VETAGRO SUP
CAMPUS VETERINAIRE DE LYON

Année 2020 - Thèse n° 83

CARACTÉRISATION D'UNE NOUVELLE COULEUR DE PELAGE CHEZ LE CHAT SIBÉRIEN

THESE

Présentée à l'UNIVERSITE CLAUDE-BERNARD - LYON I
(Médecine - Pharmacie)
et soutenue publiquement le 13 novembre 2020
pour obtenir le grade de Docteur Vétérinaire

par

BEAUVOIS Hélène

VETAGRO SUP
CAMPUS VETERINAIRE DE LYON

Année 2020 - Thèse n° 83

CARACTÉRISATION D'UNE NOUVELLE COULEUR DE PELAGE CHEZ LE CHAT SIBÉRIEN

THESE

Présentée à l'UNIVERSITE CLAUDE-BERNARD - LYON I
(Médecine - Pharmacie)
et soutenue publiquement le 13 novembre 2020
pour obtenir le grade de Docteur Vétérinaire

par

BEAUVOIS Hélène

Liste des Enseignants du Campus Vétérinaire de Lyon *(01-09-2019)*

ABITBOL	Marie	DEPT-BASIC-SCIENCES	Professeur
ALVES-DE-OLIVEIRA	Laurent	DEPT-BASIC-SCIENCES	Maître de conférences
ARCANGIOLI	Marie-Anne	DEPT-ELEVAGE-SPV	Professeur
AYRAL	Florence	DEPT-ELEVAGE-SPV	Maître de conférences
BECKER	Claire	DEPT-ELEVAGE-SPV	Maître de conférences
BELLUCO	Sara	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Maître de conférences
BENAMOU-SMITH	Agnès	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Maître de conférences
BENOIT	Etienne	DEPT-BASIC-SCIENCES	Professeur
BERNY	Philippe	DEPT-BASIC-SCIENCES	Professeur
BONNET-GARIN	Jeanne-Marie	DEPT-BASIC-SCIENCES	Professeur
BOULOCHER	Caroline	DEPT-BASIC-SCIENCES	Maître de conférences
BOURDOISEAU	Gilles	DEPT-ELEVAGE-SPV	Professeur
BOURGOIN	Gilles	DEPT-ELEVAGE-SPV	Maître de conférences
BRUYERE	Pierre	DEPT-BASIC-SCIENCES	Maître de conférences
BUFF	Samuel	DEPT-BASIC-SCIENCES	Maître de conférences
BURONFOSSE	Thierry	DEPT-BASIC-SCIENCES	Professeur
CACHON	Thibaut	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Maître de conférences
CADORÉ	Jean-Luc	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Professeur
CALLAIT-CARDINAL	Marie-Pierre	DEPT-ELEVAGE-SPV	Maître de conférences
CAROZZO	Claude	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Maître de conférences
CHABANNE	Luc	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Professeur
CHALVET-MONFRAY	Karine	DEPT-BASIC-SCIENCES	Professeur
DE BOYER DES ROCHES	Alice	DEPT-ELEVAGE-SPV	Maître de conférences
DELIGNETTE-MULLER	Marie-Laure	DEPT-BASIC-SCIENCES	Professeur
DJELOUADJI	Zorée	DEPT-ELEVAGE-SPV	Maître de conférences
ESCRIOU	Catherine	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Maître de conférences
FRIKHA	Mohamed-Ridha	DEPT-ELEVAGE-SPV	Maître de conférences
GALIA	Wessam	DEPT-ELEVAGE-SPV	Maître de conférences
GILOT-FROMONT	Emmanuelle	DEPT-ELEVAGE-SPV	Professeur
GONTHIER	Alain	DEPT-ELEVAGE-SPV	Maître de conférences
GRANCHER	Denis	DEPT-BASIC-SCIENCES	Maître de conférences
GREZEL	Delphine	DEPT-BASIC-SCIENCES	Maître de conférences
HUGONNARD	Marine	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Maître de conférences
JANKOWIAK	Bernard	DEPT-ELEVAGE-SPV	Maître de conférences
JOSSON-SCHRAMME	Anne	DEPT-BASIC-SCIENCES	Maître de conférences
JUNOT	Stéphane	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Maître de conférences
KODJO	Angeli	DEPT-ELEVAGE-SPV	Professeur
KRAFFT	Emilie	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Maître de conférences
LAABERKI	Maria-Halima	DEPT-ELEVAGE-SPV	Maître de conférences
LAMBERT	Véronique	DEPT-BASIC-SCIENCES	Maître de conférences
LE GRAND	Dominique	DEPT-ELEVAGE-SPV	Professeur
LEBLOND	Agnès	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Professeur
LEDOUX	Dorothée	DEPT-ELEVAGE-SPV	Maître de conférences
LEFEBVRE	Sébastien	DEPT-BASIC-SCIENCES	Maître de conférences
LEFRANC-POHL	Anne-Cécile	DEPT-BASIC-SCIENCES	Maître de conférences
LEGROS	Vincent	DEPT-ELEVAGE-SPV	Maître de conférences
LEPAGE	Olivier	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Professeur
LOUZIER	Vanessa	DEPT-BASIC-SCIENCES	Professeur
MARCHAL	Thierry	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Professeur
MOISSONNIER	Pierre	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Professeur
MOUNIER	Luc	DEPT-ELEVAGE-SPV	Professeur
PEPIN	Michel	DEPT-BASIC-SCIENCES	Professeur
PIN	Didier	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Professeur
PONCE	Frédérique	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Professeur
PORTIER	Karine	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Professeur
POUZOT-NEVORET	Céline	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Maître de conférences
PROUILLAC	Caroline	DEPT-BASIC-SCIENCES	Maître de conférences
REMY	Denise	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Professeur
RENE MARTELLET	Magalie	DEPT-ELEVAGE-SPV	Maître de conférences
ROGER	Thierry	DEPT-BASIC-SCIENCES	Professeur
SABATIER	Philippe	DEPT-ELEVAGE-SPV	Professeur
SAWAYA	Serge	DEPT-BASIC-SCIENCES	Maître de conférences
SCHRAMME	Michael	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Professeur
SERGENTET	Delphine	DEPT-ELEVAGE-SPV	Professeur
THIEBAULT	Jean-Jacques	DEPT-BASIC-SCIENCES	Maître de conférences
THOMAS-CANCIAN	Aurélie	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Maître de conférences
TORTEREAU	Antonin	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Maître de conférences
VIGUIER	Eric	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Professeur
VIRIEUX-WATRELOT	Dorothée	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Maître de conférences
ZENNER	Lionel	DEPT-ELEVAGE-SPV	Professeur

A Monsieur le Professeur Olivier THAUNAT
De l'Université Claude Bernard Lyon 1, Faculté de Médecine de Lyon

Pour nous faire l'honneur de présider la soutenance de cette thèse. Hommages respectueux.

A Madame la Professeur Marie ABITBOL
De VetAgro Sup, Campus vétérinaire de Lyon

Pour sa passion pour le sujet et la génétique de manière générale, devenues communicatives, son accompagnement sans failles et sa gentillesse. Mes plus profonds remerciements.

A Monsieur le Professeur Philippe BOSSE
De L'Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort

Pour son intérêt porté à ce manuscrit et ce qu'il contient. Sincères remerciements.

TABLE DES MATIERES

TABLE DES ANNEXES **13**

TABLE DES FIGURES **15**

TABLE DES TABLEAUX **19**

LISTE DES ABREVIATIONS **21**

INTRODUCTION **23**

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE **25**

LA MELANOCYTOGENESE, LA MELANOGENESE ET LEUR CONTROLE GENETIQUE CHEZ LE CHAT **25**

I. RESUME DES MECANISMES DE LA MELANOCYTOGENESE ET DE LA MELANOGENESE 27
A. Embryogénèse et mélanocytogénèse *27*
B. Fonctionnement des mélanocytes *28*
1. Répartition des mélanocytes 29
2. Structure d'un mélanocyte 31
C. Production des pigments *32*
1. Types de pigments : eumélanine et phéomélanine 32
2. Mécanismes de la synthèse 33
3. Contrôle génétique, les gènes *TYR, TYRP1* et *TYRP2* 34
4. Contrôle hormonal 35
a. Les MSH (melanocyte stimulating hormone) 35
b. La mélatonine 36
c. Autres hormones 36
D. Le switch eumélanine/phéomélanine et son contrôle *37*
E. Cycle pilaire et mélanogénèse *38*
F. Gènes impliqués dans la mélanocytogénèse et la mélanogénèse chez le chat *40*
II. DETERMINISME GENETIQUE DE LA COULEUR DANS L'ESPECE FELINE 41
A. Récapitulatif des loci identifiés jusqu'ici *41*
B. Locus Agouti *43*
1. Déterminisme Génétique 43
2. Mode d'action 44
3. Phénotype 45
C. Locus Extension *46*
1. Déterminisme Génétique 46
2. Mode d'action 46
3. Phénotype 47
D. Locus Inhibitor *48*
1. Déterminisme génétique 48
2. Mode d'action 49
3. Phénotype 49
III. LE CHAT SIBERIEN 51
A. Historique de la race *51*
B. Standard de la race *51*
1. Standard LOOF 51
2. Standard FIFe 52
C. Couleurs de robes *54*
D. Historique de la couleur sunshine *56*
IV. QUELLE APPROCHE POUR RECHERCHER LA MUTATION A L'ORIGINE DE LA COULEUR SUNSHINE ? 57
A. Etudes d'association *57*
B. Séquençage de génomes entiers *58*

C. Etudes d'homozygotie *59*
D. Gènes candidats majeurs pour la modification sunshine du Sibérien *60*
1. *MC1R* 61
a. Mode d'action 61
b. Phénotypes résultants 61
2. *ASIP* 63
a. Mode d'action 63
b. Phénotypes résultants 63
3. *RALY* 64
4. *CORIN* 66
a. Mode d'action 66
b. Phénotypes résultants 67
5. *SLC24A5* 67
a. Mode d'action 67
b. Phénotypes résultants 69
6. *CBD103* 71

PARTIE EXPERIMENTALE 73

ETUDE PHENOTYPIQUE, GENEALOGIQUE ET GENETIQUE DE LA COULEUR SUNSHINE 73

I. BUT DE L'ETUDE 75
II. MATERIEL ET METHODE 77
A. Animaux *77*
1. Chats 77
2. Méthode de recrutement 77
3. Critères d'inclusion 77
4. Fiche de prélèvement, consentement et éthique 77
B. Arbres généalogiques *78*
C. Analyse des phénotypes *78*
D. Extractions des ADN *78*
1. Extraction de l'ADN à partir des échantillons sanguins 78
2. Extraction de l'ADN à partir des brossettes buccales 78
3. Concentration des ADN 79
E. Génotypage sur puce *79*
F. Séquençage de génome entier *79*
G. Analyses statistiques des génotypes *79*
H. Prédiction de l'effet des variants SNP *79*
I. Génotypage pour le variant *80*
J. Alignement des protéines *80*
III. RESULTATS 81
A. Etude phénotypique *81*
1. Patron brown sunshine tabby 81
2. Couleurs dérivées du sunshine 86
a. Modification sunshine sur une base silver tabby, aussi appelée bimétal 86
b. Modification sunshine sur le patron colourpoint, Sibérien de variété Neva masquerade 89
B. Etude généalogique et déterminisme génétique *90*
1. Etude généalogique 90
2. Analyse du mode de transmission 97
C. Etude moléculaire *98*
1. Analyse du séquençage de génome entier 98
a. Variants présents à l'état homozygote dans un gène candidat 98
b. Variants présents à l'état homozygote dans des gènes de pigmentation autres 99
2. Etude d'association 99

3. Etude d'homozygotie 104
4. Etude du variant candidat retenu 106
IV. DISCUSSION 109
A. Emergence du sunshine *109*
B. Définition phénotypique du sunshine *110*
1. Sunshine et bimétal 110
2. Sunshine ou goldenSib 112
3. Neva masquerade et sunshine 113
4. Roux et sunshine 114
5. Aspect évolutif du sunshine 114
C. Génotypage et cartographie du locus du sunshine *114*
1. Etude d'association et cartographie d'homozygotie 114
2. Différentes versions de l'annotation du génome félin 116
3. Le gène candidat *CORIN* 117
D. Questions soulevées par l'étude du sunshine *118*
1. Les chats unis n'expriment-ils pas le phénotype sunshine ? 118
4. *ASIP*, *CORIN* et *MC1R* 124
CONCLUSION 129
BIBLIOGRAPHIE 131
WEBOGRAPHIE 141
ANNEXES 143

TABLE DES ANNEXES

ANNEXE 1 : LISTE DES CHATS SIBERIEN INCLUS DANS LE PROJET DE RECHERCHE 143
ANNEXE 2 : CERTIFICAT DE PRELEVEMENT 144
ANNEXE 3 : AVIS DU COMITE D'ETHIQUE DE VETAGRO SUP..... 145
ANNEXE 4 : EXTRAITS DU MANUEL DE L'AUTOMATE MAXWELL 16 (PROMEGA) 146
ANNEXE 5 : VARIANTS PRESENTS A L'ETAT HOMOZYGOTE DANS DES GENES DE PIGMENTATION, CHEZ LE CHAT SEQUENCE 152
ANNEXE 6 : LISTE DES GENES PRESENTS DANS LA REGION CANDIDATE 154
ANNEXE 7 : ALIGNEMENT DES PROTEINES CORIN CHEZ DIFFERENTES ESPECES 158

TABLE DES FIGURES

FIGURE 1 : MIGRATION DES MELANOBLASTES DURANT L'EMBRYOGENESE.....27
FIGURE 2 : LA MELANOCYTOGENESE ET LA MELANOGENESE ET LEUR REGULATION GENETIQUE 28
FIGURE 3 : LOCALISATION DES MELANOCYTES DANS LE CORPS ET PRESENTATION DE LEURS FONCTIONS SUPPOSEES 29
FIGURE 4 : LOCALISATION DES MELANOCYTES DANS LE DERME 30
FIGURE 5 : LOCALISATION DES MELANOCYTES DANS LE FOLLICULE PILEUX 30
FIGURE 6 : MISE EN EVIDENCE PAR IMMUNOHISTOCHIMIE DE LA PRESENCE DES MELANOCYTES ET DE LEUR REPARTITION DANS DIFFERENTS TISSUS 30
FIGURE 7 : MELANOSOMES VUS EN MICROSCOPIE ELECTRONIQUE 31
FIGURE 8 : TRANSFERT DES MELANOSOMES AUX KERATINOCYTES 32
FIGURE 9 : BILAN DE LA BIOSYNTHESE DES DIFFERENTS PIGMENTS MELANIQUES.....33
FIGURE 10 : PATRONS ASSOCIES AUX ALLELES DU GENE *TYR* CHEZ LE CHAT 34
FIGURE 11 : CHATS COLOURPOINT, CHOCOLAT, ET CANNELLE 35
FIGURE 12 : REGULATION DE LA MELANOGENESE PAR MC1R ET L' A-MSH CHEZ L'HOMME.....36
FIGURE 13 : CONTROLE DU *SWITCH* ENTRE PRODUCTION DE PHEOMELANINE ET D'EUMELANINE 37
FIGURE 14 : PHASES DU CYCLE PILAIRE 38
FIGURE 15 : LES DIFFERENTES STADES DE LA PHASE ANAGENE 38
FIGURE 16 : STRUCTURE D'UN FOLLICULE PILEUX.....39
FIGURE 17 : CHAT BROWN TABBY (A^+/A OU A^+/A^+) ET CHAT NON-AGOUTI OU « *SOLID* » (*A/A*) NOIR AVEC MEDAILLON BLANC 43
FIGURE 18 : PATRONS CHARBONNES CHEZ LE CHAT BENGAL 44
FIGURE 19 : REPARTITION DES PIGMENTS MELANIQUES SUR LE POIL FELIN.....45
FIGURE 20 : MARQUAGE FANTOME CHEZ UN JAGUAR.....46
FIGURE 21 : AMBRE CHEZ LE NORVEGIEN (A), CARNELIAN CHEZ LE KURILIAN BOBTAIL (B) ET RUSSET CHEZ LE BURMESE (C).....46
FIGURE 22 : EVOLUTION DE LA COULEUR CARNELIAN CHEZ LE KURILIAN BOBTAIL 47
FIGURE 23 : NORVEGIEN AMBRE NON-AGOUTI, A DEUX MOIS (C) ET A NEUF MOIS (D).....47
FIGURE 24 : KURILIAN BOBTAIL DE COULEUR SERDOLIC SILVER 48
FIGURE 25 : CHATONS ROUX (A GAUCHE), SILVER TABBY (DEUX INDIVIDUS AU MILIEU) ET BROWN TABBY (DEUX INDIVIDUS A DROITE) 48
FIGURE 26 : POILS DE CHATS SILVER (A) ET SMOKE (B) COMPARES A DES POILS NON MODIFIES (C) 49
FIGURE 27 : INFLUENCE DU LOCUS *I* SUR LA REPARTITION DES PIGMENTS CHEZ LE CHAT 50
FIGURE 28 : SIBERIEN DE COULEUR BROWN TABBY 54
FIGURE 29 : SIBERIEN SILVER TABBY.....54
FIGURE 30 : SIBERIEN SUNSHINE TABBY 54
FIGURE 31 : EXEMPLE DE RESULTATS DE GENOTYPAGE SUR PUCE FELINE POUR LE CARACTERE «POIL LONG».....58
FIGURE 32 : EXEMPLE DE RESULTAT D'UNE ETUDE D'HOMOZYGOTIE CHEZ UNE FAMILLE DE CHATS SPHYNX PRESENTANT UNE MYASTHENIE CONGENITALE AUTOSOMIQUE RECESSIVE 60
FIGURE 33 : REPRESENTATION EN DEUX DIMENSIONS DE LA STRUCTURE TRANSMEMBRANAIRE DE MC1R CHEZ L'ANE ET DES MUTATIONS PERTES DE FONCTION CHEZ LES MAMMIFERES 61
FIGURE 34 : PHENOTYPES SAUVAGE (A GAUCHE) ET MUTE (A DROITE) CHEZ DES OTARIES A FOURRURE D'ANTARCTIQUE.....62
FIGURE 35 : CHEVRES MURCIANO-GRANADINA PRESENTANT LES PHENOTYPES NOIR (DOMINANT) ET ROUX (RECESSIF) LIES A DES MUTATIONS SUR *MC1R* 62
FIGURE 36 : PHENOTYPES DES SOURIS AGOUTI A VENTRE CLAIR (A), AGOUTI (B) ET *« BLACK AND TAN »* (C) 63
FIGURE 37 : SPITZ-LOUP DE COULEUR GRIS-LOUP (A), DOBERMANN NOIR ET FEU (B), BERGER DES SHETLAND FAUVE CHARBONNE (C) ET BERGER ALLEMAND NOIR (D) 64
FIGURE 38 : PHENOTYPE *LETHAL YELLOW* CHEZ UNE SOURIS HETEROZYGOTE 64
FIGURE 39 : CHIENS FAUVES A MANTEAU ET NOIRS ET FEUS.....65
FIGURE 40 : COMPARAISON ENTRE LES PHENOTYPES D'UN TIGRE ROUX ET D'UN TIGRE DORE.....66

