

PRODUCTIONS ANIMALES



INA

Institut National
de la Recherche Agronomique

Numéro hors série
Octobre 2000

GÉNÉTIQUE MOLÉCULAIRE





PRODUCTIONS ANIMALES

Revue éditée par l'INRA
5 numéros par an

<http://www.inra.fr/PA/index.htm>

Rédaction :

INRA ENSA.M
2 place Viala
34060 Montpellier Cedex 1
Tél : 04 99 61 27 31 - Fax : 04 67 54 56 94
e-mail : farce@ensam.inra.fr

Directeur scientifique :

Jean-Marc Perez

Responsable de la rédaction :

Marie-Hélène Farce

Comité de rédaction :

Gilles Aumont, Philippe Berge,
Chantal Boulard, Philippe Chemineau,
Georges Choubert, Luc Delaby,
Jean-Yves Dourmad, Bertrand Dumont,
Jean-Pierre Melcion, François Meschy,
Brigitte Picard, Michel Picard,
Gilles Renand, Marc Roux,
Daniel Sauvant, Patricia Volland-Nail

Numéro hors série

**"Génétique moléculaire : principes
et application aux populations animales"**

Comité d'édition :

Bernard Bibé, Alain Ducos, Pierrette Gillet, Pascale Le Roy,
Eduardo Manfredi, Philippe Mulsant,
Marie-Hélène Pinard-van der Laan, Claire Rogel-Gaillard,
Pierre Sellier, Daniel Vaiman, Martine Yerle

Coordination de la réalisation :

Marie-Hélène Farce, Jean-Marc Perez

Illustrations :

Joëlle Veltz

Composition, photogravure, impression :

CARACTERE, 2 rue Monge, 15000 Aurillac

Diffusion :

INRA Editions, RD 10, 78026 Versailles cedex

ISSN 0990-0632 ISBN 2-7380-0945-X

Commission paritaire n° 2158 ADEP

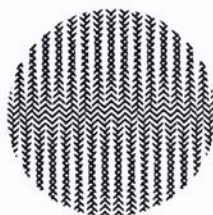
Copyright INRA 2000

Reproduction même partielle interdite sans l'autorisation des auteurs
et de l'Institut National de la Recherche Agronomique.

Abonnements :

INRA Editions
Route de St-Cyr, 78026 Versailles Cedex
Tél : 01 30 83 34 06 - Fax : 01 30 83 34 49

Institut National
de la Recherche Agronomique
147 rue de l'Université
75338 Paris Cedex 07



INRA

Génétique moléculaire : principes et application aux populations animales

SOMMAIRE

Numéro hors série / Octobre 2000

| | | |
|--|--|----|
| Avant-propos | <i>Bernard Bibé, Philippe Mulsant, Pierre Sellier</i> | 5 |
| Etat des lieux de l'amélioration génétique des animaux domestiques. | <i>Pierre Sellier</i> | 7 |
| 1 – Notions de base de génétique | | |
| ADN et chromosomes. | <i>Hélène Hayes</i> | 13 |
| La fonction du gène : les grandes étapes de l'utilisation de l'information génétique. | <i>Christine Leroux, Gwenola Tosser-Klopp</i> | 21 |
| Les techniques de base de la génétique moléculaire. | <i>Juliette Riquet, Frédérique Pitel</i> | 29 |
| 2 – Polymorphismes génétiques | | |
| Origine du polymorphisme de l'ADN. | <i>Laurent Schibler, Daniel Vaiman, Edmond P. Cribiu</i> | 37 |
| Les marqueurs anonymes et la détection de leur polymorphisme. | <i>Frédérique Pitel, Juliette Riquet</i> | 45 |
| Polymorphismes moléculaires et phénotypes. | <i>Michèle Tixier-Boichard</i> | 55 |
| Le polymorphisme du complexe majeur d'histocompatibilité. | <i>Patrick Chardon</i> | 63 |
| 3 – Cartographie des génomes | | |
| Introduction à la cartographie des génomes complexes. | <i>Edmond P. Cribiu, Laurent Schibler</i> | 69 |
| Etablissement des cartes génétiques. | <i>Daniel Vaiman</i> | 73 |
| Les banques de grands fragments d'ADN. | <i>Claire Rogel-Gaillard</i> | 79 |
| Etablissement des cartes cytogénétiques et physiques. | <i>Martine Yerle</i> | 87 |
| La cartographie comparée des génomes des vertébrés. | <i>Joël Gellin</i> | 95 |

| | | |
|--|---|-----|
| Etat des lieux de la cartographie du génome des ruminants. | <i>Hubert Levéziel, Edmond P. Cribiu</i> | 103 |
| Etat des lieux de la cartographie du génome du porc. | <i>Denis Milan, Martine Yerle, Annie Robic, Yvette Lahbib-Mansais, Juliette Riquet, Nathalie Iannuccelli, Joël Gellin</i> | 109 |
| Etat de la carte de la poule. | <i>Alain Vignal</i> | 113 |
| La cartographie du génome équin. | <i>Gérard Guérin</i> | 115 |
| <hr/> 4 – Recherche de gènes associés à des fonctions <hr/> | | |
| Notion de gène candidat. | <i>Denis Milan</i> | 119 |
| Le gène caprin spécifiant la caséine α s1 : un suspect tout désigné aux effets aussi multiples qu'inattendus. | <i>Patrice Martin, Christine Leroux</i> | 125 |
| Cartographie fine d'un gène et clonage positionnel. | <i>André Eggen</i> | 133 |
| Exemple de cartographie fine : le cas du gène RN chez le porc. | <i>Denis Milan, Annie Robic, Patrick Chardon, Nathalie Iannuccelli, Jean-Claude Caritez, Martine Yerle, Joël Gellin, Christian Looft, Leif Andersson, Jean-Michel Elsen, Pascale Le Roy</i> | 137 |
| Cartographie fine de la région du gène PIS de la chèvre. | <i>Edmond P. Cribiu, Laurent Schibler, Daniel Vaiman</i> | 141 |
| Recherche des gènes impliqués dans la synthèse des antigènes du système de groupe sanguin C bovin (EAC). | <i>Katiana Saunier, Raymond Julien, Hubert Levéziel</i> | 145 |
| Cartographie fine d'un gène : bilan INRA et autres résultats marquants. | <i>Philippe Mulsant</i> | 149 |

| | | |
|--|--|-----|
| Recherche de gènes associés à des fonctions : l'approche fonctionnelle. | <i>François Hatey</i> | 153 |
| Exemple d'approche fonctionnelle : le gras intramusculaire chez le porc. | <i>Christine Renard, Jacques Mourot</i> | 161 |
| Exemple d'approche fonctionnelle : la fonction ovarienne dans l'espèce porcine. | <i>Gwenola Tosser-Klopp, Catherine Cloucard-Martinato, Francis Benne, Agnès Bonnet, Cédric Cabau, Janine Rallières, François Hatey</i> | 165 |
| Gènes associés à la lipogenèse chez le poulet. | <i>Madeleine Douaire, Sandrine Lagarrigue</i> | 169 |
| La génomique fonctionnelle de la glande mammaire des ruminants. | <i>Fabienne Le Provost, Christine Leroux, Patrice Martin</i> | 171 |
| Le programme Asteroger : vers un outil multifonctionnel pour les productions animales. | <i>François Hatey, Patrice Martin, Madeleine Douaire, Florence Le Gac, Ginette Dambrine, Patrick Herpin, Philippe Monget</i> | 175 |

5 – Transgénèse

| | | |
|-------------------------------------|---|-----|
| Données de base sur la transgénèse. | <i>Rachid Essalmani, Solange Soulier, Nathalie Besnard, Marthe Hudrisier, José Costa Da Silva, Jean-Luc Vilotte</i> | 181 |
|-------------------------------------|---|-----|

6 – Bioinformatique

| | | |
|--|--|-----|
| Bases de données en biologie. | <i>Alain Vignal</i> | 187 |
| Analyse informatique des données moléculaires. | <i>Florence Corpet, Claude Chevalet</i> | 191 |
| La base de données Mapgena. | <i>André Neau, Claude Chevalet, Bernard Bibé</i> | 197 |

7 – Utilisation des marqueurs génétiques

| | | |
|--|--|------------|
| Utilisation de marqueurs génétiques en sélection : les activités de LABOGENA. | <i>Yves Amigues, Jean-Claude Mériaux, Marie-Yvonne Boscher</i> | 203 |
| Principes de l'utilisation des marqueurs génétiques pour la détection des gènes influençant les caractères quantitatifs. | <i>Pascale Le Roy, Jean-Michel Elsen</i> | 211 |
| La recherche de QTL à l'aide de marqueurs : résultats chez les bovins laitiers. | <i>Didier Boichard, Cécile Grohs, Florence Bourgeois, Frédérique Cerqueira, Rémi Faugeras, André Neau, Denis Milan, Rachel Rupp, Yves Amigues, Marie-Yvonne Boscher, Hubert Levéziel</i> | 217 |
| La recherche de QTL à l'aide de marqueurs : résultats chez le porc. | <i>Jean-Pierre Bidanel, Denis Milan</i> | 223 |
| La recherche de QTL à l'aide de marqueurs : projets et résultats chez le mouton et la poule. | <i>Marie-Hélène Pinard-van der Laan</i> | 229 |
| Sélection et introgression assistées par marqueurs. | <i>Jean-Michel Elsen</i> | 233 |
| Intérêt et limites de la sélection intra-race assistée par marqueurs. | <i>Eduardo Manfredi</i> | 239 |
| Utilisation de marqueurs génétiques pour la traçabilité. Intérêt des gènes de la coloration de la robe chez le bovin. | <i>François Rouzaud, Juliette Martin, François Gallet, Didier Delourme, Jean-Michel Petit, Hubert Levéziel, Raymond Julien, Ahmad Oulmouden</i> | 243 |
| Utilisation des marqueurs pour la caractérisation des ressources génétiques. | <i>Louis Ollivier, Claude Chevalet, Jean-Louis Foulley</i> | 247 |
| Utilisation des marqueurs pour la gestion de la variabilité génétique des populations. | <i>Etienne Verrier, Xavier Rognon</i> | 253 |
| Glossaire et abréviations courantes | | 259 |

Avant-propos

Au printemps 1988, le Département de Génétique Animale de l'Inra avait organisé un séminaire interne consacré aux « bases techniques et approches de la génétique moléculaire ». Cette discipline commençait alors à émerger. La PCR (Polymerase Chain Reaction), que l'on peut qualifier de technique de base de la génétique moléculaire, venait tout juste d'être mise au point. Les cartes génétiques des espèces animales d'intérêt agronomique étaient à peine ébauchées (au plus quelques dizaines de gènes localisés sur le génome) et les premiers polymorphismes de l'ADN venaient d'être décelés.

