



➤ POLymorphismes CANDidats de la CALcification de la coquille de l'Œuf de poule (POLCACAO)

C. Diot, F. Hérault, P. Le Roy, J. Gautron, T. Moreau, T. Burlot

## ➤ POLCACAO

# POLymorphismes CAndidats de la CALcification de la coquille de l'Œuf de poule (POLCACAO)

## Appel à projet AGENAVI 2018



C. Diot, F. Hérault, P. Le Roy  
Equipe GG



J. Gautron, T. Moreau  
Equipe DOVE



T. Burlot  
Directeur R&D



INRAE

Titre de la présentation

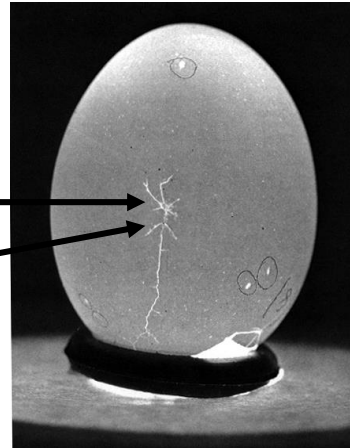
Date / information / nom de l'auteur

## ➤ POLCACAO

Objectif : Améliorer la qualité de la coquille

- Coquille : **barrière** physique contre la pénétration bactérienne
  - Sécurité alimentaire

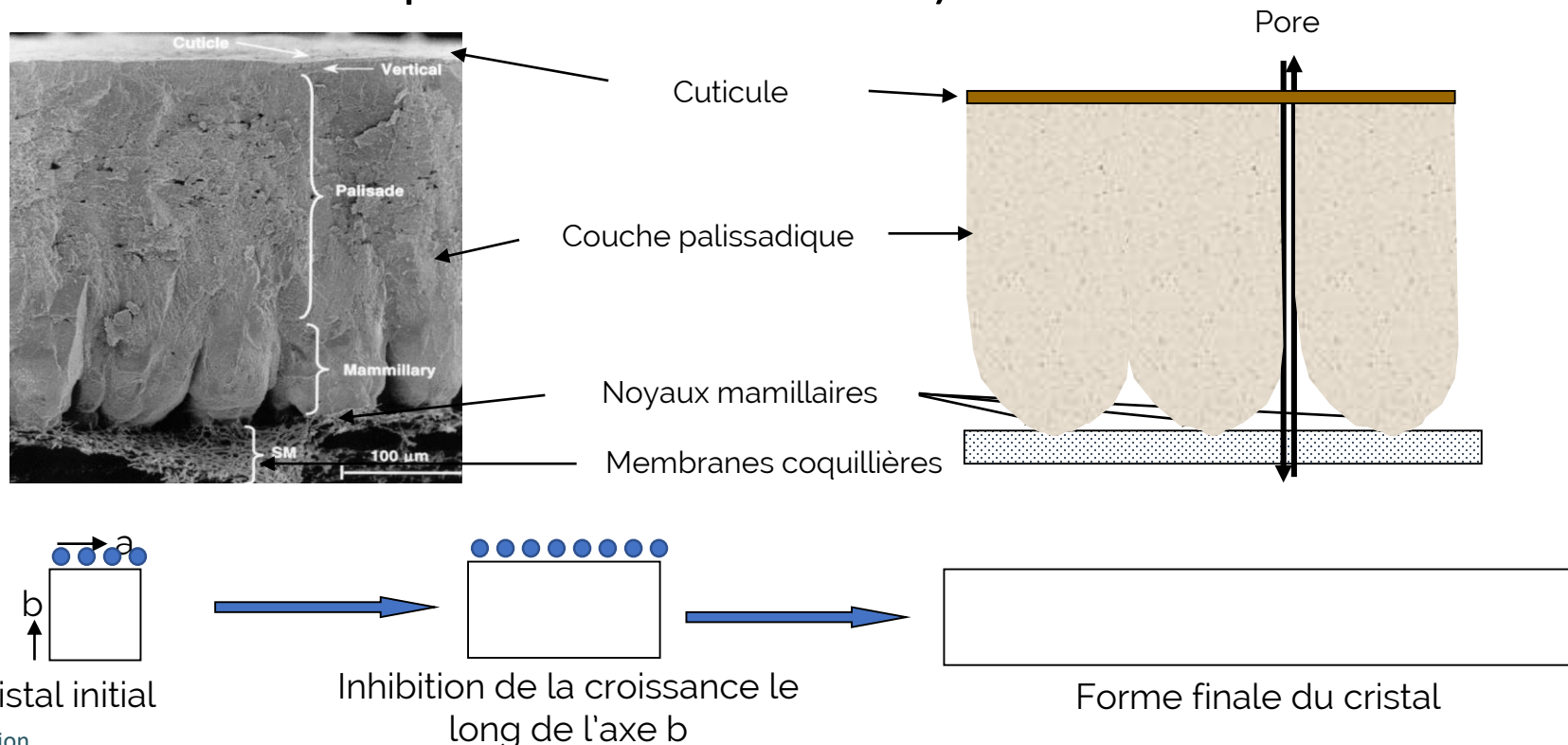
Apparition de fêlures  
Pénétration de bactéries



