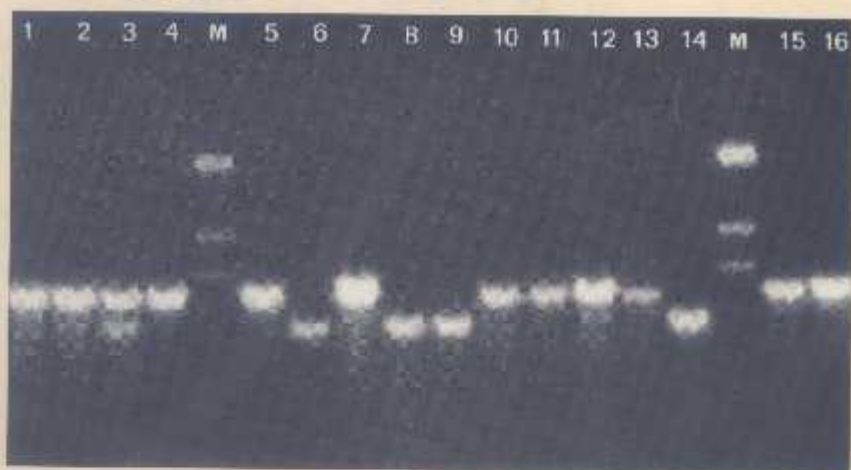


les marqueurs moléculaires en génétique D. de Vienne, éd. et biotechnologies végétales



MIEUX COMPRENDRE

 **INRA**
EDITIONS

les marqueurs moléculaires en génétique et biotechnologies végétales

D. de Vienne, éd.

6517 1
1



Table des matières

Introduction	13
Définitions	13
Qu'est-ce qu'un « bon » marqueur génétique ?	13
1. Les principales sources de marqueurs moléculaires	15
D. de Vienne et S. Santoni	
Critères de classification	15
Marqueurs codominants révélés individuellement	16
Polymorphisme de séquence	16
<i>Différences au niveau de sites d'enzymes de restriction :</i> <i>la technique de RFLP</i>	17
<i>Un cas particulier de RFLP : les CAPS</i>	27
<i>Différences de conformation : la SSCP</i>	27
<i>Différences de stabilité : la D/TGGE</i>	30
Polymorphisme de nombre d'unités de répétitions : les microsatellites ..	31
Marqueurs dominants révélés « en masse » : les empreintes génétiques ..	35
Polymorphisme de séquence	35
<i>Différences de sites d'hybridation d'une amorce arbitraire, ou tech-</i> <i>niques de MAAP : RAPD, AP-PCR et DAF</i>	35
<i>Différences de sites de restriction et de sites d'hybridation d'une amorce</i> <i>arbitraire : AFLP™ et tecMAAP</i>	37
Polymorphisme de nombre d'unités de répétitions	39
<i>La technique d'ISSR</i>	39
<i>Les minisatellites</i>	40
La technique de RDA	40
Les marqueurs géniques : ADNc et protéines	41
Quels marqueurs pour quoi faire ?	43
Glossaire	44
2. Etablissement de cartes de liaisons génétiques	49
D. de Vienne	
La notion de distance génétique	50
La distance de Haldane	51

La distance de Kosambi et autres distances	52
Estimation du taux de recombinaison et tests de liaison	56
Comparaison des descendance les plus courantes	60
Populations dominant accès à la phase haploïde	60
<i>Haploïdes doublés</i>	60
<i>Mégagamétophyte des Gymnospermes</i>	60
<i>Populations issues de rétrocroisements (backcross)</i>	60
Populations F_2	61
Lignées recombinantes	63
Populations issues de parents non fixés	66
<i>Cas général</i>	67
<i>Le double pseudo-testcross</i>	68
Comparaison des divers types de descendance	68
<i>Pérennité</i>	68
<i>Estimation de la dominance</i>	69
<i>Précision</i>	69
Aspects fondamentaux des cartes génétiques	72
La saturation des cartes	72
Relativité des longueurs des cartes	73
Relations entre distances génétiques et distances physiques	74
Analyse de l'organisation des génomes	76
La cartographie comparée	76
3. Le marquage des gènes majeurs	81
D. de Vienne	
Les dispositifs utilisables pour le marquage de gènes majeurs	81
Les lignées quasi isogéniques	81
Les mélanges d'individus de même génotype : la BSA	83
Intérêt des marqueurs pour le clonage de gènes majeurs	85
Principe du clonage positionnel	85
La cartographie à haute résolution	86
Recherche du gène-cible dans les clones génomiques	86
4. La cartographie et la caractérisation des locus contrôlant la variation des caractères quantitatifs	89
D. de Vienne et Mathilde Causse	
Principe de la cartographie des locus à effets quantitatifs	92
Détection de QTL en considérant les marqueurs individuellement	95
<i>Recherche de QTL par analyse de variance dans une descendance F_2</i>	95
<i>Mesures de l'effet d'un QTL</i>	98
<i>Intérêts et limites de la détection de QTL sur marqueurs individuels</i>	100

