

Mise en évidence de marqueurs de tendreté de la viande bovine par des approches de génomique fonctionnelle (projet MUGENE)

HOCQUETTE. J-F (1), BERNARD. C (1), CASSAR-MALEK. I (1), LEPETIT. J (2), MICOL. D (1), JURIE. C (1), MEUNIER. B (1), RENAND. G (3), PICARD. B (1)

(1) INRA, UR1213, Unité de Recherches sur les Herbivores, Theix, 63122 Saint-Genès-Champanelle, France

(2) INRA, UR370, Unité Qualité des Produits Animaux, Theix, 63122 Saint-Genès-Champanelle, France

(3) INRA, UR337, Station de Génétique Quantitative et Appliquée, 78352 Jouy-en-Josas, France

RESUME – L'objectif de cette étude, incluse dans le programme MUGENE, est d'identifier de nouveaux marqueurs des qualités sensorielles de la viande bovine par des approches de génomique fonctionnelle. Le niveau d'expression d'un grand nombre de gènes et de protéines a été analysé dans le muscle *Longissimus thoracis* ainsi que les caractéristiques biochimiques de ce dernier issu de taurillons Charolais abattus à l'âge de quinze ou dix-neuf mois. Les transcriptomes et les protéomes des muscles ont été comparés sur la base des qualités sensorielles (tendreté, jutosité, flaveur) et de la force de cisaillement de la viande cuite au grill (55°C). Parmi les marqueurs identifiés, certains indicateurs du métabolisme oxydatif ou du métabolisme des acides gras dans les muscles semblent associés à une meilleure flaveur (cytochrome-*c* oxydase, PRKAG1 codant pour une isoforme de la sous-unité gamma de la protéine kinase AMP dépendante) ou à une meilleure tendreté (citrate synthase, apoBEC, apolipoprotéine, isoforme lente de la chaîne lourde de myosine, ubiquinol-cytochrome-*c* réductase et chaîne bêta de l'ATP synthase) de la viande. Un résultat majeur est l'identification d'une relation négative entre l'expression du gène DNAJA1 et la tendreté sensorielle de la viande après quatorze jours de maturation à la fois chez les taurillons étudiés mais aussi chez des bœufs de race Charolaise. Ce gène code pour une protéine chaperone de la famille des « *heat shock* » protéines (hsp40). Le niveau d'expression d'autres protéines de stress (notamment HSPB1 codant pour l'Hsp27) est positivement corrélé à la force de cisaillement que ce soit au niveau ARNm ou protéique. Ces protéines ont une activité anti-apoptotique et pourraient ainsi ralentir le processus de mort cellulaire et en conséquence la maturation de la viande favorable à l'attendrissement du muscle après l'abattage de l'animal.

New indicators of beef tenderness revealed by functional genomic approaches (the MUGENE project)

HOCQUETTE. J-F (1), BERNARD. C (1), CASSAR-MALEK. I (1), LEPETIT. J (2), MICOL. D (1), JURIE. C (1), MEUNIER. B (1), RENAND. G (3), PICARD. B (1)

(1) INRA, UR1213, Unité de Recherches sur les Herbivores, Theix, 63122 Saint-Genès-Champanelle, France

SUMMARY – The objective of this study, conducted within the MUGENE program, was to identify new markers for the sensory qualities of beef by functional genomic approaches. The expression level of a large number of genes and proteins, as well as biochemical characteristics, were determined in the *Longissimus thoracis* muscle of young Charolais bulls slaughtered at 15 or 19 months of age. The muscular transcriptome and proteome were compared on the basis of the sensory qualities (tenderness, juiciness, flavour) and shear force of 55°C grilled meat. Some of the markers identified in the present study, which are known indicators of oxidative or fatty acid metabolism in muscles, appear to be associated with improved flavour (*e.g.* cytochrome-*c* oxidase and PRKAG1, which encodes an isoform of the AMP-activated protein kinase gamma subunit) or tenderness (*e.g.* citrate synthase, apoBEC, apolipoprotein, slow isoform of the heavy myosin chain, ubiquinol-cytochrome-*c* reductase and ATP synthase beta chain) of meat. Specifically, the present study identified a negative relationship between the expression of the DNAJA1 gene and beef tenderness, after 14 days of ageing, in muscles from Charolais bulls. This relationship was also evident with Charolais steers. This gene encodes a chaperone protein of the “heat shock” protein family (*i.e.* hsp40). Further, the expression level of other stress related proteins (especially HSPB1, which encodes Hsp27) were positively correlated with shear force at either the mRNA or protein level. Elevated expression of these proteins, which have anti-apoptotic roles, in muscles, may potentially slow down the processes of cellular death and consequently meat ageing, having a negative impact on the *post-mortem* tenderisation of meat.

