

17èmes Journées de la Recherche Cunicole - 2017



**Garreau H., Gunia M., 2017 . La génomique du lapin :
Avancées, applications et perspectives (Synthèse).
*17èmes Journées de la Recherche Cunicole, Le Mans,
21-22 Nov. 2017, 141-150***

**Texte de la communication
+
les 36 Dias de la présentation orale**

LA GÉNOMIQUE DU LAPIN : AVANCÉES, APPLICATIONS ET PERSPECTIVES.

Garreau Hervé, Gunia Mélanie

GenPhySE, INRA, INPT, ENVT, Université de Toulouse, 31326 Castanet-Tolosan, France

Correspondant : Herve.garreau@inra.fr

Résumé – L'évolution récente des technologies de séquençage et l'apport des approches de génomique a révolutionné nos connaissances sur les génomes et leurs polymorphismes, et permis d'élaborer des outils de génotypage qui accélèrent l'identification de polymorphismes causaux et contribuent à améliorer significativement le progrès génétique réalisé par certaines espèces d'élevage, en particulier les bovins laitiers. Le séquençage complet du génome du lapin réalisé par le Broad Institute (Boston, USA), avec l'appui d'un consortium international auquel a contribué l'INRA, a été publié en 2014. Les résultats obtenus ont apporté un éclairage nouveau sur l'évolution et la domestication du lapin. En 2016, dans le cadre d'un projet Européen (COST Action TD1101 "A Collaborative European Network on Rabbit Genome Biology – RGB-Net), une puce de génotypage avec 200000 SNP (Single-Nucleotide Polymorphism) a été développée, permettant de renouveler les approches de génétique chez le lapin. L'objet de cette synthèse est de faire le point sur les connaissances relatives au génome du lapin et d'établir un inventaire des gènes ou régions génomiques liés à certaines fonctions ou caractères d'intérêt dans cette espèce. Nous décrivons ici le principe des outils (cartes génétiques, puces SNP, séquençage) et des méthodes (détection de QTL, approche gènes candidats, identification de mutations causales) qui ont déjà été appliqués chez le lapin. Nous illustrons les perspectives d'utilisation des outils maintenant disponibles pour la sélection avec deux projets de recherche portant sur la résistance aux maladies et l'efficacité alimentaire. Une réflexion prospective sur la sélection génomique est également proposée.

Abstract – The genomics of the rabbit: advances, applications and prospects.

The last development of sequencing technologies and of novel genomic approaches have revolutionized our knowledge of livestock genomes and have significantly improved the selection of some domestic species, especially dairy cattle. With the full sequencing of the rabbit genome, achieved by the Broad Institute (Boston, USA), together with the development of a commercial high-density SNP (single-nucleotide polymorphism) markers chip, achieved in 2016 in the frame of a European project (COST Action TD1101 "A Collaborative European Network on Rabbit Genome Biology – RGB-Net), the rabbit entered the genomic era. This aim of this review is to provide updated knowledge on the rabbit genome and to make an inventory of published genes or genomic regions associated with functions or traits of interest. We are describing here the principle of genomic tools (genetic maps, SNP chip, and sequencing) and methods (QTL detection, candidate gene analyses, and identification of causal mutations) already applied in the rabbit. These novel approaches give a new insight into the evolution and domestication of rabbits. We also describe two research projects based on these methodologies to investigate disease resistance and feed efficiency. A prospective view of the genomic selection (a new method based on high-density molecular information) is also proposed.

Introduction

Jusqu'au début des années 2000, les connaissances sur le génome du lapin étaient très limitées. Seule une vingtaine de gènes étaient localisés sur les chromosomes et 35 marqueurs de type microsatellites étaient décrits en 2003 (Korstanje *et al.*, 2003). Un laboratoire de l'INRA avait cependant déjà construit une banque de BAC (Bacterial Artificial Chromosome) (Rogel-Gaillard *et al.*, 2001) et d'EST (Séquences d'étiquettes de transcrits) (Rogel-Gaillard *et al.*, 2008) du lapin pour la cartographie et à l'analyse de son génome. Plusieurs laboratoires de l'INRA se sont ensuite associés pour produire une carte intégrée cytogénétique et génétique comportant 111 marqueurs de type microsatellite (Chantry-Darmon *et al.*, 2005 ; 2006). Le séquençage complet

du génome du lapin, a ensuite été réalisé par le Broad Institute (Boston) dans le cadre du *Mammalian Genome Project*. Les BAC de l'INRA, envoyés au Broad Institute pour séquençage, ont permis d'ancrer la séquence sur les chromosomes. Le séquençage complet a été déterminant pour la progression des connaissances sur le génome de cette espèce. De nouvelles ressources génomiques ont été produites, parmi lesquelles des banques d'ADNc de pleine longueur, clonés dans des vecteurs permettant l'expression de protéines et la production ultérieure d'anticorps (Rogel-Gaillard *et al.*, 2008). Parallèlement, les puces à marqueurs SNP (Single Nucleotide Polymorphism) se sont très fortement développées au cours des dernières années, donnant lieu à de nombreuses applications, en particulier pour la sélection des ruminants. Ces nouvelles méthodes

peuvent désormais s'appliquer au lapin et ouvrent de nouvelles perspectives en matière de connaissances et d'amélioration génétique.

Dans cette synthèse, nous nous attachons à faire le point des connaissances sur le génome et les outils de génomique du lapin. Nous réalisons un inventaire des régions chromosomiques (QTL) et des gènes impliqués dans l'expression de caractères connus, en particulier la croissance, la reproduction, la résistance aux maladies mais également la coloration et la morphologie de la fourrure.

Les récents développements de la génomique du lapin ouvrent la voie à de nouvelles approches pour l'amélioration génétique telles que la sélection génomique. Les projets de recherche en cours sur la résistance aux maladies et l'efficacité alimentaire permettront non seulement de mieux comprendre la biologie de ces caractères mais également de mieux étudier l'intérêt économique de ces méthodes.

1. Le génome du lapin

1.1. Chromosomes, locus et gènes

Les gènes, support de l'information génétique, sont portés par les chromosomes. Le génome du lapin comprend deux chromosomes sexuels XX ou XY (pour une femelle ou un mâle respectivement) et 21 paires d'autosomes ($2n = 44$). Pour les autosomes, ces paires sont constituées par la fusion des gamètes (spermatozoïdes et ovules) au moment de la fécondation. Ainsi le père et la mère transmettent chacun la moitié de leurs gènes à leurs descendants.

Un locus est un emplacement physique sur un chromosome. Sa dimension n'est pas prédéfinie (elle peut aller de quelques dizaines de bases à plusieurs centaines de milliers de base). Un locus peut contenir des portions d'ADN contenant des informations variées (gène, séquence répétée, région intergénique non annotée et donc anonyme, etc.). Un allèle est une séquence d'ADN présente au niveau du locus. Un animal comme le lapin ayant deux paires de chromosomes possède 2 allèles à chaque locus, soit 2 « versions » d'une même séquence (par exemple un gène), l'un des allèles est hérité de son père, l'autre de sa mère.

Certains caractères de coloration et du pelage sont gouvernés par un petit nombre de gènes ou parfois même un seul gène dont l'action est très importante. Ces gènes sont appelés gènes majeurs. Cependant la plupart des caractères d'intérêt sont sous l'influence d'un très grand nombre de gènes qui ont chacun une action faible ou très faible sur ces caractères. Le déterminisme génétique de ces caractères est donc qualifié de polygénique.

1.2. Carte génétique et séquençage du génome

Le caryotype (arrangement standard des chromosomes d'une cellule) du lapin, a été décrit pour la première fois en 1926 par T.S. Painter. La

cartographie des gènes et des marqueurs consiste à déterminer leur position le long des chromosomes. Une carte chromosomique comparée entre l'homme et le lapin a été publiée par Korstanje et al., (1999). Cette carte est basée sur les résultats de la peinture chromosomique réciproque : des sondes spécifiques (des séquences d'ADN recherchées) de chacun des chromosomes de lapin ont été hybridés (appariement spontané avec la séquence complémentaire) sur des métaphases humaines et, réciproquement, les sondes spécifiques de chacun des chromosomes humains ont été hybridées sur des métaphases de lapin. Le caryotype du lapin a été affiné en 2002 (Hayes et al., 2002), permettant ensuite la location fine de 250 nouveaux gènes répartis sur tous les chromosomes (revue dans Rogel-Gaillard et al., 2009). Une carte chromosomique de marqueurs microsatellites a également été produite (Chantry-Darmon et al., 2005), qui a permis de construire une carte génétique avec l'ensemble des groupes de liaison entre marqueurs positionnés et orientés sur les chromosomes (Chantry-Darmon et al., 2006). Les marqueurs microsatellite sont des régions de l'ADN qui présentent des variations dans le nombre de répétitions d'une séquence. La carte Inra, comportant 111 marqueurs, a permis de confirmer la localisation des caractères de pelage *albinos* et *angora* sur les chromosomes 1 et 15 respectivement.

De par sa position dans l'arbre phylogénétique des mammifères et pour son rôle d'espèce modèle dans les recherches biomédicales, le lapin a été sélectionné pour *Mammalian Genome Project* (Lindblad-Toh et al., 2011 ; Miller et al., 2014). Ce projet a pour but d'identifier des séquences conservées entre espèces, afin d'améliorer l'annotation du génome humain et de réaliser un atlas complet des séquences d'ADN fonctionnelles. Le génome d'une lapine de race Néo-Zélandais a ainsi été entièrement séquencé par le Broad Institute (Boston, USA), une première fois, à faible densité (OryCun1.0). De nombreux laboratoires travaillant sur le lapin à l'échelle internationale se sont associés pour la rédaction d'un *white paper* qui plaidait pour un séquençage plus profond. Le génome du lapin a ainsi été séquencé une deuxième fois, de façon plus dense (OryCun2.0) (Carneiro et al., 2014) et en incluant le séquençage de clones de grands fragments d'ADN (BAC) fournis par l'Inra. L'annotation du génome, c'est-à-dire la localisation et la description de la fonction biologique des gènes, a été réalisée par la plateforme génomique *Ensembl* en utilisant notamment le séquençage de brins d'ARN (RNA-Seq) de tissus de lapins fournis par l'Inra et l'annotation orthologue humaine (gènes similaires partagés par les deux espèces)(http://www.ensembl.org/Oryctolagus_cuniculus/Info/Annotation). L'annotation du génome a permis d'identifier 19 203 gènes codant pour des protéines, 3 375 gènes non-codant et un total de 24 964 transcripts. L'université d'Uppsala (Suède) et l'université de Porto (Portugal) ont séquencé des

lapins domestiques issus de 6 races et des lapins sauvages français et espagnols, appartenant aux deux sous-espèces *O. c. algirus* et *O. c. cuniculus* (Carneiro *et al.*, 2014). Ce séquençage a permis d'identifier 51 millions de marqueurs de type SNP (Single Nucleotide Polymorphism), c'est-à-dire des régions du génome qui présentent des différences entre individus pour une seule base de l'ADN ainsi que 5,6 millions de polymorphisme de type insertion/délétion. Les SNP représentent la source de variation la plus abondante du génome. Le génotypage est la discipline qui vise à déterminer la nature des allèles (variations) des marqueurs de chaque individu. La standardisation et la mécanisation des techniques de génotypage permettent aujourd'hui de connaître rapidement la séquence de plusieurs dizaines ou centaines de milliers de marqueurs SNP. Dans le cadre du projet Européen "A Collaborative European Network on Rabbit Genome Biology – RGB-Net, une puce commerciale Affymetrix, support de 200 000 marqueurs SNP, a été développée, offrant ainsi la possibilité de réaliser un génotypage à haut-débit du lapin. Elle a été mise sur le marché en 2016.

2. Recherche de QTL

Les études d'association et de liaisons génétiques ont pour objectif d'identifier des régions chromosomiques (QTL pour Quantitative Trait Loci), impliquées dans l'expression des caractères d'intérêt. Elles reposent sur la mise en évidence statistique d'un lien entre le génotype de certains marqueurs et la valeur phénotypique des caractères. Une seule étude de recherche de QTL a été publiée à ce jour pour le lapin (Sternstein *et al.*, 2015). Cette étude portait sur les caractères de croissance et de qualité de la viande et de la carcasse dans une population 360 lapins obtenue par un double croisement (population de type F2) : un premier croisement entre des reproducteurs issus de deux races divergentes, le Géant des Flandres et le Néo-Zélandais ; un second croisement entre les individus F1 pour produire la population d'étude F2. Les 360 lapins F2 ont été génotypés pour 189 marqueurs de type microsatellite couvrant l'ensemble des 23 chromosomes. Les QTL les plus significatifs ont été identifiés sur le chromosome 7 pour des caractères de croissance, sur le chromosome 9 pour le poids des os et sur le chromosome 12 pour la perte en eau au ressuyage. En raison du faible nombre de marqueurs utilisés, les régions du génome mises en évidence étaient trop larges pour pouvoir identifier précisément les gènes impliqués dans l'élaboration de ces caractères.