Détection de QTL à partir de deux ou plusieurs marqueurs	100
<i>Les méthodes de cartographie d'intervalle</i>	100
<i>Les méthodes multimarqueurs</i>	102
Facteurs influençant la détection des QTL	103
<i>Puissance de détection et variance intraclasse</i>	103
<i>Effectif de population et densité de marqueurs</i>	104
<i>Choix des risques statistiques</i>	105
<i>L'écart à la normalité</i>	105
Avantages et inconvénients des descendance couramment utilisées pour la détection de QTL	105
<i>Comparaison F_2, backcross, haploïdes doublés et lignées recombinantes</i>	105
<i>Descendances issues de parents hétérozygotes</i>	107
<i>Descendances dont le fonds génétique a été partiellement fixé</i>	108
Le marquage des extrêmes	108
Bases génétiques et moléculaires de la variation des caractères quantitatifs	109
Données génétiques sur les QTL	109
<i>Des QTL sont (presque) toujours trouvés</i>	109
<i>Effets de dominance</i>	110
<i>Transgressions</i>	111
<i>Epistasie</i>	111
<i>Analyse génétique des corrélations entre caractères</i>	112
<i>Décomposition des caractères</i>	113
<i>Effet de l'environnement</i>	114
<i>Cartographie comparée de QTL</i>	114
Caractérisation des QTL	115
<i>Le clonage</i>	115
<i>Les gènes candidats</i>	116
Conclusion	118
5. Les marqueurs moléculaires en génétique des populations	119
A. Kremer	
Apports des marqueurs moléculaires relativement aux marqueurs enzyma- tiques	120
Le multiallélisme	120
L'augmentation du nombre de locus	121
L'accès au polymorphisme de l'ADN cytoplasmique	121
L'ordonnement des allèles	122
Analyse de la diversité moléculaire	123
Mesure de la divergence nucléotidique à partir de séquences	124
Mesure de la divergence nucléotidique à l'aide de techniques de marquage	125
Polymorphisme à l'intérieur d'une population	127
Expression du polymorphisme à l'intérieur d'une population	127
<i>Mesures prenant en compte le nombre de variants</i>	127
<i>Mesures prenant en compte la fréquence des variants</i>	127

Mesure de la diversité génétique à l'aide de différents marqueurs	129
<i>Au niveau allélique</i>	129
<i>Au niveau nucléotidique</i>	131
Différenciation entre populations	132
Expression générale de la différenciation	132
Mesure de la différenciation	134
<i>Niveau allélique</i>	134
<i>Niveau nucléotidique</i>	134
Flux de gènes	135
Taux de migration comparés entre graines et pollen	135
Origine des fondateurs lors de la colonisation	136
Conclusion	138
6. Intérêt des marqueurs en sélection	139
A. Charcosset et A. Gallais	
Apport des études de diversité à la sélection	139
Principales méthodes d'analyse de données	140
Relations entre divergence moléculaire, divergence phénotypique et parenté	141
Application des méthodes de classification : groupes d'aptitude à la combinaison et gestion des ressources génétiques	143
Relation entre divergence moléculaire et hétérosis	145
Apport des marqueurs pour la protection des obtentions végétales	147
Perspectives	148
La sélection assistée par marqueurs	149
La construction de génotypes	149
<i>Le rétrocroisement assisté par marqueurs pour un caractère monogénique</i>	149
<i>Le rétrocroisement assisté par marqueurs pour un caractère polygénique</i>	151
<i>La sélection généalogique assistée par marqueurs</i>	152
La sélection assistée par marqueurs au niveau de populations	153
<i>La prédiction des valeurs génétiques additives et la sélection avec les marqueurs seuls</i>	154
<i>La sélection combinée phénotype + marqueurs</i>	155
<i>Comparaison avec la construction de génotypes</i>	158
<i>Choix entre utilisation des marqueurs et augmentation du nombre de répétitions</i>	158
Conclusion	159
Annexes	161
Références bibliographiques	169
Index	195

les marqueurs moléculaires en génétique et biotechnologies végétales

Depuis une dizaine d'années, l'utilisation intensive des marqueurs moléculaires a bouleversé de nombreux secteurs de la biologie : par exemple, la construction de cartes génétiques denses permet d'analyser les facteurs influençant les taux de recombinaison, rend possible le clonage positionnel, ainsi que la cartographie comparative et ses nombreuses applications ; en génétique des populations, la diversité et les flux de gènes peuvent désormais être mesurés avec précision. Enfin la génétique quantitative connaît aujourd'hui des succès qui vont de l'analyse du déterminisme génétique de la variation phénotypique à la sélection assistée par marqueurs, en passant par le développement de stratégies de caractérisation des gènes en cause (les fameux QTL).

Pour répondre aux attentes des étudiants, des enseignants et des chercheurs, cet ouvrage détaille les différentes techniques et les particularités génétiques des marqueurs qu'elles révèlent. Il précise, dans chaque domaine, l'intérêt spécifique des marqueurs, les questions nouvelles qu'ils permettent d'aborder, et le cas échéant, les problèmes qu'ils soulèvent. De nombreux résultats bibliographiques en illustrent les développements fondamentaux comme les applications pratiques.

Cet ouvrage est centré sur le domaine végétal. Cependant, la plupart des outils et concepts sont communs à tous les organismes pourvus d'ADN : il sera lu avec profit par tout biologiste ayant recours aux marqueurs, quelle que soit sa problématique.

Dominique de Vienne est Docteur ès Sciences et ancien Directeur de Recherches à l'INRA. Aujourd'hui Professeur à l'Université Paris XI-Orsay, il y enseigne la génétique végétale et la génétique quantitative.



9 782738 007766

ISBN 2-7380-0776-7
ISSN 1144-7605