

F. GROSCLAUDE, J.C. MERCIER,
M. VAIMAN *, H. LEVÉZIEL,
J.GELLIN **

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

* INRA-CEA Laboratoire de Radiobiologie appliquée
78352 Jouy-en-Josas Cedex

** INRA Laboratoire de Génétique Cellulaire BP 27
31326 Castanet-Tolosan Cedex

La génétique moléculaire des espèces d'élevage : des groupes sanguins à la cartographie du génome

« On peut tout inventer, excepté de faire
aller une vache plus vite qu'elle ne veut »
(Alain, Propos)

Le texte fondateur de la Génétique, paru en 1866 - il y a donc 130 ans - sous la plume du moine Gregor Mendel, rapporte des résultats obtenus sur ce qu'on appellerait aujourd'hui une plante « d'intérêt agronomique », le petit pois. Par la suite, des découvertes significatives furent encore faites sur des plantes, par exemple celle de Barbara Mc Clintock sur les gènes « sauteurs » du maïs, mais l'essentiel des bases fondamentales de la discipline provint de travaux sur des « espèces modèles » comme la drosophile, introduite dès 1913 par T.H. Morgan, des moisissures, des bactéries, des phages. Peu d'avancées novatrices seront faites chez des animaux d'élevage. Dans l'ouvrage de Peters, daté de 1961, qui regroupe les grands textes classiques de la Génétique parus jusqu'à cette époque, 3 études seulement sur 28, d'ailleurs anciennes, portent sur des caractères animaux : celle de Bateson et Punnett (1908) sur la forme de la crête de la poule, et celles de Wright (1917) et de Dunn (1921) sur la couleur du pelage des mammifères. Après 1960, la suprématie des espèces modèles ne fera que s'affirmer, en permettant l'essor de la génétique moléculaire et le décryptage des mécanismes fondamentaux du vivant.

La plupart des caractères exploités chez les animaux d'élevage sont des caractères à variation continue. La génétique quantitative s'est donc naturellement imposée, sous l'impulsion des travaux de R. Fisher et surtout de J.E. Lush (1937), comme le fondement théorique de l'amélioration génétique animale (Ollivier 1981), permettant les progrès que l'on sait. Mais le contraste entre ces progrès et l'indigence des connaissances sur les génomes des espèces d'élevage n'en est devenu que plus criant.

Il y a toujours eu, chez les généticiens des espèces d'élevage restés attentifs aux progrès de leur discipline mère, une perception claire de cette lacune et le souci de la combler. Un épisode est à ce titre significatif : lorsque, pendant la seconde guerre mondiale, le groupe de R. Irwin, immuno-généticien américain de notoriété internationale, mit en évidence 30 antigènes de groupes sanguins bovins à déterminisme mendélien, il crut un moment avoir trouvé un marqueur pour chacun des chromosomes de l'espèce et envisagea - ceci il y a 53 ans - la recherche de ce que l'on appellerait aujourd'hui des QTL ! Cette vision était sans doute bien naïve, d'autant qu'il s'est rapidement avéré que les 30 antigènes n'étaient contrôlés que par 8 systèmes génétiques, nombre porté à 11 par toutes les recherches ultérieures, alors qu'un marquage acceptable du génome bovin requiert 150 à 200 marqueurs. Mais l'épisode témoigne d'une attention déjà forte pour la cartographie du génome des espèces d'élevage.

Un nouvel espoir naquit avec l'apparition des techniques d'électrophorèse en gel, qui permettaient la mise en évidence du polymorphisme des protéines, en particulier l'électrophorèse en gel d'amidon, introduite en 1955 par O. Smithies, qui commença à se répandre au début des années soixante. Elles donnèrent lieu à une profusion d'études, sur les protéines sanguines surtout. C'est ainsi que les travaux sur les enzymes érythrocytaires d'une dizaine d'espèces animales (espèces d'élevage, à fourrure, de laboratoire) ont permis, dès 1975, d'analyser le polymorphisme de 40 systèmes enzymatiques, contrôlé par 50 loci (Mc Dermid *et al* 1975). Mais ces chiffres ne doivent pas faire illusion : ces loci ne sont pas polymorphes dans toutes les espèces, et l'analyse du polymorphisme existant exige la mise en œuvre de techniques variées, coûteuses et parfois délicates. En définitive, ces résultats permettaient bien d'allonger la liste des systèmes marqueurs

potentiels, mais cette liste était encore bien trop réduite (30 à 40 systèmes par espèce en comptant ceux des groupes sanguins) pour permettre un véritable développement de la cartographie des espèces d'élevage.

C'est finalement la mise au point des techniques de détection du polymorphisme de l'ADN, celui des fragments de restriction ou « RFLP » d'abord (Botstein *et al* 1980), celui des minisatellites ensuite (Jeffreys 1985) et surtout celui des microsatellites (Weber et May 1989, Litt et Luty 1989) qui donna accès à un nombre de marqueurs suffisant pour entreprendre - enfin ! - une cartographie systématique et raisonnée du génome des espèces d'élevage, préalable à l'analyse génétique de caractères ou de fonctions.

En se reportant à toute la période ayant précédé cette dernière phase, on voit bien que les équipes engagées dans la recherche de polymorphismes moléculaires ont eu à choisir entre quatre orientations possibles : 1) approfondir les connaissances sur les groupes sanguins, dans une optique d'appui à leurs applications ; 2) rechercher de nouveaux systèmes protéiques polymorphes, dans une perspective de cartographie du génome ; 3) approfondir l'analyse de systèmes polymorphes potentiellement importants ; 4) rechercher des liaisons entre les systèmes polymorphes connus et des caractères zootechniques.

À l'INRA, les choix se sont portés sur les première et troisième options. En effet, la création, dès 1958, d'un Service d'analyse des groupes sanguins exigeait le développement de recherches d'appui significatives. Par ailleurs, les perspectives d'application ont conduit à concentrer les efforts sur les protéines du lait et sur le système majeur d'histocompatibilité. Les deux autres options ont été jugées peu prometteuse pour l'une et prématurée pour l'autre. Nous tenterons, dans ce qui va suivre, de faire un bilan des trois principaux domaines « historiques » d'activité avant de présenter l'explosion plus récente des travaux sur la cartographie du génome des espèces d'élevage.

1 / Les premiers systèmes moléculaires polymorphes

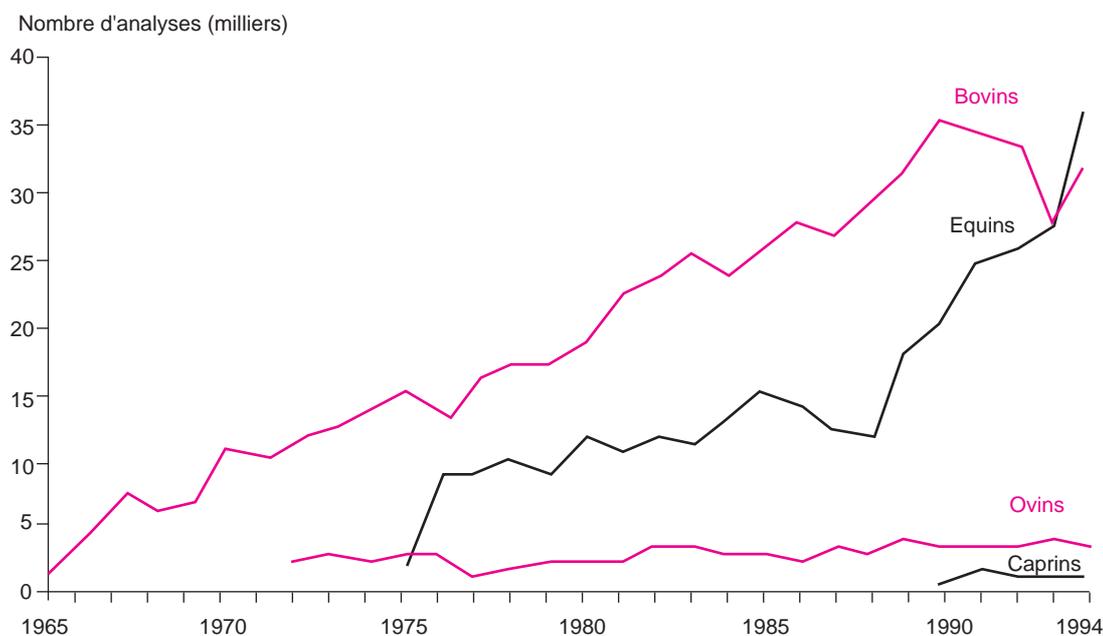
1.1 / Les groupes sanguins

Le « Laboratoire d'analyse des groupes sanguins des bovidés » a été créé en 1956 par C. Thibault, dans le cadre de la Station Centrale de Physiologie animale de Jouy-en-Josas, avec l'idée d'amorcer ainsi la mise en place d'un Laboratoire de Physiologie du sang, au sens large. À cette époque, les groupes sanguins avaient déjà trouvé une application, avec l'identification des animaux et le contrôle des filiations, et une cinquantaine de réactifs initialement mis au point aux États-Unis avaient été reproduits dans plusieurs