INTRODUCTION

Le contrôle des qualités sensorielles de la viande bovine, et plus particulièrement de la tendreté, est devenu l'une des priorités de la filière. De nombreux facteurs de production, d'abattage ou d'autres liés à la maturation influencent les qualités sensorielles de la viande. L'ensemble des facteurs associés aux animaux ou au type de muscle jouent également un rôle sur les caractéristiques biologiques des muscles (teneurs en collagène total ou insoluble, en lipides intramusculaires, en enzymes et en inhibiteurs enzymatiques, taille et type des fibres musculaires) et participent par conséquent au déterminisme de la qualité de la viande (Geay *et al.*, 2002). Cependant, les caractéristiques biologiques étudiées jusqu'à présent expliquent au maximum 30 % de la variabilité de la tendreté de la viande bovine (Renand *et al.*, 2001). L'identification de nouvelles

caractéristiques biologiques du muscle ayant une forte influence sur la qualité de la viande est donc un enjeu majeur pour la filière des animaux de boucherie, d'autant plus si ces critères peuvent être intégrés aux schémas de sélection des bovins reproducteurs. C'est pourquoi des recherches sont conduites afin d'identifier des marqueurs de la qualité sensorielle de la viande bovine en mettant à profit les nouvelles techniques de génomique. Un des objectifs du programme MUGENE est donc d'identifier de nouveaux marqueurs moléculaires des qualités sensorielles de la viande bovine grâce à l'analyse du transcriptome et du protéome musculaires de taurillons et de bœufs Charolais.

1. MATERIEL ET METHODES

1.1. ANIMAUX

Cette étude a été conduite à partir de taurillons et de bœufs de race Charolaise. Les taurillons ont été abattus à l'âge de

quinze ou dix-neuf mois et les bœufs à trente mois. La composition corporelle des animaux a été estimée à l'aide d'une équation de prédiction tenant compte du poids de la carcasse, des tissus de la sixième côte et des gras internes (Robelin et Geay, 1975). Des prélèvements du muscle *Longissimus thoracis* (LT) (entrecôte) ont été réalisés à l'abattage et conditionnés pour l'analyse sensorielle ou conservés à -80°C jusqu'aux études en laboratoire.

1.2. CARACTERISTIQUES DES MUSCLES

Nous avons déterminé les activités de différentes enzymes mitochondriales caractéristiques du métabolisme musculaire oxydatif, telles que la cytochrome-*c* oxydase (COX, chaîne respiratoire), la citrate synthase (CS, cycle de Krebs), l'isocitrate déshydrogénase (ICDH, cycle de Krebs), et la β -hydroxyacyl-CoA déshydrogénase (HAD, oxydation des acides gras), ainsi que l'activité d'une enzyme glycolytique, la lactate déshydrogénase (LDH). Nous avons également mesuré la surface moyenne des fibres musculaires à partir de coupes histologiques colorées à l'azorubine et dosé les teneurs en collagène total et insoluble ainsi qu'en lipides totaux, triglycérides et phospholipides intramusculaires. Les méthodes utilisées sont celles décrites par Cassar-Malek *et al.* (2004).

