

Année 2015



**MOSAÏCISME ET CHIMÉRISME
CHEZ LE CHAT DOMESTIQUE**

THÈSE

Pour le

DOCTORAT VÉTÉRINAIRE

Présentée et soutenue publiquement devant
LA FACULTÉ DE MÉDECINE DE CRÉTEIL

le.....

par

Ambre JARAUD-DARNAULT

Née le 1er Juillet 1988 à Paris 15ème (Paris)

JURY

Président : M.

Professeur à la Faculté de Médecine de CRÉTEIL

Membres

Directeur : Mme Marie ABITBOL

Maître de conférences à l'ENVA

Assesseur : M. Philippe BOSSÉ

Professeur à l'ENVA

LISTE DES MEMBRES DU CORPS ENSEIGNANT

Directeur : M. le Professeur GOGNY Marc

Directeurs honoraires : MM. les Professeurs : COTARD Jean-Pierre, MIALOT Jean-Paul, MORAILLON Robert, PARODI André-Laurent, PILET Charles, TOMA Bernard.

Professeurs honoraires : Mme et MM. : BENET Jean-Jacques, BRUGERE Henri, BRUGERE-PICOUX Jeanne, BUSSIERAS Jean, CERF Olivier, CHERMETTE René, CLERC Bernard, CRESPEAU François, DEPUTTE Bertrand, MOUTHON Gilbert, MILHAUD Guy, POUCHELON Jean-Louis, ROZIER Jacques.

DEPARTEMENT D'ELEVAGE ET DE PATHOLOGIE DES EQUIDES ET DES CARNIVORES (DEPEC)

Chef du département par intérim : M. GRANDJEAN Dominique, Professeur - Adjoint : M. BLOT Stéphane, Professeur

<p>UNITE DE CARDIOLOGIE</p> <ul style="list-style-type: none"> - Mme CHETBOUL Valérie, Professeur * - Mme GKOUNI Vassiliki, Praticien hospitalier - Mme SECHI-TREHIOU Emilie, Praticien hospitalier <p>UNITE DE CLINIQUE EQUINE</p> <ul style="list-style-type: none"> - M. AUDIGIE Fabrice, Professeur - Mme BERTONI Lélia, Maître de conférences contractuel - Mme BOURZAC Céline, Maître de conférences contractuel - M. DENOIX Jean-Marie, Professeur - Mme GIRAUDET Aude, Praticien hospitalier * - Mme MESPOULHES-RIVIERE Céline, Praticien hospitalier - Mme TRACHSEL Dagmar, Maître de conférences contractuel <p>UNITE D'IMAGERIE MEDICALE</p> <ul style="list-style-type: none"> - Mme PEY Pascaline, Maître de conférences contractuel - Mme STAMBOULI Fouzia, Praticien hospitalier <p>UNITE DE MEDECINE</p> <ul style="list-style-type: none"> - M. AGUILAR Pablo, Praticien hospitalier - Mme BENCHEKROUN Ghita, Maître de conférences - M. BLOT Stéphane, Professeur* - M. CAMPOS Miguel, Maître de conférences associé - Mme FREICHE-LEGRAS Valérie, Praticien hospitalier - Mme MAUREY-GUENEC Christelle, Maître de conférences <p>UNITE DE MEDECINE DE L'ELEVAGE ET DU SPORT</p> <ul style="list-style-type: none"> - Mme CLERO Delphine, Maître de conférences contractuel - M. FONTBONNE Alain, Maître de conférences - M. GRANDJEAN Dominique, Professeur * - Mme MAENHOUDT Cindy, Praticien hospitalier - M. NUDELMANN Nicolas, Maître de conférences - Mme YAGUIYAN-COLLIARD Laurence, Maître de conférences contractuel 	<p>DISCIPLINE : NUTRITION-ALIMENTATION</p> <ul style="list-style-type: none"> - M. PARAGON Bernard, Professeur <p>DISCIPLINE : OPHTALMOLOGIE</p> <ul style="list-style-type: none"> - Mme CHAHORY Sabine, Maître de conférences <p>UNITE DE PARASITOLOGIE ET MALADIES PARASITAIRES</p> <ul style="list-style-type: none"> - M. BLAGA Radu Gheorghe, Maître de conférences (rattaché au DPASP) - Mme COCHET-FAIVRE Noëlle, Praticien hospitalier - M. GUILLOT Jacques, Professeur * - Mme MARIANAC Geneviève, Maître de conférences - M. POLACK Bruno, Maître de conférences - Mme RISCO CASTILLO Verónica, Maître de conférences (rattachée au DSBP) <p>UNITE DE PATHOLOGIE CHIRURGICALE</p> <ul style="list-style-type: none"> - M. FAYOLLE Pascal, Professeur - M. MAILHAC Jean-Marie, Maître de conférences - M. MANASSERO Mathieu, Maître de conférences - M. MOISSONNIER Pierre, Professeur* - Mme RAVARY-PLUMIOEN Bérangère, Maître de conférences (rattachée au DPASP) - Mme VIATEAU-DUVAL Véronique, Professeur - M. ZILBERSTEIN Luca, Maître de conférences <p>DISCIPLINE : URGENCE SOINS INTENSIFS</p> <ul style="list-style-type: none"> - Mme STEBLAJ Barbara, Praticien Hospitalier <p>DISCIPLINE : NOUVEAUX ANIMAUX DE COMPAGNIE</p> <ul style="list-style-type: none"> - M. PIGNON Charly, Praticien hospitalier
--	--

DEPARTEMENT DES PRODUCTIONS ANIMALES ET DE LA SANTE PUBLIQUE (DPASP)

Chef du département : M. MILLEMANN Yves, Professeur - Adjoint : Mme DUFOUR Barbara, Professeur

<p>UNITE D'HYGIENE QUALITE ET SECURITE DES ALIMENTS</p> <ul style="list-style-type: none"> - M. AUGUSTIN Jean-Christophe, Professeur - M. BOLNOT François, Maître de conférences * - M. CARLIER Vincent, Professeur <p>UNITE DES MALADIES CONTAGIEUSES</p> <ul style="list-style-type: none"> - Mme DUFOUR Barbara, Professeur* - Mme HADDAD/HOANG-XUAN Nadia, Professeur - Mme PRAUD Anne, Maître de conférences - Mme RIVIERE Julie, Maître de conférences contractuel <p>UNITE DE PATHOLOGIE DES ANIMAUX DE PRODUCTION</p> <ul style="list-style-type: none"> - M. ADJOU Karim, Maître de conférences * - M. BELBIS Guillaume, Assistant d'enseignement et de recherche contractuel - M. MILLEMANN Yves, Professeur - Mme ROUANNE Sophie, Praticien hospitalier 	<p>UNITE DE REPRODUCTION ANIMALE</p> <ul style="list-style-type: none"> - Mme CONSTANT Fabienne, Maître de conférences* - M. DESBOIS Christophe, Maître de conférences (rattaché au DEPEC) - Mme MASSE-MOREL Gaëlle, Maître de conférences contractuel - M. MAUFFRE Vincent, Assistant d'enseignement et de recherche contractuel - Mme EL BAY Sarah, Praticien hospitalier <p>UNITE DE ZOOTECHNIE, ECONOMIE RURALE</p> <ul style="list-style-type: none"> - M. ARNE Pascal, Maître de conférences - M. BOSSE Philippe, Professeur* - M. COURREAU Jean-François, Professeur - Mme DE PAULA-REIS Aline, Maître de conférences contractuel - Mme GRIMARD-BALLIF Bénédicte, Professeur - Mme LEROY-BARASSIN Isabelle, Maître de conférences - M. PONTER Andrew, Professeur - Mme WOLGUST Valérie, Praticien hospitalier
--	---

DEPARTEMENT DES SCIENCES BIOLOGIQUES ET PHARMACEUTIQUES (DSBP)

Chef du département : Mme COMBRISSEON Hélène, Professeur - Adjoint : Mme LE PODER Sophie, Maître de conférences

<p>UNITE D'ANATOMIE DES ANIMAUX DOMESTIQUES</p> <ul style="list-style-type: none"> - M. CHATEAU Henry, Maître de conférences* - Mme CREVIER-DENOIX Nathalie, Professeur - M. DEGUEURCE Christophe, Professeur - Mme ROBERT Céline, Maître de conférences <p>DISCIPLINE : ANGLAIS</p> <ul style="list-style-type: none"> - Mme CONAN Muriel, Professeur certifié <p>UNITE DE BIOCHIMIE</p> <ul style="list-style-type: none"> - M. BELLIER Sylvain, Maître de conférences* - Mme LAGRANGE Isabelle, Praticien hospitalier - M. MICHAUX Jean-Michel, Maître de conférences <p>DISCIPLINE : BIostatistiques</p> <ul style="list-style-type: none"> - M. DESQUILBET Loic, Maître de conférences <p>DISCIPLINE : EDUCATION PHYSIQUE ET SPORTIVE</p> <ul style="list-style-type: none"> - M. PHILIPS Pascal, Professeur certifié <p>DISCIPLINE : ETHOLOGIE</p> <ul style="list-style-type: none"> - Mme GILBERT Caroline, Maître de conférences <p>UNITE DE GENETIQUE MEDICALE ET MOLECULAIRE</p> <ul style="list-style-type: none"> - Mme ABITBOL Marie, Maître de conférences - M. PANTHIER Jean-Jacques, Professeur* 	<p>UNITE D'HISTOLOGIE, ANATOMIE PATHOLOGIQUE</p> <ul style="list-style-type: none"> - Mme CORDONNIER-LEFORT Nathalie, Maître de conférences* - M. FONTAINE Jean-Jacques, Professeur - Mme LALOY Eve, Maître de conférences contractuel - M. REYES GOMEZ Edouard, Maître de conférences <p>UNITE DE PATHOLOGIE GENERALE MICROBIOLOGIE, IMMUNOLOGIE</p> <ul style="list-style-type: none"> - M. BOULOUIS Henri-Jean, Professeur - Mme LE ROUX Delphine, Maître de conférences - Mme QUINTIN-COLONNA Françoise, Professeur* <p>UNITE DE PHARMACIE ET TOXICOLOGIE</p> <ul style="list-style-type: none"> - Mme ENRIQUEZ Brigitte, Professeur - M. PERROT Sébastien, Maître de conférences - M. TISSIER Renaud, Professeur* <p>UNITE DE PHYSIOLOGIE ET THERAPEUTIQUE</p> <ul style="list-style-type: none"> - Mme COMBRISSEON Hélène, Professeur - Mme PILOT-STORCK Fanny, Maître de conférences - M. TIRET Laurent, Professeur * <p>DISCIPLINE : VIROLOGIE</p> <ul style="list-style-type: none"> - Mme LE PODER Sophie, Maître de conférences * <p>DISCIPLINE : SCIENCES DE GESTION ET DE MANAGEMENT</p> <ul style="list-style-type: none"> - Mme FOURNEL Christelle, Maître de conférences contractuel
---	---

* responsable d'unité

REMERCIEMENTS

Au Président du jury,

Professeur à la Faculté de Médecine de Créteil,
Qui m'a fait l'honneur d'accepter la présidence de mon jury de thèse.
Hommage respectueux.

À Mme Abitbol,

Maître de conférences à l'École Nationale Vétérinaire d'Alfort,
Sans qui cette thèse n'existerait pas,
Pour m'avoir fait l'honneur de me guider dans la réalisation de ce travail,
Pour sa gentillesse et sa disponibilité,
Chaleureux remerciements.

À M. Bossé,

Professeur à l'École Nationale Vétérinaire d'Alfort,
Pour avoir accepté de prendre part à ce travail, pour ses conseils avisés et pour
sa relecture.
Sincères remerciements.

Aux éleveurs et propriétaires de chat, dont les singuliers spécimens sont à l'origine de ce travail, et qui m'ont fait l'honneur de participer à cette thèse,
Très sincères remerciements.

À Monsieur et à Madame Moreau de la Chatterie des Persans de Rose,
Pour leur très aimable participation à ce travail avec Harmonie,

À Madame Lablatinière de la Chatterie des Ducs de Bretagne,
Pour son aimable contribution et sa disponibilité,
et au Docteur Frédéric Chazot de la clinique de l'Arche (Saint-Herblain), pour avoir contribué, par ses soins vétérinaires, à ce qu'Haslan intègre cette thèse,

À Madame Fosset de la Cité des Coon's,
Pour son aimable participation à ce travail de thèse avec Hermès,

À Madame Pirone, propriétaire d'Idefix,
Pour son aimable participation à ce projet,

À Pascal Leurquin de la Chatterie des Doux Ronrons,
Pour son aimable autorisation d'illustrer cette thèse avec son cliché de Capucine.

To Venus's owner,
Thank you for letting me use your picture of Venus to illustrate this work.

À mes parents, pour leur amour inébranlable et pour avoir su m'offrir la passion des animaux, sans vous il n'y aurait pas de vétérinaire patineuse photographe en ce monde,

À ma mère, pour tout ce que tu m'as donné et pour avoir toujours eu confiance en moi lorsque je doutais, je ne sais par où commencer...

À mon père, pour m'avoir transmis la curiosité de l'infiniment grand comme de l'infiniment petit et pour avoir toujours cru en moi,

À ma sœur, pour m'avoir fait découvrir le monde, du plus petit recoin d'Hyrule aux sommets enneigés de la Grande Muraille, je t'ai toujours admirée,

À mon grand-père, pour toutes tes attentions, tu es le Pépé idéal,

À Clémence, pour tout le chemin parcouru ensemble depuis Fénelon,

À Roxane, pour cette sensibilité que nous partageons,

À Emilie, mon éternelle colloc', pour tous les petits plats et les bons moments,

À Marion, à Laetitia, à Caro et à Marie, car sans vous, ces années d'école auraient été bien fades,

À Anaïs, pour avoir toujours été là, oreille attentive contre vents et marées,

À Cam, même si nos chemins ont divergé, tu sais ce que je te dois,

À Magali et à Lucile, pour avoir été les meilleurs mentors d'une superbe année,

Et enfin, à ma petite ménagerie, Cassiopée, Dionysos, Himalaya, Cyrano, Émée, Ivan, Yunnan, Leroi et Quivanello, mais aussi à la mémoire de Yasmine, Psyché, Dartagnan, Tortuga, Baladin, Boud'chou, Attila, Matouvu, Opium, Rocky, Indiana, Antarctique, Shalymare, Orion et Eclipse... oui, à vous aussi, car si j'en suis là, c'est aussi grâce à vous.

TABLE DES MATIÈRES

TABLE DES MATIÈRES	1
LISTE DES FIGURES	5
LISTE DES TABLEAUX.....	7
LISTE DES ABRÉVIATIONS	9
INTRODUCTION.....	11
PREMIÈRE PARTIE : ÉTUDE BIBLIOGRAPHIQUE	15
I. Généralités sur la génétique du chat domestique (<i>Felis catus</i>)	15
1. Cytogénétique du chat domestique	15
a. Le caryotype du chat domestique.....	15
b. Les anomalies cytogénétiques courantes.....	16
i. Les causes des anomalies caryotypiques.....	16
ii. Les anomalies caryotypiques les plus fréquentes.....	22
2. Le génome du chat domestique	24
a. Rappel de quelques définitions	24
b. Le génome du chat	24
3. Les gènes de couleur de la robe chez le chat domestique	25
c. Quelques loci autosomiques contrôlant la couleur de la robe chez le chat	25
i. Les couleurs de base de la robe du chat domestique.....	25
ii. Modifications de la robe de base : exemple du gène de dilution	25
iii. Motifs et marques.....	27
d. Un locus lié à l’X chez le chat : la couleur rousse	28
i. Les gènes liés à l’X	28
ii. Inactivation de l’X	28
iii. Le locus de la couleur rousse (orange).....	28
4. Les tests génétiques chez le chat	32
a. Les marqueurs microsatellites	32
b. Tests génétiques classiques et couramment utilisables	32
i. Le prélèvement d'ADN.....	32
ii. Test pour le sexage	32
iii. Test pour l’identification	32
iv. Test pour le dépistage et le diagnostic	34
II. Mosaïcisme.....	35

1.	Qu'est-ce qu'une mosaïque ?	35
2.	Le mosaïcisme génétique	35
a.	Mosaïcisme somatique ou germinale ?	35
b.	Mécanismes d'apparition et conséquences d'un mosaïcisme génétique.....	36
i.	Le mosaïcisme somatique	36
ii.	Le mosaïcisme germinale.....	38
3.	Le mosaïcisme épigénétique (ou fonctionnel).....	40
a.	Définitions	40
b.	Le mosaïcisme épigénétique lié à l'X chez les Mammifères.....	40
i.	Le principe de l'inactivation du chromosome X.....	40
ii.	Le mécanisme d'inactivation du chromosome X chez les Mammifères.....	43
4.	Aspect fonctionnel du mosaïcisme sur les couleurs de la robe du chat domestique	47
a.	Les robes écaillé de tortue et tricolores, individus normaux	47
b.	Cas des individus mâles mosaïques stériles	49
i.	Anomalie de type syndrome de Klinefelter (XXY) et syndrome de Klinefelter en mosaïque	51
ii.	Mosaïcisme chromosomique XX / XY	52
iii.	Approche clinique : la stérilité chez les individus mosaïques.....	53
c.	Cas des individus mâles mosaïques fertiles	53
i.	Cas des individus fertiles avec une anomalie caryotypique	53
ii.	Les mosaïques somatiques	54
iii.	Cas des individus chimères	54
d.	Les études d'ascendance et de descendance dans le diagnostic du mosaïcisme ou du chimérisme	54
III.	Chimérisme	59
1.	Qu'est-ce qu'une chimère ?.....	59
2.	Les chimères naturelles	59
a.	Les chimères complètes	59
i.	Chez le chien	59
ii.	Chez l'homme	61
b.	Le micro-chimérisme et les chimères fœto-maternelles	62
c.	Les chimères de la lignée sanguine et le free-martinisme.....	62
i.	Chez les ruminants	62
ii.	Chez le cheval	63
iii.	Chez l'homme	63
d.	Les chimères des cellules germinales.....	63

3.	Les chimères expérimentales et iatrogènes	64
a.	Exemple de souris tétra, hexa et octa-parentales.....	65
b.	Le chimérisme et l'obtention de souris <i>knockout</i> (KO) transgéniques	66
c.	Le chimérisme iatrogène	67
DEUXIÈME PARTIE : ÉTUDE EXPÉRIMENTALE.....		69
I.	Intérêt de l'étude et présentation des cas.....	69
1.	HARMONIE des Persans de Rose	69
a.	Présentation	69
b.	Ascendances	71
c.	Fertilité et descendances.....	72
d.	Hypothèses pouvant expliquer le phénotype.....	74
2.	HASLAN des Ducs de Bretagne	75
a.	Présentation	75
b.	Ascendance.....	76
c.	Hypothèses pouvant expliquer le phénotype.....	76
3.	HERMÈS de la Cité des Coon's	77
a.	Présentation	77
b.	Ascendance.....	78
c.	Fertilité et descendances.....	78
d.	Hypothèses pouvant expliquer le phénotype.....	79
4.	IDEFIX.....	80
a.	Présentation	80
b.	Ascendance.....	81
c.	Fertilité et descendances.....	81
d.	Hypothèses pouvant expliquer le phénotype.....	81
II.	Matériel et méthodes	82
1.	Réalisation des prélèvements d'ADN.....	82
2.	Analyse du caryotype	82
3.	Extractions des ADN.....	82
a.	À partir des brochettes	82
b.	À partir du sang	82
c.	À partir des poils	83
4.	Réalisation des empreintes génétiques	83
5.	Séquençage du gène de dilution	83
III.	Résultats	86
1.	Harmonie des Persans de Rose.....	86

a.	Empreintes génétiques d'Harmonie	86
b.	Séquençage d'une portion du gène <i>MLHP</i> chez Harmonie	86
c.	Empreintes génétiques des chatons d'Harmonie	88
2.	Haslan des Ducs de Bretagne	89
3.	Hermès de la Cité des Coon's	90
a.	Caryotype	90
b.	Empreinte génétique.....	90
4.	Idefix	90
a.	Caryotype	90
b.	Empreinte génétique.....	90
IV.	Discussion	92
1.	Harmonie des Persans de Rose.....	92
2.	Haslan.....	94
3.	Hermès de la Cité des Coon's.....	95
4.	Idefix	95
	CONCLUSION	97
	BIBLIOGRAPHIE	99
	ANNEXE	107
	25 cas rapportés de chats mâles écaille de tortue ou tricolores jusqu'en 1973 (d'après Centerwall <i>et al.</i> , 1973).....	107

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : La chimère d'Arezzo	11
Figure 2 : La mosaïque du <i>Cave Canem</i> de Pompéi	12
Figure 3 : Le phénotype unique de Venus.....	13
Figure 4 : Caryotype normal de chats mâle et femelle.....	16
Figure 5 : Formation de gamètes anormaux suite à la non-disjonction des chromosomes ou des chromatides au cours de la méiose.....	17
Figure 6 : Production de zygotes aneuploïdes par fécondation de gamètes anormaux concernant les chromosomes sexuels	18
Figure 7 : Dispermie, clivages post-zygotiques des triploïdes et leurs développements possibles	20
Figure 8 : Formation de cellules aneuploïdes par non-disjonction de deux chromatides au cours d'une mitose	21
Figure 9 : Effets du gène de dilution sur les couleurs de bases de la robe chez le chat	26
Figure 10 : Schéma du gène <i>MLHP</i> chez les individus à robe diluée	27
Figure 11 : Effets du locus de la couleur rousse chez la chatte.....	30
Figure 12 : Le phénotype dilué chez une chatte tricolore	31
Figure 13 : Exemple d'une mutation somatique phénotypiquement remarquable, la réversion ponctuelle de l'allèle <i>d</i> vers l'allèle <i>D</i> chez le chat	38
Figure 14 : Le dilemme lié au mosaïcisme germinale en conseil génétique chez l'homme	39
Figure 15 : Détection des corpuscules de Barr par immunofluorescence	41
Figure 16 : L'inactivation du chromosome X et la transmission aux lignées cellulaires filles	42
Figure 17 : Chromosome X recouvert par l'ARN <i>Xist</i> chez la souris	45
Figure 18 : Schéma de l'expression du locus de la couleur orange chez une chatte tricolore	47
Figure 19 : Phénotypes de chats mâles tricolores ou écaillé de tortue.....	50
Figure 20 : Phénotype et caryotype d'un chat mâle écaillé atteint d'un syndrome de Klinefelter	52
Figure 21 : Phénotypes de deux chats mâles écaillés.....	55
Figure 22 : Caryotypes de deux chats mâles écaillés	55
Figure 23 : Le phénotype atypique de Tiger, chienne Labrador Retriever chimère	60
Figure 24 : Chimère mouton-chèvre	64
Figure 25 : Une souris chimère hexa-parentale et ses parents	66
Figure 26 : Harmonie des Persans de Rose	70
Figure 27 : Chatons d'Harmonie des Persans de Rose.....	72
Figure 28 : La répartition des plages de couleur noire et diluée chez Harmonie.....	74
Figure 29 : Haslan des Duucs de Bretagne	75
Figure 30 : Hermès de la Cité des Coon's	77
Figure 31 : Idefix.....	80
Figure 32 : La séquence nucléotidique de l'exon 1 du gène <i>MLPH</i> et les séquences l'encadrant dans la base de données génomique Ensembl.....	84
Figure 33 : Extraits des chromatogrammes obtenus pour les nucléotides encadrant la mutation de dilution du gène <i>MLHP</i> (bases 94 à 101)	87
Figure 34 : Extrait de l'alignement des séquences de l'exon 1 du gène <i>MLPH</i>	88
Figure 35 : Hypothèse du mosaïcisme somatique par mutation d'un seul locus chez Haslan..	94

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Les marqueurs microsatellites polymorphes utilisés pour l'établissement de l'empreinte génétique du chat domestique et leurs localisations chromosomiques	33
Tableau 2 : Descendances théoriquement attendues pour des individus divergents pour le locus <i>Orange</i> chez le chat	49
Tableau 3 : Caryotypes de 38 chats mâles écaille de tortue rapportés par la littérature scientifique jusqu'en 1984	51
Tableau 4 : Descendances attendues pour les parents de Lenora Lia Joseph (LLJ)	56
Tableau 5 : Descendances de Lenora Lia Joseph (LLJ)	56
Tableau 6 : Descendances attendues pour les parents de Brima Fantastic (BF)	57
Tableau 7 : Descendances de Briama Fantastic (BF)	58
Tableau 8 : Résultats des tests génotypiques de Tiger, chienne Labrador Retriever chimère .	61
Tableau 9 : Pedigree d'Harmonie	71
Tableau 10 : Descendances attendues pour les parents d'Harmonie	71
Tableau 11 : Les frères et sœurs d'Harmonie	72
Tableau 12 : Portée de chatons d'Harmonie avec Harry Beau	73
Tableau 13 : Portée de chatons d'Harmonie avec le Père n°2	73
Tableau 14 : Descendances attendues pour les parents d'Haslan	76
Tableau 15 : Descendances attendues pour les parents d'Hermès	78
Tableau 16 : Portée d'Hermès avec Hestia	78
Tableau 17 : Portée de chatons d'Hermès avec Hadès	79
Tableau 18 : Descendances attendues pour les parents d'Idefix	81
Tableau 19 : Volumes utilisés pour le protocole de PCR	84
Tableau 20 : Cartes d'identification génétiques d'Harmonie et de ses parents	86
Tableau 21 : Empreintes génétiques d'Harry Beau et de ses quatre chatons avec Harmonie..	89
Tableau 22 : Cartes d'identification génétiques d'Haslan	89
Tableau 23 : Cartes d'identification génétiques d'Hermès	90
Tableau 24 : Cartes d'identification génétiques d'Idefix	91
Tableau 25 : Les marqueurs FCA026 et FCA105 chez Harmonie, ses parents, son frère et leur fille	92

LISTE DES ABRÉVIATIONS

ADN = Acide Désoxyribonucléique

ARN = Acide Ribonucléique

ASIP = Agouti Signal Protein

BF = Briama Fantastic

CBD103 = Canine Beta Defensin 103

HLA = *Human Leukocyte Antigen* (Antigènes des Leucocytes Humains)

LLJ = Lenora Lia Joseph

MC1R = Melanocortin 1 Receptor

MLPH = Mélanophiline

NHGRI = *National Human Genome Research Institute*

SRY = Sex-determining Region of Y chromosome

Xic = X inactivation center (Centre d'inactivation de l'X)

Xist = X inactive specific transcript

INTRODUCTION

La Chimère était un monstre fabuleux de la mythologie Grecque, décrit pour la première fois par Homère dans l'Iliade, comme une créature cracheuse de feu avec le poitrail et la tête d'un lion, le corps d'une chèvre et la queue d'un serpent (Figure 1) ; et dont les frères n'étaient autres que le Cerbère et l'Hydre de Lerne (Gilgenkrantz et Gilgenkrantz, 2002).

Figure 1 : La chimère d'Arezzo



Source : Photographie par Ferdinando Guerrini



Source : Dobrzynski (2013)

La chimère d'Arezzo est exposée au Musée Archéologique National de Florence (bronze étrusque datant de 400 avant notre ère). Il s'agit de la représentation de la chimère à corps et à tête de lion, dotée d'une tête de chèvre sur le dos et d'un serpent à la place de la queue.

Par la suite, c'est en passant par l'imaginaire d'écrivains et de poètes (Montesquieu, Baudelaire, Gérard de Nerval) que la « chimère » devint une référence à l'illusion, désignant alors un projet séduisant mais irréalisable ou bien une idée vaine qui n'est que le produit de l'imagination (Larousse).

Ainsi, au XX^{ème} siècle, les biologistes ont-ils conservé cette image de créature chimérique improbable et imaginaire pour désigner l'hétérogénéité parentale de certains organismes.

De ce fait, le terme de **chimère** désigne désormais également un *organisme constitué de deux ou, plus rarement, de plusieurs variétés de cellules ayant des origines génétiques différentes* (Larousse).

Le phénomène de coexistence de populations cellulaires d'origines génétiques distinctes chez un individu chimère est appelé **chimérisme**.

Rare dans la plupart des cas à l'état naturel, le chimérisme d'un individu est souvent découvert de manière fortuite (lorsqu'il n'est pas la cause d'anomalies phénotypiques, comme un pseudohermaphrodisme). Ce phénomène fut cependant très étudié expérimentalement, et en 1984, Fehilly *et al.*, parvinrent à créer une chimère complète mouton-chèvre.

Réalisée dès l'Antiquité, la mosaïque est un ouvrage d'art, assemblage de petits cubes ou parallélépipèdes multicolores, destiné à former un dessin (Larousse) : le chien du *Cave Canem* de Pompéi en est un célèbre exemple (Figure 2).

Le terme de mosaïque fut par la suite retenu par les biologistes pour décrire le phénotype des chattes à robes écaille de tortue ou tricolore (respectivement *tortie* et *calico* en anglais) : patchworks multicolores de poils oranges, eumélaniques et parfois blancs, comme pouvaient l'être les mosaïques antiques.

Nous verrons dans notre travail qu'il existe cependant de rares cas de mâles portant des robes dites mosaïques, et nous tenterons d'en comprendre les raisons.

**Figure 2 : La mosaïque du *Cave Canem* de Pompéi
(Leveque, 2010)**



La mosaïque du *Cave Canem* de la maison du poète tragique (1er siècle) servait à avertir les visiteurs avec l'indication "Attention au Chien".

Au milieu du XX^{ème} siècle, les généticiens commencèrent à employer le terme de **mosaïque** pour désigner un *organisme constitué de deux ou plusieurs populations cellulaires génétiquement différentes mais issues d'un même zygote*.

Le **mosaïcisme** désigne le phénomène de coexistence chez ces individus mosaïques.

De plus, en 1961, Mary Lyon, émit pour la première fois l'hypothèse d'un mosaïcisme épigénétique naturel à l'origine du mosaïcisme phénotypique observé chez les chattes à robes écaille de tortue ou tricolore : il s'agissait du phénomène d'inactivation du chromosome X. Elle put ainsi établir le premier lien entre la robe « mosaïque » chez le chat domestique et les mécanismes génétiques et cellulaires à son origine.

Cependant, la question du lien entre le mosaïcisme phénotypique et la génétique sous-jacente reste régulièrement posée, et notamment lorsque des individus avec un phénotype insolite et rare sont découverts. C'est par exemple le cas de Venus (Figure 3), très suivie sur les réseaux sociaux.

Figure 3 : Le phénotype unique de Venus
(Source : Venus's Page - Facebook)



Venus, avec ses deux visages parfaitement symétriques, soulève la question de l'origine génétique d'un tel phénotype.

Comme dans le cas de Venus, certains individus avec des robes très atypiques sont parfois découverts. C'est le cas des quatre chats que nous présenterons dans cette thèse : **Harmonie, Haslan, Hermès et Idefix**.

Comment expliquer leurs phénotypes ? Sont-ils des individus mosaïques ou des individus chimères ? C'est ce que nous étudierons dans ce travail.

Ainsi, dans une première partie, notre étude bibliographique nous amènera à comprendre plus en détail ce que sont le mosaïcisme et le chimérisme, et notamment sous quelles formes ils peuvent se présenter chez le chat domestique.

Puis, dans une deuxième partie, nous présenterons notre étude expérimentale menée sur les cas de quatre individus aux phénotypes rares et particuliers. Nous tenterons en particulier de mettre en évidence les phénomènes génétiques sous-jacents : s'agit-il de mosaïcisme ou de chimérisme ?

PREMIÈRE PARTIE : ÉTUDE BIBLIOGRAPHIQUE

De façon à faciliter la compréhension de l'étude expérimentale présentée dans la seconde partie de ce manuscrit, nous allons présenter dans cette partie quelques notions de génétique, de cytogénétique et de génétique de la couleur de la robe chez le chat. Ne seront abordées que les notions nécessaires, en particulier concernant la génétique de la robe, complexe dans l'espèce féline. Nous présenterons également quelques outils moléculaires qui permettent d'explorer le génome félin.

