

Présentation des projets financés au titre de l'édition 2006 du programme de Génomique Animale - Genanimal

ACRONYME et titre du projet	Page
ArcAnGe - Annotating, Representing and Comparing Animal Genomes	2
CgPhysiogene - Bases moléculaires des fonctions physiologiques de l'huître <i>Crassostrea gigas</i> : interactions hôte/pathogène/milieu	3
ChickRH - Cartographie d'irradiation chez la poule : cartographie dense de SNP et localisation d'EST absentes de la séquence génomique	5
EMBRYOGEN - Effet du bilan énergétique sur l'expression des gènes dans l'embryon péri-implantatoire chez des vaches laitières de race Prim'Holstein	6
FERTILITÉ2 - Déterminisme génétique et étude métabolique des problèmes de fertilité des vaches laitières hautes productrices	7
FISH SEX - Fall and Rise of the sex chromosomes in the tilapia group as a model to understand the variability of sex determination in fish	9
GenAviFlu - Génétique de la susceptibilité à l'Influenza aviaire chez les oiseaux domestiques	10
GENECAN - Recherche de QTL impliqués dans le comportement, la résistance au portage de salmonelles et la qualité des produits -foie gras et magret- du canard Mulard	11
GENOSTEM - Comparative functional genomics of pluripotent stem cells	13
IMMOPIG - Etude de la réponse immunitaire des porcs français de race Large White et analyse conjointe du transcriptome des leucocytes du sang périphérique	14
MUSCLON - Développement musculaire des bovins obtenus par clonage somatique	16
QUALVIGENB - Détection et validation de gènes impliqués dans les qualités de la viande bovine des trois principales races de viande en France	17
SPERMGEN - Génomique expressionnelle et fonctionnelle de la spermatogenèse chez la truite - Etude comparée inter-espèces des profils d'expression génique au cours de la spermatogenèse et analyse fonctionnelle dans des lignées de poissons géniques	19
TEGOD - Transgenic studies of Early Acting Genes in Ovarian Development in mouse and goats	21
VacGenDC - Profil génique des cellules dendritiques en réponse à de nouveaux candidats vaccins : application à une maladie émergente des ruminants	22

Agence Nationale de la Recherche

ANR

(Bluetongue)

Programme de Génomique Animale - Genanimal

Edition 2006

Titre du projet	ArcAnGe - Annotating, Representing and Comparing Animal Genomes
<p>Résumé</p>	<p>Quelques années seulement après la publication de la première séquence complète du génome humain, c'est au tour de la communauté scientifique en génétique animale d'accéder à l'ère des génomes entièrement séquencés. Si l'intérêt pour la santé humaine a le plus souvent été l'argument biologique invoqué pour justifier le séquençage complet d'organismes supplémentaires, notamment en réponse au NIH (National Institute of Health of the USA), principal contributeur de ces projets, il ne fait aucun doute que la disponibilité de séquences génomiques complètes révolutionne les pratiques en génétique animale. Mais pour véritablement récolter tous les fruits du séquençage de génomes complets, la communauté scientifique internationale doit aujourd'hui développer de nouvelles méthodologies et de nouveaux outils.</p> <p>Les scientifiques français sont certes associés aux consortiums pour le séquençage des génomes bovin, du porc, du poulet et probablement celui du saumon, l'accès aux données risque pourtant de ne pas être immédiat. La collaboration n'est de plus pas toujours évidente avec des scientifiques en charge du séquençage ou de l'annotation aux Etats-Unis ou au Royaume-Uni où ces tâches sont le plus souvent réalisées. Des assemblages incomplets chez le poulet ou chez le bovin ou encore des erreurs chez le rat sont des illustrations récentes qui démontrent l'urgence qu'il y a à développer des méthodes et des outils spécialement dédiés à l'exploitation des séquences génomiques complètes ou partielles. Plus fondamentalement, le véritable enjeu est peut-être de développer un savoir-faire et des compétences pour l'exploitation des séquences génomiques afin d'être capable d'appuyer la communauté (scientifique) française en génétique animale dans le contexte actuel d'une concurrence internationale intense.</p> <p>Le projet proposé vise à relever le défi du développement de méthodes originales pour l'analyse comparée des génomes et de leur mise en œuvre à travers des outils informatiques efficaces, jusqu'à des logiciels interfacés disponibles en ligne, permettant ainsi un accès aussi exhaustif que possible à l'information génomique. Plus précisément les tâches suivantes seront réalisées au cours du projet :</p> <ul style="list-style-type: none"> (i) Développer un outil d'alignement de séquences génomiques et application à la comparaison des génomes animaux entièrement séquencés ; (ii) Développer, au sein de l'outil existant Narcisse, une représentation intégrée de la conservation des génomes ; (iii) Démarrer un projet pilote d'annotation du génome bovin ; (iv) Développer un outil de visualisation de d'interrogation de données de polymorphismes.
<p>Partenaires</p>	<p>INRA, UR444, Laboratoire de Génétique Cellulaire (LGC) (partenaire coordinateur)</p>
<p>Coordinateur</p>	<p>Monsieur Thomas FARULT Thomas.Faraut@toulouse.inra.fr</p>
<p>Aide de l'ANR</p>	<p>100 000 Euros</p>
<p>Début et durée</p>	<p>Janvier 2007 – 12 mois</p>
<p>Référence</p>	<p>ANR-06-GANI-011</p>

Titre du projet

CgPhysiogene

Bases moléculaires des fonctions physiologiques de l'huître *Crassostrea gigas* : interactions hôte/pathogène/milieu

Résumé

L'huître du Pacifique *Crassostrea gigas* est la principale espèce aquatique produite dans le monde (4,2 millions de tonnes pour un chiffre d'affaire de 3,5 milliards de dollars US selon la FAO 2005). L'élevage de l'huître creuse constitue une composante de l'activité économique de la France. Cependant, depuis plus de 15 ans, les élevages subissent des épisodes de mortalité estivales (30% -60%) qui peuvent à terme mettre en péril la compétitivité de l'aquaculture européenne de mollusques. Hormis l'importance économique de *C. gigas*, qui justifie un effort de recherche, les huîtres constituent un modèle d'étude des bases physiologiques et génétiques de caractères complexes (ie croissance, reproduction et survie) fortement corrélés avec la réponse des huîtres à différentes conditions environnementales. Les objectifs de ce projet sont de caractériser les bases transcriptionnelles des principales fonctions physiologiques de *C. gigas* – reproduction, immunité et réponse au stress – ainsi que leurs interactions avec les bactéries de la microflore de l'huître potentiellement pathogènes. Ces données permettront d'étudier l'effet de stress environnementaux (abiotiques et liés aux conditions d'élevage) sur les profils d'expression de ces gènes d'intérêt. Le but général est de comprendre les perturbations de critères physiologiques et les mécanismes d'apparition de virulence des *Vibrio*, qui peuvent contribuer à l'apparition de mortalités. De plus, il est attendu de mettre en évidence les différences physiologiques et génétiques de familles sélectionnées pour leur « Résistance » ou « Sensibilité » au syndrome de mortalité estivale générées dans le cadre d'un programme national MOREST. Les bases moléculaires des fonctions physiologiques (reproduction, immunité, réponse aux stress) seront investiguées par des techniques d'analyse du transcriptome à haut débit (SAGE, qPCR, microarray, cartographie des gènes) sur des huîtres en conditions expérimentales contrôlées. Parallèlement, le génome de *Vibrio splendidus* sera caractérisé afin de déterminer les bases moléculaires de la virulence. Cette espèce bactérienne qui colonise naturellement les tissus de l'huître a été retrouvée associée au syndrome de mortalité estivales, mais l'implication directe dans le processus morbide n'a pas encore été faite. Les interactions entre les *Vibrio*, les stades de maturation et la réponse immunitaire des huîtres seront étudiées, ainsi que les effets de stress abiotiques. Sur la base de ces données multifonctionnelles, les profils d'expression des gènes seront analysés chez des huîtres sélectionnées Résistantes et Sensibles, élevées en milieu naturel générateur de mortalités estivales. Ce projet devrait permettre de comprendre les conditions physiologiques et environnementales qui favorisent la survenue de mortalités, mais également d'identifier les caractères potentiels impliqués dans une adaptation optimale de l'huître aux conditions d'aquaculture. Dans une optique d'amélioration de la production aquacole, ce projet contribuera à l'identification de gènes et à la caractérisation du génome de l'huître permettant le développement d'approches de génétiques quantitatives et de sélection génétique

