

Validation d'un répertoire d'ADNc de muscles de bovins : application à la recherche de gènes marqueurs de la croissance musculaire

Validation of a bovine muscle cDNA repertoire: application for research of genes indicators of muscle growth

A. LISTRAT (1), K. SUDRE (1), I. CASSAR-MALEK (1), Y. UEDA (1), I. BARNOLA (1), G. ROLLAND (2), C. JURIE (1), C. LEROUX (1), G. GENTES (1), G. RENAND (3), P. MARTIN (2), J.F. HOCQUETTE (1)

(1) INRA, Unité de Recherches sur les Herbivores (URH), Theix, 63122 Saint-Genès Champanelle, France

(2) INRA, Unité de Génétique & Physiologie de la Lactation (GPL), INRA, 78352 Jouy-en-Josas Cedex

(3) INRA, Station de Génétique Quantitative et Appliquée (SGQA), INRA, 78352 Jouy-en-Josas Cedex

INTRODUCTION

La diminution de la consommation de viande bovine s'explique en partie par l'insatisfaction que ressent le consommateur face à la grande variabilité des qualités sensorielles de la viande. Celles-ci dépendent en partie des caractéristiques biologiques du muscle qui varient en fonction du mode d'élevage et du type génétique des animaux. La connaissance des gènes déterminant ces caractéristiques et de leurs profils d'expression est nécessaire pour mieux orienter la sélection et optimiser les conditions d'élevage des bovins. Ce travail a pour objectif : 1) d'identifier des gènes déterminant les caractéristiques musculaires et 2) de mettre en relation ces données avec des phénotypes divergents d'animaux.

1. MATERIEL ET METHODES

Des ARN totaux ont été extraits de muscles oxydatifs ou glycolytiques issus de fœtus ou d'animaux d'âges, de sexe et de races variés. Après rétrotranscription et clonage orienté des ADNc dans pUC18, 1440 clones ont été séquencés. Une fois la qualité des séquences vérifiée, nous avons procédé au masquage des zones d'ADN non spécifiques ou de très faible qualité. Au total 436 ADNc ont été déposés sur des membranes de nylon. Soixante quatre taurillons issus de 25 géniteurs ont été abattus à l'âge de 15 mois. Ils ont été classés sur la base de l'indice de sélection qui combine leur valeur génétique pour le poids de muscle et pour la proportion de dépôt adipeux dans la carcasse. Les muscles *semitendinosus* [ST] (glycolytique) et *rectus abdominis* [RA] (oxydatif) de 2 groupes de 3 animaux situés aux deux extrémités de la distribution (potentiel de croissance musculaire faible ou élevé) ont été analysés. Pour l'étude du transcriptome, nous avons extrait les ARN des 2 muscles des 6 taurillons. Les ARN ont été mélangés par muscle et par groupe. Les ARNm ont été purifiés. Les ADNc issus de la rétrotranscription ont été marqués par incorporation de [α - 32 P]dCTP. Chaque cible a été hybridée sur 4 membranes identiques. Les comparaisons entre échantillons ont été effectuées par la méthode SAM ("Statistical Analysis of Microarrays") et par le test *t* de Student (Hocquette *et al.*, 2003). Dans ce dernier cas, les gènes différentiellement exprimés sont ceux pour lesquels le rapport des intensités est au moins égal à 1,5 et avec une différence significative à 5% (Sudre *et al.*, 2003).

2. RESULTATS

2.1. VALIDATION DU REPERTOIRE D'ADNC DE MUSCLES DE BOVINS

Les 1062 ADNc retenus après séquençage et contrôle de la qualité ont été assemblés en 549 contigs et annotés en utilisant la base SWISSPROT. La redondance estimée du répertoire d'ADNc est de 48,3%. Les données de séquences

sont disponibles sur le site du système d'information d'AGENAE (SIGENA, <http://sigena.jouy.inra.fr/>).

2.2. CARACTERISTIQUES DES ANIMAUX ET DE LEURS MUSCLES

Les taurillons à fort potentiel de croissance ont un poids de muscle dans la carcasse plus élevé de 32% et une proportion de tissu adipeux plus faible de 26% que ceux présentant un faible potentiel de croissance ($P < 0,02$). L'activité lactate déshydrogénase est plus élevée de 24% ($P < 0,05$) et l'activité isocitrate déshydrogénase plus faible de 24% ($P = 0,15$) dans le ST que dans le RA confirmant que le ST est plus glycolytique. L'activité citrate synthase (oxydative) est 2,3 fois plus faible chez les taurillons à fort potentiel de croissance dans le RA ($P < 0,003$), mais pas dans le ST.

2.3. ETUDE DU TRANSCRIPTOME

Les gènes des chaînes lourdes de myosine de type IIa et/ou IIx et de l'isoforme rapide de la troponine I sont plus exprimés dans le ST que dans le RA (x 2,6 en moyenne), confirmant que le ST est plus rapide que le RA. Chez les animaux à faible potentiel de croissance, le gène de la lactate déshydrogénase A et celui de la tropomyosine 2 sont plus exprimés dans le ST (x 2,4 et 2,2 respectivement).

La sélection sur le potentiel de croissance musculaire est associée à une expression plus élevée du gène de la lactate déshydrogénase A (x 2,2) et de celui de l'isoforme rapide de la troponine I (x 1,6, différentiel confirmé par Northern blot) dans le RA mais pas dans le ST. Les gènes de la tropomyosine 2, d'une ATPase calcium-dépendante de type rapide et de la chaîne légère de myosine de type 1 sont aussi plus exprimés dans le RA des animaux à fort potentiel de croissance (x ~1,7). La croissance musculaire modifie donc les caractéristiques contractiles et métaboliques du RA.

CONCLUSION

Nous avons confirmé par l'étude du transcriptome que la sélection génétique en faveur de la croissance musculaire diminue le potentiel lent oxydatif du muscle RA.

Nous avons également mis en évidence de nouveaux marqueurs moléculaires (tropomyosine 2, isoforme rapide de la troponine I) qui sont différents de ceux classiquement utilisés pour déterminer les caractéristiques des fibres musculaires (activités d'enzymes métaboliques, chaînes lourdes de myosine). La pertinence et la sensibilité de ces nouveaux indicateurs restent à être validées.

Sudre, K., Leroux, C., Piétu, G., Cassar-Malek, I., Petit, E., Listrat, A., Auffray, C., Picard, B., Martin, P., Hocquette, J.F. 2003. *J. Biochem.*, 133, 745 - 756

Hocquette, J.F., Barnola, I., Bernard, C., Meunier, B., Sudre, K., Listrat, I., Cassar-Malek, I. 2003. *Renc. Rech. Ruminants*, 10.