I. Généralités sur la génétique du chat domestique (*Felis catus*)

L'information génétique du chat domestique (*Felis catus*) est portée par l'Acide Désoxyribonucléique (ADN) au sein des noyaux cellulaires et des mitochondries.

Le chromosome, forme compactée de l'ADN nucléaire, est visible microscopiquement notamment au cours du processus de mitose. Les cellules somatiques des Mammifères sont diploïdes (composées de $2n$ chromosomes), c'est-à-dire que leurs chromosomes peuvent être réunis par paires semblables ; et pour une même paire, un chromosome provient du père de l'individu, l'autre provient de sa mère. Chez les Mammifères, il existe deux chromosomes sexuels nommés gonosomes (X et Y retrouvés sous la forme d'une paire XX chez la femelle et d'une paire XY chez le mâle) ; les autres chromosomes sont appelés autosomes.

Chez un individu normal, toutes les cellules à l'exception des cellules germinales chez le mâle, possèdent la même information génétique et en conséquence, les mêmes chromosomes.

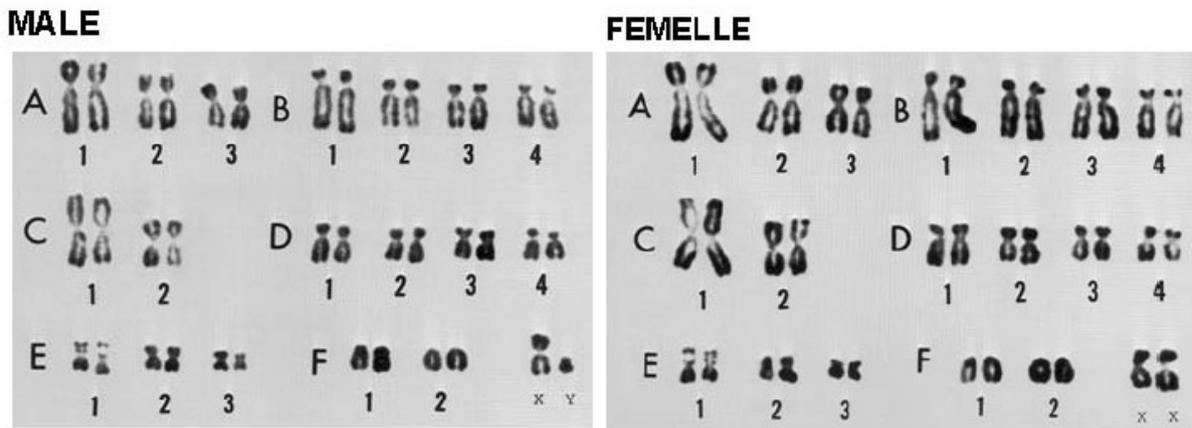
1. Cytogénétique du chat domestique

a. Le caryotype du chat domestique

Le caryotype correspond à l'ensemble des chromosomes, arrangés par paires et triés par ordre de taille décroissante. Il est caractéristique d'une espèce. Il est généralement obtenu à partir des noyaux de lymphocytes circulants.

Chez le chat domestique (*Felis catus*), le caryotype normal est composé de 18 paires d'autosomes et de deux chromosomes sexuels ($n = 19$), soit un total de 38 chromosomes (38 XX chez la femelle, 38 XY chez le mâle) (Figure 1).

Figure 4 : Caryotype normal de chats mâle et femelle
(Cho *et al.*, 1997)



Les autosomes du chat sont nommés selon leur taille et leur forme de la manière suivante : trois larges chromosomes métacentriques (A1 à A3) ; quatre larges chromosomes subtélomériques (B1 à B4) ; deux chromosomes de taille moyenne métacentriques (C1 et C2) ; quatre petits chromosomes subtélomériques (D1 à D4) ; trois petits chromosomes métacentriques (E1 à E3) ; deux petits chromosomes acrocentriques (F1 et F2) (Lyons 2012).

b. Les anomalies cytogénétiques courantes

L'analyse du caryotype d'un individu permet de mettre en évidence certaines anomalies chromosomiques, qu'il s'agisse d'anomalies de nombre ou de structure (délétions, duplication, etc.) (Cuesta, 2008).

L'aneuploïdie est un nombre anormal de chromosome dans une cellule. Il peut s'agir d'une monosomie, dans le cas où il manque un chromosome par rapport au caryotype normal ($2n - 1$), ou de polysomie, lorsque des chromosomes surnuméraires sont présents.

Les anomalies de caryotype les plus documentées chez le chat sont les aneuploïdies concernant les chromosomes sexuels. Elles sont généralement à l'origine de désordres de la reproduction chez les individus atteints (Lyons, 2012). Quant aux anomalies de forme des chromosomes, bien que quelques sites de fragilité aient été rapportés chez le chat, aucun n'a été mis en évidence au niveau des chromosomes sexuels (Rønne, 1995).

On parlera de mosaïcisme chromosomique, d'anomalie caryotypique en mosaïque ou encore de mixoploïdie lorsqu'il existe au moins deux caryotypes différents chez un même individu qui sera alors appelé mosaïque.

Nous reviendrons en détail sur le terme « mosaïque » dans la seconde partie.

i. Les causes des anomalies caryotypiques

On s'intéressera ici essentiellement aux anomalies des chromosomes sexuels les plus fréquemment observées chez le chat : les anomalies de nombre (qui peuvent être homogènes, présentes dans toutes les cellules de l'organisme, ou en mosaïque).

Ces anomalies peuvent être causées par :

- **La non-disjonction des chromosomes ou des chromatides sexuels au cours de la méiose** ; ces anomalies aboutissent à la formation de gamètes disomiques XX, XY, YY ou encore à des gamètes asomiques dépourvus de chromosome sexuel (Figure 5) (Source : *Atlas of Genetics and Cytogenetics in Oncology and Haematology*). La fusion de l'un de ces gamètes avec un gamète normal conduit à la formation d'un zygote aneuploïde, présentant soit une trisomie XXX, XXY ou XYY, soit une monosomie XO (Figure 6).

Figure 5 : Formation de gamètes anormaux suite à la non-disjonction des chromosomes ou des chromatides au cours de la méiose
 (d'après Faculté de Médecine de Marseille / Dessin personnel)

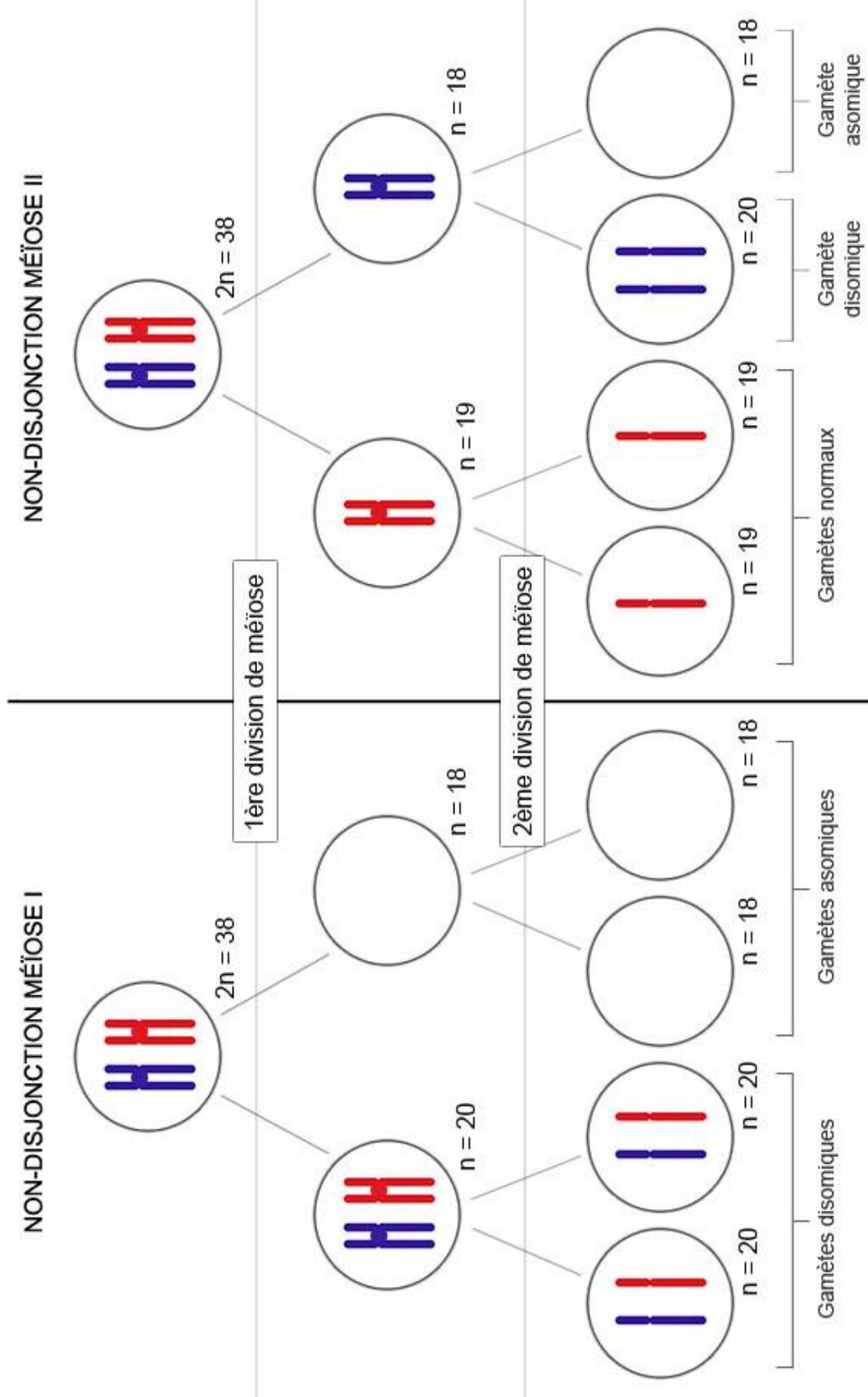
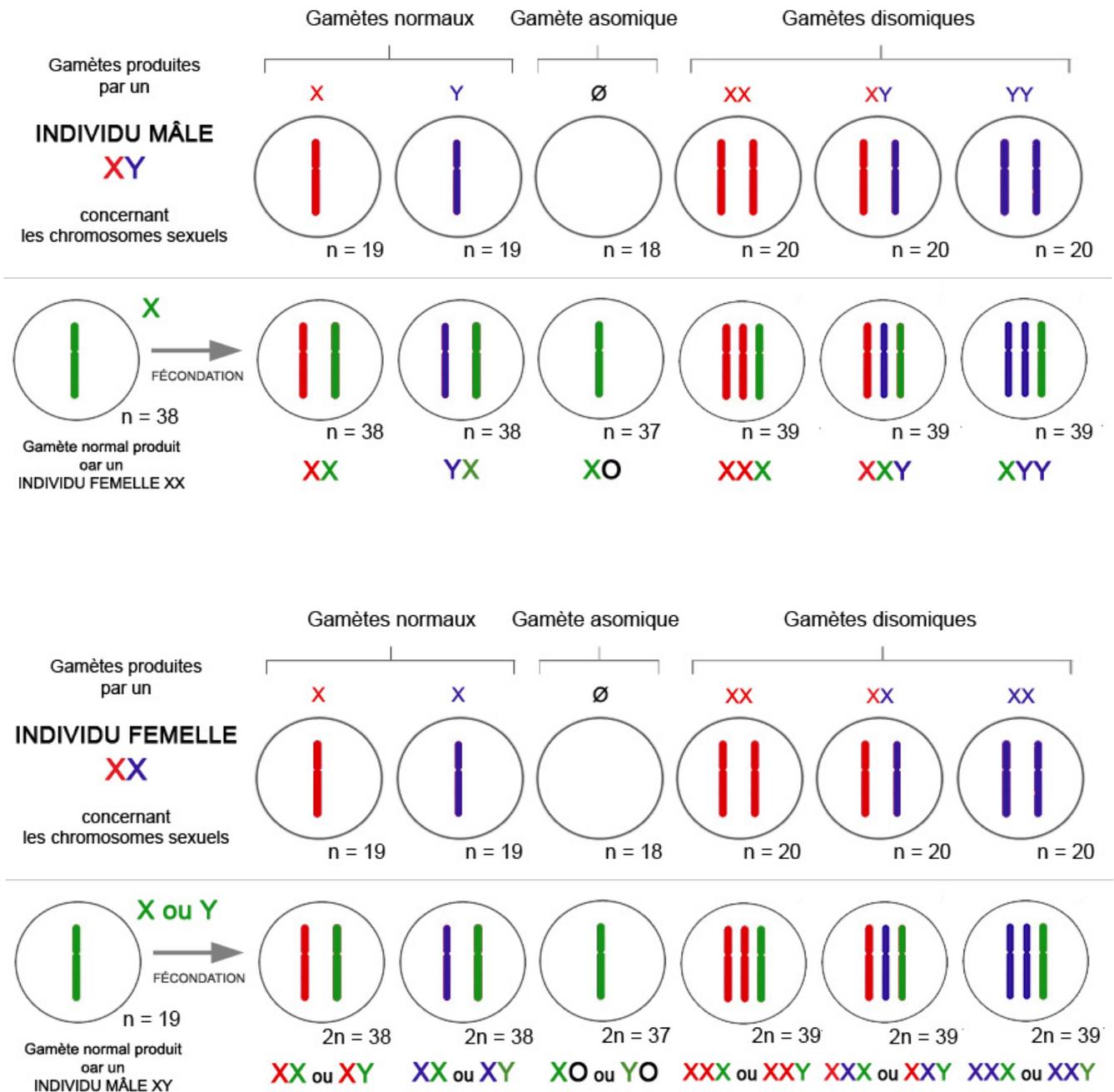


Figure 6 : Production de zygotes aneuploïdes par fécondation de gamètes anormaux concernant les chromosomes sexuels
 (d'après *Atlas of Genetics and Cytogenetics in Oncology and Haematology* / Dessin personnel)



▪ **La fusion du deuxième globule polaire avec la cellule-œuf ou avec une cellule du blastomère**

Le globule polaire issu de la deuxième division de méiose chez la femelle est haploïde. Il est normalement expulsé au moment de la fécondation. Un processus anormal de fusion du deuxième globule polaire avec la cellule-œuf ou avec une cellule du blastomère pourrait respectivement aboutir à la formation d'un zygote triploïde ($3n$) ou d'une mosaïque $2n/3n$.

▪ **Une dispermie**

Le phénomène de fécondation d'un ovocyte par deux spermatozoïdes, appelé dispermie, peut aboutir à la formation d'un zygote triploïde ($3n$ chromosomes).

Le concept d'une *diploïdisation post-zygotique des triploïdes* issus d'une dispermie a été envisagé chez l'homme par Golubovsky (2003). Par extension, l'auteur considère le phénomène possible pour tous les zygotes triploïdes, c'est-à-dire également pour des zygotes issus d'une fusion avec le second globule polaire.

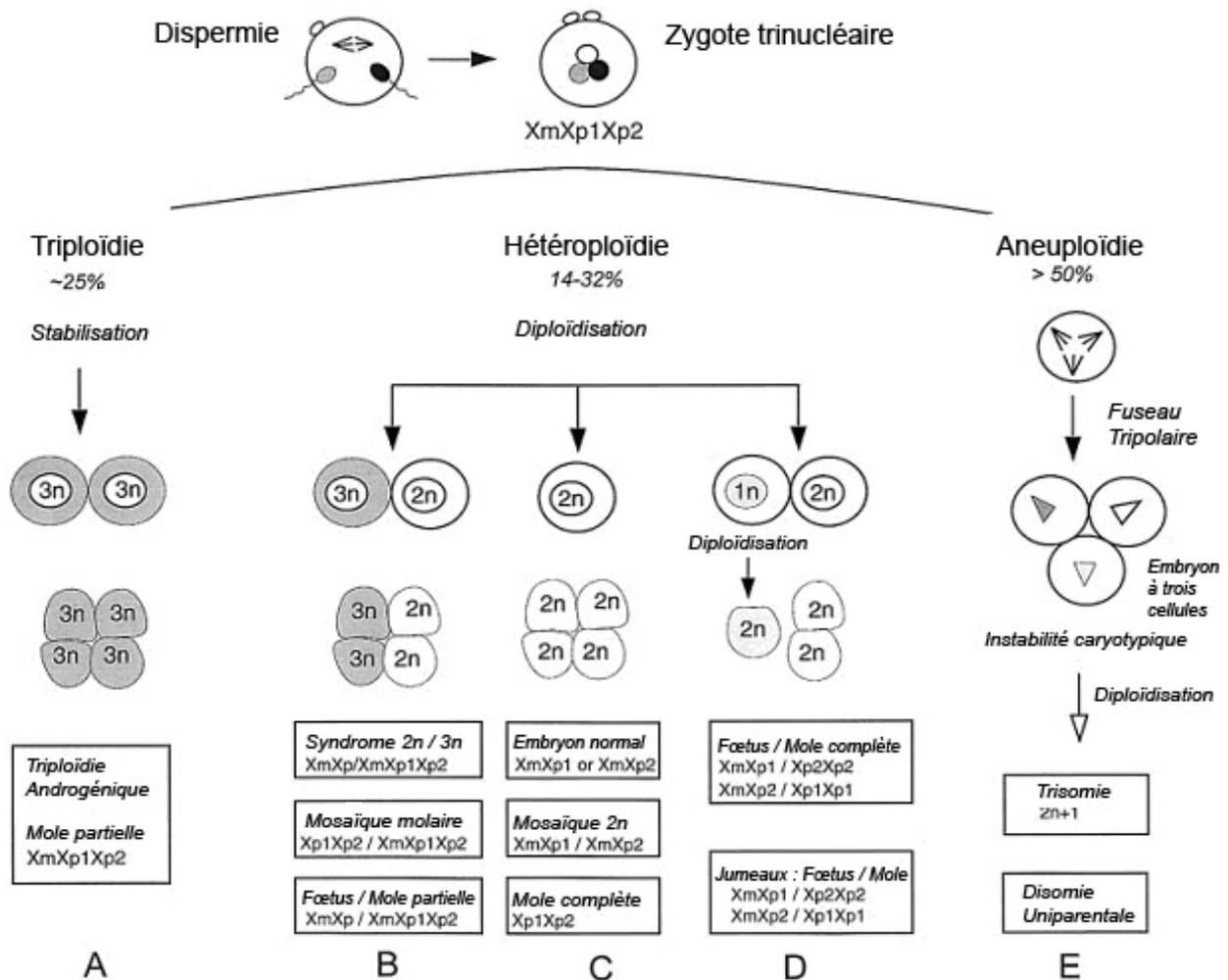
Selon cette théorie, la présence d'un centrosome paternel surnuméraire suite à la dispermie pourrait notamment être à l'origine d'erreurs dans la répartition des chromosomes au cours de la première division de clivage post-zygotique. Trois devenir ont été envisagés pour le zygote dispermique (Figure 7) :

(i) *une première division mitotique avec un fuseau bipolaire*, d'où résulteraient un blastomère et un embryon triploïdes ($3n$) dans 25 % des cas (A de la Figure 7). Par la suite, le maintien partiel de la triploïdie peut être considéré, parallèlement à la ségrégation de cellules à $2n$ chromosomes, d'où l'existence de populations cellulaires mixoploïdes $2n/3n$.

(ii) *l'exclusion d'un génome haploïde* durant la métaphase de première division, qui serait à l'origine de blastomères diploïdes ($2n$), de mosaïques $2n/3n$, de mosaïques $1n/2n$ voire de mosaïques $2n/2n$ (respectivement B, C et D de la Figure 7) dans 14 à 32 % des cas.

(iii) dans environ 50 à 60 % des cas, *la formation d'un fuseau tripolaire* au cours de la première division de clivage serait la cause d'importantes anomalies dans la répartition des chromosomes. (E de la Figure 7). En résulteraient des aneuploïdies avec mort cellulaire et occasionnellement la survie d'individus trisomiques ($2n+1$).

Figure 7 : Dispermie, clivages post-zygotiques des triploïdes et leurs développements possibles (d'après Golubovsky, 2003)



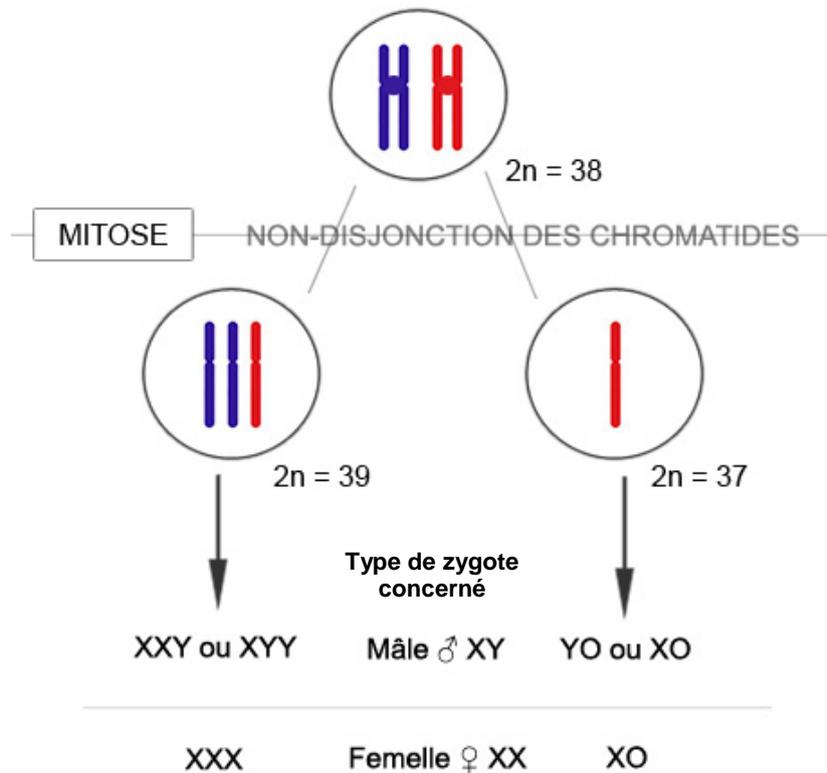
X_m désigne le chromosome X d'origine maternelle.

X_{p1} et X_{p2} désignent les chromosomes sexuels X d'origine paternelle, respectivement fournis par l'un ou l'autre des spermatozoïdes féconds.

▪ **La non-disjonction des chromatides sexuelles au cours d'une mitose ;** ce processus anormal aboutit à la coexistence dans un même individu d'au moins deux caryotypes différents et donc à un mosaïcisme chromosomique. (Source : *Atlas of Genetics and Cytogenetics in Oncology and Haematology*)

Par exemple, la non-disjonction des chromatides du chromosome X au cours d'une mitose chez un individu mâle XY, conduit à la formation de cellules XXY et de cellules OY (ces dernières n'étant pas viables) (Figure 8). L'individu résultant sera donc 38 XY / 39 XXY. La proportion en cellules XXY par rapport aux cellules XY normales dépend de la précocité d'apparition de cette mitose anormale au cours du développement de l'individu. L'individu résultant de cette erreur mitotique est une *mosaïque*.

Figure 8 : Formation de cellules aneuploïdes par non-disjonction de deux chromatides au cours d'une mitose
(d'après *Atlas of Genetics and Cytogenetics in Oncology and Haematology* / Dessin personnel)



L'erreur mitotique de non-disjonction des chromatides peut conduire à un mosaïcisme où coexistent des populations cellulaires disomiques, monosomiques et trisomiques (selon la viabilité cellulaire de la monosomie et de la trisomie). Si la non-disjonction concerne les chromosomes sexuels, elle aboutit initialement chez la femelle à un mosaïcisme X/XX/XXX et chez le mâle à un mosaïcisme XY/XXY (YO étant non viable) ou X/XY/XYY.

- **Un retard à l'anaphase au cours d'une mitose** ; dans ce processus, l'une des chromatides filles au moins ne rentre pas dans le noyau en fin d'anaphase et se trouve détruite dans le cytoplasme.

Pour une cellule normale ($2n = 38$), la cellule fille résultante sera donc XO ou YO selon le chromosome sexuel touché par l'erreur (YO étant non viable) : suite à cette anomalie de mitose, l'individu sera donc *mosaïque* XX/XO pour une femelle ou XY/XO pour un mâle.

Chez un individu trisomique $2n+1$, ce phénomène pourra aboutir à la formation d'une mosaïque $2n/2n+1$. (Boué, 1992)

- **La fusion d'au moins deux populations cellulaires dont la composition en chromosomes sexuels est différente** ; ce processus aboutit à la coexistence dans un même individu d'au moins deux caryotypes différents, et donc à une hétérogénéité chromosomique concernant au moins les chromosomes sexuels. (Source : *Atlas of Genetics and Cytogenetics in Oncology and Haematology*)

De façon générale, si les populations cellulaires proviennent d'un même zygote : il s'agit d'un individu *mosaïque*. À l'inverse, si les populations cellulaires proviennent de deux zygotes différents (ou plus) : il s'agit d'un individu *chimère*. Notons cependant que la seule analyse du caryotype ne permet pas de déterminer si les populations cellulaires sont issues ou

non d'un même zygote. (Les notions de mosaïque et de chimère seront développées dans les parties II et III.)

ii. Les anomalies caryotypiques les plus fréquentes

Les anomalies caryotypiques des chromosomes sexuels les plus fréquemment observées dans l'espèce *Felis catus* sont les suivantes :

▪ **39 XXY ou Syndrome de Klinefelter**

La triploïdie XXY (également appelée syndrome de Klinefelter chez l'homme) est l'anomalie des chromosomes sexuels la plus souvent rapportée et l'une des causes les plus fréquentes de malformation de l'appareil génital chez le chat.

Les individus touchés par cette anomalie développent le phénotype mâle mais sont stériles du fait d'une hypoplasie testiculaire sans spermatogenèse (Romagnoli et Schlafer, 2006). Une dégénérescence des tubules, une hyperplasie du tissu interstitiel et l'absence totale de cellules germinales ont récemment été observées chez un chat mâle tricolore 39 XXY. (Pedersen *et al.*, 2014)

▪ **38 XX / 39 XXY ou 38 XY / 39 XXY ou Syndrome de Klinefelter « en mosaïque »**

Les triploïdies XXY « en mosaïque » sont des formes particulières du syndrome de Klinefelter, dans lesquelles seulement une partie des cellules comporte un complément anormal XXY, d'où la dénomination « en mosaïque ».

D'autres formes de syndromes de Klinefelter « en mosaïque », plus complexes, ont rarement été découverts chez des chats stériles (par exemple un individu 38 XY / 39 XXY / 40 XXYY rapporté par Centerwall et Benirschke en 1973).

Le phénotype et la stérilité de ces individus dépendent des régions anatomiques affectées par l'anomalie chromosomique.

Nous verrons dans la partie II.4.b.i que des anomalies caryotypiques de type syndrome de Klinefelter ou syndrome de Klinefelter « en mosaïque » ont été retrouvées dans la majorité des cas d'individus mâles écaillé de tortue ou tricolores stériles.

▪ **39 XXX ou Syndrome Triple X**

Les individus touchés par la triploïdie XXX développent le phénotype femelle mais demeurent stériles.

▪ **37 XO ou Syndrome de Turner**

Quatre cas de monosomie 37 XO ont été rapportés chez le chat, dont une femelle Burmese âgé de 2,5 ans (37 XO) et présentant un anœstrus primaire sans anomalie somatique ; les autres individus étaient des chatons qui sont morts ou ont été euthanasiés dans leurs premiers mois de vie (Romagnoli et Schlafer, 2006).

Les individus touchés par cette anomalie, lorsqu'ils sont viables, développent, notamment chez l'homme, le phénotype femelle avec une stature généralement plus petite que la normale, mais sont stériles du fait d'un sous-développement de l'appareil génital.

▪ **38 XX / 37 XO ou Syndrome de Turner « en mosaïque »**

Le phénotype et la stérilité de ces individus dépendent des régions affectées par la monosomie.

▪ **Autres anomalies caryotypiques « en mosaïque » : 38 XX / 38 XY**

La présence de deux caryotypes normaux XX et XY chez un même individu relève de l'anomalie caryotypique dite « en mosaïque ». Il est cependant impossible sur la base de l'analyse caryotypique de dire si cette anomalie « en mosaïque » est due à un mosaïcisme ou à un chimérisme (voir II. et III.).

Le phénotype et la stérilité de tels individus dépendent de la répartition des cellules XX et XY, notamment au niveau des gonades et de l'appareil génital.

Bien qu'extrêmement rares, de nombreuses autres anomalies de polysomies ont déjà été observées. Ainsi, des tétrasomies des chromosomes sexuels XXXX ou XXXY sont envisageables lorsque le zygote est par exemple issu de la fécondation de deux gamètes anormaux ou d'une éventuelle dispermie.

Comme nous le verrons dans la partie II.4.b.i., certains cas complexes et plus anecdotiques d'anomalies caryotypiques dites « en mosaïque », également appelées mosaïcismes chromosomiques ou mixoploïdies, ont également été rapportés chez le chat (par exemple : 38 XX / 38XY / 39 XXY / 40 XXYY). (Moran *et al.*, 1984)

2. Le génome du chat domestique

a. Rappel de quelques définitions

Le **génom** est l'ensemble du matériel génétique d'un organisme.

Le **séquençage** de l'ADN permet de déterminer l'enchaînement des nucléotides afin d'établir la séquence complète du génome.

Le **gène** est l'unité d'information génétique du vivant, il s'agit d'une séquence d'ADN codante (pour une chaîne polypeptidique ou pour un Acide Ribonucléique (ARN)) qui détermine ou modifie un caractère héréditaire.

Le terme de **locus** définit une localisation physique précise sur le génome. Le locus d'un gène est désigné par le numéro et le bras du chromosome sur lequel il se trouve, puis par son emplacement.

Enfin, les **allèles** sont les différentes versions d'un même gène ; il s'agit d'une variation dans la séquence de nucléotides. Un individu diploïde possède deux allèles pour chacun de ses gènes autosomiques ; l'un provient de son père, l'autre de sa mère. Si les deux allèles sont identiques, on parle d'**homozygotie** ; s'ils sont différents, alors l'individu est **hétérozygote** pour ce gène.

b. Le génome du chat

Le génome d'un chat Abyssin de 4 ans (appelé Cinnamon) a été séquencé en 2007 par le *National Human Genome Research Institute* (NHGRI) grâce à la méthode globale (ou *Whole Genome Shotgun*) : 20 285 gènes ont été identifiés, pour une longueur totale du génome estimée à 2,7 Gb (2,5 Gb d'euchromatine) (Pontius *et al.*, 2007).

Néanmoins contrairement au chien, il subsiste actuellement dans la séquence publiée du chat de nombreuses zones manquantes et de nombreuses portions d'ADN ne sont pas encore associées aux chromosomes correspondants (la couverture du séquençage du génome étant de 1,9 fois chez le chat, contre 7,5 fois chez le chien).

À ce jour, ce sont 318 caractères d'intérêts et maladies héréditaires qui ont été identifiés chez le chat, dont au moins 82 sont à transmission mendélienne. (Source : *OMIA*)

3. Les gènes de couleur de la robe chez le chat domestique

Chez les Mammifères, la pigmentation est réalisée grâce aux mélanocytes, cellules pigmentaires dérivées de la crête neurale, que l'on retrouve dès la naissance dans de nombreux tissus tels que le derme, l'épiderme, les follicules pileux, la choroïde, l'épiderme pigmentaire de la rétine ou la *stria vascularis* de l'oreille interne. La synthèse d'eumélanines (pigments foncés bruns à noirs) et de phaéomélanines (pigments clairs jaunes à rouges) au sein des mélanosomes est réalisée par une enzyme clé, la tyrosinase. (Abitbol, 2012)

Dans la peau et les follicules pileux, après leur synthèse, les mélanosomes contenus dans les mélanocytes sont transférés aux kératinocytes grâce à l'intervention d'un complexe protéique tripartite, incluant la Myosin Va, la Rab27A et la mélanophiline (MLPH). (Ishida *et al.*, 2006)

c. Quelques loci autosomiques contrôlant la couleur de la robe chez le chat

Le chat domestique présente une large diversité phénotypique incluant de nombreuses variations dans la couleur de la robe, résultats d'interactions génétiques entre plusieurs loci.

