3 - Cartographie des génomes

D. MILAN, M. YERLE, A. ROBIC, Y LAHBIB-MANSAIS, J. RIQUET, N. IANNUCELLI, J. GELLIN

INRA, Laboratoire de Génétique Cellulaire,
BP 27, 31326 Castenet-Tolosan cedex

e-mail : Denis.Milan@toulouse.inra.fr

Etat des lieux de la cartographie du génome du porc

Résumé. Les cartes porcines sont maintenant bien développées : près de 1200 microsatellites sont cartographiés sur les familles de référence et 2000 nouveaux sont en cours de développement ; environ 400 gènes ou EST (expressed sequence tags) et 400 marqueurs génétiques sont positionnés sur les cartes cytogénétiques ; les cartes d'irradiation sont en plein essor ; près de 1000 marqueurs et gènes sont ordonnés avec une résolution 10 à 20 fois supérieure à la carte génétique. L'estimation de la taille physique du génome du porc est de 2700 Mb organisées en 38 (2x18 + XY) chromosomes, les cartes génétiques couvrent 2300 cM, et les cartes d'irradiation de 30 à 40000 cR₇₀₀₀. La réalisation d'un contig de BAC global du génome et l'établissement d'un catalogue des gènes sont les deux prochains développements importants de la génomique porcine.

Les outils de cartographie chez le porc

Cartographie génétique

Trois principales familles de référence ont été développées chez le porc : les familles PiGMaP, issues du programme européen PiGMaP, les familles USDA, et les familles nordiques (tableau 1). Seules les familles PiGMaP ont été distribuées et utilisées par de nombreux groupes (Archibald *et al* 1995). Les familles nordiques se caractérisent par l'analyse d'un grand nombre de marqueurs RFLP ayant rapidement permis un début d'intégration des cartes génétiques et cytogénétiques (Marklund *et al* 1996). Les familles de l'USDA n'ont pas été distribuées, mais le groupe du MARC a cartographié sur ces familles pratiquement tous les marqueurs microsatellites disponibles (Rohrer *et al* 1996). De fait, cette carte est devenue la carte génétique de référence.

Cartographie cytogénétique et physique

Les techniques d'hybridation *in situ* sur chromosome en métaphase ont été largement utilisées pour cartographier de nombreux gènes. A côté de ces techniques, les panels d'hybrides somatiques irradiés ou non sont maintenant utilisés à grande échelle. Plusieurs panels d'hybrides somatiques non irradiés ont été produits, mais le panel produit à l'INRA (20 clones hamster-porc + 7 clones souris-porc) est le seul à avoir été caractérisé par cytogénétique moléculaire (Yerle 2000, cet ouvrage). La cartographie sur ce panel permet d'assigner le marqueur étudié à l'une des 116 régions différentes qui peuvent être distinguées (Robic *et al* 1996).

Ces dernières années, les efforts se sont portés vers le développement de panels d'hybrides d'irradiation (RH). Deux panels ont ainsi été produits à Toulouse (IMpRH) et à Cambridge (Goodfellow

Tableau 1. Familles de référence pour la cartographie génétique du porc.

Familles	Races	Type de croisement	Nombre d'animaux
PiGMaP	Large White, Meishan, Sanglier, Piétrain	F2 : LW x MS, Pi x Sa, Sa x LW	26 F0, 20 F1, 118 F2
USDA	Lignée européenne White Composite (WC), Meishan	BC : (WC x race chinoise) x WC	(2 M, 8 F) F1, 94 BC
Nordiques	Sanglier, Large White	F2 : Sa x LW	(2 M, 8F) F0, (4M, 22F) F1, 200 F2

T43), après irradiation de cellules porcines à 6-7000 et 3000 rad respectivement. Le panel IMpRH, actuellement constitué de 118 clones (Yerle *et al* 1998), a été caractérisé par l'analyse de 757 marqueurs (Hawken *et al* 1999). Ce panel présente une résolution théorique de l'ordre de 150 kb ; il est actuellement distribué et devrait être utilisé à grande échelle. Des outils de cartographie permettent de cartographier facilement tout nouveau marqueur par rapport au réseau de marqueurs déjà cartographiés (Milan *et al* 2000).