Laboratoires européens, notamment en Scandinavie et aux Pays-Bas. Mais ces réactifs n'étaient pas commercialisés, et le nouveau Laboratoire de l'INRA devait donc repartir à zéro et tenter de rattraper son retard sur les équipes ayant déjà pignon sur rue. Les débuts furent lents puisqu'en 1960, 12 seulement des réactifs produits à Jouy-en-Josas étaient d'une qualité comparable à celle des références internationales : les tests de comparaison internationaux, dans lesquels chaque laboratoire compare « en aveugle » ses réactifs à ceux des autres laboratoires, sont à cet égard des révélateurs redoutables ! Mais au début de 1960, le renforcement de l'équipe et une approche plus génétique de la thématique donnèrent une impulsion nouvelle, qui permit au Laboratoire, dès 1964, de jouer dans la cour des grands, en interprétant notamment la complexité originale du système S. Au test de comparaison de 1966, le laboratoire s'installa en tête pour le nombre de réactifs, à égalité avec son homologue des Pays-Bas dont le directeur, J. Bouw, l'avait aidé dans les moments difficiles.

L'évolution vers la génétique fut entérinée par la décision du directeur général de l'INRA, J. Bustarret, de rattacher le Laboratoire à la Station Centrale de Génétique animale, à compter du 1^{er} juin 1965. Cette même année, J. Poly, directeur de cette station, dégageait des moyens pour lancer des recherches sur les groupes sanguins du mouton. Quant aux groupes sanguins des chevaux, ils étaient étudiés à l'Institut Pasteur par Luba Podliachouk, avec l'appui financier de la Société d'Encouragement pour l'Amélioration des races de chevaux en France. Mais en 1973, la direction de cet Institut décida de clore cette activité à la fin de 1974 et approuva son transfert à l'INRA. Cette évolution fut fortement soutenue par le directeur général des Haras, H. Blanc, qui souhaitait un accroissement important de la capacité d'analyse dans l'espèce équine, non envisageable à l'Institut Pasteur. Les travaux sur les groupes sanguins des caprins se développèrent à partir de 1972.

Le Service d'analyse des groupes sanguins des bovidés fut ouvert aux utilisateurs dès 1958, à un moment où, comme on l'a vu, la série de réactifs était insuffisante. Sur le plan technique, ses débuts furent donc difficiles et son activité resta faible. Les utilisateurs potentiels, attentistes ou méfiants, manquaient par ailleurs de fonds. C'est grâce aux crédits apportés par la Loi sur l'Élevage (27.12.1966) que le nombre d'analyses put décoller (figure 1). Désormais, la croissance continue de l'activité suscita des besoins en personnel, mais à partir de 1971, le recrutement sur ressources propres fut interdit. Commença alors une longue période de difficultés de fonctionnement pendant laquelle les clients du service acceptaient mal des délais d'exécution trop longs. Au moment de son transfert de l'Institut Pasteur, en 1974, le service équin fut étoffé par des recrutements sur contrats, mais le plan gouvernemental de

Figure 1. Evolution du nombre d'analyses pour le contrôle de filiations depuis 1965.

résorption des hors-statut, dont le personnel du Laboratoire bénéficia en 1977-1978, impliqua à son tour l'arrêt de cette formule de recrutement.

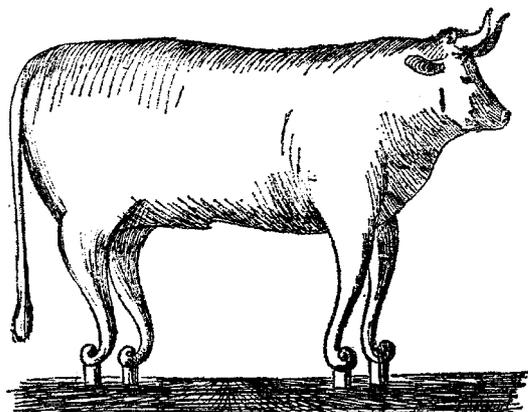
Figure 2. Evolution de la technique d'analyse des groupes sanguins. En haut : vers 1960, en bas : en 1995.

Dès 1980, l'idée était lancée par J. Poly, devenu PDG de l'INRA, d'inclure le laboratoire dans une opération de filialisation de diverses activités de l'Institut, entreprise qui avorta finalement en 1989. Mais en 1992, le directeur général, H. Bichat, se prononça pour la création d'un GIE (Groupement d'intérêt économique), projet qui se réalisa le 1^{er} juillet 1994. Entre-temps, le Laboratoire avait déployé des efforts considérables de modernisation avec la mise au point d'un automate d'analyse (figure 2) et l'informatisation de toutes les procédures, techniques et administratives. Libéré des problèmes d'effectifs, le GIE « Labogena » est alors devenu, par la diversité des espèces qu'il traite, par le nombre d'analyses réalisées, par la qualité de ses technologies et grâce à l'étroitesse des relations entretenues avec ses clients, un des laboratoires de pointe dans son domaine, peut-être le premier au monde. Depuis quelques années, il développe les techniques d'analyse du polymorphisme de l'ADN qui devraient se substituer, à terme, aux techniques utilisées jusqu'ici.

Quoique largement absorbée par les activités de service qui soulevaient parfois des affaires retentissantes (figure 3), la petite équipe de chercheurs du laboratoire s'est néanmoins attachée à maintenir l'activité de recherche indispensable au perfectionnement des prestations. Dans toutes les espèces, elle a mis au point, par les méthodes classiques, de nouveaux réactifs spécifiques, étendant ainsi le polymorphisme des systèmes connus, et en découvrant de nouveaux, notamment chez la chèvre, peu étudiée jusque là (tableau 1). Par contre, les efforts déployés pour développer une production d'anticorps monoclonaux spécifiques des groupes sanguins animaux ont été décevants, montrant que le seul protocole disponible, utilisant la souris, ne convenait guère (6 réactifs monoclonaux utilisés actuellement

Figure 3. Dessin de Cardon, extrait d'un article paru le 26 janvier 1977 dans le « Canard enchaîné », sous le titre « Des pedigrees tirés par les cornes » et commentant une affaire de fausses filiations découverte dans un élevage par le Service d'analyse des groupes sanguins. Depuis, le livre généalogique de la race a mis en place un important programme de contrôle de filiations.

FAUX CHAROLAIS LOUIS XV



en routine chez les bovins, un seul chez le cheval) ce qui a été confirmé par des résultats étrangers. Les travaux de cartographie fine des systèmes de groupes sanguins B et C des bovins, les plus complexes, ont permis de mieux appréhender les phénomènes de recombinaison intra-système, qui peuvent conduire à des erreurs d'interprétation. Enfin, l'activité scientifique a aussi consisté à exploiter les données amassées par le Service en les complétant si nécessaire pour les besoins de la recherche. Dans toutes les espèces, on a privi-

légié l'étude des relations et distances génétiques entre races. L'article paru en 1962 sur la race bovine Montbéliarde est peut-être la première publication de l'INRA qui manifeste un intérêt pour la problématique des ressources génétiques animales. Celui de 1968, sur la race Flamande, propose une formule probabiliste de mesure de la distance génétique entre races identique à celle qui servira de point de départ à la fameuse « distance » de Nei (1972) !

