

Génomique et gestion intégrée de l'élevage, de l'entraînement et de la santé des chevaux

Laurent Schibler

Biologie Intégrative et Génétique Equine

INRA, UMR1313 GABI



ALIMENTATION
AGRICULTURE
ENVIRONNEMENT



Objectifs de la présentation

Introduction à la génomique

- ✓! Le génome : chromosome, ADN, ARN et protéines
- ✓! Les outils et les méthodes de la génomique

Génomique et dépistage des affections génétiques

- ✓! L'identification des gènes responsables d'affections monogéniques
- ✓! L'opportunité du conseil génétique
- ✓! Les limites actuelles

Génomique et thérapeutique

- ✓! Les signatures génomique et les biomarqueurs outils de diagnostic et de pronostic
- ✓! La prédisposition aux pathologies complexes : la génomique personnelle
- ✓! Le développement de nouveaux traitements

Génomique et gestion de l'entraînement

- ✓! La caractérisation des aptitudes
- ✓! Les biomarqueurs pour un suivi de l'état physiologique ou le contrôle antidopage
- ✓! La nutrigenomique

Académie Vétérinaire de France 12 Avril 2012

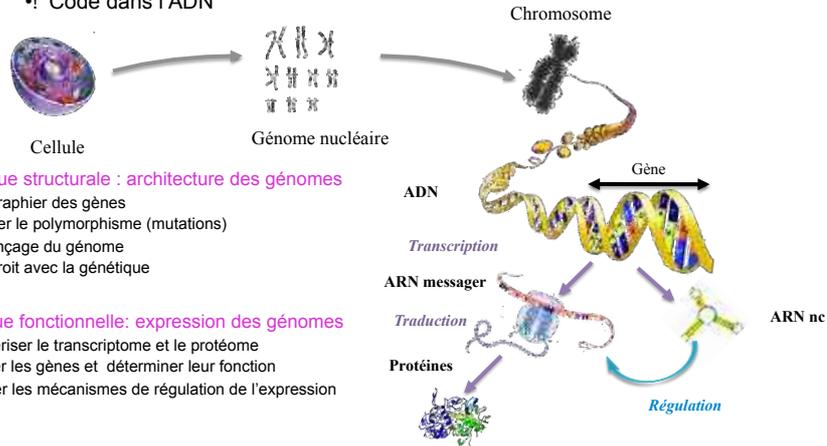
ALIMENTATION
AGRICULTURE
ENVIRONNEMENT



La Génomique

La génomique étudie la structure, l'expression et l'évolution du génome.

- ✓! Le génome, encyclopédie de la vie.
- ! Le patrimoine génétique, transmis de génération en génération
- ! Codé dans l'ADN



Génomique structurale : architecture des génomes

- ! Cartographier des gènes
- ! Analyser le polymorphisme (mutations)
- ! Séquençage du génome
- ! Lien étroit avec la génétique

Génomique fonctionnelle: expression des génomes

- ! Caractériser le transcriptome et le protéome
- ! Identifier les gènes et déterminer leur fonction
- ! Analyser les mécanismes de régulation de l'expression

Académie Vétérinaire de France 12 Avril 2012

ALIMENTATION
AGRICULTURE
ENVIRONNEMENT

INRA

La Génomique

Quels liens entre génétique et génomique ?

- ✓! Le même objet d'étude : les gènes
- ✓! La génomique étudie l'ADN, l'ARN et les protéines pour identifier les gènes et analyser leur fonction biologique
- ✓! La génétique étudie statistiquement la transmission des caractères héréditaires pour mettre en évidence les gènes (notion abstraite)

⇒! La génétique apporte un cadre conceptuel à la génomique

⇒! La génomique apporte des méthodes et des outils pour comprendre les mécanismes

Académie Vétérinaire de France 12 Avril 2012

ALIMENTATION
AGRICULTURE
ENVIRONNEMENT

INRA

Outils et Méthodes en génomique

La cartographie génétique

✓! Identifier des gènes ou des QTL sur la base du phénotype : clonage positionnel

•! Il faut de l'ADN

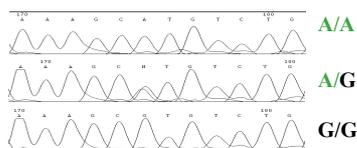
Prise de sang (1 à 5 ml), morceau de tissu, crins arrachés

•! Il faut des marqueurs polymorphes

Les Single Nucleotide Polymorphisms (SNPs)

