

> CARTOGRAPHIE FINE DE LA RÉSISTANCE À LA NÉCROSE NERVEUSE VIRALE CHEZ LE BAR

Emilie DELPUECH

*Post-doctorante en bioinformatique et génétique
INRAE-MARBEC (France)*

JRFP

*Utilisation de données génomiques de très haute
densité via du séquençage tout génome*

➤ La nécrose nerveuse virale (Nodavirose)

- Virus affectant plusieurs espèces aquacoles
- Très virulent aux stades précoces de développement chez le bar
 - jusqu'à la perte de plus de 90% des juvéniles lors d'infection



➤ La nécrose nerveuse virale (Nodavirose)

- Virus affectant plusieurs espèces aquacoles
- Très virulent aux stades précoces de développement chez le bar
 - jusqu'à la perte de plus de 90% des juvéniles lors d'infection
- Symptômes :
 - perte de la capacité de nage
 - flotte à la surface de l'eau
 - nécrose des tissus cérébraux



➤ La nécrose nerveuse virale (Nodavirose)

- Virus affectant plusieurs espèces aquacoles
- Très virulent aux stades précoces de développement chez le bar
 - jusqu'à la perte de plus de 90% des juvéniles lors d'infection
- Symptômes :
 - perte de la capacité de nage
 - flotte à la surface de l'eau
 - nécrose des tissus cérébraux
- Pour mieux connaître et améliorer la résistance des bars à ce virus :
 - ⇒ Recherche des régions du génome associées à ce phénotype



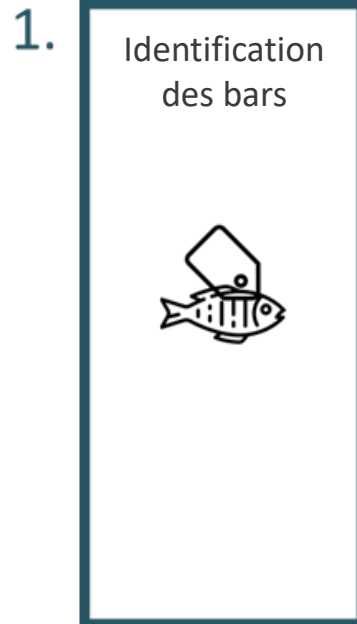
➤ Caractère phénotypique de résistance à la nodavirose

- Comment étudier le caractère de résistance à la nodavirose ?
⇒ **Réaliser des épreuves infectieuses**



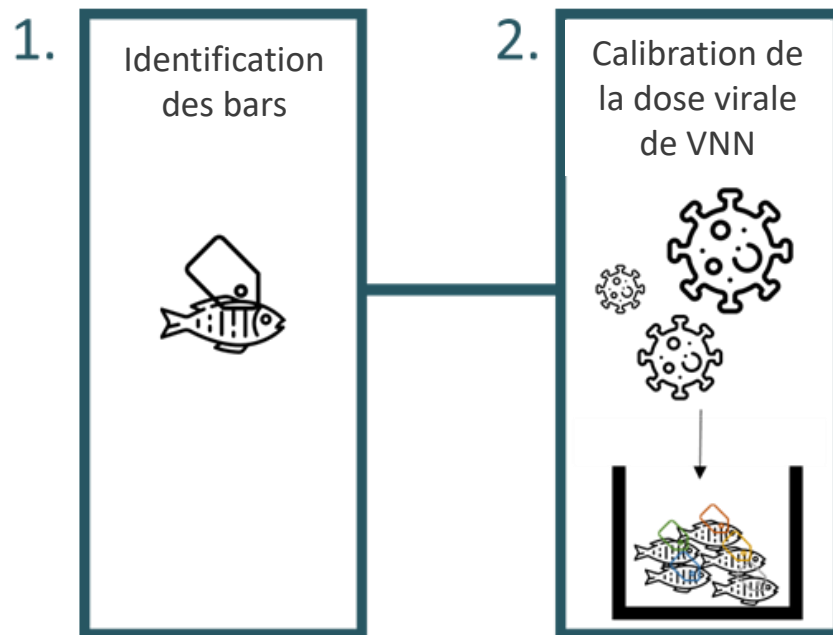
➤ Caractère phénotypique de résistance à la nodavirose

- Comment étudier le caractère de résistance à la nodavirose ?
⇒ **Réaliser des épreuves infectieuses**
- Ces épreuves infectieuses sont divisées en 3 grandes étapes :
 1. Identification des bars avant mise en contact avec le virus



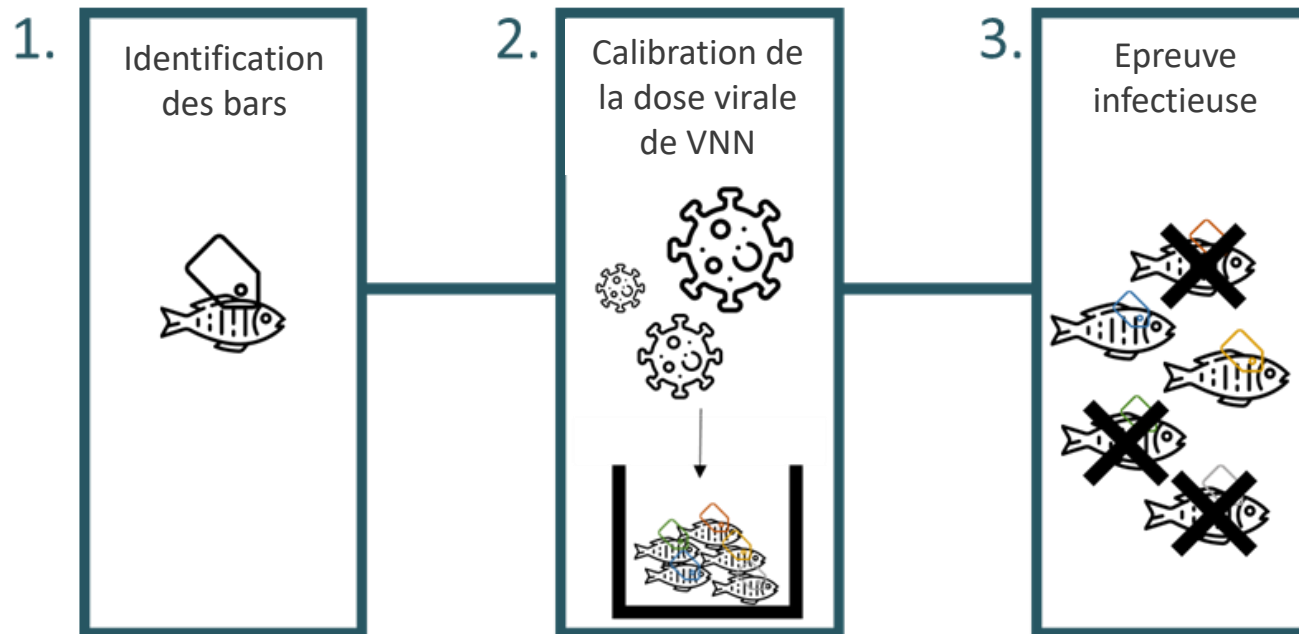
➤ Caractère phénotypique de résistance à la nodavirose

