

## **Méthodes de construction et état d'avancement des cartes génétiques des ruminants**

*H. LEVEZIEL, D. VAIMAN, A. EGGEN, E. CRIBIU, G. GUERIN, H. HAYES*

*INRA, Laboratoire de Génétique biochimique et de Cytogénétique, 78352 Jouy-en-Josas Cedex, France*

**RÉSUMÉ** – dans les espèces animales d'intérêt économique, l'effort de cartographie des génomes a été très largement intensifié durant les cinq dernières années. L'évolution des outils et techniques, notamment la description des microsattellites et l'usage de la réaction de polymérisation en chaîne (PCR), a permis d'élaborer des stratégies appropriées pour construire les cartes génétiques et physiques. En s'appuyant sur l'exemple des travaux développés pour le génome bovin, la démarche mise en oeuvre et l'état d'avancement des travaux sont relatés. La carte bovine comprend plus de 900 loci cartographiés et tous les groupes de liaisons sont assignés à un chromosome et orientés. La situation chez les ovins (235 loci cartographiés) et les caprins est résumée. Puis, les résultats actuels, issus de l'utilisation des cartes de première génération aujourd'hui existantes, sont mentionnés. Enfin, l'importance de la cartographie comparée est évoquée. Il est encore tôt pour mesurer l'impact réel de ces travaux, mais il est certain que jamais auparavant, de tels moyens d'investigations n'avaient été disponibles.

## **Construction and present status of genetic maps in ruminants**

*H. LEVEZIEL, D. VAIMAN, A. EGGEN, E. CRIBIU, G. GUERIN, H. HAYES*

*INRA, Laboratoire de Génétique biochimique et de Cytogénétique, 78352 Jouy-en-Josas Cedex, France*

**SUMMARY** – in farm animal species, large efforts have been devoted to genome mapping during the past five years. The evolution of tools and techniques, especially the description of microsattellites and the use of the polymerase chain reaction (PCR), have permitted the development of appropriate strategies to construct genetic and physical maps. Based on research carried out on the bovine genome, the methodology and the present status are described. More than 900 loci have been mapped in cattle and all linkage groups are oriented and assigned to a chromosome. The situation in sheep (235 loci mapped) and goats is summarized. The recent results, obtained from the use of the first generation maps, now established, are then reported. Lastly, the importance of comparative mapping is mentioned. Although it is difficult to evaluate the real impact of this research, it must be underlined that it is the first time that such investigation methods have been available.

## INTRODUCTION

Dans les espèces animales d'intérêt économique, l'effort de cartographie des génomes a été très largement intensifié durant les cinq dernières années (Ollivier et al., 1995 ; Levéziel, 1995). En réalité, l'objectif était la construction d'un outil, c'est à dire de cartes à faible résolution (carte génétique et physique comportant des gènes et marqueurs) ; à aucun instant, ni le séquençage de ces génomes, ni l'établissement de cartes à haute densité, n'ont été envisagés. Il s'agissait avant tout d'élaborer un réseau de marqueurs suffisamment bien répartis (environ 20 cM) pour servir, dans un second temps, au repérage des zones du génome contrôlant tout ou partie de la variabilité génétique des caractères d'intérêt économique (détection de QTL). Ensuite, il conviendra de dresser des cartes plus fines de ces régions, pour chercher des marqueurs génétiques proches des QTL (les encadrant et permettant une sélection assistée par marqueurs), ou pour aborder leur identification (clonage positionnel).

L'idée de rechercher des marqueurs génétiques pour aider à la sélection constitue un souci ancien des généticiens en charge de l'amélioration des populations animales. Mais, jusqu'à la fin des années 70, l'identification de tels marqueurs, aussi appelés prédictors, était restée limitée à quelques exemples (groupes sanguins, protéines du lait notamment), car les méthodologies employées (techniques sérologiques, biochimiques) n'autorisaient que l'étude des produits des gènes. Ainsi, les connaissances sur la cartographie du génome bovin, qui comporte 30 paires de chromosomes (29 autosomes + XY) étaient restées très rudimentaires ; les deux premiers groupes de liaison avaient été décrits en 1965 et leur nombre n'étaient que de 7 en 1989. De fait, la progression des recherches a été étroitement liée aux développements des méthodes d'investigation. A la fin des années 70, l'utilisation de lignées cellulaires d'hybrides somatiques interspécifiques a permis une accélération et les premières assignations à des groupes de synténie. A partir des années 80, les progrès spectaculaires de la biologie moléculaire ont permis d'aborder l'étude du génome dans son intégralité. Le nombre de polymorphismes de l'ADN décrits (RFLP, minisatellites) a augmenté rapidement ; les premières localisations par hybridation *in situ* ont été rapportées en 1986-1988. En 1989, le nombre de loci (marqueurs ou gènes) pour lesquels une information de cartographie était disponible chez les bovins s'élevait à 81, répartis en 28 (26 + XY) groupes de synténie dont l'assignation à des autosomes n'avaient été établie que dans 6 cas.

