

Année 2016

**GÈNES ET MUTATIONS IMPLIQUÉS DANS
LA COULEUR DU PELAGE CHEZ LES
CARNIVORES DOMESTIQUES :
APPLICATION À L'ÉLEVAGE**

THÈSE

Pour le DOCTORAT VÉTÉRINAIRE

Présentée et soutenue publiquement devant

LA FACULTÉ DE MÉDECINE DE CRÉTEIL

le 21 janvier 2016

par

Marie, Gabrielle SIMI

Née le 18 décembre 1990 à Lyon 8^{ème} (Rhône)

JURY

Président : Pr. GRIMBERT

Professeur à la Faculté de Médecine de CRÉTEIL

Membres

Directeur : Dr. Marie ABITBOL

Maître de conférence, Unité de Génétique Médicale et Moléculaire, ENVA

Assesseur : Pr. Philippe BOSSE

Professeur, Unité de Zootechnie, Economie Rurale, 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, M. COURREAU Jean-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 : M. GRANDJEAN Dominique, Professeur - Adjoint : M. BLOT Stéphane, Professeur**

UNITE DE CARDIOLOGIE - Mme CHETBOUL Valérie, Professeur * - Mme GKOUNI Vassiliki, Praticien hospitalier - Mme SECHI-TREHIOU Emilie, Praticien hospitalier UNITE DE CLINIQUE EQUINE - 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, Praticien hospitalier UNITE D'IMAGERIE MEDICALE - Mme PEY Pascaline, Maître de conférences contractuel - Mme STAMBOULI Fouzia, Praticien hospitalier UNITE DE MEDECINE - M. AGUILAR Pablo, Praticien hospitalier - Mme BENCHEKROUN Ghita, Maître de conférences - M. BLOT Stéphane, Professeur* - M. CAMPOS Miguel, Maître de conférences associé - Mme FREICHE-LEGROS Valérie, Praticien hospitalier - Mme MAUREY-GUENEC Christelle, Maître de conférences UNITE DE MEDECINE DE L'ELEVAGE ET DU SPORT - 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	DISCIPLINE : NUTRITION-ALIMENTATION - M. PARAGON Bernard, Professeur DISCIPLINE : OPHTALMOLOGIE - Mme CHAHORY Sabine, Maître de conférences UNITE DE PARASITOLOGIE ET MALADIES PARASITAIRES - M. BLAGA Radu Gheorghe, Maître de conférences (rattaché au DPASP) - Mme COCHET-FAIVRE Noëlle, Praticien hospitalier - M. GUILLOT Jacques, Professeur * - Mme MARGINAC Geneviève, Maître de conférences - M. POLACK Bruno, Maître de conférences - Mme RISCO CASTILLO Véronica, Maître de conférences (rattachée au DSBP) UNITE DE PATHOLOGIE CHIRURGICALE - M. FAYOLLE Pascal, Professeur - M. MAILHAC Jean-Marie, Maître de conférences - M. MANASSERO Mathieu, Maître de conférences - M. MOISSONNIER Pierre, Professeur - Mme VIATEAU-DUVAL Véronique, Professeur * - M. ZILBERSTEIN Luca, Maître de conférences DISCIPLINE : URGENCE SOINS INTENSIFS - Mme STEBLAJ Barbara, Praticien Hospitalier DISCIPLINE : NOUVEAUX ANIMAUX DE COMPAGNIE - 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**

UNITE D'HYGIENE QUALITE ET SECURITE DES ALIMENTS - M. AUGUSTIN Jean-Christophe, Professeur - M. BOLNOT François, Maître de conférences * - M. CARLIER Vincent, Professeur UNITE DES MALADIES CONTAGIEUSES - Mme DUFOUR Barbara, Professeur* - Mme HADDAD/HOANG-XUAN Nadia, Professeur - Mme PRAUD Anne, Maître de conférences - Mme RIVIERE Julie, Maître de conférences contractuel UNITE DE PATHOLOGIE DES ANIMAUX DE PRODUCTION - M. ADJOU Karim, Maître de conférences * - M. BELBIS Guillaume, Assistant d'enseignement et de recherche contractuel - M. MILLEMANN Yves, Professeur - Mme RAVARY-PLUMIOEN Bérangère, Maître de conférences - Mme ROUANNE Sophie, Praticien hospitalier	UNITE DE REPRODUCTION ANIMALE - 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 UNITE DE ZOOTECHNIE, ECONOMIE RURALE - M. ARNE Pascal, Maître de conférences - M. BOSSE Philippe, Professeur* - Mme DE PAULA REIS Alline, 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 : M. CHATEAU Henry, Professeur - Adjoint : Mme PILOT-STORCK Fanny, Maître de conférences**

UNITE D'ANATOMIE DES ANIMAUX DOMESTIQUES - M. CHATEAU Henry, Professeur* - Mme CREVIER-DENOIX Nathalie, Professeur - M. DEGUEURCE Christophe, Professeur - Mme ROBERT Céline, Maître de conférences UNITE DE BACTERIOLOGIE, IMMUNOLOGIE, VIROLOGIE - M. BOULOUIS Henri-Jean, Professeur* - Mme LE PODER Sophie, Maître de conférences - Mme LE ROUX Delphine, Maître de conférences - Mme QUINTIN-COLONNA Françoise, Professeur UNITE DE BIOCHIMIE - M. BELLIER Sylvain, Maître de conférences* - Mme LAGRANGE Isabelle, Praticien hospitalier - M. MICHAUX Jean-Michel, Maître de conférences DISCIPLINE : EDUCATION PHYSIQUE ET SPORTIVE - M. PHILIPS Pascal, Professeur certifié DISCIPLINE : ETHOLOGIE - Mme GILBERT Caroline, Maître de conférences UNITE DE GENETIQUE MEDICALE ET MOLECULAIRE - Mme ABITBOL Marie, Maître de conférences - M. PANTHIER Jean-Jacques, Professeur*	UNITE D'HISTOLOGIE, ANATOMIE PATHOLOGIQUE - 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 UNITE DE MANAGEMENT, COMMUNICATION, OUTILS SCIENTIFIQUES - Mme CONAN Muriel, Professeur certifié (Anglais) - M. DESQUILBET Loïc, Maître de conférences (Biostatistiques, épidémiologie)* - Mme FOURNEL Christelle, Maître de conférences contractuel (Gestion et management) UNITE DE PHARMACIE ET TOXICOLOGIE - Mme ENRIQUEZ Brigitte, Professeur - M. PERROT Sébastien, Maître de conférences - M. TISSIER Renaud, Professeur* UNITE DE PHYSIOLOGIE ET THERAPEUTIQUE - Mme COMBRISSEON Hélène, Professeur - Mme PILOT-STORCK Fanny, Maître de conférences - M. TIRET Laurent, Professeur *
--	---

* responsable d'unité

REMERCIEMENTS

Au Président du Jury,

Professeur de la Faculté de Médecine de Créteil,

Qui nous fait l'honneur d'accepter la présidence de notre jury de thèse,

Hommage respectueux.

A Madame le Docteur Marie ABITBOL,

Maître de Conférences à l'École Nationale Vétérinaire d'Alfort,

Pour avoir accepté la direction de cette thèse,

Pour le temps passé à la correction de ce manuscrit, son extrême patience et sa réactivité,

Sincères remerciements.

À Monsieur le Professeur Philippe BOSSE,

Professeur à l'École Nationale Vétérinaire d'Alfort,

Pour avoir accepté d'être notre assesseur de thèse,

Pour ses corrections précises et sa réactivité,

Hommage reconnaissant.

À mes parents,

Rien de tout cela n'aurait été possible sans vous,

Merci Papa pour tes corrections,

Merci Maman pour ton soutien,

Merci à tous les deux d'avoir fait de moi ce que je suis aujourd'hui,

Je vous aime.

TABLE DES MATIÈRES

LISTE DES FIGURES	3
LISTE DES TABLEAUX	5
LISTE DES ANNEXES	7
LISTE DES ABRÉVIATIONS	9
INTRODUCTION	11

PREMIÈRE PARTIE : GÈNES ET MUTATIONS IMPLIQUÉS DANS LA COULEUR DE LA ROBE CHEZ LE CHIEN

1. Gènes et allèles déterminant la répartition des deux types de pigments	14
1.1. Gène ASIP –Locus A (Agouti)	14
1.2. Gène RALY	23
1.3. Gène MC1R – Locus E (Extension)	25
1.4. Gène β -défensine 103 – Locus K (black)	31
2. Gènes et allèles déterminant la couleur et l'intensité des pigments	35
2.1. Gène TYRP1 – Locus B (Brown)	35
2.2. Gène MLPH – Locus D (Dilution)	39
2.3. Gène SLC45A2 et albinisme	42
2.4. Gène PMEL17 – Locus S (Silver)	45
2.5. Gène PSMB7 - Locus H (Harlequin ou arlequin)	49
3. Gènes et allèles influençant les marques blanches	53
3.1. Gène MITF - Locus S (white Spotting)	53
3.2. Gène KIT et panachure blanche	69
4. Résumé des mécanismes moléculaires impliqués dans la couleur des robes de chien	73

DEUXIÈME PARTIE : GÈNES ET MUTATIONS IMPLIQUÉS DANS LA COULEUR DE LA ROBE CHEZ LE CHAT

1. Gènes et allèles déterminant la répartition des deux types de pigments	75
1.1. Gène ASIP - Locus A (Agouti)	75
1.2. Gène MC1R - Locus E (Extension)	78
2. Gènes et mutations déterminant la couleur et l'intensité des pigments	82
2.1. Gène TYRP1- Locus B (Brown)	82
2.2. Gène MLPH - Locus D (Dilution)	85
3. Gènes et mutations déterminant les motifs et patrons de robe	87
3.1. Gène TYR - Locus C (Colour)	87
3.2. Patrons Tabby - Loci Ti (Ticked) et Ta (Tabby) –Gène TAQPEP	92
4. Gène et mutations déterminant les marques blanches	97
Gène KIT - Loci S (white Spotting) et W (White)	97
5. Résumé des gènes impliqués dans la couleur du chat	104
6. Robe blanche et surdité congénitale héréditaire	104

6.1.	Association entre les allèles récessifs du locus S et la surdité chez le chien.....	106
6.2.	Association entre l'allèle M du locus M du chien et la surdité.....	108
6.3.	Association entre l'allèle W du locus White du chat et la surdité des chats blancs.....	109

TROISIÈME PARTIE : APPLICATION A L'ÉLEVAGE

1.	Rappels sur les modes de transmission	113
1.1.	Mode autosomique dominant.....	113
1.2.	Mode autosomique récessif	113
1.3.	Mode autosomique semi-dominant.....	114
2.	Tests disponibles	114
3.	Choix du laboratoire.....	115
3.1.	Laboratoires français.....	115
3.2.	Laboratoires étrangers.....	116
3.3.	Critères de choix	116
4.	Modalités de réalisation et usage	117
4.1.	Types de prélèvement	117
4.2.	Réalisation d'un écouvillon ou d'un frottis buccal	118
4.3.	Identification du prélèvement et remplissage de la feuille de prélèvement.....	119
4.4.	Envoi du prélèvement accompagné de la fiche de prélèvement.....	120
4.5.	Utilisation des résultats des tests, exemples	120

CONCLUSION	125
-------------------------	------------

ANNEXES	127
----------------------	------------

BIBLIOGRAPHIE	143
----------------------------	------------

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Couleurs d'eumélanine (Source : www.doggenetics.co.uk)	14
Figure 2 : Couleurs de phéomélanine (Source : www.doggenetics.co.uk)	14
Figure 3 : Exemples de robes déterminées par le locus A (d'après Dreger et Schmutz, 2011)	15
Figure 4 : Schéma simplifié de l'action de MC1R et ASIP dans la synthèse des mélanines (Naoum, 2014)	16
Figure 5 : Identification de la mutation de l'allèle <i>a</i> (Kerns <i>et al.</i> , 2004)	17
Figure 6 : Différentes robes de chiens homozygotes <i>A^y/A^y</i> (Berryere <i>et al.</i> , 2005)	18
Figure 7 : Localisation des insertions SINE dans l'intron 1 du gène <i>Agouti</i> (Dreger et Schmutz, 2011).....	20
Figure 8 : Proposition d'évolution des allèles du gène <i>Agouti</i> (Schmutz et Dreger, 2014).....	22
Figure 9 : Caractéristiques de la robe fauve à manteau (Dreger <i>et al.</i> , 2013).....	24
Figure 10 : Robe grizzle du Saluki (d'après Dreger et Schmutz, 2010).....	26
Figure 11 : Pédigree d'une portée de Dogues Allemands pour étude de l'allèle <i>bringé</i> (Schmutz <i>et al.</i> , 2003)	29
Figure 12 : Exemples de pédigrées de Lériers Afghans incluant la robe domino (Dreger et Schmutz, 2010).....	30
Figure 13 : Schématisation des actions possibles du produit du locus <i>K</i> , avant découverte du gène associé, par Kerns <i>et al.</i> (2007)	34
Figure 14 : Jaïn, labrador noir porteur de l'allèle <i>B</i> et Jax, labrador chocolat <i>b/b</i> (Photo de Amandine Prélôt)	36
Figure 15 : Dobermann bleu-et-feu comparé au Dobermann noir-et-feu (Philipp <i>et al.</i> , 2005b)	39
Figure 16 : Apparence typique des Dobermanns blancs (Winkler <i>et al.</i> , 2014)	43
Figure 17 : Phénotype oculaire des Dobermanns blancs (Winkler <i>et al.</i> , 2014).....	43
Figure 18 : Lhasa Apso albinos (Wisejena et Schmutz, 2015).....	45
Figure 19 : Comparaison des allèles <i>SILV</i> merle et sauvage (Clark <i>et al.</i> , 2006).....	46
Figure 20 : Ségrégation de l'insertion SINE dans <i>SILV</i> avec le phénotype merle (Clark <i>et al.</i> , 2006).....	47
Figure 21 : Phénotypes résultants des variations génétiques au locus <i>M</i> et <i>H</i> chez le Dogue Allemand (Clark <i>et al.</i> , 2011).....	49
Figure 22 : Phénotypes typiques des différentes homozygoties pour les allèles du locus <i>S</i> décrits par (Schmutz <i>et al.</i> , 2009)	54
Figure 23 : Diversité de l'extension de la panachure blanche (Site anglais de Royal Canin) ..	55
Figure 24 : Panachure irlandaise du Basenji et pseudo-irlandaise du Boxer (production personnelle)	55
Figure 25 : Allèles par race pour deux mutations candidates au locus <i>S</i> (Karlsson <i>et al.</i> , 2007)	58
Figure 26 : Illustration des trois phénotypes pour les races où il y a codominance de l'allèle porteur de SINE (responsable du blanc) et d'un allèle sans SINE (Schmutz <i>et al.</i> , 2009)	60
Figure 27 : Localisation de trois mutations du promoteur de <i>MITF-M</i> et effets sur sa transcription (Körberg <i>et al.</i> , 2014).....	67

Figure 28 : Phénotype panaché du Berger Allemand (Wong et al., 2013)	70
Figure 29 : Phénotype panaché de blanc exceptionnel du Braque de Weimar (Gerding et al., 2013).....	71
Figure 30 : Poils agouti et unis (production personnelle)	75
Figure 31 : Robes du Bengal (Gershony et al., 2014).....	77
Figure 32 : Evolution de la robe ambre du Norvégien, de la naissance à l'âge adulte (Abitbol, 2012).....	79
Figure 33 : Evolution de la coloration des poils des chats ambre tabby (A) et unis (B) (production personnelle)	80
Figure 34 : Photographies illustrant la variabilité des robes ambres chez le Norvégien (Peterschmitt et al., 2009)	81
Figure 35 : Couleurs de l'eumélanine chez le chat (Abitbol, 2012)	83
Figure 36 : Robes résultant de la dilution des pigments chez les chats <i>d/d</i> (Abitbol, 2012) ...	85
Figure 37 : Schématisation de l'effet d'une homozygotie <i>d/d</i> sur le poil, ayant pour résultat la dilution de sa couleur (production personnelle).....	86
Figure 38 : Phénotypes contrôlés par le locus <i>C</i> du chat (Lyons et al., 2005).....	88
Figure 39 : Phénotypes albinos et <i>coulourpoint</i> des chats du pédigrée utilisé pour la caractérisation de l'allèle <i>c</i> (<i>albinos</i>) du locus <i>C</i> (Imes et al., 2006).....	91
Figure 40 : Patrons tabby tiqueté (<i>ticked</i>), tacheté (<i>spotted</i>), tigré (<i>mackerel</i>) et classique (<i>blotched</i>) (Eizirik et al., 2010).....	93
Figure 41 : Résumé des mécanismes impliqués dans le déterminisme des patrons tabby (Kaelin et al., 2012).....	96
Figure 42 : Chat blanc porteur de l'allèle <i>W</i> aux yeux vairons (un oeil bleu, un oeil vert).....	98
Figure 43 : Différents patrons de panachure allant du chat ganté (<i>mitted</i>) au chat van (David et al., 2014)	98
Figure 44 : Différents exemples de panachure avec un chat ganté (a), un chat bicolore (b) et un chat van (c) (Abitbol, 2012)	99
Figure 45 : Schéma des insertions LTR de l'allèle <i>W</i> et FERV complète de l'allèle <i>w^s</i> par rapport à l'allèle sauvage <i>w⁺</i> (David et al., 2014)	100
Figure 46 : Famille de chats montrant la diversité des panachures au sein même d'une portée, pour un même génotype (David et al., 2014).....	103
Figure 47 : Schéma de coupe transversale de la cochlée (Strain, 1999)	105
Figure 48 : Instruments utilisables pour la réalisation d'un frottis buccal	117
Figure 49 : Réalisation d'un écouvillon ou d'un frottis buccal (Site de VGL, UC Davis)	118
Figure 50 : Exemple de fiche explicative fournie avec le kit de prélèvement de Genindexe (Site de Genindexe).....	119
Figure 51 : Feuille de prélèvement de VGL (Site de VGL).....	120
Figure 52 : Exemple de résultat de test ADN de couleur pour un chat Bengal	121
Figure 53 : Exemple de prédiction des couleurs des chiots lors du mariage d'un Labrador marron et d'un Labrador noir porteur de marron	122
Figure 54 : Exemple de prédiction des couleurs des chatons lors du mariage d'un Tonkinois <i>blue point</i> et d'un Tonkinois <i>natural mink</i> porteur de dilution	123

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Variations des séquences protéiques d'ASIP en fonction des allèles <i>Agouti</i> (Berriere <i>et al.</i> , 2005).....	19
Tableau 2 : Résumé des mécanismes moléculaires impliqués dans le locus <i>A</i> du chien	23
Tableau 3 : Génotype des allèles de <i>MC1R</i> pour six SNP (d'après Newton <i>et al.</i> , 2000).....	27
Tableau 4 : Résumé des mécanismes moléculaires impliqués dans le locus <i>E</i> du chien	31
Tableau 5 : Relations épistatiques entre <i>Agouti</i> , <i>K</i> et <i>MC1R</i> (Kerns <i>et al.</i> , 2007).....	33
Tableau 6 : Résumé des mécanismes moléculaires concernant le locus <i>K</i> du chien	35
Tableau 7 : Polymorphismes de <i>TYRP1</i> chez le chien (Schmutz <i>et al.</i> , 2002)	36
Tableau 8 : Corrélation entre les génotypes aux loci <i>E</i> et <i>B</i> avec la couleur du pelage, de la truffe et des lèvres (Schmutz <i>et al.</i> , 2002).....	38
Tableau 9 : Résumé des mécanismes moléculaires concernant le locus <i>B</i> du chien	39
Tableau 10 : Comparaison des séquences donneuses d'épissage sauvage et mutée chez le chien avec une séquence donneuse d'épissage connue chez l'homme (Drogemüller <i>et al.</i> , 2007).....	40
Tableau 11 : Résumé des mécanismes moléculaires concernant le locus <i>D</i> du chien	42
Tableau 12 : Résumé des mécanismes moléculaires concernant le locus <i>M</i> du chien.....	48
Tableau 13 : Pourcentage des génotypes au nucléotide 146 de <i>PSMB7</i> chez 247 Dogues Allemands et 104 autres chiens de races (Clark <i>et al.</i> , 2011)	51
Tableau 14 : Résumé des mécanismes moléculaires concernant le locus <i>H</i>	53
Tableau 15 : Génotypes de 79 chiens de race avec une transmission codominante des marques blanches (Schmutz <i>et al.</i> , 2009)	59
Tableau 16 : Génotypes des 151 chiens de race où l'allèle porteur de SINE, responsable des marques blanches, est récessif (Schmutz <i>et al.</i> , 2009).....	61
Tableau 17 : Fréquences alléliques de trois mutations candidates du locus <i>S</i> chez des loups de différentes origines géographiques (Körberg <i>et al.</i> , 2014).....	62
Tableau 18 : Allèles du SINE et du <i>Lp</i> dans le promoteur de <i>MITF-M</i> chez des chiens et des loups (Körberg <i>et al.</i> , 2014)	64
Tableau 19 : Résumé des mécanismes moléculaires concernant le locus <i>S</i> du chien	69
Tableau 20 : Résumé des mutations du gène <i>KIT</i> du chien	72
Tableau 21 : Résumé des mécanismes moléculaires impliqués dans le locus <i>A</i> du chat	78
Tableau 22 : Résumé des mécanismes moléculaires impliqués dans le locus <i>E</i> du chat	82
Tableau 23 : Etude d'association des phénotypes cannelle et chocolat avec les trois mutations identifiées dans <i>TYRP1</i> (d'après Schmidt-Küntzel <i>et al.</i> , 2005).....	84
Tableau 24 : Mécanismes moléculaires impliqués dans le locus <i>B</i> du chat.....	85
Tableau 25 : Résumé des mécanismes moléculaires impliqués dans le locus <i>D</i> du chat.....	87
Tableau 26 : Etude d'association des phénotypes sépia, <i>colourpoint</i> et <i>mink</i> avec les variants c.679G>T et c.901G>A (Schmidt-Küntzel <i>et al.</i> , 2005).....	89
Tableau 27 : Résumé des mécanismes moléculaires impliqués dans le locus <i>C</i> du chat.....	92
Tableau 28 : Résumé des allèles impliqués dans le déterminisme des patrons tabby au locus <i>Ticked (Ti)</i> et <i>Tabby (Ta)</i> (Eizirik <i>et al.</i> , 2010).....	94
Tableau 29 : Résumé des génotypes au locus <i>W</i> dans un échantillon de 270 chats de 30 races différentes (David <i>et al.</i> , 2014)	100

Tableau 30 : Génotypes au locus <i>W</i> associés au phénotype (couleur du pelage, statut auditif et couleur des yeux) (David <i>et al.</i> , 2014)	102
Tableau 31 : Résumé des mécanismes moléculaires impliqués dans le locus <i>W</i> du chat	103
Tableau 32 : Liste des races de chats à robe blanche, porteuses de l'allèle <i>W</i> , prédisposées à la surdité congénitale (Strain, 1999)	104
Tableau 33 : Prévalence de surdité dans huit races chez 11 300 chiens (Strain, 2003)	106
Tableau 34 : Comparaison des prévalences de surdité dans cinq races de chiens en fonction des couleurs de robe (Strain, 2003)	107
Tableau 35 : Prévalence de la surdité chez les chiens merles, <i>M/M</i> et <i>M/m</i> (Strain <i>et al.</i> , 2009)	108
Tableau 36 : Statut auditif de 84 chats blancs de race (Cvejic <i>et al.</i> , 2009)	110
Tableau 37 : Statut auditif en fonction du génotype au locus <i>W</i> de 71 chats (David <i>et al.</i> , 2014).....	111

LISTE DES ANNEXES

Annexe 1 : Allèles <i>Agouti</i> présents dans 35 races étudiées par Dreger et Schmutz, 2011	127
Annexe 2 : Résumé des loci, gènes et allèles impliqués dans la couleur de la robe du chien (Kaelin et Barsh, 2012)	128
Annexe 3 : Types de mutations impliquées dans la couleur du pelage du chien (Kaelin et Barsh, 2012)	129
Annexe 4 : Races concernées par la surdité congénitale héréditaire (Strain, 2003)	130
Annexe 5 : Tableaux des tests disponibles chez le chien (1/2)	131
Annexe 6 : Tableaux des tests disponibles chez le chien 2/2	132
Annexe 7 : Tableaux des tests disponibles chez le chat (1/2)	133
Annexe 8 : Tableaux des tests disponibles chez le chat (2/2)	134
Annexe 9 : Feuilles de prélèvement chien et chat de Laboklin (Site de Laboklin).....	135
Annexe 10 : Exemple de feuille de prélèvement de Langford (Site de Langford)	138
Annexe 11: Fiche de prélèvement de Genindexe (Site de Genindexe).....	139
Annexe 12 : Certificat de prélèvement de Genimal (Site de Genimal)	140
Annexe 13 : Certificat de prélèvement d'Antagene (Site d'Antagene).....	141

LISTE DES ABRÉVIATIONS

α -MSH : α Melanocortin Stimulating Hormone
ADN : Acide DésoxyriboNucléique
 ADNc : ADN complémentaire
AMPc : Adénosine MonoPhosphate cyclique
ARN : Acide RiboNucléique
 ARNm : ARN messenger
ASIP : *Agouti Signaling Protein*
BHFD : *Black Hair Follicular Dysplasia*
CBD103 : β -Défensine 103
CDA : alopecie des robes diluées - *Colour Dilution Alopecia*
CFA : Chromosome de *Canis familiaris*
DCT : DOPAchrome Tautomérase = **TYRP2**
DOPAchrome : acide 5,6-quinone indolene-2-carboxylique
EDN 3 : EnDothéliNe 3
FERV : *Feline Endogenous RetroVirus*
HS2 : *Kit DNase Hypersensitive Site 2*
KIT : récepteur à activité Tyrosine KInase
MC1R : *MelanoCortin 1 Receptor*
MGF : *Mast Growth cell Factor* - ligand de KIT
MITF : *Micro-associated Transcription Factor*
MLPH : MéLanoPHiline
LEF1 : *Lymphoid Enhancer-binding Factor 1*
LOOF : Livre Officiel des Origines Félines
Lp : *Length polymorphism*
LTR : *Long Terminal Repeat*
OCA : *OculoCutaneous Albinism*
PAX3 : *PAired boX 3*
PCR : *Polymerase Chain Reaction*
PMEL17 : protéine Prémélanosomale 17
Poly A : polyadénylée
PSMB7 : *Proteasome Subunit β type 7*
RALY : *heterogenous nuclear ribonucleprotein (hnRNP) Associated with Letal Yellow*
RLU : *Related Luciferase Units*
RPE : *Retinal Pigment Epithelium*
SINE : *Short Interspersed Nuclear Element*
SILV : *SILVer*
SLC45A2 : *SoLute Carrier family 45, member 2*
SNP : *Single Nucleotide Polymorphism*
SOX10 : *SRY-bOX containing gene 10*
SP : *Signaling Peptide*
TM : domaine TransMembranaire

TAQPEP : *Transmembrane Aminopeptidase Q*

TYR ou **Tyr** : TYRosinase

TYRP1 ou **Tyrp1** : TYRosinase-Related Protein 1

TYRP 2 ou **Tyrp2** : TYRosinase-Related Protein 2 = **DCT**

INTRODUCTION

La couleur du pelage est l'un des caractères morphologiques présentant le plus de variations chez nos carnivores domestiques, le chien et le chat, mais aussi chez un grand nombre d'autres espèces sauvages. Dans la nature, ces variations ont plusieurs rôles adaptatifs importants comme le camouflage, l'échappée aux prédateurs, la communication et la régulation de certains processus physiologiques. Chez le chien et le chat, les robes sont extrêmement variées car la couleur de la robe est un caractère de grand intérêt sélectionné dans l'élevage des animaux domestiques. Cette variété fournit un modèle efficace pour étudier la complexité des interactions entre gènes, leur fonctionnement, les voies de signalisation cellulaire, les facteurs de transcription et l'interaction des gènes avec l'environnement.

La génétique des couleurs de pelage est étudiée depuis le balbutiement de la génétique mendélienne chez les Mammifères. Certains auteurs suggérèrent même que Mendel, le fondateur de la génétique moderne, aurait développé les principes de la génétique en étudiant les croisements de souris et les phénotypes en résultant dans sa chambre de monastère, puis confirmé ces principes par les études connues sur les petits pois (O'Brien *et al.*, 1986). Le locus *albino* de la souris a été le premier caractère des mammifères à être analysé suite à la redécouverte des lois mendéliennes dans les années 1900. A ce jour, plus de 90 gènes ont été identifiés chez la souris comme impliqués dans la détermination de la couleur de la robe. Dans ces gènes, une mutation ponctuelle peut parfois mener à une modification radicale du phénotype, notamment lorsqu'elle concerne un gène majeur de la pigmentation.

La première partie de ce manuscrit est constituée par l'étude bibliographique des gènes et mutations identifiés à ce jour comme impliqués dans la couleur de la robe chez le chien. La deuxième partie est consacrée au chat et dans une troisième partie nous avons présenté les applications pratiques en élevage des connaissances acquises sur le déterminisme moléculaire de la pigmentation des carnivores domestiques. Ce manuscrit se veut un support facilement accessible aux éleveurs, présentant les avancées en la matière, et permettant de comprendre la plupart des robes de nos carnivores domestiques, pour faciliter la mise en place de programmes d'élevage adaptés.

PREMIÈRE PARTIE

GÈNES ET MUTATIONS IMPLIQUÉS DANS LA COULEUR DE LA ROBE CHEZ LE CHIEN

Chez les Mammifères, la coloration du pelage est due à la présence de pigments, les mélanines, produits dans des organites appelés les mélanosomes. Ces organites sont synthétisés par les cellules spécialisées que sont les mélanocytes (Ortonne et Benedetto, 1981). Les mélanocytes sont présents dans les follicules pileux, la peau et diverses autres structures comme la *stria vascularis* de l'oreille interne, l'iris et choroïde de l'œil, le cœur et les méninges (Yamaguchi et Hearing, 2014).

C'est donc à la fois le développement des mélanocytes, puis leur capacité à produire les différents types de pigments au sein des mélanosomes, qui vont aboutir à la coloration unique du pelage, des yeux et des muqueuses (truffe notamment) de chaque animal.

L'analyse génétique de la pigmentation, en particulier chez la souris, a permis d'établir l'existence de nombreuses mutations (plus de 140), qui affectent les différents loci (> 60) impliqués plus ou moins directement dans la détermination génétique de la couleur du pelage. Certaines de ces mutations altèrent seulement la pigmentation et/ou les autres rôles des mélanocytes, alors que d'autres ont des effets marqués sur le développement de l'animal (Bouchard, 1993).

Chez le chien, le nombre de mutations identifiées est bien moindre et ces mutations ont rarement des effets autres que la modification de la robe, puisque dans cette espèce, les mutations aux effets délétères marqués sont vite éliminées par contre-sélection.

Nous allons détailler les mutations identifiées chez le chien qui modulent la couleur de son pelage et nous ne ferons que citer, pour information, les loci non élucidés à l'échelle moléculaire.

Il y a deux types de pigments, produits dans les mélanocytes, qui déterminent la couleur du pelage du chien et du chat, ainsi que celle de la plupart des mammifères : l'eumélanine et la phéomélanine. Des gènes déterminent :

- la répartition des mélanocytes dans le poil,
- la nature et la concentration des pigments produits par ceux-ci.

Ceci aboutit aux robes plus ou moins complexes que nous connaissons. L'eumélanine a une couleur qui varie du brun au noir (Figure 1) et la phéomélanine a une couleur qui varie du jaune pâle au rouge (Figure 2).

Figure 1 : Couleurs d'eumélanine (Source : www.doggenetics.co.uk)

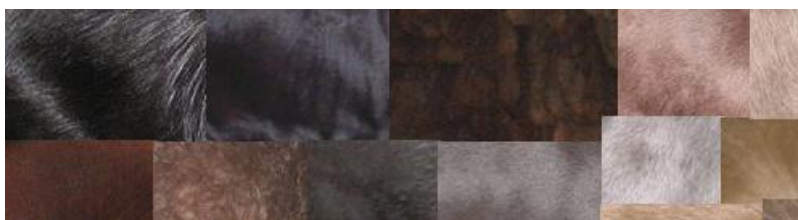
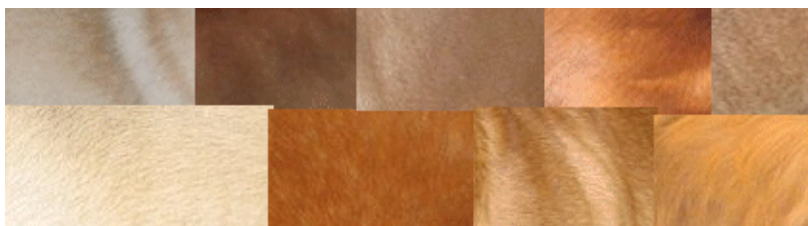


Figure 2 : Couleurs de phéomélanine (Source : www.doggenetics.co.uk)



1. Gènes et allèles déterminant la répartition des deux types de pigments (d'après Schmutz et Berryere 2007)

1.1. Gène ASIP –Locus A (Agouti)

Détails des allèles et phénotypes associés

Le locus Agouti détermine la répartition de la phéomélanine et de l'eumélanine, dans l'espace et le temps. Il existe chez le chien quatre allèles connus du gène présent à ce locus, dans l'ordre de dominance suivant : $A^Y > a^w > a^t > a$.

A^Y : pelage **fauve ou sable plus ou moins charbonné** (Figure 3C). Le museau et les yeux sont colorés par l'eumélanine. La robe est essentiellement phéomélanique mais il peut y avoir présence de poils eumélaniques en plus ou moins grande quantité sur les zones dorsales.

a^w : pelage **gris-loup** (Figure 3A) avec une phéomélanine claire et la présence de poils **agoutis** foncés, zonés d'eumélanine et de phéomélanine. Cet allèle agit différemment chez le chien, qu'il ne le fait chez le lapin ou la souris, car contrairement à eux, les poils zonés ne sont pas présents sur tout le corps de l'animal mais limité à certaines régions ; les régions plutôt dorsales : dessus de la tête, dos, haut des pattes. Les zones ventrales sont très claires. Ce sont surtout les races nordiques qui ont conservé cet allèle (Spitz, Elkhound, etc .), et les races très proches du loup.

a^t : détermine la robe **noir-et-feu** (Figure 3B), ou noire marquée de feu, où l'eumélanine est présente en majeure partie du corps, et où la phéomélanine se retrouve sur l'extrémité des pattes, le poitrail, les côtés de la gueule, les sourcils. Comme il est récessif par rapport aux allèles A^Y et a^w , les individus qui expriment ce phénotype sont homozygotes a^t/a^t . Les deux races les plus connues avec ce phénotype sont le Dobermann et le Rottweiler. Cependant il a été montré que la couleur de robe **fauve à manteau noir** (*saddle tan* en anglais, Figure 3E), du Berger Allemand par exemple, est également attribuée à cet allèle. Les chiots fauves à manteau noir naissent avec une couleur proche du noir-et-feu et avec l'âge le noir régresse et les zones phéomélanique s'élargissent. Le terme plus exact pour désigner la robe noire-et-feu

serait eumélanique-et-feu puisque les parties eumélaniques ne sont pas obligatoirement noires mais fonction de la couleur de l'eumélanine.

a : absence de production de phéomélanine, l'animal est entièrement de la couleur de l'eumélanine. Le phénotype associé est très rare du fait de la faible fréquence de cet allèle, que l'on ne rencontre que dans certaines races (Berger Allemand, Berger des Shetland, Samoyède par exemple). On parle de **noir récessif** (Figure 3D).

Figure 3 : Exemples de robes déterminées par le locus A (d'après Dreger et Schmutz, 2011)



A – Un Spitz Loup de phénotype gris-loup associé à l'allèle a^w . Le génotype est a^w/a^w ou a^w/a^t ou plus rarement a^w/a .

B – Un Pinscher noir-et-feu, associé à l'allèle a^t . Le génotype est a^t/a^t ou très rarement a^t/a .

C – Un Berger des Shetland fauve, associé à l'allèle A^y . N'importe quel génotype avec un exemplaire de A^y aboutit à ce phénotype, si la série A peut s'exprimer.

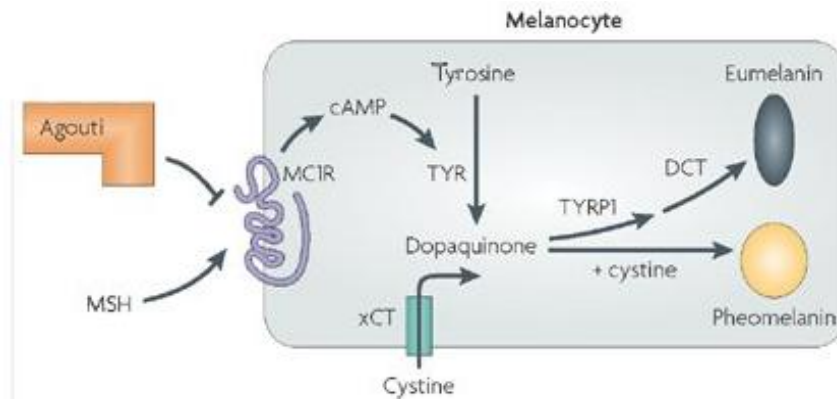
D – Un Berger Allemand de couleur noire récessive, associée à une homozygotie a/a .

E – Un Basset Hound montrant une robe fauve à manteau noir, variante du noir-et-feu associée à l'allèle a^t .

Gène Agouti ou ASIP

Bultman *et al.* en 1992, ont montré que le gène présent au locus A est le gène qui code la protéine *Agouti Signaling Protein* (ASIP). La protéine ASIP est un antagoniste de l' α -MSH (α *Melanocyte stimulating hormone*) sur le récepteur MC1R (*Melanocortin 1 receptor*) présent à la surface des mélanocytes. ASIP empêche l'activation de MC1R et oriente la production de mélanine vers la phéomélanine. En présence d' α -MSH, le récepteur MC1R est activé et cela oriente vers la production d'eumélanine (Figure 4).

Figure 4 : Schéma simplifié de l'action de MC1R et ASIP dans la synthèse des mélanines (Naoum, 2014)



Lorsque la protéine MSH se fixe sur son récepteur MC1R, elle oriente la production de mélanine dans le mélanocyte vers une production d'eumélanine sombre (grâce aux enzymes appelée TYR (tyrosinase), TYRP1 (tyrosinase related protein 1) et DCT (dopachrome tautomerase). Lorsque la protéine Agouti se fixe sur MC1R, elle bloque le récepteur et la production de mélanine est déviée vers de la phéomélanine claire.

Chez le chien, comme chez les autres mammifères étudiés, le gène *Agouti* est composé de 4 exons et 3 introns. Le premier exon n'est pas transcrit, seuls les exons 2, 3 et 4 codent la protéine ASIP. Le gène se situe en région centrale du chromosome 24.

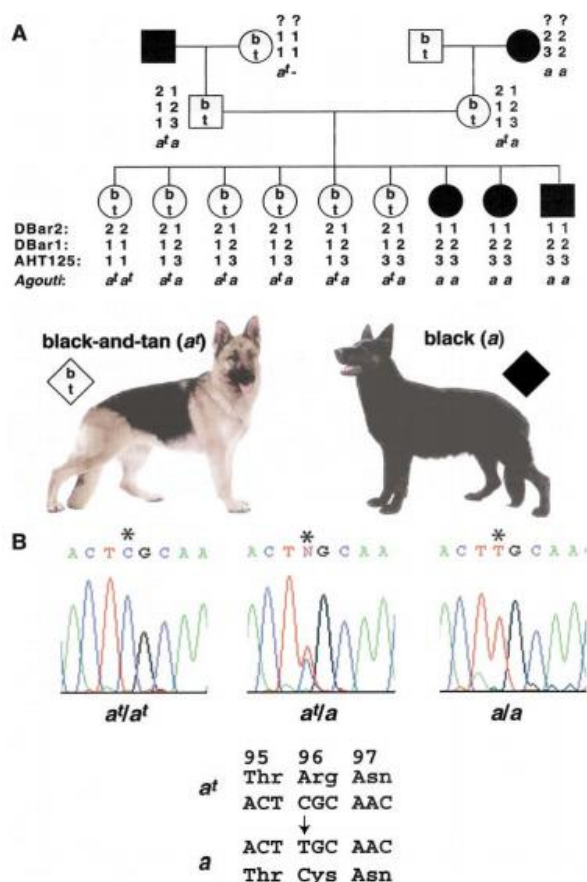
Chez la souris, il a été montré que divers exons 1 existent, non transcrits également, mais chacun entraînant une expression différente de la protéine Agouti. Vrieling *et al.* (1994) en ont décrit quatre, dont deux (appelés 1A et 1A1A') sont associés à une production uniquement ventrale de phéomélanine, alors que les 2 autres (1B et 1C) sont associés à une production de phéomélanine dépendante du cycle pileux, ce qui produit les poils agoutis zonés. Chez le chien, aucune variation dans l'exon 1 n'a été décrite jusqu'alors, l'exon 1 du chien étant orthologue à l'exon 1A de la souris. Cependant, il est probable que des modifications dans les régions régulatrices en amont de la région codante, puissent être en partie responsables des nombreux phénotypes observés pour un même allèle s'exprimant au locus A.

L'allèle sauvage du gène produisant ASIP est a^w . Il entraîne l'apparition de poils avec des bandes d'eumélanine entourant une bande de phéomélanine subapicale sur les poils des régions dorsales, et des poils entièrement phéomélaniques, avec une phéomélanine claire sur le ventre. Les différences de répartition de ces poils supposent le fait qu'il existe des régions régulatrices pour ce gène, qui ne s'exprime pas en permanence, et pas de façon homogène dans le pelage.

Allèle a – Mutation R96C (Kerns *et al.*, 2004)

En 2004, la mutation à l'origine de l'allèle *a* a été découverte, en utilisant le Berger Allemand, dont le phénotype de robe noire apparaît de manière récessive. L'étude portait sur une fratrie de huit chiots et leurs parents de couleur noir-et-feu, dont cinq étaient noir-et-feu et trois étaient entièrement noirs (Figure 5).

Figure 5 : Identification de la mutation de l'allèle *a* (Kerns *et al.*, 2004)



A : Pédigree utilisé pour le génotypage des trois marqueurs DBar1, DBar2 et AHT 125, afin de cartographier la mutation *a*. Un seul recombinant pour le marqueur AHT125 a été identifié.

B : Comparaison de la séquence du gène Agouti entre les différents génotypes aboutissant à l'identification de la mutation dans le codon 96, qui consiste en un remplacement de la cytosine 427 par une thymine, et mène au remplacement de l'arginine 96 par une cystéine dans la séquence protéique d'ASIP.

La mutation est présente dans l'exon 4 et consiste en la substitution de la cytosine en position 427 du gène *Agouti*, en une thymine. Cela aboutit dans la protéine ASIP à un remplacement de l'arginine en position 96 par une cystéine, dans l'extrémité C-terminale riche en cystéines. Cette extrémité correspond à la portion qui interagit avec le récepteur MC1R et forme normalement le motif nœud à cystéines inhibiteur. L'ajout d'une cystéine pourrait altérer les ponts entre cystéines et ainsi changer la structure tertiaire du peptide, le rendant incapable de se lier à MC1R. ASIP n'est donc plus capable d'inhiber l'activation de MC1R, ce qui a pour effet de favoriser la production d'eumélanine. C'est ainsi qu'est produit le phénotype noir récessif, lorsque l'individu est homozygote *a/a*. On comprend également qu'un tel phénotype ne peut apparaître que si le reste du génome de l'individu permet la production d'eumélanine, par un récepteur MC1R fonctionnel par exemple.

Allèle *A*^y – Double-mutation A82S R83H (Berriere *et al.*, 2005)

L'allèle *A*^y, à l'origine du phénotype couleur fauve, a été identifié et caractérisé par Berryere *et al.* (2005). Il s'agit d'un allèle présentant deux mutations faux-sens A82S et R83H. L'équipe a étudié des individus de races Colley et Berger des Shetland dont les robes étaient soit fauves plus ou moins marquées de blanc, soit noir-et-feu ou tricolores. Les chiens à pelage fauve présentaient tous les deux mutations : une thymine (T) remplaçant une guanine (G) en position 244 de l'ADN complémentaire du gène (ADNc) et une adénine (A) remplaçant une guanine (G) en position 248, mutations situées dans l'exon 4 du gène *Agouti*,

et aboutissant au remplacement de l'alanine 82 par une sérine et de l'arginine 83 par une histidine dans la protéine ASIP. A l'inverse, les chiens noir-et-feu ou tricolores ne présentaient jamais ces deux mutations. Ces deux mutations présentent un déséquilibre de liaison complet, c'est-à-dire qu'elles surviennent toujours ensemble chez tous les chiens testés. Le testage de nombreuses autres races par la suite a confirmé l'association entre la double mutation et le pelage fauve. L'étude des génotypes a permis de montrer que les individus possédant un exemplaire du gène muté (TA) et un exemplaire du gène non muté (GG) sont de couleur fauve donc l'allèle A^Y , présentant les deux mutations, est effectivement dominant sur les autres allèles.

La couleur déterminée par l'allèle A^Y présente une variabilité importante, ce qui suppose que d'autres gènes interviennent dans la répartition des poils sombres, sur cette robe essentiellement phéomélanique, ou que des régions régulatrices interviennent en amont (exemples en Figure 6).

Figure 6 : Différentes robes de chiens homozygotes A^Y/A^Y (Berryere *et al.*, 2005)



Tous les individus présentés sont homozygotes A^Y/A^Y . Il existe donc des variations importantes tant dans la répartition et la quantité de poils eumélaniques que dans l'intensité de couleur de la phéomélanine.

L'équipe ayant caractérisé l'allèle A^Y étant sensiblement semblable à celle ayant caractérisé un an plus tôt l'allèle a , précédemment décrit (Berriere, Kerns, Barsh, Schmutz. 2004, 2005), ils étudièrent la liaison entre la substitution R96C identifiée pour l'allèle a et les deux substitutions A82S et R83H identifiées pour l'allèle A^Y . Il est apparu que la substitution R96C était intervenue sur une protéine A82 et R83 ne présentant pas les mutations de l'allèle A^Y (Tableau 1).

Tableau 1 : Variations des séquences protéiques d'ASIP en fonction des allèles *Agouti* (Berriere *et al.*, 2005)

<i>Allele</i>	<i>Phenotype</i>	<i>Sequence variants (codons)</i>		
		82	83	96
<i>White-bellied Agouti, a^w (aka a^s)</i>	Banded dorsal hairs and pale Ventral hairs; ± sable markings	A	R	R
<i>Fawn-sable, a^y</i>	Yellow-tan; ± sable markings	S	H	R
<i>Black-and-tan, a^t</i>	Black with yellow/tan points	A	R	R
<i>Nonagouti, a</i>	Black	A	R	C

Les différentes analyses de cette étude aboutirent à caractériser les allèles *Agouti* en fonction de la séquence protéique d'ASIP qui en résulte. On voit que les allèles *a* et *A^y* se différencient des deux autres par les mutations faux-sens intervenant dans l'exon 4, aboutissant respectivement aux substitutions R96C et A82S - R83H. A l'inverse, Berryere *et al.* (2005) n'ont pas trouvé de différence de séquence dans l'exon 4 des allèles *a^w* et *a^t*.

Il est peu probable que la double mutation S82 H83 soit la mutation causale de l'allèle *A^y*. En effet, l'effet de la présence de cet allèle sur la robe du chien est une extension de l'expression d'ASIP par rapport à l'allèle sauvage *a^w*:

- soit temporelle : expression d'ASIP durant toute la phase anagène, et donc poil entièrement phéomélanique à la place des poils agoutis où l'expression est réduite à une courte période et donc où la phéomélanine ne se dépose que sur une bande subapicale,
- soit spatiale : l'expression d'ASIP dans les follicules pileux ventraux, permanente et non dépendante du cycle pilaire, atteint les zones dorsales de la robe.

Dans les deux cas, il est plus probable que la mutation causale de l'allèle *A^y* se trouve dans la région régulatrice du gène *ASIP* et non dans sa partie codante. La double mutation S82 H83 n'en demeure pas moins un marqueur de l'allèle, puisqu'elle est en complet déséquilibre de liaison avec sa présence.

Il est possible que les populations sauvages de canidés ayant donné naissance aux chiens domestiques d'aujourd'hui aient porté deux différents allèles sauvages *a^w* : l'un codant ASIP avec A82 et R83, l'autre codant ASIP avec S82 et H83. Le premier aurait pu subir une mutation dans la région régulatrice de la transcription ayant mené à l'allèle *A^y*, et le second aurait subi la mutation R96C à l'origine de l'allèle *a* ainsi qu'une autre mutation à l'origine de l'allèle *a^t*. Cela expliquerait que l'allèle *A^y* soit en parfait déséquilibre de liaison avec la double mutation S82 H83 malgré que celle-ci n'explique pas le phénotype associé.

La découverte de cette double-mutation a quand même pour avantage de permettre la détection simple de l'allèle *A^y* d'un point de vue pratique.