FIGURE 41 : EFFETS DE *CORIN* SUR LES PHENOTYPES DE SOURIS AGOUTIS....67
FIGURE 42 : FONCTIONNEMENT DE L'ECHANGEUR NCKX5 DANS UN MELANOCYTE EPIDERMIQUE ...68
FIGURE 43 : VARIATIONS PHENOTYPIQUES DE PATIENTS ATTEINTS D'ALBINISME OCULOCUTANE DE TYPE 6 (OCA6) 69
FIGURE 44 : CHEVAL ISABELLE, PRESENTANT LA DILUTION CREME A L'ETAT HETEROZYGOTE....70
FIGURE 45 : ECHELLE PHENOTYPIQUE UTILISEE POUR DETERMINER LA COULEUR D'ŒIL CHEZ LE CHEVAL PASO FINO....70
FIGURE 46 : PRODUCTION REGULEE DES EUMELANINES ET PHEOMELANINES CHEZ LE CHIEN 71
FIGURE 47 : SIBERIEN SUNSHINE MACKEREL TABBY....82
FIGURE 48 : SOUS-POIL D'UN CHAT SUNSHINE MACKEREL TABBY 82
FIGURE 49 : PHOTO DE POILS DE CHAT BROWN SUNSHINE TABBY ET REPARTITION DES PIGMENTS 82
FIGURE 50 : SIBERIEN BROWN TABBY AVEC ET SANS MODIFICATION SUNSHINE....83
FIGURE 51 : CARACTERISTIQUES FACIALES DE LA MODIFICATION SUNSHINE 84
FIGURE 52 : SIBERIEN BROWN SUNSHINE TABBY ADULTE....84
FIGURE 53 : SIBERIEN BROWN SUNSHINE TABBY ET BLANC, MALE ADULTE....85
FIGURE 54 : EVOLUTION DE LA MODIFICATION SUNHINE CHEZ LE CHAT BROWN TABBY 85
FIGURE 55 : SIBERIEN BLACK SUNSHINE SILVER TABBY, FEMELLE ADULTE....87
FIGURE 56 : SIBERIEN BLACK SUNSHINE SILVER TABBY, JEUNE FEMELLE....87
FIGURE 57 : PHOTOGRAPHIES DE POILS D'UN CHAT BLACK SUNSHINE SILVER TABBY 88
FIGURE 58 : REPARTITION SCHEMATIQUE DES PIGMENTS DANS LES DIFFERENTS TYPES DE POILS OBSERVES CHEZ UN CHAT BLACK SUNSHINE SILVER TABBY 88
FIGURE 59 : SIBERIEN SUNSHINE NEVA MASQUERADE, MALE ADULTE....89
FIGURE 60 : SIBERIEN SUNSHINE (ET PROBABLEMENT SILVER) NEVA MASQUERADE, MALE ADULTE..90
FIGURE 61 : SIBERIEN BROWN SUNSHINE TABBY FEMELLE A CINQ MOIS....90
FIGURE 62 : ARBRE GENEALOGIQUE PARTIEL DE LA FEMELLE BROWN SUNSHINE TABBY DONT LE GENOME A ETE SEQUENCE....91
FIGURE 63 : ARBRE GENEALOGIQUE DE LA FEMELLE DONT LE GENOME A ETE SEQUENCE 92
FIGURE 64 : ARBRE GENEALOGIQUE ILLUSTRANT LA TRANSMISSION RECESSIVE DU SUNSHINE SUR PLUSIEURS GENERATIONS 94
FIGURE 65 : ARBRE GENEALOGIQUE DES PREMIERS BIMETAL SUPPOSES 95
FIGURE 66 : EXEMPLE D'UN ARBRE GENEALOGIQUE D'UN CHAT BIMETAL....96
FIGURE 67 : MANHATTAN PLOT DE L'ETUDE D'ASSOCIATION CHEZ LES 25 CHATS SIBERIEN 100
FIGURE 68 : MANHATTAN PLOT DE L'ETUDE D'ASSOCIATION CHEZ LES 25 CHATS SIBERIEN, APRES REASSIGNATION DE CERTAINS SNP 103
FIGURE 69 : REGION HOMOZYGOTE PARTAGEE PAR LES CHATS SUNSHINE, UNE FOIS LES MARQUEURS REASSIGNES 105
FIGURE 70 : PERSAN GOLDEN SHADED....109
FIGURE 71 : COMPARAISON DU GOLDEN SHADED ET DU SUNSHINE....110
FIGURE 72 : REPRESENTATION SCHEMATIQUE DE POILS AGOUTIS, NON-AGOUTIS ET DE POILS SUNSHINE 111
FIGURE 73 : COMPARAISON DE CHATONS BIMETAL (SUNSHINE SILVER), SUNSHINE, ET BROWN TABBY 112
FIGURE 74 : SIBERIEN DE COULEUR GOLDENSIB....113
FIGURE 75 : BASES DES POILS DE COULEUR NOISETTE CHEZ UN SIBERIEN GOLDENSIB 113
FIGURE 76 : EXEMPLE DE MANHATTAN PLOT SIGNIFICATIF CHEZ LE CHAT 115
FIGURE 77 : PHOTOGRAPHIES DE CHATS SIBERIEN BIMETALS....119
FIGURE 78 : COMPARAISON ENTRE UN SIBERIEN SUNSHINE ET UN SIBERIEN AVEC UN PELAGE ROUX-ABRICOT DISTINCT DU SUNSHINE....120
FIGURE 79 : CHATS SIBERIENS PRESENTANT UN PHENOTYPE EXTREME GOLDEN....121
FIGURE 80 : BRITISH SHORTHAIR EXTRÊME GOLDEN DE FACE 122
FIGURE 81 : BRITISH SHORTHAIR EXTREME GOLDEN....122
FIGURE 82 : MÂLE BRITISH SHORTHAIR GOLDEN BLOTCHED TABBY 123
FIGURE 83 : FEMELLE BRITISH SHORTHAIR GOLDEN SPOTTED TABBY 124
FIGURE 84 : KURILIAN BOBTAIL TABBY ET DE PHENOTYPE CARNELIAN (SERDOLIC) 125
FIGURE 85 : KURILIAN BOBTAIL UNIS *A/A* ET CARNELIAN (SERDOLIC) 125

FIGURE 86 : KURILIAN BOBTAIL GOLDEN TABBY ET HETEROZYGOTE POUR UNE MUTATION DE *MC1R* 126
FIGURE 87 : KURILIAN BOBTAIL BLACK SILVER CARNELIAN 126
FIGURE 88 : RESUME DES HYPOTHESES D'INTERACTIONS ENTRE LES PROTEINES CORIN, ASIP ET MC1R 127

TABLE DES TABLEAUX

TABLEAU I : RECAPITULATIF DES LOCI, ALLELES ET GENES ASSOCIES A DIFFERENTES COULEURS DANS L'ESPECE FELINE 41
TABLEAU II : RECAPITULATIF DU STANDARD FIFE POUR LE CHAT SIBERIEN 53
TABLEAU III : CODE EMS UTILISE POUR LA DESCRIPTION DE LA ROBE CHEZ LE SIBERIEN 55
TABLEAU IV : PORTEES ANALYSEES EN FONCTION DE LA COULEUR DES PARENTS ET DES CHATONS .. 97
TABLEAU V : ANALYSE STATISTIQUE DES PORTEES 97
TABLEAU VI : VARIANTS HOMOZYGOTES NON SYNONYMES IDENTIFIES DANS LE GENE CANDIDAT *CORIN* 98
TABLEAU VII : LISTE DES CHATS GENOTYPES SUR PUCE 99
TABLEAU VIII : RESULTATS DE L'ETUDE D'ASSOCIATION, AVANT ET APRES CORRECTION DE BONFERRONI, POUR LES 20 MARQUEURS PRESENTANT LES *P-VALUES* LES PLUS SIGNIFICATIVES 101
TABLEAU IX. RESULTATS DE L'ETUDE D'ASSOCIATION, AVANT ET APRES CORRECTION DE BONFERRONI, POUR LES 20 MARQUEURS PRESENTANT LES P-VALUES LES PLUS SIGNIFICATIVES, APRES REASSIGNATION SUR LE GENOME DE REFERENCE FELIS_CATUS 9.0 102
TABLEAU X. GENOTYPES DES CHATS POUR LE VARIANT C.2383C>T DE *CORIN* 106

LISTE DES ABREVIATIONS

α-MSH : *alpha melanocyte stimulating hormone*
AC : adénylate cyclase
ACTH : *adenocorticotropin hormone*
ADN : acide désoxyribonucléique
AMPc/cAMP : adénosine monophosphate cyclique
ASIP : *agouti signaling protein*
ATP : *adénosine triphosphate*
CASib : Cercle des Amateurs de chats Sibérien
CBD103 : béta-défensine 103
CORIN : *CORIN, serine peptidase*
CREB1 : *cAMP responsive element-binding protein 1*
DCT : dopachrome tautomérase (aussi connu sous l'abréviation TYRP2)
DHI : 5,6-dihydroxyindole
DHICA : acide 5,6-dihydroxyindolecarboxylique
DOPA : dihydroxyphénylalanine
DOPAchrome : acide dihydroxyindole carboxylique
EDN3 : endothéline 3
EDNRB : endothéline B
EDTA : Ethylène Diamine Tétra-Acétique
EIF2S2 : *Eukaryotic Translation Initiation Factor 2 Subunit Beta*
EMS : *Easy Mind System*
FIFe : Fédération internationale féline
GWAS : *genome wide association study*
INDEL : courte insertion ou délétion
kb: kilobase, soit 1000 paires de bases d'ADN ou 1000 bases d'ARN
KIT : *KIT proto-oncogene, receptor tyrosine kinase*
KITLG : KIT ligand
L-DOPA : L-dihydroxyphénilalanine
LDLR : *Low-Density Lipoprotein Receptor*
LOOF : Livre Officiel des Origines Félines
MC1R : *melanocortin 1 receptor*
MITF : *microphthalmia-associated transcription factor*
MLPH : *melanophilin*
MSC : *melanocytes stem cells*
MSH : *melanocyte stimulating hormone*
NA : non applicable (ici, se réfère à un gène non identifié)
NCKX5 : *sodium/potassium/calcium exchanger 5*
NFIB : *nuclear factor I/B*
NGS : *next generation sequencing*
OCA (1 à 6) : *oculocutaneous albinism*, types 1 à 6
PAX3 : *paired box 3*
PCR : *polymerase chain reaction*
PDGF : *platelet-derived growth factor*
PKA : protéine kinase A
PMEL17/SILV : *premelanosome protein 17*
POMC : pro-opiomélanocortine (précurseur des MSH)
proANP : *pro atrial natriuretic peptide*

RALY : *RALY Heterogeneous Nuclear Ribonucleoprotein*
SLC18A2 : *solute carrier family 18 member 2*
SLC24A5 : *solute carrier family 24 member 5*
SLC36A1 : *solute carrier family 36 member 1*
SLC45A2 : *solute carrier family 45 member 2*
SNP : *single nucleotide polymorphism*
SR : *scavenger receptor*
TAQPEP : *transmembrane aminopeptidase Q*
TYR : tyrosinase
TYRP1/TRP1 : *tyrosinase related protein 1*
TYRP2/TRP2 : *tyrosinase related protein 2*
UN : *unknown* (ici, représente une région de chromosome inconnue)
UV : ultraviolets
WCF : *World Cat Federation*
WGS : *whole genome sequencing*

INTRODUCTION

Le chat des forêts sibériennes, ou Sibérien, est une race qui ne cesse de gagner en popularité en France. En 2019, il était classé en huitième place en nombre de naissances enregistrées au LOOF (Livre Officiel des Origines Félines). Sa carrure imposante, son poil mi-long et épais et son tempérament agréable sont quelques-uns des atouts de ce chat attachant.

Parmi les caractéristiques propres à chaque individu félin, l'une d'entre elles oriente souvent le choix des propriétaires quant à leur futur compagnon : la couleur. Les chats Sibérien présentent une grande diversité de couleurs de robe, parmi lesquelles, ces dernières années, a émergé une couleur dorée propre à la race : le « golden », aussi appelé « sunshine ». Intrigante tout autant qu'intéressante pour les éleveurs, elle se caractérise notamment par sa combinaison possible avec une autre couleur appelée « silver », donnant ainsi des chats qualifiés de « bimétals ». Parmi les éleveurs, Eleonora Ruggiero, aussi juge internationale en compétitions félines, fut la première à s'intéresser à cette couleur si particulière du Sibérien.

La mise en évidence de la transmission héréditaire de la couleur sunshine, ou plus précisément de la modification de la couleur appelée sunshine, a conduit à l'émergence de nombreuses questions, qui ont participé à la genèse de ce travail de thèse : comment définir phénotypiquement le sunshine ; quelle est son origine génétique et la probabilité de transmission à la descendance ? Était-il possible d'identifier le gène et la mutation en cause, et ainsi d'aboutir à la création d'un test de dépistage des reproducteurs pour la détection de cette couleur ?

La première partie bibliographique de notre travail a été consacrée à la présentation des bases de la mélanocytogénèse et de la mélanogénèse, au déterminisme moléculaire de la couleur du pelage chez le chat, ainsi qu'au déterminisme génétique des différentes couleurs et patrons de robe félines. Dans cette partie nous avons également abordé l'origine de la race Sibérien et rappelé les stratégies qui permettent de rechercher des gènes et mutations chez le chat domestique.

Dans la seconde partie, expérimentale, nous avons présenté l'étude de la modification de la couleur sunshine du chat Sibérien : sa définition phénotypique, son mode de transmission et son origine moléculaire (recherche du gène et de la mutation en cause). La discussion présentée à la fin de ce travail avait de plus pour vocation de mettre en perspective le sunshine du Sibérien avec d'autres couleurs proches, décrites chez d'autres races de chats, en espérant ouvrir la possibilité à d'autres études, fortes des connaissances apportées par le travail initié chez le Sibérien.

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

LA MELANOCYTOGENESE, LA MELANOGENESE ET LEUR CONTROLE GENETIQUE CHEZ LE CHAT

I. RESUME DES MECANISMES DE LA MELANOCYTOGENESE ET DE LA MELANOGENESE

Les mécanismes de la pigmentation sont des mécanismes complexes, faisant intervenir de très nombreux gènes. Ce que l'on appelle alors le génotype (composition génétique de l'individu) a donc une grande influence sur le phénotype, c'est-à-dire ici l'aspect macroscopique de la couleur de l'animal.

La variation de ce phénotype se fait à deux niveaux :

- au niveau de la distribution spatiale de la pigmentation sur le corps ;
- au niveau de la densité et de la disposition de la pigmentation dans chaque poil.

Le contrôle de ces phénomènes s'effectue tout au long de la mélanocytogénèse, de la formation des mélanoblastes à la formation et à la migration des mélanocytes (Hoekstra, 2006).

A. Embryogénèse et mélanocytogénèse

Il a été montré que toutes les cellules pigmentaires des vertébrés partagent une origine commune : la crête neurale. Ces cellules de la crête neurale vont ensuite devenir des mélanoblastes**,** cellules souches à fortes capacités prolifératives, qui vont alors migrer, suivant deux voies différentes (détaillées dans la fig. 1), en direction de différents sites de la peau, entre autres (Cichorek et al., 2013).

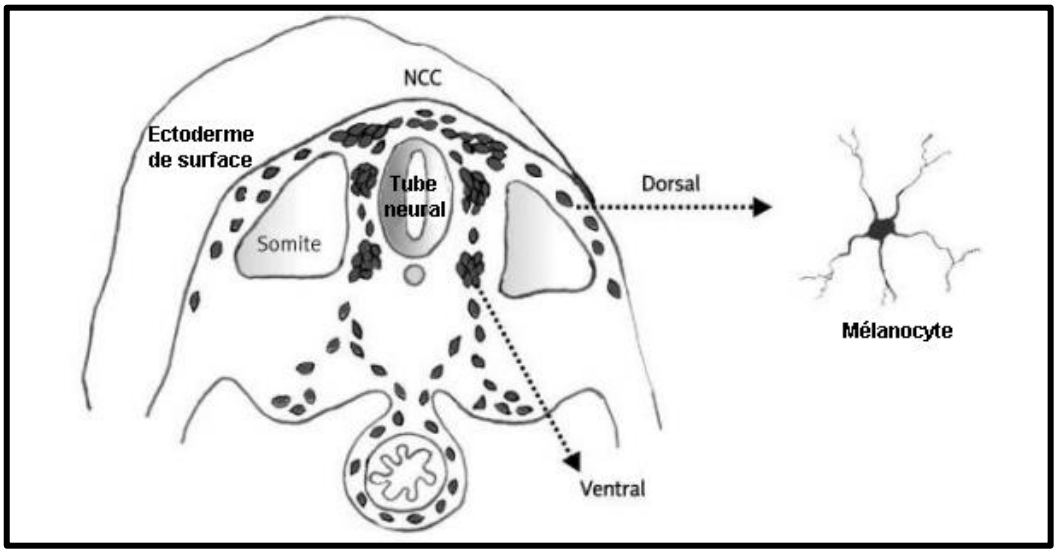


Figure 1 : Migration des mélanoblastes durant l'embryogénèse (d'après Cichorek et al., 2013)
NCC = cellules de la crête neurale ; ces cellules migrent par deux voies, la voie principale, dorso-latérale entre somites et ectoderme, donnant les mélanocytes de l'épiderme et des poils, et la voie accessoire, ventrale, entre le tube neural et les somites, donnant certains éléments du système nerveux périphériques, et quelques autres mélanocytes de la peau

Cette migration est sous le contrôle de nombreux gènes, certains codant des facteurs de transcription, comme *PAX3* (*paired box 3*) et *MITF* (*microphthalmia-associated transcription factor*), d'autres pour des facteurs de croissance, tels que *PDGF* (*platelet derived growth factor*) et *EDNRB* (récepteur à l'endothéline type B), permettant notamment de réguler la prolifération des mélanoblastes en même temps que leur migration (Alhaidari et al., 2002).

Les mélanoblastes colonisent ainsi l'épiderme et s'y différencieront en mélanocytes, des cellules capables de synthétiser les pigments de mélanine grâce à, entre autres, la tyrosinase, une enzyme incorporée dans la paroi des mélanosomes. Les mélanosomes, organites spécialisés où est effectuée la synthèse des pigments, peuvent ensuite être transférés aux kératinocytes de l'épiderme ou du poil (fig.2). On observe une distinction entre mélanocytes folliculaires (qui donnent leur couleur aux poils) et non folliculaires ou épidermiques (déterminant la couleur de la peau). Les premiers colonisent le follicule pileux et plus exactement la papille dermique, et les seconds se distribuent dans l'épiderme. Ces deux populations peuvent, chez l'humain, être régulées de façon indépendante, grâce à l'intervention de divers gènes (Allen et al., 2014).

