

Marqueurs moléculaires et cartographie de QTL

1. Les marqueurs moléculaires

Notion de marqueur génétique

- Marqueur génétique = caractère variable mesurable
- Permettant de caractériser/identifier un individu
- Leur transmission héréditaire peut être suivie au cours des générations

Marqueurs génétiques: propriétés désirables

- Très polymorphes
- Reproductibles
- Codominants
- Distribués régulièrement le long du génome
- Discriminants
- Non soumis à l'influence de l'environnement
- Peu coûteux
- Faciles à mesurer

La première génération de marqueurs génétiques

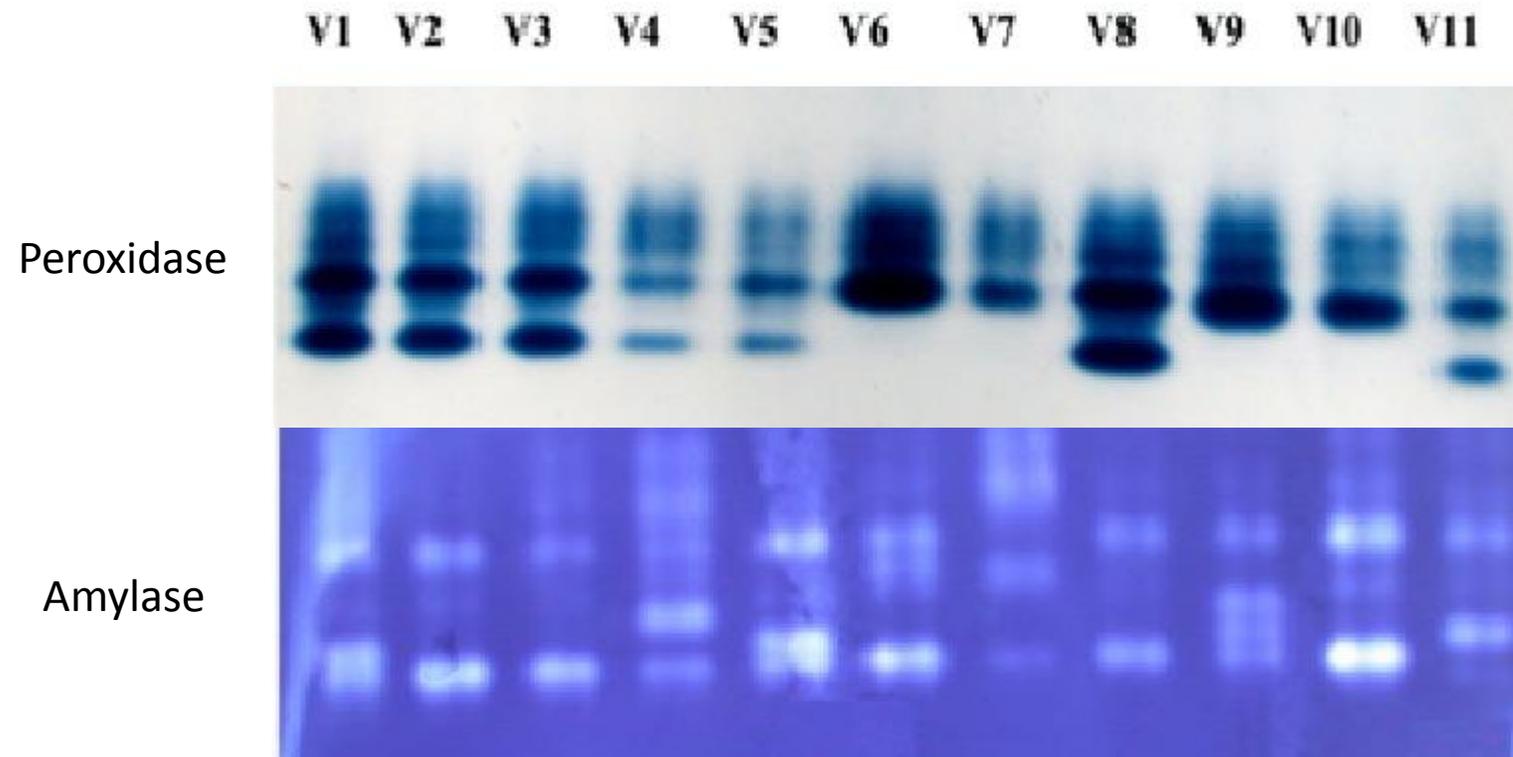
- **Les marqueur phénotypiques (morphologiques):** caractères observables, variables, monogéniques, peuvent être utilisés pour identifier un individu
- Inconvénients: nombre limité, influencés par l'environnement
- Il faudra développer autres types de marqueurs..... Les marqueurs biochimiques

Character	Dominant Trait	×	Recessive Trait	F ₂ Generation Dominant:Recessive	Ratio
Flower color	Purple 	×	White 	705:224	3.15:1
Flower position	Axial 	×	Terminal 	651:207	3.14:1
Seed color	Yellow 	×	Green 	6022:2001	3.01:1
Seed shape	Round 	×	Wrinkled 	5474:1850	2.96:1
Pod shape	Inflated 	×	Constricted 	882:299	2.95:1
Pod color	Green 	×	Yellow 	428:152	2.82:1
Stem length	Tall 	×	Dwarf 	787:277	2.84:1

Les marqueurs biochimiques

- Protéines: Enzymes, protéines de réserve
- Electrophorèse + coloration histochimique spécifique de la protéine en question
- Isozymes: différentes formes d'une enzyme canalisant la même réaction mais codées par différents *loci*
- Allozymes: différentes formes d'une enzyme codées par différents allèles d'un locus
- Ici, isozymes au sens large
- Protéines souvent utilisées:

Les isozymes (isoenzymes)



Isozyme profiles of oats cultivars

Les isozymes (isoenzymes)

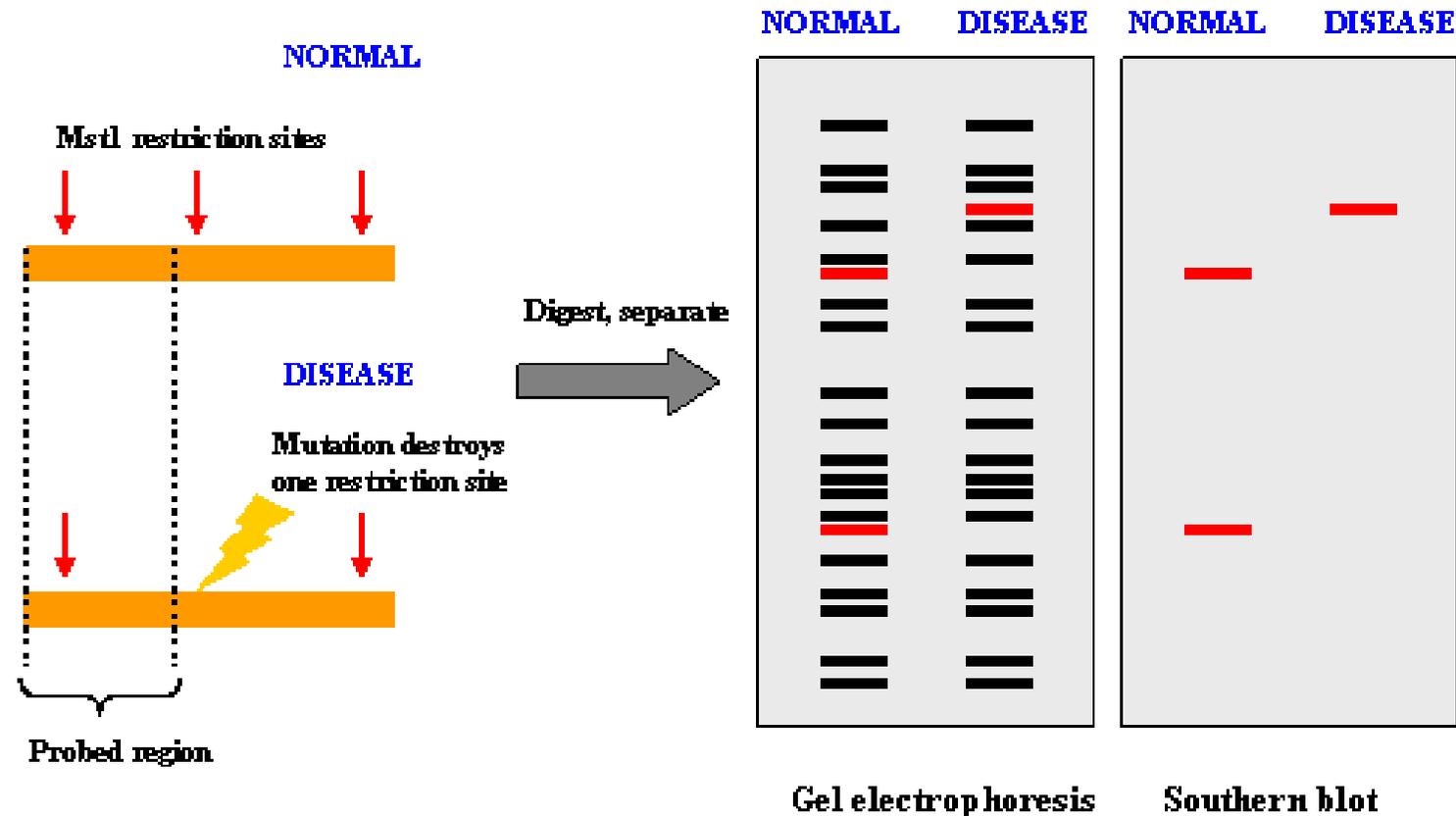
- Inconvénients:
 - Soumis à l'influence de l'environnement
 - Nombre limité: relativement peu d'essais biochimiques disponibles pour révéler des enzymes

Marqueurs moléculaires

- Basés sur la molécule d'ADN
- Avantages:
 - Non influencés par l'environnement
 - Potentiellement, en nombre illimité
 - Permet d'accéder l'origine de toute variation mesurable

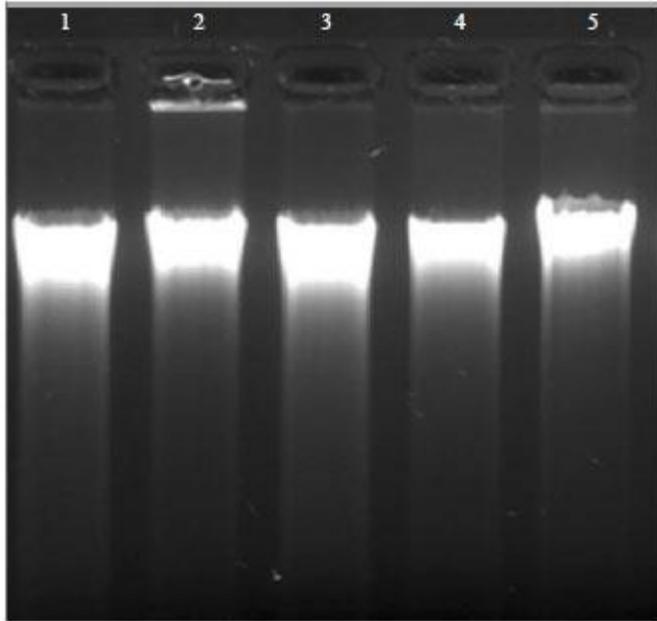
Polymorphisme de longueur de fragment de restriction

Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP)

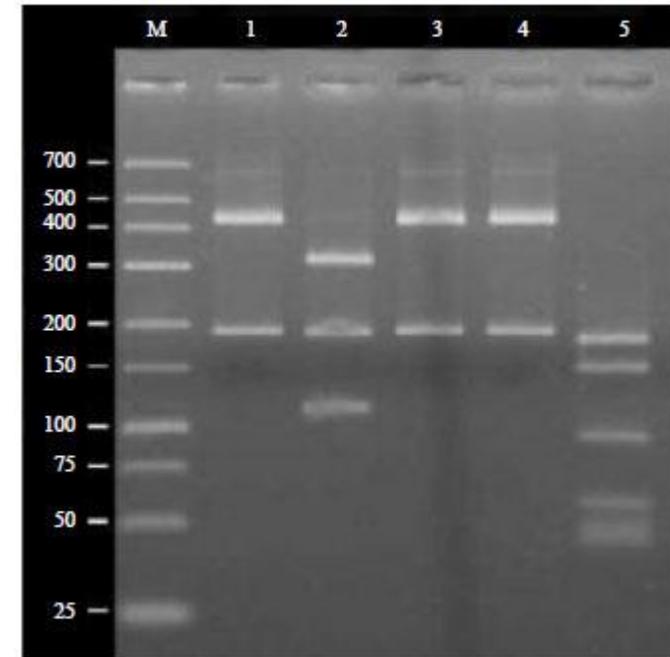


Polymorphisme de longueur de fragment de restriction

Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP)