Allèle a^t – Insertion SINE (Dreger et Schmutz, 2011)

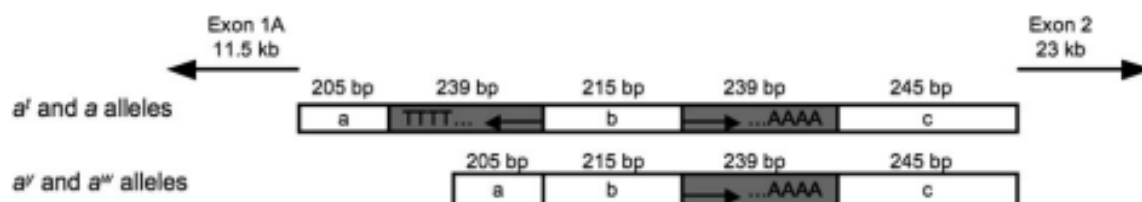
Dans le contexte de la recherche de différences, non pas dans la région codante d'ASIP, mais dans la région non codante potentiellement régulatrice en amont du gène, Dreger et Schmutz (2011) ont génotypé une région de 35 kilobases (kb) comprenant l'exon 1 et l'exon 2 d'ASIP, chez 201 chiens de 35 races différentes. Les chiens étaient génotypés pour l'allèle

A^y ainsi que pour l'allèle a quand cela était justifié, étant donné la rareté de celui-ci. Cette étude a permis de noter la présence de deux insertions d'éléments rétrotransposables de type SINE (*Short Interspersed Nuclear Element*) dans l'intron 1 d'*Agouti* : une insertion variable d'un SINE de 239 paires de bases (pb) dans le sens inverse (sens 3'-5') et une autre insertion SINE de 239 pb dans le sens normal (sens 5'-3') qui était elle présente dans le génome de tous les chiens, 215 pb après l'élément SINE variable (Figure 7). Les allèles pouvaient donc être différenciés entre les fragments longs (ceux possédant les deux insertions SINE) et les fragments courts (ceux possédant uniquement l'insertion SINE dans le sens 5'-3'), par électrophorèse.

Pour les 48 chiens fauves A^y et 57 chiens gris-loup a^w génotypés, tous possédaient au moins un exemplaire du fragment court. Les races présentant pour seul phénotype la couleur gris-loup (Husky sibérien, Malamute d'Alaska, Vallhund Suédois, Chien d'Elan Norvégien gris et Spitz Loup) étaient toutes homozygotes pour le fragment court.

La même opération a été reproduite pour 30 chiens noir-et-feu a^t/a^t et neuf chiens noir récessif a/a . Tous présentaient une homozygotie pour fragment long, avec les deux insertions SINE (Figure 7).

Figure 7 : Localisation des insertions SINE dans l'intron 1 du gène *Agouti* (Dreger et Schmutz, 2011)



Les insertions SINE sont indiquées en gris foncé et les positions des exons 1A et 2 sont indiquées par des flèches aux extrémités du graphique. Chez les chiens portant les allèles a^t et a , les deux insertions étaient présentes alors que chez les chiens portant les allèles A^y et a^w , seule une insertion était présente.

L'insertion du SINE variable était présente dans le sens 3'-5' et pourrait fournir, comme l'ont montré Wang et Kirkness (2005), un site d'épissage supplémentaire dans le transcrit de *ASIP*. Chez la souris, la transcription de l'exon 1B ou 1C, qui se situe après l'exon 1A ou 1A' à l'origine de la production « cycle pilaire » dépendante de phéomélanine, annule la régulation « cycle pilaire » dépendante. L'insertion SINE variable est située dans la région homologue de celle porteuse des exons 1B et 1C de la souris. Il est donc probable qu'elle puisse affecter la régulation « cycle pilaire » dépendante au même titre que les exons 1B et 1C de la souris. Cela empêcherait l'existence de poils zonés et expliquerait qu'on ne retrouve que des poils entièrement eumélaniques ou entièrement phéomélaniques avec les allèles a^t et a , qui tous deux possèdent la 2^{ème} insertion SINE. Les poils agoutis du phénotype sauvage seraient donc entièrement eumélaniques dans le phénotype noir-et-feu, mais les poils phéomélaniques du phénotype sauvage seraient conservés et expliqueraient la présence des marquages feux de la robe noir-et-feu.

Dreger et Schmutz ont également montré dans cette étude que le phénotype de robe fauve à manteau noir était en fait une variante de la robe noir-et-feu, avec une extension des poils phéomélaniques plus grande que chez les chiens noir-et-feu, qui fait que seuls les poils du manteau sont eumélaniques. Ces chiens étaient en effet de génotype a^t/a^t ou a^t/a , comme le sont les chiens de robe noir-et-feu.

Après l'étude de Dreger et Schmutz (2011), Ciampolini *et al.* (2012) publièrent une étude qui consistait elle aussi à caractériser la région transcrite non traduite en 5' (5'*untranslated region* = 5' UTR) du gène *ASIP*. En effet comme nous l'avons vu, Dreger et Schmutz ont identifié une insertion SINE en déséquilibre de liaison complet avec les allèles a^t et a , qu'ils supposent être la mutation causale de a^t par altération de l'épissage des transcrits d'*ASIP*, aboutissant à l'abolition de la régulation « cycle pileaire » dépendante de l'expression d'*ASIP*.

Ciampolini *et al.* étudièrent les séquences 5' UTR des transcrits d'*ASIP* issus de :

- la zone distale des pattes : poils rouges d'un Doberman noir-et-feu,
- la zone dorsale : poils noirs du même Doberman.

Dans les zones rouges du Doberman noir-et-feu, le transcrit traduit était du même type que le transcrit portant l'exon 1A de la souris, alors que dans les zones noires, il était du type du transcrit portant l'exon 1C de la souris. Chez la souris, les transcrits avec l'exon 1A sont trouvés dans les zones où la production d'*ASIP* est « cycle pileaire » dépendante, alors que les transcrits avec l'exon 1C annulent cette régulation « cycle pileaire » dépendante (Vierling *et al.*, 1994). De façon intéressante, le transcrit des zones feux du Doberman correspondait au transcrit du renard roux. Cela prouvait que la différence de pigmentation des zones feux et des zones noires du Doberman noir-et-feu était effectivement liée à une différence de la région 5'UTR des transcrits. Le plus probable était donc l'existence de promoteurs alternatifs d'*ASIP*, menant à différents transcrits en fonction de la région du corps.

L'insertion SINE décrite par Dreger et Schmutz n'est pas dans la région promotrice d'*ASIP* mais dans la région 5'UTR de la séquence transcrite d'*ASIP*. Elle intervient entre les exons 1A et 1C décrit chez le Doberman par Ciampolini *et al.* Même s'il reste possible qu'elle altère l'épissage du transcrit d'*ASIP*, il est plus probable qu'elle soit en déséquilibre de liaison avec une mutation située dans la région des promoteurs d'*ASIP* et qui serait la mutation causale (Ciampolini *et al.*, 2012) tout comme il est plus probable que la double mutation S82 H83 de l'allèle A^y soit en déséquilibre de liaison avec une mutation causale dans la région promotrice d'*ASIP*.

Bien que les mutations causales ne soient pas toutes identifiées pour le locus *A*, chaque allèle est à présent caractérisé par une(des) mutation(s) en déséquilibre de liaison complet, ce qui permet de déterminer le génotype de chaque chien au locus *A* par :

- recherche de l'insertion SINE variable pour les allèles a^t et a ,
- puis recherche de la mutation R96C pour l'allèle a ,
- recherche de la double mutation A82S R83H pour l'allèle A^y .

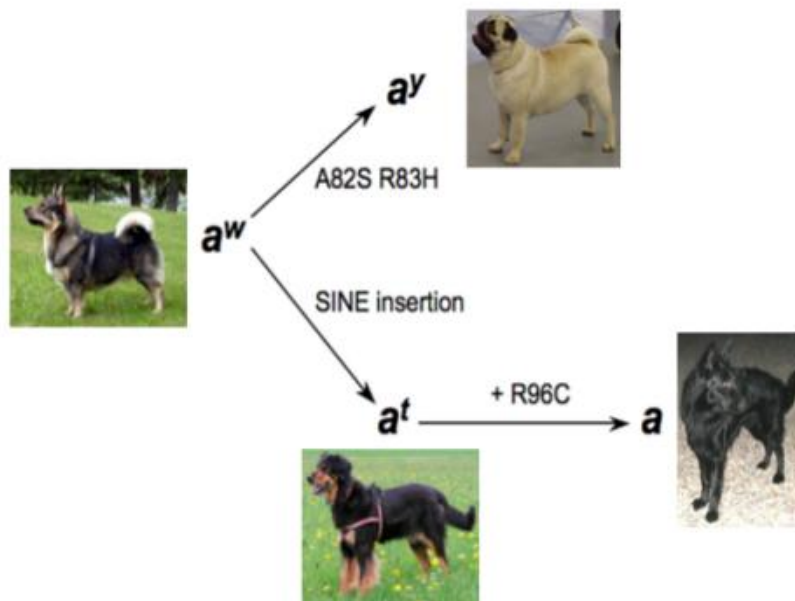
Les tests génétiques permettent donc aujourd'hui de différencier les quatre allèles du gène *Agouti*.

L'étude de Dreger et Schmutz (2011) leur a également permis de rechercher les quatre allèles dans 35 races différentes. Seul l'Eurasier porte les quatre allèles du locus *A*, les autres

races ne sont porteuses que de un à trois d'entre eux. Les résultats de cette étude sont présentés en Annexe 1.

Schmutz et Dreger (2014) ont proposé un schéma d'évolution des allèles du gène *Agouti* à partir de l'allèle sauvage a^w , présenté en Figure 8.

Figure 8 : Proposition d'évolution des allèles du gène *Agouti* (Schmutz et Dreger, 2014)



*Ce diagramme montre la probable évolution des allèles *Agouti* à partir de l'allèle sauvage a^w , donnant un phénotype illustré par un chien de Berger Suédois gris-loup. Le phénotype fauve donné par A^y , additionné d'un masque mélanique est illustré par un Carlin. Un Hovawart noir-et-feu illustre le génotype a^t/a^t (ou a^t/a , rare). Enfin, un Berger Allemand noir illustre l'homozygotie a/a .*

A partir de l'allèle sauvage, l'insertion SINE précédemment décrite affecterait la régulation « cycle pile » dépendante de la production de phéomélanine, rendant impossible les poils agoutis, ce qui mène au phénotype gouverné par l'allèle a^t noir-et-feu ou fauve à manteau noir, où les poils sont colorés d'un pigment (eumélanine dans les parties noires ou phéomélanine dans les parties feux) mais jamais des deux (agouti). La mutation faux-sens R96C altère la protéine ASIP, ce qui empêche la production de phéomélanine, menant à l'allèle a du noir récessif. La double mutation A82S R83H différencie l'allèle A^y de l'allèle sauvage mais n'est très probablement pas causale de l'extension de l'expression d'*ASIP* conférée par l'allèle A^y .

Le Tableau 2 résume les mécanismes moléculaires concernant le locus *A*.

Tableau 2 : Résumé des mécanismes moléculaires impliqués dans le locus A du chien

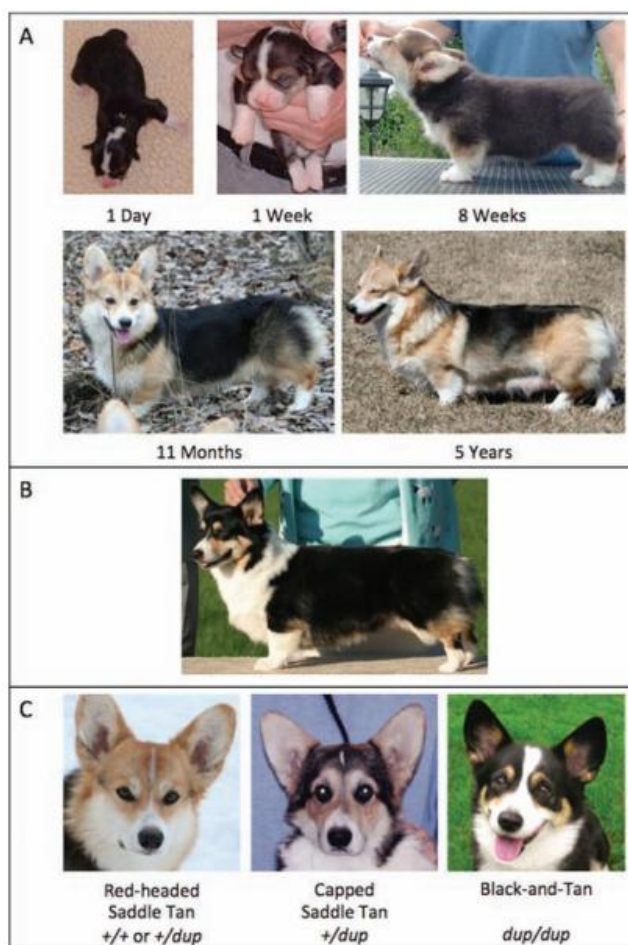
Locus A				
Gène	<i>ASIP</i> ou <i>Agouti</i>			
Protéine codée	<i>Agouti Signaling Protein</i> (ASIP) ou Agouti			
Rôle	Ligand inhibiteur de MC1R (locus E)			
Allèles (par ordre de dominance)	A^Y	a^w (allèle sauvage)	a^t	a
Phénotype	fauve (ou autre couleur de phéomélanine) plus ou moins charbonné	gris-loup	noir-et-feu ou fauve à manteau noir (ou autre couleur d'eumélanine)	noir (ou autre couleur d'eumélanine)
Mutation responsable	Non connue mais probablement dans région régulatrice - double mutation faux-sens A82S R83H en parfait déséquilibre de liaison		Insertion SINE en sens inverse entre exons 1A et 2 ou mutation dans la région promotrice non connue	Mutation faux-sens R96C
Action	Extension de l'expression d' <i>ASIP</i> spatiale ou temporelle	Inhibition de MC1R ventrale complète, et « cycle pileaire » dépendante sur les zones dorsales	Inhibition de la régulation « cycle pileaire » dépendante des zones dorsales	Altération de la liaison à MC1R, empêchant son inactivation

1.2. Gène *RALY* (Dreger et al., 2013)

La robe fauve à manteau noir (*saddle tan* en anglais) est présente dans un nombre limité de races incluant des terriers (exemple : Airedale, Fox), des chiens de chasse courants (exemple : Beagle, Basset Hound) et certains chiens de bergers (exemple : Berger Allemand, Welsh Corgi Pembroke). Certaines races sont fixées pour ce phénotype (Saint-Hubert, Yorkshire), d'autres, comme le Welsh Corgi Pembroke et le Basset Hound peuvent être noir-et-feu ou fauves à manteau noir.

C'est une robe qui évolue avec l'âge du chien : les chiots naissent avec une robe très proche du noir-et-feu, puis les zones feux s'étendent à mesure que le manteau eumélanique régresse. Adulte, les zones phéomélaniques (tête, queue, pattes, zones ventrales) sont plus étendues que le manteau eumélanique (zones dorsales) (Figure 9).

Figure 9 : Caractéristiques de la robe fauve à manteau (Dreger *et al.*, 2013)



A : L'extension du manteau noir se réduit avec l'âge. Les images montrent le même chien Welsh Corgi Pembroke à différents âges. Avant huit semaines, la robe du chiot paraît noire panachée de blanc. A partir de huit semaines, la région eumélanique a assez rétrogradé pour que la phéomélanine soit visible autour de la panachure, notamment sur la tête. A cinq ans, le manteau est très limité.

B : Welsh Corgi tricolore (noir-et-feux panaché de blanc). La robe n'évolue pas avec l'âge. Les marquages feux sont bien délimités et caractéristiques de la robe. La panachure blanche masque les marquages feux du poitrail et en partie des pattes.

C : Pigmentation de la tête. Le premier chien fauve à manteau noir adulte à une tête entièrement colorée par la phéomélanine. Sur le deuxième chien, des marques eumélaniques sont encore présentes sur la tête (chien dit « capped »), mais plus limitées que chez le troisième chien, noir-et-feu.

Day : jour. Week : semaine. Red-headed Saddle Tan : fauve à manteau à tête fauve. Capped Saddle Tan : fauve à manteau à tête noire. Black and Tan : noir et feu.

La découverte de la mutation responsable du phénotype noir-et-feu chez le chien (insertion SINE en sens inverse dans la région régulatrice d'*ASIP* ; Dreger et Schmutz, 2011) a permis de s'apercevoir que les chiens fauves à manteau avaient le même génotype au locus A (a^f/a^f ou très rarement a^f/a) que les chiens noir-et-feu. Cela a entraîné la supposition de l'existence d'un gène modificateur élargissant les zones feux du noir-et-feu (ou limitant les zones noires) pour aboutir au phénotype fauve à manteau.

L'étude d'une famille de Basset Hound présentant des robes noir-et-feu ou fauves à manteau a révélé le mode de transmission de l'allèle responsable du fauve à manteau qui semble autosomique dominant (Dreger *et al.*, 2013)

L'équipe de Dreger *et al.* (2013) a procédé à un criblage du génome par marqueurs afin d'identifier la région associée au phénotype fauve à manteau. Cela leur a permis d'identifier une région contenant plusieurs gènes, en amont du gène *ASIP*. Le gène *heterogenous nuclear ribonucleoprotein (hnRNP) associated with letal yellow (RALY)* en faisait partie. Chez la souris, une délétion entraînant la troncature d'une partie de *RALY* et du gène en aval, se

traduit par un pelage jaune lors d'hétérozygotie lors d'homozygotie, probablement parce que le promoteur de *RALY* peut alors avoir une action sur le gène *ASIP* situé environ 134 kb en aval de *RALY*. Cela en faisait un bon candidat à étudier pour la modification de pigmentation observée entre les robes noir-et-feu et fauve à manteau. La létalité en cas d'homozygotie résulte quand à elle de la disparition d'un gène situé entre *RALY* et *ASIP*, indispensable lors du développement embryonnaire précoce.

Le séquençage de ce gène chez des individus noir-et-feu et fauves à manteau a révélé une duplication de 16 pb présente à l'état homozygote chez les individus noir-et-feu, et jamais en deux exemplaires chez les individus fauves à manteau noir, dans les races Welsh Corgi Pembroke et Basset Hound. La recherche de cette mutation chez 10 loups et un coyote a montré l'absence de duplication dans ces espèces, suggérant que l'allèle sauvage est l'allèle sans duplication $+$, associé à la robe fauve à manteau, et que l'allèle muté est celui avec duplication *dup*, associé à la robe noir-et-feu. Les Bassets et les Welsh Corgis noir-et-feu sont de génotype *dup/dup*, alors que ceux fauves à manteau noir sont de génotype $+/dup$ ou $+/+$.

Malheureusement, ces conclusions ne sont valables aujourd'hui que pour les races citées. Le génotypage de 95 chiens d'autres races à robe noir-et-feu, mais pas fauve à manteau, a montré que les individus peuvent être des trois génotypes concernant cette insertion, mais le phénotype noir-et-feu demeure.

Il est donc possible que cette duplication soit seulement en déséquilibre de liaison avec la mutation causale du phénotype fauve à manteau dans les races Welsh Corgi Pembroke et Basset Hound.

Le génotypage de 61 chiens de races variées pour les gènes *ASIP* (locus *A*), *MC1R* (locus *E*), *CBD103* (locus *K*) et *RALY* a confirmé que les chiens fauves à manteau ont un génotype a^t/a^t au locus *A* (a^t/a possible mais rare). Le fauve à manteau est masqué en cas de génotype e/e au locus *E* ou $K^B/-$ au locus *K*. L'expression du phénotype fauve à manteau nécessite donc un génotype $E^M/-$ ou $E/-$ au locus *E*, k^y/k^y au locus *K* et a^t/a^t (ou a^t/a) au locus *A*. Chez le Welsh Corgi Pembroke et le Basset Hound, il faut en plus un génotype *RALY* $+/+$ ou $+/dup$. Il est probable qu'un gène modificateur permette l'expression du fauve à manteau, en plus d'un génotype comportant l'allèle *RALY* $+$, dans les autres races.

1.3. Gène *MC1R* – Locus *E* (*Extension*)

Comme nous l'avons vu précédemment, le récepteur *MC1R* a un rôle clé dans la mélanogénèse. En effet, lorsqu'il est activé, la mélanogénèse est orientée vers la production d'eumélanine, alors qu'en cas d'inhibition ou de récepteur *MC1R* non fonctionnel, la production d'eumélanine est impossible. Le gène codant ce récepteur a été identifié au locus *E* (pour *Extension*).

Détails des allèles du locus *E*

Il existe quatre allèles, dans l'ordre de dominance suivant : $E^M > E > E^g > e$.

E^M : un **masque de poils foncés** (eumélanine) est présent de façon plus ou moins étendue sur le museau, autour des yeux, sur l'ensemble de la face, sur les oreilles, voir jusqu'au poitrail et au ventre.

E : la couleur n'est pas influencée par le locus *E*. La production d'eumélanine est possible.

E^g : allèle retrouvé chez les **Saluki** et les **Lévrier Afghan**. Il commande les couleurs **grizzle** et **domino**. L'expression visible de cet allèle requiert le génotype a^t/a^t au locus *A*.

La couleur grizzle correspond à une robe comprenant un pelage foncé, présent dès la naissance et tout au long de la vie, sur le haut du corps et les flancs, ainsi que le côté latéral des pattes, de la tête au bout de la queue, sur une base plus claire (Figure 10). Une ligne de la même couleur est présente entre les yeux, jusqu'à la truffe, contrastant avec la face qui est claire. La couleur foncée du pelage peut varier du noir au marron. La base claire varie du rouge au crème.

La couleur domino est retrouvée chez les Lévrier Afghan de façon rare. Elle ressemble à la robe grizzle du Saluki, mais le poil foncé peut être bien moins étendu. La bande entre les yeux est là aussi une constante.

Ces robes n'autorisent pas l'apparition d'un masque, d'où la supposition que l'allèle responsable était au même locus, mais récessif, par rapport à l'allèle responsable du masque.

Figure 10 : Robe grizzle du Saluki (d'après Dreger et Schmutz, 2010)



Notez l'extension des zones phéomélaniques par rapport à un chien noir-et-feu.

e : effacement de l'eumélanine dans tous les poils sans exception. Le phénotype n'apparaît que pour des individus homozygotes et est appelé **fauve** ou rouge récessif, la couleur du pelage n'étant plus déterminée que par la phéomélanine. La truffe et les yeux restent colorés par l'eumélanine. Le chien sera de couleur de base sable à fauve rouge.

Le gène présent au locus *E* code le récepteur de la mélanocortine de type 1, MC1R. L'activation de ce récepteur aboutit à la production d'eumélanine.

Une étude de Newton *et al.* (2000) a permis de localiser le gène codant MC1R chez le chien, sur le chromosome canin n° 5 (CFA5) et de caractériser sa structure.

Allèle e – Mutation R306ter (Newton et al., 2000)

Dans le cadre de l'étude de Newton *et al.* (2000), l'amplification et le séquençage d'une séquence de 1,3 kb portant la séquence transcrite de *MC1R* de plusieurs chiens supposé *e/e* (un Setter Irlandais, quatre Golden Retriever, trois Labrador fauves) et *E/E* (quatre Doberman, quatre Terre-Neuve, un Flat-coated Retriever et trois Labrador noirs) ont mis en évidence de nombreux polymorphismes dont six substitutions d'un nucléotide (SNP : *single nucleotide polymorphism*) dans la séquence de *MC1R*, parmi lesquels seulement quatre changeaient le produit traduit (codons 90, 105, 159 et 306) (Tableau 3). Parmi elles, seule la mutation non-sens R306ter, qui aboutit à la suppression de 12 des 17 résidus composant le domaine C-terminal intracellulaire de *MC1R*, présentait une corrélation parfaite génotype/phénotype puisqu'elle a été retrouvée chez tous les individus à robe phéomélanique supposés *e/e* mais qu'elle ne l'a jamais été chez les individus noirs et les Doberman supposés *E/E* (Tableau 3). Cette suppression est due au remplacement d'une cystine par une thymine en position 916 de la séquence codante de *MC1R*, dans le codon 306, qui induit la traduction d'un codon stop au lieu d'une arginine. La suppression des 12 acides aminés terminaux du domaine C-terminal intracellulaire de *MC1R* rendrait le récepteur non fonctionnel.

Tableau 3 : Génotype des allèles de *MC1R* pour six SNP (d'après Newton et al, 2000)

Breed (Color)	Proposed Genotype at Exten.	<i>Mclr</i> genotype (codon; amino acid)					
		17	90	105	159	306	311
Doberman	<i>E/E</i>	ACT T	AGC S	GCC A*	CCG P	CGA R	GAA E*
Newfoundland	<i>E/E</i>	ACT T	GGC G	ACC T	CAG Q	CGA R	GAA E
Flat-coated retriever	<i>E/E</i>	ACC T	GGC G	ACC T	CAG Q	CGA R	GAG E
Labrador (Black)	<i>E/E</i>	ACT T	GGC G	ACC T	CAG Q	CGA R	GAG E
Labrador (Yellow)	<i>e/e</i>	ACT T	GGC G	ACC T	CAG Q	TGA ter	GAG E
Golden Retriever	<i>e/e</i>	ACC T	AGC S	GCC A	CAG Q	TGA ter	GAG E
Irish Setter	<i>e/e</i>	ACC T	AGC S	GCC A	CAG Q	TGA ter	GAG E

Pour chaque chien, le codon (trois lettres) et l'acide-aminé correspondant sont indiqué (une lettre en gras).

* Au codon 105, un Doberman était homozygote A/A, un était homozygote T/T et l'autre était hétérozygote A/T. Au codon 311, trois Doberman étaient homozygotes E/E (GAA) et les trois autres étaient homozygotes E/E (GAG).

La suite de l'étude a consisté à génotyper les chiens de 20 classes phénotypiques, dont six phéomélaniques (du rouge au sable) et 14 eumélaniques ou mixtes, pour cette mutation R306ter. Parmi les 14 classes non phéomélaniques, aucun des 25 individus testés ne présentait une homozygotie pour la mutation R306ter, bien qu'un exemplaire de l'allèle muté ait pu être porté à l'état hétérozygote. Dans cinq des six classes phéomélaniques, les 165 individus testés étaient homozygotes pour cette mutation. Seuls deux Chow-chow, entièrement phéomélaniques, ne portaient pas cette mutation, suggérant que leur couleur pourrait être déterminée par un autre locus, le locus A par exemple, avec une homozygotie A^y/A^y . Cela prouvait donc que la mutation R306ter était bien responsable de l'allèle *e* du rouge récessif.

La même année, une autre équipe (Everts *et al.*, 2000) a décrit la même mutation et a abouti aux mêmes conclusions que l'équipe de Newton *et al.* En plus du Labrador fauve et du

Golden Retriever, ils testèrent 17 races dans lesquelles le phénotype fauve récessif n'apparaissait jamais. Aucune de ces races ne portait la mutation R306ter.

Allèle E^M – Mutation M264V (Schmutz et al., 2003)

La mutation responsable de l'allèle E^M a été identifiée par Schmutz et al. (2003). Le séquençage complet d'une portion du chromosome CFA5 portant la séquence codante de *MC1R* a d'abord été effectué sur 11 chiens, porteurs de masques ou non. En plus des mutations déjà identifiées par Newton et al. (2000), qui n'avaient pas inclus de chien portant un masque dans leur étude, Schmutz et al. repérèrent une substitution de l'adénine en 1^{ère} position du codon 264 par une guanine, chez les chiens portant un masque. Cette mutation faux-sens entraînait le remplacement de la méthionine 264 par une valine (M264V).

Ils ont alors génotypé 43 chiens pour les mutations M264V et R306ter. Sur les 17 chiens portant un masque de façon évidente, tous étaient hétérozygotes ou homozygotes pour l'allèle V264. A l'inverse, les 19 chiens ne portant clairement pas de masque étaient tous homozygotes pour M264, donc non porteur de la mutation. Sept chiens étaient difficiles à classer parmi les masqués ou non (deux essentiellement blancs, trois portant une robe uniformément eumélanique, et deux Lévrier Ecossais chez qui le masque peut être difficile à distinguer car ils sont bringés et à poils longs) ; parmi eux deux chiens ne portaient pas la mutation.

Cette mutation semble donc effectivement très fortement associée à l'allèle E^M . Cependant, elle ne prédit pas un effet évident sur le récepteur MC1R. Le résidu 264 se trouve à la liaison entre le 6^{ème} domaine transmembranaire et la 3^{ème} boucle extracellulaire de MC1R. L'effet de la mutation M264V pourrait être :

- une inhibition de la liaison d'ASIP sur MC1R localisée à la face,
- une augmentation du nombre de récepteurs MC1R par unité de surface sur les mélanocytes de la face.

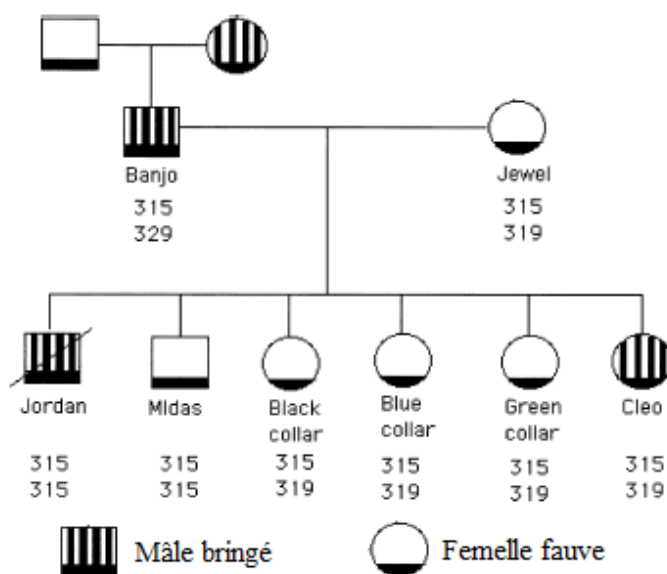
M264V pourrait également être en déséquilibre de liaison avec la mutation causale de l'allèle E^M . Cela semble peu probable car cette mutation a été retrouvée chez des races phylogéniquement très éloignées (comme l'Akita Inu et le Lévrier par exemple), ce qui signifie que ce polymorphisme est très ancien et donc qu'il serait resté en déséquilibre de liaison avec la mutation causant l'apparition du masque sur des centaines de générations. Or, aucune autre mutation proche de M264V et corrélée à la présence de masque n'a été retrouvée dans cette étude. Cependant, E^M est un allèle de *MC1R* qui provoque une distribution très localisée de MC1R. Une différence de la séquence codante de la protéine mature de *MC1R* peut difficilement expliquer cela, et une telle distribution serait plus probablement due à une mutation affectant la signalisation du récepteur, le nombre de mélanocytes par follicule pileux ou le ratio mélanocytes sur cellules du mésenchyme sécrétant ASIP dans le follicule pileux.

Exclusion du supposé allèle e^{br} (Schmutz et al., 2003)

Dans la même étude que celle ayant identifiée la mutation M264V, Schmutz et al. (2003) étudièrent une famille de chiens de race Dogue Allemand fauves et bringés. Le bringé présente une transmission autosomique dominante. Jusqu'à cette étude, sous la suggestion de CC. Little (1957), il était supposé qu'il existait un allèle e^{br} , récessif sur E^M et E , qui était

responsable du bringé. Le pédigrée étudié comprenait les parents (une femelle fauve non porteuse de bringé, Jewel et un mâle bringé hétérozygote pour le bringé, Banjo) et les six petits (Figure 11). L'utilisation du marqueur microsatellite *ZuBeCa6*, lié à *MC1R* a montré que tous les petits avaient hérité du même chromosome portant le locus *E* de leur père. Ils possédaient donc tous le même allèle paternel au locus *E*. Puisque quatre des chiots étaient fauves, cet allèle ne pouvait pas être responsable de la couleur bringé porté par Banjo. Il y avait deux petits bringés et quatre non bringés, tous n'avaient visiblement pas hérité du même chromosome portant l'allèle *bringé*. Cela démontre que, dans ce pédigrée, le gène *MC1R* et l'allèle *bringé* ne sont pas liés, donc *a fortiori*, l'allèle *bringé* ne peut pas être un allèle de *MC1R*.

Figure 11 : Pédigrée d'une portée de Dogues Allemands pour étude de l'allèle *bringé* (Schmutz et al., 2003)



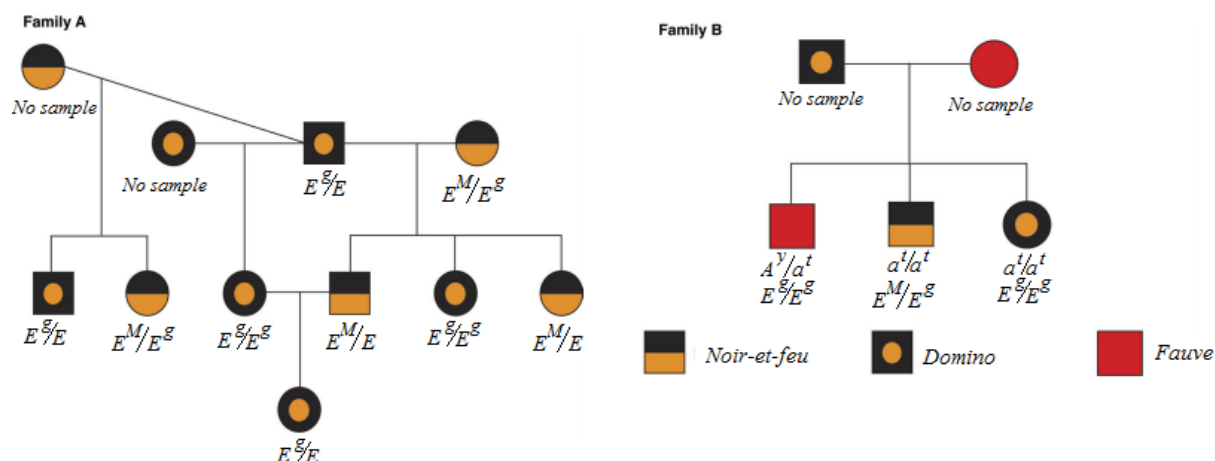
*Pédigrée d'une portée de Dogues Allemands, dont le père est bringé (Banjo, symbole rayé) porteur de masque et la mère est fauve (Jewel, symbole blanc) porteuse de masque. Tous les petits sont porteurs de masques mais seuls deux sur six sont bringés. Les chiffres sous chaque chien correspondent aux génotypes pour le microsatellite *ZuBeCa6*.*

Allèle E^g – Mutation G78V (Dreger et Schmutz, 2010)

L'étude de Dreger et Schmutz (2010) portait sur les robes grizzle du Saluki et domino du Lévrier Afghan. Elle a consisté en un séquençage du gène *MC1R* afin d'identifier une mutation responsable de l'allèle E^g , supposé déterminer ces phénotypes.

Le séquençage du gène *MC1R* a révélé chez de nombreux Saluki grizzle la présence d'une mutation jusqu'alors non identifiée qui consistait en la substitution de la guanine 233 par une thymine. Cette mutation faux-sens aboutit dans le récepteur *MC1R* au remplacement de la glycine 78 par une valine, G78V. L'étude du génotype de nombreux chiens Saluki et Lévrier Afghan a montré que tous les chiens grizzle ou domino présentaient la mutation G78V. Cependant tous les chiens présentant G78V ne sont pas forcément grizzle et domino. En effet, ces robes ne s'expriment que sur les chiens noir-et-feu (homozygotes a^t/a^t au locus *A*). D'autre part, les chiens portant un masque donc porteur de l'allèle E^M , ne sont jamais grizzle ou domino. Cela suggère que la mutation G28V est responsable des robes grizzle et domino et agit le plus probablement comme un modificateur du noir-et-feu, en étendant les parties phéomélaniques. Des exemples des pédigrées utilisés sont donnés en Figure 12.

Figure 12 : Exemples de pédigrées de Lévriers Afghans incluant la robe domino (Dreger et Schmutz, 2010)



Dans la famille A, tous les chiens sont a^t/a^t au locus A. Cela permet d'établir la relation de dominance entre 3 des allèles du locus E : $E^M > E^G > E$.

Dans la famille B, seuls les individus homozygotes a^t/a^t expriment la couleur domino conférée par l'allèle E^G .

Ces relations de dominance sont probablement l'explication à la rareté de la robe domino chez le Lévrier Afghan, alors que la robe grizzle est fréquente chez le Saluki. En effet, l'allèle E^M est très commun chez le Lévrier Afghan et masque probablement la présence de l'allèle E^G . L'allèle E^M est moins commun dans la race Saluki.

L'acide aminé 78 de MC1R est très conservé au travers des espèces et correspond le plus souvent à une cystéine. Cependant, chez la plupart des chiens, cette cystéine est remplacée par une glycine. La mutation faux-sens considérée ici, aboutit au remplacement de cette glycine par une valine. Le résidu 78 se situe en dernière position de la 1^{ère} boucle intracellulaire de MC1R, juste avant le 2^{ème} domaine transmembranaire. La substitution par une valine entraînerait une modification importante de la maturation de la protéine MC1R. Il est probable que cela affecte la répartition des bandes eumélanine/phéomélanine sur les poils. Les auteurs suggèrent que l'allèle E^G minimalise l'extension de l'eumélanine de la robe noir-et-feu, ce qui étendant les zones phéomélaniques ventrales et sur la face et autorise la formation de poils zonés, non présents habituellement dans la robe noir-et-feu.

Le Tableau 4 résume les mécanismes moléculaires concernant le locus E.

Tableau 4 : Résumé des mécanismes moléculaires impliqués dans le locus *E* du chien

Locus <i>E</i>				
Gène	<i>MC1R</i>			
Protéine codée	Récepteur de la mélanocortine de type 1 (MC1R)			
Rôle	Activateur de la synthèse d'eumélanine			
Allèles (par ordre de dominance)	<i>E^M</i>	<i>E</i> (allèle sauvage)	<i>E^g</i> – Génotype <i>a^t/a^t</i> requis au locus <i>A</i>	<i>e</i>
Phénotype	masque foncé	voir autres loci	grizzle du Saluki et domino du Lévrier Afghan	fauve
Mutation responsable	Mutation faux-sens M264V		Mutation faux-sens G78V	Mutation non-sens R306ter
Action	Concentration de l'eumélanine sur la face – Processus non connu	MC1R fonctionnel, réagissant à ses ligands	Modification importante de la maturation de MC1R – Pourrait limiter l'extension de l'eumélanine du noir-et-feu	Récepteur MC1R non fonctionnel – Production d'eumélanine impossible

1.4. Gène *β-défensine 103* – Locus *K* (*black*)

Émergence du locus *K* et de ses allèles (Kerns et al., 2003)

Durant de nombreuses années, des auteurs ont supposé, en accord avec la proposition initiale de C. C. Little (1957) qu'il existait un autre allèle au locus *A*, permettant d'expliquer le phénotype noir dominant, et appelé *A^s*. Mais en 2003, Kerns et al (2003) ont montré que le phénotype noir ne pouvait pas être le fruit d'un allèle au locus *A* (ni même au locus *E*), en réalisant une étude de pédigrées. Le séquençage de la région codante d'*Agouti* n'a montré aucune variation entre chiens noirs et fauves, aussi une étude de liaison avec trois marqueurs a été mise en place pour comprendre la transmission du noir. Les auteurs ont à nouveau exclu le locus *Agouti* comme candidat au noir dominant. Cela a permis de supposer l'existence d'un nouveau locus : le locus *K* (pour *black*) portant l'allèle « *noir dominant* », particularité du chien non retrouvée chez les autres mammifères étudiés.

Après la preuve de l'existence d'un autre locus que *A* ou *E* responsable du noir dominant par Kerns et al (2003), les recherches du même groupe se portèrent sur l'identification de ce locus. L'équipe a génotypé 19 animaux avec 155 marqueurs polymorphes pour rechercher une liaison avec le noir dominant. Trois marqueurs ont ainsi été identifiés comme liés au noir dominant, dont le marqueur FH2155, présent sur le chromosome 16 du chien (CFA16) et qui présentait la liaison la plus forte. L'analyse d'autres pédigrées a confirmé cette forte liaison. Une autre étude de pédigrées a permis ensuite à l'équipe de montrer qu'un marqueur très lié au locus *K* (Kerns et al., 2003), présentait également une coségrégation parfaite avec l'allèle responsable du briné, d'où la suggestion que la bringueure était déterminée par un allèle lui aussi présent au locus *K*, *k^{Br}* (Kerns et al., 2007).

Détails des allèles et phénotypes associés

L'étude de Kerns *et al.* (2007) a suggéré que trois allèles étaient présents à ce locus, dans l'ordre de dominance suivant : $K^B > k^{Br} > k$.

K^B : c'est l'allèle responsable du phénotype **noir dominant**. Il entraîne donc, dès qu'une copie de cet allèle est portée par un individu, une robe entièrement eumélanique (noire, marron, beige, ou bleue), avec seule production d'eumélanine.

k^{Br} : le phénotype associé est la robe dite **bringée**. L'expression de cet allèle ne se fait que dans les zones phéomélanique, déterminée au locus *A*. Toutes les zones initialement phéomélaniques seront bringées, c'est-à-dire que des bandes de poils plus sombres, eumélaniques, se surajouteront aux zones phéomélaniques. Typiquement, ces bandes forment un « V » sur le dos et un « S » sur les flancs mais les variations de motifs sont très importantes.

k ou k^y : les individus homozygotes à ce locus auront un phénotype déterminé par les autres locus, sans que le locus *K* ne le modifie. Le y a été choisi car cet allèle autorise l'apparition de la couleur fauve (*yellow*), ainsi que toutes les couleurs de la phéomélanine.

Le locus *K* est épistatique sur le locus *A* puisque lorsqu'un chien porte l'allèle K^B , sa robe est entièrement eumélanique, et que lorsqu'un chien porte l'allèle k^{Br} , sans l'allèle K^B , les zones phéomélaniques déterminées par le locus *A* portent de nouveau des poils eumélaniques dans les bringeures (Kerns *et al.*, 2007). Bien que l'on parle souvent de noir dominant pour désigner l'allèle K^B , il faut retenir que la robe ne sera pas forcément noire unie mais peut être de toutes les couleurs de l'eumélanine (noir, bleue, marron, beige).

Relations entre les locus *A*, *E* et *K*

Dans l'étude de Kerns *et al.* (2007), non seulement la localisation du locus *K* a été réalisée mais également l'étude des relations entre les gènes *Agouti*, *MC1R* et le locus *K* a été effectuée. Pour cela, l'analyse de pédigrées a été associée au génotypage de nombreux animaux de multiples races. Ceci aboutit à établir les relations d'épistasie entre les trois loci (Tableau 5).

Tableau 5 : Relations épistatiques entre *Agouti*, *K* et *MC1R* (Kerns *et al.*, 2007)

<i>Agouti</i>	<i>K</i> locus	<i>Mc1r</i>	Phenotype	Example
a^t/a^t	k/k	$+/+$	Black and tan	German shepherd dog
a^t/a^t	k/k	e/e	Yellow	Afghan hound
a^t/a^t	k^{br}/k^{br}	$+/+$	Black, brindle points	Staffordshire bull terrier
a^t/a^t	k^{br}/k^{br}	e/e	Yellow	French bulldog
a^t/a^t	K^B/K^B	$+/+$	Black	Black Labrador retriever
a^t/a^t	K^B/K^B	e/e	Yellow	Yellow Labrador retriever
a^y/a^y	k/k	$+/+$	Yellow	Boxer
a^y/a^y	k/k	e/e	Yellow	Afghan hound
a^y/a^y	k^{br}/k^{br}	$+/+$	Brindle	Boxer
a^y/a^y	k^{br}/k^{br}	e/e	Yellow	Afghan hound
a^y/a^y	K^B/K^B	$+/+$	Black	Great Dane
a^y/a^y	K^B/K^B	e/e	Yellow	Poodle

Dans un souci de simplicité, seuls les homozygoties sont présentés ici. Le phénotype décrit ne tient pas compte des éventuelles modifications par les gènes modifiant l'intensité et la couleur des pigments ou induisant de la panachure blanche.

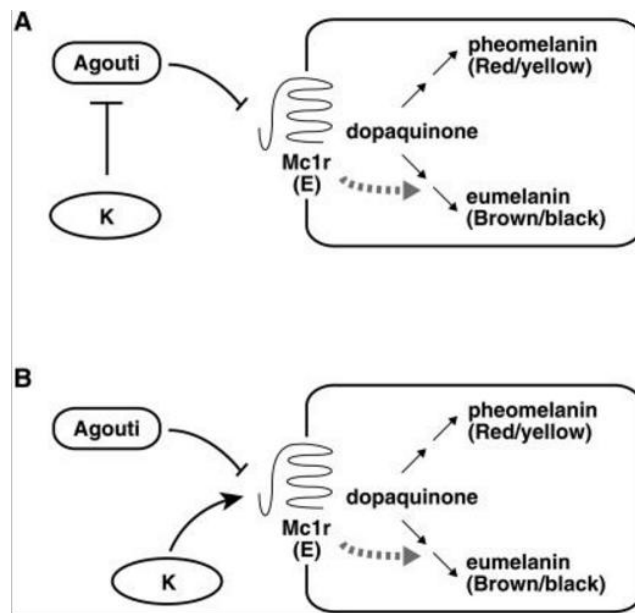
Pour le gène *MC1R*, l'allèle *e* désigne le fauve récessif, le + désigne tout autre allèle fonctionnel. Le fauve récessif est épistatique sur les deux autres loci. *MC1R* est donc épistatique sur *Agouti* et *K*.

Lorsque *e* est absent, le noir dominant K^B est épistatique sur *Agouti*. L'allèle k^{Br} l'est également puisque les bringueurs s'expriment sur les zones initialement exclusivement phéomélaniques déterminées par *Agouti*. Par contre, l'allèle k ($= k^y$) responsable du jaune au locus *K* est hypostatique sur *Agouti* puisque le génotype $a^t/a^t k^y/k^y$ autorise l'apparition du noir dans la robe noir et feu.

Le locus *K* est propre aux chiens, il n'a pas été retrouvé chez les autres mammifères étudiés. Les relations d'épistasie entre les trois loci *Agouti*, *MC1R* et *K*, ainsi que le fait que les allèles *Agouti* ont un ordre de dominance (fauve>noir) opposé à ceux du locus *K* (noir>fauve), avec les allèles « noirs » de *K* épistatique sur les allèles « fauves » d'*Agouti*, et inversement, ont permis de supposer deux mécanismes d'action pour le gène au locus *K* (Figure 13) :

- soit le produit du gène *K* inhibe l'action d'*Agouti*,
- soit le produit du gène *K* interagit directement avec le récepteur *MC1R* pour stimuler la production d'eumélanine, s'opposant ainsi à l'effet d'*Agouti* (Kerns *et al.*, 2007).

Figure 13 : Schématisation des actions possibles du produit du locus *K*, avant découverte du gène associé, par Kerns *et al.* (2007)



Gène du locus *K* et mutation de l'allèle K^B (Candille *et al.*, 2007)

Le gène présent au locus *K* a été identifié par Candille *et al.* (2007). Il s'agit du gène *CBD103* (*beta defensin 103*) sur le chromosome 16 du chien. Une délétion de trois paires de bases (GGG) dans le 2^{ème} exon de *CBD103*, menant à la délétion d'une glycine en 23^{ème} position dans la protéine mature ($\Delta G23$) a été identifiée pour l'allèle K^B . Le génotypage de 454 chiens pour cette mutation a montré une corrélation parfaite de sa présence avec la robe noire, sauf pour 13 cas dont la couleur a pu être expliquée par les allèles aux locus *A* ou *E*. Des expériences réalisées à l'aide de souris transgéniques ont montré qu'il était très probable que *CBD103* non mutée soit responsable de l'activation de *MC1R*, menant à la production d'eumélanine en l'absence d'ASIP. La mutation $\Delta G23$ entraînerait une plus grande affinité pour le récepteur *MC1R*, et potentiellement une augmentation de la quantité disponible de *CBD103*. Ainsi *CBD103* est un agoniste de *MC1R* et donc un compétiteur de ASIP (Figure 11B).

Des tests génétiques permettent de distinguer l'allèle K^B et l'allèle k^y par recherche de cette délétion.

Allèle k^{Br}

Comme nous l'avons vu, Kerns *et al.* (2007) ont montré que l'allèle responsable de la bringeure était fortement lié au locus *K*, ce qui a entraîné la supposition que l'allèle responsable de la bringeure était un allèle du locus *K*, k^{Br} . Ciampolini *et al.* (2012), ainsi que Oguro-Okano *et al.* (2011) ont montré une association chez le Boxer, le Dogue Allemand et l'Akita-Inu de la délétion $\Delta G23$ non seulement avec l'allèle K^B , mais également avec l'allèle k^{Br} , puisque tous les individus bringés testés étaient de génotype *CBD103* $\Delta G23$ /*CBD103*. Ils portaient donc tous la mutation $\Delta G23$ à l'état hétérozygote.

Cet allèle pourrait être un allèle instable qui agirait selon les cellules soit comme l'allèle k^y , soit comme l'allèle K^B . Il est donc très difficile de trouver un test génétique pour détecter l'allèle k^{Br} , et les chiens testés avec les tests commercialisés pour le locus K sont aléatoirement K^B ou k^y . Le mécanisme aboutissant à cette expression en mosaïque n'est pas connu à ce jour.

Le Tableau 6 résume les mécanismes moléculaires concernant le locus K .

Tableau 6 : Résumé des mécanismes moléculaires concernant le locus K du chien

Locus K			
Gène	<i>CBD103</i>		
Protéine codée	β -defensine 103 (CBD103) - ligand activateur de MC1R		
Rôle	Ligand activateur de MC1R		
Allèles (par ordre de dominance)	K^B	k^{Br}	k ou k^y (allèle sauvage)
Phénotype	noir (ou autre couleur de l'eumélanine)	bringé	expression du locus A
Mutation responsable	Délétion $\Delta G23$	Non connue	
Action	Augmentation de l'expression et de l'affinité de CBD103 pour MC1R – Inhibition de l'action d'ASIP par liaison compétitrice sur MC1R	Mosaïque : zones où K^B est exprimé et zones où k^y est exprimé	Activation de MC1R en l'absence d'ASIP

2. Gènes et allèles déterminant la couleur et l'intensité des pigments

2.1. Gène *TYRP1* – Locus B (Brown)

Détails des allèles et phénotypes associés

Comme nous l'avons vu, l'eumélanine peut être noire ou brune. En 1957, C.C. Little postulait l'existence du locus B (*Brown*), qui déterminerait la couleur de l'eumélanine. Il supposait l'existence de deux allèles à ce locus, où B domine b :

B : eumélanine noire. La couleur des poils peut varier du noir au bleu (= gris) en fonction de la dilution des pigments.

b : eumélanine marron. La couleur des poils varie de brun (marron, foie, chocolat) au beige, si les pigments sont dilués. La couleur de la truffe est également modifiée, ainsi que celle des yeux qui devient ambre (Figure 14).