1.2 / Les caséines

En 1963, G. Mocquot, directeur de la Station Centrale de Technologie laitière et des Produits animaux, alerté par un de ses adjoints, J. Garnier, rechercha la collaboration d'un généticien pour tenter d'y voir plus clair sur l'intérêt des « variants génétiques » des protéines du lait, détectés par électrophorèse, nouveautés qui commençaient à apparaître dans la littérature à la suite des travaux pionniers d'Aschaffenburg (1958). Mais que faire sur ces variants, à une époque où on ne savait rien sur la structure des caséines, ni même sur leur nombre exact ? Le généticien intéressé, F. Grosclaude, se posa naturellement une question de cartographie : existait-il une liaison génétique entre les systèmes des groupes sanguins et les systèmes polymorphes des lactoprotéines ? Le hasard voulut que l'étude soit conduite dans la famille d'un taureau qui s'avéra hétérozygote à la fois pour le polymorphisme de la caséine α_1 (alors « α_5 ») et pour celui de la caséine β . Cette coïncidence permit de constater que c'étaient en fait les loci des deux caséines qui étaient liés, et que cette liaison était très étroite. Il s'agissait là de la première liaison génétique décrite chez les bovins. La publication de ce résultat en 1964, dans les comptes rendus à l'Académie des Sciences, devança celle d'une note à « Nature » de King *et al* (1965) qui arrivaient indirectement à la même conclusion. D'actives recherches sur le polymorphisme de la caséine κ , assez complexe, permirent de montrer, dès 1965, que ce locus était également étroitement lié aux précédents. Il apparut ainsi « que 80 % des caséines du lait de vache étaient synthétisées par un groupe de trois loci étroitement liés ».

La découverte de ce groupe de liaison original survint au moment où les travaux de Jacob et Monod sur l'opéron « lactose » d'*E. coli*, publiés en 1961 et couronnés par le prix Nobel en 1965, attiraient l'attention sur ces groupes de gènes étroitement liés à fonctionnement coordonné. Mais la vache, qui a bien d'autres qualités, n'est pas *E. coli*, et les outils manquaient alors pour envisager la moindre étude sur le groupe de gènes des caséines. A défaut, il parut néanmoins intéressant, dans un premier temps, de caractériser les particularités structurales des variants des caséines connus. Or, à cette époque, l'élucidation de la structure primaire d'une protéine, fut-elle de taille moyenne, était une entreprise de longue haleine. Heu-

Tableau 1. Principaux résultats sur les groupes sanguins des espèces d'élevage. En italiques, travaux sur les ressources génétiques.

Groupes sanguins des bovins	
1962	<i>Distance génétique entre les races Montbéliarde et Simmental</i>
1965	Extension du polymorphisme du système S
1966	Mise en évidence du système T'
1968	<i>Situation génétique de la race Flamande</i>
1979	Carte génétique du système B
1981	Carte génétique du système C
1984	Liaison génétique du locus M avec le C _{mh} (BoLA)
1986	Mise au point d'anticorps monoclonaux
1990	<i>Phylogénie des races bovines françaises</i>
Groupes sanguins des petits ruminants	
1972-75	Extension du polymorphisme des systèmes A, B, C et M ovins
1985	Liaison génétique des loci I et C ovins
1990	Mise en évidence des systèmes de groupes sanguins caprins
1992	<i>Divergence génétique entre les mérinos d'Espagne et de Rambouillet</i>
1994	<i>Distances génétiques entre 5 races caprines</i>
Groupes sanguins des équidés	
1977-81	Extension du polymorphisme des systèmes A et D
1984	Mise au point d'anticorps monoclonaux
1986	<i>Phylogénie des races équines françaises</i>
1988	Recombinaison entre le locus A et le C _{mh} (ELA)

reusement, le besoin d'en savoir plus sur la structure primaire des caséines était partagé par deux chercheurs du Laboratoire de recherches sur les protéines, J.C. Mercier qui tentait de comprendre les mécanismes d'hydrolyse de la caséine κ par la présure, et B. Ribadeau-Dumas qui s'intéressait à la structure des micelles de caséine. Ces préoccupations communes soudèrent une équipe qui, à partir de 1966 et jusqu'au début des années 80, s'attaqua à la structure primaire des caséines bovines puis à celle d'autres espèces, à leur déterminisme génétique et à la caractérisation de leur polymorphisme. Après cette période, les recherches s'orientèrent surtout dans deux directions : 1) l'étude de la structure et de la fonction des ARN messagers et des gènes des lactoprotéines, ainsi que la transgénèse appliquée à ces gènes ; 2) l'analyse des bases moléculaires et des effets d'un polymorphisme spectaculaire, celui de la caséine α 1 caprine.

a / Structure primaire et déterminisme génétique des lactoprotéines

Les travaux sur la structure primaire des caséines, sur leur déterminisme génétique, et sur la caractérisation de leurs variants génétiques ont été développés simultanément, ce qui a permis d'utiles synergies. Quoiqu'elle ait abordé le sujet après d'autres, la petite équipe constituée à Jouy-en-Josas devait produire, en définitive, la quasi-totalité des données de base, désormais classiques, de la littérature. La caractérisation des fractions de la caséine α 2, complétant le travail antérieur sur celles de la caséine κ , permit de conclure que les quelques vingt constituants de la « caséine entière » se ramenaient à 4 chaînes polypeptidiques seulement. En vérifiant que le locus de la caséine α 2 était étroitement lié aux loci des trois autres caséines, elle établit que cette famille de protéines était le produit d'un seul groupe de 4 gènes. L'examen des particularités structurales de ces protéines et de certains de leurs variants permit d'identifier leur code de phosphorylation. Enfin la caractérisation des peptides signaux, d'abord effectuée sur le modèle ovin, témoignait d'un intérêt pour les mécanismes fonctionnels (tableau 2).

On ne doit pas cacher qu'à l'origine, les recherches sur la structure des caséines, jugées trop peu appliquées, n'ont suscité, dans notre Institut, qu'une approbation mitigée. Mais personne ne nie plus, aujourd'hui, le caractère stratégique de ces travaux, car les connaissances ainsi acquises ont profondément renouvelé les bases de départ de bien des travaux de technologie laitière.

Les recherches sur les variants génétiques ont abouti à l'identification des particularités structurales de tous les variants connus, avec, entre autres, deux cas de délétions, qui seront expliqués ultérieurement comme résultant d'anomalies d'épissage des ARN messagers. La phylogénie des allèles et des

Tableau 2. Principaux résultats sur la structure et le déterminisme génétique des lactoprotéines. En italiques, travaux sur la transgénèse.

Déterminisme génétique et structure primaire des caséines	
1964-65	Étroite liaison des loci α 1-Cn, β -Cn et κ -Cn bovins.
1971-73	Séquence des acides aminés des caséines α 1, β et κ bovines.
1977	Séquence des acides aminés de la caséine α 2 bovine.
1978	Étroite liaison du locus α 2-Cn avec le groupe α 1, β , κ -Cn.
1969-78	Caractérisation de 15 variants génétiques des lactoprotéines bovines. Phylogénie des allèles et des haplotypes.
1978	Découverte et caractérisation des peptides signaux des 6 lactoprotéines majeures ovines. Les caséines α 1, α 2 et β ont une origine commune.
1981	Mise en évidence du code de phosphorylation des caséines.
Structure d'ADNc et de gènes ; transgénèse	
1984-86	Construction d'une banque d'ADNc mammaire ovine. Isolement et séquençage des ADNc spécifiant les 6 lactoprotéines majeures.
1987	Isolement et caractérisation du gène de l' α -lactalbumine bovine.
1989	<i>Obtention de souris transgéniques exprimant ce gène.</i>
1992	<i>Obtention de souris transgéniques exprimant le gène de la caséine β caprine.</i>
1994	<i>Création, par ciblage de gène au locus α-lactalbumine, de souris transgéniques déficientes en α-lactalbumine et lactose.</i>
1994-95	Production de lactoprotéines recombinantes dans <i>E. coli</i> et dans un système baculovirus.
1994	Séquence du gène de la caséine β ovine.
1995	<i>Création de souris transgéniques surproduisant la caséine κ.</i>
1995	<i>Obtention de souris doublement transgéniques exprimant fortement un gène « ribozyme » anti α-lactalbumine bovine.</i>
Polymorphisme des caséines caprines	
1984-87	Découverte et interprétation du polymorphisme de la caséine α 1 caprine.
1990	Les variants à taux de synthèse faible, F et D, ont une délétion interne, pouvant résulter d'anomalies d'épissage des messagers.
1991	Le polymorphisme constitutif des caséines α 2 caprine et ovine résulte d'un épissage différentiel des messagers
1992	Organisation du gène de la caséine α 1 caprine ; déterminisme moléculaire des anomalies d'épissage produisant les variants F et D.
1993	Détection d'un allèle nul de la caséine β caprine.
1994	L'allèle α 1-CnE comporte une insertion de 458 pb de type « LINE ».
1993-95	Effets du polymorphisme sur les performances laitières ; intérêt d'une prise en compte dans la sélection.

