

3 - Cartographie des génomes

A. VIGNAL

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

e-mail : Alain.Vignal@toulouse.inra.fr

Etat de la carte de la poule

Résumé. La carte génétique de la poule est développée depuis plusieurs années à l'aide de deux familles de référence de type rétro-croisement. Plus récemment, une troisième famille a été utilisée pour affiner la carte. La structure actuelle est d'environ 1800 locus répartis en 50 groupes de liaison couvrant 3800 cM, dont 785 repérés par des marqueurs de type microsatellite. La carte contient 350 marqueurs dans des séquences exprimées, dont 235 représentent des gènes identifiés, permettant de mettre en évidence des synténies conservées avec les génomes de mammifères. La particularité du génome de la poule, composé de macrochromosomes et de microchromosomes, complique la nécessaire intégration avec la carte cytogénétique.

La première carte par analyse de liaisons génétiques réalisée pour un animal d'élevage a été développée chez la poule et publiée en 1936. Celle-ci comportait 18 locus, répartis en 5 groupes de liaison (Hutt 1936). Des mises à jour de cette carte classique, composée principalement de marqueurs phénotypiques ou de mutations particulières observées dans des lignées de poulets, ainsi que des locus de groupes sanguins, ont régulièrement été publiées (Bitgood et Somes 1993). Cependant, les marqueurs de cette carte étant en ségrégation dans des lignées différentes et en nombre limité, la précision n'est pas optimale et très peu des marqueurs peuvent servir à la recherche de liaison avec des caractères d'intérêt agronomique ou biologique. Un progrès important a été réalisé, pour le développement d'une carte génétique moderne de la poule, par la reconnaissance de deux rétro-croisements de référence à utiliser pour l'établissement des cartes moléculaires, lors du premier atelier de l'ISAG (International Society of Animal Genetics) sur la cartographie de la poule en 1992.

1 / Cartes génétiques

Les cartes génétiques de la poule sont composées de divers types de marqueurs moléculaires : RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism), RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA), AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism), IRS-PCR (Interspersed Repeat Sequences-Polymerase Chain Reaction), SSCP (Single Stranded Conformational Polymorphism), minisatellites et microsatellites. La ségrégation allélique de ces marqueurs a principalement été étudiée dans les deux croisements de référence de East Lansing (USA), rétro-croisement permettant l'étude de 52 méioses mâles (Crittenden *et al* 1993), et de Compton (UK), permettant l'étude de 56 méioses femelles (Bumstead et Palyga 1992). Plus récemment, une troisième

carte de référence, composée uniquement de marqueurs microsatellites étudiés à Wageningen (Pays-Bas) dans un croisement comportant 458 animaux de type F2, a été introduite (Groenen *et al* 1998). Les groupes de liaison de la carte génétique de la poule sont donc repérés par une lettre (C pour Compton, E pour East Lansing ou W pour Wageningen) suivie d'un nombre. Dans certains cas, le nombre représente le numéro du chromosome. Si le chromosome correspondant au groupe de liaison n'est pas connu, ce nombre est aléatoire. Une carte consensus regroupant toutes les données a été réalisée (Groenen *et al* 2000).

A ce jour, le nombre de marqueurs génotypés sur l'une ou l'autre des populations est proche de 2000. Cependant, près d'une centaine ségrègent indépendamment et une autre centaine sont difficiles à positionner sur la carte. En excluant ces marqueurs, la carte actuelle est donc composée de 1814 locus, répartis en 50 groupes de liaison, couvrant 3800 cM. Le nombre de marqueurs de type microsatellite est de 801 (Groenen *et al* 2000).

2 / Carte cytogénétique et assignation des groupes de liaison à des chromosomes

Le caryotype de la poule est composé de 8 paires de macrochromosomes, des gonosomes Z et W (la femelle est le sexe hétérogamétique) et de 30 paires de microchromosomes, visibles sous forme de points en métaphase et que l'on peut juste classer par ordre aléatoire de taille décroissante, faute de pouvoir les reconnaître. Tous les microchromosomes ne comportant pas encore de groupe de liaison, leur identification est essentielle pour terminer la carte. Le problème est d'autant plus important que le nombre de groupes de liaison (50) est supé-

rieur au nombre de chromosomes ($n = 39$), sans compter le problème posé par les marqueurs non liés.

Une collection de clones à grands inserts, utilisables en FISH (Fluorescent In Situ Hybridisation), a été développée pour reconnaître les microchromosomes (Fillon *et al* 1998). Des marqueurs polymorphes, soit microsatellites, soit SSCP, ont été développés pour relier les microchromosomes marqués à la carte génétique (Morisson *et al* 1998).