- Comment étudier le caractère de résistance à la nodavirose ?
⇒ **Réaliser des épreuves infectieuses**
- Ces épreuves infectieuses sont divisées en 3 grandes étapes :
 1. Identification des bars avant mise en contact avec le virus
 2. Calibration de la dose virale du nodavirus pour atteindre environ 50% de mortalité des bars



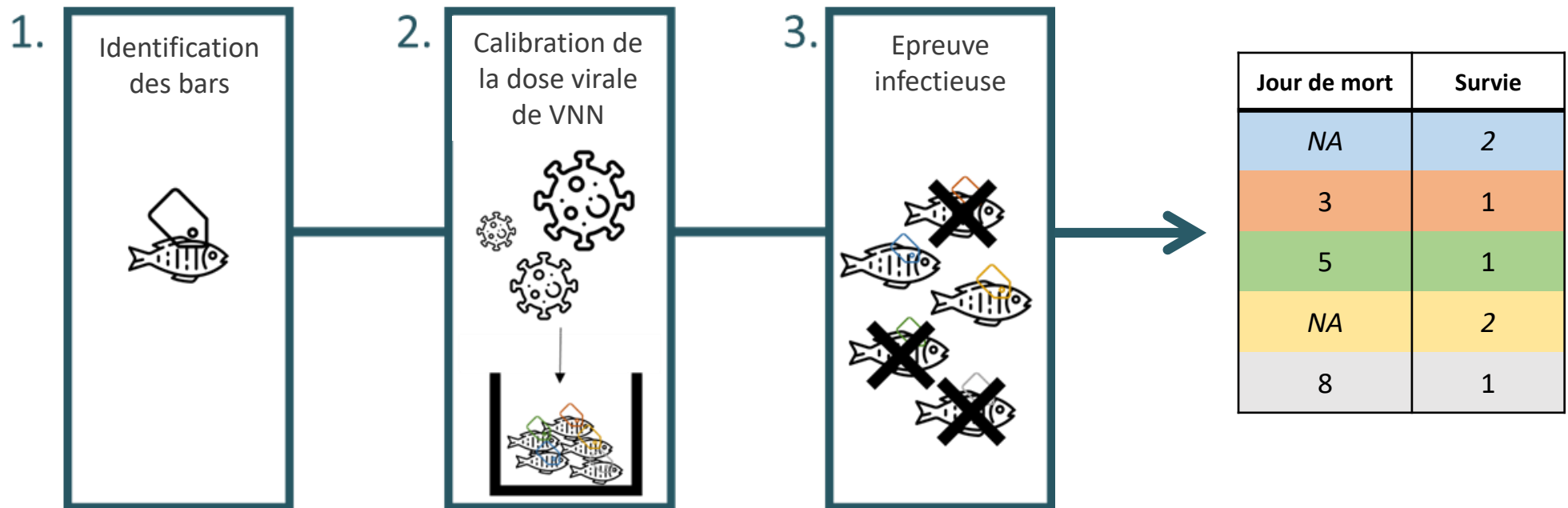
➤ L'étude du phénotype de résistance à la nodavirose

- Comment étudier le caractère de résistance à la nodavirose ?
⇒ **Réaliser des épreuves infectieuses**
- Ces épreuves infectieuses sont divisées en 3 grandes étapes :
 1. Identification des bars avant mise en contact avec le virus
 2. Calibration de la dose virale du nodavirus pour atteindre environ 50% de mortalité des bars
 3. Ajout de la dose virale du nodavirus dans les bacs d'élevage des bars



➤ L'étude du phénotype de résistance à la nodavirose

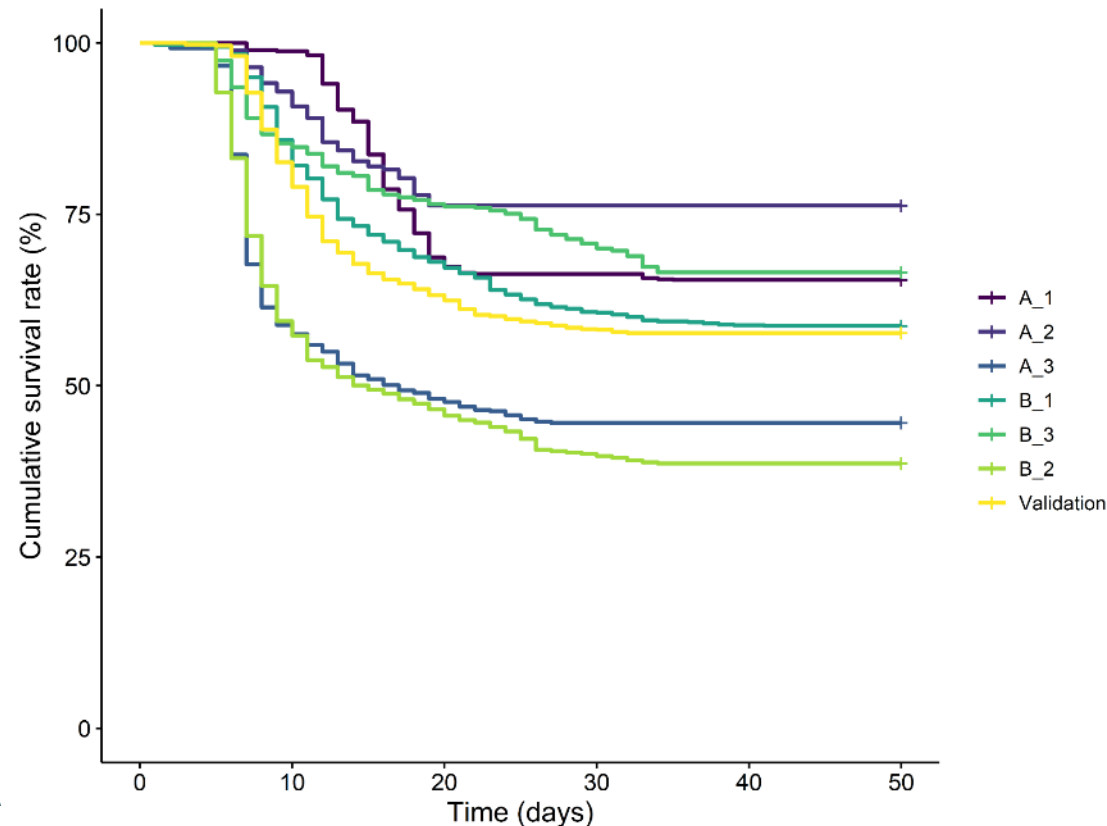
- Comment étudier le caractère de résistance à la nodavirose ?
⇒ **Réaliser des épreuves infectieuses**
- Ces épreuves infectieuses sont divisées en 3 grandes étapes :
 1. Identification des bars avant mise en contact avec le virus
 2. Calibration de la dose virale du nodavirus pour atteindre environ 50% de mortalité des bars
 3. Ajout de la dose virale du nodavirus dans les bacs d'élevage des bars