En une dizaine d'années, de discipline émergente, la génétique moléculaire est devenue une discipline en plein essor. Et pour faire le point des nouveaux acquis, très nombreux et d'intérêt potentiel majeur pour des applications aux programmes d'amélioration génétique, le Département de Génétique Animale a organisé en septembre 1999 un nouveau séminaire consacré à la génétique moléculaire. Ce séminaire de cinq jours a été particulièrement dense, à la mesure des avancées considérables réalisées récemment dans la connaissance des génomes des animaux de ferme. La qualité de l'organisation pilotée par Christelle Gérardin et Pierrette Gillet, avec l'aide efficace de Françoise Bouchain, Annie Pech, Hervé Lagant et Serge Tignoux, a contribué fortement à sa réussite.

Comme il l'avait fait en 1992 à l'occasion d'un précédent séminaire intitulé « Eléments de génétique quantitative et application aux populations animales », le Département de Génétique Animale a souhaité mettre à la disposition du plus grand nombre, notamment ses partenaires professionnels et ses collègues de l'enseignement, l'ensemble des informations présentées lors de son dernier séminaire interne.

Ce numéro hors série de la revue Productions Animales répond à ce souhait. Il s'intitule « Génétique moléculaire : principes et application aux populations animales » et comprend sept grands chapitres : les notions de base, les polymorphismes génétiques, la cartographie des génomes, la recherche de gènes associés à des fonctions, la transgénèse, la bioinformatique et l'utilisation des marqueurs génétiques. En une quarantaine d'articles, les chercheurs du Département se sont efforcés de faire une mise au point aussi exhaustive que possible sur l'état des connaissances dans les domaines concernés, tout en veillant à donner une place importante aux applications que l'on peut attendre à court et moyen terme de ce nouveau savoir sur les génomes et des nouveaux savoir-faire qui en résultent.

Cet ouvrage n'aurait pas vu le jour sans la qualité du travail fourni par les différents intervenants et leurs secrétariats (avec une mention spéciale à Pierrette Gillet et son équipe pour la gestion informatisée de l'ensemble des contributions), l'appui opérationnel apporté par Inra Editions et le précieux concours de la rédaction de la revue Productions Animales, notamment Marie-Hélène Farce et Jean-Marc Perez, respectivement responsable de la rédaction et directeur scientifique de la revue. Les membres du comité scientifique d'organisation du séminaire (Alain Ducos, Pascale Le Roy, Eduardo Manfredi, Marie-Hélène Pinard-van der Laan, Claire Rogel-Gaillard, Daniel Vaiman et Martine Yerle) ont apporté une contribution majeure à la programmation du séminaire et ils ont également assuré, avec l'aide de Ginette Dambrine et Hubert de Rochambeau, la relecture des manuscrits.

Que toutes les personnes qui, à un moment ou un autre, ont participé à l'organisation du séminaire et à la genèse de cet ouvrage collectif soient ici sincèrement remerciées.

Bernard Bibé

Philippe Mulsant

Pierre Sellier

Chef du Département de
Génétique Animale de l'Inra

Co-animateurs du comité scientifique
d'organisation du séminaire

P. SELLIER

INRA, Station de Génétique Quantitative et Appliquée,
78352 Jouy-en-Josas cedex

e-mail : sellier@paris.inra.fr

Etat des lieux de l'amélioration génétique des animaux domestiques

Résumé. La situation actuelle de la sélection animale est décrite dans ses grandes lignes, en mettant l'accent sur les évolutions notoires de la dernière décennie. A ce jour, l'activité de sélection se fonde pour l'essentiel sur les méthodes éprouvées de la génétique quantitative classique (modèle infinitésimal). Elle n'en connaît pas moins des adaptations permanentes visant à accroître l'efficacité de la sélection et l'adéquation des populations sélectionnées aux besoins évolutifs du monde de l'élevage. Les avancées de la génétique moléculaire, pour importantes qu'elles soient, n'ont pas encore imprégné en profondeur le secteur de la sélection animale : elles ne font actuellement l'objet que d'un petit nombre d'applications ciblées sur quelques gènes individuels, mais la situation est susceptible d'évoluer rapidement dans ce domaine.

Le séminaire du Département de Génétique animale de l'INRA qui s'est tenu en 1991 à Port d'Albret avait dressé un panorama complet et documenté des caractéristiques communes, mais aussi des spécificités des programmes d'amélioration génétique des principales espèces d'animaux de ferme, telles qu'elles existaient au début des années 1990 (Département de Génétique animale 1992). Près de dix ans ont passé et l'objet de cet article est de passer en revue les évolutions les plus marquantes qui sont intervenues dans ce domaine au cours de cette décennie.

1 / Le contexte et les acteurs de l'amélioration génétique en France

1.1 / Le contexte

Comme le soulignent Demange et Bonnemaire (1998) dans leur rapport sur l'état de la génétique animale en France, l'amélioration génétique demeure une composante essentielle de l'acte de production. On peut même dire qu'elle en est le précurseur, si l'on considère le laps de temps souvent important qui sépare une opération de sélection des retombées bénéfiques qu'on en attend au stade de la production.

Indissolublement lié au contexte de l'élevage, le secteur de l'amélioration génétique se doit de faire la synthèse de très nombreux paramètres ou enjeux économiques, sociétaux et techniques. Sans prétendre être exhaustif, on peut citer :

- les évolutions de la politique agricole commune (PAC) mises en œuvre par l'Union Européenne, avec la version 1992 de la PAC et bientôt sa nouvelle mouture (Agenda 2000) ;

- l'internationalisation de l'économie et des échanges commerciaux (y compris pour le matériel génétique : animaux, semences, embryons), ce qui entraîne une exigence encore accrue de compétitivité de nos filières animales ;

- l'avenir des territoires ruraux et les contraintes de préservation de l'environnement ;

- la diversification des produits animaux et des modes de production, en faisant éventuellement appel à des ressources génétiques jusque là délaissées ;

- le respect du bien-être des animaux d'élevage ;
- les demandes du consommateur quant à la qualité des produits animaux, à la sécurité alimentaire (cf. l'impact de la crise de la vache folle) et même à une certaine éthique de la production animale ;

- l'accès à des moyens algorithmiques et informatiques de plus en plus puissants et à des possibilités nouvelles en matière de circulation de l'information et d'automatisation des contrôles de performances ;

- l'intégration de nouvelles technologies de reproduction artificielle, notamment celles touchant à l'embryon ;

- et, bien sûr, l'entrée en scène de la génétique moléculaire, faisant suite aux avancées spectaculaires accomplies récemment dans la connaissance des génomes animaux.

1.2 / Les acteurs

Les structures professionnelles de l'amélioration génétique n'ont pas connu de changements vraiment profonds ces dernières années. De façon schématique, on peut distinguer trois grands types de situations. Pour les ruminants, la sélection a une forte dimension collective, avec des protocoles nationaux de contrôle des performances, un dispositif unifié de circulation et de traitement des don-

nées utilisées à des fins génétiques, et des unités de sélection gérant en commun les populations en sélection. On trouve une situation du même type pour le cheval, avec certaines particularités propres à cette espèce. Pour le porc, on est en présence d'un système mixte où coexistent un mode d'organisation mutualiste pour la sélection de quelques grandes races collectives et une sélection autonome pour des lignées détenues en propre par des firmes de sélection spécialisées ; pour harmoniser cet ensemble, le concept de population animale sélectionnée (PAS), qui recouvre à la fois les races collectives et les lignées autonomes, a été mis en pratique et un répertoire officiel des PAS porcines a été créé. Dans les espèces avicoles, la quasi totalité de l'amélioration génétique est entre les mains d'un petit nombre de firmes de sélection privées, dont l'activité s'exerce, pour la plupart d'entre elles, à l'échelle internationale.

2 / Les bases de la génétique quantitative

Bien que la génétique quantitative soit aujourd'hui une discipline scientifique ayant atteint sa pleine maturité, elle continue à évoluer car il subsiste quelques zones d'ombre, pour reprendre à peu de choses près les termes employés par Hill (1999). Ce dernier, notons-le, place au premier rang des évolutions marquantes des années récentes l'arrivée des méthodes et des idées de la génétique moléculaire, ce qui n'est pas une surprise et justifie l'intérêt porté à cette discipline en plein essor.

La clef de voûte de la théorie de la génétique quantitative, sur laquelle reposent depuis plus d'un demi-siècle les actions d'amélioration génétique, reste jusqu'à ce jour le modèle infinitésimal, auquel on peut reprocher certaines imperfections (n'est-ce pas le sort réservé à toute tentative de modélisation ?) mais dont on ne peut nier la remarquable puissance opérationnelle. Ce modèle, dans sa forme la plus stricte, suppose que la variabilité génétique d'un caractère à variation continue est due à l'action conjointe d'un nombre infini de gènes additifs et indépendants entre eux (= non génétiquement liés), chacun de ces « polygènes » ayant un effet infiniment petit sur le caractère.