## ➤ POLCACAO

Objectif : Améliorer la qualité de la coquille

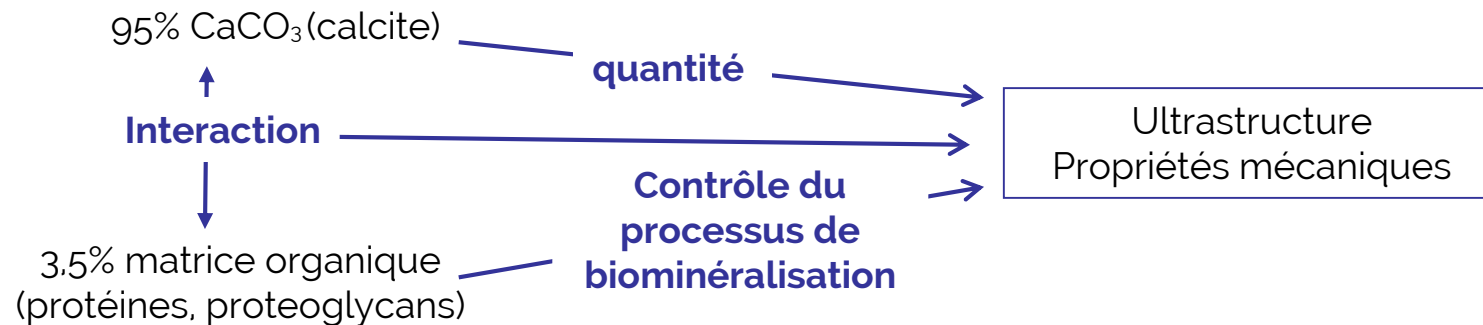
- Coquille : barrière physique contre la pénétration bactérienne
- Formation : processus de **biominéralisation** (le plus rapide du vivant, 5-6 g de biominéral déposé en 17-18 heures)



## ➤ POLCACAO

### Objectif : Améliorer la qualité de la coquille

- Coquille : barrière physique contre la pénétration bactérienne
- Formation : processus de biominéralisation (le plus rapide du vivant, 5-6 g de biominéral déposé en 17-18 heures)
- **Composition**



## ➤ POLCACAO

Objectif : Améliorer la qualité de la coquille

**Facteurs influençant** la qualité de la coquille et son intégrité :

- Chocs physiques : système d'élevage, transports...
- Environnement : nutrition, conditions d'élevage de la poule (lumière, température...)
- Physiologie, notamment biominéralisation (âge/allongement de la période de ponte)
- Génétique
  - depuis les années 50, forte sélection sur la résistance à la rupture
  - depuis les années 2000, sélection en relation avec l'allongement de la période de ponte

# ➤ La coquille, cruciale pour la sécurité alimentaire du consommateur

## Améliorer la qualité de la coquille : **collaboration**



### Physiologie

Comprendre les mécanismes de fabrication de la coquille et déterminer l'origine de ses faiblesses



**NOVOGEN**

Prendre soin de la vie



### Génétique

Déterminisme génétique  
Sélection génomique



**PEGASE**  
Au cœur de la recherche  
et de la formation  
en production animale

### Sélection

Sélection classique et génomique

POLymorphismes CANDidats de la CALcification de la coquille de l'Œuf de poule (POLCACAO)