Nous ne développerons ici que quelques loci, nécessaires à la compréhension de la partie expérimentale.

i. Les couleurs de base de la robe du chat domestique

Chez le chat, le locus *Brown* (B) détermine la couleur des eumélanines qui peuvent varier du brun au noir. Les allèles B (*Black*), b (*brown*) et b¹ (*brown light*) donnent respectivement les robes de couleur noire, chocolat et cannelle.

Deux autres loci majeurs contrôlent les couleurs de base de la robe en modifiant les proportions en eumélanines et phaéomélanines dans le pelage : il s'agit de *Agouti* (A) qui gouverne la présence ou l'absence de poils agoutis dans le pelage (robe dite tabby ou unie respectivement) et *Orange* (O, voir ci-après). (Abitbol, 2012)

ii. Modifications de la robe de base : exemple du gène de dilution

Les couleurs de base déterminées par les loci précités peuvent être modifiées par certains gènes, comme le gène situé au locus *Dilution* (D).

Le phénotype de *dilution* de la robe chez le chat consiste en un éclaircissement apparent de la couleur de base normalement attendue, du fait d'un regroupement en paquet des mélanosomes dans les kératinocytes. Ce regroupement laisse passer plus de lumière que lorsque les mélanosomes sont régulièrement dispersés (phénotype sauvage). Ainsi, les couleurs noir, chocolat, cannelle et orange, se trouvent respectivement diluées en bleu, lilas, faon et crème (Figure 9).

Le caractère dilué se transmet sur un mode **autosomique récessif** : l'allèle sauvage non dilué est dominant, il est noté *D* ; l'allèle dilué récessif est nommé *d*. Un individu présentant une robe diluée est donc nécessairement homozygote *d/d* pour le gène de dilution.

Figure 9 : Effets du gène de dilution sur les couleurs de bases de la robe chez le chat (d'après Abitbol, 2012)

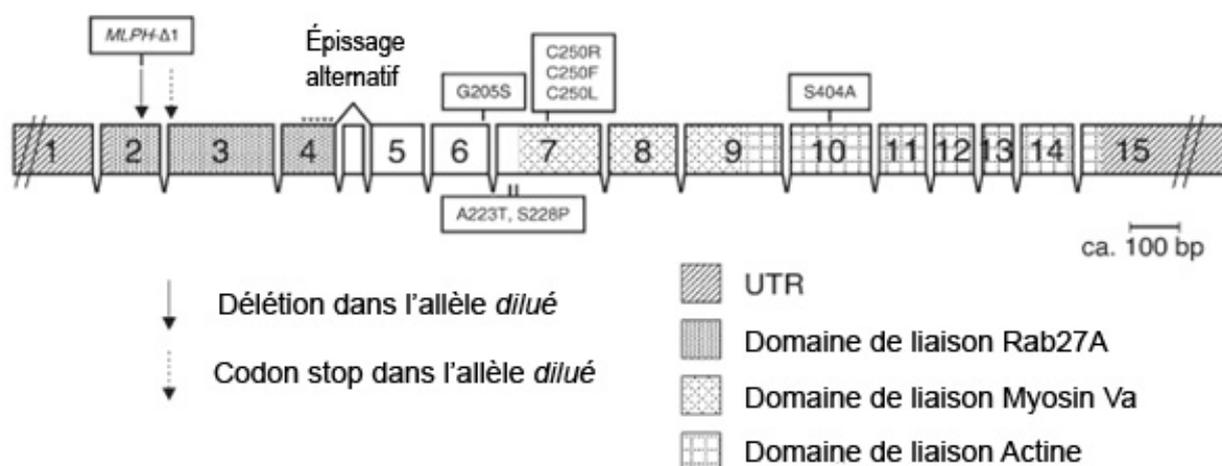


La robe noire (a1) est diluée en bleue (a2) ; la robe chocolat ou marron (b1) est diluée en lilas (b2) ; la robe cannelle (c1) est diluée en faon (c2) ; la robe orange ou rousse (d1) est diluée en crème (d2) ; en miniature sont présentées les robes non diluées correspondantes.

En 2003, Menotti-Raymond *et al.* ont montré que le gène de dilution était fortement lié à un marqueur microsatellite (FCA890) situé sur l'**autosome** C1 du chat. Puis en 2006, Ishida *et al.* ont découvert que le phénotype dilué du chat était dû à une délétion homozygote d'une seule base dans l'exon 2 du gène codant la mélanophiline (MLPH). Pour ce gène de 15 exons, la mutation *MLPH-Δ1* est à l'origine d'un codon-stop tronquant près de 97% de la protéine normale au cours de la traduction (Figure 10).

Figure 10 : Schéma du gène *MLPH* chez les individus à robe diluée (d'après Ishida *et al.*, 2006)

Le variant *MLPH-Δ1* (à la position 83 de l'exon 2) a été identifié comme étant la mutation causale du phénotype dilué chez le chat : il s'agit d'une délétion d'une seule paire de bases conduisant au décalage du cadre de lecture au cours de la traduction et à la formation d'un codon-stop prématuré.



La Rab27A, la Myosin Va et l'Actine interviennent conjointement avec la MLPH (via des sites de liaison) dans le transport des mélanosomes. Les zones marquées UTR (*Untranslated Regions*) sont les régions non traduites du gène. Les encadrés indiquent les zones de polymorphismes d'un seul nucléotide (SNPs) existant entre les individus de phénotype dilué et les phénotypes sauvages.

Chez un individu non muté, la MLPH agit comme protéine linker dans la formation d'un complexe protéique constitué également des protéines Rab27A et Myosin Va. En se liant aux filaments d'actine, ce complexe participe au transfert des mélanosomes vers les mélanocytes périphériques. Or, chez les individus homozygotes mutés ce complexe s'avère défaillant, la répartition des mélanosomes dans les cellules pigmentaires terminales s'en trouve fortement modifiée, d'où le phénotype de *dilution* de la robe de base. (Ishida *et al.*, 2006)

iii. Motifs et marques

Notons ici qu'il existe également des gènes dont l'effet se superpose aux robes de base qu'elles soient ou non modifiées. Ces gènes contrôlent par exemple :

- la présence ou l'absence de **poils agouti** dans la robe ; il s'agit du locus *Agouti* (A) (Eizirik *et al.*, 2010) ;
- les **motifs de la robe** ; ainsi, les loci *Tabby* (Ta) et *Ticked* (Ti) déterminent le type de patron des robes agoutis (tiqueté, classique ou tigré) (Eizirik *et al.*, 2010) ;
- la présence de **taches blanches**, résultat d'une absence de pigmentation, est déterminée au locus *White Spotting* (S) (Cooper *et al.*, 2006), tandis que la robe uniformément blanche est gouvernée par le locus dominant *White* (W) (Ryugo et Menotti-Raymond, 2012), dont il a été montré très récemment qu'ils ne formaient qu'un seul locus appelé W. (David *et al.*, 2014)

d. Un locus lié à l'X chez le chat : la couleur rousse

i. Les gènes liés à l'X

Un caractère est dit lié à l'X lorsque le gène qui le contrôle est situé sur le chromosome X. Il peut s'agir d'une maladie (par exemple l'hémophilie) ou d'un caractère d'esthétique, comme la couleur rousse chez le chat. Les caractères liés à l'X peuvent être transmis sur un mode dominant ou récessif chez les femelles. En effet, les mâles ne possédant qu'un seul exemplaire du chromosome X, la question de la dominance ne se pose pas du fait de l'hémizygotie.

Un caractère muté à **transmission récessive liée à l'X** est caractérisé de la façon suivante :

- le caractère muté est beaucoup plus fréquemment observé chez les mâles que chez les femelles (puisque ces dernières doivent nécessairement être homozygotes pour exprimer le caractère) ;
- un mâle présentant le caractère muté ne transmet l'allèle muté qu'à ses filles, ainsi une femelle dont le père présente le caractère muté est porteuse de l'allèle mutant ;
- pour qu'une femelle soit atteinte, ses deux chromosomes X doivent être mutés : son père est donc atteint et sa mère doit être porteuse saine (ou atteinte).

Un caractère muté à **transmission dominante lié à l'X** est caractérisé de la façon suivante :

- la présence d'un seul allèle muté est suffisante pour que le caractère muté s'exprime, chez un mâle comme chez une femelle ;
- le parent qui transmet l'allèle muté présente nécessairement le caractère muté ;
- les mâles présentant le caractère muté ne transmettent pas l'allèle muté à leurs fils (ces derniers ne présentent donc pas le caractère muté), mais le transmettent à toutes leurs filles ;
- les femelles présentant le caractère muté transmettent l'allèle muté (et donc le caractère muté) à la moitié de leurs filles et de leurs fils si elles sont hétérozygotes, à toutes leurs filles et tous leurs fils si elles sont homozygotes.

Notons cependant que les maladies qui suivent un mode de transmission dominante lié à l'X sont extrêmement rares chez les animaux domestiques. (Source : *OMIA*)

ii. Inactivation de l'X

L'inactivation du chromosome X est un phénomène retrouvé chez tous les Mammifères, consistant en une inactivation aléatoire (extinction transcriptionnelle, les gènes ne sont plus exprimés) de l'un des deux chromosomes X dans chaque cellule d'un individu femelle. Le processus d'inactivation, intervenant tôt dans le développement embryonnaire, permet une compensation génique entre les mâles XY et les femelles XX. (Lyon, 1999)
Nous reviendrons plus en détail sur l'inactivation de l'X dans la partie II.3.

iii. Le locus de la couleur rousse (orange)

Le gène (encore non identifié à ce jour) produisant la couleur rousse au locus *Orange* (O) chez le chat provoque, via un mécanisme moléculaire encore inconnu, la suppression des pigments foncés marrons à noirs (eumélanines) en faveur d'un pigment jaune-orangé. L'allèle *O* détermine la couleur rousse, tandis que l'allèle sauvage *o* permet la production d'eumélanines. (Schmidt-Küntzel *et al.*, 2009)

Chez un individu mâle normal n'ayant qu'un seul chromosome X, le phénotype est nécessairement soit roux (orange), soit eumélanique selon que le chat possède l'allèle *O* ou *o*.

Chez un individu femelle hétérozygote normal, du fait du mécanisme d'inactivation de l'X (voir paragraphe précédent), il y a expression dans chaque cellule, soit de l'allèle *O* soit de l'allèle *o*, c'est-à-dire que les deux caractères, roux et eumélanique, participent en commun au phénotype (photos (c), (e), (f) de la Figure 11).

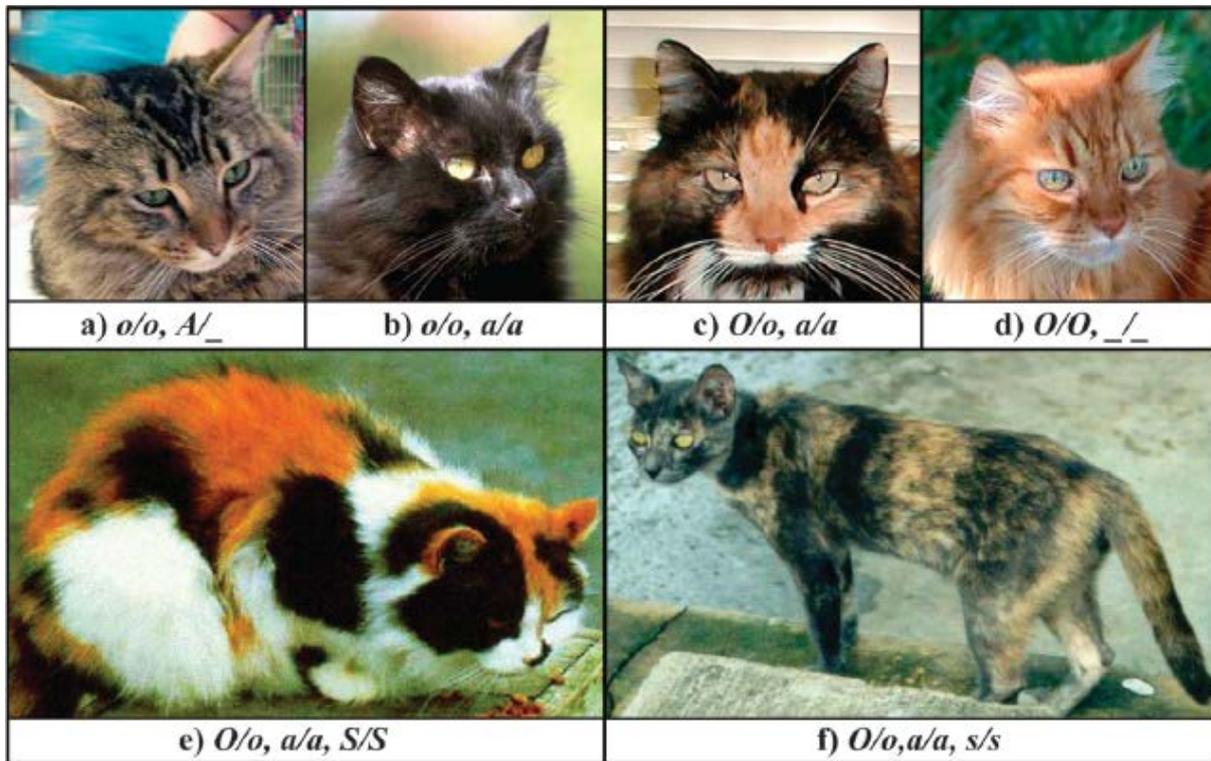
Notons également qu'il existe des interactions entre le locus *Orange* et d'autres loci contrôlant les couleurs de la robe :

- ainsi, le locus autosomique *White Spotting* (*S*) qui contrôle la formation de la panachure blanche, interagit avec le caractère roux lié à l'X : les femelles hétérozygotes X_O/X_o (*O/o*) et homozygotes sauvages *s/s* développent un phénotype **écaille de tortue** où les plages rousses et noires sont petites et imbriquées entre elles avec un aspect marbré (photo (f) de la Figure 11) ; à l'inverse, les femelles hétérozygotes X_O/X_o (*O/o*) et possédant au moins un allèle dominant *S* présentent un phénotype **tricolore** se traduisant par, en plus de la panachure blanche, des tâches rousses et noires de grande taille et bien délimitées (photo (e) de la Figure 11) ;

- de plus, le caractère roux est épistatique sur le caractère agouti, c'est-à-dire que l'expression de l'allèle *O* masque les effets du locus *A* (gène *ASIP* : *Agouti Signal Protein*). Ainsi, pour un territoire cellulaire roux donné, le pelage a une apparence agouti quelques soient les allèles portées au locus *Agouti* (*a/a*, *A/a* ou *A/A*) ; il n'existe donc pas de vraie couleur rousse unie chez le chat ;

- enfin, le gène de dilution (*MLPH*), dont le locus est situé sur un autosome, provoque la dilution de l'ensemble des pigments. En conséquence, chez un chat écaille de tortue ou tricolore, les plages cellulaires *O* comme les plages cellulaires *o* présentent le phénotype dilué : l'individu est à la fois bleu (si sa base était noire) et crème (Figure 12).

Figure 11 : Effets du locus de la couleur rousse chez la chatte
(Schmidt-Küntzel *et al.*, 2009)



Les femelles homozygotes sauvage o/o ne présentent pas la couleur rousse, qu'elles soient agoutis (a) ou non agoutis (b). L'individu sur la photo (c) exprime à la fois l'allèle O et l'allèle o : les territoires cellulaires roux expriment le X portant l'allèle O tandis que les territoires cellulaires noirs expriment le X portant l'allèle o . Chez l'individu (d), homozygote O/O et entièrement roux, les allèles au locus *Agouti* ne peuvent pas être déterminés car la couleur rousse est épistatique sur le caractère non agouti.

Les photos (e) et (f) montrent l'influence de la présence de marques blanches sur la taille et sur l'apparence des tâches rousses et noires chez les chattes hétérozygotes au locus *Orange* ; les individus S/S ou S/s présentent des territoires cellulaires roux et noirs bien délimités et plus larges tandis que les individus homozygotes sauvages pour l'allèle s du locus *White Spotting* (sans panachures blanches) développent de plus petites tâches aux contours indistincts.

**Figure 12 : Le phénotype dilué chez une chatte tricolore
(Source : Chatterie des Doux Ronrons)**



Chatte British Shorthair de phénotype tricolore dilué, présentant des plages cellulaires de couleur crème et des plages cellulaires de couleur bleue. Les tâches sont larges et bien délimitées du fait de la présence d'une panachure blanche.

Le phénotype roux/fauve a été rapporté dans plusieurs espèces, dont le chien et l'homme, chez qui la mutation causale est localisée au gène codant la protéine *melanocortin 1 receptor* (MC1R). Cependant, le gène *MC1R* ayant été situé sur le chromosome E2 dans l'espèce féline, une mutation de ce gène ne peut pas être impliquée dans le phénotype roux/orange du chat (qui est un caractère lié à l'X).

C'est en 2005 que Grahn *et al.* ont localisé le locus de la couleur rousse/orange à environ 14 cM du centromère du chromosome X. Schmidt-Küntzel *et al.* (2009) ont affiné cette localisation en situant le gène candidat dans un intervalle de 10,8 Mb sur le chromosome X, délimité par les marqueurs FCA1464 et RAP2cSNP.

Notons que le hamster doré (*Mesocricetus auratus*) est le seul autre Mammifère pour lequel un phénotype phaéomélanique lié à l'X a été rapporté. (Alizadeh *et al.*, 2009)

4. Les tests génétiques chez le chat

a. Les marqueurs microsatellites

Les microsatellites ou *Short Tandem Repeat* (STR) sont des séquences constituées d'un motif central de 2 à 6 nucléotides répété des dizaines de fois. Très nombreux dans le génome des Mammifères et hautement polymorphes, leur fonction *in vivo* reste inconnue à ce jour. Les microsatellites sont très facilement amplifiables par *Polymerase Chain Reaction* (PCR) et peuvent être par la suite visualisés par électrophorèse (par exemple à l'aide d'amorces ou de nucléotides fluorescents). Depuis quelques années, ces marqueurs sont très utilisés dans l'établissement de cartes d'identité génétiques (profils ADN) et le contrôle de filiation.

b. Tests génétiques classiques et couramment utilisables

En France, les tests ADN chez le chat sont couramment employés pour :

- l'identification d'un individu (profil ADN) ;
- la confirmation de parenté, le contrôle des filiations ;
- le diagnostic et le dépistage de certaines maladies génétique ;
- la détection du portage de caractères d'intérêt (tests de couleur) ;
- le groupage sanguin.

(Source : Genindexe)

i. Le prélèvement d'ADN

En pratique courante, le prélèvement du matériel génétique s'effectue par simple écouvillonnage de la paroi buccale à l'aide d'une brosette. L'extraction d'ADN peut également être réalisée à partir des cellules mononuclées du sang ou d'autres sources (poils avec la racine, sperme, biopsies tissulaires).

ii. Test pour le sexage

Le sexage des individus est rendu possible par la détection de marqueurs microsatellites spécifiques, localisés sur le chromosome X. Ainsi, le marqueur ZFX/Y couramment testé lors de la réalisation de l'empreinte génétique (profil ADN) permet de déterminer le sexe génétique de l'individu.

iii. Test pour l'identification

L'identification ADN passe par l'établissement d'une empreinte génétique (profil ADN) unique. Cette empreinte génétique est constituée d'une combinaison de marqueurs microsatellites.

1. L'empreinte génétique

L'empreinte génétique ou carte d'identité génétique ou profil ADN chez le chat est constituée de la combinaison allélique d'un ensemble de marqueurs microsatellites. Pour chaque locus microsatellite, un individu possède deux allèles, l'un est transmis par le père, l'autre par la mère.

Chez le chat, cette empreinte est actuellement basée sur une quinzaine de marqueurs validés scientifiquement au niveau international par l'ISAG (*International Society for Animal*

Genetics) et répondant à la norme ISAGF 2010 mise en œuvre par presque tous les laboratoires en Europe et aux États-Unis : dix marqueurs principaux, cinq marqueurs complémentaires et un marqueur de sexe (Tableau 1). (Source : Antagene)

Tableau 1 : Les marqueurs microsatellites polymorphes utilisés pour l'établissement de l'empreinte génétique du chat domestique et leurs localisations chromosomiques (Sources : ISAG / Antagene / Ensembl / Menotti-Raymond *et al.*, 2003)

	Marqueur	Localisation
10 marqueurs principaux	FCA026	Chromosome D4
	FCA069	Chromosome B4
	FCA105	Chromosome A2
	FCA201	Chromosome B3
	FCA220	Chromosome F2
	FCA229	Chromosome A1
	FCA293	Chromosome C1
	FCA310	Chromosome C2
	FCA453	Chromosome A1
	FCA678	Chromosome A1
5 marqueurs complémentaires	FCA075	Chromosome E2
	FCA149	Chromosome B1
	FCA240	Chromosome X
	FCA441	Chromosome D3
	FCA651	Chromosome X
1 marqueur de sexe	ZFX Y	Chromosome X (partie pseudo-autosomique)

Chez le chat domestique, les marqueurs microsatellites sont nommés par le préfixe FCA (*Felis catus*) suivi d'un nombre.

En routine, le laboratoire Antagene (www.antagene.com) teste par exemple treize marqueurs microsatellites très variables ainsi qu'un marqueur de sexe localisé sur le chromosome X.

Les résultats sont données sous la forme d'un nombre ou d'une lettre pour chaque allèle selon le laboratoire.

La probabilité d'obtenir des empreintes génétiques différentes pour des individus pris au hasard dans la population est supérieure à 99,9 % (à l'exception des vrais jumeaux pour lesquels les empreintes génétiques sont identiques). L'identité génétique d'un chat est vérifiée par la comparaison de deux empreintes génétiques établies indépendamment. (Source : Antagene)

Enfin, le laboratoire Antagene fournit l'information suivante : la probabilité de caractériser correctement les deux allèles au niveau de chacun des 14 marqueurs microsatellites testés est supérieure à 99 % (Source : Antagene).

2. La vérification de parenté

La vérification de parenté ou contrôle de filiation se fait par comparaison de l'empreinte génétique d'un individu avec celles de ses parents : la compatibilité des empreintes de la mère et du père est indispensable pour attester de la parenté. Ainsi, il est nécessaire que les marqueurs microsatellites du descendant soit compatible avec ceux des parents testés pour attester de la parenté : pour chaque locus, un allèle du descendant doit être présent chez la mère, l'autre allèle doit être présent chez le père.

Si l'incompatibilité entre les parents et le descendant concerne plus de deux marqueurs génétiques, la parenté est exclue. Remarquons cependant, qu'une incompatibilité d'un à deux marqueurs peut être due à un événement rare de mutation, ne permettant pas d'exclure la parenté. (Source : Antagene)

iv. Test pour le dépistage et le diagnostic

Les tests génétiques permettent de déterminer le statut génétique d'un animal pour une maladie donnée, ou pour un caractère d'intérêt.

Nous prendrons l'exemple des tests de couleur et en particulier celui du gène de dilution.

Le test ADN pour la dilution va déterminer si un chat porte :

- 0 copie de la mutation d (D/D) : il est *non dilué* et *non porteur* de la dilution ;
- 1 copie de la mutation d (D/d) : il est *non dilué* et *porteur* de la dilution ;
- 2 copies de la mutation d (d/d) : il est *dilué*.

Les notions de génétique féline, cytogénétique, génétique de la couleur de la robe ainsi que les outils de biologie moléculaire que nous venons de présenter brièvement vont nous permettre d'aborder la question du mosaïcisme et du chimérisme chez le chat.

II. Mosaïcisme

1. Qu'est-ce qu'une mosaïque ?

D'un point de vue génétique, une **mosaïque** est un individu ou un organisme au sein duquel coexistent deux ou plusieurs populations cellulaires dont les génotypes sont différents mais qui proviennent d'un même zygote. La chimère se différencie de la mosaïque par son origine polyzygotique.

Afin d'éviter les confusions dans l'emploi du terme mosaïcisme, nous distinguerons les définitions suivantes.

Dans le cas d'un **mosaïcisme génétique**, la mosaïque résulte d'une différence dans la structure ou dans le nombre des chromosomes (mosaïcisme chromosomique), dans la séquence d'ADN nucléaire ou encore dans l'information mitochondriale, entre deux ou plusieurs populations cellulaires d'un même individu. Ce phénomène peut être somatique ou germinale selon les types cellulaires atteints.

On parlera de **mosaïcisme épigénétique ou fonctionnel** dans le cas d'un mosaïcisme avec altération de l'expression d'un gène sans changement dans la séquence nucléotidique. Le plus souvent, le mosaïcisme épigénétique est un mosaïcisme lié à l'X chez les femelles de Mammifères, mais il peut également être autosomique.

Le terme de **mosaïcisme chromosomique** désigne les anomalies caryotypiques « en mosaïque », c'est-à-dire lorsqu'il existe au moins deux jeux de chromosomes différents chez un même individu (par exemple 38 XX / 39 XXY ou 38 XX / 38 XY). On parlera également de mixoploïdie. Néanmoins, le terme de mosaïcisme chromosomique ne permet pas de qualifier l'origine mono ou polyzygotique de l'individu atteint, en d'autres termes, il ne permet pas de désigner s'il s'agit réellement d'une mosaïque génétique ou bien s'il est question de chimérisme.

Enfin, le mosaïcisme visuel des chats à robes tricolore ou écaille de tortue pourra être désigné par le terme de **mosaïcisme phénotypique**. Cependant, de la même manière, il est impossible de dire sur la seule base phénotypique si un individu présentant un tel mosaïcisme, est une mosaïque ou bien une chimère.

Les disparités dues à un mosaïcisme (génétique ou épigénétique) peuvent par exemple porter sur un gène dont un allèle code une maladie. Ainsi, l'individu sera composé d'une population cellulaire pathologique et d'une autre saine. Le phénotype exprimé rendra compte de cette disparité et selon la répartition des allèles sains et des allèles mutés, on pourra observer des régions anatomiques atteintes et d'autres indemnes de toute maladie. (Boeckler *et al.*, 2006)

2. Le mosaïcisme génétique

a. Mosaïcisme somatique ou germinale ?

Le terme de **mosaïcisme somatique** désigne un mosaïcisme des cellules somatiques, c'est-à-dire qu'il existe au moins deux populations de cellules somatiques dont les génotypes sont différents chez un même individu.

Le **mosaïcisme germinale** est une forme particulière de mosaïcisme où certaines cellules germinales possèdent un génotype différent des autres.

Si l'évènement menant au mosaïcisme se produit au cours du développement embryonnaire, les lignées cellulaires somatiques et germinales peuvent toutes deux être

affectées. Dans ce cas, les populations cellulaires somatiques et germinales seront touchées par le mosaïcisme et l'individu pourra transmettre ses deux génotypes.

À l'inverse, si l'évènement déclencheur survient plus tard au cours de la vie de l'individu, le mosaïcisme pourra n'affecter que la lignée germinale ou la lignée somatique. Dans le cas où le mosaïcisme apparaît uniquement dans les populations cellulaires somatiques, les effets sur le phénotype dépendent du nombre de cellules touchées et de leur extension dans l'organisme ; il n'existe dans ce cas aucune possibilité de transmission du second génotype à la descendance. Si le mosaïcisme se produit au contraire dans les seules lignées cellulaires germinales, il n'y a alors pas d'effet sur le phénotype de l'individu, mais ses descendants peuvent en être touchés en héritant du second génotype. (Chial, 2008)

Toutefois, il est important de noter que les descendants d'un individu mosaïque (somatique comme germinale), à moins de subir à leur tour un évènement déclencheur, ne sont pas des individus mosaïques.

b. Mécanismes d'apparition et conséquences d'un mosaïcisme génétique

i. Le mosaïcisme somatique

1. Les mécanismes d'apparition d'un mosaïcisme somatique

Plusieurs mécanismes peuvent conduire à un mosaïcisme somatique, comme les mutations somatiques ponctuelles (y compris les réversions spontanées de certaines mutations héritées) ou encore les altérations de nombre ou de structure des chromosomes. (Chial, 2008)

▪ Mosaïcisme chromosomique

Le mosaïcisme chromosomique est connu depuis longtemps, grâce à la possibilité de réaliser des caryotypes chez des individus présentant un phénotype anormal comme dans le cas du syndrome de Turner en mosaïque (voir I.1.b.ii). Rappelons cependant que la seule découverte d'une anomalie caryotypique « en mosaïque » (donc d'un mosaïcisme chromosomique) ne suffit pas à déterminer si l'individu porteur est une mosaïque génétique ou bien une chimère. Toute **anomalie de répartition des chromosomes** au cours d'une mitose peut être à l'origine d'un mosaïcisme chromosomique, comme par exemple :

- la non-disjonction de deux chromatides ;
- un retard à l'anaphase.

L'existence, dans certaines familles, chez l'homme, de chromosomes plus enclins à ce type d'erreur, pourrait prédisposer les individus à développer un mosaïcisme somatique (Hall, 1988).

De plus, tous les **remaniements chromosomiques** (duplications, insertions, translocations, etc.) peuvent également conduire à un mosaïcisme chromosomique.

▪ Mosaïcisme d'un seul gène

La mutation somatique ponctuelle d'un gène (par délétion, substitution ou autre), lorsqu'elle est transmise par division mitotique à une nouvelle lignée cellulaire, donne naissance au mosaïcisme d'un seul gène chez un individu. Ce dernier est alors constitué de deux populations cellulaires : une population de cellules normales possédant l'allèle originel et une lignée cellulaire portant l'allèle muté.

2. Les conséquences fonctionnelles d'un mosaïcisme somatique

Suite à une mitose anormale, c'est la viabilité de la lignée cellulaire fille qui détermine la pérennité du mosaïcisme dans un organisme.

Les **effets d'un mosaïcisme somatique** sur un individu ainsi que son impact pathogénique, dépendent de plusieurs facteurs :

- le type de mutation impliquée (chromosomique ou ponctuelle),
- le type du ou des gène(s) touché(s) (structurels, régulateurs, etc.),
- le locus (ou les loci) impliqué(s),
- le fait que la mutation conduit ou non à une hétérozygotie ou à une homozygotie pour l'allèle mutant ou sauvage,
 - le(s) type(s) cellulaire(s) impliqué(s) (et les tissus et organes liés),
 - le stade de développement auquel survient l'évènement déclencheur,
 - le destin des lignées cellulaires touchées (migration, sélection...).

Ainsi, les effets d'une mutation somatique sur un individu en cours de croissance et de développement seront très probablement plus importants et plus étendus que sur un individu ayant atteint un stade terminal de différenciation cellulaire. (Hall, 1988)

Il est cependant probable que tout individu soit en réalité une mosaïque pour quelques gènes mutés dans un petit nombre de cellules de l'organisme. (Read et Donnai, 2008)

▪ **Mutations pathogènes**

• *Cancérologie*

Du fait de l'altération génétique d'une ou de quelques cellules, un mosaïcisme somatique pourrait influencer la survenue de certaines maladies, telles que des cancers (Frank, 2010) et notamment les cancers hématologiques (Laurie *et al.*, 2012). Frank (2010) a estimé qu'un mosaïcisme intervenant tôt dans le développement et touchant donc un grand nombre de cellules pourrait rendre les individus touchés plus à risque de développer des cancers ou des neuro-dégénérescences avec l'âge.