➤ L'étude du phénotype de résistance à la nodavirose

- Graphique de nombre de survivants cumulé par jour après infection par le nodavirus :
 - Dégradé de **violet** = **population A**
 - Dégradé de **vert** = **population B**
 - Courbe **jaune** = **population de validation (IFREMER)**

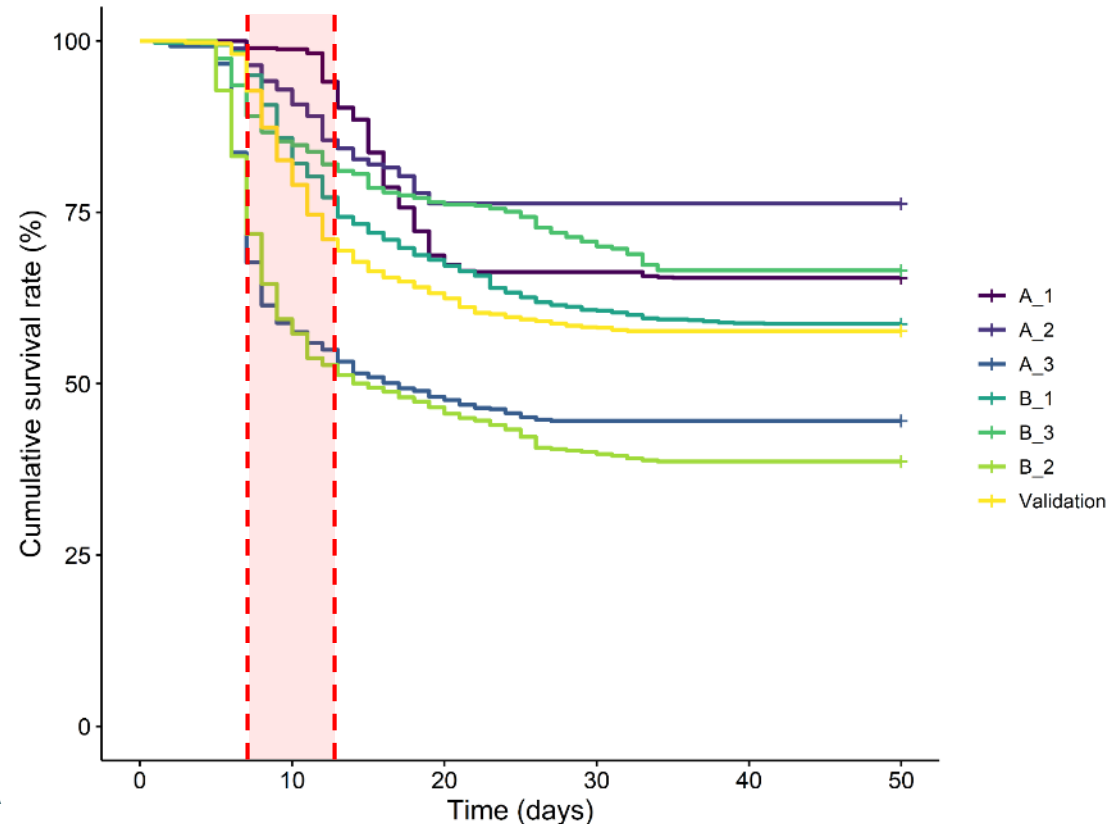
Fermes Marines
du Soleil



➤ L'étude du phénotype de résistance à la nodavirose

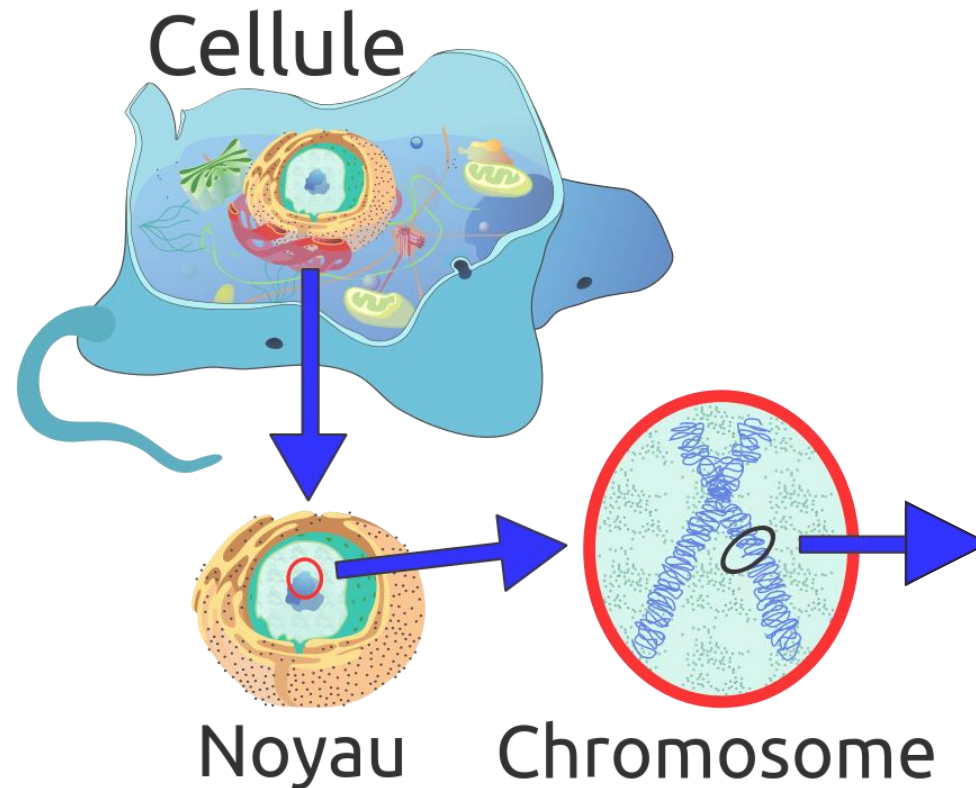
- Graphique de nombre de survivants cumulé par jour après infection par RGNNV :
 - Dégradé de **violet** = **population A**
 - Dégradé de **vert** = **population B**
 - Courbe **jaune** = **population de validation (IFREMER)**
- Pic de mortalité est à environ 10 jours après infection