3. Analyse de gènes candidats

L'approche gène candidat consiste à étudier l'association entre les allèles de certains gènes choisis sur la base de connaissances préalables et l'expression de phénotypes (couleur, croissance, reproduction, efficacité alimentaire, résistance aux maladies). Une

variation du gène peut en effet affecter la composition des protéines codées par ce gène et impliquées dans des fonctions physiologiques clés. La première étape de cette approche consiste à sélectionner une liste de gènes dont les fonctions biologiques sont connues par des études réalisées chez l'espèce cible, ou dans d'autres espèces. La seconde étape consiste à identifier des variations de la séquence d'ADN de ces gènes. La troisième étape repose sur les études d'association qui permettront de vérifier statistiquement la liaison entre les variations du gène et le phénotype dans les populations étudiées. Cette stratégie présente l'avantage de rechercher très rapidement et à moindre coût les polymorphismes (variations des gènes) potentiellement intéressants. Son défaut est de se limiter à des gènes dont on ne connaît, a priori, ni la valeur de leur effet sur les caractères d'intérêt, ni leur variabilité dans la population étudiée. De nombreuses études de gènes candidats ont été conduites chez le lapin (Fontanesi, 2015). Elles peuvent être réparties en trois catégories correspondant aux groupes de caractères étudiés: i) Les caractères de croissance et de production de viande, ii) les caractères de reproduction de la femelle, iii) les caractères de résistance aux maladies

3.1. Caractères de croissance et de carcasse

En raison de l'importance économique de la croissance et de la production de viande, la plupart des études de gènes candidats chez le lapin porte sur ce groupe de caractères. Fontanesi *et al.* (2011, 2012a, 2012b, 2014b, 2016) ont étudié le caractère de croissance le plus couramment enregistré et sélectionné dans les populations commerciales de production de viande, le poids à 70 jours. D'autres auteurs (Peng *et al.*, 2013; Zhang *et al.*, 2013a, 2014; Liu *et al.*, 2014; Wang *et al.*, 2015) ont étudié des caractères de croissance, de carcasse et de qualité de viande mesurés à des âges différents. Le gène de la myostatine (MSTN) a fait l'objet de nombreuses études chez le lapin en raison des effets bien connus des mutations de ce gène sur le développement du tissu musculaire. Les effets de l'hypermuscularité liés aux variations de ce gène ont été décrits chez la souris (McPherron *et al.*, 1997), le bovin (Grobet *et al.*, 1997; Kambadur *et al.*, 1997; McPherron and Lee, 1997) et le mouton (Clou *et al.*, 2006). Cependant, aucun polymorphisme du gène MSTN n'a été découvert à ce jour chez le lapin dans les races et lignées étudiées (Fontanesi *et al.*, 2011; Peng *et al.*, 2013; Sternstein *et al.*, 2014).

Les gènes impliqués dans le fonctionnement de l'axe somatotrope, et en particulier le gène de l'hormone de croissance (GH1), du récepteur de l'hormone de croissance (GHR), du facteur de croissance analogue de l'insuline (IGF2) et le gène du récepteur de la mélanocortine peuvent avoir des effets importants sur la croissance ou les caractères de production. Ces effets ont été décrits chez le bovin (Lagziel *et al.*, 1996 ; Blott *et al.*, 2003) et le porc (Van Laere *et al.*, 2003). Le gène du récepteur de la mélanocortine

(impliqué dans l'homéostasie énergétique et la régulation du comportement alimentaire) a des effets connus sur la croissance et l'obésité chez l'homme et le porc (Kim et al., 2001). Des mutations et des effets significatifs de ces gènes ont été mis en évidence chez le lapin (Fontanesi et al., 2012b, 2013, 2016 ; Zhang et al., 2012). La plupart de ces études met en évidence que l'allèle le plus favorable de ces gènes est également le plus fréquent dans les populations commerciales étudiées. Cette observation démontre l'effet de la sélection qui tend à accroître la fréquence des allèles favorables en sélectionnant à chaque génération les meilleurs animaux (porteurs de gènes favorables) pour les reproduire et constituer les générations suivantes.

3.2. Caractères de reproduction

Les études de gènes candidats pour les caractères de reproduction sont toutes fondées sur une seule population expérimentale sélectionnée de façon divergente pour la capacité utérine (nombre maximal de fœtus qu'une lapine peut porter lorsque le taux d'ovulation n'est pas facteur limitant) pendant 10 générations (Mocé et al., 2004). Une association entre le polymorphisme de trois gènes (OVGP1, PGR et TIMP1) et quelques caractères de reproduction, incluant l'implantation embryonnaire et la taille de portée, a été mise en évidence dans cette population expérimentale (Estellé et al., 2006; Peiró et al., 2008, 2010; Argente et al., 2010; García et al., 2010).

3.3. Caractères de résistance aux maladies

Des études de gènes candidats ont été menées par des équipes chinoises de l'université agricole du Sichuan, à Chengdu, sur différentes races locales et importées, pour des caractères de résistances aux troubles digestifs. Ces équipes ont mis en évidence l'implication de différents gènes codant pour des récepteurs participant à la reconnaissance des pathogènes : TLR4 (Toll-like receptor 4 ; Zhang et al., 2011), NOD2 (nucleotide-binding oligomerization domain 2 ; Zhang et al., 2013c), Dectin-1 (dendritic-cell associated C-type lectin 1 ; Zhang et al., 2013b). Ils ont aussi mis en évidence les gènes suivant : MyD88 (Myeloid differentiating factor 88) codant pour une protéine qui a un rôle central dans l'activation de l'immunité innée et adaptative (Chen et al., 2013), NLRP12 (NLR Family Pyrin Domain Containing 12) qui joue un rôle dans la régulation de l'inflammation (Liu et al., 2013), JAK1 (Janus Kinase) une molécule de signalisation intracellulaire, STAT3 (Signal transducer and activator of transcription 3) un facteur de transcription et de différenciation des cellules immunitaires (Fu et al., 2014) et CCR6 (Chemokine receptor 6) une récepteur contrôlant le mouvement des leucocytes (Liu et al., 2017).

4. Identification de mutations causales

La mutation causale est la variation de la séquence d'un gène qui détermine le caractère étudié. La découverte de la mutation causale, ou à défaut de

marqueurs très proches de cette mutation, autorise une sélection très efficace, qui s'affranchit de la mesure du phénotype. La connaissance de la mutation causale permet également de mieux comprendre en quoi cette mutation affecte le fonctionnement du gène et donc le phénotype associé. L'identification de mutations causales est généralement réalisée par cartographie fine au sein du locus trouvé associé. La mutation causale possible étant identifiée, on cherche ensuite à la valider, d'une part par le génotypage des individus portant les deux types de variants et des tests statistiques permettant de mettre en évidence l'effet du gène, d'autre part avec des arguments fonctionnels qui décrivent les effets biologiques de la mutation.

3.1. Mutations affectant la couleur du pelage

Chez les mammifères, la coloration est déterminée par les mélanines, responsables de pigmentation des téguments. L'eumélanine (pigments noir/marron) et la phéomélanine (pigments jaune/rouge) sont synthétisées dans les cellules appelées mélanocytes avec le concours de l'enzyme tyrosinase. Chez la souris, plus de 300 loci affectant la couleur du poil ont été mis en évidence. Ces loci interviennent sur le développement, les fonctions ou la régulation de l'activité enzymatiques des mélanocytes (Bennet et Lamoreux, 2003). La production et la proportion relative des eumélanines et des phéomélanines est principalement déterminée par les loci *extension* et *agouti*. L'allèle dominant du locus *extension* provoque la sécrétion d'eumélanine (couleur grise, noire ou marron) tandis que l'allèle récessif provoque une extension du pigment jaune dans le poil, qui remplace plus ou moins le pigment noir ou marron. Les races jaunes ou rouge sont homozygotes récessives. Au contraire l'allèle dominant du locus *agouti* détermine la production de phéomélanines tandis que l'allèle récessif conduit à la production de pigments eumélaniques noirs. Ces deux loci interagissent entre eux (relations épistatiques) : l'expression des allèles *agouti* est conditionnée par la présence des allèles sauvages du locus *extension*. Le locus *extension* code pour le récepteur 1 de la mélanocortine (*MC1R*), une hormone qui stimule la synthèse d'eumélanine. Le locus *agouti* code pour la protéine signal Agouti (*ASIP*). Cette protéine bloque la production de la mélanocortine et accroît la production de phéomélanine au détriment de l'eumélanine (Bultman et al., 1992). Fontanesi et al. (2006, 2010b) ont séquencé le gène *MC1R* dans plusieurs races de lapins présentant des couleurs différentes et ont caractérisés sur le plan moléculaire les principaux allèles du locus *extension*. Deux variants de l'allèle sauvage (E^+) ont été identifiés : Trois délétions (2 de six bases nucléotidiques et une de 30 bases) caractérisent respectivement l'allèle dominant noir (E^D), l'allèle récessif cendré japonais (e^J) et l'allèle récessif fauve (e). Deux mutations du locus *agouti* ont également été identifiées par les mêmes auteurs (Fontanesi et al., 2010) en séquençant

le gène *ASIP*. La séquence de l'allèle a^1 diffère de l'allèle sauvage (*A*) par deux mutations non-sens (remplacement d'un codon codant pour un acide aminé par un codon-stop). L'allèle récessif noir non-agouti (*a*) est caractérisé par une insertion dans le premier exon codant du gène *ASIP*. Le séquençage du gène *TYR* a également permis d'identifier plusieurs mutations non-sens au locus *albinos* (*C*) correspondant aux allèles *Chinchilla* (c^{ch}), *Himalayan* (C^{Hl}) et *albinos* (*c*). Le locus *English spotting* (*En*) est responsable de la coloration panachée particulière de la race Papillon. Les individus homozygotes pour l'allèle récessif (*en/en*) sont de couleur unie, les hétérozygotes *En/en* présentent une robe blanche tachetée de noir (conforme au standard de des différentes races de Papillons) et les homozygotes *EN/EN* sont presque entièrement blancs. Les individus *EN/EN* sont par ailleurs non viables en raison d'un caecum et d'un colon très dilaté (maladie du mégacolon). Fontanesi *et al.* (2014b) ont identifié un SNP du gène *KIT* qui explique à la fois le patron de coloration des papillons et, chez les hétérozygotes *EN/EN*, une altération des cellules de Cajal (cellules ganglionnaires qui assurent le contrôle des muscles qui entourent le colon). Le même symptôme est observé chez l'homme dans le cas de la maladie héréditaire appelée mégacolon aganglionique.

3.2. La mutation Rex

La fourrure du lapin Rex se caractérise par une diminution du nombre et de la longueur des jarres, donnant à la fourrure des poils plus courts, plus compacts et plus doux. La mutation causale de ce caractère a été identifiée (Diribarne *et al.*, 2011). Il s'agit d'une délétion d'une base nucléotidique dans l'exon 9 (1362delA) du gène *LIPH* se traduisant par une protéine *LIPH* tronquée. La protéine *LIPH* est une enzyme qui catalyse la production d'acide 2-acyl lysophosphatidique (LPA), qui est un médiateur lipidique avec diverses propriétés biologiques qui incluent l'agrégation plaquettaire, la contraction des muscles lisses et la stimulation de la prolifération cellulaire. Le niveau d'expression de *LIPH* dans la peau et le follicule pileux est trois fois plus faible chez les Rex que chez le lapin commun.

3.3. Autres mutations

Par une approche gène candidat Strychalsky *et al.*, (2015) ont identifié une délétion de 3 bases nucléotidiques dans le gène bêta-carotène oxygénase 2 (*BCO2*) qui détermine la couleur du gras du lapin. Ce gène code pour une enzyme qui intervient dans le métabolisme des caroténoïdes et donne une coloration jaune au gras, comme chez les bovins et les ovins (Tian *et al.*, 2010 ; Våge *et al.*, 2012).

La lignée de lapins hypercholestérolémiques Watanabe est un modèle animal particulièrement apprécié pour étudier l'athérosclérose et les maladies liées à l'hypercholestérolémie. Cette lignée présente

une mutation naturelle (délétion de 4 bases) du gène du récepteur de la lipoprotéine de basse densité qui affecte le transport de ce récepteur à la surface des cellules, provoquant l'hyperglycémie (Yamamoto *et al.*, 1988).

Le déterminisme génétique du lapin nain est également de type monogénique. Les homozygotes récessifs mutants ne sont pas viables et seuls les hétérozygotes présentent le phénotype de nanisme. Carneiro *et al.* (2017) ont identifié une mutation de type délétion du gène *HMGA2* qui code pour une protéine facteur de transcription du groupe de haute mobilité (HMG) conduisant à l'inactivation de ce gène. Il en résulte une altération de la croissance générale et du développement crano-facial.