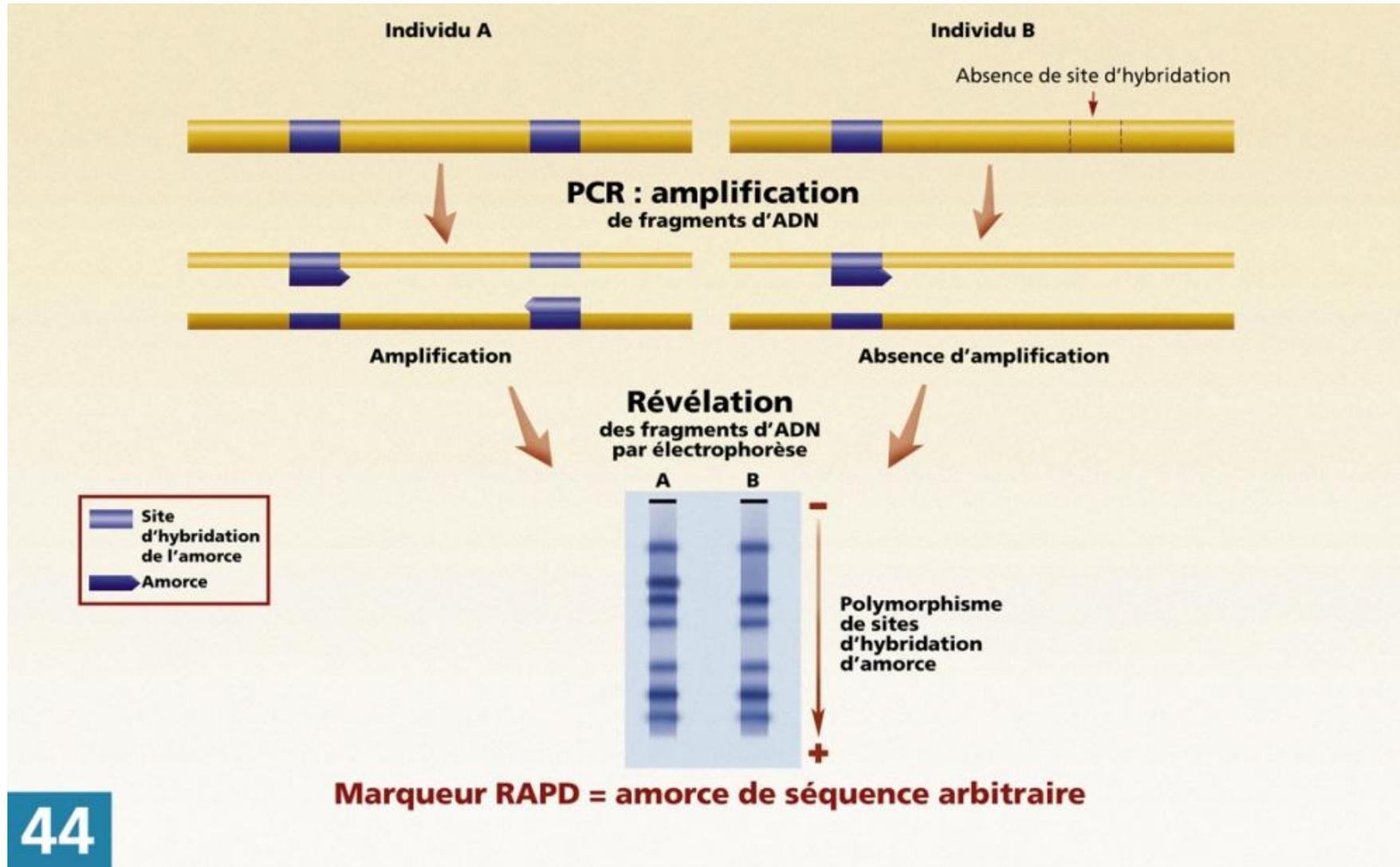
Digested genomic DNA



Revelation

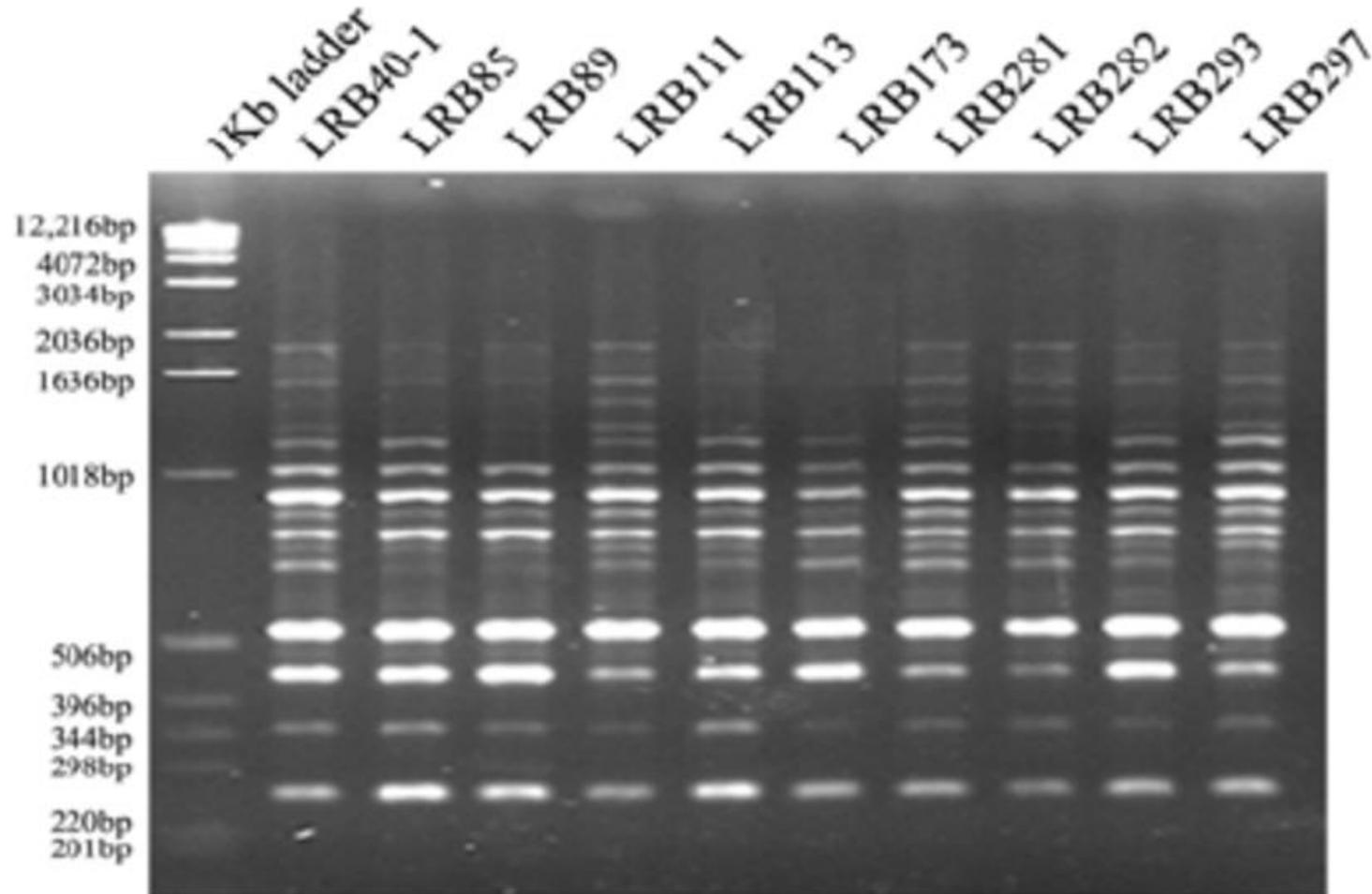
ADN polymorphe amplifié au hasard

Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD)



ADN polymorphe amplifié au hasard

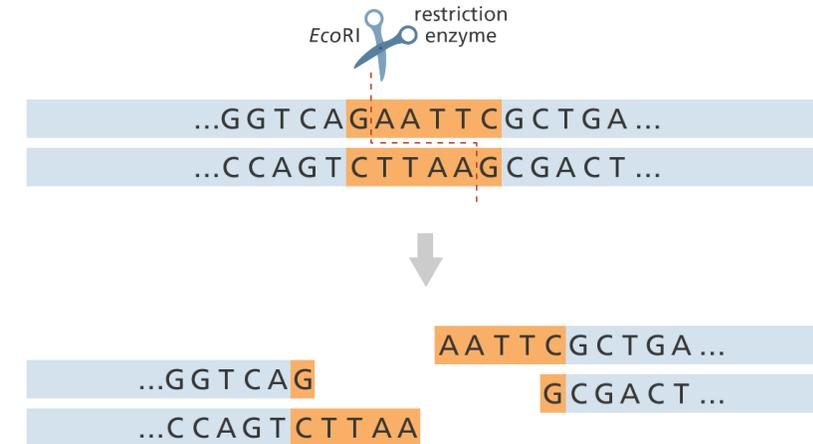
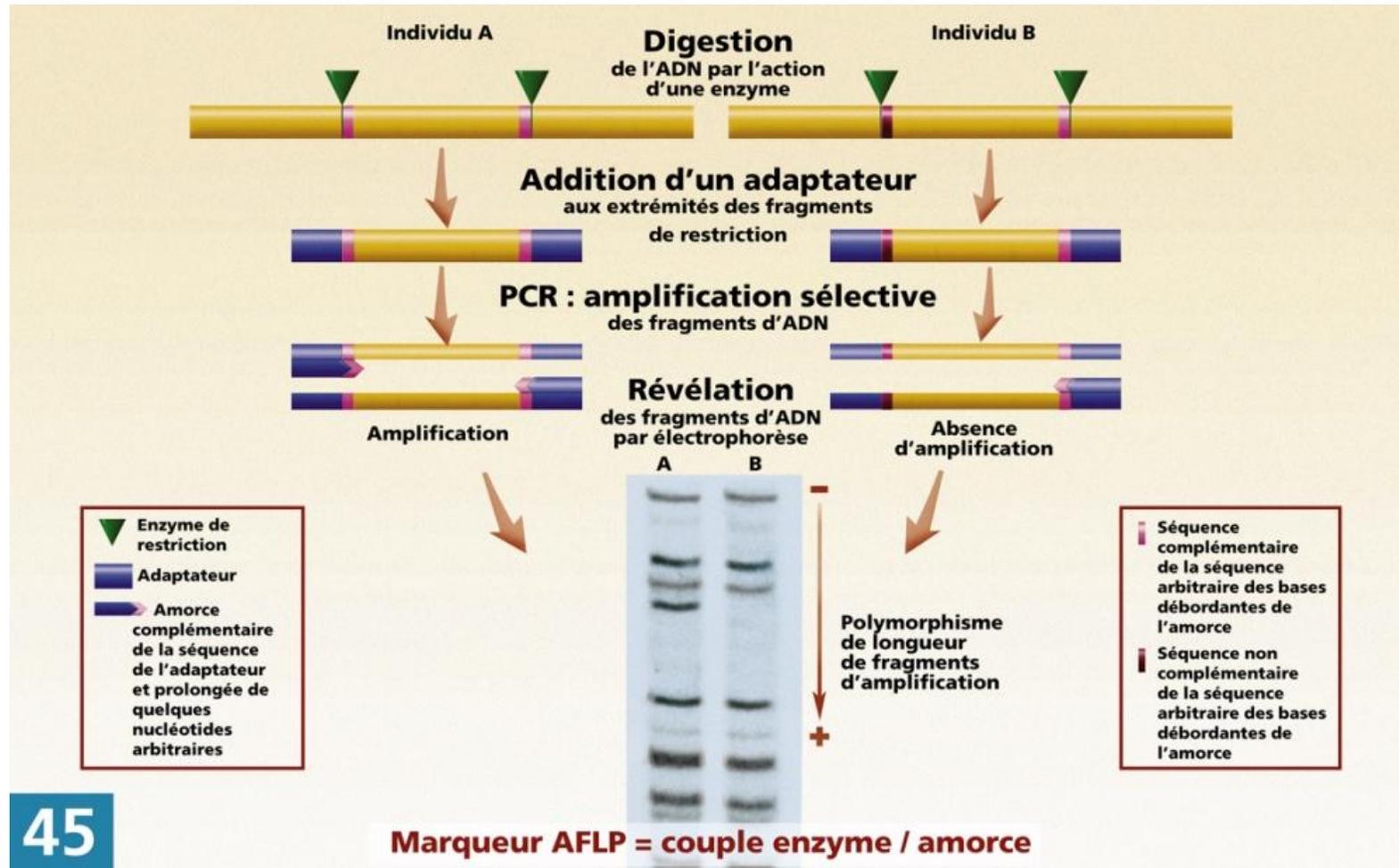
Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD)



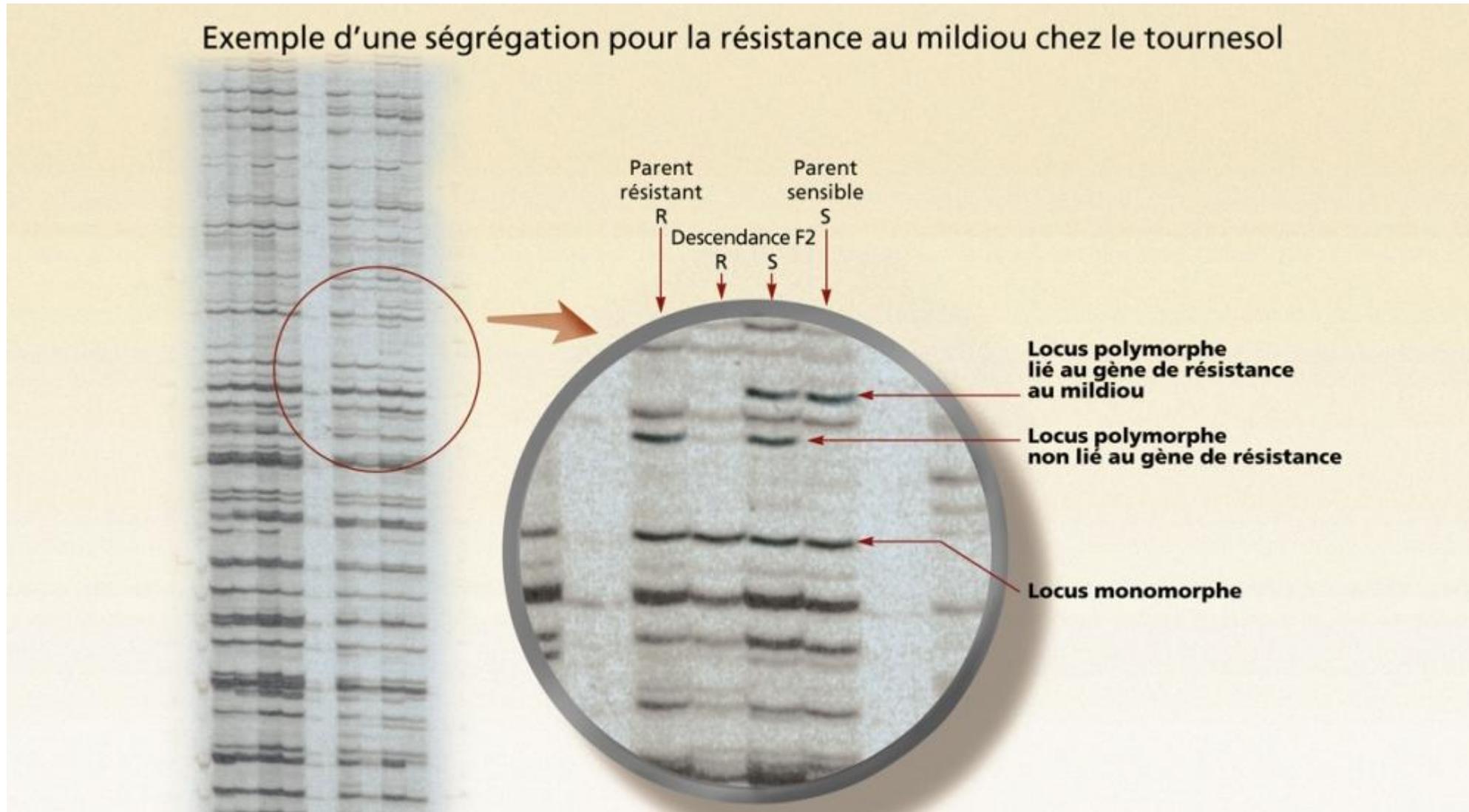
RAPD marker profiles of 10 landraces of *V. umbellata* generated by primer OPBB1

Polymorphisme de longueur des fragments d'amplification

Amplification Fragment Length Polymorphism (AFLP)



Polymorphisme de longueur des fragments d'amplification *Amplification Fragment Length Polymorphism (AFLP)*



Les marqueurs microstallites

Simple Sequence Repeats (SSR)