Fermes Marines
du Soleil



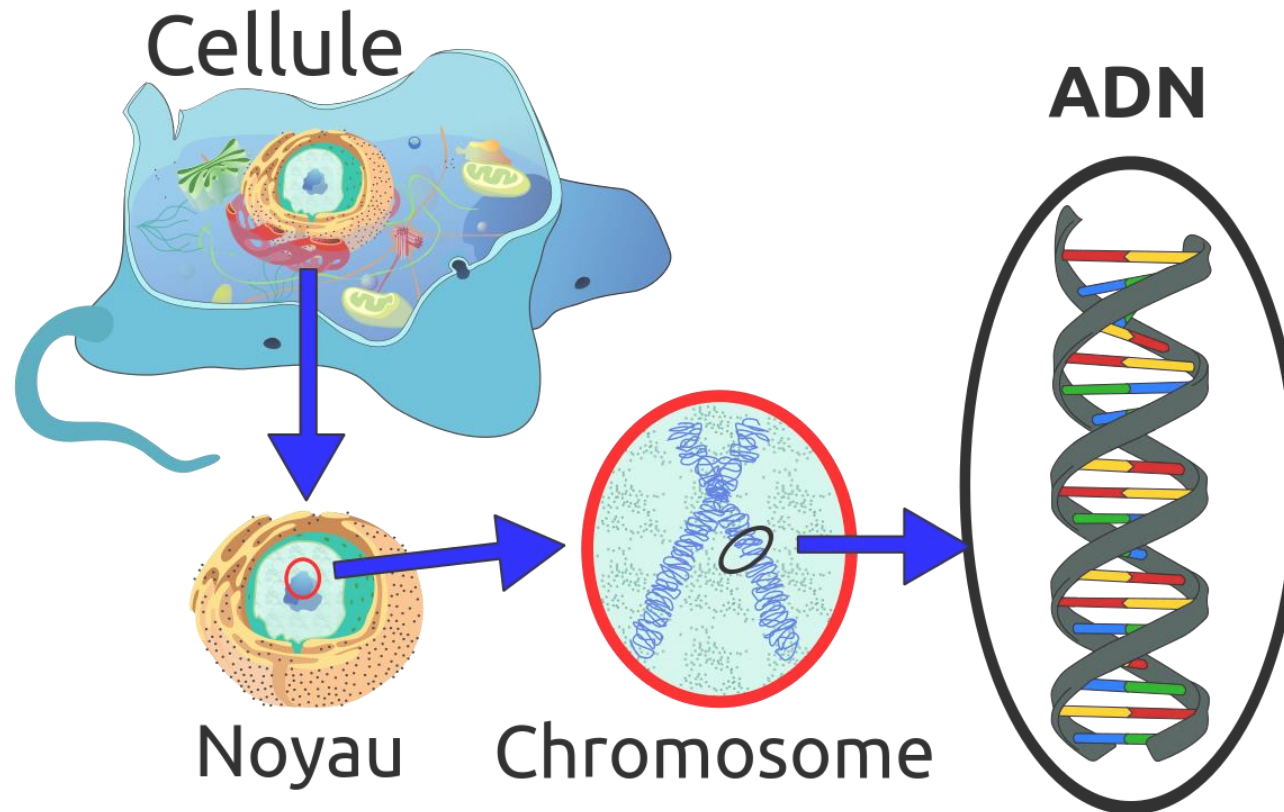
➤ Les données génétiques comme outils

- Le vocabulaire spécifique à la génétique :
 - Le génome de chaque cellule est constitué de chromosome



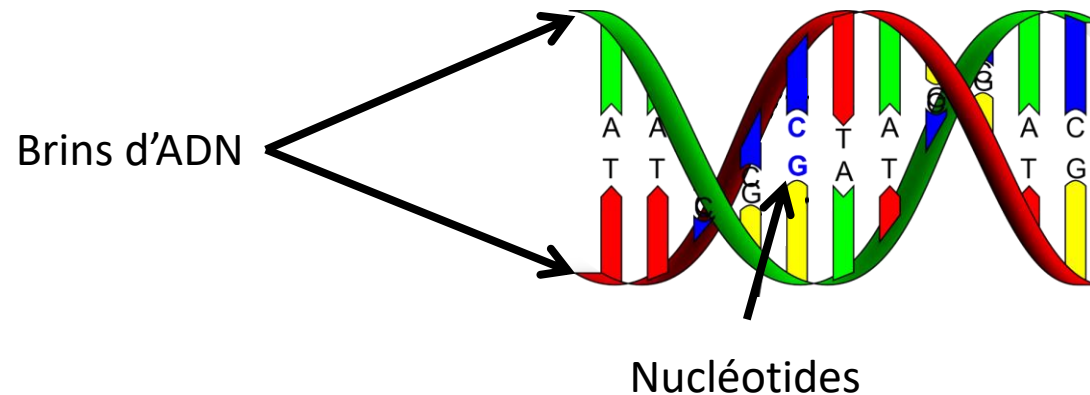
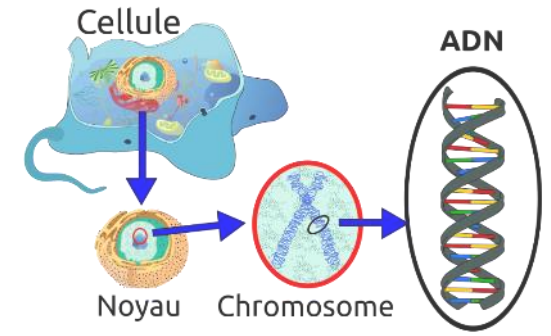
➤ Les données génétiques comme outils

- Le vocabulaire spécifique à la génétique :
 - Le génome de chaque cellule est constitué de chromosome
 - Les chromosomes sont composés de deux brins d'ADN complémentaires