L'assignation et l'orientation des groupes de liaison correspondant aux macrochromosomes sont maintenant réalisées (Smith *et al* 2000). La couverture de cette fraction du génome semble satisfaisante, mais, afin de s'assurer de la représentation des régions télomériques dans les cartes génétiques, les marqueurs d'extrémité de groupes de liaison sont actuellement utilisés pour obtenir des clones BAC (Bacterial Artificial Chromosome). Ces clones BAC sont ensuite utilisés par FISH sur métaphase, les signaux attendus devant se situer en extrémité de chromosome.

La collection de clones à grands inserts permet actuellement d'identifier 18 des 30 paires de microchromosomes. Pour une quinzaine de microchromosomes, un ou plusieurs groupes de liaison ont été assignés au Laboratoire de Génétique cellulaire (V. Fillon).

3 / Hybrides classiques et irradiés

Il n'existe pas, à ce jour, de collection d'hybrides somatiques inter-spécifiques, classiques ou irradiés, pour la poule. Une collection d'hybrides irradiés est en cours de réalisation au Laboratoire de Génétique cellulaire (M. Morisson).

4 / Cartes comparées

A cause de la distance évolutive séparant les oiseaux des mammifères et de l'absence d'une collection d'hybrides somatiques inter-spécifiques, les cartes comparées entre la poule et l'Homme ou la souris, sources importantes d'informations sur la localisation de gènes, sont encore peu développées. Cependant, les résultats actuels de localisation de gènes sur les cartes génétiques ou cytogénétique, permettent de mettre en évidence de nombreux cas de conservation de synténie entre la poule et l'Homme. Le nombre de réarrangements chromosomiques entre la poule et l'Homme semble plus faible qu'entre la souris et l'homme. Les cartes comparées seront donc d'une grande utilité pour la recherche de gènes candidats pour des QTL (Quantitative Trait Loci) chez la poule.

Des expériences de FISH sur métaphases chez le canard et la caille, à l'aide de clones de poule, réalisées au Laboratoire de Génétique cellulaire indiquent une conservation importante de la structure des génomes de ces oiseaux (V. Fillon).

Conclusions

Bien que la structure particulière des caryotypes d'oiseaux complique le travail de développement des cartes génétiques, le nombre et la répartition des marqueurs moléculaires chez la poule suggèrent une répartition proche de la couverture totale. Le travail de finition pour les microchromosomes sera poursuivi avec leur identification et l'intégration de tous les groupes de liaison. Le développement des cartes comparées bénéficiera grandement de l'existence d'une collection d'hybrides irradiés.

Références

- Bitgood J.J., Somes R.G., 1993. Gene map of the chicken (*Gallus gallus* or *G. domesticus*). In : S.J. O'Brien (ed), Genetic maps, 4.332-4.342. Cold Spring Harbor Laboratory Press.
- Bumstead N., Palyga J., 1992. A preliminary linkage map of the chicken genome. Genomics, 13, 690-697.
- Crittenden L.B., Provencher L., Santangelo L., Levin I., Abplanalp H., Briles R.W., Briles W.E., Dodgson J.B., 1993. Characterization of a Red Jungle Fowl by White Leghorn backcross reference population for molecular mapping of the chicken genome. Poultry Science, 72, 334-348.
- Fillon V., Morisson M., Zoorob R., Auffray C., Douaire M., Gellin J., Vignal A., 1998. Identification of 16 chicken microchromosomes by molecular markers using two-colour Fluorescent In Situ Hybridization (FISH). Chromosome Research, 6, 307-313.
- Groenen M.A., Crooijmans R.P., Veenendaal A., Cheng H.H., Siwek M., van der Poel J.J., 1998. A comprehensive microsatellite linkage map of the chicken genome. Genomics, 49, 265-74.
- Groenen M.A., Cheng H.H., Bumstead N., Benkel B.F., Briles W.E., Burke T., Burt D.W., Crittenden L.B., Dodgson J., Hillel J., Lamont S., de Leon A.P., Soller M., Takahashi H., Vignal A., 2000. A consensus linkage map of the chicken genome. Genome Research, 10, 137-147.
- Hutt F.B., 1936. Neue Forschungen in Tierzucht und Abstammungslebre. In : D. Festschrift (ed), Genetics of the fowl (Vol. VI), 105-112.
- Morisson M., Pitel F., Fillon V., Bergé R., Pouzadoux A., Zoorob R., Auffray C., Gellin J., Vignal A., 1998. Integration of chicken cytogenetic and genetic maps: eighteen new polymorphic markers isolated from BAC and PAC clones. Animal Genetics, 29, 348-355.
- Smith J., Paton I.R., Bruley C.K., Windsor D., Burke D., Ponce de Leon F.A., Burt D.W., 2000. Integration of the genetic and physical maps of the chicken macrochromosomes. Animal Genetics, 31, 20-27.