

# La monotraite modifie l'expression d'environ 500 gènes

## Once-daily milking modifies the expression of 500 genes

BOUTINAUD M. (1), GALIO L. (2), DEVINOY E. (2)

(1) INRA, agrocampus Rennes - UMR1080, Production du lait - F-35590 St-Gilles

(2) INRA, GPL - F-78810 Jouy-en-Josas

### INTRODUCTION

La traite correspond à la principale charge de travail pour un éleveur laitier. La monotraite permet de réduire le temps d'astreinte, cependant elle est accompagnée d'une perte de 20 à 30 % de lait. Afin d'étudier la monotraite, nous avons mis en place un essai de traite différentielle chez la vache pour une analyse du transcriptome mammaire. L'objectif de cet essai est de mieux comprendre les mécanismes cellulaires qui expliquent la baisse de production du lait lors de la monotraite. Cette étude fait partie d'un volet du projet ANR / APIS-GENE *Genomilkfat*.

### 1. MATERIEL ET METHODES

Dans cet essai cinq Vaches Holstein au 45<sup>ème</sup> (n = 2), 120<sup>ème</sup> (n = 1) et 320<sup>ème</sup> (n = 2) jours de lactation et produisant 15,7 kg de lait de façon équilibrée dans chaque demi-mamelle ont subi une traite différentielle pendant huit jours. Le lait et sa composition (TB, TP, lactose) ont été mesurés et analysés trois jours avant et les sept premiers jours de traite différentielle (une demi-mamelle traite deux fois par jour et l'autre, traite une fois par jour). Au huitième jour de traite différentielle, des biopsies mammaires ont été prélevées dans chaque demi-mamelle. Les ARN ont été extraits à partir des biopsies des deux demi-mamelles des cinq vaches pour une analyse du transcriptome sur des microréseaux à oligonucléotides (lames 22k bovines), produits par le CRB (INRA de Jouy en Josas). Pour chaque animal, les ARN totaux de la demi-mamelle traite une fois par jour ont été rétrotranscrits en ADNc, et marqués avec un fluorochrome et hybridés simultanément avec les ADNc rétrotranscrits provenant de l'autre demi-mamelle traite deux fois par jour et marqués avec un deuxième fluorochrome (cyanine 3 et 5). Les lames ont ensuite été scannées sur un scanner *Agilent* puis les données générées ont été extraites *via* le logiciel *Feature Extraction (Agilent)* et normalisées selon une normalisation de type *Lowess* à l'aide du logiciel *Anapuce 1.1*. Une analyse statistique par groupes de variances (Delmar *et al.*, 2005) avec une correction de Bonferroni (BH) a été appliquée à ces données normalisées. Les données zootechniques ont été analysées par analyse en covariance par *proc mixed* de SAS intégrant les effets : traite, jour et l'interaction traite x jour.

### 2. RESULTATS

En moyenne sur les sept premiers jours d'application de la traite différentielle, les demi-mamelles traitées une fois par jour ont produit 5,1 l de lait en moins que les demi-mamelles traitées deux fois par jour (p = 0,001, tableau 1). La composition du lait en TP n'a pas été modifiée (32,5) par contre le TB a augmenté dans la demi mamelle traite une fois par jour (p = 0,04) et le taux de lactose a diminué (p = 0,02).

L'analyse du transcriptome a permis d'observer 487 transcrits différemment exprimés entre les deux fréquences de traite en se plaçant à 5 % pour la correction de BH (p < 0,05) : 443 induits par la monotraite vs 44 régulés

négalement par celle-ci. Parmi ces gènes, ceux dont la fonction est connue sont majoritairement impliqués dans trois familles fonctionnelles : métabolisme des lipides ; transports moléculaires ; mort et mouvement cellulaires (tableau 2) ; les autres gènes connus sont répartis dans 23 familles de gènes (non montrés).

**Tableau 1** : effets de la traite différentielle sur le lait.

	1T/j	2T/j	SEM	P
Lait, kg/j	12,4	17,5	0,23	0,001
TB, g/kg	37,4	34,4	0,86	0,044
TP, g/kg	32,5	32,5	1,05	0,849
Lactose, g/kg	47,4	49,5	0,48	0,017

**Tableau 2** : effets de la monotraite sur le nombre de gènes ayant des fonctions connues, induits ou inhibés classés suivant les trois principales familles fonctionnelles.

	induit	inhibé
Métabolisme des lipides	10	9
Mort et mouvement cellulaires	58	7
Transports moléculaires	38	8

### 3. DISCUSSION

Notre étude montre que la régulation de la quantité et la qualité de lait produit par la monotraite met en jeu la régulation de l'expression d'un grand nombre de gènes. Il est connu que la monotraite agit sur le taux butyreux par un phénomène de concentration des matières grasses dans le lait (Rémond et Pomies 2005). Notre étude est la première à montrer que cela est associé à une régulation négative ou positive de taux d'ARNm de certaines enzymes du métabolisme des lipides. Il est également connu que la diminution de la production laitière lors de la monotraite est en partie due à une induction de la mort cellulaire dans la glande mammaire (Li *et al.*, 1999). Cependant, il n'a pas encore été montré que ce processus implique rapidement un grand nombre de gènes. En effet la surexpression de nombreux gènes impliqués dans le mouvement et la mort cellulaires montre qu'après sept jours de traite différentielle, un remodelage du tissu mammaire semble avoir lieu, suggérant un début d'involution mammaire. La régulation des gènes impliqués dans le transport moléculaire est à investiguer. Une validation de ces résultats est en cours par RT-PCR en temps réel.

*Nous remercions l'ensemble des personnes ayant contribué aux diverses phases du projet (le personnel de la ferme de Méjussauve pour l'élevage et les biopsies ; la plateforme PICTGEM pour la mise à disposition des outils d'analyse transcriptomique). Nous tenons également à remercier Patrice Martin et Koenraad Duhem, porteurs du projet « Genomilkfat » qui a bénéficié du soutien de l'Agence nationale de la recherche et d'APIS-GENE.*

Delmar *et al.*, 2005. *Bioinformatics*. 21 : 502-508

Li P. *et al.*, 1999. *J. Physiol.* 519 Pt 3:885-900

Rémond et Polmies, 2005. *Anim. Res.* 54 : 427-442