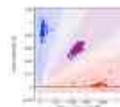
Substitution, insertion ou délétion d'un nucléotide

~ 1 SNP tous les 0.5 à 1 kb



Automatisation et interprétation simple

« puce » de génotypage : 75000 SNP ~ 150 €/cheval



Académie Vétérinaire de France 12 Avril 2012

ALIMENTATION
AGRICULTURE
ENVIRONNEMENT

INRA

Outils et Méthodes en génomique

La cartographie génétique

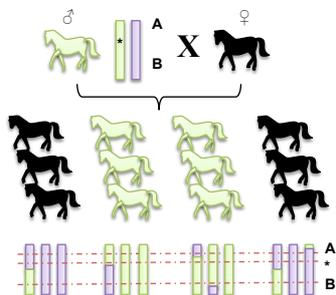
✓! Identifier des gènes ou des QTL sur la base du phénotype : clonage positionnel

•! Exploite le brassage des chromosomes et la recombinaison lors de la méiose

•! Suivre la co-transmission du caractère et des marqueurs : la liaison

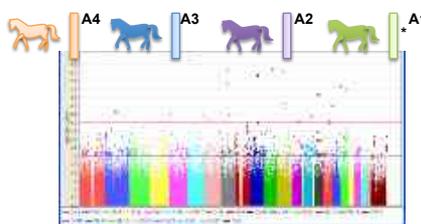
•! Exploiter l'histoire des populations : l'association

Analyse de liaison



100 à 1000 individus selon le caractère
et son mode de transmission

Analyse d'association



Genome Wide Association Studies
(GWAS)

500 à 50 000 individus selon
la complexité du caractère

Académie Vétérinaire de France 12 Avril 2012

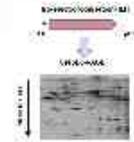
ALIMENTATION
AGRICULTURE
ENVIRONNEMENT

INRA

Outils et Méthodes en génomique

L'analyse de l'expression

- ✓! Les puces d'expression pangénomiques Puce Agilent 44k
~40.000 gènes connus ou prédits analysés simultanément
- ✓! La protéomique : l'électrophorèse bidimensionnelle : 2DE
 - ! Séparation des protéines sur gel selon 2 dimensions
 - ! Identification des protéines par spectrométrie de masse



Le séquençage NGS

- ✓! Séquençage massivement parallèle
 - ! Des milliards de petites séquences en parallèle
- ✓! Des applications multiples
 - ! Reséquençage d'individus : 11 jours, 2500 €
 - ! Etude fine de la transcription : 800 €



Illumina HiSeq2000
2x100pb 11j/run 600Gb
~ 200 génomes

Académie Vétérinaire de France 12 Avril 2012

ALIMENTATION
AGRICULTURE
ENVIRONNEMENT

INRA

Objectifs de la présentation

Introduction à la génomique

- ✓! Le génome : chromosome, ADN, ARN et protéines
- ✓! Les outils et les méthodes de la génomique

Génomique et dépistage des affections génétiques

- ✓! L'identification des gènes responsables d'affections monogéniques
- ✓! L'opportunité du conseil génétique
- ✓! Les limites actuelles

Génomique et thérapeutique

- ✓! Les signatures génomique et les biomarqueurs outils de diagnostic et de pronostic
- ✓! La prédisposition aux pathologies complexes : la génomique personnelle
- ✓! Le développement de nouveaux traitements

Génomique et gestion de l'entraînement

- ✓! La caractérisation des aptitudes
- ✓! Les biomarqueurs pour un suivi de l'état physiologique ou le contrôle antidopage
- ✓! La nutrigenomique

Académie Vétérinaire de France 12 Avril 2012

ALIMENTATION
AGRICULTURE
ENVIRONNEMENT

INRA

Dépistage des affections génétiques

L'identification des gènes responsables d'affections monogéniques

- ✓! Exemple : l'Hyperkaliémie périodique paralysante (HYPP).
 - ! Autosomique dominante / codominante
 - ! Sélectionnée involontairement car associée à une hypertrophie musculaire
 - En situation de stress, d'alimentation riche en potassium ou de froid, les animaux présentent une faiblesse musculaire et des tremblements pouvant aller jusqu'à la paralysie
 - Parfois confondue avec une rhabdomyolyse induite par l'exercice.
 - ! Cartographie dans une grande famille sur 4 générations
 
 - ! Une mutation dans le gène SCN4A
 - Code pour une glycoprotéine jouant un rôle de canal sodium.
 - Les cellules musculaires sont hyperexcitables, ce qui produit l'hypertrophie musculaire.