Financement AGENAVI

Gènes CANDidats de la CALcification de la coquille d'Oeuf chez la poule pondeuse (CACAO)

CI Phase GA, financé uniquement par GA

**INRAE**

Titre de la présentation

Date / information / nom de l'auteur

## ➤ POLCACAO

Objectif : Améliorer la qualité de la coquille

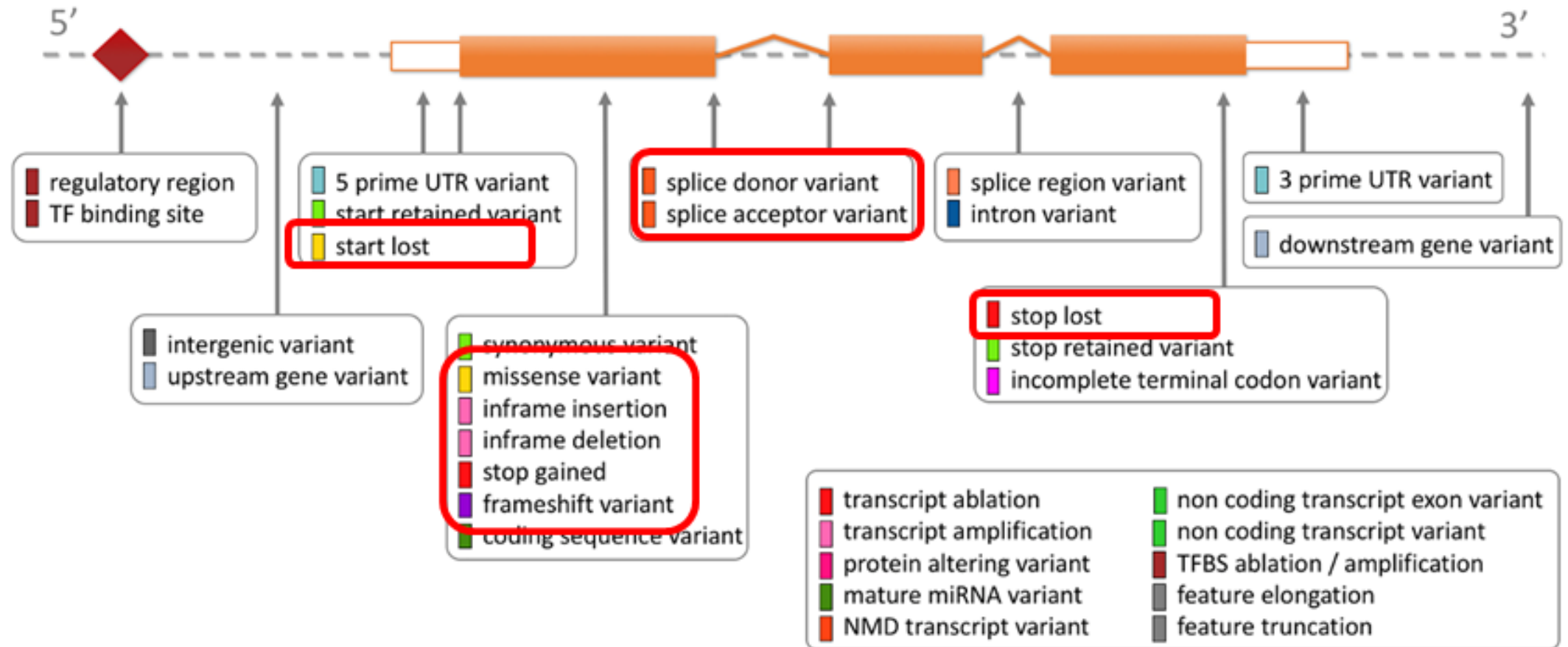
### 3 tâches :

1. Identifier des **polymorphismes délétères** dans des **gènes candidats**, codant des protéines impliquées dans la **calcification de la coquille**
2. Choisir **6 polymorphismes délétères**
3. Etudier leurs **effets** dans 3 populations différentes (chair, ponte, sauvage)  
Etudier **l'expression et la fonction** des gènes/protéines portant ces polymorphismes