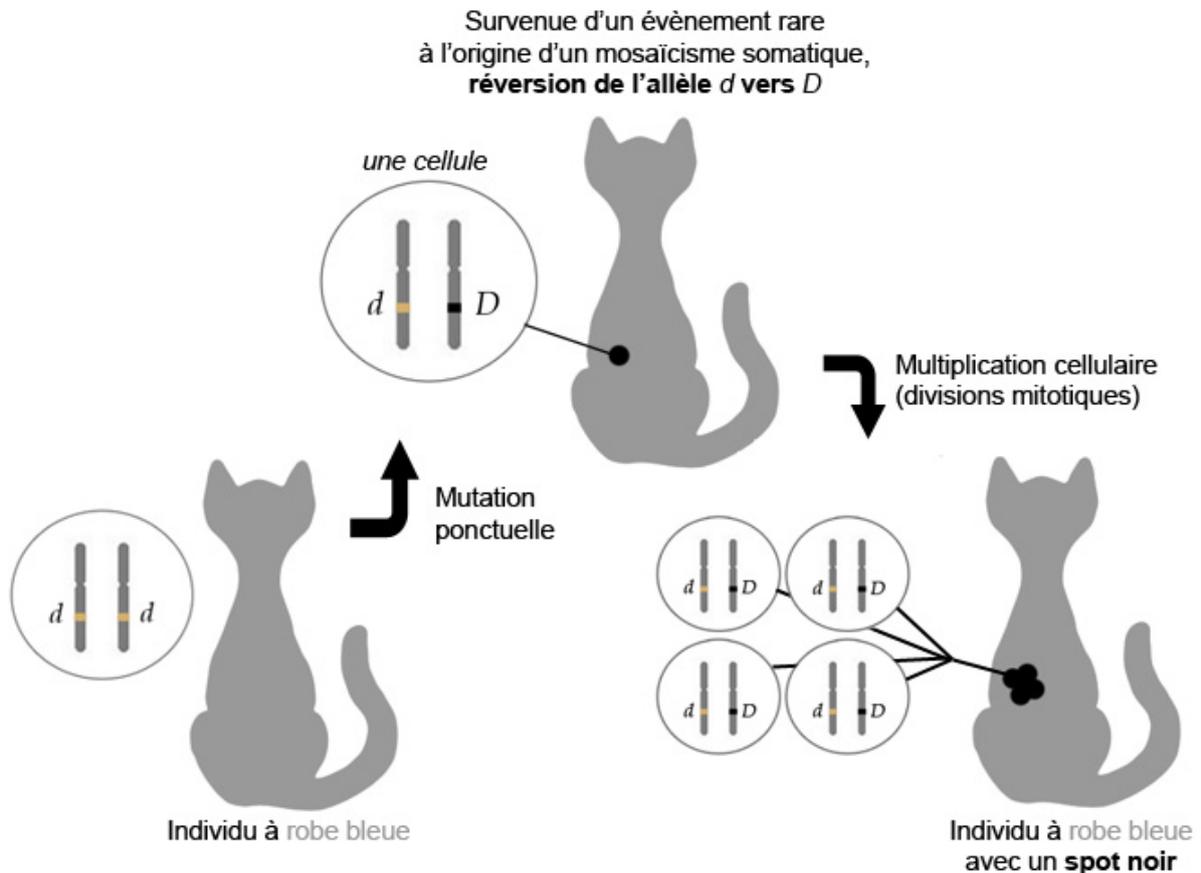
• *Dermatologie*

De nombreux cas d'hypomélanose de Ito chez l'homme ont montré une fréquence importante de mosaïcisme chromosomique, notamment des trisomies en mosaïques (Ponti *et al.*, 2014).

▪ **Exemple des mutations « reverses »**

Pour illustrer les conséquences d'une mutation ponctuelle, on pourra prendre l'exemple du gène de dilution (*MLPH*) chez le chat et d'une réversion de l'allèle *d* vers l'allèle *D* (Figure 13). Le mosaïcisme somatique induit par la mutation est dans ce cas à l'origine d'un mosaïcisme phénotypique.

Figure 13 : Exemple d'une mutation somatique phénotypiquement remarquable, la réversion ponctuelle de l'allèle *d* vers l'allèle *D* chez le chat (Dessin personnel)



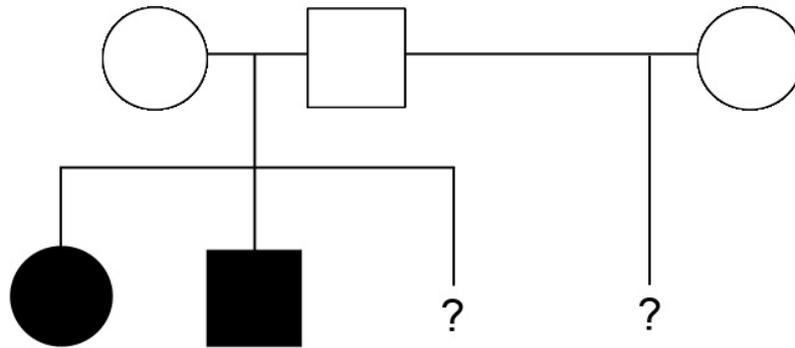
La réversion somatique de l'allèle *d* vers l'allèle *D* est à l'origine d'un mosaïcisme somatique. Le rôle du gène *MLPH* sur la couleur de la robe fait également de cet individu une mosaïque phénotypique.

ii. Le mosaïcisme germinale

Les causes d'un mosaïcisme germinale sont identiques à celles d'un mosaïcisme somatique (via des mutations ou des erreurs de mitose apparaissant pendant le développement des gonades), néanmoins les conséquences sont bien différentes.

Le mosaïcisme germinale est en réalité une source d'erreur et d'incertitude dans l'interprétation d'arbres généalogiques et pour le conseil génétique chez l'homme. La découverte d'une maladie chez les descendants de deux individus cliniquement sains peut faire penser à l'existence d'une maladie récessive, néanmoins la possibilité d'un mosaïcisme germinale chez l'un des deux parents ne doit pas être écartée (Read et Donnai, 2008). Dans de tels cas, le risque de récurrence peut s'avérer difficile à évaluer (comme le montre la Figure 14), d'autant plus que la proportion de cellules portant la mutation dans les gonades demeure inconnue. De plus, considérer d'emblée l'affection comme récessive pourrait conduire à de graves erreurs, notamment dans le conseil aux descendants pour leurs propres descendances (risque de transmission très faible pour une affection récessive rare, contre un risque de 50 % pour une affection dominante). (Read et Donnai, 2008)

Figure 14 : Le dilemme lié au mosaïcisme germlinal en conseil génétique chez l'homme (d'après Read et Donnai, 2008)



Risque	si récessif (les parents sont porteurs sains)	25%	faible
	si dominant (l'un des parents est une mosaïque germinale)	élevé	- élevé si le père est une mosaïque germinale - très faible sinon

Rappel : Le rond indique une femelle, le carré un mâle.

Le noir désigne un individu cliniquement atteint, le blanc un individu cliniquement sain.

Un couple d'individus cliniquement sains sans antécédents familiaux donne naissance à deux individus atteints : s'agit-il d'une affection récessive portée par les deux parents ou d'une affection dominante liée à un mosaïcisme germlinal de l'un des parents ?

Dans le cas d'une mutation dominante liée à un mosaïcisme germlinal chez l'un des parents, le risque de transmission, bien que dépendant de l'étendue du mosaïcisme dans les gonades du parent atteint, peut s'avérer élevé.

Certains auteurs (Campbell *et al.*, 2014) ont considéré qu'un mosaïcisme germlinal pourrait permettre d'expliquer chez l'homme la récurrence inattendue de certaines maladies dans diverses familles, notamment pour des maladies à transmission récessive liées à l'X. C'est ainsi que certains parents atteints d'un mosaïcisme somatique (parfois très limité) pourraient lorsqu'ils sont également atteints d'un mosaïcisme germlinal, transmettre une mutation délétère à une large proportion de leurs descendants.

3. Le mosaïcisme épigénétique (ou fonctionnel)

Dans cette partie, nous aborderons le mosaïcisme épigénétique physiologique des femelles de Mammifères et les mécanismes le régissant.

a. Définitions

L'**épigénétique** correspond à l'ensemble des mécanismes moléculaires qui répondent à cette question de Thomas Morgan « Si les caractères de l'individu sont déterminés par les gènes, pourquoi toutes les cellules d'un organisme ne sont-elles pas identiques ? » ; en d'autres termes, il s'agit des phénomènes modifiant l'expression des gènes sans modification de la séquence nucléotidique (méthylation de l'ADN, modification des histones par exemple). Notons que des modifications épigénétiques peuvent être induites par des facteurs environnementaux, par exemple par exposition à un agent mutagène, suite à un traumatisme, ou encore du fait de changements de température. (Chial, 2008)

Dans le cas des femelles de Mammifères, un état inactivé de l'un des deux chromosomes X dans chaque cellule via des mécanismes épigénétiques, conduit à produire un **mosaïcisme fonctionnel** naturel et physiologique.

On parle d'**empreinte génétique** lorsque pour un gène donné (dit soumis à empreinte), les activités des deux allèles possédés par un même individu sont différentes (selon que l'allèle est porté par le chromosome d'origine maternelle ou le chromosome d'origine paternelle). Le phénomène d'empreinte génétique est contrôlé via des mécanismes épigénétiques.

b. Le mosaïcisme épigénétique lié à l'X chez les Mammifères

i. Le principe de l'inactivation du chromosome X

Dans le système de détermination du sexe des Mammifères (où les femelles possèdent deux chromosomes X et les mâles un X et un Y), le chromosome X est typiquement plus grand et porte de nombreux gènes, tandis que le chromosome Y est petit et le peu de gènes qu'il porte déterminent principalement la spermatogenèse. Ainsi, les femelles semblent posséder en double quantité les produits des gènes liés à l'X par rapport aux mâles. Cependant, il existe chez les Mammifères un mécanisme compensatoire de cette disparité : le **phénomène d'inactivation du chromosome X** ou phénomène de lyonisation (d'après M. Lyon qui a décrit pour la première fois le phénomène en 1961).

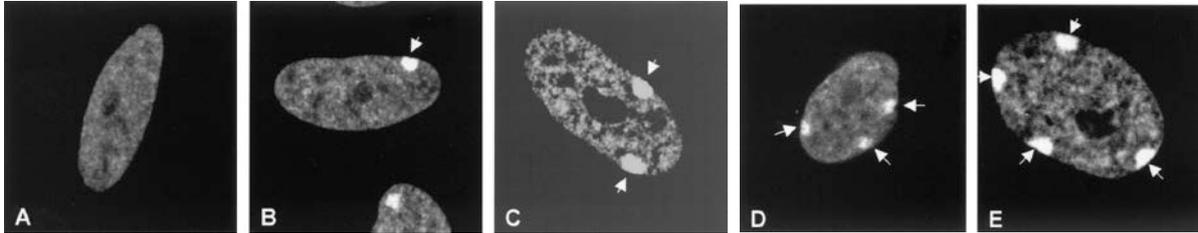
Bien que les mécanismes soient différents pour chaque groupe d'espèces, il est intéressant de noter que la compensation en dosage génique existe également chez d'autres espèces non Mammifères (*Drosophila melanogaster* ou *Caenorhabditis elegans*). (Deng *et al.*, 2011)

1. Le corpuscule de Barr

En 1949, M. Barr découvrit au sein du noyau cellulaire, un amas de chromatine spécifique aux femelles de Mammifères, généralement localisé en bordure de la membrane nucléaire. Par la suite nommé corpuscule de Barr (ou encore corps chromatinien de Barr ou chromatine sexuelle), cet amas microscopiquement visible correspond en réalité au chromosome X inactivé de la cellule (sous forme d'hétérochromatine). (Chow et Heard, 2009)

Le nombre de corpuscules de Barr visibles dans le noyau cellulaire correspond au nombre de chromosomes X moins un (Figure 15).

**Figure 15 : Détection des corpuscules de Barr par immunofluorescence
(Hong *et al.*, 2001)**



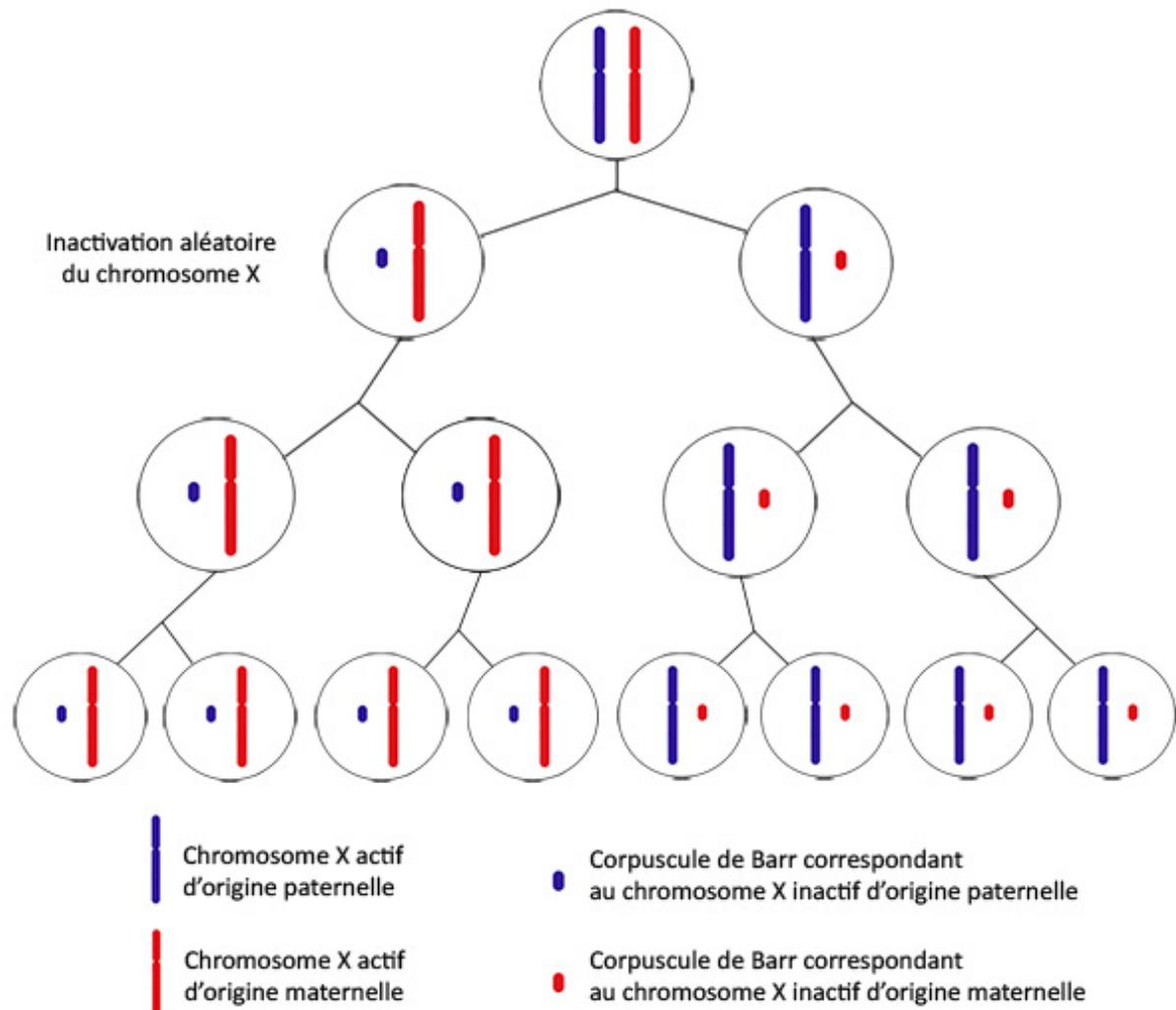
Les flèches indiquent les corpuscules de Barr détectés par immunofluorescence au sein des noyaux de fibroblastes humains diploïdes qui se différencient par leur nombre de chromosome X ; respectivement 1, 2, 3, 4 et 5 chromosomes X pour les noyaux cellulaires des photos A, B, C, D et E (visualisation réalisée en microscopie électronique).

2. Les hypothèses de Lyon

C'est en 1961 que Mary Lyon, du *Medical Research Council* d'Oxford, émit pour la première fois l'hypothèse de l'inactivation du chromosome X. Selon ses hypothèses, chez toutes les femelles de Mammifères, l'un des deux chromosomes X devient génétiquement inactif de façon précoce au cours du développement et se condense pour former le corpuscule de Barr. Les chromosomes X provenant du père ou de la mère de l'individu sont inactivés aléatoirement dans chaque cellule de l'embryon. Une fois cette répartition définie, c'est le même chromosome X qui reste inactivé dans chaque lignée cellulaire fille au cours de la vie de l'individu (Figure 16). Ainsi, chez la femelle adulte, il existe de larges groupes cellulaires (chacun étant issu d'une cellule ayant subi l'inactivation aléatoire initiale du chromosome X) qui ont a fortiori le même X inactivé (Lyon, 1999). Les hypothèses de M. Lyon furent depuis confirmées par de nombreuses découvertes concernant la mécanistique de ce phénomène.

En d'autres termes, les individus possédant deux chromosomes X sont constitués de deux populations cellulaires différentes, une comportant un X inactif d'origine paternelle et une autre comportant un X inactif d'origine maternelle. Notons que, à l'exception des marsupiaux (voir II.3.b.i.4), la proportion entre ces deux populations varie entre chaque individu y compris entre jumeaux monozygotes, du fait du caractère aléatoire de cette inactivation. (Boeckler *et al.*, 2006)

Figure 16 : L'inactivation du chromosome X et la transmission aux lignées cellulaires filles
(Dessin personnel)



Au cours du développement, l'un des deux chromosomes X est inactivé de façon précoce en donnant naissance au corpuscule de Barr. Cette inactivation est alors transmise à la descendance de la cellule. Le choix de l'inactivation du chromosome X paternel (en bleu) ou maternel (en rouge) est aléatoire (excepté chez les marsupiaux, voir II.3.b.i.4).

3. Le mosaïcisme lié à l'inactivation du chromosome X

Du phénomène d'inactivation de l'X découle un mosaïcisme épigénétique naturel chez les femelles de Mammifères lorsque celles-ci sont hétérozygotes pour un gène lié à l'X. De ce fait, si le gène en question a un effet phénotypique visible, alors l'individu aura une apparence bigarrée.

C'est le cas des chattes écaillé de tortue ou des chattes tricolores qui sont des mosaïques fonctionnelles aisément reconnaissables : ces femelles hétérozygotes X_o/X_o pour le locus *Orange*, ont à la fois des territoires cellulaires roux où le X portant l'allèle *o* est inactivé et des territoires cellulaires noirs où c'est le X portant l'allèle *O* qui est inactivé (voir II.3.c.i.).

De façon plus générale, le mosaïcisme concerne toutes les hétérozygoties liées à l'X.

4. L'empreinte génétique dans l'inactivation du chromosome X

Bien qu'en règle générale, l'inactivation du chromosome X affecte aléatoirement le X d'origine maternelle ou paternelle, il existe certains types d'inactivations où le X d'origine paternelle est inactivé dans l'ensemble des cellules. C'est le cas chez les marsupiaux et dans certaines cellules embryonnaires de Mammifères ; ce phénomène est un cas particulier d'empreinte génétique, que l'on nomme empreinte parentale d'inactivation du chromosome X.

Ainsi, l'inactivation du chromosome X est :

- *non-aléatoire* dans les tissus somatiques des marsupiaux ;
- *non-aléatoire* dans les tissus extra-embryonnaires de la souris ;
- *aléatoire* dans les tissus somatiques des femelles de Mammifères (sauf marsupiaux) et dans les tissus extra-embryonnaires de l'homme ou du lapin (Augui *et al.*, 2011).

5. L'inactivation du chromosome X au cours du développement

Chez la souris, l'inactivation du chromosome X apparaît dans un premier temps au stade blastocyte (dans les premiers jours du développement) et touche alors le chromosome X paternel dans l'ensemble des cellules extra-embryonnaires. Ce n'est qu'à environ six jours de développement embryonnaire, au stade de l'œuf cylindre, que se produit l'inactivation aléatoire des chromosomes X paternel et maternel dans l'embryon lui-même. Néanmoins, en 2011, Augui *et al.* ont montré que les observations préalablement faites chez la souris ne pouvaient pas être étendues aux autres espèces de Mammifères, notamment dans le cas du lapin et de l'homme.

Chez l'individu adulte, l'état inactivé du chromosome X s'avère particulièrement stable et la réactivation n'a lieu que dans les cellules germinales femelles à l'approche de la méiose. Enfin, chez le mâle, l'unique chromosome X est inactivé en phase précoce de la spermatogenèse (Lyon, 1999) puis réactivé dans ses dernières étapes (Khalil *et al.*, 2004).

ii. Le mécanisme d'inactivation du chromosome X chez les Mammifères

Le mécanisme d'inactivation du chromosome X des Mammifères fait actuellement l'objet de nombreuses études et recherches (Olivier-Van Stichelen et Hanover, 2014 ; Merzouk *et al.*, 2014 ; Smeets *et al.*, 2014 ; Minkovsky *et al.*, 2014) d'autant plus que ce processus représente le seul exemple connu d'extinction génique à l'échelle de presque tout un chromosome. De ce fait, les applications envisagées vont au-delà de la simple compréhension du mosaïcisme épigénétique, avec des visées médicales notamment en cancérologie.

1. Les propriétés du chromosome X inactivé

L'ADN du chromosome X inactif est répliqué tardivement durant la phase S de la mitose, tandis qu'en interphase, il adopte un état condensé à l'origine de l'observation du corpuscule de Barr dans le noyau.

Chez les rares individus possédant un nombre anormal de chromosome X (par exemple XO, XXX ou encore XXY ; voir I.1.b.ii), un seul chromosome X reste actif, quel qu'en soit le nombre total.

Néanmoins, il est intéressant de constater que chez des individus triploïdes pour l'ensemble des chromosomes, un ou deux chromosomes X sur les trois chromosomes sexuels demeurent actifs ; et que chez des individus tétraploïdes, deux chromosomes X restent actifs. Cette

observation laisse à penser qu'il existe un mécanisme de **comptage**, assurant qu'un chromosome X soit actif pour chaque ensemble de 2n chromosomes (Lyon, 1999). Ce phénomène de comptage semble indispensable à la bonne régulation du processus, puisqu'il permet entre autres choses d'éviter que le seul chromosome X des mâles devienne inactif.

2. Le centre d'inactivation de l'X (*Xic*)

Au cours des premiers stades du développement embryonnaire, l'inactivation du chromosome X est initiée par un signal primaire, lui-même issu d'un centre unique situé sur le chromosome X : le centre d'inactivation de l'X ou *X inactivation center* (*Xic*). Il a en effet été observé que des chromosomes X réarrangés auxquels manque la région *Xic* restent actifs. (Lyon, 1999)

3. Le gène *Xist* (*X inactive specific transcript*)

Le centre d'inactivation de l'X contient un locus agissant en *cis* sur le chromosome X ; le gène correspondant à ce locus, nommé *Xist* (*X inactive specific transcript*) s'avère être le bouton de commande déclenchant le processus d'inactivation. En effet, par invalidation du gène *Xist* (via la technique de *knockout* chez la souris), il a pu être démontré le **rôle essentiel de la transcription** de ce gène dans l'initiation de l'inactivation. En outre, l'insertion de transgènes *Xist* dans des autosomes a permis de prouver que ce gène est à lui seul **suffisant pour déclencher l'inactivation**.

L'invalidation du gène *Xist* chez la souris a également permis de comprendre que la région 5' du gène est indispensable à l'initiation de l'inactivation, tandis que la région 3' **intervient dans le comptage et dans le choix du chromosome X restant actif** (rappelons que le comptage est à l'origine de la sélection du chromosome X actif ; si le comptage est défectueux pour un chromosome X, alors ce dernier restera toujours inactivé).

Enfin, les souris *knockout Xist* ont aussi permis de montrer le rôle du gène *Xist* autant **dans l'inactivation aléatoire que dans l'inactivation avec empreinte génétique**. Il semble cependant que le gène *Xist* ne soit pas impliqué dans l'inactivation du chromosome X ayant lieu au cours de la spermatogenèse.

En résumé, il apparaît que le gène *Xist* dans son fonctionnement normal est indispensable à l'inactivation, au comptage correct et au choix du chromosome X qui restera actif (Lyon, 1999).

Remarquons ici que le gène *Xist* n'existe pas chez les marsupiaux (Duret *et al.*, 2006).

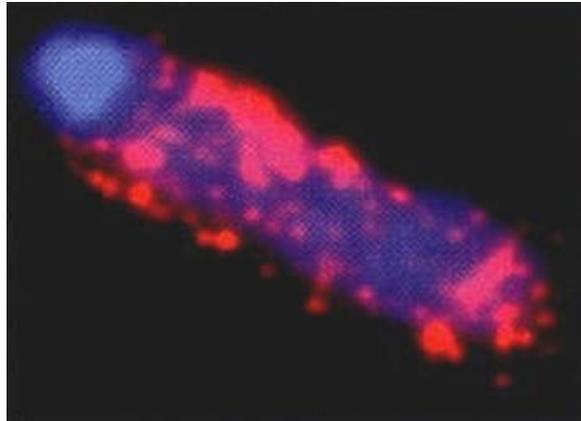
4. L'initiation de l'inactivation du chromosome X

Xist est un gène très particulier puisqu'il n'est transcrit qu'à partir du chromosome X inactif. De plus, *Xist* est un exemple de gène dont l'ARN n'est pas traduit en protéine. En effet, le large ARN messager (15-17kb) qu'il produit est retenu dans le noyau et vient recouvrir le X inactif (Figure 17). Le transcrit non-codant *Xist* s'accumule alors sur le chromosome X d'où il est transcrit, puis l'inactive en *cis* : ce phénomène démarre le mécanisme d'inactivation. Une fois établie, l'inactivation est stable et le X inactivé est dupliqué au fil des divisions cellulaires.

L'expression de *Xist* précède l'inactivation, qu'elle soit sujette à empreinte génétique ou aléatoire. Ainsi, dans les cellules souches embryonnaires indifférenciées, alors que les deux chromosomes X sont encore actifs, l'expression de *Xist* est observée sous la forme d'un point d'ARN sur chaque chromosome et la quantité totale d'ARN *Xist* est faible. Au moment de la différenciation qui aboutit à l'inactivation du chromosome X, l'ARN *Xist* s'étend sur le futur chromosome inactivé pour le recouvrir ; le taux d'ARN *Xist* s'élève alors. Un point

d'ARN sur le chromosome actif reste visible pendant une courte période, puis l'expression de *Xist* disparaît pour ce chromosome. (Lyon, 1999)

**Figure 17 : Chromosome X recouvert par l'ARN *Xist* chez la souris
(Gilbert, 2000)**



L'ARN *Xist* (en fluorescence rouge) recouvre un chromosome X métaphasique (en fluorescence bleue), ainsi inactivé.

5. Le maintien de l'état inactivé

Le maintien de l'inactivation du chromosome X se fait via des modifications de la chromatine telle que des méthylations de l'ADN ou des méthylations des histones. Les méthylations de l'ADN sont des modifications couramment retrouvées pour des gènes « éteints » (sans transcription), qu'ils soient situés sur le chromosome X ou sur un autosome. Les histones du chromosome X inactivé présentent également ce genre de modifications, qui les différencient de celles du X actif.

L'état inactivé du chromosome X est conservé dans les lignées cellulaires filles grâce à ces modifications qui sont transmises au cours des mitoses successives. La haute stabilité des méthylations permet le maintien de l'état inactivé au cours de la vie de l'individu.

(Lyon, 1999 ; Chow et Heard, 2009)

6. Des gènes liés à l'X échappant à l'inactivation

Certains gènes portés par le chromosome X échappent à l'inactivation. En effet, certains de ces gènes ont leur homologue sur le chromosome Y (on dit qu'ils appartiennent à la région pseudo-autosomique du chromosome sexuel) et ne nécessitent donc pas de compensation en dosage génique. (Berletch *et al.*, 2011).

Carrel et Willard (2005) ont estimé à 15 % la proportion de gènes liés à l'X qui échapperaient à l'inactivation de façon systématique chez l'homme ; tandis que cette même proportion a été estimée à seulement 3 % chez la souris (Yang *et al.*, 2010). Peu d'informations existent cependant dans les autres espèces.

Chez l'homme, une variabilité d'échappement pour environ 10 % des gènes liés à l'X a été observée selon les tissus ou les individus (Carrel et Willard, 2005). Des études sur la souris ont également montré que l'inactivation de certains gènes peut évoluer au cours du développement (Yang *et al.*, 2010) ou avec l'âge (Wareham *et al.*, 1987).

Ainsi, alors que certains gènes du chromosome X sont durablement inactivés, d'autres catégories de gènes pourraient voir leur inactivation varier. Certains auteurs ont suggéré le rôle de ces variations dans les différences phénotypiques observées entre les femmes.

L'échappement des gènes liés à l'X pourrait jouer un rôle important dans certaines maladies, par exemple dans le cas du syndrome de Turner (la monosomie X conduisant à une sous-expression de certains gènes sujet à l'échappement) ou des trisomies XXX (du fait d'une surexpression de certains gènes malgré l'inactivation des chromosomes X surnuméraires). (Berletch *et al.*, 2011)

4. Aspect fonctionnel du mosaïcisme sur les couleurs de la robe du chat domestique

Dans cette partie, nous discuterons du mosaïcisme dans l'espèce féline, qui a pour particularité d'être phénotypiquement remarquable chez certains individus, du fait de la présence d'une mutation phaéomélanique liée à l'X chez le chat : la couleur rousse.

Nombre de personnes sont à même d'affirmer que tout chat tricolore est nécessairement femelle. Pourtant, un chat écaillé ou tricolore sur 3000 s'avère être un mâle (prévalence calculée à partir d'une population de 17 000 individus) (d'après une communication personnelle de TC Jones ; Centerwall et Benirschke, 1973). Ainsi, de rares cas d'individus mâles écaillé ou tricolores sont régulièrement observés, la plupart sont stériles, mais d'autres, encore plus exceptionnels, s'avèrent fertiles.

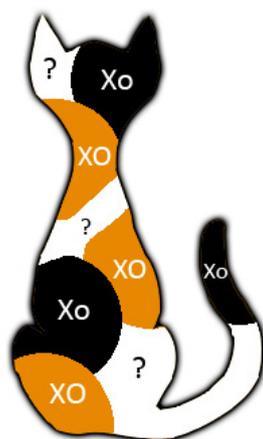
a. Les robes écaillé de tortue et tricolores, individus normaux

Comme nous l'avons vu dans la partie I.3.b.ii, il existe deux types de robes chez des chattes normales (possédant donc deux chromosomes X) et hétérozygotes X_O/X_o pour le locus *Orange* :

- **écaillé de tortue**, en l'absence de la couleur blanche. Les tâches rousses et eumélaniques sont alors de petites tailles et imbriquées entre elles ;
- **tricolores**, lorsque la robe comporte du blanc. Les tâches sont alors plus grandes et bien délimitées.

Chez un individu femelle normal, le phénotype écaillé de tortue ou tricolore résulte du mosaïcisme épigénétique naturel par inactivation du chromosome X. Ainsi, chaque tâche de couleur représente une population cellulaire issue de l'une des cellules embryonnaires où s'est déroulée la première inactivation du chromosome X (Figure 18).