- ✓! Le syndrome léthal du poulain lavande (LFS)
 - ! Récessif, affecte les chevaux arabes égyptiens
 - 1/1000 naissance
 - ! Crise de tétanie, Opisthotonos, Anomalie de pigmentation
 - ! Identification d'une mutation dans le gène de la myosine Va
 - 6 chevaux atteints et 30 contrôles

Dépistage des affections génétiques

L'opportunité du conseil génétique

- ✓! Des tests de dépistage génétiques commerciaux (~ 25 €)
 - ! Une quinzaine de gènes d'anomalies, huit gènes de coloration

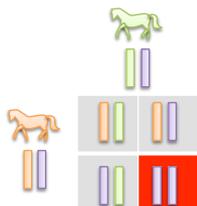
Maladie Génétique	Description	Gène / Marqueur
HYPP (D)	Hyperkaliémie périodique paralysante	SCN4A
OLWS (R)	Syndrome léthal du poulain blanc Overo	EDNRB
SCID (R)	Immunodéficience sévère combinée	PRKDC
JEB-H (R)	Epidermolyse bulleuse jonctionnelle (Herlitz)	LAMC2
EI (R)	Epitheliogenesis imperfecta	LAMA3
GBED (R)	Déficience en enzyme branchante du glycoène	GBE1
MH (D)	Hyperthermie maligne	RYR1
HERDA (R)	Hyperélastose cutanée	PPIB
PSSM (D)	Myopathie à stockage de polysaccharide	GYS1
Mélanome (D)	Susceptibilité au mélanome	STX17
MCOA (C)	Anomalies oculaires congénitales multiples	Marqueurs
CSNB (R)	Cécité nocturne congénitale non évolutive	(TRPM1)
LVS (R)	Syndrome du poulain lavande	MYO5A
CA (R)	Abiotrophie cérébelleuse	MUTYH
Myotonia (R)	Myotonie congénitale	CLCN1



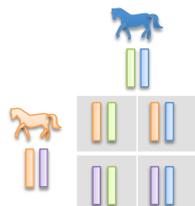
Dépistage des affections génétiques

L'opportunité du conseil génétique

- ✓! La gestion de la population
 - ! Optimiser les accouplements pour obtenir une couleur de robe souhaitée
 - ! Dépister les animaux porteurs d'allèles récessifs morbides
 - Eradication de l'allèle (appauvrissement génétique)
 - Eviter les accouplements à risque entre porteurs hétérozygotes : alternative à l'éradication



L'accouplement d'hétérozygotes porteurs donne naissance à 25% de poulains malades



Eviter l'accouplement entre hétérozygotes porteurs évite de donner naissance à des poulains malades

⇒! Le praticien vétérinaire conseiller génétique ?

Dépistage des affections génétiques

Les limites actuelles

- ✓! Pathologies rares chez le cheval ou méconnaissance de leur déterminisme ?

	dog	cattle	cat	horse	human
Total traits/disorders	576	396	300	203	7135
Mendelian trait/disorder	217	144	72	37	5220
Mendelian trait/disorder; causative mutation known	151	75	39	26	4609 (2760)

OMIA
OMIM

- ! La prévalence peut augmenter si utilisation intensive d'un reproducteur porteur
- ! Risque important pour les races à faible effectif
- ✓! Nécessité d'un observatoire des anomalies génétique
 - ! Sensibilisation des vétérinaires et des éleveurs
 - ! Nécessité d'étude d'épidémiologie génétique
 - ! Etude de déterminisme et mesure d'héritabilité
 - ! <http://www.haras-nationaux.fr/information/observatoire-danomalies.html>
- ✓! Il faut des familles de taille suffisante pour identifier les gènes dominants
 - ! Quelques grandes familles de pères, sur plusieurs générations
 - ! Multiples familles nucléaires avec atteints et sains

Objectifs de la présentation

Introduction à la génomique

- ✓! Le génome : chromosome, ADN, ARN et protéines
- ✓! Les outils et les méthodes de la génomique

Génomique et dépistage des affections génétiques

- ✓! L'identification des gènes responsables d'affections monogéniques
- ✓! L'opportunité du conseil génétique
- ✓! Les limites actuelles