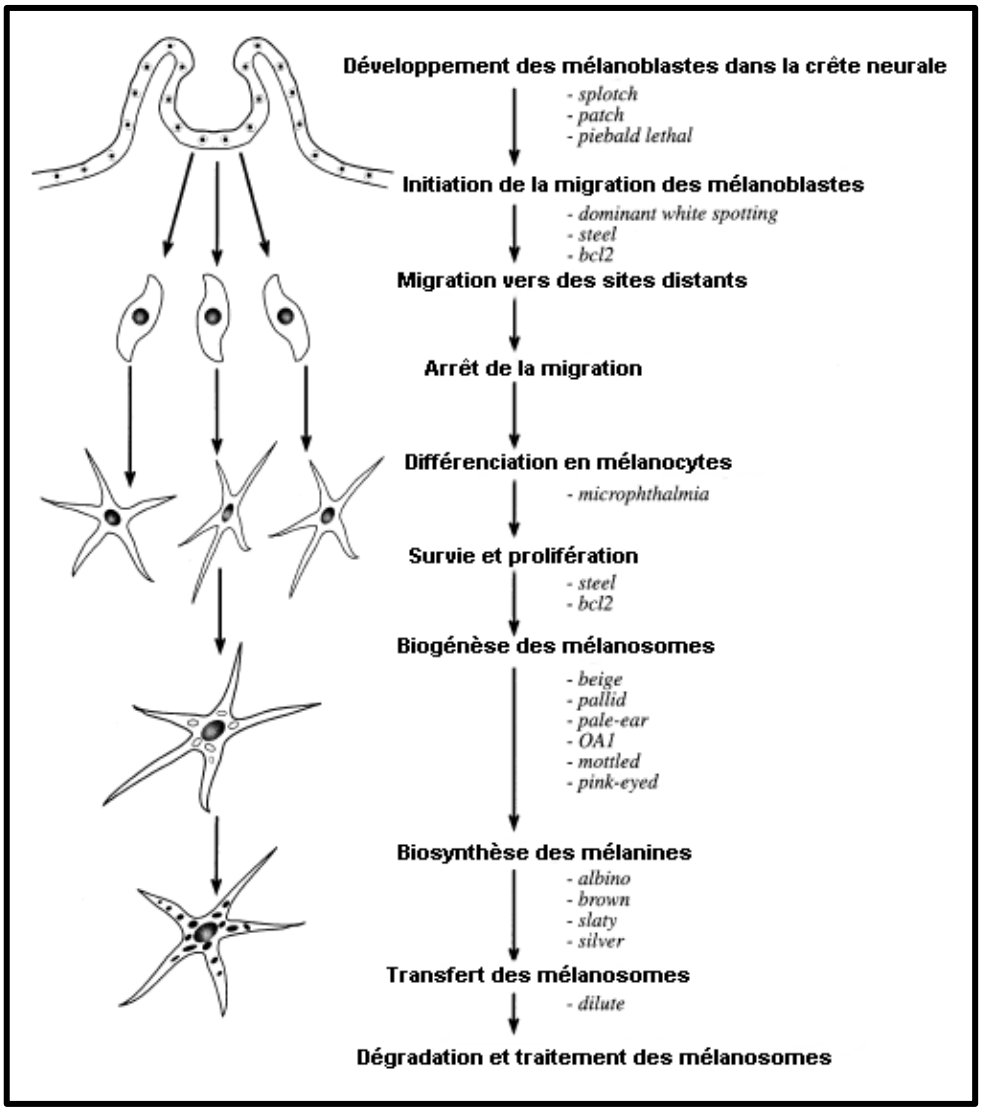


Figure 2 : La mélanocytogénèse et la mélanogénèse et leur régulation génétique (d'après Alhaidari et al., 2002)

En italique sont indiquées des mutations de souris dont le gène est impliqué dans l'étape concernée.

B. Fonctionnement des mélanocytes

Les mélanocytes sont des cellules spécialisées capables de produire des pigments, les mélanines, que l'on classifie habituellement en deux grands types : les mélanines foncées ou eumélanines (plutôt brunes à noires) et les mélanines claires ou phéomélanines (plutôt jaunes à rouges) (Slominski et al., 2004).

1. Répartition des mélanocytes

En plus des mélanocytes cutanés (qu'ils soient folliculaires ou épidermiques), il existe aussi des mélanocytes non cutanés, constitués, entre autres, par les mélanocytes de l'œil, de l'oreille interne ou du cœur (fig.3) (Aoki et al., 2009).

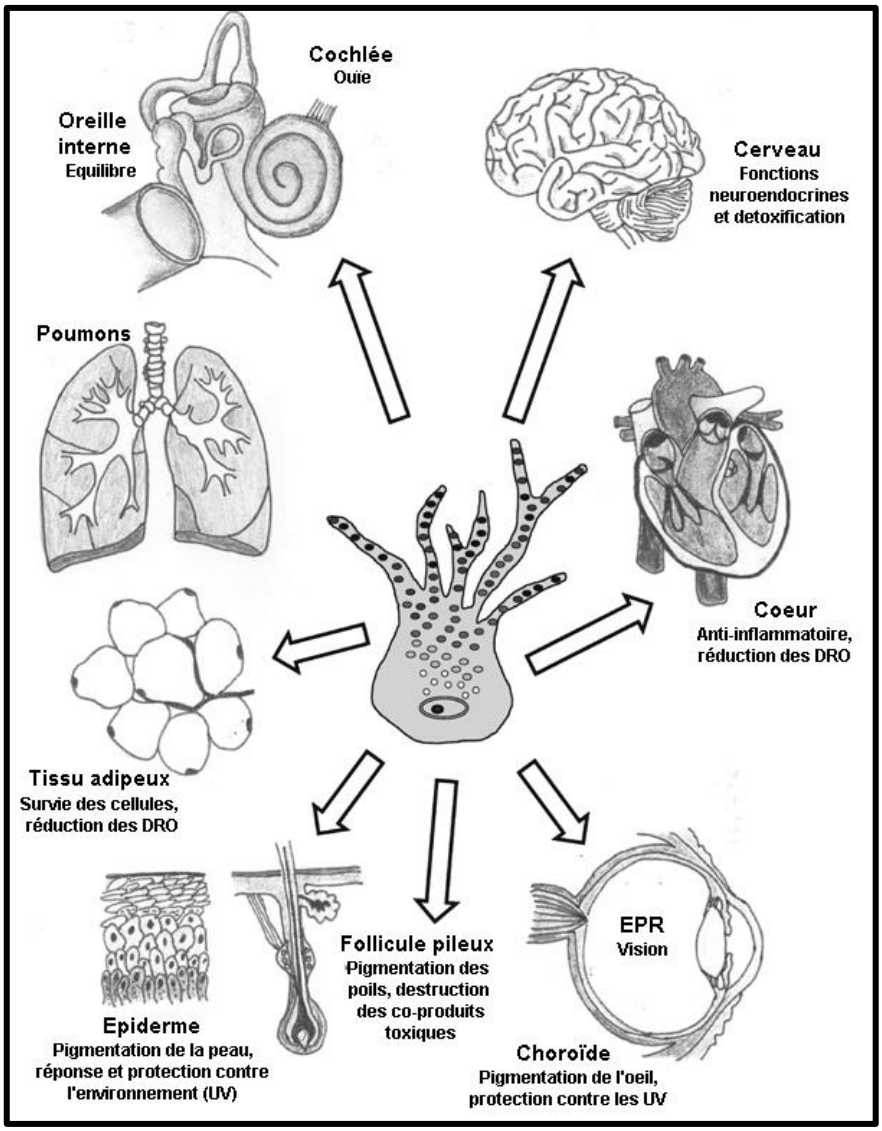


Figure 3 : Localisation des mélanocytes dans le corps et présentation de leurs fonctions supposées (d'après Plonka et al., 2009)

EPR = épithelium pigmentaire rétinien, DRO = dérivés réactifs de l'oxygène

La répartition histologique des mélanocytes varie selon l'organe concerné. Ainsi, dans la peau, ils sont situés au niveau de la couche basale de l'épiderme, au niveau de la jonction dermo-épidermique (fig.4). Dans le follicule pileux, ils sont répartis au niveau du bulbe de celui-ci (fig.5 ; Haskell, 2010).

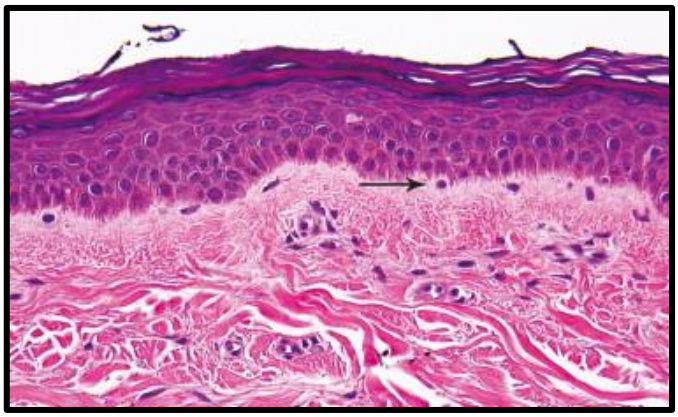


Figure 4 : Localisation des mélanocytes dans le derme (Haskell, 2010)
La flèche pointe un mélanocyte.

Figure 5 : Localisation des mélanocytes dans le follicule pileux
À gauche : coupe histologique d'un follicule pileux (flèche du haut : enveloppe, flèche du bas : bulbe) (Haskell, 2010)
À droite : marquage immunohistochimique de TYRP1 (*tyrosinase related protein 1*) permettant de localiser les mélanocytes dans le bulbe (Commo et Bernard, 2000)

Des mélanocytes ont également été mis en évidence dans différentes régions comme l'oreille interne ou l'iris (fig.6).

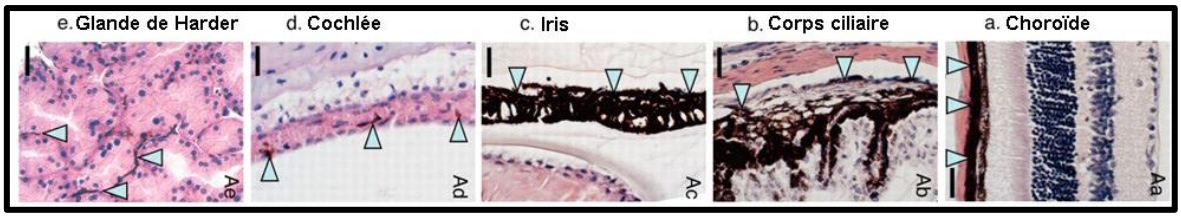


Figure 6 : Mise en évidence par immunohistochimie de la présence des mélanocytes et de leur répartition dans différents tissus (d'après Aoki et al., 2009)
Un anticorps anti-KIT (*KIT proto-oncogene, receptor tyrosine kinase*) a été utilisé. KIT est un récepteur exprimé par les mélanocytes. Les pointes de flèche montrent les mélanocytes.

Chez l'homme, il a été montré que la densité des mélanocytes ne variait pas en fonction de la couleur de peau des individus. En effet, une personne à la peau foncée a en moyenne la même densité de mélanocytes qu'une personne à la peau claire (entre 12,2 et 12,8 mélanocytes par mm^2 de peau). Ce n'est donc pas la densité, mais le fonctionnement des mélanocytes qui permet la variation de couleur d'une région à l'autre du corps, et d'une personne à l'autre (Yamaguchi et al., 2006).

2. Structure d'un mélanocyte

Les mélanocytes possèdent des mélanosomes, des lysosomes modifiés où s'effectue la synthèse des mélanines. La formation des mélanosomes est complexe et fait intervenir de nombreux gènes (Alhaidari et al., 2002).

La structure des mélanosomes varie selon le pigment qu'ils sont capables de synthétiser. En effet, il a été montré, en microscopie électronique, que les mélanosomes produisant de l'eumélanine (autrement appelés eumélanosomes) présentaient des dépôts d'eumélanine ordonnés en fonction des fibres de leur matrice, tandis que les phéomélanosomes, produisant de la phéomélanine, avaient une structure complètement désordonnée. Ces différents types de mélanosomes spécialisés peuvent exister de façon conjointe dans un même mélanocyte, qui sera alors capable de produire les deux types de pigments (fig.7 ; Slominski et al., 2004).

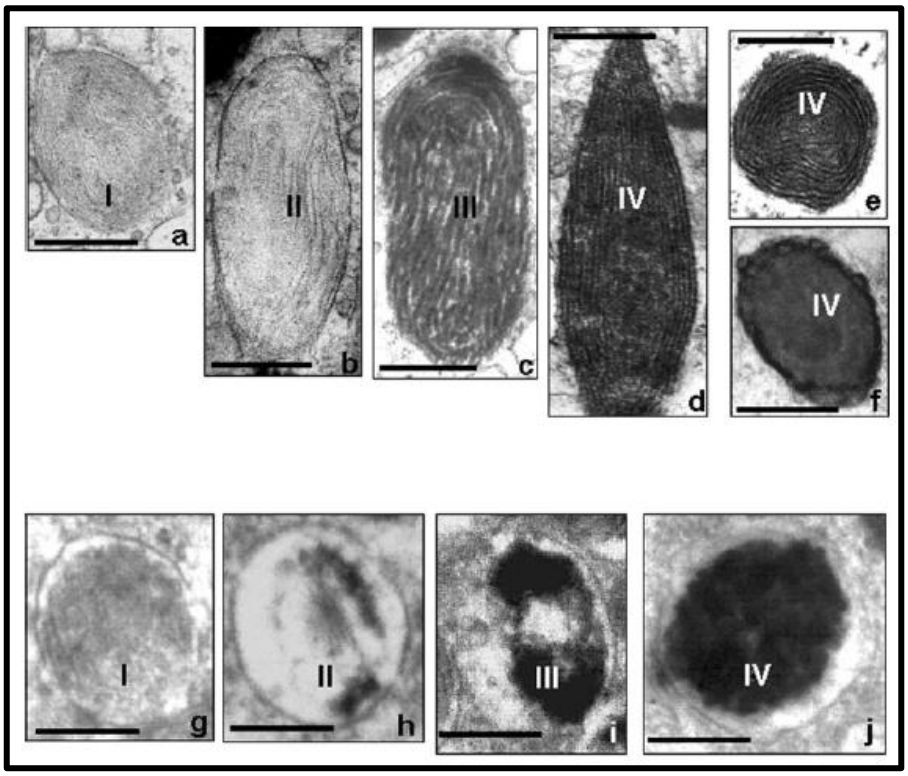


Figure 7 : Mélanosomes vus en microscopie électronique (Slominski et al., 2004)
Les figures a à f représentent des eumélanosomes à différent stades de leur développement (I à IV), tandis que les figures g à j représentent des phéomélanosomes. On distingue le dépôt de mélanine ordonné en lamelles dans les eumélanosomes.

La pigmentation de l'épiderme est due au transfert des mélanosomes aux kératinocytes, cellules qui constituent la majeure partie de la couche cornée de l'épiderme, avec lesquelles les mélanocytes sont en association tout au long de leur vie (Slominski et al., 2004). Plusieurs mécanismes ont été proposés pour ce transfert, que nous ne détaillerons pas ici, mais qui sont résumés dans la figure 8.

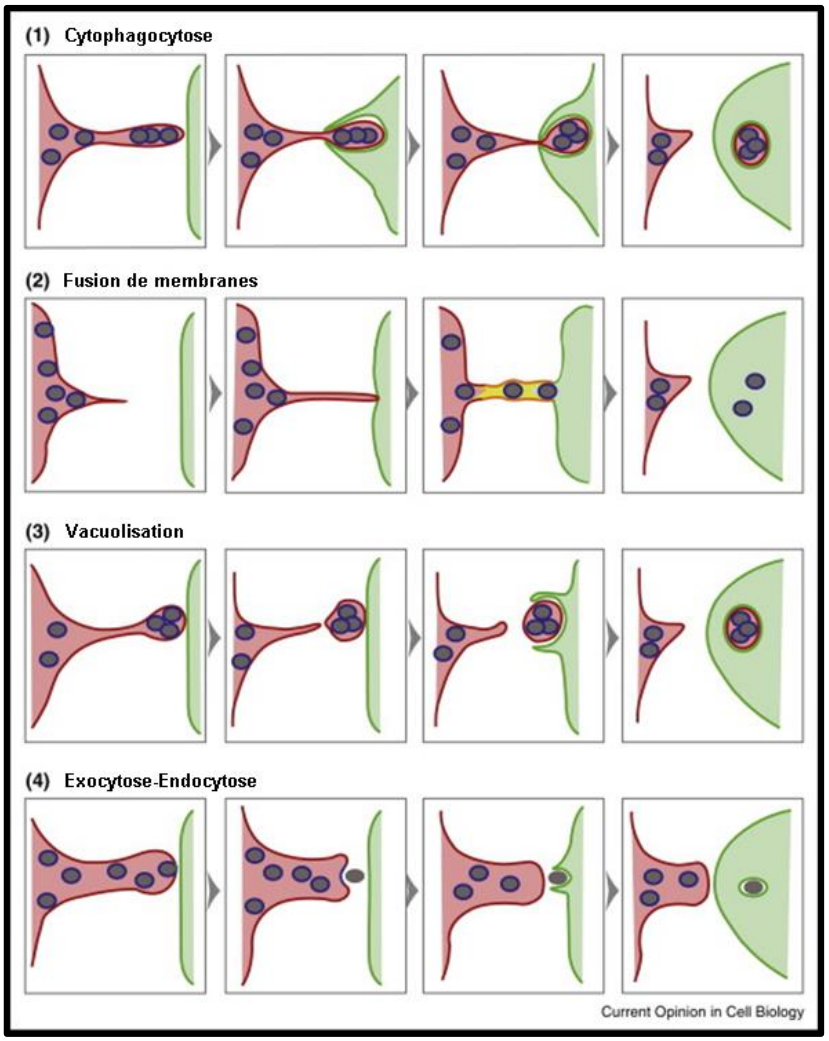


Figure 8 : Transfert des mélanosomes aux kératinocytes (d'après Wu et Hammer, 2014)
Le transfert des mélanosomes des mélanocytes aux kératinocytes pourrait se faire selon différentes voies : (1) la cytophagocytose : phagocytose de l'extrémité de l'extension du mélanocyte, (2) la fusion de membranes, (3) la séparation d'une vésicule de l'extension du mélanocyte puis sa phagocytose ou (4) l'exocytose puis endocytose : le mélanosome serait expulsé dans l'espace intercellulaire puis récupéré par le kératinocyte. Le mélanocyte est représenté en rose, le kératinocyte en vert.

C. Production des pigments

1. Types de pigments : eumélanine et phéomélanine

Les eumélanines sont considérées comme des pigments « noirs ». Elles varient en fait du marron clair au noir.

Les phéomélanines sont considérées comme des pigments « jaunes », pouvant prendre une teinte allant du jaune pâle au roux/fauve. Il en existe des variantes, les trichochromes, qui donneraient leur couleur intense aux chats roux, ainsi que d'autres types de pigments plus rares, comme des phéomélanines foncées, ou des pigments mixtes (Napolitano et al., 2001).

Ces pigments sont à l'origine de l'apparence du poil, notamment grâce à leur répartition sur sa longueur, qui fait varier l'aspect de la couleur du pelage à l'œil nu (Prieur et Collier, 1981).

2. Mécanismes de la synthèse

Les différents pigments sont synthétisés dans les mélanosomes, à partir d'un précurseur : la tyrosine (fig. 9).