Figure 18 : Schéma de l'expression du locus de la couleur orange chez une chatte tricolore (Dessin personnel)



XO (ou X_O) désigne le chromosome X portant l'allèle *O* (roux), Xo (ou X_o) désigne le chromosome X portant l'allèle *o* (noir). Les plages cellulaires **orange** expriment l'allèle X_O qui est à l'origine de la couleur rousse ; dans ces cellules, le chromosome X_o est inactivé. À l'inverse, les territoires en **noir** expriment l'allèle X_o , tandis que le chromosome X_O y est inactivé. Enfin, le **blanc** étant épistatique sur le roux et le noir, il n'est pas possible de déterminer lequel des deux chromosomes X est inactivé dans ces cellules.

Un individu mâle normal ne possède qu'un unique chromosome X, hérité de sa mère. Toutes ses cellules expriment donc le même allèle du locus *Orange*, puisqu'il n'existe pas chez lui de mosaïcisme épigénétique lié à l'X. En conséquence, les individus mâles normaux ne peuvent pas être écaille de tortue ou tricolore.

En considérant toujours des individus normaux (outre les nuances de couleur et les différents patrons des robes et en excluant la survenue d'éventuelles mutations), on peut déduire des croisements suivants (également présentées dans le Tableau 2) que :

- quelle que soit la couleur du père (X_O/Y ou X_o/Y) :
 - le fils d'une chatte rousse homozygote X_O/X_O porte l'allèle X_O , il est donc roux,
 - le fils d'une chatte eumélanique homozygote X_o/X_o porte l'allèle X_o , il est donc eumélanique,
 - le fils d'une chatte écaille ou tricolore, hétérozygote X_O/X_o porte soit l'allèle X_O , soit l'allèle X_o , il est donc soit roux, soit eumélanique selon l'allèle transmis par la mère.

- Si le père porte l'allèle X_O (couleur de base rousse) :
 - la fille d'une chatte rousse homozygote X_O/X_O porte les allèles X_O/X_O , elle est donc rousse,
 - la fille d'une chatte eumélanique homozygote X_o/X_o porte les allèles X_O/X_o , elle est donc écaille de tortue ou tricolore,
 - la fille d'une chatte écaille ou tricolore hétérozygote X_O/X_o porte soit les allèles X_O/X_O , soit les allèles X_O/X_o , elle est donc soit rousse, soit écaille ou tricolore selon l'allèle transmis par la mère.

- Si le père porte l'allèle X_o (couleur de base eumélanique) :
 - la fille d'une chatte eumélanique homozygote X_o/X_o porte les allèles X_o/X_o , elle est donc eumélanique,
 - la fille d'une chatte rousse homozygote X_O/X_O porte les allèles X_O/X_o , elle est donc écaille de tortue ou tricolore,
 - la fille d'une chatte écaille ou tricolore hétérozygote X_O/X_o porte soit les allèles X_O/X_o , soit les allèles X_o/X_o , elle est donc soit écaille ou tricolore, soit eumélanique selon l'allèle transmis par la mère.

Tableau 2 : Descendances théoriquement attendues pour des individus divergents pour le locus Orange chez le chat

Père ♂	X_o/Y 			X_o/Y 		
	X_o/X_o 	X_o/X_o 	X_o/X_o 	X_o/X_o 	X_o/X_o 	X_o/X_o 
Fils ♂	X_o/Y 	X_o/Y 	X_o/Y ou X_o/Y  	X_o/Y 	X_o/Y 	X_o/Y ou X_o/Y  
	X_o/X_o 	X_o/X_o 	X_o/X_o ou X_o/X_o  	X_o/X_o 	X_o/X_o 	X_o/X_o ou X_o/X_o  

b. Cas des individus mâles mosaïques stériles

Bien que la grande majorité des individus écailles ou tricolores soient des femelles, de rares individus s'avèrent être des mâles (Figure 19), le plus grand nombre d'entre eux étant stériles.

**Figure 19 : Phénotypes de chats mâles tricolores ou écaïlle de tortue
(Centerwall et Benirschke, 1973)**



- (a) Chat mâle tricolore à poils longs de deux ans, 39 XXY, sexuellement actif mais stérile, présentant des testicules de taille réduite (deux tiers de la normale) ; cet individu mourut deux mois après la prise du cliché des complications d'une cystite et d'obstruction lithiasique.
- (b) Chat mâle écaïlle de 15 mois, 38 XX / 57 XXY, sexuellement actif mais présentant des testicules de taille inférieure à la moyenne et une absence de spermatogénèse.
- (c) Chat mâle tricolore de deux ans et demi, 38 XX / 38 XY, présentant une activité sexuelle ainsi qu'un comportement de marquage en jet, les tentatives de reproduction furent cependant infructueuses ; ses testicules étaient de taille limite inférieure et moins fermes que la normale.
- (d) Chat mâle tricolore 38 XX / 38 XY au pelage largement panaché de blanc avec de petites zones de poils orange et noirs ; il engendra cinq portées ; une observation microscopique d'un éjaculat montra un sperme motile.
- (e) Chat mâle écaïlle 38 XY / 57 XXY décédé d'une pneumonie (photographie prise après la mort de l'individu) et n'ayant pas atteint la maturité sexuelle ; un grand nombre de cellules germinales d'aspect normal a pu être observé dans les testicules immatures suite à l'autopsie.
- (f) Chat mâle écaïlle et blanc de 5 ans, champion d'exposition féline, de caryotype 38 XY et fertile (taille des testicules et performances reproductrices normales) ; il ne produisit aucun fils tricolore.

Quelles hypothèses peut-on envisager pour expliquer le phénotype mosaïque et la stérilité de ces mâles ?

En 1984, Moran *et al.* se sont intéressés à un ensemble de 38 chats mâles écailles ou tricolores rapportés jusque-là dans la littérature scientifique. Les différents caryotypes de ces chats et leurs occurrences sont présentés dans le Tableau 3.

Tableau 3 : Caryotypes de 38 chats mâles écaïlle de tortue rapportés par la littérature scientifique jusqu'en 1984 (d'après Moran *et al.*, 1984)

Caryotype	Nombre de cas	%
39 XXY	11	29
38 XX / 38 XY	7	18
38 XY	6	16
38 XY / 39 XXY	5	13
38 XY / 39 XYY	1	3
38 XX / 57 XXY	4	10
38 XY / 57 XXY	2	5
38 XY / 39 XXY / 40 XXYY	1	3
38 XX / 38 XY / 39 XXY / 40 XXYY	1	3
Total	38	100

Parmi ces mâles, 32 individus avaient une anomalie caryotypique notable (un mosaïcisme chromosomique (XX / XY) ou une aneuploïdie des chromosomes sexuels, associée ou non à un mosaïcisme chromosomique ; par exemple XXY ou XX / XXY). En outre, sur 29 de ces mâles écailles ou tricolores présentant une anomalie caryotypique, 24 se sont avérés stériles (soit 83 %), pour seulement 5 animaux fertiles.

La stérilité chez les mâles de phénotype mosaïque semble donc être très fréquemment associée à des anomalies du caryotype.

Notons que 57 XXY correspond à une triploïdie chez le chat.

i. Anomalie de type syndrome de Klinefelter (XXY) et syndrome de Klinefelter en mosaïque

Dans une étude similaire de 1973, Centerwall et Benirschke ont étudié un groupe de 25 chats mâles écailles ou tricolores. Les caryotypes de 14 individus (87,5 %) parmi un ensemble de 16 mâles matures et stériles, présentaient au moins un caryotype XXY (Annexe), c'est-à-dire un syndrome de Klinefelter (Figure 20) ou un syndrome de Klinefelter en mosaïque. Ces affections semblent donc être très fréquentes chez les chats mâles écailles ou tricolores atteints de stérilité.

Figure 20 : Phénotype et caryotype d'un chat mâle écaïlle atteint d'un syndrome de Klinefelter (d'après Moran *et al.*, 1984)



Noter la couleur écaïlle de tortue du chat et la présence de trois chromosomes sexuels XXY sur le caryotype.

Cependant, ces anomalies permettent-elles d'expliquer le mosaïcisme phénotypique et la stérilité des mâles écaïlles ou tricolores ?

Pour des individus atteints du syndrome de Klinefelter uniquement (XXY), la présence de deux chromosomes X conduit à un mécanisme d'inactivation selon le principe de lyonisation (partie II.3.b.ii.1) comme chez les femelles : **les mâles 39 XXY et hétérozygotes X_oX_oY , sont donc nécessairement écaïlles ou tricolores.**

Enfin, pour ce qui est des animaux atteints d'un syndrome de Klinefelter en mosaïque, le phénotype résulte à la fois d'un mosaïcisme épigénétique via l'inactivation du chromosome X dans les cellules XXY, et d'un mosaïcisme chromosomique.

Notons également que la stérilité des individus présentant un mosaïcisme chromosomique (par exemple un syndrome de Klinefelter en mosaïque XY / XXY) dépend de la répartition cellulaire des différents caryotypes.

Par exemple, pour un mâle 38 XY / 39 XXY : si les cellules des organes sexuels sont de caryotype 39 XXY, l'individu sera stérile ; à l'inverse, si les organes reproducteurs sont composés uniquement de cellules 38 XY, l'individu ne présentera vraisemblablement pas de problème de fertilité. Mais la fertilité dépendra également de la conformation de l'appareil génital dans son intégralité.

ii. Mosaïcisme chromosomique XX / XY

A l'instar du syndrome de Klinefelter en mosaïque, la robe écaïlle s'explique dans le cas de l'anomalie XX / XY à la fois par le phénomène d'inactivation dans les cellules XX et à la fois par le mosaïcisme chromosomique XX / XY. Et de la même façon, la stérilité dépend de la répartition des cellules XX et XY dans les organes reproducteurs.

En 1973, Centerwall et Benirschke ont décrit le cas d'un individu mâle mosaïque stérile avec un caryotype 38 XX / 38 XY (individu (c) de la Figure 19).

Il est cependant impossible, sur la base de l'analyse caryotypique, de déterminer si un individu présentant un mosaïcisme chromosomique XX / XY est une *mosaïque* ou bien une *chimère*.

iii. Approche clinique : la stérilité chez les individus mosaïques

En conséquence, un praticien vétérinaire devrait **envisager la réalisation d'une analyse caryotypique chez tout chat mâle écaillé ou tricolore destiné à la reproduction**. Toutefois, il faut considérer que **l'infertilité d'un mâle à robe écaillé ou tricolore ne s'accompagne pas nécessairement d'une anomalie caryotypique**.

Nous venons de voir comment des anomalies caryotypiques permettent d'expliquer les robes écaillées et tricolores chez des individus mâles stériles, mais pourrait-on envisager l'existence de mâles écaillés stériles sans anomalie de caryotype ? Les hypothèses pour expliquer l'existence de tels individus sont les suivantes :

- soit il s'agit d'individus mosaïques (38 XY / 39 XXY par exemple) ou chimères (38 XX / 38 XY) pour lesquels les cellules récoltées pour l'établissement du caryotype ne comportaient pas d'anomalie chromosomique ; mais ces individus présentent un appareil génital non exclusivement composées de cellules XY (expliquant la stérilité).

Pour illustrer une potentielle **erreur d'analyse caryotypique**, on pourra par exemple citer l'un des cas décrits par Ramberg *et al.* (1969) : un individu mâle dont le caryotype avait été détecté normal (38 XY) et qui s'avéra être 38 XX / 38 XY après un nouvel examen (d'après une communication personnelle de HC Thuline, 1973 ; Centerwall et Benirschke, 1973). Ce chat (individu 12 de l'Annexe) était toutefois fertile.

- Soit il s'agit d'individus mosaïques ou chimères (38 X_oY / 38 X_oY) avec une **autre cause de stérilité** sans rapport avec le phénotype écaillé.

Il est également intéressant de constater que **tous les chats écaillés atteints d'une anomalie caryotypique ne sont pas nécessairement stériles**, la stérilité dépendant en effet de la présence ou non au sein des organes reproducteurs de cellules porteuses de l'anomalie et de la conformation globale de l'appareil reproducteur (voir paragraphe suivant).

c. Cas des individus mâles mosaïques fertiles

Quelles hypothèses peut-on envisager pour expliquer le phénotype mosaïque chez des chats mâles fertiles ?

i. Cas des individus fertiles avec une anomalie caryotypique

Comme évoqué dans la partie ci-dessus, tous les individus écaillés ou tricolores avec une anomalie caryotypique ne sont pas nécessairement stériles. La stérilité dépend alors de la proportion et de la répartition des cellules comportant l'anomalie.

C'est le cas d'un individu décrit en 1971 par Gregson et Ishmael, mâle fertile malgré un caryotype 38 XX / 57 XXY (individu 18 de l'Annexe).

D'autres cas de chats mâles écaillés fertiles avec une anomalie caryotypique (38 XX / 38 XY) ont également été décrits (l'individu 9 et l'individu 23 de l'Annexe, respectivement par Malouf *et al.* en 1967 et par Centerwall et Benirschke en 1973).

Il pouvait cependant s'agir dans ce cas de *mosaïques* comme de *chimères*.

ii. Les mosaïques somatiques

Un mosaïcisme somatique (et non germinale ou total) permettrait également d'expliquer le phénotype écaillé chez un mâle fertile. Dans ce cas les cellules somatiques pourraient être des mosaïques chromosomiques mais les cellules germinales ne le seraient pas.

Enfin, une autre possibilité pour expliquer le phénotype écaillé sur un chat mâle fertile est le mosaïcisme d'un seul gène. En effet, un individu mâle écaillé fertile avec ou sans anomalie caryotypique peut également être issu de la mutation spontanée de l'allèle *o* vers l'allèle *O* au locus *Orange*, ou bien de la réversion de l'allèle *O* vers l'allèle *o*.

Si la mutation intervient tôt dans le développement, la proportion entre les plages cellulaires eumélaniques et les plages rousses tendra à l'équilibre. À l'inverse, si la mutation survient tardivement, on pourra ne retrouver que quelques petites plages du phénotype muté, voire même un unique spot si la mutation est très tardive.

C'est cette hypothèse de mosaïque somatique par mutation ponctuelle que l'on conservera par la suite pour expliquer notamment le cas du chat Lenora Lia Joseph (voir II.4.d ; Centerwall et Benirschke, 1973).

iii. Cas des individus chimères

Une dernière hypothèse envisageable pour expliquer un phénotype mosaïque chez un chat mâle et fertile est celle d'un chimérisme (ce phénomène sera développé dans la partie III). Cette hypothèse pourra être envisagée chez un mâle, que son caryotype soit normal (38 XY), ou bien qu'il comporte une anomalie 38 XX / 38 XY.

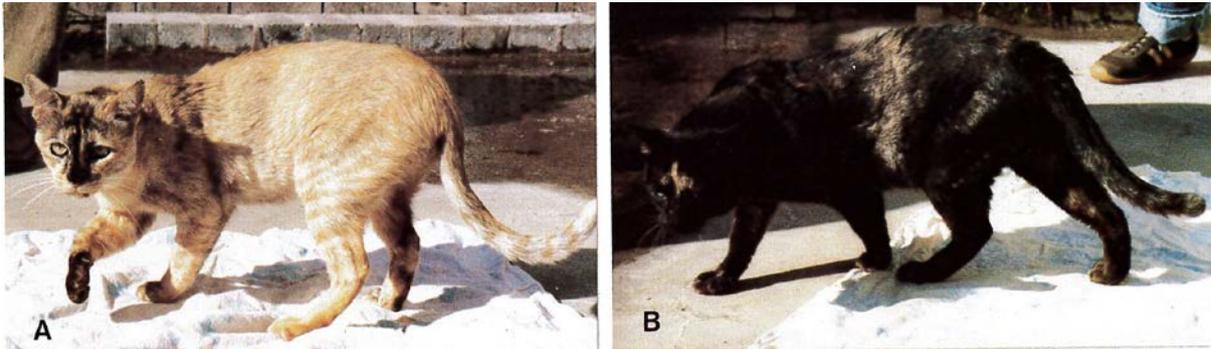
d. Les études d'ascendance et de descendance dans le diagnostic du mosaïcisme ou du chimérisme

Peut-on déduire du phénotype mosaïque de certains individus s'ils sont des mosaïques ou des chimères ? L'étude des ascendances et des descendance de ces individus peut-elle nous y aider ?

En 1984, Moran *et al.* ont étudié les cas de deux chats mâles écaillés et fertiles : Briama Fantastik (BF) et Lenora Lia Josef (LLJ) (Figure 21). L'analyse des caryotypes de ces deux chats, réalisée à partir de cellules mitotiques et de cellules méiotiques, ne montra pas d'anomalie chromosomique (Figure 22). BF et LLJ étaient tous deux 38 XY.

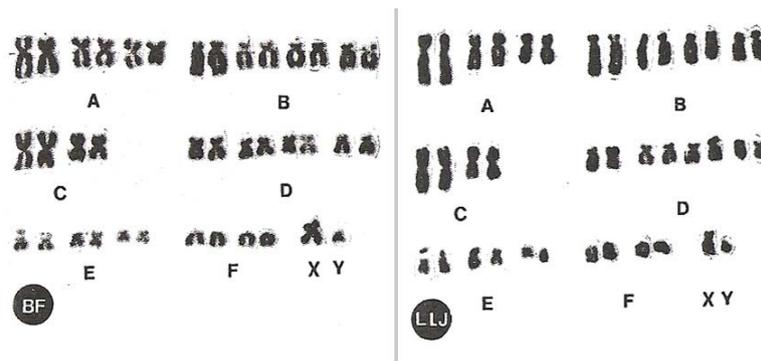
Remarquons que l'individu tricolore fertile présenté par la Figure 19 (f) possédait de même un caryotype normal 38 XY.

Figure 21 : Phénotypes de deux chats mâles écailles (d'après Moran *et al.*, 1984)



Les phénotypes de BF (A) et LLJ (B), deux chats Burmese mâles écailles et fertiles présentant un caryotype 38 XY : la couleur rousse est prédominante à environ 75 % dans la robe de BF, la robe de LLJ est marron (chocolat) à environ 95 % avec quelques traces de roux sur la tête et le flanc.

Figure 22 : Caryotypes de deux chats mâles écailles (d'après Moran *et al.*, 1984)



Les caryotypes de Briama Fantastik (BF) à gauche et Lenora Lia Josef (LLJ) à droite, deux chats mâles écailles et fertiles, ne présentaient pas d'anomalie, les deux individus étaient 38 XY.

Pour expliquer l'existence de tels individus, les auteurs ont établi la liste d'hypothèses suivante :

- la duplication en tandem du locus *Orange*

Cette hypothèse pouvait d'emblée être écartée puisqu'une inactivation aléatoire de l'un ou l'autre des locus orange sur le seul chromosome X d'un mâle 38 XY semblait difficile à envisager.

- la duplication du locus *Orange* sur un autosome ou sur le chromosome Y (suite à une translocation)

Ces hypothèses pouvaient également être écartées puisqu'il n'existe pas d'inactivation aléatoire du chromosome X chez un individu 38 XY, ni d'inactivation d'un autosome, pouvant expliquer le mosaïcisme phénotypique.

- une **réversion somatique** ou une **instabilité génétique**

Selon les auteurs, dans le cas de cette hypothèse, le ratio entre les deux couleurs de pelage pouvait s'avérer très inégal, dépendant de la date d'apparition de l'évènement dans la vie de l'individu. De plus, si la réversion survenait tardivement, on pouvait s'attendre à une

forte distorsion dans la transmission à la descendance. Si l'évènement ne touchait pas les cellules germinales, alors toutes les filles héritaient de leur père le même allèle au locus *Orange* ; si par contre la réversion était à la fois somatique et germinale, la proportion de filles héritant de l'un ou l'autre des allèles dépendait de la répartition de la mutation dans les cellules germinales.

▪ un **chimérisme**

Pour satisfaire à cette hypothèse, il était nécessaire que la mère de l'individu soit elle-même tricolore, c'est-à-dire qu'elle puisse transmettre à la fois X_o et X_o . De plus, puisque l'apparition d'un chimérisme (complet) est généralement attendue dès les premiers stades embryonnaires, un ratio équilibré entre les deux couleurs (chocolat et roux) dans le pelage de l'individu semblait plus probable pour cette hypothèse.

Lenora Lia Joseph (LLJ)

Dans le cas de LLJ, l'hypothèse d'un chimérisme a pu être exclue par **l'étude des génotypes parentaux**. En effet, la mère de LLJ étant de couleur chocolat (eumélanique), elle était nécessairement X_o/X_o et les embryons mâles produits étaient donc X_o/Y (Tableau 4).

La possibilité d'un chimérisme $38 X_oY / 38 X_oY$ par fusion embryonnaire était ainsi exclue, LLJ était donc très probablement une **mosaïque** par mutation somatique.

Tableau 4 : Descendances attendues pour les parents de Lenora Lia Joseph (LLJ)
(d'après Moran *et al.*, 1984)

		Père ♂ <i>Burmese Crème</i> X_o/Y	
		X_o	Y
Mère ♀ <i>Burmese Chocolat</i> X_o/X_o	X_o	X_o/X_o	X_o/Y

Remarquons également, en observant le Tableau 5, que LLJ a transmis un chromosome X_o de façon certaine à l'une de ses 16 filles (**en gras**), contre au moins 8 fois le chromosome X_o (*en italique*).

Ainsi peut-on supposer que LLJ était également atteint d'un *mosaïcisme germinal* pour une assez faible proportion de cellules.

Tableau 5 : Descendances de Lenora Lia Joseph (LLJ)
(d'après Moran *et al.*, 1984)

	Filles ♀			Fils ♂	
	Rousse X_o/X_o	Écaille X_o/X_o	Chocolat X_o/X_o	Roux X_o	Chocolat X_o
LLJ x X_o/X_o	0	2	0	6	0
LLJ x X_o/X_o	1	7	2	7	5
LLJ x X_o/X_o	0	0	4	0	22

La répartition très inégale de chocolat et de roux dans la robe de LLJ (environ 95 % de marron, Figure 21) permettait également de conforter l'hypothèse d'une *mutation somatique* survenue de façon relativement tardive.

Pour résumer, LLJ était donc probablement une *mosaïque issue de la réversion tardive de X_o vers X_O concernant des cellules des lignées somatiques et germinales*, avec cependant une minorité de cellules X_OY .

Il n'est cependant pas possible d'écarter des hypothèse plus complexes telles que la fusion d'un spermatozoïde X_O/Y avec un ovocyte X_o conduisant à un embryon X_OX_oY ayant éliminé de façon aléatoire un chromosome X, soit le X_O soit le X_o . LLJ serait donc une mosaïque, sans réversion d'allèle. Cette hypothèse reste séduisante, compte tenu de la couleur crème de LLJ.

Briama Fantastic (BF)

Contrairement au cas de LLJ, l'étude des descendance attendues pour les parents de BF (Tableau 6) ne permettait pas d'exclure l'une ou l'autre des hypothèses de mosaïcisme et de chimérisme. En effet, la mère de BF étant écaille de tortue, elle pouvait transmettre X_o comme X_O . Les embryons mâles résultants pouvaient donc être X_o/Y comme X_O/Y . Un *chimérisme* (par agrégation d'embryons X_o/Y et X_O/Y) comme un *mosaïcisme* (via une mutation au locus *Orange*) étaient donc envisageables.

**Tableau 6 : Descendances attendues pour les parents de Briama Fantastic (BF)
(d'après Moran *et al.*, 1984)**

		Père ♂ <i>Burmese Chocolat</i> X_oY	
		X_o	Y
Mère ♀ <i>Burmese Chocolat</i> <i>Écaille</i> X_oX_O	X_o	X_o/X_o	X_o/Y
	X_O	X_O/X_o	X_O/Y

L'importante descendance de BF a permis de fournir des informations supplémentaires (Tableau 7) : sur ses 59 filles, BF a transmis de façon certaine X_O à 37 d'entre elles (*en italique*) ; tandis qu'au moins deux filles ont hérité de lui un chromosome X_o (**en gras**).

Tableau 7 : Descendances de Briama Fantastic (BF)
(d'après Moran *et al.*, 1984)

	Filles ♀			Fils ♂	
	Rousse X_O/X_O	Écaille X_O/X_o	Chocolat X_o/X_o	Roux X_O	Chocolat X_o
BF x X_O/X_O	6	0	0	4	0
BF x X_O/X_o	16	20	0	25	11
BF x X_o/X_o	0	15	2	0	10

Remarquons enfin la proportion élevée de roux dans le pelage de BF (environ 75 %). De ces données, on peut envisager qu'un chimérisme, bien que possible, était peut-être moins probable chez BF qu'un mosaïcisme. BF pouvait par exemple être une mosaïque issue de la réversion plutôt tardive de X_O vers X_o avec toutefois une minorité de cellules X_o/Y . Cependant, ni l'étude des phénotypes parentaux, ni l'étude de la descendance de BF n'ont permis de conclure de manière certaine à un mosaïcisme ou à un chimérisme.

Dans cette dernière partie, nous avons formulé les hypothèses possibles quant aux causes des divers mosaïcismes phénotypiques rapportés chez le chat dans la littérature scientifique. Mais comment confirmer ces hypothèses ? Comment s'assurer avec certitude qu'un individu est une mosaïque ou une chimère ?

C'est ce que nous tenterons d'appréhender dans la partie expérimentale de ce travail. Mais nous essayerons avant cela de comprendre ce qu'est réellement une chimère.

III. Chimérisme

1. Qu'est-ce qu'une chimère ?

Une **chimère** est un individu ou un organisme unique au sein duquel coexistent deux ou plusieurs populations cellulaires dont les génotypes sont différents et qui proviennent de deux ou plusieurs zygotes.

Le terme de chimère a été introduit pour la première fois dans le domaine scientifique par Anderson *et al.* (1951) à propos des jumeaux dizygotes chez les bovins.

Une chimère se différencie d'une mosaïque par le fait qu'elle n'est pas issue d'un seul et même zygote.

Néanmoins, un individu chimère pourra, par exemple, présenter un mosaïcisme phénotypique ou un mosaïcisme chromosomique (XX/XY).

Il existe plusieurs formes de chimères naturelles : les *chimères complètes*, les *chimères fœto-maternelles*, les *chimères de la lignée sanguine* lors de certaines gestations gémellaires ou encore les *chimères germinales*.

Nous verrons aussi que des chimères expérimentales ont pu être produites, notamment chez la souris, et que diverses formes de chimérisme iatrogène sont régulièrement induites dans le domaine médical.

2. Les chimères naturelles

a. Les chimères complètes

Les **chimères complètes** (*whole body chimeras*) sont des individus pour lesquelles le chimérisme touche l'ensemble de l'organisme.

Un chimérisme complet pourra apparaître lors de la fusion de deux embryons à un stade très précoce de leurs développements, donnant à terme un individu tétra-parental (tétragamétique).

Bien qu'une dispermie (fécondation de l'ovocyte par deux spermatozoïdes) aboutisse de façon formelle à un zygote unique et donc potentiellement à une mosaïque, on notera que quelques auteurs (Hong *et al.*, 2003) évoquent ce phénomène pour expliquer l'existence de certaines chimères complètes. Remarquons également que la fécondation de l'ovocyte et du second globule polaire correspondant est parfois nommée dispermie, mais il s'agit dans ce cas de deux zygotes et l'individu résultant est alors appelé chimère.

Quelques cas de chimères complètes naturelles ont été décrits, notamment chez l'homme et le chien.

i. Chez le chien

En 2012, Dreger et Schmutz ont diagnostiqué un chimérisme complet chez une chienne Labrador Retriever, par analyse génétique de la couleur de la robe. Le phénotype atypique de Tiger, chienne Labrador chimère, est présenté dans la Figure 23.

Figure 23 : Le phénotype atypique de Tiger, chienne Labrador Retriever chimère (Dreger et Schmutz, 2012)



Tiger, chienne Labrador chimère à la naissance (a), à 6 mois (b) et avec le reste de la portée (c).

La portée de Tiger se constituait également de neuf chiots au pelage uni : trois chiots noirs, deux chiots bleus, un chiot chocolat et trois de couleur sable (deux seulement sur la Figure 23). Les questions de l'éleveur portaient sur les causes de ce phénotype atypique, et sur les possibilités reproductrices de Tiger.

L'ADN de Tiger fut récolté par écouvillon buccal et par prélèvement de poils (avec leurs racines) dans les zones pigmentées noires et sable. Après l'extraction des ADN, des tests diagnostiques furent réalisés pour des allèles de couleur de la robe chez le chien :

- l'allèle *e* du gène *MC1R* (chromosome 5), qui donne à l'état homozygote *e/e* la couleur sable ;

▪ les allèles a^y et a^t du gène *Agouti Signal Protein (ASIP)* (chromosome 24), bien qu'un effet épistatique de l'allèle K^B du gène *Canine Beta Defensin 103 (CBD103)* dans la race Labrador Retriever en masque les conséquences phénotypiques.

Les résultats obtenus par les auteurs sont présentés dans le Tableau 8 : les génotypes du frottis buccal et des poils sables étaient identiques, néanmoins celui des poils noirs différait des autres **pour les deux loci concernés** (*MC1R* sur le chromosome 5 et *ASIP* sur le chromosome 24).

De plus, à dix mois, bien que n'ayant pas encore eu ses premières chaleurs, Tiger présentait un appareil génital normalement développé. Aucun complément Y ne fut détecté suite à l'analyse des trois échantillons d'ADN.

Tableau 8 : Résultats des tests génotypiques de Tiger, chienne Labrador Retriever chimère (Dreger et Schmutz, 2012)

Échantillon	Génotype <i>MC1R</i>	Génotype <i>ASIP</i>	Complément Y
Frottis buccal	e/e	a^t/a^t	XX
Poils de couleur sable	e/e	a^t/a^t	XX
Poils de couleur noire	E/e	a^w/a^t	XX

De ces analyses, Dreger et Schmutz (2012) ont conclu que Tiger était probablement une chimère issue de la fusion de deux zygotes XX, et non pas seulement une mosaïque issue d'une mutation ponctuelle (comme cela aurait pu être le cas si une réversion de l'allèle e vers l'allèle E s'était produite à un stade très précoce du développement embryonnaire de Tiger).

Remarquons cependant que l'éventuelle hypothèse d'une dispermie (avec un ou deux géniteurs mâles) n'a pas été exclue.

ii. Chez l'homme

Plusieurs cas humains de chimérisme complet ont été décrits dans la littérature scientifique. Ces découvertes sont la plupart du temps fortuites, suite à la réalisation d'analyses et de tests médicaux sans rapport avec le chimérisme, notamment car les individus atteints sont fertiles et possèdent un phénotype normal. Nous ne présenterons ici que deux exemples chez l'homme.

En 2002, Yu *et al.* ont rapporté le cas d'un chimérisme tétragamétique 46 XX / 46 XX chez une femme de 52 ans qui ne présentait pas de signe de chimérisme sanguin. Cette femme était par ailleurs fertile et possédait un phénotype complètement normal. Des tests d'histocompatibilité avec sa famille proche (réalisés en vue d'une transplantation rénale) avaient dans un premier temps laissé entendre qu'elle ne pouvait pas être la mère biologique de ses enfants du fait d'une non concordance des haplotypes du système HLA (*Antigènes des Leucocytes Humains*). L'analyse des marqueurs microsatellites qui a été conduite par les auteurs sur divers tissus de cette patiente a montré qu'elle possédait en réalité plus de deux allèles pour plusieurs des loci testés (répartis sur 14 des 17 chromosomes évalués). Elle était donc bien une chimère, à la fois somatique et germinale.