La question du nombre de gènes agissant sur un caractère quantitatif est débattue depuis fort longtemps : la première publication sur ce sujet date du début des années 1920, comme le rappelle Ollivier (1999). Où se situe la vérité entre les 10 à 20 gènes influençant le poids corporel à âge-type chez la souris, tels qu'ils ont été détectés à l'aide de marqueurs génétiques par Cheverud *et al* (1996) ou Keightley *et al* (1996), et les centaines de gènes impliqués dans le métabolisme énergétique de la levure de bière (DeRisi *et al* 1997) ? La question reste ouverte, mais encore faut-il s'entendre sur le sens de l'expression « nombre de gènes » : dans les deux exemples cités ci-dessus, le premier concerne des gènes présentant un polymorphisme alors que le second dénombre l'ensemble des gènes exprimés sous forme d'ARN messagers.

Une deuxième grande question relative au modèle infinitésimal a trait à la « taille » des effets individuels des gènes. Il est amplement démontré qu'il existe des gènes à effet important, voire très important, sur certains caractères quantitatifs, et des

avancées notables ont été réalisées dans la modélisation et le traitement des cas d'hérédité « mixte », mettant en jeu un gène majeur et des polygènes (voir, par exemple, Manfredi *et al* 1998).

D'autres développements théoriques concernent les approches spécifiques dont sont redevables les caractères s'exprimant sous forme de séries chronologiques (contrôles laitiers mensuels, pesées chez l'animal en croissance, performances de la carrière reproductive d'une mère ou de la carrière sportive d'un cheval, etc) et les caractères soumis à des effets maternels, à des phénomènes d'empreinte parentale ou à une hérédité mitochondriale, la prise en compte des effets de dominance dans le modèle génétique (ce qui ouvre la voie à l'exploitation d'une partie de la variance génétique non additive en sélection), etc : pour plus de détails, voir Hill (1999) et Ollivier (1999).

3 / Les objectifs et les critères de sélection

Dans la dernière décennie, l'orientation générale de l'amélioration génétique n'a pas été fondamentalement modifiée : la compétitivité des filières animales reste la préoccupation centrale des sélectionneurs. Les objectifs et critères de sélection ne sont pas pour autant immuables et les évolutions observées peuvent se rattacher à quatre types de démarche.

Prise en compte de nouveaux critères de sélection

Dans les races bovines laitières par exemple, aux caractères laitiers proprement dits (index INEL) et à la morphologie fonctionnelle sont venues s'ajouter ces dernières années la longévité, la résistance aux mammites (comptages leucocytaires) et la fertilité. Chez le porc, la prolificité, caractère longtemps délaissé par les sélectionneurs, est devenu un critère de sélection prépondérant dans les races à vocation maternelle, avec la prise en compte effective de ce caractère dans l'évaluation en routine des futurs reproducteurs.

Spécialisation de la sélection en vue du croisement

Ainsi, chez le porc, une lignée « mâle » et une lignée « femelle », sélectionnées pour des objectifs sensiblement différents, sont en train de s'individualiser au sein de la race Large White.

Révision des pondérations des caractères dans l'objectif de sélection global

Compte tenu de la baisse du prix de l'aliment, des modifications intervenues dans la grille de paiement des carcasses et aussi de diverses considérations biologiques, les pondérations retenues dans l'objectif de sélection global du porc ont, en valeur relative, baissé pour le taux de muscle et l'indice de consommation et augmenté pour la qualité de la viande et le gain moyen quotidien. Des évolutions des pondérations accordées aux différents caractères d'intérêt sont également intervenues chez les bovins allaitants.

Souci de diversification de la sélection

Par exemple, les parts de marché du poulet sous label sont en augmentation et des souches spéci-

fiques, à croissance plus lente que les souches couramment utilisées pour la production de poulet standard, ont fait leur apparition.

Par ailleurs, et en se limitant à ce qui s'est fait récemment à l'INRA, des travaux ont été conduits sur la détermination du meilleur objectif de sélection global dans un contexte « multicaractère » chez les ruminants allaitants (Phocas *et al* 1997), la sélection sur les classements en compétition chez le cheval de sport (Tavernier 1991), la sélection canalisante pour la recherche d'un optimum (San Cristobal-Gaudy *et al* 1998), la validation de critères de sélection nouveaux ayant trait à la résistance génétique aux maladies infectieuses ou parasitaires (Beaumont *et al* 1997, Mandonnet *et al* 1997, Vu Tien Khang *et al* 1997), à la qualité de la viande de porc (Larzul *et al* 1998), à l'aptitude sportive chez le cheval (Barrey *et al* 1997), etc.

4 / L'évaluation des reproducteurs

L'estimation de la valeur génétique des reproducteurs pour les caractères à améliorer est une phase clé de tout programme de sélection. La décennie 1990 a vu se généraliser le recours au Blup/modèle animal (Blup/Ma) pour l'évaluation génétique (collaborations INRA-Instituts Techniques). Les avantages potentiels de la méthode ont été largement décrits : voir, par exemple, le document issu du séminaire « modèle animal » organisé il y a quelques années par le Département de Génétique animale de l'INRA (Foulley et Molénat 1994). Cette méthode, qui permet de tirer parti au mieux de l'ensemble des informations apportées par les dispositifs de contrôle des performances et de l'ensemble des apparentements entre les individus, est devenue aujourd'hui un passage obligé en matière d'évaluation génétique.

L'espèce équine avait montré le chemin, au milieu des années 1980, pour certaines races de chevaux de sport. L'indexation des bovins laitiers a emboîté le pas quelques années plus tard (Bonaïti *et al* 1990, Ducrocq 1990). Le système d'évaluation génétique des bovins laitiers a été rapidement étendu aux ovins et caprins laitiers (Barillet *et al* 1994), en l'adaptant aux particularités de chacune de ces deux espèces. A la même époque, le Blup/Ma a été mis en œuvre chez les ovins allaitants (Poivey *et al* 1994). A partir du milieu des années 1990, une procédure Blup/Ma (« Iboval »), avec prise en compte des effets directs et maternels, a été instaurée dans les races bovines allaitantes pour les performances mesurées en ferme de la naissance au sevrage (Ménissier *et al* 1996). Chez le porc, le Blup/Ma a vu le jour, par étapes successives, entre 1994 et 1996 : dans sa forme actuelle (Tribout *et al* 1998), le Blup porc combine en une seule valeur génétique globale toutes les informations provenant du contrôle en ferme (caractères de reproduction et de production) et du contrôle en station publique (caractères de production). Des procédures Blup/Ma sont également utilisées aujourd'hui en sélection avicole et en sélection cunicole. La méthodologie de l'évaluation génétique dans les principales espèces d'élevage a fait l'objet d'un article de synthèse de Colleau (1996).

En dehors des apports théoriques et algorithmiques qui ont accompagné la mise en place du Blup/Ma, d'autres évolutions ou développements concernant les systèmes d'évaluation génétique ont

porté sur la prise en compte des hétérogénéités des variances dans l'espace et dans le temps (Foulley *et al* 1990, Robert-Granié *et al* 1999), les spécificités propres aux caractères ayant des propriétés statistiques particulières (modèles à seuil pour les variables discrètes, par exemple), le problème de la connexion (Foulley *et al* 1992, Laloë 1993), l'intérêt de la sélection assistée par marqueurs (Ruane et Colleau 1995, Ollivier 1998, Georges 1999), etc.

Sur le plan pratique, la qualité du circuit de l'information, du recueil des données sur les nombreux sites de contrôle des performances jusqu'aux bases de données détenues au Centre de Traitement de l'Information Génétique de Jouy-en-Josas, est une exigence forte de tout dispositif d'évaluation génétique. Le système d'information génétique (SIG) est actuellement en cours de rénovation. On peut également signaler l'émergence, au cours des années 1990, de l'évaluation génétique à l'échelle internationale dans certaines races bovines laitières (organisation « Interbull »).

5 / La gestion des populations

5.1 / Race pure ou croisement

L'exploitation en race pure reste la règle générale dans les espèces herbivores (ruminants, cheval), compte tenu notamment de leur faible productivité numérique (nombre de produits par femelle et par an). Dans l'espèce bovine, la principale forme de croisement actuellement en vigueur (taureaux de races à viande x vaches de races laitières) semble en léger déclin, du fait de la baisse des effectifs de vaches laitières (liée aux quotas laitiers). En revanche, dans les autres espèces (porc, volailles, lapin), le recours au croisement est pratiquement généralisé, et les plans de croisement peuvent atteindre une grande complexité. Ainsi, certains plans de croisement mis en œuvre par des organisations de sélection porcine associent, à l'étage terminal, un verrat parental résultant d'un croisement à trois voies et une femelle parentale résultant, elle aussi, d'un croisement à trois voies (ce dernier croisement met parfois en jeu une lignée composite à base de race chinoise prolifère).

5.2 / Effectif génétique des populations

Les années 1990 ont vu la prise de conscience de l'effectif génétique finalement assez limité de nos populations animales sélectionnées, même pour celles qui sont, numériquement parlant, de grande ou très grande taille. Cette étroitesse génétique a été, par exemple, illustrée de façon frappante par les études récentes d'analyse de la variabilité, à partir des informations généalogiques et du calcul des probabilités d'origine des gènes, dans des races bovines laitières (Boichard *et al* 1996) et dans des races porcines (Maignel *et al* 1998). Des stratégies adéquates, encore très peu utilisées, sont donc à mettre en œuvre pour concilier l'obtention d'un progrès génétique substantiel (court et moyen terme) et le maintien d'une variabilité génétique suffisante (long terme) : voir, par exemple, Verrier *et al* (1993).