Partenaires

IFREMER, UMR5717, Génome, Populations, Interactions, Adaptation (GPIA), IFREMER/UM2 (partenaire coordinateur)
 Institut Pasteur, U5765 Unité de plasticité du génome bactérien (UPGB)
 IFREMER, Laboratoire de Génétique et Pathologie (LGP)
 CNRS, UMR6539, Laboratoire des Sciences de l'Environnement Marin (LEMAR)
 IFREMER, UMR100, Physiologie et Ecophysiologie des Mollusques Marins (PE2M)
 SKULD-TECH

Coordinateur

Madame Evelyne BACHERE
 ebachere@ifremer.fr

Aide de l'ANR

200 000 Euros

Début et durée

Janvier 2007 – 12 mois

Référence

ANR-06-GANI-009

Titre du projet**ChickRH - Cartographie d'irradiation chez la poule : cartographie dense de SNP et localisation d'EST absentes de la séquence génomique****Résumé**

La séquence du génome de la poule a été publiée en décembre 2004. Cette première ébauche est de bonne qualité globale, grâce aux faibles taux de séquences répétées génome et aux améliorations des algorithmes d'assemblage. Cependant, 10 parmi les plus petits microchromosomes sont absents de l'assemblage, principalement par manque d'identification par un clone de BAC ; l'assemblage des gonosomes GGAZ et GGAW ont besoin d'améliorations importantes et nous avons montré par des cartes RH déjà réalisées pour la moitié des chromosomes, que des améliorations de l'assemblage peuvent être réalisées. Finalement, 3% des contigs d'EST ou de mRNA n'ont pas de séquence correspondante. Pour aider à résoudre ces problèmes, nous proposons ici d'améliorer nos cartes RH en utilisant deux méthodes complémentaires:

1) Un nombre élevé de marqueurs SNP (10 000) sera génotypé en utilisant la technique Illumina au CNG (Centre National de Génotypage). Ceci fournira des groupes de liaison à haute densité de marqueurs pour tous les chromosomes présents dans la séquence. En choisissant un grand nombre de marqueurs dans les 120 Mb de séquence non assignée à un chromosome (chrn), nous comptons aider à assembler des régions mal couvertes, spécifiquement les microchromosomes absents.

2) Des marqueurs de contigs d'EST de poule qui n'ont pas de séquence correspondante dans l'assemblage du génome, seront génotypés par la méthode conventionnelle, avec analyse en gel d'agarose. Ceci permettra de cartographier ces séquences, qui ne peuvent pas être localisées aisément par une autre approche. De plus, un nombre important de marqueurs seront ainsi ajoutés aux microchromosomes, qui sont particulièrement riches en gènes.

Partenaires

INRA, UR444, Laboratoire de Génétique Cellulaire (LGC) (partenaire coordinateur)
Consortium National de Recherche en Génomique - Centre National de Génotypage (CNRG-CNG)

Coordinateur

Monsieur Alain VIGNAL
Alain.Vignal@toulouse.inra.fr

Aide de l'ANR

218 793 Euros

Début et durée

Janvier 2007 – 24 mois

Référence

ANR-06-GANI-010

Titre du projet**EMBRYOGEN - Effet du bilan énergétique sur l'expression des gènes dans l'embryon peri-implantatoire chez des vaches laitières de race Prim'Holstein****Résumé**

En France comme dans d'autres pays la fertilité des vaches laitières diminue. Cette diminution est plus importante sur les vaches que sur les génisses, en race Prim'Holstein que pour les 2 autres grandes races (Barbat et al., 2005). Le critère utilisé pour mesurer la fertilité sur de grands échantillons en France est le taux de non retour (vache non réinséminée après une première IA). Ce critère est très global et ne permet pas de situer les échecs de gestation. L'utilisation en ferme de diagnostics précoces de gestation échelonnés a permis de montrer que l'essentiel des pertes a lieu en début de gestation. On admet traditionnellement que le taux de fécondation après IA est élevé chez la vache, mais les études qui étayaient cette hypothèse ont essentiellement été réalisées sur génisses ou sur vaches de niveau de production moyen (Sreenan et al., 2001).

Le projet se propose d'explorer la chronologie des échecs en début de gestation en fonction bilan énergétique chez la vache laitière de race Prim'Holstein.

Le projet aura pour objectif de comparer la chronologie des échecs de gestation avant J18 pour les génisses de race Prim'Holstein (fertiles, bilan énergétique positif, croissance 800 g/j), des vaches laitière Prim'Holstein en début de lactation (infertiles, bilan énergétique fortement négatif) et de vaches laitières Prim'Holstein en milieu de lactation (bilan énergétique faiblement négatif ou nul). Dix génisses Prim'Holstein et 40 vaches laitières seront nécessaires dans l'étude. Les animaux seront mis à la reproduction après synchronisation des chaleurs et les embryons seront récoltés par voie cervicale à J18. Les génisses seront mises à la reproduction 2 fois au cours de la croissance, les vaches seront prélevées à J80 puis à J140 afin de récupérer 10 embryons par statut énergétique. La réutilisation des mêmes animaux pour deux collectes diminuera la variabilité génétique individuelle et permettra peut être de mieux mettre en évidence les effets des variations de facteurs environnementaux sur le développement et l'expression des gènes des embryons. L'examen morphologique et histologique (Hybridation in situ avec marqueurs du développement) des embryons permettra de situer leur stade de développement et éventuellement la période critique qu'ils n'ont pas dépassé en cas de mortalité embryonnaire. Sur les embryons de morphologie compatible avec le stade de gestation l'expression des gènes sera explorée en relation avec le statut nutritionnel des femelles gestantes (bilan énergétique positif, faiblement négatif, fortement négatif). Nous tenterons de caractériser les voies métaboliques utilisées par les embryons. L'analyse de l'expression des gènes se fera soit en utilisant les membranes Oligo 13k dédiées à l'embryon bovin de l'équipe Croissance et Différenciation du blastocyste (UMR BDR) soit en utilisant les lames génériques bovines (une comparaison préliminaire permettra de choisir la meilleure technique). Une analyse plus fine de l'expression des gènes clairement identifiés sera menée en PCR quantitative. Une exploration in silico sera réalisée in fine afin de positionner les gènes en relation avec les phénotypes fertile/infertile dans le but de préciser leur relation avec les QTL aujourd'hui identifiés de fertilité.