En 2003, Hong *et al.* ont diagnostiqué un chimérisme complet chez un homme âgé de 25 ans. L'analyse des marqueurs STR réalisée par les auteurs a pu montrer que l'individu possédait trois allèles différents pour une dizaine de loci distincts. De plus, un caryotype 46 XX / 46 XY en mosaïque fut retrouvé à raison de 60 % de cellules XY et 40 % de cellules XX. Les auteurs ont considérés à l'origine de ce chimérisme une probable dispermie, avec fécondation de l'ovocyte et du second globule polaire correspondant (du fait de la présence d'un troisième allèle attribuable au père pour tous les marqueurs STR).

b. Le micro-chimérisme et les chimères fœto-maternelles

Le terme de **micro-chimérisme** désigne un chimérisme pour lequel la population de cellules génétiquement différentes compte pour moins de 5 % de l'individu, ou de façon plus spécifique, pour moins de 5 % des cellules nucléés de certains organes ou même du sang. Le micro-chimérisme est en réalité défini par la quantité (le chimérisme est-il détectable par des analyses de laboratoire ?) et par la durée de vie des cellules étrangères chez l'individu (la persistance va-t-elle durer plus de 3 à 6 mois après la mise-bas ou après la transfusion ?). On pourra ainsi définir des chimérismes de courte ou de longue durée. (Bloch *et al.*, 2013)

Une forme particulière de micro-chimérisme couramment rencontrée est le **chimérisme fœto-maternel**. Ce chimérisme est dû à des transferts bidirectionnels de cellules entre la mère et le fœtus. Chez la femme, ces échanges ont lieu depuis les 4 à 5 premières semaines de la grossesse jusqu'à la naissance.

On pourra distinguer le micro-chimérisme fœtal (présence de cellules du fœtus chez la mère) du micro-chimérisme maternel (présence de cellules de la mère chez le fœtus).

La persistance à long-terme du chimérisme fœto-maternel a été observée chez certaines femmes multipares, et a été retrouvée dans certaines circonstances quelques décennies après l'accouchement. (Bloch *et al.*, 2013)

c. Les chimères de la lignée sanguine et le free-martinisme

Un **chimérisme de la lignée sanguine** est défini par la coexistence dans le compartiment lympho-hématopoïétique de cellules issues de deux origines génétiques différentes (ou plus). Un chimérisme de la lignée sanguine peut survenir de manière spontanée ou artificielle (suite à une transfusion de sang, le chimérisme est alors temporaire ; ou suite à une transplantation de moelle osseuse ou encore de cellules souches allogènes, le chimérisme peut alors devenir stable dans le temps).

Le chimérisme fœto-maternel, en plus d'être une forme de micro-chimérisme pourra également être défini en tant que chimérisme de la lignée sanguine.

Nous verrons que dans certaines espèces, les gestations gémellaires peuvent également aboutir à un chimérisme de la lignée sanguine.

Le **free-martinisme** représente la forme d'intersexualité la plus fréquemment rencontrée chez les bovins. Dans de rares cas, ce phénomène peut également être observé chez les ovins ou les caprins et est encore plus rarement retrouvé dans les autres espèces. Un free-martinisme apparaît lorsque des connexions vasculaires se forment entre le placenta et des fœti jumeaux de sexes différents : un chimérisme XX / XY se développe alors, provoquant à terme la masculinisation de l'appareil reproducteur femelle à des degrés variables. (Padula, 2005)

i. Chez les ruminants

Chez les bovins, des anastomes vasculaires se forment dans 92 % des cas de grossesses gémellaires. Elles apparaissent autour de 30 à 35 jours de gestation, permettant ainsi aux deux fœti de partager le même sang jusqu'à la mise-bas. Après leur naissance, les jumeaux conservent un chimérisme de la lignée sanguine de façon durable, laissant supposer que des cellules souches hématopoïétiques sont échangées et s'implantent avec succès chez le fœtus receveur. (Niku *et al.*, 2007)

Ainsi, chez les bovins, la plupart des génisses XX possédant un jumeau mâle XY présentent des troubles de la reproduction (free-martinisme), du fait des hormones sécrétées par le co-jumeau (et non pas à cause de l'échange cellulaire). Elles développent des ovaires non fonctionnels et un appareil génital intersexué. Quelques free-martins développent parfois des

gonades hautement masculinisées avec des structures voisines des tubes séminifères en dépit de l'absence de SRY (Sex-determining Region of Y chromosome). (Harikae *et al.*, 2012)

Le free-martinisme représenterait un peu moins de 5 % des cas d'infertilité chez la chèvre. Cette anomalie serait en effet moins fréquente chez les caprins car les anastomoses vasculaires placentaires y sont plus rares. (Szatkowska *et al.*, 2004)

Enfin chez les ovins, l'incidence du free-martinisme a été estimée à environ 1 % chez les jumeaux issus de gestations gémellaires hétérosexuées (Jubb *et al.*, 1985).

ii. Chez le cheval

En 2012, Juras *et al.* ont rapporté deux cas de chimérisme équin sur des jumeaux dizygotes mâle et femelle de race Curly et sans impact sur le phénotype. Les caryotypes établis par l'analyse des lymphocytes sanguins étaient 64 XX / 64 XY pour les deux individus, cependant 81 % des cellules de la femelle étaient de caryotype 64 XX, pour 79 % de cellules 64 XY chez le mâle. Le génotypage de 30 marqueurs microsatellites a permis aux auteurs de confirmer le chimérisme sanguin : 15 des marqueurs ont montré la présence de 3 à 4 des allèles parentaux chez chacun des deux jumeaux. De plus, aucun chimérisme n'a été retrouvé dans les follicules pileux prélevés. Il s'agissait donc très probablement d'un chimérisme de la lignée sanguine lié à une gestation gémellaire dizygotique (avec anastomoses vasculaires).

iii. Chez l'homme

Comme l'ont rapporté Loriaux *et al.* (2011) en présentant un cas de grossesse monochoriale dizygote spontanée, il semblerait que le chimérisme de la lignée sanguine puisse exister dans de rares cas dans l'espèce humaine. Néanmoins, les auteurs ont souligné que la survenue de telles grossesses semble également être favorisée par les techniques de procréation médicalement assistée et notamment, par la fécondation *in vitro*.

d. Les chimères des cellules germinales

Un chimérisme somatique peut parfois s'étendre aux cellules germinales, notamment dans le cas de chimères complètes. Remarquons que la proportion de cellules germinales touchées par le chimérisme peut être très variable.

Ainsi, dans le cas de chimérisme humain rapporté par Yu *et al.* (2002) (voir III.2.a.ii.), l'incompatibilité génétique entre la mère et ses enfants était en réalité due au chimérisme germinale de la mère : sa descendance était issue d'ovocytes génétiquement différents des cellules sanguines qui lui avaient été initialement prélevées.

De plus, en 2007, Ross *et al.* ont montré l'existence d'un chimérisme somatique et germinale naturel chez le Ouistiti du Bahia (*Callithrix kuhlii*). Un génotypage moléculaire a ainsi révélé un chimérisme du sperme et des analyses généalogiques ont permis de montrer que le Ouistiti du Bahia peut transmettre les allèles du reste de sa propre portée à la descendance (allèles acquis *in utero* par anastomoses placentaires entre les jumeaux), de telle sorte que, dans cette espèce, l'individu fournissant les gamètes n'est pas forcément le parent génétique de la progéniture mise au monde.

3. Les chimères expérimentales et iatrogènes

Initiée au début du XX^{ème} siècle avec des embryons d'oursins ou de poulet, c'est dans les années 60 que la fabrication de chimères expérimentales a permis d'envisager de nouvelles possibilités dans l'étude du développement des Mammifères (Hottois, 2001).

Dans la années 80, des chimères interspécifiques ont également pu être réalisées, notamment des chimères mouton-chèvre (Figure 24 ; Fehilly *et al.*, 1984).

Expérimentalement, deux techniques peuvent être distinguées : la production de chimères par injection et celle par agrégation (Hottois, 2001).

Notons au passage que ce type de modification génétique n'est pas considéré comme étant à l'origine d'Organismes Génétiquement Modifiés (OGM) d'après la définition officielle donnée par le Ministère de l'Agriculture, de l'Agroalimentaire et de la Forêt.

Figure 24 : Chimère mouton-chèvre
(Fehilly *et al.*, 1984 ; photo de couverture de *Nature*, vol. 307, n°5952, 1984)



Cette chimère mouton-chèvre expérimentale (âgée d'un an) présente une juxtaposition des pelages du mouton et de la chèvre.

La chimère ne doit pas être confondue avec l'hybride du mouton et de la chèvre : contrairement à l'hybride qui possède deux parents (un mouton et une chèvre) et un seul type cellulaire génétique, la chimère est tétra-parentale.

Le chimérisme a également été très étudié dans le domaine médical humain, puisqu'il semble jouer un rôle majeur dans la tolérance d'un receveur vis-à-vis de greffons et de transplants (Janes *et al.*, 2009 ; Albano *et al.*, 2012 ; Merzoni *et al.*, 2014).

Ajoutons aussi que, bien que théoriquement possible, la création de chimères homme-animal en plus d'être éthiquement très controversée (Cabrera Trujillo et Engel-Glatte, 2014), est formellement interdite par la plupart des instances internationales (Hottois, 2001).

a. Exemple de souris tétra, hexa et octa-parentales

Généralement produites par l'agrégation de deux embryons, certaines chimères rassemblant jusqu'à 16 embryons ont pu être créées, mais le développement embryonnaire post-implantatoire de ces chimères multiples s'est avéré limité (Petters et Markert, 1980).

Néanmoins, en 1980, Petters et Markert sont parvenus à montrer la viabilité et la fertilité de souris chimères adultes induites expérimentalement et possédant jusqu'à 8 parents. Quatre lignées de souris au pelage uniforme furent utilisées par les auteurs pour obtenir les embryons : jaune, blanc, noir et marron. Ces diverses pigmentations jouèrent le rôle de marqueurs génétiques dans l'étude, permettant de visualiser les cellules et les tissus clonalement liés au stade morula.

Des embryons récoltés sur des femelles ayant subi une super-ovulation hormonale ont vu leurs zones pellucides retirées, avant d'être regroupés dans un milieu contenant de la phytohématagglutinine. Après 24 heures dans un milieu spécifique, les embryons ont ensuite été réimplantés chez des femelles prêtes pour la gestation (pseudo-gestantes).

L'apparition d'un mosaïcisme phénotypique au moment de la formation des poils des souriceaux (7 et 10 jours après la naissance) a permis aux auteurs d'évaluer pour chaque individu s'il était ou non une chimère, et de quelle(s) lignée(s) parentale(s) il était issu.

Plusieurs chimères furent ainsi produites, notamment des chimères tétra-parentales (bicolores), mais également :

- une première souris chimère triple (hexa-parentale) jaune, noire et blanche, issue de l'agrégation de 3 embryons, qui s'avéra être une femelle fertile, produisant par la suite 44 descendants (Figure 25) ;

- un mâle hexa-parental (tricolore) qui développa une affection urinaire à la période du sevrage du fait d'importantes malformations génito-urinaires associées à un hermaphrodisme ;

- un second mâle hexa-parental fertile qui produisit pas moins de 67 descendants ;

- et enfin une chimère mâle octa-parentale fertile, issue de l'agrégation de 4 embryons et qui produisit plus de 50 descendants.

Ces résultats mettent en évidence la **viabilité** des individus chimères ainsi que leur *potentielle fertilité*.

**Figure 25 : Une souris chimère hexa-parentale et ses parents
(Petters et Markert, 1980)**



La souris chimère hexa-parentale située à droite de l'image présente un mosaïcisme phénotypique reflétant les couleurs des trois lignées parentales utilisées afin de produire les embryons dont elle est issue : une lignée de souris jaunes, une lignée de souris blanches et une lignée de souris noires.

b. Le chimérisme et l'obtention de souris *knockout* (KO) transgéniques

Les chimères de souris sont régulièrement utilisées dans le domaine expérimental et dans la recherche afin de produire des lignées de souris transgéniques ou *knockout* pour certains gènes.

➤ ***Lignées transgéniques KO***

Une méthode d'obtention de souris homozygotes pour un allèle invalidé est réalisée de la manière suivante : un plasmide, contenant la séquence du gène invalidé, est inséré dans des cellules souches embryonnaires (cellule ES), *in vitro*. On sélectionne ensuite les cellules souches dans lesquelles s'est effectuée une recombinaison homologue entre le plasmide et le locus endogène (le gène normal est alors remplacé par le gène invalidé). On intègre ces cellules ES modifiées dans un jeune embryon de souris (stade blastocyste), qui donne à terme un individu chimère. Ces individus sont fertiles, et une proportion très variable de cellules germinales peut être touchée par le chimérisme. En croisant l'individu chimère avec une souris de type sauvage, on peut éventuellement obtenir des souris hétérozygotes pour la modification génétique (KO). Les individus homozygotes KO sont alors obtenus par le croisement de souris hétérozygotes. (Gossler *et al.*, 1986 ; Gilbert, 2004)

c. Le chimérisme iatrogène

Suite à la **transplantation de cellules souches hématopoïétiques**, le changement de profil génétique du à la co-existence de cellules souches du donneur et du receveur est une forme de chimérisme de la lignée sanguine. (Merzoni *et al.*, 2014) De ces transplantations peuvent découler plusieurs types de chimérisme (Janes *et al.*, 2009) :

- un **chimérisme (hématopoïétique) total**, quand toutes les cellules hématopoïétiques sont dérivées des cellules souches du donneur (par exemple après une myéloablation) ;
- un **chimérisme mixte**, lorsque des cellules de diverses lignées provenant du donneur constituent une partie variable de l'ensemble des cellules hématopoïétiques ;
- un **micro-chimérisme**, lorsque le nombre de cellules provenant du donneur représente moins de 5 % de l'ensemble des cellules hématopoïétiques ; les transfusions de sang classiques donnent généralement lieu à un micro-chimérisme de courte durée (pas plus de 6 jours ; Bloch *et al.*, 2013).

Le chimérisme a également particulièrement été étudié chez l'homme dans le domaine de la **transplantation rénale ou hépatique** afin de comprendre les phénomènes de tolérance et de rejet. Deux types de chimérisme peuvent découler d'une greffe rénale : un chimérisme induit par les transplantations de rein et de moelle osseuse pour créer une tolérance chez le receveur ; et un chimérisme spontané du à la colonisation du greffon rénal par les cellules du receveur et/ou à la persistance de cellules hématopoïétiques du donneur chez le receveur. (Albano *et al.*, 2012)

De plus, comme nous l'avons évoqué plus haut, il semblerait que les **techniques de procréation médicalement assistée** utilisées chez l'homme et la femme soient également un facteur favorisant de l'apparition de nouveaux cas de chimérisme.

Ainsi, une chimère hématopoïétique à été mise en évidence au cours d'une grossesse gémellaire monochorionique par Loriaux *et al.* (2011). Les auteurs ont retenu l'hypothèse d'une fusion zygotique au stade préblastocyste ; les cellules hématopoïétiques des fœti auraient alors pu se mélanger lors de la placentation, induisant un chimérisme confiné aux cellules sanguines (similaire à un cas de transfusion de cellules souches).

Un autre cas de chimérisme chez des jumeaux issus de fécondation *in vitro* a été mis en évidence par Fumoto *et al.* (2014). Notons qu'en plus d'un chimérisme de la lignée sanguine, les auteurs ont mis en évidence un chimérisme des cellules buccales chez l'un des deux jumeaux.

DEUXIÈME PARTIE : ÉTUDE EXPÉRIMENTALE

I. Intérêt de l'étude et présentation des cas

Dans cette étude expérimentale, nous présenterons le cas de quatre chats phénotypiquement remarquables du fait de couleurs de robe atypiques :

- **Harmonie** des Persans de Rose, femelle Persan blanche, **noire et bleue** (et tabby)
- **Haslan** des Ducs de Bretagne, mâle Scottish Straight **crème** avec un **spot bleu**
- **Hermès** de la Cité des Coon's, mâle Maine Coon **écaille de tortue** bleu et crème
- **Idefix**, mâle Maine Coon **écaille de tortue** noir (et silver)

Remarque : dans la suite du document nous utiliserons l'abréviation « écaille » pour « écaille de tortue ».

Après avoir présenté ces individus particuliers, nous envisagerons les hypothèses pouvant expliquer leurs phénotypes, et nous tenterons par la suite d'en déterminer les origines génétiques.

Nous essayerons de démontrer l'intérêt de l'utilisation de tests génétiques afin de déterminer si ces chats sont des mosaïques ou chimères, ou issus de réversions ponctuelles.

1. HARMONIE des Persans de Rose

a. Présentation

Le premier chat que nous présenterons dans notre étude expérimentale est une chatte au patron de coloration très atypique, voire tout à fait unique, il s'agit d'Harmonie des Persans de Rose, Persan noire, bleue et blanche (et tabby).

Rappelons que chez un individu homozygote pour le gène de dilution, la robe classiquement observée est entièrement diluée, quels que soient les pigments de base (eumélaniques ou phaéomélaniques). L'effet du gène de dilution sur un individu dont la couleur de base est le noir est donc de diluer l'ensemble des pigments de la robe en bleu.

La coexistence chez un même individu de noir et de bleu (noir dilué) est donc théoriquement impossible.

Cependant, la présence de plages de pelage noir et de plages de pelage bleu chez Harmonie a pu être observée dès sa naissance et a été conservée par la suite (Figure 26).

Figure 26 : Harmonie des Persans de Rose
(Source : Chatterie des Persans de Rose)



Harmonie à l'âge de un mois (a), à deux mois et demi (b) et à l'âge adulte (c).

b. Ascendances

Le Tableau 9 présente la couleur des parents et des grands parents d'Harmonie. Les génotypes que l'on peut en déduire concernant le gène de dilution (*MLPH*) pour chaque individu sont indiqués entre parenthèses.

Le Tableau 10 présente quant à lui les génotypes attendus pour les descendants des parents d'Harmonie.

Tableau 9 : Pedigree d'Harmonie

<p>Harmonie</p> <p>♀</p> <p>Noire, Bleue et Blanche Tabby</p> <p><i>Génotype MLPH ?</i></p>	<p>Copain - Père ♂</p> <p>Bleu Tabby</p> <p><i>Génotype (d/d)</i></p>	<p>Grand-Père ♂</p> <p>Bleu</p> <p><i>Génotype (d/d)</i></p>
		<p>Grand-Mère ♀</p> <p>Bleue Écaille Tabby</p> <p><i>Génotype (d/d)</i></p>
	<p>Faraone - Mère ♀</p> <p>Noire Écaille et Blanche</p> <p><i>Génotype (D/d)</i></p>	<p>Grand-Père ♂</p> <p>Noir et Blanc</p> <p><i>Génotype (D/-)</i></p>
		<p>Grand-Mère ♀</p> <p>Crème et Blanche</p> <p><i>Génotype (d/d)</i></p>

Le père, le grand-père paternel et les deux grand-mères d'Harmonie ont un phénotype dilué, ils sont donc (*d/d*). Le grand-père maternel est non dilué, il est donc (*D/-*). Faraone, la mère d'Harmonie, est également non diluée, sa propre mère étant (*d/d*), elle est donc nécessairement (*D/d*).

Tableau 10 : Descendances attendues pour les parents d'Harmonie

		<p>Copain - Père ♂</p> <p>Bleu Tabby</p> <p><i>Génotype (d/d)</i></p>
		<i>d</i>
<p>Faraone - Mère ♀</p> <p>Noire Écaille et Blanc</p> <p><i>Génotype (D/d)</i></p>	<i>D</i>	<i>D/d</i>
	<i>d</i>	<i>d/d</i>

Le père d'Harmonie étant dilué (*d/d*), il produit exclusivement des gamètes *d*.
 Sa mère étant hétérozygote (*D/d*), elle produit des gamètes *D* et des gamètes *d*.
 Les embryons résultants sont donc soit hétérozygotes (*D/d*), soit homozygotes (*d/d*).

En croisant les données du Tableau 10 avec les couleurs des frères et de la sœur d'Harmonie, on peut déduire la dernière colonne du tableau suivant (Tableau 11).

Tableau 11 : Les frères et sœurs d'Harmonie

Frères / Sœurs	Couleur de la robe	Génotype
Harry Beau ♂	Crème	<i>d/d</i>
Hermès ♂	Bleu et Blanc	<i>d/d</i>
Hermione ♀	Écaille Bleue Crème	<i>d/d</i>
Harmonie ♀	Noire, Bleue et Blanche	<i>D et d ?</i>

c. Fertilité et descendance

Harmonie s'est révélée fertile, avec 11 chatons mis au monde en deux portées (Figure 27).

La première portée d'Harmonie était constituée de If, Ines, Isy et Ixy (Figure 27) et d'un mâle décédé très rapidement après la naissance. Leur père était Harry Beau, l'un des frères d'Harmonie.

Les couleurs de chaque chaton et les génotypes correspondant au gène de dilution sont rapportés dans le Tableau 12.

**Figure 27 : Chatons d'Harmonie des Persans de Rose
(Source : Chatterie des Persans de Rose)**



Première portée de chatons d'Harmonie peu après leur naissance.

Tableau 12 : Portée de chatons d'Harmonie avec Harry Beau

Chatons	Couleur de la robe	Génotype
Père ♂	Crème	<i>d/d</i>
If ♂	Bleu et Blanc	<i>d/d</i>
Ines ♀	Écaille Bleue Crème	<i>d/d</i>
Isy ♀	Écaille Bleue Crème	<i>d/d</i>
Ixy ♂	Bleu et Blanc	<i>d/d</i>
Mâle décédé	Bleu et Blanc	<i>d/d</i>

Le père de la deuxième portée de chatons d'Harmonie n'avait aucun lien de parenté avec elle, il s'agissait d'un Persan de couleur crème. Harmonie a eu avec lui six chatons : Jacinthe, Jasmine, Jason, Jehanne, Just Saladin et une quatrième femelle.

La couleur et les génotypes de chaque chaton pour le gène de dilution sont indiqués dans le Tableau 13.

Tableau 13 : Portée de chatons d'Harmonie avec le Père n°2

Individus	Couleur de la robe	Génotype
Père n°2 ♂	Crème	<i>d/d</i>
Jacinthe ♀	Écaille Bleue Crème	<i>d/d</i>
Jasmine ♀	Écaille Bleue Crème	<i>d/d</i>
Jason ♂	Bleu et Blanc	<i>d/d</i>
Jehanne la Belle ♀	Écaille Bleue Crème	<i>d/d</i>
Just Saladin ♂	Bleu	<i>d/d</i>
Femelle n°4	Écaille Bleue Crème et Blanche	<i>d/d</i>

d. Hypothèses pouvant expliquer le phénotype

Les hypothèses pouvant expliquer le phénotype d'Harmonie sont les suivantes :

- un **mosaïcisme issu d'une mutation de réversion**

La mutation de l'un des allèles du gène de dilution à un stade relativement précoce du développement d'Harmonie peut être envisagée. Ainsi, dans cette hypothèse, on considère la réversion de d vers D dans l'une des premières cellules embryonnaires, donnant à l'âge adulte de plages de couleur noires (D/d) relativement étendues par rapport aux plages de couleur bleue (d/d) (Figure 28).

- un **chimérisme complet**

Dans cette hypothèse, on envisage qu'Harmonie est issue de la fusion de deux embryons de génotypes différents (plutôt à un stade précoce de leur développement étant donnée la répartition assez étendue des plages de couleur noire par rapport au bleu ; Figure 28). Pour appuyer cette hypothèse, on remarquera que les parents d'Harmonie pouvaient en effet produire des embryons d/d et des embryons D/d (voir Tableau 10).

Figure 28 : La répartition des plages de couleur noire et diluée chez Harmonie
(Source : Chatterie des Persans de Rose)



Des plages de couleur noires sont majoritairement visibles sur la tête, sur le haut et le milieu du dos et sur le flanc gauche d'Harmonie. La distinction entre le bleu et le noir semble cependant plus difficile sur d'autres zones du pelage.

2. HASLAN des Ducs de Bretagne

a. Présentation

Dans notre étude, nous nous sommes également intéressés au cas d'Haslan des Ducs de Bretagne, chat mâle Scottish Straight au pelage de couleur crème et présentant un spot de poils de couleur bleue sur le dos.

Figure 29 : Haslan des Ducs de Bretagne
(Source : Chatterie des Ducs de Bretagne)



Les cercles rouges indiquent le spot de couleur bleue : seuls quelques poils semblent touchés.

À propos de la fertilité d'Haslan, notons qu'une première tentative de mise à la reproduction à l'été 2014 fut infructueuse.

Remarquons également qu'Haslan a été hospitalisé dans son jeune âge du fait d'une sévère coprostase et qu'un potentiel lien ou impact de cet épisode sur sa fertilité demeure inconnu.

b. Ascendance

La mère d'Haslan, Fleur de Lys, était une Highland Straight Écaille Bleue et Blanche ; son père, Verlaine, était un British Shorthair Crème (et Silver Shaded). Les descendance possibles pour les parents d'Haslan sont rapportées dans le Tableau 14.

Tableau 14 : Descendances attendues pour les parents d'Haslan

		Verlaine - Père ♂ Crème X_oY	
		X _o	Y
Fleur de Lys - Mère ♀ Écaille Bleue et Blanche X_oX_o	X _o	X _o /X _o	X _o /Y
	X _o	X _o /X _o	X _o /Y

c. Hypothèses pouvant expliquer le phénotype

Pour expliquer le phénotype d'Haslan, nous pouvons envisager les hypothèses suivantes :

- **un mosaïcisme suite à une mutation de réversion**

Dans cette hypothèse, on envisage qu'une mutation réverse de l'allèle X_o vers l'allèle X_o est responsable de l'apparition de la couleur bleue (eumélanique) en défaveur de la couleur crème dans une proportion très limitée du pelage. La mutation serait donc survenue dans une unique cellule à un moment tardif du développement d'Haslan, ne donnant à terme que quelques cellules pigmentaires de génotype X_o/Y.

- **un micro-chimérisme**

Une autre hypothèse à envisager pourrait être celle d'un micro-chimérisme pigmentaire embryonnaire tardif. On pourrait ainsi imaginer par exemple le passage de quelques cellules d'un embryon X_o/Y (Tableau 14) vers le fœtus X_o/Y d'Haslan, à un stade assez tardif de son développement. L'expression cutanée d'un tel chimérisme semble peu probable mais ne doit pas être d'emblée exclue.

3. HERMÈS de la Cité des Coon's

a. Présentation

Nous nous sommes également intéressés au cas d'Hermès de la Cité des Coon's, chat mâle de race Maine Coon présentant une robe Écaille Bleue et Crème (Figure 30).

Figure 30 : Hermès de la Cité des Coon's
(Source : La Cité des Coon's)



Hermès à l'âge de 4 mois avec ses frères (a) et (b), à 6 mois (c) et à 1 an (d).

La couleur crème est majoritairement visible sur le menton, le poitrail et l'extrémité des antérieurs d'Hermès ; des mélanges de poils bleus et crème sont visibles sur le reste du corps. La proportion de la couleur crème dans la robe peut être évaluée à environ 20 - 25 %.

b. Ascendance

Le père d'Hermès était un Maine Coon Bleu et Blanc, et sa mère une Maine Coon de robe Écaille Bleue et Crème (et Smoke). Les descendance possible des parents d'Hermès sont indiquées dans le Tableau 15.

Tableau 15 : Descendance attendue pour les parents d'Hermès

		Père ♂ Bleu et Blanc X_oY	
		X_o	Y
Mère ♀ Écaille Bleue et Crème X_oX_o	X_o	X_o/X_o	X_o/Y
	X_o	X_o/X_o	X_o/Y

c. Fertilité et descendance

Hermès s'est avéré fertile, donnant 15 chatons viables en deux portées. La première portée d'Hermès avec Hestia donna 9 chatons, dont 2 décédés (Tableau 16). Hermès eut également une deuxième portée de 8 chatons avec Hadès (Tableau 17).

Tableau 16 : Portée d'Hermès avec Hestia

Individus	Couleur de la robe	Génotype
Hestia - Mère ♀	Écaille Noire (et Smoke)	X_o/X_o
Chaton n°1 ♀	Noire (et Smoke)	X_o/X_o
Chaton n°2 ♂	Noir (et Smoke)	X_o/Y
Chaton n°3 ♂	Roux	X_o/Y
Chatons n°4 et 5 ♂	Roux (et Smoke) ou Crème	X_o/Y
2 chatons décédés	Noirs (et Smoke)	X_o/X_o ou X_o/Y

En gras sont indiqués les chromosomes qui n'ont pu être transmis que par Hermès.

Tableau 17 : Portée de chatons d'Hermès avec Hadès

Individus	Couleur de la robe	Génotype
Hadès - Mère ♀	Noire (et Silver Tabby)	X_o/X_o
Chaton n°1 ♀	Noire (et Tabby)	X_o/X_o
Chatons n°2 à 7 ♀	Noire (et Smoke ?)	X_o/X_o
Chaton n°8 ♂	Noir (et Tabby)	X_o/Y

En gras sont indiqués les chromosomes qui n'ont pu être transmis que par Hermès.

Remarque : la dénomination noir tabby n'existe pas chez le chat, on utilise le terme *brown tabby* bien que la couleur de base de l'eumélanine soit noire et pas marron.

d. Hypothèses pouvant expliquer le phénotype

Le phénotype écaille d'Hermès pouvait être expliqué par les hypothèses suivantes :

▪ un mosaïcisme chromosomique

Hermès étant un chat mâle écaille de tortue, la première hypothèse que nous pouvions envisager était celle d'un mosaïcisme des chromosomes sexuels. Hermès pouvait par exemple être une mosaïque XXY/XY (le syndrome de Klinefelter « simple » pouvait d'emblée être exclue étant donnée la fertilité d'Hermès), avec les allèles X_o et X_o .

À l'origine d'une telle anomalie, on pouvait imaginer :

- une erreur méiotique chez la mère d'Hermès, donnant un gamète disomique pour les chromosomes sexuels ; ainsi un gamète X_oX_o fécondant un gamète mâle Y a pu donner un zygote X_oX_oY ;
- ou sur le même principe, une erreur méiotique chez le père d'Hermès, donnant un gamète disomique X_oY qui, après fécondation avec un gamète X_o , a également pu aboutir à un zygote X_oX_oY ;
- et par la suite, le mosaïcisme XXY/XY peut alors provenir d'une non-disjonction mitotique au sein de l'embryon.

▪ un mosaïcisme suite à une mutation de réversion

Une seconde hypothèse à considérer était celle d'une mutation assez précoce de l'allèle possédé initialement par Hermès au locus *Orange*. Ainsi, si Hermès était initialement X_o/Y , on peut imaginer la mutation spontanée de X_o vers X_o donnant la couleur crème à la place de la couleur bleue (à l'inverse s'il était initialement X_o/Y , nous pouvions envisager la mutation réverse de X_o vers X_o).

▪ un chimérisme complet

Enfin, la dernière hypothèse que nous pouvions envisager était celle d'un chimérisme complet : c'est-à-dire la fusion de deux embryons (dont au moins un embryon génétiquement mâle) avec des allèles différents pour le locus *Orange*. Ainsi, nous pouvions imaginer les chimérismes suivants pour expliquer le phénotype écaille de tortue d'Hermès : X_oY/X_oY , X_oX_o/X_oY , X_oX_o/X_oY ou encore X_oX_o/X_oY (d'après le Tableau 15).

4. IDEFIX

a. Présentation

Nous présenterons maintenant le cas d'Idefix, jeune mâle Maine Coon de phénotype Écaille Tabby Bleu et Crème (Figure 31).

Figure 31 : Idefix



Plusieurs plages de couleur crème sont nettement visibles sur la tête (a), les membres (b) et le corps (c) d'Idefix.

b. Ascendance

Le père d'Idefix était un Maine Coon Roux (et Silver Tabby) et sa mère était Noire (et Silver Tabby). Les descendance possible des parents d'Idefix sont indiquées dans le Tableau 18.