5.3 / Ressources génétiques

Un effort particulièrement important a été fait, ces dernières années, dans le domaine de la mesure,

de la caractérisation et de la préservation de la diversité génétique (Ollivier 1997). Des programmes d'évaluation et de conservation des ressources génétiques sont en cours dans plusieurs espèces (voir par exemple la cryobanque nationale de semences et d'embryons d'animaux domestiques en cours de constitution en France).

5.4 / Intégration des biotechnologies de la reproduction

Parmi les biotechnologies de la reproduction, l'insemination artificielle (IA) fait depuis longtemps partie du paysage (Mallard et Mocquot 1998), mais à des degrés très variables selon l'espèce. Mentionnons seulement ici le fait sans doute le plus marquant des dix dernières années, à savoir la véritable explosion de l'IA dans l'espèce porcine (taux de pénétration multiplié par vingt). L'intérêt potentiel, pour l'amélioration génétique, des techniques nouvelles mises au point par les physiologistes de la reproduction (superovulation et transfert embryonnaire, sexage des embryons, collecte d'ovocytes *in vivo* et fécondation *in vitro*, clonage embryonnaire ou somatique) a été soigneusement évalué : voir la synthèse de Colleau *et al* (1998). Les plus anciennes des biotechnologies de l'embryon font déjà l'objet d'applications à grande échelle chez les bovins (dans les races laitières principalement).

6 / Les marqueurs génétiques

Les marqueurs génétiques sont le sujet central de cet ouvrage, et nous nous contenterons ici de quelques rappels. Il y a dix ans, les cartes génétiques des espèces d'élevage étaient à peine ébauchées, mais on connaissait déjà, sinon au niveau intime de l'ADN, mais au moins par leur effet majeur sur certains caractères, une petite dizaine de gènes pouvant intéresser l'élevage (Grosclaude *et al* 1996). On retrouve là une liste, souvent citée, de gènes connus : le gène d'hypertrophie musculaire (locus *mh*) chez les bovins, le gène de nanisme lié au sexe (locus *dw*) chez la poule, les gènes des protéines du lait (caséines notamment) dans les espèces bovine et caprine, les gènes de qualité de la viande « halothane » (locus *HAL*) et « viande acide » (locus *RN*) chez le porc, le gène de prolificité « Booroola » (locus *FecB*) chez le mouton.

Des applications touchant à plusieurs de ces gènes ont été mises en œuvre en France par des sélectionneurs. Mentionnons ici quelques exemples :

- l'utilisation en croisement d'une lignée femelle naine (gène *dw*) pour la production de poulets de chair et la création d'une lignée mâle bovine « cularde » (gène *mh*) de croisement terminal, dénommée « INRA95 » (Legault *et al* 1996) ;
- l'éradication de l'allèle *HALⁿ* de la sensibilité à

l'halothane dans des lignées maternelles de porc : l'opération initiale, conduite avant la découverte de la mutation causale dans le gène *Ryr1* du récepteur de la ryanodine (Fujii *et al* 1991), reposait sur l'utilisation des marqueurs sanguins *Gpi* et *Pgd*, génétiquement liés à *HAL*, et a constitué sans doute, à une échelle modeste, le premier exemple d'application concrète d'une sélection assistée par marqueurs chez les animaux de ferme (Saugère *et al* 1989) ;

- l'éradication de l'allèle défavorable *RN⁻* dans certaines lignées porcines : le phénotype de l'animal pour le potentiel glycolytique du muscle, caractère primaire affecté par le gène *RN* et mesurable *in vivo*, permet de détecter, pratiquement sans risque d'erreur, les porteurs de *RN⁻* (Larzul *et al* 1998) ;

- la prise en compte du génotype de la qualité fromagère alpha-s1 (prédicteur précoce de la qualité fromagère du lait) chez les caprins (Piacère *et al* 1997).

On peut ajouter à cette liste d'actions spécifiques sur un gène individuel les tests de diagnostic concernant le gène bovin *Blad* et le gène ovin *PrP* (Amigues *et al* 2000, cet ouvrage). Indiquons aussi que les marqueurs génétiques sont d'ores et déjà très largement utilisés pour la détection des gènes influençant les caractères d'intérêt zootechnique (Elsen *et al* 1999, Le Roy et Elsen 2000, cet ouvrage) et dans les études sur la diversité génétique des populations animales (Ollivier *et al* 2000, cet ouvrage).

Conclusion

Même si le cadre général et les modalités de la sélection animale n'ont pas connu de profonds bouleversements au cours de la dernière décennie, des évolutions sensibles des méthodologies, dont la plus marquante est le recours quasi systématique au Blup/modèle animal, ont été mises en œuvre pour accroître l'efficacité des programmes d'amélioration génétique.

Si l'on met à part l'exception notable des contrôles de filiation qui reposent depuis longtemps sur des marqueurs génétiques (gènes de groupes sanguins, variants électrophorétiques de protéines et, aujourd'hui, microsattellites), les marqueurs et plus généralement les gènes individuels ne font pas encore vraiment partie de la pratique quotidienne de la sélection des animaux domestiques. La « boîte à outils » du sélectionneur animal reste très étroitement liée à la « boîte noire » du modèle génétique infinitésimal. Cette situation est susceptible d'évoluer rapidement : les voies d'entrée dans la boîte noire du génome ne cessent de se diversifier (génomique structurale, génomique fonctionnelle) et ce progrès considérable de nos connaissances sur les génomes des animaux domestiques devrait engendrer de multiples potentialités nouvelles dans le domaine de l'amélioration génétique.

Références

- Amigues Y., Mériaux J.C., Boscher M.Y., 2000. Utilisation de marqueurs génétiques en sélection : les activités de LABOGENA. INRA Productions Animales, numéro hors série « Génétique moléculaire : principes et application aux populations animales », 203-210.
- Barillet F., Astruc J.M., Manfredi E., Barbat A., Boichard D., 1994. Utilisation du modèle animal en ovins et caprins laitiers. In : J.L. Foulley, M. Molénat (Eds), Séminaire « modèle animal », Département de Génétique animale, 83-90.
- INRA Productions Animales, 2000, hors série Génétique moléculaire
- Barrey E., Valette J.P., Jouglin M., Blouin C., Langlois B., 1997. Qualités des fibres musculaires et performances sportives chez le cheval anglo-arabe. EquAthlon, 7, 56-59.
- Beaumont C., Berthelot F., Colin P., Duchet-Suchaux M., Elsen J.M., Girard-Santosusso O., Guillot J.F., Lantier F., Protais J., Pardon P., 1997. Résistance génétique à l'infection par les salmonelles. Journées de la Recherche Avicole, 2, 21-23.
- Boichard D., Maignel L., Verrier E., 1996. Analyse généalogique