5. Etudes de l'évolution et de la domestication du lapin

Oryctolagus cuniculus est le seul mammifère domestiqué dont l'origine paléontologique se situe en Europe de l'Ouest. Les restes fossiles les plus anciens du genre sont datés d'environ 6,5 millions d'années et ont été retrouvés en Andalousie. Deux sous-espèces du genre naissent il y a environ 2 millions d'années : *O. c. algirus*, dans le sud-ouest de la péninsule ibérique et *O. c. cuniculus* dans le nord-est. Les deux sous-espèces demeurent aujourd'hui différenciées mais des échanges réciproques de gènes sont intervenus au cours des périodes interglaciaires et depuis la fin de la dernière glaciation (Callou, 2003, Carneiro *et al.*, 2011). *O. c. algirus* est un lapin de petite taille (1 kg environ) et de pelage très sombre. *O. c. cuniculus* présente des dimensions plus grandes, un poids plus élevé (2kg environ) et un pelage de type agouti.

Différents marqueurs génétiques (marqueurs mitochondriaux, marqueurs du chromosome Y, SNP) ont été utilisés récemment pour caractériser les populations sauvages et domestiques. Les études ont montré l'existence de deux lignées fortement divergentes, appelées A et B, qui s'apparentent en partie aux sous espèces *O. c. algirus* et *O. c. cuniculus* (Biju-Duval, 1991 ; Rogel-Gaillard *et al.*, 2009). Ces deux lignées partagent un ancêtre commun remontant à 2 millions d'années. Les deux lignées sont encore aujourd'hui séparées géographiquement : Les populations sauvages du Sud-ouest de la Péninsule ibérique appartiennent au groupe A tandis que celles du Nord de l'Espagne, de France et de Tunisie sont du groupe B, comme le sont également toutes les races domestiques. La chaîne des Pyrénées semble avoir constitué une barrière génétique importante puisque la migration du Nord de l'Espagne vers le Nord des Pyrénées s'est traduite par une perte de variabilité de l'ordre de 12 % (Carneiro *et al.*, 2011). Les études génétiques les plus récentes confirment que toutes les races domestiques de lapin sont issues de la domestication de lapins sauvages de la sous espèce *O. c. cuniculus* présente en France au Moyen-âge. Bien

que la variabilité génétique des races de lapins reste élevée en comparaison d'autres mammifères domestiques, le processus de domestication et la création des races se sont accompagnés d'un nouvel appauvrissement génétique de l'ordre de 21 %. Le génome de six races de lapins domestiques (Néo-Zélandais, Bélier Français, Lièvre Belge, Hollandais, Géant des Flandres et Argenté de champagne) a été comparé à celui de quatorze lapins sauvages prélevés dans le sud de la France et la péninsule ibérique (Carneiro *et al.*, 2014). Les résultats ne mettent en évidence aucun gène majeur de domestication, mais un nombre très élevé de polymorphismes (variations du génome) répartis sur l'ensemble du génome qui touchent en particulier les régions de régulation des gènes. Ces polymorphismes affectent notamment des gènes impliqués dans le développement du cerveau et du système nerveux. Contrairement au lapin domestique, le lapin sauvage dispose d'une aptitude à prendre rapidement la fuite face à ses différents prédateurs (rapaces, renards, humains). Cette étude a montré que c'est l'accumulation de variations génétiques à petits effets mais sur de très nombreux gènes au cours de la domestication qui a progressivement inhibé cette aptitude, ce qui représente l'un des changements les plus importants dans l'histoire évolutive du lapin et lui confère la notion de domesticité

6. La sélection génomique

La sélection génomique repose sur une nouvelle méthode d'évaluation génétique des animaux candidats à la sélection à partir de l'information d'un très grand nombre de marqueurs SNP (plusieurs dizaines ou centaines de milliers). Dans un premier temps, les caractères d'intérêts (phénotypes) sont enregistrés sur une population qualifiée de référence de taille conséquente (idéalement plus de 1000 individus). Ainsi, pour ces 1000 animaux, on connaît leurs phénotypes et leurs génotypes (c'est-à-dire quel allèle chaque individu a reçu pour chacun des marqueurs SNP présents sur la puce de génotypage).

Ensuite, par différentes méthodes statistiques (GBLUP, méthodes bayésiennes,...) on relie l'information des génotypes aux phénotypes ; on estime ainsi l'effet de chaque allèle des marqueurs SNP sur les caractères d'intérêt. Grâce à cela, on peut prédire un phénotype (ou plus exactement une Valeur Génomique) sur de jeunes candidats à la sélection pour lesquels on dispose uniquement de l'information de génotypage. La Valeur Génomique correspond à la somme des effets des marqueurs SNP de chaque candidat à la sélection. En comparaison avec une sélection classique utilisant le BLUP, il est attendu de la sélection génomique un accroissement du progrès génétique en réduisant l'intervalle de génération (la sélection des candidats peut être réalisée très tôt, à la suite de leur

génotypage), en augmentant l'intensité de sélection (la sélection inclut davantage de candidats) et la précision de l'évaluation génétique (grâce à l'apport d'information moléculaire à forte densité). Ce gain de précision dépend lui-même de la taille effective de la population en sélection, de l'héritabilité du caractère, de la taille de la population de référence et de la distance génétique entre les candidats à la sélection et les animaux de la population de référence.

Chez le lapin, l'intérêt de la sélection génomique réside essentiellement dans l'amélioration de la précision de la sélection car l'intervalle de génération, déjà très court, serait peu impacté, les intensités de sélection étant déjà très élevées. La sélection génomique présente également un intérêt pour les caractères difficiles à mesurer chez des candidats à la sélection, comme la résistance aux maladies, la mesure du phénotype (infection naturelle ou expérimentale) portant seulement sur les animaux de la population de référence. Plusieurs contraintes rendent toutefois la sélection génomique difficile à mettre en place dans les schémas génétiques cuniques. Une population de référence de plusieurs milliers d'individus est nécessaire pour obtenir une précision d'évaluation génétique au moins égale à celle obtenue avec les dispositifs actuels. Or la taille des noyaux de sélection cunicole est généralement faible (une à quelques centaines de femelles) et permet difficilement de générer autant d'individus en contrôle. De plus, les populations de référence devront être renouvelées fréquemment pour préserver la qualité de l'estimation des valeurs génomiques et cela d'autant plus que l'intervalle de génération est très court chez le lapin. Le coût d'un génotypage était encore relativement élevé pour le lapin en 2017 (120 euros). Chez les bovins laitiers la mise en place de la sélection génomique, en se substituant à un testage sur descendance très coûteux (40 000 € par candidat mâle testé en France), a permis de réaliser des économies considérables couvrant les frais de génotypage. Actuellement, chez le lapin, le seul gain de progrès génétique espéré par la sélection génomique couvrira difficilement ces coûts. On peut toutefois espérer une baisse des prix du génotypage ou l'utilisation de puces dédiées à faible densité, et donc moins coûteuse, dans un avenir proche.

7. Projets et perspectives

Le projet RELAPA (génomique pour la REsistance des LAPins à la Pasteurellose), co-financé par l'interprofession CLIPP, le Syselaf et l'institut Carnot Santé Animale, est le premier projet ayant pour but d'utiliser l'information génomique pour identifier des régions du génome associées à la résistance à la pasteurellose, et posant les bases de la sélection génomique pour ce type de caractères. Une population d'un millier de lapins représentative de populations commerciales françaises a été inoculée expérimentalement avec une souche de *Pasteurella*

multocida. La réponse à l'infection a été finement caractérisée, et tous les lapins ont été génotypés avec la puce commerciale Affymetrix 200K. Les analyses en cours laissent présager l'existence d'un déterminisme génétique de la résistance à la Pasteurellose (Gunia et al., 2017).

Un second projet nommé Microrabbits a été lancé par l'INRA en 2014 et se poursuit dans le cadre du programme Européen H2020 Feed-a-Gene. Ce projet est fondé sur un protocole d'adoptions croisées entre une lignée sélectionnée pour l'efficacité alimentaire et une lignée témoin non sélectionnée. 300 lapereaux de chaque lignée ont été contrôlés pour leur croissance et leur consommation d'aliment entre le sevrage et 63 jours d'âge, puis génotypés avec la puce Affymetrix 200 K. Des études de recherche de QTL vont permettre d'identifier les régions du génome du lapin impliquées dans l'efficacité alimentaire. Parallèlement, un échantillon de contenu caecal a été collecté sur chacun des lapereaux. La composition du microbiote intestinal des animaux sera décrite par la méthode du séquençage de la région variable du gène de l'ARNr 16S qui permet d'identifier et d'évaluer la proportion des différentes familles microbiennes (Combes *et al.*, 2011). Les objectifs du projet sont de déterminer la part relative de la variabilité de l'efficacité alimentaire expliquée par le microbiote, transmis par la mère, et celle expliquée par le génotype de l'hôte pour proposer des critères et des méthodes afin de sélectionner conjointement l'hôte et son microbiote.

Conclusions

Le lapin est véritablement entré dans l'ère de la génomique avec le séquençage de son génome, qui a ouvert la voie à des travaux permettant de mieux comprendre l'histoire évolutive de cette espèce. Les gènes caractérisant le pelage sont les mieux connus chez le lapin, d'autres gènes affectant la croissance, la reproduction et la résistance aux troubles digestifs ont pu être caractérisés depuis 2010. La création d'une puce à 200 000 marqueurs SNP pour le lapin en 2016 marque un second tournant pour l'espèce. Cet outil va permettre d'approfondir la connaissance des gènes et régions du génome lié aux caractères d'intérêt et ouvre la porte à de nouvelles stratégies de sélection utilisant l'information génomique.

Références

Argente M.J., Merchán M., Peiró R., García M.L., Santacreu M.A., Folch J.M., Blasco A. 2010. Candidate gene analysis for reproductive traits in two lines of rabbits divergently selected for uterine capacity. *J. Anim. Sci.*, 88, 828-836.

Bennett D.C., Lamoreux M.L. 2003. The color loci of mice - a genetic century. *Pigment Cell Res.*, 16, 333-344.

Blott S., Kim J.J., Moisis S., Schmidt-Küntzel A., Cornet A., Berzi P., Cambisano N., Ford C., Grisart B., Johnson D., Karim L., Simon P., Snell R., Spelman R., Wong J., Vilkki J., Georges M., Farnir F., Coppieters W. 2003. Molecular dissection of a quantitative trait locus: a phenylalanine-to-

tyrosine substitution in the transmembrane domain of the bovine growth hormone receptor is associated with a major effect on milk yield and composition. *Genetics*, 163, 253-266.

Bultman S.J., Michaud E.J., Woychik R.P. 1992. Molecular characterization of the mouse agouti locus. *Cell*, 71, 1195-1204.

Callou C., 2003. De la garenne au clapier: étude archéozoologique du lapin en Europe occidentale. Muséum National d'Histoire Naturelle, Paris, 358 p.

Carneiro M., Afonso S., Geraldes A., Garreau H., Bolet G., Boucher S., Tircazes A., Queney G., Nachman M.W., Ferrand N., 2011. The genetic structure of domestic rabbits. *Molecular Biology and Evolution*, 28, 1801-1816.

Carneiro M., Rubin C.J., Di Palma F., Albert F.W., Alföldi J., Barrio A.M., Pielberg G., Rafati N., Sayyab S., Turner-Maier J., Younis S., Afonso S., Aken B., Alves J.M., Barrell D., Bolet G., Boucher S., Burbano H.A., Campos R., Chang J.L., Duranthon V., Fontanesi L., Garreau H., Heiman D., Johnson J., Mage R.G., Peng Z., Queney G., Rogel Gaillard C., Ruffier M., Searle S., Villafuerte R., Xiong A., Young S., Forsberg-Nilsson K., Good J.M., Lander E.S., Ferrand N., Lindblad-Toh K., Andersson L., 2014. Rabbit genome analysis reveals a polygenic basis for phenotypic change during domestication. *Science*, 345, 1074-1079.

Carneiro, M., Hu, D., Archer, Feng, Afonso, Chen, C., Blanco-Aguiar, J. A., Garreau, H., Boucher, S., Ferreira, P. G., Ferrand, N., Rubin, Andersson, L. (2017). Dwarfism and Altered Craniofacial Development in Rabbits Is Caused by a 12.1 kb Deletion at the HMGA2 locus. *Genetics*, 205 (2), 955-965. DOI : 10.1534/genetics.116.196667

Clop A., Marcq F., Takeda H., Pirotin D., Tordoir X., Bibé B., Bouix J., Caiment F., Elsen J.M., Eychenne F., Larzul C., Laville E., Meish F., Milenkovic D., Tobin J., Charlier C., Georges M. 2006. A mutation creating a potential illegitimate microRNA target site in the myostatin gene affects muscularity in sheep. *Nat. Genet.*, 38, 813-818.