Pour l'analyse sensorielle, les steaks ont été maturés à 4°C pendant quatorze jours, puis stockés à -20°C. Après décongélation, ils ont été grillés à une température de 55°C à cœur et soumis à un jury de dégustation qui a attribué une note de 1 à 10 pour chaque critère de qualité (tendreté, jutosité et flaveur). La force de cisaillement Warner-Bratzler (WB) a également été mesurée sur la viande après une maturation de vingt et un jours et une cuisson à 55°C sur grill. Les animaux ont ensuite été classés selon ces notes en fonction des différents critères de qualité ainsi qu'en fonction de la force de cisaillement mesurée. Pour chaque critère, et en ce qui concerne les taurillons, quatre animaux présentant les notes ou les forces les plus extrêmes ont été regroupés, à raison de deux à trois taurillons de chaque groupe à quinze et à dix-neuf mois. Les résultats concernant les bœufs ont été utilisés pour valider certains marqueurs de tendreté ou de dureté de la viande, identifiés avec les taurillons.

1.3. ETUDE DU TRANSCRIPTOME MUSCULAIRE

L'analyse du transcriptome musculaire des taurillons a été réalisée à l'aide de puces oligonucléotidiques comportant 5 418 séquences spécifiques de gènes musculaires humains et murins. À partir de chaque échantillon, les ARN totaux ont été extraits, rétro-transcrit en ADNc, marqués avec un fluorochrome (cyanine 3) et hybridés simultanément avec une référence marquée en cyanine 5 sur quatre puces. Celles-ci ont ensuite été scannées (*Affymetrix 428 array scanner*) et les images obtenues ont été analysées en utilisant le logiciel Genepix Pro 6.0 (Bernard *et al.*, 2007) Les données ont été normalisées en utilisant MADSCAN (Le Meur *et al.*, 2004) qui combine la méthode des rangs invariant ainsi que la méthode de régression *lowess*.

Les gènes différentiellement exprimés en fonction des critères de qualité (sensorielle ou mécanique) ont été identifiés en utilisant l'outil statistique SAM (*Significance Analysis of Microarray*, Tusher *et al.*, 2001). Le pourcentage de variabilité des qualités sensorielles expliqué par les caractéristiques musculaires ou les niveaux d'expression de gènes a été déterminé par une étude de corrélation (Bernard *et al.*, 2007) avec le logiciel Statistica (Statsoft, France).

Le niveau d'expression du gène DNAJA1 dans le muscle des taurillons et des bœufs a été déterminé par RT-PCR en

temps réel en utilisant le *LightCycler FastStart DNA Master SYBR Green 1 kit* (Roche Diagnostics) et un couple d'amorces spécifique du gène dessiné à partir du logiciel *Primer 3*. L'efficacité de la réaction de PCR a été calculée à partir d'une gamme de dilution au 1/10 d'ADNc purifiés. L'intégrité et la spécificité du produit de PCR ont été vérifiées grâce à l'établissement d'une courbe de dissociation.

1.4. ETUDE DU PROTEOME MUSCULAIRE

L'analyse du protéome musculaire a été réalisée à partir des échantillons des muscles d'animaux extrêmes de forte ou faible tendreté selon la force de cisaillement (WB).

A partir de ces échantillons, les protéines musculaires ont été extraites et séparées par électrophorèse bidimensionnelle en gradient de pH 4-7 en première dimension et en gel SDS-PAGE à 11 % d'acrylamide en seconde dimension (Bouley *et al.*, 2004). Une série de trois gels par animal a été réalisée, soit un total de vingt-quatre gels. Après coloration au bleu de coomassie G 250, les gels ont été scannés (*ImageScanner LabScan v5.0 Amersham, Uppsala, Sweden*) puis analysés à l'aide du logiciel *Image Master Platinum* (Amersham, Uppsala, Sweden). L'analyse des spots présentant des différences entre groupes de tendreté a été réalisée par classification hiérarchique (Permutmatrix) et analyse statistique selon les méthodes décrites par Meunier *et al.* (2005 et 2007). Les protéines d'intérêt ont été identifiées par spectrométrie de masse (Maldi-Tof) sur la Plateforme Protéome du Centre INRA de Clermont-Theix.