- des races bovines laitières françaises. INRA Productions Animales, 9, 323-335.
- Bonaïti B., Boichard D., Verrier E., Ducrocq V., Barbat A., Briend M., 1990. La méthode française d'évaluation génétique des reproducteurs laitiers. INRA Productions Animales, 3, 83-92.
- Cheverud J.M., Routman E.J., Duarte F.A.M., van Swinderen B., Cothran K., Perel C., 1996. Quantitative trait loci for murine growth. *Genetics*, 142, 1305-1319.
- Colleau J.J., 1996. Evaluation génétique des animaux d'élevage. INRA Productions animales, numéro hors série « 50 ans de recherches en productions animales », 27-40.
- Colleau J.J., Heyman Y., Renard J.P., 1998. Les biotechnologies de la reproduction chez les bovins et leurs applications réelles ou potentielles en sélection. INRA Productions Animales, 11, 41-56.
- Demange H., Bonnemaire J., 1998. Mission d'évaluation de la génétique animale. Propositions pour l'avenir. Ministère de l'Agriculture et de la Pêche, juillet 1998, 57 pages.
- Département de Génétique animale, 1992. Eléments de génétique quantitative et application aux populations animales. INRA Productions animales, numéro hors série, 302 pages.
- DeRisi J.L., Iyer V.R., Brown P.O., 1997. Exploring the metabolic and genetic control of gene expression on a genomic scale. *Science*, 278, 680-686.
- Ducrocq V., 1990. Les techniques d'évaluation génétique des bovins laitiers. INRA Productions Animales, 3, 3-16.
- Elsen J.M., Mangin B., Goffinet B., Boichard D., Le Roy P., 1999. Alternative models for QTL detection in livestock. I. General introduction. *Genetics Selection Evolution*, 31, 213-224.
- Foulley J.L., Molénat M., 1994. Séminaire « modèle animal », Département de Génétique animale, 157 pages.
- Foulley J.L., Gianola D., San Cristobal M., Im S., 1990. A method for assessing extent and sources of heterogeneity of residual variances in mixed linear models. *Journal of Dairy Science*, 73, 1612-1624.
- Foulley J.L., Hanocq E., Boichard D., 1992. A criterion for measuring the degree of connectedness in linear models of genetic evaluation. *Genetics Selection Evolution*, 24, 315-330.
- Fujii J., Otsu K., Zorzato F., De Leon S., Khanna V.K., Weiler J.E., O'Brien P.J., MacLennan D.H., 1991. Identification of a mutation in porcine ryanodine receptor associated with malignant hyperthermia. *Science*, 253, 448-451.
- Georges M., 1999. Towards marker assisted selection in livestock. *Reproduction Nutrition Development*, 39, 555-561.
- Grosclaude F., Mercier J.C., Vaiman M., Levéziel H., Gellin J., 1996. La génétique moléculaire des espèces d'élevage : des groupes sanguins à la cartographie du génome. INRA Productions animales, numéro hors série « 50 ans de recherches en productions animales », 57-69.
- Hill W. G., 1999. Advances in quantitative genetics theory. In : J.C.M. Dekkers, S.J. Lamont, M.F. Rothschild (Eds), From Jay L. Lush to genomics: visions for animal breeding and genetics, 35-46, Iowa University Press, Ames, Iowa, USA.
- Keightley P.D., Hardge T., May L., Bulfield G., 1996. A genetic map of quantitative trait loci for body weight in the mouse. *Genetics*, 142, 227-235.
- Laloë D., 1993. Precision and information in linear models of genetic evaluation. *Genetics Selection Evolution*, 25, 557-576.
- Larzul C., Le Roy P., Monin G., Sellier P., 1998. Variabilité génétique du potentiel glycolytique du muscle chez le porc. INRA Productions Animales, 11, 183-197.
- Legault C., Ménéssier F., Mérat P., Ricordeau G., Rouvier R., 1996. Les lignées originales de l'INRA : historique, développement et impact sur les productions animales. INRA Productions animales, numéro hors série « 50 ans de recherches en productions animales », 41-56.
- Le Roy P., Elsen J.M., 2000. Principes de l'utilisation des marqueurs génétiques pour la détection des gènes influençant les caractères quantitatifs. INRA Productions Animales, numéro hors série « Génétique moléculaire : principes et application aux populations animales », 211-215.
- Maignel L., Tribout T., Boichard D., Bidanel J.P., Guéblez R., 1998. Analyse de la variabilité génétique des races porcines Large White, Landrace Français et Piétrain, sur la base de l'information généalogique. Journées de la Recherche Porcine en France, 30, 109-116.
- Mallard J., Mocquot J.C., 1998. Insémination artificielle et production laitière bovine : répercussions d'une biotechnologie sur une filière de production. INRA Productions animales, 11, 33-39.
- Mandonnet N., Aumont G., Fleury J., Gruner L., Bouix J., Vu Tien Khang J., Varo H., 1997. Résistance aux strongles gastro-intestinaux des caprins. Influence de différents environnements tropicaux sur l'expression du potentiel génétique de résistance. INRA Productions Animales, 10, 55-65.
- Manfredi E., Barbieri M., Fournet F., Elsen J.M., 1998. A dynamic deterministic model to evaluate breeding strategies under mixed inheritance. *Genetics Selection Evolution*, 30, 127-148.
- Ménéssier F., Journaux L., Laloë D., Rehben E., Lecomte C., Boulestex L., Sapa J., 1996. « IBOVAL » : une révolution tranquille dans l'évaluation génétique des bovins allaitants en France. Rencontres Recherches Ruminants, 3, 321-324.
- Ollivier L., 1997. Génétique et conservation animales. In : D. Matassino, J. Boyazoglu, A. Cappucio (Eds), EAAP Publication n° 85, 211-219, Wageningen Pers.
- Ollivier L., 1998. The accuracy of marker-assisted selection for quantitative traits within populations in linkage equilibrium. *Genetics*, 148, 1367-1372.
- Ollivier L., 1999. Scientific challenges to animal breeding and genetics. In : J.C.M. Dekkers, S.J. Lamont, M.F. Rothschild (Eds), From Jay L. Lush to genomics: visions for animal breeding and genetics, 24-34, Iowa University Press, Ames, Iowa, USA.
- Ollivier L., Chevalet C., Foulley J.L., 2000. Utilisation des marqueurs pour la caractérisation des ressources génétiques. INRA Productions Animales, numéro hors série « Génétique moléculaire : principes et application aux populations animales », 247-252.
- Phocas F., Hanocq E., Bouix J., Renand G., Poivey J.P., Elsen J.M., Bibé B., Ménéssier F., 1997. Détermination des objectifs de sélection chez les ruminants allaitants: situation actuelle et perspectives d'évolution. Rencontres Recherches Ruminants, 4, 171-178.
- Piacère A., Bouloc-Duval N., Sigwald J.P., Larzul C., Manfredi E., 1997. Utilisation de l'index combiné caprin et du polymorphisme de la caséine alpha s1 dans le schéma de sélection caprin. Rencontres Recherches Ruminants, 4, 187-190.
- Poivey J.P., Jullien E., Bibé B., 1994. Utilisation du modèle animal chez les ovins allaitants. In : J.L. Foulley, M. Molénat (Eds), Séminaire « modèle animal », Département de Génétique animale, 99-114.
- Robert-Granié C., Bonaïti B., Boichard D., Barbat A., 1999. Accounting for variance heterogeneity in French dairy cattle genetic evaluation. *Livestock Production Science*, 60, 343-357.
- Ruane J., Colleau J.J., 1995. Marker assisted selection for genetic improvement of animal populations when a single QTL is marked. *Genetical Research*, 66, 71-83.
- San Cristobal-Gaudy M., Elsen J.M., Bodin L., Chevalet C., 1998. Prediction of the response to a selection for canalisation of a continuous trait in animal breeding. *Genetics Selection Evolution*, 30, 423-451.
- Tavernier A., 1991. Genetic evaluation of horses based on ranks in competitions. *Genetics Selection Evolution*, 23, 159-173.
- Saugère D., Runavot J.P., Sellier P., 1989. Un premier bilan du programme de sélection contre le gène de sensibilité à l'halothane chez le porc Landrace Français. Journées de la Recherche Porcine en France, 21, 335-344.
- Tribout T., Bidanel J.P., Garreau H., Fleho J.Y., Guéblez R., Le Tiran M.H., Lignesche B., Lorent P., Ducos A., 1998. Présentation du dispositif collectif français d'évaluation génétique porcine pour les caractères de production et de reproduction. Journées de la Recherche Porcine en France, 30, 95-100.
- Verrier E., Colleau J.J., Foulley J.L., 1993. Long term effects of selection based on the animal model BLUP in a finite population. *Theoretical and Applied Genetics*, 87, 446-454.
- Vu Tien Khang J., Lantier F., Gruner L., Bouix J., Elsen J.M., 1997. La résistance des ovins aux maladies infectieuses et parasitaires : un nouvel objectif d'amélioration génétique ? Rencontres Recherches Ruminants, 4, 207-210.

1 - Notions de base de génétique

ADN et chromosomes

H. HAYES

INRA, Laboratoire de Génétique Biochimique
et de Cytogénétique,
78352 Jouy-en-Josas cedex

e-mail : hayes@biotec.jouy.inra.fr

Résumé. Chaque chromosome contient une seule molécule d'ADN. L'ADN déroulé d'un noyau de cellule humaine mesurerait environ 1,8 m : chaque molécule d'ADN est enroulée et compactée en plusieurs étapes, grâce à l'association de différentes protéines, et loge dans le noyau de 6 µm de diamètre. Le degré de condensation de l'ADN est variable selon les régions chromosomiques et les régions les moins condensées sont les plus riches en gènes. L'ADN est composé d'une variété de séquences codantes ou non et répétées ou non dont l'organisation dans le chromosome est caractéristique de la métaphase. Certaines séquences peuvent être corrélées en partie avec les motifs de bandes spécifiques de chaque paire chromosomique produits par les techniques de marquage chromosomique.

L'ADN, constitué de millions de nucléotides dont l'enchaînement précis détermine l'information génétique de chaque organisme, est localisé chez les mammifères en quasi-totalité (3000 Mb pour un noyau haploïde humain) dans les chromosomes de chaque noyau cellulaire. Seule une petite molécule d'ADN circulaire (16,6 kb chez l'Homme) est située dans un autre organe cellulaire, la mitochondrie. C'est uniquement au cours de la division cellulaire qu'il est possible d'observer au microscope des chromosomes individualisés dont le nombre, la taille et la forme sont constants et caractéristiques pour toutes les cellules somatiques d'une espèce donnée et qui se regroupent en paires de chromosomes homologues (à l'exception de la paire des chromosomes sexuels, souvent morphologiquement très différents). Par exemple, l'homme a 23 paires de chromosomes, la vache et la chèvre 30, le porc 19 et le cheval 32. Tous les chromosomes métaphasiques (observés au grossissement 600) présentent une constriction primaire ou centromère les partageant en deux bras plus ou moins longs (p et q) et dont la position détermine leur forme, métacentrique si elle est médiane, acrocentrique si elle est proche d'une extrémité et submétacentrique si elle est intermédiaire.

La propriété la plus exploitée et, paradoxalement, la moins bien comprise des chromosomes est de présenter le long de leur bras, à la suite de colorations ou de traitements particuliers, des bandes plus ou moins colorées dont la succession et la taille constituent un motif précis et reproductible, visible au microscope optique. Cette propriété, très précieuse, permet d'identifier les chromosomes (figure 1), d'assembler un caryotype, de décrire finement des remaniements chromosomiques ou structuraux, de localiser des marqueurs et de comparer les chromosomes entre eux et entre espèces proches ou