Figure 14 : Jain, labrador noir porteur de l'allèle *B* et Jax, labrador chocolat *b/b*
(Photo de Amandine Prélot)



Gène *TYRP1* (Schmutz et al., 2002)

Chez la souris, la coloration brune de l'eumélanine peut être due à des mutations du gène *Tyrp1* codant l'enzyme TYRP1 (*Tyrosinase related protein 1*) ou DHI-oxydase intervenant dans la synthèse de l'eumélanine. Le gène *TYRP1* était donc le candidat le plus probable au locus *B* du chien. Schmutz et al. (2003) ont localisé le locus *B* sur le chromosome 11 du chien et identifié plusieurs variations dans *TYRP1* effectivement associées à une eumélanine brune plutôt que noire.

Variants de *TYRP1* associés à la coloration brune de l'eumélanine – Allèles *b^c*, *b^s*, *b^d*

Le séquençage de la partie de *TYRP1* codant pour les 512 premiers acides aminés de la protéine a révélé les polymorphismes suivants (Tableau 7) :

Tableau 7 : Polymorphismes de *TYRP1* chez le chien (Schmutz et al., 2002)

Dogs	Coat color	Exon	Wild type codon	Alternate codon	Variant	Effect
Kilmor	Brown	2	TGT	CGT	S41C	cysteine replaced
Dove	Brown	5	CAG	TAG	Q331X	premature stop
Frisket	Brown	5	CCT	- - -	345delP	deleted proline
Tyke	Brown	5	TGT	CGT	S336C	cysteine replaced
Nigel	Black	2	TCC	TTC	S58F	serine replaced
Cora	Black	5	TTA	TCA	L341S	leucine replaced
Riley	Red	5	GCT	GCC	A322A	no change
Jura	Black	7	ACT	ACC	T456T	no change

Comme on le voit dans le Tableau 7, il y a 4 mutations différentes qui interviennent chez les chiens bruns :

- S41C (exon 2) : substitution d'une thymine par une cytosine dans le codon 41, aboutissant au remplacement d'une cystéine par une sérine,

- Q331X (exon 5) substitution d'une cytosine par une thymine dans le codon 331, aboutissant à un codon stop qui tronque la protéine TYRP1,
- 345delP (exon 5) : délétion du codon 345 et donc de la proline 345 dans la protéine TYRP1,
- S336C (exon 5) : substitution d'une thymine par une cytosine dans le codon 336, qui entraîne le remplacement d'une cystéine par une sérine.

Les auteurs ont réalisé ensuite la recherche des ces mutations chez 100 chiens, dont 48 avaient une eumélanine brune. Parmi ceux-ci, 41 étaient homozygotes pour le variant 345delP ou pour Q331X, ou hétérozygotes 345delP/Q331X ; six étaient homozygotes pour S41C, et le dernier était hétérozygote S41C/Q331X. En résumé, tous les chiens bruns portent deux allèles mutés comportant l'une de ces mutations. A l'inverse, les chiens à eumélanine noire ne sont jamais porteurs de deux allèles mutés. Ces trois mutations sont donc susceptibles d'être responsables de trois formes différentes d'allèle *b*. Les mutations S41C et 345delP peuvent intervenir sur un même allèle mais ce n'est pas obligatoire.

Ces trois mutations sont susceptibles d'affecter TYRP1 de façon marquée puisque :

- S41C concerne une cystéine, acide aminé qui forme des ponts disulfures avec ses semblables, ce qui participe fortement à la structure tertiaire de la protéine, nécessaire à son bon fonctionnement. Dans TYRP1, il y a 4 ponts disulfures. La cystéine 41 est accolée à une autre cystéine et seulement l'une des deux peut participer à la formation de ces ponts. D'après une étude précédente, c'est la cystéine 41 qui y participe, donc celle qui est substituée avec la mutation S41C. Il est donc très probable que, bien que la deuxième cystéine persiste, le pont disulfure soit modifié et donc, que la structure tertiaire de TYRP1 soit modifiée elle aussi.
- La mutation Q331X raccourcit la protéine de plus de 200 acides aminés. L'effet sur sa fonction est donc important.
- La délétion 345delP concerne l'une des prolines d'une paire de prolines très conservées chez les Mammifères à cette position. Très souvent, la conservation des acides aminés entre les espèces reflète leur importance fonctionnelle.

La mutation S336C du Braque de Weimar Tyke (Tableau 7) n'a pas été retrouvée chez d'autres chiens dans cette étude. Cependant, comme nous l'avons vu, elle entraîne le remplacement d'une cystéine par une sérine. Or, cette cystéine est impliquée dans l'un des 4 ponts disulfures participant à la structure tertiaire de TYRP1. Son remplacement a donc pour effet d'abolir la formation de l'un de ces ponts. Il est fort probable que ceci altère de façon marquée la fonction que TYRP1 et donc que cette mutation soit causale d'un autre allèle *b* plus rare.

Cette étude démontre donc qu'il n'y a pas un allèle *b*, responsable de la couleur brune, mais au moins trois allèles avec des mutations causales différentes : *b^c* est causé par S41C, *b^s* est causé par Q31X et *b^d* est causé par la délétion 331delP.

Coloration de la truffe et des coussinets (Schmutz et al., 2002)

Les chiens génotypés pour les mutations de *TYRP1* ne portaient pas de masque foncé et n'étaient pas de race Saluki ou Lévrier Afghan. Schmutz et al. déterminèrent leur génotype pour *MC1R* par recherche de la mutation R306X. Comme attendu, tous les chiens fauve rouge à jaune étaient homozygotes pour R306X donc de génotype *e/e*. Les chiens bruns ne l'étaient pas, ce qui est cohérent avec le fait qu'ils produisent de l'eumélanine.

De façon intéressante, les chiens *e/e* peuvent garder une coloration noire de la truffe et des coussinets, malgré l'effacement de l'eumélanine partout sur leur pelage. Cela suggère que le récepteur *MC1R* n'est pas nécessaire à la coloration de ces zones. Les chiens au pelage brun ont une truffe et des coussinets bruns, jamais noirs. L'altération de *TYRP1*, à l'inverse de *MC1R*, affecte donc aussi ces zones. Ainsi, les chiens *e/e* porteurs de deux allèles mutés au locus *B* ont une coloration brune de la truffe, de part leur génotype au locus *B* et non au locus *E* (Tableau 8).

Tableau 8 : Corrélation entre les génotypes aux loci *E* et *B* avec la couleur du pelage, de la truffe et des lèvres (Schmutz et al., 2002)

<i>MC1R</i> Genotype Homozygote of:	<i>TYRP1</i> Genotype Homozygote or Compound Heterozygote of:	Coat Color	Nose/Pad Color
wild type	wild type	Black	Black
R306X	wild type	Red or yellow or gold	Black
wild type	S41C, Q331X, or 345delP	Brown or liver	Brown
R306X	S41C, Q331X, or 345delP	Red or yellow or gold	Brown or "self"

MC1R wild type = allèle *E* ; *MC1R* R306X = allèle *e* ; *TYRP1* wild type = *B*, *TYRP1* muté = *b*

Les individus *E/E B/B* produisent une eumélanine noire qui colore le pelage, mais aussi la truffe (« nose » et les coussinets (« pad »)). Les chiens *e/e* et *B/B* n'ont pas d'eumélanine dans leur pelage mais conservent une coloration noire de la truffe et des coussinets. Les chiens *b/b* ont tous une coloration brune de la truffe et des coussinets. Si certains éleveurs parlent de truffe « self-coloured » pour désigner la truffe brune des chiens *e/e*, ce qui sous entend que la truffe serait de la même couleur que le pelage, ce sont en fait deux mécanismes différents qui interviennent puisque la truffe est colorée par l'eumélanine brune alors que le pelage est coloré par la phéomélanine.

Le Tableau 9 résume les mécanismes moléculaires concernant le locus *B*.

Tableau 9 : Résumé des mécanismes moléculaires concernant le locus B du chien

Locus B				
Gène	<i>TYRP1</i>			
Protéine codée	Enzyme <i>tyrosinase-related protein 1</i> (TYRP1)			
Rôle	Enzyme catalysant la dernière étape avant polymérisation de l'eumélanine			
Allèles (B domine les 3 autres allèles)	<i>B</i> (allèle sauvage)	<i>b^s</i>	<i>b^c</i>	<i>b^d</i>
Phénotype	eumélanine noire	eumélanine brune		
Mutation responsable		Mutation non-sens Q331ter	Mutation faux-sens S41C	Délétion ΔP331
Action	TYRP1 fonctionnel	Enzyme TYRP1 tronquée, non fonctionnelle	Altération de pont disulfure modifiant la structure tertiaire de TYRP1	Altération de TYRP1

2.2. Gène *MLPH* – Locus *D* (Dilution)

Détails des allèles et phénotypes associés

D : n'affecte pas la couleur du pelage, des yeux et du nez

d : **pigment dilué**. Les zones noires deviennent bleues (= grise) et les zones chocolat (= foie ou marron) deviennent beige (= lilas ou isabelle) (exemple en Figure 15). Les zones fauves (feu) sont également éclaircies mais cela est difficile à apprécier (couleur plus mate du fauve). La truffe et les yeux sont également affectés. Les yeux s'éclaircissent en une couleur ambre.

L'existence d'un 3^{ème} allèle **d'** est supposée pour expliquer le déterminisme génétique de la maladie **CDA** (*Colour Dilution Alopecia*). Elle correspond à une alopecie des robes diluées, Elle est également connue sous le nom de syndrome du Dobermann bleu, les Dobermann faisant partie des races touchées par la dilution. Cependant, aucune étude ne confirme l'existence de cet allèle (voir plus loin).

Figure 15 : Dobermann bleu-et-feu comparé au Dobermann noir-et-feu (Philipp et al., 2005b)



Le chien présenté en A présente une dilution des zones noires et feu de la robe noir-et-feu, présentée en B. Le phénotype en résultant est nommé bleu-et-feu.

Gène responsable de la dilution chez le chien et allèle *d*, G22A

Le gène responsable de la dilution chez le chien a été identifié par Philipp *et al.* (2005a). Il s'agit du gène de la mélanophiline (*MLPH*) impliqué dans le transport intracellulaire des mélanosomes au sein du mélanocyte (Philipp *et al.* 2005b).

En 2007, Drogemüller *et al.* identifient une association forte entre une mutation appelée c.-22G>A et située dans une région non codante de *MLPH* et l'allèle *d* par le génotypage de 935 chiens appartenant à 20 races et comportant des individus à robe diluée. Les 122 individus à robe diluée étudiés étaient homozygotes pour l'allèle A22. Cela ne permet pas d'affirmer que la mutation c.-22G>A est la cause de l'apparition d'une robe diluée mais elle est en parfait déséquilibre de liaison avec le phénotype robe diluée dans de nombreuses races, ce qui indique vraisemblablement qu'une mutation ancestrale est responsable de la dilution de la couleur du pelage chez tous les chiens domestiques d'aujourd'hui (Welle *et al.*, 2009).

La séquence présente chez les individus à robe non diluée (*Wild type*) ressemble beaucoup à une séquence donneuse d'épissage décrite chez l'homme. La séquence mutée des individus à robe diluée comporte un nucléotide différent dans cette séquence, nucléotide particulièrement conservé dans les séquences donneuses d'épissage humaines (84% de G), ce qui pourrait être à l'origine d'erreur d'épissage, en diminuant l'efficacité de ce site donneur d'épissage (Tableau 10). La simulation de l'effet du remplacement de A par G dans deux logiciels prévoyant les altérations d'épissage a supposé que les transcrits normaux de l'allèle muté pourraient représenter moins de 12% des transcrits de l'allèle sauvage.

Tableau 10 : Comparaison des séquences donneuses d'épissage sauvage et mutée chez le chien avec une séquence donneuse d'épissage connue chez l'homme (Drogemüller *et al.*, 2007)

Wildtype sequence:	C	C	<u>G</u>	g	t	g	a	g
Mutated seq. (c.-22G>A):	C	C	<u>A</u>	g	t	g	a	g
Consensus splice donor:	C ₃₈	A ₆₆	G ₈₄	g ₁₀₀	t ₁₀₀	a ₆₀	a ₇₆	g ₈₃

Les nombres à côté des nucléotides de la séquence consensus représentent la fréquence de chaque nucléotide dans les séquences donneuses d'épissage de l'homme. Le nucléotide G, remplacé par un A dans la séquence mutée pourrait être de grande importance car il est relativement conservé chez l'homme (84%). Wildtype : sauvage. Mutated : mutée, présente chez les chiens dilués. Consensus splice donor : séquence consensus du site donneur d'épissage chez l'homme.

Une deuxième partie de l'étude de Drogemüller *et al.* (2007) a consisté à déterminer le niveau d'expression des ARNm de *MLPH* dans la peau de trois Beagles à robe diluée, comparé à celui de 10 Beagles à robe non diluée, en fonction de leur génotype *D/D*, *D/d* et *d/d*. Le nombre d'animaux était trop faible pour réaliser une analyse statistique significative, mais globalement, les individus *D/D* présentaient les niveaux en ARNm les plus hauts, les individus *d/d* avaient les plus bas et les niveaux des individus *D/d* étaient intermédiaires. En moyenne, les individus *d/d* avaient 25% des transcrits (en quantité totale) des individus *D/D*. L'étude était trop peu standardisée et possédait un nombre trop faible d'animaux pour conclure de façon certaine mais il est possible que la dilution de la couleur du pelage soit effectivement due à une mutation affectant le niveau d'expression des ARNm. La mutation c.-22G>A est celle qui a le plus de probabilité d'altérer l'épissage des ARN et donc d'altérer

l'expression de *MLPH*, par exemple en accélérant la dégradation des ARN. Cependant, les 13 mutations en déséquilibre de liaison complet avec c.-22G>A identifiées dans l'étude et précédemment ne peuvent pas être exclues en tant que mutation causale de la dilution (Drogemüller *et al.*, 2007).

La mutation c.-22G>A est de toute façon un marqueur fiable de l'allèle *d* permettant sa détection par un test génétique.

CDA (Color Dilution Alopecia) et BHFD (Black Hair Follicular Dysplasia)

La CDA est un syndrome comprenant une perte de poils progressive, très souvent associée à des folliculites récidivantes. La peau exposée par la perte de poils est sèche et squameuse, et plus sensible au soleil et au froid extrême. L'alopécie se forme suite à la fracture de nombreuses tiges pileuses dans les zones pigmentées. La maladie se déclare cliniquement en général entre 3 et 12 mois, puis les lésions s'aggravent avec l'âge. Classiquement, la partie dorsale du tronc est la plus touchée. C'est une maladie particulièrement présente chez le Doberman, où elle touche plus de 80% des individus à robe diluée. La BHFD est phénotypiquement similaire à la CDA et touche les zones noires des chiens tachetés. Elle est en général cliniquement visible dès les premières semaines de vie de l'animal. Histologiquement, les lésions sont les mêmes dans les deux maladies. De larges groupes de granules de pigments sont accumulés dans les mélanocytes des follicules pileux, dans les racines du poil et dans la tige pileuse. Ces tiges finissent par se fracturer, ce qui provoque la chute du poil, qui laisse souvent des débris dans le follicule, probablement à l'origine des folliculites fréquemment observées. L'expression de la maladie est très variable d'une race à une autre, et même d'un individu à l'autre. Pour la même quantité de granules de pigments accumulés, certains chiens présentent de graves signes cliniques alors que d'autres ne sont pas atteints par la maladie. Seulement environ 25% des chiens à robe bleue/grise toutes races confondues ont des signes cliniques, et ceux-ci sont d'intensité très variable allant d'une discrète alopécie à une folliculite sévère. L'âge de déclaration des symptômes est lui aussi très variable. Certaines races ont une prédisposition à la déclaration de la maladie, par exemple le Grand Epagneul de Münster, alors que d'autres n'ont jamais ces maladies, ou ont des signes cliniques très discrets, comme le Braque de Weimar (Welle *et al.*, 2009).

L'étude par Welle *et al.* (2009) de 45 biopsies de peau a consisté à caractériser les lésions histologiques de 45 chiens soupçonnés d'être atteints de CDA ou BFHD. Comme attendu, les lésions histologiques étaient les mêmes pour les chiens suspectés de CDA et ceux suspectés de BHFD. Elles comprenaient de façon systématique la présence d'agrégats de mélanine dans les follicules pileux. Les autres lésions, qui n'étaient pas présentes chez tous les chiens, étaient la présence de poils fracturés, d'infundibulums folliculaires dilatés avec un contenu fait de kératine, de fragments de poil et/ou d'agrégats de mélanine, un pourcentage anormalement élevé de poils en phase télogène et parfois, une pigmentation périfolliculaire de degré variable. Des signes de pyodermite secondaire étaient présents chez les chiens les plus atteints.

Chez les 45 individus testés, 38 étaient homozygotes pour l'allèle A22, deux étaient hétérozygotes et cinq étaient homozygotes pour l'allèle G22, non muté. Les sept individus non homozygotes pour l'allèle A22 présentaient comme unique lésion les agrégats de mélanine

dans les follicules, qui ne sont pas spécifique de CDA/BHFD puisqu'ils apparaissent aussi dans d'autres dystrophies folliculaires comme conséquence d'une induction catagène préterminale. Parmi les 38 chiens homozygotes pour l'allèle A22, neuf n'étaient en fait vraisemblablement pas atteints de CDA/BHFD au vu de l'anamnèse (faisant par exemple plutôt penser à une alopecie saisonnière des flancs ou un trouble endocrinien). Finalement, 29 chiens avaient un diagnostic de CDA/BHFD confirmé. Parmi eux, 22 présentaient à la fois des agrégats de mélanine dans les follicules pileux (cas des 45 chiens étudiés), mais également de tels agrégats dans l'épiderme (spécifiques à ces 22 chiens). L'étude a conclu que les agrégats de mélanine ne sont pas spécifiques à la CDA/BHFD mais que s'ils sont présents dans l'épiderme, la spécificité semble importante. Concernant la génétique, l'homozygotie pour l'allèle A22 de *MLPH* semble un facteur de risque important, mais non suffisant, pour la CDA/BHFD. Il serait donc intéressant de rechercher d'autres facteurs génétiques impliqués dans le déterminisme de ces maladies.

Le Tableau 11 résume les mécanismes moléculaires concernant le locus *D*.

Tableau 11 : Résumé des mécanismes moléculaires concernant le locus *D* du chien

Locus <i>D</i>		
Gène	<i>MLPH</i>	
Protéine codée	Mélanophiline (MLPH)	
Rôle	Fait partie du complexe transporteur des mélanosomes au sein du mélanocyte	
Allèles (par ordre de dominance)	<i>D</i> (allèle sauvage)	<i>d</i>
Phénotype	robe non diluée	robe diluée
Mutation responsable		Mutation d'épissage ? c.-22G>A
Action	MPLH exprimé à un niveau permettant le transport normal des mélanosomes	Altération d'épissage – Diminution importante de la quantité de MLPH fonctionnelle Favorise CDA et BHFD

2.3. Gène *SLC45A2* et albinisme

Albinisme du Doberman – Délétion dans l'exon 7 du gène *SLC45A2* (Winkler et al., 2014)

Le premier Doberman blanc a été enregistré par l'American Kennel Club en 1976. Cette couleur est transmise de façon récessive à la descendance. Le phénotype de ces chiens ressemble fortement à l'albinisme oculocutané (*oculocutaneous albinism* – OCA) humain et les cliniciens notent une prévalence élevée pour la présence de masses pigmentées sur ces chiens, comme c'est le cas chez les humains albinos. Les Doberman blancs présentent un pelage crème très clair, une photophobie (ils ne supportent pas bien la lumière,

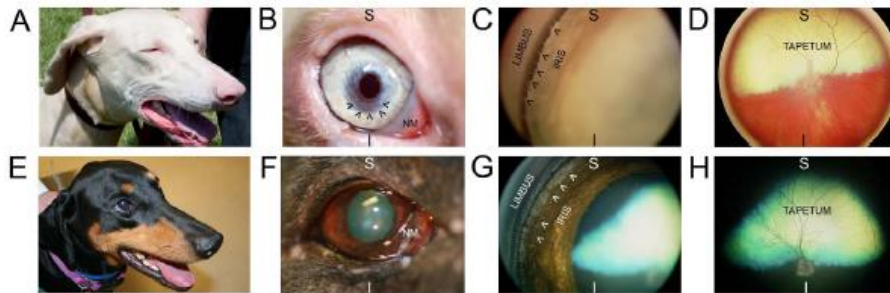
Figure 16), leur iris est bleu pâle, la truffe, le contour des yeux et les lèvres sont roses. Toutes les structures de l'œil sont globalement dépigmentées (Figure 17).

Figure 16 : Apparence typique des Dobermann blancs (Winkler et al., 2014)



Robe crème typique. Notez que les trois chiens ne peuvent pas ouvrir les yeux face à la lumière du Soleil (photophobie). C'est le cas de tous les Dobermann blancs.

Figure 17 : Phénotype oculaire des Dobermann blancs (Winkler et al., 2014)



La ligne du haut comporte des images de Dobermann albinos, alors que celle du bas comporte les images normales. Les images A et E permettent de mettre en évidence la pâleur du Dobermann albinos (A) par rapport au Dobermann coloré (E). Les lèvres, la truffe et le contour des yeux sont roses. Les images B et F permettent la comparaison de la couleur de l'iris. Chez le Dobermann albinos, elle est d'un bleu extrêmement pâle (B). Les fibres du ligament pectiné de l'iris sont elles aussi dépigmentées (images C et G). La zone du tapis du Dobermann albinos a un reflet jaune anormal (D) sur un fond d'œil. L'épithélium pigmenté de la rétine (zone rouge sur l'image D) est largement hypopigmenté chez le Dobermann albinos, puisque comme, on le voit sur l'image H, il est censé est opaque.

L'œil du Dobermann albinos est donc globalement dépigmenté.

L'albinisme du Doberman blanc est transmis sur un mode autosomique récessif. Il y a 7 gènes associés à l'albinisme chez l'humain et les autres espèces. Parmi eux se trouve le gène *SLC45A2* (*solute carrier family 45, member 2*), qui code potentiellement pour un transporteur transmembranaire de sucre, puisque sa séquence est proche de tels transporteurs chez les plantes et chez les drosophiles. Il est fort probable que ce transporteur participe à l'acidification des mélanosomes, nécessaire au bon fonctionnement enzymatique lors de la mélanogénèse. L'équipe de Winkler et al. (2014), a procédé à une étude de liaison entre 4 des gènes impliqués dans l'albinisme chez l'Homme et la souris, et la présence de l'albinisme chez le Doberman. Cela leur a permis de démontrer une liaison entre le gène *SLC45A2* et l'albinisme. Chez les Doberman blancs, une délétion de 4081bp entraîne la délétion de 163bp de l'exon 7, dernier exon, du gène *SLC45A2*, ainsi que de la séquence en aval de ce gène. Cela cause la délétion de 50 acides aminés composant des domaines transmembranaires dans la protéine *SLC45A2*, qui sont remplacés par 191 nouveaux acides aminés. Le niveau d'ARNm de *SLC45A2* dans la peau de chien blanc est significativement inférieur à celui observé dans la peau de chien coloré. Cela est très probablement dû à une instabilité de l'ARNm transcrit à partir du gène muté.

Des mutations délétères du gène *SLC45A2* entraînent chez l'Homme et dans d'autres espèces l'albinisme oculo-cutané de type 4, comportant une hypopigmentation globale et des anomalies oculaires, comme c'est le cas chez le Doberman blanc. Cette mutation est donc très probablement causale de l'albinisme du Doberman.

NB : Comme chez l'humain, la dépigmentation de la peau et du pelage du Doberman blanc augmente le risque vis-à-vis du risque de tumeurs de type mélanome, du fait de l'exposition plus importante aux UV.

Albinisme du Lhasa Apso, du Spitz nain et du Pékinois – Mutation faux-sens G1478A (Wijesena et Schmutz, 2015)

En mai 2015, Wijesena et Schmutz ont identifié une autre mutation au gène *SLC45A2*. En effet, ils recherchent la délétion identifiée chez le Doberman et s'aperçoivent qu'elle n'intervient pas chez un Lhasa Apso albinos (Figure 18). Ils recherchent donc une autre mutation dans ce gène, susceptible de causer l'albinisme de cette femelle. Cette Lhasa Apso albinos est homozygote pour un allèle muté comportant une mutation faux-sens où la guanine 1478 est remplacée par une adénine (G1478A) dans l'exon 7 du gène, ce qui aboutit à la substitution de la glycine 493 par un acide aspartique dans la protéine. A l'inverse, cette mutation n'est pas trouvée chez les Lhasa Apso et autres races testées non albinos. Un Pékinois albinos, deux Spitz nains et un chien albinos de race mixte (petit, à poils longs) étaient également homozygotes pour l'allèle muté A1478. La ségrégation de la mutation dans les pédigrées d'une Lhasa Apso et des 2 Spitz nains suit le mode de transmission récessif de l'allèle *albinos*. Par contre, cette mutation n'était pas retrouvée chez un Carlin albinos.

Figure 18 : Lhasa Apso albinos (Wisejena et Schmutz, 2015)



L'effet prédictif de cette mutation est l'altération de la structure du 11^{ème} domaine transmembranaire de la protéine SLC45A2. Les auteurs suggèrent donc que cette mutation soit la mutation causale de l'albinisme dans certaines races, notamment chez le Lhasa Apso, le Pékinois et le Spitz nain. Elle devra être recherchée dans les autres races où l'albinisme est présent afin d'étendre éventuellement le nombre des races concernées.

Actuellement, un test génétique est disponible pour les trois races citées (Antagene).

2.4. Gène *PMEL17* – Locus *S* (Silver)

Détails des allèles et phénotypes associés

Le locus *M* (Merle) détermine le phénotype merle qui correspond à une dilution des pigments par patchs sur la robe du chien, causant ainsi une alternance de patchs de pigments non dilués avec des patchs de pigments dilués. La robe merle fait partie des robes standards de plusieurs races, notamment le Berger des Shetland, le Berger Australien, le Welsh Corgi Cardigan et le Teckel (où la robe est nommée « *dapple* », qui signifie « tacheté » dans les pays anglophones). Chez le Dogue Allemand, la robe merle n'est pas recherchée dans le standard mais la robe arlequin, qui est une modification de la robe merle, l'est.

La couleur merle est héritée de façon autosomique dominante à pénétrance incomplète. Cela signifie qu'un chien de génotype merle peut ne pas présenter le phénotype associé, de façon rare. Ces individus sont appelés merles cryptiques. Souvent, ils portent quand même une ou deux zones très limitées de merle, mais apparaissent essentiellement non dilués.

M : allèle responsable de la robe **merle** (Figure 20 B). Cet allèle entraîne, la dilution du fond de robe mais en laissant des patchs non dilués. Sur base noire, le chien est appelé bleu merle. Sur base marron, il est appelé rouge merle. L'homozygotie *M/M*, appelée **double merle**, entraîne une prédominance de blanc dans la robe, avec des zones merle très limitées

(Figure 20 C). Elle est associée à des troubles de l'audition et de la vision. Il est donc fortement conseillé de ne pas marier deux chiens merles, afin de ne pas risquer d'obtenir de chiots double merles dans la descendance.

m : cet allèle récessif ne modifie pas la robe du chien.

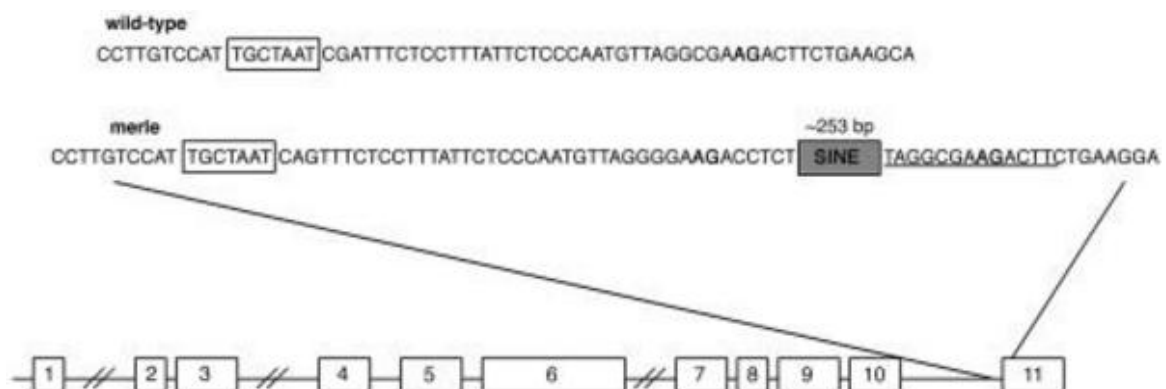
Gène MITF (Clark et al., 2006)

Clark et al. (2006) ont génotypés 41 chiens de race Berger des Shetland (neuf merles et 32 non merles) pour 279 marqueurs répartis sur tous les chromosomes canins. Un polymorphisme du marqueur FH2537 sur le CFA10 s'est montré en parfait déséquilibre de liaison avec l'allèle *merle*. Le génotypage de 20 autres Bergers des Shetland (sept merles, deux doubles merles et 11 non merles) pour ce marqueur a confirmé la liaison. La recherche de gènes proche de FH2735 sur le CFA10 et ayant un rôle connu dans la pigmentation des poils a poussé l'équipe à étudier la séquence du gène *SILV* (*silver*), situé environ à 0,2 mégabases (Mb) du marqueur, et codant la protéine PMEL17 (*Premelanosomal protein 17*), nécessaire à la formation de la matrice fibrillaire des mélanosomes sur laquelle se dépose la mélanine lors de la maturation du mélanosome. Il a été proposé que la protéine PMEL17 pourrait également participer à la mélanogénèse.

Allèle M – Insertion SINE (Clark et al., 2006)

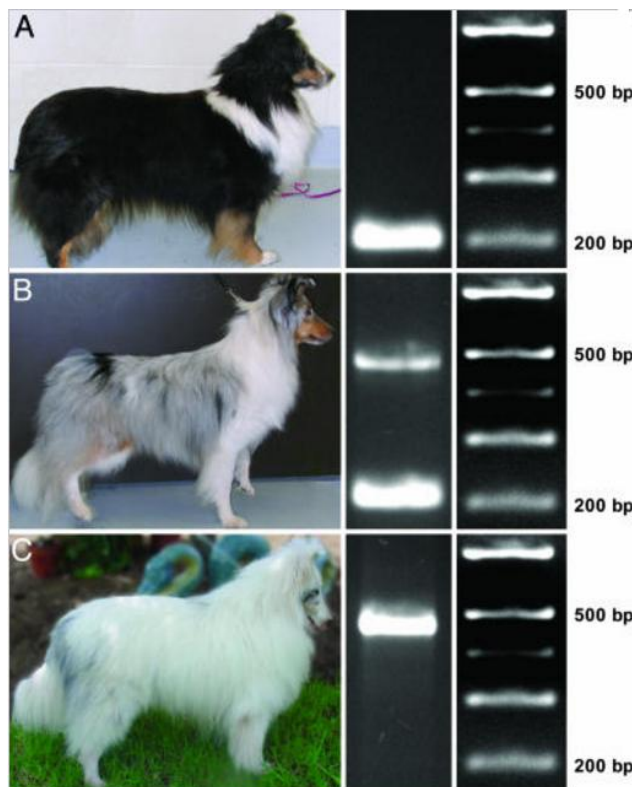
L'amplification des séquences de chaque exon de *SILV* par PCR pour deux Bergers des Shetland non merles, un merle bleu et un double merle, puis l'électrophorèse sur gel des produits a révélé un polymorphisme pour l'exon 11 : un produit de 206 pb (taille normale) et un produit plus long, de près de 500 pb. Les deux chiens non merles étaient homozygotes pour le produit court, alors le chien merle bleu était hétérozygote et le chien double merle était homozygote pour le produit long (Figure 20). Le séquençage du gène *SILV* pour les deux types de produits a montré que le produit long comportait une insertion d'un élément SINE (Figure 19), dans l'orientation inverse, entre l'intron 10 et l'exon 11.

Figure 19 : Comparaison des allèles *SILV* merle et sauvage (Clark et al., 2006)



La séquence encadrée correspond à la séquence de branchement (pour la formation du lasso lors de l'épissage). Les sites accepteurs d'épissage sont indiqués en gras. Dans l'allèle merle, un site accepteur d'épissage se situe dans la séquence de duplication soulignée, juste après l'insertion SINE (d'une taille moyenne de 253 pb en exceptant le site de duplication).

Figure 20 : Ségrégation de l'insertion SINE dans *SILV* avec le phénotype merle (Clark *et al.*, 2006)



A : Berger des Shetland tricolore (noir-et-feu, avec panachure blanche), non merle, m/m

B : Berger des Shetland bleu merle (intervention de l'allèle M sur un chien dont le reste du génotype détermine une robe tricolore), M/m

C : Berger des Shetland double merle (marques limitées de merle sur une robe essentiellement blanche), M/M

Colonne centrale : Produits PCR de l'exon 11

Colonne de droite : Marqueurs de longueur

Le génotypage de chiens merles et non merles pour l'insertion SINE a ensuite été étendu à six autres races (Colley, Border Collie, Berger Australien, Welsh Corgi Cardigan, Teckel et Dogue Allemand). Tous les merles se sont révélés être hétérozygotes fragment court/fragment long. Le Dogue Allemand double merle était homozygote pour le fragment long. Le séquençage d'un chien merle pour chaque race a montré que l'insertion dans le fragment long était la même que celle du Berger des Shetland. Le même constat entre les chiens merles et non merles a été fait dans cinq races supplémentaires (Pitbull Américain, Chien Léopard Catahoula, Chihuahua, Caniche nain et Berger des Pyrénées). A l'inverse, pour 29 chiens de 26 races où la robe merle n'existe pas, tous les chiens étaient homozygotes pour le fragment court. L'association entre l'allèle *M* et l'exon 11 long portant l'insertion SINE complète était donc parfaite pour toutes les races étudiées.

Une des hypothèses faite préalablement à cette étude était que l'allèle responsable du merle serait dû à un élément transposable, du fait qu'un chien double merle puisse avoir une descendance non merle, où les générations suivantes ne présentent plus de merle. Cela suggère que la mutation responsable du merle peut subir une réversion stable, avec un taux estimé à 3-4%. L'élément SINE peut correspondre à cet élément transposable, mais la réversion, au vu de cette étude, serait due à une délétion à l'intérieur de cet élément, dans la queue polyA, et non à une suppression complète de l'élément SINE. L'insertion SINE est fortement susceptible d'affecter l'épissage des transcrits du gène *SILV* puisqu'elle est située à la jonction d'un intron et d'un exon, et qu'elle est dans l'orientation inverse, ce qui peut induire un site accepteur d'épissage d'après Wang et Kirkness (2005) (Figure 19). L'analyse

des ARNm de *SILV* chez des chiens merles et non merles serait à faire pour confirmer cette hypothèse.

La queue polyA de l'insertion SINE était raccourcie chez quatre Shetlands non merles. Le raccourcissement de cette queue polyA semble donc être une réversion de la mutation causale de l'allèle *M*. La queue polyA est très propice au polymorphisme rapide. L'existence d'un allèle portant l'insertion SINE avec queue raccourcie, donc non fonctionnel, pourrait expliquer qu'un chien non merle puisse avoir une descendance avec du merle. En effet, un chien non merle peut porter l'insertion SINE avec une queue polyA trop courte pour exprimer le merle. L'extension de la queue polyA dans la lignée germinale de ce chien expliquerait le rétablissement d'un allèle *M* fonctionnel et donc le rétablissement de la robe merle dans la descendance. Ceci explique la notion de merle cryptique (chien porteur d'un allèle *M* dont la queue polyA de SINE est atrophiée) et de pénétrance incomplète de *M* (réversion de la mutation causale de *M* dans la lignée germinale par raccourcissement de la queue polyA).

Les patches non dilués intervenant de façon aléatoire dans la robe merle pourrait être le résultat d'erreur de réplication durant le développement des mélanocytes, qui aboutirait au raccourcissement de la queue polyA et donc à un allèle *M* non fonctionnel pour certains mélanocytes et leurs descendants. Ceux-ci produiraient alors des protéines PMEL17 normales, permettant le dépôt normal de mélanine dans les eumélanosomes et donc des zones de poils pleinement colorés.

Double merle et surdité

Voir partie sur la surdité associée aux robes blanches.

Le Tableau 12 résume les mécanismes moléculaires concernant le locus *M*.

Tableau 12 : Résumé des mécanismes moléculaires concernant le locus *M* du chien

Locus <i>M</i>		
Gène	<i>SILV</i>	
Protéine codée	SILV ou protéine prémélanosomale 17 (PMEL17)	
Rôle	Polymérisation pour former la matrice fibrillaire des eumélanosomes	
Allèles	<i>M</i>	<i>m</i> (allèle sauvage)
Phénotype	- merle si <i>M/m</i> - double-merle si <i>M/M</i>	voir autres loci
Mutation responsable	Insertion SINE entre intron 10 et exon 11 à queue poly A longue	
Action	Altération de l'épissage du transcrit. Eumélanosomes anormaux. Réversion de la mutation si raccourcissement de la queue polyA lors d'erreur de réplication, permettant des zones de coloration normale. Risque de surdité de 2 à 3% pour les hétérozygotes <i>M/m</i> , et jusqu'à 25% pour les homozygotes <i>M/M</i>	Matrice fibrillaire dans les eumélanosomes permettant le dépôt d'eumélanine

2.5. Gène *PSMB7* - Locus *H* (Harlequin ou arlequin)

Locus *H* et relation avec le locus *M*

L'étude de pédigrées de Dogues Allemands a permis à Sponenberg (1985) de faire l'hypothèse de l'existence d'un locus déterminant la robe arlequin de ces chiens. La robe arlequin est celle désirée par les éleveurs du Dogue Allemand. Elle consiste en des patches noirs sur un fond blanc (Figure 21 A). Le patron de ces patches est très semblable à celui des patches de couleur foncée sur fond dilué de la robe merle (Figure 21 B), mais ici le fond de robe est blanc, sans pigment. Le croisement de chiens arlequins donne toujours des chiots en grande partie merle dans la descendance, ce qui a entraîné l'hypothèse que la robe arlequin et le merle étaient très liés, notamment que les chiens arlequins étaient porteurs de merle, et que la robe arlequin était régie par un autre locus et non par un allèle au locus *M*, comme supposé par Little (1957). L'allèle *M* du locus *M* semble donc requis pour l'expression de la robe arlequin, ainsi qu'un allèle *H* transmis sur un mode autosomique dominant. En l'absence de l'allèle *M*, le locus *H* n'est pas visible sur le phénotype (Figure 21 C).

D'autre part, les portées de croisements de chiens arlequins ont une taille significativement plus petite que les portées de croisements d'un chien arlequin avec un chien non porteur d'arlequin (noir), ce qui suggère que tous les chiens arlequins sont hétérozygotes *H/h* et que l'homozygotie *H/H* est létale tôt dans l'embryogénèse (Sponenberg, 1985).

Figure 21 : Phénotypes résultants des variations génétiques au locus *M* et *H* chez le Dogue Allemand (Clark *et al.*, 2011)



Les génotypes pour les loci *M* et *H* sont indiqués en encart.

A : robe arlequin typique de la race, avec des patches noirs sur un fond blanc

B : robe merle, les patches noirs sont alors sur un fond pigmenté et dilué bleu

C : robe Boston, noire avec panachure blanche, phénotype non distinguable du génotype *m/m h/h*

Détails des allèles et phénotypes associés

En présence de l'allèle *M* au locus *M*, les allèles du locus *H* s'expriment ainsi :

H : responsable de la robe arlequin. Cet allèle efface les pigments des zones diluées de la robe merle, aboutissant à une robe à zones pleinement colorées sur fond blanc. L'homozygotie est létale donc les individus arlequins sont de génotype *H/h* au locus *H*.

Associé à l'homozygotie *M/M*, la présence de *H* aboutit à une robe entièrement blanche. L'absence d'allèle *H* permet l'apparition de zones limitées de merle, robe nommée merlequin par Clarks *et al.* (2008) (en fait : double-merle).

h : pas d'influence sur la robe.

Gène *PSMB7* (Clark et al., 2008 et 2011)

Le locus *H* a d'abord été localisé par Clark *et al.* (2008) dans une région de 3,28 Mb située sur le télomère du CFA9. Cette région présentait une conservation de synténie avec une région du chromosome humain 9. Chez l'homme, elle comprend 20 gènes, dont aucun n'avait d'action connue sur la coloration.

En 2011, l'équipe publie un nouvel article dans lequel est identifié le gène du locus *H*. Il s'agit du gène *PSMB7* (*Proteasome Subunit, Beta Type, 7*). Ce gène, composé de 8 exons, code une sous-unité du protéasome, complexe majoritairement responsable de la dégradation des protéines intracellulaires. La dégradation des protéines est essentielle pour de nombreux processus biologiques majeurs tels que le cycle cellulaire, la réparation de l'ADN, l'apoptose, la réponse au stress, etc. Le système ubiquitine-protéasome est la voie primaire de dégradation des protéines. Les protéines défectueuses, notamment, subissent une modification post-traductionnelle qui consiste en la fixation de monomères d'ubiquitine aux résidus de lysine par liaisons covalentes. Cela les rend cibles du protéasome 26S qui reconnaît les protéines polyubiquitinées et les dégrade en peptides courts, pouvant être recyclés. Au cœur du complexe protéasome 26S se trouve le protéasome 20S, composé de sept sous-unités α et sept sous-unités β , agencées en quatre anneaux empilés. La sous-unité β_2 est celle codée par *PSMB7*. Elle possède une activité de type trypsine qui permet le clivage des liaisons peptidiques à l'extrémité C-terminale des résidus basiques. Elle est synthétisée sous forme d'un précurseur inactif avec un propeptide N-terminal qui sera clivé au cours de l'assemblage avec les autres sous-unités du protéasome 20S. Chez les Mammifères, aucune mutation affectant visiblement la fonction de β_2 n'avait jusqu'ici été décrite mais il existe chez *Drosophila melanogaster* une mutation faux-sens du résidu 170 de *PSMB7* qui cause une létalité larvaire lorsqu'elle est présente à l'état homozygote. L'hypothèse est que cette mutation affecte la fonction de tout le protéasome, empêchant le développement normal de l'organisme. Chez les Mammifères, il a également été montré qu'une mutation dans *PSMB7* entraîne l'accumulation de protéines polyubiquitinées.

Allèle *H* – Mutation G49V (Clark et al., 2011)

Pour rechercher une mutation de *PSMB7* susceptible d'être liée à l'allèle *H*, l'équipe a procédé au séquençage de tout le gène ainsi que de sa région promotrice chez quatre Dogues Allemands (trois arlequins, un merle). Les soupçons se sont portés sur les deux polymorphismes hétérozygotes chez les chiens arlequins et absent chez le chien merle. Le premier consiste à la substitution de la thymine en position 146 du gène par une guanine (c.146T>G). Cette mutation se situe dans la région codante du gène, plus précisément dans l'exon 2, et entraîne la substitution de la valine 49 par une glycine dans la sous-unité β_2 codée par *PSMB7*. L'autre polymorphisme intervient dans un intron et avait été observé chez deux Bergers Australiens merles donc ne pouvait pas correspondre à la mutation causale de l'allèle *H*.

Le polymorphisme c.146T>G a alors été analysé chez 247 Dogues Allemands et 104 autres chiens de races qui ne présentent pas de robe arlequin. Les résultats sont présentés dans le

Tableau 13. Tous les Dogues Allemands arlequins (*M/m H/h*) ou blancs (*M/M H/h*) testés (102 chiens) étaient hétérozygotes T/G. Tous les Dogues merles (25) et les chiens d'autres races merles (23) étaient homozygotes pour l'allèle sauvage T. Les chiens non merles de race sans robe arlequin l'étaient également. Les Dogues non merles et non arlequins (*m/m*) étaient soit homozygotes pour l'allèle T, soit hétérozygotes T/G. La mutation c.146T>G était donc en parfaite corrélation avec l'allèle *H* chez le Dogue Allemand, et n'apparaissait pas chez les races qui ne présente pas de robe arlequin. Comme attendu, aucun des 351 chiens testés n'était homozygote G/G, ce qui est en accord avec le fait que l'allèle *H* est létal à l'état homozygote.

Tableau 13 : Pourcentage des génotypes au nucléotide 146 de *PSMB7* chez 247 Dogues Allemands et 104 autres chiens de races (Clark *et al.*, 2011)

Phenotype	n	% Genotype		
		T/T	T/G	G/G
<i>Great Dane cases (M-Hh)</i>				
Harlequin (<i>Mm</i>)	88	0	100	0
White (<i>MM</i>)	14	0	100	0
<i>Merle controls (M-hh)</i>				
Great Danes	25	100	0	0
10 other breeds	23	100	0	0
<i>Non-merles (mm-h)</i>				
Great Danes				
Black	71	41	59	0
Fawn	30	97	3	0
Brindle	11	91	9	0
Blue	8	88	12	0
43 other breeds	81	100	0	0

La mutation c.146T>G est donc très probablement la mutation causale de la robe arlequin. Elle entraîne la substitution de la glycine 49 par une valine (G49V). Cette valine se trouve en 6^{ème} position après clivage du propeptide de 43 acides aminés de la sous-unité β_2 . Elle est très conservée chez les Mammifères et même chez les invertébrés. La simulation des conséquences de cette substitution sur la fonction de la protéine avec un logiciel en ligne a prédit une probabilité de 98% pour que la fonction de la protéine soit altérée.

Un protéasome 20S comprend 2 sous-unités β_2 . Un chien de génotype *H/h* a donc 75% de ses protéasomes qui contiendraient une ou deux sous-unités β_2 mutées. Ainsi la protéine altérée pourrait avoir un effet dominant négatif par compromission de l'assemblage et/ou de la fonction du protéasome.

Interactions entre les mutants *SILV* (Merle) et *PSMB7* (Arlequin)

L'absence de différence phénotypique entre les chiens *m/m H/h* et *m/m h/h* suggère que l'effet de *H* résulte de l'interaction entre les mutants *SILV* et les mutants *PSMB7*.

L'allèle *M* code une protéine SILV anormale, ce qui est probablement détecté comme aberrant par le complexe ubiquitine-protéasome fonctionnel, qui se charge de dégrader cette protéine SILV mutée. Ainsi, chez les individus merles (*M/m*) les protéines SILV mutées sont éliminées normalement par le complexe ubiquitine-protéasome, ce qui donne la couleur de fond dilué, puisque la protéine SILV normale codée par l'allèle *m* demeure. La mutation causale de l'allèle *M* est instable et il peut facilement y avoir rétroversion de l'effet de la mutation par raccourcissement de la queue polyA de l'insertion SINE. Cela explique les zones non diluées de la robe merle, où l'allèle *M* a subi cette rétroversion et donc où les deux allèles produisent des protéines SILV normales permettant la fixation correcte de la mélanine dans les mélanosomes. Chez les individus double-merle à l'inverse, la majorité des protéines SILV est anormale et détruite par le protéasome, ce qui empêche la fixation de mélanine et donne une robe majoritairement blanche. Seules les quelques zones où l'allèle *M* a subi une rétroversion par raccourcissement de la queue polyA, et donc produit une protéine SILV normale peuvent être colorées, d'où les quelques zones pigmentées du double-merle.

Si 75% des protéasomes sont inefficaces, ce qui serait le cas lors du portage de l'allèle *H*, la dégradation des protéines SILV mutées ne peut pas se faire correctement. Phénotypiquement, cela se traduit par une absence de pigmentation totale dans les zones où l'allèle *M* code une protéine SILV anormale. Ces zones devraient normalement, comme c'est le cas chez les chiens merles, présenter une coloration diluée permise par les SILV normales produites par l'allèle *m*. Deux hypothèses peuvent expliquer cette absence de pigmentation, en l'absence de protéasome efficace :

- les SILV mutées s'accumulent et ont des effets toxiques sur les mélanocytes, ce qui empêche la synthèse de pigments,
- les SILV mutées, en s'accumulant, forment des multimères avec les SILV normales, ce qui empêche la formation de la matrice fibrillaire nécessaire au dépôt d'eumélanine dans les eumélanosomes.

Les Dogues Allemands blancs sont de génotype *M/M H/h* alors que les Dogues Allemands *M/M h/h* présentent des zones merles et sont nommés merlequins (= double merle). L'explication précédente peut éclairer ce constat. En effet, les chiens *M/M H/h* ont à la fois une grande majorité de protéines SILV mutées et un protéasome inefficace, ce qui aboutit à l'accumulation des SILV mutées et donc l'absence de pigmentation (par l'un des deux mécanismes que l'on vient de citer). Chez les chiens *M/M h/h*, les protéines SILV sont là aussi très largement mutées mais, comme chez les merles, certains mélanocytes peuvent porter un allèle *M* ayant subi la rétroversion qui permet de produire des SILV normales (raccourcissement de la queue poly A de l'insertion SINE). Le protéasome fonctionnant bien chez ces chiens, les protéines SILV mutées ne s'accumulent pas et donc il est possible que des zones soient colorées grâce aux quelques protéines SILV normales.

Le Tableau 14 résume les mécanismes moléculaires concernant le locus *H*.