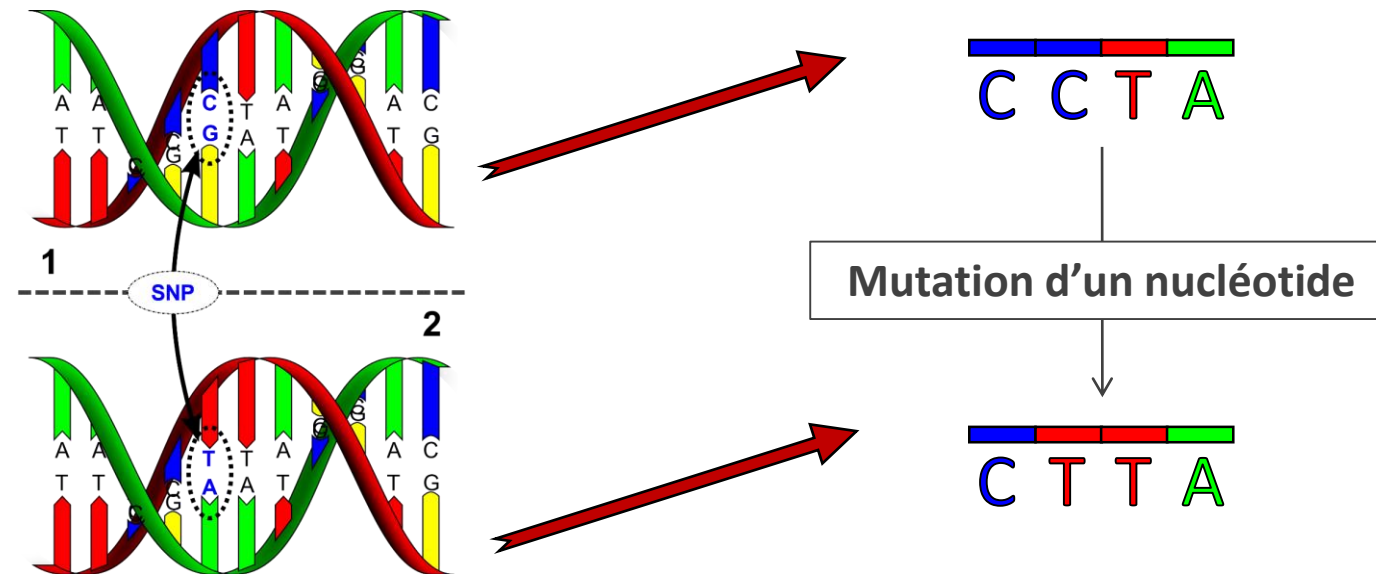
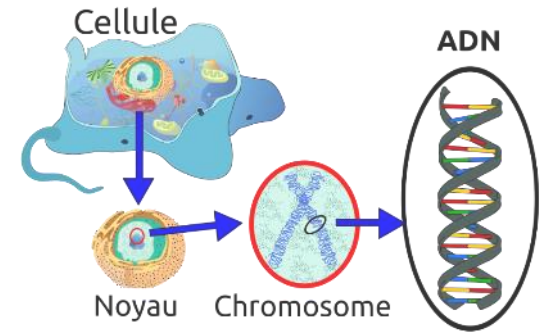
➤ Les données génétiques comme outils

- Le vocabulaire spécifique à la génétique :
 - Le génome de chaque cellule est constitué de chromosome
 - Les chromosomes sont composés de deux brins d'ADN complémentaires
 - L'ADN est caractérisé par des séquences de nucléotides



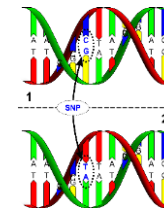
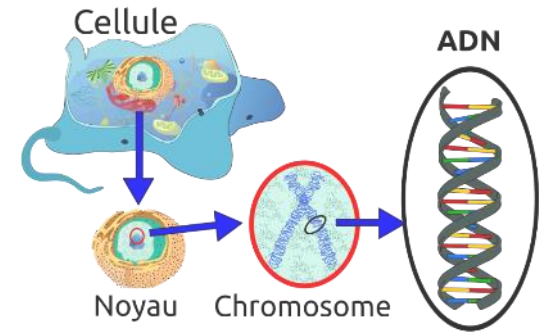
➤ Les données génétiques comme outils

- Le vocabulaire spécifique à la génétique :
 - Le génome de chaque cellule est constitué de chromosome
 - Les chromosomes sont composés de deux brins d'ADN complémentaires
 - L'ADN est caractérisé par des séquences de nucléotides
 - SNP = marqueurs génétiques (variants) caractérisés par la modification d'un nucléotide



➤ Les données génétiques comme outils

- Le vocabulaire spécifique à la génétique :
 - Le génome de chaque cellule est constitué de chromosome
 - Les chromosomes sont composés de deux brins d'ADN complémentaires
 - L'ADN est caractérisé par des séquences (haplotypes) de nucléotides
 - SNP = marqueurs génétiques (variants) caractérisés par la modification d'un nucléotide
 - Ces variants génétiques peuvent être à l'origine de caractères différents
 - ⇒ Ex: la résistance à une maladie



➤ Les données génétiques comme outils

- Le vocabulaire spécifique à la génétique :

- Le génome de chaque cellule est constitué de chromosome

- Les chromosomes sont composés de deux brins d'ADN complémentaires

- L'ADN est caractérisé par des séquences (haplotypes) de nucléotides

- SNP = marqueurs génétiques (variants) caractérisés par la modification d'un nucléotide

- Ces variants génétiques peuvent être à l'origine de caractères différents

- ⇒ Ex: la résistance à une maladie

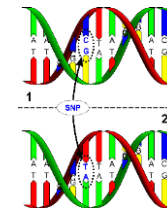
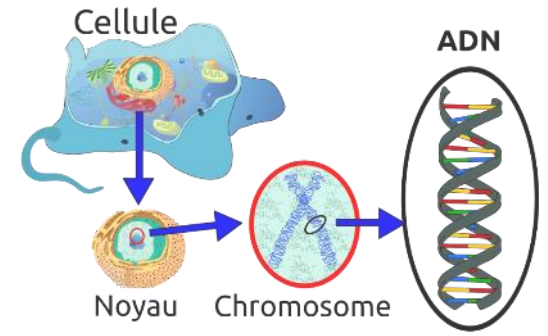
- Comment identifier l'ensemble des variants génétiques d'un individu ?