Diverses banques de grands fragments (cosmides, BAC, PAC, YAC) ont également été produites et sont accessibles dans le cadre de collaborations. A l'heure actuelle, les ressources les plus utilisées sont les banques de BAC. En regroupant toutes les banques connues, un nombre de clones BAC correspondant à 20 équivalents génome est disponible (+ 10 commercialement), dont 5 équivalents génome produits au laboratoire de Radiobiologie et Etude du Génome (INRA-CEA, Jouy-en-Josas ; Rogel-Gaillard 2000, cet ouvrage).

Quelques données sur l'état de la cartographie du porc

Le tableau 2 montre l'état des travaux publiés de cartographie. L'intégration entre les différents types de cartes est bonne puisque environ 350 microsatellites sont cartographiés sur les cartes génétique et cytogénétique, et que plus de 700 microsatellites sont cartographiés sur les cartes génétique et d'irradiation (voir figure 1). Cette intégration permet de montrer que les cartes couvrent tout le génome.

La cartographie comparée entre l'Homme et le porc a également été étudiée en détail par cartographie de gènes dans les deux espèces, ainsi que par 'painting' hétérologue (Gellin 2000, cet ouvrage). Les deux génomes semblent constitués d'une centaine de segments chromosomiques, organisés différemment (Pinton *et al* 2000). Le tableau 3 présente les adresses des principaux sites de cartographie du porc consultables sur le web, permettant un suivi des connaissances.

Tableau 2. Etat d'avancement des travaux de cartographie du génome du porc.

Cartographie	Outils de référence	Nombre de marqueurs cartographiés
Génétique	PiGMap 94 USDA 96 Nordic 96	230 marqueurs 1042 marqueurs 236 marqueurs <i>soit environ 1200 microsatellites différents</i>
Cytogénétique	FISH et/ou hybrides somatiques	203 gènes identifiés 100 EST porcines, 65 EST humaines 348 microsatellites, 35 minisatellites
Physique	Panel RH	48 gènes ou EST 709 microsatellites placés sur la carte génétique

Tableau 3. Principaux sites web consacrés à la cartographie du génome du porc.

Site	Type	Adresse web
Roslin Institute	Base généraliste + cartographie comparée	http://www.ri.bbsrc.ac.uk/pigmap/pig_genome_mapping.html
Iowa State Univ.	Miroir Roslin + forum + divers	http://www.genome.iastate.edu/pig.html
MARC-USDA	Carte génétique USDA	http://sol.marc.usda.gov/genome/swine/swine.html
INRA Toulouse	Cartes cytogénétique, RH, comparée + carto en ligne	http://www.toulouse.inra.fr/lgc/lgc.htm
Univ. Minnesota	Cartes RH	http://fabctr.umn.edu/RHmaps/
Univ. Tsukuba	Cartes cytogénétique, génétique et comparée	http://ws4.niai.affrc.go.jp/dbsearch2/pmap/

Figure 1. Intégration des cartes cytogénétique (à gauche), génétique (au milieu, en cM) et d'irradiation (à droite, en cR) chez le porc : exemple du chromosome 1.

Perspectives

En cartographie génétique, deux programmes principaux devraient fournir rapidement de nouveaux outils : 2000 à 4000 marqueurs AFLP sont en cours d'analyse sur une partie des familles PiGMap, tandis qu'un programme de développement de 2000 nouveaux marqueurs microsatellites est en cours à l'université du Minnesota. Pour ce dernier programme, il est intéressant de noter qu'après un test de leur polymorphisme, les nouveaux marqueurs seront cartographiés sur la carte RH, afin de les ordonner avec une meilleure résolution. Plusieurs milliers d'EST (expressed sequence tags) vont également être cartographiés sur ce panel RH. En complément, le développement d'un nouveau panel RH plus résolutif est envisagé. Le panel actuel ou ce nouveau panel sera utilisé pour ancrer les contigs de BAC qui seront produits dans le cadre de la réalisation du contigage complet du génome porcin, qui devrait être réalisé rapidement dans le cadre de collaborations internationales.