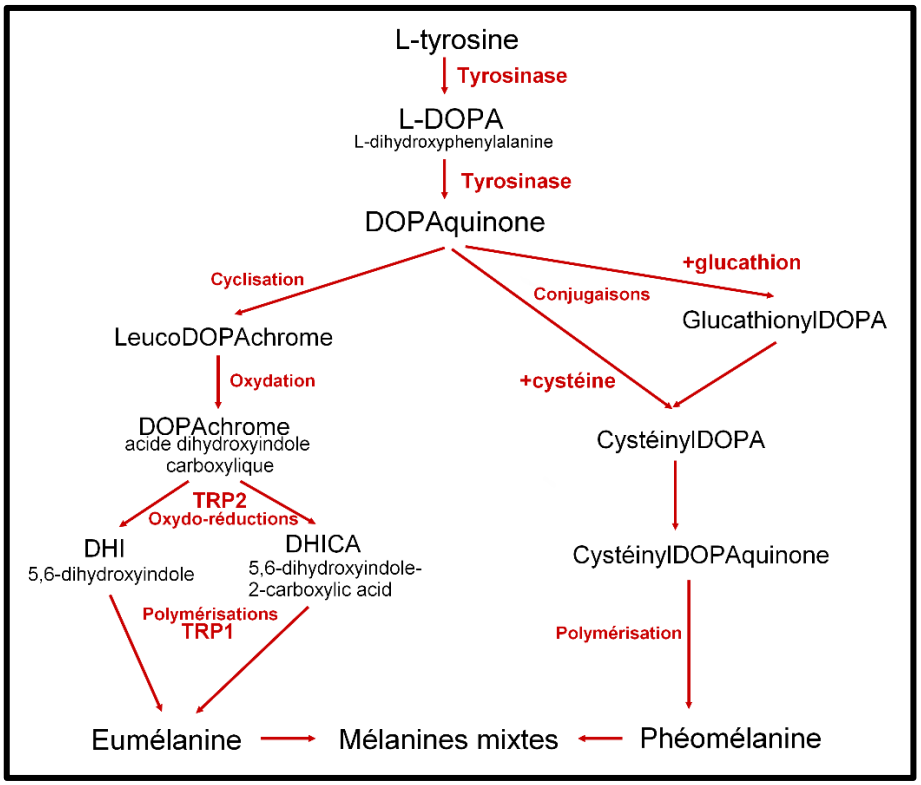


Figure 9 : Bilan de la biosynthèse des différents pigments mélaniques (d'après Slominski et al., 2005 ; Marks et Seabra, 2001)

Il existe deux voies de synthèse des pigments menant à l'eumélanine et à la phéomélanine. Trois enzymes sont impliquées dans la synthèse de l'eumélanine : la tyrosinase et les *tyrosinase related protein* 1 et 2 (nommée TRP1 et TRP2 ici). Seule la tyrosinase est nécessaire à la synthèse des phéomélanines.

Il a été montré que le choix entre la production d'eumélanine ou de phéomélanine était directement corrélé à l'absence ou à la présence de cystéine (Slominski et al., 2004).

L'enzyme tyrosinase (TYR) est essentielle à la synthèse des pigments. Elle catalyse d'abord l'hydroxylation de la L-tyrosine en L-DOPA, puis l'oxydation de la L-DOPA en DOPAquinone. Les protéines TYRP1 (*tyrosinase related protein 1*) et TYRP2 (*tyrosinase related protein 2*) sont à l'origine des dernières réactions de l'eumélanogénèse (Saternus et al., 2015).

Il a été démontré que la tyrosinase, bien qu'ayant une activité moindre lors de la phéomélanogénèse que lors de l'eumélanogénèse, y avait cependant une activité plus précoce (Slominski et al., 2004).

Enfin, il a été mis en évidence que la tyrosinase était une cible pour la régulation des processus de pigmentation et que son activité était le processus limitant de la synthèse des pigments. Son activité dépend de la présence ou non de cystéine mais aussi du pH du mélanosome ou de l'inhibition directe par un pigment mélanique, entre autres (Slominski et al., 2004).

3. Contrôle génétique, les gènes *TYR, TYRP1* et *TYRP2* (Slominski et al., 2004)

La tyrosinase est codée par le gène *TYR* situé au locus *C* (*colour*). Ce gène contrôle la présence ou non d'un contraste dans la robe le chat (fig.10), et à ce jour cinq allèles différents ont été mis en évidence.

L'allèle C^+, sauvage, gouverne une répartition homogène du pigment dans la robe (Lyons et al., 2005a).

L'allèle c^b gouverne le patron sépia, faiblement contrasté (Lyons et al., 2005a).

L'allèle c^s gouverne le patron colourpoint, fortement contrasté (Lyons et al., 2005a).

L'allèle c^m gouverne le patron mocha, moyennement contrasté (Yu et al., 2019).

L'allèle *c* (dont deux versions ont été identifiée à l'échelle moléculaire) gouverne un albinisme oculocutané (Imes et al., 2006 ; Abitbol et al., 2016).

Les relations entre les allèles ont été établies comme suit : $C^+ > c^b = c^s > c$. Pour ce qui est de c^m, il est suspecté que cet allèle soit codominant avec c^b (Yu et al., 2019).

Figure 10 : Patrons associés aux allèles du gène *TYR* chez le chat
À gauche : patrons colourpoint (a) et sépia (b) (Lyons et al., 2005a)
Au milieu : patron albinos (Imes et al., 2006)
À droite : patron mocha chez un Burmese (Yu et al., 2019)

Il a été montré que le gène *TYRP1*, situé au locus *B (brown)* codait l'enzyme TYRP1 qui contrôle une des étapes finales de la synthèse d'eumélanine et en permet la stabilisation (Schmidt-Küntzel et al., 2005).

Chez le chat, trois allèles de *TYRP1* ont été mis en évidence. Cela se traduit par les couleurs noir (allèle B^+), chocolat (allèle *b*) et cannelle (allèle b^l) (fig.11). La relation de dominance entre les trois allèles est simple, avec $B^+ > b > b^l$ (Lyons et al., 2005b).

Figure 11 : Chats colourpoint, chocolat, et cannelle (source : Bombadillo Kittens)
De gauche à droite sont présentés : un chat chocolat colourpoint, un chat chocolat, un chat cannelle puis un chat chocolat.

Le gène *TYRP2* ou *DCT* (*daupachrome tautomerase*) code la DCT qui transforme la DOPAchrome (molécule fortement toxique pour le mélanocyte) en un composé appelé DHICA (acide 5,6-dihydroxyindolecarboxylique), et permet de diminuer la cytotoxicité des processus de la mélanogénèse. Aucune couleur n'a pour l'instant été associée à des mutations de ce gène chez le chat (Slominski et al., 2004).

TYR, TYRP1 et DCT sont des enzymes qui sont intégrées dans la paroi du mélanosome. Notons enfin qu'il a été mis en évidence que les gènes *TYR et TYRP1* étaient des gènes dont les mutations conduisaient à de l'albinisme oculocutané chez l'homme et dans diverses espèces animales (OCA, *oculocutaneous albinism*).

4. Contrôle hormonal

Il été mis en évidence que plusieurs hormones influençaient la régulation de la pigmentation cellulaire.

a. Les MSH (melanocyte stimulating hormone)

Les MSH sont des hormones mélanotropes, dont l'α-MSH (*alpha-melanocyte stimulating hormone*) et l'ACTH (*adrenocorticotropin hormone*) font partie. Il a été mis en évidence qu'elles étaient sécrétées par l'hypophyse et produites à partir d'un précurseur, la pro-opiomélanocortine, produit du gène *POMC (proopiomelanocortin*) (Saternus et al., 2015). Bien que l'α-MSH ait de nombreux rôles, le rôle qui nous intéresse principalement ici est celui de la stimulation de l'eumélanogénèse en tant que ligand d'un récepteur membranaire appelé MC1R (*melanocortin 1 receptor*). L'activation de MC1R contrôle le taux de tyrosinase active et donc le type de pigment produit par le mélanocyte (Slominski et al., 2005). Il a été mis en évidence que la stimulation de la tyrosinase par cette hormone se faisait directement, en contrôlant la transcription, la traduction et certains mécanismes post-traductionnels de la synthèse de la tyrosinase (Slominski et al., 2004).

La figure 12 résume les étapes de la régulation de la mélanogenèse.

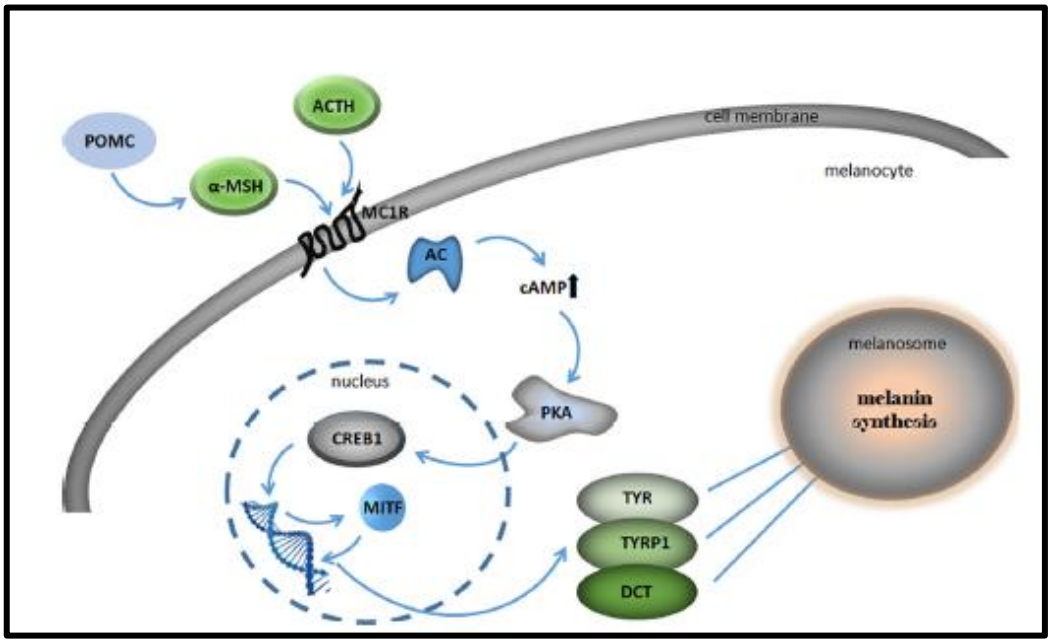


Figure 12 : Régulation de la mélanogenèse par MC1R et l' α-MSH chez l'homme (d'après Saternus et al., 2015)

La synthèse de mélanine à l'origine de la pigmentation dépend des enzymes TYR, TYRP1 et DCT (=TYRP2), elles-mêmes sous l'influence d'un processus faisant intervenir la liaison de l'α-MSH sur MC1R, qui augmente le taux d'AMP cyclique (cAMP) grâce à l'action de l'adénylate cyclase (AC), entrainant l'activation de la protéine kinase A (PKA) qui va stimuler la transcription des gènes *TYR, TYRP1* et *DCT* via l'action de CREB1 (*cAMP responsive element-binding protein 1)* et du facteur de transcription MITF.

Nucleus : noyau ; *Cell membrane* : membrane cellulaire ; *Melanin synthesis* : synthèse des mélanines.

b. La mélatonine

Il s'agit d'un antagoniste des hormones précédemment citées. L'action combinée des MSH et de la mélatonine est à la base des variations saisonnières de couleur de pelage chez les mammifères. Les UV (ultra-violets) ont aussi un rôle de stimulation de la mélanogénèse (Slominski et al., 2004).

c. Autres hormones (Slominski et al., 2004)

Il a été montré que la mélanogénèse était également influencée par de nombreuses autres molécules. Ainsi, dans la littérature, on retrouve la stimulation du récepteur MC1R, et donc de l'eumélanogénèse, par les opioïdes, les endothélines, l'histamine, les catécholamines, les oestrogènes et androgènes, et la vitamine D.

Dans les inhibiteurs, en plus de la mélatonine, il a été identifié la sérotonine, la dopamine, l'acétylcholine, les cytokines et la vitamine E, parmi d'autres.

Enfin, certaines molécules ont été identifiées comme étant des régulateurs, comme les glucocorticoïdes ou les rétinoïdes.

D. Le *switch* eumélanine/phéomélanine et son contrôle

Il a été montré que la production de la phéomélanine et de l'eumélanine était régulée de manière spatiale et temporelle au niveau du mélanocyte.

La fixation de l'hormone α-MSH sur le récepteur MC1R oriente vers l'eumélanogénèse. En effet, la fixation de l'α-MSH active MC1R et déclenche une cascade réactionnelle, résultant en la synthèse d'eumélanine (fig.12) (San-Jose et al., 2017). On peut ainsi dire que MC1R et ses ligands (ACTH et α-MSH) sont des régulateurs positifs de l'eumélanogénèse (Slominski et al., 2004).

Si MC1R n'est pas activé par l'α-MSH (en raison d'un récepteur inactif, ou d'une protéine inhibitrice comme Agouti, voir après), la synthèse s'oriente alors vers la phéomélanogénèse, comme schématisé en figure 13 (Enshell-Seijffers et al, 2010).

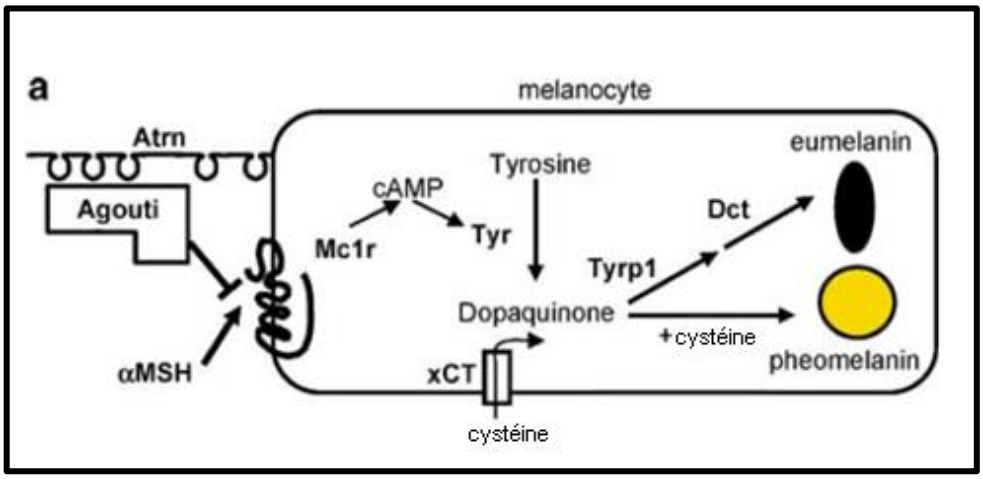


Figure 13 : Contrôle du *switch* entre production de phéomélanine et d'eumélanine (d'après Hoekstra, 2006)

En l'absence d'Agouti, l'α-MSH active le récepteur transmembranaire MC1R, qui lui-même émet un signal via l'AMPc. La tyrosine est oxydée en dopaquinone, réaction catalysée par la tyrosinase. Les enzymes TYR, TYRP1 et DCT transforment la dopaquinone en dopachrome puis DHICA (acide 5,6-dihydroxyindolecarboxylique) pour aboutir à l'eumélanine.

En cas de présence d'Agouti, la concentration en AMPc est grandement diminuée car MC1R est inhibé, permettant un *switch* vers la phéomélanogénèse, possible uniquement si de la cystéine est présente dans le mélanosome. Notons que seule l'enzyme TYR est nécessaire à la synthèse de la phéomélanine. Les réactions qui conduisent de la dopaquinone à la phéomélanine ne sont alors pas catalysées (voir fig.9).

La fixation de l'α-MSH et d'Agouti sur MC1R régule de manière temporelle, au cours du cycle du follicule pileux (voir paragraphe E) et de manière spatiale (sur les différentes zones du corps de l'animal) la production d'eumélanine et de phéomélanine (Hoekstra, 2006).

Il a également été montré que le type de pigment synthétisé était contrôlé par l'environnement cellulaire. Ainsi, par exemple, le pH à l'intérieur du mélanosome peut influencer le type de pigment produit (Ginger et al., 2008).

Notons que la protéine Agouti est le principal antagoniste du ligand α-MSH sur le récepteur MC1R. Chez le chien, un autre ligand de MC1R, intervenant dans la pigmentation, a été identifié (Candille et al., 2007). Nous évoquerons ce mécanisme en détails dans le chapitre IV.D.6.

E. Cycle pilaire et mélanogénèse

Le cycle pilaire a été divisé en trois phases (fig.14) :
- la phase de croissance, dite anagène, elle-même divisée en 6 phases ;
- la phase de régression, dite catagène ;
- la phase de quiescence, dite télogène.

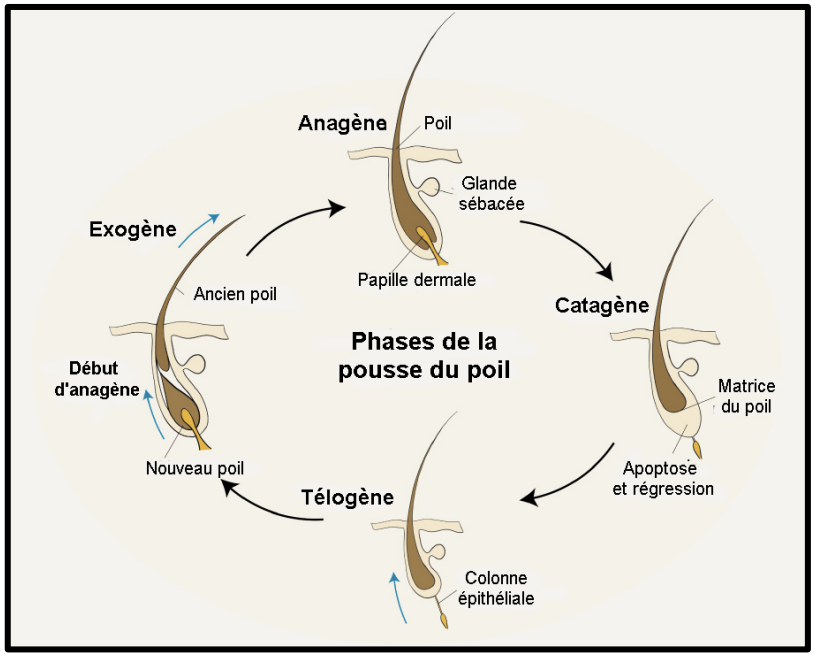


Figure 14 : Phases du cycle pilaire (d'après Houschyar et al., 2020)
Le cycle pilaire comprend trois phases qui sont appelées anagène (phase de croissance), catagène (phase de régression) et télogène (phase de quiescence).

Il a été montré que la mélanogénèse n'a lieu qu'au cours des quatre dernières phases anagènes (notées III à VI, fig.15), donc une fois par cycle. Ainsi, en cas de mort prématurée de mélanocytes au cours du cycle (comme c'est le cas pour certaines mutations chez la souris), le poil ne sera coloré qu'à son extrémité, donnant un aspect clair au pelage (Slominski et al., 2004).