2. RESULTATS

2.1. RELATION ENTRE LES QUALITES SENSORIELLES DE LA VIANDE ET LES CARACTERISTIQUES DES MUSCLES

L'analyse par corrélation des données phénotypiques sur la première cohorte de vingt-cinq taurillons en relation avec les notes de tendreté, de jutosité et de flaveur des viandes a permis de confirmer des résultats de Renand *et al.* (2001). En effet, ces données permettent d'expliquer jusqu'à 25 % de la variabilité de la tendreté et de la jutosité et jusqu'à 33 % de celle de la flaveur. L'activité de la COX permet à elle seule d'expliquer 19 % de la variabilité de la flaveur. Comme attendu, la force de cisaillement WB est négativement corrélée à la tendreté de la viande (-0,48). Seule l'activité Citrate synthase est significativement corrélée à la force de cisaillement (-0,41). L'ensemble de ces résultats suggère donc l'implication d'autres caractéristiques biologiques à identifier dans le déterminisme de la qualité de la viande.

2.2. MARQUEURS DE LA TENDRETE OU DE LA DURETE REVELES PAR L'ANALYSE DU TRANSCRIPTOME

Les transcriptomes du muscle LT de vingt-cinq taurillons Charolais de quinze ou dix-neuf mois ont été comparés sur la base des qualités sensorielles (tendreté, jutosité, flaveur) évaluées par un jury de dégustation.

Les analyses différentielles selon les critères de qualité ont révélé cent douze gènes associés à la tendreté de la viande, quatre-vingt-onze à la jutosité et cent seize à la flaveur. La fonction de 20 % de ces gènes reste encore inconnue et aucun processus biologique n'est impliqué de façon majoritaire.

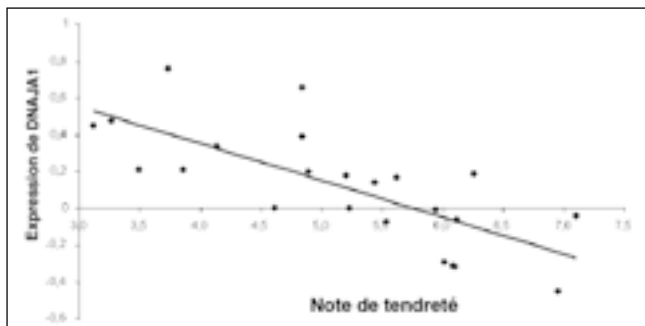
Parmi ces gènes, cinquante-huit apparaissent différentiellement exprimés à la fois selon la tendreté de la viande, la jutosité et également la flaveur : trente-trois

montrent une surexpression dans les muscles donnant les viandes les plus tendres, les plus juteuses et avec le plus de goût, neuf sont sous-exprimés dans les mêmes échantillons et seize présentent des profils d'expression variables.

Une étude de corrélation a été réalisée avec les données de dix-neuf gènes surexprimés, présentant des profils d'expression similaires dans les muscles donnant les viandes les plus tendres, les plus juteuses et ayant le plus de goût, et des cinq gènes les plus sous-exprimés dans ces mêmes échantillons. Dix-huit des dix-neuf gènes sont fortement corrélés à la fois à la jutosité et à la flaveur des viandes et expliquent respectivement jusqu'à 50 % et 60 % de leur variabilité. Parmi ces gènes, se trouve le gène PRKAG1 qui code pour une des trois isoformes de la sous-unité gamma de la protéine kinase AMP dépendante.

L'étude de corrélation a permis de révéler qu'un seul gène sous-exprimé (DNAJA1) est inversement corrélé à la tendreté et explique 63 % de sa variabilité avec les quatorze taurillons qui produisent les viandes les plus dures ou les plus tendres. Ce gène code pour une protéine chaperone, membre de la famille des « *heat shock* » protéines Hsp40. L'analyse du niveau d'expression de DNAJA1 à partir des échantillons de muscle LT d'une vingtaine de taurillons (figure 1) et des bœufs Charolais confirme la relation négative de ce gène avec la tendreté de la viande. L'expression de ce gène constitue donc un bon candidat pour être un marqueur négatif de tendreté en race Charolaise. Ces résultats ont fait l'objet d'un dépôt de brevet (Bernard *et al.*, 2006).

Figure 1 : Relation négative entre le niveau d'expression de DNAJA1 et la tendreté de la viande des taurillons estimée par analyse sensorielle.