Partenaires

INRA, UMR1198, Biologie du Développement et Reproduction (BDR) (partenaire coordinateur)
Union Nationale des Coopératives agricoles d'Elevage et d'Insémination Animale (UNCEIA)
APIS-GENE

Coordinateur

Madame Bénédicte GRIMARD
bgrimard@vet-alfort.fr

Aide de l'ANR

159 581 Euros

Début et durée

Janvier 2007 – 48 mois

Titre du projet

FERTILITÉ2 - Déterminisme génétique et étude métabolique des problèmes de fertilité des vaches laitières hautes productrices

Résumé

Depuis plusieurs années, la fertilité des vaches laitières hautes productrices (VLHPs) n'a cessé de se dégrader. Des travaux réalisés par les généticiens indiquent que cette baisse de fertilité est liée à l'intensité de la sélection sur la production laitière. En effet, ces VLHPs mobilisent de façon excessive leurs réserves énergétiques, ce qui les conduit à pénaliser leur reproduction.

Afin de mieux appréhender le déterminisme génétique qui sous-tend cette baisse de fertilité, un programme de détection de QTL chez les bovins a été entrepris entre 1996 et 2000 par le département de génétique Animale de l'INRA en collaboration avec l'UNCEIA et le GIE LABOGENA. Ce programme a permis la détection de trois QTLs impliqués dans la baisse de fertilité, mesurée par le taux de réussite à l'insémination artificielle (IA). Ces QTLs sont localisés sur les chromosomes 1, 3 et 7. L'hiver dernier, l'équipe d'André Eggen (Laboratoire de Génétique biochimique et de Cytogénétique [LGBC], INRA, Jouy en Josas) a entrepris une cartographie fine du QTL de fertilité situé sur le chromosome 3. Dans le même temps, à partir du modèle d'indexation officiel, F. Guillaume et T. Druet (SGQA) ont utilisé les données nationales pour essayer de déterminer si ce QTL avait des effets plus ou moins tôt après l'IA. L'ensemble de ces travaux a permis de confirmer l'existence du QTL, de réduire son intervalle de localisation à une dizaine de cM, d'exclure l'anomalie CVM (Complex Vertebral Malformations) de la liste des gènes candidats et enfin de montrer que ce QTL intervenait dans les échecs de gestation intervenant entre 0 et 90 jours après l'IA.

Le objectifs de ce projet sont, d'une part, de poursuivre le travail visant à identifier les gènes et les mutations présentes dans les QTLs impliqués dans la baisse de fertilité, et d'autre part, compte tenu de la forte corrélation négative entre cette baisse de fertilité et l'intensité de la mobilisation des réserves énergétiques, d'étudier le rôle des voies métaboliques candidates (insuline, acides gras), dans la fonction de reproduction chez la vache. Ce travail permettra de mieux comprendre à terme, les relations entre génotype et phénotype.

Les travaux se dérouleront en quatre étapes. La première étape sera prise en charge par M. Gautier (équipe d'A. Eggen). Elle consistera à rechercher de nouveaux marqueurs dans la région du QTL de fertilité située sur le chromosome 3. Ces marqueurs permettront de se rapprocher le plus possible du gène en cause, en supposant qu'il est unique.

La deuxième étape sera réalisée à la fois à Jouy en Josas dans l'équipe d'A. Eggen et à Nouzilly dans l'équipe de P. Monget. Elle aura pour but d'identifier parmi les gènes compris dans la région du QTL, ceux qui sont exprimés dans des tissus « candidats » au phénotype (tissus impliqués principalement dans la reproduction ou dans le métabolisme, axe hypothalamo-hypophysaire, ovaires, thyroïde, tissu adipeux, surrénales...) par une approche de type CREA (Chromosome Region Expression Array). Les BACs couvrant cette région du QTL seront préparés et déposés sur des membranes. Ces travaux nous permettront de trouver des candidats « expressionnels » parmi les candidats positionnels.

La troisième étape sera consacrée à l'approvisionnement des animaux porteurs des haplotypes Fertile « -/- » et Fertile « +/+ » dans l'étable nouvellement construite à Nouzilly. En effet, afin de réaliser des études phénotypiques fines (mesure de la prise alimentaire, de la production laitière, de l'état corporel, étude de différents paramètres sanguins sans oublier des mesures du métabolisme et des observations du comportement social et sexuel) des femelles devront être identifiées. Ces animaux seront choisis sur la base des génotypes et des pedigrees en collaboration avec A. Malafosse et S. Fritz (UNCEIA).

Enfin, en dernière partie de ce projet, nous proposons d'étudier le rôle d'un système métabolique candidat dans les interactions métabolisme/reproduction. En effet, ces vaches laitières hautes productrices mobilisent très fortement leurs réserves énergétiques pendant le pic de lactation, ce qui peut conduire à des désordres métaboliques avec des répercussions non négligeables sur la fonction de reproduction. Plus précisément, une étude de certains composants de métabolisme glucidique et lipidique sera menée au niveau de l'axe gonadotrope (ovaire,

hypophyse et hypothalamus) chez la vache. Les résultats de cette étude fourniront davantage d'informations qui permettront de mieux caractériser les animaux « Fertil -/- » et « Fertil +/- » sur le QTL du chromosome 3 et de mieux comprendre les problèmes de fertilité des VLHPs. Ce projet est complémentaire de celui présenté par Patrice Humblot et Sébastien Fritz (UNCEIA) portant sur l'étude du polymorphisme de gènes candidats.

Nous avons déjà obtenu un financement lors de l'appel d'offre 2004, mais la somme obtenue était insuffisante. En effet, nous avons demandé seulement 38000 euros pour instruire le dossier compliqué de fourniture en animaux, effectuer les expériences préliminaires à l'identification du premier QTL, et établir un budget précis. Or, et d'après ce que nous avons compris depuis, étant donné « l'importance de ce programme », on nous a de suite attribué une somme arbitraire de 200.000 euros pour réaliser un travail dont nous n'avions pas dessiné tous les contours. Nous avons donc été obligés de remplir à la baisse le formulaire pour cet appel d'offre 2004, tout en sachant que nous ne pourrions réaliser tout ce que nous avons proposé. Nous profitons de l'appel d'offre 2005 pour pouvoir boucler le budget que nous avons maintenant établi avec précision, sans quoi nous ne pourrions pas tenir nos engagements. Nous vous remercions de tenir compte de cet imprévu indépendant de notre volonté.

Partenaires

INRA, UMR85, Physiologie de la reproduction et des comportements (PRC) (partenaire coordinateur)
APIS-GENE

Coordinateur

Madame Joëlle DUPONT
jdupont@tours.inra.fr

Aide de l'ANR

95 386 Euros

Début et durée

Janvier 2007 – 12 mois

Référence

ANR-06-GANI-004

Titre du projet

FISH SEX - Fall and Rise of the sex chromosomes in the tilapia group as a model to understand the variability of sex determination in fish

Résumé

En Aquaculture, le contrôle du sexe est recherché pour bénéficier des meilleures performances zootechniques d'un des sexes (meilleure croissance des femelles chez le bar et le turbot, ou des mâles chez le tilapia), des productions spécifiques liées à un sexe (caviar) ou éviter les effets négatifs de la reproduction (croissance réduite, diminution de la qualité de chair). 90% des espèces de poissons, ne possèdent pas de chromosomes sexuels suffisamment différenciés pour un sexage génétique. Par des approches indirectes, des systèmes de déterminismes génétiques mono ou plurifactoriel, et/ou dépendants de facteurs de l'environnement (essentiellement la température) ont été identifiés chez les poissons.

La cascade du déterminisme du sexe et de la différenciation est encore mal connue chez les vertébrés, en particulier chez les poissons. La co-existence de déterminismes monofactoriels opposés (XX/XY et ZZ/ZW) au sein d'une même famille, un même genre, ou une même espèce, suggère des transitions entre types de déterminismes du sexe, probablement facilitées par des inversions fonctionnelles du sexe induites par des facteurs génétiques mineurs et/ou environnementaux. Les déterminants majeurs ont évolués indépendamment au sein de leurs lignées et probablement acquis leur rôle assez récemment. Le reste de la cascade semble davantage conservé. Certains gènes de la cascade pourraient être recrutés pour devenir déterminant majeur d'un « proto » chromosome sexuel.