## 1. ÉVOLUTION DES OUTILS ET TECHNIQUES

### 1.1 LES MICROSATELLITES ; LA PCR

C'est en fait, à partir de 1989, la description des microsatellites qui a incontestablement permis un essor rapide des projets de cartographie génétique. Il s'agit de séquences constituées de répétitions en tandem de mono, di, ou trinucleotides (par exemple TG répété 10 à 20 fois). Très nombreux, bien répartis dans le génome, ces séquences se caractérisent par un polymorphisme important dû à la variation du nombre de répétition selon les allèles. Le principe de détection de ce polymorphisme consiste à amplifier (par

la technique de polymérisation en chaîne ou PCR), à l'aide d'amorces choisies dans les régions flanquant le microsatellite (ce qui suppose d'en connaître la séquence), un fragment de 100 à 250 paires de bases dont la longueur variera selon les allèles en fonction du nombre de répétitions du motif. Les différences entre allèles sont en général faibles (2, 4, 6 ... bases), mais l'amplification réalisée en présence d'un nucléotide radioactif autorise par la suite une détection assez aisée du polymorphisme après électrophorèse en gel d'acrylamide dénaturant et autoradiographie. La résolution de ce type de gel (identique à un gel de séquence) permet de distinguer les allèles (différant par 2 bases) dans de bonnes conditions de réalisation. Dans toutes les espèces de mammifères où ils ont été recherchés, les microsatellites ont pu être rapidement identifiés en grand nombre et leurs propriétés confirmées (dispersion, polymorphisme élevé) (Vaiman et al., 1994). Il faut ici souligner que leur production sous-entend obligatoirement une opération de séquençage, pour connaître les séquences flanquant le motif répété et choisir les amorces à utiliser pour révéler le polymorphisme. La séquence à identifier sera le plus souvent celle d'un fragment d'une longueur d'environ 500 pb, que le microsatellite soit caractérisé à partir d'une banque plasmidique ou à partir d'une banque cosmique. Par conséquent, les équipes qui ont produit depuis deux ans, comme la notre, environ 200 microsatellites, ont séquencé au total 100 kb. En général, les équipes disposent maintenant d'automates de séquençage et de l'infrastructure informatique appropriée.

Il faut aussi et surtout rappeler que l'emploi de la technique de PCR, décrite seulement quelques années auparavant, est essentiel pour l'analyse du polymorphisme des microsatellites. Ces deux éléments (mise au point de la PCR, description des microsatellites), ont donc contribué à une progression rapide de l'ensemble des travaux ; les microsatellites ont été considérés comme les marqueurs génétiques les plus appropriés pour la construction des cartes génétiques, chez l'homme et la souris, mais aussi chez les animaux. L'évolution actuelle vise à identifier le génotype des individus de manière simultanée pour plusieurs marqueurs, par l'emploi d'automates de séquençage, en supprimant l'usage de la radioactivité grâce à des amorces fluorescentes. Cette automatisation offre de plus l'attrait d'une saisie informatique immédiate des résultats.

### 1.2 LES AUTRES PROGRÈS

Bien sûr, d'autres techniques et méthodes ont aussi permis, par leur évolution, l'avancement rapide des travaux. En ce qui concerne la carte génétique, les techniques de description du polymorphisme des gènes ont beaucoup progressé ; elles sont toutes basées sur l'emploi de la PCR et permettent de cartographier les gènes assez aisément. Un éventail de méthodes (SSCP, DGGE, HDA, PCR-RFLP, PCR allèle spécifique ...) sont disponibles : la démarche consistera le plus souvent à générer des produits d'amplification à partir d'ADN génomique d'individus différents, puis à identifier et caractériser leurs différences (polymorphisme) afin d'analyser la ségrégation dans les familles. L'amélioration des programmes d'analyse de liaison (CRIMAP, LINKAGE) et le développement des bases de données nécessaires à la gestion des données de typages ont aussi été des éléments favorables. En ce qui concerne la car-

tographie physique, les méthodes d'hybridation *in situ* en fluorescence ont beaucoup progressé aussi, permettant la localisation précise de gènes ou marqueurs de manière très efficace.

## 2. LES PROGRAMMES DE CARTOGRAPHIE : LEUR STRATÉGIE.

L'élaboration des programmes est issue d'une réflexion importante, menée tant en France qu'à l'étranger au cours des années 1989-1991: l'INRA a ainsi affiché, fin 1990, l'étude des génomes porcins et bovins dans ses priorités (Gellin et Grosclaude, 1991). Au niveau européen, de nombreuses équipes ont coordonné leurs efforts, dès 1989 dans le cadre du projet PiGMap (coordonné par A. Archibald, BBSRC, Edimbourg) pour le génome porcin, et à partir de 1992 dans le cadre du projet Bovmap (coordonné par H. Levéziel, INRA, Jouy-en-Josas) pour les bovins. Ces projets, regroupant respectivement 15 et 33 équipes, ont reçu le soutien des programmes Bridge et Biotechnology de la communauté (DG12, H. Bazin).

Pour construire une carte génétique et physique du génome bovin, la stratégie adoptée par le projet Bovmap peut être présentée à titre d'exemple ; elle s'articule autour de 6 axes essentiels : 1- constitution d'une collection d'ADNs génomiques de familles de référence, afin de permettre à toutes les équipes d'étudier la ségrégation des marqueurs sur un matériel commun pour construire la carte génétique par analyse de liaison, 2- production de marqueurs : l'accent a été mis sur les microsatellites en effectuant tout d'abord une production «au hasard» (banque génomique en plasmides puis en cosmides), et en abordant ensuite leur production raisonnée (nécessaire pour produire des marqueurs dans une zone précise du génome), 3- mise en place de collections de lignées cellulaires d'hybrides somatiques permettant d'assigner rapidement tout gène ou marqueur à un chromosome, 4- maîtrise des méthodes d'hybridation *in situ* en fluorescence (FISH), permettant la localisation des gènes ou marqueurs sur les chromosomes, avec précision et rapidité, 5- développement de nouvelles méthodologies (analyse de ségrégation sur sperme, tri ou dissection de chromosomes, clonage de grands fragments d'ADN), difficiles, mais dont la maîtrise semblait souhaitable à terme, 6- organisation et mise en place des outils nécessaires (bases de données et logiciels d'analyse) à la collecte, la gestion, l'interprétation et la mise à disposition des résultats (Figure 1).