Génomique et thérapeutique

- ✓! Les signatures génomique et les biomarqueurs outils de diagnostic et de pronostic
- ✓! La prédisposition aux pathologies complexes : la génomique personnelle
- ✓! La connaissance de la physiopathologie
- ✓! Le développement de nouveaux traitements

Génomique et gestion de l'entraînement

- ✓! La caractérisation des aptitudes
- ✓! Les biomarqueurs pour un suivi de l'état physiologique ou le contrôle antidopage
- ✓! La nutriginomique

Académie Vétérinaire de France 12 Avril 2012

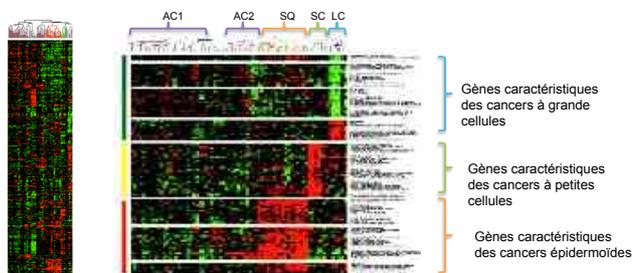
ALIMENTATION
AGRICULTURE
ENVIRONNEMENT

INRA

Génomique et thérapeutique

Les signatures génomiques pour un diagnostic, un pronostic et un suivi plus précis

- ✓! Deux options possibles
 - ! Tissus cibles (invasif) : Biopsie, micro-biopsie
 - ! Biomarqueurs (non invasif) : Molécules présentes dans le sang ou les liquides corporels
- ✓! Analyse l'expression des gènes, des miARN ou des protéines
- ✓! Identifier des signatures en lien avec le développement de pathologies
 - ! Exemple de la classification des tumeurs de cancer des poumons
Carcinomes à petites cellules (SC) qui évoluent rapidement et métastasent
Adénocarcinomes (AC), cancers épidermoïdes (SQ), carcinomes à grandes cellules (LC)



Garber M E et al. PNAS 2001;98:13784-13789

Académie Vétérinaire de France 12 Avril 2012

ALIMENTATION
AGRICULTURE
ENVIRONNEMENT

INRA

Génomique et thérapeutique

Le séquençage au service du diagnostic

- ✓! Détecter des séquences nucléotidiques virales ou bactériennes
 - ! détecter une contamination ou une infection, même très faible.

 - ✓! Caractériser la flore intestinale par des approches de métagénomique
 - ! Séquençage NGS de prélèvements dans le colon
 - Altération de la flore et pathologies
 - Métabolisation des médicaments

 - ✓! Mesurer et caractériser l'infestation par les nématodes gastro-intestinaux
 - ! Séquençage NGS de crottins ou de pool de crottins
 - Niveau d'infestation par des nématodes gastro-intestinaux
 - Inventaire des espèces de nématodes
 - Identification directe de souches résistantes et évaluation de la prévalence
 - ⇒! Améliorer la prophylaxie et réduire le risque d'apparition de résistances
- Prix encore élevé, mais certainement économiquement viable d'ici 3 à 5 ans

Académie Vétérinaire de France 12 Avril 2012

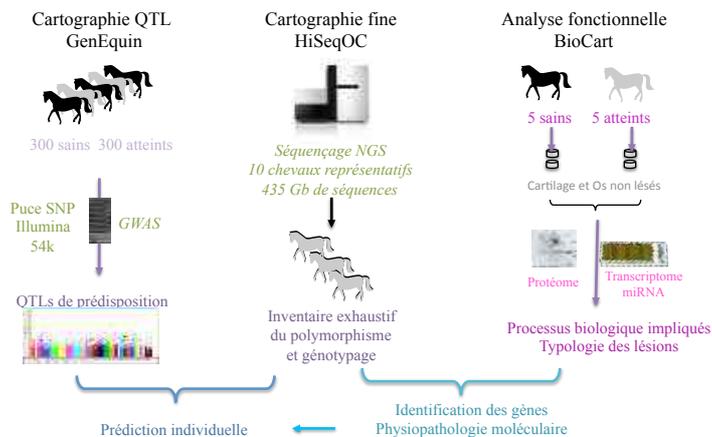
ALIMENTATION
AGRICULTURE
ENVIRONNEMENT

INRA

Génomique et thérapeutique

La prédisposition aux pathologies complexes : la génomique personnelle

- ✓! Evaluer le risque d'apparition de la pathologie : exemple de l'ostéochondrose
 - ! Les programmes de recherche en cours: GenEquin, HiSeqOC et Biocart