ACTGTCG**ACACACACACACAC**GCTAGCT (AC)₇
TGACAGCT**TGTGTGTGTGTGT**GCGATCGA

ACTGTCG**ACACACACACACACAC**GCTAGCT (AC)₈
TGACAGCT**TGTGTGTGTGTGTGT**GCGATCGA

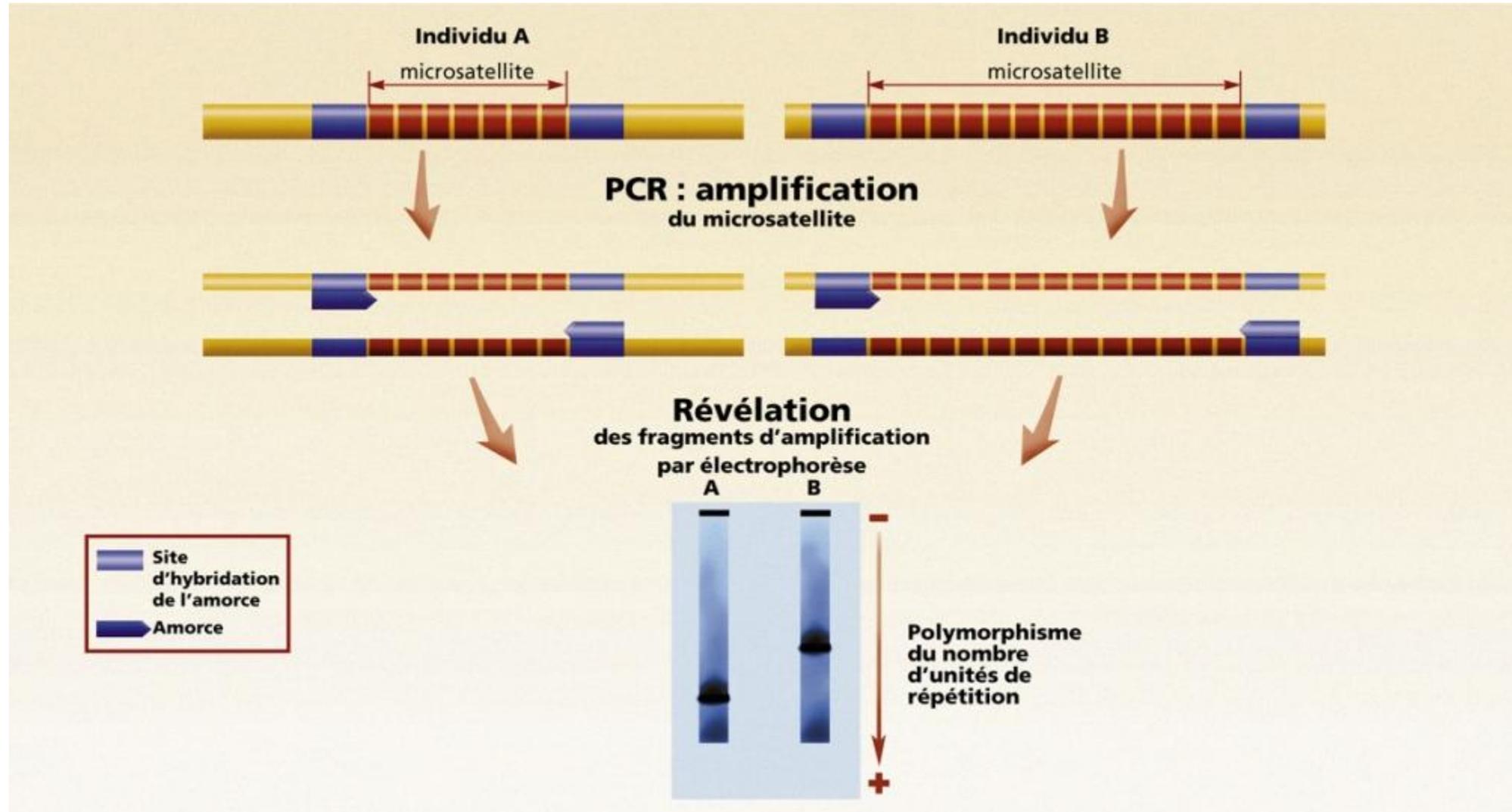
ACTGTCG**ACACACACACACACACACAC**GCTAGCT (AC)₁₀
TGACAGCT**TGTGTGTGTGTGTGTGTGT**GCGATCGA

ACTGTCG**ACACACACACACACACACACACAC**GCTAGCT (AC)₁₂
TGACAGCT**TGTGTGTGTGTGTGTGTGTGTGT**GCGATCGA

Polymorphisme de nombre d'unités de répétition

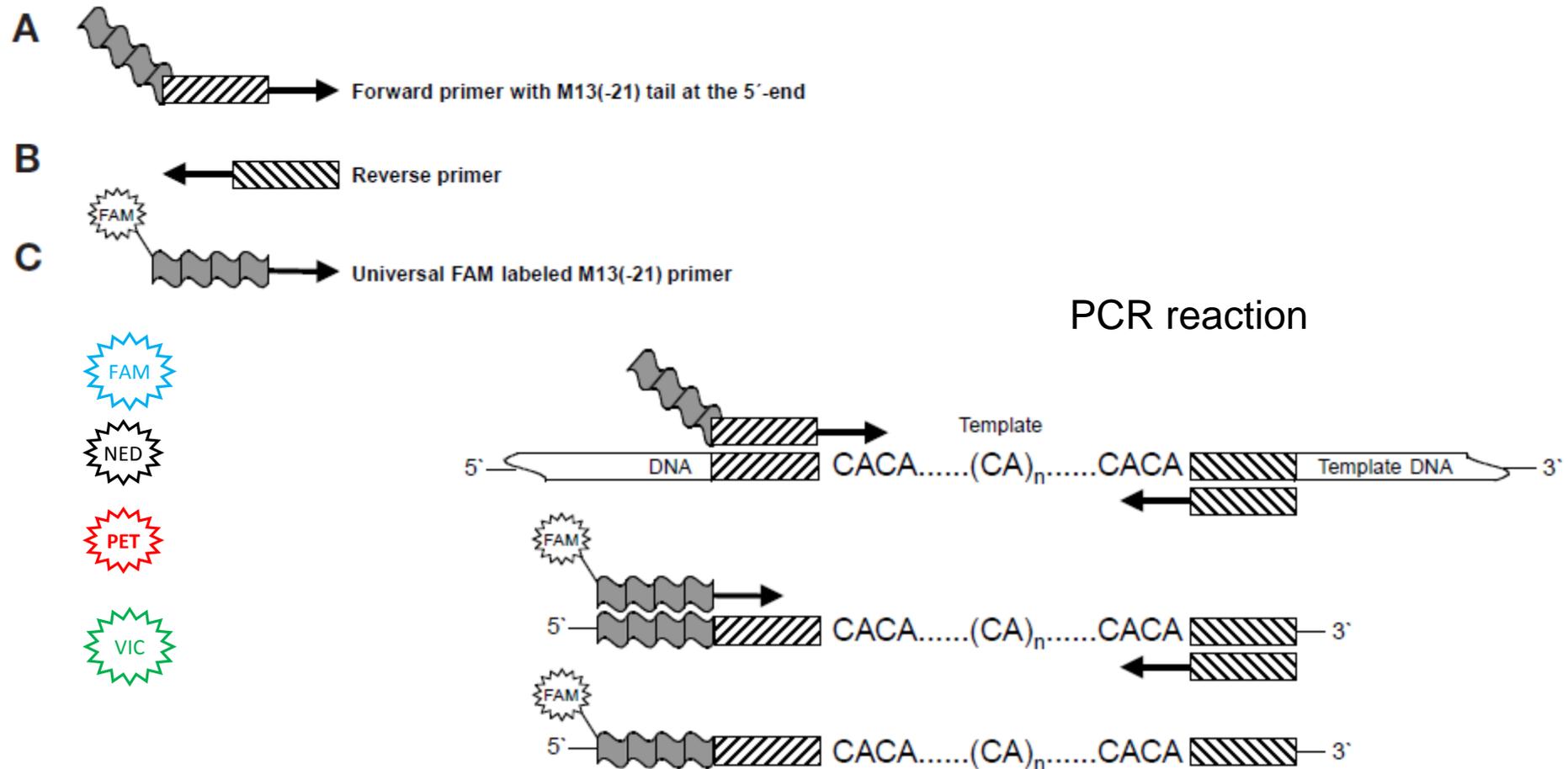
Les marqueurs microstallites

Simple Sequence Repeats (SSR)



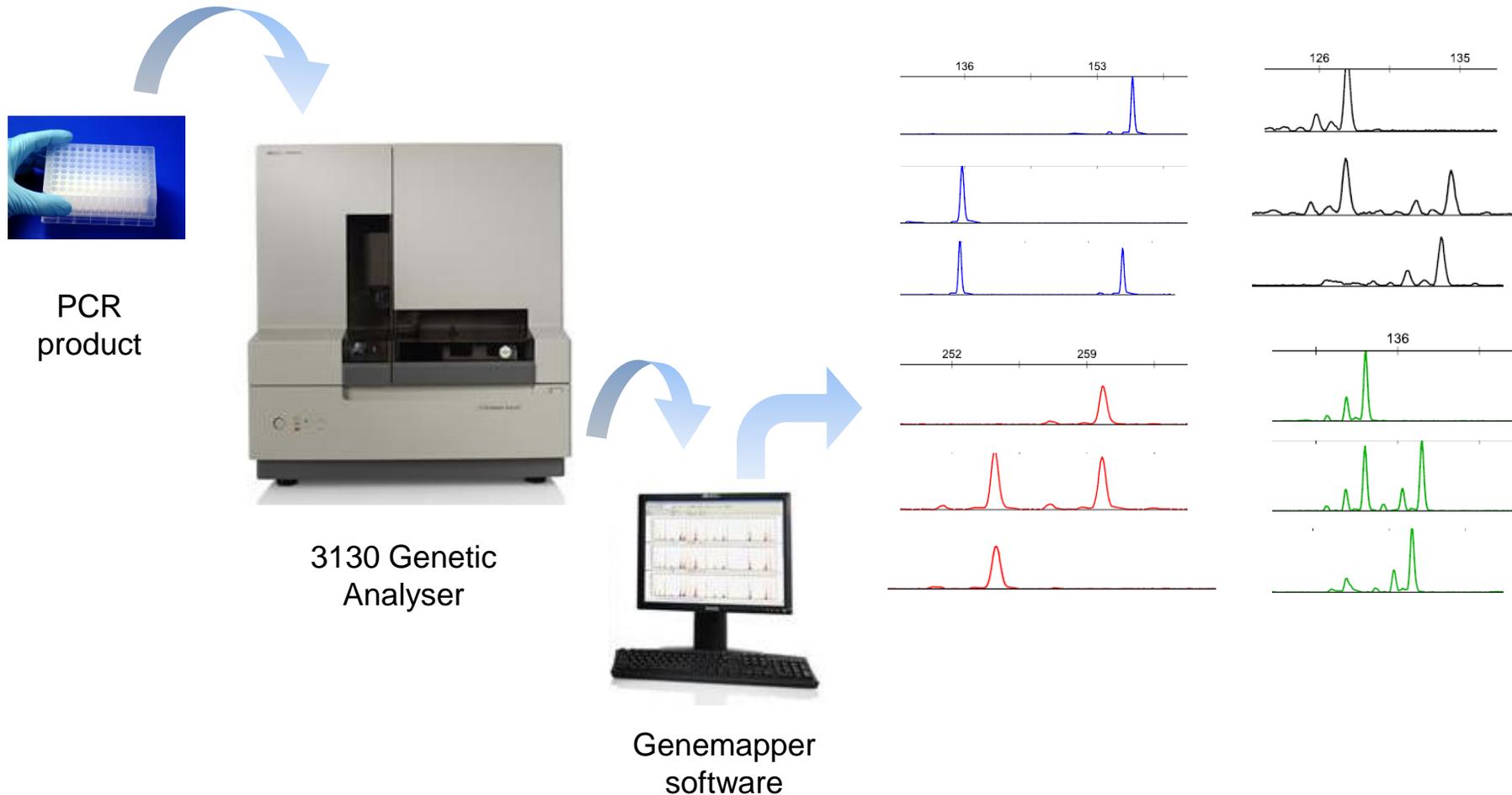
Analyse de fragment en utilisant le séquenceur

M13 -tailed PCR with fluorescent primer labelling



Les marqueurs microstallites *Simple Sequence Repeats (SSR)*

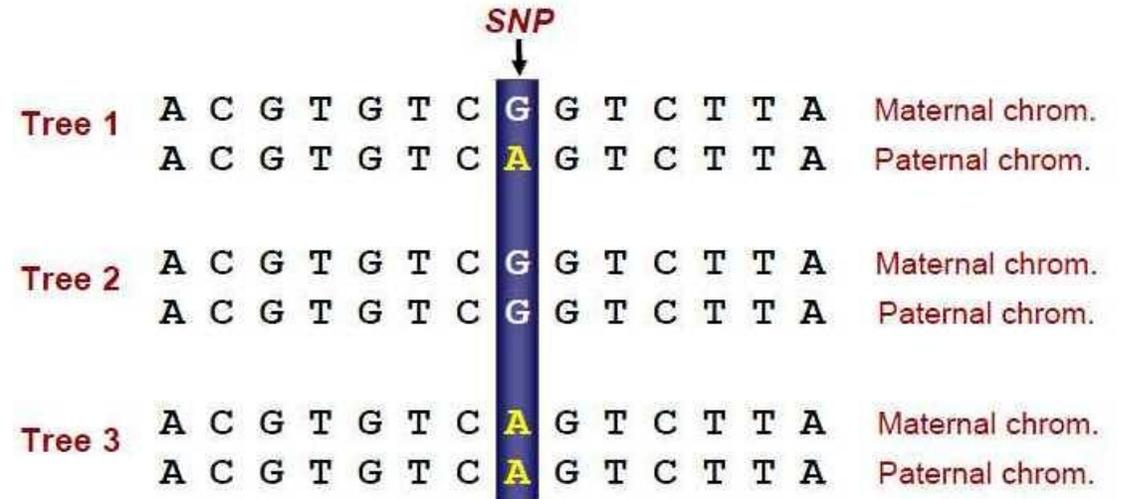
PCR product visualization



Single Nucleotide Polymorphism (SNP)

- **Avantages**

- Abondance
- Aptitude à l'automatisation



Single Nucleotide Polymorphism (SNP)

- **Techniques de génotypage de première génération**

- Basées sur deux étapes:

- 1. Découverte:** re-séquençage ou criblage des bibliothèques de séquences préexistantes

- 2. Génotypage:** développement d'une plateforme de génotypage (microarray) pour un ensemble des SNP découverts (position, fréquences alléliques)

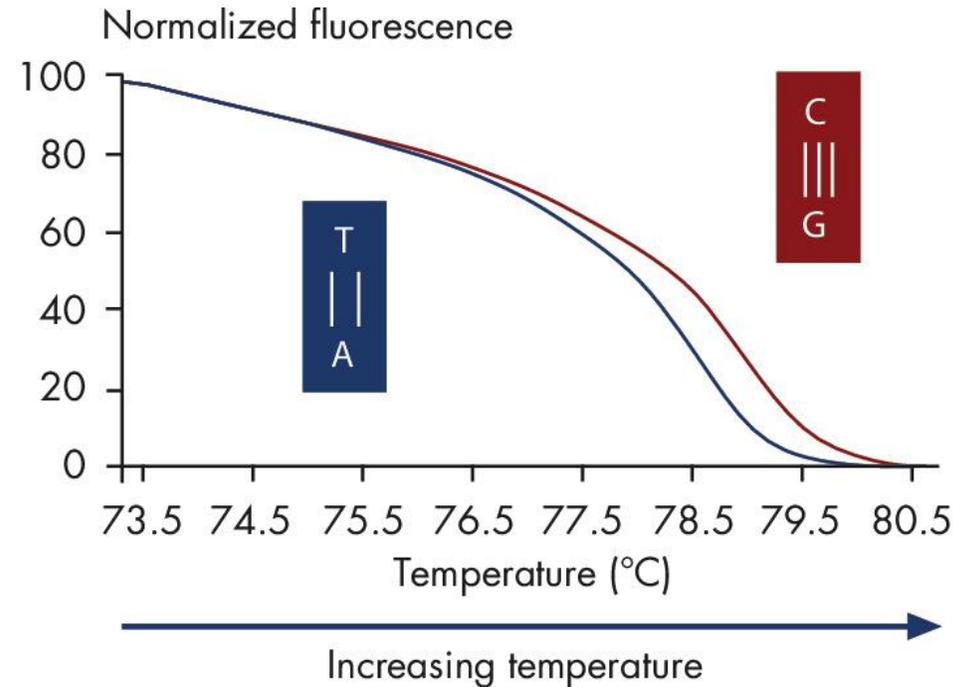
- Plusieurs technologies:

- Génotypage de SNP individuels: CAPs, HRM

- Génotypage multiplex à grande échelle: Les puces à ADN (DNA microarrays)

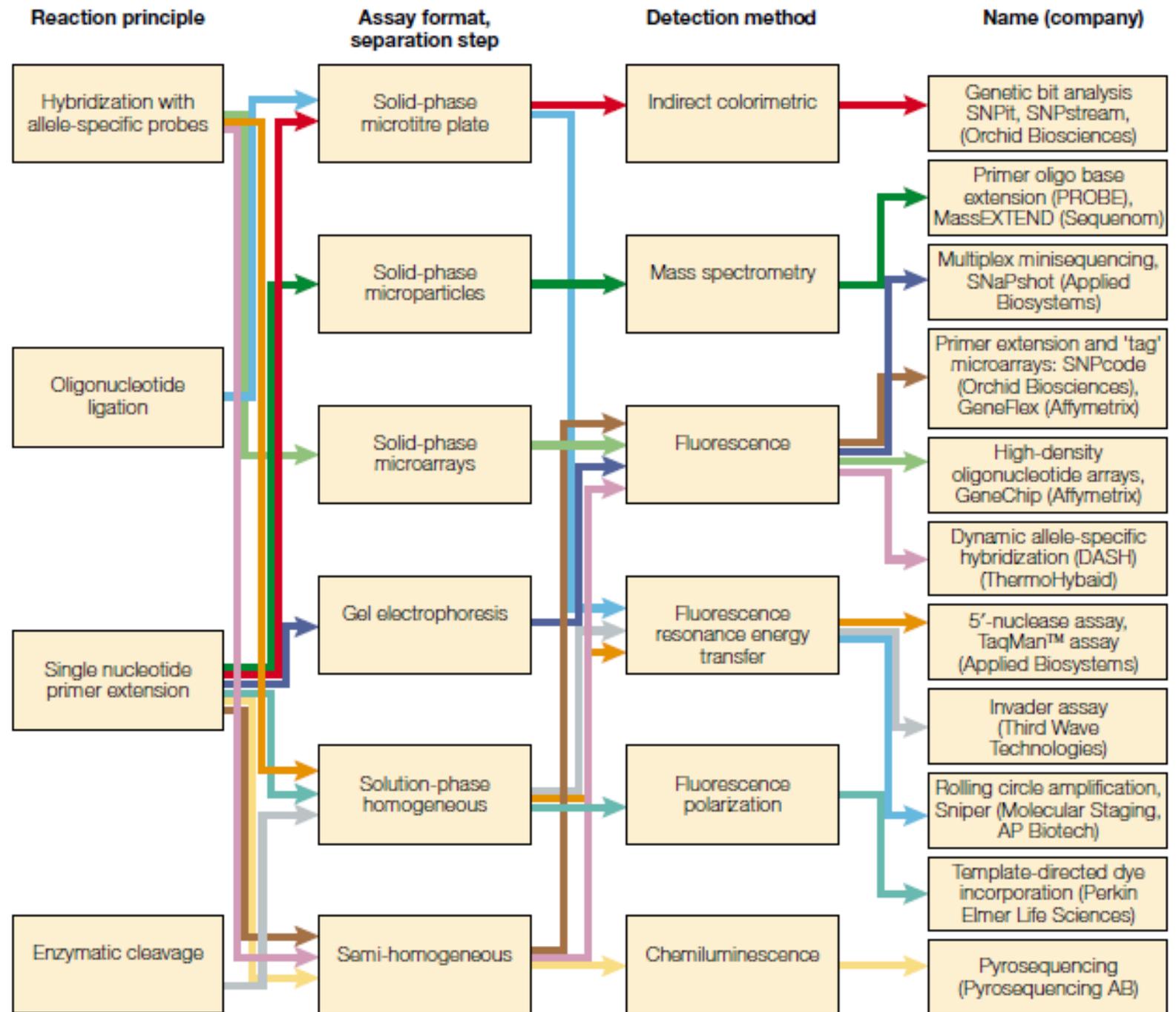
High Resolution Melting (HRM)

- Basé sur la dissociation de l'ADN double brin sous l'effet de la T°c
- Dépend de la GC % et de la distribution des nucléotides
- Éléments nécessaires:
 - Produits d'amplification
 - Un fluorophore intercalaire spécifique à l'ADN double brin
 - Thermocycleur, détecteur de fluorescence et système de visualisation

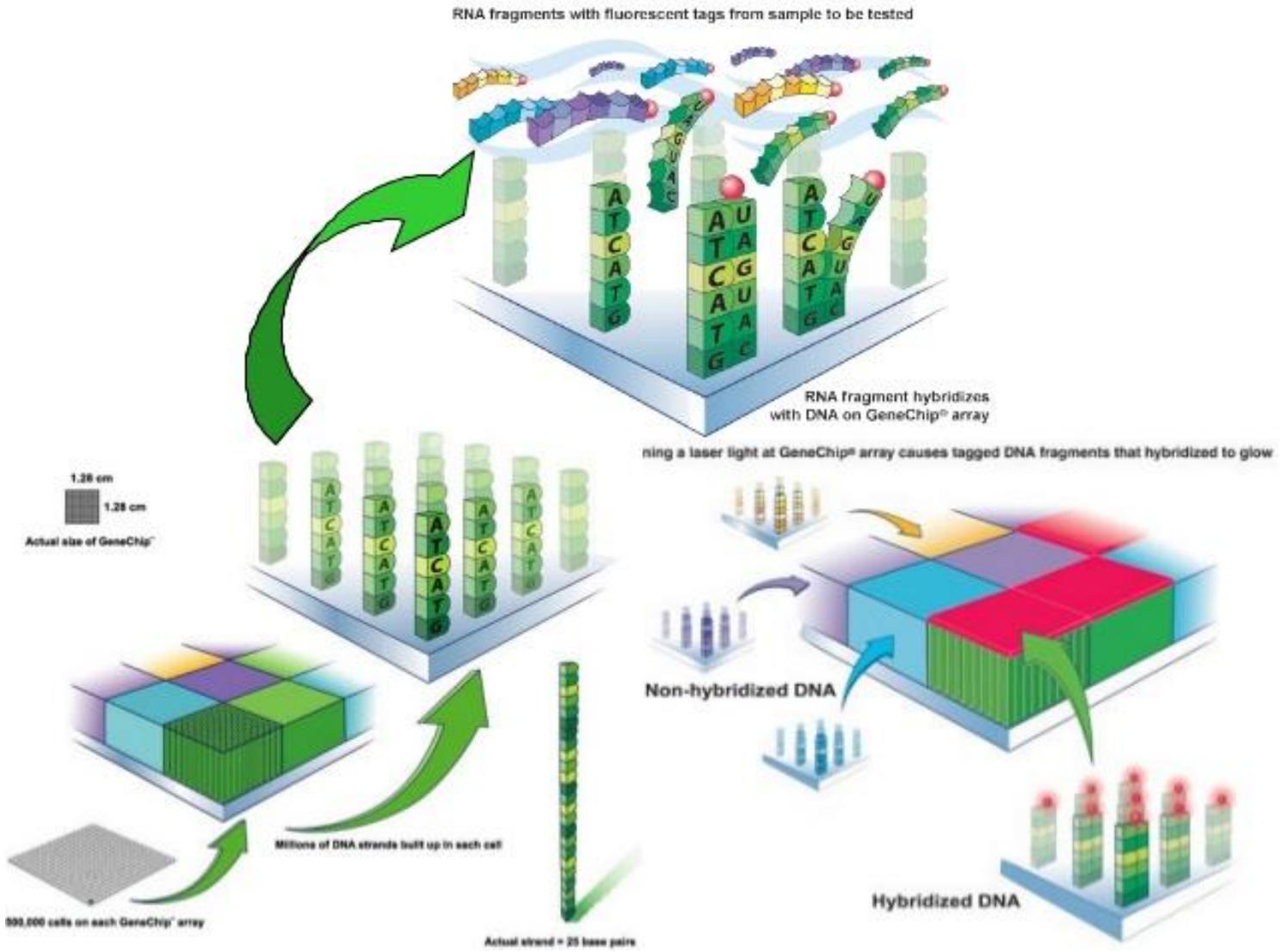


<https://www.qiagen.com/dz/resources/technologies/hrm/principle%20of%20hrm%20technology/>

Génotypage à grande échelle (SNP microarrays)



Génotypage à grande échelle (SNP microarrays)



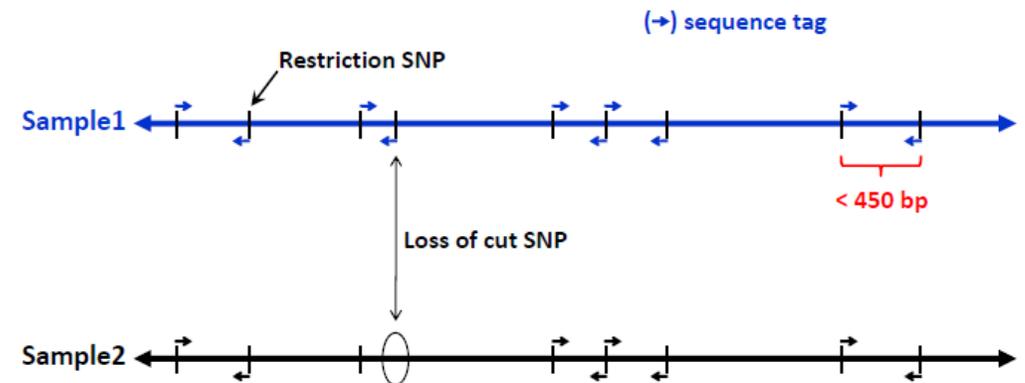
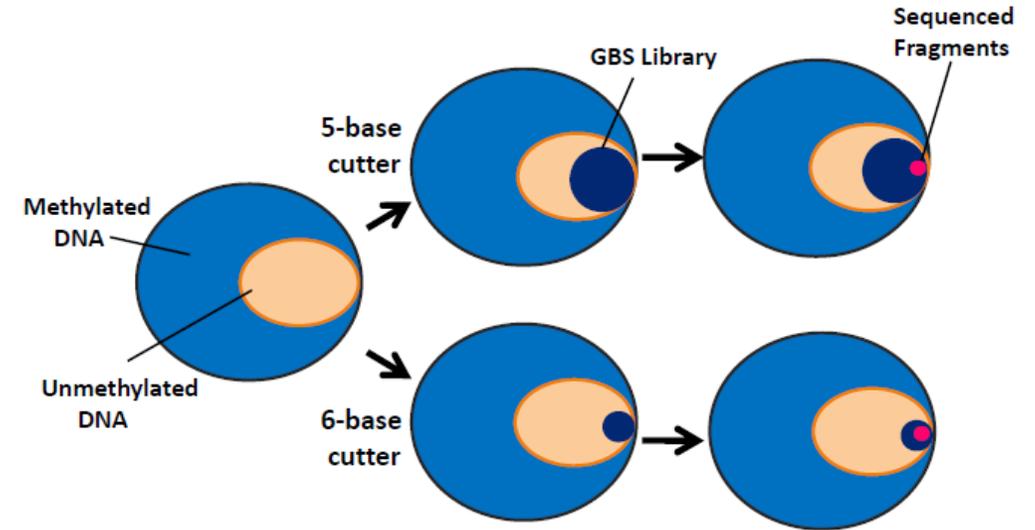
Single Nucleotide Polymorphism (SNP)

- **Techniques de génotypage de deuxième génération**
 - Basées sur une seule étape: découverte et génotypage simultanés par séquençage
 - Next génération sequencing technologies (NGS)
 - Ex: **GBS** (Genotyping By Sequencing) basée sur la technologie de séquençage de Illumina

Genotyping By Sequencing (GBS)

■ Principles:

- Reduction of genome complexity using methylation sensitive REs which filter out repetitive genomic fraction.
- Sequencing focused to the ends of restriction fragments (**64 bp**).



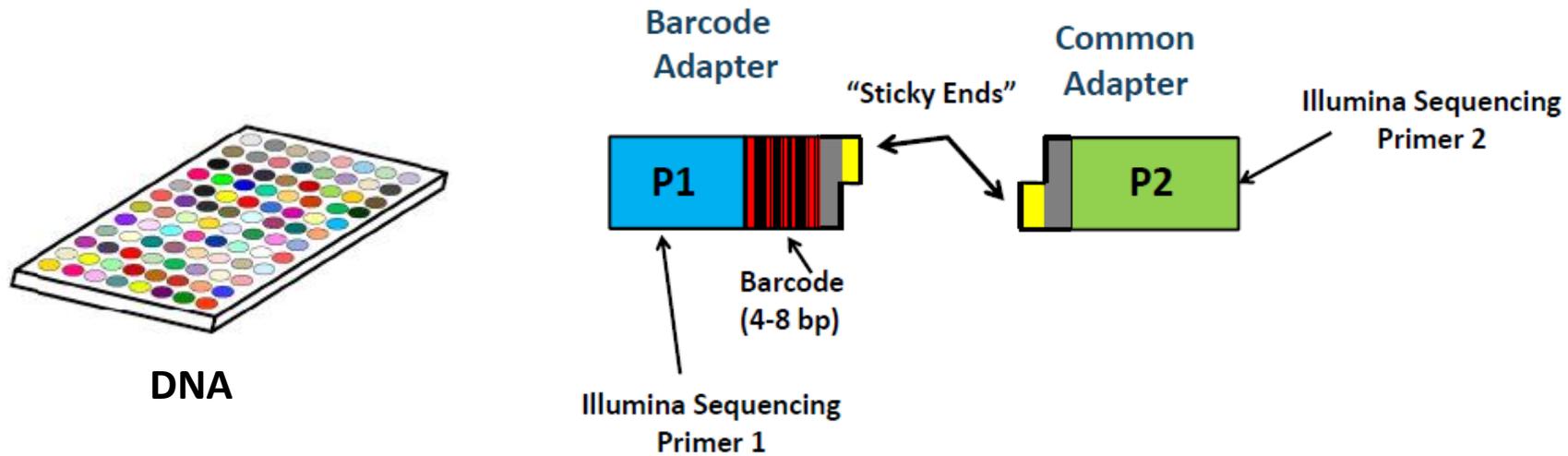
Genotyping By Sequencing (GBS)

1. DNA sequencing

- Library preparation: DNA digestion + adaptors ligation
- Cluster generation: Bridge PCR
- Sequencing: Reversible terminator sequencing