Tableau 14 : Résumé des mécanismes moléculaires concernant le locus H

Locus H		
Gène	<i>PSMB7</i>	
Protéine codée	Unité β_2 du protéasome	
Rôle	Fait partie du complexe protéasome-ubiquitine nécessaire à la dégradation des protéines altérées	
Allèles	<i>H</i> (homozygotie létale)	<i>h</i> (allèle sauvage)
Phénotype	- non modifié si <i>m/m</i> - arlequin si <i>M/m</i>	voir autres loci
Mutation responsable	Mutation faux-sens G49V	
Action	Altération de l'assemblage et/ou de la fonction du protéasome Action négative de l'accumulation des protéines SILV mutées sur la mélanogénèse dans les mélanocytes (par toxicité ou par polymérisation des protéines SILV non mutées)	Destruction des protéines SILV mutées (en cas de portage de <i>M</i>)

3. Gènes et allèles influençant les marques blanches

3.1. Gène *MITF* - Locus *S* (white Spotting)

Phénotypes et allèles associés

Le locus *S* est celui qui contrôle l'extension de la panachure blanche, allant d'une panachure très limitée (extrémités des pattes, de la queue et sur le poitrail) à une robe entièrement blanche. Clarence C. Little (1957) supposait l'existence de quatre allèles, ceux permettant la couleur étant dominants de façon incomplète sur ceux la supprimant. Ces allèles sont notés :

S (*solid*) : allèle à dominance incomplète responsable d'un phénotype coloré, sans blanc (Figure 22). Si cet allèle est porté en hétérozygotie avec un autre allèle, des marques blanches plus ou moins limitées seront visibles (Figure 23A, B).

sⁱ (*Irish spotting*) : responsable d'une panachure blanche dite irlandaise (Figure 22 et Figure 23 B). Le blanc est limité aux pattes, au poitrail, à la queue et souvent au tour de cou et à la face. Cet allèle est fixé chez certaines races telles que le Basenji. Certains auteurs suggèrent aujourd'hui que l'allèle *sⁱ* pourrait se situer à un autre locus que *S*.

s^p (*piebald spotting*) : panachure de type piebald ou pie (Figure 22). Il s'agit d'une robe où les marques blanches sont plus ou moins développées, en fonction du portage des autres allèles. Un chien *S/s^p* peut en effet porter seulement des traces de blanc sur l'extrémité des pattes, le bout de la queue et/ou le poitrail (Figure 23A), mais peut également présenter une robe de type irlandaise ; on parle alors de panachure pseudo-irlandaise (Figure 23B). Un chien *sⁱ/s^p* peut présenter une robe entre le pseudo-irlandais et un blanc beaucoup plus présent (Figure 23B à D). Un chien homozygote *s^p/s^p* aura encore plus de marques blanches, avec plus de 50% de blanc, et des patches de couleur se limitant en général aux zones dorsales, à la base de la queue et aux pourtours des oreilles et des yeux (Figure 23C à E).

s^w (*extreme white*) : robe entièrement blanche, ou à marques colorées très limitées en cas d'homozygotie s^w/s^w (Figure 22 ; Figure 23 F, G). Si le chien est porteur d'un autre allèle permettant la couleur (S , s^i , s^p), les marques colorées seront plus développées (Figure 23E à F). Actuellement, certains auteurs suggèrent que cet allèle n'existerait pas et que la robe blanche serait due à une association d'une homozygotie s^p/s^p au locus S associée à une homozygotie s^i/s^i si celui-ci est effectivement situé à un autre locus. Une autre hypothèse serait que l'allèle s^w existe mais ne serait pas situé au locus S .

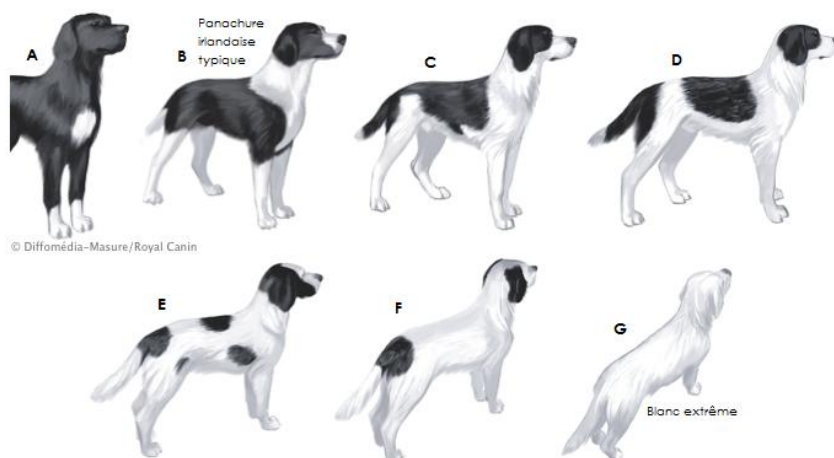
En plus de la dominance incomplète des allèles permettant toutes les robes du pleinement coloré au blanc complet, la diversité des robes pour un même génotype au locus S suggère fortement l'existence d'autres loci modulateurs de la panachure (gènes modificateurs).

Figure 22 : Phénotypes typiques des différentes homozygoties pour les allèles du locus S décrits par (Schmutz *et al.*, 2009)



Ces chiens sont représentatifs des phénotypes associés à une homozygotie au locus S . Le Pointer allemand à poils longs serait S/S , le Berger des Shetland s^i/s^i , le Cocker Spaniel s^p/s^p et l'Épagneul Japonais s^w/s^w .

Figure 23 : Diversité de l'extension de la panachure blanche (Site anglais de Royal Canin)



Ces types de coloration peuvent chacun correspondre à plusieurs génotypes. La panachure irlandaise par exemple peut apparaître pour chacun des génotypes suivants s^i/s^i , S/s^p , S/s^w . Pour les deux derniers génotypes, on parle de panachure pseudo-irlandaise. Concrètement, si cette panachure est due à l'homozygotie s^i/s^i , le caractère sera fixé dans la race, comme c'est le cas du Basenji (Figure 24 A). Sinon, la panachure sera plus aléatoire comme chez le Boxer où elle apparaît pour le génotype S/s^w (Figure 24 B).

Figure 24 : Panachure irlandaise du Basenji et pseudo-irlandaise du Boxer (production personnelle)



Gène MITF (Karlsson et al., 2007, Schumtz et al., 2009)

En 2007, Karlsson et son équipe développent un kit de marqueurs SNP destiné à la recherche de gènes dans le génome du chien. Ils démontrent qu'avec un kit de 27 000 marqueurs SNP couvrant l'ensemble du génome du chien, avec un espacement homogène ($87 \text{ kb} \pm 103 \text{ kb}$), on peut localiser avec une bonne précision un polymorphisme responsable d'un caractère phénotypique en utilisant seulement une dizaine de chiens porteurs de la mutation et une dizaine de chiens contrôles. En utilisant d'abord des chiens d'une même race, on localise la mutation sur une région large, que l'on peut ensuite préciser en utilisant des chiens de races différentes pour les marqueurs de la région critique.

C'est avec cette méthode qu'ils localisent en 2007 le locus S , la même année que l'équipe de Leegwater et al. D'abord, ils utilisent leur kit de SNP sur 10 Boxers blancs (supposés s^w/s^w) et 10 Boxers colorés (supposés S/S). Cela leur permet d'identifier une région de moins de 1 Mb sur le chromosome 20, associée parfaitement au locus S , et contenant le gène $MITF$

(*microphthalmia-associated transcription factor*), connus pour son action sur la coloration du pelage chez la souris, et ses séquences régulatrices.

Le gène *MITF* code un facteur de transcription nécessaire à la régulation de la transcription de nombreux gènes dans plusieurs types de cellules : mastocytes, ostéoclastes, épithélium pigmentaire de la rétine et mélanocytes. Il s'agit d'un gène composé de 9 exons, dont les transcrits présentent une structure avec des motifs hélice-boucle-hélice et glissière à leucine (bHLH-LZ). Il existe au moins six transcrits dus à un épissage alternatif en fonction des différents tissus. Ces transcrits diffèrent essentiellement par leur exon 1, ainsi que par d'éventuelles insertions/délétions entre l'exon 5 et l'exon 6. Le transcrit *MITF-M* est spécifique des mélanocytes (Schmutz *et al.*, 2009).

Dans les mélanocytes, *MITF* active l'expression de nombreux acteurs de la mélanogénèse : *TYR*, *TYRP1*, *TYRP2*, *SILV*. Son expression est requise pour le développement, la migration et la survie des mélanocytes. Chez la souris, les mutations délétères affectant le gène *MITF* sont responsables d'une absence de pigmentation plus ou moins étendue, ainsi que souvent une microphthalmie (d'où son nom *microphthalmia-associated transcription factor*) due à un défaut de développement du RPE (*retinal pigmented epithelium*), et souvent une surdité précoce et/ou un défaut de résorption osseuse (Schmutz *et al.*, 2009). Chez le chien à l'inverse, il est très rare d'observer des microphthalmies sur des chiens blancs, mais 2 à 3 % d'entre eux sont atteints de surdité (voir partie sur la surdité associée aux robes blanches), ce qui suggère que ce ne serait pas le gène *MITF* qui serait touché mais plutôt la régulation de son expression dans les mélanocytes uniquement. Ce gène, qui s'exprime dans des types de cellules différents et à périodes différentes du développement en fonction des cellules possède en effet de nombreux promoteurs spécifiques de chaque type cellulaire (Karlsson *et al.*, 2007).

Insertion SINE en amont du gène *MITF* (Karlsson *et al.*, 2007)

La région critique associée à l'allèle s^w contenait un haplotype de 10 SNP, avec chacun un allèle homozygote chez les Boxer blancs et absent chez les Boxer colorés. Chez les Boxer colorés, un haplotype dominait pour ces SNP, présents dans 78% des cas, mais il y avait également d'autres haplotypes mineurs. Les Boxer dits « *flash* », c'est-à-dire à robe pie donc supposés S/s^w , portaient l'haplotype blanc et l'haplotype dominant des colorés à l'état hétérozygote. La région de 800 kb identifiée était donc celle porteuse de la mutation responsable de s^w . Pour préciser la localisation de la mutation, selon le principe décrit, les auteurs ont ensuite fait une étude interrassiale en utilisant 127 chiens (Bull Terrier dont 16 entièrement colorés, 16 pies et 34 blancs, et Boxer dont 23 entièrement colorés, 13 pies et 25 blancs). Ils les ont génotypés pour 115 SNP couvrant 4,6 Mb : 69 SNP se trouvaient dans la région critique de 800kb, et 46 se trouvaient dans les régions accolées à celle-ci. L'analyse des haplotypes associés aux différents phénotypes a permis de déterminer une région critique de 102 kb.

L'équipe de Karlsson *et al.* (2007) a procédé ensuite au séquençage de cette région de 102 kb chez un chien hétérozygote S/s^w . Ils détectèrent 124 polymorphismes intervenant tous hors de la séquence codante de *MITF*. Soixante dix huit de ces polymorphismes n'étaient pas concordant avec le phénotype robe blanche (non homozygotes chez les chiens blancs ou non absents chez les chiens colorés). La comparaison avec les séquences d'autres espèces de

Mammifères et notamment celles montrant une forte conservation inter-espèces a conduit les auteurs à s'intéresser à deux polymorphismes intervenant dans des régions conservées dans les autres espèces, tous deux situés en amont du site initial de transcription de *MITF-M* :

- une insertion SINE de 198 pb présente dans les deux allèles de tous les chiens blancs, 3 kb en amont du codon initial de *MITF-M*,
- un polymorphisme de longueur (Lp pour *length polymorphism*) dans le promoteur de *MITF-M* (moins de 100 pb en amont).

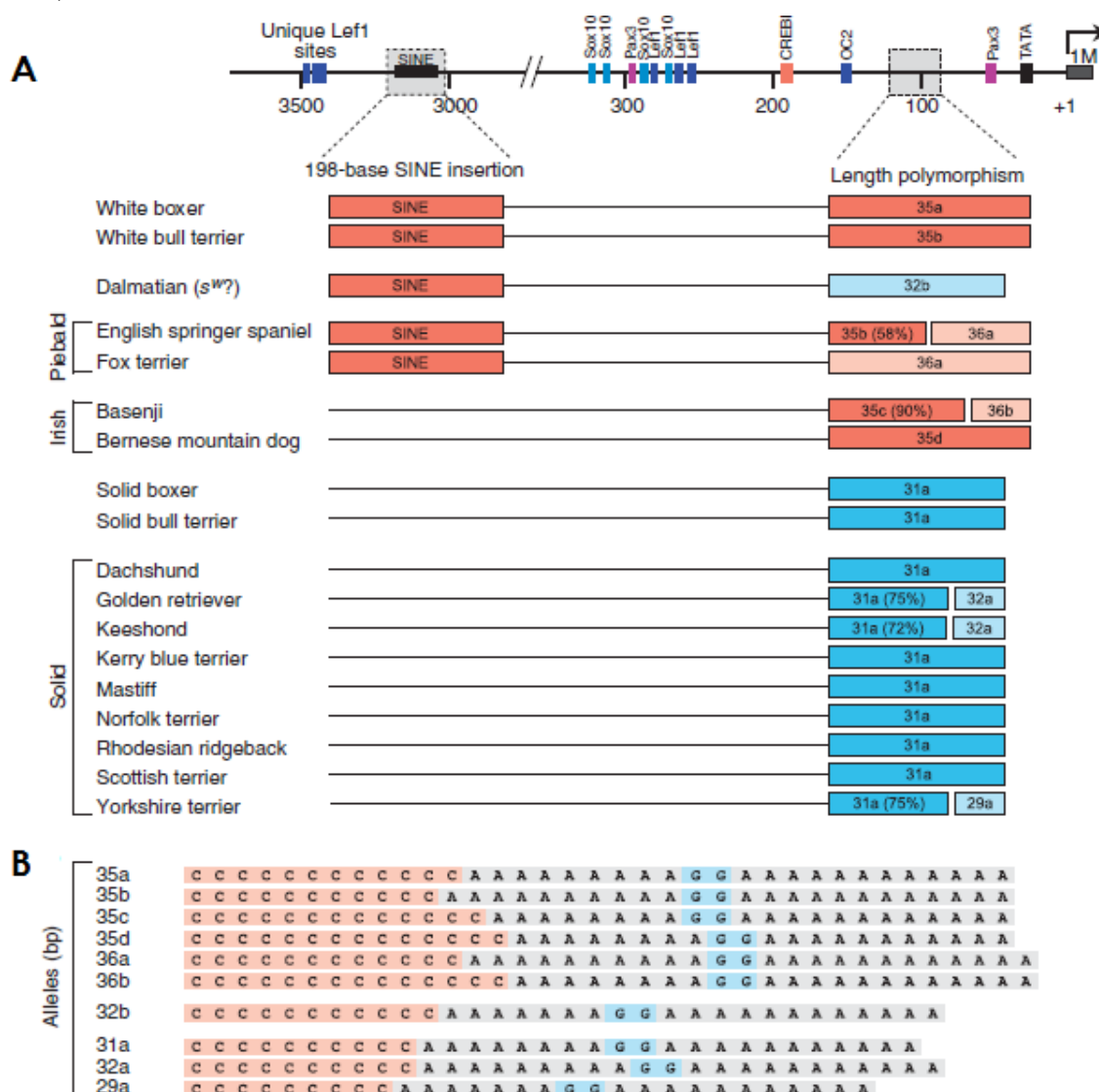
L'insertion SINE était située 3026 pb en amont de *MITF-M* et 229 pb en aval de trois sites de liaison du facteur de transcription *lymphoid-enhancing factor* (*LEF1*). Les sites de liaison de *LEF1* dans le promoteur de *MITF* sont présents à une localisation conservée chez l'homme, la souris et le chien, en aval de l'insertion SINE. Leur position en amont de l'insertion SINE n'a pas été retrouvée chez l'homme et la souris, elle est spécifique au chien. Si le rôle de ces sites à la localisation spécifique chez le chien n'a pas été prouvé, le rôle des sites à la localisation commune chez le chien, l'homme et la souris a été démontré chez l'homme comme favorisant l'auto-activation de *MITF*. Il est donc possible que l'insertion SINE perturbe un rôle similaire pour les sites des facteurs *LEF1* qui se trouvent en amont du SINE.

Le polymorphisme de longueur Lp correspond à une séquence répétée de cytosine (C), suivie de deux séquences répétées d'adénine (A) séparées par une paire de guanine (G). Le polymorphisme réside dans la taille des séquences répétées C et A. Tous les Boxer blancs possédaient le même allèle de Lp dont la séquence était C₁₂A₉G₂A₁₂, pour un total de 35 nucléotides. Tous les Bull Terrier blancs possédaient le même allèle de Lp : C₁₁A₁₀G₂A₁₂, pour un même total de 35 nucléotides. A l'inverse, les chiens colorés de ces deux races avaient un allèle plus petit, faisant 31 nucléotides (Figure 25).

L'introduction dans l'étude de chiens d'autres races dont deux pies (Springer Anglais, Fox Terrier), deux à panachure irlandaise fixée (Basenji, Bouvier Bernois) et 12 sans panachure blanche donnèrent les résultats suivants (Figure 25) :

- les chiens blancs et pies (s^w et s^p) étaient porteurs de l'insertion SINE alors que les chiens à panachure irlandaise et sans panachure (s^i et S) ne l'étaient pas,
- les chiens blancs, pies et à panachure irlandaise (s^w , s^p et s^i) portaient un allèle Lp plus long (35 ou 36 nucléotides) que les chiens sans panachure (S) (29 à 32 nucléotides),
- le Dalmatien dénotait puisque qu'il était supposé porter des allèles s^w mais bien qu'il porte l'insertion SINE comme les chiens blancs, il avait un allèle Lp court (32 pb) alors que les chiens blancs avaient un allèle long. Cela suggère l'existence d'une mutation propre au Dalmatien.

Figure 25 : Allèles par race pour deux mutations candidates au locus S (Karlsson et al., 2007)



A : Représentation des deux mutations candidates trouvées dans une région de 3,5 kb en amont du promoteur M de *MITF*. L'insertion SINE intervient environ 3 kb en amont de la séquence codante de *MITF-M*, alors que le polymorphisme de longueur Lp se situe au niveau du promoteur M de *MITF*. Pour ce dernier, les allèles longs (35 ou 36 pb) sont colorés en rouge, les allèles courts (29 à 32) sont colorés en bleu.

B : Allèles Lp observés dans le promoteur M de *MITF*, contenant une séquence répétée de cytosine (rouge) et deux séquences répétées d'adénine (gris) séparées de deux guanines (bleu).

Ces résultats confirment que le locus S concerne le promoteur M de *MITF* et non le gène *MITF* en lui-même. De plus, moins de 2 % des chiens blancs sont sourds de façon bilatérale, ce qui indique que même lorsqu'elle ne suffit pas à la production de pigments, l'expression de *MITF* est généralement suffisante pour qu'une migration limitée des mélanocytes (notamment vers l'oreille interne) subsiste. D'autre part, les chiens qui ne sont pas totalement blancs ont une couleur normale sur les zones colorées, ce qui indique que pour ces zones, *MITF* est exprimé de façon normale, permettant le développement et la survie des mélanocytes. Une mutation altérant le promoteur M durant les temps critiques du développement, notamment

lors de la migration des mélanoblastes, expliquerait de telles observations. En effet, les pigments disparaissent d'abord des régions embryonnaires à moins forte densité en mélanoblastes (extrémités des pattes, de la queue, de la face) puis plus la perte de fonctions des allèles S est importante, plus les zones de blanc s'étendent aux régions à plus forte densité (du ventre aux zones dorsale, des extrémités aux zones proximales de la crête neurale, origine des mélanoblastes). Les mutations sont donc fortement susceptibles de toucher la migration et/ou la survie des mélanoblastes (en la limitant de plus en plus en fonction de l'altération de la régulation de *MITF*). Dans les mélanocytes matures, *MITF* s'exprime normalement puisque la coloration est normale lorsqu'elle est présente. Ceci est cohérent avec une altération de la régulation de l'expression de *MITF-M*, donc du promoteur M de *MITF*, puisqu'il est nécessaire à la migration des mélanoblastes.

Concernant l'insertion SINE décrite par Karlsson *et al.* (2007), 315 des 324 chiens génotypés par l'équipe de Schmutz *et al.* (2009) présentaient un modèle de transmission codominant (hétérozygotie donnant le phénotype pseudo-irlandais - Tableau 15, Figure 26) ou de récessivité des marques blanches (Tableau 16), et l'insertion SINE était parfaitement associée à ceux-ci. Seulement neuf chiens étaient des exceptions, dont trois Berger Islandais. Les auteurs suggérèrent que l'insertion SINE pouvait donc être recherchée de façon utile dans les 19 races où la panachure blanche était récessive (Tableau 16) afin de déterminer les individus hétérozygotes pour effectuer les croisements opportuns afin de sélectionner les marques blanches ou au contraire les éliminer en fonction du désir de l'éleveur. Notons que le phénotype pseudo-irlandais n'intervient que chez certaines races, où il y a codominance des allèles (Tableau 15).

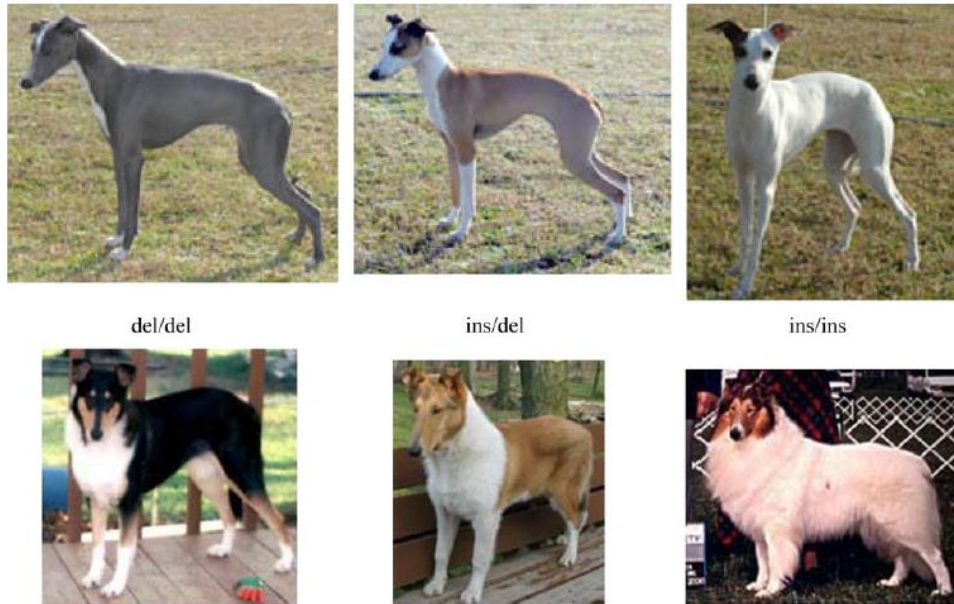
Tableau 15 : Génotypes de 79 chiens de race avec une transmission codominante des marques blanches (Schmutz *et al.*, 2009)

Breed or "type" spotting	del/del, Minimal torso white	ins/del, Pseudo-Irish spotting	ins/ins, Extreme white
Collie	4	12	3
Great Dane	13 ^a	7 ^a	7
Italian Greyhound	2	9	5
"Shetland Sheepdog"	13	1	3

del/del : absence du SINE, *ins/del* : présence du SINE à l'état hétérozygote, *ins/ins* : homozygotie pour le SINE.

^a Un Dogue Allemand de génotype *del/del* pour l'élément SINE avait un phénotype pseudo-irlandais. Un autre de génotype *ins/del* avait un marquage blanc extrême.

Figure 26 : Illustration des trois phénotypes pour les races où il y a codominance de l'allèle porteur de SINE (responsable du blanc) et d'un allèle sans SINE (Schmutz *et al.*, 2009)



del : allèle non porteur de l'insertion SINE ; *ins* : allèle porteur de l'insertion SINE

Chez les Berger des Shetland (ligne du bas) et chez les Lévrier Italien (ligne du haut), l'absence d'insertion SINE entraîne un marquage blanc très limité. Au contraire, le portage homozygote de l'insertion SINE mène à une robe essentiellement blanche. L'hétérozygotie mène à une panachure pseudo-irlandaise où l'extension du blanc est intermédiaire, sur un modèle de codominance, entre l'allèle porteur de SINE et un allèle non porteur de SINE.

Tableau 16 : Génotypes des 151 chiens de race où l'allèle porteur de SINE, responsable des marques blanches, est récessif (Schmutz *et al.*, 2009)

Breed or "type"	del/del	ins/del	ins/ins	Term for spotted
American cocker spaniel	10	6	7	Particolor
Basset hound	0	1	2	Piebald
Border collie	10	8	1	Piebald
Cavalier King Charles spaniel	1	0	2	Blenheim/ tricolor
Chihuahua	0	2	2	Piebald
Chinese shar-pei	2	12	8	Flowered
English cocker spaniel	1	1	3	Particolor
French bulldog	1	12	5	Pied
"German shepherd"	2	4	2	Spotted
German Longhaired Pointer	0	1	3	-and-white
German Shorthaired Pointer	0	0	4	-and-white
German Wirehaired Pointer	1	0	2	-and-white
Havanese	0	0	1	Piebald
Newfoundland	4	13	6	Landseer
Poodle	1	0	3	Particolor
Portuguese water dog	4	2	0	Particolor
St Bernard	0	0	1	Piebald
"Yorkshire terrier"	0	0	2	Biewer
Whippet	0	1	2	Spotted

Les individus portant des marques blanches sont tous homozygotes ins/ins dans ces races. Les chiens hétérozygotes ou ne portant aucun allèle avec l'insertion SINE avait des marquages blancs très limités, voire inexistant. L'insertion SINE définirait donc un allèle responsable de panachure blanche, récessive par rapport à un allèle non porteur de SINE.

L'insertion SINE serait donc un marqueur de l'allèle s^p chez ces races. Les chiens *ins/del* seraient alors S/s^p et auraient en fonction des races un phénotype avec panachure blanche de type pseudo-irlandaise (codominance) ou une panachure très limitée voire absente (dominant/récessif). Les chiens à panachure irlandaise fixée, donc non compatible avec une codominance, ne présentaient pas l'insertion SINE. Cela est cohérent avec la supposition que l'allèle s^i responsable de la panachure irlandaise ne soit pas situé au locus S , ou qu'une autre mutation en soit responsable.

Tous les chiens à robe essentiellement blanche dans cette étude étaient de génotype *ins/ins*. Le Cocker qui représente l'allèle s^p , était lui aussi homozygote *ins/ins*. Le Pointer Allemand à poils longs, représentant l'allèle S , était hétérozygote *ins/del*. Le Berger des Shetland représentant l'allèle s^i n'avait pas l'insertion SINE. L'insertion SINE peut donc représenter un marqueur pour identifier les chiens susceptibles de transmettre une panachure dans certaines races, mais l'association entre la présence de panachure et cette insertion est loin d'être parfaite.

Un allèle déterminé par une combinaison de mutations et non par une unique mutation causale

L'étude de Körberg *et al.* (2014) vient apporter des réponses au fait qu'aucune des mutations précédemment identifiées ne soit parfaitement associée à un allèle unique de *S*.

Ils reprirent l'étude de quatre polymorphismes identifiés par Karlsson *et al.* (2007) par comparaison des allèles *S* et *s^w* d'un chien hétérozygote :

- l'insertion SINE 3 kb en amont de l'exon 1M de *MITF* (Figure 27 A), étudiée par Karlsson *et al.* (2007), et également par Schmutz *et al.* (2009),
- le polymorphisme de longueur Lp (Figure 27 A), étudié par Karlsson *et al.* (2007),
- un SNP en amont de Lp, le SNP#21 où le nucléotide peut être A ou G, qui n'est pas particulièrement conservé chez les Mammifères mais intervient très proche d'une région hautement conservée (Figure 27 A),
- une insertion/délétion de 12 pb dans l'exon 1B de *MITF*, exon qui était jusqu'à janvier 2014 considéré comme non transcrit chez les carnivores, mais dont la transcription a maintenant été prouvée puisqu'un transcrit le comportant a été trouvé dans un extrait de sang et un de poumon de chien.

Afin d'éliminer les mutations qui ne peuvent être responsables de panachure blanche parmi celles-ci, ils les ont recherchées dans plusieurs populations de loups. Les loups ont en effet le phénotype sauvage, c'est-à-dire une absence de panachure blanche. Celles-ci sont probablement contre-sélectionnées par la nature du fait qu'elles diminuent les capacités de camouflage. Cette étude a permis d'affirmer qu'aucune de ces mutations ne peut être seule la mutation causale d'un allèle du locus *S* car toutes sont retrouvées dans au moins une population de loup étudiée (sans panachure) (Tableau 17). D'autre part, aucune d'entre elles ne présente une coségrégation parfaite avec le phénotype chez le chien. L'équipe suppose donc que chaque allèle pourrait être le résultat d'une combinaison de la présence ou de l'absence de chacune de ces mutations ; combinaisons qui auraient un effet plus ou moins marqué sur la régulation de la transcription de *MITF-M*.

Tableau 17 : Fréquences alléliques de trois mutations candidates du locus *S* chez des loups de différentes origines géographiques (Körberg *et al.*, 2014)

Geographic region	n	SINE ¹	SNP#21* _A ²	Exon1B_Del
Scandinavia	34	0.32	0	0.18
Belarus	4	0.50	0	0
Russia	5	0.20	0	0
Bulgaria	2	0.50	0	0
Spain	6	0.08	0.08	0
Italy	1	1.00	0	0
Canada	7	0.21	0.14	0

¹ Fréquence de l'allèle comportant l'insertion SINE.

² L'allèle A du SNP#21 est associé à la présence de blanc dans le pelage, chez le chien.

Exon1B-Del : fréquence de la délétion de 12 pb dans l'exon 1B de *MITF*.

Les chiens blancs présentent tous des allèles Lp longs, sauf le Dalmatien. Il existe une variabilité importante d'allèles Lp chez le loup, puisque 15 allèles ont été identifiés pour 17 loups génotypés. De façon inattendue, les allèles associés au blanc chez le chien sont retrouvés chez le loup. A l'inverse, les allèles propres aux chiens sans marquage blanc n'existent pas chez le loup (Tableau 18).

Une explication pourrait être la forte sélection exercée sur ce locus :

- d'abord, lors de la domestication, la sélection aurait privilégié fortement la présence de blanc, qui distinguait le chien du loup. Cela peut expliquer la conservation des allèles Lp du loup qui sont associés au blanc chez le chien,
- ensuite, lors de la création des races, en fonction de celles-ci, le blanc était désiré ou non par les éleveurs. Dans certaines races, la présence de blanc était donc contre-sélectionnée (par exemple, chez le Labrador où la robe est voulue unie, sans blanc). Les allèles Lp initialement conservés du loup étaient plutôt ceux rendant possible la présence de blanc, avec la première phase de sélection, il a donc fallu sélectionner contre ces allèles pour obtenir des chiens sans marquage blanc. Ceci pourrait expliquer que les allèles Lp du chien non associés au blanc ne soient pas retrouvés chez le loup, puisqu'ils ne faisaient pas partie du pool de sélection initial. Cela explique également qu'il y ait moins d'allèles Lp courts que longs chez le chien, le polymorphisme des Lp courts étant plus récent selon cette théorie.

Le polymorphisme Lp est un polymorphisme répété, il est donc sujet à une évolution rapide puisque les erreurs de répllication de l'ADN sont fréquentes au sein de séquences répétées.

Le fait que le loup porte des allèles Lp longs sans exprimer de blanc dans son pelage est en faveur de l'existence d'interactions épistatiques avec d'autres polymorphismes absents chez le loup, mais présents chez les chiens porteurs de blanc, que ce soit au locus S ou à d'autres loci non identifiés. Il est cependant possible que les différents allèles Lp du loup contribuent à la diversité de pelage observée chez ceux-ci, du gris sombre au gris presque blanc.

Tableau 18 : Allèles du SINE et du Lp dans le promoteur de *MITF-M* chez des chiens et des loups (Körberg *et al.*, 2014)

Colour	SINE	Lp base composition							Alleles (bp)	Population
		C	A	C	A	G	A			
Dogs										Dog breed
Solid (<i>S</i>)	-	9	-	-	7	2	11	29A	Yorkshire Terrier ¹	
		10	-	-	8	2	11	31A	Various solid dogs ^{1,2}	
		10	-	-	9	2	11	32A	Golden Retriever, Keeshond ¹	
Irish (<i>s^I</i>)	-	13	-	-	8	2	12	35C	Basenji ¹	
		14	-	-	8	2	12	36B	Basenji ¹	
		14	-	-	8	2	11	35D	Bernese Mountain Dog ^{1,2}	
Piebald (<i>s^P</i>)	+	11	-	-	10	2	12	35B	English Springer Spaniel ¹	
		12	-	-	10	2	12	36A	English Springer Spaniel, Fox Terrier ¹	
White (<i>s^W</i>)	+	11	-	-	7	2	12	32B	Dalmatian ^{1,2}	
		12	-	-	9	2	12	35A	Boxer ^{1,2}	
		11	-	-	10	2	12	35B	Bull Terrier ¹	
Wolves										Wolf origin
Wild-type	+	10	-	-	7	2	11	30A	Scandinavia ²	
		11	-	-	7	2	12	32B	Belarus, Scandinavia ²	
		7	1	1	9	2	13	33A	Scandinavia ²	
		7	1	1	10	2	13	34A	Scandinavia, USA ²	
		11	-	-	10	2	12	35B	Scandinavia ²	
		7	1	1	10	2	14	35E	Scandinavia ²	
		7	1	1	9	2	11	31B	Belarus ²	
		10	-	-	8	2	12	32C	Belarus ²	
		7	1	1	9	2	12	32D	Spain, Belarus ²	
		11	-	-	8	2	11	32E	Spain ²	
		12	-	-	8	2	12	34B	Spain ²	
		14	-	-	8	2	11	35D	Belarus ²	
		6	1	3	8	2	12	32F	Canada ²	
		12	-	-	9	2	12	35A	Canada ²	
		12	-	-	7	2	12	33B	USA ²	

Les allèles Lp sont nommés en fonction de leur nombre de nucléotides. Ceux ayant la même longueur sont identifiés par des lettres majuscules. Ceux en gras sont ceux communs aux chiens et aux loups.

¹ Déterminé par séquençage direct, Karlsson *et al.* (2007)

² Allèle ayant la plus forte prévalence après clonage de produits PCR, Körberg *et al.* (2014). Un chien par race et par phénotype a été séquencé.

L'équipe a évalué l'activité du promoteur de *MITF-M* en construisant un montage de différents promoteurs (Figure 27 B et C) comportant ou non l'insertion SINE, un Lp long ou court et le SNP#21 A ou G avec le gène de la luciférase, ce qui permet d'évaluer le niveau de transcription permis par le promoteur, par luminescence. La valeur de RLU (*Related Luciferase Units*) est révélatrice du niveau de transcription permis par le promoteur utilisé.

Le niveau de transcription n'était pas affecté par l'allèle du SNP#21.

L'insertion SINE réduisait significativement le niveau de transcription (différences significatives de RLU pour les promoteurs 1 et 3, et 2 et 4 sur Figure 27 B). La délétion de la séquence portant l'insertion SINE augmentait le niveau de transcription (différences significatives de RLU pour les promoteurs 3 et 5, et 4 et 6 sur Figure 27 B), ce qui prouve que cette région fait en effet partie du promoteur de *MITF-M*, bien qu'elle soit éloignée de l'exon 1M, et pourrait comporter des éléments modulateurs négatifs même en l'absence de SINE. L'insertion SINE était présente avec une distribution large dans les populations de loups étudiées (Tableau 17), ce qui prouve que c'est un polymorphisme ancestral. Chez le chien, cette insertion présente une très forte association avec les allèles s^w et s^p , et est rare ou absente dans les allèles s^i et S. La diminution du niveau de transcription de *MITF-M* observée dans cette étude lors de la présence de SINE peut expliquer une action d'extension de blanc. Cependant, bien que significative, la diminution de la transcription reste faible. On peut donc supposer que le SINE est un élément inactivateur faible, appuyant l'action d'un autre élément inactivateur, comme un Lp long, également associé aux allèles s^p et s^w . Le mécanisme d'action de l'insertion SINE est non connu. Une hypothèse est que, l'élément SINE étant une cible de méthylation, cette méthylation pourrait affecter le contrôle de la transcription de *MITF-M*.

En effet, un allèle Lp long (Lp White sur la Figure 27) réduit aussi significativement le niveau de transcription par rapport à un allèle Lp court (Lp Solid sur la Figure 27) (différences significatives de RLU pour les promoteurs 1 et 2, 3 et 4, et 5 et 6 sur Figure 27 B et sur Figure 27 C1). L'effet des variations de Lp est bien plus marqué que l'effet de SINE.

Les facteurs de transcription LEF1, SOX10 et PAX3 interagissent avec le promoteur de *MITF* pour activer la transcription de *MITF-M*. Leurs sites de liaison au promoteur sont représentés sur la Figure 27 C. Les sites de liaison de SOX10 et LEF1 sont situés en amont du polymorphisme Lp. PAX3 possède deux sites de liaison dont un également en amont de Lp et un autre entre Lp et la boîte TATA du promoteur de *MITF-M*.

Les montages réalisés dans l'étude de Körberg *et al.* (2014) ont montré que la délétion des sites de liaison de SOX10, LEF1 et PAX3 en amont du Lp avait un effet extrêmement délétère sur le niveau de transcription du gène (différences très importantes, significatives, de RLU pour les promoteurs 1 et 2, et 1 et 3 sur Figure 27 C). Cela prouve une fois de plus la nécessité de la conservation de sites de liaison fonctionnels pour ces facteurs pour assurer un niveau de transcription suffisant de *MITF-M*. Pour les promoteurs porteurs de la totalité de la région où se situe ces sites de liaison (Figure 27 C1), la présence d'un Lp long (White) diminue significativement le niveau de transcription par rapport à un Lp court (Solid). A l'inverse, il n'y avait pas de différence significative de niveau de transcription Lp long/Lp court si les sites de liaison des facteurs SOX10, PAX3 et LEF1 en amont du Lp n'étaient pas inclus dans le montage (Figure 27 C2 et C3). Cela prouve que la longueur du Lp n'a pas

d'action directe sur la transcription mais agit sur la modulation de liaison des différents facteurs de transcription agissant sur le promoteur.

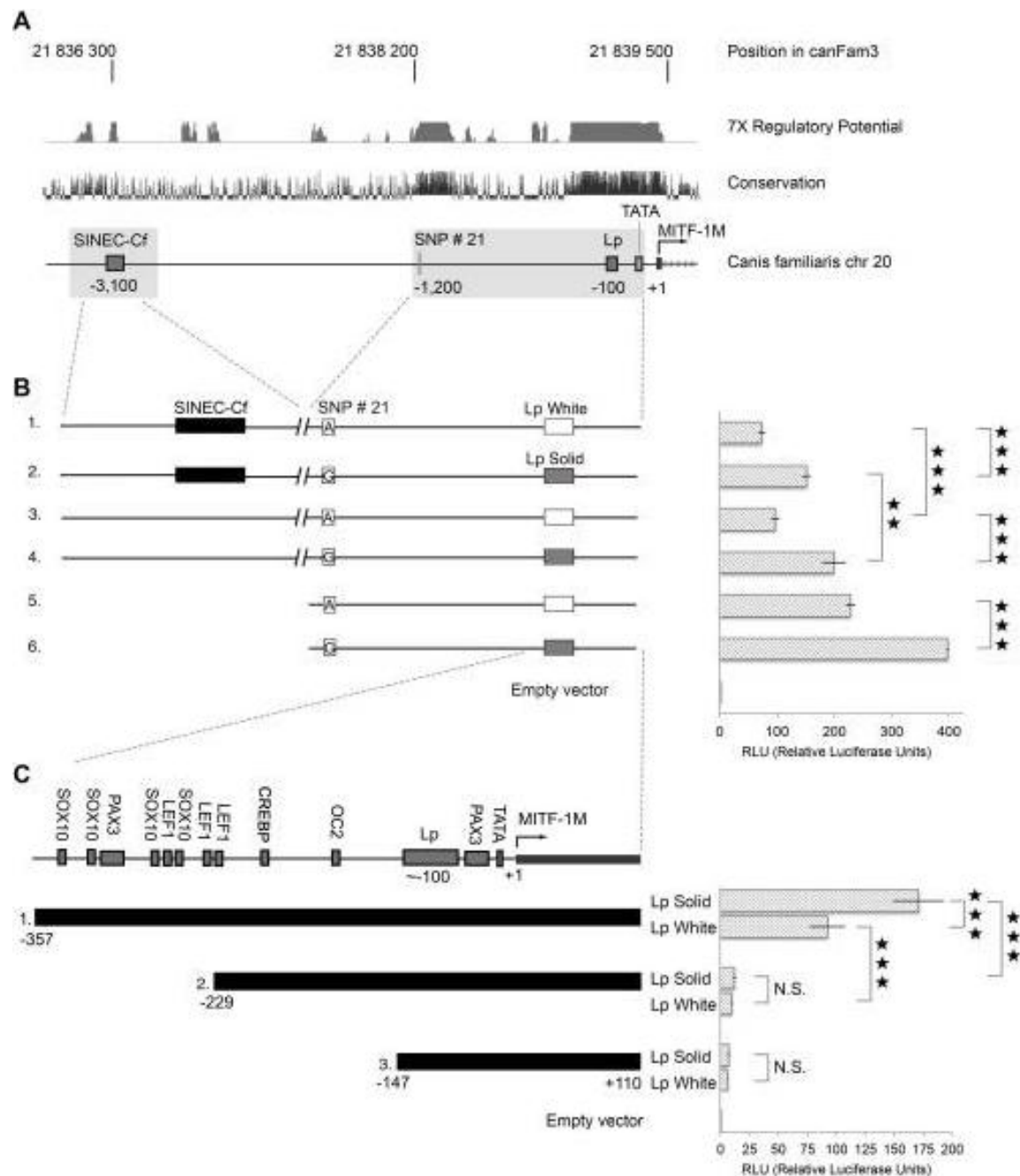
Entre les allèles s^w et S du Boxer, Karlsson *et al.* (2007) ont observé une différence de quatre nucléotides. Cela correspond à un demi-tour d'hélice d'ADN. Ainsi, les facteurs de transcription en amont du Lp, situé d'un côté de l'ADN avec un Lp court se retrouvent sur la face opposé de l'ADN avec un Lp long. De précédentes études ont montré que la transcription peut être affectée de façon marquée quand des éléments cruciaux d'un promoteur de gène sont modifiés d'un demi-tour d'ADN, puisque cela diminue les interactions fonctionnelles entre ces éléments. Il est fort probable que l'augmentation de longueur du Lp soit à l'origine d'une perturbation des interactions entre les différents éléments du promoteur de *MITF-M* (dont les sites de liaison de SOX10, PAX3 et LEF1), ce qui expliquerait l'effet négatif sur la transcription des allèles Lp longs.

L'élément SINE et un Lp long ont tous les deux pour effet une diminution de la transcription de *MITF-M*. Quand les deux mutations sont présentes, leurs effets s'additionnent et la diminution de transcription est très marquée. Ceci est cohérent avec les observations faites par Karlsson *et al.* (2007) :

- les deux mutations sont fortement associées aux allèles s^p et s^w (blanc développé),
- l'allèle s^i , responsable d'une extension limitée de blanc, ne porte que la mutation Lp long, pas l'insertion SINE,
- l'allèle S , responsable d'une absence de panachure blanche, ne porte aucune de ces mutations.

Les variations dans le niveau d'expression de *MITF-M* induites par les mutations pourraient donc expliquer l'extension des zones blanches.

Figure 27 : Localisation de trois mutations du promoteur de *MITF-M* et effets sur sa transcription (Körberg *et al.*, 2014)



Lp White = *Lp long* ; *Lp Solid* = *Lp court* ; différences significatives de RLU signalées par des étoiles

A : localisation des trois mutations *Lp long*, *SNP#21* et *SINE* parallèlement au niveau de conservation chez les vertébrés et au potentiel de régulation du gène *MITF-M*

B : schématisation des différents promoteurs construits pour l'évaluation de l'activité du promoteur par mesure de RLU (Related Luciferase Units).

C : schématisation d'autres promoteurs construits pour l'évaluation des effets de la variation de *Lp* sur la transcription, par rapport aux modifications des sites de liaison des facteurs de transcription *SOX10*, *PAX3* et *LEF1*.

Enfin, l'équipe de Körberg *et al.* (2014) a évalué l'effet de la délétion de 12 pb dans l'exon 1B décrite par Karlsson *et al.* (2007). Cette mutation n'avait pas été considérée comme une bonne candidate comme mutation causale des allèles du locus *S* car jusqu'à janvier 2014, car l'exon 1B était supposé non transcrit chez les carnivores. En janvier 2014, un transcrit de cet exon a cependant été trouvé dans un extrait de sang, ainsi que dans un extrait de poumon de chien. Cela signifie qu'il est susceptible d'être transcrit au stade embryonnaire du développement des mélanocytes (ce qui est difficilement évaluable du fait des problèmes éthiques des études sur les embryons de chien). Cette délétion est associée à la présence de marquages blancs chez le chien. Elle est fixée chez les chiens blancs et pies, et est rare ou absente chez les chiens sans marquages blancs ou à panachure irlandaise. Elle est également très peu fréquente chez le loup, où on ne la retrouve que dans la population scandinave dans cette étude. Puisqu'elle intervient dans la région codante de *MITF*, elle pourrait affecter sa fonction durant le développement des mélanocytes, si l'exon 1B est effectivement transcrit lors du développement embryonnaire.

Cette étude apporte donc une grande contribution à la compréhension des mutations affectant le locus *S*. Elle met en évidence le fait que les différents allèles résultent probablement de combinaisons variables de mutations, et non de mutations isolées. Contrairement à ce qui était avancé par CC. Little (1957), avec les quatre mutations étudiées ici il est possible que les diverses combinaisons aboutissent à plus de quatre allèles au locus *S*, et déterminent la diversité du patron et de l'extension des marquages blancs des robes du chien. En plus de cela, il n'est toujours pas exclu que d'autres loci puissent intervenir.

Là encore, il n'y a pas de différence observée entre les allèles s^p et s^w donc l'hypothèse selon laquelle l'allèle s^w n'existerait pas et que la robe essentiellement blanche serait due à une homozygotie s^p/s^p amplifiée par l'action d'un ou plusieurs autres loci reste plausible.

Le Tableau 19 résume les mécanismes moléculaires concernant le locus *S*.

Tableau 19 : Résumé des mécanismes moléculaires concernant le locus S du chien

Locus S				
Gène	<i>MITF</i>			
Produit	Facteur de transcription <i>microphthalmia-associated transcription factor</i> (MITF) dans les mélanocytes			
Rôle	Migration, survie et développement des mélanocytes			
Allèles (par ordre de dominance)	S	s^i allèle qui pourrait être à un autre locus	s^p	s^w allèle dont l'existence est remise en question
Phénotype	absence de panachure blanche	- panachure irlandaise si s^i/s^i - panachure limitée si S/s^i	- panachure blanche développée (>50%) si s^p/s^p - panachure plus limitée si s^p/S ou s^p/s^i	- robe essentiellement blanche si s^w/s^w (pourrait aussi correspondre à un génotype s^i/s^i et s^p/s^p si s^i est un allèle d'un autre locus) - panachure plus limitée si hétérozygotie avec un autre allèle
Mutation responsable		Combinaison de mutations dont Lp long ~200 pb en amont de l'exon 1M	Combinaison de mutations dont : - Lp long ~200 pb en amont de l'exon 1M - insertion SINE ~ 3 kb en amont de l'exon 1M - possiblement, délétion de 12 pb dans exon 1B	
Action	Expression de <i>MITF-M</i> permettant migration, survie et développement des mélanoblastes et mélanocytes	Diminution de l'expression de <i>MITF-M</i> limitée	Diminution de l'expression de <i>MITF-M</i> importante	Altération plus importante que pour l'allèle s^p Ou association de l'effet de s^p et de s^i

3.2. Gène *KIT* et panachure blanche

Robe panachée du Berger Allemand – Insertion (Wong et al., 2013)

Le gène *KIT* code le récepteur à activité tyrosinase kinase KIT qui, lorsqu'il est activé, stimule la prolifération, la survie et la migration des mélanoblastes via la voie des MAP-kinases, notamment par l'augmentation de l'expression du gène *MITF*. Il est impliqué dans la détermination de la panachure blanche chez plusieurs espèces domestiques, dont le chat chez qui il cause la robe blanche dominante et la panachure (voir deuxième partie). Chez le chien, jusqu'en 2013, aucune mutation phénotypiquement visible de ce gène n'avait été découverte.

L'étude de Wong *et al.* (2013) s'est intéressée à la robe panachée apparue spontanément dans un pédigrée de 135 Bergers Allemands développé par des éleveurs souhaitant propager ce phénotype. Chez ces chiens, des marques blanches sont présentes sur la face, l'abdomen ventral et les extrémités des pattes et de la queue (Figure 28). Dans ce pédigrée, la panachure est apparue pour la première fois chez une femelle née de parents de phénotype sauvage, puis s'est propagée sur un mode autosomique dominant dans la descendance.

Figure 28 : Phénotype panaché du Berger Allemand (Wong et al., 2013)



(a) Berger allemand à robe classique (la petite marque blanche sur le poitrail n'est pas due à une mutation de *KIT*) ; (b) et (c) : Deux Bergers Allemands panachés de blanc ; (d), (e) et (f) : panachure caractéristique (liste sur le chanfrein, museau, poitrail, abdomen ventral, extrémités des pattes et de la queue). Ces images montrent la variabilité des panachures dues à la mutation dans *KIT*.

Une étude de liaison par l'utilisation de 143 marqueurs chez 95 chiens de ce pédigrée a permis de localiser la région associée à la panachure, sur le chromosome CFA13. L'affinage de cette région avec 10 marqueurs supplémentaires a permis de déterminer le locus associé, qui portait le gène *KIT*. Le séquençage des exons de ce gène a permis d'identifier la mutation responsable de la présence de panachure : une insertion d'une paire de base (adénine en position 70) dans l'exon 2 du gène *KIT* était parfaitement associée au phénotype panaché et a été trouvée chez la femelle fondatrice de ce pédigrée, mais pas chez ses parents. C'est donc une mutation nouvelle apparue chez cette femelle, et transmise aux descendants sur un mode autosomique dominant.