Tableau 18 : Descendances attendues pour les parents d'Idefix

		Père ♂ Roux (Tabby) X_oY	
		X_o	Y
Mère ♀ Noire (Silver Tabby) X_oX_o	X_o	X_o/X_o	X_o/Y

c. Fertilité et descendances

Idefix présente le phénotype d'un mâle. Sa fertilité n'est cependant pas connue.

d. Hypothèses pouvant expliquer le phénotype

Pour expliquer le phénotype d'Idefix, on a pu envisager les hypothèses suivantes (très similaires à celles établies pour Hermès) :

- un **mosaïcisme chromosomique**

La première hypothèse que nous avons envisagée pour expliquer le phénotype écaille de tortue d'Idefix est celle d'un mosaïcisme chromosomique, comme par exemple, un syndrome de Klinefelter X_oX_oY suite à la fécondation d'un ovocyte X_o et d'un spermatozoïde disomique X_oY .

- un **mosaïcisme suite à une mutation de réversion**

Nous pouvons également imaginer l'hypothèse d'une réversion de X_o vers X_o à un stade précoce du développement d'Idefix.

- un **chimérisme complet**

Enfin, un chimérisme complet par fusion de deux embryons peut également être considéré. Étant données les couleurs des robes des parents d'Idefix (Tableau 18), la seule possibilité est celle d'un chimérisme X_oX_o/X_oY .

II. Matériel et méthodes

1. Réalisation des prélèvements d'ADN

Pour chaque individu, deux brossettes buccales ont été réalisées par le propriétaire du chat puis envoyées au laboratoire de Génétique Fonctionnelle et Médicale (UMR955 INRA-ENVA) de l'École nationale vétérinaire d'Alfort. Les brossettes ont été conservées au réfrigérateur (à + 4°C) jusqu'à l'extraction des ADN.

Des prélèvements sanguins sur tube EDTA ont également pu être réalisés par les vétérinaires traitants pour Harmonie, Hermès et Idefix.

Enfin, des poils avec leurs racines ont pu être collectés pour Harmonie, Haslan, Hermès et Idefix.

Ainsi, l'ADN d'**Harmonie** a été collecté au moyen de deux brossettes buccales, de deux prélèvements sanguins, d'un échantillon de poils bleus et d'un échantillon de poils noirs. Deux brossettes ont également pu être réalisées pour chacun des parents d'Harmonie, ainsi que pour chacun de ses chatons et pour Harry Beau son frère.

Pour **Haslan**, deux brossettes buccales et un échantillon de poils bleus et crème (mélange) ont été récoltés.

L'ADN d'**Hermès** a été recueilli via deux brossettes, un échantillon de poils bleus et un échantillon de poils de couleur crème. Des cellules buccales ont pu être collectées pour deux des chatons d'Hermès et pour la mère de l'un d'eux.

Idefix a vu son ADN récolté par le biais de deux brossettes buccales, un échantillon de poils et un échantillon de sang.

2. Analyse du caryotype

Les prélèvements de sang destinés à l'examen caryotypique de Hermès et de Idefix ont été acheminés à la Plateforme de Cytogénétique (UMR 1388 INRA-ENVT-ENSAT-GenPhySE) de l'École nationale vétérinaire de Toulouse par les soins des vétérinaires préleveurs.

3. Extractions des ADN

a. À partir des brossettes

L'ADN issu de brossettes buccales a été extrait à l'aide de l'automate Maxwell de Promega (Madison, Wisconsin, USA) en suivant les recommandations du fabricant (<http://france.promega.com/>).

b. À partir du sang

Pour l'extraction de l'ADN génomique à partir du sang prélevé sur EDTA, le protocole suivant a été appliqué :

- transfert du sang dans un tube de 50 ml type Falcon.
- Ajout de 5 volumes de Solution de Lyse des globules Rouges (SLR) pour chaque tube (TRIS 10 mM, MgCL2 5mM, NaCl 10 mM).
- Placement des tubes de 50 ml sur l'agitateur à rouleaux pendant 5 minutes à température ambiante.
- Centrifugation des tubes 10 minutes à 1500 tr/min à 4°C.

- Élimination du surnageant et récupération du culot cellulaire de globules blancs.
Le culot de globules blancs ainsi récupéré permet l'extraction de l'ADN avec l'automate Maxwell® Promega (Madison, Wisconsin, USA) en suivant les recommandations du fabricant (<http://france.promega.com/>).

c. À partir des poils

L'ADN issu de poils prélevés en les arrachant (pour obtenir la racine) a été extrait à l'aide de l'automate Maxwell de Promega (Madison, Wisconsin, USA) en suivant les recommandations du fabricant (<http://france.promega.com/>).

La concentration en ADN de chaque échantillon a ensuite été mesurée *via* la mesure de l'absorbance grâce à un spectrophotomètre (NanoDrop). Les ADNs obtenus ont ensuite été conservés à une concentration de 20 ng/μl et à une température de -20°C.

4. Réalisation des empreintes génétiques

Un aliquote d'ADN (20μL à 20ng/μL) a été envoyé au laboratoire Antagene pour la réalisation des empreintes génétiques.

5. Séquençage du gène de dilution

Le séquençage d'une portion du gène de dilution (*MLPH*) a été réalisé à partir des prélèvements de poils, de sang et de la brosse buccale d'Harmonie. Le séquençage de l'ADN d'un chat de race Bombay noir (à partir de poils) a également été réalisé à titre de témoin pour la couleur noire.

Dans un premier temps, il a été nécessaire de dessiner les amorces permettant d'amplifier par PCR l'exon porteur de la mutation du gène *MLPH*.

La séquence nucléotidique du gène *MLPH* a été extraite de la base de données Ensembl (www.ensembl.org). Remarquons que la mutation responsable (une délétion) était située :

- sur l'exon 1 dans Ensembl (c'est sur cette base de données que s'est appuyée notre étude concernant le chat, dans laquelle 14 exons du gène *MLPH* étaient décrits) (Figure 32) ;
- sur l'exon 2 dans l'article qui a été publié par Ishida *et al.* (2006) en lien avec la nomenclature chez la souris et chez l'homme (voir partie I.3.a.ii.).

En vue de l'amplification de l'exon 1 du gène *MLPH*, deux types d'amorces étaient requises pour réaliser la PCR (Figure 32) :

- une amorce *forward*, positionnée en 5' de la portion à amplifier et séquencer ;
MLPHcatF - **cctgacaggcagagATGG** (18 bases).
- une amorce *reverse* positionnée en 3' de la portion à amplifier et séquencer.
MLPHcatR - **gcatcctgctgtctgctc** (18 bases).

Figure 32 : La séquence nucléotidique de l'exon 1 du gène *MLPH* et les séquences l'encadrant dans la base de données génomique Ensembl

```

ttcaccaatttaaggcacaagt caggaatatttttagttgagcgccataggacctctgag
gaaattttcatttttagatgctgcctgggtgatggtcacgtgtcataattaacccctgtg
aaacaactcagagtcatttctatcctgtcttattccaggtgtgat cctgacagggcagag
ATGGGGAAAAAACTGGATCTTTCCAAGCTCACGGACGACGAGGCCAAGCACATCTGGGAA
GTGGTTCAGCGGGACTTTGATCTGAGAAGGAAAGAAGAGGAAAGGCTGGG
gtgagtgtatgaggccgagcccgtccctccggtgtccctggaagggggggcctccccgg
gacgctgggggt gagcagacagcaggatgctcggggggcaggacaccggatgggaagccg
    
```

La séquence correspondant à l'exon 1 du gène *MLPH* est indiquée en majuscules noires. En minuscules apparaissent les séquences non codantes encadrant la phase codante de l'exon 1 du gène *MLPH*. Les amorces utilisées correspondent aux séquences surlignées en jaune (*MLPHcatF*) et bleu (*MLPHcatR*). En surlignage vert apparaît la base (T) dont la délétion est responsable du phénotype dilué chez le chat.

Le protocole de PCR utilisé est présenté dans le Tableau 19.

Tableau 19 : Volumes utilisés pour le protocole de PCR

	Volumes
Eau stérile	18,8 µL
Amorces à 10µM	0,5 + 0,5 µL
Nucléotides libres (dNTP 10mM)	0,5 µL
Tampon avec MgCl ₂ à 1,5 mM concentré 10 fois	2,5 µL
Taq Polymérase	0,2 µL
ADN à 20 ng/µL	5 µL
Volume total	25 µL

Un kit de PCR commercial a été utilisé pour toutes les amplifications (QBiogen S.A. France, Courtaboeuf, France). Le programme des PCR utilisés était le suivant :

- dénaturation initiale de 5 minutes à 94°C ;
- 30 cycles composés de 3 phases : 30 secondes à 94°C, 40 secondes à 60°C et 40 secondes à 72°C ;
- élongation finale de 5 minutes à 72°C.

Le dessin des amorces de PCR a été réalisé grâce au logiciel Primer 3 (<http://bioinfo.ut.ee/primer3-0.4.0/>)

Le séquençage de l'exon a été obtenu après envoi de 7 à 10 μL de produit de PCR complétés avec de l'eau stérile qsp 20 μL , et des amorces utilisées à 10 μM , au laboratoire GATC (GATC Biotech, Constance, Allemagne, www.gatc-biotech.com).

La visualisation des chromatogrammes de séquençage a été réalisée à l'aide du logiciel Chromaslite 2.01 (Technelysium Pty Ltd : www.technelysium.com.au).

Les alignements de séquences nucléotidiques ont été effectués à l'aide du logiciel Multalin (<http://multalin.toulouse.inra.fr/multalin/multalin.html>).

III. Résultats

1. Harmonie des Persans de Rose

a. Empreintes génétiques d'Harmonie

Les résultats des empreintes génétiques des différents prélèvements d'Harmonie et de ses parents sont présentés dans le Tableau 20.

Tableau 20 : Cartes d'identification génétiques d'Harmonie et de ses parents

Marqueur	FCA026	FCA069	FCA075	FCA105	FCA149	FCA201	FCA220	
Père ♂	154/158	107/107	136/138	197/201	122/122	143/159	212/214	
Mère ♀	150/ ?	107/107	134/136	195/195	122/124	149/159	212/212	
Harmonie	Sang n°1	150/154/158	107/107	134/136/138	195/197/201	122/124	149/159	212/214
	Sang n°2	150/154/158	107/107	134/136/138	195/197/201	122/124	149/159	212/214
	Poils Bleus	154/158	107/107	134/136/138	195/197/201	122/124	149/159	212/214
	Poils Noirs	154/158	107/107	134/136/138	195/197/201	122/124	149/159	212/214

Marqueur	FCA229	FCA293	FCA310	FCA441	FCA453	FCA678	ZFX Y	
Père ♂	168/168	179/187	124/138	159/163	188/188	196/198	159/162	
Mère ♀	168/168	179/187	136/138	155/163	188/188	190/198	162/162	
Harmonie	Sang n°1	168/168	187/187	124/136/138	155/159/163	188/188	190/196/198	162/162
	Sang n°2	168/168	187/187	124/136/138	155/159/163	188/188	190/196/198	162/162
	Poils Bleus	168/168	187/187	124/136/138	155/159/163	188/188	190/196/198	162/162
	Poils Noirs	168/168	187/187	124/136/138	159/163	188/188	190/196/198	162/162

Les marqueurs pour lesquels Harmonie possède plus de deux allèles sont indiqués en gras. Un point d'interrogation désigne un allèle qui n'a pas pu être déterminé.

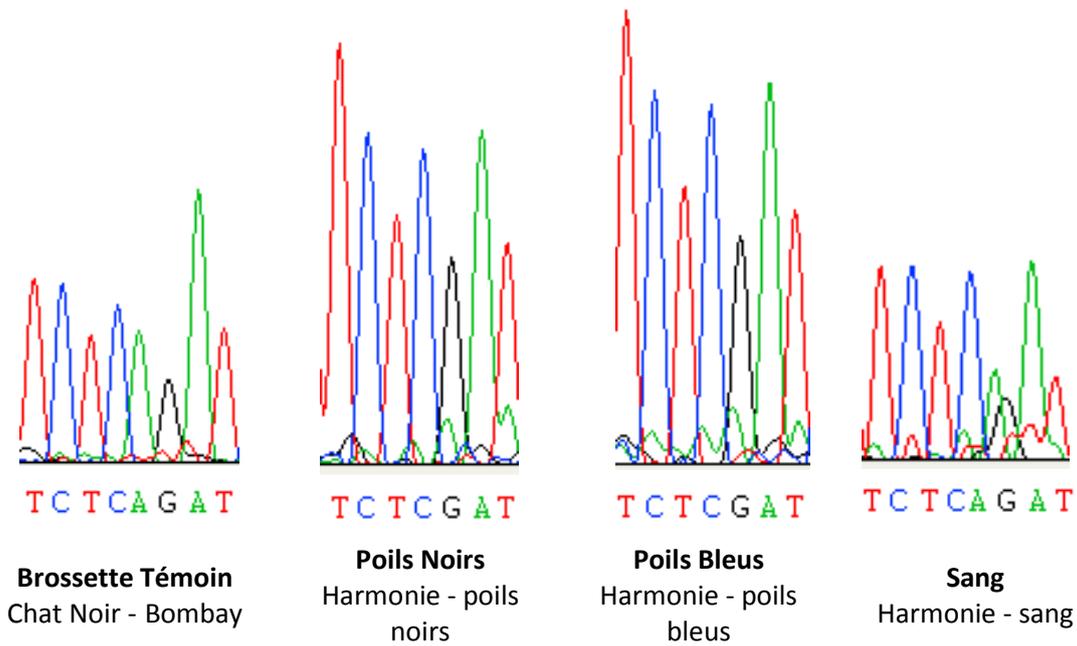
Les profils ADN réalisés à l'aide de marqueurs microsatellites chez le père et la mère d'Harmonie ne montraient pas d'anomalies. En revanche, les profils réalisés à partir du sang et des poils d'Harmonie ont montré un triallélisme pour six marqueurs.

b. Séquençage d'une portion du gène *MLPH* chez Harmonie

Les pics de fluorescence (chromatogrammes) obtenus par le laboratoire de séquençage GATC pour les bases 94 à 101 de l'exon 1 du gène *MLPH*, encadrant la mutation responsable du phénotype dilué chez le chat, sont présentés dans la Figure 33.

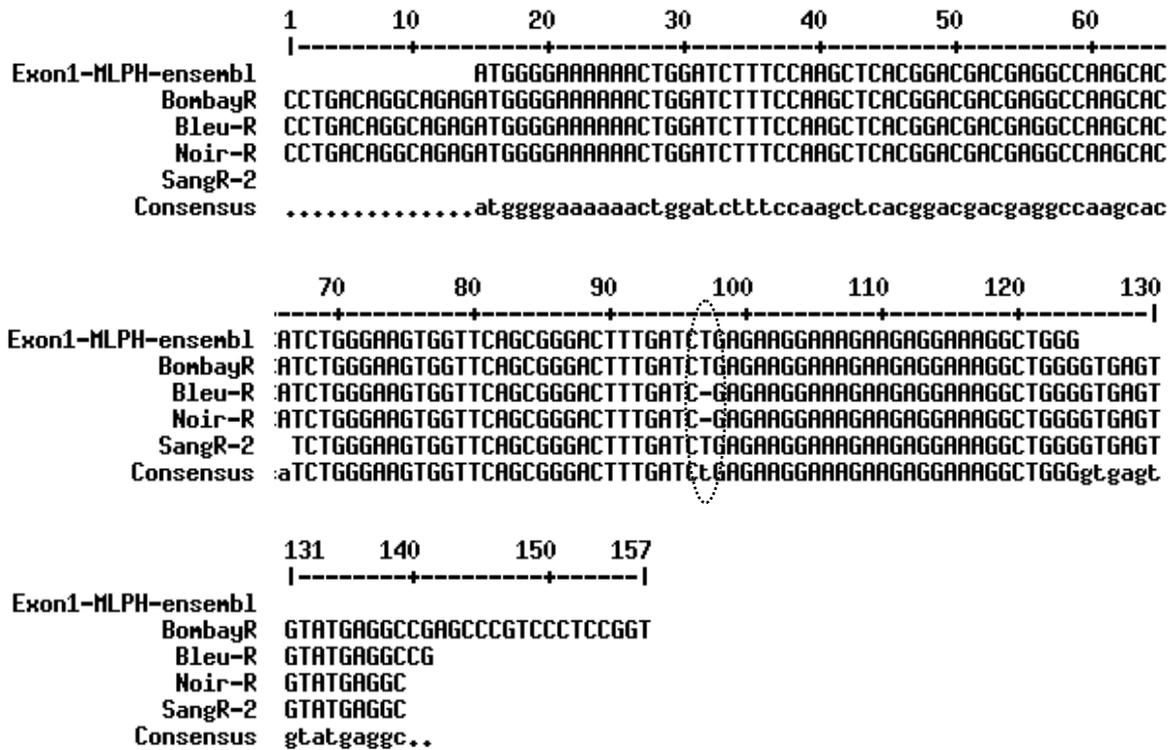
On y remarque la délétion d'une base dans les séquences des poils bleus et des poils noirs prélevés sur Harmonie par rapport au type sauvage (chat noir Bombay témoin). Le résultat obtenu sur le sang d'Harmonie ne montrait pas de différence par rapport à l'individu contrôle.

Figure 33 : Extraits des chromatogrammes obtenus pour les nucléotides encadrant la mutation de dilution du gène *MLPH* (bases 94 à 101)



Ces mêmes résultats ont été retrouvés dans l'alignement des séquences du gène *MLPH* de la Figure 34 : la version diluée du gène a pu être observée sur les prélèvements de poils bleus et de poils noirs d'Harmonie (allèle d) ; son sang comportait à l'inverse une version sauvage du gène (allèle D).

Figure 34 : Extrait de l'alignement des séquences de l'exon 1 du gène *MLPH*



L'exon 1 de *MLPH* est présenté dans la première ligne. L'ellipse signale la base (T) dont la délétion est responsable de la dilution chez le chat ; le tiret indique que la base est manquante. La séquence correspondant à l'allèle sauvage *D* est notée BombayR. Les séquences obtenues à partir des poils noirs, bleus et du sang d'Harmonie sont notées respectivement Noir-R, Bleu-R et SangR-2.

c. Empreintes génétiques des chatons d'Harmonie

Les résultats des empreintes génétiques de la première portée d'Harmonie avec Harry Beau sont présentés dans le Tableau 21. Les résultats des empreintes génétiques de la deuxième portée d'Harmonie ne nous ont pas été communiqués à temps pour être intégrés à ce manuscrit.

Tableau 21 : Empreintes génétiques d'Harry Beau et de ses quatre chatons avec Harmonie

		FCA026	FCA069	FCA075	FCA105	FCA149	FCA201	FCA220
Chatons	Harry Père ♂	154/ ?	107/107	136/136	195/197	122/122	143/159	212/212
	If	154/ ?	107/107	136/ 138	195/197	122/ 124	149 /159	212/212
	Ines	? / ?	107/107	134 /136	195/195	122/122	149 /159	212/212
	Isy	150/156	107/107	136/ 138	197/197	122/122	143/ 149	212/212
	Ixy	154/ ?	107/107	136/ 138	195/195	122/ 124	159/159	212/212

		FCA229	FCA293	FCA310	FCA441	FCA453	FCA678	ZFX Y
Chatons	Harry Père ♂	168/168	179/187	124/138	155/159	188/188	190/196	X/Y
	If	168/168	187/187	124/138	159/ 163	188/188	196/196	X/Y
	Ines	168/168	179/187	136 /138	155/159	188/188	196/ 198	X/X
	Isy	168/168	187/187	136 /138	155/159	188/188	196/196	X/X
	Ixy	168/168	187/187	124/138	159/159	188/188	190/ 198	X/Y

Un point d'interrogation indique que l'allèle n'a pas pu être déterminé. En gras sont indiqués des allèles qui n'ont pu être transmis que par Harmonie (non possédés par le père).

2. Haslan des Ducs de Bretagne

Les résultats des empreintes génétiques réalisées pour Haslan sont présentés dans le Tableau 22.

Tableau 22 : Cartes d'identification génétiques d'Haslan

	FCA026	FCA069	FCA075	FCA105	FCA149	FCA201	FCA220
Brossette	154/154	107/109	130/136	193/197	122/122	143/143	212/216
Poils	154/154	107/109	130/136	193/197	122/122	143/143	212/216

	FCA229	FCA293	FCA310	FCA441	FCA453	FCA678	ZFX Y
Brossette	164/164	179/179	136/138	147/167	192/196	190/198	X/Y
Poils	164/164	179/179	136/138	147/167	192/196	190/198	X/Y

Notons que les deux prélèvements ont donné un résultat identique, et que deux allèles ont été détectés pour chaque marqueur microsatellite.

3. Hermès de la Cité des Coon's

a. Caryotype

Aucune anomalie chromosomique n'a été détectée à la réalisation du caryotype d'Hermès : $2n = 38 XY$ sur 30 cellules XY observées.

b. Empreinte génétique

Les empreintes génétiques issues de la brosette buccale et des échantillons de poils d'Hermès sont présentés dans le Tableau 23.

Tableau 23 : Cartes d'identification génétiques d'Hermès

	FCA026	FCA069	FCA075	FCA105	FCA149	FCA201	FCA220
Brossette	150/152	105/107	136/140	201/203	122/128	143/143	214/214
Poils Bleus	150/152	107/107	136/140	201/203	122/128	143/143	214/214
Poils Crème	150/152	107/107	136/136	201/203	122/128	143/143	214/214

	FCA229	FCA293	FCA310	FCA441	FCA453	FCA678	ZFX Y
Brossette	168/168	179/187/191	120/136	151/155	188/ ?	190/202	159/162
Poils Bleus	168/168	179/187/191	120/136	151/155	188/ ?	190/202	159/162
Poils Crème	168/168	179/187/191	120/136	151/155	188/ ?	190/202	159/162

Un point d'interrogation indique que l'allèle n'a pas pu être déterminé.

Remarquons que les allèles du marqueur FCA069 n'étaient pas les mêmes entre la brosette (105 / 107) et les prélèvements de poils (107 / 107). De la même façon, les allèles pour FCA075 étaient différents entre les poils crème (136 / 136) et les deux autres prélèvements (136 / 140). De plus, Hermès possédait trois allèles pour le marqueur FCA293. Ces résultats sont indiqués en gras dans le Tableau 23.

4. Idefix

a. Caryotype

L'analyse du caryotype d'Idefix n'a pas montré d'anomalie : $2n = 38 XY$.

b. Empreinte génétique

Les empreintes génétiques obtenues à partir des poils, du sang et des cellules buccales d'Idefix sont retranscrites dans le Tableau 24.

Tableau 24 : Cartes d'identification génétiques d'Idéfix

	FCA026	FCA069	FCA075	FCA105	FCA149	FCA201	FCA220
Poils	Q/S	M/M	S/S	N/Q	H/J	K/Q	K/K
Sang	Q/S	M/M	S/S	N/Q	H/J	K/Q	K/K
Brossette	Q/S	M/M	S/S	N/Q	H/J	K/Q	K/K

	FCA229	FCA293	FCA310	FCA441	FCA453	FCA678	ZFX Y
Poils	N/P	F/F	J/R	L/O	K/L	L/R	X/X
Sang	N/P	F/F	J/R	L/O	K/L	L/R	X/X
Brossette	N/P	F/F	J/R	L/O	K/L	L/R	X/X

Les résultats sont présentés sous forme d'un codage des allèles en lettres. En gras sont indiqués les marqueurs des chromosomes sexuels, XX ici alors que Idéfix est un mâle phénotypiquement.

Les trois prélèvements ont donné les mêmes résultats : deux allèles étaient présents pour chaque marqueur microsatellite. Remarquons cependant que l'analyse a montré la présence, dans les trois prélèvements d'Idéfix, de deux marqueurs spécifiques de l'X.

IV. Discussion

1. Harmonie des Persans de Rose

Nos hypothèses pour expliquer le phénotype particulier d'Harmonie étaient :

- un **mosaïcisme suite à une mutation de réversion** (du gène de dilution) ;
- un **chimérisme complet**.

Le séquençage du gène *MLPH* chez Harmonie a montré qu'elle possédait à la fois les allèles dilué (ses poils) et non dilué (son sang).

Rappelons que le gène *MLPH* a été situé sur le chromosome C1 chez le chat.

De plus, les résultats des empreintes génétiques d'Harmonie ont montré chez elle la présence concomitante de 3 allèles pour 6 marqueurs microsatellites (ces derniers étant répartis sur 6 chromosomes différents) ; il s'agissait des marqueurs suivants :

FCA026 - Chromosome D4
FCA075 - Chromosome E2
FCA105 - Chromosome A2
FCA310 - Chromosome C2
FCA441 - Chromosome D3
FCA678 - Chromosome A1

La seule hypothèse compatible avec ce résultat est celle d'un chimérisme complet ou quasi-complet d'Harmonie.

➤ *Quelle est le phénomène à l'origine du chimérisme d'Harmonie ? S'agissait-il d'une agrégation embryonnaire ou d'une dispermie ?*

Pour tenter de répondre à cette question, reprenons les informations connues pour les marqueurs FCA026 et FCA105 et présentées dans le Tableau 25.

Tableau 25 : Les marqueurs FCA026 et FCA105 chez Harmonie, ses parents, son frère et leur fille

	FCA026	FCA105
Copain - Père ♂	154/158	197/201
Faraone - Mère ♀	150/ ?	195/195
Harmonie (Sang)	150/154/158	195/197/201
Harry Beau ♂ Frère d'Harmonie / Père d'Isy	154/ ?	195/197
Isy ♀ Fille (Harmonie x Harry Beau)	150/156	197/197

Nous pouvons dans un premier temps remarquer que parmi les trois allèles possédés par Harmonie pour le marqueur FCA105, deux proviennent de son père (197 et 201).

De plus, l'un des deux allèles de Faraone et le deuxième allèle d'Harry Beau pour le marqueur FCA026 n'ont pas pu être déterminés. C'est Isy qui va nous renseigner puisque son allèle 156 provient nécessairement de son père Harry Beau, et donc de sa grand-mère Faraone (en effet l'allèle 156 n'est présent ni chez Harmonie, ni chez Copain). Ainsi, peut-on en déduire que les allèles 154 et 158 retrouvés chez Harmonie n'ont pu être hérités que de Copain, son père.

En conséquence, en admettant que tous les allèles présents chez Harmonie ont bien été détectés par l'analyse des marqueurs microsatellites, nous possédons les informations suivantes : Harmonie ne possède pas plus de trois allèles différents par marqueur le cas échéant, deux des trois allèles sont hérités de son père. Il semble donc y avoir une double contribution paternelle au génotype d'Harmonie, laissant à penser qu'une origine probable du chimérisme d'Harmonie puisse être une dispermie.

Néanmoins, remarquons également que parmi les six marqueurs pour lesquels Harmonie possède trois allèles, FCA026 est le seul pour lequel les parents réunis possèdent 4 versions alléliques. FCA075, FCA105, FCA310, FCA441 et FCA678 ne sont quant à eux représentés que par 3 allèles chez les deux parents réunis.

Ainsi, le faible polymorphisme observé pour les marqueurs microsatellites chez les parents d'Harmonie ne nous permettent pas de trancher concernant l'origine du chimérisme d'Harmonie : dispermie ou agrégation de deux embryons *in utero*. Le génotypage de marqueurs microsatellites complémentaires permettrait peut être de répondre à cette question.

➤ ***Le chimérisme d'Harmonie était-il également germinal ?***

Pour répondre à cette question, il faut nous pencher sur la descendance d'Harmonie.

Parmi les 11 chatons produits par Harmonie, avec deux mâles de couleur diluée (crème tous les deux), tous étaient de couleur diluée (bleu ou bleu et crème). Harmonie n'a donc jamais transmis l'allèle *D* à sa descendance. Si Harmonie avait été de génotype *D/d* pour toutes ses cellules germinales, la probabilité qu'elle produise un chaton non dilué aurait été de 50 %. Si son chimérisme avait été équilibré et que ses cellules germinales étaient composées pour moitié de cellules *D/d* et pour moitié de cellules *d/d* alors la probabilité qu'elle produise un chaton non dilué aurait été de 25 %. Nous pouvons donc faire les hypothèses que le chimérisme d'Harmonie n'est pas germinal ou bien que la contribution des cellules *D/d* dans la formation de ses gamètes est extrêmement réduite (chimérisme germinal très déséquilibré).

➤ ***Pourquoi la mutation *MLPH* a-t-elle été retrouvée dans le prélèvement de poils noirs ?***

L'hypothèse la plus probable pour expliquer le génotype *d/d* des poils noirs d'Harmonie réside dans une contamination du prélèvement par des poils bleus et des cellules de la peau (kératinocytes) dont le génotype pouvait parfaitement être *d/d* alors que les mélanocytes (cellules pigmentaires) auraient été *D/d*.

2. Haslan

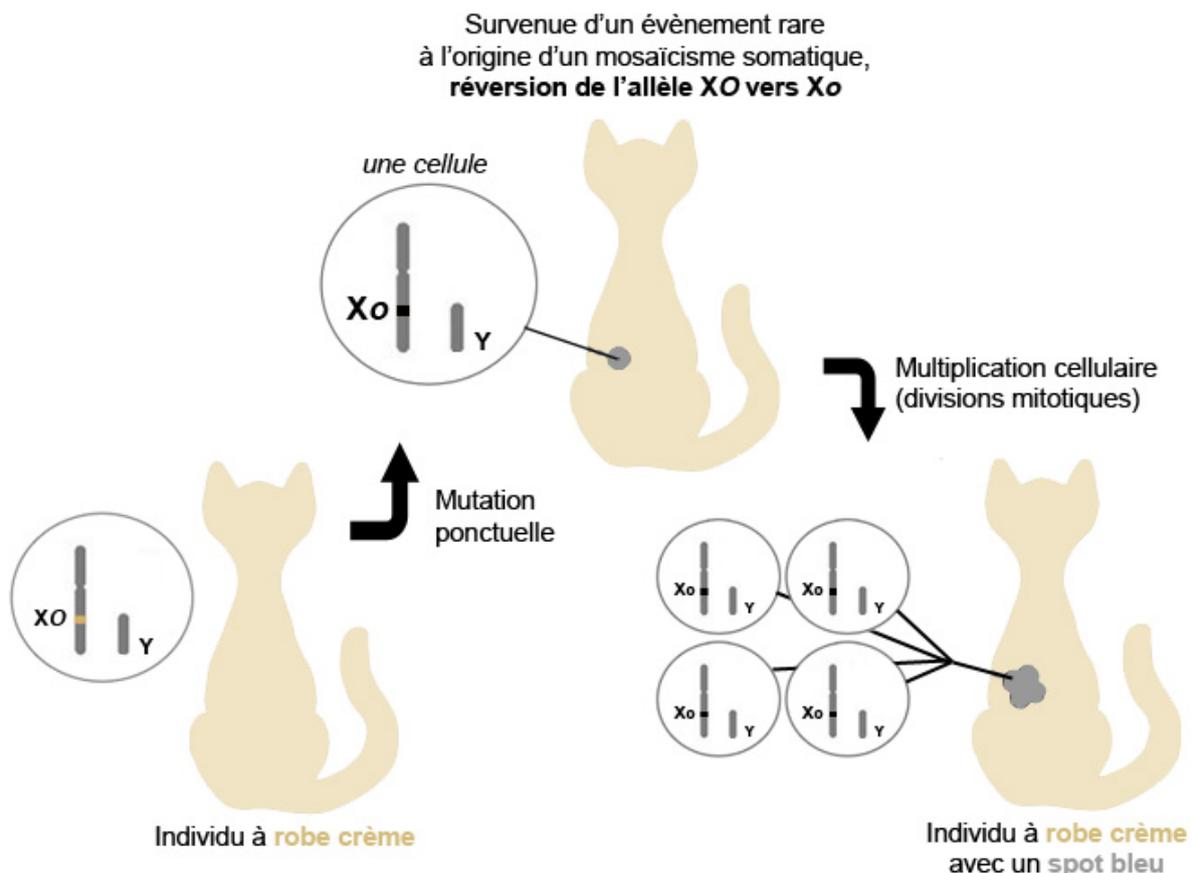
Deux hypothèses étaient envisagées pour expliquer le spot de couleur bleue d'Haslan :

- un **mosaïcisme suite à une mutation de réversion au locus *Orange*** ;
- un **micro-chimérisme**.