Académie Vétérinaire de France 12 Avril 2012

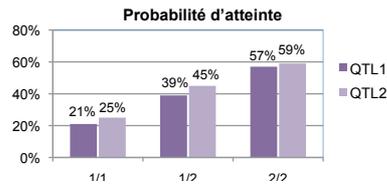
ALIMENTATION
AGRICULTURE
ENVIRONNEMENT

INRA

Génomique et thérapeutique

La prédisposition aux pathologies complexes : la génomique personnelle

- ✓! Evaluer le risque d'apparition de la pathologie : exemple de l'ostéochondrose
- ! Une vingtaine de régions détectées, ayant chacune un effet faible
La valeur génétique polygénique n'explique que 45 % de la variance phénotypique OC !
Une précision de localisation encore insuffisante



Etre homozygote pour l'allèle défavorable x 2.5 à 3 le risque d'avoir de l'OC

- ⇒ On n'a pas de certitudes dans le cas des caractères complexes
Combinaison des allèles à plusieurs loci et effet de l'environnement (facteur déclenchant)
Résultat dépend de l'effet du QTL, de la fréquence de la maladie, de la précision du phénotype
- ⇒! La prédiction n'a d'intérêt que si elle amène à des préconisations
Adaptation de l'environnement, de l'entraînement, traitement préventif...

Académie Vétérinaire de France 12 Avril 2012

ALIMENTATION
AGRICULTURE
ENVIRONNEMENT



Génomique et thérapeutique

La connaissance de la physiopathologie

- ✓! La qualité du diagnostic est conditionnée par la qualité de la description des pathologies
- ! Intérêt d'un aller retour clinicien – génomicien pour « disséquer » la pathologie
Des causes différentes pour des pathologies identiques de prime abord
Des pathologies différentes pour diverses mutations d'un même gène
- ✓! Analyse fonctionnelle comparée du cartilage et de l'os de chevaux sains et atteints d'OC
- ! La protéomique montre un défaut du cartilage et de l'os des chevaux atteints
- ! Plusieurs pathologies différentes ?

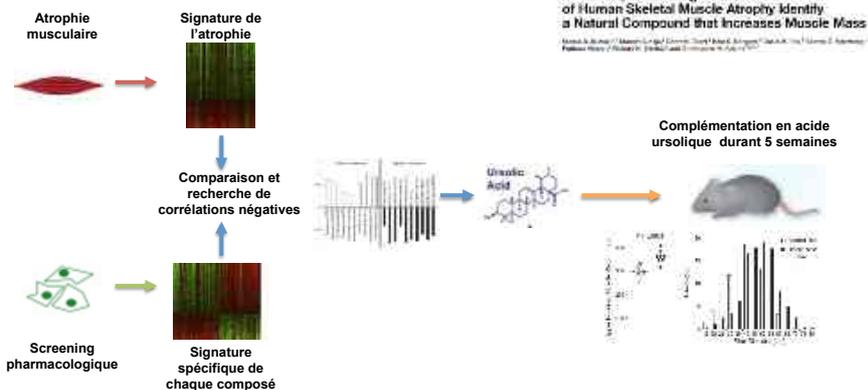


Génomique et thérapeutique

Les signatures génomiques pour développer de nouveaux traitements

✓! Screening de molécules pharmacologiques

•! Effet de l'acide ursolique sur le muscle



⇒! Solution pour identifier de nouvelles indications thérapeutiques à moindre coût ?

Académie Vétérinaire de France 12 Avril 2012

ALIMENTATION
AGRICULTURE
ENVIRONNEMENT

INRA

Objectifs de la présentation

Introduction à la génomique

- ✓! Le génome : chromosome, ADN, ARN et protéines
- ✓! Les outils et les méthodes de la génomique

Génomique et dépistage des affections génétiques

- ✓! L'identification des gènes responsables d'affections monogéniques
- ✓! L'opportunité du conseil génétique
- ✓! Les limites actuelles

Génomique et thérapeutique

- ✓! Les signatures génomique et les biomarqueurs outils de diagnostic et de pronostic
- ✓! La prédisposition aux pathologies complexes : la génomique personnelle
- ✓! La connaissance de la physiopathologie
- ✓! Le développement de nouveaux traitements