Cette insertion d'une paire de bases dans le codon 47 du gène *KIT* décale le cadre de lecture. Cela entraîne l'apparition d'un codon stop prématuré en position 57. Ainsi, plus de 96% de la protéine sont tronqués (seulement 55 acides aminés conservés sur les 974 que compte la protéine normale). Cela est très probablement à l'origine d'une perte de fonction totale du récepteur *KIT*.

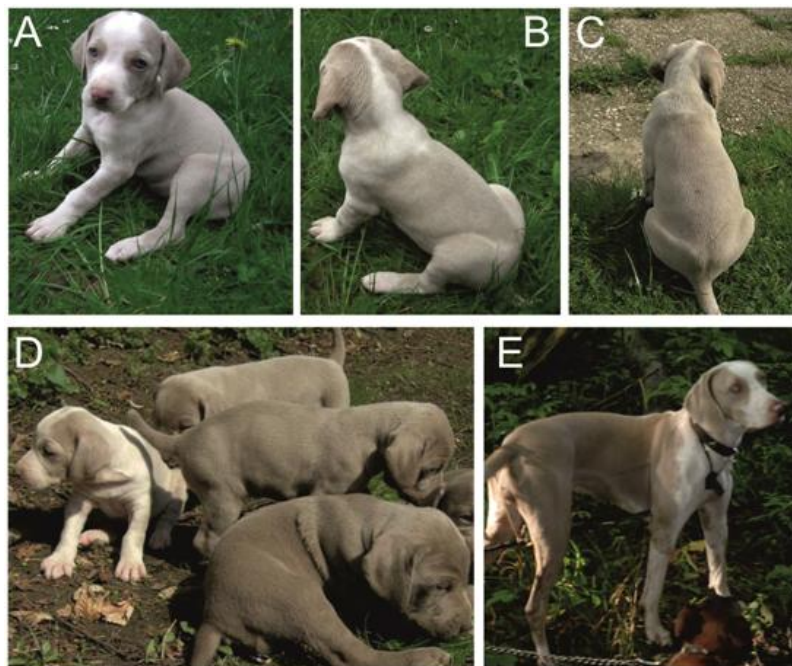
Comme chez d'autres espèces, l'homozygotie pour un allèle non fonctionnel de *KIT* est létal et les embryons homozygotes meurent précocement, ce qui prouve l'importance de *KIT* dans le développement. Quand l'allèle non fonctionnel est associé à un allèle fonctionnel (hétérozygotie, cas de tous les individus panachés de ce pedigree), le taux de *KIT* fonctionnel est insuffisant pour maintenir la prolifération, la migration et la survie de tous les mélanoblastes, d'où l'existence de zones sans mélanocytes blanches (panachure).

Contrairement à ce qui a été observé chez la souris, il n'y avait pas d'effet autre de l'hétérozygotie pour l'allèle muté non fonctionnel chez le chien, tels que la surdité, l'anémie, une déficience immunitaire, l'infertilité ou un défaut de mémoire.

Robe panachée chez le Braque de Weimar – Délétion (Gerding et al., 2013)

Chez le Braque de Weimar, la robe typique est la robe beige, par l'action de l'allèle *d* (*dilution*) du locus *D* sur une robe unie chocolat, due au génotype *b/b* (couleur brune de l'eumélanine) au locus *B*, plus ou moins claire. Le beige clair typique du Braque de Weimar doit tendre vers une couleur grisée (standard de la race). Gerding *et al.* (2013) ont étudié une robe apparaissant exceptionnellement dans la race : robe panachée avec une liste blanche sur la tête pouvant s'étendre vers l'arrière, des zones ventrales blanches (abdomen et pattes) et une couleur de base beige très claire (Figure 29). Cette robe n'est pas acceptée par le standard de la race en France et en Allemagne.

Figure 29 : Phénotype panaché de blanc exceptionnel du Braque de Weimar (Gerding et al., 2013)



Les images A, B, C et D montrent un chiot Braque de Weimar présentant la robe panachée exceptionnelle dans cette race, à six et sept semaines. La comparaison avec les autres individus de la portée, à robe typique du Braque de Weimar, sur l'image D met en évidence l'éclaircissement global de la robe, en plus de la panachure sur la tête et les pattes. Sur le chien adulte (image E), la panachure est clairement délimitée : museau blanc, liste sur la tête, poitrail et tour de nuque, pattes antérieures et extrémités des pattes postérieures.

Les gènes associés aux panachures chez le chien, *MITF* et *SILV* ont été séquencés chez les parents de cette femelle panachée ainsi que chez les autres individus de la portée. Aucune mutation n'a été identifiée dans les régions codantes de ces gènes. Par contre, une délétion de trois paires de bases dans l'exon 13 du gène *KIT*, entraînant la délétion de la leucine 654 (Leu654del) dans le récepteur KIT codé par ce gène, était présente dans un allèle de la chienne panachée, et absente chez les autres chiens (2 parents et 2 individus de la même portée).

Cette mutation affecte le domaine tyrosine kinase 1 du récepteur KIT, ce qui a de grandes chances d'altérer la fonction tyrosine kinase. L'altération du site actif permettant l'activation de la voie MAP-kinases est très probablement à l'origine d'une perte de fonction de KIT, résultant en l'absence de mélanocyte dans les zones panachées de cette chienne, et en la diminution de la mélanogénèse entraînant une couleur très claire dans les zones colorées.

Si cette mutation est à ce jour unique chez cet animal, elle souligne l'importance de KIT dans la détermination de la panachure blanche, qui comme nous l'avons vu, sont en partie déterminée par le facteur de transcription MITF dont l'expression est augmentée par l'activation de KIT.

Le Tableau 20 résume les deux mutations du gène *KIT* du chien et leurs effets.

Tableau 20 : Résumé des mutations du gène *KIT* du chien

Panachure blanche exceptionnelle			
Gène	<i>KIT</i>		
Protéine codée	Récepteur KIT à activité tyrosinase kinase		
Rôle	Activation de la voie MAP-kinases		
Allèles	<i>Berger allemand panaché</i>	<i>Braque de Weimar panaché</i>	<i>sauvage</i>
Phénotypes	Robe panachée	Robe panachée, dilution marquée des zones colorées	Absence de blanc dans la robe
Mutations responsables	Insertion d'1 pb dans exon 2 => codon stop prématuré	Délétion Leu654del	
Action	Plus de 96% des acides aminés de KIT sont tronqués – Perte de fonction complète du récepteur KIT	Altération d'un site tyrosine kinase de KIT – Perte de fonction	Augmentation de l'activité de MITF par la voie MAP-kinases – Survie des mélanoblastes embryonnaires

4. Résumé des mécanismes moléculaires impliqués dans la couleur des robes de chien

L'Annexe 2 résume les loci pour lesquels les gènes et allèles impliqués dans la coloration du pelage du chien ont été identifiés. L'Annexe 3 résume les types de mutations causales de ces différents allèles.

Il reste de nombreux loci non encore élucidés à l'échelle moléculaire. Nous pourrions citer par exemple la variation de l'intensité de la phéomélanine (locus *I*), le grisonnement progressif du pelage dans certaines races (locus *G*), ainsi que le repeuplement des zones blanches par les mélanocytes pour les loci *T* (*Ticking*) et *R* (*Roan*).

DEUXIÈME PARTIE

GÈNES ET MUTATIONS IMPLIQUÉS DANS LA COULEUR DE LA ROBE CHEZ LE CHAT

1. Gènes et allèles déterminant la répartition des deux types de pigments

1.1. Gène ASIP - Locus A (Agouti)

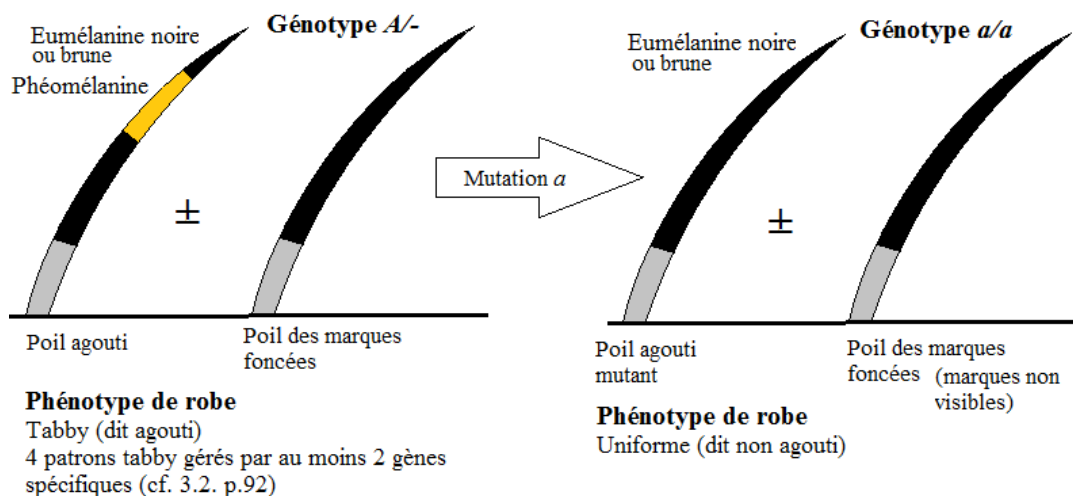
Détails des allèles et phénotypes associés

Le locus A possède deux allèles chez le chat :

A : allèle sauvage, dominant, responsable de la présence de poils agoutis zonés (bande(s) phéomélanique(s) sur fond eumélanique) (Figure 24). Contrairement à ce qui est observé chez le chien, ces poils concernent l'ensemble du pelage si la production de phéomélanine est possible, hormis les marques foncées (voir loci déterminant les patrons des robes) et les marques blanches (voir locus W). Cet allèle permet l'expression des patrons tabby.

a : poils non agoutis. Ces poils sont entièrement colorés par l'eumélanine noire ou brune, plus ou moins diluée (Figure 30). Les marques foncées ne sont pas visibles sur un tel pelage ; le locus A est donc épistatique sur les loci les gouvernant.

Figure 30 : Poils agouti et unis (production personnelle)



Gène ASIP (Agouti Signaling Protein) (Eizirik et al., 2003)

Le gène du locus A a été identifié par Eizirik *et al.* en 2003. Ils s'intéressèrent au pelage noir des félinés. Chez le chat, ce pelage où la phéomélanine est absente est transmis de manière autosomique récessive. Par analogie avec les autres Mammifères, ils suspectèrent le gène ASIP comme candidat pour le noir récessif du chat. ASIP a été cartographié sur le chromosome A3 félin. Ils effectuèrent ensuite une analyse de liaison dans un pedigree de 89 chats entre les allèles d'ASIP, identifiés par trois marqueurs microsatellites, et le phénotype noir. Cette analyse révéla une ségrégation complète des allèles d'ASIP avec le phénotype, confirmant la transmission récessive et l'implication du gène ASIP au locus A.

Comme nous l'avons vu, ce gène code la protéine ASIP responsable d'un blocage de MC1R aboutissant à la production de phéomélanine. Une mutation de ce gène a pour effet, comme pour l'allèle *a* du chien, d'empêcher l'inactivation de MC1R et donc la production de phéomélanine si elle est portée à l'état homozygote. De façon concrète, chez l'homozygote mutant, tous les poils agoutis sont remplacés par des poils mutants « non agoutis », non zonés et exclusivement eumélaniques.

Allèle *a* – Mutation $\Delta 2$ (Eizirik et al., 2003)

Après avoir cartographié et cloné le gène *ASIP* chez le chat, les auteurs procédèrent à son séquençage chez plusieurs chats domestiques noirs (eumélaniques complets) ou non noirs (plus exactement non agoutis ou agoutis/tabby). Cela permis d'identifier une délétion de 2 pb (nucléotides 123 et 124) chez les chats noirs.

Dans le pédigrée de 89 chats, la mutation était parfaitement associée à la robe eumélanique, et conforme au mode de transmission récessif. Le génotypage de 83 chats non liés, collectés à travers le monde, a confirmé que les chats noirs (N=57) étaient tous homozygotes pour la mutation $\Delta 2$, alors que les chats agoutis/tabby (N=26) portaient au moins un allèle sauvage *A* non muté. L'association était donc parfaite entre le phénotype et le génotype.

La délétion de 2 pb entraîne un décalage du cadre de lecture. Ce décalage modifie complètement la séquence d'acides aminés d'*ASIP* après le 40^{ème} acide aminé, entraînant un codon stop qui tronque la protéine au résidu 99. Cela supprime le domaine C-terminal d'*ASIP* qui comporte son site actif. Il est donc très probable que l'homozygotie pour la mutation $\Delta 2$ empêche la production d'une protéine *ASIP* fonctionnelle, ce qui empêche l'inactivation « cycle pilaire » dépendante de MC1R, aboutissant aux poils zonés agoutis. C'est pourquoi les chats *a/a* ont des poils entièrement eumélaniques, unis.

Allèle *A^{Pb}* du charcoal du Bengal (Gershony et al., 2014)

Le Bengal est issu d'un programme d'hybridation entre le chat domestique et le chat léopard du Bengal ou asiatique (*Prionailurus bengalensis*). Dans cette race, la robe *charcoal* (ou charbon de bois) apparaît de façon rare. Il s'agit d'une robe plus eumélanique qu'attendu (Figure 31).

Figure 31 : Robes du Bengal (Gershony *et al.*, 2014)



(a) robe charcoal sur un fond silver tabby (dépourvue de phéomélanine); (b) robe charcoal sur un fond colorpoint tabby, (c) robe charcoal sur un fond brown spotted tabby. Notez le masque foncé sur la face ainsi que la cape foncée sur les parties dorsales, comparé à une robe non-charcoal sur les mêmes fonds de robe en (d) silver tabby, (e) colourpoint et (f) brown tabby avec rosettes.

Plusieurs mutations associées à cette robe ont été découvertes par le séquençage du gène *ASIP* chez des chats domestiques, des Bengals et des chats léopards asiatiques. Vingt-sept variants ont été identifiés puis recherchés chez des Bengals. Entre le chat domestique et le chat léopard asiatique, la séquence codante d'*ASIP* comportait quatre SNP synonymes et quatre SNP non synonymes dans les exons, ainsi que 19 polymorphismes dans les introns, dont une délétion de 42 pb dans l'intron 4, distinguant ainsi un allèle propre au chat léopard asiatique nommé A^{Pb} . Cinquante-six des 64 chats *charcoal* étaient hétérozygotes pour l'allèle A^{Pb} du gène *ASIP* du chat léopard asiatique et portaient également l'allèle *non-agouti* a du chat domestique. Vingt-quatre Bengals avaient une mutation unique dans l'exon 2, non identifiée chez le chat léopard asiatique ou chez le chat domestique, déterminant un autre allèle : l'allèle A^2 dont le rôle reste à ce jour inconnu.

Ces résultats suggèrent que le portage hétérozygote d'un allèle A^{Pb} avec l'allèle a (génotype A^{Pb}/a) influence les marques du Bengal, produisant un pelage plus sombre, pas complètement eumélanique appelé *charcoal* par les éleveurs.

Un test génétique permettant de détecter l'allèle A^{Pb} (ainsi que l'allèle A^2 dont le rôle n'est pas compris mais qui constitue un allèle supplémentaire au locus *A* du Bengal) a été développé.

Le Tableau 21 résume les mécanismes moléculaires impliqués dans le locus *A* du chat.

Tableau 21 : Résumé des mécanismes moléculaires impliqués dans le locus A du chat

Locus A			
Gène	<i>ASIP</i> ou <i>Agouti</i>		
Protéine codée	<i>Agouti Signaling Protein</i> (ASIP) ou Agouti		
Rôle	Ligand inhibiteur de MC1R		
Allèles	<i>A</i> (allèle sauvage)	<i>A^{Pb}</i>	<i>a</i>
Phénotype	Présence de poils agoutis Expression des patrons tabby (loci <i>Ti</i> et <i>Ta</i>) possible (poils agoutis entre les marques foncées des patrons)	Robe <i>charcoal</i> du Bengal	Poils unis Pas d'expression des patrons tabby
Mutation responsable		Allèle propre au chat léopard du Bengal (chat sauvage)	Délétion de 2 pb
Action	Inhibition « cycle pilaire » dépendante de MC1R dans les zones agoutis	Non connue	Abolition de l'inhibition de MC1R car protéine ASIP tronquée non fonctionnelle

1.2. Gène *MC1R* - Locus *E* (Extension) (Peterschmitt et al., 2009)

Couleur ambre

La couleur ambre a été décrite officiellement chez le chat Norvégien en 1992, jamais dans d'autres races. Cette couleur est apparue sur la chatte Kløfterhagens Babuschka, née en Norvège en 1981. Tous les chats à robe ambre de la race Norvégien descendent de cette femelle.

L'étude des pédigrées des familles de chats où la robe ambre apparaît a montré que :

- le croisement de chats non-ambre peut générer des chatons ambre,
 - le croisement de chats ambre ne produit que des chatons ambre,
 - il n'y a pas d'association entre le genre des chatons et la fréquence de la couleur ambre.
- La couleur ambre est donc un caractère autosomique récessif.

Détails des allèles et phénotypes associés

Le locus *E* est celui qui est associé à la couleur ambre, depuis que les bases génétiques de cette couleur ont été identifiées, avec les allèles suivants :

E : allèle sauvage, dominant ; production d'eumélanine stable au cours de la vie du chat.

e : la production d'eumélanine décroît lors de la croissance du chat et abouti à la robe ambre à l'âge adulte en cas d'homozygotie (Figure 32).

Figure 32 : Evolution de la robe ambre du Norvégien, de la naissance à l'âge adulte (Abitbol, 2012)

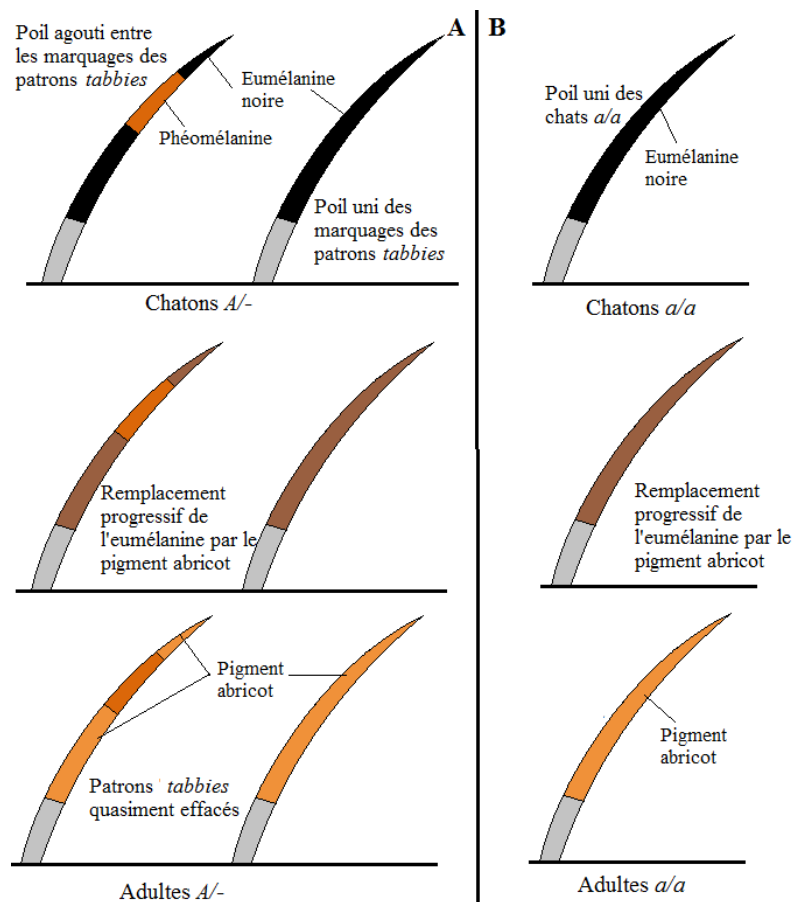


Noter l'effacement progressif de l'eumélanine dans la robe du chat.

Si l'allèle *A* est présent au locus *A*, des poils agoutis sont présents à la naissance, autorisant l'expression des patrons déterminés par les loci *Ta* et *Ti*. Progressivement, la production d'eumélanine baisse et l'eumélanine des poils unis des zones foncées ainsi que celle des poils agoutis sont remplacées par un pigment abricot. Les patrons disparaissent alors puisque le contraste entre les poils agouti et les poils unis n'est quasiment plus visible (Figure 33A).

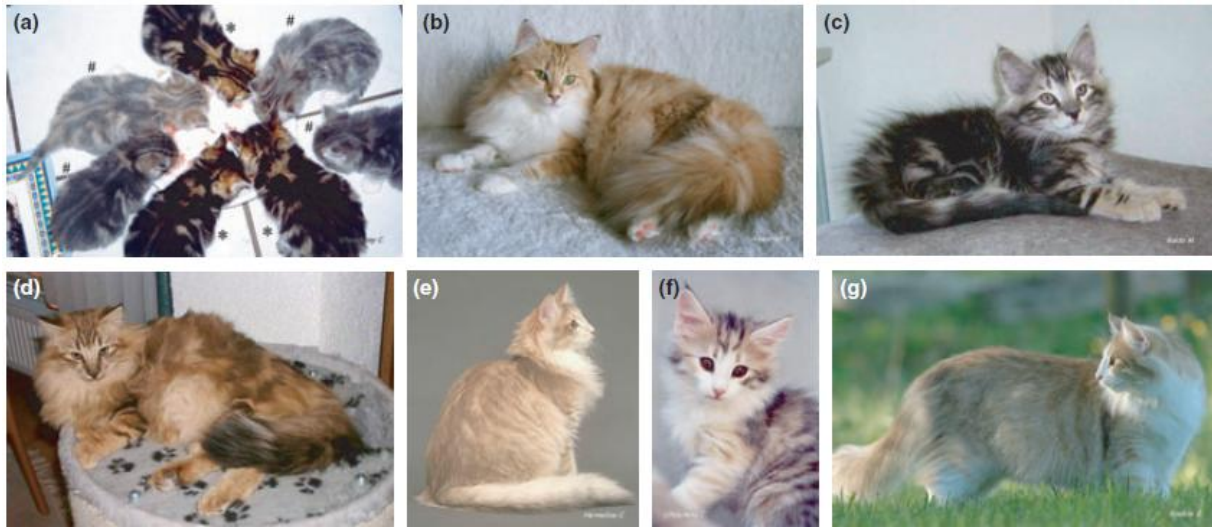
Si les chatons sont initialement unis, c'est-à-dire de génotype *a/a*, les poils eumélaniques constituant l'ensemble du pelage s'éclaircissent aussi progressivement, aboutissant à une robe abricot à l'âge adulte (Figure 33 B ; Figure 34 d). Un patron tabby dit « fantôme » peut être visible (Figure 34 c).

Figure 33 : Evolution de la coloration des poils des chats ambre tabby (A) et unis (B) (production personnelle)



Les coussinets et la truffe ne sont pas affectés par le locus *E* puisque les adultes ambre ont tous la truffe et les coussinets foncés, à moins que des marquages blancs déterminés au locus *S* ne se trouvent dans ces zones (Figure 34 b). La production d'eumélanine persiste donc dans ces zones.

Figure 34 : Photographies illustrant la variabilité des robes ambres chez le Norvégien (Peterschmitt *et al.*, 2009)



a : Portée de chatons ambres de quatre semaines. Le patron tabby classique (ou blotched) est bien visible à cet âge. Les trois chatons bien colorés sont dits *amber blotched tabby*. Quatre des chatons portent en plus le génotype *d/d* au locus *D* entraînant une dilution de la pigmentation (robe *light amber blotched tabby*).

b : A 16 mois, les pigments noirs de la robe *amber blotched tabby* ont quasiment disparu. Cette femelle a un pelage globalement abricot même si le patron tabby se distingue encore. De rares poils noirs subsistent sur la queue. Sa truffe et ses coussinets sont blancs à cause des marques blanches.

c : Patron tabby « fantôme » visible sur un chaton de huit semaines uni ambre (*a/a e/e*). La truffe et les coussinets sont foncés.

d : Chat uni ambre de neuf mois. L'effacement de l'eumélanine est en cours et le pelage devient progressivement abricot. La truffe et les coussinets restent foncés.

e : Femelle ambre de 10 mois née tabby (*mackerel*) et silver (effacement de la phéomélanine). Le patron tabby tigré n'est plus visible.

f : Femelle ambre écaille de tortue silver à huit semaines. La différenciation entre les zones rousses (patte antérieure gauche) et les zones ambre (foncées) est facile.

g : Femelle ambre écaille de tortue silver adulte (un an). La différenciation des zones rousse et des zones ambre est très difficile une fois adulte.

Gène *MC1R*

L'équipe d'Eizirik *et al.* (2003) a cartographié le gène *MC1R* sur le génome du chat domestique au chromosome E2.

L'équipe de Peterschmitt *et al.* (2009) a caractérisé l'allèle *e* responsable de la robe ambre. La couleur ambre résulte d'une altération de la production d'eumélanine au cours du temps et est récessive. De plus, comme chez le chien *e/e* fauve récessif à cause d'une mutation du gène *MC1R*, seuls les mélanocytes folliculaires sont affectés et non les mélanocytes épidermiques puisque la truffe et les coussinets restent pigmentés. Le gène *MC1R* était donc un bon candidat pour le déterminisme de cette couleur. Peterschmitt *et al.* procédèrent donc au séquençage de la région codante de *MC1R* chez trois chats au phénotype sauvage (deux Norvégien et un Européen), 12 Norvégien ambre, trois Norvégien porteurs d'ambre et un Sibérien doré. Deux SNP furent détectés : un SNP ne changeant pas la séquence d'acides

aminés de MC1R (c.804T>C) et un SNP où la guanine 250 de l'allèle sauvage est remplacée par une adénosine (c.250G>A), ce qui aboutit au remplacement de l'acide aspartique 84 par une asparagine (Asp84Asn). La mutation c.250G>A était présente uniquement chez les chats ambres et porteurs d'ambre.

Allèle e – Mutation G250A ou Asp84Asn (Petterschmitt et al., 2009)

Le génotypage de 56 chats supplémentaires a confirmé que tous les chats ambre étaient homozygotes A/A et tous les porteurs d'ambre étaient hétérozygotes G/A. L'allèle A du SNP c.250G>A était donc en parfaite association avec l'allèle e.

L'acide aspartique 84 de MC1R est hautement conservé chez les animaux. Chez l'humain, une mutation aboutissant au remplacement de l'acide aspartique 84 par un acide glutamique (Asp84Glu) a été associée à la couleur rousse des cheveux et elle entraîne *in vitro* une légère diminution de la capacité de liaison de l' α -MSH sur le récepteur MC1R et une forte diminution de la réponse à cette liaison puisque le récepteur MC1R muté entraîne une réponse au maximum de 15% de la réponse du MC1R sauvage. La mutation Asp84Asn du chat, qui est semblable, a donc une forte probabilité d'altérer la fonction de MC1R.

Le Tableau 22 résume les mécanismes moléculaires impliqués dans le locus *E* du chat.

Tableau 22 : Résumé des mécanismes moléculaires impliqués dans le locus *E* du chat

Locus <i>E</i>		
Gène	<i>MC1R</i>	
Protéine codée	Récepteur de la mélanocortine de type 1 (MC1R)	
Rôle	Activation de la synthèse d'eumélanine	
Allèles	<i>E</i> (allèle sauvage)	<i>e</i>
Phénotypes	Robe non modifiée	Robe ambre : remplacement progressif de l'eumélanine du pelage par un pigment abricot
Mutation responsable		Mutation faux-sens c.250G>A => Asp84Asn
Action	MC1R fonctionnel, réagissant à ses ligands	Altération partielle de la fixation de l' α -MSH sur le récepteur MC1R, aboutissant à l'abolition progressive de l'eumélanogénèse

2. Gènes et mutations déterminant la couleur et l'intensité des pigments

2.1. Gène *TYRP1*- Locus *B* (Brown)

Détails des allèles et phénotypes associés

Le locus *B* détermine la couleur de l'eumélanine, comme chez le chien. Trois allèles sont présents à ce locus, avec $B > b > b^l$:

B : eumélanine noire, allèle sauvage, couleur noire.

b : eumélanine brune, couleur chocolat.

b^l : eumélanine cannelle, brun clair (l pour *light*), couleur cannelle, *cinnamon* en anglais (Figure 35).

Seule l'eumélanine est affectée. La présence de poils agoutis est donc possible, bien que le contraste entre les poils agoutis et unis soit moins visible lorsque l'eumélanine est plus claire.

Figure 35 : Couleurs de l'eumélanine chez le chat (Abitbol, 2012)



a : Robe noire ; b : Robe chocolat ; c : Robe cannelle

Gène *TYRP1* (Schmidt-Küntzel et al., 2005 ; Lyons et al., 2005)

La couleur brune de l'eumélanine a été retrouvée dans plusieurs espèces, où elle apparaît également de manière récessive sur la couleur noire : souris, chien, vache et homme (à l'origine de l'albinisme occulo-cutané des individus roux). Dans ces espèces, le brun récessif est causé par des mutations du gène *TYRP1* (*Tyrosinase related protein 1*) codant l'enzyme TYRP1 qui intervient dans l'une des dernières étapes de la mélanogénèse.

Schmidt-Küntzel et al. (2005) et Lyons et al. (2005) ont procédé au séquençage de *TYRP1* chez des chats à eumélanine noire, des chats à eumélanine chocolat et des chats à eumélanine cannelle, dans le but de rechercher d'éventuelles mutations pouvant être causales des allèles *b* et *b^l*. Leurs études démontrent l'implication de *TYRP1* dans le déterminisme de la couleur de l'eumélanine chez le chat.

Variants *TYRP1* (Schmidt-Küntzel et al., 2005 ; Lyons et al., 2005)

De nombreux variants ont été identifiés dans *TYRP1* mais trois ont retenu l'attention des deux groupes :

- c.8C>G (qui provoque un changement d'acide aminé alanine par glycine en position 3 dans la protéine : A3G) et c.1262+5G>A (qui intervient dans un site d'épissage) pour la couleur chocolat,
- c.298C>T (mutation non sens qui provoque le remplacement d'un acide aminé par un stop) pour le cannelle.

Une étude d'association des phénotypes avec ces trois mutations a été réalisée en déterminant le génotype de chats cannelle, chocolat ou à eumélanine noire (phénotype sauvage) dans de multiples races. Les résultats sont indiqués dans le Tableau 23.

Tableau 23 : Etude d'association des phénotypes cannelle et chocolat avec les trois mutations identifiées dans *TYRP1* (d'après Schmidt-Küntzel *et al.*, 2005)

	<i>TYRP1</i> -298C>T			<i>TYRP1</i> -8C>G			<i>TYRP1</i> -1262+5G>A		
	C/C	C/T	T/T	C/C	C/G	G/G	G/G	G/A	A/A
cinnamon-colored cats	0	0	17	6	0	0	6	0	0
chocolate-colored cats	26	1	0	0	3	38	0	3	38
wild type-colored cats	30	2	0	24	15	0	28	11	0

Cinnamon : cannelle, *Chocolate* : chocolat, *wild type* : noir.

On constate que les deux mutations *c.8C>G* et *c.1262+5G>A* sont en parfait déséquilibre de liaison et transmises en bloc chez les chats chocolat. Ces deux mutations sont liées.

Allèle b – Mutations c.8C>G et c.1262+5G>A (Schmidt-Küntzel et al., 2005 ; Lyons et al., 2005)

La substitution *c.1262+5G>A* altère le site donneur d'épissage de l'intron 5 et aboutit à l'utilisation de deux sites donneurs alternatifs en position 1262+51 et 1262+54. L'insertion de ces 51 ou 54 nucléotides dans la séquence traduite de l'ARNm entraîne une insertion de 17 à 18 acides aminés qui n'intervient pas au sein d'un domaine fonctionnel connu mais pourrait altérer la structure tridimensionnelle de *TYRP1* ; avec pour effet une altération partielle de son activité enzymatique aboutissant à la production d'une eumélanine plus claire (brune).

La substitution *c.8C>G* entraîne le remplacement de l'alanine 3 par une glycine (A3G). Cet acide aminé fait partie du peptide signal qui permet l'adressage du propeptide de *TYRP1*. Une fois que le propeptide atteint son lieu d'action, le peptide signal est clivé. L'alanine et la glycine sont deux acides aminés semblables dans le sens où ils sont tous deux petits et neutres. L'effet de cette substitution n'est donc probablement pas majeur, bien qu'elle puisse modifier légèrement l'adressage du propeptide.

De plus, la présence de cinq variants synonymes homozygotes seulement chez les chats chocolat a suggéré que l'haplotype propre à l'allèle *b* est long. Il est donc possible que la mutation causale de *b* ne soit pas l'une des deux mutations identifiées ci-dessus mais une autre mutation intervenant hors de la séquence codante de *TYRP1*.

Allèle b^l – Mutation c.298C>T (Schmidt-Küntzel et al., 2005 ; Lyons et al., 2005)

La substitution *c.298C>T* homozygote chez les individus cannelle entraîne l'apparition d'un codon stop en position 100 dans la protéine. La protéine *TYRP1* est alors tronquée à son 99^{ème} acide aminé sur les 537 qui la composent normalement. Cela élimine les deux domaines de liaison au cuivre (Cu), le domaine riche en cystéine (Cys-rich) et le domaine transmembranaire. Cette troncature entraîne vraisemblablement une perte importante de fonction de l'enzyme *TYRP1* et est très probablement la mutation causale de l'allèle *b^l*.

Le Tableau 24 résume les mécanismes moléculaires impliqués dans le locus *B*.

Tableau 24 : Mécanismes moléculaires impliqués dans le locus *B* du chat

Locus <i>B</i>			
Gène	<i>TYRP1</i>		
Protéine codée	Enzyme <i>tyrosinase-related protein 1</i> (TYRP1)		
Rôle	Oxydation de DHICA en fin de synthèse de l'eumélanine		
Allèles	<i>B</i> (allèle sauvage)	<i>b</i>	<i>b^l</i>
Phénotypes	Eumélanine noire	Eumélanine brune	Eumélanine cannelle (brun clair)
Mutations responsables		Deux mutations liées : c.8C>G et c.1262+5G>A	Mutation non sens c.298C>T
Action	TYRP1 pleinement fonctionnelle	Altération partielle de la fonction de TYRP1 par modification de la structure tridimensionnelle ou de l'adressage	Altération importante de la fonction de TYRP1 par troncature

2.2. Gène *MLPH* - Locus *D* (Dilution)

Détails des allèles et phénotypes associés

Le locus *D* contrôle la dilution de la couleur du pelage. Cette dilution concerne à la fois l'eumélanine et la phéomélanine. Le phénotype dilué est transmis de manière autosomique récessive ; les deux allèles du locus *D* sont :

D : allèle sauvage, couleur du pelage non diluée,

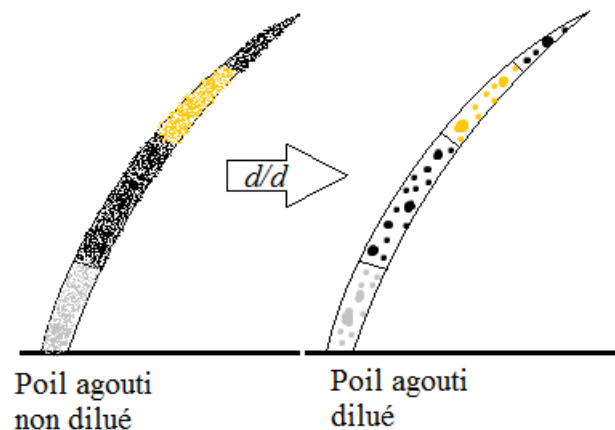
d : couleur du pelage diluée de façon homogène en cas d'homozygotie (Figure 36). La couleur noire est diluée en bleue, le chocolat en lilas, le cannelle en faon et le roux en crème. A l'échelle du poil, les pigments s'agglutinent en granules, distribués de manière inégale le long de la tige pileaire. Cela entraîne une diminution de l'absorption de la lumière par rapport à une répartition homogène des pigments. Le poil apparaît donc plus clair (Figure 37).

Figure 36 : Robes résultant de la dilution des pigments chez les chats *d/d* (Abitbol, 2012)



a : Robe bleue, dilution du noir ; b : Robe lilas, dilution du chocolat ; c : Robe faon, dilution du cannelle ; d : Robe crème, dilution du roux. En encadré figure la couleur non diluée.

Figure 37 : Schématisation de l'effet d'une homozygotie d/d sur le poil, ayant pour résultat la dilution de sa couleur (production personnelle)



Gène *MLPH*

Comme nous l'avons vu pour le locus *D* du chien, des phénotypes dilués existent chez le chien, la souris et l'homme (syndrome de Griscelli). L'équipe d'Ishida *et al.* (2006) a identifié le gène muté responsable de la dilution du pelage du chat domestique. Ils ont procédé à une analyse par criblage du génome (*genome scan*) en utilisant 483 marqueurs microsatellites dans un large pedigree multi-générationnel de 257 chats dont 247 pour lesquels le phénotype était connu (158 non dilués, 86 dilués). La liaison la plus forte a été observée entre le marqueur FCA890, situé sur le chromosome C1, et le phénotype dilué. La région où se trouve ce marqueur présente une conservation de synténie avec une région du chromosome 2 humain portant le gène *MLPH* (*melanophilin*).

Allèle *d* – Mutation $\Delta 1$ (Ishida *et al.*, 2006)

Ishida *et al.* procédèrent ensuite à la caractérisation des transcrits de *MLPH* en séquençant les ADNc issus d'ARNm extraits de la peau d'un individu dilué et d'un individu non dilué. La séquence codante de *MLPH* comporte 1707 pb, codant pour 569 acides aminés chez l'individu non dilué. Chez l'individu dilué à l'inverse, une délétion de 1 pb en position 83, dans l'exon 2, a été observée. Cette délétion décale le cadre de lecture, ce qui aboutit à l'apparition d'un codon stop, 11 codons après la délétion. La traduction de ce transcrit entraînerait donc une perte de 97% de la protéine puisque le codon stop intervient dans l'extrémité 5' de la région codante.

Une étude de liaison entre la délétion $\Delta 1$ dans le gène *MLPH* et le phénotype dilué a ensuite été effectuée sur 257 individus du pedigree initialement utilisé pour localiser la région associée au locus *D* (158 à phénotype sauvage et 89 à phénotype dilué), ainsi que chez 186 individus non liés additionnels (89 de phénotype sauvage et 97 de phénotype dilué). En tout, la mutation a été recherchée chez 186 individus de phénotype dilué appartenant à 26 races différentes et 247 individus de phénotype sauvage appartenant à 29 races différentes. L'association entre la délétion $\Delta 1$ et l'allèle *d* était parfaite puisque tous les individus de

phénotype dilué testés étaient homozygotes $\Delta 1/\Delta 1$, alors qu'aucun des individus de phénotype sauvage ne l'était.

Le Tableau 25 résume les mécanismes moléculaires impliqués dans le locus *D*.

Tableau 25 : Résumé des mécanismes moléculaires impliqués dans le locus *D* du chat

Locus <i>D</i>		
Gène	<i>MLPH</i>	
Protéine codée	Mélanophiline (MLPH)	
Rôle	Partie du complexe transporteur des mélanosomes	
Allèles	<i>D</i> (allèle sauvage)	<i>d</i>
Phénotypes	Robe non modifiée	Robe diluée
Mutation responsable		Délétion d'une pb entraînant l'apparition d'un codon stop dans l'extrémité 5' de la région codante
Action	Complexe transporteur des mélanosomes fonctionnel	Suppression de 97% de la protéine MLPH – Altération majeure du transport des mélanosomes

3. Gènes et mutations déterminant les motifs et patrons de robe

3.1. *Gène TYR - Locus C (Colour)*

Détails des allèles et phénotypes associés (Lyons et al., 2005)

Quatre allèles sont décrits au locus *C* du chat :

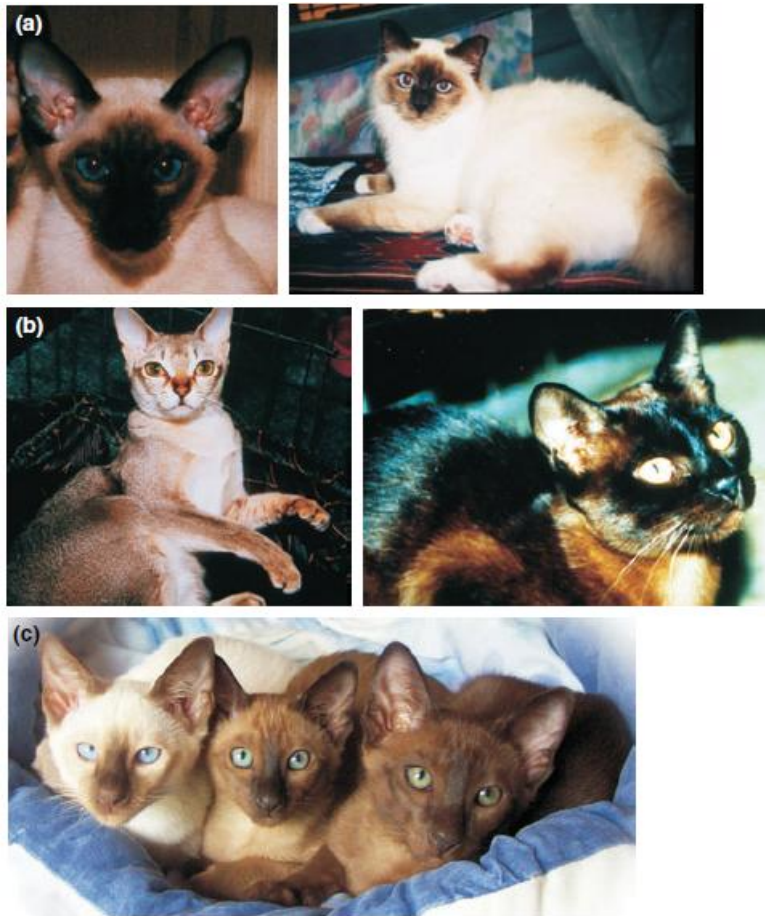
- *C* : allèle sauvage, dominant. Pas d'influence sur la robe.
- c^s (s pour Siamois) : muté, récessif sur *C*. Si l'individu est c^s/c^s , le phénotype est dit *colourpoint* (ou *point*). Il y a un contraste important entre les extrémités (face, oreilles, queue et bout des pattes), et le reste du corps qui est dépigmenté (Figure 38 a).
- c^b (b pour Burmese) : muté, récessif sur *C* mais codominant avec c^s . Si l'individu est c^b/c^b , le phénotype est dit *sépia*. Le contraste entre les extrémités et le reste du corps est présent mais peu marqué (corps un peu plus clair que les extrémités) (Figure 38 b).

Si l'individu est c^b/c^s , le phénotype est dit *mink*. Le contraste est moyen entre les extrémités et le reste du corps (Figure 38 c, chat du milieu).

Notons que les allèles c^s et c^b donnent un phénotype lié au gradient de température de la surface du corps : la pigmentation complète n'est présente que sur les parties les plus froides que sont les extrémités.

- *c* : muté, récessif sur *C*, c^b et c^s . Phénotype albinos. Le chat est entièrement dépigmenté. En raison de son caractère délétère (chats avec photophobie), il est fortement contre-sélectionné chez le chat de race.

Figure 38 : Phénotypes contrôlés par le locus C du chat (Lyons *et al.*, 2005)



a : Siamois et Sacré de Birmanie colourpoint, phénotype caractéristique du génotype c^s/c^s au locus C. Les corps est très peu pigmenté et les extrémités sont très foncées (contraste important).

b : Singapura et Burmese sépias, phénotypes caractéristiques du génotype c^b/c^b au locus C. Le corps et les extrémités ont un contraste peu marqué.

c : Tonkinois avec trois génotypes différents ; de gauche à droite, phénotype colourpoint c^s/c^s , phénotype mink c^s/c^b et phénotype sépia (c^b/c^b). Ces trois chats montrent la variation de contraste en fonction du génotype.

Certaines races sont fixées pour certains de ces allèles, par exemple :

- pour le phénotype *colourpoint* (c^s/c^s) : Siamois, Balinais, Sacré de Birmanie, Thaï, Snowshoe,
- pour le phénotype sépia (c^b/c^b) : Singapura, Burmese,
- pour les phénotypes *colourpoint*, sépia ou *mink* (allèles c^s et c^b) : Tonkinois.

D'autres races sont porteuses des allèles c^b et c^s , ainsi que de l'allèle C, entraînant l'apparition inconstante de chats *point*, sépia ou *mink*. Dans certaines de ces races, le standard n'autorise pas ces patrons (par exemple, le Korat et le Bleu Russe), ou bien ils sont indésirables (par exemple, le Sibérien). Cela souligne l'importance de pouvoir détecter ces allèles par un test génétique dans ces races, afin de ne pas mettre les chats porteurs à la reproduction ou, pour les races où le nombre d'individus est trop limité (Korat, par exemple), d'éviter les mariages de chats porteurs afin d'éliminer progressivement la survenue de robes non désirées (Lyons *et al.*, 2005 ; LOOF).

Gène TYR (Schmidt-Küntzel *et al.* 2005 ; Lyons *et al.*, 2005)

Le locus C a été un des premiers à être localisé dans le génome du chat. O'Brien *et al.* (1986) l'avait en effet localisé sur le chromosome D1 du chat.

L'équipe de Schmidt-Küntzel *et al.* (2005) a étudié la candidature du gène TYR (*tyrosinase*) connu pour engendrer des phénotypes identiques à ceux du chat, chez la souris (phénotype

himalayen de la souris correspondant au *colourpoint* du chat) en procédant au séquençage de sa séquence codante complète. Le séquençage de deux chats de phénotype sauvage, un chat à phénotype *colourpoint* et un chat de phénotype sépia a révélé cinq polymorphismes dont deux qui affectent la séquence d'acides aminés de *TYR* :

- chez le chat de phénotype sépia : substitution de la guanine 679 par une thymine (c.679G>T) dans l'exon 1, entraînant le remplacement de la glycine 227 par un tryptophane,
- chez le chat de phénotype *colourpoint* : substitution de la guanine 901 par une adénine (c.901G>A) dans l'exon 2, entraînant le remplacement de la glycine 301 par une arginine.

L'équipe a réalisé ensuite une étude de liaison entre la mutation c.901G>A et le phénotype *colourpoint* chez 88 individus (dont 25 de phénotype *colourpoint*, 20 de phénotype sépia, 11 de phénotype *mink* et 32 de phénotype sauvage), ainsi qu'entre la mutation c.679G>T et le phénotype sépia chez 67 individus (dont 15 de phénotype *colourpoint*, 16 de phénotype sépia, 11 de phénotype *mink* et 25 de phénotype sauvage). Les résultats sont indiqués dans le Tableau 26.

Tableau 26 : Etude d'association des phénotypes sépia, *colourpoint* et *mink* avec les variants c.679G>T et c.901G>A (Schmidt-Küntzel *et al.*, 2005)

	679G>T ^a			901G>A ^a		
	G/G	G/T	T/T	G/G	G/A	A/A
burmese-colored cats	0	0	16	20	0	0
burmese/siamese-colored cats	0	11	0	0	11	0
siamese-colored cats	15	0	0	0	0	25
wild type-colored cats	23	2	0	28	4	0

Wild type : phénotype sauvage. Burmese : sépia, Siamese : *colourpoint*, Burmese/Siamese : *mink*.

Les 25 chats de phénotype *colourpoint*, de 6 races différentes, étaient homozygotes pour l'allèle A901 de *TYR*, alors que tous les chats non *colourpoint* étaient hétérozygotes G/A ou homozygotes G901. Cela est en accord avec la répartition attendue pour un allèle récessif.

De la même façon, les 16 chats de phénotype sépia, de trois races différentes, étaient homozygotes pour l'allèle T679 de *TYR*, alors que les chats non sépia étaient soit hétérozygotes, soit homozygotes pour l'allèle G679.

Les 11 chats de phénotype *mink* étaient hétérozygotes G/A et hétérozygote G/T pour les deux variants, et inversement tous les chats hétérozygotes pour les deux mutations étaient *mink*. Cela est en accord avec une codominance des allèles c^s et c^b .

Parallèlement à l'étude de Schmidt-Küntzel, l'équipe de Lyon *et al.* (2005) est arrivée aux mêmes conclusions.

Allèle c^b – Mutation c.901G>T (Schmidt-Küntzel et al., 2005)

Comme TYRP1, l'enzyme TYR comprend 6 domaines actifs identifiés : un peptide signal (SP) qui sert à l'adressage du propeptide et est clivé dans la protéine mature, un domaine de type *epidermal growth factor* (EGF-like), un domaine riche en cystéine (Cys), deux domaines de fixation du cuivre (CuA et CuB) et un domaine transmembranaire (TM).

Un changement de la structure secondaire de TYR affecte vraisemblablement sa sensibilité thermique. La variation thermo-dépendante de la pigmentation peut-être due à :

- une thermo-sensibilité de TYR,
- une affinité thermo-dépendante de TYR pour une molécule inhibitrice : cas de la souris de phénotype himalayan où les TYR mutées ont une affinité augmentée pour une molécule inhibitrice à basse température,
- un transport de TYR thermo-dépendant : cas de l'homme où la baisse de température affecte le transport des TYR mutées.

La mutation c.901G>T entraîne le remplacement de la glycine 301, neutre, par une arginine chargée positivement chez le chat de phénotype *colourpoint* (Gly301Arg). L'acide aminé 301 est situé dans le domaine riche en cystéine (Cys-rich) de TYR. La modification de la charge de cet acide aminé peut entraîner une modification de la structure secondaire de TYR, et donc potentiellement affecter ce domaine. De plus, la glycine 301 est un acide aminé très conservé dans la protéine TYR chez les vertébrés, ce qui suggère une importance fonctionnelle. La modification entraînée par la substitution Gly301Arg (ou G301R) est donc susceptible d'avoir un des trois effets cités et donc d'être la mutation causale de l'allèle c^b .