haplotypes (combinaisons d'allèles) du groupe des 4 loci a pu être précisée, grâce aussi à des investigations complémentaires dans d'autres espèces du genre *Bos*, le Zébu et le Yak. L'estimation des fréquences alléliques et haplotypiques dans les races françaises a contribué aux études phylogénétiques. Enfin, le modèle d'organisation du groupe des 4 loci, proposé en 1979 par l'équipe sur la base d'observations concernant les déséquilibres de liaison, devait être validé, en 1990, par les travaux de génétique moléculaire des équipes de L. Ferretti en Italie et de J. Womack aux USA. C'est à un groupe de chercheurs italiens de Bologne et de Parme qu'était revenu le mérite d'avoir découvert, en 1973, les effets du polymorphisme de la caséine κ sur les propriétés technologiques et fromagères des laits (voir Grosclaude *et al* 1988). Devant l'intérêt pratique de ce résultat, l'équipe de Jouy-en-Josas a mis au point, en 1988, un premier test moléculaire d'identification des deux allèles de cette caséine (technique « RFLP »), utilisé pour déterminer le génotype des tau-

reaux d'insémination artificielle (voir plus loin, tableau 4).

b / Etude structurale et fonctionnelle d'ADNc et de gènes spécifiant des lactoprotéines - Modifications de la composition du lait par transgénèse

A partir des années 80, la séquence des lactoprotéines d'autres espèces a pu être déduite de celles des ADN complémentaires (ADNc) des ARN-messagers ou des gènes correspondants. Le laboratoire a séquencé complètement les ADNc spécifiant les 6 lactoprotéines majeures ovines et les gènes spécifiant la caséine β ovine, les α -lactalbumines bovine, caprine et murine, et deux pseudogènes α -lactalbumine. Les gènes spécifiant les caséines α s1 et κ caprines et la caséine α s2 D bovine ont été partiellement caractérisés. Grâce à ce type de travaux, il est maintenant possible de déterminer le génotype des animaux laitiers aux locus des lactoprotéines par simple analyse de l'ADN.

Par ailleurs, l'équipe de J.C. Mercier s'est intéressée à la modification de la composition du lait par transgénèse à des fins nutritionnelles et technologiques. Des souris transgéniques exprimant l' α -lactalbumine bovine ou caprine et les caséines β ou κ caprines ont été obtenues, ce qui devrait permettre le démarrage d'un programme visant à créer des chèvres modèles surproduisant la caséine κ ou β . La comparaison de laits ne différant que par leurs teneurs relatives en caséines individuelles devrait permettre d'améliorer nos connaissances sur la structure des micelles et les propriétés technologiques de chaque type de lait.

Des résultats préliminaires encourageants ont été obtenus dans le cadre d'un projet à long terme visant à diminuer la teneur en lactose du lait. L'objectif est de faciliter sa consommation par des personnes relativement intolérantes au lactose. Il a été démontré (substitution d'un gène non fonctionnel au locus α -La par recombinaison homologue) que l' α -lactalbumine est seule capable d'interagir avec la galactosyltransférase pour induire la synthèse de lactose. Il sera donc possible de diminuer la synthèse du lactose en modifiant l'affinité de l' α -lactalbumine pour l'enzyme, ou sa teneur. A cet égard, la diminution notable du taux d' α -lactalbumine consécutive à l'expression d'un transgène spécifiant un ribozyme anti- α -lactalbumine, première démonstration *in vivo* d'un fort taux de synthèse d'un ribozyme et de sa grande spécificité, constitue un premier pas très prometteur.

c / Polymorphisme des caséines caprines

La complexité inhabituelle du polymorphisme de la caséine α s1 caprine, caractérisée par ailleurs limité par le sexe, explique le délai de quelques années qui s'est écoulé entre sa découverte et son interprétation. On a finalement établi, en 1987, que ce polymorphisme

était déterminé par un minimum de 7 allèles, associés à 4 niveaux de synthèse différents : 3 allèles à taux de caséine α s1 « fort », 1 allèle à taux « moyen », 2 allèles à taux « faible » et un allèle « nul ». Ces particularités conféraient au polymorphisme de la caséine α s1 un grand intérêt scientifique, doublé d'un réel intérêt pratique car la prédominance, dans nos deux races laitières principales Alpine et Saanen, des allèles à taux réduit pouvait être responsable de la faiblesse des taux protéiques et de certaines difficultés de fabrication fromagère. Comme le montre une synthèse récente (Grosclaude *et al* 1994), des travaux très complets, menés dans le cadre d'une collaboration entre généticiens et techniciens, ont apporté beaucoup d'éclaircissements. Sur le plan des mécanismes, l'équipe de P. Martin a montré que les variants « faibles » se caractérisent par des délétions internes résultant d'anomalies d'épissage des ARN messagers, alors que l'allèle « moyen » comporte une insertion de type « LINE » dans son dernier exon, non traduit. Le taux de synthèse des allèles « forts » est bien le taux normal, les autres allèles étant des mutants défectifs. Il reste à expliquer comment ces mutations affectent la synthèse de la caséine. Deux autres phénomènes inattendus ont été découverts : un effet des mutations du gène de la caséine α s1 sur le taux butyreux et, plus encore, sur la morphologie de la cellule épithéliale mammaire (travaux de M. Ollivier-Bousquet). Sur le plan appliqué, on a confirmé les effets du polymorphisme de la caséine α s1 sur le taux protéique et sur les propriétés physico-chimiques et technologiques des laits, ainsi que sur le rendement fromager et sur certaines qualités fromagères, fermeté du caillé et goût de chèvre. Cette dernière observation a suscité des recherches complémentaires sur les bases moléculaires de ce goût. En définitive, ces travaux ont confirmé l'intérêt d'augmenter la fréquence des allèles « forts » dans les races laitières, dans le cadre du schéma national d'amélioration génétique. Les techniques de détermination des génotypes ont été mises au point à cet effet.

Pour tenter de préciser l'origine et la diffusion spatiale des allèles, un inventaire systématique a été entrepris dans les races françaises et étrangères. A ce stade, deux foyers à forte concentration d'allèles défectifs ont été identifiés, la Suisse et la Norvège. Par ailleurs, un allèle nul de la caséine β a été découvert, en Guadeloupe puis dans les Pyrénées. Avec une telle variété de génotypes, la chèvre est donc un superbe modèle d'étude des effets des variations de composition du lait sur ses propriétés. Dans la même optique, ces génotypes pourraient aussi servir de support à des transferts de gènes des protéines du lait.

13 / Le système majeur d'histocompatibilité

La création à Jouy-en-Josas, en 1964, du Laboratoire mixte CEA-INRA de Radiobiologie appliquée, à l'initiative de H. Jammet et P.

Nizza pour le CEA, et de C. Thibault pour l'INRA, a permis le démarrage de recherches dans le domaine de la contamination radioactive de la chaîne alimentaire, au travers notamment du lait des ruminants et de celui des syndromes d'irradiation externe chez le porc. Le centre de Jouy-en-Josas représentait un cadre propice à la réalisation de ces objectifs, notamment pour l'étude des syndromes d'irradiation, en raison de la présence sur le site d'équipes compétentes en élevage et en génétique du porc et d'installations spécifiques, en particulier une cellule d'irradiation.