Les tilapias constituent d'excellents modèles pour l'étude de l'évolution du déterminisme du sexe et la différenciation des chromosomes. Des données récentes suggèrent que ce groupe d'espèces, se trouve à une période charnière de substitution d'une grande paire de chromosomes sexuels ZZ/ZW (*Oreochromis aureus*) par une petite paire, XX/XY (*O. niloticus*) via l'émergence d'un facteur mineur devenant progressivement le nouveau déterminant du sexe. En effet, à partir de la carte génétique d'*O. niloticus*, 2 groupes de liaison fortement liés au sexe ont été identifiés chez le tilapia. Chez *O. aureus*, LG3, localisé par FISH sur la grande paire de chromosomes contient le déterminant majeur du sexe et LG1, localisé sur une petite paire, peut contenir, chez certaines familles/populations, un déterminant mineur du sexe. Inversement, chez *O. niloticus*, LG3 ne joue plus qu'un rôle mineur dans le déterminisme du sexe, alors que LG1 contient le déterminant majeur. Leurs structures (suppression de recombinaison, accumulation de séq. répétées/rétrotransposons), suggèrent que ce sont respectivement un vieux et un jeune chromosomes sexuels. En s'appuyant sur des génotypes sexuels spécifiques (mâles et femelles XX, XY, et YY disponibles chez *O. niloticus* ; mâles et femelles ZZ, ZW et femelles gynogénétiques WW à produire chez *O. aureus*), ce projet cherchera à isoler, par microdissection classique ou laser, les 4 paires de chromosomes sexuels des tilapias (X, Y, Z et W). Dans ces chromosomes en métaphase, une recherche de gènes par hybridation directe des ADNc sera réalisée sur les chromosomes, ainsi que sur des clones BACs. Une identification des BACs contenant ces gènes et une localisation par FISH seront réalisés. Ces gènes constituent à la fois des marqueurs de chromosomes sexuels, permettront également de densifier la région du déterminant majeur, en vue de son isolement. Des hybridations « BAC to BAC » rechercheront d'éventuelles régions ou gènes conservés chez une espèce phylogénétiquement proche (bar) ainsi que sur le platyfish.

Partenaires

CIRAD, UPR20, Aquaculture & Gestion des Ressources Aquatiques (partenaire coordinateur)

CNRS, UMR 7138 Systématique, Adaptation, Evolution

INRA, UMR118, Amélioration des plantes et biotechnologies végétales (APBV)

Coordinateur

Monsieur Jean-François BAROILLER
baroiller@cirad.fr

Aide de l'ANR

265 000 Euros

Début et durée

Janvier 2007 – 48 mois

Référence

ANR-06-GANI-012

Titre du projet

GenAviFlu - Génétique de la susceptibilité à l'Influenza aviaire chez les oiseaux domestiques

Résumé

La grippe aviaire est devenue récemment un problème majeur en santé animale et un risque pour la santé publique à cause du variant H5N1.

Le virus responsable présente de nombreux variants et peut évoluer rapidement. La variabilité génétique de la réponse immunitaire des oiseaux domestiques à ce type de virus est inconnue. L'objectif du projet est de mieux connaître les facteurs génétiques intervenant sur la réponse précoce à l'infection à Influenza et la réponse vaccinale chez le poulet et le canard.

L'étude portera sur 16 races ou lignées de poulet et 8 races ou lignées de canard choisies en France et au Vietnam en fonction des données pré-existantes sur leur résistance à des pathologies infectieuses, leur CMH, leur importance en aviculture. Le polymorphisme intra-race sera étudié sur 720 animaux par séquençage de 4 gènes choisis a priori pour leur rôle dans la résistance aux maladies (BF2 et TAP2 du CMH, Mx, Nramp1) et génotypage de marqueurs associés au CMH. Le criblage fonctionnel des animaux sera réalisé par utilisation d'un vaccin commercial. Ensuite, les mécanismes des réponses vaccinales et précoces seront analysés par une approche transcriptomique et par RT-PCR quantitative, après infection par Influenza, sur un sous-ensemble de lignées expérimentales choisies pour leurs réponses divergentes lors du premier criblage vaccinal.

Les résultats attendus sont la mise en évidence de différences de réponse à la vaccination et de réponse précoce entre génotypes et l'identification des gènes dont l'expression est modifiée par l'infection et par la vaccination.

Partenaires

INRA, UMR1236, Génétique et Diversité Animales (GDA), INRA/INA-PG (partenaire coordinateur)
 INRA, UR1282, Infectiologie Animale et Santé Publique - Equipe Immunologie Aviaire (IASP)
 INRA, UR892, Unité Virologie Moléculaire (VIM)
 CNRS, UPR1983, Génétique Moléculaire et Intégration des Fonctions Cellulaires
 CIRAD, Département d'élevage et médecine vétérinaire tropicale (EMTV)
 INRA, UMR1225, Interactions Hôtes – Agents Pathogènes (IHAP)

Coordinateur

Monsieur Bertrand BED'HOM
 bertrand.bedhom@jouy.inra.fr

Aide de l'ANR

485 145 Euros

Début et durée

Janvier 2007 – 24 mois

Référence

ANR-06-GANI-013

Titre du projet

GENECAN - Recherche de QTL impliqués dans le comportement, la résistance au portage de salmonelles et la qualité des produits -foie gras et magret- du canard Mulard

Résumé

La filière "foie gras" française assure plus de 80 % de la production mondiale, en valorisant majoritairement le canard mulard, hybride issu du croisement de la cane commune et du canard de Barbarie. Cette filière, aujourd'hui confrontée à des contraintes réglementaires européennes de bien-être animal, est soucieuse d'adapter les souches d'animaux à ces nouveaux systèmes d'élevage (en améliorant le comportement des animaux en logements collectifs), mais aussi de garantir la sécurité sanitaire des produits, notamment l'absence de Salmonelles. De plus, l'effort permanent de la filière reste l'amélioration de la qualité des produits. La contribution de la génétique, qui jusqu'alors avait surtout été centrée sur les caractères de production, s'adapte à ces évolutions du contexte, en développant de nouveaux objectifs de sélection. En parallèle, la disponibilité récente de marqueurs microsatellites chez le canard permet la mise en œuvre d'une génétique plus proche du gène, en recherchant des régions chromosomiques (QTL) ayant une influence sur ces caractères d'intérêt.

L'objectif du présent projet est de progresser sur la connaissance du déterminisme génétique de caractères très originaux – comportement, métabolisme lipidique, sécurité sanitaire- chez un animal modèle -le canard engraisé- en utilisant des outils et concepts de génomique. D'une part, cette primo-détection de QTL d'intérêt économique va nous permettre de connaître les zones du génome qui contrôlent ces caractères ainsi que les mécanismes métaboliques sous-jacents qui modifient le phénotype. Dans un second temps, le génotypage sélectif de descendants ainsi que l'utilisation de puces à ADN spécifiques du métabolisme hépatique dans les familles où des QTL ségrégent, vont nous permettre d'avancer plus vite vers le ou les gènes impliqués.

Les travaux, étalés sur 3 ans et coordonnés par la SAGA (INRA Toulouse), sont répartis en 4 volets:

1) La production des familles informatives (8 pères F1, 400 filles back-cross et 1600 mulards mâles) est réalisée à l'Unité Expérimentale de INRA à Artiguères. Pour maximiser l'hétérozygotie des pères, nous avons opté pour un croisement entre 2 souches expérimentales d'origines et d'aptitudes différentes.