Chantry-Darmon C., Urien C., Hayes H., Bertaud M., Chadi-Taourit S., Chardon P., Vaiman D., Rogel-Gaillard C., 2005. Construction of a cytogenetically anchored microsatellite map in rabbit. *Mamm Genome*. Jun;16(6):442-59. PubMed PMID: 16075371.

Chantry-Darmon C., Urien C., de Rochambeau H., Allain D., Pena B., Hayes H., Grohs C., Cribru E.P., Deretz-Picoulet S., Larzul C., Save J.C., Neau A., Chardon P., Rogel-Gaillard C., 2006 A first-generation microsatellite-based integrated genetic and cytogenetic map for the European rabbit (*Oryctolagus cuniculus*) and localization of angora and albino. *Anim Genet*. Aug;37(4):335-41. PubMed PMID: 16879342.

Chen S.Y., Zhang W.X., Zhang G.W., Peng J., Zhao X.B. and Lai S.J. 2013. Case-control study and mRNA expression analysis reveal the MyD88 gene is associated with digestive disorders in rabbit. *Animal Genetics* 44, 703-10.

Combes S., Fortun-Lamothe L., Cauquil L., Gidenne T., 2011. Piloter l'écosystème digestif du lapin : pourquoi, quand et comment ? In : 14èmes J. Rech. Cunicoles Fr, Le Mans (INRA ed.), ITAVI publ.,

Diribarne M., Mata X., Chantry-Darmon C., Vaiman A., Auvinet G., Bouet S., Deretz S., Cribru E., De Rochambeau H., Allain D., Guerin G., 2011. A Deletion In Exon 9 Of The LIPH Gene Is Responsible For The Rex Hair Coat Phenotype In Rabbits (*Oryctolagus Cuniculus*). *PLoS ONE*, 6(4), E19281.

Estellé J., Sastre Y., Merchán M., Peiró R., Santacreu M.A., Folch J.M. 2006. TIMP-1 as candidate gene for embryo survival in two divergent lines selected for uterine capacity in rabbits. *Mol. Reprod. Dev.*, 73, 678-684.

Fontanesi L., The rabbit in the genomics era: applications and perspectives in rabbit biology and breeding. 2016. In: 11th World Rabbit Congress., Qingdao, China. p 3-18.

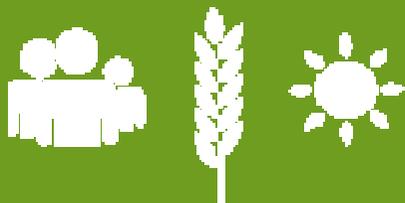
- Fontanesi L., Tazzoli M., Beretti F., Russo V. 2006. Mutations in the melanocortin 1receptor (MC1R) gene are associated with coat colours in the domestic rabbit (*Oryctolagus cuniculus*). *Anim. Genet.*, 37, 489-493.
- Fontanesi L., Forestier L., Allain D., Scotti E., Beretti F., Deretz-Picoulet S., Pecchioli E., Vernesi C., Robinson T.J., Malaney J.L., Russo V., Oulmouden A. 2010a. Characterization of the rabbit agouti signaling protein (ASIP) gene: transcripts and phylogenetic analyses and identification of the causative mutation of the nonagouti black coat colour. *Genomics*, 95, 166-175.
- Fontanesi L., Scotti E., Colombo M., Beretti F., Forestier L., Dall'Olio S., Deretz S., Russo V., Allain D., Oulmouden A. 2010b. A composite six bp in-frame deletion in the melanocortin 1 receptor (MC1R) gene is associated with the Japanese brindling coat colour in rabbits (*Oryctolagus cuniculus*). *BMC Genet.*, 11, 59.
- Fontanesi L., Vargiolu M., Scotti E., Mazzoni M., Clavanzani P., De Giorgio R., Romeo G., Russo V. 2010c. Endothelin receptor B (EDNRB) is not the causative gene of the English spotting locus in the domestic rabbit (*Oryctolagus cuniculus*). *Anim. Genet.*, 41, 669-670.
- Fontanesi L., Scotti E., Frabetti A., Fornasini D., Piccone A., Russo V. 2011. Identification of polymorphisms in the rabbit (*Oryctolagus cuniculus*) myostatin (MSTN) gene and association analysis with finishing weight in a commercial rabbit population. *Anim. Genet.*, 42, 339.
- Fontanesi L., Dall'Olio S., Spaccapaniccia E., Scotti E., Fornasini D., Frabetti A., Russo V. 2012a. A single nucleotide polymorphism in the rabbit growth hormone (GH1) gene is associated with market weight in a commercial rabbit population. *Livest. Sci.*, 147, 84-88.
- Fontanesi L., Mazzoni G., Bovo S., Frabetti A., Fornasini D., Dall'Olio S., Russo V. 2012b. Association between a polymorphism in the IGF2 gene and finishing weight in a commercial rabbit population. *Anim. Genet.*, 43, 651-652.
- Fontanesi L., Scotti E., Dall'Olio S., Oulmouden A., Russo V. 2012d. Identification and analysis of single nucleotide polymorphisms in the myosin VA (MYO5A) gene and its exclusion as the causative gene of the dilute coat colour locus in rabbit. *World Rabbit Sci.*, 20, 35-41.
- Fontanesi L., Scotti E., Cisarova K., Di Battista P., Dall'Olio S., Fornasini D., Frabetti A. 2013. A missense mutation in the rabbit melanocortin 4 receptor (MC4R) gene is associated with finishing weight in a meat rabbit line. *Anim. Biotechnol.*, 24, 268-277.
- Fontanesi L., Scotti E., Allain D., Dall'Olio S. 2014a. A frameshift mutation in the melanophilin (MLPH) gene causes the dilute coat colour in rabbit (*Oryctolagus cuniculus*) breeds. *Anim. Genet.*, 45, 248-255.
- Fontanesi L., Vargiolu M., Scotti E., Latorre R., Fausone Pellegrini M.S., Mazzoni M., Asti M., Chiochetti R., Romeo G., Clavanzani P., De Giorgio R. 2014b. The KIT gene is associated with the English spotting coat color locus and congenital megacolon in Checkered Giant rabbits (*Oryctolagus cuniculus*). *PLoS One*, 9, e93750.
- Fontanesi L., Sparacino G., Utzeri V.J., Scotti E., Fornasini D., Dall'Olio S., Frabetti A. 2016. Identification of polymorphisms in the rabbit growth hormone receptor (GHR) gene and association with finishing weight in a commercial meat rabbit line. *Anim. Biotechnol.*, 27, 77-83.
- Fu, L., Yang, Z.J., Chen, S.Y., Wang, J. and Lai, S.J. 2014. Investigation of JAK1 and STAT3 polymorphisms and their gene-gene interactions in nonspecific digestive disorder of rabbits. *Gene* 543, 8-14.
- García M.L., Peiró R., Argente M.J., Merchán M., Folch J.M., Blasco A., Santacreu M.A. 2010. Investigation of the oviductal glycoprotein 1 (OVGP1) gene associated with embryo survival and development in the rabbit. *J. Anim. Sci.*, 88, 1597-1602.
- Grobet L., Royo Martin L.J., Poncelet D., Pirottin D., Brouwers B., Riquet J., Scheberlein A., Dunner S., Ménéssier F., Massabanda J., Fries R., Hanset R., Georges M. 1997. A deletion in the bovine myostatin gene causes the double-muscling phenotype in cattle. *Nature Genet.*, 17, 71-74.
- Gunia M., Lantier F., Babilliot J.-M., Balmisse E., Bed'hom B., Belmonte E., Bertagnoli S., Boucher S., Breton S., Chambellon E., Chaumeil T., Coisne F., Delaunay R., Fadeau A., Guillon E., Helies V., Hurtaud J., Jardet D., Kempf F., Lantier I., Lavillate S., Le Cren D., Lenoir G., Le Normand B., Marais C., Maupin M., Morin H., Poncet C., Pujol S., Robert R., Rossignol C., Ruesche J., Sarce F., Thiebot C., Helloin E., Garreau H. 2017. Premiers résultats du projet relapa : génomique pour la résistance génétique des lapins à la pasteurellose. In : 17^{èmes} J. Rech. Cunicoles Fr, Le Mans (INRA ed.), ITAVI publ.,
- Hayes H., Rogel-Gaillard C., Zijlstra C., De Haan N.A., Urien C., Bourgeaux N., Bertaud M., Bosma A.A. 2002. Establishment of an R-banded rabbit karyotype nomenclature by FISH localization of 23 chromosome-specific genes on both G- and R-banded chromosomes. *Cytogenet. Genome Res.*, 98(2-3):199-205. PubMed PMID: 12698004.
- Kambadur R., Sharma M., Smith T.P.L., Bass J.J. 1997. Mutations in myostatin (GDF8) in double-muscling Belgian Blue and Piedmontese cattle. *Genome Res.*, 7, 910-915.
- Kim K.S., Larsen N., Short T., Plastow G., Rothschild M.F. 2001. A missense variant of the porcine melanocortin-4 receptor (MC4R) gene is associated with fatness, growth, and feed intake traits. *Mamm. Genome*, 11, 131-135.
- Korstanje R., O'Brien P.C.M., Yang F., Rens W., Bosma A.A., Van Lith H.A., Van Zutphen L.F.M., Ferguson-Smith M.A., 1999. Complete homology maps of rabbit (*Oryctolagus cuniculus*) and human by reciprocal chromosome painting, *Cytogenet Cell Genet*, 86, 317-322.
- Korstanje R., Gillissen G.F., Versteeg S.A., Van Oost B.A., Bosma A.A., Rogel-Gaillard C., Van Zutphen L.F.M., Van Lith, H.A., 2003. Mapping of rabbit microsatellite markers using chromosome-specific libraries. *J. Hered*, 94, 161-169.
- Lagziel A., Lipkin E., Soller M. 1996. Association between SSCP haplotypes at the bovine growth hormone gene and milk protein percentage. *Genetics*, 142, 945-951.
- Lindblad-Toh K., Garber M., Zuk O., Lin M.F., Parker B.J., Washietl S., Kheradpour P., Ernst J., Jordan G., Mauceli E., Ward L.D., Lowe C.B., Holloway A.K., Clamp M., Gnerre S., Alföldi J., Beal K., Chang J., Clawson H., Cuff J., Di Palma F., Fitzgerald S., Flicek P., Guttman M., Hubisz M.J., Jaffe D.B., Jungreis I., Kent W.J., Kostka D., Lara M., Martins A.L., Massingham T., Moltke I., Raney B.J., Rasmussen M.D., Robinson J., Stark A., Vilella A.J., Wen J., Xie X., Zody M.C.; Broad Institute Sequencing Platform and Whole Genome Assembly Team, Baldwin J., Bloom T., Chin C.W., Heiman D., Nicol R., Nusbaum C., Young S., Wilkinson J., Worley K.C., Kovar C.L., Muzny D.M., Gibbs R.A.; Baylor College of Medicine Human Genome Sequencing Center Sequencing Team, Cree A., Dihn H.H., Fowler G., Jhangiani S., Joshi V., Lee S., Lewis L.R., Nazareth L.V., Okwuonu G., Santibanez J., Warren W.C., Mardis E.R., Weinstock G.M., Wilson R.K.; Genome Institute at Washington University, Delehaunty K., Dooling D., Fronik C., Fulton L., Fulton B., Graves T., Minx P., Sodergren E., Birney E., Margulies E.H., Herrero J., Green E.D., Haussler D., Siepel A., Goldman A., Pollard K.S., Pedersen J.S., Lander E.S., Kellis M. 2011. A high-resolution map of human evolutionary constraint using 29 mammals. *Nature*, 478, 476-482.
- Liu W.C., Chen S.Y., Jia X.B., Wang J., Lai S.J. 2014. Effects of variants in proopiomelanocortin and neuropeptide y genes on growth, carcass, and meat quality traits in rabbits. *Asian-Australas J. Anim. Sci.*, 27, 609-615.
- Liu W.C., Zeng Y., Chen S.Y., Jia X. B., Lai S.J. 2017. The polymorphism and gene expression of chemokine receptor 6 is associated with digestive disorders in rabbits. *Indian J. Anim. Res.*, 51 (2) : 269-274.
- Liu Y.F., Zhang G.W., Xiao Z.L., Yang Y., Deng X.S., Chen S.Y., Wang J., Lai S.J. 2013. Single Nucleotide