2.3. MARQUEURS DE LA DURETE (WB) REVELES PAR L'ANALYSE DU TRANSCRIPTOME

L'analyse du transcriptome en fonction de la force de cisaillement de la viande a permis de mettre en évidence des gènes plus exprimés dans les viandes dures parmi lesquels plusieurs Hsp (« *heat shock* » protéines) dont DNAJA1, DNAJB11 et HSPB1. DNAJA1 et DNAJB11 sont 1,2 à 1,3 plus exprimés dans les viandes avec une force de cisaillement élevée, surtout à l'âge de quinze mois. HSPB1 (codant pour la Hsp27) est deux fois plus exprimée à quinze mois dans les viandes dures. Ces différences expliquent chacune de 18 à 20 % de la variabilité de la dureté de la viande sur un effectif de vingt-cinq taurillons (figure 2).

2.4. MARQUEURS DE LA DURETE (WB) REVELES PAR L'ANALYSE DU PROTEOME

Les protéines différemment exprimées entre les deux lots de dureté (estimée par la force de cisaillement) ne sont pas les mêmes chez les taurillons âgés de quinze ou dix-neuf mois. Toutefois, les protéines les plus exprimées dans le lot de tendreté inférieure correspondent aux deux âges, à des

protéines caractéristiques du type rapide glycolytique (par exemple une isoforme de Troponine T rapide, la phosphoglucose mutase à quinze mois et des isoformes rapides de chaînes lourdes de myosine, la glycogène phosphatase, à dix-neuf mois). Au contraire, les protéines plus exprimées dans le lot de tendreté supérieure correspondent principalement au type lent oxydatif (par exemple apoBEC, apolipoprotéine, isoforme lente de chaîne lourde de myosine, ubiquinol-cytochrome-c réductase à quinze mois et la chaîne bêta de l'ATP synthase à dix-neuf mois).

Seule la protéine Hsp27 (impliquée dans les phénomènes d'apoptose) est plus exprimée (de 1,2 à 2,7 fois suivant les âges et les analyses) dans le lot de tendreté inférieure aux deux âges. Ceci confirme le rôle important de cette protéine dans la tendreté mis en évidence dans d'autres études de notre équipe (Morzel *et al.*, 2007).

Figure 2 : Relation positive entre le niveau d'expression de HSBP1 avec la dureté de la viande des taurillons estimée par la force de cisaillement.

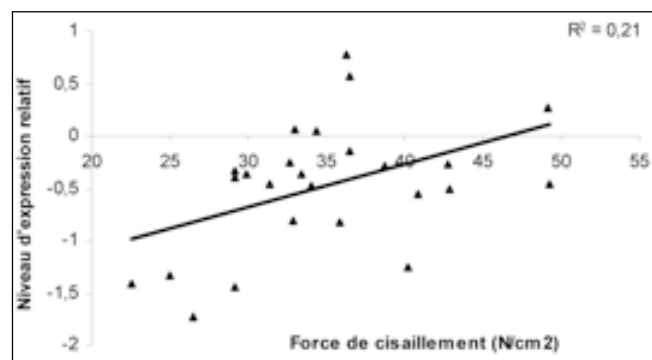
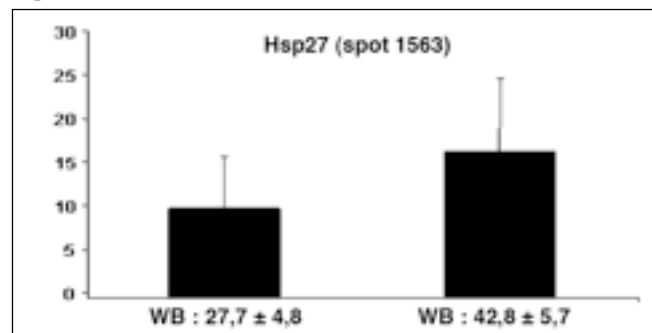


Figure 3 : Expression de la protéine Hsp 27 (spot 1563) révélée par l'approche protéomique dans des échantillons de six animaux produisant des viandes dures ou de quatre animaux produisant des viandes tendres (la force de cisaillement Warner-Bratzler est exprimée en N / cm²).