Génomique et gestion de l'entraînement

- ✓! La caractérisation des aptitudes
- ✓! Les biomarqueurs pour un suivi de l'état physiologique ou le contrôle antidopage
- ✓! La nutrigenomique

Académie Vétérinaire de France 12 Avril 2012

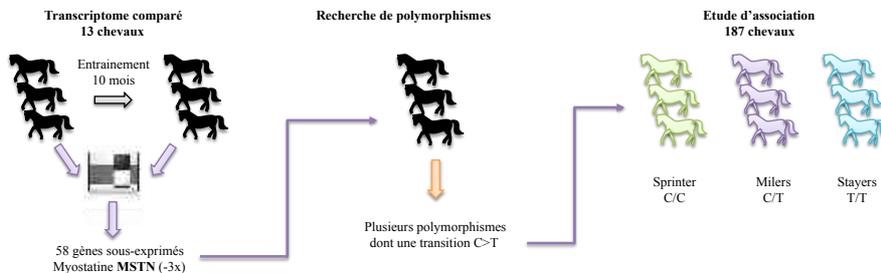
ALIMENTATION
AGRICULTURE
ENVIRONNEMENT

INRA

Génomique et gestion de l'entraînement

La caractérisation des aptitudes

✓! Le gène « de la vitesse » en pur-sang anglais



- ! Speed Gene Test commercialisé par Equinome
- ! Complété par 3 jeux de 80 SNP permettant d'affiner la caractérisation
- ! Plus de 1000 individus testés, issus de plus de 300 étalons
- ! Permet aux propriétaires et entraîneurs de chevaux de course de déterminer la distance optimale de course de leurs poulains et d'orienter leur l'entraînement

Académie Vétérinaire de France 12 Avril 2012

ALIMENTATION
AGRICULTURE
ENVIRONNEMENT



Génomique et gestion de l'entraînement

La caractérisation des aptitudes

✓! L'information génomique permet d'évaluer la valeur génétique

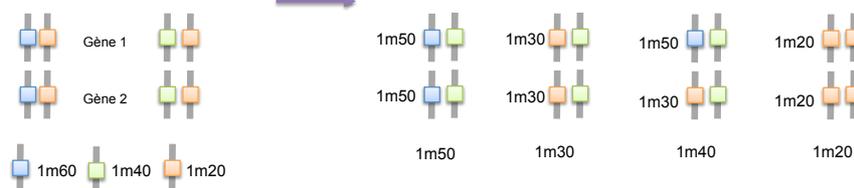
•! Exploite la totalité des marqueurs disponibles

Evaluation classique (BLUP)



Evaluation génomique

Σ effets des gènes + ϕ



⇒! Utilisation sous forme d'index génomique ou sous forme de prédiction individuelle

Académie Vétérinaire de France 12 Avril 2012

ALIMENTATION
AGRICULTURE
ENVIRONNEMENT



Génomique et gestion de l'entraînement

Les biomarqueurs pour un suivi de l'état physiologique

✓! Identifier des signatures en lien avec la réponse à l'entraînement ou la récupération

•! Analyse transcriptomique comparée du sang de chevaux d'endurance

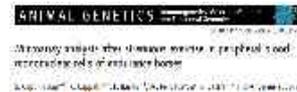
10 chevaux d'endurance de haut niveau

Prise de sang avant et plusieurs jours après la course

Analyse d'expression pan-génomique

Réponse inflammatoire aiguë durant 24 heures

Retour à l'homéostasie après 24 heures



⇒! Profil d'expression après 2 jours permet de connaître l'état physiologique du cheval

•! Quelle signification donner à ce retour rapide à l'homéostasie ?

Chez les chevaux « standard », l'inflammation dure généralement plusieurs jours

Caractéristique particulière des chevaux de haut niveau ?

Réponse adaptative à l'entraînement (diminue l'inflammation) ?