## ➤ Polymorphismes délétères

Susceptibles d'affecter la structure et la fonction de protéines



## ➤ Gènes candidats

- 333 Gènes impliqués dans la calcification

Ensembl_gene_id	Entrez_GeneID	Gene_symbol
ENSGALG00000000085	419514	GFPT1
ENSGALG00000000119	419515	GKN2
ENSGALG00000000318	396176	CSRP1
ENSGALG00000000357	419529	ADAM28
ENSGALG00000000362	NA	NAV1
ENSGALG00000000426	419359	IGSF21

- 225 Protéines différentiellement abondantes *in utero* pendant la minéralisation de la coquille

EntrezGene.Id	GI.numbers	Protein.symbol	Description
769237	gi 513161894	ABI3BP	ABI family, member 3 (NESH) binding protein
776390	gi 118086124	ACPP	acid phosphatase, prostate
421534	gi 71894831	ACTA1	actin, alpha 1, skeletal muscle
NA	gi 63018	Act-beta	beta-actin
424956	gi 50752381	AHSG	alpha-2-HS-glycoprotein
396197	gi 45383974	ALB	albumin

=> Liste (non redondante) de 494 gènes candidats



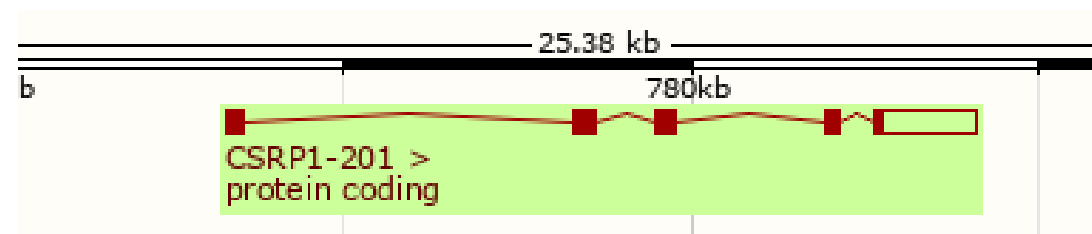
## ➤ A) Localisation des gènes candidats dans le génome

- 494 gènes candidats (gènes calcification et/ou protéines différentielles)
  - **465 localisés** dans le génome (Ensembl Genes 94 / Gallus\_gallus-5.0)

=> Position du gène (chromosome, début et fin)

Ensembl Id	Entrez Id	Gene	Description	Chrom	Start	End	Strand
ENSGALG00000036391	419514	GFPT1	glutamine-fructose-6-phosphate transaminase 1 [Source:HGNC Symbol;Acc:HGNC:4241]	22	117455	145268	1
ENSGALG00000039187	419515	GKN2	gastrokine 2 [Source:HGNC Symbol;Acc:HGNC:24588]	22	268677	272038	1
ENSGALG00000000318	396176	CSRP1	Cysteine and glycine-rich protein 1 [Source:UniProtKB/Swiss-Prot;Acc:P67966]	26	512935	772333	1

=> structure du gène (promoteur, **exons**, parties codantes, introns, ...)



## ➤ B) Identification de polymorphismes délétères dans différentes populations

Dans les séquences du projet 1000 génomes gallus

Library	Indiv.	Variant	Deleter
Chickseq (G/M)	24	12 898 316	60 914
Acrogen (pHu)	16	11 465 902	56 851
SABRE (D+/D-)	6	9 187 271	45 296
➔ Utopige (Rhodes-island)	90	8 694 785	52 200
FEEDaGENE (R+/R-)	19	7 121 799	37 016
Epibird (R-/L6/ R-xL6)	12	7 364 408	35 289
QTLDJ (Leghorn)	4	5 795 085	25 847
FEEDaGENE_AgENC. (R+/R-)	4	5 314 924	26 713
Domestic (Diversité)	36	33 410 400	172 344

=> Existence ET position dans le génome de polymorphismes dans différentes populations