3. DISCUSSION

Les résultats de transcriptomique ont permis de mettre en évidence le gène PRKAG1 dont le niveau d'expression est associé à la flaveur et à la jutosité. Il code pour une isoforme de la sous-unité gamma de la protéine kinase AMP dépendante. Cette protéine est impliquée dans le métabolisme des acides gras (régulation de l'activité de l'acétyl-CoA carboxylase, enzyme clé de la lipogenèse) et du glucose (régulation de la synthèse du glycogène).

Des études réalisées chez le porc (Milan *et al.*, 2000) ont démontré qu'une mutation dominante (RN-) dans le gène PRKAG3 codant pour une autre isoforme de la même protéine avait un impact négatif sur la qualité de la viande. En effet, une mutation dans le gène PRKAG3 conduit à une augmentation très élevée du taux de glycogène (Milan *et al.*, 2000) et ainsi à une amplitude trop importante de la chute

du pH *post mortem*. En conséquence, il en découle une acidité anormale des viandes porcines qui se traduit par un faible rendement technologique. De plus, la viande est plus pâle, a une moindre capacité de rétention en eau et est moins tendre, alors que sa flaveur est accrue (Le Roy *et al.*, 1996). Des études complémentaires sont nécessaires pour identifier le mécanisme biologique reliant PRKAG1 à la flaveur de la viande.

Les résultats de protéomique indiquant une orientation du métabolisme musculaire vers le type oxydatif dans les viandes les plus tendres sont en accord avec des données précédentes de protéomique de muscles *Semitendinosus* (ST) de taurillons Charolais, Limousins et Salers classés selon la tendreté sensorielle (Bouley *et al.*, 2004). Toutefois, il est généralement admis que l'orientation vers le type rapide et glycolytique des muscles favorise la maturation de la viande et de ce fait sa tendreté finale. Cela est effectivement observé pour des viandes peu mûrées (Hocquette *et al.*, 2001, Monson *et al.*, 2005). En fait, il semblerait que le pourcentage de fibres rapides oxydolytiques (type IIA) soit un facteur défavorable à la tendreté de la viande, et non pas les proportions de fibres lentes oxydatives (type I) ou rapides glycolytiques (type IIB) (Dransfield *et al.*, 2003).

Les analyses de transcriptomique et de protéomique associées aux données de tendreté sensorielle ou de force de cisaillement mettent en évidence des marqueurs de la dureté de la viande (DNAJA1, Hsp27) appartenant à la famille des « *heat shock* » protéines (ou protéines de choc thermiques). Des bactéries à l'homme, l'expression de ces protéines est augmentée quand les cellules vivantes sont exposées à une température élevée ou toute autre forme de stress (infection, inflammation, présence de toxines, hypoxie, etc).

La Hsp27 (<http://en.wikipedia.org/wiki/Hsp27>) fait partie des Hsp de petite taille. Beaucoup de protéines chaperones sont des Hsp. En effet, la Hsp27 est aussi une molécule chaperone de la même famille que l'ubiquitine ou l' α -crystalline. Une protéine chaperone est une protéine dont la fonction est d'assister d'autres protéines dans leur maturation en leur assurant un repliement tridimensionnel correct. DNAJA1 (ou *Hsp40 protein 4*) est une protéine membranaire. Elle intervient dans l'entrée des protéines dans la mitochondrie (<http://www.expasy.ch/uniprot/P31689>). Elle serait aussi impliquée dans la réparation de l'ADN et interagirait avec une autre Hsp ayant une activité ATPase : la Hsc70 (http://rgd.mcw.edu/tools/genes/genes_view.cgi?id=734413&species=1).

Les Hsp ont de plus une activité d'inhibition de l'apoptose, de régulation du développement et de la différenciation cellulaires et sont actives dans la transduction des signaux moléculaires. Ces protéines ayant une activité anti-apoptotique, elles pourraient ainsi ralentir le processus de mort cellulaire et de maturation de la viande (Ouali *et al.*, 2006), qui sont favorables à l'attendrissement du muscle dans les jours suivants l'abattage de l'animal.

CONCLUSION

En conclusion, nos études de biochimie et de génomique fonctionnelle soulignent l'importance, d'une part des caractéristiques métaboliques du muscle, et d'autre part des protéines associées à la mort cellulaire dans le déterminisme de la qualité de la viande, en particulier de sa tendreté.