Références

Les références précédées d'une astérisque correspondent aux dernières publications globales de ces groupes.

*Archibald A.L., Haley C.S., Brown J.F., Couperwhite S., McQueen H.A., Nicholson D., Coppieters W., Van de Weghe A., Stratil A., Winterø A.K., Fredholm M., Larsen N.J., Nielsen V.H., Milan D., Woloszyn N., Robic A., Dalens M., Riquet J., Gellin J., Caritez J.C., Burgaud G., Ollivier L., Bidanel J.P., Vaiman M., Renard C., Geldermann H., Davoli R., Ruyter D., Verstege E.J., Groenen M.A.M., Davies W., Høyheim B., Keiserud A., Andersson L., Ellegren H., Johansson M., Marklund L., Miller J.R., Anderson Dear D.V., Signer E., Jeffreys A.J., Moran C., Le Tissier P., Muladno, Rothschild M.F., Tuggle C.K., Vaske D., Helm J.M., Liu H.C., Rahman A., Yu T.P., Larson R.G., Schmitz C.B., 1995. The PiGMap consortium linkage map of the pig (*Sus scrofa*). *Mammalian Genome*, 6, 157-175.

Gellin J., 2000. La cartographie comparée des génomes des vertébrés. INRA Productions Animales, numéro hors série « Génétique moléculaire : principes et application aux populations animales », 95-102.

Hawken R., Murtaugh J., Flickinger G., Yerle M., Robic A., Milan D., Gellin J., Beattie C., Schook L., Alexander L., 1999. A first generation porcine whole genome radiation hybrid map. *Mammalian Genome*, 10, 824-830.

*Marklund L., Johansson Moller M., Høyheim B., Davies W., Fredholm M., Juneja R.K., Mariani P., Coppieters W., Ellegren H., Andersson L., 1996. A comprehensive linkage map of the pig based on a wild pig-Large White intercross. *Animal Genetics*, 27, 255-269.

Milan D., Hawken R., Cabau C., Leroux S., Genet C., Lahbib Y., Tosser G., Robic A., Hatey F., Alexander L., Beattie C., Schook L., Yerle M., Gellin J., 2000. IMpRH Server: An RH mapping server available on the Web. *Bioinformatics* (sous presse).

Pinton P., Schibler L., Cribiu E., Gellin J., Yerle M., 2000. Localisation of 113 anchor loci in pigs: improvement of the comparative map for humans, pigs and goats. *Mammalian Genome*, 11 (sous presse).

Robic A., Riquet J., Yerle M., Milan D., Lahbib-Mansais Y., Dubut-Fontana C., Gellin J., 1996. Porcine linkage and cytogenetic maps integrated by regional mapping of 100 microsatellites on somatic cell hybrid panel. *Mammalian Genome*, 7, 438-445.

Rogel-Gaillard C., 2000. Les banques de grands fragments d'ADN. INRA Productions Animales, numéro hors série « Génétique moléculaire : principes et application aux populations animales », 79-85.

* Rohrer G.A., Alexander L.J., Hu Z., Smith T.P., Keele J.W., Beattie C.W., 1996. A comprehensive map of the porcine genome. *Genome Research*, 6, 371-391.

Yerle M., 2000. Etablissement des cartes cytogénétiques et physiques. INRA Productions Animales, numéro hors série « Génétique moléculaire : principes et application aux populations animales », 87-93.

Yerle M., Pinton P., Robic A., Alfonso A., Palvadeau Y., Delcros C., Hawken R., Alexander L., Beattie C., Schook L., Milan D., Gellin J., 1998. Construction of a whole-genome radiation hybrid panel for high-resolution gene mapping in pigs. *Cytogenetics and Cell Genetics*, 82, 182-188.