De manière évidente, les deux premiers axes concernent la cartographie génétique et les deux suivants se rapportent à la cartographie physique. L'élaboration de ce programme a bien sûr largement bénéficié de l'exemple et des méthodologies du projet de cartographie du génome humain. Les efforts entrepris par tous les pays ont été importants et la concentration des forces au sein de groupes concurrents est indéniable, même si la coordination s'est organisée par région (projets Bovmap, nordique, nord-américain) ou au niveau mondial. Les recherches, placées sous l'égide de l'ISAG (International Society for Animal Genetics), ont été développées de manière très similaire et cohérente par une cinquantaine d'équipes, dans un contexte international très compétitif.

## 3. CARTOGRAPHIE DU GÉNOME BOVIN : SITUATION ACTUELLE

### 3.1 LES FAMILLES DE RÉFÉRENCES.

A l'instar de ce qui a été fait en génétique humaine, sous l'impulsion du CEPH, les efforts pour constituer l'IBRP (International Bovine Reference family Panel) ont été coordonnés au niveau international par un comité présidé par J. Hetzel (CSIRO), initiateur de la collaboration en ce domaine. Il est à noter que le recours à la transplantation embryonnaire a été systématique, soit en collectant des animaux existants du fait des activités des unités de sélection, comme en France ou en Allemagne, soit en procréant des animaux, comme en Australie, au Kenya et aux USA. Dans le premier cas, il s'agit de familles de race pure, dans le second cas, de croisements entre races éloignées, utilisés pour obtenir une meilleure informativité. Le nombre total d'animaux est de 330, répartis en 21 familles comprenant de 9 à 36 produits ; les parents, issus de 14 races, sont obligatoirement présents, et les grands-parents ont pu être inclus dans quelques cas. L'Europe et la France ont contribué respectivement pour 7 et 4 familles comprenant 80 et 50 animaux. Pour chaque animal, une quantité importante d'ADN (5 mg) a été préparée puis répartie entre 3 noeuds régionaux, en Australie (CSIRO), en Europe (INRA) et aux USA (Texas A&M University) : ils ont pour mission de distribuer l'ensemble de la collection aux équipes en effectuant la demande. Les résultats de typage sont centralisés par W. Barendse (CSIRO) dans la 'Cattle Genotype Database' (CGD). Une analyse de liaison à l'aide du logiciel CRIMAP est réalisée chaque trimestre et est diffusée, avec l'ensemble du jeu de données (aujourd'hui plus de 650 marqueurs), aux équipes qui ont contribué.

### 3.2 LES MARQUEURS

En ce qui concerne la production de marqueurs, la recherche systématique de microsatellites a été entreprise dès 1990 par de nombreuses équipes. Aujourd'hui, plus d'un millier de microsatellites, essentiellement de type (TG)<sub>n</sub>, ont été caractérisés et pour la plupart cartographiés. La carte construite en utilisant les familles de l'IBRP comprenait à la fin 1993, 202 loci (Barendse et al., 1994) ; aujourd'hui, elle comprend 657 marqueurs dont 520 microsatellites et 136 polymorphismes de séquences codantes. 36 équipes ont contribué ; la contribution la plus importante (238 marqueurs) est celle de l'équipe du CSIRO, le groupe européen Bovmap ayant fournis des données pour plus de 210 marqueurs (dont 100 pour l'INRA). Il faut mentionner la production, indépendante, de la carte de l'USDA (Bishop et al., 1994) qui comporte 563 marqueurs, ainsi que les activités de Genmark (société privée américaine maintenant disparue) reprises par ABS (American Breeders Service). Plusieurs cartes spécifiques de chromosomes ont été publiées (Vaiman et al., 1995), et les efforts portent actuellement sur la réalisation de cartes consensus (un premier travail collectif a été réalisé en 1994 pour le chromosome 23). La production de microsatellites à partir de cosmides, qui peuvent de plus être localisés avec précision par hybridation *in situ*, a permis d'aborder avec une grande efficacité l'intégration des cartes génétiques et physiques (Eggen et Fries, 1995).

### 3.3 LES LOCALISATIONS PHYSIQUES

Si les travaux les plus importants pour la description des groupes de synténie sont à mettre à l'actif de l'équipe de J. Womack (Texas A&M University), les équipes européennes ne sont pas en reste puisque deux collections d'hybrides somatiques, développées en France et en Espagne ont permis d'enrichir les connaissances : au cours des 3 dernières années, plus de 300 loci ont ainsi été assignés à l'un des 31 chromosomes, principalement en France, ce qui a notamment beaucoup aidé en vue des analyses de liaison. Mais, la contribution la plus marquante des européens est sans conteste le large potentiel qui a été mis en place pour l'hybridation *in situ*, sous l'impulsion de R. Fries (ETH Zurich) : la quasi totalité des localisations (128) a été réévaluée en Europe.