## ➤ C) Identification des polymorphismes délétères dans les gènes candidats

- A) Localisation de 465 gènes candidats dans le génome

Ensembl Id	Entrez Id	Gene	Description	Chrom	Start	End	Strand
ENSGALG00000036391	419514	GFPT1	glutamine-fructose-6-phosphate transaminase 1 [Source:HGNC Symbol;Acc:HGNC:4241]	22	117455	145268	1
ENSGALG00000039187	419515	GKN2	gastrokine 2 [Source:HGNC Symbol;Acc:HGNC:24588]	22	268677	272038	1
ENSGALG00000000318	396176	CSRP1	Cysteine and glycine-rich protein 1 [Source:UniProtKB/Swiss-Prot;Acc:P67966]	26	512935	772333	1

- B) Position des polymorphismes délétères dans les 1000 génomes gallus

Library	Indiv.	Variant	Deleter
Chickseq (G/M)	24	12 898 316	60 914
Acrigen (pHu)	16	11 465 902	56 851
SABRE (D+/D-)	6	9 187 271	45 296
Utopige (Rhodes-island)	90	8 694 785	52 200
FEEDaGENE (R+/R-)	19	7 121 799	37 016
Epibird (R-/L6/ R-xL6)	12	7 364 408	35 289
QTLDJ (Leghorn)	4	5 795 085	25 847
FEEDaGENE_AgENC. (R+/R-)	4	5 314 924	26 713
Domestic (Diversité)	36	33 410 400	172 344

=> 4849 polymorphismes délétères identifiés dans 418 gènes candidats



# ➤ Projet CACAO : Gènes CAndidats de la CALcification de la coquille d'Oeuf chez la poule pondeuse

AAP DGA, porteuse P. Le Roy

1. Identifier des **polymorphismes délétères** dans des **régions candidates (QTL)**
2. Génotyper **255 SNP dans 8 lignées** (n=60) de pondeuses de types Rhode Island et White Leghorn
3. Analyser les **associations aux caractères** (poids œuf, diamètre, force fracture, déformation...)



## ➤ Régions candidates

### QTL et GWAS de qualité coquille dans une lignée Novogen

- Régions identifiées sur des performances d'individus croisés :
  - 126 QTL performance et 130 QTL de variance (UtOpIGe, Romé et al., 2015)
  - GWAS à 50 et 70 semaines (Thèse David Picard-Druet)
- QTL identifiés sur des performances d'individus purs :
  - GWAS à 50 et 70 semaines (Thèse David Picard-Druet)

## ➤ Polymorphismes délétères dans des régions candidates

### Polymorphismes délétères

=> 5607 loci dans des régions QTL/GWAS (1560 gènes)

=> 566 loci dans 44 gènes candidats localisés dans des QTL

### Sélection de 255 polymorphismes délétères

- 240 SNP + 15 INDEL
- 46 gènes, dont **34 gènes candidats**
- 17 chromosomes (1 – 10, 12, 13, 19, 20, 21, 24, Z)

Génotypage par re-séquençage d'amplicons (300-400 bp), Plateforme Génome-Transcriptome de Bordeaux (PGTB) (693 loci identifiés)