Allèle c^s – Mutation C.679G>T (Schmidt-Küntzel et al., 2005)

La substitution c.679G>T entraîne le remplacement de la glycine 227, petite et neutre, par un tryptophane, large et neutre (Gly227Trp ou G227W), située entre les domaines CuA et Cys-rich. Cette modification est susceptible d'affecter la structure tridimensionnelle de TYR. De plus, la glycine 227 est également très conservée chez les Mammifères, ce qui suggère une importance fonctionnelle.

Allèle c (albinos) – Mutation c.975Cdel (Imes et al., 2006)

L'équipe d'Imes et al. (2006) a étudié la séquence de TYR dans un pedigree de chats de races Oriental et Siamois comportant des individus albinos (Figure 39a) et non albinos (Figure 39b).

Figure 39 : Phénotypes albinos et *colourpoint* des chats du pédigrée utilisé pour la caractérisation de l'allèle *c* (*albinos*) du locus *C* (Imes et al., 2006)



a : chat albinos. Les yeux sont bleus mais on distingue le reflet rouge du tapis dû à la dépigmentation de l'épithélium pigmentaire de la rétine

b : chat non albinos du pédigrée utilisé (de couleur chocolat tabby point)



c : une des portée du pédigrée comportant un chaton albinos. Les autres chatons clairs ont de la couleur visible au niveau des oreilles et de la queue, et sont *colourpoint*.

Ils ont procédé au séquençage de *TYR* chez trois chats albinos *c/c*, trois chats porteurs d'albinos avérés (non albinos ayant eu des petits albinos) hétérozygotes et trois chats non albinos non liés à ce pédigrée, non porteur de l'allèle *c*. Cela leur a permis d'identifier une variation de séquence entre les chats albinos et non albinos qui consiste en la délétion chez les chats albinos de la cytosine 975 dans l'exon 2 (*c.975Cdel*).

Les 15 chats albinos testés du pédigrée étaient homozygotes pour l'allèle délété. Les sept porteurs obligatoires de *c* étaient hétérozygotes allèle délété/allèle non délété. Aucun des chats non albinos n'était homozygote pour l'allèle délété. La délétion était donc en parfaite association avec l'allèle *c*.

Cette délétion modifie le cadre de lecture, ce qui entraîne l'apparition d'un codon stop 9 codons en aval de la délétion. De plus, elle intervient dans l'exon 2 de *TYR* et entraîne donc la troncature d'une grande partie de la protéine *TYR*, notamment des domaines CuB et TM. Cela a un fort risque d'altérer considérablement la fonction de *TYR*. Elle est donc très probablement la mutation causale de l'allèle *c*.

Le Tableau 27 résume les mécanismes moléculaires impliqués dans le locus *C*.

Tableau 27 : Résumé des mécanismes moléculaires impliqués dans le locus C du chat

Locus C				
Gène	TYR			
Protéine codée	Tyrosinase (TYR), enzyme clé de la mélanogénèse			
Rôle	Catalyse plusieurs étapes de la synthèse des pigments, dont la partie commune à l'eumélanine et à la phéomélanine			
Allèles (par ordre de dominance)	C (allèle sauvage)	c ^s	c ^b	c
Phénotype	Absence de contraste entre le corps et les extrémités	Contraste marqué entre le corps et les extrémités si homozygotie	Contraste peu marquée entre le corps et les extrémités	Albinisme : robe blanche, truffe et coussinets roses, yeux bleus
		Contraste moyen si hétérozygotie c ^s /c ^b		
Mutation responsable		Mutation faux-sens c.901C>A => Gly301Arg	Mutation faux-sens c.679G>T => Gly227Trp	Délétion c.975Cdel => codon stop prématuré
Action	Tyrosinase fonctionnelle pour la synthèse de pigments	Altération partielle de TYR par modification de la charge d'un a.a. – Thermo-sensibilité importante de la synthèse de pigments	Altération partielle de TYR par modification de la taille d'un a.a. – Thermo-sensibilité modérée de la synthèse de pigments	Altération complète par troncature d'une grande partie de TYR – Synthèse de pigments impossible

3.2. *Patrons Tabby - Loci Ti (Ticked) et Ta (Tabby) –Gène TAQPEP*

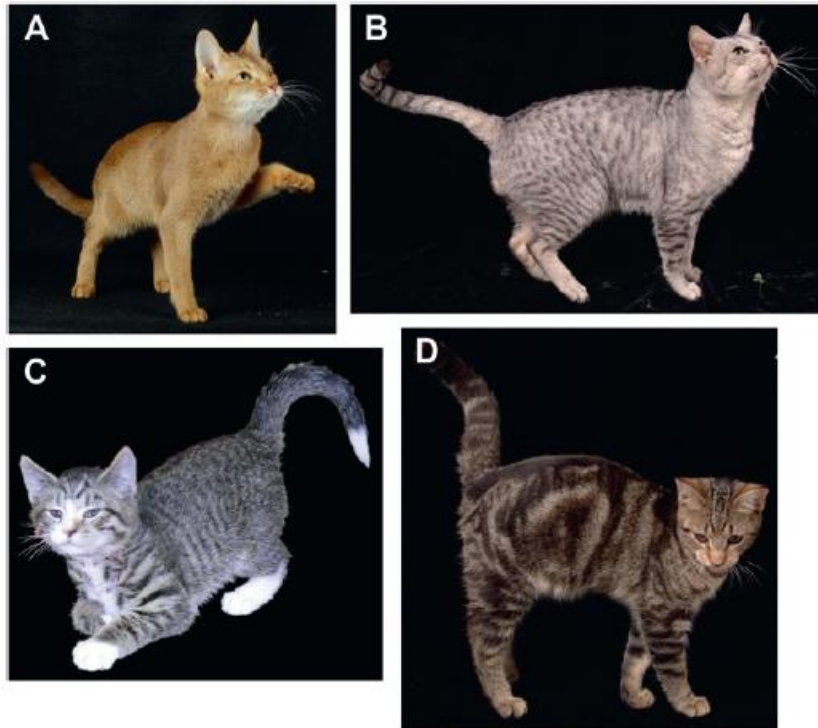
Chez les chats qui possèdent des poils agoutis, quatre patrons *tabby* peuvent apparaître :

- tiqueté (ou *ticked*) : le pelage est entièrement composé de poils agoutis,
- classique (ou *blotched*) : marbrures sombres de poils unis foncés sur un fond agouti,
- tigré (ou *mackerel*) : rayures sombres de poils unis foncés sur un fond agouti,
- tacheté (ou *spotted*) : taches plus ou moins rondes de poils unis foncés sur un fond agouti.

Ces patrons sont supposés avoir une importance dans l'adaptation au milieu, par exemple pour le camouflage, l'échappée aux prédateurs ou la communication sociale, puisque plusieurs sont retrouvés dans des espèces sauvages (par exemple, rayures du tigre et du zèbre, taches du léopard) (Eizirik *et al.*, 2010).

Initialement, la présence d'un unique locus appelé *Tabby* avait été supposée pour expliquer trois des quatre patrons (tiqueté, classique et tigré) (Figure 40). Récemment, l'implication de deux loci épistatiques pour gouverner ces trois patrons, ainsi que l'existence d'un ou plusieurs loci modificateurs, a été démontrée (Eizirik *et al.*, 2010).

Figure 40 : Patrons tabby tiqueté (*ticked*), tacheté (*spotted*), tigré (*mackerel*) et classique (*blotched*) (Eizirik et al., 2010)



A : tiqueté (*ticked* ou *Abyssinian*) ; B : tacheté (*spotted*) ; C : tigré (*striped* ou *mackerel*) ; D : classique (*blotched*)

Loci déterminant les patrons tabby (Eizirik et al., 2010)

Initialement, l'existence d'un unique locus *Tabby* gouvernant les quatre patrons était supposée. L'étude d'Eizirik et al. (2010) a donc consisté dans un premier temps à préciser les relations entre les allèles afin de mieux caractériser le ou les loci impliqués dans le déterminisme des patrons tabby. Les allèles seront appelés par le nom du patron auquel ils sont associés par la suite. Pour cela, ils ont étudiés trois pédigrées dont deux formés spécialement pour l'étude et incluant des chats des différents phénotypes tabby. Ces pédigrées ont permis de démontrer l'existence d'au moins trois loci impliqués dans le déterminisme des patrons tabby :

1/ Le locus *Tabby* (*Ta*) comportant les allèles Ta^M et ta^b , avec Ta^M (patron tigré ou *mackerel*) dominant et ta^b (patron classique ou *blotched*) récessif.

2/ Un ou plusieurs loci modifiant les rayures du patron tigré en taches, à l'origine du patron tacheté et des patrons intermédiaires entre rayé et tacheté (rayures fragmentées).

3/ Le locus *Ticked* (*Ti*) comportant les allèles Ti^A (patron tiqueté ou *Abyssinian* ou *ticked*) codominant avec Ti^+ (patron non tiqueté autorisant l'apparition des patrons déterminés au locus *Ta*). L'allèle Ti^A est épistatique sur le locus *Ta* et ses modificateurs.

Le Tableau 28 résume les phénotypes obtenus en fonction des génotypes au loci *Ti* et *Ta*.

Tableau 28 : Résumé des allèles impliqués dans le déterminisme des patrons tabby au locus *Ticked* (*Ti*) et *Tabby* (*Ta*) (Eizirik et al., 2010)

Locus <i>Ti</i>	Locus <i>Ta</i>	Phénotype
Ti^A/Ti^A	$_/_$	Patron tiqueté (<i>ticked</i>) : robe uniformément agouti
Ti^A/Ti^+	$_/_$	Pattes, tête et queue avec rayures, et parfois très discrètes rayures sur le corps sur fond agouti
Ti^+/Ti^+	$Ta^M/_$	Patron tigré (<i>mackerel</i>) : rayures verticales régulières sur fond agouti ^a
Ti^+/Ti^+	Ta^M/ta^b	Patron classique (<i>blotched</i>) : marquages circulaires et bandes larges sur fond agouti

^a Un ou plusieurs gène(s) modificateur(s) transforme les rayures du patron tigré (*mackerel*) en taches du patron tacheté (*spotted*), précédemment attribué à un allèle T^s dans le modèle de locus unique supposé avant cette étude.

Localisation des loci *Ta* et *Ti* (Eizirik et al., 2010)

Après avoir prouvé l'existence de deux loci déterminant les patrons tabby, l'équipe d'Eizirik et al. (2010) a cherché à localiser ces loci.

Pour le locus *Ta*, ils réalisèrent un criblage du génome avec 485 marqueurs microsatellites dans leurs pédigrées. Une association significative entre des marqueurs du chromosome B1 et le locus *Ta* a été détectée.

Pour le locus *Ti*, ils commencèrent par utiliser trois marqueurs liés à la région homologue de celle portant le locus responsable du bringé chez le chien, sur le chromosome B1 du chat car ils supposaient une relation entre le bringé du chien et tiqueté du chat. Ces microsatellites étaient liés au locus *Ti* mais il y avait quelques recombinaisons, ce qui permet d'affirmer que le locus *Ti* se trouve sur le chromosome B1 mais pas dans la région visée. L'ajout de marqueurs situés sur le chromosome B1 a permis de détecter une région où aucune recombinaison avec le locus *Ti* n'était observée.

Aucun gène jusqu'ici identifié pour influencer la pigmentation ne se trouvait dans les régions homologues humaines des régions porteuses des loci *Ta* et *Ti*. A ce jour, seul le gène siégeant au locus *Ta* a été identifié.

Gène *TAQPEP* (Kaelin et al., 2012)

Puisque la région identifiée par Eizirik et al. (2010) comme porteuse du locus *Ta* ne comportait pas de gènes candidats évidents, l'équipe de Kaelin et al. (2012) a entrepris d'affiner les recherches dans cette région d'environ 5 Mb jusqu'à identifier un haplotype commun de 244 kb partagé par les chats tabby classique (*blotched*). Cet intervalle candidat comprend la séquence codante de trois gènes *Comm10* (*COMM Domain Containing 10*), *LOC644100* (gène non caractérisé) et un gène appelé *Aminopeptidase Q*. Ils ont procédé au séquençage des régions codantes de ces trois gènes chez le chat. *Comm10* et *LOC644100* n'avaient pas d'altération de séquence. Par contre, le séquençage d'*Aminopeptidase Q* a révélé :

- une mutation non-sens W841X dans l'exon 17, présente chez la majorité des chats à patron classique,
- une mutation non-sens S59X,

- une mutation faux-sens D228N.

Ce gène est exprimé dans la peau en développement des embryons de félins. Le gène a été renommé *Transmembrane Aminopeptidase Q (TAQPEP)* et le produit qu'il code a été appelé tabuline par l'équipe. La tabuline est une protéine transmembranaire de type II de la famille des aminopeptidases M1. Cette famille est caractérisée par la présence d'une exopeptidase GAMEN et d'un site de liaison au zinc au motif HEXXH₁₈E dans le domaine extracellulaire.

Les mutations identifiées dans *TAQPEP* ont ensuite été recherchées dans un panel de chats sans pedigree. Les 58 individus à patron classique testés étaient homozygotes pour un allèle muté *ta^b W481X* ou *ta^b S59X*, ou hétérozygotes pour les deux allèles mutés *ta^b W481X / ta^b S59X*. A l'inverse, les 51 individus à patron tigré portaient seulement zéro ou un allèle muté. Le 3^{ème} allèle *ta^b D228N* était également associé au patron classique dans un autre panel. Dans le panel des chats sans pedigree, une autre mutation faux-sens a été détectée : T139N. Cet allèle était significativement associé à un patron atypique dit *swirled* (tourbillon).

Ils ont montré que les allèles W481X et S59X ont probablement un effet délétère sur la tabuline, entraînant sa perte de fonction. L'allèle T139N a un effet probablement plus modéré.

L'étude est ensuite étendue à un échantillon de 351 chats de 24 races différentes et a donné les résultats suivants :

- L'allèle W481X était présent dans la plupart des races originaires de l'Ouest et rare dans les races originaires de l'Est.
- Certaines races présentaient cet allèle avec une haute fréquence malgré l'absence de patron classique, masqué par les relations épistatiques des autres loci. Par exemple, l'allèle W481X était présent à 100% chez l'Abyssin, 71% chez le Sacré de Birmanie et 77% chez l'Himalayen (Persan *colourpoint*).
- L'allèle S59X (qui entraîne une probable altération complète de fonction de la tabuline) était plus commun chez le Norvégien.

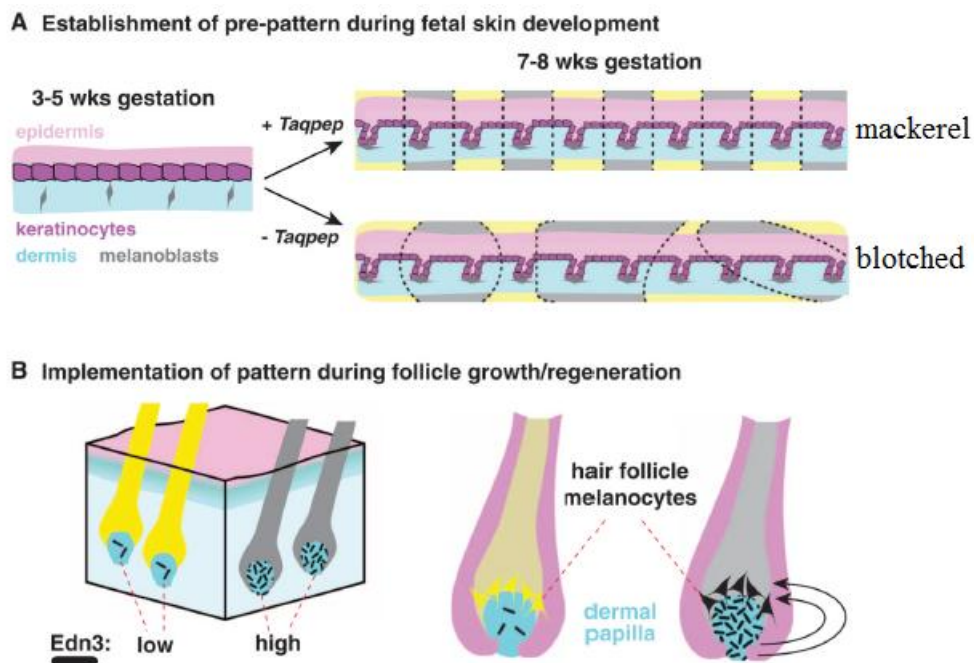
Mécanismes moléculaires

Afin de comprendre par quel mécanisme le gène *TAQPEP* agit sur le déterminisme du patron, l'équipe réalise des coupes histologiques de peau d'embryon de chat à différents stades. Ils ont également mesuré l'expression de 14 014 gènes dans la peau de zones noires et dans la peau de zones jaunes du guépard. Soixante-quatorze gènes étaient exprimés dont 60 exprimés à plus haut niveau dans la peau des zones noires que dans la peau des zones jaunes. Parmi ceux-ci, sept sont spécifiques des mélanocytes dont les gènes *TYR*, *SILV*, *DCT* (*dopachrome tautomérase*) et *TYRP1*, qui comme nous l'avons vu tout au long de cette thèse, sont essentiels à la production de pigments, notamment eumélaniques. Ils étaient trois à sept fois plus exprimés dans les zones noires que dans les zones jaunes. De plus, le gène *EDN3*, qui code l'endothéline 3, une hormone paracrine, exprimée surtout dans les cellules mésenchymateuses, était lui aussi fortement exprimé dans les zones noires. Cette hormone promeut la différenciation et la prolifération des mélanocytes et d'autres cellules dérivées des crêtes neurales. Cela en faisait un bon candidat pour la coordination de la variation spatiale de la coloration des poils. Ils ont montré que chez le chat, l'expression d'*EDN3* était deux fois plus importante dans les zones noires que dans les zones agouti. L'expression était restreinte à

la papille dermique, portion permanente du follicule pileux. Tout ceci est en faveur de l'augmentation de la mélanogénèse par un taux élevé d'EDN3 dans les zones noires des patrons tabby.

Enfin, ils ont montré que dans la peau des chats nouveau-nés, *TAQPEP* était exprimé à bas niveau, sans différence entre les zones noires et les zones agouti. Le plus probable est donc que *TAQPEP* agisse au moment du développement folliculaire ou avant, afin de préétablir le patron, qui sera mis en place et maintenu par la capacité des papilles dermiques des follicules pileux à exprimer à haut niveau *EDN3*. Ce haut niveau garantit un haut niveau d'expression des gènes *TYR*, *TYRP1*, *DCT* et *SILV*, favorisant l'eumélanogénèse et donc la production de pigments foncés. Cela explique que la protéine ASIP n'ait pas d'effet dans les zones foncées des patrons : son action est d'inhiber la voie activatrice d'eumélanogénèse des mélanocortines via MC1R. Or, dans ces zones, c'est la voie des endothélines qui active l'eumélanogénèse. ASIP n'a donc pas d'effet inhibiteur sur ces zones. La Figure 41 résume les mécanismes impliqués dans la mise en place et le maintien des patrons tabby tigré (*mackerel*) et classique (*blotched*).

Figure 41 : Résumé des mécanismes impliqués dans le déterminisme des patrons tabby (Kaelin *et al.*, 2012)



A : Etablissement d'un pré-patron durant le développement de la peau chez le fœtus. Le patron tigré ou classique est préétabli avant ou pendant le développement des follicules pileux. En l'absence de *TAQPEP*, les zones sombres sont étendues et moins régulières.

B : Expression du patron durant les phases de croissance et de régénération des follicules pileux. Les différentes zones du patron préétabli se manifestent par une expression différentielle d'*EDN3* dans la papille dermique. En l'absence d'autres contrôles, un haut niveau d'*EDN3* entraîne la production de pigments noirs, alors qu'un bas niveau entraîne la production de pigments jaunes.

Epidermis : épiderme. Wks : semaines. Keratinocyte : kératinocyte. Dermis : derme. Melanoblast : mélanoblaste. Hair follicle : follicule pileux. Melanocyte : mélanocyte. Dermal papilla : papille dermique. Low : faible. High : élevé.

Le locus *Ta* porte le gène *TAQPEP* qui établit un patron lors du développement, avant la mise en place des follicules pileux, prédéterminant les papilles dermiques qui seront capables de maintenir un haut niveau d'*EDN3*, et ainsi d'activer l'eumélanogénèse par la voie des endothélines.

L'allèle *Ti^A* du locus *Ti*, qui empêche l'expression des patrons tigré et classique, pourrait agir soit sur *TAQPEP* ou sur son produit, la tabuline, soit sur les papilles dermiques en réduisant la production d'*EDN3*, soit à toute autre étape de la voie des endothélines, entraînant une inhibition.

Le ou les modificateur(s) du patron tigré en patron tacheté sont plus susceptibles d'agir au moment de la mise en place du patron (tabuline), plutôt que lors de son expression (voie *EDN3*).

4. Gènes et mutations déterminant les marques blanches

Gène KIT - Loci S (white Spotting) et W (White)

Comme chez le chien, la couleur blanche du chat résulte de l'absence de pigments dans le poil. Jusqu'à très récemment, il était supposé l'existence de deux loci entraînant la couleur blanche (Abitbol, 2012) :

- Locus *W* régissant l'absence de pigmentation dans l'ensemble du pelage, avec deux allèles : *W* (*white*) (chats uniformément blancs) et *w* (allèle sauvage permettant la pigmentation).
- Locus *S* (*white Spotting*) régissant la présence d'une panachure blanche avec deux allèles : *S* (*spotted*), présence de panachure avec une étendue pouvant aller des doigts (chats gantés) à un blanc envahissant où seule la tête et la queue sont colorées (patron dit van) et *s* (absence de panachure).

Récemment, les mutations responsables de la robe blanche, de la panachure et, chez le Sacré de Birmanie, du gantage ont été identifiées et toutes se trouvent à un même locus appelé *W*.

Détails des allèles et phénotypes associés (David et al., 2014 ; Montague et al., 2014)

W (*white*) : robe entièrement blanche (blanc dominant), absence de mélanocytes folliculaires. La truffe et les coussinets sont roses, ce qui signifie que les mélanocytes épidermiques sont également absents. Les yeux sont bleus (absence de mélanocytes dans l'iris) ou or à vert (présence de mélanocytes) (Figure 42). Cette robe est associée à un risque accru de surdité congénitale neurosensorielle due à une potentielle absence de mélanocytes dans les oreilles internes (voir partie sur la surdité associée aux robes blanches).

w^s (*white spotting*) : présence de panachure blanche, le chat est dit particolore (LOOF). L'extension de cette panachure est très variable (Figure 43, Figure 44). On peut les classer en trois groupes : peu développée (face, pattes, ventre), développement moyen (40 à 60% de surface blanche) et très développée (jusqu'au patron van). D'après le Livre Officiel des Origines Félines (LOOF), les chats peuvent être gantés (panachure limitée à l'extrémité des pattes), bicolore (25 à 50% de blanc dans certaines races, tout chat panaché dans d'autres),

arlequin (50 à 80% de blanc) ou van (plus de 80%). D'autres appellations existent en fonction des races.

En l'absence de l'allèle W , les chats porteurs de w^s peuvent présenter toutes les extensions possibles de panachure. Cela suggère l'existence de loci modificateurs non connus à ce jour.

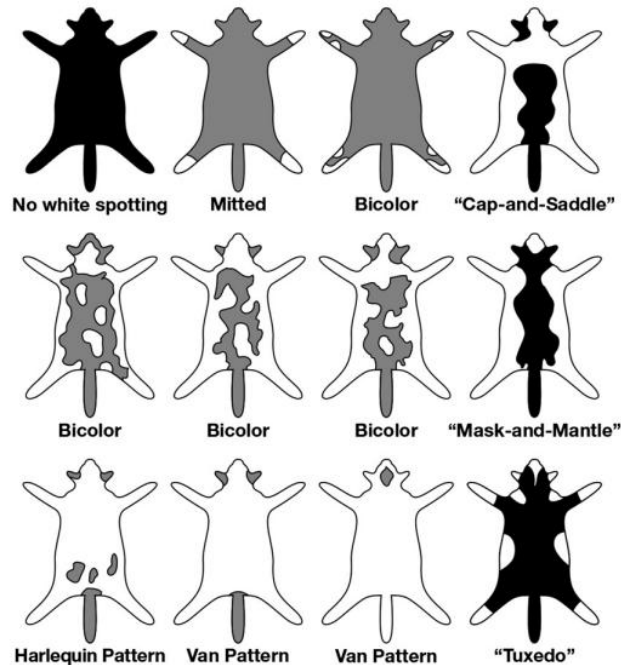
w^g (*white gloves*) récessif : présence de gants blancs. Allèle spécifique du Sacré de Birmanie.

w^+ ou w : allèle sauvage, permettant la pigmentation complète du pelage.

Figure 42 : Chat blanc porteur de l'allèle W aux yeux vairons (un oeil bleu, un oeil vert)



Figure 43 : Différents patrons de panachure allant du chat ganté (*mitted*) au chat van (David et al., 2014)



No white spotting = absence de panachure. *Mitted* = ganté. *Bicolor* = bicolore ou particolore. *Harlequin Pattern* = patron arlequin. *Van Pattern* = patron van. « *Cap-and-Saddle* » : littéralement, « toque et selle », nom anglais utilisé couramment. « *Mask-and-mantle* » : littéralement, « masque et manteau ». « *Tuxedo* » : littéralement, « smocking ».

Figure 44 : Différents exemples de panachure avec un chat ganté (a), un chat bicolore (b) et un chat van (c) (Abitbol, 2012)



Gène *KIT* (David et al., 2014 ; Montague et al., 2014)

De nombreux gènes ont été impliqués dans la détermination de panachure, ou d'absence de pigmentation, notamment chez l'homme et chez la souris. Ces gènes codent des éléments nécessaires à la survie, la migration et la différenciation des mélanoblastes. David et al. (2014) ont réalisé une étude chez le chat avec une approche gène candidat qui leur a permis d'identifier le gène *KIT* (*V-Kit Hardy-Zuckerman 4 Feline Sarcoma Viral Oncogene Homolog*), situé sur le chromosome B1, comme significativement lié à l'allèle *W*. Montague et al. (2014) ont utilisé une approche différente, par séquençage complet du génome, pour identifier *KIT* comme impliqué dans le gantage du Sacré de Birmanie.

Allèles *W* et *w*^s – Insertions *LTR* et *FERV1* (David et al., 2014)

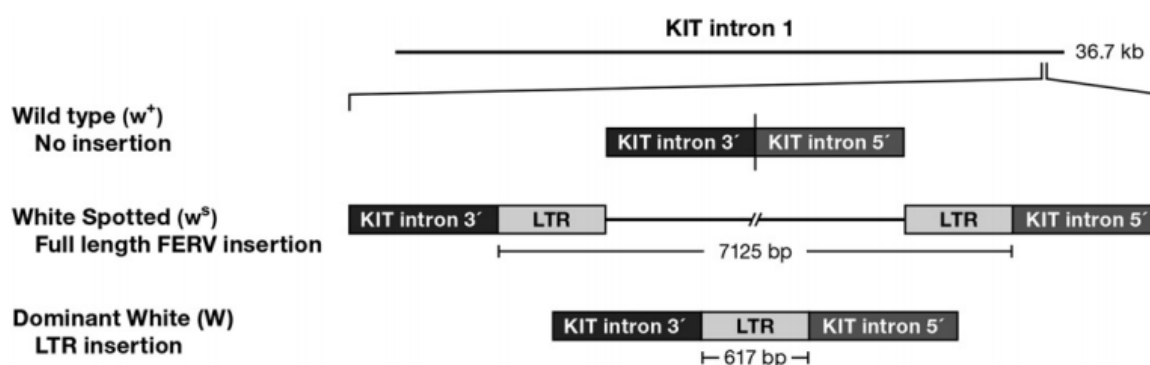
L'équipe de David et al. (2014) a par la suite séquencé les 21 exons qui constituent le gène *KIT* et les sites d'épissage, ce qui n'a révélé aucun polymorphisme distinguant les chats blancs des chats non blancs et sans panachure. Ils ont donc recherché des polymorphismes dans les régions connues pour réguler l'expression de *KIT*. Cela a permis d'identifier une insertion de 623 pb à l'extrémité 5' de l'intron 1 de *KIT* interrompant la région féline homologue d'une région murine comportant un site hypersensible à la DNase de la souris (*Kit DNase hypersensitive site 2 – HS2*), qui est requis chez la souris pour un haut niveau d'expression de *KIT* et qui est très conservé chez les Mammifères.

Cette insertion est très similaire à une portion de séquence d'un membre de la famille des rétrovirus félin endogène (*feline endogenous retrovirus 1 - FERV1*). Les rétrovirus endogènes sont des séquences ADN de virus qui se sont intégrées au génome de leur hôte lors d'une infection dans la lignée germinale. Ces séquences sont ainsi transmises de génération en génération, avec le reste du génome. L'insertion trouvée chez les chats blancs correspond à l'extrémité répétée de la séquence virale d'un membre des *FERV1* (*long terminal repeat – LTR*) (Figure 45).

Cette insertion était présente chez tous les chats blancs des pedigrees étudiés. A l'inverse, aucun des chats panachés ou sans blanc ne la portait. Elle était donc parfaitement associée à l'allèle *W*. De plus, le génotypage des chats pour l'insertion *LTR* a entraîné la détection de trois individus panachés qui ne portaient ni l'allèle *W* avec l'insertion *LTR*, ni l'allèle *w* sans insertion, mais un allèle non identifié, plus long. L'extrémité 5' de l'intron 1 a de nouveau été séquencée chez ces individus. Cela a permis d'identifier une autre insertion dans l'extrémité 5' de l'intron 1, à la même position que l'insertion *LTR*, mais plus longue. Cette insertion

correspond à la séquence complète d'un FERV1 et comprend les deux LTR de ce FERV1 (Figure 45). Cette insertion était présente chez tous les chats à panachure (*white spotting*) des pédigrées étudiés. Les individus porteurs d'un allèle avec l'insertion LTR et d'un allèle avec l'insertion FERV1 complète étaient blancs. Les individus porteurs de deux allèles sans insertion n'avaient pas de blanc dans leur robe. Ceci est cohérent avec un locus *W* comportant trois allèles : *W* (*white*) caractérisé par l'insertion LTR > *w^s* (*white spotting*) caractérisé par l'insertion FERV1 complète > *w* (allèle sauvage) (Figure 45).

Figure 45 : Schéma des insertions LTR de l'allèle *W* et FERV complète de l'allèle *w^s* par rapport à l'allèle sauvage *w⁺* (David *et al.*, 2014)



Wild type : type sauvage (sans panachure)

Ces allèles ont ensuite été recherchés dans une population de 270 chats de 30 races différentes pour vérifier leur ségrégation avec le phénotype. Les résultats sont détaillés dans le Tableau 29 :

- les 33 chats blancs portaient l'allèle *W* dont six à l'état homozygote,
- 93 des 94 chats panachés portaient l'allèle *w^s*,
- 140 des 143 chats non panachés étaient homozygotes *w/w*.

Tableau 29 : Résumé des génotypes au locus *W* dans un échantillon de 270 chats de 30 races différentes (David *et al.*, 2014)

	Genotype at the White Locus ^a				
	<i>W/W</i>	<i>W/w⁺</i>	<i>w^s/w^s</i>	<i>w^s/w⁺</i>	<i>w⁺/w⁺</i>
Coat color phenotype					
Dominant White	6	27	0	0	0
White Spotting	0	0	40	53	1
Fully pigmented	0	0	2	1	140
Total individuals	6	27	42	54	141

^a *W*, White allele; *w^s*, white spotting allele; *w⁺*, wild-type allele.

Coat color phenotype : phénotype de couleur. *Dominant White* : blanc dominant. *White spotting* : panachure blanche. *Fully pigmented* : sans panachure blanche.

Quatre chats sur 270 avaient un phénotype qui ne correspondait pas à celui attendu au vu de leur génotype. Parmi les trois chats sans panachure portant l'allèle *w^s*, deux étaient de la race Sphynx (chat nu). Il est possible qu'une panachure peu étendue ait pu ne pas être vue

dans cette race où l'absence de poils rend difficile l'évaluation du phénotype. Bien que l'association génotype/phénotype ne soit pas parfaite, elle est extrêmement forte.

Allèle w^g - Deux mutations ponctuelles

Montague et al. (2014) ont identifié par séquençage de génome entier les mutations responsables de l'allèle de gantage du Birman. Ils ont mis en évidence une mutation faux-sens constituée d'un changement de deux nucléotides (c.1035-1036delinsCA) dans l'exon 6 de KIT. Cette mutation provoque un changement d'une histidine en asparagine en position 346 dans la protéine.

Mécanisme moléculaire

Le gène *KIT* code le récepteur KIT à activité tyrosinase kinase pour le facteur de croissance des cellules souches (*mast/cell growth factor*). Quand le ligand de KIT se fixe sur son récepteur, la voie MAP-kinase est activée, notamment la kinase MEK qui phosphoryle les kinases Erk-1 et Erk-2. Ces deux kinases migrent ensuite dans le noyau où elle phosphorylent plusieurs facteurs de croissance dont MITF, ce qui augmente son activité. Comme nous l'avons vu dans la partie sur le locus *S* du chien, MITF est essentiel à la survie et à la migration des mélanoblastes, et à la différenciation en mélanocytes. Chez la souris, une mutation de *KIT* entraîne une altération sévère de la survie des mélanoblastes, bien que la migration et la différenciation des survivants ne soit pas altérée. Il est fort probable que les mutations observées au locus *W* du chat aient le même effet et que le nombre de mélanoblastes survivants soit insuffisant à leur expansion et différenciation en mélanocytes et donc à la coloration de l'ensemble du pelage.

Les insertions des allèles *W* et w^s interviennent en effet dans le domaine HS2 décrit chez la souris, qui est nécessaire à un haut niveau d'expression de *KIT*. Elles diminuent donc probablement cette expression. Etant donné la nature de ces insertions, il y a vraisemblablement d'abord eu une insertion de rétrovirus FERV complet à cette position (allèle w^s), puis des recombinaisons ayant entraîné la délétion d'une grande partie du FERV et conservé uniquement la LTR (allèle *W*). La raison pour laquelle l'insertion la plus courte entraîne l'effet le plus important est inexpliquée à ce jour.

Autres caractères phénotypiques influencés par le locus *W* : statut auditif et couleur de l'iris

L'équipe de David et al. (2014) a étudié l'association des génotypes avec la surdité et la couleur des yeux. Les résultats de l'étude sur la surdité sont détaillés dans la partie sur la surdité associée aux robes blanches. L'allèle *W* est significativement associé à la surdité. Les yeux bleus sont plus fréquemment observés chez les chats porteurs de l'allèle *W*, surtout chez les chats homozygotes *W/W*. Aucun des chats w/w n'avait les yeux bleus dans l'étude.

Le Tableau 30 montre le phénotype associé à chaque génotype. Les allèles du locus *W* ont une pénétrance complète pour la couleur du pelage. L'allèle *W* a une pénétrance incomplète pour la surdité et pour la couleur bleue des yeux.

Tableau 30 : Génotypes au locus *W* associés au phénotype (couleur du pelage, statut auditif et couleur des yeux) (David *et al.*, 2014)

Genotype Allele ^a : (Insertion element)	Phenotype/Observed Penetrance		
	Coat pigment	Deafness	Iris color
W/W: (LTR/LTR)	White (CP)	Deaf (IP)	Blue (IP)
W/w ⁺ : (LTR/no ins.)	White (CP)	Deaf (IP)	Blue, fully pigmented
W/w ^s : (LTR/FL)	White (CP)	Deaf (IP)	No data
w ^s /w ^s : (FL/FL)	White spotted (CP)	Normal (CP)	No data
w ^s /w ⁺ : (FL/no ins.)	White spotted (CP)	Normal (CP)	No data
w ⁺ /w ⁺ : (no ins./no ins.)	Fully pigmented	Normal	Fully pigmented

LTR : insertion LTR ; *FL* : insertion FERV complète (full lenght) ; *no ins* : absence d'insertion

CP : pénétrance complète ; *IP* : pénétrance incomplète

Couleur de l'iris « Fully pigmented » : de cuivre à noisette et vert. *Blue* : bleu.

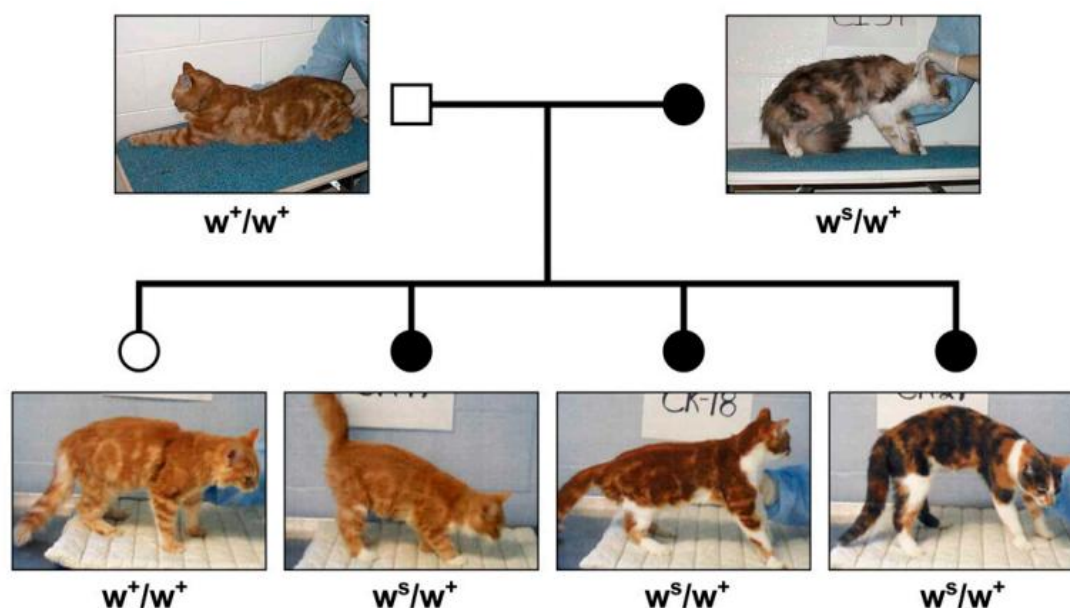
Il existe deux populations de mélanocytes ayant des sensibilités différentes à la voie de signalisation KIT. Les mélanocytes de la peau, qui migrent depuis la crête neurale de façon dorso-latérale, sont hautement sensibles. A l'inverse, les mélanocytes non cutanés (notamment de l'oreille interne et de l'iris), qui migrent depuis la crête neurale de façon dorso-ventrale, sont moins sensibles à KIT probablement à cause d'une densité moins importante de récepteurs KIT à leur surface. Cela peut expliquer que la pénétrance des allèles mutés du locus *W* soit complète concernant le pelage (mélanocytes cutanés) alors qu'elle est incomplète concernant la surdité et la couleur de l'iris (où se trouvent des mélanocytes non cutanés, moins sensibles à la voie KIT). Il est également possible qu'il existe d'autres gènes modificateurs.

Diversité des panachures (David *et al.*, 2014)

Comme nous l'avons vu, l'allèle *w^s* entraîne un phénotype panaché. Cependant, il est peu probable que cet allèle détermine à lui seul la diversité de l'extension et de la distribution de la panachure, allant du bout des pattes (chat ganté), à quasiment l'ensemble du corps (chat van). La famille présentée en Figure 46 montre la diversité de la panachure au sein d'une même portée, malgré un même génotype au locus *W* pour trois individus.

Ces observations sont en faveur de l'existence d'autres loci (non identifiés à ce jour) modulant l'aspect de la panachure.

Figure 46 : Famille de chats montrant la diversité des panachures au sein même d'une portée, pour un même génotype (David *et al.*, 2014)



Les ronds désignent les femelles, les carrés les mâles. Les symboles des individus avec une panachure blanche sont coloriés en noir.

Le Tableau 31 résume les mécanismes moléculaires impliqués dans le locus W du chat.

Tableau 31 : Résumé des mécanismes moléculaires impliqués dans le locus W du chat

Locus W				
Gène	KIT			
Protéine codée	Récepteur KIT à activité tyrosinase kinase			
Rôle	Activation de la voie MAP-kinases			
Allèles	W	w ^s	w ^g	w ⁺
Phénotypes	Robe blanche (blanc dominant)	Robe panachée de blanc (panachure plus ou moins envahissante)	Gantage du Sacré de Birmanie	Absence de blanc dans la robe (ou traces minimales comme un médaillon par exemple)
Mutations responsables	Insertion d'un LTR (long terminal repeat) d'un rétrovirus endogène FERV1	Insertion d'un rétrovirus endogène FERV1	c. 1035-1036delinsCA	
Action	Altération sévère de la régulation du récepteur KIT	Altération partielle de la régulation du récepteur KIT	Altération légère de la fonction du récepteur KIT	Augmentation de l'activité de MITF par la voie MAP-kinase – Survie des mélanoblastes embryonnaires

5. Résumé des gènes impliqués dans la couleur du chat

Les différentes robes existant chez le chat domestique, ainsi que le génotype qui peut être associé à chacune est disponible sur le site du LOOF à l'adresse suivante :

http://www.loof.asso.fr/download/11_liste_robes_20150101.pdf.

Bien que les loci *O* (*Orange* produisant la couleur rousse), *Dm* (*Dilute modifier*, recolorant les couleurs diluées), *I* (*Inhibitory* : blanchiment de la phéomélanine) et *Wb* (*Wide band* ; élargissant la bande de phéomélanine des poils agouti) restent à caractériser à l'échelle moléculaire, ainsi que plusieurs loci modificateurs comme celui ou ceux de la panachure, celui ou ceux modifiant les rayures du patron tigré en taches pour former le patron tacheté, les bases de la coloration du pelage sont maintenant bien connues chez le chat.

Notons cependant que de nombreux autres patrons et couleurs restent encore inexpliqués chez le chat. Les rosettes du chat Bengal, issu d'une hybridation entre le chat domestique (*Felis catus*) et le chat léopard du Bengal (*Prionailurus bengalensis*), ne peuvent pas être expliquées par les locus *Tabby* et *Ticked*. Toujours chez le Bengal, la modification *glitter*, qui rend le poil très brillant, reste mystérieuse. De même, la modification *rufus*, qui intensifie les tons phéomélaniques, n'est pas caractérisée (Abitbol, 2012).

6. Robe blanche et surdité congénitale héréditaire (Strain, 1999)

La surdité congénitale neurosensorielle est la première cause de surdité chez le chien et le chat. Chez le chien, plus de 80 races sont concernées par la présence d'une telle surdité (Annexe 4). Quasiment toutes ces races présentent des robes avec des zones blanches, sans pigmentation, hormis le Dobermann et le Puli ; c'est pourquoi certains auteurs comme Strain (2003, 2009) ont étudié l'association entre la présence de blanc dans la robe et le risque de surdité. Les locus *M* (*Merle*) et *S* (*white Spotting*), qui ont chacun des allèles promoteurs de dépigmentation (*M* dominant pour le locus *M* et les allèles récessifs s^i , s^p et s^w pour le locus *S*), sont donc particulièrement concernés par une éventuelle association entre leurs allèles et la surdité congénitale.

Chez le chat, les races porteuses de l'allèle *W* du locus *W* (*White*) (Tableau 32), présentent également des taux de surdité congénitale importants.

Tableau 32 : Liste des races de chats à robe blanche, porteuses de l'allèle *W*, prédisposées à la surdité congénitale (Strain, 1999)

White	White Scottish Fold
European White	White Turkish Angora
Foreign White	White American Wirehair
White Cornish Rex	White American Shorthair
White Devon Rex	White British Shorthair
White Manx	White Exotic Shorthair
White Persian	White Oriental Shorthair

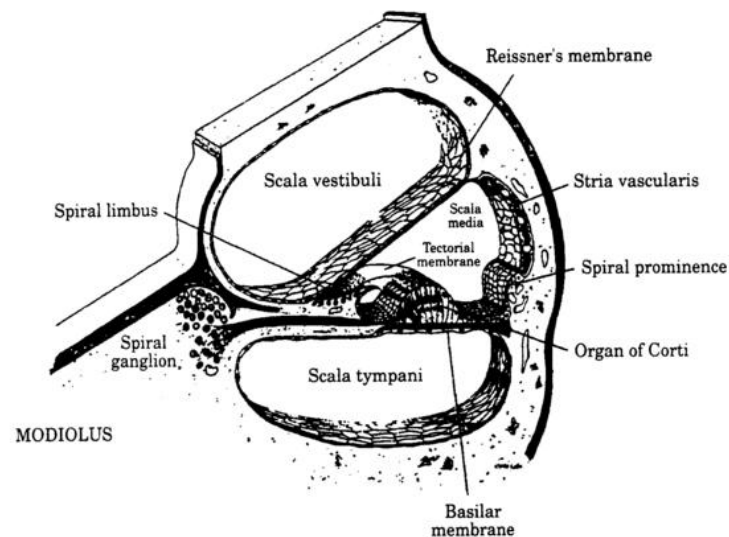
White : blanc. *Foreign White* : Oriental blanc. *European* : européen.

La surdité des races blanches est due à une disparition des mélanocytes non seulement dans le pelage mais aussi dans la *stria vascularis* de l'oreille interne, où les mélanocytes sont

nécessaires à la transduction de l'onde sonore mécanique en une impulsion électrique stimulant les neurones. En effet, le son, amplifié par le système auditif de l'oreille externe et moyenne, produit la vibration du fluide de la cochlée dans l'oreille interne. Cette vibration est ressentie par les cellules ciliées de l'organe de Corti, dans le canal cochléaire de l'oreille interne. Les mélanocytes de la *stria vascularis* participent à la sécrétion du fluide endocochléaire dans le canal cochléaire, et au maintien d'une haute concentration en ions potassium nécessaire à la transduction du signal mécanique en signal électrique stimulant les neurones, par les cellules ciliées (Figure 47).

L'absence de mélanocytes dans l'oreille interne se traduit par une dégénérescence post-natale précoce de la *stria vascularis*, entraînant une dégénérescence secondaire des cellules ciliées et des neurones de l'oreille interne. Le signal n'est pas transduit et donc non intégré par le cerveau, ce qui aboutit à une surdité uni ou bilatérale selon que l'une ou les deux oreilles manquent de mélanocytes. Dans cette logique, plus le blanc est étendu dans la robe, plus le risque que les mélanocytes, absents des follicules pileux, le soient aussi dans les oreilles internes est élevé. La perte d'audition est permanente car les Mammifères sont incapables de régénérer le tissu neural de la cochlée.

Figure 47 : Schéma de coupe transversale de la cochlée (Strain, 1999)



Basilar membrane : membrane basilaire ; *Organ of Corti* : organe de Corti ; *Spiral prominence* : proéminence de la spirale ; *Reissner's membrane* : membrane de Reissner ; *Tectorial membrane* : membrane tectoriale ; *Spiral limbus* : limbe de la spirale ; *Scala vestibuli* : canal vestibulaire ; *Scala tympani* : canal tympanique ; *Scala media* : canal cochléaire

L'organe de Corti repose sur la membrane basilaire de la scala media, et ces cellules ciliées, noyées dans le fluide endocochléaire, ressentent les vibrations du fluide causées par l'onde sonore. La stria vascularis, sur les marges de la scala media, sécrète le fluide endocochléaire de la scala media et maintient une haute concentration en ions potassium, essentiels à la transduction du signal sonore par les cellules ciliées. La surdité congénitale neurosensorielle résulte d'une perte primaire ou secondaire des cellules ciliées de la cochlée. Dans le cas des animaux blancs, cette perte est secondaire à l'absence de mélanocytes dans la stria vascularis.

6.1. Association entre les allèles récessifs du locus S et la surdité chez le chien

Strain (2003) a étudié quatre races porteuses d'un ou plusieurs allèles récessifs du locus S : le Dalmatien (s^w/s^w), le Setter Anglais (s^p et possiblement s^w), le Cocker Anglais (s^p et s^w), le Bull Terrier (s^w et s^j) ; et quatre autres races porteuses de blanc ou de merle : le Jack Russel (avec blanc), le Berger Australien (avec blanc et merle), le Whippet (avec blanc) et le chien léopard Catahoula (avec merle). En testant le potentiel évoqué auditif de 11 300 chiens, il les a classés en non sourds (B : *bilateral hearing*), sourds unilatéraux (U) et sourds bilatéraux (D : *deafness*). Il a relevé la couleur de la robe de ces chiens, ainsi que leur sexe. Notons que le nombre de chiens des races Whippet, Catahoula et Jack Russel était insuffisant pour effectuer une analyse statistique. Les résultats sont présentés dans le Tableau 33.

Tableau 33 : Prévalence de surdité dans huit races chez 11 300 chiens (Strain, 2003)

Breed	N	Bilaterally hearing	Unilaterally deaf (U)	Bilaterally deaf (D)	Total deaf [U + D]	Ratio [U/(U + D)]
Dalmatian	5333	70.1%	21.9%	8.0%	29.9%	0.733
English setter ^a	3656	92.1%	6.5%	1.4%	7.9%	0.819
GMS	662	87.6%	10.3%	2.1%	12.4%	
ESAA	2994	93.1%	5.6%	1.3%	6.9%	
English cocker spaniel	1136 ^b	93.1%	5.9%	1.1%	6.9%	0.848
Parti coloured	1067	93.0%	5.9%	1.1%	7.0%	
Solid	60	98.3%	1.7%	0.0%	1.7%	
Bull terrier	665 ^b	89.0%	9.9%	1.1%	11.0%	0.904
White	346	80.1%	18.0%	2.0%	19.9%	
Coloured	311	98.7%	1.3%	0.0%	1.3%	
Australian cattle dog	296	85.5%	12.2%	2.4%	14.5%	0.837
Whippet ^c	80	98.8%	0.0%	1.3%	1.3%	–
Catahoula leopard dog ^c	78	37.2%	23.1%	39.7%	62.8%	–
Jack Russell terrier ^c	56	83.9%	7.1%	8.9%	16.1%	–

^a Données collectées par G.M.Strain (GMS), auteur de l'étude et par l'Association des Setters Anglais d'Amérique (ESAA)

^b La somme du nombre de chiens colorés et de chiens blancs n'égale pas le nombre de chiens total car la couleur de la robe n'était pas disponible pour une partie d'entre eux.