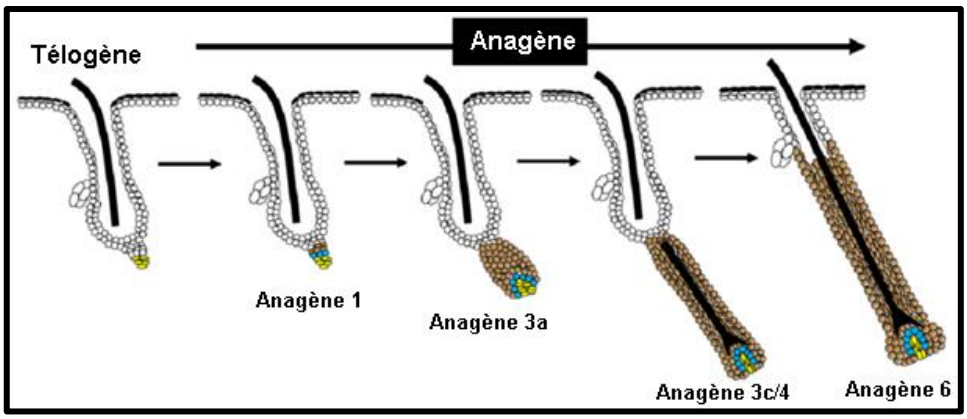


Figure 15 : Les différentes stades de la phase anagène (d'après Mesler, 2018)
Le passage du télogène à l'anagène lors du cycle pilaire, provoque la prolifération des cellules souches du bulbe (en bleu) qui entourent la papille dermique (en jaune) et l'activation des cellules souches du bulge (qui contient les mélanoblates chez la souris, voir figure suivante). A l'étape 6, la nouvelle tige pilaire pousse l'ancienne hors du canal pilaire. La mélanogénèse n'a lieu qu'à partir de l'étape 3, quand la papille dermique et les différentes gaines du poil sont mises en place.

À chaque nouveau cycle pilaire, on a observé une activation des mélanoblastes (situés dans un renflement appelé le bulge chez la souris, fig.16), qui sont responsables de la régénération des différents mélanocytes au cours de ces cycles folliculaires (Joshi et al., 2018). La coordination du comportement synchrone des mélanoblastes est contrôlée par un facteur de transcription, *NFIB (nuclear factor I/B)*, dont il a été mis en évidence que la mutation altèrerait la couleur du pelage en déstructurant la prolifération et la division des mélanoblastes (Chang et al., 2013).

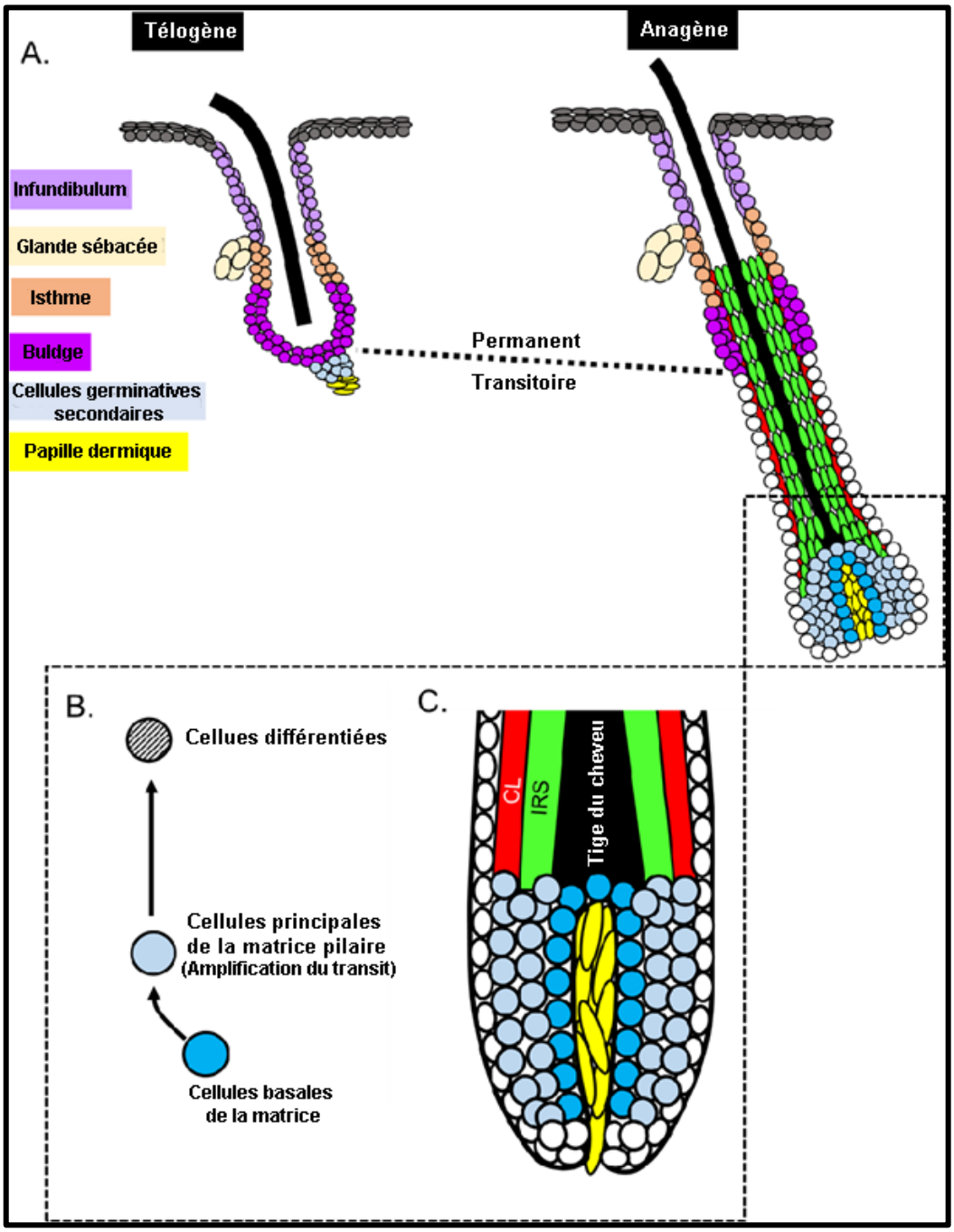


Figure 16 : Structure d'un follicule pileux (d'après Mesler, 2018)

A) Les différentes couches cellulaires du follicule pileux sont indiquées en couleur. La partie permanente du follicule est présentée au-dessus de la ligne en pointillé, la partie éphémère en-dessous. Le bulge contient les mélanoblastes chez la souris. B) Les cellules de la matrice se multiplient avant de se différencier en kératinocytes du poil. C) Grossissement de la structure du follicule pileux à sa base. CL : *companion layer* = gaine épithéliale externe ; IRS : *inner root sheet* = gaine épithéliale interne.

F. Gènes impliqués dans la mélanocytogénèse et la mélanogénèse chez le chat

Toutes les étapes de la mélanocytogénèse et de la mélanogénèse sont sous un contrôle génétique complexe. De nombreux gènes ont été identifiés chez l'homme et la souris, et ont été retrouvés, par homologie, chez le chat (Peterschmitt et al., 2009).

Nous ne développerons, dans ce manuscrit, que le fonctionnement des gènes impliqués dans des mécanismes qui peuvent être à l'origine de la modification de la couleur observée chez le Sibérien, sujet de notre étude. Le tableau I présenté en partie II, récapitule les loci de coloration connus à ce jour chez le chat.

II. DETERMINISME GENETIQUE DE LA COULEUR DANS L'ESPECE FELINE

A. Récapitulatif des loci identifiés jusqu'ici

Depuis 1918 (Whiting, 1918) les scientifiques ont tenté de caractériser les modes de transmission des couleurs chez le chat. Grâce aux progrès de la génétique, au moins 12 loci ont été décrits, avec leurs allèles correspondants. Ils sont présentés dans le tableau I.

Tableau I : Récapitulatif des loci, allèles et gènes associés à différentes couleurs dans l'espèce féline
(d'après Abitbol, 2012 ; Lyons, 2010 ; Lyons, 2012 ; Lyons, 2015 ; Whiting, 1918)

Locus	Allèles	Action	Phénotype	Gène	Mécanisme biologique	Référence bibliographiques
A	$\boldsymbol{A^+} > \boldsymbol{a}$ $\boldsymbol{A^+}$ = poil agouti $\boldsymbol{a}$ = poil non-agouti (uni) $\boldsymbol{A^{Pb}}$ = patron charbonné $\boldsymbol{A2}$, $\boldsymbol{A^{Ls}}$ et $\boldsymbol{A^{jc}}$ = phénotypes non identifiés	Répartition de la phéomélanine et de l'eumélanine dans le poil	Agouti (= tabby) ou non-agouti (= uni)	*ASIP* *(Agouti Signaling Protein)*	*Switch* eumélanine/ phéomélanine	Eizirik et al., 2003 Gershony et al., 2014
B	$\boldsymbol{B^+} > \boldsymbol{b} > \boldsymbol{b^l}$ $\boldsymbol{B^+}$ = eumélanine noire $\boldsymbol{b}$ = eumélanine chocolat $\boldsymbol{b^l}$ = eumélanine cannelle	Couleur de base de l'eumélanine	Noir, brun (chocolat) ou brun clair (cannelle)	*TYRP1* *(Tyrosinase Related Protein 1)*	Synthèse des pigments	Lyons et al., 2005b Schmidt-Küntzel et al., 2005
C	$\boldsymbol{C^+} > \boldsymbol{c^b} = \boldsymbol{c^m} = \boldsymbol{c^s} > \boldsymbol{c^a}$ $\boldsymbol{C^+}$ = pas de contraste $\boldsymbol{c^b}$ = patron sépia $\boldsymbol{c^s}$ = patron colourpoint $\boldsymbol{c^a}$ *ou* $\boldsymbol{c}$ = albinisme $\boldsymbol{c^m}$ = patron mocha	Répartition (contraste) de la couleur sur le corps	Patrons sépia, colourpoint, mink, albinos et mocha	*TYR* *(Tyrosinase)*	Synthèse des pigments	Lyons et al., 2005a Schmidt-Küntzel et al., 2005 Imes et al., 2006 Yu et al., 2019
D	$\boldsymbol{D^+} > \boldsymbol{d}$ $\boldsymbol{D^+}$ = coloration intense $\boldsymbol{d}$ = coloration diluée	Intensité de la couleur	Dilution : noir devient bleu, chocolat devient lilas, cannelle devient faon, roux devient crème	*MLPH* *(Melano -philin)*	Migration des mélanosomes dans les dendrites des mélanocytes	Ishida et al., 2006

Dm	***Dm*** > ***dm***$^{+}$ ***Dm*** = modification de la dilution ***dm***$^{+}$ = pas d'effet	Assombrissement et brunissement de la couleur diluée	Modifications caramel (bases bleu, lilas, faon) et abricot (base crème)	NA	?	
E	***E***$^{+}$ > ***e*** = ***e***^{c} = ***e***^{r} ***E***$^{+}$ = pas d'effet ***e*** = ambre (Norvégien) ***e***^{c} = copal et carnelian (Kurilian Bobtail) ***e***^{r} = russet (Burmese)	Diminution de la production d'eumélanine	Ambre, copal, carnelian et russet	*MC1R* *(Melanocortin 1 Receptor)*	*Switch* eumélanine/ phéomélanine	Peterschmitt et al., 2009 Gustafson et al., 2017 Abitbol et Gache, 2019 Bychkova et al., 2020
G	***Gl***$^{+}$ > ***gl*** ***Gl***$^{+}$ = pas d'effet ***gl*** = gantage	Panachure restreinte aux pattes	Extrémités des pattes blanches (= gants)	*KIT* *(KIT Proto-Oncogene, Receptor Tyrosine Kinase)*	Migration des mélanocytes	Yang et al., 2018
I	***I*** > ***i***$^{+}$ ***I*** = inhibition ***i***$^{+}$ = coloration intense	Eclaircissement de la phéomélanine	Argent (*silver*) et fumé (*smoke*)	NA	Synthèse des pigments	Menotti-Raymond et al., 2009
O	***XO*** *et* ***Xo*** ***XO*** = coloration rousse ***Xo*** = coloration eumélanique	Changement de la couleur des pigments eumélaniques en roux (orange)	Roux, non-roux et écaille de tortue (tortie)	NA	Synthèse des pigments	Grahn et al., 2005 Schmidt-Küntzel et al, 2009
T	***Ta***^{M}> ***Ta***^{B} (seulement si chat Ti^{+}/Ti^{+}) ***Ti***$^{+}$=***Ti***^{A} ***Ta***^{M} = patron mackerel ***Ti***$^{+}$ = patron sauvage ***Ti***^{A} = patron abyssin ***Ta***^{B} = patron blotched	Proportion et répartition en motifs des poils agoutis par rapport aux poils unis	*Ticked (abyssian), mackerel (striped*, tigré*), blotched (classic*, marbré), *spotted* (non identifié)	*TAQPEP* (pour mackerel et blotched), *(Trans-membrane amino-peptidase Q)* NA (pour ticked)	?	Lyons et al., 2006 Eizirik et al., 2010 Kaelin et al., 2012
Wb	***Wb*** > ***wb***$^{+}$ ***Wb*** = *tipping* ***wb***$^{+}$ = coloration normale	Elargissement de la bande de phéomélanine sur le poil	Effacement du motif tabby (motif *shaded*)	NA	?	

W	$W > W^S > w^+$ W = blanc w^S = panachure blanche w^+ = pas d'effet	Absence de pigmentation (robe blanche unie) et taches blanches (panachure)	Blanc uniforme, patrons de panachure : bicolore, arlequin et van	*KIT* *(KIT Proto-Oncogene, Receptor Tyrosine Kinase)*	Migration et survie des mélanocytes	Cooper et al, 2006 David et al., 2014

B. Locus Agouti

1. Déterminisme Génétique (Gershony et al., 2014)

Au locus *Agouti* siège le gène *ASIP (agouti signaling protein)*, situé sur le chromosome A3 félin. Plusieurs allèles ont été mis en évidence, dont :

- A^+ : l'allèle sauvage du chat domestique aussi appelé A^{Fc} (*Felis catus*) (fig.17)
- A^{Pb} *:* l'allèle sauvage du petit chat léopard du Bengal (*Prionailurus bengalensis*)
- *a* : l'allèle non-agouti du chat domestique (fig.17)

Figure 17 : Chat brown tabby (A^+/a ou A^+/A^+) et chat non-agouti ou « *solid* » (*a/a*) noir avec médaillon blanc (Lyons, 2015)

Les relations de dominance sont les suivantes :

Chez les chats domestiques autres que le Bengal, A^+ est dominant sur *a*, et donne le phénotype dit « sauvage ».

Chez le Bengal, il existe d'autres allèles, et notamment A^{Pb}. À l'état hétérozygote (A^{Pb}/a), on obtient alors un mélanisme incomplet, donnant une couleur dite « charbonnée », qui n'est pas présente à l'état homozygote (A^{Pb}/A^{Pb}) (fig.18).

Figure 18 : Patrons charbonnés chez le chat Bengal (Gershony et al., 2014)
Sur une base silver (a), colourpoint (b) et brown tabby (c) et leurs contreparties non-charbonnées (d, e et f)

D'autres variants sont encore à l'étude, parmi lesquels l'allèle *A2*, trouvé chez le Bengal et le Savannah, A^{Ls}, trouvé chez le Serval (*Leptailurus serval*) et le Savannah et A^{jc}, trouvé chez le chat des marais (*Felis Chaus*) et le Chausie. Aucun phénotype particulier associé à ces allèles n'a pour l'instant été identifié.

2. Mode d'action

Les allèles sauvages codent une protéine Agouti fonctionnelle, molécule paracrine de signalisation qui régule la pigmentation en se fixant sur le récepteur MC1R en tant qu'antagoniste compétitif de l'α-MSH (Slominski et al., 2005). Cela empêche la production d'eumélanine. La production est déviée vers la phéomélanine.

Il a été montré que l'α-MSH, un des activateurs de MC1R, et Agouti, se liaient au récepteur MC1R de façon mutuellement exclusive, bien qu'ils se fixent en deux sites différents. Agouti n'a pas d'effet direct (inactivation ou séquestration) sur l'α-MSH (Ollmann et al., 1998).

Chez la souris, il a aussi été démontré qu'Agouti possède une action inhibitrice sur les protéines de l'eumélanogénèse TYRP1 et TYRP2, en réduisant leur niveau d'expression durant la phase anagène précoce, niveaux qui augmentent ensuite durant le reste de cette phase, lorsque l'expression d'Agouti décline. Ce sont ces variations de l'expression d'*ASIP* au cours de la phase anagène qui expliqueraient l'alternance de bandes eumélaniques et phéomélaniques sur les poils agoutis. En effet, *MC1R* est exprimé sur les mélanocytes durant toute la phase de croissance du poil, tandis qu'*ASIP*, exprimé au niveau la papille dermique, ne s'exprime que par pics, d'où une courte fenêtre permettant le dépôt de phéomélanine en zone subapicale du poil tandis que le reste du poil est eumélanique (Enshell-Seijffers et al., 2010).

Il a été montré que l'allèle *a*, muté, codait une protéine agouti modifiée et tronquée (présence d'un codon stop) qui perdait tout ou une grande partie de sa fonction inhibitrice de l'eumélanogénèse, ce qui conduisait à des poils dits non-agoutis, donnant un pelage eumélanique uni (Eizirik et al., 2003).

Deux promoteurs d'*Agouti* ont jusqu'ici été mis en évidence chez la souris, et sont situés dans l'intron 1 du gène. L'un, actif uniquement au milieu du cycle pilaire, s'exprimant après la

naissance, est responsable des bandes de pigments phéomélaniques donnant l'aspect caractéristique du poil agouti. L'autre, spécifique de la zone ventrale chez l'animal, et s'exprimant dès l'embryogénèse, explique la coloration généralement plus claire de cette zone du corps chez l'animal par rapport à la partie dorsale, dont les poils sont généralement plus riches en eumélanine. Les différences d'expression entre ces deux promoteurs sont responsables de divers motifs chez les mammifères (Vrieling et al., 1994 ; Millar et al., 1995).

3. Phénotype

Les poils agoutis sont des poils caractérisés par une alternance de dépôt de pigments phéomélaniques et eumélaniques, donnant un aspect éclairci, et en général dans les tons marrons, au pelage.

Les poils non-agoutis (dits unis) ne possèdent qu'une bande basale de phéomélanine, commune à tous les types de poils (fig.19) (Slominski et al., 2005).