2. Bioinformatics processing of sequence data for SNP identification

Library preparation: needed materials



DNA

Barcode Adapter

Common Adapter

Illumina Sequencing Primer 2

Barcode (4-8 bp)

Illumina Sequencing Primer 1

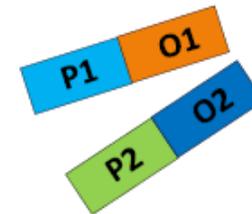
Restriction Enzymes

ApeKI 5' G CWGC 3'

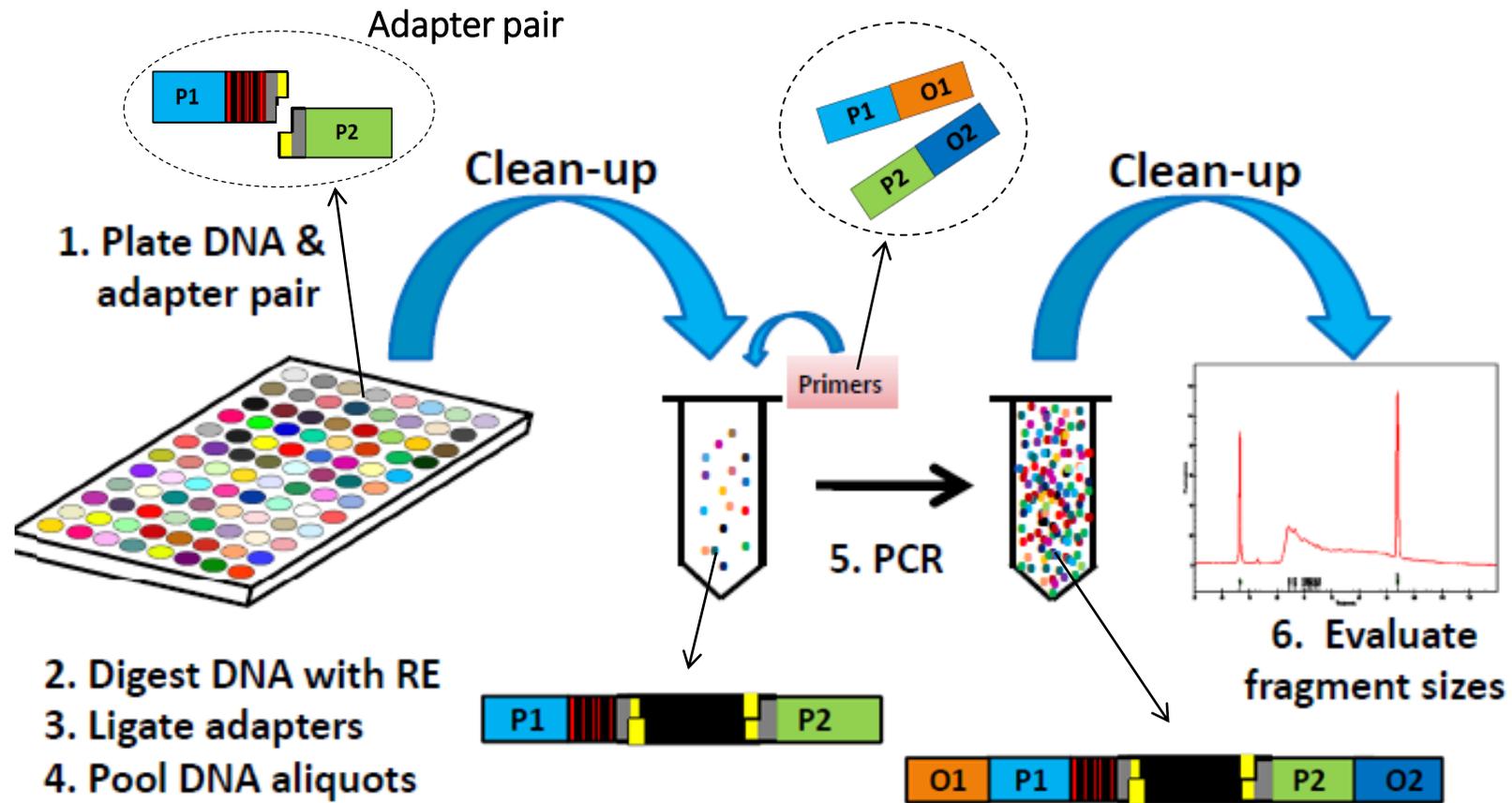
PstI CTGCA G

EcoT22I ATGCA T

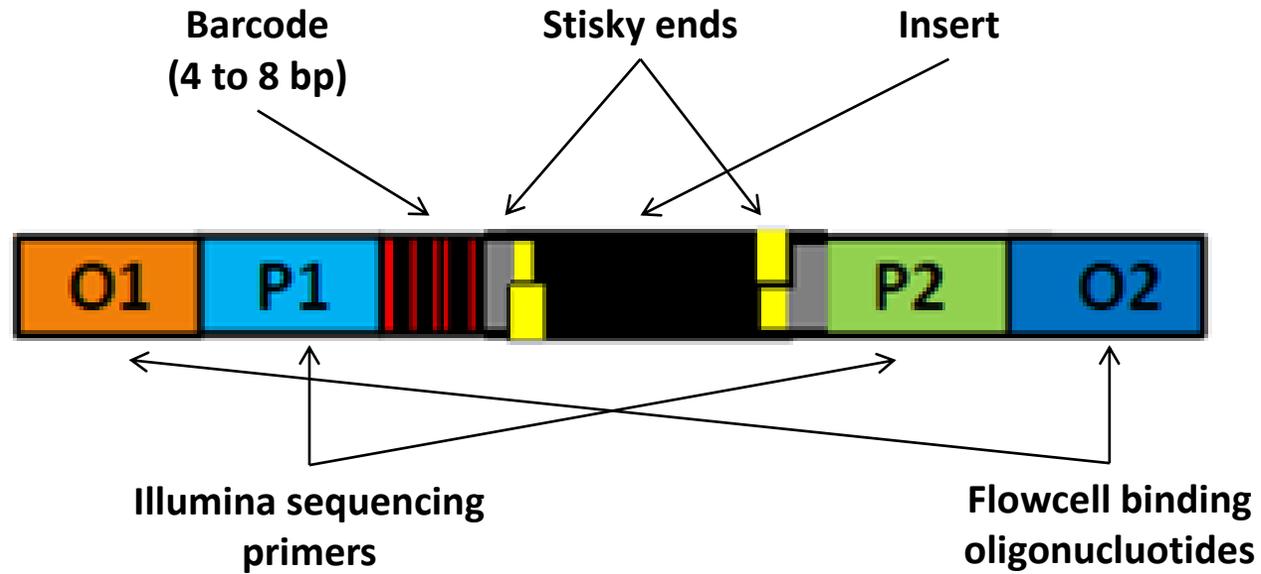
PCR primers



Library preparation workflow

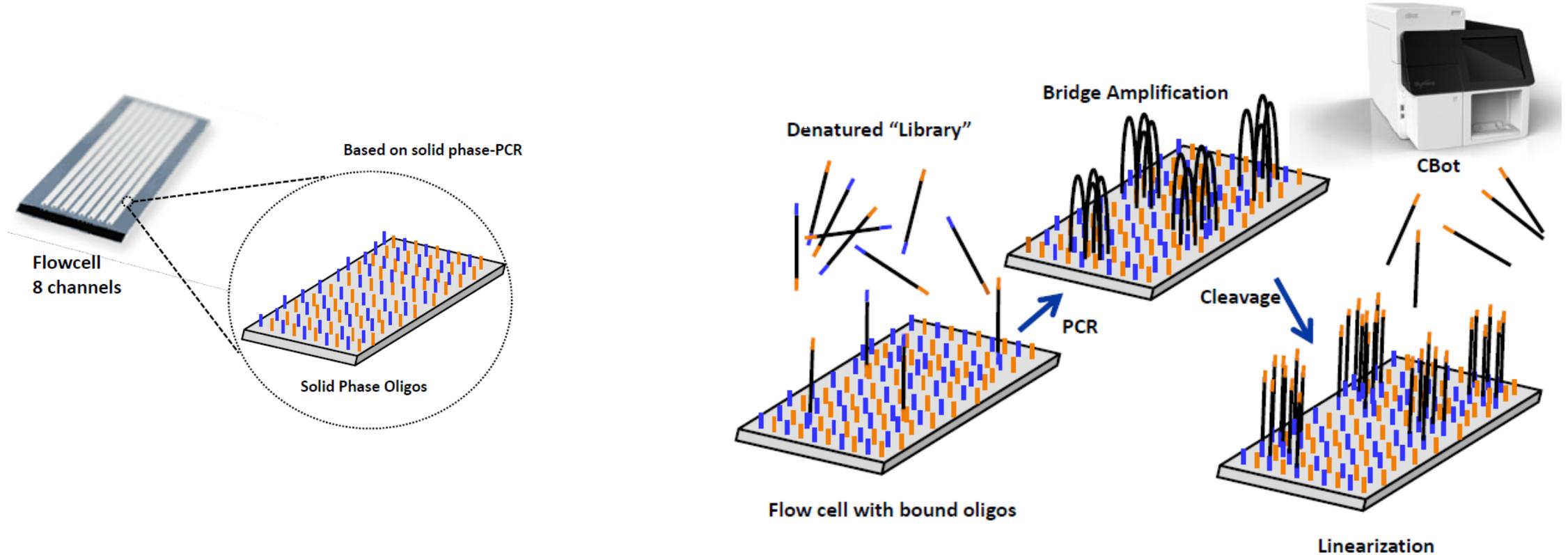


Sequencing fragment

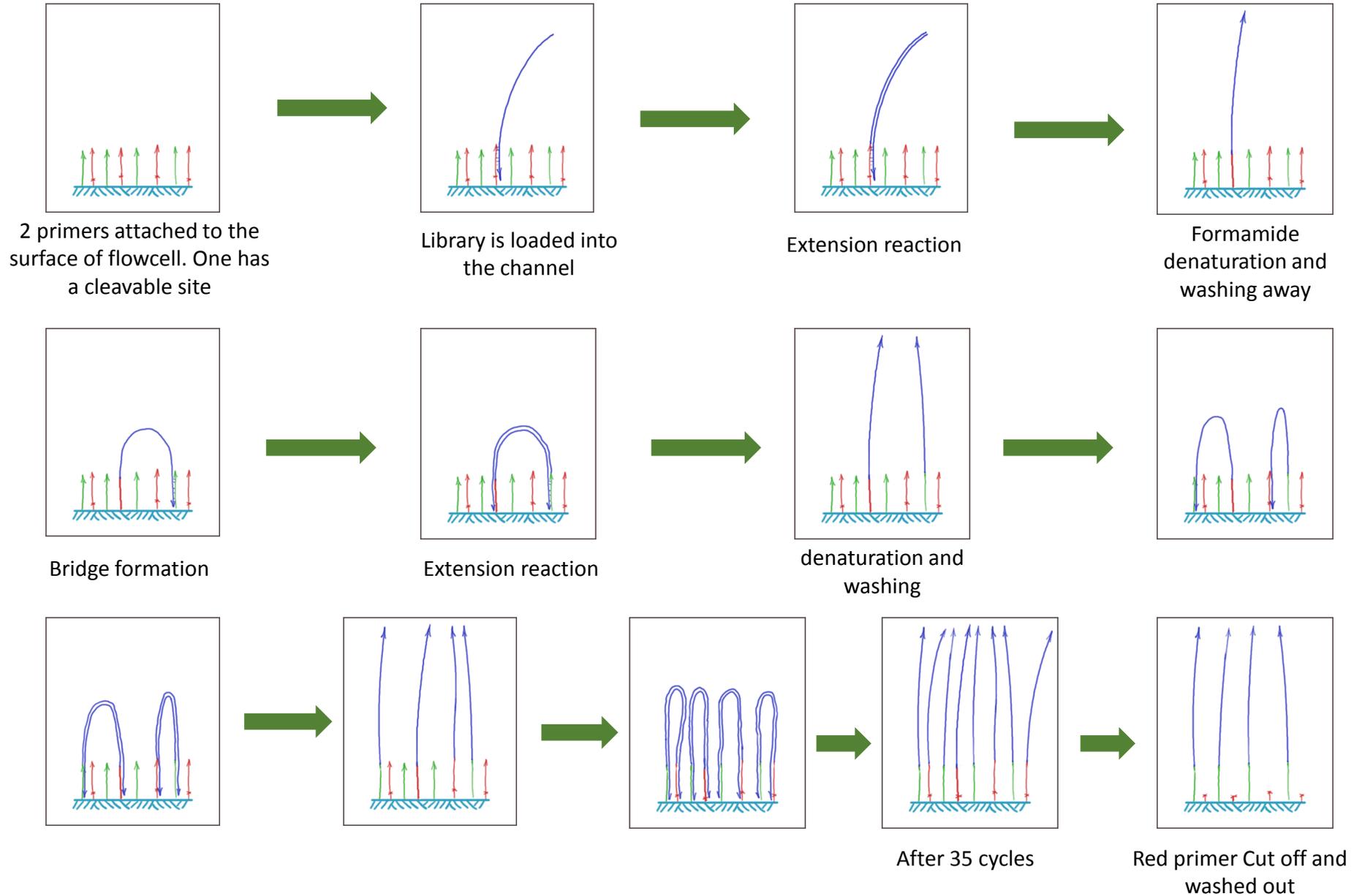


Cluster generation

- Objective: signal amplification
- Method: bridge PCR

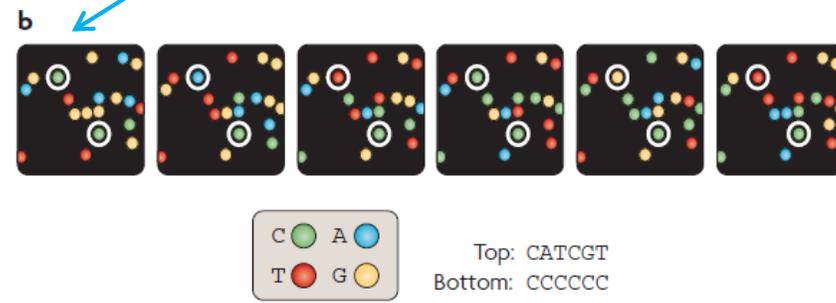
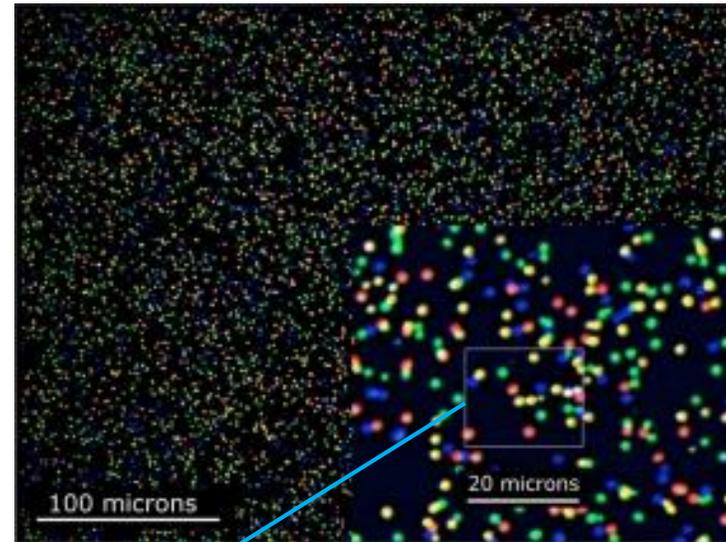
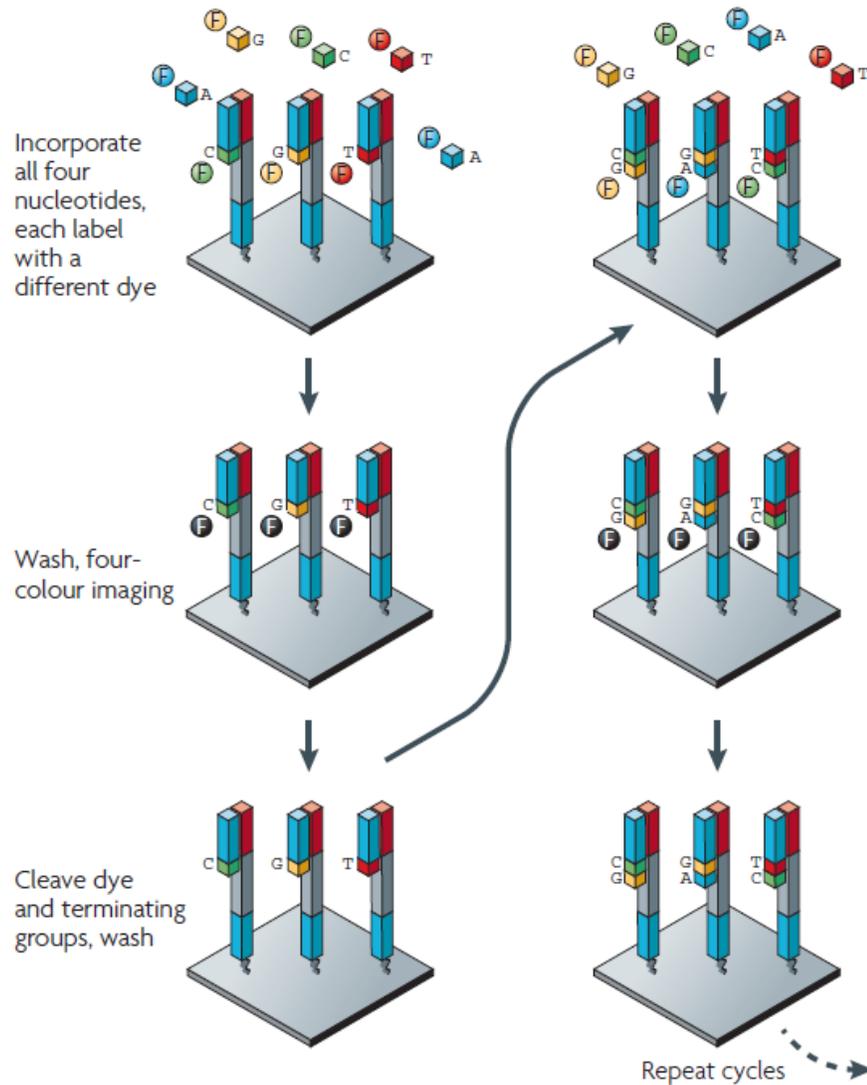


Bridge PCR



3. Reversible terminator cyclic array sequencing

a Illumina/Solexa — Reversible terminators



Output of Illumina Platform

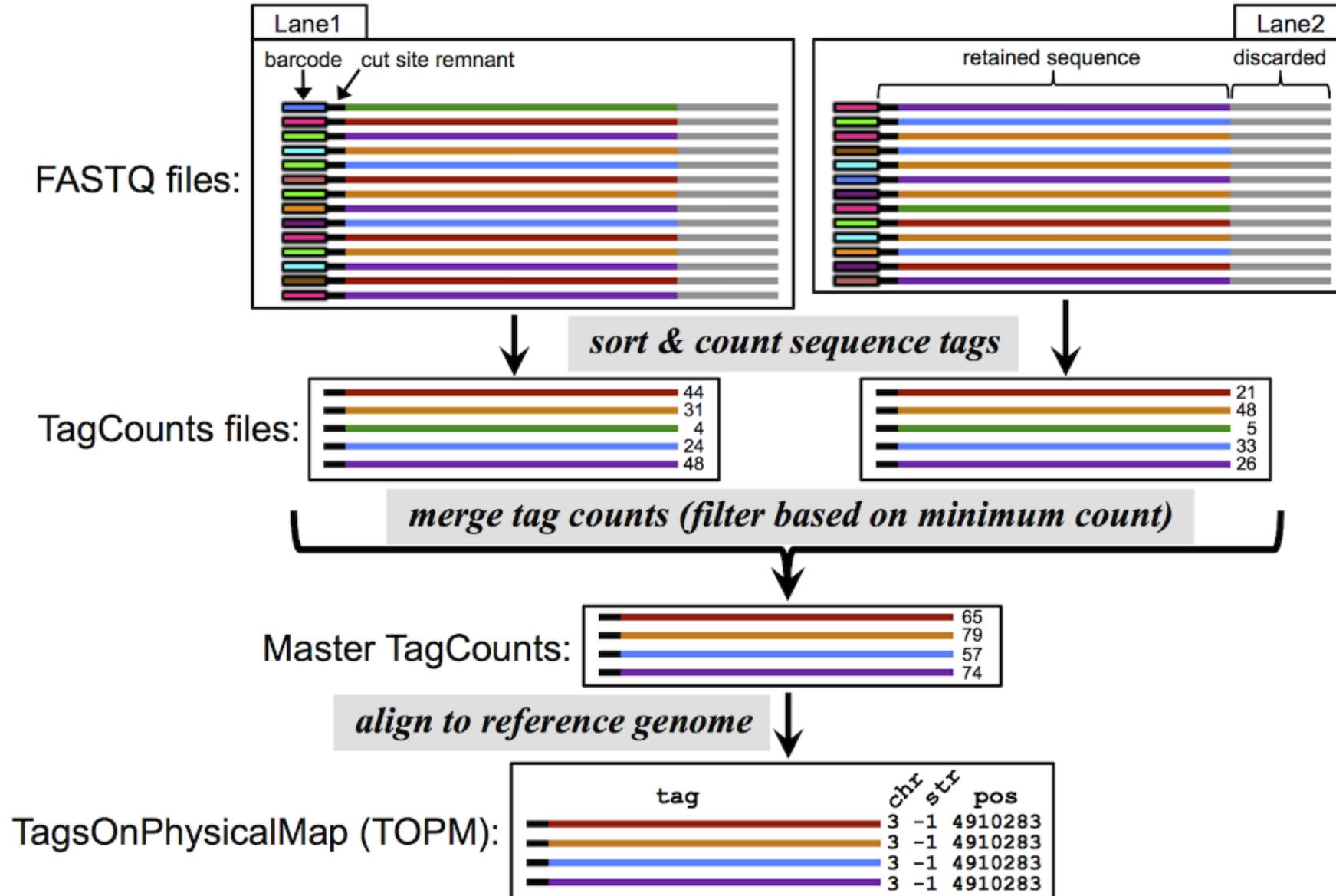
The diagram shows three callout boxes above the data table. A blue box labeled 'Barcode' points to the first three columns of the table. A red box labeled 'Cut site remnant' points to the red-colored nucleotide 'C' in the first column of the sequence. A black box labeled 'Genomic sequence' points to the rest of the sequence in the first row.

HWI-ST397	0	3	68	15896	200039	0	1	GTCGATTCTGCTGACTTCATGGCTTCTGTTGAC
HWI-ST397	0	3	68	15960	200043	0	1	GAGAATCAGCTTTTCCAACACCTTGAGTTTGAG
HWI-ST397	0	3	68	15831	200053	0	1	ATGTA CTGCACCGTTGCAAGCGAGCACCACCA
HWI-ST397	0	3	68	15867	200049	0	1	CCAGCTCAGCCTGCATTCTTTCAAAAACCTTCCA
HWI-ST397	0	3	68	15943	200048	0	1	GATTTTACTGCACATCGGTCTTGTCACACCAGC
HWI-ST397	0	3	68	15812	200062	0	1	TCACCCAGCATCACGCCCTTCACATCCAGTAA
HWI-ST397	0	3	68	15888	200067	0	1	CTTGACTGCCACCATGAATATGTGTTCCAAGTG