^c Nombres insuffisants d'animaux testés pour que les pourcentages soient fiables.

Breed : race. Dalmatian : Dalmatien. English setter : Setter Anglais. English cocker spaniel : Cocker Anglais. Australian cattle dog : Berger Australien. Catahoula leopard dog : chien léopard Catahoula. Parti coloured : panaché. Solid : uni. White : blanc. Coloured : coloré. Bilaterally hearing : pas de surdité. Unilaterally deaf (U) : surdité unilatérale. Bilaterally deaf (D) : surdité bilatérale. Total deaf : total des deux types de surdité (uni et bilatérale).

Strain a mis en évidence qu'il existait une association significative entre la présence de blanc dans le pelage et le risque de surdité congénitale chez les races étudiées : les chiens à marquages blancs étaient plus souvent sourds (unilatéraux ou bilatéraux) que les chiens colorés. L'étendue du blanc était aussi un facteur de risque pour la surdité congénitale puisque les Dalmatien avec des patchs colorés, en plus des traditionnelles taches, étaient moins fréquemment atteints de surdité que les chiens seulement tachés (Tableau 34). Il y avait aussi une association significative entre la couleur des yeux et la surdité congénitale : les chiens aux yeux bleus étaient plus sujets à la surdité congénitale chez le Dalmatien, le Setter Anglais, le

Cocker Anglais et le Bull Terrier. L'absence de mélanocytes fonctionnels dans les yeux est associée à l'absence de mélanocytes dans les oreilles internes, probablement car ce sont les mécanismes de migration des mélanoblastes qui sont à l'origine de ces absences. Cela est cohérent avec les mutations du locus S, qui comme nous l'avons vu, affectent la migration des mélanoblastes.

A l'inverse, il n'y avait pas d'association significative entre le sexe et la surdité congénitale, ni entre les variations de la couleur des zones colorées du pelage et la surdité congénitale.

Il est important de noter la proportion élevée de surdité unilatérale parmi les chiens sourds (Tableau 33) : 73,3% des Dalmatien, 81,9% des Setter Anglais, 84,8% des Cocker Anglais, 90,4% des Bull Terrier. Cela est très problématique puisqu'aujourd'hui, les éleveurs tentent d'éliminer la surdité congénitale en retirant de la reproduction les chiens sourds. Or, les chiens qui n'ont une surdité que unilatérale ne sont pas forcément détectés, alors qu'ils représentent la majorité des chiens atteints de surdité. Cela souligne l'importance de faire tester l'audition des chiens mis à la reproduction.

Tableau 34 : Comparaison des prévalences de surdité dans cinq races de chiens en fonction des couleurs de robe (Strain, 2003)

Breed	Pigment comparison	Hearing comparison ^a	N	p
Dalmatian	black/liver spots	B/U/D	5256 (4332/924)	0.890
	patch absent/present*	B/U/D	5283 (4814/469)	<0.0001
English setter	blue/orange/tricolour roan	B/U/D	3650 (958/2395/297)	0.853
English cocker spaniel	parti roan/parti white and colour/solid *	B/U/D	1127 (888/179/60)	0.472 ^b
	parti/solid *	B/U/D	1127 (1067/60)	0.266 ^b
	parti/solid *	B/D	1127 (1067/60)	0.107 ^b
	parti roan/parti white and colour	B/U/D	1067 (888/179)	0.655
Bull terrier	white/coloured*	B/U/D	657 (311/346)	<0.0001 ^b
	white/coloured*	B/D	657 (311/346)	<0.0001
Australian cattle dog	blue/blue and tan/blue, black and tan/red*	B/U/D	293 (71/18/124/80)	0.176 ^b

^a B : non sourd ; U : sourd unilatéral ; D : sourd bilatéral. Pour les comparaisons B/D, D désigne l'ensemble des chiens sourds, de façon unilatérale ou bilatérale.

^b Nombres d'animaux insuffisants pour que l'association soit significative de façon certaine.

Breed : race. Dalmatian : Dalmatien. English setter : Setter Anglais. English cocker spaniel : Cocker Anglais. Australian cattle dog : Berger Australien. Catahoula leopard dog : chien léopard Catahoula. Pigment comparison : robes comparées. Black : noir. Liver : foie. Blue : bleu. Tricolour : tricolore. Roan : rouan. Parti : panaché. White : blanc. Coloured : coloré. Solid : uni. And tan : et feu.

6.2. Association entre l'allèle *M* du locus *M* du chien et la surdité

Strain *et al.* (2009) ont étudié l'association de l'allèle *M* avec le risque de surdité. Une étude précédente sur des Teckel d'un chenil de laboratoire allemand annonçait un taux de surdité de 54,6% pour les chiens *M/M* et de 36,8% pour les chiens *M/m*. Ces taux semblaient anormalement élevés par rapport aux observations des éleveurs de races porteuses de robe merle. Cette étude se limitait à une population peu représentative de l'ensemble des chiens et prenait en compte la surdité partielle, pouvant être due à un ensemble de facteurs tels que la mauvaise hygiène du conduit auditif, les otites, l'exposition à un niveau sonore élevé. Ces facteurs ont probablement une importance marquée en chenil. La surdité d'origine uniquement héréditaire peut être unilatérale ou bilatérale mais ne peut pas être partielle pour une oreille donnée. L'étude des Teckel allemands surestimait donc probablement largement la prévalence de la surdité héréditaire chez les chiens merles.

Une autre étude (Platt *et al.*, 2006), réalisée sur un échantillon beaucoup plus large de chiens, au Royaume-Uni, de race Border Collie, annonçait un taux de surdité unilatérale de 2,8% et bilatérale de 0,5% sur 2303 chiots, avec une absence de différence significative entre les chiens merles et les chiens non merles. Malheureusement, cette étude ne prenait pas en compte le génotype des chiens et donc ne comparait pas les chiens *M/M* au chien *M/m*.

Strain *et al.* (2009) ont testé les capacités auditives de 153 chiens merles ou double-merles de 10 races différentes, ce qui a permis de classer les chiens en trois classes : absence de surdité, surdité unilatérale et surdité bilatérale (résultats dans Tableau 35). Sur les 153 chiens testés, 4,6% étaient unilatéralement sourds et 4,6% étaient bilatéralement sourds, donc un total de 9,2% était affecté. Les chiens hétérozygotes merle *M/m* présentaient des taux de surdité significativement plus bas (2,7% unilatéral et 0,9% bilatéral) que les chiens double-merles *M/M* (10% unilatéral et 15% bilatéral).

Tableau 35 : Prévalence de la surdité chez les chiens merles, *M/M* et *M/m* (Strain *et al.*, 2009)

Breed	N	Hearing								
		All Merle Dogs			+/Merle			Merle/Merle		
		B	U	D	B	U	D	B	U	D
Catahoula	54	51	1	2	25	0	0	26	1	2
Australian Shepherd	32	29	1	2	26	1	0	3	0	2
Chihuahua	18	18	0	0	18	0	0	—	—	—
Collie	15	13	2	0	12	0	0	1	2	0
Shetland Sheepdog	9	7	1	1	7	1	0	0	0	1
Cardigan Welsh Corgi	8	7	1	0	7	0	0	0	1	0
Great Dane	6	4	1	1	4	1	0	0	0	1
Border Collie	5	5	0	0	5	0	0	—	—	—
Dachshund	4	4	0	0	4	0	0	—	—	—
Cocker Spaniel	1	0	0	1	0	0	1	—	—	—
Mix	1	1	0	0	1	0	0	—	—	—
	153	139	7	7	109	3	1	30	4	6
		(90.8%)	(4.6%)	(4.6%)	(96.5%)	(2.7%)	(0.9%)	(75.0%)	(10.0%)	(15.0%)

B : non sourd (bilateral hearing) ; U : surdité unilatérale ; D : surdité bilatérale

Australian Shepherd : Berger Australien. Collie : Colley. Shetland Sheepdog : Berger des Shetland.
Great Dane : Dogue Allemand. Dachshund : Teckel. All Merle Dogs : tous les chiens merles.
Hearing : statut auditif.

Le nombre de chiens au sein d'une race donnée ne permettait pas de comparer de façon significative les deux groupes sains et atteints au sein de chaque race mais pour les deux races les plus représentées (Catahoula et Berger Australien), il semblait y avoir une différence interrassiale puisque seulement 5,9% des Catahoula étaient affectés, contre 9,4% des Bergers Australiens Ceci n'est pas surprenant puisque les Catahoula double-merles ont une robe beaucoup plus colorée que les individus double-merles d'autres races. Les races proches du Colley (Colley, Border Collie et Berger des Shetland) semblent en général plus affectées que les autres races. Notons que chez ces races la robe merle est associée à une panachure blanche, contrairement à ce qui se passe chez le Catahoula (pas de panachure).

Les prévalences de surdité obtenues pour les chiens simple-merles (2,7% unilatérale et 0,9% bilatérale) sont cohérentes avec les prévalences obtenues pour l'ensemble des chiens simple et double-merles dans l'étude de Platt *et al.* (2006) : 2,3% unilatérale et 0,5% bilatérale. Une prévalence de l'ordre de 2 à 3% de surdité unilatérale ou bilatérale est donc à attendre chez les chiens merles. Chez les chiens double-merles, elle est bien plus élevée (total de 25% de surdité uni ou bilatérale dans l'étude de Strain *et al.*, 2009). C'est pourquoi il est conseillé aux éleveurs de ne pas marier deux chiens merles afin de ne pas obtenir d'individus double-merles potentiellement sourds. Notons qu'il est déconseillé de marier deux chiens merles pour une autre raison : les double-merles sont prédisposés aux anomalies oculaires (microphthalmie entre autres).

6.3. Association entre l'allèle *W* du locus *White* du chat et la surdité des chats blancs

Comme chez le chien, la surdité congénitale neuro-sensorielle est la première cause de surdité chez le chat. Les chats blancs sont particulièrement à risque concernant ce type de surdité. Le mécanisme est le même : l'absence de mélanocytes dans le *stria vascularis* de l'oreille interne entraîne la dégénérescence secondaire des cellules ciliées de l'organe de Corti, organe sensoriel de l'oreille interne.

Chez le chat, la surdité congénitale est liée à l'allèle *W* du locus *W* (*White*) qui, lorsqu'il est présent dans le génome du chat, entraîne une robe totalement blanche. L'allèle *w^S* (*white Spotting*) du locus *W*, qui entraîne une panachure blanche plus ou moins étendue n'a pas été décrit comme prédisposant à la surdité (Cvejic *et al.*, 2009).

Des études déterminant la prévalence de la surdité dans des chatteries expérimentales de chats blancs avaient déjà été publiées, annonçant des prévalences élevées : de 42,9 à 89,3%. Cependant, dans ces populations, la surdité était sélectionnée et la prévalence ne reflétait probablement pas celle observées chez les chats de race de propriétaires privés, chez qui elle est plutôt contre-sélectionnée. Cvejic *et al.* (2009) ont réalisé une étude chez des chats blancs de particuliers présentés pour un dépistage de la surdité de routine dans 10 races où la robe blanche apparaît. La capacité d'audition a été testée par l'évaluation des potentiels évoqués auditifs. Leurs résultats sont présentés dans le Tableau 36. Vingt pour cent des chats étaient sourds de manière unilatérale ou bilatérale (17/84). Les sourds bilatéraux représentaient 10,7% (9/84) alors que les sourds unilatéraux représentaient 9,5% (8/84). Comme chez le chien, il n'y avait pas d'association entre le sexe et la surdité.

Tableau 36 : Statut auditif de 84 chats blancs de race (Cvejic *et al.*, 2009)

Breed	Number of Cats	Normal Hearing	Unilateral Deafness	Bilateral Deafness
British Shorthair	31	26	4	1
Maine Coon	14	9	1	4
Turkish Angora	11	10	1	0
Persian	9	8	0	1
Foreign White	6	5	1	0
Norwegian Forest	6	2	1	3
Highlander	4	4	0	0
Balinese	1	1	0	0
Devon Rex	1	1	0	0
Oriental Shorthair	1	1	0	0

Breed : race. Number of cats : nombre de chats. Unilateral Deafness : surdité unilatérale. Bilateral deafness : surdité bilatérale. Turkish Angora : Angora Turc. Persian : Persan. Foreign White : Oriental Blanc. Norwegian Forest : Norvégien. Balinese : Balinais.

Les auteurs ont étudié l'association entre la couleur des yeux et le statut auditif chez ces chats blancs. Les études menées dans les chatteries expérimentales avaient démontré une association significative entre la couleur des yeux et la surdité ; les chats ayant les deux yeux bleus étaient plus à risque que les chats ayant un œil bleu et un œil non bleu, eux-mêmes plus à risque que les chats ayant les deux yeux non-bleus. L'étude de Cvejic *et al.* a confirmé en partie cette observation puisque la surdité a été trouvée chez :

- 44,4% des chats ayant les deux yeux bleus,
- 20% des chats ayant un œil bleu et un œil non bleu,
- 18,9% des chats ayant les deux yeux non bleus.

La différence est significative entre les chats ayant les deux yeux bleus et les chats n'ayant pas les deux yeux bleus.

La prévalence beaucoup moins élevée de surdité trouvée par Cvejic *et al.* chez les chats de particuliers (20,2% par rapport à 42,9 à 89,3% dans les cohortes expérimentales) peut être expliquée par plusieurs propositions. D'abord, les études précédentes concernaient des populations consanguines (pédigrées expérimentaux) où la surdité était sélectionnée afin d'être étudiée, alors qu'à l'inverse, les bonnes pratiques d'élevage recommandent de ne pas mettre à la reproduction les chats sourds, donc la surdité est contre-sélectionnée dans les élevages de chats de particuliers, ce qui peut réduire sa prévalence. D'autre part, les mariages entre chats blancs dans les cohortes expérimentales aboutissent à des individus de génotype W/W. Les génotypes des chats de l'étude de Cvejic *et al.* n'ont pas été déterminés mais il est probable que la proportion de chats homozygotes W/W ait été beaucoup moins élevée, les éleveurs évitant de marier deux chats blancs.

Malgré les mesures de contre-sélection de la surdité recommandées depuis plusieurs dizaines d'années dans les races de chats blancs, l'étude de Cvejic *et al.* montre que la prévalence de chats blancs de race sourds reste élevée (plus de 20%).

L'équipe de David *et al.* (2014), après avoir caractérisé les allèles W et w^s du locus W du chat a étudié la prévalence de surdité en fonction des génotypes dans deux pédigrées de chats blancs, panachés de blanc ou sans blanc. Les résultats sont détaillés dans le Tableau 37. Tous les chats sourds portaient au moins un allèle W . Les homozygotes W/W avaient tous une atteinte complète ou partielle (unilatérale) de l'audition alors que les hétérozygotes W/w^+ n'étaient pas tous atteints (58% entendaient normalement). Aucun des individus homozygotes w^+/w^+ n'était sourd. L'association entre la présence de l'allèle W et la surdité est significative. L'allèle W prédispose donc à la surdité. Pour l'allèle w^s , l'échantillon était trop petit pour tirer des conclusions certaines mais il ne semblait pas associé à la surdité puisque les trois individus homozygotes w^s/w^s entendaient normalement. Parmi les six individus hétérozygotes W/w^s , deux entendaient normalement, deux étaient sourds et deux avaient une atteinte partielle (unilatérale) de l'audition.

Tableau 37 : Statut auditif en fonction du génotype au locus W de 71 chats (David *et al.*, 2014)

Genotype at W^a	Phenotype ^a		
	Deaf	Partial Hearing	Normal Hearing
W/W	16	6	0
W/w^+	6	5	14
w^+/w^+	0	0	15
W/w^s	2	2	2
w^s/w^s	0	0	3

Deaf : sourd. Partial hearing : audition partielle. Normal hearing : audition normale.

Le génotype W/W étant fortement associé à une perte d'audition, les mariages de chats blancs sont donc à éviter.

Actuellement, des implants intra auriculaires sont développés chez le chat sourd, qui est un bon modèle de la surdité congénitale neurosensorielle de l'enfant. Les résultats sont prometteurs puisqu'un rétablissement partiel de l'audition a été observé chez les chats implantés (Cvejic *et al.*, 2009).

TROISIÈME PARTIE :

APPLICATION A L'ÉLEVAGE

1. Rappels sur les modes de transmission

Le mode de transmission est défini pour un allèle donné. Pour les couleurs, la transmission est dite mendélienne, c'est-à-dire qu'elle suit les lois de Mendel. Ces lois ont été découvertes par le botaniste Mendel en 1865. Elles concernent des caractères définis par un gène, où plusieurs versions du gène (allèles) existent et aboutissent à un changement phénotypique.

Chaque allèle peut être transmis sur un mode autosomique, si le gène est situé sur un chromosome autosome (cas de la grande majorité des loci de couleur du chien et du chat) ou sur la portion commune des chromosomes sexuels X et Y, ou le mode transmission peut être lié à l'X, si le gène est situé sur la portion propre au chromosome X (cas du locus *Orange* du chat, non évoqué dans ce manuscrit car non caractérisé à l'échelle moléculaire à ce jour).

Lorsque le mode de transmission est autosomique, deux versions du gène sont présentes dans le génome de l'individu, c'est-à-dire deux allèles, puisque les chromosomes sont présents en deux exemplaires. Si les deux allèles de l'individu sont différents, il peut y en avoir un qui masque l'expression phénotypique de l'autre : l'allèle qui s'exprime est appelé l'allèle dominant (nommé par une lettre majuscule de façon conventionnelle), l'allèle dont l'expression est masquée est appelé l'allèle récessif (noté par une lettre minuscule). Lorsqu'un individu porte deux allèles identiques, on dit qu'il est homozygote. Lorsqu'il porte deux allèles différents, on dit qu'il est hétérozygote.

1.1. *Mode autosomique dominant*

Un allèle transmis sur un mode autosomique dominant est un allèle qui, lorsqu'il est porté avec un allèle récessif, s'exprime et masque l'expression de l'allèle récessif. Si l'individu porte un allèle à transmission autosomique dominante, le caractère qu'il contrôle résultera de cet allèle. L'autre allèle porté par l'individu n'aura pas de conséquence sur le phénotype. Il suffit donc que le chien ou le chat soit hétérozygote (porte une copie de l'allèle dominant) pour qu'il exprime le caractère.

Par exemple, au locus *K* du chien, l'allèle K^B responsable du noir dominant, est dominant sur les allèles k^{Br} et k^y . Ainsi, tout individu porteur de K^B sera noir, quel que soit l'autre allèle porté au locus *K*.

Le portage d'un tel allèle concernant la couleur du pelage est donc évident puisqu'il se voit au niveau du phénotype.

1.2. *Mode autosomique récessif*

Un allèle transmis sur un mode autosomique récessif ne s'exprime que lorsque l'individu est homozygote pour cet allèle, c'est-à-dire qu'il porte deux allèles identiques. Si l'individu porte cet allèle avec un autre allèle, dominant, sa présence n'aura pas conséquence sur le phénotype.

C'est pour les allèles de ce type que les tests génétiques peuvent être utiles. En effet, puisqu'il n'y a pas de conséquence sur le phénotype en cas d'hétérozygotie avec un allèle dominant, il est impossible de savoir si l'individu est porteur de cet allèle hormis si l'un de ses parents est homozygote pour l'allèle récessif ou si un individu de sa descendance l'est. Lorsque le portage n'est pas avéré par un de ces cas, il est bien plus économique de réaliser un test afin de détecter l'allèle récessif lorsque ce test est disponible plutôt que de faire un mariage avec un individu à phénotype récessif (donc homozygote pour l'allèle récessif) dont le résultat ne sera probant que s'il y a des petits à phénotype récessif dans la portée. Dans le cas contraire, on ne prouve pas que l'allèle récessif n'est pas présent car il est probable que l'individu n'ait transmis que son allèle dominant à ses petits, bien qu'il soit également porteur de l'allèle récessif.

Un test génétique fournit une réponse rapide, sûre et bien plus économique que la réalisation de mariage(s) « test(s) ».

C'est le cas par exemple de l'allèle b responsable du brun du chien et du chat, qui est masqué par l'allèle B responsable du noir lorsque l'individu porte ces deux allèles. Un individu noir peut donc être porteur de b , sans que cela soit visible. Selon le désir de l'éleveur, il peut être intéressant de détecter cet allèle afin de pouvoir au choix obtenir plus d'individus bruns dans la descendance (par un mariage avec un individu brun homozygote pour l'allèle b), ou au contraire, n'avoir aucun individu brun dans la descendance (par un mariage avec un individu noir homozygote pour l'allèle B).

1.3. Mode autosomique semi-dominant

Un allèle transmis sur un mode autosomique semi-dominant ou co-dominant est un allèle dont l'expression est modifiée par le portage d'un autre allèle semi-dominant. Le phénotype qui résulte du portage de deux allèles semi-dominant est intermédiaire entre les phénotypes des individus homozygotes pour l'un ou l'autre de ces allèles.

C'est le cas par exemple du locus S du chien, où les quatre allèles sont semi-dominants les uns avec les autres. Ainsi, un chien de génotype S/S n'aura pas de panachure blanche, un chien de génotype s^w/s^w aura une panachure étendue, alors qu'un chien hétérozygote S/s^w sera de phénotype intermédiaire avec une panachure présente, mais moyennement étendue.

Dans ce cas, si le gène en question n'a que deux allèles, il est facile de déterminer le génotype de l'individu rien que par l'observation du phénotype (deux phénotypes extrêmes causés par l'homozygotie pour l'un ou l'autre des allèles et un phénotype intermédiaire causé par l'hétérozygotie). Cependant, lorsque plus de deux allèles existent pour un gène, comme au locus S du chien, la déduction du génotype par l'observation du phénotype est bien moins évidente. Par exemple, un individu de génotype S/s^w peut avoir le même phénotype qu'un individu de génotype s^p/s^p . Dans ce cas, il est également intéressant d'utiliser des tests génétiques afin de préciser le génotype de son animal et de pouvoir prévoir les allèles qu'il transmettra à sa descendance, pour obtenir un maximum de phénotypes voulus.

2. Tests disponibles

Il y a peu de temps, les tests génétiques étaient limités à la cytogénétique, qui consiste à étudier le nombre et la forme des chromosomes pour détecter des remaniements affectant des

fragments chromosomiques ou des chromosomes entiers. C'est elle qui, par exemple, permet de détecter une anomalie des chromosomes sexuels pouvant être à l'origine d'un problème de fertilité chez un chien ou un chat.

Depuis quelques années se développe la génétique moléculaire, qui consiste en l'analyse de la molécule d'ADN pour détecter des mutations de façon ciblée sur le génome [<http://www.inserm.fr/thematiques/genetique-genomique-et-bioinformatique/dossiers-d-information/les-tests-genetiques>]. Ce sont les tests de ce type qui permettent de différencier les allèles d'un gène de pigmentation connu, une fois que la ou les mutation(s) associée(s) à un allèle, de préférence causale de cet allèle, ont été découvertes.

Les tests disponibles pour le chien concernent les allèles :

- du locus *A* (*A^y* - fauve, *a^w* – gris- loup, *a^t* – marquages feux, *a* – noir récessif),
- du locus *E* (*E^M* – masque, *E^g* – domino et grizzle, *E* sauvage, *e* – fauve récessif et *E^h* – sable du Cocker équivalent au domino et grizzle),
- du locus *B* (*B* sauvage – noir, *b* – marron),
- du locus *D* (*D* sauvage, *d* – dilution),
- du locus *M* (*M* – merle, *m* sauvage),
- du locus *H* (*H* – arlequin, *h* sauvage),
- *K^B* – noir dominant du locus *K* et *s^p* – piebald du locus *S*.

Les tests disponibles pour le chat concernent les allèles :

- du locus *A* (*A* – agouti, *a* – non agouti, *A^{Pb}* – charcoal et *A²* du Bengal),
- du locus *B* (*B* – noir, *b* – brun, *b^l* – cannelle),
- du locus *D* (*D* sauvage, *d* – dilution),
- du locus *W* (*W* – blanc dominant, *w^s* – panachure, *w^g* – gants du Birman, *w* – sauvage),
- du locus *E* (*E* sauvage, *e* – ambre du Norvégien),
- du locus *C* (*C* sauvage, *c^s* – coulourpoint, *c^b* – sépia, *c* – albinos).

Ils sont présentés par laboratoire en Annexe 5 et Annexe 6 pour le chien, et Annexe 7 et Annexe 8 pour le chat. Le laboratoire, le type de prélèvement, le nom du test, le(s) allèle(s) testé(s), ainsi que le prix et les délais d'attente pour les résultats après réception de l'échantillon sont indiqués.

Certains tests ne sont disponibles que pour un nombre de races limité, parfois même pour une seule. Les races concernées pour chaque test sont en général indiquées sur les sites des laboratoires (adresses indiquées dans les tableaux en annexe).

3. Choix du laboratoire

3.1. Laboratoires français

Trois laboratoires français, Genindexe (www.genindexe.com), Genimal (www.genimal.com) et Antagene (www.antagene.com), proposent des tests génétiques pour la couleur du chien et du chat, détaillés dans les tableaux en annexe.

Leurs prix se situent entre 65 et 68€ pour le premier test chez le chien et entre 60 et 68€ pour un premier test chez le chat, avec souvent un tarif dégressif pour la réalisation d'autres tests.

Les délais d'obtention de résultats annoncés après réception du prélèvement sont de deux semaines chez Genindexe, 10 à 20 jours pour le chien et cinq à 15 jours chez le chat pour Antagene, et plus courts pour le laboratoire Genimal, qui est plus rapide sur certains tests.

3.2. Laboratoires étrangers

Des laboratoires étrangers offrent également des tests génétiques, souvent non disponibles en France. Nous avons choisi de présenter trois d'entre eux, qui offrent des tests supplémentaires par rapport aux laboratoires français.

Le laboratoire VGL (*Veterinary Genetics Laboratory*) de l'université de Californie (UC) Davis, aux Etats-Unis propose des packs en particulier un pack comportant tous les tests de couleur de chat (au nombre de six dans ce laboratoire). Leur délai de réponse annoncé est très rapide (six jours maximum). Ce laboratoire est également un des seuls à proposer la réalisation de tests à partir d'échantillons prélevés à l'aide d'outils facilement accessibles (cotons-tiges, brosses interdentaires). Par contre, il faut prendre en compte le temps d'envoi et le coût de l'envoi puisque ce laboratoire est aux Etats-Unis. Le site internet est exclusivement en anglais (<https://www.vgl.ucdavis.edu/services/index.php>).

Le laboratoire Laboklin, en Allemagne, est plus proche et très bien placé au niveau des tarifs. Les délais de réponse sont par contre un peu plus longs que chez VGL, mais du même ordre que ceux observés par les laboratoires français. Le site internet a une version en français (http://www.laboklin.de/pages/html/fr/genetique_animale/couleur.htm).

Le laboratoire Langford, au Royaume-Uni, propose un large choix pour les tests de couleur pour les chats. Ses tarifs sont intermédiaires, moins chers que les laboratoires français mais en moyenne plus cher que le laboratoire Laboklin. Leur délai de réponse annoncé est extrêmement court (trois jours). Le site internet est exclusivement en anglais (<http://www.langfordvets.co.uk/diagnostic-laboratories>).

3.3. Critères de choix

Le détail des tests disponibles, des tarifs et des délais de réponse est donné dans les tableaux récapitulatifs en annexes (Annexe 5, Annexe 6, Annexe 7, Annexe 8).

Pour choisir le laboratoire adapté, il faut donc tenir compte de l'allèle à tester (et choisir un laboratoire le proposant), du délai, du tarif et des modalités d'envoi (envoi standard pour les laboratoires français, envoi express plus chers pour les laboratoires internationaux) et du type de prélèvement requis.

Nous invitons le lecteur à consulter les sites internet des laboratoires avant de choisir car certains proposent des services intéressants : tests génétiques par race (Antagene, Genimal, Langford), feuilles de prélèvement en ligne (Genimal, Laboklin, UC Davis), envoi de kits de prélèvement (gratuits, tous sauf UC Davis).

4. Modalités de réalisation et usage

Il est important de noter que, pour que le résultat du test soit officiel et puisse être utilisé lors de la vente de l'animal ou pour justifier la couleur de chiots ou chatons auprès des Livres d'Origines par exemple, le prélèvement doit être réalisé par un vétérinaire qui contrôle l'identification de l'animal (puce ou tatouage), signe et appose son tampon sur la demande d'analyse. L'animal doit donc impérativement être identifié AVANT le prélèvement. Si le test est réalisé à usage purement informatif par le propriétaire de l'animal (pas de rendu de certificat ADN valide), il est possible que le propriétaire réalise lui même le prélèvement. Il convient dans tous les cas de se renseigner auprès du laboratoire choisi afin de vérifier si le prélèvement doit être authentifié ou non par un vétérinaire.

4.1. *Types de prélèvement*

Le prélèvement doit comporter des cellules de l'animal afin que l'ADN puisse être extrait.

Le 1^{er} type de prélèvement (le plus fréquemment utilisé) est l'écouvillon ou le frottis buccal. L'instrument utilisé pour le réaliser diffère selon les laboratoires : il s'agit le plus souvent d'un kit fourni gratuitement sur demande par le laboratoire et contenant une cytobrosse, c'est-à-dire une petite brosse au bout d'une longue tige permettant de prélever des cellules, ou bien d'un coton-tige spécial pour réaliser l'écouvillonnage. Certains laboratoires, comme VGL, acceptent des prélèvements réalisés avec des cotons-tiges normaux ou bien des brosses interdentaires, vendus en supermarché (Figure 48).

Le 2^{ème} type de prélèvement est le prélèvement sanguin. Il est réalisé par une prise de sang veineux par le vétérinaire. Selon les laboratoires, le sang doit être mis sur EDTA ou sur éthanol (détails dans les tableaux récapitulatifs en annexe).

Dans tous les cas, pour que le résultat du test soit officiel, le prélèvement doit être fait par un vétérinaire, qui certifie l'identification de l'animal.

Figure 48 : Instruments utilisables pour la réalisation d'un frottis buccal



Attention, la plupart des laboratoires n'acceptent que les prélèvements faits avec le kit de prélèvement qu'ils fournissent gratuitement sur demande. Cela est indiqué dans les tableaux récapitulatifs en annexe. Il est nécessaire de vérifier sur le site du laboratoire choisi avant de réaliser un prélèvement.

4.2. Réalisation d'un écouvillon ou d'un frottis buccal

Le prélèvement de cellules buccales est très peu invasif et non douloureux pour l'animal. Il peut être réalisé sur animal vigile.

Il est important que l'animal n'ait pas mangé au moins une heure avant le prélèvement afin d'éviter la contamination par des restes de nourriture.

Il est réalisable dès la naissance, mais puisqu'il faut séparer les petits de leur mère pendant plus d'une heure avant prélèvement pour éviter qu'ils ne tètent, il est préférable d'attendre que les petits aient plusieurs semaines. De plus, si un certificat ADN valide est souhaité, l'animal doit être identifié, ce qui ne peut pas être réalisé chez un trop jeune animal.

Avant le prélèvement, et à chaque changement d'animal, il est nécessaire de se laver les mains pour limiter les risques de contamination du prélèvement.

L'animal doit être fermement maintenu. La brosse ou le coton-tige est introduit entre la gencive et la joue de l'animal (Figure 49). La tige est ensuite tournée plusieurs fois et vigoureusement afin de détacher des cellules de la muqueuse, pendant plus de 20s. L'ensemble est ensuite retiré de la bouche de l'animal. Selon le type d'instrument utilisé, il est nécessaire de laisser sécher le prélèvement avant de le remettre dans son emballage ou dans un tube spécifique. Cela dépend du kit fourni par le laboratoire, qui fournira en même temps les recommandations spécifiques (exemple en Figure 50).

Attention : il faut éviter autant que possible les contaminations par la salive, et il ne faut pas toucher l'extrémité de l'outil qui prélève les cellules, afin de ne pas contaminer le prélèvement avec son propre ADN.

Figure 49 : Réalisation d'un écouvillon ou d'un frottis buccal (Site de VGL, UC Davis)



Figure 50 : Exemple de fiche explicative fournie avec le kit de prélèvement de Genindexe (Site de Genindexe)

Comment réaliser le prélèvement ?

Etape 1 :



Etape 2 :



Etape 3 :



- Inscrivez vos **coordonnées**, le **test que vous désirez** avec les **coordonnées de l'animal** et votre autorisation au transfert de données.
- Le vétérinaire inscrira ensuite ses coordonnées et **vérifiera les coordonnées de l'animal prélevé** (tatouage, numéro de puce,...)
- Introduire la brosse **entre la joue et la gencive** de l'animal.
- **Bien frotter** et **tourner la brosse contre la joue pendant 30 secondes environ**. Le but est de récupérer des cellules buccales qui contiennent l'ADN de l'animal (pas de prélèvement de salive).
- **Coupez** la cytotrosse à **1 cm** de la brosse et placez la dans le tube fourni et vérifiez qu'il y a **toujours de l'éthanol** dans le tube (sans éthanol, les cellules buccales ne se conserveront pas).
- **Refermez le tube** et placez le dans le sachet plastique.
- **Collez l'étiquette** adhésive correspondante (**SAMPLE 0000-000**) sur la fiche de prélèvement. Cette étiquette permet de faire le lien entre le tube et la fiche de prélèvement.

Lorsque tous les prélèvements sont réalisés, placez dans une enveloppe à bulle :

- Le **tube de prélèvement** dans le sachet plastique,
- Le **règlement** (chèque à l'ordre de GENINDEXE ou virement bancaire)
- La **feuille de prélèvement** remplie et signée

4.3. Identification du prélèvement et remplissage de la feuille de prélèvement

Le prélèvement doit impérativement être identifié selon les modalités décrites sur le site du laboratoire choisi. Il peut s'agir d'étiquette à apposer sur l'emballage fourni par le laboratoire, ou bien d'une simple identification écrite comportant le nom de l'animal sur l'emballage préconisé par le laboratoire. Par exemple, pour le laboratoire VGL, lorsqu'on choisit l'utilisation de brosses interdentaires, elles doivent être insérées dans une enveloppe avec le nom de l'animal ; lorsqu'on choisit les cotons-tiges, ils peuvent être collés sur la feuille de prélèvement (Figure 51).

La feuille de prélèvement doit être remplie de façon complète. Elle comporte les informations sur le propriétaire, le vétérinaire, l'animal avec son identification, le(s) test(s) demandé(s). Il est nécessaire que le vétérinaire signe cette feuille et appose le tampon de la clinique pour que le résultat soit officiel. Des exemples de feuilles de prélèvement sont présentés en Annexe 9 (Laboklin), Annexe 10 (Langford), Annexe 11 (Genindexe), Annexe 12 (Genimal) et Annexe 13 (Antagene).

Figure 51 : Feuille de prélèvement de VGL (Site de VGL)

VGL
Veterinary Genetics Laboratory

Barcode: CAT800021996

Owner
Name: Angela Silva
Address: One Shields Avenue
Davis, CA 95616
Phone: 530-752-3211
Email: asilva@ucdavis.edu

Cat being tested
Name: Gus
Registration:
Monohap:
Color:
Date of Birth: 04/01/2008 Sex: Male
Breed: XX - Crossbred (or no breed indicated)

Parent Information
SIRE
Name:
Registration:
VGL Case #:
DAM
Name:
Registration:
VGL Case #:

For VGL use
CAT K
\$ 40.00

Barcode: CAT800021996

Wave cotton swabs in the air for 30 seconds to air dry.

Do not wrap swabs in plastic wrap or seal in plastic bag.

4.4. Envoi du prélèvement accompagné de la fiche de prélèvement

L'envoi du prélèvement doit être fait le plus rapidement possible après qu'il ait été effectué. En effet, il existe un risque de dégradation des cellules qui pourrait altérer l'ADN et empêcher la réalisation de tests si le prélèvement tarde trop à être analysé. En cas d'impossibilité d'envoi immédiat, le prélèvement doit être conservé au réfrigérateur.

Lors d'envoi international, il est nécessaire de choisir un mode de livraison rapide. Lors d'envoi national, le courrier peut être envoyé comme un colis/lettre normal(e).

Il est également nécessaire de joindre le règlement des tests demandés avec l'ensemble.

4.5. Utilisation des résultats des tests, exemples

Le résultat du test ADN se présente sous la forme du génotype de l'animal pour le/les gènes testés. On dispose donc d'un résultat sans ambiguïté : l'animal est homozygote (pour un allèle), hétérozygote ou homozygote (pour l'autre allèle). Un exemple de résultat est présenté dans la Figure 52.

Figure 52 : Exemple de résultat de test ADN de couleur pour un chat Bengal

UNIVERSITY OF CALIFORNIA, DAVIS

BERKELEY • DAVIS • IRVINE • LOS ANGELES • MERCED • RIVERSIDE • SAN DIEGO • SAN FRANCISCO

VETERINARY GENETICS LABORATORY
SCHOOL OF VETERINARY MEDICINE
ONE SHIELDS AVENUE
DAVIS, CALIFORNIA 95616-8744

TELEPHONE: (530) 752-2211
FAX: (530) 752-3556

SANTA BARBARA • SANTA CRUZ

BENGAL COAT COLOR TEST RESULTS

		Case: CAT67800 Date Received: 04-Aug-2014 Print Date: 06-Aug-2014 Report ID: 8953-9131-1175-3084 Verify report at www.vgl.ucdavis.edu/myvgli/verify.html
Cat: DOB: 02/22/2012 Sex: Male Breed: Bengal Microchip:		
Sire: Dam:		
AGOUTI/CHARCOAL	A^{Pb}/A^{Pb}	2 copies of ALC Agouti gene are present. Offspring can be charcoal depending on the genetics of the mate.
ALBINO	N/N	No copies of albino allele are present.
AMBER	E/E	No copies of the mutation for Amber.
BROWN	B/B	Full color, cat does not carry brown or cinnamon.
COLORPOINT	C/c^s	Carrier of Siamese colorpoint restriction.
DILUTE	D/d	One copy of dilute allele. Cat is a carrier of dilute.

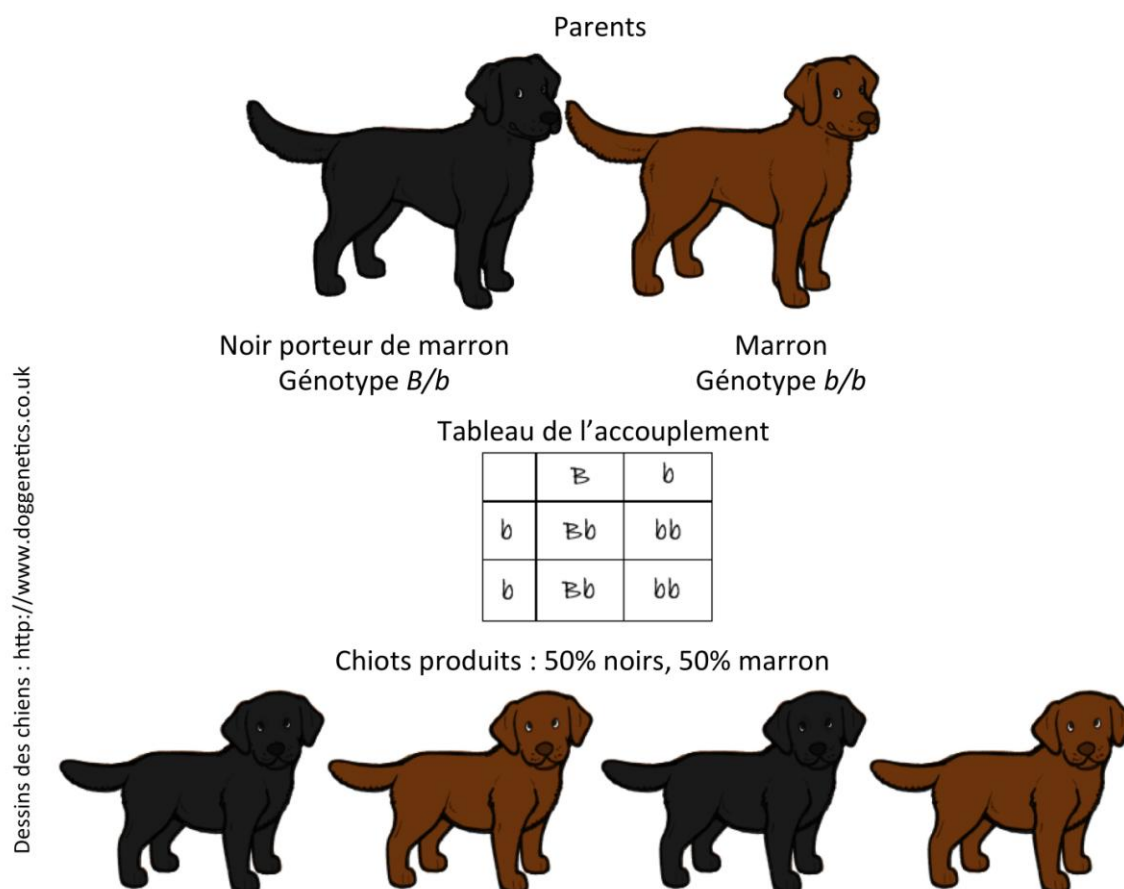
For more detailed information on Cat Coat Color results, please go to:
www.vgl.ucdavis.edu/services/coatcolorcat.php

Le test a été réalisé auprès de l'UC Davis (laboratoire VGL). Le chat est homozygote pour l'allèle A^{Pb} (allèle sauvage agouti du Bengal) au locus A. Il est non porteur d'albinisme (locus C, homozygote normal N/N). Il est homozygote pour l'allèle sauvage du locus E (E/E). Il est non porteur de chocolat ou de cannelle (homozygote B/B au locus B). Il est porteur de sépia au locus C (C/C^b) et porteur de dilution au locus D (D/d).

Connaître le génotype des reproducteurs pour les loci de coloration permet d'ajuster les accouplements afin d'obtenir les chiots ou chatons de la/des couleur(s) désirée(s).

Un exemple de prédiction pour un locus unique est présenté dans la Figure 53.

Figure 53 : Exemple de prédiction des couleurs des chiots lors du mariage d'un Labrador marron et d'un Labrador noir porteur de marron

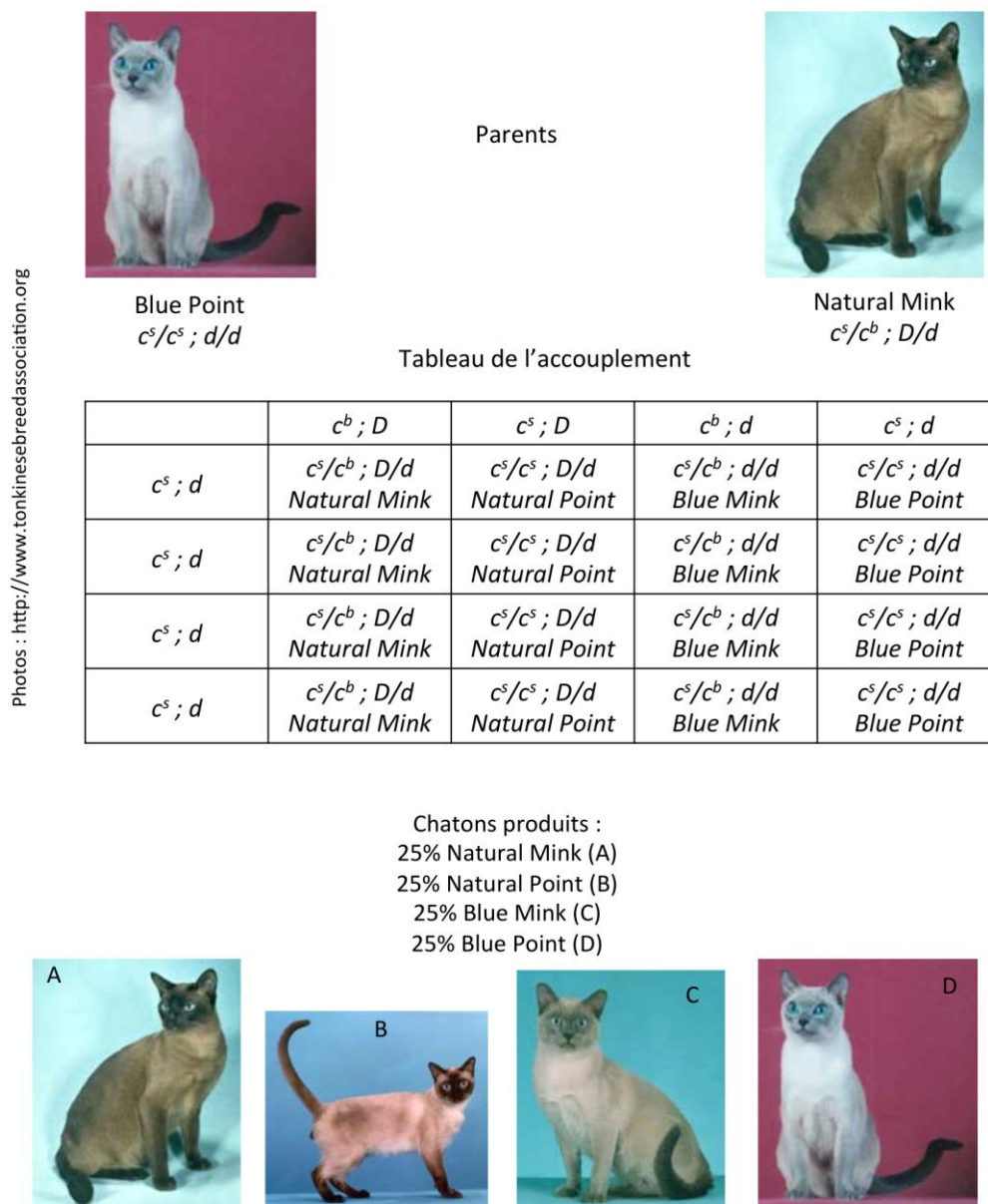


Dessins des chiens : <http://www.doggenetics.co.uk>

Le tableau de l'accouplement est réalisé en indiquant les allèles portés par les parents dans la première colonne et la première ligne. Les quatre cases au centre correspondent aux génotypes des chiots. Dans cet exemple, les parents sont également de génotype E/E au locus E qui permet la production d'eumélanine.

Un exemple de prédiction pour deux loci est présenté dans la Figure 54.

Figure 54 : Exemple de prédiction des couleurs des chatons lors du mariage d'un Tonkinois *blue point* et d'un Tonkinois *natural mink* porteur de dilution



Chez le Tonkinois, le terme *natural* désigne la couleur noire de l'eumélanine. *Blue* signifie bleu. Le tableau de l'accouplement est réalisé en indiquant les allèles portés par les parents dans la première colonne et la première ligne. Les huit cases au centre correspondent aux génotypes des chatons. Dans cet exemple, les parents sont également de génotype B/B au locus B qui permet la production d'eumélanine noire.

Au delà de deux loci, il devient complexe de réaliser le tableau des accouplements. Il est donc recommandé d'utiliser des logiciels de prédiction des résultats, disponibles par exemple sur les sites des Livres Officiels Canin et Félin (SCC, LOOF).

CONCLUSION

Durant les vingt dernières années, de grandes avancées concernant les mécanismes génétiques et moléculaires impliqués dans la couleur de robe des chiens et des chats ont été faites. Aujourd'hui, la plupart des loci présumés pour expliquer la diversité des robes ont été caractérisés sur le plan génétique et plusieurs mécanismes moléculaires sont connus. L'identification des mutations à l'origine de ces caractères, qui ont été sélectionnés par les éleveurs, permet de développer des tests génétiques. Ces tests sont particulièrement utiles pour détecter les porteurs de caractères récessifs, qui ne les expriment pas lorsqu'ils sont masqués par un allèle dominant.

A ce jour, des laboratoires de génétique animale proposent de nombreux tests permettant de déterminer le génotype de nos carnivores domestiques, tant pour la prédisposition aux maladies, que pour les caractères phénotypiques tels que la couleur de la robe. Les laboratoires français Genindexe, Antagene et Genimal proposent des tests pour la couleur du pelage. Ces tests sont réalisés à partir d'un échantillon prélevé par brossage buccal (indolore et non invasif). Les prix se situent aux alentours de 65€ par test. Des packs regroupant plusieurs tests à prix avantageux, ainsi que des réductions lors de la réalisation de plusieurs tests peuvent être proposés. En France, les laboratoires proposent des tests pour les loci *Agouti*, *Brown*, *Dilution*, *Extension*, *black* et *white Spotting* chez le chien ; et pour les loci *Agouti*, *Brown*, *Dilution*, *Extension*, *Colour* chez le chat.

Ces tests doivent être utilisés de manière raisonnée par les éleveurs, en prenant en compte la race et le phénotype de l'animal à tester. En effet, certaines races sont dites fixées pour un caractère et donc tous les individus de ces races sont homozygotes pour un allèle de ce caractère. Il est donc inutile de tester les animaux pour cet allèle. De la même façon, un animal présentant un caractère récessif est forcément homozygote pour l'allèle déterminant ce caractère. Le génotype peut donc être déduit et il est également inutile de tester cet animal pour ce caractère.