### 3.4 LA CARTE BOVINE EXISTE

Globalement, il peut être retenu que la situation a considérablement été modifiée en moins de 3 ans. En 1993, une information de cartographie était disponible pour 350 loci. Aujourd'hui, la production intensive de microsattellites a permis de construire des cartes génétiques de première génération comportant en tout 500 à 600 microsattellites. Aucun intervalle supérieur à 40 cM ne subsiste sur la carte établie avec l'IBRP, qui comporte encore 25 «trous», dont 12, 10 et 3 sont respectivement compris entre 20 et 24, 25 et 30, 30 et 40 cM. Même si l'existence d'un réseau régulier de marqueurs distants en moyenne de 20cM n'est pas tout à fait établie, il est certain que le bilan est tout à fait probant et l'objectif pratiquement atteint. Si le nombre de gènes cartographiés a progressé plus lentement, grâce à la localisation des cosmides, l'ensemble des groupes de synténie et de liaison sont aujourd'hui assignés à l'un des 31 chromosomes ; l'existence d'une carte génétique du génome bovin est donc une réalité nouvelle qui ouvre la voie à de multiples perspectives.

## 4. LES NOUVELLES TECHNOLOGIES

L'analyse de ségrégation sur le sperme, particulièrement intéressante pour des loci étroitement liés, a été rapportée dès 1993 par plusieurs équipes. Le tri des chromosomes, considéré comme une gageure chez les bovins dans la mesure où leur différence de taille sont minimes, et entrepris par plusieurs équipes, a été rapporté tout récemment en France (Schmitz et al., 1995). Notons que la collaboration des équipes INRA avec le groupe de G. Frelat au CEA (Fontenay), maîtrisant la cytométrie en flux, avait déjà permis une telle prouesse pour le génome porcin. Au printemps, l'équipe allemande de M. Schwerin (Dummerstorf), a rapporté des résultats séduisants concernant la microdissection de chromosomes bovins ; cette technique devrait ouvrir la voie à la production rapide de marqueurs dans une zone précise du génome. Le dernier domaine qu'il convient d'évoquer est celui des banques de grands fragments : ici, la situation est sans doute un peu moins favorable puisque la première banque en chromosomes artificiels de levure (YAC), produite par le groupe de Genmark (Libert et al., 1993), n'est pas disponible pour la communauté scientifique internationale. Des efforts ont été entrepris par plusieurs équipes, notamment par M. Georges à Liège, pour construire d'autres banques. L'existence d'une banque en chro-

mosomes bactérien (BAC) a aussi été rapportée aux Etats-Unis, ce qui atteste bien de la mobilisation actuelle en la matière.

## 5. LA BASE DE DONNÉES BOVMAP

L'ensemble de l'information recueillie au cours des travaux de cartographie a nécessité le développement plus spécifique de bases relatives aux données de laboratoire ou à la gestion des connaissances accumulées : au niveau international, plusieurs bases de données sont considérées comme les références, ainsi GDB (Genome Data Base) et GenAtlas, banques de données du génome humain, GBase, banque de données du génome murin. L'effort de cartographie pour les espèces animales a rapidement généré un nombre non négligeable de données, et il est très vite apparu indispensable de les réunir, classer et ordonner au sein de bases de données centralisées accessibles aux différentes équipes : ceci constitue l'objectif d'un autre projet européen (GEMINI : Genome Mapping Information Infrastructure) dédié aux bovins et porcins (L'INRA - Jouy-en-Josas - et le BBSRC - Edimbourg - sont respectivement en charge des données des programmes Bovmap et PiGMAP). Comme nous l'avons vu, l'ensemble des données de typages dans les familles internationales sont centralisées en Australie (CGD) et les travaux entrepris à Jouy-en-Josas ont donc essentiellement visé à mettre en place la base BOVMAP, base de données publique répertoriant l'ensemble des informations disponibles sur le génome bovin. La base est ouverte au public depuis Septembre 1993 et est disponible en mode caractère (VT100) ou en mode graphique (X Window) à tout utilisateur relié au réseau Internet et ayant demandé le droit d'accès (contacter A. Eggen (eggen@biotec.jouy.inra.fr)). BOVMAP contient des informations sur les loci, les allèles, la carte physique, le polymorphisme et les homologies entre les différentes espèces (cartographie comparée). Elle donne également des informations sur les sondes, les oligonucléotides, les contacts, les références bibliographiques ainsi que les références d'interrogation à d'autres bases telles que GenBank, EMBL, SWISSPROT, OMIM. Le développement de la base se poursuit afin de permettre l'intégration de données plus détaillées sur les allèles, les races et les polymorphismes ainsi que sur les liaisons génétiques (en liaison avec la CGD). Par ailleurs, une attention particulière a été portée aux données d'homologie afin de permettre le recouplement des données avec celles obtenues dans d'autres espèces (cartographie comparée). L'évolution la plus récente de BOVMAP concerne le développement d'interfaces utilisateurs plus conviviales, de type graphique, ceci pour notamment faciliter la comparaison des diverses cartes génétiques ou physiques. Enfin, BOVMAP est aujourd'hui accessible sur un serveur mosaïc INRA à Jouy-en-Josas (URL: <http://locus/cgi-bin/bovmap/intro.pl>).