Il est rapidement apparu que la seule voie raisonnable de traitement du syndrome hématologique résultant d'irradiation chez le porc passait par la transplantation de cellules hématologiques souches provenant de donneurs sains. Dans cette optique, la connaissance des groupes tissulaires du porc était devenue un préalable à tout progrès dans le domaine étudié. En 1968, date du démarrage dans le Laboratoire des travaux sur les groupes tissulaires du porc, une quinzaine de systèmes génétiques exprimés au niveau des hématies et, pour certains, au niveau de tissus, était déjà connue. Par ailleurs, en 1964, la tentative d'une équipe américaine d'identifier, parmi les groupes sanguins connus, un ou plusieurs systèmes impliqués dans le rejet d'allogreffes de peau chez le porc n'avait pas abouti.

Au cours des années 1968 et 1969, le Laboratoire a conduit une série d'expériences qui a permis l'identification chez le porc d'un système génétique nouveau, indépendant des autres systèmes de groupes sanguins déjà décrits, et dont l'implication dans le rejet des greffes, en l'occurrence des allogreffes de peau réalisées à l'intérieur d'une fratrie, s'est révélée prépondérante. On apportait ainsi la preuve de l'existence d'un complexe majeur d'histocompatibilité (Cmh), le complexe SLA du porc, similaire à ceux décrits chez la souris par P. Gorer en 1936 et chez l'homme par J. Dausset en 1958. Ces résultats ont été rapportés en avril 1970 par M. Vaiman et collaborateurs dans la revue américaine *Transplantation*. Ce premier travail démontrait également l'existence d'un polymorphisme important des antigènes SLA.

Les études sur le complexe SLA se sont poursuivies depuis lors avec des objectifs variés qui peuvent être regroupés dans les rubriques suivantes : 1) développement aussi exhaustif que possible des connaissances sur l'organisation de la région SLA ; 2) étude de l'influence du Cmh du porc dans les greffes d'organes et de moelle osseuse ; 3) évaluation de l'influence éventuelle de la région SLA sur des caractères quantitatifs d'intérêt économique ; 4) création d'un troupeau de porcs porteurs de la déficience en facteur von Willebrand et histocompatibles, utilisables comme modèles pour les études physiopathologiques sur la thrombose et la coagulation chez l'homme (tableau 3).

Enfin un certain nombre de résultats de portée générale, comme la caractérisation

complète du caryotype du porc par cytométrie en flux, ou la construction de banques génomiques de grands fragments d'ADN de porc, ont eu pour point de départ l'analyse du Cmh du porc. Plusieurs des thèmes évoqués ci-dessus ont été développés en collaboration avec diverses équipes du CEA, de l'INRA et de l'INSERM ainsi qu'avec des équipes et chercheurs étrangers.

Par ailleurs, les équipes de Jouy-en-Josas ont contribué à la mise en évidence du Cmh des bovins (BoLA) en 1978 et se sont aussi intéressées à celui des ovins (OLA) et des chevaux (ELA) mais ces travaux ont été arrêtés, pour limiter le front de recherches et n'ont pas eu l'ampleur de ceux décrits sur SLA.

2 / Vers la cartographie des génomes

Comme on l'a vu, c'est l'accès au polymorphisme de l'ADN, et surtout à celui des microsatellites, qui a enfin permis d'envisager une cartographie systématique du génome des espèces d'élevage. Vers la fin des années 80, alors que des initiatives étaient prises par plusieurs équipes étrangères, notamment celles de R. Hanset en Belgique, de R. Fries en Suisse et de J. Hetzel en Australie, le département de Génétique animale s'engageait dans un projet d'établissement de la carte génétique du porc et des bovins qui était présenté devant le Conseil scientifique de l'INRA le 20 novembre 1990 (voir Gellin et Grosclaude 1991). En même temps, la collaboration internationale sur le génome porcine se matérialisait par le projet PigMap financé par la CEE dans le cadre du programme Bridge (1989), comme elle devait le faire pour les bovins, en 1992, avec le projet BovMap.

Il est intéressant de comparer l'état actuel des connaissances sur les génomes des espèces d'élevage avec ce qu'il était il y a 5 ans, au moment de la réunion du Conseil Scientifique de l'INRA. Mais il faut d'abord rappeler qu'en dehors de ses activités, déjà présentées, sur les systèmes moléculaires polymorphes, le département de Génétique

Tableau 3. Principaux résultats sur le complexe majeur d'histocompatibilité du porc, SLA.

1970	Découverte du Cmh du porc, SLA.
1972	Démonstration du rôle majeur de SLA sur les allogreffes d'organes (rein et intestin).
1973	Mise en évidence de recombinants intra-SLA.
1974	Isolement biochimique des antigènes SLA de classe I.
1975	Caractérisation des antigènes SLA de classe II.
1978	Contrôle de la réponse immunitaire par la région SLA.
1988	Etablissement de la 1 ^{re} nomenclature officielle des spécificités SLA.
1992	Caractérisation dans SLA du gène « tenascine-X ».
1995	Le gène BAT1, localisé dans le Cmh des mammifères, pourrait avoir la fonction d'une ARN hélicase.
1995	Etude du rôle fonctionnel du facteur von Willebrand dans la thrombose artérielle chez le porc.

animale avait réalisé un certain nombre de travaux précurseurs dans les domaines de la cytogénétique et de la cartographie du génome. Ce sera en définitive l'ensemble de toutes les compétences acquises qui lui permettra de développer son projet.

2.1 / Les travaux précurseurs

On doit citer en premier lieu les travaux de cytogénétique, développés de longue date par le Laboratoire de Génétique cellulaire de Toulouse sous l'impulsion de M. Gillois et par l'équipe de Cytogénétique de Jouy-en-Josas animée par P. Popescu. Ils ont contribué, entre autres, à l'élaboration des caryotypes standard à bandes des espèces d'élevage, base indispensable à la cartographie des génomes de ces espèces. En 1990, les travaux de l'équipe jovassienne avaient dégagé, à partir des fortes similitudes observées entre les caryotypes des bovins, des ovins et des caprins, les correspondances entre tous les chromosomes de ces 3 espèces. Ceci laissait entrevoir une transposition facile, chez les ovins et les caprins, des connaissances acquises sur la carte physique des bovins. Cette compétence en cytogénétique avait également permis de préciser la localisation de plusieurs gènes par hybridation *in situ* (tableau 4).

En second lieu, l'équipe toulousaine, appuyée par le Laboratoire de M.C. Hors-

Cayla (INSERM Paris) s'était aussi lancée dans l'établissement de lignées d'hybrides cellulaires interspécifiques qui avaient permis l'identification des premiers groupes de synténie⁽¹⁾ chez le lapin et le porc. Elle avait proposé, pour l'interprétation des résultats obtenus avec cette technique, de nouvelles règles de décision statistiques permettant de mieux distinguer la synténie de l'indépendance entre marqueurs. Pour les bovins, les hybrides cellulaires, largement caractérisés et exploités par la suite, sont un don généreux de M.C. Hors-Cayla.

En s'intéressant, dans le cadre des programmes en cours (caséines, systèmes d'histocompatibilité, etc) au polymorphisme des fragments de restriction, ainsi qu'à celui des minisatellites, puis des microsattellites, les équipes se sont progressivement formées à l'analyse du polymorphisme de l'ADN. Par ailleurs, les équipes de l'INRA ont apporté leur pierre à la cartographie du segment chromosomique porcin contenant le gène de sensibilité à l'halothane, premier exemple, pour une espèce d'élevage, de recherche ayant conduit à l'identification d'un gène d'intérêt économique en passant par la cartographie (tableau 5). Ce travail illustre parfaitement la lenteur du progrès des connaissances à une époque où la carte génétique n'existait pas. On n'oubliera pas enfin le rôle joué dans le maintien d'une sensibilité mendélienne par le Laboratoire de Génétique factorielle, pionnier en matière de méthodologie de détection de gènes majeurs.

Tableau 4. Principaux travaux précurseurs dans les domaines de la cytogénétique et de la cartographie du génome des espèces d'élevage.

