

Détection de SNP dans l'espèce caprine, un premier pas vers la génomique

SNP detection in goats: a first step towards goat genomics

PALHIERE I. (1), MORENO C. (1), KLOPP C. (2), CLEMENT V. (3), LECOMTE C. (4), MARTIN P. (5), RUPP R. (1), MULSANT P. (6)

(1)INRA UR631, SAGA, Castanet-Tolosan (2) INRA UR875, BIA, Castanet-Tolosan (3) Institut de l'élevage, Castanet-Tolosan (4)France contrôle laitier, Paris (5) Capgenes, Poitiers (6) INRA UMR444, LGC, Castanet-Tolosan

INTRODUCTION

L'évolution des technologies d'analyse du génome et de typage à haut débit ouvre des perspectives multiples pour permettre à la filière caprine française de conforter sa compétitivité au niveau mondial. La recherche de gènes ou QTL qui contrôlent des caractères d'intérêt est ainsi devenue plus efficace, permettant à terme d'améliorer l'efficacité de la sélection. Or, ces techniques sont coûteuses et il n'existe pas en caprins, contrairement aux bovins et aux ovins, de consortium international pour produire des séquences et des SNP (*Single Nucleotide Polymorphism*) à grande échelle. Le projet présenté ici vise donc à pallier ce retard en permettant de détecter 30 à 50 000 SNP caprins dans le but de produire des outils génomiques (puces SNP) et de les utiliser dans le cadre d'un programme de détection de QTL et de gènes de grande envergure chez la chèvre.

1. DETECTION DE SNP

Le programme « CAPRISNP » de détection de SNP caprins, s'inscrit dans le cadre d'un financement APIS-GENE et se déroulera sur 2009-2010.

1.1. SEQUENCAGE

La première étape du programme de détection de SNP consiste à séquencer une représentation partielle du génome de treize boucs de races *Saanen*, Alpine et Créole, pères de protocoles de détection QTL, en utilisant la technologie 454 de Roche (Rothberg et Leamon, 2008) disponible sur la plateforme génomique de la Génopole de Toulouse. Cette technique permet d'obtenir environ un million de séquences d'une longueur unitaire de l'ordre de 400 nucléotides par série (une série de séquence par animal). Ce nombre, bien que très élevé, ne suffit pas à couvrir la séquence totale d'un animal. D'autre part, la recherche de polymorphismes nécessite que chaque séquence soit présente plusieurs fois (comparaison entre individus). La procédure choisie est de digérer l'ADN génomique total par une enzyme de restriction (*HaeIII*) puis de sélectionner les fragments obtenus dans une fourchette de taille (400 à 450 paires de base). L'objectif final est d'aboutir à une redondance de 5X (génome séquencé avec un degré de répétition de 5) et d'obtenir des fragments répartis sur l'ensemble du génome. Des essais de digestion *in silico* du génome bovin, proches de celui réalisé chez la chèvre, ont validé cette méthode.

1.2. ANALYSE BIO-INFORMATIQUE

L'analyse bio-informatique sera réalisée par l'équipe SIGENAE à partir des séquences fournies par la plateforme génomique. Après avoir décrit la qualité des séquences (longueur, nombre de bases bien identifiées), une phase d'assemblage des séquences conduira à détecter les polymorphismes de type SNP intra et inter individus. Ensuite, les SNP détectés seront positionnés sur un génome de référence, en l'occurrence le génome bovin.

Durant cette phase d'annotation, chaque SNP sera associé aux individus chez qui il est présent, ce qui permettra de donner des indications de fréquences alléliques (si la profondeur de séquençage le permet). In fine, on peut attendre de 2 000 à 5 000 SNP par animal, et de 30 000 à 50 000 pour l'ensemble des animaux séquencés.

2. APPLICATIONS

2.1. CONSTRUCTION DE PUCES

Les 30 à 50 000 SNP ainsi détectés seront valorisés, dans un premier temps, pour construire une puce générique de 1536 SNP répartis uniformément sur l'ensemble du génome. Cet outil sera optimal pour l'étude de nos populations caprines françaises d'intérêt dans la mesure où le séquençage ayant porté sur une partie des pères de familles QTL, l'informativité des marqueurs sélectionnés sera élevée. Cette puce générique doit permettre la première détection de QTL de grande envergure dans l'espèce caprine principalement à l'échelle française mais aussi internationale. Dans un deuxième temps, les SNP détectés seront exploités pour construire des puces dédiées visant à affiner la localisation des QTL trouvés préalablement.

2.2. DETECTION DE QTL ET DE GENES

Ces puces seront valorisées dans le cadre d'un protocole de détection de QTL en ferme de grande envergure en races Alpine et *Saanen*. Ce dernier, en construction courant 2009, est fondé sur vingt pères et concernera 4000 femelles réparties dans 200 élevages. Deux projets de recherche-développement s'appuient sur ce dispositif national : le projet « PhénoFinLait » (Brochard *et al.*, 2009) qui traite de la composition fine du lait en acides gras et protéines dans les trois espèces laitières ; et le projet européen « 3SR » axé principalement sur la résistance aux maladies (mammites et parasitisme) et la reproduction. En parallèle, l'étude du parasitisme sera réalisée à partir d'un protocole existant en race Créole (INRA, URZ). L'objectif final est de détecter des QTL / gènes contrôlant 1) en priorité, des caractères innovants susceptibles, à terme, d'être intégrés dans l'objectif de sélection : composition fine des laits, vitesse de traite, résistance aux mammites et parasitisme, reproduction ; 2) des caractères sélectionnés actuellement : caractères laitiers, morphologie mammaire.

CONCLUSION

Le projet « CAPRISNP » de détection de SNP permet à la filière caprine de saisir l'opportunité de participer à deux vastes projets de recherche-développement multi-espèces fondés sur la génomique. La voie de la génomique est donc ouverte pour la chèvre, tant pour la recherche de gènes ou QTL à moyen terme que pour la mise en place de nouvelles stratégies de sélection à long terme.

Brochard M., Faucon F., Barillet F. *et al.*, 2009, 3R. A paraître.
Rothberg J.N. et Leamon J.H., 2008, *Nature Biotech.*, 26, 1117-1124