HWI-ST397	0	3	68	15969	200067	0	1	CCACA ACTGCTCCATCTTTTCCATGAGACATTG
HWI-ST397	0	3	68	15786	200078	0	1	GTATTCTGCACACGAATCAGCTGAGACACCAAT
HWI-ST397	0	3	68	15830	200072	0	1	AATATGCCAGCAGTTAAGAGAGTTCAAGATCCA
HWI-ST397	0	3	68	15863	200073	0	1	CTCCCTGCGGGTGCGCGCGACCCATCTTCAGT
HWI-ST397	0	3	68	15762	200088	0	1	TGGTACGTCTGCGGAATGGCGTTTTTTATGCCT
HWI-ST397	0	3	68	15903	200085	0	1	GGACCTACTGCCAAGAACGGCTCACCCATCA
HWI-ST397	0	3	68	15921	200082	0	1	GAGAATCAGCGTGTACGGGGCACGGGGTGACT
HWI-ST397	0	3	68	15984	200085	0	1	TTCTCCAGCCGCATGGGCCGGAGACCAGAGAC
HWI-ST397	0	3	68	15788	200096	0	1	GCGTCAGCAAATGCCCAACAGCCAAGTCAGC
HWI-ST397	0	3	68	15842	200099	0	1	TAGGCCATCAGCTGACTTCCCGGGTGTGGAGA
HWI-ST397	0	3	68	15876	200105	0	1	GGACCTACTGCCGCGGGACGAAAGCGGTTG
HWI-ST397	0	3	68	15937	200097	0	1	CTCCCTGTTGAAGCATGTGCAAAAGAGCTTGT
HWI-ST397	0	3	68	15958	200102	0	1	CGCCTTATCTGCCCTCGCCGGTCATGGGGAGT

64-bp sequence reads

Data analysis

A



Data analysis

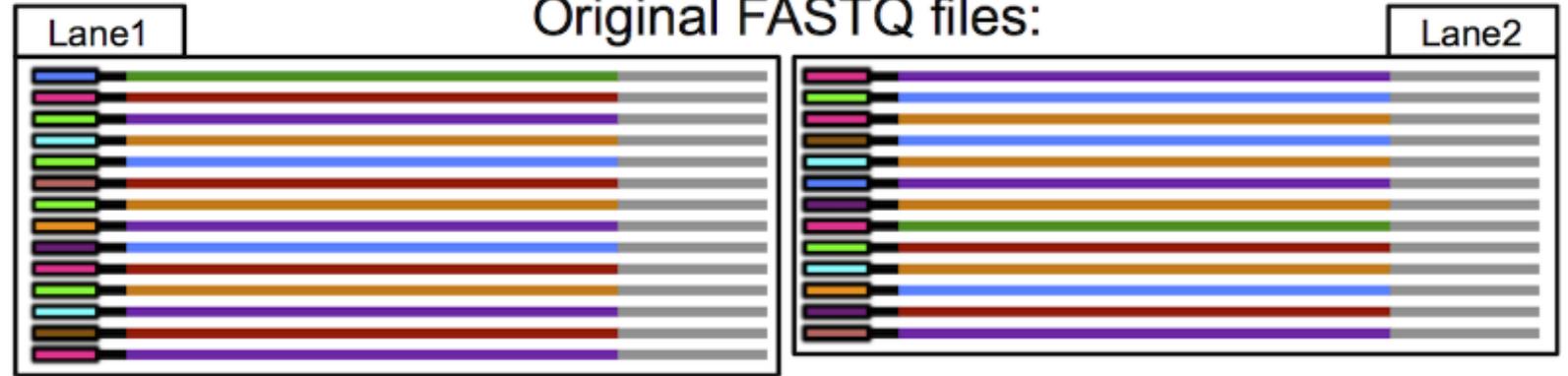
B

Master TagCounts:



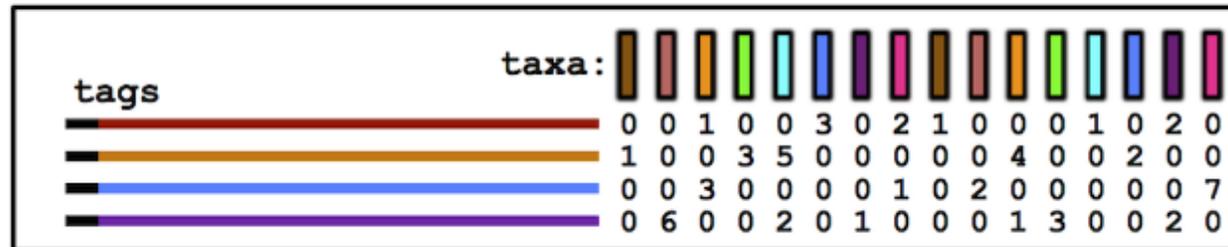
+

Original FASTQ files:



determine distribution of master tags among samples ("taxa")

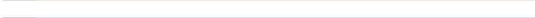
TagsByTaxa (TBT):



Data analysis

C

TagsOnPhysicalMap (TOPM):

tag	chr	str	pos
	3	-1	4910283
	3	-1	4910283
	3	-1	4910283
	3	-1	4910283

+

TagsByTaxa (TBT):

tags	taxa:																
		0	0	1	0	0	3	0	2	1	0	0	0	1	0	2	0
		1	0	0	3	5	0	0	0	0	4	0	0	2	0	0	0
		0	0	3	0	0	0	0	1	0	2	0	0	0	0	0	7
		0	6	0	0	2	0	1	0	0	0	1	3	0	0	2	0

call and filter SNPs; update TOPM with variants

Production-ready TOPM:

tag	chr	str	pos	var1	var2
	3	-1	4910283	15 A	36 G
	3	-1	4910283	15 C	36 G
	3	-1	4910283	15 A	36 G
	3	-1	4910283	15 A	36 T

SNP data matrix

UPAC nucleotide code	Base
A	Adenine
C	Cytosine
G	Guanine
T	Thymine
R	A/G
Y	C/T
S	G/C
W	A/T
K	G/T
M	A/C