- ⇒ Puce de génotypage : cibler un nombre fixe de variants connus dans l'espèce

- ⇒ Séquençage de génome complet



Séquenceur
NovaSeq Illumina



Puce Affymetrix
57K DLabChip

➤ Combinaison des données phénotypique et génétique

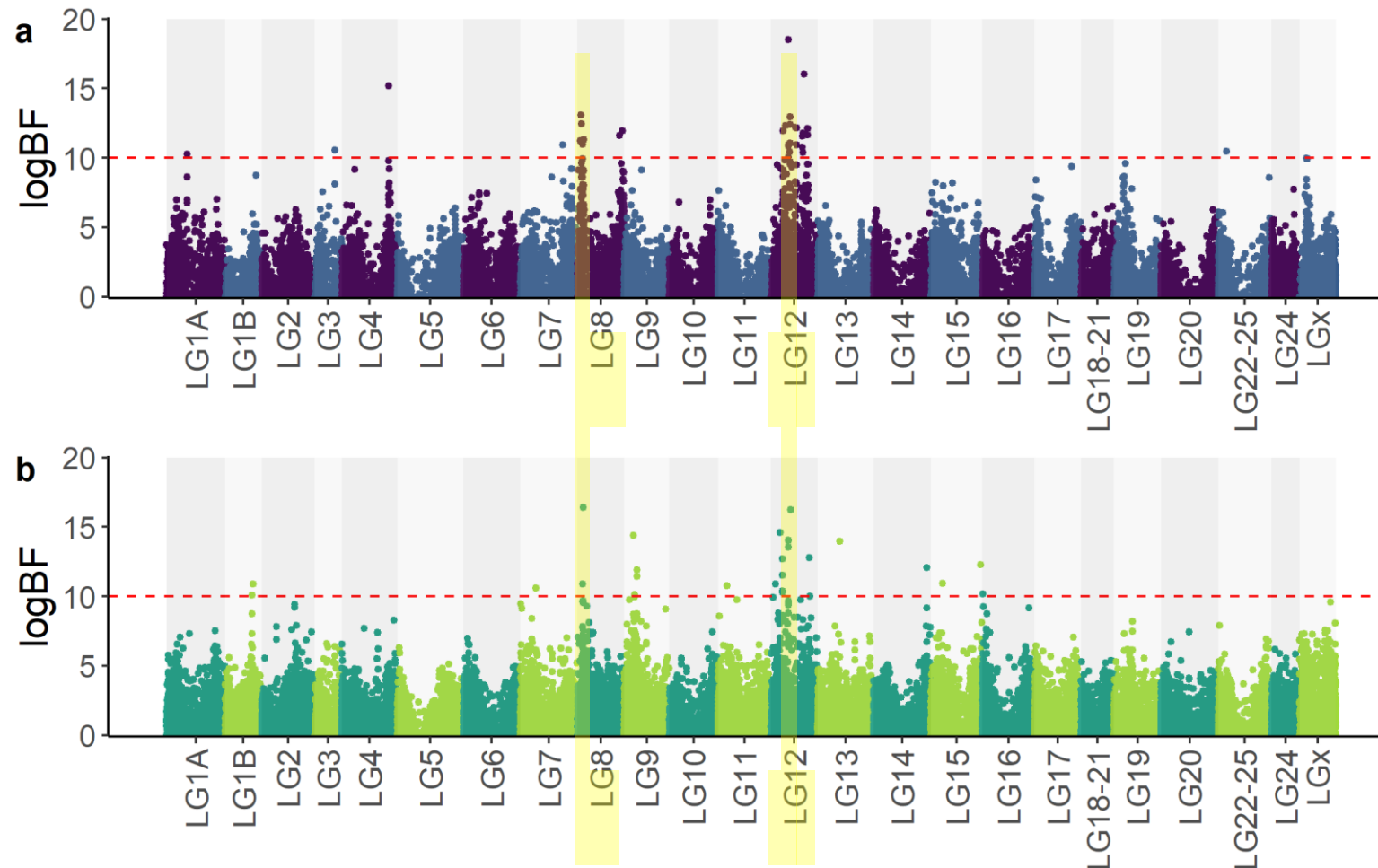
- Utilisation des études d'association tout génome = GWAS
 - Identifier les variants SNP statistiquement associés avec la survie au VNN des bars
 - Les parents (N=400) ont leur génome entièrement séquencé (tous les variants sont identifiés)
 - Les descendants sont caractérisés par leur génotype à 57.000 marqueurs connus (Puce DlabChip , développée dans le cadre du projet Gènesea)
 - La séquence complète des descendants est déduite (imputée) de celle de leurs parents
 - Pour chaque marqueur, l'association statistique entre génotype et survie au VNN est quantifiée



Puce Affymetrix
57K DLabChip

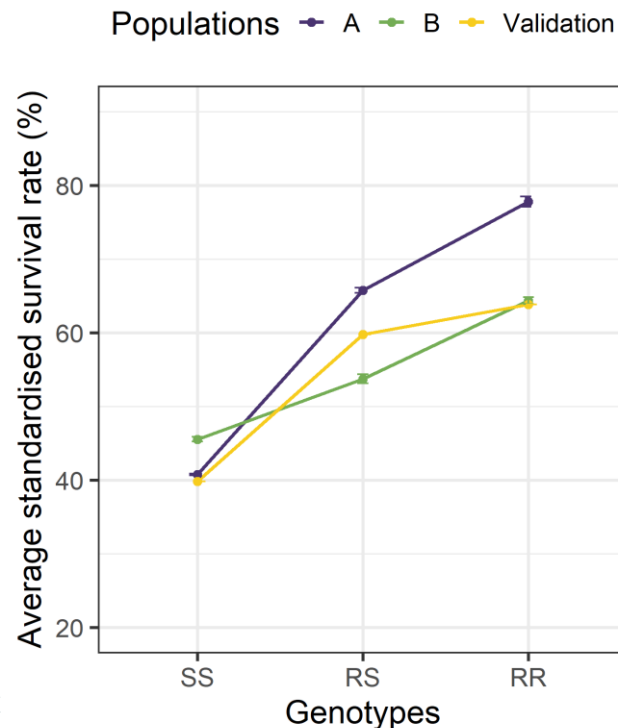
➤ Combinaison des données phénotypique et génétique

- Résultats des GWAS via des représentations en *Manhattan plot* :



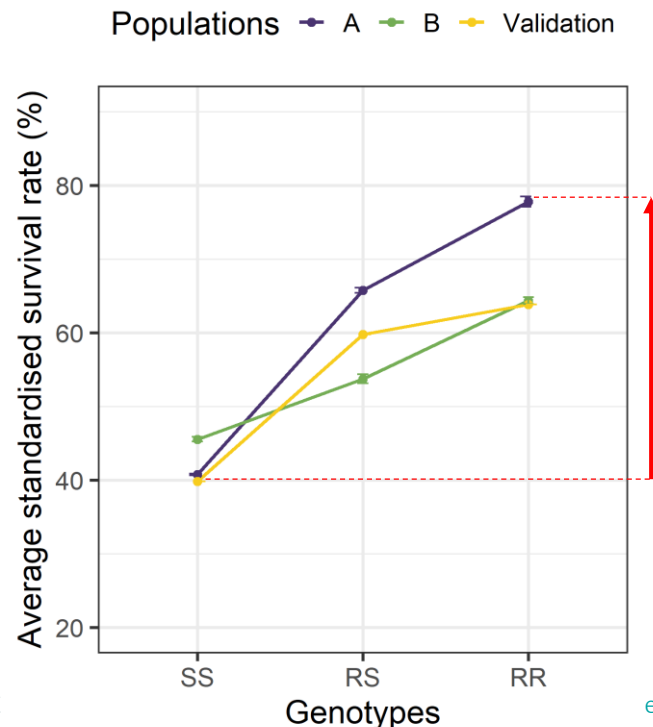
➤ L'impact du QTL du LG12 sur le taux de survie