2) La mesure des phénotypes sur les descendants mulards mobilise l'UE d'Artiguères et 5 équipes de chercheurs de 3 structures différentes : INRA-SRA, INP-ENSAT et Université de Pau et des Pays de l'Adour. La phase de mise au point des techniques de mesure a eu lieu en 2005, pour une mise en œuvre entre 2005 et 2007.

3) Le génotypage des animaux (les femelles back-cross, leurs parents et grands-parents soit un total de 550 canards), aura lieu sur la plateforme de la Génopole toulousaine, sous la responsabilité de l'équipe aviaire du LGC. Cette équipe complète actuellement le panel de marqueurs pour disposer de 150 marqueurs informatifs répartis sur les chromosomes du canard.

4) L'analyse statistique pour la détection de QTL sera réalisée par l'équipe 'Palmipèdes' de la SAGA en collaboration avec les partenaires.

Pour la première fois, au plan international, des QTL impliqués dans les caractères de gavage seront recherchés. Les résultats originaux attendus sur la synthèse lipidique hépatique chez le canard serviront aux études des autres espèces avicoles. A la fin du projet les zones chromosomiques influençant les caractères de qualité du foie gras et du magret, le comportement des animaux ainsi que leur résistance au portage de salmonelles seront identifiées. Par ailleurs, la carte génétique du canard commun basée sur des marqueurs microsatellites sera disponible.

Ce projet, fortement co-financé et soutenu par le CIFOG est en adéquation avec les priorités affichées par la filière et les préoccupations du SYSAAF (Syndicat des Sélectionneurs Avicoles et Aquicoles Français). C'est un projet d'avenir pour les 3 sélectionneurs palmipèdes à gaver, et un passage obligé pour accéder à des approches génomiques innovantes.

Partenaires	INRA, UR631, Station d'Amélioration Génétique des Animaux (SAGA) (partenaire coordinateur) INRA, UR1282, Infectiologie Animale et Santé Publique (IASP) INRA, UE89, Unité Expérimentale des Palmipèdes à Foie Gras d'Artiguères (UEPFG) AGENAVI
Coordinateur	Madame Christel MARIE – ETANCELIN Christel.Marie-Etancelin@toulouse.inra.fr
Aide de l'ANR	98 650 Euros
Début et durée	Janvier 2007 – 36 mois
Référence	ANR-06-GANI-002

Titre du projet **GENOSTEM - Comparative functional genomics of pluripotent stem cells**

Résumé

Le contrôle des propriétés des cellules souches embryonnaires (CSE), à savoir leur auto renouvellement illimité en culture et leur capacité de différenciation in vitro et in vivo dans tous les types cellulaires d'un organisme, représentent un enjeu économique majeur en vue d'applications en thérapie cellulaire et en agronomie. Les mécanismes sous-tendant ces propriétés sont essentiellement étudiés dans des cellules souches issues de mammifères (murine=MCSE, primate, homme). Ces travaux ont révélé un certain nombre de différences inter-espèce qu'il s'agisse des facteurs de croissance requis ou des gènes transcrits, indiquant qu'au delà du transcriptome d'autres voies de régulation existent, parmi lesquelles les régulations épigénétiques de la chromatine qui contrôlent l'accessibilité aux facteurs de transcription. Cette voie semble jouer un rôle croissant dans le contrôle des CSE bien que des mécanismes spécifiques d'une espèce donnée puissent aussi entrer en ligne de compte. Ce projet est basé sur l'étude de CSE aviaires (ACSE) qui ont été développées en vue d'applications agronomiques. Elles constituent un modèle unique et complémentaire pour caractériser des voies de régulation communes aux CSE de vertébrés. L'étude des ACSE a révélé des similitudes et des différences avec les autres modèles tant au niveau des facteurs de croissance que du transcriptome. Ainsi ces cellules expriment des gènes majeurs de la pluripotence chez les mammifères (oct-3/4, nanog, sox2) suggérant des propriétés communes aux différentes espèces. Cependant elles expriment également des gènes n'existant pas dans les autres espèces (ens-1) ainsi que des gènes (cdx-2, eomes) associés au trophoctoderme des mammifères, un tissu inexistant chez le poulet, indiquant qu'un gène conservé ne conserve pas nécessairement sa fonction. Tous ces gènes sont réprimés dans les ACSE induites à se différencier et la protéine Ens-1 pourrait participer à la régulation épigénétique des ACSE par contrôle de la protéine HP1 associée à l'hétérochromatine.

Ce projet a pour objectif de comparer les fonctions de ces gènes aviaires dans les CSE de poulet et dans les CSE de souris et d'étudier leur évolution entre les espèces afin de révéler les mécanismes clés gouvernant la pluripotence des CSE. Le gène ens-1, de par son origine rétrovirale, pourrait résulter de la fusion de plusieurs gènes et donc cumuler leurs fonctions. Une approche phylogénique menée in silico et par clonage des homologues de ens-1 dans différents génomes datera l'apparition de ce gène au cours de l'évolution. Les domaines les plus conservés entre espèces proches permettront d'isoler de potentiels homologues chez les mammifères. En parallèle la fonction d'Ens-1 sera étudiée notamment vis à vis de la protéine HP1 et de la répartition de l'hétérochromatine. Nous espérons ainsi mieux comprendre le contrôle épigénétique des CSE de poulet et identifier des mécanismes similaires dans les autres espèces. Dans une autre partie du projet nous allons étudier la dérive fonctionnelle de gènes conservés entre le poulet et les mammifères par des expériences de modulation d'expression dans les ACSE et de complémentarité de fonction par maintien de la pluripotence dans des CSE murines. Une approche phylogénique complètera cette étude. La comparaison inter-espèce sera étendue aux facteurs de transcription régulant l'expression de ces gènes. L'objectif est de caractériser un petit nombre de gènes clés contrôlant la pluripotence indépendamment de l'espèce in vitro et in vivo.

Partenaires

ENS-Lyon, UMR5161, Laboratoire de Biologie Moléculaire de la Cellule (LBMC), CNRS/ENS Lyon/INRA (partenaire coordinateur)
INSERM, UMR 384, Laboratoire de biochimie, INSERM/ Université d'Auvergne Clermont 1
INSERM, UMR5558, Laboratoire Biométrie et Biologie Evolutive (LBBE), CNRS/UCBL/INRIA