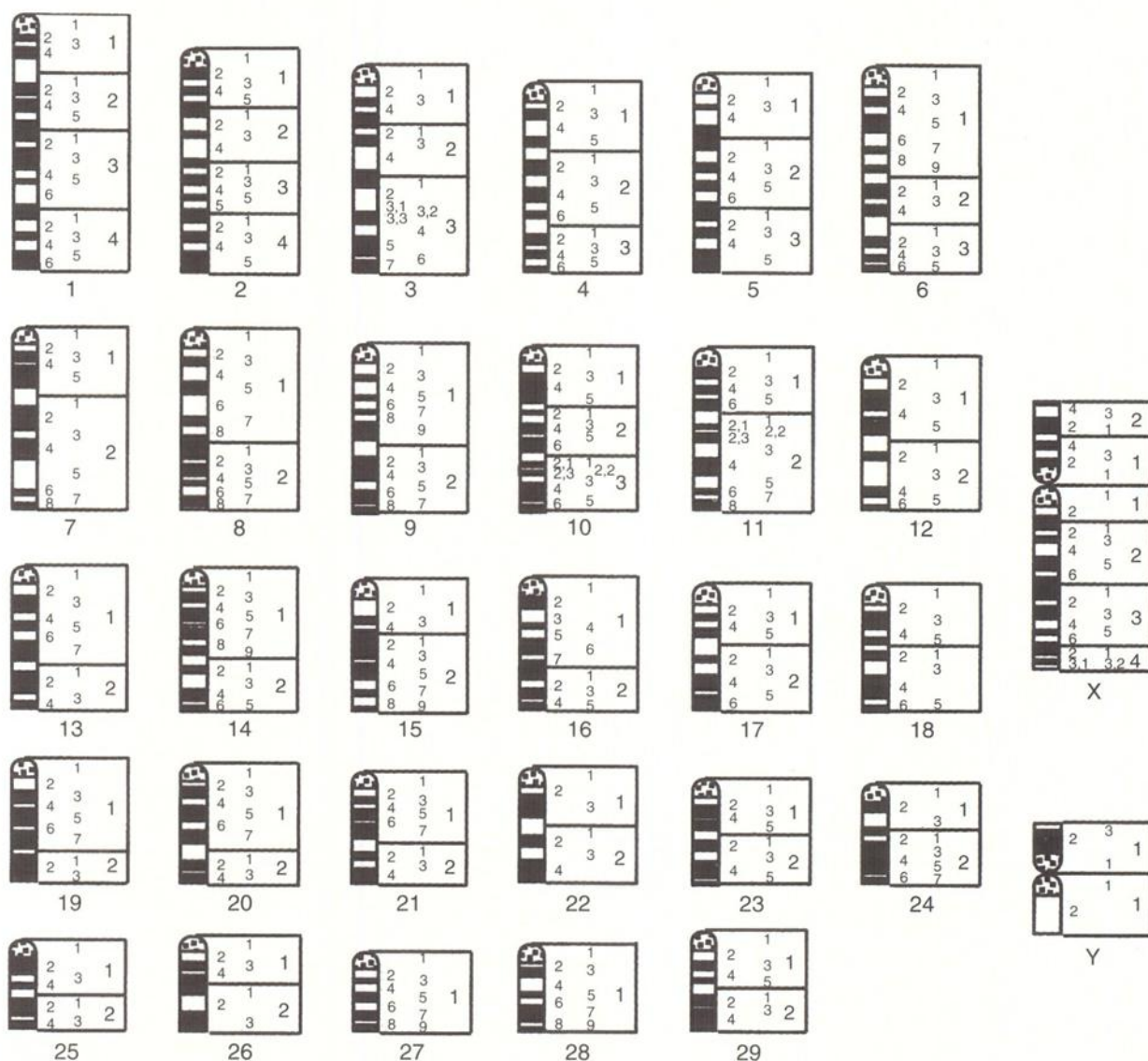
éloignées. Cependant, la compréhension des mécanismes à l'origine des bandes chromosomiques est très incomplète et les explications trouvées dans la littérature restent souvent du domaine de l'hypothèse.

Les progrès combinés des techniques de biologie moléculaire et de microscopie optique et électronique permettent de proposer une image beaucoup plus précise de l'organisation architecturale, topologique et fonctionnelle de l'ADN au sein des chromosomes eucaryotes et le lien avec le motif des bandes chromosomiques, au moins chez les mammifères.

1 / Repliement de l'ADN dans les chromosomes

Une cellule diploïde de mammifère contient en moyenne 6000 Mb d'ADN, soit une longueur d'environ 1,8 m contenue dans un noyau de 6 µm de diamètre grâce à un empilage ordonné et efficace de l'ADN (figure 2). Chaque chromosome contient une seule molécule d'ADN linéaire, continue, repliée de nombreuses fois sur elle-même et répartie de part et d'autre du centromère. Dans les noyaux, l'ADN n'est probablement jamais libre mais associé à d'autres molécules, principalement les histones, petites protéines basiques présentes en quantité à peu près égale à celle de l'ADN, et des protéines non-histones acides représentant entre 10 et 30 % de l'ensemble. C'est ce complexe ADN-protéines, appelé aussi chromatine parce qu'il fixe les colorants, qui compose la structure des chromosomes. Les histones, dont la structure est très conservée à travers tous les organismes eucaryotes, ont un rôle essentiel dans le repliement des molécules d'ADN. La compaction (Gasser et Laemmli 1987) de la molécule d'ADN chromosomique (double hélice d'environ 2 nm de diamètre) associée

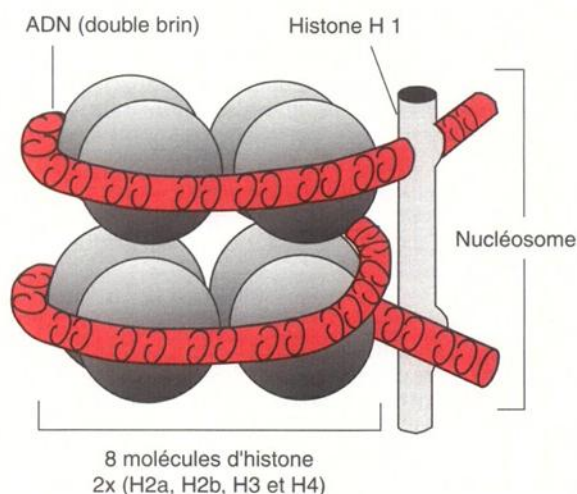
Figure 1. Idiogramme bovin en bandes RBG (nomenclature Texas 1996).



aux histones et à l'ARN passe par différents niveaux d'empaquetage (figure 3). L'unité structurale de base de la chromatine est le nucléosome (figure 4), qui est formé d'un assemblage de 8 histones (2 fois : H2a, H2b, H3 et H4) autour duquel s'enroule une portion d'ADN double brin de 146 paires de bases et qui est répété indéfiniment, donnant un aspect en "chapelet de perles" à la fibre de chromatine d'environ 11 nm d'épaisseur (cf figure 3). Grâce aux histones H1, ce chapelet de nucléosomes se comprime en formant une super hélice de 30 nm de diamètre qui s'organise elle-même en boucles d'environ 300 à 400 nm de longueur le long d'une armature constituée en grande partie par la topoisomérase II (enzyme capable de couper les deux brins de l'ADN et qui, en plus d'un rôle architectural, intervient dans le relâchement des supertours de la chromatine lors de la réplication). Les boucles de chromatine sont attachées à l'armature au niveau de régions particulières de l'ADN appelées « SAR », de l'anglais « Scaffold Attachment Regions » (cf paragraphe 2, modèle de Saitoh et Laemmli). Enfin cette organisation boucles + armature s'enroule en une spirale plus ou moins resserrée selon le stade du cycle cellulaire :

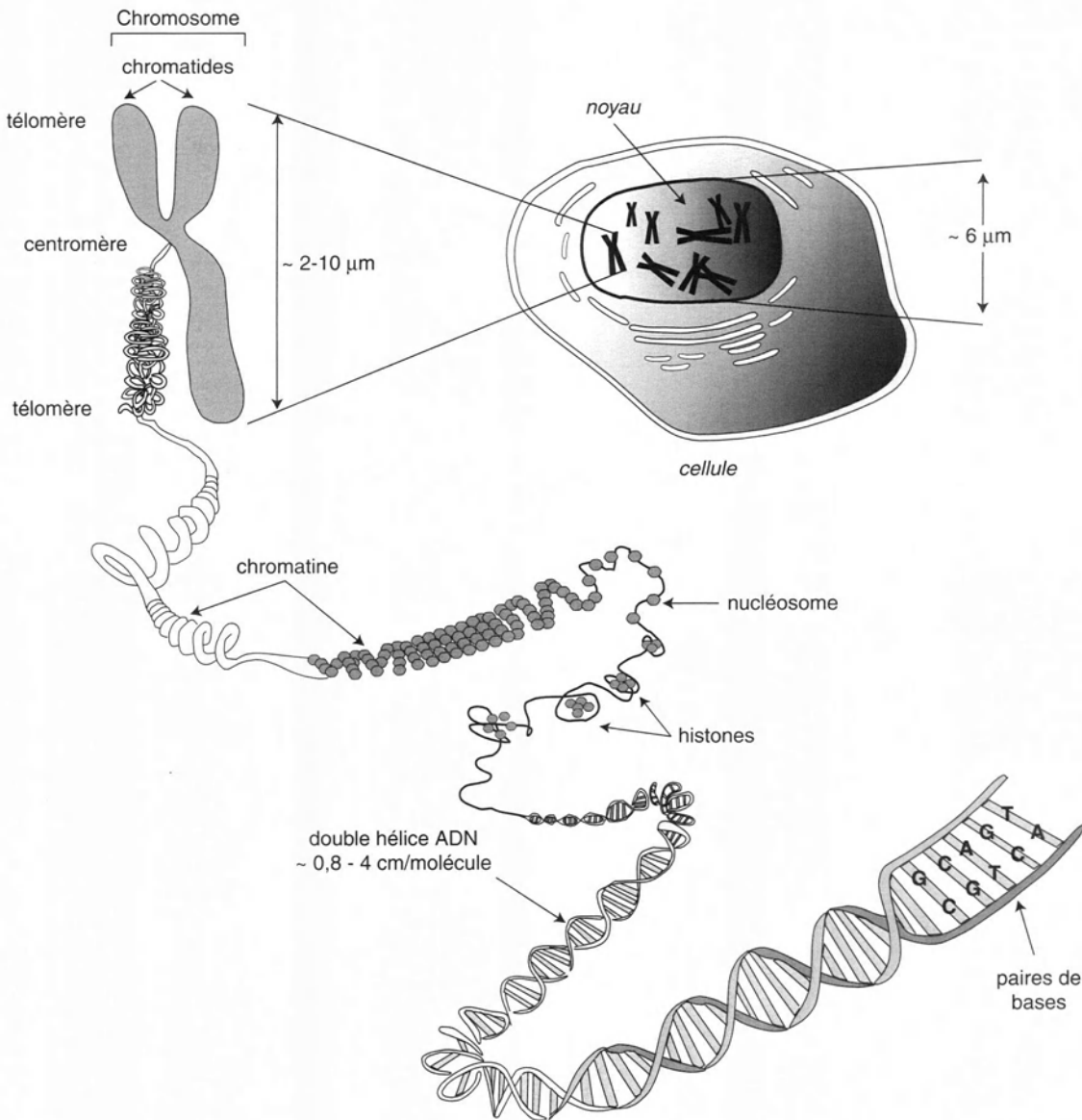
- durant l'interphase, cette spirale est relâchée, les

