

Un nouvel outil pour l'analyse haut-débit de la variabilité épigénétique chez les bovins *A new tool dedicated to the analysis of epigenetic variability in cattle*

KIEFER H. (1), JOUVEAU L. (1), CAMPION E. (1), MARTIN-MAGNIETTE M-L. (2), BALZERGUE S. (2), CHAVATTE-PALMER P. (1), HEYMAN Y. (1), RICHARD C. (1), LE BOURHIS D. (1, 3), RENARD J-P. (1) ET JAMMES H. (1)

(1) BDR, INRA, F-78352 Jouy-en-Josas, ENVA, F-94704 Maisons-Alfort

(2) URGV, INRA, F-91057 Evry

(3) UNCEIA, F-94704 Maisons-Alfort

INTRODUCTION

L'interaction entre l'environnement et le génome se fait par l'intermédiaire de marques épigénétiques, telle la méthylation de l'ADN, qui interviennent dans la construction du phénotype en sélectionnant l'information génétique à exprimer. Le clonage est un modèle de perturbations épigénétiques induites par la reprogrammation d'un noyau somatique en noyau embryonnaire, avec des conséquences à long terme sur le phénotype, à génotype nucléaire constant. Nous analysons l'épigénome de clones bovins pour identifier des régions particulièrement variables sur le plan épigénétique. Ces régions pourraient être sensibles aux modifications environnementales dans la population normale. Nous présenterons les résultats obtenus sur le foie, organe-clé du métabolisme qui présente de nombreux dysfonctionnements chez les clones et dont la fonction évolue au cours de la vie et selon l'environnement chez les animaux non clonés.

1. MATERIEL ET METHODES

Les régions méthylées du génome sont isolées par MeDIP (immunoprécipitation de l'ADN méthylé), et identifiées par hybridation sur une puce de promoteurs bovins dédiée à cette étude. La puce cible les régions « amont » (-2000 à +1360 pb) de l'ensemble des 21416 gènes bovins, suivant l'assemblage et l'annotation UMD3.1 (Figure 1). 26 animaux Holstein ont été analysés : 7 clones morts au stade périnatal et présentant des pathologies lourdes, 7 clones adultes avec des phénotypes variables, et les contrôles contemporains (2 mâles et 10 femelles ; les clones étant tous femelles). Après normalisation, les sondes enrichies sont identifiées avec ChIP-mix, un outil statistique spécifiquement dédié à ce type d'analyse. Les régions différenciellement méthylées (DMR) sont ensuite identifiées (SpatStat R package), et les résultats validés par pyroséquençage.

2. RESULTATS

2.1. NOUVEAUX APPORTS SUR LE FONCTIONNEMENT DU GENOME BOVIN

Les femelles présentent une hyperméthylation de certains promoteurs du chromosome X, sans doute à mettre en relation avec le phénomène d'inactivation du chromosome X. Chez tous les individus, une hyperméthylation très régionalisée des promoteurs du chromosome 18 est observée. Une analyse spatiale a montré que pour 96% des promoteurs méthylés, les sondes enrichies se regroupaient en amas correspondant à des zones hyperméthylées et très conservées entre les individus.

2.2. IDENTIFICATION DE REGIONS DIFFERENCIELLEMENT METHYLEES (DMR) SELON L'AGE ET LE STATUT CLONE/NON CLONE

Une analyse en composante principale (ACP) a révélé que le clonage et l'âge étaient des composants de la variabilité épigénétique observée entre animaux. Nous avons identifié 257 DMR liées à l'âge et présentant pour la plupart une hyperméthylation chez les jeunes (Figure 2), ainsi que 87 DMR liées au clonage. Nous avons également montré que le clonage effaçait les signatures épigénétiques liées à l'âge et

que les clones, y compris au stade périnatal, se comportaient comme des adultes.

3. DISCUSSION ET CONCLUSION

Ce travail montre que les modifications épigénétiques induites par le clonage et par l'âge affectent des régions spécifiques du génome. Une analyse phénotypique détaillée des foies est en cours, de manière à associer les signatures épigénétiques observées à des phénotypes particuliers. Nous souhaitons maintenant utiliser les outils mis en place pour analyser des populations de bovins plus larges. Cette démarche devrait améliorer la compréhension du rôle de l'épigénétique dans la construction du phénotype. Elle contribuera aussi à ce que les paramètres modifiant l'épigénome soient pris en compte dans les pratiques de sélection et d'élevage, pour une optimisation de l'expression du potentiel génétique prédit par indexation (génotypage).

Ce travail a été financé par le département INRA PHASE, par l'ANR et par Apis-Gene (projet EpigRAni)

Figure 1. Puce pour l'analyse de l'ADN méthylé.

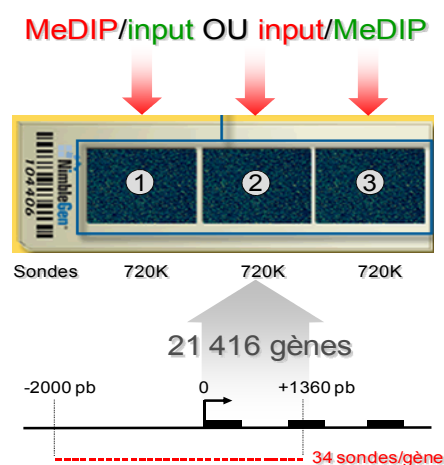


Figure 2. Hyperméthylation chez les jeunes animaux