- Polymorphisms of NLRP12 Gene and Association with Non-specific Digestive Disorder in Rabbit. *Asian-Australas J. Anim. Sci.*, 26, 1072-1079.
- McPherron A.C., Lawler A.M., Lee S.-J. 1997. Regulation of skeletal muscle mass in mice by a new TGF- superfamily member. *Nature*, 387, 83-90.
- McPherron A.C., Lee S.-J. 1997. Double muscling in cattle due to mutations in the myostatin gene. *Proc. Natl. Acad. Sci, USA*, 94, 12457-12461.
- Miller I., Rogel-Gaillard C., Spina D., Fontanesi L., de Almeida A.M. 2014. The rabbit as an experimental and production animal: from genomics to proteomics. *Curr Protein Pept Sci. Mar*;15(2):134-45. Review. PubMed PMID: 24555894.
- Peng J., Zhang G.W., Zhang W.X., Liu Y.F., Yang Y., Lai S.J. 2013. Rapid genotyping of mstn gene polymorphism using high-resolution melting for association study in rabbits. *Asian-Australas J. Anim. Sci.*, 26, 30-35.
- Peiró R., Merchán M., Santacreu M.A., Argente M.J., García M.L., Folch J.M., Blasco A. 2008. Identification of single-nucleotide polymorphism in the progesterone receptor gene and its association with reproductive traits in rabbits. *Genetics*, 180, 1699-1705.
- Peiró R., Herrler A., Santacreu M.A., Merchán M., Argente M.J., García M.L., Folch J.M., Blasco A. 2010. Expression of progesterone receptor related to the polymorphism in the PGR gene in the rabbit reproductive tract. *J. Anim. Sci.*, 88, 421-427.
- Robbins L.S., Nadeau J.H., Johnson K.R., Kelly M.A., Roselli-Reh fuss L., Baack E., Mountjoy K.G., Cone R.D. 1993. Pigmentation phenotypes of variant extension locus alleles result from point mutations that alter MSH receptor function. *Cell*, 72, 827-834.
- Robinson R. 1958. Genetic studies of the rabbit. *Bibliogr. Genet.*, 17, 229-558.
- Rogel-Gaillard C., Piumi F., Billault A., Bourgeaux N., Save J.C., Urien C., Salmon J., Chardon P., 2001. Construction of a rabbit bacterial artificial chromosome (BAC) library: application to the mapping of the major histocompatibility complex to position 12q.1.1. *Mamm Genome. Mar*;12(3):253-5. PubMed PMID: 11252177.
- Rogel-Gaillard C., Chantry-Darmon C., Hayes H., 2008. Les données récentes sur le génome du lapin. *Biofutur*, 287, 28-31.
- Rogel-Gaillard C., Ferrand N., Hayes H., 2009. Rabbit. In : *Genome Mapping and Genomics in Domestic Animals* (N.E. Cockett C.K., eds), Springer Berlin Heilderberg, 165-230.
- Searle A.G. 1968. Comparative genetics of coat colour in mammals. Logos Press, London, UK.
- Sternstein I., Reissmann M., Maj D., Bieniek J., Brockmann G.A. 2015. A comprehensive linkage map and QTL map for carcass traits in a cross between Giant Grey and New Zealand White rabbits. *BMC Genet.*, 16, 16.
- Sternstein I., Reissmann M., Maj D., Bieniek J., Brockmann G.A. 2015. A new single nucleotide polymorphism in the rabbit (*Oryctolagus cuniculus*) myostatin (MSTN) gene is associated with carcass composition traits. *Anim. Genet.*, 45, 4, 596-599.
- Strychalski J., Brym P., Czarnik U., Gugolek A. 2015. A novel AAT-deletion mutation in the coding sequence of the BCO2 gene in yellow-fat rabbits. *J. Appl. Genet.*, 56, 535-537.
- Tian R., Pitchford W.S., Morris C.A., Cullen N.G., Bottema C.D. (2010) Genetic variation in the beta, beta-carotene-9', 10'-dioxygenase gene and association with fat colour in bovine adipose tissue and milk. *Anim. Genet.*, 41, 253-259.
- Våge D.I., Boman I.A. 2010. A nonsense mutation in the beta-carotene oxygenase 2 (BCO2) gene is tightly associated with accumulation of carotenoids in adipose tissue in sheep (*Ovis aries*). *BMC Genet.*, 11, 10.
- Van Laere A.-S., Nguyen M., Braunschweig M., Nezer C., Collette C., Moreau L., Archibald A. L., Haley C.S., Buys N., Tally M., Andersson G., Georges M., Andersson L. 2003. A regulatory mutation in IGF2 causes a major QTL effect on muscle growth in the pig. *Nature*, 425, 832-836.
- Wang J., Li G., Elzo M. A., Yan L., Chen S., Jia X., Lai S. 2015. A novel single nucleotide polymorphism of the POU1F1 gene associated with meat quality traits in rabbits. *Ann. Anim. Sci.*, 15, 611-620.
- Yamamoto T., Bishop R.W., Brown M.S. 1986. Deletion in cysteine-rich region of LDL receptor impedes transport to cell surface in WHHL rabbit. *Science*, 232, 1230-1237.
- Zhang G.W., Wang H.Z., Chen S.Y., Li Z.C., Zhang W.X., Lai S.J. 2011. A reduced incidence of digestive disorders in rabbits is associated with allelic diversity at the TLR4 locus. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, 144, 482-486.
- Zhang W.X., Zhang G.W., Peng J., Lai S.J. 2012. The polymorphism of GHR gene associated with the growth and carcass traits in three rabbit breeds. In: 10th World Rabbit Congress, 2012, Sharm El-Sheikh, Egypt, 75-78.
- Zhang G.W., Gao L., Chen S.Y., Zhao X.B., Tian Y.F., Wang X., Deng X.S., Lai S.J. 2013a. Single nucleotide polymorphisms in the FTO gene and their association with growth and meat quality traits in rabbits. *Gene*, 527, 553-557.
- Zhang G.W., Zhang W.X., Chen S.Y., Yoshimura Y., Isobe N., Lai S.J. 2013b. Dectin-1 gene polymorphism is associated with susceptibility to nonspecific digestive disorders and cytokine expression in rabbits. *J. Anim. Sci.*, 91, 4051-4059.
- Zhang W.X., Zhang G.W., Peng J., Zhang J.L., Yang Y., Lai S.J., 2013c. A synonymous mutation in NOD2 gene was significantly associated with non-specific digestive disorder in rabbit. *Gene* 516:193-7.



LA GENOMIQUE DU LAPIN : AVANCEES, APPLICATIONS ET PERSPECTIVES

Hervé Garreau, Mélanie Gunia



SOMMAIRE

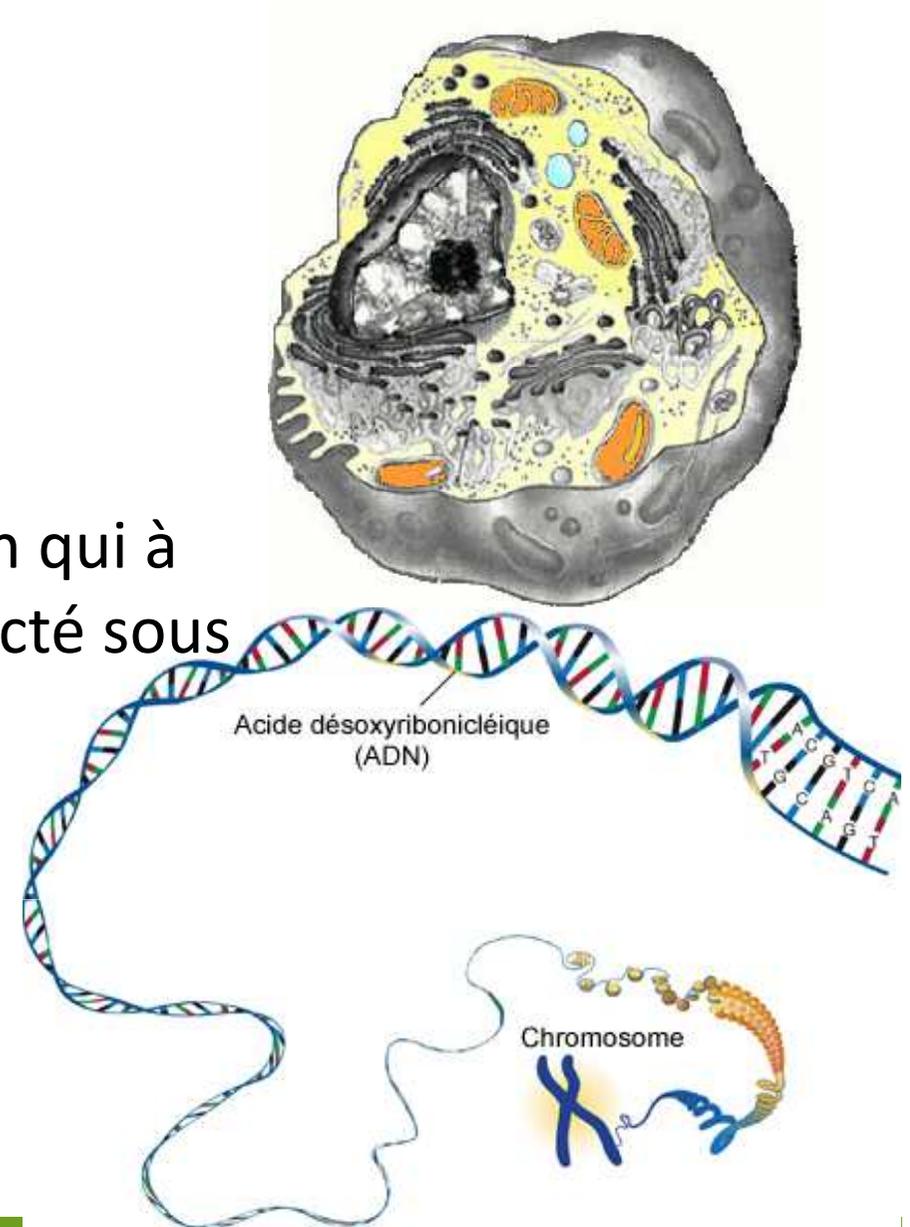
- ❖ Le génome du lapin
- ❖ Recherche de QTL (Quantitative traits loci).
- ❖ Analyse de gènes candidats.
- ❖ Identification de mutations causales.
- ❖ Etude de l'évolution et de la domestication du lapin.
- ❖ La sélection génomique
- ❖ Projets et perspectives.

_01

Le génome du lapin

Les chromosomes: support de l'hérédité

- L'ADN (Acide désoxyribonucléique) est contenu dans le noyau de chaque cellule
- L'ADN est sous forme d'un long brin qui à certains stades de la vie est compacté sous forme de chromosomes