Les résultats des empreintes génétiques d'Haslan ont mis en avant que le spot de couleur bleue sur son dos n'était probablement pas lié à un chimérisme, puisqu'en effet deux allèles ont été retrouvés pour chacun des marqueurs microsatellites testés. De plus, les deux prélèvements ont fourni le même résultat : l'ADN récolté dans les racines des poils était le même que celui des cellules buccales d'Haslan. Les analyses que nous avons effectuées n'ont donc pas mis en évidence la coexistence de plusieurs populations cellulaires génétiquement distinctes.

En conclusion, Haslan est **très probablement une mosaïque pour le locus *Orange***, et la présence du spot de couleur bleue pourrait être expliquée par la réversion de l'allèle X_O vers X_o dans un nombre limité de cellules (Figure 35).

Figure 35 : Hypothèse du mosaïcisme somatique par mutation d'un seul locus chez Haslan



Le gène au locus *Orange*, à l'origine de la couleur rousse, n'étant toujours pas connu chez le chat, il n'a pas été possible de le séquencer pour identifier une éventuelle mutation de réversion chez Haslan.

3. Hermès de la Cité des Coon's

Rappelons les hypothèses évoquées pour expliquer le phénotype écaille d'Hermès :

- un **mosaïcisme chromosomique** ;
- un **mosaïcisme suite à une mutation de réversion au locus *Orange*** ;
- un **chimérisme complet**.

L'analyse caryotypique n'ayant montré aucune anomalie (38 XY), l'hypothèse d'un mosaïcisme chromosomique a pu être exclue.

Le gène au locus *Orange*, à l'origine de la couleur rousse, n'étant toujours pas connu chez le chat, il n'a pas été possible de le séquencer pour identifier une éventuelle mutation de réversion chez Hermès. Nous n'avons donc pas pu tester la deuxième hypothèse.

Les profils ADN d'Hermès ont révélé des anomalies. Les allèles de deux marqueurs microsatellites (FCA069 et FCA075) n'étaient pas les mêmes entre la brosette buccale et les prélèvements de poils. De plus, Hermès possédait trois allèles pour un des marqueurs (FCA293). Ces trois marqueurs étant situés sur des chromosomes différents, il est très peu probable que trois mutations de réversion à trois loci indépendants soient intervenues chez Hermès. Il est donc très probable qu'Hermès soit une chimère.

➤ *Le chimérisme d'Hermès est-il également germinal ?*

Chez les 8 chatons femelles qu'il a engendrés, Hermès n'a jamais transmis l'allèle X_O . Comme pour le cas d'Harmonie, nous pouvons faire les hypothèses que le chimérisme d'Hermès n'est pas germinal ou bien que la contribution des cellules X_OY dans la formation de ses gamètes est extrêmement réduite (chimérisme germinal très déséquilibré).

4. Idefix

Nos hypothèses pour Idefix étaient les suivantes :

- un **mosaïcisme chromosomique** ;
- un **mosaïcisme suite à une mutation de réversion au locus *Orange*** ;
- un **chimérisme complet**.

L'analyse caryotypique n'ayant montré aucune anomalie (38 XY), l'hypothèse d'un mosaïcisme chromosomique a pu être exclue.

Les profils ADN réalisés à partir de trois prélèvements ont tous donné les mêmes résultats : deux allèles étaient présents pour chaque marqueur microsatellite. Cependant ces trois profils ont montré la présence, dans les trois prélèvements d'Idefix, de deux marqueurs spécifiques du chromosome X.

Le caryotype d'Idefix était donc 38 XY mais sur ses profils ADN Idefix était 38 XX.

Le caryotype est établi à parti des lymphocytes circulants du sang. L'ADN extrait d'un prélèvement sanguin également. Il est donc très étonnant d'avoir observé des résultats différents pour deux analyses réalisées à partir du même type cellulaire.

Des analyses complémentaires : génotypage de marqueurs microsatellites supplémentaires du chromosome X et caryotype réalisé à partir d'un autre type cellulaire que les lymphocytes (fibroblastes d'une biopsie de peau récoltée à l'occasion de la castration par exemple) seront nécessaires afin d'élucider le cas d'Idefix.

CONCLUSION

Chez le chat domestique, la plupart des individus à robe tricolore ou écaïlle de tortue sont des femelles dont le phénotype est gouverné par un mosaïcisme épigénétique naturel : l'inactivation du chromosome X. Néanmoins, il existe de rares mâles à robe tricolore ou écaïlle de tortue qui sont le plus souvent stériles du fait d'une anomalie chromosomique, tandis que le phénotype des individus mâles fertiles, encore plus rarement observés, est généralement expliqué par un mosaïcisme d'un (ou plusieurs) gène(s) ou par un chimérisme. Cependant, jusqu'alors, les hypothèses expliquant les causes de ces phénotypes chez le chat n'avaient été établies que sur la base d'études généalogiques et/ou caryotypiques.

Ainsi, notre travail de thèse avait pour but de déterminer par quels mécanismes les quatre chats que nous avons étudiés présentaient un phénotype atypique, notamment à l'aide des marqueurs microsatellites classiquement employés pour la réalisation des cartes d'identification génétiques mais également grâce au génotypage pour un locus de coloration de la robe (dilution).

Notre étude portait sur une femelle noire, bleue et blanche (Harmonie), sur un mâle crème avec un spot bleu (Haslan) et sur deux mâles à robe écaïlle (Hermès et Idefix). Après avoir analysé les parents et les descendance de chaque individu (le cas échéant), nous avons réalisé leurs cartes d'identification génétiques ainsi que celles de certains chats leur étant apparentés. Nous avons montré que deux des chats de l'étude étaient des chimères complètes (Harmonie et Hermès) ; de plus, bien que la présence d'un chimérisme germinale n'ait pu être démontré chez ces deux individus, nous pouvons affirmer que s'il existe, il est probablement hautement déséquilibré. Nous avons également montré l'existence très probable d'un mosaïcisme somatique (par mutation de réversion) chez Haslan permettant d'expliquer la présence du spot de couleur bleu. Enfin, les résultats étonnants obtenus pour Idefix ne nous ont pas permis de conclure quant à la cause de son phénotype écaïlle : la réalisation d'analyses complémentaires est à envisager pour élucider son cas.

Dans ce travail, nous avons donc montré l'intérêt de l'utilisation des marqueurs microsatellites et du génotypage pour un locus de coloration dans le diagnostic du mosaïcisme et du chimérisme chez le chat domestique. La réalisation relativement aisée de ces tests en pratique courante pourrait ainsi conduire les vétérinaires à mieux conseiller les propriétaires et les éleveurs lorsqu'ils se retrouvent face à un mâle écaïlle ou face à un individu possédant un phénotype atypique.

BIBLIOGRAPHIE

- ABITBOL M. (2009). *Biologie Moléculaire et Génétique Précliniques*. Polycopié. École Nationale Vétérinaire d'Alfort, Unité pédagogique de Génétique Médicale et Moléculaire, 175 p.
- ABITBOL M. Génétique de la couleur et de la texture du pelage chez le chat domestique. *Bull. Acad. Vét. France*. 2012, **165**, 205-213.
- ALBANO L, RAK JM, AZZOUZ DF, CASSUTO-VIGUIER E, GUGENHEIM J, LAMBERT NC. Chimerism in women with end stage renal diseases. *Chimerism*. 2012, **3**, 48-50.
- ALIZADEH A, HONG LZ, KAELIN CB, RAUDSEPP T, MANUEL H, BARSH GS. Genetics of Sex-linked yellow in the Syrian hamster. *Genetics*. 2009, **181**, 1427-1436.
- ANDERSON D, BILLINGHAM RE, LAMPKIN GH, MEDAWAR PB. The use of skin grafting to distinguish between monozygotic and dizygotic twins in cattle. *Heredity*. 1951, **5**, 379-397.
- Antagene. [en ligne]. (Mise à jour le 02/12/14). [<http://www.antagene.com/fr>] (consulté le 02/12/14).
- Atlas of Genetics and Cytogenetics in Oncology and Haematology. (Mise à jour le 03/07/12). In : HURET JL, INSERM U935, *Genetics, Dept. Medical Information, University Hospital of Poitiers*. [en ligne]. [<http://atlasgeneticsoncology.org>] (consulté le 14/10/14).
- AUGUI S, NORA EP, HEARD E. Regulation of X-chromosome inactivation by the X-inactivation centre. *Nat. Rev. Genet.*. 2011, **12**, 429-442.
- BAZOPOULOU-KYRKANIDOU E. Chimeric creatures in Greek mythology and reflections in science. *Am. J. Med. Genet.*. 2001, **100**, 66-80.
- BERLETCH JB, YANG F, XU J, CARREL L, DISTECHE CM. Genes that escape from X inactivation. *Hum. Genet.*. 2011, **130**, 237-245.
- BLOCH EM, JACKMAN RP, LEE T-H, BUSCH MP. Transfusion-associated microchimerism: the hybrid within. *Transfus Med Rev*. 2013, **27**, 10-20.
- BOECKLER P, HAPPLE R, LIPSKER D. Mosaïcisme. *EMC - Dermatologie*. 2006, **1**, 1-12.
- BOUÉ A. L'instabilité chromosomique des premières mitoses blastomériques. *MS. Médecine Sciences*. 1992, **8**, 929-937.

- CABRERA TRUJILLO LY, ENGEL-GLATTER S. Human-Animal Chimera: A Neuro Driven Discussion? Comparison of Three Leading European Research Countries. *Sci Eng Ethics*. 2014.
- CAMPBELL IM, YUAN B, ROBBERECHT C, PFUNDT R, SZAFRANSKI P, MCENTAGART ME, et al. Parental somatic mosaicism is underrecognized and influences recurrence risk of genomic disorders. *Am. J. Hum. Genet.*. 2014, **95**, 173-182.
- CARREL L, WILLARD HF. X-inactivation profile reveals extensive variability in X-linked gene expression in females. *Nature*. 2005, **434**, 400-404.
- CENTERWALL WR, BENIRSCHKE K. Male tortoiseshell and calico (T-C) cats. Animal models of sex chromosome mosaics, aneuploids, polyploids, and chimerics. *J. Hered.*. 1973, **64**, 272-278.
- Chatterie des Ducs de Bretagne. [en ligne]. (Mise à jour le 10/09/14). [<http://www.chatterie-des-ducs-de-bretagne.fr>] (consulté le 11/10/14).
- Chatterie des Doux Ronrons. [en ligne]. (Mise à jour le 02/11/14). [<http://users.skynet.be/lesdouxronrons>] (consulté le 04/11/14).
- Chatterie des Persans de Rose. [en ligne]. [<http://chat-persan.lunac.monsite-orange.fr>] (consulté le 26/11/14).
- CHIAL H. Somatic mosaicism and chromosomal disorders. *Nature Education*. 2008, **1**, 69.
- CHO KW, YOUN HY, WATARI T, TSUJIMOTO H, HASEGAWA A, SATOH H. A proposed nomenclature of the domestic cat karyotype. *Cytogenet. Cell Genet.*. 1997, **79**, 71-78.
- CHOW J, HEARD E. X inactivation and the complexities of silencing a sex chromosome. *Curr. Opin. Cell Biol.*. 2009, **21**, 359-366.
- COOPER M, FRETWELL N, BAILEY S, LYONS L. White spotting in the domestic cat (*Felis catus*) maps near KIT on feline chromosome B1. *Anim Genet*. 2006, **37**, 163-165.
- CUESTA M. Les maladies génétiques du chat domestique. Thèse. 2008, École Nationale Vétérinaire d'Alfort, 147 p.
- DAVID VA, MENOTTI-RAYMOND M, WALLACE AC, ROELKE M, KEHLER J, LEIGHTY R, et al. Endogenous Retrovirus Insertion in the KIT Oncogene Determines White and White spotting in Domestic Cats. *G3 (Bethesda)*. 2014, **4**, 1881-1891.
- DENG X, HIATT JB, NGUYEN DK, ERCAN S, STURGILL D, HILLIER LW, et al. Evidence for compensatory upregulation of expressed X-linked genes in mammals, *Caenorhabditis elegans* and *Drosophila melanogaster*. *Nat Genet*. 2011, **43**, 1179-1185.

- DOBRZYNSKI JH. The Imaginary Made Nearly Real. *Wall Street Journal*. 2013.
- DREGER DL, SCHMUTZ SM. A case of canine chimerism diagnosed using coat color tests. *Molecular and Cellular Probes, Animal DNA Diagnostics*. 2012, **26**, 253-255.
- DURET L, CHUREAU C, SAMAIN S, WEISSENBACH J, AVNER P. The Xist RNA gene evolved in eutherians by pseudogenization of a protein-coding gene. *Science*. 2006, **312**, 1653-1655.
- EIZIRIK E, DAVID VA, BUCKLEY-BEASON V, ROELKE ME, SCHAFFER AA, HANNAH SS, *et al*. Defining and Mapping Mammalian Coat Pattern Genes: Multiple Genomic Regions Implicated in Domestic Cat Stripes and Spots. *Genetics*. 2010, **184**, 267-275.
- Ensembl. [en ligne]. (Mise à jour le 01/10/14). [<http://www.ensembl.org>] (consulté le 13/10/14).
- Faculté de Médecine de Marseille. [en ligne]. (2005). In : MONCLA A, *Faculté de Médecine de Marseille - Université de la Méditerranée*. [<http://medidacte.timone.univ-mrs.fr/webcours/Comite-etudes/ItemsENC/sitelocal/disciplines/niveaudiscipline/niveaumodule/Item31/Item31.htm>] (consulté le 13/10/14).
- FEHILLY CB, WILLADSEN SM, TUCKER EM. Interspecific chimaerism between sheep and goat. *Nature*. 1984, **307**, 634-636.
- FRANK SA. Somatic evolutionary genomics: Mutations during development cause highly variable genetic mosaicism with risk of cancer and neurodegeneration. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2010, **107**, 1725-1730.
- FUMOTO S, HOSOI K, OHNISHI H, HOSHINA H, YAN K, SAJI H, *et al*. Chimerism of buccal membrane cells in a monozygotic twin. *Pediatrics*. 2014, **133**, e1097-1100.
- Genindexe. [en ligne]. [<http://www.genindexe.com>] (consulté le 10/09/14).
- GILBERT SF. *Developmental Biology*, 6th ed. 2000, Sinauer Associates.
- GILBERT SF. *Biologie du développement*. 2004, De Boeck Supérieur, 880 p.
- GILGENKRANTZ S, GILGENKRANTZ H. Chimères. *Médecine/sciences*. 2002, **18**, 391-391.
- GOLUBOVSKY MD. Postzygotic diploidization of triploids as a source of unusual cases of mosaicism, chimerism and twinning. *Hum. Reprod.* 2003, **18**, 236-242.
- GOSSLER A, DOETSCHMAN T, KORN R, SERFLING E, KEMLER R. Transgenesis by means of blastocyst-derived embryonic stem cell lines. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 1986, **83**, 9065-9069.

- GRAHN RA, LEMESCH BM, MILLON LV, MATISE T, ROGERS QR, MORRIS JG, *et al.* Localizing the X-linked orange colour phenotype using feline resource families. *Anim. Genet.*. 2005, **36**, 67-70.
- GREGSON NM, ISHMAEL J. Diploid-triploid chimerism in 3 tortoiseshell cats. *Res. Vet. Sci.*. 1971, **12**, 275-279.
- HALL JG. Review and hypotheses: somatic mosaicism: observations related to clinical genetics. *Am. J. Hum. Genet.*. 1988, **43**, 355-363.
- HARIKAE K, TSUNEKAWA N, HIRAMATSU R, TODA S, KUROHMARU M, KANAI Y. Evidence for almost complete sex-reversal in bovine freemartin gonads: formation of seminiferous tubule-like structures and transdifferentiation into typical testicular cell types. *J. Reprod. Dev.*. 2012, **58**, 654-660.
- HONG B, REEVES P, PANNING B, SWANSON MS, YANG TP. Identification of an autoimmune serum containing antibodies against the Barr body. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*. 2001, **98**, 8703-8708.
- HONG X, YING Y, XU X, LIU Y, CHEN Z, LAN X, *et al.* A dispermic chimera was identified in a healthy man with mixed field agglutination reaction in ABO blood grouping and mosaic 46, XY/46, XX karyotype. *Transfus. Apher. Sci.*. 2013, **48**, 223-228.
- HOTTOIS G. *Nouvelle encyclopédie de bioéthique : médecine, environnement, biotechnologie*. 2001, De Boeck Supérieur, 935 p.
- ISAG. *International Society for Animal Genetics*. [en ligne]. (2014). [<http://www.isag.us>] (consulté le 13/10/14).
- ISHIDA Y, DAVID VA, EIZIRIK E, SCHÄFFER AA, NEELAM BA, ROELKE ME, *et al.* A homozygous single-base deletion in MLPH causes the dilute coat color phenotype in the domestic cat. *Genomics*. 2006, **88**, 698-705.
- JANES S, DHALIWAL P, WOOD K. Tolerance in renal transplantation: is mixed chimerism the missing link?. *Nephrol. Dial. Transplant.*. 2009, **24**, 1726-1729.
- JUBB KFV, KENNEDY PC, PALMER N. The female genital system. *Pathology of domestic animals, New York, Academic Press*. 1985, **3**, 409-459.
- JURAS R, RAUDSEPP T, DAS PJ, CONANT E, COTHRAN EG. XX/XY Blood Lymphocyte Chimerism in Heterosexual Dizygotic Twins from an American Bashkir Curly Horse. Case Report. *Journal of Equine Veterinary Science*. 2010, **30**, 575-580.
- KHALIL AM, BOYAR FZ, DRISCOLL DJ. Dynamic histone modifications mark sex chromosome inactivation and reactivation during mammalian spermatogenesis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2004, **101**, 16583-16587.

- La Cité des Coon's. [en ligne]. (Mise à jour le 26/11/14). [<http://www.lacitedescoons.fr>] (consulté le 26/11/14).
- Larousse. [en ligne]. [<http://www.larousse.fr/dictionnaires/francais>] (consulté le 21/10/14).
- LAURIE CC, LAURIE CA, RICE K, DOHENY KF, ZELNICK LR, MCHUGH CP, *et al.* Detectable clonal mosaicism from birth to old age and its relationship to cancer. *Nat Genet.* 2012, **44**, 642-650.
- LEVEQUE F. Pompéi - La maison du poète tragique. *Navires Antiques - Le Musée Imaginaire.* 2010.
- LORIAUX A, BOULET S, DELORME V, ALTHUSER M, GIROUD LATHUILE C, GREGO S, *et al.* Chimérisme tétragamétique : à propos d'un cas. *Journal de Gynécologie Obstétrique et Biologie de la Reproduction.* 2011, **40**, 77-80.
- LYON MF. Gene action in the X-chromosome of the mouse (*Mus musculus* L.). *Nature.* 1961, **190**, 372-373.
- LYON MF. X-chromosome inactivation. *Curr. Biol.* 1999, **9**, R235-237.
- LYONS LA. Genetic testing in domestic cats. *Mol. Cell. Probes.* 2012, **26**, 224-230.
- MALOUF N, BENIRSCHKE K, HOEFNAGEL D. XX-XY chimerism in a tricolored male cat. *Cytogenetics.* 1967, **6**, 228-241.
- MENOTTI-RAYMOND M, DAVID VA, ROELKE ME, CHEN ZQ, MENOTTI KA, SUN S, *et al.* Second-generation integrated genetic linkage/radiation hybrid maps of the domestic cat (*Felis catus*). *J. Hered.* 2003, **94**, 95-106.
- MERZONI J, EWALD GM, PAZ AA, DAUDT LE, JOBIM LFJ. Quantification of mixed chimerism allows early therapeutic interventions. *Rev Bras Hematol Hemoter.* 2014, **36**, 369-372.
- MERZOUK S, DEUVE JL, DUBOIS A, NAVARRO P, AVNER P, MOREY C. Lineage-specific regulation of imprinted X inactivation in extraembryonic endoderm stem cells. *Epigenetics Chromatin.* 2014, **7**, 11.
- Messybeast Cats. *Basic Genetics For Breeders And Cat Lovers.* [en ligne]. In : Hartwell S. (2006). [<http://messybeast.com/genetics-index.htm>] (consulté le 27/06/14).
- Ministère de l'Agriculture, de l'Agroalimentaire et de la Forêt. [en ligne]. (Mise à jour le 18/02/14). [<http://www.ogm.gouv.fr>] (consulté le 14/10/14).
- MINKOVSKY A, SAHAKYAN A, RANKIN-GEE E, BONORA G, PATEL S, PLATH K. The Mbd1-Atf7ip-Setdb1 pathway contributes to the maintenance of X chromosome inactivation. *Epigenetics Chromatin.* 2014, **7**, 12.
- MORAN C, GILLIES CB, NICHOLAS FW. Fertile male tortoiseshell cats. Mosaicism due to gene instability ?. *J. Hered.* 1984, **75**, 397-402.

- NIKU M, PESSA-MORIKAWA T, TAPONEN J, IIVANAINEN A. Direct observation of hematopoietic progenitor chimerism in fetal freemartin cattle. *BMC Vet. Res.* 2007, **3**, 29.
- OLIVIER-VAN STICHELEN S, HANOVER JA. X-inactivation normalizes O-GlcNAc transferase levels and generates an O-GlcNAc-depleted Barr body. *Front Genet.* 2014, **5**, 256.
- OMIA. *Online Mendelian Inheritance in Animals*. [en ligne]. (Mise à jour le 30/11/14). [<http://omia.angis.org.au/home>] (consulté le 02/12/14).
- PADULA AM. The freemartin syndrome: an update. *Anim. Reprod. Sci.* 2005, **87**, 93-109.
- PEDERSEN AS, BERG LC, ALMSTRUP K, THOMSEN PD. A tortoiseshell male cat: chromosome analysis and histologic examination of the testis. *Cytogenet. Genome Res.* 2014, **142**, 107-111.
- PETTERS RM, MARKERT CL. Production and reproductive performance of hexaparental and octaparental mice. *J. Hered.* 1980, **71**, 70-74.
- PONTI G, PELLACANI G, TOMASI A, PERCESEPE A, GUARNERI C, GUERRA A, *et al.* Hypomelanosis of Ito with a trisomy 2 mosaicism: a case report. *J Med Case Rep.* 2014, **8**, 333.
- PONTIUS JU, MULLIKIN JC, SMITH DR, AGENCOURT SEQUENCING TEAM, LINDBLAD-TOH K, GNERRE S, *et al.* Initial sequence and comparative analysis of the cat genome. *Genome Res.* 2007, **17**, 1675-1689.
- RAMBERG RE, NORBY DE, THULINE HC. Chromosome mosaicism in male calico cats.. *Northwest Sci.* 1969, **43**, 42.
- READ A, DONNAI D. *Génétique médicale : de la biologie à la pratique clinique*. 2008, De Boeck Supérieur, 492 p.
- ROMAGNOLI S, SCHLAFER DH. Disorders of sexual differentiation in puppies and kittens: a diagnostic and clinical approach. *Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract.* 2006, **36**, 573-606, vii.
- RØNNE M. Localization of fragile sites in the karyotype of *Felis catus*. *Hereditas.* 1995, **122**, 279-283.
- ROSS CN, FRENCH JA, ORTÍ G. Germ-line chimerism and paternal care in marmosets (*Callithrix kuhlii*). *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 2007, **104**, 6278-6282.
- RYUGO DK, MENOTTI-RAYMOND M. Feline Deafness. *Vet Clin North Am Small Anim Pract.* 2012, **42**, 1179-1207.

- SCHMIDT-KÜNTZEL A, NELSON G, DAVID VA, SCHÄFFER AA, EIZIRIK E, ROELKE ME, *et al.* A domestic cat X chromosome linkage map and the sex-linked orange locus: mapping of orange, multiple origins and epistasis over nonagouti. *Genetics*. 2009, **181**, 1415-1425.
- SMEETS D, MARKAKI Y, SCHMID VJ, KRAUS F, TATTERMUSCH A, CERASE A, *et al.* Three-dimensional super-resolution microscopy of the inactive X chromosome territory reveals a collapse of its active nuclear compartment harboring distinct Xist RNA foci. *Epigenetics Chromatin*. 2014, **7**, 8.
- SZATKOWSKA I, ZYCH S, UDALA J, DYBUS A, BLASZCZYK P, SYSA P, *et al.* Freemartinism: three cases in goats. *Acta Veterinaria (Czech Republic)*. 2004.
- Venus's Page - Facebook. [en ligne]. (Mise à jour le 02/12/14). [<https://www.facebook.com/VenusTheAmazingChimeraCat/info>] (consulté le 02/12/14).
- WAREHAM KA, LYON MF, GLENISTER PH, WILLIAMS ED. Age related reactivation of an X-linked gene. *Nature*. 1987, **327**, 725-727.
- YANG F, BABAK T, SHENDURE J, DISTECHE CM. Global survey of escape from X inactivation by RNA-sequencing in mouse. *Genome Res.* 2010, **20**, 614-622.
- YU N, KRUSKALL MS, YUNIS JJ, KNOLL JHM, UHL L, ALOSCO S, *et al.* Disputed maternity leading to identification of tetragametic chimerism. *N. Engl. J. Med.* 2002, **346**, 1545-1552.

ANNEXE

25 cas rapportés de chats mâles écaïlle de tortue ou tricolores jusqu'en 1973 (d'après Centerwall *et al.*, 1973)

Cas No.	Tissu(s) étudié(s)	Caryotypes	Cellules étudiées	Fertilité	Interprétation
1.	Testicules	38XY	?	Oui	Chimère XY / XY
2.	Testicules	38XY	?	Oui	Chimère XY / XY
3.	Sang	39XXY	3	Non	Aneuploïdie XXY
4.	Sang	39XXY	9	Non	Aneuploïdie XXY
5.	Rein	38XX / 38XY	7	?	Chimère XX / XY
6.	Peau, péritoine	38XX / 57XXY	271	Non	Chimère diploïde / triploïde
7.	Peau	38XX / 38XY	29	Non	Chimère XX / XY
8.	<i>Fascia lata</i>	38XY / 39XXY	15	Non	Mosaïque XY / XXY
9.	Testicules, sang, rein	38XX / 38XY	96	Oui	Chimère XX / XY
10.	Peau, testicules, sang	38XX / 38XY / 39XXY / 40XXYY	28	Non	Chimère - Mosaïque XX / XY / XXY / XXYY
11.	Peau	38XY / 39XXY / 40XXYY	87	Non	Chimère - Mosaïque XY / XXY / XXYY
12.	Peau	38XX / 38XY	20	Oui	Chimère XX / XY
13.	Moelle osseuse	38XY / 39XXY	104	Non	Mosaïque XY / XXY
14.	Moelle osseuse	38XY / 39XXY	37	Non	Mosaïque XY / XXY
15.	Moelle osseuse	38XY / 39XXY	46	?	Mosaïque XY / XXY
16.	Sang, peau	38XX / 57XXY	104	Non	Chimère diploïde / triploïde
17.	Testicules	38XX / 57XXY	67	Non	Chimère diploïde / triploïde
18.	Peau, testicules	38XX / 57XXY	95	Oui	Chimère diploïde / triploïde
19.	Sang	39XXY	88	Non	Aneuploïdie XXY
20.	Peau	39XXY	45	Non	Aneuploïdie XXY
21.	Peau Sang Testicules	38XX / 57XXY 38XX 38XX	46 39 40	Non	Chimère diploïde / triploïde
22.	Peau	38XX / 38XY	50	Non	Chimère XX / XY
23.	Peau	38XX / 38XY	71	Oui	Chimère XX / XY
24.	Rein	38XY / 57XXY	31	?	Chimère diploïde / triploïde
25.	Peau	38XY	28	Oui	Chimère XY / XY

Le nombre de cellules utilisées pour obtenir les caryotypes des individus rapportés dans le tableau suivant a varié en fonction des cas, notamment du fait de l'ancienneté de

certaines analyses. Ainsi, moins de 16 cellules ont été analysées pour quatre chats et les méthodes d'étude employées pour deux autres chats sont inconnues ; les caryotypes des autres individus, réalisés après 1966 étaient établis à partir d'au moins 20 cellules. De plus, pour la grande majorité des cas rapportés, les caryotypes étaient obtenus suite au prélèvement d'un seul tissu (sang, testicules, peau, rein, moelle osseuse...).

Enfin, les techniques employées (par au moins neuf groupes de chercheurs différents) n'étaient pas standardisées et l'impact des divers temps de culture sur le nombre de chromosomes sexuels visualisés est indéterminé.

MOSAÏCISME ET CHIMÉRISME

CHEZ LE CHAT DOMESTIQUE

JARAUD-DARNAULT Ambre

RÉSUMÉ

En génétique, les termes de chimère et de mosaïque désignent des organismes composés d'au moins deux populations cellulaires génétiquement différentes, mais tandis que la mosaïque est issue d'un unique zygote, la chimère est d'origine polyzygotique.

Chez le chat domestique, la plupart des individus à robe tricolore ou écaille de tortue sont des femelles. Le phénotype de ces chattes est gouverné par un mosaïcisme épigénétique naturel retrouvé chez toutes les femelles de Mammifères : l'inactivation du chromosome X. Les rares mâles à robe tricolore ou écaille de tortue sont le plus souvent stériles du fait d'une anomalie chromosomique ; et chez les individus mâles fertiles, encore plus rarement observés, le phénotype est généralement expliqué soit par un mosaïcisme d'un (ou plusieurs) gène(s), soit par un chimérisme.

Nous nous sommes intéressés aux cas de quatre chats possédant une robe atypique afin de déterminer le mécanisme sous-jacent à leurs phénotypes : s'agissait-il de mosaïcisme ou de chimérisme ? Après avoir étudié les parents et les descendances de chaque individu (le cas échéant), nous avons pu montrer si ces individus étaient plus probablement des mosaïques ou des chimères, notamment grâce au panel de marqueurs microsatellites classiquement employés pour la réalisation des cartes d'identification génétique et grâce au génotypage pour un locus de coloration.

MOTS CLÉS : GÉNÉTIQUE / ADN / CHROMOSOME / PHÉNOTYPE / ROBE / MOSAÏCISME / CHIMÉRISME / ANIMAUX DOMESTIQUES / CARNIVORE / CHAT

JURY

Président : Pr.

Directeur : Dr. M. ABITBOL

Assesseur : Pr. P. BOSSÉ

MOSAICISM AND CHIMERISM

IN THE DOMESTIC CAT

JARAUD-DARNAULT Ambre

SUMMARY

In genetics, chimeras and mosaics are organisms composed by at least two cell populations that are genetically different, but whereas the mosaic comes from an unique zygote, the chimera has a polyzygotic origin.

In domestic cats, most of calico and tortie individuals are females. Their phenotype is caused by a natural epigenetic mosaicism which is also found in every mammalian female: the X-chromosome inactivation process. Calico and tortie males are rare and often sterile because of a chromosomal abnormality; the fertile ones are even more rare and their phenotype is generally explained by a gene mosaicism or a chimerism.

We have analysed the cases of four cats with atypical coat color in order to find what was the underlying mechanism: was it mosaicism or chimerism? After studying their parents and their offspring (if so), we've been able to demonstrate if these individuals were more probably mosaics or chimeras (by using a panel of microsatellite markers classically employed for feline genetic identification and a colour-gene genotyping assay).

KEYWORDS : GENETICS / DNA / CHROMOSOME / PHENOTYPE / COAT / MOSAICISM / CHIMERISM / DOMESTIC ANIMALS / CARNIVORE / CAT

JURY

President : Pr.

Director : Dr. M. ABITBOL

Assessor : Pr. P. BOSSÉ