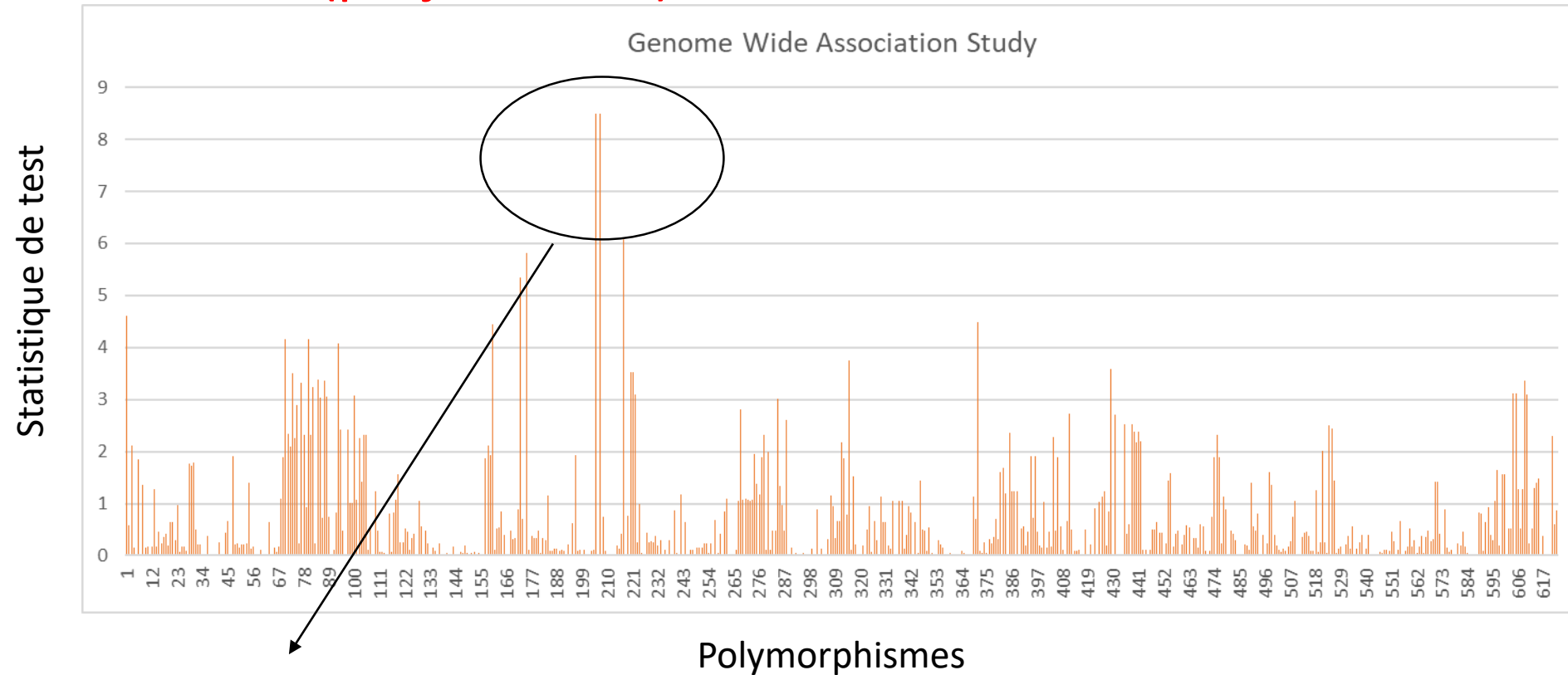
### Analyses associations





## ➤ Ex : Polymorphismes délétères dans des régions candidates

### Associations (projet Cacao)



19 5192798 rs431849830 T A 999.0 NA

ANN=A | stop\_gained | HIGH | MYO1C | ENSGALG00000002709 | transcript | ENSGALT00000062318.1 | protein\_coding | 25/29 | c.2527A>T | p.Arg843\* ... VARTYPE=SNP SNP 0.11 0.85 1 1 0.22 0.19 0.24 0.26

## ➤ POLCACAO

Objectif : Améliorer la qualité de la coquille

3 tâches :

1. Identifier des **polymorphismes délétères** dans des **gènes candidats**, codant des protéines impliquées dans la **calcification de la coquille**
2. Choisir **6 polymorphismes délétères** (parmi 4849 polymorphismes dans 418 gènes candidats)
3. Etudier leurs **effets** dans 3 populations différentes (chair, ponte, sauvage)  
Etudier **l'expression et la fonction** des gènes/protéines portant ces polymorphismes

## ➤ POLCACAO

Choix de 6 polymorphismes délétères : **en cours**

Basés sur les résultats de la 1<sup>ère</sup> partie de POLCACAO ET du projet CACAO, et en considérant :

- Impact du polymorphisme sur la structure (fonction) de la protéine
- Faisabilité des études “effet des SNP” à l’UE PEAT
  - 3 lignées : pondeuse, chair, « sauvage »
  - 100 homozygotes pour chaque allèle des 6 polymorphismes
- Faisabilité des caractérisations fonctionnelles ultérieures (/DOVE)



## ➤ POLCACAO

Objectif : Améliorer la qualité de la coquille

3 tâches :

1. Identifier des **polymorphismes délétères** dans des **gènes candidats**, codant des protéines impliquées dans la **calcification de la coquille**
2. Choisir **6 polymorphismes délétères**
3. Etudier leurs **effets** dans 3 populations différentes (chair, ponte, sauvage)  
Etudier **l'expression et la fonction** des gènes/protéines portant ces polymorphismes

➤ Merci de votre attention