⇒! Nécessité d'étude comparative de validation

⇒! Trouver des biomarqueurs potentiel est assez simple

⇒! Valider leur intérêt demande des dispositifs lourds et adaptés

Académie Vétérinaire de France 12 Avril 2012

ALIMENTATION
AGRICULTURE
ENVIRONNEMENT

INRA

Génomique et gestion de l'entraînement

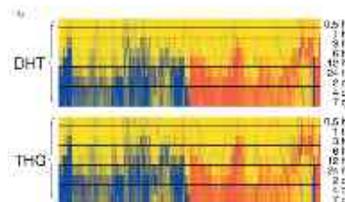
Identifier des signatures de dopage

✓! Détecter l'effet de molécules dopantes au lieu de détecter la molécule

•! Les molécules d'une même famille jouent sur les mêmes voies

•! Signature génomique similaire

Exemple : modulation de l'expression de 670 gènes dans le muscle après injection de tetrahydrogestrinone (THG) ou de dihydrotestosterone



•! Métabolomique du sang ou des urines

•! Transcriptomique / microtranscriptomique du sang

⇒! Coupler signature et contrôle d'identité génétique à partir du même prélèvement

⇒! Moindre sensibilité aux fluctuations journalières

⇒! Détection à plus long terme

Académie Vétérinaire de France 12 Avril 2012

ALIMENTATION
AGRICULTURE
ENVIRONNEMENT

INRA

Génomique et gestion de l'entraînement

La nutri-génomique pour optimiser le potentiel génétique

- ✓! Le génome a une incidence sur l'utilisation des nutriments
 - ! Variants modifient l'activité des enzymes Intolérances, allergies alimentaires...
 - ⇒! Les besoins ne sont pas identiques selon les génomes
- ✓! Les nutriments ont une action sur le génome.
 - Contrôle direct de l'expression de certains gènes, activation de voies de signalisation
 - ⇒! L'alimentation module l'effet du patrimoine génétique
 - ⇒! Optimiser l'alimentation en fonction du génome pour améliorer certains caractères
 - La performance sportive (limite avec le dopage ?), la récupération
 - Prévenir la survenue de pathologies, voire les guérir
- ✓! Balbutiement de la nutriginomique, mais des perspectives séduisantes
 - Argument marketing pour valoriser des grands classiques (minéraux)
- ✓! Un pré-requis : connaître les gènes cibles pertinents
 - Il faut développer d'abord des approches QTL, signature et biomarqueurs sur biopsies des tissus cibles
- ✓! Identifier les nutriments pertinents nécessitera des dispositifs expérimentaux
 - Plans d'expérience complexes sur individus de génotypes connus en contrôlant les apports nutritifs



Conclusion

La génomique : un outil tant collectif qu'individuel

- ✓! Des applications collectives immédiates en amélioration génétique
- ✓! Des applications individuelles à développer
 - ! Des applications génétiques immédiates et performantes pour les gènes majeurs
 - ! La génomique ne fait pas (encore) de miracle pour les caractères complexes !
 - ! Il faut disséquer ces caractères et faire évoluer les méthodes
- ✓! Il ne peut pas y avoir de demi-mesure
 - ! Pour être fiable, l'information doit provenir d'une population aussi large que possible
 - ! L'investissement est d'autant plus rentable que plusieurs caractères sont analysés
 - Importance du phénotypage : définir les procédures, collecter et centraliser les mesures
 - Rôle essentiel du vétérinaire dans la définition et la mesure des phénotypes
 - ! Il faut savoir comment exploiter l'information (zootéchnie, médecine, entraînement)
 - Rôle essentiel du vétérinaire dans l'intégration de ces informations
- ✓! Il y a des choix à faire dès maintenant
 - ! Le leadership est encore à prendre dans le domaine
 - ! Les techniques deviennent abordables
 - ! Des opportunités de nouvelles activités pour les praticiens vétérinaires
 - Importance de la formation et de l'information



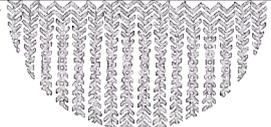
Conclusion

L'opportunité de la caractérisation génomique

- ✓! Un dispositif idéal pour fédérer tous les acteurs
 - ✓! Un investissement limité pour les éleveurs
 - ! Surcoût d'~60 € par rapport au simple contrôle de filiation
 - ✓! L'analyse des performances permet un retour sur investissement à court terme
 - ✓! La population de référence s'enrichi au cours du temps

 - ✓! Fédérer autour de ce dispositif
 - ! L'analyses des pathologies
 - Epidémiologie génétique
 - ! L'analyse du tempérament/comportement
 - ! L'analyse de la nutrition
 - Nutrigénomique
 - ! L'analyse des pratiques
 - Zootchnie, élevage
 - Entrainement
- ⇒!Enrichissement progressif des connaissances
⇒!Développement de la génomique personnelle, des biomarqueurs
⇒!Rationalisation des pratiques

} Phénotypage



Merci de votre attention