- Après plusieurs analyses -> identification du SNP avec le plus fort impact sur le taux de survie
- Projection du pourcentage de survie selon les génotypes possibles à ce SNP :
 - **SS** = homozygote pour l'allèle de sensibilité (2 copies de l'allèle S)
 - **RR** = homozygote pour l'allèle de résistance (2 copies de l'allèle R)
 - **RS** = hétérozygote (1 copie de chaque allèle)



➤ L'impact du QTL du LG12 sur le taux de survie

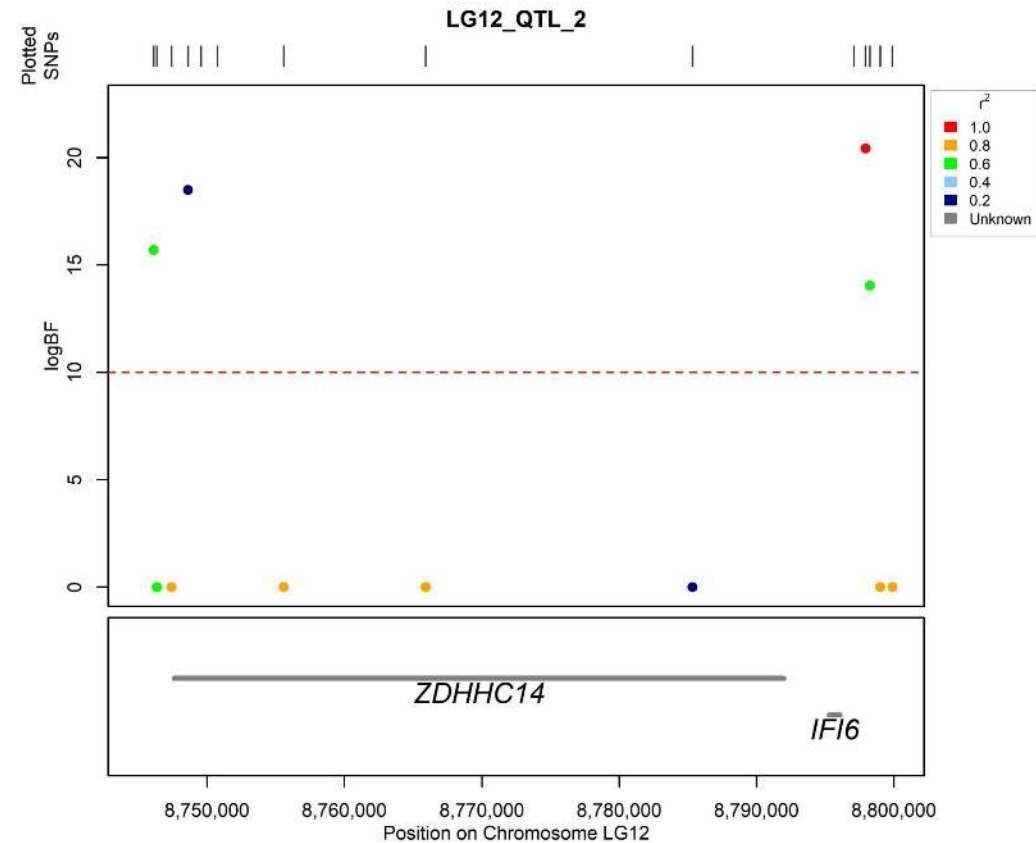
- Après plusieurs analyses -> identification du SNP avec le plus fort impact sur le taux de survie
- Projection du pourcentage de survie selon les génotypes possibles à ce SNP :
 - **SS** = homozygote pour l'allèle de sensibilité (2 copies de l'allèle S)
 - **RR** = homozygote pour l'allèle de résistance (2 copies de l'allèle R)
 - **RS** = hétérozygote (1 copie de chaque allèle)



+ 40% de survie avec le génotype RR

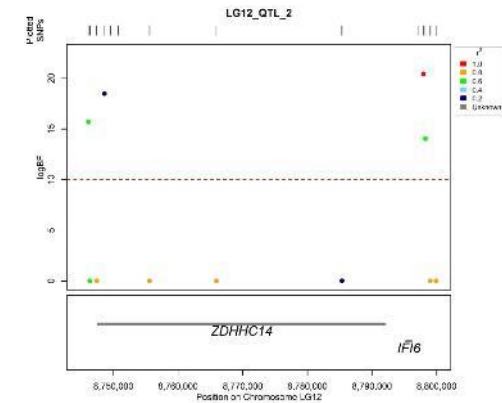
➤ Les gènes positionnés dans cette région génomique

- Utilisation de l'annotation fonctionnelle du génome de bar V1.0
- 2 gènes identifiés :
 - ⇒ **ZDHHC14**
 - ⇒ **IFI6**

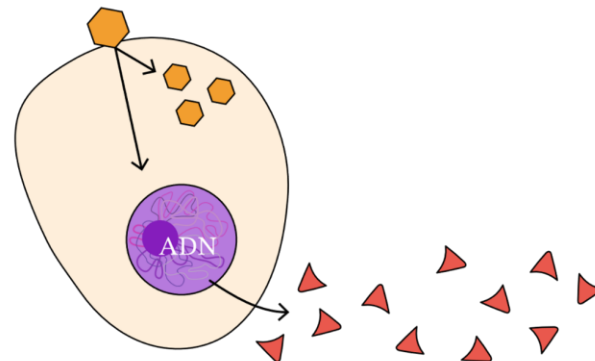


➤ Les gènes positionnés dans cette région génomique

- Utilisation de l'annotation fonctionnelle du génome de bar V1.0
- 2 gènes identifiés :
 - ⇒ **ZDHHC14**
 - ⇒ **IFI6**
- **IFI6** = protéine induite par un interféron