Des analyses supplémentaires sont envisagées pour valider la relation entre l'expression de DNAJA1 et la tendreté de la viande sur un plus large effectif de bovins à viande de race Limousine issus du dispositif QUALVIGENE. D'autres études de protéomique sont également en cours sur des bœufs ainsi que des validations par *Western-Blot* et / ou RT-PCR sur des échantillons de différents muscles.

Ces travaux pourraient déboucher sur la mise au point d'un test de routine simple, utilisable à l'échelle industrielle, permettant d'identifier les bovins ayant un potentiel à produire une viande tendre.

Ce travail a bénéficié d'un financement du "Commissariat à l'aménagement et au développement économique du Massif Central", de l'ANR et d'APIS-GENE (projet MUGENE du programme GENANIMAL/AGENAE cofinancé par l'ANR et APIS-GENE). L'INRA remercie l'UNCEIA et l'Institut de l'Elevage pour le cofinancement de la bourse de thèse et du salaire de C. Bernard. Les auteurs remercient le domaine INRA de Bourges pour la sélection des animaux expérimentaux et le personnel de l'abattoir et des laboratoires INRA (Theix, Jouy-en-Josas) et INSERM (Nantes) partenaires de ce travail.

Bernard C., Cassar-Malek I., Hocquette J.F. 2006., *Genomic marker for meat tenderness.* Patent 06 300943.5. 12 Sept. 2006

Bernard C., Cassar-Malek I., Le Cunff M., Dubroeuq H., Renand G., Hocquette J.F., 2007. *J. Agric. Food Chem.* 55, 5229-5237

Bouley J., Meunier B., Culioli J., Picard B., 2004. *Renc. Rech. Ruminants*, 11, 87-89

Cassar-Malek I., Hocquette J.F., Jurie C., Listrat A., Jailler R., Bauchart D., Briand Y., Picard B., 2004. *Anim. Sci.*, 79, 49-59

Dransfield E., Martin J.F., Bauchart D., Abouelkaram S., Lepetit J., Culioli J., Jurie C., Picard B., 2003. *Anim. Sci.*, 76, 387-399

Geay Y., Bauchart D., Hocquette J.F., Culioli J., 2002. *INRA Prod. Anim.* 15, 37-52

Le Roy P., Juin H., Caritez J.C., Billon Y., Lagant H., Elsen J.M., Sellier P., 1996. *Journées Rech. Porcine en France*, 28, 53-56

Meunier B., Bouley J., Piec I., Bernard C., Picard B., Hocquette J.F., 2005. *Anal. Biochem.*, 340, 226-230

Meunier B., Dumas E., Piec I., Bechet D., Hebraud M., Hocquette J.F., 2007. *J. Proteome Res.*, 6, 358-366 et 1215.

Monsón F., Sañudo C., Sierra L., 2005. *Meat Sci.*, 71, 471-479

Morzell M., Terlouw C., Chambon C., Micol D., Picard B., 2007. *Meat Sci.* in press.

Hocquette J.F., Picard B., Trillat G., Normand J., Boissy A., Culioli J., 2001. *Renc. Rech. Ruminants*, 8, 53-56

Milan D., Jeon J.T., Looft C., Amarger V., Robic A., Thelander M., Rogel-Gaillard C., Paul S., Iannuccelli N., Rask L., Ronne H., Lundstrom K., Reinsch N., Gellin J., Kalm E., Roy P.L., Chardon P., Andersson L., 2000. *Science* 288 : 1248-1251

Le Meur N., Lamirault G., Bihouée A., Steenman M., Bedrine-Ferran H., Teusan R., Ramstein G., Leger J., 2004. *Nucleic Acids Res.*, 32, 5349-5358

Ouali A., Herrera-Mendez C.H., Coulis G., Becila S., Boudjellal A., Aubry L., Sentandreu M.A., 2006. *Meat Sci.* 74, 44-58.

Renand G., Picard B., Touraille C., Berge P., Lepetit J., 2001. *Meat Sci.*, 59, 49-60

Robelin J., Geay Y. 1975. *Ann. Zootech.*, 24, 391-402

Tusher V.G., Tibshirani R., Chu G., 2001. *Proc Natl Acad Sci USA*, 98, 5116-5121