	S10_419958	S10_425122	S10_501375	S10_501376	S10_501385	S10_503421	S10_582323	S10_592095	S10_592208	S10_618867	S10_618874	S10_620815	S10_983360	S10_1036341	S10_1036443	S10_1074715	S10_1074740	S10_1120530	S10_1285471	S10_1285480	S10_1309280	S10_1309286	S10_1323520	S10_1377028	S10_1377044	S10_1377073	S10_1383170	S10_1753775	S10_1801094	S10_1885515	S10_2066630	S10_2186641	S10_2194607	S10_2198647	S10_2272165	S10_2326511	S10_2674717	S10_2817436	S10_2817448	S10_2918055	S10_3024948	S10_3111383
ALFROCHEIRO:C1B3CACXX:7:25012...	S	A	Y	S	Y	R	G	C	Y	T	G	C	N	C	M	M	R	S	A	G	R	W	G	T	G	M	C	K	G	A	G	W	Y	G	G	A	G	R	M	Y	A	G
AMBROSINA:C1B3CACXX:7:25012...	G	A	Y	S	Y	G	G	C	N	T	G	C	R	C	M	M	R	S	A	G	R	W	R	T	G	M	C	T	G	R	G	T	Y	R	G	R	G	R	M	Y	A	R
Abondant:C1B3CACXX:7:25012...	G	R	C	C	T	G	G	C	Y	Y	R	S	R	M	C	C	R	G	A	G	R	W	G	T	G	M	C	T	K	A	G	T	Y	G	G	A	C	A	C	T	A	G
Ahmeur_bou_Ahmeur:MERGE	G	A	T	G	C	A	G	C	N	T	G	C	A	C	C	C	G	N	A	G	A	T	G	T	G	C	C	T	G	A	K	T	T	R	R	R	G	A	C	T	A	G
Albarino:C1B3CACXX:7:25012...	G	A	C	C	T	G	G	C	C	T	G	C	G	C	M	M	A	C	A	G	G	A	A	T	G	A	C	T	G	G	G	T	T	G	G	G	R	M	C	A	R	
Albillo_Real:MERGE	S	A	Y	S	Y	R	G	C	Y	T	G	C	R	C	M	M	R	S	A	G	R	W	R	T	G	M	C	T	G	R	G	T	Y	R	N	R	G	R	M	Y	A	R
Aledo:C1B3CACXX:7:25012...	S	A	T	G	C	A	G	C	T	T	G	C	R	C	M	M	R	S	A	G	R	W	R	T	G	M	C	T	G	R	N	T	T	A	R	R	G	R	M	N	A	R
Aligote:C1B3CACXX:7:25012...	G	A	C	C	T	G	R	S	C	T	G	C	R	C	C	M	R	G	R	G	G	A	G	Y	G	A	Y	K	K	A	G	T	T	G	R	G	S	R	C	Y	A	G
Aljibe:C1B3CACXX:7:25012...	S	A	T	G	C	R	G	C	Y	T	G	C	G	C	A	A	A	S	A	G	G	A	R	T	G	A	C	T	G	G	G	T	T	R	N	G	G	G	A	C	A	A
Aramon:C1B3CACXX:7:25012...	G	A	T	G	C	A	G	C	T	T	G	C	R	C	M	C	R	G	A	G	R	W	G	T	R	M	C	T	G	A	G	T	T	R	R	S	R	C	Y	A	G	
Arvine_Petite:C1B3CACXX:7:25012...	G	A	T	G	C	R	G	C	C	T	G	C	G	C	A	M	R	S	A	G	G	A	R	T	G	A	C	T	G	G	G	T	Y	G	G	R	G	R	M	Y	R	G
Assirtico:C1B3CACXX:7:25012...	S	A	T	G	C	R	G	C	Y	T	G	C	G	C	A	A	A	C	A	G	G	A	R	T	G	A	C	K	K	R	K	W	T	R	G	R	G	G	A	C	A	R
Barbabeu:C1B3CACXX:7:25012...	S	A	Y	S	Y	R	R	S	Y	T	G	C	G	C	A	A	A	S	R	G	G	A	G	Y	G	A	C	G	G	A	G	W	T	G	N	R	S	R	M	Y	A	G
Barlinka:MERGE	G	R	Y	S	Y	G	G	C	Y	Y	R	S	G	M	M	M	A	G	A	G	G	A	G	T	G	A	Y	T	K	G	G	T	T	R	G	G	G	R	M	Y	A	R
Beauty_seedless:C1B3CACXX:7:25012...	G	R	C	C	T	G	R	S	Y	Y	R	S	G	M	C	M	A	G	R	R	G	A	G	Y	G	A	Y	K	G	R	G	T	T	G	R	R	C	A	C	T	A	G
Beba_dorada_de_Jaen:C1B3CACXX:7:25012...	C	A	T	G	C	A	G	C	T	T	G	C	G	C	A	A	A	C	A	G	G	A	A	T	G	M	C	T	G	R	K	T	T	A	R	R	G	R	M	Y	A	R
Bellone:C1B3CACXX:7:25012...	G	R	C	C	T	N	R	S	Y	Y	R	S	G	M	C	M	A	G	R	G	G	A	G	Y	G	A	C	K	K	A	G	T	T	G	G	R	S	R	C	Y	A	G
Bermejuela:C1B3CACXX:7:25012...	S	A	T	G	C	A	G	C	T	T	G	C	G	C	A	M	A	S	R	G	G	A	R	T	G	A	C	T	G	R	K	T	T	R	G	G	G	R	M	Y	A	R
Black_Alicante:MERGE	C	A	T	G	C	A	G	C	T	T	G	C	G	C	A	A	A	C	A	G	G	A	G	T	G	A	C	G	K	A	G	A	T	G	N	A	G	G	A	C	A	G
Black_Currant:C1B3CACXX:7:25012...	G	A	Y	S	Y	R	G	C	T	Y	R	S	G	M	M	C	A	G	A	R	G	A	G	T	G	A	Y	T	K	R	G	T	T	G	A	A	S	A	C	T	A	G
Black_monucca:C1B3CACXX:7:25012...	C	A	T	G	C	A	G	C	T	T	G	C	A	C	M	M	R	S	A	G	G	A	G	T	G	A	Y	K	G	R	K	A	T	G	G	R	G	R	M	C	A	R
Blanc_Dame:C1B3CACXX:7:25012...	G	A	Y	S	Y	G	R	S	Y	T	G	C	G	C	A	A	A	G	R	G	G	A	G	Y	G	A	C	G	K	A	G	W	T	G	G	G	G	G	M	C	R	R
Blaufrankisch:C1B3CACXX:7:25012...	G	A	Y	S	Y	R	G	C	T	Y	R	S	G	M	M	C	A	G	A	R	G	A	G	T	R	A	C	K	G	R	G	T	T	G	R	G	S	R	C	Y	A	G
Boal_cachudo:MERGE	G	R	C	C	T	G	G	C	Y	T	R	C	R	C	C	C	R	G	A	R	R	W	G	T	G	M	Y	T	G	A	G	T	Y	G	R	A	G	R	C	Y	R	G
Bonarda:C1B3CACXX:7:25012...	G	A	Y	S	Y	R	G	S	Y	Y	R	S	G	M	M	M	A	S	A	R	G	A	R	T	G	A	C	G	G	R	K	A	T	G	R	G	N	R	M	Y	R	N
Brancellao:C1B3CACXX:7:25012...	S	A	T	G	C	A	G	C	N	T	G	C	G	C	A	M	A	S	R	G	G	A	G	T	G	A	C	K	G	A	G	W	T	G	G	R	G	R	M	Y	A	G
CAINO_BLANCO:C1B3CACXX:7:25012...	G	A	C	C	T	G	G	C	C	T	G	C	G	C	C	C	A	C	A	G	G	A	A	T	G	A	C	T	K	G	G	T	T	G	R	G	S	R	M	Y	A	R
CARMENERE:C1B3CACXX:7:25012...	G	R	Y	S	Y	G	G	C	Y	Y	R	S	G	M	M	M	A	S	A	R	G	A	R	T	G	A	C	T	G	R	G	T	T	R	R	R	G	G	M	C	R	G
CHRISTMAS_ROSE:C1B3CACXX:7:25012...	G	R	Y	S	Y	G	G	C	Y	Y	R	S	G	M	M	M	A	S	A	R	G	A	R	T	R	A	C	T	G	R	K	T	T	R	R	R	S	R	M	Y	A	R
COLGADERA:C1B3CACXX:7:25012...	S	A	Y	S	Y	R	G	C	Y	T	G	C	G	M	M	M	A	S	R	G	G	A	R	Y	G	A	C	K	G	A	G	W	T	R	R	A	G	G	M	Y	R	G
COLOMBARD:C1B3CACXX:7:25012...	G	R	Y	S	Y	R	G	C	T	Y	R	S	G	M	M	C	A	G	A	R	G	A	G	T	A	A	C	T	G	A	G	T	T	G	R	R	S	R	C	Y	A	G
Cabernet_Franc-jad:C1B3CACXX:7:25012...	G	R	Y	S	Y	R	G	C	Y	Y	R	S	G	M	M	M	A	G	A	R	G	A	G	T	G	A	Y	T	G	A	G	T	T	G	A	A	S	R	C	Y	A	G
Cabernet_Sauvignon-jad:M...	G	R	C	C	T	G	G	C	Y	Y	R	S	G	M	M	M	A	S	A	R	G	A	R	T	G	A	C	K	N	A	G	A	T	G	R	R	G	G	M	N	R	R

Autres types de marqueurs moléculaires

- Techniques principales:

- RFLP
- RAPD
- AFLP
- SSR
- SNP

- Autres techniques:

- ISSR
- CAPS
- SCAR

Comparaison des principales techniques

Marqueur	Nombre	Codominance	Polymorphisme	Cout
Isozymes	< 90	oui	faible	faible
RFLP	illimité	oui	moyen	moyen
RAPD	illimité	non	moyen	faible
SSR	illimité	oui	très élevé	faible
AFLP	illimité	non	élevé	moyen
SNP	illimité	oui	très élevé	élevé!!!

2. Cartographie de QTL

Introduction

- **Objectif:** identifier le déterminisme génétique d'un caractère
- **QTL (Quantitative trait locus):** Une région chromosomique contenant un/des gènes affectant un caractère quantitatif
- Combien de QTLs pour un caractère?
 - **Modèle de Mather:** très grand nombre de QTLs avec un effet mineur et similaire
 - **Modèle de de Robertson:** peu de QTLs avec un effet majeur et beaucoup avec un effet mineur

Introduction

- **Cartographie de QTLs**
 - Déterminer la position sur la carte génétique
 - Déterminer l'effet du QTL sur la variation phénotypique du caractère ($R^2\%$)
 - Déterminer le type d'action (additive, dominance, épistasie, combinaison)

Principe de détection de QTLs

	QTL	FW	Marker 1	Marker 2
	qq	14	MM	AA
	qq	18	mm	aa
	qq	13	mm	AA
	QQ	21	MM	aa
	QQ	24	MM	aa
	qq	13	mm	AA
	qq	11	mm	aa
	QQ	26	mm	aa
	qq	13	MM	aa
	qq	18	mm	AA
	qq	11	mm	aa
	QQ	21	MM	AA
	qq	19	mm	aa
	QQ	20	MM	AA
	QQ	21	mm	aa
Moyenne qq/mm/aa	14.4		16.7	17.75
Moyenne QQ/MM/AA	22		18.8	17.3
Différence	7.6		2.1	-0.45

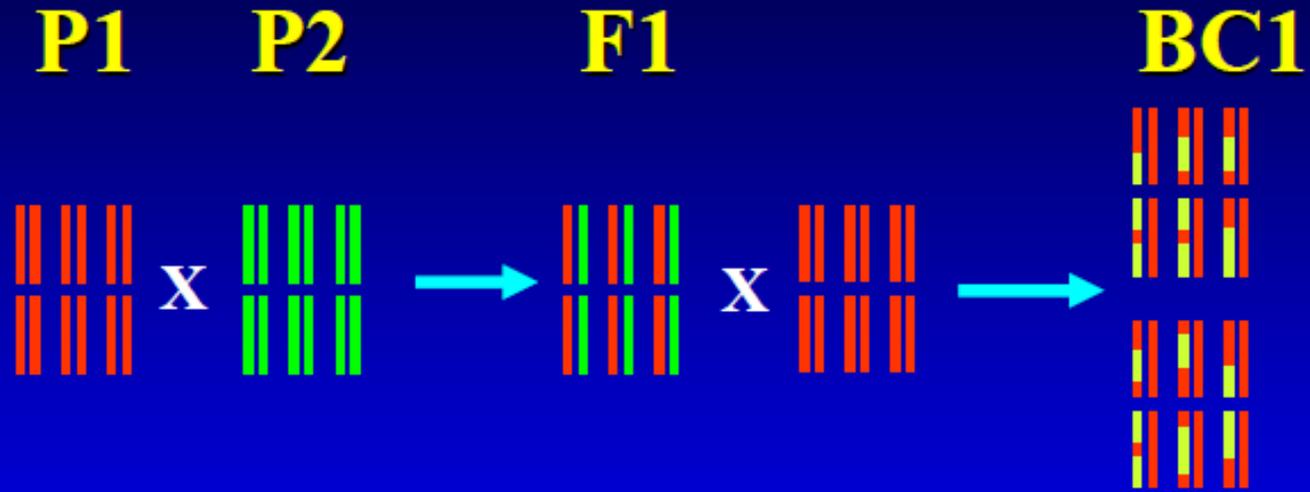
Comment cartographier les QTLs

- Construire une population ségrégante
- Phénotyper la population pour le caractère d'intérêt
- Génotyper la population par un nombre suffisant de marqueurs
- Construire la carte génétique
- Réaliser l'analyse de QTLs (associer le génotype au phénotype)

Populations pour cartographie de QTLs

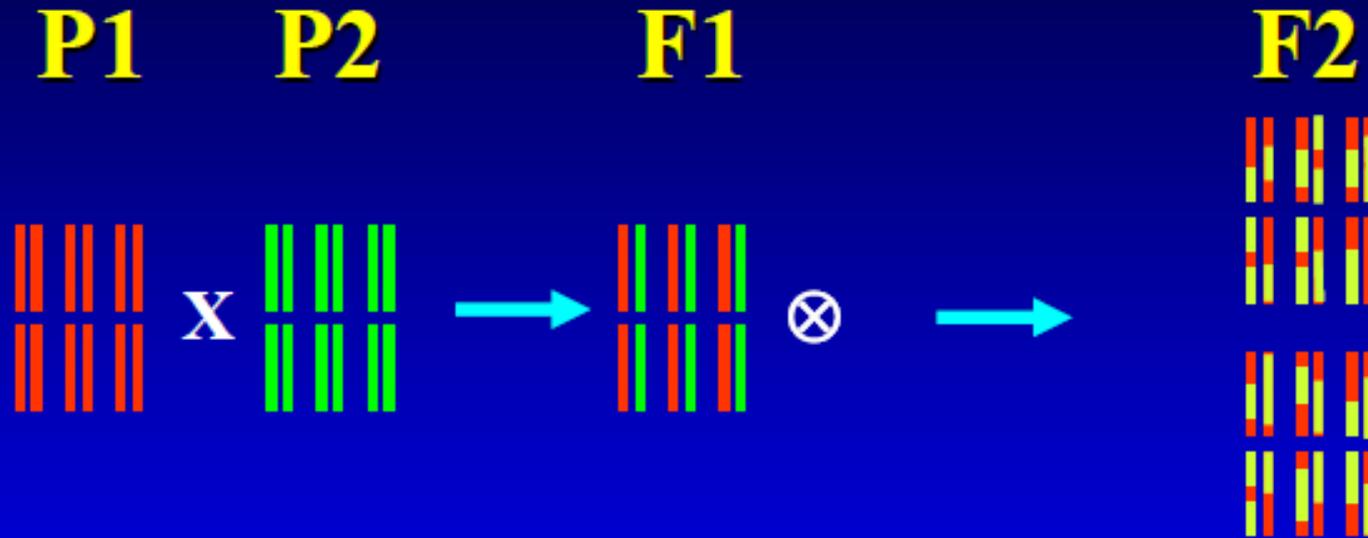
- **Espèces autogames**
 - BC1: Backcross1
 - F2
 - DHLs: Double haploid lines
 - RILs: Recombinant inbred lines
 - Autres
- **Espèces allogames**
 - F1