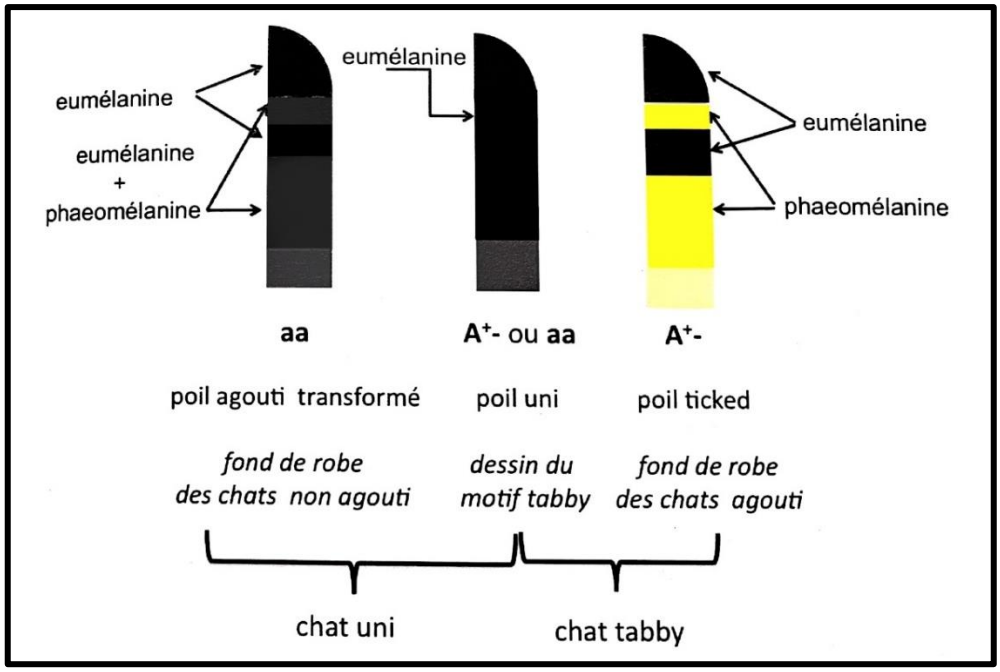


Figure 19 : Répartition des pigments mélaniques sur le poil félin (Brisson, 2016)

Il existerait d'autres types de poils constitués de bandes alternatives non visibles à l'œil nu et appelés poils agoutis transformés. L'alternance de l'eumélanine ne se ferait pas avec de la phéomélanine, mais avec un mélange eumélanine/phéomélanine, constituant la trame de fond sombre du pelage. La robe unie peut donc elle aussi posséder un motif sous-jacent, qui n'est cependant (presque) pas visible à l'œil nu. On parle alors de marquage fantôme. Ce type de marquage fantôme est bien visible chez certains félins sauvages (panthères noires observées au soleil, fig.20) et chez les chats domestiques non-agouti (unis) lorsqu'ils sont jeunes, en particulier pour les couleurs eumélaniques diluées comme le bleu, le lilas ou le faon.

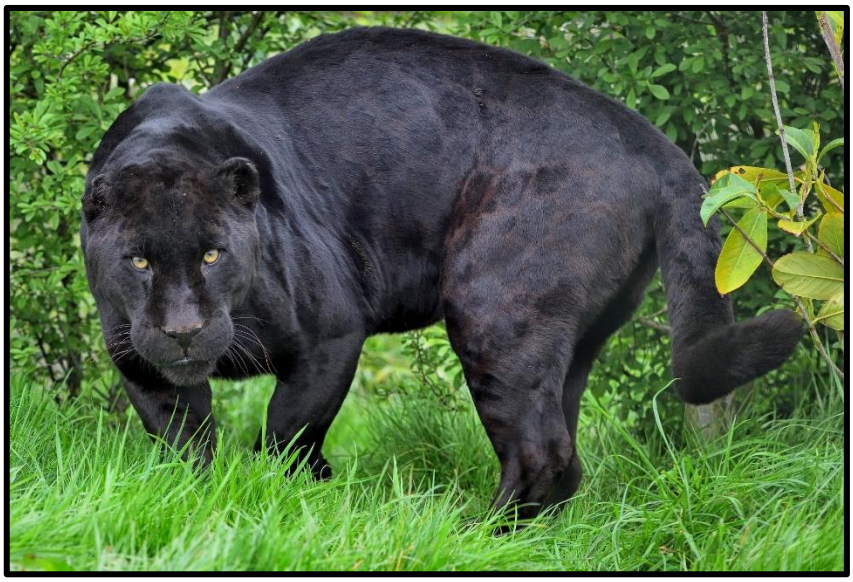


Figure 20 : Marquage fantôme chez un jaguar (source : Tom Lee)

C. Locus Extension

1. Déterminisme Génétique

Au locus *Extension* siège le gène *MC1R (melanocortin 1 receptor)*, situé sur le chromosome E2 félin. Plusieurs allèles ont été mis en évidence :

- E^+ : l'allèle sauvage, dominant, sans effet
- *e :* récessif, responsable de l'ambre chez le Norvégien (Peterschmitt et al., 2009)
- e^c : récessif, (c pour *copal)*, responsable du carnelian chez le Kurilian bobtail (Abitbol et Gache, 2019 ; Bychkova et al., 2020), aussi appelé e^s (s pour *serdolic*)
- e^r : récessif, responsable du russet chez le Burmese (Gustafson et al., 2017) (fig.21)

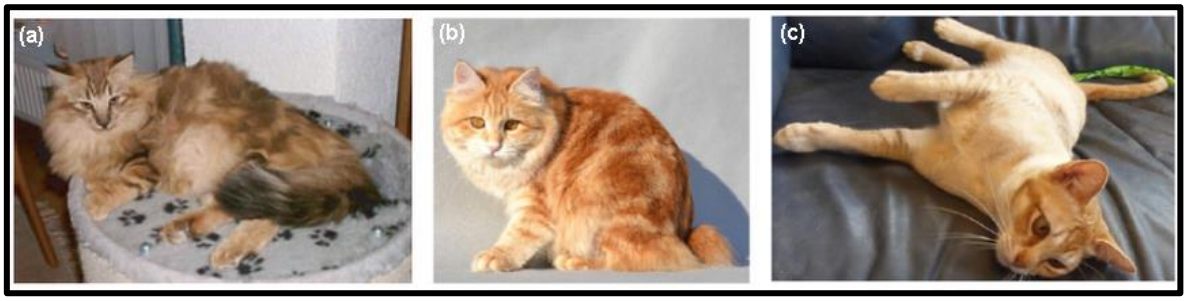


Figure 21 : Ambre chez le Norvégien (a), carnelian chez le Kurilian bobtail (b) et russet chez le Burmese (c) (d'après Peterschmitt et al., 2009 ; Abitbol et Gache, 2019 ; Gustafson et al., 2017)

2. Mode d'action

Le locus *Extension* code la protéine transmembranaire MC1R, qui, comme vu précédemment (paragraphe I.D.) contrôle le *switch* entre la phéomélanogénèse et l'eumélanogénèse.

Les mutations perte de fonction, récessives, concernant ce locus affectent donc toutes le ratio phéomélanine/eumélanine, qui est en l'occurrence augmenté. Chez le Norvégien, la mutation sur ce locus provoque une déstructuration de la protéine MC1R, limitant son affinité pour

l'α-MSH, menant à une diminution de l'eumélanine dans les poils, remplacée par de la phéomélanine (Peterschmitt et al., 2009). Pour le russet du Burmese, le changement de coloration pourrait être dû à une diminution de la capacité de la protéine MC1R à stimuler la production d'AMPc, malgré la présence de l'α-MSH (Gustafson et al., 2017). Enfin, pour le carnelian, le mécanisme exact n'a pas encore été élucidé.

3. Phénotype

Les couleurs liées aux mutations félines du locus *Extension* sont des couleurs évolutives, *via* le remplacement progressif de l'eumélanine par de la phéomélanine. Les chats homozygotes mutés présentent ainsi un marquage tabby plutôt foncé à la naissance, avant de s'éclaircir à l'âge adulte (fig.22), au point pour certains d'en devenir presque unis (Peterschmitt et al., 2009).

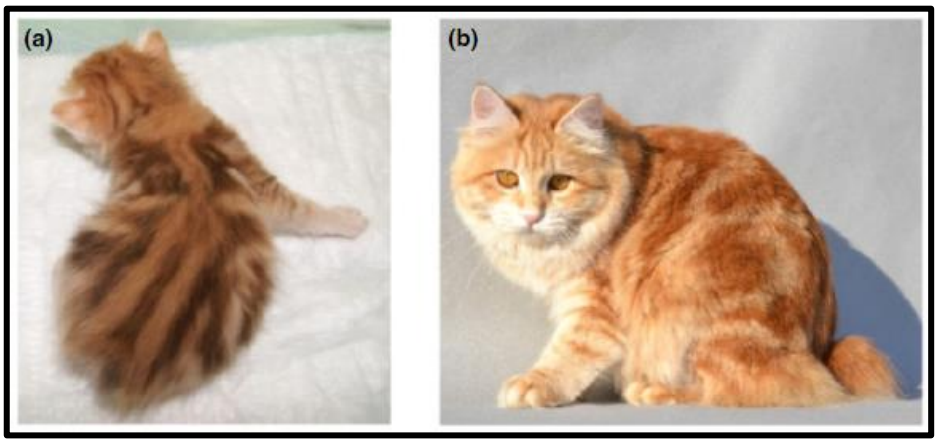


Figure 22 : Evolution de la couleur carnelian chez le Kurilian bobtail (Abitbol et Gache, 2019)

L'individu est ici présenté à deux semaines (a) et un an (b).

Il existe une particularité chez le Norvégien, chez les chats ambre et non-agouti. En effet, ceux-ci présentent des marques fantômes particulièrement importantes à la naissance (fig.23), qui s'effacent progressivement à l'âge adulte, bien que le noir persiste sur diverses parties du corps, et notamment sur le nez et les coussinets. Les Norvégien tabby et ambre, dont le marquage s'éclaircit avec le temps, présentent un nez et des coussinets roses, bien que les coussinets foncent avec la croissance (Peterschmitt et al., 2009).

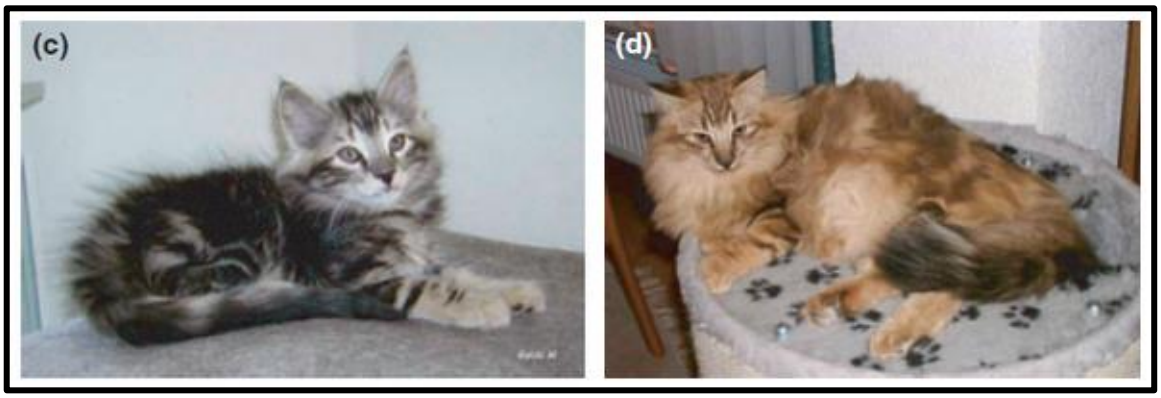


Figure 23 : Norvégien ambre non-agouti, à deux mois (c) et à neuf mois (d) (Peterschmitt et al., 2009)

Enfin, chez les Kurilian, une équipe russe a mis en évidence des chats de couleur « Silver Carnelian » (ou « Serdolic Silver »), c'est à dire des chats possédant la mutation *Silver* (allèle *I*, voir paragraphe suivant) en plus de la mutation *Copal (= Serdolic)*, leur donnant un aspect argenté en région dorsale et doré en région ventrale, comme ce qui est observé chez les chats Sibérien qualifiés de « bimétal » (fig.24, Bychkova et al., 2020).

Figure 24 : Kurilian bobtail de couleur Serdolic Silver (Bychkova et al., 2020)

D. Locus *Inhibitor*

1. Déterminisme génétique (Menotti-Raymond et al., 2009)

Le locus *Inhibitor*, parfois aussi appelé *SILVER*, a été cartographié sur le chromosome félin D2. Mais à ce jour, le gène en cause n'a pas encore été mis en évidence.

Le locus comporterait deux allèles :

- *I* : dominant, responsable des robes smoke (fumée, unie) et silver tabby, en fonction du patron du chat concerné (non-agouti et agouti respectivement)
- i^+ : l'allèle sauvage, sans action (fig.25)

Figure 25 : Chatons roux (à gauche), silver tabby (deux individus au milieu) et brown tabby (deux individus à droite)
(source : Pixabay, photographie libre de droits)

2. Mode d'action (Menotti-Raymond et al., 2009)

Le locus *I* = *SILVER* du chat est distinct de celui de la souris et du chien. L'allèle *I* altère la synthèse des pigments phéomélaniques, sans influence démontrée sur l'eumélanine. L'un des gènes candidats potentiels, situé dans la région candidate du locus *SILVER* est un *Solute Carrier* (échangeur d'ions) : le gène *SLC18A2*. D'autres *Solute Carriers*, comme *SLC45A2* et *SLC36A1* étant impliqués dans le déterminisme génétique de la pigmentation (et causant respectivement le crème et le champagne chez les chevaux, entre autres (Cook et al., 2008)), *SLC18A2* semble être un gène candidat plausible, sans qu'à ce jour aucune mutation causale n'ait encore été identifiée.

3. Phénotype

La base du poil chez un chat smoke est argentée (presque sans couleur, fig.26), tandis que le reste du poil possède une pigmentation normale. Ces chats ont donc des poils non-agouti et agouti transformés avec une base quasi transparente, parfois si courte qu'il est difficile de les différencier des chats unis non-smoke.

Les chats silver tabby présentent des poils agoutis dont la bande phéomélanique est devenue argentée et dont la base des poils est également argentée (fig.27).

Notons que la phéomélanine peut persister chez certains individus hétérozygotes I/i^+, donnant ce qui est alors appelé du *tarnishing* (Menotti-Raymond et al., 2009).

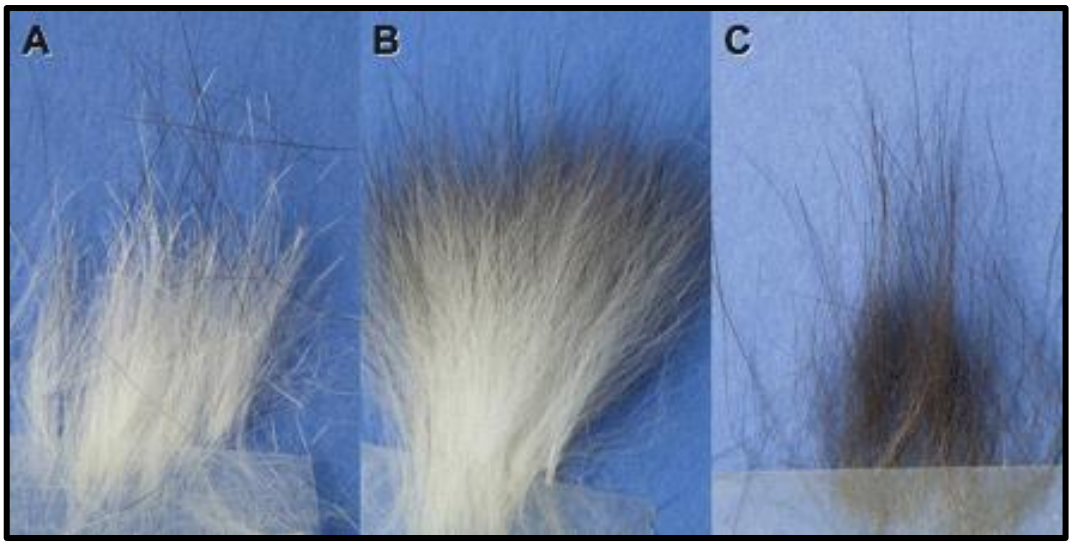


Figure 26 : Poils de chats silver (a) et smoke (b) comparés à des poils non modifiés (c) (Menotti-Raymond et al., 2009)

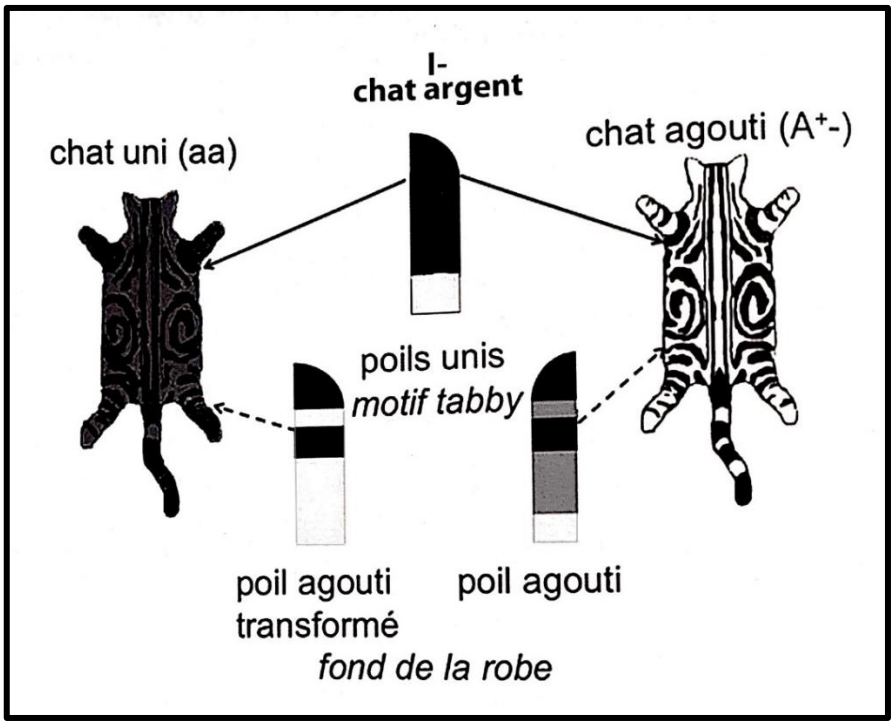


Figure 27 : Influence du locus *I* sur la répartition des pigments chez le chat (Brisson, 2016)

III. LE CHAT SIBERIEN

A. Historique de la race

Le chat Sibérien, aussi connu sous le nom de chat des forêts sibériennes, est une race dite naturelle. Bien que ses origines exactes n'aient jamais été clairement élucidées, la naissance de la race a été retracée jusqu'à la Transcaucasie (Géorgie, Arménie et Azerbaïdjan), où l'on retrouve encore aujourd'hui un chat sauvage ressemblant étrangement au Sibérien, le *Felis silvestris caucasica*. Les traces ont ensuite mené au nord de la Russie, ou plus exactement, comme le nom de la race l'indique, aux forêts sibériennes (https://www.fff-asso.fr/).

La caractéristique « poil long », notamment, serait une mutation prenant son origine chez les chats russes comme le Sibérien et s'étant propagée ensuite vers la Perse et la Turquie, donnant respectivement les Persan et les Angora (Morris, 1999).

Lipinski et collaborateurs ont montré que le Sibérien est une race avec une diversité génétique marquée, avec un coefficient de consanguinité de 0,05 et proche des anciennes populations sauvages, laissant à penser que la race possédait une large population fondatrice. La tendance actuelle étant à l'hypersélection des morphotypes d'un point de vue purement esthétique dans de nombreuses races, les scientifiques ont suggéré de conserver cette diversité lors de la sélection pour la reproduction et l'élevage de la race (Lipinski et al., 2008).

À noter que le Sibérien est aussi parfois considéré comme un chat « hypoallergénique ». Il a été mis en évidence que de nombreux spécimens de la race possèderaient des mutations de *Ch1* et *Ch2*, les gènes codant la production de l'allergène Fel D1 (habituellement produit dans les glandes salivaires, sébacées et anales), mutations corrélées avec un niveau d'excrétion de l'allergène faible. D'autres études sont cependant nécessaires pour confirmer que les chats Sibérien sont bien des chats à faible potentiel allergénique (Sartore et al., 2017).