## 6. LES CARTES DES RUMINANTS : PROGRAMMES, SITUATION

Aujourd'hui, la carte bovine comporte par exemple plus de 800 marqueurs microsattellites et 200 gènes, tous les groupes de synténie ou de liaisons sont assignés à l'une des 30 paires de chromosomes, et orientés. La situation évolue aussi rapidement chez le mouton (Crawford et al., 1995) et

seule la carte de la chèvre, encore peu documentée, est en cours d'élaboration. Le tableau 1 résume les informations essentielles concernant chacune des 3 espèces de ruminants. Il est à signaler que la progression des travaux dans l'espèce bovine aidera grandement les recherches sur les génomes des autres bovidés. En effet, les microsatellites produits dans l'une ou l'autre de ces espèces peuvent souvent être utilisés dans les autres espèces (au moins 50% des cas entre bovins et ovins). Ainsi, plus de 120 microsatellites bovins ont été analysés à l'INRA, dans des familles caprines, afin de construire une première carte génétique de la chèvre, qui comprendra environ 200 marqueurs.

En définitive, des cartes à faible résolution existent déjà, et même si elles présentent encore quelques imperfections, les étapes suivantes peuvent maintenant être abordées : d'une part, utilisation des cartes pour identifier les régions du génome comportant des gènes responsables de la variabilité des caractères quantitatifs (QTL), c'est-à-dire de la variabilité manipulée par les sélectionneurs, et d'autre part, préparation des méthodes et techniques qui seront utiles pour cartographier plus précisément certaines régions et surtout identifier les QTL avec précision.

## 7. L'UTILISATION DES CARTES

### 7.1 LA RECHERCHE DE QTL

Ne disposant pas, comme dans le secteur végétal, de lignées fixées, leur mise en évidence repose, soit sur l'élaboration de protocoles générant artificiellement des situations de déséquilibre de liaison entre marqueurs et QTL (croisement entre types génétiques ou races), soit sur une approche intrarace qui suppose bien sûr que les allèles des QTL soient encore en ségrégation dans les familles analysées. Ces travaux nécessitent des effectifs importants et, dans tous les pays, la mise en place des moyens nécessaires (capacité de typage) pour réaliser plusieurs centaines de milliers de typages, gérer les résultats ou conduire les analyses statistiques, fait actuellement l'objet d'efforts soutenus, en matière d'investissement matériel (analyse du polymorphisme des microsatellites à l'aide de séquenceurs automatiques) ou logiciel (interprétation automatique des typages, base de données, logiciels d'analyse). En France, les méthodologies ont été élaborées et testées avec succès pour localiser un gène majeur (RN) responsable du défaut des viandes acides et intervenant dans le potentiel glycolytique du muscle chez les porcs (Milan et al., 1995). Plusieurs résultats, concernant des gènes majeurs ou des caractères monogéniques, tant chez les bovins : Weaver (Georges et al., 1993a), gène sans corne (Georges et al., 1993b), que chez les ovins : Booroola (Montgomery et al., 1994), Callipyge (Cockett et al., 1994) avaient déjà été relatés. Tout récemment, le gène culard bovin (mh) a été localisé sur le chromosome 2 par l'équipe de M. Georges à Liège (Charlier et al., 1995). Même si les cas abordés se présentaient de manière plus favorable, par comparaison avec les difficultés attendues dans le cas des caractères à déterminisme polygénique, il faut bien sûr insister sur le caractère exemplaire de ces localisations, qui pour le moins ont démontré que l'utilisation des cartes génétiques pouvait être récompensée.

Pour ce qui concerne les caractères polygéniques, seuls deux travaux ont été publiés, concernant les bovins laitiers (Georges et al., 1995) ou les caractères de croissance

et d'engraissement chez les porcs (Andersson et al., 1994). Dans de nombreux pays, des programmes importants pour la détection de QTL sont en cours de réalisation ou de mise en place. Chez les bovins, l'effort est porté le plus souvent vers l'étude de la production laitière, notamment en France, aux Etats-Unis ou en Europe du Nord : cela se justifie par l'usage très répandu de l'insémination artificielle dans les populations et l'existence de grandes familles de demi-frère ayant un père commun. Il est sans conteste plus difficile d'aborder l'étude d'autres caractères, comme ceux concernant la production de viande, ou les maladies. Signalons que les équipes américaines et australiennes sont engagées dans l'étude de la croissance, de la composition des carcasses, de la qualité des viandes ou de la gémeité, et qu'il convient de citer les efforts des équipes de J. Hetzel (CSIRO) ou de A. Teale (ILRAD, Nairobi) respectivement pour la résistance aux tiques ou aux trypanosomes.

### 7.2 IDENTIFICATION DES ANIMAUX

Par ailleurs, dans le contexte des travaux de cartographie, de nouveaux tests pour identifier les animaux et contrôler les filiations ont été mis au point. Ainsi, parmi les divers tests disponibles pour les bovins, ceux concernant la détermination du génotype d'une lactoprotéine (k caséine) influençant le rendement fromager, ou la détection d'une mutation de la protéine membranaire CD18, responsable du BLAD (Bovine Leukocyte Adhesion Deficiency), sont maintenant proposés en routine aux éleveurs (typages réalisés par LABOGENA (Jouy-en-Josas) en France). En ce qui concerne les contrôles de filiation, les laboratoires évaluent actuellement l'utilisation des microsatellites. L'emploi de ces marqueurs devrait à terme compléter ou suppléer les méthodes actuelles d'analyse de groupes sanguins, mais de nombreux problèmes devront néanmoins être résolus (standardisation des protocoles, maintien des coûts, automatisation) avant que tous les laboratoires collaborant dans le cadre de l'ISAG puissent généraliser leur usage. En France, LABOGENA propose depuis quelques mois un service d'identification et de vérification des filiations pour la chèvre, basé sur l'emploi de microsatellites à l'origine caractérisés chez les bovins.