Figure 4. Structure d'un nucléosome.



chromosomes ne peuvent pas être distingués car ils sont très étirés et emmêlés, l'ensemble ressemblant à une pelote de laine. Néanmoins, il faut noter que

Figure 2. Structure d'un chromosome.



depuis l'utilisation d'ADN spécifique d'un chromosome comme sonde pour l'hybridation *in situ*, il est possible d'observer dans les noyaux interphasiques le domaine délimité qu'occupe un chromosome individuellement (Manuelidis 1985, Lichter *et al* 1988). L'interphase est une phase active de synthèse protéique, de synthèse des ARN et de réplication de l'ADN ;

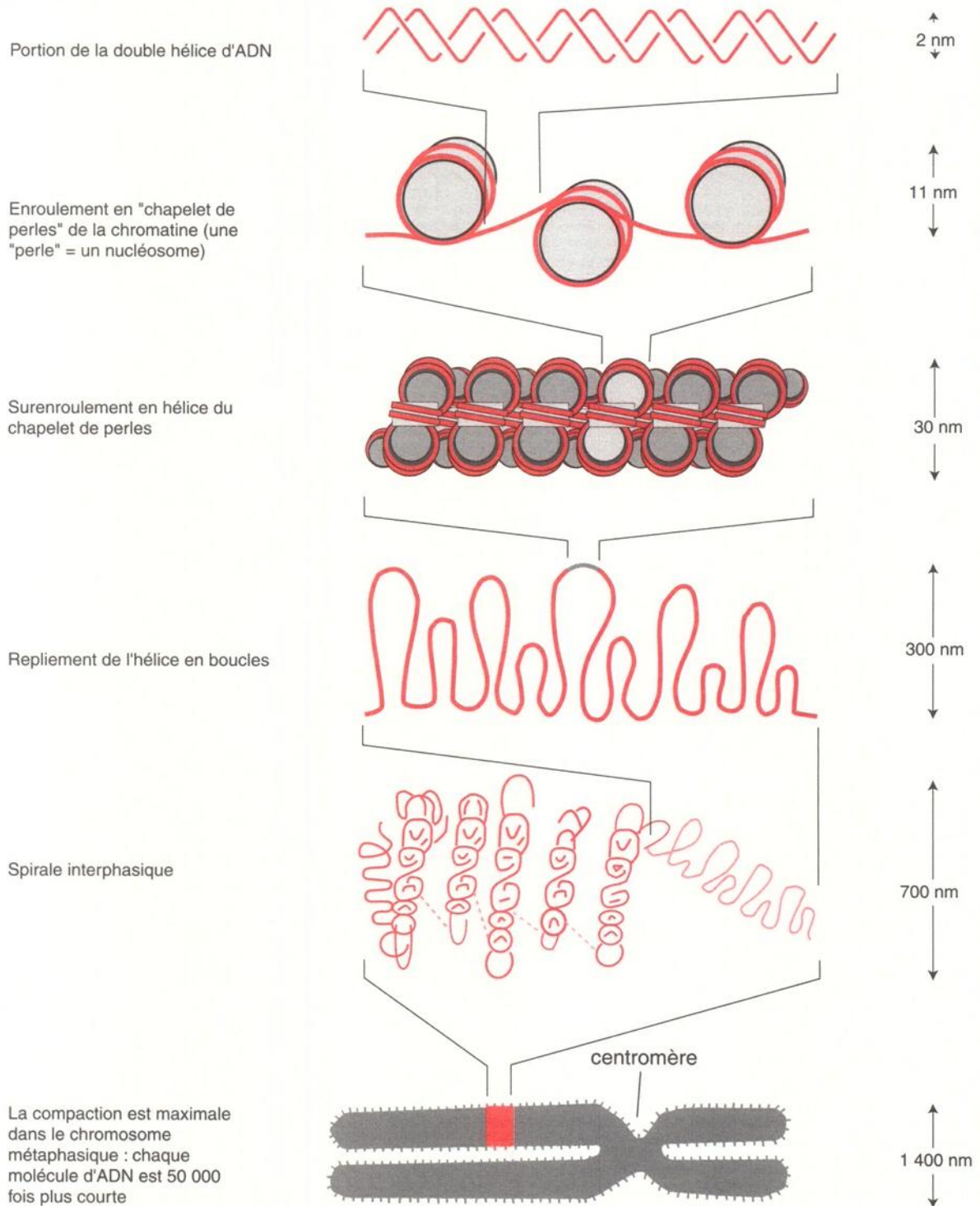
- durant la division cellulaire, la spirale de chromatine se condense encore beaucoup plus pour atteindre en métaphase un diamètre d'environ 700 nm et un degré de compaction maximal (plusieurs milliers de fois), rendant visible le chromosome (= 2 chromatides) comme une entité distincte.

2 / Régions ou structures révélées par les techniques de marquage chromosomique

Selon les traitements et colorations utilisés pour observer les chromosomes, on peut visualiser plusieurs types de régions ou de structures : l'euchromatine, l'hétérochromatine constitutive, les centromères et les régions organisatrices nucléolaires. L'euchromatine, l'hétérochromatine et les nucléoles sont également visibles en interphase.

2.1 / Euchromatine

L'euchromatine est révélée par les méthodes de marquage chromosomique produisant des motifs de bandes appelées Q/G, R et T et contenant, entre autres, presque tout l'ADN transcrit. Les dénominations des bandes Q (de quinacrine), G (de Giemsa), R (de reverse) et T (de terminale) proviennent des types de traitement et de coloration employés pour les produire. On distingue les bandes Q, G, R et T dites " structurales " parce qu'elles dépendent de la nature intrinsèque du chromosome et les bandes G et R dites " dynamiques " qui sont révélées par l'incorporation d'une base modifiée dans l'ADN de la cellule vivante et dépendent donc de la réplication. Les mêmes motifs de bandes G et R sont retrouvés. Dans tous les cas, on obtient une succession de bandes intensément colorées (positives + = foncées ou fluorescentes) ou légèrement colorées (négatives - = claires ou non fluorescentes) dont les motifs sont superposables (bandes Q+ fluorescentes = G+ foncées = R- claires et Q- non fluorescentes = G- claires = R+ foncées). Par convention, les termes bandes Q, G, R et T désignent les bandes colorées intensément ou positives et comme les motifs des bandes Q et G sont similaires, pour plus

Figure 3. Enroulement et compaction de l'ADN dans le chromosome.

de clarté nous ne ferons référence qu'aux bandes G et R (et parfois T, les bandes T constituant une sous-fraction des bandes R, particulièrement résistante à la dénaturation thermique, en raison de leur richesse en bases GC, et particulièrement riche en gènes).

L'euchromatine de tous les chromosomes des mammifères se subdivise en deux fractions à peu près égales de leur génome, les bandes G et les bandes R (+T). A chacune de ces fractions est associée une série de propriétés biochimiques et fonctionnelles opposées ; les principales sont regroupées dans le tableau 1 (Bickmore et Sumner 1989, Gardiner 1995).

D'après ce tableau, les bandes chromosomiques peuvent être considérées soit comme des segments d'ADN avec un contenu spécifique en paires de bases, en gènes et en séquences répétées dispersées, soit comme des unités fonctionnelles de réplication et de condensation. Ceci indique que le génome des mammifères est une structure organisée et que les caractéristiques fonctionnelles ne se distribuent pas de manière aléatoire. Jusqu'au milieu des années 80, il était admis que les bandes reflétaient une différenciation longitudinale de la structure nucléoprotéique des chromosomes, mais la nature de cette différenciation n'était pas connue. Différents modèles découpant le génome en sous-

Tableau 1. Principales propriétés biochimiques et fonctionnelles des bandes chromosomiques G/R.

| Bandes G | Bandes R (+T) |
|--|---|
| bandes G+ colorées | bandes G- claires |
| bandes Q+ fluorescentes | bandes Q- non fluorescentes |
| bandes R- et T- claires | bandes R+ et T+ colorées |
| régions chromomériques au stade pachytène de la méiose | régions interchromomériques |
| réplication tardive durant phase S | réplication précoce |
| riches en AT | riches en GC |
| pauvres en méthylcytosine | riches en méthylcytosine |
| peu de gènes | majorité des gènes de ménage et de spécificité tissulaire |
| séquences LINEs | séquences SINEs |

ensembles d'ADN avec des caractéristiques variables et une répartition différente selon les bandes G ou R et T ont été proposés. Ils permettent d'aller un peu plus loin dans la compréhension de l'organisation du génome et des mécanismes à l'origine des bandes chromosomiques.

Modèle des isochores (Bernardi *et al* 1985, Bernardi 1995)

Le génome nucléaire est divisé en 5 classes d'isochores selon leur composition en bases : L1 et L2 (riches en AT, plutôt dans les bandes G), H1, H2 et H3 (de plus en plus riches en GC, H1 et H2 plutôt dans les bandes R et H3 dans les bandes T).