Pour un locus défini, les animaux à tester prioritairement sont les animaux présentant le caractère dominant, et ayant dans leur pedigree un animal présentant le caractère récessif, ou dont le pedigree n'est pas connu. En effet, ces animaux peuvent être porteurs du caractère récessif, masqué par le caractère dominant. Le mariage avec un autre animal porteur du caractère récessif pourra donc aboutir à la production d'une descendance dans laquelle le caractère récessif est exprimé. Selon le désir des éleveurs, la détection de ces individus permettra donc de révéler, ou au contraire, de supprimer ce caractère récessif. Par exemple, nous avons vu que l'allèle c^b responsable du phénotype sépia, où un contraste est présent entre les extrémités et le reste du corps du chat, était présent dans la race Korat. Or, ce phénotype n'est pas accepté par le standard de la race. Il est donc intéressant de tester les chats Korat susceptibles de porter cet allèle afin de ne pas les utiliser pour la reproduction ou de ne pas les accoupler à d'autres chats porteurs de c^b pour éviter la survenue de robe sépia indésirable dans la descendance.

Pour les caractères désirés, le test génétique peut aider les éleveurs à réaliser les bons croisements pour sélectionner ces caractères. A l'inverse, les caractères non désirés ou

associés à des maladies telles que la surdité associée aux robes blanches, peuvent être évités en détectant les individus porteurs par le test génétique et en effectuant les bons croisements.

Ce manuscrit a donc pour but de regrouper les informations disponibles sur les différentes robes des chats et des chiens, et de les mettre à la disposition des éleveurs afin de les aider à améliorer leurs programmes de sélection pour produire des individus présentant le phénotype désiré.

Pour conclure, nous soulignerons le fait que les tests génétiques de couleurs permettent de sélectionner les reproducteurs et d'ajuster les accouplements, mais qu'il convient d'être prudent dans leur utilisation : il serait préjudiciable, en particulier pour les races à petits effectifs, de retirer des programmes de reproduction des individus présentant le type et les aptitudes requises pour la race, mais portant un allèle de couleur non désiré. Une gestion globale des lignées et des races doit être effectuée, afin de ne pas écarter des individus par ailleurs améliorateurs pour une race, mais présentant un allèle de couleur non conforme. L'utilisation des tests génétiques doit donc être raisonnée et s'inscrire dans une démarche globale de conservation des qualités et du potentiel génétique de chaque race.

ANNEXES

Annexe 1 : Allèles *Agouti* présents dans 35 races étudiées par Dreger et Schmutz, 2011

Race	Allèles <i>Agouti</i>			
	A^Y	a^w	a^t	a
Eurasier	✓	✓	✓	✓
Border Collie		✓	✓	✓
Berger Allemand		✓	✓	✓
Teckel	✓	✓	✓	
Golden Retriever	✓	✓	✓	
Vizsla	✓	✓	✓	
Braque allemand à poils courts		✓	✓	
Chien d'arrêt allemand à poil dur		✓	✓	
Épagneul breton		✓	✓	
Akita	✓	✓		
Shar Pei	✓	✓		
Spitz loup		✓		
Malamute d'Alaska		✓		
Chien d'élan norvégien		✓		
Husky sibérien		✓		
Vallhund suédois		✓		
Schnauzer standard		✓		
Schnauzer nain		✓		
Berger des Shetland	✓		✓	✓
Colley	✓		✓	
Welsh Corgi Cardigan	✓		✓	
Welsh Corgi Pembroke	✓		✓	
Chien finnois de Laponie	✓		✓	
Jack Russel terrier	✓		✓	
Airedale terrier			✓	
Saluki	✓		✓	
Basset Hound	✓		✓	
Épagneul breton français	✓		✓	
Grand épagneul de Münster	✓		✓	
Retriever de la Baie de Chesapeake	✓			
Labrador retriever			✓	
Beagle			✓	
Springer anglais			✓	
Chien d'arrêt allemand à poil long			✓	
Braque de Weimar			✓	

Dreger et Schmutz (2011) ont déterminé les allèles d'*Agouti* présents dans chacune de ces 35 races au cours de leur étude ayant démontré la présence d'une insertion SINE en amont de l'exon 2 du gène *Agouti* qui pourrait empêcher la régulation « cycle pileux » dépendante de la production de phéomélanine (aboutissant au poils agoutis) puisque l'insertion est présente dans les deux allèles qui ne permettent pas la production de poils bandés (a^t et a), alors qu'elle est absente dans les deux allèles qui permettent la production de poils agoutis (A^Y et a^w). On note que les races nordiques, ancestrales, ne possèdent que l'allèle sauvage a^w . On note également que le locus *Agouti* ne pourrait expliquer à lui seul la couleur du pelage puisque par exemple, le Labrador et le Braque de Weimar, ne possèdent que des allèles a^t , responsable du noir-et-feu ou fauve à manteau noir.

Annexe 2 : Résumé des loci, gènes et allèles impliqués dans la couleur de la robe du chien (Kaelin et Barsh, 2012)

Locus	Gène	Allèle	Phénotype
<i>White Spotting - S</i>	<i>MITF</i>	<i>S</i>	Absence de panachure
		<i>s^l</i>	Panachure irlandaise
		<i>s^p</i>	Panachure - Particolore
		<i>s^w</i>	Panachure étendue
<i>Ticking – T</i>	?	<i>T</i>	Taches colorées dans les zones blanches
		<i>t</i>	Absence de taches dans les zones blanches
<i>Roan – R</i>	?	<i>R</i>	Mélange de poils blancs et colorés dans la panachure
		<i>r</i>	Absence de poil coloré dans la panachure
<i>Brown – B</i>	<i>TYRP1</i>	<i>B</i>	Eumélanine noire
		<i>b^s, b^d, b^c</i>	Eumélanine brune (chocolat, foie)
<i>Chinchilla – C</i>	<i>TYR</i>	<i>C</i>	Pas de dilution de la phéomélanine (fauve)
		<i>c</i>	Albinisme oculo-cutané (Pékinois)
<i>Dilute – D</i>	<i>MLPH</i>	<i>D</i>	Pigments non dilués
		<i>d</i>	Pigments dilués
<i>Progressive Greying – G</i>	?	<i>G</i>	Grisonnement progressif de l'eumélanine
		<i>g</i>	Pas de grisonnement progressif
<i>Merle – M</i>	<i>PMEL17</i>	<i>M</i>	Robe merle
		<i>m</i>	Robe non merle
<i>Harlequin – H</i>	<i>PSMB7</i>	<i>H</i>	Robe arlequin (si fond merle)
		<i>h</i>	Robe merle (si fond merle)
<i>Tweed – Tw</i>	?	<i>Tw^T</i>	Patchs colorés larges et réguliers (si fond merle)
		<i>tw⁺</i>	Patchs colorés petits et irréguliers (si fond merle)
<i>Agouti – A</i>	<i>ASIP</i>	<i>a^y</i>	Fauve sable à rouge
		<i>a^w</i>	Gris-loup
		<i>a^t</i>	Noir-et-feu
		<i>a</i>	Noir récessif
<i>Extension – E</i>	<i>MC1R</i>	<i>E^M</i>	Masque foncé
		<i>E^g</i>	Robes grizzle du Saluki et domino du Lévrier Afghan
		<i>E</i>	Allèle sauvage, Pas d'influence
		<i>e</i>	Fauve récessif
<i>black – K</i>	<i>CBD103</i>	<i>K^B</i>	Noir dominant
		<i>k^{Br}</i>	Bringé
		<i>k</i>	Allèle sauvage, Pas d'influence

Annexe 3 : Types de mutations impliquées dans la couleur du pelage du chien (Kaelin et Barsh, 2012)

Gène	Allèle	Type de mutation	Expression	Fonction générale
Gènes à fonction large				
<i>MITF</i>	s^i	Régulatrice	Cellules dérivées de la crête neurale, yeux en développement, ostéoclastes	Développement des yeux, des os, des cellules pigmentaires
	s^p			
	s^w			
<i>MLPH</i>	d	Régulatrice	Exprimé dans de nombreux tissus	Transport transmembranaire, exocytose des granules sécrétoires
<i>CBD103</i>	K	Codante	Exprimé dans de nombreux tissus	Réponse immune, pigmentation
Gènes spécifiques des cellules pigmentaires				
<i>TYRP1</i>	b^s	Codante	Cellules pigmentaires	Synthèse de pigment
	b^d			
	b^c			
<i>PMEL</i>	M	Epissage	Cellules pigmentaires	Biogénèse des mélanosomes, synthèse de pigment (autre ?)
<i>ASIP</i>	a^y	Régulatrice	Papille dermale du follicule pileux	Changement du type de pigment
	a^t			
	a	Codante		
<i>MC1R</i>	e	Codante	Cellules pigmentaires	Changement du type de pigment

Annexe 4 : Races concernées par la surdité congénitale héréditaire (Strain, 2003)

Akita	Bulldog	Epagneul Tibétain	Samoyède
American Staffordshire Terrier	Caniche Nain	Esquimau Américain	Schnauzer
Barzoi	Caniche Toy	Fox Terrier	Sealyham Terrier
Beagle	Chien Chinois à crête	Fox terrier Toy	Setter Anglais
Berger Allemand	Cavalier King Charles	Foxhound	Shi Tzu
Berger Australien	Chien de montagne des Pyrénées	Husky Sibérien	Shropshire Terrier
Berger Blanc Suisse	Chien Léopard Catahoula	Jack Russel	Springer Anglais
Berger des Shetland	Chihuahua	Kuvasz	Teckel
Bichon Frisé	Chow-Chow	Labrador Retriever	Terrier de Boston
Bichon Havonais	Cocker	Lévrier Greyhound	Terrier Ecossais
Bichon Maltais	Cocker Anglais	Lévrier Italien	Terrier Irlandais à poil doux
Bobtail	Colley	Mongrel	Terrier Tibétain
Border Collie	Coton de Tuléar	Petit Chien Lion	Ratier
Bouledogue Américain	Dalmatien	Pinscher Nain	Retriever de la Nouvelle Ecosse
Bouledogue Anglais	Dobermann	Pit bull terrier	Sussex Spaniel
Bouledogue Français	Dogue Allemand	Podenco d'Ibiza	Walker
Bouvier Australien	Dogue Argentin	Pointer	Foxhound Américain
Boxer	Dogue des Canaries	Puli	Welsh Corgi Cardigan
Bull Terrier	Dunker Norvégien	Rhodesian Ridgeback	West Highland Terrier
	Epagneul Continental	Rottweiler	Whippet
		Saint Bernard	Yorkshire terrier

Annexe 5 : Tableaux des tests disponibles chez le chien (1/2)

Laboratoire	Type de prélèvement	Nom du test	Allèles testés	Prix		Délai avant résultat
Genindexe [www.genindexe.com] France	Kit de prélèvement à commander (sang ou cytobrosse buccale)	Locus A - Agouti	A^y, a^w, a^t, a	65 €		2 semaines
		Locus E - Jaune	e		90 € si E et B ensemble	
		Locus B - Noir, Brun	B, b			
		Locus D - Dilution, Bleu	D, d		Remises accordées si plusieurs tests simultanés	
		Locus K - Bringé	K^B, k^{Br}, k			
		Locus Em - Masque	E^M			
		Locus S - Piebald	<i>non précisé</i>			
		Locus M -Merle	M, m	104 €		
Antagene [www.antagene.com/fr] France	Kit de prélèvement à commander (cytobrosse buccale)	DIL	D, d	68€ en ligne, 78€ en version papier		10-15 jours
		COUL-1	B, b			
		COUL-2	B, b et E, e			
		COUL-3	E, e			
		OCA-B	<i>mutation c.1478G>A d'albinisme petits chiens</i>			15-20 jours
		Genimal [www.genimal.com] France	Kit de prélèvement à commander (écouvillon buccal ou sang sur éthanol)	Agouti A	A^y, a^w, a^t, a	64,9 €
Masque EM	E^M				3-6 jours	
K	non précisé			86 € si B et E ensemble	8-18 jours	
Noir, Brun B	B, b					
E	e					
Dilution	D, d				3-6 jours	
S	non précisé					
Merle M	M, m					99 €

Annexe 6 : Tableaux des tests disponibles chez le chien 2/2

Laboratoire	Type de prélèvement	Nom du test	Allèles testés	Prix	Délai avant résultat
UC Davis, VGL [www.vgl.ucdavis.edu/] Californie, USA	Brosse interdentaire utilisée comme cytobrosse ou cotons tige classique pour écouvillon buccal	MC1R - Mask - Grizzle (E locus/ cream)	E^M, E^g, E, e	Pour un même animal : 45\$ (soit ~59,5€) pour le premier test puis 20\$ (soit 18,3€) par test jusqu'à 3 tests, puis 15\$ (soit environ 13,7€) par test à partir de 4 tests	6 jours
		Agouti A	A^y, a^w, a^t, a		
		Brown (Chocolate, Liver)	B, b		
		Dilute (Blue)	D, d		
		Dominant black (K-locus)	K^B		
		Harlequin	H, h		
		Piebald, Particolor or Random White Spotting	s^p		
Laboklin [www.laboklin.com/] Allemagne	Kit de prélèvement à commander (cytobrosse ou tube pour sang EDTA)	EG-locus	E^g	24\$ soit ~22€	2-3 semaines
		B-locus	B, b		1-2 semaines
		A-locus	A^y, a^w, a^t, a		2-3 semaines
		D-locus	D, d		1-2 semaines
		EM-locus	E^M		2-3 semaines
		E-locus	e		
		K-locus	K^B		
		EH-locus	E^h (sable du Cocker)	48\$ soit ~44€	1-2 semaines
		Harlequin	H, h		4-5 semaines
		M-locus	M, m		
		S-locus	s^p	66\$ soit ~60,4€	

Annexe 7 : Tableaux des tests disponibles chez le chat (1/2)

Laboratoire	Type de prélèvement	Nom du test	Allèles testés	Prix	Délai avant résultat
Genindexe [www.genindexe.com] France	Kit de prélèvement à commander (sang ou cytobrosse buccale)	Locus A - Agouti	<i>A, a</i>	63€ le 1er test, 113,4€ pour 2 tests, 189€ pour 4 tests	2 semaines
		Locus E - Ambre (Norvégien)	<i>E, e</i>		
		Locus B - Noir, Brun, Cannelle	<i>B, b, b^l</i>		
		Locus D - Dilution	<i>D, d</i>		
		Locus G - Ganté (Sacré de Birmanie)	<i>G</i>		
Antagene [www.antagene.com/fr] France	Kit de prélèvement à commander (brosse buccale)	CP	<i>C, c^s, c^b, c</i>	68€ en ligne (78€ en version papier) pour le 1er test, 30€ par test supplémentaire	5-10 jours
		AMB	<i>B, b</i>		10-15 jours
Genimal [www.genimal.com] France	Kit de prélèvement à commander (écouvillon buccal ou sang sur éthanol)	Coulour point C	<i>C, c^s, c^b, c</i>	60 €	8-18 jours
		Ambre E (Norvégien)	<i>E, e</i>		3-6 jours
		Ganté G	<i>G</i>		4-8 jours
		Agouti A	<i>A, a</i>		1-3 jours
		Dilué D	<i>D, d</i>		8-10 jours
		Noir, chocolat, cannelle B	<i>B, b, b^l</i>		1-3 jours
		Panaché de blanc, Particolor WS	non précisé		3-8 jours
		Charcoal (Bengal)	<i>A, A², A^{Pb}, a</i>		1-3 jours
		Blanc dominant DW	<i>W, w</i>		
UC Davis, VGL [www.vgl.ucdavis.edu/] Californie, USA	Brosse interdentaire utilisée comme cytobrosse ou cotons tiges classique pour écouvillon buccal	Agouti A	<i>A, a</i>	40\$ (soit ~36,6€) par test, 60\$ (soit ~54,9€) tous les tests sur même animal	2-6 jours
		Amber (Norvégien)	<i>E, e</i>		
		Charcoal (Bengal)	<i>A^{Pb}</i>		
		Chocolat, cannelle, noir	<i>B, b, b^l</i>		
		Dilute	<i>D, d</i>		
		Coulourpoint	<i>C, c^s, c^b, c</i>		
		White Gloves (Sacré de Birmanie)	<i>G</i>		

Annexe 8 : Tableaux des tests disponibles chez le chat (2/2)

Laboratoire	Type de prélèvement	Nom du test	Allèles testés	Prix	Délai avant résultat
Laboklin [www.laboklin.com/] Allemagne	Kit de prélèvement à commander (cytobrosse ou tube de sang EDTA)	Albino	c	24\$ soit ~22€	2-3 semaines
		Dominant White	W, w		
		Charcoal (Bengal)	A^{pb}, A^2		
		Dilution	D, d		1-2 semaines
		Chocolate	b		
		Cinnamon	b^l		
		Chocolate and Cinnamon	B, b, b^l	48\$ soit ~44€	
		Snow Bengal	c^s, c^b	24\$ soit ~22€	
		Variant Agouti (Tabby)	A, a		
		Amber	E, e		
		Burmese brown	c^b		
		Variant Siamese	c^s		2-3 semaines
		Siamese and Burmese	c^s, c^b	48\$ soit ~44€	
Langford [www.langfordvets.co.uk/] Royaume-Uni	Cotons-tiges standards ou cytobrosse à commander ou sang sur EDTA	Agouti	A, a	33,6 £ (soit ~46€) le 1er test, puis 12,6 £ (soit ~17€) les tests suivants jusqu'à 6 sur même animal	3 jours
		ALC agouti (Bengal)	A^{pb}, A^2		
		Amber	E, e		
		Burmese	c^b		
		Chocolate	b		
		Cinnamon	b^l		
		Dilute	D, d		
		Siamese colourpoint	c^s		

Annexe 9 : Feuilles de prélèvement chien et chat de Laboklin (Site de Laboklin)

Les informations importantes et nécessaires sont encadrées en noir.

Submission form		Customer-No. / Barcode	LABOKLIN LABOR FÜR KLINISCHE DIAGNOSTIK GMBH & CO. KG	
Genetics Dog		Post box 1810 · 97668 Bad Kissingen /Germany Phone 0049 (0)971/72020 fax 0049 (0)971/68546 E-Mail: info@laboklin.com		
Business Hours: Mo - Fr: 9:00 - 18:00 h, Sa: 9:00 - 13:00 h				

Clinic address: (stamp or block letters)	Owners address: (block letters only, please) Name: _____ First name: _____ Street: _____ Zipcode/city: _____ Birthday _____ (if the invoice should be sent to the owner or submitter, please include their complete address and signature)	Invoice to: ☐ Veterinarian ☐ Owner (owners signature for direct invoicing) _____ Please note: Address for invoicing and signer must be identical
Fax/e-mail: _____ VAT-ID: _____ Date/Signature: _____	Fax/e-mail: _____ VAT-ID: _____ Tel.: _____	
Notification: ☐ email ☐ Fax ☐ Mail ☐ Report copy to owner ☐ Courier ☐		

☐ Certificate 4,00 €
 1) The identity of the animal needs to be confirmed by a veterinarian (specified by Microchip-No., Tattoo-No., Pedigree-No.)
 2) Certificates are not issued for partner laboratory services
 3) Certificates are included in the services of DNA-profile and parentage testing

have checked the animals identity and assure that samples are taken from the animals mentioned below.	
Name: _____	Signature / Stamp veterinarian: _____
Patient-ID: _____	Date of sampling: _____

Please note: Indication of breed is mandatory!	
Animal 1 (MANDATORY - please complete using capital letters)	
Sample: ☐ 0,5 ml ECTA-blood ☐ swab ☐ blood card	Sex: ☐ F ☐ M
Name: _____	Date of birth: _____
Breed: _____	Coat colour: _____
Pedigree-No.: _____	Tattoo-No.: _____
Microchip-No.: _____	Sample label: _____

Animal 2 (MANDATORY - please complete using capital letters)	
Sample: ☐ 0,5 ml ECTA-blood ☐ swab ☐ blood card	Sex: ☐ F ☐ M
Name: _____	Date of birth: _____
Breed: _____	Coat colour: _____
Pedigree-No.: _____	Tattoo-No.: _____
Microchip-No.: _____	Sample label: _____

Animal 3 (MANDATORY - please complete using capital letters)	
Sample: ☐ 0,5 ml ECTA-blood ☐ swab ☐ blood card	Sex: ☐ F ☐ M
Name: _____	Date of birth: _____
Breed: _____	Coat colour: _____
Pedigree-No.: _____	Tattoo-No.: _____
Microchip-No.: _____	Sample label: _____

Please note: Genetic tests for cats and horses can be found on their respective submission forms!



Test combinations

Hereditary Diseases (Sample Material: 0,5 - 1 ml EDTA-blood or 2x Buccal Swabs)

- ☐ **Degenerative Myelopathy (DM) Exon1 + Exon2**
(Bernese Mountain Dog)
- ☐ **Dry Eye Curly Coat Syndrome (CCS) + Episodic Falling (EF)**
(Cavalier King Charles Spaniel)
- ☐ **Juvenile Epilepsy (JE) + Furnishing**
(Lagotto Romagnolo)
- ☐ **Late Onset Ataxia (LOA) + Spinocerebellar Ataxia (SCA)**
(Jack Russell Terrier, Parson Russell Terrier)
- ☐ **Late Onset Ataxia (LOA) + Spinocerebellar Ataxia (SCA) + Primary Lens Luxation (PLL)**
(Jack Russell Terrier, Parson Russell Terrier)

Coat Colours / Coat Length (Breeds upon request) (Sample Material: 0,5 - 1 ml EDTA-blood or 2x Buccal Swabs)

- | | |
|--|--|
| ☐ A-Locus (agouti) | ☐ Furnishing |
| ☐ B-Locus (brown, chocolate) | ☐ Coat Length |
| ☐ Curly | ☐ Hairlessness
(Chinese Crested, Mexican Hairless Dog, Peruvian Hairless Dog) |
| ☐ D-Locus (dilution) | ☐ Improper Coat
(Portuguese Waterdog) |
| ☐ E-Locus (yellow, lemon, red, cream, apricot) | ☐ K-Locus (only the alleles KB + ky)
(Please note: the allele kbr for brindle cannot be determined using this test) |
| ☐ EG-Locus (domino, grizzle)
(Afghan Hound, Saluki) | ☐ S-Locus*
(Breeds upon request) |
| ☐ EH-Locus (sable)
(English Cocker Spaniel) | |
| ☐ EM-Locus (Melanistic Mask Allele) | |

DNA-Profiling ISAG 2006 (Sample Material: 0,5 - 1 ml EDTA-blood)

- ☐ **DNA profile (genetic fingerprint)**
Please note: The person collecting the sample should be officially designated or appointed.
- ☐ **Parentage verification (paternity test)**
A DNA profile is necessary for each parent for parentage verification. If only one parent is available, this should be discussed prior to sample submission.
- ☐ **Likelihood ratio calculation (Analysis of blood relationship)**
Please note: The test is only possible for specific breeds.
Additional information is available at www.laboklin.com or by calling us.
- ☐ **Breed analysis (Database analysis)**
Please note: The test can only determine breeds found in our database.
Additional information is available at www.laboklin.com or by calling us.

* Partnerlab

In order to allow breeding club discount for the owner please enclose a breeding club membership confirmation with each sample submission. The invoice cannot be altered subsequently.

Credit card	☐ Visa	☐ Mastercard
Total amount: _____	Invoice-No.: _____	
Credit card No. _____	Exp. date: _____	
Cardholders name: _____	Cardholders signature: _____	

For accepting credit card we charge EUR 4,95 plus VAT.

Supply order: ☐ Tubes (blood/serum) ☐ Urine containers ☐ Containers for Tubes ☐ Submission forms - GENETICS - DOG ☐ Submission forms - GENERAL ☐ Citrate Tubes ☐ Swabs (with Medium) ☐ Slide Containers ☐ Submission forms - ALLERGY ☐ Heparin Tubes ☐ Swabs (without Medium) ☐ Medium for Chlamydia/Phila-Ag ☐ Submission forms - PATHOLOGY ☐ NaFI-Tubes ☐ Containers for Swabs ☐ Cytobrushes (DNA-tests) ☐ Submission forms - CAT ☐ Submission forms - EQUINE ☐ EDTA Tubes ☐ Envelopes ☐ Faeces Containers ☐ Submission forms - EQUINE ☐ Submission forms - HYGIENE ☐ Barcodes ☐ Histology Containers with formalin ☐ Faeces Containers ☐ Submission forms - FARM ANIMAL			
General terms and conditions: Prices in Euro excl. VAT / Services offered and prices may be subject to change / Charge is x 1.3 if invoice is sent to owner (exception: combination tests and partnerlabs) Breeding club discount only available if the invoice is sent to the owner! Complete general terms and conditions of business see www.laboklin.com			



GB - 015.003 14/07

Submission form

Genetics Dog

Customer-No. / Barcode

Business Hours: Mo - Fr: 9:00 - 18:00 h, Sa: 9:00 - 13:00 h

LABOKLIN

LABOR FÜR KLINISCHE DIAGNOSTIK GMBH & CO. KG

Post box 1810 - 97668 Bad Kissingen /Germany
Phone 0049 (0)971/72020 fax 0049 (0)971/68546
E-Mail: info@laboklin.com

Clinic address: (stamp or block letters)	Owners address: (block letters only, please) Name: _____ First name: _____ Street: _____ Zipcode/city: _____ Birthday _____ (If the invoice should be sent to the owner or submitter, please include their complete address and signature) Fax/email: _____ VAT-ID: _____ Tel: _____	Invoice to: ___ Veterinarian ___ Owner (owners signature for direct invoicing) Please note: Address for invoicing and signee must be identical
Fax/e-mail: _____ VAT-ID: _____ Date/Signature _____		
Notification: ___ email ___ Fax ___ Mail ___ Report copy to owner ___ Courier ___		

___ Certificate 4,60 €

- 1) The identity of the animal needs to be confirmed by a veterinarian (specified by Microchip-No., Tattoo-No., Pedigree-No.)
- 2) Certificates are not issued for partner laboratory services
- 3) Certificates are included in the services of DNA-profile and parentage testing

I have checked the animals identity and assure that samples are taken from the animals mentioned below.

Name: _____ Signature / Stamp veterinarian: _____
Patient-ID: _____ Date of sampling: _____

Please note: Indication of breed is mandatory!

Animal 1 (MANDATORY - please complete using capital letters)

Sample: ___ 0,5 ml ECTA-blood ___ swab ___ blood card Sex: ___ F ___ M
Name: _____ Date of birth: _____
Breed: _____ Coat colour: _____
Pedigree-No.: _____ Tattoo-No.: _____
Microchip-No.: _____ Sample label: _____

Animal 2 (MANDATORY - please complete using capital letters)

Sample: ___ 0,5 ml ECTA-blood ___ swab ___ blood card Sex: ___ F ___ M
Name: _____ Date of birth: _____
Breed: _____ Coat colour: _____
Pedigree-No.: _____ Tattoo-No.: _____
Microchip-No.: _____ Sample label: _____

Animal 3 (MANDATORY - please complete using capital letters)

Sample: ___ 0,5 ml ECTA-blood ___ swab ___ blood card Sex: ___ F ___ M
Name: _____ Date of birth: _____
Breed: _____ Coat colour: _____
Pedigree-No.: _____ Tattoo-No.: _____
Microchip-No.: _____ Sample label: _____

Please note: Genetic tests for cats and horses can be found on their respective submission forms!



Annexe 10 : Exemple de feuille de prélèvement de Langford (Site de Langford)

Les informations essentielles sont encadrées en noir.

Genetic Submission Form

Take to your vet



Langford
VETERINARY SERVICES

A VET MUST TAKE THE SAMPLE AFTER CONFIRMING THE CAT'S MICROCHIP NUMBER, SIGN THE FORM BELOW AND POST THE SAMPLE AND FORM TO:

DIAGNOSTIC LABORATORIES, LANGFORD HOUSE, LANGFORD, BRISTOL, BS40 5DU, UNITED KINGDOM

RESULTS WILL BE EMAILED TO THE OWNER

Please complete this form in BLOCK CAPITAL S and mark the boxes for the tests required

Owner's name			
Address			
E-mail	Telephone		
Vet's full name			
Veterinaire N° (For LOOF registration)			
Practice address			
E-mail	Telephone		

Payment
Owner will pay laboratory directly ☐
Invoice to be sent to Vet Practice ☐

	Name	Microchip No	Reg No	Breed	DoB	Sex
Cat 1						
Cat 2						
Cat 3						
Cat 4						

Tests required (place x in box)	Example	Cat 1	Cat 2	Cat 3	Cat 4
Burmese GM2					
Burmese Head Defect					
Burmese Hypokalaemia					
Congenital Myasthenic Syndrome (CMS)					
GSD IV (NFC)					
Maine Coon HCM					
Polycystic Kidney (PKD)	x				
Progressive retinal atrophy (rdAc)					
Progressive retinal atrophy (Persian)					
Pyruvate Kinase Deficiency (PKDef)					
Ragdoll HCM					
Spinal Muscular Atrophy (SMA)					
Agouti Colour					
ALC Agouti					
Amber (NFC)					
Blood Type	x				
Burmese Colouration					
Chocolate Colour	x				
Cinnamon Colour					
Coat Length					
Dilute Colour					
Siamese Colourpoint					
10ml x60. tests per cat					
Price per cat (see over) inc VAT	£58.80				
				Grand Total	

I agree that sample(s) may be used anonymously for statistical and research purposes, which may be published.

Signed (Vet):

Date:

Signed (Owner):

Date:

Promotional code:

Vet
practice
stamp here

Total
(inc. VAT)

£

Please make cheques payable to Langford Veterinary Services Ltd, or you can pay by Debit or Credit card over the telephone

Molecular Diagnostic Unit, Diagnostic Laboratories, Langford House, Langford, BS40 5DU
Tel: 0117 928 9412 Fax: 0117 928 9613 Email: catgenetics@langfordvets.co.uk
Langford Veterinary Services is a wholly owned subsidiary of the University of Bristol

GENIMAL Biotechnologies
Etainville 42140 Virigneux
0483433050
contact@genimal.com

140

BIBLIOGRAPHIE

ABITBOL M. (2012). Génétique de la couleur et de la texture du pelage chez le chat domestique. *Bull. Acad. Vét. France*, **165** (3), 205-213.

Antagene [<http://www.antagene.com/fr>] (Consulté le 15/12/2015)

BERRYERE TG, KERNS JA, BARSH GS, SCHMUTZ SM. (2005). Association of an Agouti allele with fawn or sable coat color in domestic dogs. *Mamm. Genome*, **16**, 262-272.

BOUCHARD B. (1993). Les protéines de régulation de la mélanogénèse – Génétique moléculaire des albinismes cutanés. *Méd./Sci.*, **9**, 425-430.

BULTMAN SJ, MICHAUD EJ, WOYCHIK RP. (1992). Molecular Characterization of the Mouse Agouti Locus. *Cell*, **71**, 1195-1204.

CANDILLE S, KAELIN CB, CATTANACH BM, YU B, THOMPSON DA, NIX MA *et al.* (2007). A β -Defensin mutation causes black color in domestic dogs. *Science*, **318**, 1418–1423.

CIAMPOLINI R, CECCHI F, SPATERNA A, BRAMENTE A, BARDET SM, OULMOUDEN A. (2012). Characterization of different 5'-untranslated exons of the *ASIP* gene in black-and-tan Doberman Pinscher and brindle Boxer dogs. *Anim. Genet.*, **44**, 114-117.

CLARK LA, WAHL JM, REES CA, MURPHY KE. (2006). Retrotransposon insertion in *SILV* is responsible for merle patterning of the domestic dog. *Genetics*, **103** (5), 1376-1381.

CLARK LA, STARR AN, TSAI KL, MURPHY KE. (2008). Genome-wide linkage scan localizes the harlequin locus in the Great Dane to chromosome 9. *Gene*, **149**, 49-52.

CLARK LA, TSAI KL, STARR AN, NOWEND KL, MURPHY KE. (2011). A missense mutation in the 20S proteasome $\beta 2$ subunit of Great Danes having harlequin coat patterning. *Genomics*, **97**, 244-248.

CVEJIC D, STEINBERG TA, KENT MS, FISCHER A. (2009). Unilateral and Bilateral Congenital Sensorineural Deafness in Client-Owned Pure-Breed White Cats. *J. Vet. Intern. Med.*, **23**, 392-395.

DAVID VA, MENOTTI-RAYMOND M, WALLACA AC, ROELKE M, KEHLER J, LEIGHTY R *et al.* (2014). Endogenous retrovirus insertion in the KIT oncogene determines white and white spotting in domestic cats. *G3*, **4** (10), 1881-1891.

DREGER DL, SCHMUTZ SM. (2010). A New Mutation in *MC1R* Explains a Coat Color Phenotype in 2 “Old” Breeds : Saluki and Afghan Hound. *J. Hered.*, **101** (5), 644-649.

DREGER DL, SCHMUTZ SM. (2011). A SINE insertion Causes the Black-and-Tan and Saddle Tan Phenotypes in Domestic Dogs. *J. Hered.*, **102**, S11-S18.

DREGER DL, PARKER HG, OSTRANDER EA, SCHMUTZ SM. (2013). Identification of a Mutation that Is Associated with the Saddle Tan and Black-and-Tan Phenotypes in Basset Hounds and Pembroke Welsh Corgis. *J. Hered.*, **104** (3), 399-406.

DRÖGEMÜLLER C, PHILIPP U, HAASE B, GÜNZEL-APEL AR, LEEB T. (2007). A Noncoding Melanophilin Gene (*MLPH*) SNP at the Splice Donor of Exon I Represents a Candidate Causal Mutation for Coat Color Dilution in Dogs. *J. Hered.*, **98** (5), 468-473.

Doggenetics - Site anglais sur la génétique des couleurs de robes des chiens (Mise à jour en mars 2015). [<http://www.doggenetics.co.uk/index.htm>] (Consulté en octobre 2015)

EIZIRIK E, YUHKI N, JONHSON WE, MENOTTI-RAYMOND M, HANNAH SS, O'BRIEN SJ. (2003). Molecular Genetics and Evolution of Melanism in the Cat Family. *Curr. Biol.*, **13**, 448-453.

EIZIRIK A, DAVID VA, BUCKLEY-BEASON V, ROELKE ME, SCHÄFFER AA, HANNAH SS *et al.* (2010). Defining and Mapping Mammalian Coat Pattern Genes: Multiple Genomic Regions Implicated in Domestic Cat Stripes and Spots. *Genetics*, **184**, 267-275.

EVERTS RE, ROTHUIZEN J, VAN OOST BA. (2000). Identification of a premature stop codon in the melanocyte-stimulating hormone receptor gene (*MC1R*) in Labrador and Golden retrievers with yellow coat colour. *Anim. Genet.*, **31**, 194-199.

GANDOLFI B, BACH L, BERESFORD L *et al.* (soumis en 2010 pour publication). Off with the gloves: Mutation in *KIT* implicated for the unique white spotting phenotype of Birman cats.

GERDING WM, AKKAD DA, EPPLIN JT. (2013). Spotted Weimaramer dog due to *de novo KIT* mutation. *Anim. Genet.*, **44** (5), 605-606.

GERSHONY LC, PENEDO MCT, DAVIS BW, MURPHY WJ, HELPS CR, LYONS LA (2014). Who's behind that mask and cape? The Asian leopard cat's *Agouti* (*ASIP*) allele likely affects coat colour phenotype in the Bengal cat breed. *Anim. Genet.*, **45**, 893-897.

Genimal – Site du laboratoire Genimal [<http://www.genimal.com>] (Consulté le 15/12/2015)

Genindexe – Site du laboratoire Genindexe [<http://www.genindexe.com>] (Consulté le 15/12/2015)

IMES DL, GEARY LA, GRAHN RA, LYONS LA. (2006). Albinism in the domestic cat (*Felis catus*) is associated with a tyrosinase (*TYR*) mutation. *Anim. Genet.*, **37**, 175-178.

ISHIDA Y, DAVID VA, EIZIRIK E, SCHÄFFER AA, NEELAM BA, ROELKE ME *et al.* (2006). A homozygous single-base deletion in *MLPH* causes the *dilute* coat color phenotype in the domestic cat. *Genomics*, **88**, 698-705.

KAELIN CB, XU X, HONG LZ, DAVID VA, MCGOWAN KA, SCHMIDT-KÜNTZEL A *et al.* (2012). Specifying and Sustaining Pigmentation Patterns in Domestic Wild Cats. *Science*, **337**, 1536-1541.

KAELIN CB, BARSH GS. (2012). Molecular Genetics of Coat Colour, Texture and Length in the Dog. In : Ostrander EA, Ruvinski A (editors). *The Genetics of the Dogs*, 2nd ed. Croydon, CPI Group, 57-82.

KARLSSON EK, BARANOWSKA I, WADE CM, SALMON HILLBERTZ NHC, ZODY MC, ANDERSON N *et al.* (2007). Efficient mapping of mendelian traits in dogs through genome-wide association. *Nat.Genet.*, **39** (11), 1321-1328.

KERNS JA, OLIVIER M, LUST G, BARSH GS. (2003). Exclusion of *Melanocortin-I Receptor* (*Mc1r*) and *Agouti* as Candidates for Dominant Black in Dogs. *J. Hered.*, **94** (1), 75-79.

KERNS JA, NEWTON J, BERRYERE TG, RUBIN EM, CHENG J-F, SCHMUTZ SM *et al.* (2004). Characterization of the dog *Agouti* gene and a *nonagouti* mutation in German Shepherd Dogs. *Mamm. Genome*, **15**, 798-808.

KERNS JA, CARGIL EJ, CLARK LA, CANDILLE SI, BERRYERE TG, OLIVIER M *et al.* (2007). Linkage and Segregation Analysis of Black and Brindle Coat Color in Domestic Dogs. *Genetics*, **176** (3), 1679-1689.

KÖRBERG IB, SUNDSTRÖM E, MEADOWS JRS, PIELBERG GR, GUSTAFSON U, HEDHAMMAR Å *et al.* (2014). A Simple Repeat Polymorphism in the *MITF-M* Promoter Is a Key Regulator of White Spotting in Dogs. *PLoS One*, **9** (8), e104363.

Laboklin – Site du laboratoire Laboklin [<http://www.laboklin.com/>] (Consulté le 15/12/2015)

Langford – Site du laboratoire Langford [<http://www.langfordvets.co.uk/>] (Consulté le 15/12/2015)

LEEGWATER PA, VAN HAGEN MA, VAN OOST BA. (2007). Localization of White Spotting Locus in Bower Dogs on CFA 20 by Genome-wide Linkage Analysis with 1500 SNPs. *J. Hered.*, **98** (5), 549-552.

LITTLE CC. (1957). *The Inheritance of Coat Color in Dogs*. Ithaca, Comstock Publishing Associates, 194p.

LOOF (Livre Officiel des Origines Félines) (Mises à jour régulières). [<http://www.loof.asso.fr/>] (Consulté en novembre et décembre 2015)

LYONS LA, IMES DL, RAH HC, GRAHN RA. (2005). Tyrosinase mutations associated whit Siamese and Burmese patterns in the domestic cat (*Felis catus*). *Anim. Genet.*, **36**, 119-126.

LYONS LA, FOE IT, RAH HC, GRAHN RA. (2005). Chocolate coated cats: *TYRP1* mutations for brown color in domestic cats. *Mamm. Genome*, **16**, 356-366.

MENOTTI-RAYMOND M, DAVID VA, EIZIRIK E, ROELKE ME, GHAFARI H, O'BRIEN S. (2009). Mapping of the Domestic Cat "*SILVER*" Coat Color Locus Identifies a Unique Genomic Location for Silver in Mammals. *J. Hered.*, **100** (Suppl. I), S8-S13.

MONTAGUE MJ, LI G, GANDOLFI B, KHAN R, AKEN BL, SEARLE SMJ *et al.* (2014). Comparative analysis of the domestic cat genome reveals genetic signatures underlying feline biology and domestication. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **111** (2), 17230-17235.

NAOUM S. (2014). Protéine codée par le gène MC1R. (Mise à jour le 27/05/2014) [<http://accs.ens-lyon.fr/evolution/evolution/accompagnement-pedagogique/accompagnement-au-lycee/terminale-2012/un-regard-sur-levolution-de-lhomme/evolution-dans-la-lignee-humaine/quelques-aspects-genetiques-de-levolution-des-populations-humaines-homo-sapiens-sapiens/Histoire%20evolutive%20de%20la%20pigmentation%20de%20la%20peau%20humaine/proteine-codee-par-le-gene-mc1r/>] (Consulté le 20/04/2015)

NEWTON JM, WILKIE AL, HE L, JORDAN SA, METALLINOS DL, HOLMES NG *et al.* (2000). Melanocortin 1 receptor variation in the domestic dog. *Mamm. Genome*, **11**, 24-30.

O'BRIEN SJ, HASKINS ME, WINKLER CA, NASH WG, PATTERSON DF. (1986). Chromosomal mapping of beta-globin and albino loci in the domestic cat: a conserved mammalian chromosome group. *J. Hered.* **77**, 374-378.

OGURO-OKANO M, HONDA M, YAMAKAKI K, OKANO K. (2011). Mutations in the *Melanocortin 1 Receptor*, *β -Defensin103* and *Agouti Signaling Protein* Genes, and Their Association with Coat Color Phenotypes in Akita-Inu Dogs. *J. Vet. Med. Sci.*, **73** (7), 853-858.

ORTONNE JP, BENEDETTO JP. (1981). Mélanocytes épidermiques et mélanocytes folliculaires. *Ann. genet. Sél. anim.*, **13** (1), 17-26.

PETERSCHMITT M, GRAIN F, ARNAUD B, DELEAGE G, LAMBERT V. (2009). Mutation in the mélanocortine 1 receptor is associated with amber colour in the Norwegian Forest Cat. *Anim. Genet.*, **90**, 547-552.

- PLATT S, FREEMAN J, DI STEFANI A, WIECZOREK L, HENLEZ W. (2006). Prevalence of unilateral and bilateral deafness in border collies and association with phenotype. *J. Vet. Intern. Med.*, **20** (6), 1355-1362.
- PHILIPP U, QUIGNON P, SCOTT A, ANDRE C, BREEN M, LEEB T. (2005a). Chromosomal Assignment of the Canine Melanophilin Gene (*MLPH*): A Candidate Gene for Coat Color Dilution in Pinschers. *J. Hered.*, **96** (7), 774-776.
- PHILIPP U, HAMANN H, MECKLENBURG L, NISHINO S, MIGNOT E, GUNZEL-APEL A *et al.* (2005b). Polymorphisms within the canine *MLPH* gene are associated with dilute coat color in dogs. *BMC Genet.*, **6**, 34.
- Royal Canin - Site anglais de Royal Canin (Mise à jour en 2013). [<http://breeds.royalcanin.co.uk/dog-origins/from-genes-to-genomes/genetics-of-the-dog-s-coat>] (Consulté le 10/10/2015)
- SCHMIDT-KÜNTZEL A, EIZIRIK E, O'BRIEN SJ, MENOTTI-RAYMON M. (2005). *Tyrosinase* and *Tyrosinase Related Protein 1* Alleles Specify Domestic Cat Coat Color Phenotypes of the *albino* and *brown* Loci. *J. Hered.*, **96** (4), 289-301.
- SCHMUTZ SM, BERRYERE TG, GOLDFINCH AD. (2002). *TYRP1* and *MC1R* genotypes and their effects on coat color in dogs. *Mamm. Genome*, **13**, 380-387.
- SCHMUTZ SM, BERRYERE TG, ELLINWOOD NM, KERNS JA, BARSH GS. (2003). *MC1R* Studies in Dogs with Melanistic Mask or Brindle Patterns. *J. Hered.*, **94**(1), 69-73.
- SCHMUTZ SM, BERRYERE TG. (2007). The Genetics of Cream Coat Color in Dogs. *J. Hered.*, **98** (8), 544-548.
- SCHMUTZ SM, BERRYERE TG, DREGER DL. (2009). *MITF* and White Spotting in Dogs : A Population Study. *J. Hered.*, **100** (Supplement 1), S66-S74.
- SCHMUTZ SM, DREGER DL. (2014). Genetic interaction among three pigmentation loci in domestic dog. In : *Proceedings, 10th World Congress of Genetics Applied to Livestock Production*, Vancouver, BC, Août 2014, (*Journal of Animal Science Supplement*)
- SPONENBERG P. (1985). Inheritance of the harlequin color in Great Dane dogs. *J. Hered.*, **76**, 224-225.
- STRAIN GM. (1999). Congenital Deafness and Its Recognition. *Vet. Clin. N. Am. Small*, **29** (4), 895-907.
- STRAIN GM. (2004). Deafness prevalence and pigmentation and gender associations in dog breeds at risk. *Vet. J.*, **167**, 23-32.

STRAIN GM, CLARK LA, WAHL JM, TURNER AE, MURPHY KE. (2009). Prevalence of Deafness in Dogs Heterozygous or Homozygous for the Merle Allele. *J. Vet. Intern. Med.*, **23**, 282-286.

SUZUKI H. (2013). Evolutionary and phylogeographic views on *Mc1r* and *Asip* variation in mammals. *Genes Genet. Syst.*, **88**, 155-164.

UC Davis, VGL - Site du laboratoire de génétique vétérinaire (VGL) de l'Université de Californie, Davis (Mise à jour récente). [<https://www.vgl.ucdavis.edu/services/cat/>] (Consulté le 15/12/2015)

VIERLING H, DUHL DMJ, MILLAR SE, MILLER KA, BARSH GS. (1994). Differences in dorsal and ventral pigmentation result from regional expression of the mouse agouti gene. *Genetics*, **91**, 5667-5671.

WANG W, KIRKNESS EF. (2005). Short interspersed elements (SINEs) are a major source of canine genomic diversity. *Genome Res*, **15**(2), 1798-1808.

WELLE M, PHILIPP U, RÜFENACHT S, ROOSJE P, SCHARFENSTEIN M, SCHÜTZ E *et al.* (2009). *MLPH* Genotype – Melanin Phenotype Correlation in Dilute Dogs. *J. Hered.*, **100** (Sup I), S75-S79.

WINKLER PA, GORNIK KR, RAMSEY DT, DUBIELZIG RR, VENTA PJ, PETERSEN-JONES SM *et al.* (2014). A Partial Gene Deletion of *SLC45A2* Causes Oculocutaneous Albinism in Doberman Pinscher Dogs. *PLOS ONE*, **9** (3), e92127.

WISEJENA HR, SCHMUTZ SM. (2015). A Missens Mutation in *SLC45A2* is Associated with Albinism in Several Small Long Haired Dog Breeds. *J. Hered.*, **106** (3), 285-288.

WONG AK, RUHE AL, ROBERTSON KR, LOEW ER, WILLIAMS DC, NEFF MW. (2013). A *de novo* mutation in *KIT* causes white spotting in a subpopulation of German Shepherd dogs. *Anim. Genet.*, **44** (3), 305-310.

YAMAGUCHI Y, HEARING VJ. (2014). Melanocytes and their diseases. *Cold Spring Harb. Perspect Med.*, **4** (4).

GÈNES ET MUTATIONS IMPLIQUÉS DANS LA COULEUR DU PELAGE CHEZ LES CARNIVORES DOMESTIQUES : APPLICATION À L'ÉLEVAGE

NOM et Prénom : SIMI Marie

Résumé

Les couleurs de pelage du chien *Canis familiaris* et du chat domestique *Felis catus catus* forment une variété considérable de robes ayant été sélectionnées depuis la domestication des carnivores domestiques et lors de la formation des races. Des études de pédigrées au cours du siècle dernier ont permis de supposer les bases génétiques de la détermination des robes. Par la suite, de nombreuses études se fondant la plupart du temps sur les découvertes faites chez la souris, ont identifié la plupart des gènes impliqués dans la pigmentation du chien et du chat. Cette étude bibliographique présente dans un premier temps les gènes et mutations identifiés chez le chiens, puis dans un deuxième temps, les gènes et mutations identifiés chez le chat au cours de ces dernières années, ainsi que les mécanismes moléculaires impliqués. La troisième partie est consacrée aux applications pratiques, en élevage, de ces découvertes de gènes et mutations. L'identification des mutations responsables de nouveaux caractères phénotypiques rend possible le développement de tests génétiques permettant la détection des allèles récessifs. Ce manuscrit a pour but de regrouper et de rendre accessibles les avancées faites dans ce domaine, afin d'aider les éleveurs à améliorer leurs programmes de sélection pour obtenir les phénotypes désirés et éliminer les phénotypes indésirables.

Mots clés : GENETIQUE / GENE / ADN / COULEUR / PELAGE / POIL / PIGMENTATION / SELECTION GENETIQUE / PHENOTYPE / MUTATION GENETIQUE / TEST GENETIQUE / ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE / CARNIVORE DOMESTIQUE / CHIEN / CHAT

Jury :

Président : Pr.

Directeur : Dr Marie ABITBOL

Assesseur : Pr Philippe BOSSE

GENES AND MUTATIONS INVOLVED IN DOGS AND CATS COAT COLOURS: PRACTICAL APPLICATIONS FOR BREEDERS

SURNAME and Given name : SIMI Marie

Summary

The dogs and cats coat colours are considerably diversified and have been selected from the time of the domestication of carnivorous and during the process of breed creation. Pedigree studies over the last century allowed establishing the genetic bases of coat colours determination. Since then, numerous studies based on the murine model identified most of the genes and mutations implicated in dogs and cats pigmentation. This bibliography work first describes genes and mutations identified in dogs and second in cats over the last years, and presents the molecular mechanisms underlying coat colours. The third part focuses on practical applications of these discoveries in kennels and catteries. Identifying mutations responsible for new phenotypic traits allows the development of genetic tests to detect recessive alleles. This manuscript aims to synthesize and to give access to updated information, in order to help breeders improving their breeding schemes to obtain wanted phenotypes and eliminate unwanted phenotypes.

Keywords : GENETICS / GENE / DNA / COLOUR / HAIR / COAT/ PIGMENTATION / SELECTION / PHENOTYPE / MUTATION / GENETIC TEST / BIBLIOGRAPHY / CARNIVORE / DOG / CAT

Jury :

President : Pr.

Director : Dr Marie ABITOL

Assessor : Pr Philippe BOSSE