Coordinateur

Monsieur Jacques SAMARUT
jacques.samarut@ens-lyon.fr

Aide de l'ANR

500 000 Euros

Début et durée

Janvier 2007 – 36 mois

Référence

ANR-06-GANI-007

Titre du projet	IMMOPIG - Etude de la réponse immunitaire des porcs français de race Large White et analyse conjointe du transcriptome des leucocytes du sang périphérique
Résumé	<p>Au cours des vingt dernières années, les schémas de sélection pour l'espèce porcine ont visé à améliorer des caractères de production et des résultats significatifs ont été obtenus. Pendant cette période, de nouvelles pathologies ayant de lourdes conséquences économiques ont été observées dans les élevages, comme la maladie d'amaigrissement du porcelet qui est apparue dans les années 1990. Les méthodes actuelles de prévention sont basées sur la vaccination des animaux, l'antibiothérapie et des règles sanitaires drastiques. Or, dans une perspective globale de développement durable, il est important de définir de nouveaux objectifs de sélection compatibles avec la réduction des antibiotiques et des vaccins, de manière à améliorer la sécurité alimentaire et le bien-être animal. Des études ont mis en évidence quelques QTL (Quantitative Trait Locus) de la réponse immunitaire et des héritabilités entre 0.07 et 0.27 ont été mesurées, démontrant le caractère partiellement héritable d'un certain nombre de paramètres de la réponse immunitaire. Grâce aux données massives de séquences maintenant disponibles chez les animaux domestiques comme le porc, des outils de génomique fonctionnelle sont disponibles. Les études de transcriptome permettent, notamment, la mise en évidence de profils d'expression de gènes et l'identification de réseaux de régulation. De récentes approches d'analyse des caractères complexes exploitent conjointement les cartes génétiques à haute densité et les données de transcriptome qui constituent de nouvelles données de phénotype. De nombreuses données sur la réponse immunitaire sont disponibles pour l'homme et des mammifères modèles comme la souris ou le rat. Si la physiologie comparée est pertinente dans bien des cas, le système immunitaire des porcs présente quelques caractéristiques propres et les porcs développent des pathologies en élevage qui requièrent des recherches spécifiques.</p> <p>Notre projet a pour objectif global l'étude de la capacité immunitaire des porcs soumis à une forte pression de sélection en France et l'analyse conjointe du transcriptome des leucocytes du sang périphérique de ces animaux. Un premier travail aura pour but de mesurer des paramètres de la réponse immunitaire dans des troupeaux et de calculer l'héritabilité des caractères mesurés et l'éventuelle corrélation entre eux. Ces analyses permettront d'identifier des animaux de phénotypes contrastés qui seront sélectionnés pour des analyses transcriptomiques, afin de décrire les réseaux de gènes exprimés dans les leucocytes du sang périphérique et de rechercher si l'interprétation des données permet de définir l'efficacité de la réponse immunitaire des porcs. Nous viserons à analyser l'efficacité globale de la réponse immunitaire et ne nous concentrerons pas sur une maladie infectieuse particulière. Des paramètres de la réponse immunitaire innée et adaptative seront quantifiés chez des porcs Large White élevés dans une station de contrôle des performances zootechniques et dans une unité expérimentale de l'INRA. Les expériences de transcriptome exploiteront deux types de micro-réseaux. Un premier réseau correspondra au réseau générique porcin développé par l'INRA et couvrant 30 à 50% des gènes. Un second réseau, appelé réseau SLA-immun, sera constitué pendant le cours du projet. Il rassemblera des sondes représentatives de l'ensemble des gènes et pseudogènes du complexe majeur d'histocompatibilité du porc, ainsi que d'autres gènes impliqués dans la réponse immune. L'ensemble des résultats permettra, d'une part de confirmer des réseaux de régulation déjà connus et de mettre en évidence de nouvelles données sur la réponse immune des porcs et, d'autre part, de fournir des informations inexistantes actuellement pour mettre en place des programmes de sélection qui incluent des paramètres de la réponse immune chez le porc.</p>
Partenaires	<p>INRA, UMR314, Laboratoire de Radiobiologie et Etude du Génome (LREG) (partenaire coordinateur) INRA, UR337, Station de Génétique Quantitative et Appliquées (SGQA) INRA, UR66, Unité de Pharmacologie-Toxicologie (LPT) INRA, UR892, Laboratoire de Virologie et Immunologie Moléculaires (VIM)</p>
Coordinateur	<p>Madame Claire ROGEL-GAILLARD claire.rogel-gaillard@jouy.inra.fr</p>
Aide de l'ANR	<p>524 977 Euros</p>
Début et durée	<p>Janvier 2007 – 36 mois</p>
Référence	<p>ANR-06-GANI-008</p>

Titre du projet

MUSCLON - Développement musculaire des bovins obtenus par clonage somatique**Résumé**

Le clonage somatique a de nombreuses applications potentielles en sélection bovine comme, par exemple, multiplier les meilleurs animaux et produire des bovins avec des caractéristiques particulières pour la production de produits alimentaires de qualité prévisible et élevée. Dans certains pays du monde comme les USA ou le Japon, les bovins clonés, et plus vraisemblablement, leurs descendants entreront bientôt dans la chaîne alimentaire. C'est pourquoi il s'avère primordial d'évaluer leur développement et leurs performances physiologiques, notamment le développement de leur tissu musculaire à l'origine de la viande. Une étude préliminaire, réalisée en collaboration entre les deux partenaires du projet, a suggéré que les clones présentent un retard de développement musculaire. Ce retard semble trouver son origine au cours de la vie foetale, sans doute à des stades précoces du développement.

Les objectifs de ce projet sur 3 ans sont : (1) de caractériser le développement musculaire des clones en comparaison de celui d'animaux issus de reproduction sexuée ; (2) de comprendre les mécanismes à l'origine de leur retard de différenciation musculaire ; (3) de rechercher si des mécanismes similaires de retard sont mis en jeu chez les descendants de clones.

- ✓ Au cours de la première année, nous analyserons les caractéristiques biochimiques et histologiques des compartiments musculaires (fibres, tissu conjonctif, tissu adipeux) du muscle semitendinosus (ST) de bovins clonés en comparaison de leurs témoins. Des analyses complémentaires seront effectuées pendant la vie foetale (à 60 et à 260 jours de gestation) et pendant la période postnatale (à 8, 12 et 18 mois d'âge).
- ✓ Les mécanismes moléculaires sous-tendant le retard de différenciation seront recherchés en mettant en oeuvre des techniques de génomique fonctionnelle : analyse transcriptomique de l'expression des gènes dans les masses musculaires en formation chez des foetus de 30 jours (année 1), analyse de l'expression de gènes musculaires candidats et analyse du protéome musculaire à 60 jours et à 260 jours de gestation (année 2). De plus, le développement vasculaire des muscles sera analysé par immuno-histologie.
- ✓ Au cours de la dernière année, nous caractériserons les muscles de descendants de clones, en comparaison des clones. Nous étudierons l'expression de gènes ou de protéines associés au développement musculaire, choisis sur la base des résultats obtenus l'année 2, comme représentatifs des mécanismes identifiés chez les clones.

Les résultats attendus de ce projet de biologie intégrative devraient fournir des connaissances nouvelles sur le développement musculaire précoce et sur les caractéristiques des muscles des bovins clonés et de leur descendance. Ces dernières permettront de prévoir l'impact du clonage somatique sur la qualité et la sécurité des produits carnés issus d'animaux clonés. Ceci contribuera à renforcer l'expertise scientifique de l'INRA au niveau international dans le domaine des applications agronomiques du clonage des animaux..

Partenaires

INRA, UR1213, Unité de Recherche sur les Herbivores (URH) (partenaire coordinateur)
INRA, UMR1198, Biologie du Développement et Reproduction (BDR)

Coordinateur

Madame Isabelle CASSAR-MALEK
cassar@clermont.inra.fr

Aide de l'ANR

205 677 Euros

Début et durée

Janvier 2007 – 48 mois

Référence

ANR-06-GANI-006

Titre du projet**QUALVIGENB - Détection et validation de gènes impliqués dans les qualités de la viande bovine des trois principales races de viande en France****Résumé**

Pour regagner des parts de marché, les éleveurs de races à viande sont particulièrement concernés par l'évolution de la consommation de viande bovine qui dépend largement de l'adéquation entre la qualité de la viande et l'attente du consommateur. Pour cela la filière a choisi de privilégier la segmentation du marché en fonction de la qualité. Or les cahiers des charges ne font pas référence au potentiel génétique des animaux à fournir une viande de qualité car les méthodes de sélection classiques ne sont pas applicables faute de mesure de ces qualités. La disponibilité de marqueurs moléculaires de gènes impliqués dans la variabilité des qualités représente un atout majeur pour la filière en permettant d'orienter les animaux porteurs des allèles favorables vers des segments du marché où la qualité est valorisée. Cette nouvelle information pourra être intégrée par les organismes de sélection pour améliorer le troupeau allaitant non seulement pour des caractères de production, mais aussi de qualité.