Backcross



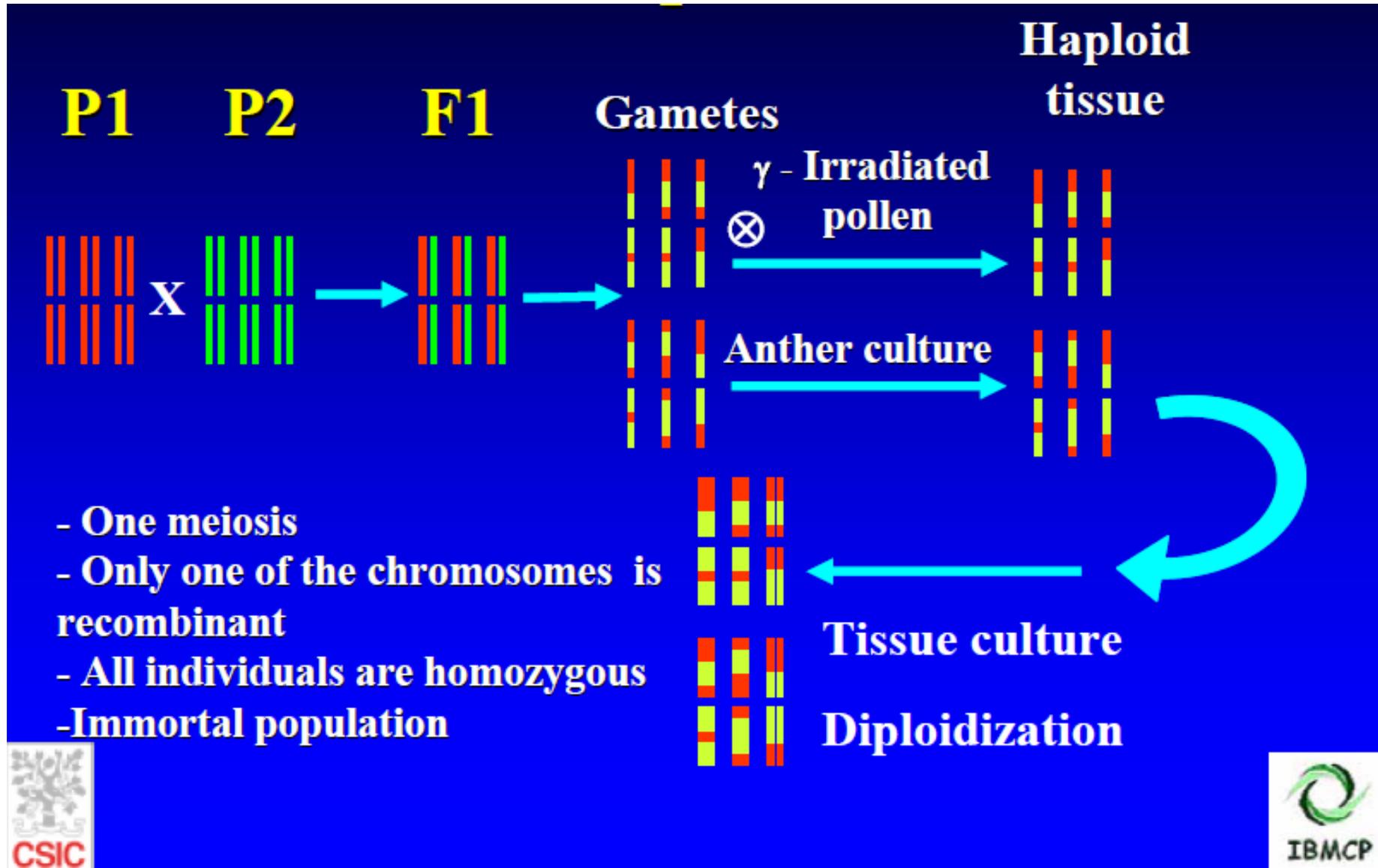
- **One meiosis.**
- **Only one of the chromosomes is recombinant**
- **Individuals are either homozygous for P1 alleles or heterozygous**

F_2

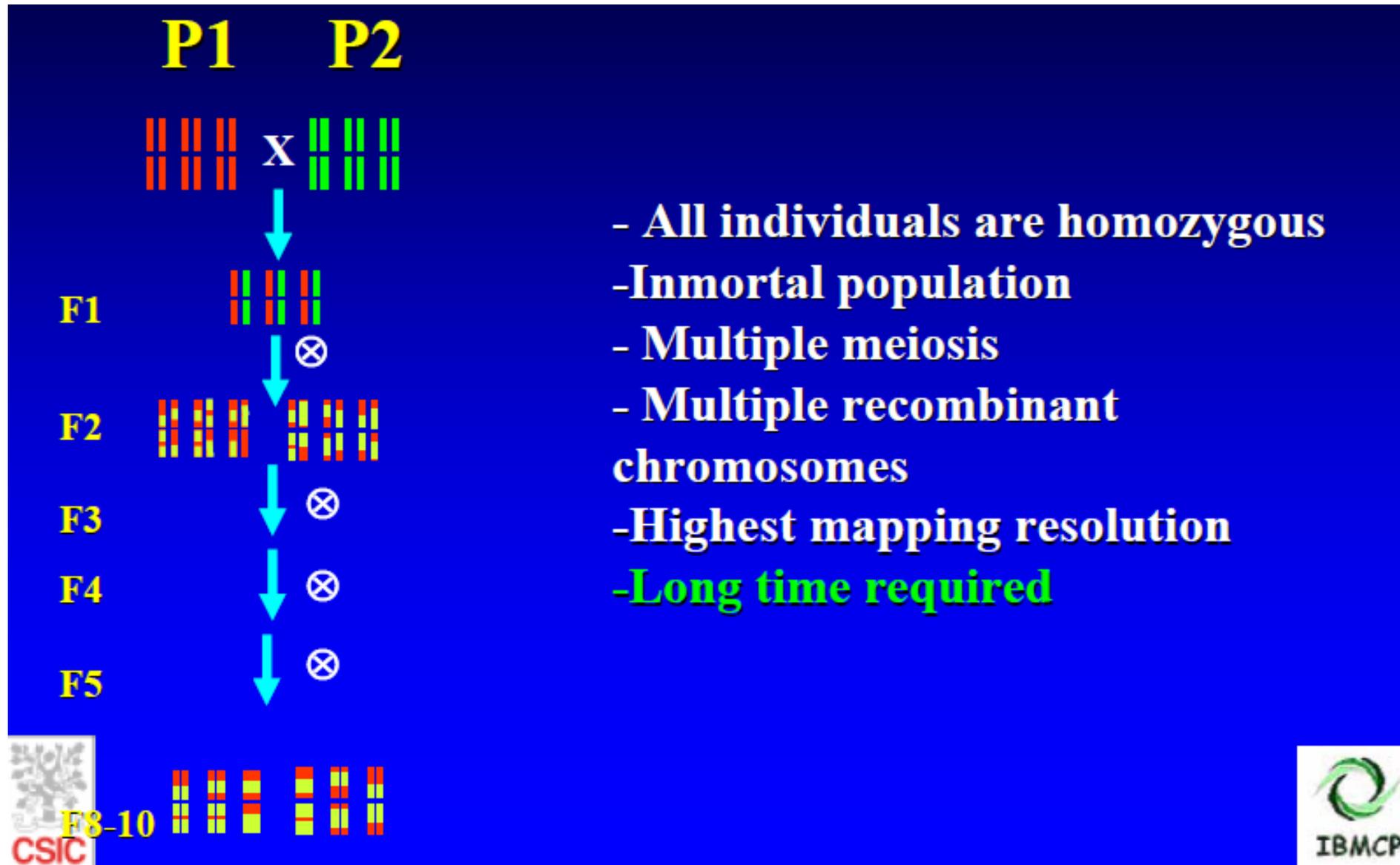


- One meiosis.
- Recombination in both mega- and microgametophyte permit better linkage resolution

Lignées haploïdes doublées (DHL)



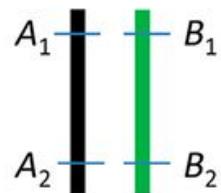
Recombinant Inbre Lines (RILs)



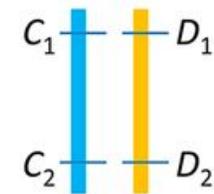
Populations pour cartographie de QTLs

F1

Female parent



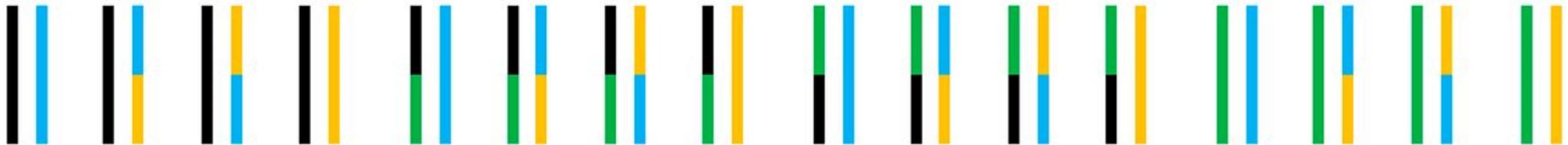
Male parent



×



Clonal F₁ Progenies



Génotyper la population par un nombre suffisant de marqueurs

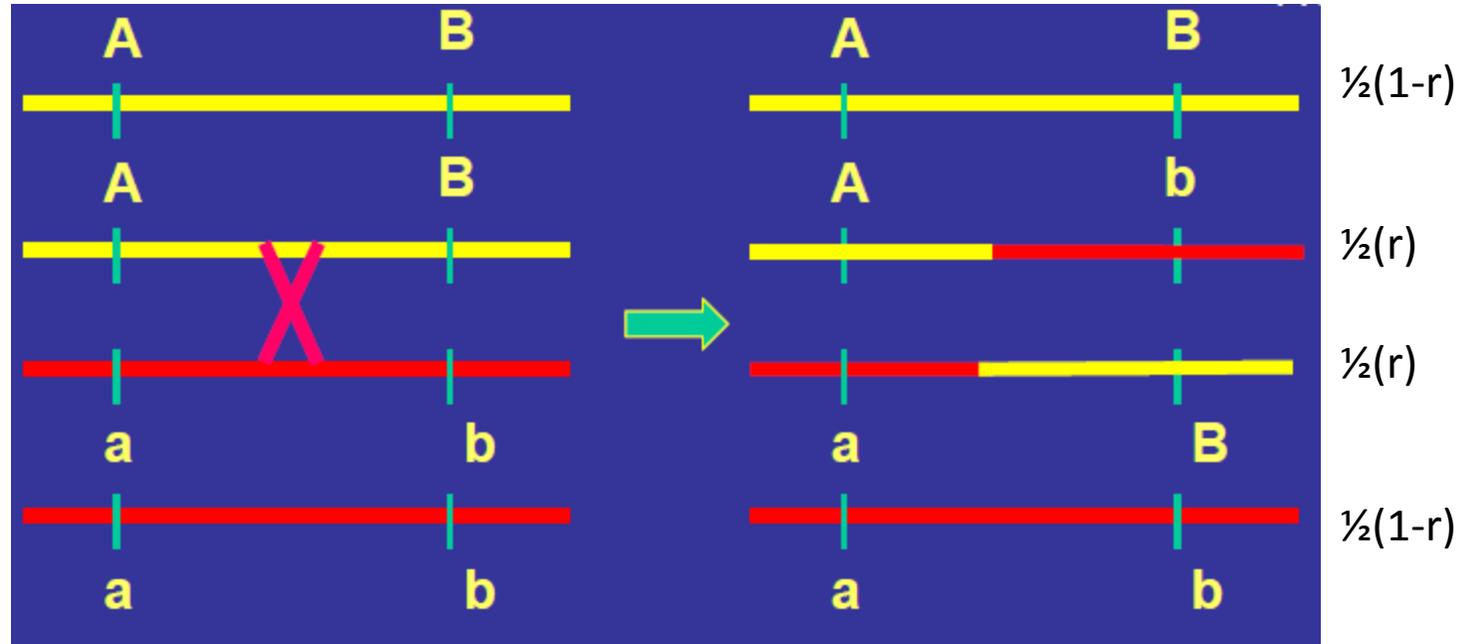
- **Quel type de marqueurs?**

- **Isozymes (isoenzymes):** enzymes présentant différentes séquence d'acides aminés mais catalysant la même réaction chimique
- **RFLPs:** Restriction Fragment Length Polymorphism
- **RAPDs:** Random Amplified Polymorphic DNA
- **AFLPs:** Amplified Fragment Length Polymorphism
- **SSRs:** Simple Sequence Repeat
- **SNPs:** Single Nucleotide Polymorphism

Construction de cartes génétiques

- **Objectif:** déterminer la position relative des marqueurs sur les groupe de liaison (linkage groups, chromosomes)
- **Principe:** la distance entre les marqueurs est proportionnelle à la fréquence de recombinaison entre eux

Construction de cartes génétiques



Fréquence de recombinaison (r)= nombre de recombinants/total

$$0 < r < 0.5$$

Construction de cartes génétiques

r is not the optimal parameter for map construction

- r tends to a maximum of 0.5
- r is not additive
- double recombinations are not considered

INTERFERENCE: When a crossover occurs, it is less probable that another one will occur at the same region of the chromosome.

Fonction de calcul de la distance génétique

Haldane: assumes no interference

Kosambi: includes some degree of interference

Distance unit: CENTIMORGAN (cM)
1 cM \approx 1 % recomb

Fonction de calcul de la distance génétique

Haldane: $\begin{cases} r = \frac{1}{2} (1 - e^{-2x}) \\ x = -\frac{1}{2} \ln(1 - 2r) \end{cases}$

r =	0	0.10	0.30	0.32	0.40	0.43	0.491
x =	0	11	46	50	81	100	200

rec. freq.
cM

Kosambi: $\begin{cases} x = \frac{1}{4} \ln\left(\frac{1 + 2r}{1 - 2r}\right) \\ r = \frac{1}{2} \tanh(2x) \end{cases}$

r =	0	0.10	0.30	0.38	0.40	0.48	0.4997
x =	0	10	35	50	55	100	200

rec. freq.
cM

Le test statistique

LOD score: Logarithm of odds

$$\text{LOD} = \text{Log}_{10} \left(\frac{\text{Likelihood when } r = \hat{r}}{\text{Likelihood when } r = 0.5} \right)$$

LOD values > 3.0 (1.000 times more probable that the data indicate linkage than independence) are usually accepted as a threshold of significance

Comment construire une carte?

- Calculer les distances entre tout les paires de marqueurs
- Etablir les groupes de liaison: grouper ensemble tout les marqueurs ayant des liaisons significatives (en fonction du seuil fixé pour LOD)
- Ordonner les marqueurs à l'intérieur des groupes
- MapMaker, IciMapping, JoinMap (payant)

Méthodes d'analyse de QTLs

- **Single marker analysis**
 - Study independently each marker
- **Interval Mapping**
 - Study the presence of a QTL within the interval defined between two linked markers
- **Composite Interval Mapping**
 - Use markers on other chromosomes as cofactors to increase the resolution

Qgene, QTL cartographer, R/QTL, IciMapping