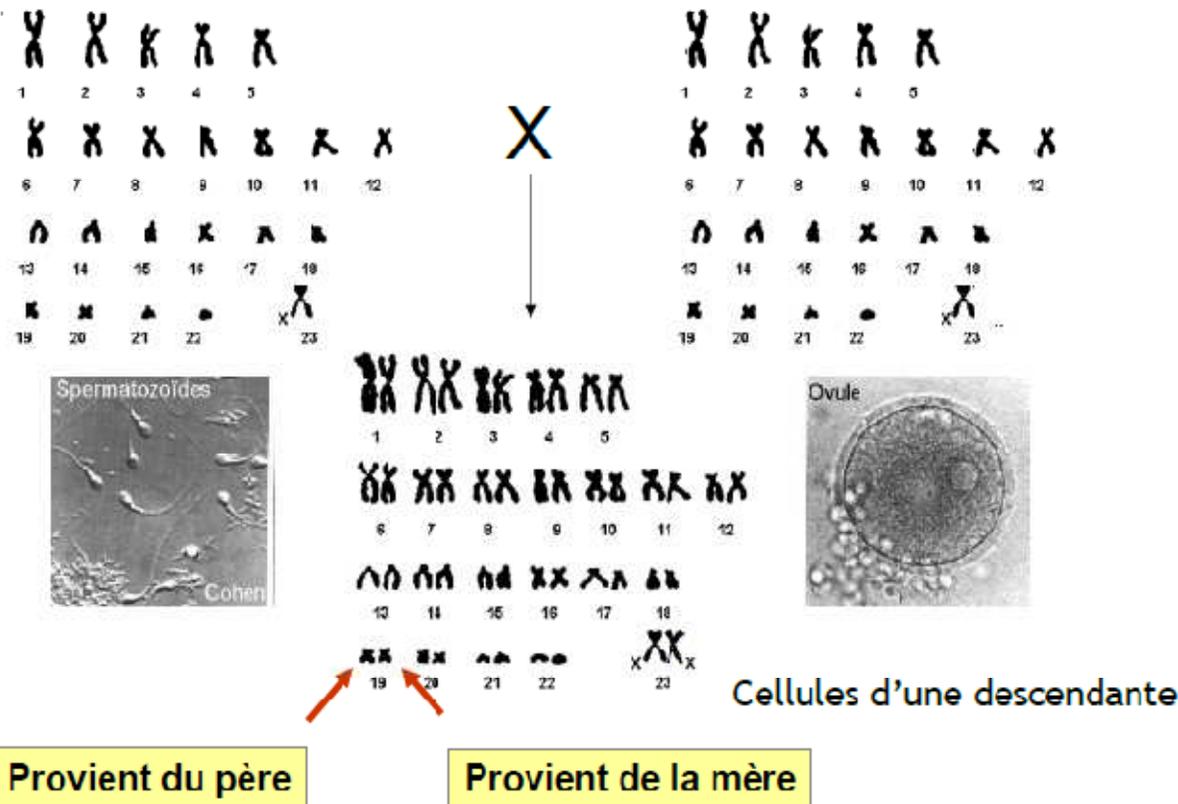


Les chromosomes: support de l'hérédité

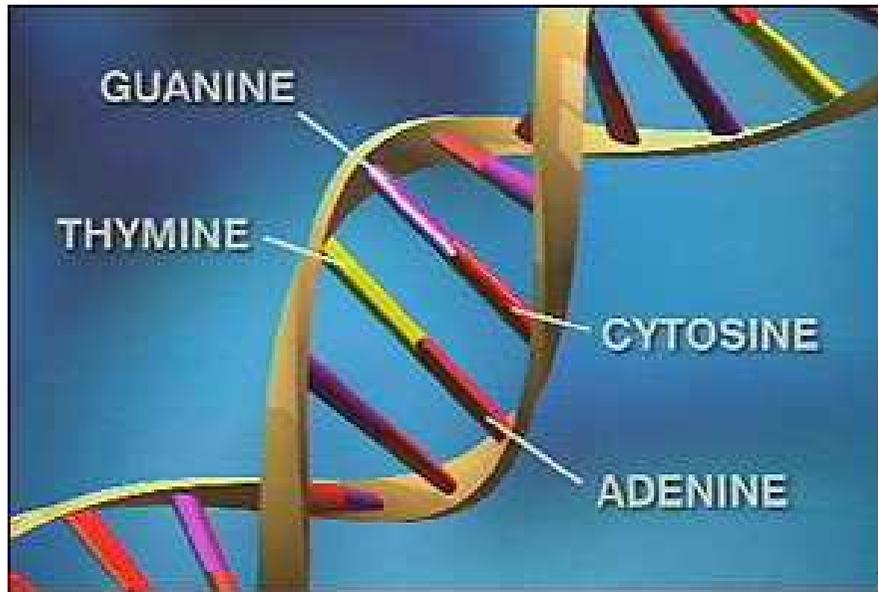
- 23 paires de chromosomes chez l'homme (21 chez le lapin)
+ 2 chromosomes sexuels XX (femelle) XY (mâle)
Paires constituées par la fusion des gamètes à la fécondation

Cellule sexuelle d'un père

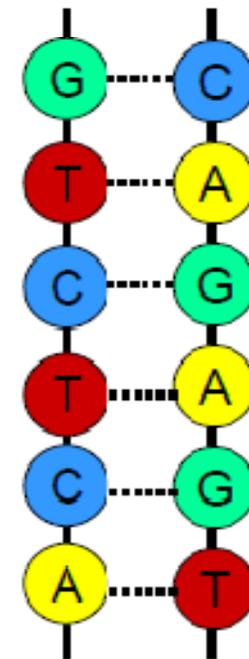
Cellule sexuelle d'une mère



L'ADN

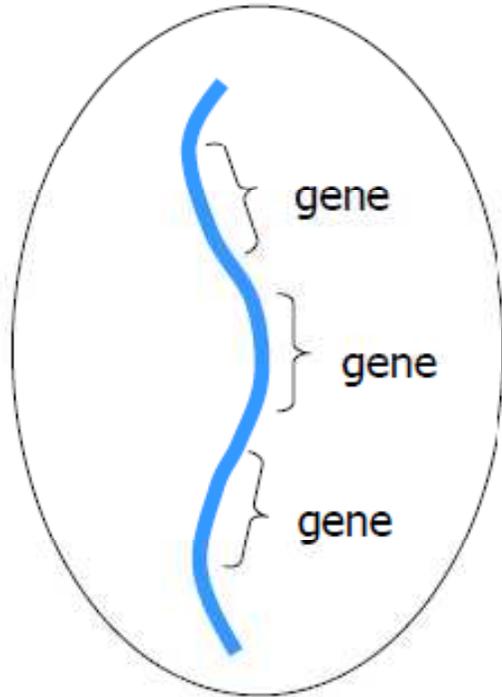


- L'ADN est un double brin en hélice, composé de 4 bases A T C G



- Il y a 3 milliards de bases dans le génome des mammifères
- Dans le noyau d'une cellule, les filaments d'ADN font au total 2 mètres de long environ

L'ADN



- Les gènes sont les régions qui codent des protéines
- Les portions d'ADN codant représentent 5 % de l'ADN total
- De 20 000 à 30 000 gènes chez les mammifères

Les marqueurs de l'ADN

Un marqueur est une portion d'ADN

- qui présente des variations entre individus
- facile à observer : méthode de génotypage rapide et peu coûteuse



Les marqueurs de l'ADN



Marqueur microsatellite :
variation dans le nombre de répétitions d'une séquence

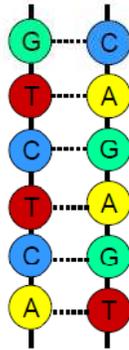
Individu **A**
TATAG**G**CGTACTGAT

Individu **B**
TATAG**T**CGTACTGAT

Marqueur SNP (Single Nucleotide Polymorphism) :
variation d'une seule base

Le séquençage du génome (2014)

- Le séquençage consiste à déterminer l'ordre linéaire des bases A, T, G, C sur l'ensemble du génome



- Réalisé par un consortium international dans le cadre du *Mammalian Genome Project*



Meilleure connaissance du génome humain par l'étude des séquences conservées entre espèces



Lindblad-Toh *et al.*, 2011 ; Miller *et al.*, 2014

Le programme européen « Rabbit Genome Biology »

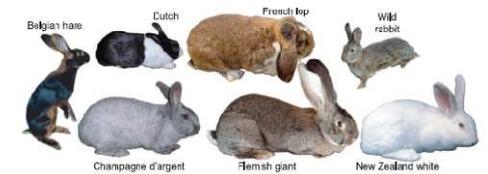
- Annotation du génome = localisation et description de la fonction biologique des gènes

➔ 19 203 gènes codants, 3 375 gènes non-codants

http://www.ensembl.org/Oryctolagus_cuniculus/Info/Annotation

- Séquençage de 6 races domestiques et sauvage

➔ Identification de 51 millions de marqueurs SNP



Carneiro *et al.*, 2014

- Elaboration d'un panel de 200 000 marqueurs SNP et production de la première puce SNP haut débit (200 K)



Puce = Grille de lecture des marqueurs



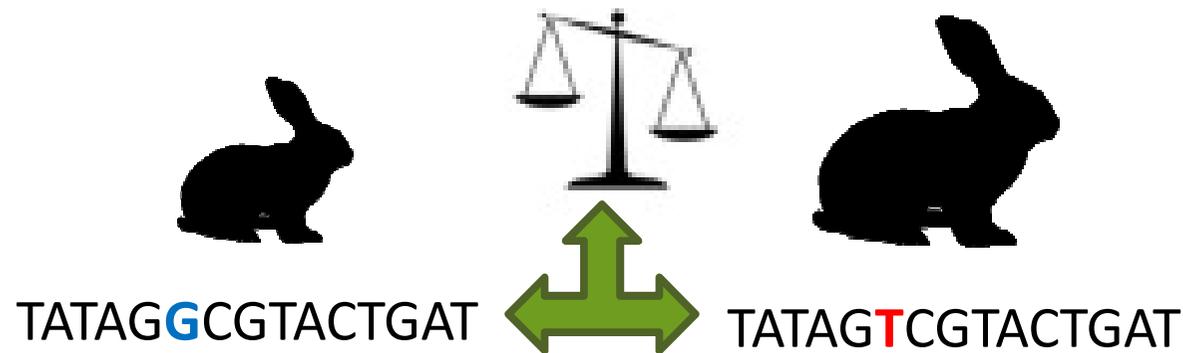
_01

Recherche de QTL (Quantitative Trait Loci)

Régions du génome liées à des phénotypes

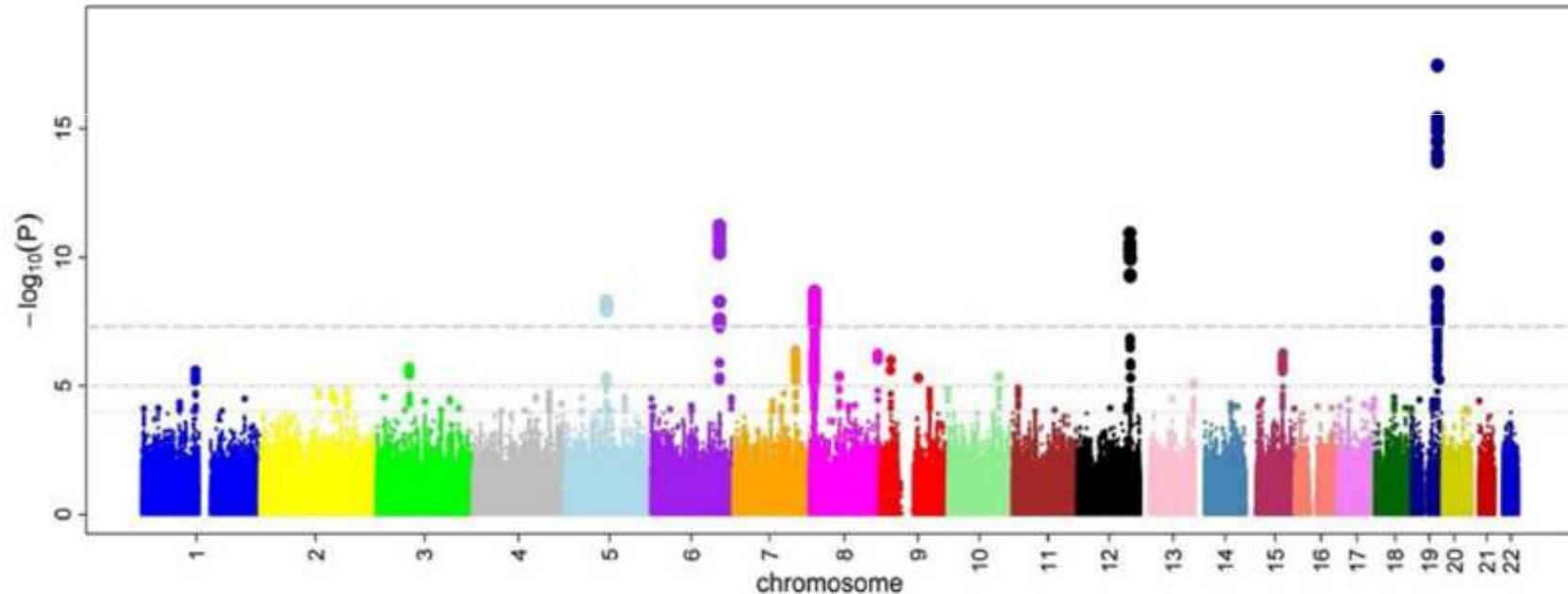
Principe de la détection de QTL

- Identification des régions chromosomiques impliquées dans l'expression des caractères
- Mise en évidence statistique d'un lien entre la forme des marqueurs et la valeur phénotypique des caractères



Principe de la détection de QTL

- P value (valeur statistique d'association) calculée pour chaque SNP



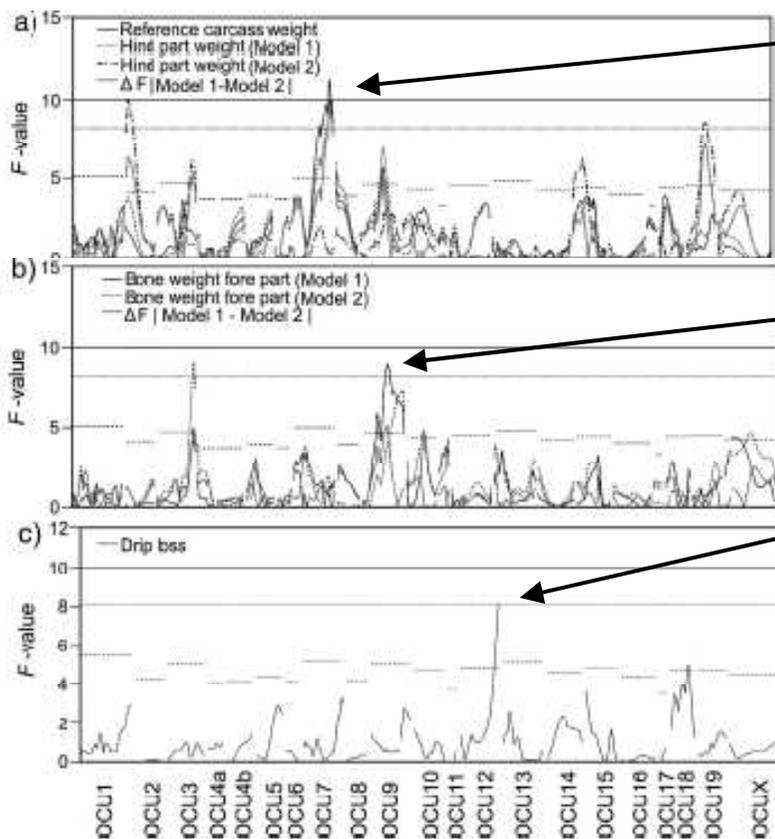
- Manhattan plot : représentation graphique des valeurs $-\text{Log}_{10}(P)$