L'objet du présent projet est de poursuivre la constitution et l'utilisation d'un puissant outil d'analyse du déterminisme génétique des qualités de la viande en complémentarité avec les travaux de recherche déjà engagés par les équipes partenaires : programmes INRA Mugène (approche génomique fonctionnelle) et Vachotron (approche QTL) et programme Européen Gemqual (approche gènes candidats). La valeur de cet outil réside dans la possibilité qu'il offre d'entreprendre aussi bien des analyses génétiques (QTL, déséquilibre de liaison) que des analyses fonctionnelles (protéomique). Il repose sur une base de données phénotypiques originales, une banque d'ADN génomique complète et une structure familiale qui profite des programmes de testage sur descendance dans les trois races à viande spécialisées : Charolaise, Limousine et Blonde d'Aquitaine. Ce projet (QualvigenB) vise tout d'abord à achever le projet initié avec l'appel d'offre Genanimal en 2003 (Qualvigené) et poursuivi avec l'appel d'offre en 2005 (QualvigenA).

En sus des aptitudes bouchères classiquement contrôlées, la composition de la carcasse et les qualités de la viande seront enregistrées sur 856 taurillons. Les qualités sensorielles seront évaluées par des jurys entraînés et complétées par des mesures physiques (force de cisaillement, chromatographie, perte en eau) ou biochimiques (lipides intramusculaires, collagène, calpastatine, taille des fibres musculaires, pH). De plus, les profils protéomiques seront mis en évidence entre animaux de tendreté extrême afin de mettre en évidence des marqueurs de cette tendreté. La puissance de cette détection sera assurée par le différentiel particulièrement élevé qu'autorise le dispositif expérimental. Une détection de QTL des qualités de la viande sera également entreprise sur les 511 descendants de 6 taureaux répétés en races Limousine ou Blonde.

Les résultats de ces deux méthodes de détection (protéomique et recherche de QTL) s'ajouteront à ceux des autres programmes mentionnés ci-dessus, pour orienter les recherches futures des partenaires en vue de se rapprocher des mutations causales. Le même dispositif expérimental, sera utilisé pour entreprendre la cartographie fine des régions QTL et valider tout gène candidat mis en évidence dans ces projets. La banque d'ADN et la base de données phénotypiques enregistrées dans 114 familles paternelles (3380 jeunes bovins) permettent de valider tout marqueur génétique par analyse des déséquilibres de liaison.

Partenaires

INRA, UR 337, Station de Génétique Quantitative et Appliquées (SGQA) (partenaire coordinateur)

INRA, UR1212, Unité de Recherche sur les Herbivores (URH)

INRA, UR 370, Unité Qualité des Produits Animaux (QuaPa)

INRA, UMR1019, Laboratoire de Nutrition Humaine (UNH)

Institut de l'Élevage - Service Qualité des viandes (IE-SQV)

APIS-GENE

Coordinateur

Monsieur Gilles RENAND

gilles.renand@jouy.inra.fr

Aide de l'ANR

186 226 Euros

Début et durée

Janvier 2007 – 36 mois

Référence

ANR-06-GANI-001

Titre du projet**SPERMGEN - Génomique expressionnelle et fonctionnelle de la spermatogenèse chez la truite - Etude comparée inter-espèces des profils d'expression génique au cours de la spermatogenèse et analyse fonctionnelle dans des lignées de poissons géniques****Résumé**

Notre projet a pour objectif à long terme d'identifier les réseaux transcriptionnels régulant un processus de développement fondamental pour la reproduction des espèces : la gamétogenèse ; ceci chez un poisson d'intérêt aquacole - la truite – chez laquelle nous avons contribué à créer les connaissances physiologiques et les outils moléculaires rendant possible le développement de ce type d'approche.

Bien que le projet décrit ici se concentre sur les aspects fondamentaux, il a un fort potentiel pour de futures applications technologiques et sociétales. En effet, la maîtrise des fécondités et le contrôle de l'âge de la maturation sexuelle chez les poissons d'intérêt aquacole constituent des enjeux importants pour la compétitivité des filières agro-industrielles. Par ailleurs, du point de vue de la protection de l'environnement, il apparaît important de disposer de techniques pour prévenir toute reproduction d'espèces aquacoles allochtones ou génétiquement sélectionnées.

Les objectifs spécifiques immédiats concernent l'analyse des profils d'expression génique aux étapes clé de la spermatogenèse à l'aide de puces à ADN. L'exploitation des microarrays génériques « truite », produites par le CRB Gadie avec l'équipe demandeuse Reproduction des Poissons et SIGENAE, doit permettre la description à grande échelle des gènes potentiellement impliqués dans le développement spermatogénétique chez la truite. La communauté scientifique a relativement peu de recul concernant l'exploitation de telles données chez un poisson éloigné phylogénétiquement des espèces modèles traditionnelles et dont on ne connaît pas le génome. Pour réaliser ce programme nous mettons en synergie les analyses morpho-physiologiques des gonades et l'étude à grande échelle du transcriptome testiculaire chez la truite, développées dans le laboratoire INRA, les savoir faire et outils d'annotation de gènes et d'exploitation des données du transcriptome développées par des équipes hautement compétentes de Ouest Génomique-INSERM Nantes et du Biozentrum de Bâles. Nous explorons les complémentarités d'autres espèces modèles pour l'étude du transcriptome de la spermatogenèse (exploitation des données du Gerhm-INSERM Rennes sur homme, rat, souris), pour les recherches in silico (génomiques de tétraodon, fugu, zébrafish) ou pour l'étude de la fonction des gènes (médaka et zébrafish; plateforme transgène Gif sur Yvette).

Les études de transcriptomique comparée avec d'autres modèles (notamment méiose levure et spermatogenèse mammifère), l'étude de la régulation des gènes d'intérêt par des approches in silico (recherche d'éléments de régulation) et expérimentales (influence de traitements hormonaux) et l'analyse fonctionnelle des meilleurs candidats permettra de repérer des gènes fondamentalement impliqués dans l'initiation de la spermatogenèse ou dans la méiose, et dans la régulation de ces étapes clés chez les poissons. Ces objectifs nécessitent des bioanalyses et des développements bioinformatiques adaptés à l'exploitation des données du transcriptome chez une espèce originale (annotation fine des gènes, génomique in silico, transcriptomique comparative entre espèces) et méthodologiques (des données de puces, analyse fonctionnelle des gènes) qui seront d'utilité pour l'ensemble des programmes actuels ou à venir en génomique des poissons, voire pour les autres modèles agronomiques.