B. Standard de la race

Il est utile de noter que, bien que des ressemblances existent entre ces races et que les arbres phylogénétiques permettent de leur trouver des ancêtres communs, le Sibérien n'est ni un Maine Coon, ni un Norvégien (Lipinski et al., 2008). C'est d'ailleurs pour cela que des clubs de races ont été créés, déterminant les standards de la race, le premier d'entre eux étant le Kotofei Cat Club à Moscou, en 1987, rapidement suivi par d'autres clubs indépendants (https://tica.org/).

Depuis, les standards de races ont été harmonisés, notamment grâce à la FIFe (Fédération Internationale Féline). Leur standard est l'un des plus utilisés en France, ainsi que celui du LOOF (Livre Officiel des Origines Félines), par les juges lors des expositions félines (Fédération Féline Française).

1. Standard LOOF
(https://www.loof.asso.fr/)

« Le Sibérien possède un corps puissant, à la musculature développée, et est pourvu d'une épaisse fourrure, adaptation au climat de son pays d'origine. Le Sibérien n'arrive à maturité que vers l'âge de 3 ans, et fait preuve d'un dimorphisme sexuel marqué (mâles plus imposants que les femelles).

NB : les Sibériens colourpoints sont traditionnellement nommés « Sibériens Neva Masquerade».

Tête : En forme de triangle adouci, large avec des contours arrondis. De face, les pommettes ne sont ni saillantes ni proéminentes. Large, le crâne, est plutôt plat. Vu de profil, le front est légèrement arrondi et est prolongé par une légère déclivité au niveau des yeux. Le nez est moyennement court et plat.

Museau : Rond et fort, le museau doit être sans pinch. Les femelles ont souvent un museau plus fin que les mâles. Le menton est arrondi sans être en galoche. Les moustaches sont longues et épaisses.

Yeux : Grands, presque ronds, les yeux sont bien espacés l'un de l'autre, séparés au minimum par la largeur d'un œil. Ils sont implantés légèrement de biais, sans pour autant avoir d'expression orientale. Toutes les couleurs d'yeux sont admises sans qu'il y ait de relation avec la robe, sauf chez les colourpoints qui ont les yeux bleus.

Oreilles : De taille moyenne, les oreilles sont larges à la base et séparées par une distance équivalente à une largeur d'oreille à une et demi. Vu de profil, elles sont légèrement pointées vers l'avant. De forme arrondie à leur extrémité, elles sont recouvertes à l'extérieur d'une abondante fourrure qui cache presque complètement leur base. L'intérieur des oreilles est également garni de poils abondants. Des « lynx tips « (plumets) sont appréciés.

Encolure : Ronde et courte, l'encolure est puissamment musclée.

Corps : De format semi-cobby, le corps, massif, lourd et musclé, a une forme caractéristique dite « en tonneau « due à la rondeur de ses côtes et de sa musculature. La croupe est arrondie et plus haute que les épaules. La sangle abdominale est très puissante.

Pattes : De hauteur moyenne, les pattes sont robustes et musclées avec une ossature puissante.

Pieds : Grand et ronds, les pieds montrent une importante pilosité interdigitale.

Queue : La queue est large à la base puis va en s'effilant jusqu'à un bout arrondi. Elle est fournie d'une abondante fourrure. Idéalement, elle doit arriver à hauteur de la base des omoplates.

Robe et texture : Mi-longue à longue, la fourrure du Sibérien est composée des trois types de poils : poil de garde, poil de jarre et sous-poil. L'encolure, les épaules et le dos sont recouverts de poils de garde plus épais et brillants. La collerette part de l'arrière de la tête pour rejoindre la gorge. Le sous-poil est abondant. Les poils du ventre peuvent friser légèrement sans que ce caractère soit particulièrement recherché.

Chez les particolores : toute proportion de blanc est acceptée quels qu'en soient la taille et l'emplacement.

Pénalités : Taches et médaillons blancs chez les chats autres que particolores. Profil droit. Stop. Oreilles trop rapprochées chez les adultes. Museau étroit ou pointu. Yeux en amande. Pattes hautes.

Refus de tout titre : Manque de structure ou ossature fine. »

2. Standard FIFe

(http://fifeweb.org/)

La race a été reconnue par la FIFe en 1997, et la dernière mise à jour du standard date de 2014. Ce standard est récapitulé dans le tableau II.

Tableau II : Récapitulatif du standard FIFe pour le chat Sibérien

Caractéristiques		Description
Généralités	Taille	Moyenne à grande, les femelles sont généralement plus petites que les mâles
Tête	Forme	Un peu plus longue que large, légèrement arrondie, massive. Front large, très légèrement arrondi. Pommettes bien développées. Nez de longueur moyenne, large, légèrement incurvé de profil, sans stop. Menton légèrement fuyant. De profil, dessine une courbe avec la ligne supérieure du nez
Oreilles	Forme	De taille moyenne, bien ouvertes à la base. Extrémités arrondies. L'intérieur présente des poils bien développés et des touffes de poils.
	Placement	Bien écartées, légèrement penchées en avant.
Yeux	Forme/Placement	Grands, de forme légèrement ovale. Un peu obliques, bien séparés.
	Couleur	Toutes couleurs permises. Il n'y a pas de relation entre couleur des yeux et de la robe, sauf chez les Neva Masquerade, chez qui les yeux sont bleus. On préfèrera une couleur bien nette.
Corps	Structure	Bonnes ossature et musculature. Cou puissant, poitrine large. Les proportions du corps donnent une apparence rectangulaire.
Membres		Forts, de hauteur moyenne, ils forment un rectangle avec le corps. Pattes grandes et rondes, touffes interdigitales bien développées.
Queue		Longueur moyenne, épaisse, extrémité arrondie. Recouverte de toute part d'une fourrure dense, sans poils qui traînent.
Fourrure	Structure	Mi-longue, bien développée, très dense, sous-poil non couché, fourrure imperméable, légèrement rêche au toucher. Robe d'été nettement plus courte que celle d'hiver. La robe d'hiver présente un jabot bien développé, une collerette complète et des culottes.

C. Couleurs de robes (http://fifeweb.org/)

« Toutes les couleurs sont permises, sauf le chocolat, lilas, cannelle (*cinnamon*) et faon (*fawn*), avec toutes les variétés de blanc admises.

Une distinction particulière est faite pour les colourpoints, groupés sous le dénominatif Neva Masquerade, et pour lesquels les couleurs admises sont seal (= noir), bleu, roux, crème, écaille seal/bleu, smoke, tabby et/ou silver/golden. »

Dans ce travail, le golden spécifique du Sibérien sera rebaptisé sunshine, terminologie permettant de le distinguer du golden du Persan, différent autant par ses mécanismes que par son apparence. Quant à l'appellation « bimétal », elle sera utilisée pour les chats présentant un mélange de golden et de silver, qui seront étudiés un peu plus loin dans ce travail.

Certains articles utilisent aussi le sigle *sg*, pour différencier le golden du Sibérien du golden traditionnellement retrouvé chez le Persan, ou encore d'autres abréviations, sans qu'aucune ne soit communément admise.

Des exemples de Sibérien sont présentés dans les figures 28 à 30.

Figure 28 : Sibérien de couleur brown tabby (source : https://www.fff-asso.fr/)

Figure 29 : Sibérien silver tabby (source : https://www.fff-asso.fr/)

Figure 30 : Sibérien sunshine tabby (source : Anna Ahtiainen)

Lors d'expositions, les chats Sibérien sont jugés sur leur couleur par groupes, dont la classification est régie par la FIFe :

« Groupe 1 : noir/bleu
Groupe 2 : noir/bleu avec blanc
Groupe 3 : noir/bleu tabby et noir/bleu golden
Groupe 4 : idem groupe 3 avec blanc
Groupe 5 : roux/crème/écaille +/- tabby ou golden
Groupe 6 : idem 5 avec blanc
Groupe 7 : smoke et silver
Groupe 8 : idem 7 avec blanc »
Groupe 9 : blanc

Les Neva Masquerade sont jugés à part, en deux groupes (groupe 1 sans blanc, groupe 2 avec blanc).

Dans la suite de ce manuscrit, la classification des couleurs a été calquée sur celle du système EMS *(Easy Mind System)* développé par la FIFe, dont les abréviations sont récapitulées dans le tableau III.

Tableau III : Code EMS utilisé pour la description de la robe chez le Sibérien (source : http://fifeweb.org/)

COULEUR DE LA ROBE	DESSINS DE LA ROBE
a = blue (bleu) d = red (orange, roux) e = cream (crème) f = black tortie (écaille noire) g = blue tortie (écaille bleue) n = black (noir) s = silver, smoke (argenté, fumé) w = white (blanc) y = golden (golden)	01 = van 02 = arlequin 03 = bicolour (bicolore) 09 = with white (quantité de blanc non définie) 12 = shell 11 = shaded 21 = tabby non spécifié 22 = blotched / classic tabby (marbré) 23 = mackerel tabby (tigré) 24 = spotted tabby 25 = ticked tabby

On pourra donc remarquer que les couleurs qui nous intéressent sont essentiellement les ny (golden sur base de noir) et ay (golden sur base de bleu) déclinées en 21, 22, 23, 24, 25, soit diverses formes de tabby. Une notation « u » non officielle présente sur Pawpeds (https://www.pawpeds.com/) a aussi été définie pour le sunshine.

Dans notre manuscrit, toutes les couleurs de robes seront mentionnées par leur dénomination anglaises, la plus fréquemment retrouvée dans les articles, qu'ils soient francophones ou anglophones.

D. Historique de la couleur sunshine

Eleonora Ruggiero, une éleveuse italienne de différentes races, mais aussi et surtout une juge internationale en exposition féline et présidente de club de race du Sibérien à la WCF (*World Cat Federation*) a été l'une des premières à se pencher sur la nouvelle coloration étrange apparue chez le Sibérien. Elle a supposé qu'il s'agissait, contrairement à ce qui est observé chez le Persan, d'une couleur due à une mutation récessive (notamment grâce à l'existence de chats bimétal, couleur qui serait impossible sur un Persan à l'allèle *Wb* dominant), dont l'origine remonterait à des lignées russes.

Elle a décrit une robe évolutive, qui s'éclaircit avec le temps. De plus, elle a rapporté que les chats qu'elle suivait avaient tous été testés pour l'ambre (mutation du locus *Extension*, gène *MC1R*, Peterschmitt et al., 2009) et le russet (autre mutation féline du gène *MC1R*, Gustafson et al., 2016) et qu'aucun ne présentait ces mutations, supposant donc qu'il s'agissait d'une nouvelle mutation non explorée jusqu'à ce jour.

Elle a, de plus, mentionné dans ses recherches initiales la race Kurilian Bobtail, qui possède une couleur très similaire et partage une origine commune avec le Sibérien. Des recherches effectuées par la suite sur la couleur du Kurilian Bobtail ont montré cependant qu'il ne s'agissait pas de la même mutation, mais d'une nouvelle mutation de couleur propre au Kurilian (Abitbol et Gache, 2019).

En France, Alyse Brisson, éleveuse, juge et écrivaine s'intéressant de près à la génétique des couleurs, a commencé elle aussi à collecter des informations sur le golden, ou plutôt le sunshine, chez le Sibérien. Elle a rapporté des résultats similaires à ceux d'Eleonora Ruggiero après analyse des *pedigrees* de chats sunshine.

IV. QUELLE APPROCHE POUR RECHERCHER LA MUTATION A L'ORIGINE DE LA COULEUR SUNSHINE ?

La recherche de gènes et de mutations dans l'espèce féline peut s'effectuer à l'aide de différentes stratégies, utilisant différents outils statistiques et de biologie moléculaire. Nous n'allons détailler que quelques-unes de ces stratégies, nécessaires à la compréhension du travail expérimental présenté dans la deuxième partie de ce manuscrit.

A. Etudes d'association (d'après Gandolfi et al., 2018)

Les études d'association font partie des études dites pangénomiques (*genome wide* en anglais) qui visent à identifier un gène à partir de sa localisation sur les chromosomes. Le principe général est d'évaluer l'association qui peut exister entre un marqueur génétique (actuellement un marqueur de type SNP : *single nucleotide polymorphism*) et un caractère. Pour ce faire, il est nécessaire de recruter un groupe de chats «cas», qui présentent le caractère étudié, et un groupe de chats «contrôles», qui ne le présentent pas. Les deux groupes sont génotypés pour un ensemble de marqueurs SNP répartis sur tous les chromosomes du chat et on évalue, à l'aide d'un test statistique, l'association entre chaque marqueur SNP (dont on connait exactement la position sur un chromosome) et le caractère étudié. Si on arrive à identifier une association pour un ou plusieurs marqueurs, c'est que très probablement (cela dépend de la signification statistique de l'association) le gène responsable du caractère étudié et le marqueur sont proches sur un même chromosome, et que leurs allèles ont tendance à être transmis ensemble au cours des générations.

Pour faciliter le génotypage des chats pour les marqueurs SNP, on dispose actuellement d'un outil : la puce à marqueurs SNP féline, qui permet de génotyper un individu pour plus de 60 000 marqueurs SNP en une fois. Ce génotypage se base sur le principe de l'hybridation de brins complémentaires d'ADN (acide désoxyribonucléique). Ainsi, de courts segments d'ADN spécifiques chacun d'un marqueur SNP sont disposés sur une puce à ADN (une plaque en verre ou de silicium). Ces différents segments d'ADN, appelés sondes, peuvent s'hybrider avec des fragments de l'ADN de l'animal à génotyper (la cible). Le résultat final est ensuite lu par une machine (généralement un scanner à fluorescence), qui analyse la présence des deux allèles, pour chaque SNP, chez l'individu génotypé.

La puce féline actuellement disponible est la puce commercialisée par le laboratoire Illumina et dite 63k car elle comporte 63 000 SNP dont 59469 SNP autosomiques, 2724 SNP liés à X et 126 SNP caractéristiques de caractères d'intérêt (couleur par exemple) ou maladies, ainsi que quelques SNP spécifiques de petits félins sauvages comme *Prionailurus bengalensis*, le chat léopard du Bengal, à l'origine de la race Bengal. La puce Illumina 63k permet de génotyper n'importe quel chat domestique, en se basant sur la version du génome félin *Felis_Catus 6.2* (Willet et Haase, 2014 ; Gandolfi et al., 2018).

L'analyse statistique des résultats du génotypage passe généralement par la comparaison des génotypes des «cas» et des «contrôles», pour chaque SNP. La méthode la plus simple consiste à utiliser un test du Chi2.

Les résultats sont généralement présentés sous la forme d'un graphique appelé Manhattan plot (fig.31).

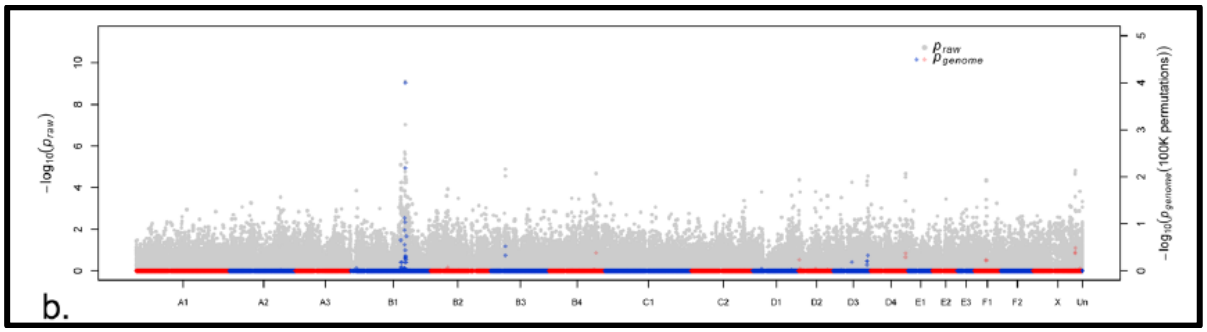


Figure 31 : Exemple de résultats de génotypage sur puce féline pour le caractère «poil long» (Gandolfi et al., 2018)

En abscisse sont représentés les chromosomes félins. En ordonnées sont représentées les *p-value* de l'étude d'association entre le caractère et chaque SNP, à gauche en valeurs brutes (*Praw*) et à droite en valeurs corrigées après 100 000 permutations pour tenir compte des tests multiples effectués (*Pgenome*). Chaque point représente un marqueur SNP. Les marqueurs sont représentés en fonction de leur position sur chaque chromosome. On observe que plusieurs SNP sont associés avec le caractère «poils longs» au niveau du chromosome B1. Le gène responsable du «poil long» est donc très probablement situé sur le chromosome B1 félin.

Les études d'association sont souvent nommées GWAS pour *Genome Wide Association Studies*.

B. Séquençage de génomes entiers

Un séquençage de génome entier (WGS en anglais pour *Whole Genome Sequencing*) a pour but de déterminer l'enchaînement exact de tous les nucléotides de l'ADN d'un individu. La séquence obtenue peut ensuite être analysée, notamment en la comparant à ce que l'on appelle communément une séquence de référence. Il s'agit de la séquence du génome d'un individu de l'espèce, qui sert de référence. Chez le chat domestique c'est la séquence d'un chat Abyssin, disponible dans les bases de données (Pontius et al., 2007).

La technique de séquençage utilisée actuellement pour le WGS est une technique de séquençage à très haut débit, permettant de séquencer plusieurs dizaines de milliers à millions de courtes séquences en une seule expérience. Cette technique, ou plus précisément cet ensemble de techniques (car il existe des procédés différents), s'appelle le NGS : *Next Generation Sequencing* (Yoshinaga et al., 2018).

Nous ne rentrerons pas les détails des procédés techniques, mais le séquençage aboutit à générer des millions de courtes séquences qui sont alignées sur un génome de référence.

Dans le cas du chat domestique, le génome de référence est constitué de la séquence d'un chat Abyssin, mais l'assemblage de ce génome a connu plusieurs améliorations. La première version à avoir été publiée en 2007 était de qualité moyenne (Pontius et al., 2007). Une deuxième version puis une troisième version, améliorées, nommées *Felis_catus 6.2* puis *Felis_catus 8.0* ont été publiées en 2014 (Montague et al., 2014) et 2016 (Li et al., 2016). La dernière version disponible à ce jour, nommée *Felis_catus 9.0*, a été publiée en juin 2018 (www.ensembl.org).

La comparaison du génome séquencé et du génome de référence permet généralement de mettre en évidence des dizaines de milliers de variants génétiques de plusieurs types : des SNP et des INDEL (courtes insertions ou délétions) ou des remaniements de plus grande taille. La difficulté dans l'analyse des données consiste à trouver le ou les variants causaux du phénotype étudié, parmi ces milliers de variants. Pour cela, il est souvent nécessaire de disposer d'autres génomes d'individus de la même espèce déjà séquencés, qui permettent de filtrer les variants et

de s'affranchir des simples polymorphismes dus à des différences entre individus et entre races (Mauler et al., 2017 ; Aberdein et al., 2017).

De plus, on peut orienter la recherche de variants d'intérêt en ciblant des gènes particuliers. En effet, il est souvent possible de s'appuyer sur des données acquises dans d'autres espèces que le chat (homme, souris, chien, chevaux) pour accélérer la recherche d'un gène et d'une mutation. Par exemple, dans le cas de la recherche d'une mutation responsable d'une couleur de pelage, les gènes ciblés en priorité pour la recherche de variants dans le génome séquencé seront ceux impliqués dans une couleur similaire dans d'autres espèces. On peut ainsi, avant d'analyser tous les variants du génome, dresser une liste de gènes candidats à explorer en priorité.