P value faible (effet très significatif) → fortes valeurs de $-\text{Log}_{10}(P)$

Une seule étude de QTL publiée en lapin

Sternstein et al., 2015

- Caractères de croissance et de qualité de viande mesurés sur 360 Lapins croisés F2
- 189 marqueurs microsatellites répartis sur les 23 chromosomes



Poids de carcasse : Chromosome 7

Poids des os: Chromosome 9

Pertes en eau ressuyage: Chromosome 12

Faible nombre de marqueurs

➔ Régions génomiques très larges

➔ Identification des gènes impossible

_01

Analyse des gènes candidats

Principe de l'analyse de gènes candidats

Etudier l'association entre les allèles d'un gène connu et l'expression de caractères

Etape 1

Sélection d'une liste de gènes dont les fonctions sont connues

exemple: gène de la myostatine -> hypermuscularité en bovin, ovin

Etape 2

Identifier des variations de l'ADN pour ces gènes

Etape 3

Validation statistique de la liaison entre la variation du gène et la variation du caractère

Analyse de gènes candidats

Fontanesi, 2015

Caractères	Gènes	Nb publi
Croissance et carcasse	Myostatine	3
	Axe somatotrope (GH1, GHR, IGF2,) mélanocortine (MC4R, POMC), IRS1, NPY, PGAM2	12
Reproduction	Récepteurs hormonaux (OVGP1, PGR) et enzyme (TIMP1)	3
Résistances aux maladies	Gènes du CMH impliqués dans la réponse immunitaire (TLR4, Dectin-1, MyD88, NLRP12, JAK1, STAT3, CCR6)	10

Les allèles favorables sont souvent les plus fréquents dans les populations

Analyse de gènes candidats

Intérêts

- Recherche rapide et à moindre coûts de polymorphismes intéressants

Limites

- On ne connaît pas à priori :
 - La variabilité des gènes dans les populations étudiées
 - La valeur de l'effets de la variation du gène sur le caractère

_01

Identification de mutations causales

L'identification de mutations causales

La mutation causale est la variation de la séquence d'un gène qui détermine le caractère étudié

permet de mieux comprendre la fonction du gène impliqué et les mécanismes biologiques sous-jacents à l'élaboration du phénotype

Etape 1

Recherche de gènes candidats dans les régions identifiées par recherche de QTL

Etape 2

Validation statistique de la liaison entre la variation du gène et la variation du caractère

Description des effets biologiques de la mutation

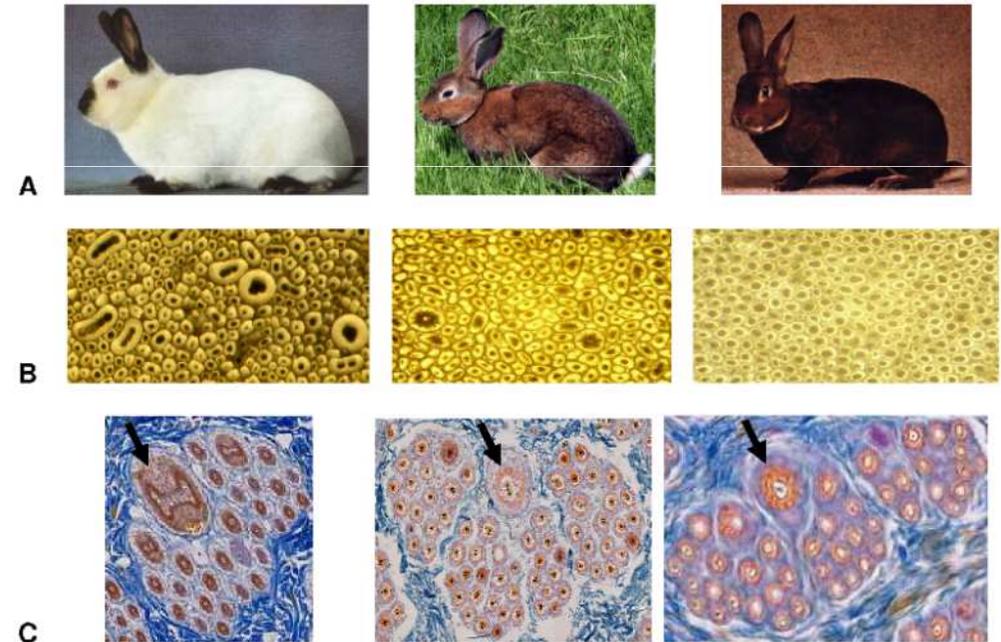
Le gène Rex

- Mutation du gène *LIPH* (délétion d'1 base)
 - ➔ Protéine *LIPH* tronquée - 19 acides aminés
 - ➔ La protéine *LIPH* est une enzyme qui intervient dans le métabolisme lipidique (migration, différenciation et prolifération cellulaire)

Migration et prolifération des kératinocytes sont affectés

- ➔ Absence de jarres ou jarres très courts

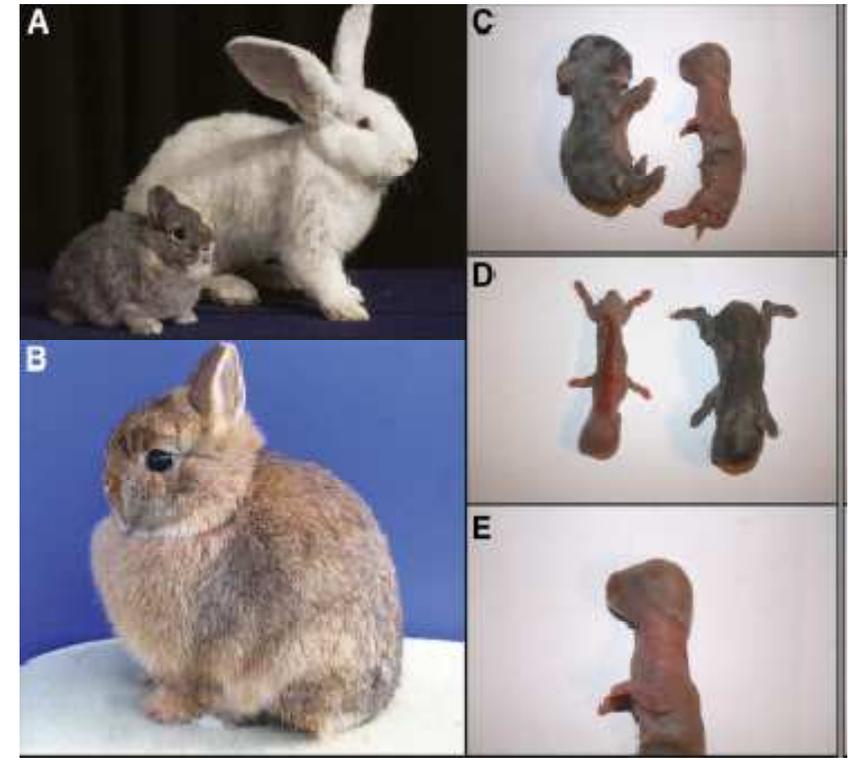
Diribarne et al, 2011



Gène du nanisme

Carneiro *et al*, 2017

- Le gène *HMGA2* est inactivé par une mutation (délétion de 12 Kb)
 - ➔ inactivation du gène *IGF2BP2* qui régule l'expression des gènes mitochondriaux
 - ➔ Altération de la croissance et du développement cranofacial



Génotype *HMGA2*: Délétion ou sauvage (+)

Phénotype	Nb races	Nb ind.	Génotype <i>HMGA2</i> : Délétion ou sauvage (+)		
			<i>Del/del</i>	<i>Del/+</i>	<i>+/+</i>
Peanut †	3	19	19	0	0
Nain	1	20	0	16	4
Normal	6	40	0	0	40

_01

Etude de l'évolution et de la domestication du lapin

Spéciation et création des races

Etude des marqueurs génétiques:

- races domestiques issues de domestication *O. c. cuniculus*
- Pertes de variabilité génétique:
 - Migration : 12 %
 - Domestication : 21 %
 - Reste élevée / autres espèces d'élevage

- 2 M années:
Différentiation

Oryctolagus Cuniculus Algeris
Ancêtre du lapin européen



Oryctolagus Cuniculus Cuniculus
Lapin domestique

Moyen Age: début de la domestication.



Oryctolagus Cuniculus Cuniculus
Lapin sauvage français

- 10 000 ans: Migration



Oryctolagus Cuniculus Cuniculus
Lapin sauvage espagnol

Biju-Duval, 1991 ; Rogel-Gaillard *et al.*, 2009
Carneiro *et al.*, 2011

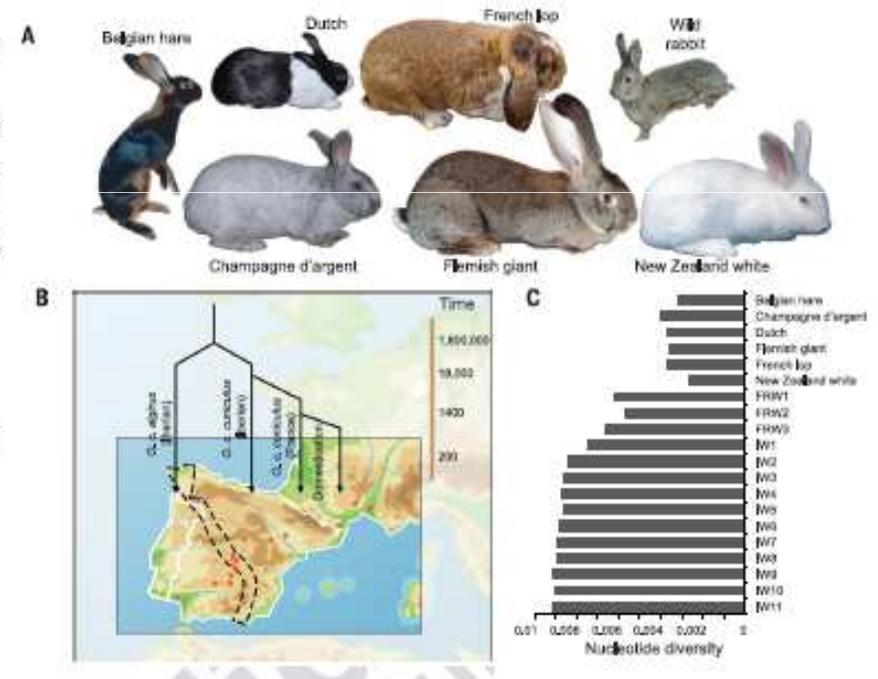
Etude de la domestication

Carneiro *et al.*, 2014



How the wild rabbit became domesticated

Fig. 1. Experimental design and population data. (A) Images of the six rabbit breeds included in the study (sized to reflect differences in body weight) and of a wild rabbit. (B) Map of the Iberian Peninsula and southern France with sample locations marked (orange dots). Demographic history of the species is indicated, and a logarithmic time scale is shown at left. The hybrid zone between the two subspecies is marked with dashes. (C) Nucleotide diversities in domestic and wild populations. The French (FRW1-3) and Iberian (IW1-11) wild rabbit populations are ordered according to a northeast-to-southwest transection. Sample locations are provided in table S4.