Partenaires

INRA, U1037, Station Commune de Recherche en Ichtyophysiologie, Biodiversité et Environnement (SCRIBE) (partenaire coordinateur)
INSERM, U533, Institut du Thorax
INSERM, U625, Groupe d'étude de la reproduction chez l'homme et les mammifères (GERHM)

Coordinateur

Madame Florence LE GAC
florence.legac@rennes.inra.fr

Aide de l'ANR

212 000 Euros

Début et durée

Janvier 2007 – 36 mois

Référence

ANR-06-GANI-014

Titre du projet	TEGOD - Transgenic studies of Early Acting Genes in Ovarian Development in mouse and goats
Résumé	<p>La modification génique ciblée constitue un outil très performant pour acquérir des connaissances de génomique fonctionnelle, mais également pour la création d'organismes d'intérêt agronomique. Cette technique très utilisée chez la souris, grâce à l'existence dans cette espèce de cellules souches embryonnaires (ES), commence à être employée dans les espèces d'intérêt agronomique. Chez la chèvre, le premier exemple d'inactivation génique, via la recombinaison homologue en fibroblastes puis le transfert nucléaire, vient d'être réalisé par une équipe chinoise pour le gène PRNP (Yu et al. (2006) J. Gen. Virol. 87, 1019-1027). Une approche également très prometteuse pour l'inactivation génique ciblée consiste à exprimer, de façon stable et permanente, des ARN interférents spécifiques du transcrit à inactiver. Ainsi, l'objectif premier de ce projet est de tester la faisabilité de ces deux approches chez la chèvre et de s'approprier ces technologies à l'INRA. Pour ce faire, le modèle d'étude choisi est le locus caprin PIS (Polled Intersex Syndrome), du fait d'une part de l'avancement des travaux sur ce locus et d'autre part, de son importance dans la différenciation, puis la fonctionnalité de la gonade femelle. Le second objectif de ce projet est d'élucider les interactions géniques qui président au développement de l'ovaire normal, comparativement dans 2 espèces de mammifères, la chèvre et la souris.</p> <p>Pour mener à bien ce projet, le partenariat mis en place est capital. Le partenaire 1 (i) est un spécialiste de la différenciation sexuelle chez les animaux domestiques, (ii) est à l'origine avec le partenaire 2 de la découverte du locus PIS, et (iii) a déjà réalisé avec succès l'addition génique chez la chèvre. Le partenaire 2 (i) est un spécialiste des techniques de transgénèse additive chez la souris, (ii) et a obtenu des résultats avec le système d'ARN interférents chez la brebis. Le partenaire 3 (i) est un des leaders mondiaux de la différenciation sexuelle chez la souris et (ii) maîtrise parfaitement l'inactivation génique ciblée dans cette espèce.</p> <p>Quatre axes de recherche constituent notre projet, 2 chez la chèvre et 2 chez la souris. Chez la chèvre, le premier objectif est de réaliser une inactivation du gène FOXL2 (gène clé du locus PIS) par la technique de recombinaison homologue en cellules fibroblastiques puis reconstitution d'embryons par transfert de noyaux (knock-out). Le second objectif est également de réaliser l'extinction génique de FOXL2, mais cette fois en ciblant son ARN messager à l'aide d'ARN interférents spécifiques (knock-down). Le résultat attendu est un phénotype d'inversion sexuelle à l'état homozygote, ce qui démontrerait que FOXL2 est le seul gène (parmi ceux co-régulés par PIS) impliqué dans la survenue des différents phénotypes liés à la mutation PIS. Chez la souris les deux objectifs concernent le gène Rspo1 qui est le premier gène humain isolé pour son implication dans les pathologies d'inversion sexuelle de type mâle XX. Un objectif consiste à réaliser son inactivation ciblée, l'autre à additionner le gène caprin chez la souris. Les deux expériences devraient nous renseigner sur le rôle de ce gène, récemment découvert, dans le développement de l'ovaire mais aussi d'autres organes. Certains résultats nous laissent supposer que RSPO1 pourrait être une cible de FOXL2 et pourrait interagir avec SRY. Les résultats obtenus dans le cadre de ce projet devraient permettre de démontrer ces liens putatifs.</p>
Partenaires	<p>INRA, UMR1199, Biologie du Développement et Reproduction (BDR) (partenaire coordinateur) INRA, UR339, Laboratoire de Génétique biochimique et de cytogénétique (LGBC) INSERM, U636, Génétique du Développement normal et pathologique</p>
Coordinateur	Monsieur Eric PAILHOUX eric.pailhoux@jouy.inra.fr
Aide de l'ANR	288 000 Euros
Début et durée	Janvier 2007 – 36 mois
Référence	ANR-06-GANI-005

Titre du projet**VacGenDC - Profil génique des cellules dendritiques en réponse à de nouveaux candidats vaccins : application à une maladie émergente des ruminants (Bluetongue)****Résumé**

Les maladies infectieuses des animaux d'élevage - endémiques ou émergentes - sont responsables d'importantes pertes économiques dans le monde. Dans un esprit d'agriculture durable, la vaccination représente souvent le meilleur moyen de lutte. Classiquement, des vaccins inactivés sont utilisés, mais ils présentent de nombreux inconvénients (coût de production élevé, recours à 2 injections, immunité de courte durée, pas de distinction entre animaux infectés et vaccinés). De nouvelles stratégies sont requises, mais le coût de leur évaluation, associé à l'expérimentation animale, est élevé. Une approche alternative consiste à tester de nouveaux vaccins *in vitro* pour leur capacité à cibler les cellules dendritiques (DC), qui sont les chefs d'orchestre de l'immunité. Toutefois les méthodes classiques d'étude des DC génèrent une vision limitée de leur fonction et elles n'intègrent pas l'effet dû au type de DC utilisé.

Le virus de la Bluetongue (BTV) chez les ruminants est un bon exemple pour étudier le développement de nouvelles méthodes vaccinales. L'infection par BT (24 sérotypes) s'étend en Europe (France). Un vaccin inactivé peut contrôler l'infection, mais il requiert 2 injections, il ne protège pas entre sérotypes, et il ne discrimine pas entre vaccination et infection. L'emploi de virus recombinants basés sur des virus pox et adénovirus pourrait offrir une solution vaccinale très pertinente.

Notre objectif est d'employer les outils d'analyse post-génomique pour évaluer l'efficacité et les mécanismes d'action de nouveaux vecteurs-vaccins, dans l'idée, à terme, de développer une méthode puissante d'analyse de candidats vaccins préalable à l'administration chez l'animal. A cet effet, nous établirons les profils géniques de DC exposées aux candidats vaccins. L'ovin présente l'avantage de donner accès non seulement aux DC dérivées des monocytes (MoDC, méthode classique) mais aussi aux DC de la lymphe, différenciées *in vivo*. Nos buts seront de déterminer si (1) les candidats vaccins activent les DC différemment ou identiquement ; (2) les types de DC (MoDC, sous populations de lymphe) répondent différemment ; (3) les profils géniques des DC et de la réponse immune chez l'ovin corréleront avec la protection.

Des vecteurs recombinants codant pour les protéines protectrices VP2 et VP7 du BTV seront générés à partir d'adénovirus canin, de capripox et léporipox. Ils seront testés pour leur capacité à induire chez les MoDC et les DC de la lymphe un profil génique particulier (RT-PCR et puces). La réponse immune chez l'animal sera comparativement recherchée (sérologie, RT-PCR et puces) et testée pour l'induction de protection (épreuve virulente).

Les résultats attendus incluent: (1) la production de vaccins meilleurs; (2) des profils de gènes induits par les vaccins chez l'animal rapportés à la protection ; (3) des profils de gènes induits dans les différents types de DC, permettant de générer des connaissances sur la fonction des DC, sur le mode d'action des vecteurs vaccinaux, sur le lien entre réponse des DC et efficacité vaccinale.

L'association des compétences du consortium (virologistes, immunologistes, biologistes moléculaires, bio-informaticiens, chirurgiens) permettra d'apporter des connaissances nouvelles en immunologie générique chez les ruminants et de proposer de nouvelles méthodes en vaccinologie.

Partenaires

INRA, UR892, Virologie et Immunologie Moléculaires (VIM) (partenaire coordinateur)
 INRA, UMR1225, Interaction Hôtes-Agents Pathogènes
 CIRAD, UPR 15, Contrôle des Maladies Animales Exotiques et Emergentes
 INRA, UMR1161, Unité Virologie, INRA/AFSSA/ENV Alfort

Coordinateur

Madame Isabelle SCHWARTZ-CORNIL
 isabelle.schwartz@jouy.inra.fr

Aide de l'ANR

399 492 Euros

Début et durée

Janvier 2007 – 36 mois