Cytogénétique	
1976	« Conférence internationale de Reading » : description des bandes chromosomiques des bovins, porcins, caprins.
1988	Caryotype standard du porc (collaboration internationale).
1989	Système international de nomenclature cytogénétique des animaux domestiques.
1990	Comparaison des caryotypes à bandes R, B et G des bovins, ovins et caprins.
Relations entre gènes et caractères économiques	
1978-83	Liaison entre PHI, PGD et Hal, gène de sensibilité à l'halothane chez le porc.
Etablissement de synténies à l'aide d'hybrides cellulaires	
1980	Etude de 2 groupes de synténie du porc.
1986	Règles de décision statistique concernant la synténie ou l'indépendance entre marqueurs.
Localisation de gènes par hybridation <i>in situ</i>	
1984-86	Cmh du porc, SLA, sur le chromosome 7.
1986-89	Gène de l'interféron leucocytaire du porc sur le chromosome 1.
1988	Sonde spécifique du chromosome Y bovin.
1990	Cartographie comparée : des marqueurs du chromosome 6 porcin se trouvent sur les chromosomes 1 et 19 humains.
Polymorphisme de l'ADN	
1985-87	Polymorphisme « RFLP » des Cmh du porc et du cheval.
1988	Détection, par « RFLP », des allèles de la caséine k bovine.

2.2 / La situation en 1990

Le texte présenté en 1990 devant le Conseil Scientifique de l'INRA énumère 5 domaines d'application de l'analyse du génome des espèces d'élevage : 1) la recherche de « QTL », régions chromosomiques intervenant dans la variabilité des caractères quantitatifs ; 2) le clonage et l'isolement de gènes ; 3) le typage de marqueurs comme aide à l'amélioration génétique ; 4) la caractérisation des ressources génétiques ; 5) l'identification des animaux. Mais, comparées à celles de l'homme et de la souris, les cartes génétiques des espèces d'élevage sont alors très rudimentaires. C'est ainsi qu'en 1989, 1 631 gènes ont été étudiés chez l'homme, contre 116 chez les bovins et 40 chez le porc, sans compter chez l'homme 3 417 segments d'ADN, de fonction inconnue, jouant le rôle de marqueurs. Ainsi, alors que chez l'homme on dispose d'un réseau de marqueurs sur chacun des chromosomes, dans les espèces d'élevage, certains chromosomes sont encore dépourvus de tout marqueur. Inversement, certains groupes de liaison ou certains groupes de synténie ne sont pas encore affectés à leur chromosome.

(1) Deux locus sont dits synténiques lorsqu'ils sont situés sur un même chromosome.

Ce contexte justifie l'objectif à moyen terme et les choix stratégiques du projet qui sont précisés par les deux passages suivants : « l'objectif à moyen terme serait d'aboutir à une couverture aussi uniforme que possible du génome des espèces concernées par des marqueurs. Ceci peut correspondre à 150-200 marqueurs polymorphes, espacés de 20 centimorgans en moyenne. Il y a seulement quelques années, cet objectif aurait pu paraître utopique. Il n'est désormais qu'ambitieux, et tout à fait à notre portée, à condition que ces recherches reçoivent une impulsion institutionnelle, et s'effectuent dans un climat de coopération internationale constructif »... « Dans ce domaine de la carte génétique des espèces d'élevage, comme dans bien d'autres domaines, l'INRA a été confronté au problème du choix des espèces à étudier. Ses obligations vis-à-vis de l'aval lui interdisent de se limiter à une espèce modèle. A l'opposé, il lui est impossible de mener le travail de front sur toutes les espèces d'élevage. En définitive, le choix s'est porté sur deux espèces parmi les plus importantes, le porc et les bovins. On sait toutefois que les homologues sont telles entre bovins, ovins et caprins, que les données acquises chez les premiers seront aisément transposables aux deux autres espèces. Ce choix laisse par contre de côté, pour le moment, une espèce économiquement importante, la poule ».

Tableau 5. Chronologie des 25 années de travaux ayant conduit à l'identification du gène *Hal* porcin et de sa mutation. En italiques, publications d'équipes de l'INRA.

Mise en évidence, chez le porc, des phénomènes : - d'hyperthermie maligne - d'hypertrophie musculaire	Hall <i>et al</i> Ollivier <i>et Lauvergne</i>	1966 1967
Déterminisme génétique monofactoriel□: - suggéré par - confirmé par	Christian Ollivier <i>et al</i>	1972 1975
Test à l'halothane	Eikelenboom <i>et Minkema</i>	1974
Recherche de « marqueurs » : - Hal et PHI - Hal, PHI ET H - Hal et PGD Autres marqueurs Ordre correct des marqueurs (Hal, PHI, PGD)	Jorgensen <i>et al</i> Imlah Jorgensen Guérin <i>et al</i>	1976 1980 1981 1983 1983
Sélection à l'aide de marqueurs	Gahne <i>et Juneja</i> Courreau <i>et al</i>	1985 1985
Localisation chromosomique précise□: - (chromosome 6)	Davies <i>et al</i> Yerle <i>et al</i>	1988 1990
Identification du gène (=RYR 1) et de sa mutation	Fujii <i>et al</i>	1991

Tableau 6. Cartographie des génomes animaux : situation et principaux programmes en 1995.

	Porc	Bovin	Mouton	Chèvre	Poulet	Cheval
Nb de chromosomes	38	60	54	60	78	64
Programmes - INRA - CEE - Autres	oui PigMap USA Australie	oui BovMap USA Australie Kenya Israël	oui - NZ Australie USA Europe	oui -	oui ChickMap Australie USA Israël Japon	oui - USA Suède UK
Nb d'équipes Nb de chercheurs	20 100	50 150	10 40	3 5	15 50	- -
Familles de référence - Nb - Type - Taille Total	5 F2 24 164	21 F1, F2 9 à 36 330	9 F2 7 à 18 154	- - - -	2 Backcross 54 112	en cours - - -
Nb de microsatellites - produits - cartographiés	> 600 488	> 1 000 527	> 250 150	150 ?	> 400 14	30 2
Longueur du génome marqué (cM)	2 500	3 415			3 000	
Collections d'hybrides somatiques Nb de localisations <i>in situ</i> Nb de loci cartographiés	2 151 577	3 128 913	2 64 235	- 12 ?	- 33 513	2 3 130
Base de données Chromosomes triés Banques de grands fragments	PigBase oui oui	BovMAP oui oui	SheepBase - ?	- - -	ChickBase - oui	- - -

Ce document attire ensuite l'attention sur l'intérêt de la cartographie comparée, sur la diversité des techniques d'étude du polymorphisme de l'ADN, sur la nécessité de rassembler des familles animales, sur les perspectives de l'hybridation *in situ* et du tri de chromosomes. Pour cette dernière technique, on ne compte réussir que chez le porc car les chromosomes bovins paraissent trop difficiles à séparer, compte tenu des particularités du caryotype de cette espèce.

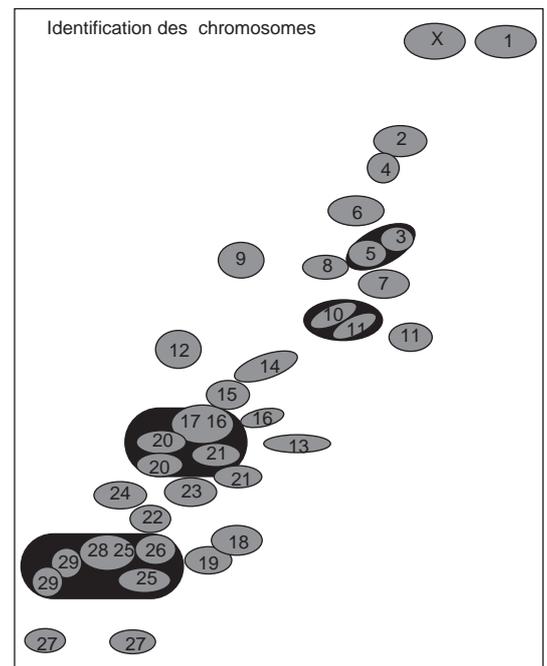
2.3 / La situation en 1995

Le tableau 6, emprunté à Levéziel (1995), montre à l'évidence qu'en cinq ans, l'évolution des connaissances sur les génomes des espèces d'élevage a dépassé toutes les prévisions. La chasse aux microsatellites a été particulièrement fructueuse. Avec un tel nombre de marqueurs, les cartes génétiques porcine et bovine ne présentent plus que quelques lacunes. Chez les bovins, par exemple, il ne reste aucun intervalle entre marqueurs de plus de 40 cM, et moins d'une vingtaine de plus de 20 cM. Des centaines de loci ont été cartographiés. La collaboration internationale s'est organisée, non sans rivalités, autour de familles de référence et de bases de données. La recherche de QTL a commencé un peu partout.