Modèle basé sur la répartition des séquences répétées dispersées SINEs et LINEs le long des chromosomes (Korenberg et Rykowski 1988)

Les SINEs (Short Interspersed Repeated Sequences) sont des séquences inférieures à 1 kb réparties à travers le génome à raison de 3.10^5 à 9.10^5 copies et les LINEs (Long Interspersed Repeated Sequences) des séquences de 6 à 7 kb réparties à travers le génome à raison de 10^4 à 10^5 copies. Chez l'Homme, plus de 90 % de ces séquences correspondent pour les SINEs aux séquences Alu de 300 pb (ainsi nommées parce qu'elles possèdent généralement un site de restriction pour l'enzyme *AluI*) et pour les LINEs aux séquences L1 ou KpnI (ainsi nommées parce que certaines d'entre elles peuvent être isolées après digestion de l'ADN génomique avec l'enzyme de restriction *KpnI*). Il a été montré par hybridation *in situ* que ces séquences ne se répartissent pas au hasard le long des chromosomes humains, mais suivent une distribution caractéristique avec prédominance des séquences Alu (environ 18 % de leur ADN) dans les bandes R alors que les séquences L1 prédominent dans les bandes G (environ 14 % de leur ADN). Ceci suggère qu'elles sont impliquées au moins dans certaines des propriétés opposées des deux fractions de l'euchromatine.

Modèle des « saveurs », de l'anglais « flavors » (Holmquist 1992)

Dans ce modèle, le rapport entre composition en bases et richesse en séquences Alu est déterminé, ce qui divise la chromatine des bandes R du chromosome métaphasique en quatre classes ou

« saveurs »: riche en AT/riche en Alu, riche en AT/pauvre en Alu, riche en GC/riche en Alu et riche en GC/pauvre en Alu. La densité des gènes varie suivant ces quatre saveurs.

Modèle de Craig et Bickmore (1994)

L'ADN est fractionné en sous-ensembles selon la distance entre îlots CpG (îlots CpG non méthylés, donc coupés par des enzymes sensibles à la méthylation, situés surtout en 5' des gènes de ménage, d'où leur qualité d'indicateur de la densité en gènes de ménage). Quatre classes ont été définies : distance entre îlots CpG supérieure à 1000 kb, donc la moins riche en gènes, plutôt dans les bandes G, de 500 à 1000 kb plutôt dans les bandes R, et de 100 à 500 kb et de 15 à 100 kb, donc les plus riches en gènes, plutôt dans les bandes T.

Modèle de Saitoh et Laemmler (1994)

Dans ce modèle, le facteur déterminant serait une différence de densité de la chromatine selon les bandes, ce qui permettrait de relier l'organisation de la fibre de chromatine et l'alternance des bandes le long des chromosomes en métaphase. Comme il a été dit plus haut, la chromatine passe par différents degrés de compaction selon le stade du cycle cellulaire et, à l'un de ces degrés de compaction, la fibre de chromatine est organisée en boucles dont l'assise est liée à l'armature protéique par l'intermédiaire des régions « SAR ». Ces régions SAR contiennent des séquences nucléotidiques particulières, très riches en bases AT (plus de 65 %). Du fait de leur rôle d'ancrage des boucles de chromatine dans l'architecture chromosomique, les régions SAR seraient organisées de manière non aléatoire formant une structure centrale le long de l'axe de la fibre de chromatine appelée alignement AT. Les auteurs de ce modèle proposent que l'alternance de bandes intensément ou légèrement colorées résulte d'un arrangement et d'une compaction différents de l'alignement AT le long des chromosomes. Dans les bandes G, l'alignement AT serait plus compact, enroulé en spirale avec des boucles d'ADN courtes et orientées parallèlement à l'axe du chromosome, alors que dans les bandes R, l'alignement AT resterait sous une forme plus linéaire avec des boucles d'ADN plus longues et perpendiculaires à l'axe du chromosome. Par la méthode de marquage chromosomique des bandes G, les bandes G sont intensément colorées parce que le degré de compaction de l'alignement AT est élevé et les bandes G- (équivalentes aux bandes R) sont peu colorées parce que l'alignement AT est plus relâché.

2.2 / Hétérochromatine constitutive

L'hétérochromatine constitutive est colorée de manière sélective et intense par les méthodes de marquage dites de « bandes C » (de centromère) et, pour le moment, n'a pas de fonction connue. C'est une fraction de la chromatine qui ne se décondense pas durant l'interphase et qui se situe dans les régions juxtacentromériques de tous les chromosomes chez presque toutes les espèces, mais parfois dans d'autres régions aussi, par exemple sur le chromosome Y. Elle contient des séquences hautement répétées d'ADN riches en paires de bases AT ou GC selon les sites et les espèces et elle se réplique très tardivement durant la phase de synthèse S de l'ADN. Cependant, l'hétérochromatine n'est pas totalement dépourvue d'activité génétique puisque, chez la drosophile, on a pu isoler des mutations létales dans

des gènes localisés dans l'hétérochromatine (Eberl *et al* 1993). La cartographie génétique indique que l'hétérochromatine contient 100 fois moins de gènes que l'euchromatine. Par contre, on a montré que si un gène est déplacé, à la suite d'une translocation ou d'une inversion, d'une région euchromatique vers une région hétérochromatique, il peut être inactivé dans certaines cellules, probablement parce qu'il est soumis au processus de formation de l'hétérochromatine.

2.3 / Centromères

Les centromères sont visibles comme une constriction dite primaire sur chaque chromosome après coloration au Giemsa et sur laquelle on peut révéler, par des techniques d'immunofluorescence, les kinétochores qui sont des structures spécialisées par lesquelles les chromosomes se fixent aux fuseaux nucléaires mitotiques et méiotiques et migrent vers le plan équatorial de la cellule. Les centromères sont compris dans l'hétérochromatine constitutive.

2.4 / Régions organisatrices nucléolaires (NOR)

Les régions organisatrices nucléolaires colorées par la méthode Ag-NOR occupent des positions bien définies dans les chromosomes, parfois visibles comme une constriction secondaire, mais leur nombre varie d'un organisme à un autre. Ils participent à la formation et au fonctionnement des nucléoles dans les noyaux interphasiques, qui contiennent l'ARN et les protéines ribosomiques.

3 / Organisation des séquences transcrites et non transcrites sur le chromosome

La taille des génomes eucaryotes est beaucoup plus grande que celle des génomes procaryotes. On considère que seuls 3 à 4 % de l'ADN chromosomique humain correspondent à des séquences transcrites. Il a été montré que chez les eucaryotes, les gènes sont insérés dans un arrangement complexe de séquences répétées en tandem ou dispersées et de séquences non répétées dont la plupart n'a pas de fonction, certaines de ces séquences répétées sont aussi retrouvées dans les introns. L'ADN eucaryote peut donc se classer en plusieurs sous-ensembles : les gènes uniques, les familles de gènes et les pseudogènes, les séquences répétées fonctionnelles non codantes, les séquences répétées de fonction inconnue et les séquences non répétées non codantes. Certaines de ces séquences sont associées à des structures particulières du chromosome ou localisées dans certaines régions.

3.1 / Gènes uniques, familles de gènes et pseudogènes

La majorité des gènes et pseudogènes est située dans l'euchromatine de tous les chromosomes, bien que l'hétérochromatine n'en soit pas totalement dépourvue. Les études de Bernardi *et collègues* (Mouchiroud *et al* 1991, Saccone *et al* 1992, Bernardi 1995) ont montré que la densité des gènes n'est pas homogène le long des chromosomes (tableau 2).

Tableau 2. Distribution globale des isochores et des gènes dans les chromosomes humains selon les bandes T, R et G.

| Bandes | T | R | G |
|------------------|----------|----------|----------|
| Isochores | ~H3 | ~H1 + H2 | ~L1 + L2 |
| % GC | ~53 | ~46 | ~39 |
| % génome | ~3 | ~31 | ~62 |
| % gènes | 39 | 38 | 34 |
| ADN (Mb) | 90 | 190 | 1860 |
| Densité de gènes | 1/3,2 kb | 1/25 kb | 1/50 kb |

Les bandes les plus riches en gènes correspondent majoritairement aux bandes T et en partie aux bandes R et elles sont peu nombreuses : environ 59/400 bandes du caryotype standard humain. La densité des gènes varie aussi entre chromosomes, ainsi certains chromosomes humains comme le chromosome 19 sont extrêmement riches en gènes et d'autres comme le chromosome 13, extrêmement pauvres en gènes (Saccone *et al* 1992).

L'étude publiée par Gardiner (1996), synthétisant les différents projets ayant pour objectif d'identifier un maximum de gènes du chromosome humain 21, présente des résultats similaires (tableau 3 et figure 5). La bande q22.3 terminale (R ou T) est la plus riche en gènes puisqu'elle contient seulement 19 % d'ADN mais 47 % des gènes identifiés et la bande q21 (G) est la plus pauvre en gènes avec 41 % de l'ADN et seulement 5 % des gènes identifiés.

Enfin, les membres d'une famille multigénique peuvent être :

- soit regroupés à un endroit spécifique d'un chromosome, par exemple, les 7 gènes (HBA1, HBA2, HBQ1, HBZ, HBAP1, HBAP2 et HBZP) de la famille des globines alpha contenus dans un segment d'ADN d'environ 50 kb situé sur le chromosome humain 16p13.3 ;

- soit dispersés sur plusieurs chromosomes, par exemple chez l'Homme, les 3 clusters (RN5S1, RN5S2 et RN5S3) des gènes spécifiant les ARN ribosomiques 5S, localisés sur 3 sites différents des chromosomes 1 et 6, ou les 9 gènes PAX (PAX1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 et 9) localisés sur 8 chromosomes différents, chacun à un site propre.

Pour les espèces de mammifères autres que l'Homme, les cartes géniques sont à ce jour insuffisamment développées pour donner une image globale et significative mais la répartition et la densité des gènes le long des chromosomes ont très probablement les mêmes caractéristiques chez toutes les espèces. Cette hypothèse est soutenue entre autres,

Tableau 3. Répartition des gènes du chromosome humain 21 selon les bandes G et R.

| Bandes bras long q | % ADN | % gènes identifiés |
|--------------------|-------|--------------------|
| R q11.2 | 11 | 2 |
| G q21 | 41 | 5 |
| R q22.1 | 20 | 30 |
| G q22.2 | 9 | 16 |
| R ou T q22.3 | 19 | 47 |