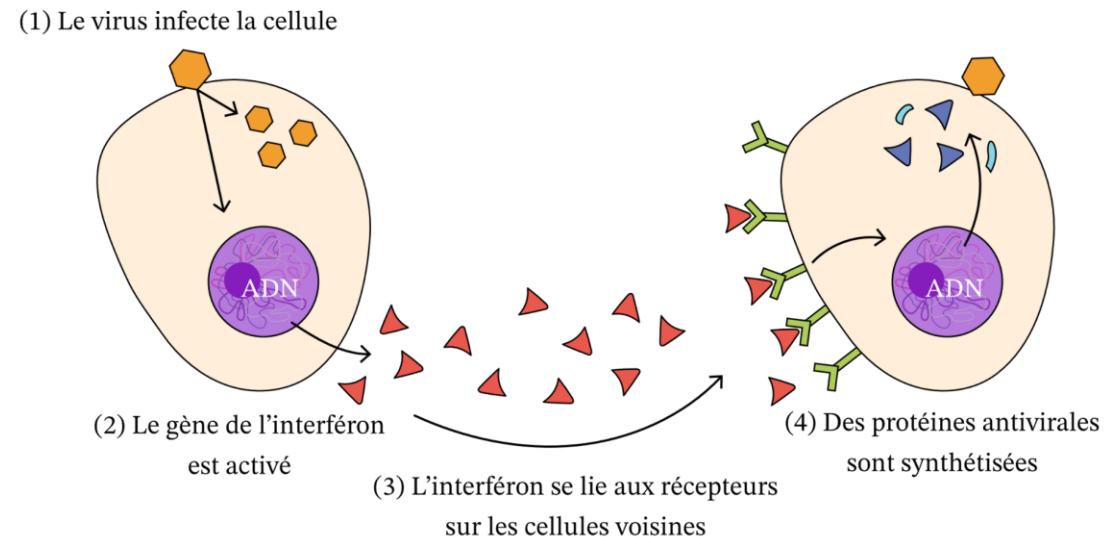
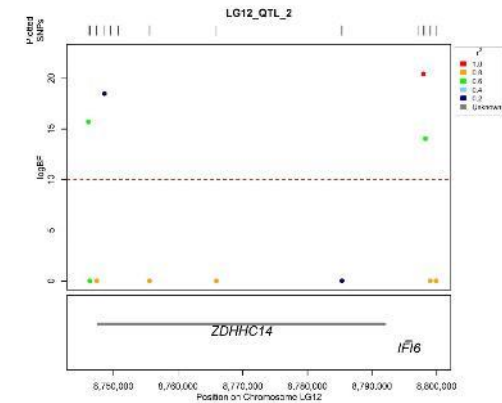
(1) Le virus infecte la cellule



(2) Le gène de l'interféron
est activé

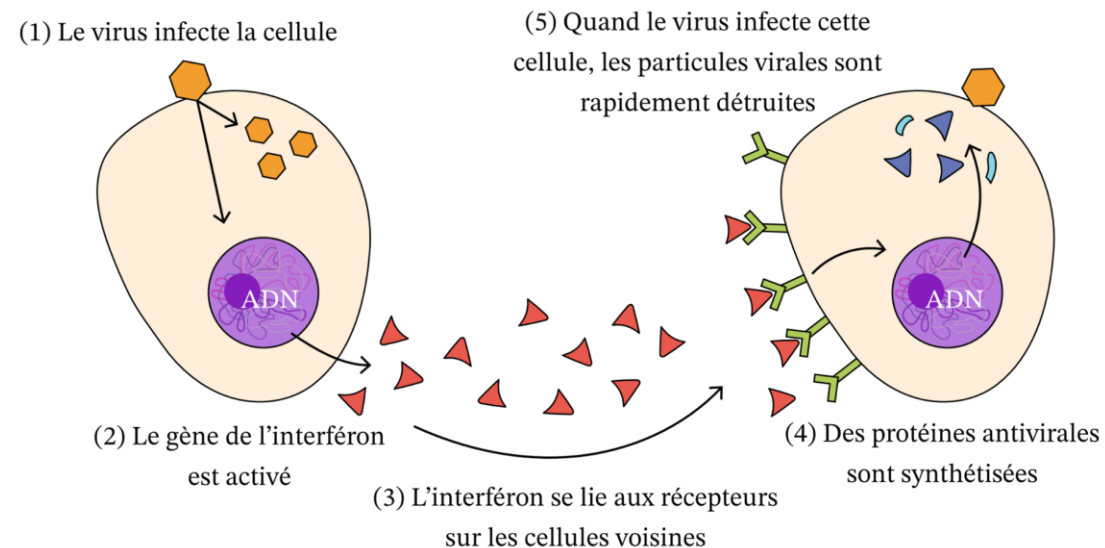
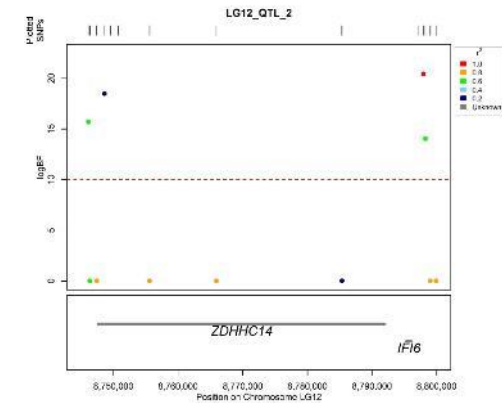
➤ Les gènes positionnés dans cette région génomique

- Utilisation de l'annotation fonctionnelle du génome de bar V1.0
- 2 gènes identifiés :
 - ⇒ **ZDHHC14**
 - ⇒ **IFI6**
- IFI6** = protéine induite par un interféron



➤ Les gènes positionnés dans cette région génomique

- Utilisation de l'annotation fonctionnelle du génome de bar V1.0
- 2 gènes identifiés :
 - ⇒ **ZDHHC14**
 - ⇒ **IFI6**
- IFI6** = protéine induite par un interféron



> Conclusion

- A l'aide des séquences de génome entier de bars :
 - **Cartographie fine** du phénotype de résistance au nodavirus chez le bar
 - **Identification de régions génomiques d'intérêts** dans les deux populations commerciales
 - Dans la région du LG12 à impact fort sur la résistance au nodavirus :
 - **Gène ZDHHC14** : lien avec la duplication in-vitro du nodavirus
 - **Gène IFI6** : directement lié à la réponse immunitaire des individus après infection
 - Les variants ainsi identifiés peuvent être **intégrés aux schémas de sélection** pour obtenir des alevins plus résistants face à une infection au VNN (+40% de survie)
- ⇒ *L'implication des gènes identifiés doit être confirmée de manière fonctionnelle en identifiant des différences d'expression chez des individus morts vs. vivants*



➤ Merci à tous pour votre attention !



Fermes Marines
du Soleil