### 7.3 LES ÉTUDES DE POPULATIONS

Les programmes de cartographie ont nécessité la description de nombreux polymorphismes ; ils commencent à être utilisés pour inventorier et analyser la variabilité génétique des populations, dans le but futur d'aider à la gestion des ressources génétiques. Cette préoccupation résulte du fait que la sélection, menée de manière intensive, pour un nombre limité de caractères (en réponse à la demande économique des marchés), a eu pour double conséquence la diminution du nombre de races et l'augmentation de l'effectif de certaines : ainsi, 85% des bovins élevés aujourd'hui en France appartiennent à 5 races seulement. Divers travaux, concernant des races bovines européennes, françaises ou italiennes ont permis de montrer la grande capacité d'investigation apportée par les microsatellites mais aussi la nécessité de développer de nouvelles méthodes d'analyse, basées sur la comparaison directe des génotypes individuels et permettant d'estimer la variabilité intra- ou inter-population (Bowcock et al., 1994 ; Ciampolini et al., 1995). Il existe actuellement une forte mobilisation ; les équipes euro-

péennes, pour la plupart participantes au projet Bovmap, ont décidé de coordonner leurs efforts en prévoyant de sélectionner une liste de marqueurs à étudier en parallèle dans les diverses races. La même démarche prévaut au niveau international, et des travaux analogues existent dans les autres espèces. Il est certain que la mise en place d'un projet FAO, visant à inventorier les ressources génétiques présentes dans tous les pays et dans toutes les espèces d'élevage, est attendue avec un grand intérêt.

## 8. LA CARTOGRAPHIE COMPARÉE.

Les cartes génétiques réalisées ces dernières années ont particulièrement été enrichies par l'acquisition de données relatives aux microsatellites. Or l'emploi de ces marqueurs «anonymes» est souvent restreint à l'espèce dans laquelle ils ont été caractérisés, ce qui limite grandement leur potentiel pour la cartographie comparée. Par conséquent, mis à part pour le cas d'espèces proches (par exemple bovins-ovins-caprins), la tendance actuelle risque de mener à l'établissement de cartes non comparables. Le fait de pouvoir comparer les cartes, outre son intérêt fondamental évident (structure, conservation, évolution du génome), revêt pourtant une importance stratégique pour identifier rapidement des gènes candidats dans les zones répertoriées comme «intéressantes» à l'issue de la phase de recherche de QTL. Dans cette optique, il paraît judicieux de pouvoir tirer profit des cartes humaines ou murines, bien mieux connues. Pour cela, il nous faut impérativement placer les mêmes séquences codantes, mieux conservées dans les différentes espèces, sur les différentes cartes, physiques et génétiques, pour ainsi constituer un réseau de loci «ancres». Disposant d'un tel maillage, il deviendra alors possible, ayant cerné la région d'intérêt dans une espèce donnée, d'identifier sur une autre carte, plus dense, les meilleurs candidats. Les données actuelles, issues des travaux de cartographie physique, montrent qu'il existe bel et bien des segments entiers couvrant plusieurs centimorgans qui sont conservés entre espèces (O'Brien et al., 1993).

La collaboration avec l'équipe de G. Frelat (CEA, Fontenay) a permis aux équipes INRA, travaillant sur le porc et les bovins, d'aborder la cartographie comparée en disposant de chromosomes triés porcins et bovins, en plus des chromo-

somes humains disponibles commercialement. Les résultats d'expériences d'hybridation hétérologues, basées sur l'utilisation des chromosomes individuels d'une espèce comme sonde lors de l'hybridation sur une métaphase, fournissent maintenant des informations très précises sur la conservation de segments homoéologues entre espèces (Hayes, 1995). Dans un futur proche, cette démarche devrait grandement faciliter l'identification des limites des segments conservés au cours de l'évolution, et le repérage rapide de gènes candidats en vue du clonage de QTL.

## CONCLUSION

Il est indéniable que le développement et la réussite des programmes de cartographie du génome des animaux, notamment chez les porcs et les bovins, ont été rapides. Les cartes, même si elles sont encore imparfaites, existent. Aujourd'hui, plusieurs exemples de leur utilisation fructueuse peuvent être rapportés et les travaux entrepris (recherche de QTL, banques de grands fragments, cartographie comparée, cartographie régionale, étude de populations) apparaissent prometteurs. De gros efforts collectifs ont été réalisés et les programmes engagés, qui bénéficient du soutien des organismes nationaux (en France : INRA, GREG) et internationaux (CEE), ou des partenaires professionnels, sont en quelque sorte en phase de production. Il est encore tôt pour mesurer leur impact réel à long terme, mais il est certain que jamais auparavant, de tels moyens d'investigations n'avaient été disponibles. L'importance des résultats obtenus, que cette revue n'illustre qu'en partie, montre que des perspectives considérables sont offertes, en termes de recherche et d'espoirs d'applications. La fourniture à l'élevage des outils permettant l'amélioration et le renouvellement des méthodes de sélection, encore très attendus, est maintenant à notre portée.

