **plus besoin d'être polymorphe** pour être localisé, mais **besoin d'information de séquence**

Étapes de séquençage de génomes complets

1 – Construction de banque de grands fragments
(=> banque de BAC)

((2 –contig de BAC)
Identification des BAC qui se chevauchent grâce à la présence de marqueurs communs))

3 – Séquençage

4 – Assemblage (bioinformatique)

5 – prédiction de gènes (bioinformatique)

séq 1 ...TAAGTCTGATCGGGATCCNGCCAC
seq 2 TGTAGTAGATATTGTCATCGCA...
seq 3 ATCCNGCCACTGCAGTGTGATGTAGTAGATATT
Assemblage ...TAAGTCTGATCGGGATCCNGCCACTGCAGTGTGATGTAGTAGATATTGTCATCGCATCGCA...

← LOC728979 ← LOC645261 ← LOC644285 50 CCNH
→ RASA1

Evolution rapide des connaissances des génomes

Complémentarité des approches

Exemple de la poule

Carte Génétique (cM) & Marqueurs

Carte d'Hybrides irradiés (cR) & Banque d'ADNc / ESTs

Séquencage complet d'un génome (Mb) & banque de BAC

Les avancées de ces dernières années

1- De plus en plus d'espèces à génome séquencé

Génomique comparative (cartes comparées)

- Transposer les connaissances des espèces modèles aux espèces d'intérêt
- Similarité de l'organisation des génomes et donc de l'ordre des gènes entre espèces.
- Nécessité de points d'ancrage

2- Espèces à génome non séquencé

Génomique comparative

À partir de peu de gènes localisés dans l'espèce d'intérêt, la carte comparée permet d'émettre des hypothèses fortes sur la localisation de nombreux gènes

4 gènes poule

L'utilité de la génomique comparative est directement dépendante du nombre de points d'ancrage localisés

Les techniques de génotypages

Et dans quelques temps ...

- Cela dépendra des **évolutions de prix**
- Microsatellites : **150 € / animal** pour 110 marqueurs
- SNP Goldengate : **180 € / animal** pour 4500 SNP
- SNP Infinium : **165 € / animal** pour 7600 SNP
- A terme **200 € pour 1 million de SNP**
- Les choix dépendront :
 - de la baisse des prix pour les plus petites échelles (Véracode : 17 € pour 384 SNP)
 - De la mise en place de solutions commerciales abordables et génériques

Génotypage à haut débit

**Génotype d'un individu
pour des dizaines de milliers de locus**

Techniques lecture 60000 locus

Mutations causales : quelques références

Complexité bien supérieure à ce que l'on pouvait imaginer il y a quelques années encore

- miRNA
- Epigénétique (structure 3D du génome, imprinting...)
- Epistasie
- ...

Mutations causales : quelques références

Actuellement, les qq mutations identifiées l'ont été dans des cas assez simples :
La complexité des mécanismes de régulation est bien supérieure à ce que l'on pouvait imaginer il y a qq années encore !

- *Rôle des miRNA (Texel chez la brebis)*
- *Mécanisme d'épigénétique (Callipyge chez la brebis à empreinte parentale)*
- *Quid des régions non codantes (95% du génome) ?*
- *Quid des interactions entre gènes (épistasie) ?*
- *Quid des interactions « gène - environnement »?*

Transcriptome - Principe

L'intensité d'un spot est proportionnelle au niveau d'expression d'un gène précis pour un tissu d'un animal donné

Photo de l'expression des gènes (au niveau ARNm) d'un tissu d'un individu à un stade physiologique précis

Accélération de la découverte du gène causal dans les régions QTL

**Approche 1 : relier l'information « transcriptome » et « QTL »
acquise pour un même caractère dans un même dispositif**

Accélération de la découverte du gène causal dans les régions QTL

Approche 2 : utiliser les niveaux d'expression des gènes comme des caractères et faire une analyse de liaison « marqueur / caractère »

Schadt et al
Nature 2003

**Recherche
de eQTL**

Marqueurs
liés à l'expression de gènes
(transcriptome)

eQTL

**Recherche
de QTL**

Marqueurs
liés au
caractère

QTL

Fonction

Position

Gènes candidats positionnels et fonctionnels
TRES sérieux (gène responsable des profils d'exp. observés)

Sélection sur tout le génome

- La disponibilité à très haute densité de marqueurs SNP ouvre la voie à la “sélection sur tout le génome” (*genome wide selection*)
=> sélectionner les individus uniquement sur l’information moléculaire de type marqueurs à l’échelle du génome entier

Question posée : *Pourra-t-on un jour se passer de mesures phénotypiques pour l’évaluation des reproducteurs ?*

→ encore nouveau : 1^{ers} travaux en Bovins lait

→ nouveau challenge pour les généticiens quantitatifs et les sélectionneurs

à suivre de près... (cf. conférence de Didier Boichard)

Annexes

La méiose

INDIVIDU
Cellules à 2 x N chr.

4 gamètes
à N chr.

GAMETE

La recombinaison : source de brassage génétique

Roméo

Individu à $2N$ chromosomes
2 haplotypes

Gamètes à N chromosomes

- 2 haplotypes parentaux
- 2 haplotypes recombines

- Le nombre (ou taux) de recombinaison (r) entre deux locus dépend de la distance qui sépare ces locus