Dans les espèces bovine et porcine, les équipes de l'INRA ont largement contribué à la découverte de microsatellites, à l'établissement de synténies à l'aide d'hybrides cellulaires et à la localisation de gènes par hybridation *in situ*. A titre d'exemple, elles ont décrit plus de 100 microsatellites chez le porc, et près de 200 chez les bovins. Par ailleurs, dans le cadre d'une collaboration avec une unité du CEA, elles ont réussi à trier les chromosomes porcins, mais aussi une grande partie des chromosomes bovins (figure 4), ce qui avait été jugé irréalisable en 1990 ! Disposant ainsi de chromosomes porcins, bovins et humains, elles ont pu entreprendre des expériences d'hybridation croisée, utilisant comme sondes, sur des métaphases, les chromosomes individuels d'une autre espèce (« peinture hétérologue » des chromosomes). Des informations très précises ont ainsi pu être obtenues sur la conservation de segments homologues entre espèces (figure 5).

Compte tenu de l'évolution de la situation, les recherches ont été étendues à d'autres espèces. Le texte de 1990 prévoyait une transposition facile, aux petits ruminants, des résultats acquis chez les bovins. Effectivement, le laboratoire jovassien a montré que 40 % des microsatellites bovins pouvaient être exploités chez les caprins. Ce texte notait aussi qu'une espèce économiquement importante, la poule, avait été laissée de côté : en 1994, une équipe de recherche a été engagée, à Toulouse, sur la cartographie du génome de la poule. Des travaux ont également commencé chez le cheval, avec l'aide du Service des Haras, des Courses et de l'Équitation.

Figure 4. Représentation schématique des pics du caryotype en flux du Bœuf. Les chromosomes bovins se répartissent en fonction de leur contenu en ADN (axe des ordonnées) et de leur composition en bases (axe des abscisses). Les 21 paires de chromosomes bovins qui sont séparées sur ce caryotype en flux, ont donné lieu à des pics individualisés et ont donc été triées. Les paires restantes n'ont pu être triées en fractions pures en raison de la proximité des pics (régions noires). La technique est suffisamment sensible pour séparer les chromosomes homologues de certaines paires (chromosome 27 par exemple).



Dans toutes les espèces, les exemples de gènes candidats au clonage commencent à se multiplier. Après les gènes « Halothane » porcin et « Booroola » ovin, l'effort s'est porté sur le gène RN du porc, qui intervient sur la qualité de la viande, les gènes « sans corne » bovin et caprin, le gène contrôlant le débit de traite chez la chèvre... Mais ce type de recherche nécessite l'accès à des grands fragments du génome. Dans ce domaine, la construction d'une banque génomique de grands fragments d'ADN est largement engagée chez le porc. Par ailleurs l'analyse systématique de banques de transcrits a commencé (glande mammaire, granulosa ovarienne), tout comme la cartographie de ces transcrits.

En matière de recherche de QTL, deux grands protocoles ont été lancés, l'un sur le porc au domaine du Magneraud (races Large White et Meishan), l'autre sur les bovins laitiers, au domaine du Pin-au-Haras (races Normande et Holstein). Ils impliquent un très grand nombre de mesures et un effort considérable de typage de microsatellites qui sera pris en charge par Labogena. Un troisième programme, utilisant la base de données nationale du contrôle de performances a été engagé sur les bovins laitiers avec l'appui de l'Union Nationale des Coopératives agricoles d'Élevage et d'Insémination Artificielle (UNCEIA).

Enfin, les équipes de l'INRA ont contribué à la constitution des familles de référence internationales, et le laboratoire de Jouy-en-Josas est maître d'œuvre de la base de données bovine BovMap.

Conclusion

Les quelques quarante années qui viennent d'être rapidement parcourues se décomposent, nous semble-t-il, en 3 périodes, de durée et de caractère très différents. Tout d'abord, pendant près d'un quart de siècle (1956-1980), les techniques d'analyse du polymorphisme et de la structure des protéines se développent lentement mais les structures sous-jacentes de l'ADN restent inaccessibles. Un très petit nombre de chercheurs ont alors à trouver leur voie dans le désert et concentrent leurs efforts sur quelques systèmes génétiques qui paraissent dignes d'intérêt.

Les missions appliquées de l'INRA priment : dans le cas des groupes sanguins par exemple, le soutien au Service d'analyse prend une place importante dans les préoccupations des chercheurs. La période allant de 1980 à 1990 environ se traduit par de nombreuses évolutions. Grâce à la politique du Ministre H. Curien, l'INRA recrute et le département de Génétique animale peut alors renforcer progressivement ses laboratoires de génétique moléculaire et cellulaire. Par ailleurs, une reconversion interne se dessine vers les techniques d'étude de l'ADN. Cette époque est marquée par une série de travaux précurseurs sur l'analyse du génome, qui donnent aux équipes de l'INRA une compétence assez large dans ce domaine. Enfin, à partir de 1990, on assiste à une véritable course vers la cartographie des génomes, dont on s'aperçoit qu'elle doit beaucoup à la technique « PCR », à la base du typage des microsatellites. En contraste total avec la période initiale, cette troisième phase se caractérise par un vrai foisonnement de pistes de recherche. A l'INRA, les deux pôles, toulousain et jovassien, se remanient en vue d'une meilleure cohérence interne et développent entre eux des collaborations constructives. Bénéficiant jusqu'en 1992 d'une politique de recrutement favorable, leurs effectifs de chercheurs s'accroissent. Ils prennent une place importante dans le concert international. Mais à ce niveau le climat a beaucoup changé. Des équipes étrangères se sont aussi fortement étoffées, les techniques évoluent particulièrement vite et les enjeux de ces recherches ne facilitent ni la transparence, ni les échanges. Les équipes de l'INRA se trouvent plus que jamais devant la nécessité de veiller à rester clairvoyantes dans le choix de leurs orientations et de leurs collaborations. Reste la grande question scientifique : jusqu'où les recherches sur les génomes permettront-elles d'aller dans l'analyse du déterminisme génétique des caractères « d'intérêt agronomique » et dans quelle mesure leurs résultats pourront-ils contribuer à l'amélioration génétique des espèces d'élevage ? Parions que les optimistes auront raison...

Remerciements

Les auteurs sont reconnaissants à Christine Fritsch, Marie-Yvonne Boscher, E. Crihiu, G. Guérin, P. Martin, J.C. Mériaux, T.C. Nguyen et G. Ruffet pour leur contribution à l'élaboration de cet article.