## REMERCIEMENTS

Les travaux de cartographie des génomes animaux ont bénéficié du soutien du Groupement Recherche et d'Etudes sur le Génomes (GREG), de l'Union Européenne (Programme Biotechnology, DG12) et de l'INRA (AIP Génomes).

Figure 1  
Cartographie du génome bovin ; stratégie du projet européen Bovmap.

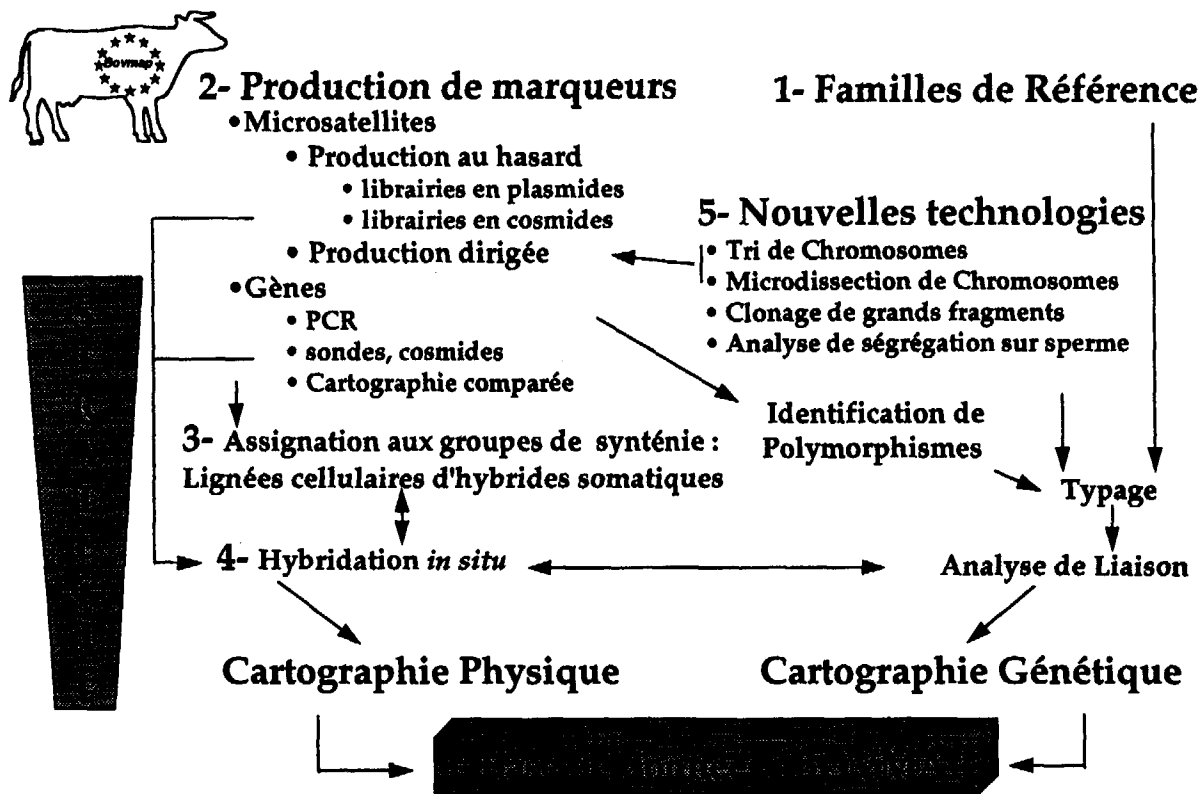


Tableau 1 : Cartographie des génomes des ruminants ; situation, principaux programmes.

		<b>Bovin</b>	<b>Mouton</b>	<b>Chèvre</b>
<b>Nombre de chromosomes</b>		60	54	60
<b>Programmes</b>	INRA	oui	oui	oui
	CEE	Bovmap	-	-
	Autres	USA	NZ	-
		Australie	Australie	
		Kenya	USA	
		Israël	Europe	
<b>Nombre d'équipes</b>		50	10	3
<b>Nombre de chercheurs</b>		150	40	5
<b>Familles de référence</b>	Nombre	21	9	-
	Type	F1, F2	F2	-
	Taille	9 à 36	7 à 18	-
	Total	330	154	-
<b>Nombre de microsatellites</b>	produits	> 1000	>250	150
	cartographiés	527	150	?
<b>Longueur du génome marqué (cM)</b>		3415		
<b>Collections d'Hybrides Somatiques</b>		3	2	-
<b>Nombre de localisations <i>in situ</i></b>		128	64	12
<b>Nombre de loci cartographiés</b>		913	235	?
<b>Base de données</b>		BOVMAP	SheepBase	-
<b>Chromosomes Triés</b>		oui	-	-
<b>Banques de Grands Fragments</b>		oui	?	-