Pas de gène majeur

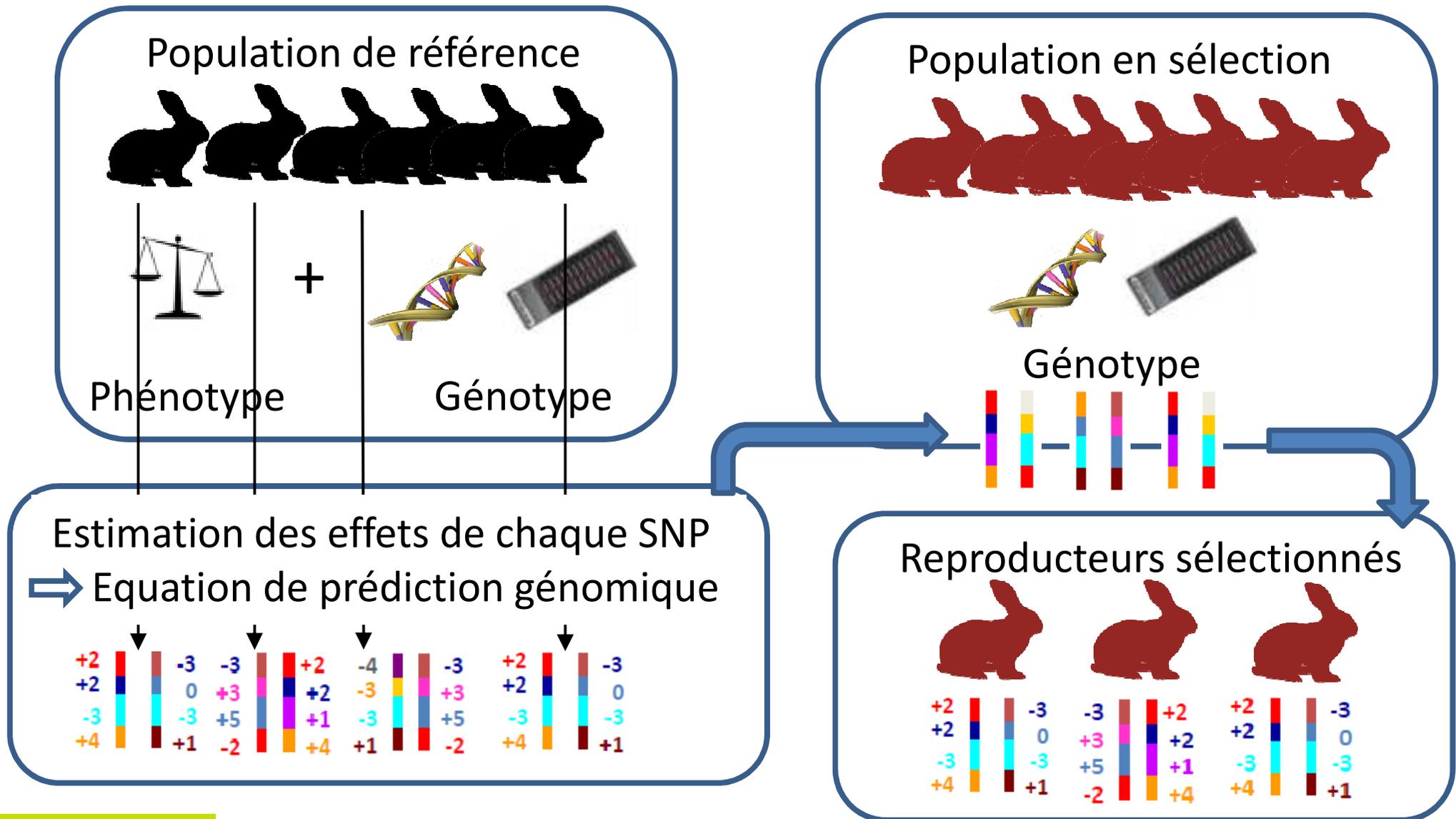
Nombre élevé de petites variations réparties sur l'ensemble du génome des régions qui codent pour le développement du cerveau et du tissu nerveux

Inhibition du reflexe de fuite chez le lapin domestique ?

_01

La sélection génomique

Principe de la sélection génomique



La sélection génomique

Intérêts

- Meilleure précision de prédiction
➡ Progrès génétique plus élevé
- Phénotypes coûteux et difficiles à mesurer
➡ Résistance aux maladies
➡ Efficacité alimentaire

Limites

- Coût du génotypage
➡ coûts ? , puces LD
- Pas de gain sur l'intervalle de génération
- Logistique (ADN, ordinateurs, données)

_01

Projets et perspectives

Le projet Relapa, résistance à la pasteurellose



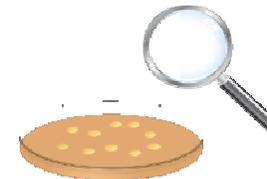
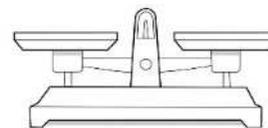
X



1. Inoculation



2. Réponse à l'infection étudiée pendant 14 jours



Jour 0

Poids, température, Mortalité, morbidité
Numération bactérienne
Réponse anticorps

Jour 14



3. Analyses phénotypiques et génétiques

- Identification des animaux résistants
- Identification des critères de résistance

Le projet Relapa, résistance à la pasteurellose

4. Génotypage (puce Affymetrix 200 000 marqueurs)

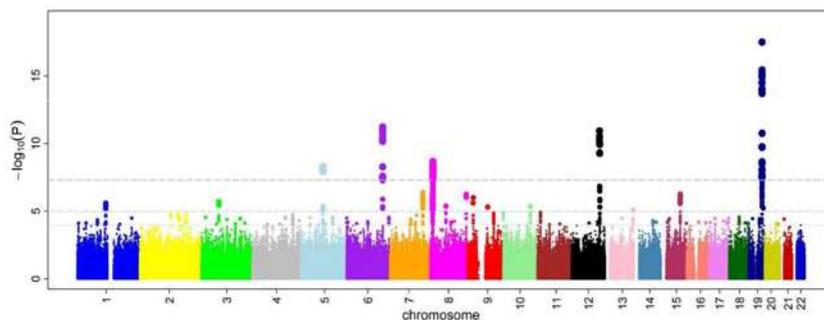
- Prélèvement sang ou cartilage sur les 60 pères, 120 mères et 1000 lapins inoculés
- Extraction de l'ADN
- Lecture de l'ADN grâce à la puce



6. Etude de la diversité génétique de chaque population



5. Analyse du génome



➔ Identification de gènes ou de parties de l'ADN associés à la résistance à la pasteurellose

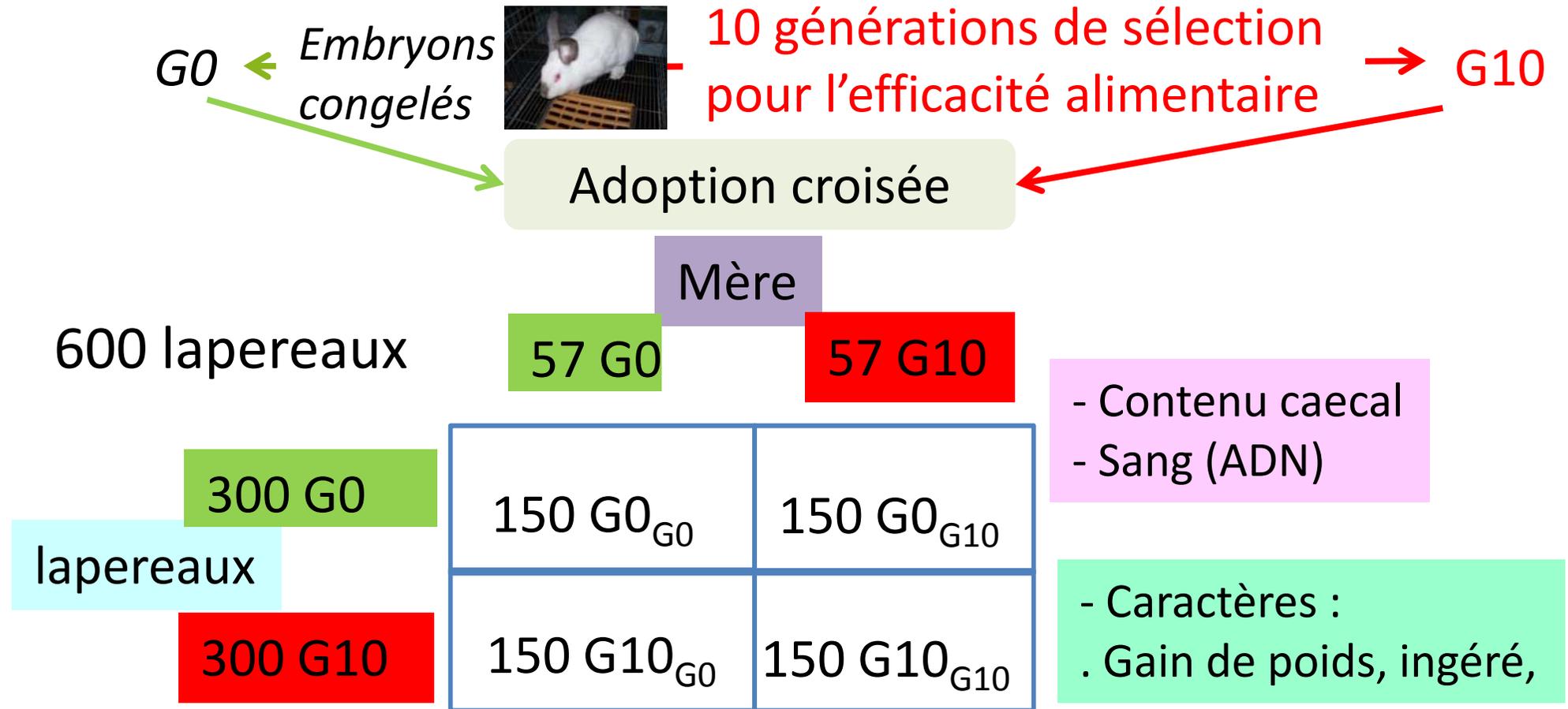
7. Equations de prédictions génomiques

➔ Calcul d'équations permettant de prédire la résistance à la pasteurellose à partir de l'ADN

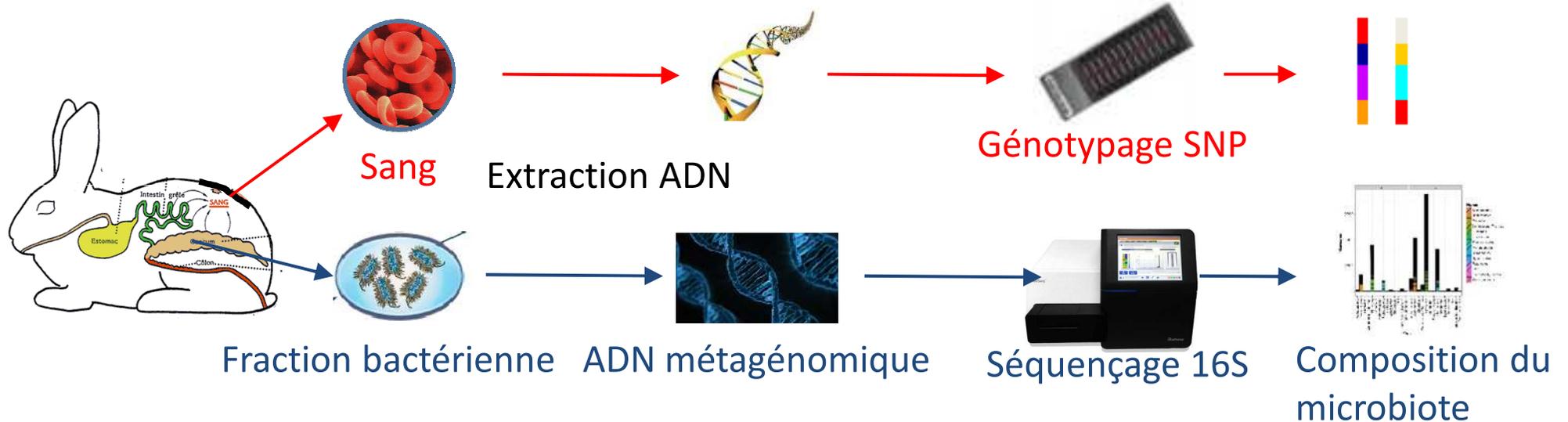


Le projet Microrabbit, Efficacité alimentaire

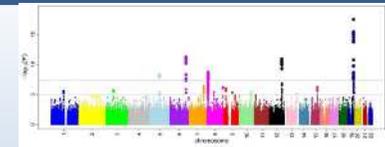
- Adapted feed, animals and feeding techniques for more efficient and sustainable monogastric livestock production systems



Le projet Microrabbit



- Recherche de QTL de l'efficacité alimentaire
- Part relative de la variabilité de l'efficacité alimentaire
 - ❖ Métagénome
 - ❖ Génome du lapin
- Interactions génome de l'hôte/métagénome
- Sélection conjointe de l'hôte et de son microbiote



Conclusion

- Avec le séquençage de son génome le lapin est entré dans l'ère de la génomique
- Certains gènes affectant la croissance, la reproduction et la résistance aux troubles digestifs ont été caractérisés depuis 2010
- La nouvelle puce 200 K va permettre d'améliorer la connaissance du génome et ouvre la voie à de nouvelles stratégies de sélection