Références bibliographiques

- Archibald A.L., et 50 co-auteurs, dont 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., 1995. The PigMaP consortium linkage map of the pig (*Sus scrofa*). *Mammal. Genome*, 6, 157-175.
- Chardon P., Renard C., Vaiman M., 1981. Characterization of class II histocompatibility antigens in pigs. *Anim. Blood Grps Biochem. Genet.*, 12, 59-65.
- Chevalet C., Corpet F., 1986. Statistical decision rules concerning synteny or independence between markers. *Cytogenet. Cell Genet.*, 43, 132-139.
- Echard G., Gellin J., Benne F., Gillois M., 1984. Progress in gene mapping of cattle and pig using somatic cell hybridization. *Cytogenet. Cell Genet.*, 37, 458-459.
- Eggen A., Fries R., 1995. An integrated cytogenetic and meiotic map of the bovine genome. *Anim. Genet.*, 26, 215-236.
- Gaye P., Gautron J.P., Mercier J.C., Hazé G., 1977. Amino terminal sequences of the precursors of ovine caseins. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 79, 903-911.
- Geffrotin C., Chardon P., de Andres-Cara D.F., Feil R., Renard C., Vaiman M., 1990. The swine steroid 21-hydroxylase gene (CYP21) : cloning and mapping within the SLA complex. *Anim. Genet.*, 21, 1-13.
- Gellin J., Benne F., Hors-Cayla M.C., Gillois M., 1980. Carte génique du porc (*Sus scrofa L.*). I. Etude de deux groupes synténiques G6PD. PGK. HPRT et PK. M2. MPI. *Ann. Genet.*, 23, 15-21.
- Gellin J., Grosclaude F., 1991. Analyse du génome des espèces d'élevage : projet d'établissement de la carte génétique du porc et des bovins. *INRA Prod. Anim.*, 4, 97-105.
- Goureau A., Yerle M., Riquet J., Milan D., Schmitz A., Pinton P., Frelat G., Gellin J., 1996. Determination of correspondences between human and porcine chromosomes segments using bidirectionnal chromosome painting. *Genomics*, (sous presse).
- Grosclaude F., 1988. Le polymorphisme génétique des principales lactoprotéines bovines. Relations avec la quantité, la composition et les aptitudes fromagères du lait. *INRA Prod. Anim.*, 1, 5-17.
- Grosclaude F., Millot P., 1962. Contribution à l'étude des groupes sanguins de la race bovine Montbéliarde. *Ann. Biol. anim. Biochim. Biophys.*, 2, 185-208.
- Grosclaude F., Pujolle J., Garnier J., Ribadeau Dumas B., 1965. Déterminisme génétique des caséines κ du lait de vache ; étroite liaison du locus κ -Cn avec les loci α -Cn et β -Cn. *C.R. Acad. Sci. Paris*, 261, 5229-5232.
- Grosclaude F., Guérin G., Houlier G., 1979. The genetic map of the B system of cattle blood groups as observed in French breeds. *Anim. Blood Grps Biochem. Genet.*, 10, 199-218.
- Grosclaude F., Ricordeau G., Martin P., Remeuf F., Vassal L., Bouillon J., 1994. Du gène au fromage : le polymorphisme de la caséine α 1 caprine, ses effets, son évolution. *INRA Prod. Anim.*, 7, 3-19.
- Guérin G., Ollivier L., Sellier P., 1983. Etude du groupe de liaison Hal, Phi et Pgd chez le Porc ; disposition relative des trois locus et estimation des taux de recombinaison. *Génét. Sél. Evol.*, 15, 55-64.
- Hayes H., 1995. Chromosome painting with human chromosome-specific DNA libraries reveals the extent and distribution of conserved segments in bovine chromosomes. *Cytogenet. Cell. Genet.*, 71, 168-174.
- Jansa Pérez M., Leroux C., Sanchez Bonastre A., Martin P., 1994. Occurrence of a LINE sequence in the 3'UTR of the goat α s1-casein E-encoding allele associated with reduced protein synthesis level. *Gene*, 147, 179-187.
- Leroux C., Mazure N., Martin P., 1992. Mutations away from splice site recognition sequences might cis-modulate alternative splicing of goat α s1-casein transcripts. Structural organization of the relevant gene. *J. Biol. Chem.*, 267, 6147-6157.
- Levéziel H., 1995. Les bovins, du menu à la carte. *Biofutur*, 146, 63-68.
- Levéziel H., Hines H.C., 1984. Linkage in cattle between the major histocompatibility complex (BoLA) and the M blood group system. *Génét. Sél. Evol.*, 16, 405-416.
- L'Huillier P., Soulier S., Stinnakre M.G., Lepourry L., Davis S.R., Mercier J.C., Vilotte J.L., 1996. Efficient and specific ribozyme-mediated reduction of bovine α -lactalbumin expression in double transgenic mice. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, (sous presse).
- Mc Dermid E.M., Agar N.S., Chai C.K., 1975. Electrophoretic variation of red cell enzyme systems in farm animals. *Anim. Blood Grps Biochem. Genet.*, 6, 127-174.
- Mercier J.C., 1981. Phosphorylation of caseins. Present evidence for an amino acid triplet code post-translationally recognized by specific kinases. *Biochimie*, 63, 1-17.
- Mercier J.C., Grosclaude F., 1993. Génétique moléculaire des protéines du lait et de leurs gènes. In : J. Martinet et L.M. Houdebine (eds), *Biologie de la Lactation*, 319-342. INRA-INSERM, Paris.
- Mercier J.C., Grosclaude F., Ribadeau Dumas B., 1972. Primary structure of bovine caseins. A review. *Milchwissenschaft*, 27, 402-408.
- Milan D., Le Roy P., Woloszyn N., Caritez J.C., Elsen J.M., Sellier P., Gellin J., 1995. The RN locus for meat quality maps to Pig chromosome 15. *Genet. Sél. Evol.*, 27, 195-199.
- Nguyen T.C., 1990. Genetic systems of red cell blood groups in goats. *Anim. Genet.*, 21, 233-245.
- Peelman L.J., Chardon P., Nunes N., Renard C., Geffrotin C., Vaiman M., Van Zeveren A., Coppier W., Van de Weghe A., Bouquet Y., Choy W.W., Strominger J.L., Spies T., 1995. The BAT1 gene in the MHC encodes an evolutionarily conserved putative nuclear RNA helicase of the D-E-A-D family. *Genomics*, 26, 210-218.
- Persuy M.A., Stinnakre M.G., Printz C., Mahé M.F., Mercier J.C., 1992. High expression of the caprine β -

- casein gene in transgenic mice. *Eur. J. Biochem.*, 205, 887-893.
- Peters J.E. (ed), 1961. *Classic papers in genetics*. Prentice Hall. Inc. Englewood Cliffs, N.J. (3^e ed), 282 p.
- Popescu C.P., Cotinot C., Boscher J., Kirszenbaum M., 1988. Chromosomal localization of a bovine male specific probe. *Ann. Génét.*, 31, 39-42.
- Robic A., Dubois C., Milan D., Gellin J., 1994. A rapid method to isolate microsatellite markers from cosmid clones. *Mammal. Genome*, 5, 177-179.
- Schmitz A., Oustry A., Chaput B., Bahri-Darwich I., Yerle M., Milan D., Frelat G., Cribiu E.P., 1995. The bovine bivariate flow karyotype and peak identification by chromosome painting with PCR-generated probes. *Mammal. Genome*, 6, 415-420.
- Stinnakre M.G., Vilotte J.L., Soulier S., Mercier J.C., 1994. Creation and phenotypic analysis of α -lactalbumin-deficient mice. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 91, 6544-6548.
- Tucker E.M., Métenier L., Grosclaude J., Clarke S.W., Kilgour L., 1986. Monoclonal antibodies to bovine blood group antigens. *Anim. Genet.*, 17, 3-13.
- Vaiman M., Renard C., Lafage P., Ameteau J., Nizza P., 1970. Evidence for a histocompatibility system in swine (SLA). *Transplantation*, 10, 2.
- Vaiman M., Chardon P., Renard C., 1979. Genetic organization of the pig SLA complex. Studies on nine recombinants and biochemical and lysostrip analysis. *Immunogenetics*, 9, 353-361.
- Vaiman D., Eggen A., Mercier D., Bahri-Darwich I., Grohs C., Bruneau D., Laurent P., Chaput B., Oustry A., Frelat G., Levéziel H., Cribiu E.P., 1995. A genetic and physical map of bovine chromosome 3. *Anim. Genet.*, 26, 21-25.
- Vilotte J.L., Soulier S., Stinnakre M.G., Massoud M., Mercier J.C., 1989. Efficient tissue-specific expression of bovine α -lactalbumin in transgenic mice. *Eur. J. Biochem.*, 186, 43-48.
- Yerle M., Gellin J., Dalens M., Galman O., 1990. Localization on pig chromosome 6 of markers GPI, APO E and ENO1 carried by human chromosomes 1 and 19, using *in situ* hybridization. *Cytogenet. Cell Genet.* 54, 86-91.
- Yerle M., Schmitz A., Milan D., Chaput B., Monteaudo L., Vaiman M., Frelat G., Gellin J., 1993. Accurate characterization of porcine bivariate flow karyotype by PCR and fluorescence *in situ* hybridization. *Genomics*, 16, 97-103.
- Yerle M., Lahbib-Mansais Y., Mellink C., Goureau A., Pinton P., Echard G., Gellin J., Zijlstra C. De Haan N., Bosma A.A., Chowdhary B., Gu F., Gustavsson I., Thomsen P.D., Christensen K., Rettenberger G., Hameister H., Schmitz A., Chaput B., Frelat G., 1995. The PigMaP consortium cytogenetic map of the domestic pig (*Sus scrofa domestica*). *Mammal. Genome*, 6, 176-186.