## RÉFÉRENCES

- ANDERSSON L., HALEY C.S., ELLEGREN H., KNOTT S.A., JOHANSSON M., ANDERSSON K., ANDERSSON-EKLUND L., EDFORS-LILJA I., FREDHOLM M., HANSSON I., HAKANSSON J. and LUNDSTROM K., 1994. *Science*, 263, 1771-1774.
- BARENDSE W., ARMITAGE S.M., KOSSAREK L.M., SHALOM A., KIRKPATRICK B.W., RYAN A.M., CLAYTON D., LI L., NEIBERGS H.L., ZHANG N., GROSSE W.M., WEISS J., CREIGHTON P., McCARTHY F., RON M., TEALE A.J., FRIES R., McGRAW R.A., MOORE S.S., GEORGES M., SOLLER M., WOMACK J.E. and HETZEL D.J.S., 1994. *Nature Genetics*, 6, 227-235.
- BISHOP M.D., KAPPES S.M., KEELE J.W., STONE R.T., SUNDEN S.L.F., HAWKINS G.A., SOLINAS-TOLDO S., FRIES R., GROSZ M.D., YOO J. and BEATTIE C.W., 1994. *Genetics*, 136, 619-639.
- BOWCOCK A.M., RUIZ-LINARES A., TOMFOHRDE J., MINCH E., KIDD J.R. and CAVALLI-SFORZA L.L., 1994. *Nature*, 368, 455-457.
- CHARLIER C., COPPIETERS W., FARNIR F., GROBET L., LEROY P., MICHAUX C., MNI M., SCHWERS A., VANMANSHOVEN P., HANSET R. and GEORGES M., 1995. The mh gene causing double-muscling in cattle maps to bovine chromosome 2. *Mammalian Genome*, 6, sous presse.
- CIAMPOLINI R., MOAZAMI-GOUDARZI K., VAIMAN D., DILLMANN C., MAZZANTI E., FOULLEY J.L., LEVEZIEL H. and CIANCI D., 1995. *J. Animal Science*, 73, sous presse.
- COCKETT N.E., JACKSON S.P., SHAY T.L., NIELSEN D., MOORE S.S., STEELE M.R., BARENDSE W., GREEN R.D. and GEORGES M., 1994. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 91, 3019-3023.
- CRAWFORD A.M., DODDS K.G., EDE A.J., PIERSON C.A., MONTGOMERY G.W., GARMONSWAY H.G., BEATTIE A.E., DAVIES K., MADDOX J.F., KAPPES S.W., STONE R.T., NGUYEN T.C., PENTY J.M., LORD E.A., BROOM J.E., BUITKAMP J., SCHWAIGER W., EPPLEN J.T., MATTHEW P., MATTHEWS M.E., HULME D.J., BEH K.J., McGRAW R.A. and BEATTIE C.W., 1995. *Genetics*, 140, 703-724.
- EGGEN A. and FRIES R. 1995. *Animal Genetics*, 26, 215-236.
- GELLIN J. and GROSCLAUDE F. 1991. *INRA Prod. Anim.*, 4, 97-105.
- GEORGES M., DIETZ A.B., MISHRA A., NIELSEN D., SARGEANT L.S., SORENSEN A., STEELE M.R., ZHAO X., LEIPOLD H., WOMACK J.E. and LATHROP M., 1993a. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 90, 1058-1062.
- GEORGES M., DRINKWATER R., KING T., MISHRA A., MOORE S.S., NIELSEN D., SARGEANT L.S., SORENSEN A., STEELE M.R., ZHAO X., WOMACK J.E. and HETZEL J., 1993b. *Nature Genetics*, 4, 206-210.
- GEORGES M., NIELSEN D., MACKINNON M., MISHRA A., OKIMOTO R., PASQUINO A.T., SARGEANT L.S., SORENSEN A., STEELE M.R., ZHAO X., WOMACK J.E. and HOESCHELE I., 1995. *Genetics*, 139, 907-920.
- HAYES H., 1995. *Cytogenet. Cell Genet.*, 71, 168-174.
- LEVEZIEL H., 1995. *Biofutur*, 146, 63-68.
- LIBERT F., LEFORT A., OKIMOTO R., WOMACK J. and GEORGES M., 1993. *Genomics*, 18, 270-276.
- MILAN D., LE ROY P., WOLOSZYN N., CARITEZ J.C., ELSEN J.M., SELLIER P. and GELLIN J. 1995. *Genetics Selection Evolution*, 27, 195-199.
- MONTGOMERY G.W., LORD E.A., PENTY J.M., DODDS K.G., BROAD T.E., CAMBRIDGE L., SUNDEN S.L.F., STONE R.T. and CRAWFORD A.M., 1994. *Genomics*, 22, 148-153.
- O'BRIEN S.J., WOMACK J.E., LYONS L.A., MOORE K.J., JENKINS N.A. and COPELAND N.G., 1993. *Nature Genetics*, 3, 103-112.
- OLLIVIER L., GELLIN J., MILAN D., POPESCU P., VAIMAN M. and YERLE M. 1995. *Journées Rech. Porcine en France*, 27, 127-134.
- SCHMITZ A., OUSTRY A., CHAPUT B., BAHRI-DARWICH I., YERLE M., MILAN D., FRELAT G. and CRIBIU E.P., 1995. *Mammalian Genome*, 6, 415-420.
- VAIMAN D., MERCIER D., MOAZAMI-GOUDARZI K., EGGEN A., CIAMPOLINI R., LEPINGLE A., VELMALA R., KAUKINEN J., VARVIO S.L., MARTIN P., LEVEZIEL H. and GUERIN G., 1994. *Mammalian Genome*, 5, 288-297.
- VAIMAN D., EGGEN A., MERCIER D., BAHRI-DARWICH I., GROHS C., BRUNEAU D., LAURENT P., CHAPUT B., OUSTRY A., FRELAT G., LEVEZIEL H. and CRIBIU E.P., 1995. *Animal Genetics*, 26, 21-25.