C. Etudes d'homozygotie

Les études d'homozygotie se basent sur un génotypage par puce (comme vu précédemment) et ont pour but de mettre en évidence des régions homozygotes et partagées par au moins deux individus présentant le phénotype étudié. Ce type d'analyse n'est donc possible que pour des individus dont on est certain qu'ils sont homozygotes pour la mutation recherchée, c'est à dire essentiellement pour les caractères récessifs.

Ce type d'analyse repose sur le principe que la transmission des allèles se faisant par blocs lorsque les locus sont proches (une combinaison d'allèles situés sur une même portion de chromosome et héritée en bloc s'appelle un haplotype), il est très fréquent qu'une zone avec une mutation à l'état homozygote soit entourée de fragments d'homozygotie de taille relativement élevée. La taille de la région homozygote encadrant la mutation dépend essentiellement de l'ancienneté de la mutation et des brassages génétiques intervenant au cours des générations.

On recherche donc ces régions d'homozygotie chez tous les chats présentant le phénotype muté et on les compare aux chats de phénotype sauvage (qui ne doivent donc logiquement pas présenter des régions homozygotes pour les mêmes allèles).

L'analyse peut être réalisée par inspection manuelle des génotypes ou à l'aide de logiciels dédiés, en paramétrant en particulier la longueur (en paire de bases) des régions d'homozygotie recherchées (Abitbol et al., 2015).

Un exemple illustrant un résultat d'étude d'homozygotie chez le chat est présenté dans la figure 32.

		Status	Healthy carrier	Healthy carrier	Affected	Affected	Non carrier	Putative healthy carrier	Non affected
Chr	SNP	Position (bp)	Dam	Sire	Proband	Brother	Grandfather	Grandmother	Proband's littermate
C2	chrC2.175337001	137108027	G G	A G	G G	G G	A G	G G	A G
C2	chrC2.175310759	137133878	G G	A G	G G	G G	A A	A G	A G
C2	chrC2.175218723	137203771	G A	G G	G G	G G	G A	G A	G G
C2	chrUn.47917891	137211858	A A	A A	A A	A A	G A	G A	A A
C2	chrC2.175177097	137242314	G A	A A	A A	A A	A A	A A	A A
C2	chrC2.175144152	137265201	G A	G A	A A	A A	G A	A A	G A
C2	chrC2.174974190	137408134	A A	G A	A A	A A	G A	A A	G A
C2	chrC2.174787463	137545216	A C	C C	C C	C C	A C	A C	0
C2	chrC2.174761118	137568447	A C	C C	C C	C C	A C	A C	0
C2	chrC2.174723476	137591152	A G	A G	A A	A A	G G	A G	A G
C2	chrC2.174696607	137620200	G G	A G	G G	G G	A G	G G	A G
C2	chrC2.174623597	137682821	G A	A A	A A	A A	G A	G A	A A
C2	chrC2.174571402	137719816	A G	G G	G G	G G	A G	A G	0
C2	chrC2.174547865	137740580	G A	A A	A A	A A	G A	G A	A A
C2	chrC2.174454896	137817863	C A	C A	C C	C C	C A	C C	C A
C2	chrC2.174421588	137842525	A G	G G	G G	G G	G G	G G	G G
C2	chrC2.174341473	137893163	A A	C A	A A	A A	C A	A A	C A
C2	chrC2.174300180	137926345	A G	A G	G G	G G	A G	G G	A G
C2	chrC2.174255430	137972152	G A	G A	G G	G G	G A	G G	G A
C2	chrC2.174195739	138028327	A G	A G	G G	G G	A G	G G	A G
C2	chrC2.174107630	138099447	A C	A C	C C	C C	A C	C C	A C
C2	chrC2.174105851	138101224	A G	G G	G G	G G	G G	G G	G G
C2	chrC2.174029595	138165362	G A	G A	A A	A A	G A	A A	G A
C2	chrC2.173882945	138286234	A G	G G	G G	G G	G G	G G	G G
C2	chrC2.173847742	138311720	G G	G G	G G	G G	A G	A G	G G
C2	chrC2.173802457	138346856	G A	G A	G G	G G	A A	G A	G A
C2	chrC2.173714061	138411243	C A	C A	C C	C C	C A	C C	C A
C2	chrC2.173631034	138481242	G G	G G	G G	G G	G G	G G	G G
C2	chrC2.173572562	138536012	A G	A G	A A	A A	G G	A G	A G
C2	chrC2.173321757	138730765	A A	A A	A A	A A	C C	C C	A A
C2	chrC2.173229005	138800996	A A	A A	A A	A A	C A	C A	A A
C2	chrC2.173137883	138877556	G A	A A	A A	A A	A A	A A	A A
C2	chrC2.173063842	138939914	A A	C A	A A	A A	C A	A A	C A
C2	chrC2.173029035	138963381	A G	A G	A A	A A	G G	A G	A G
C2	chrC2.172964348	139012951	G G	A G	G G	G G	A G	G G	A G
C2	chrC2.172935362	139034310	A G	A G	A A	A A	G G	A G	A G

Figure 32 : Exemple de résultat d'une étude d'homozygotie chez une famille de chats Sphynx présentant une myasthénie congénitale autosomique récessive (Abitbol et al., 2015)
Chaque colonne représente un individu. Chaque ligne représente un marqueur SNP. Les deux allèles que porte chaque chat pour chaque marqueur sont indiqués. Les génotypes homozygotes sont surlignés en vert, les génotypes hétérozygotes en jaune. Remarquez les deux blocs verts d'homozygotie pour les deux chats affectés, tandis que les chats indemnes présentent de l'hétérozygotie dans la même région (en jaune). Chr = chromosome. *Status* = statut pour la maladie. bp = paire de base. *Dam* = mère. *Sire* = père. *Proband* = cas. *Brother* = frère. *Grandfather* = grand-père. *Grandmother* = grand-mère. *Proband's littermate* = frère de portée du cas. *Healthy carrier* = porteur sain. *Affected* = atteint. *Non carrier* = non porteur. *Putative healthy carrier* = porteur sain probable.

Que l'on ait mis en œuvre une étude d'association ou une étude d'homozygotie, le résultat de l'étude abouti à la mise en évidence d'une région candidate contenant le gène en cause. Une fois la région candidate cernée, il est nécessaire de faire l'inventaire des gènes présents dans cette région, classer ces gènes par ordre de priorité d'analyse (en fonction par exemple de leur rôle biologique connu ou supposé) puis d'analyser chacun de ces gènes. L'analyse de ces gènes, dits gènes candidats, peut passer par des études d'expression si l'on dispose de prélèvements de tissus adéquats, ou par le séquençage de ces gènes chez un individu «cas» et chez un individu «contrôle». Cependant, si en parallèle de l'étude d'association ou d'homozygotie on a séquencé le génome d'un chat «cas» on peut rechercher les variants génétiques de la région candidate dans son génome. Les différentes approches décrites précédemment peuvent donc être complémentaires.

D. Gènes candidats majeurs pour la modification sunshine du Sibérien

Ainsi que nous l'avons évoqué dans le paragraphe B, dresser une liste de gènes candidats, pour un phénotype donné, peut aider à accélérer la recherche d'une mutation causale. Dans le cas du phénotype sunshine du Sibérien, de nombreuses données étaient disponibles concernant des gènes de pigmentation. Ces données avaient été acquises lors d'études portant sur différentes espèces dont l'homme, la souris, le chien, le cheval. Nous avons donc dressé une liste des gènes candidats qu'il nous semblait prioritaire d'étudier.

1. *MC1R*

a. Mode d'action

Comme nous l'avons vu précédemment, le récepteur MC1R régule la production de la phéomélanine et de l'eumélanine, en interaction avec de nombreuses enzymes (dont TYR, TYRP1, DCT), notamment via la fixation de son ligand activateur l'α-MSH et de son antagoniste Agouti.

b. Phénotypes résultants

De nombreuses mutations pertes de fonction (en général récessives) de MC1R ont été identifiées, dans de nombreuses espèces animales, ainsi que chez l'homme. Elles produisent, chez l'homme les cheveux roux à blond vénitien et chez les animaux des phénotypes allant du roux au fauve clair (Abitbol et al., 2014). Les pertes de fonction de *MC1R* conduisent à des phénotypes phéomélaniques (fig.33).

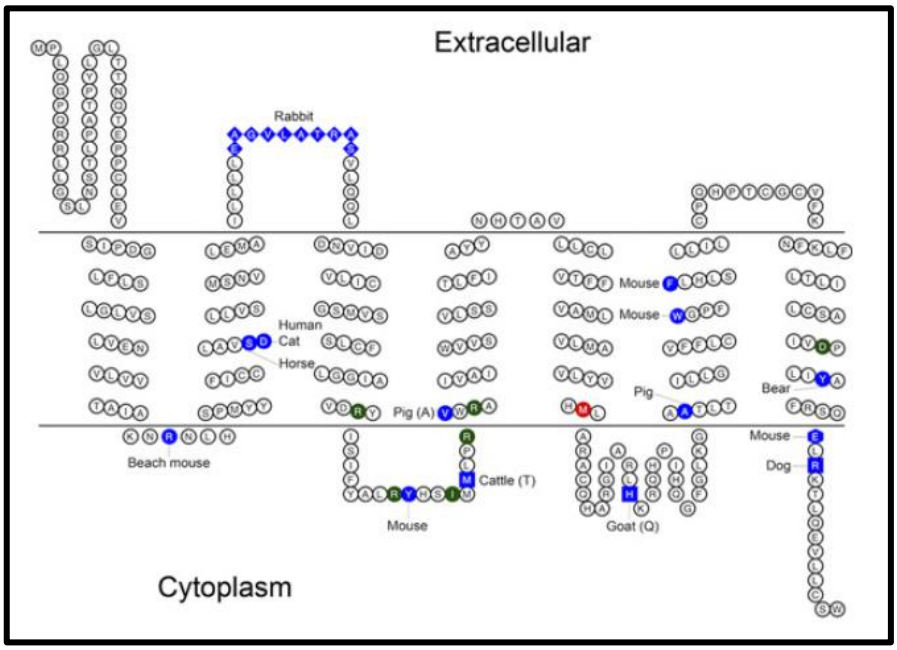


Figure 33 : Représentation en deux dimensions de la structure transmembranaire de MC1R chez l'âne et des mutations pertes de fonction chez les mammifères (Abitbol et al., 2014)

Les acides aminés sont représentés par des cercles. Les mutations faux-sens sont représentées par des cercles, les non-sens par des carrés. Les mutations donnant les cheveux roux chez l'homme sont représentées en vert, les mutations récessives *e* donnant du roux chez les autres mammifères sont en bleu. Le début de la mutation « *frameshift* » (décalage du cadre de lecture) chez la souris est représentée par un hexagone. La délétion chez le lapin est représentée par des losanges. Le résidu D84, en bleu, est la partie mutée chez les chats ambre mais est aussi associé à du roux chez l'homme. La mutation récessive *e* identifiée chez l'âne est représentée en rouge. Lorsqu'un résidu diffère entre l'âne et les autres espèces, il est représenté entre parenthèses. *Beach mouse* = souris des sables, *mouse* = souris, *human* = homme, *cat* = chat, *horse* = cheval, *rabbit* = lapin, *cattle* = bovin, *goat* = chèvre, *pig* = porc, *bear* = ours, *dog* = chien, *extracellular* = extracellulaire, *cytoplasm* = cytoplasme.

De plus, chez les otaries à fourrure, il a été mis en évidence une mutation de *MC1R* qui donne une hypopigmentation de leur pelage due à une production réduite de mélanine, semblable à celle des chiens Labrador fauve clair (fig.34, Peters et al., 2016).

Figure 34 : Phénotypes sauvage (à gauche) et muté (à droite) chez des otaries à fourrure d'Antarctique (Peters et al., 2016)

Quant aux mutations de MC1R chez le chat domestique, nous les avons évoquées précédemment : le russet chez le Burmese, l'ambre chez le Norvégien, et le carnelian = *serdolic* chez le Kurilian Bobtail donnent tous les trois des couleurs évolutives avec perte d'eumélanine au cours de la croissance, pour arriver à différentes variantes de couleur proches du roux (Gustafson et al., 2017, Peterschmitt et al., 2009, Abitbol et Gache, 2019).

Chez les jaguars, une mutation dominante activatrice dans *MC1R* est à l'origine de la couleur noire, contrairement à ce qui a été observé chez les chats domestiques chez lesquels le noir uni est dû à une mutation perte de fonction d'*ASIP* (Eizirik et al., 2003). Une autre mutation dominante donnant du noir existe aussi chez les chèvres Murciano-Granadina et maltaises (fig.35). Ces mutations dominantes donnent un récepteur MC1R constitutivement actif (Fontanesi et al., 2009).

Figure 35 : Chèvres Murciano-Granadina présentant les phénotypes noir (dominant) et roux (récessif) liés à des mutations sur *MC1R* (Fontanesi et al., 2009)

2. *ASIP*

a. Mode d'action

Comme nous l'avons vu précédemment, la protéine Agouti est un antagoniste compétitif de l'α-MSH, qui empêche la production d'eumélanine et oriente vers celle de phéomélanine en se fixant sur le récepteur MC1R à sa place, ainsi qu'en inhibant la production des enzymes TYRP1 et TYRP2.

b. Phénotypes résultants

Les mutations du locus *Agouti* peuvent affecter la protéine en elle-même, comme par exemple la mutation *a* chez le chat domestique, ou le profil d'expression d'*Agouti*.

Chez la souris, on a identifié trois allèles principaux contrôlant la formation des motifs agoutis. A^w, donnant un agouti avec un ventre clair, *A*, l'agouti traditionnel, dont le ventre n'est que très légèrement éclairci, et a^t, donnant une coloration *« black and tan »* (traditionnellement traduit par « noir et feu », mais phénotypiquement ici plutôt un « noir et beige »), tous les trois dominants par rapport au *a* non-agouti (fig.36). Les différences de coloration ventro-dorsales sont liées à une expression plus ou moins longue d'agouti en fonction de la zone du corps. (Vrieling et al., 1994).

Figure 36 : Phénotypes des souris agouti à ventre clair (A), agouti (B) et *« black and tan »* (C) (Vrieling et al., 1994)

À gauche, les poils agoutis sont situés uniquement en région dorsale, avec des poils constitués uniquement de phéomélanine en région ventrale. Au centre, l'animal possède des poils agoutis sur toute sa surface, bien que la coloration soit plus marquée en région dorsale. À droite, la souris possède des poils eumélaniques (noirs) en région dorsale et phéomélanique (comme la souris de gauche) en région ventrale.

Chez le chien, quatre allèles ont été identifiés au locus *Agouti*, donnés ici par ordre de dominance :

- l'allèle fauve/sable (A^y), donnant une couleur jaune à rousse, avec présence possible de poils à la pointe noire en région dorsale ou de poils noirs distribués dans le pelage (robe charbonnée) ;
- l'allèle *wild sable* ou *agouti wild* (a^w), sauvage, donnant la présence de poils agoutis comme par exemple chez le berger Allemand ou le spitz de couleur gris-loup. Il s'agit de l'allèle retrouvé chez le loup et le coyote ;

- l'allèle noir et feu (a^t), donnant un noir avec des marques fauves restreintes au niveau des sourcils, des joues, des ischions, du bas des pattes ; caractéristique par exemple du Beauceron, du Dobermann ou du berger Allemand ;

- et un allèle noir récessif (*a*) très rare, restreint à quelques races (dont le berger Allemand), donnant un pelage entièrement noir (fig.37) (Kerns et al., 2004, Berryere et al., 2005, Dreger et Schmutz, 2011).

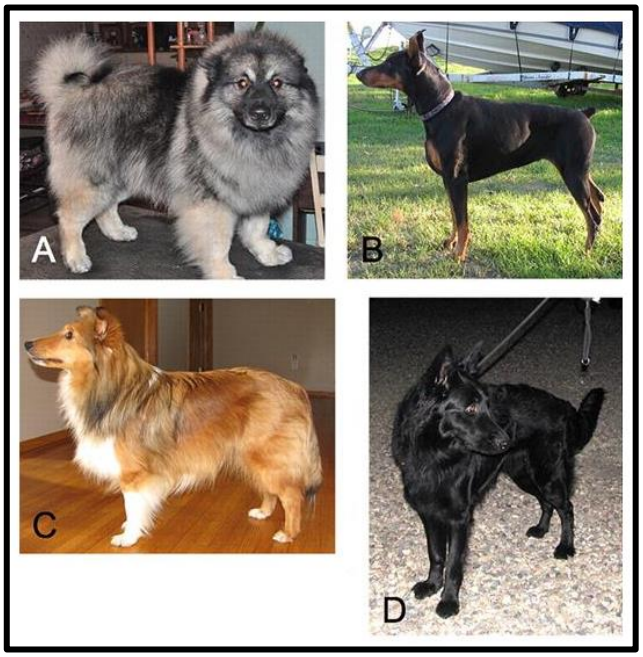


Figure 37 : Spitz-loup de couleur gris-loup (A), Dobermann noir et feu (B), berger des Shetland fauve charbonné (C) et berger Allemand noir (D) (Dreger et Schmutz, 2011)

3. *RALY*

Il existe un phénotype appelé *lethal yellow* (littéralement « jaune létal », fig.38) chez la souris, initialement attribué à un allèle d'*Agouti* appelé *Ay*, donnant une coloration entièrement jaune à la souris, et associé à l'état hétérozygote à de l'obésité, du diabète et une sensibilité accrue aux tumeurs, et étant létal à l'état homozygote (Bultman et al., 1992, Michaud et al., 1993).

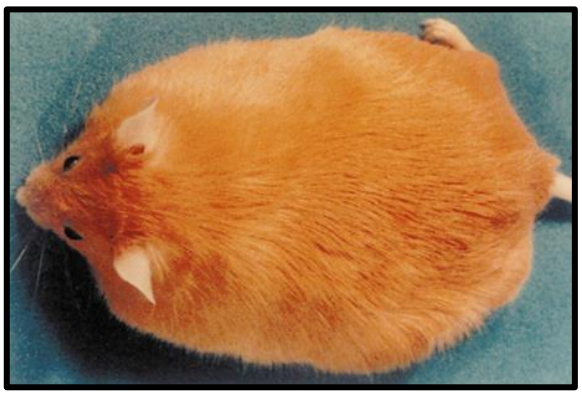


Figure 38 : Phénotype *lethal yellow* chez une souris hétérozygote (Wilson et al., 1999)
Notez l'obésité.

L'analyse génétique de ce phénotype a montré que la mutation causale n'était pas une mutation du gène *ASIP* mais une délétion touchant trois gènes, *RALY* (*RALY Heterogeneous Nuclear Ribonucleoprotein*), *Eif2s2 (Eukaryotic Translation Initiation Factor 2 Subunit Beta)* et *ASIP*. La délétion induit une expression ectopique d'*ASIP* chez les souris mutantes (Duhl et al., 1994).

Chez la souris, le gène *RALY* ne serait donc pas seul en cause dans le phénotype de couleur. En revanche, chez le chien, une duplication de 16 paires de bases a été identifiée dans le gène *RALY* canin, insertion qui serait responsable de la différence entre le phénotype noir et feu et le phénotype fauve à manteau. Le mécanisme d'action de *RALY* n'est pas connu à ce jour (fig.39, Dreger et al., 2013).

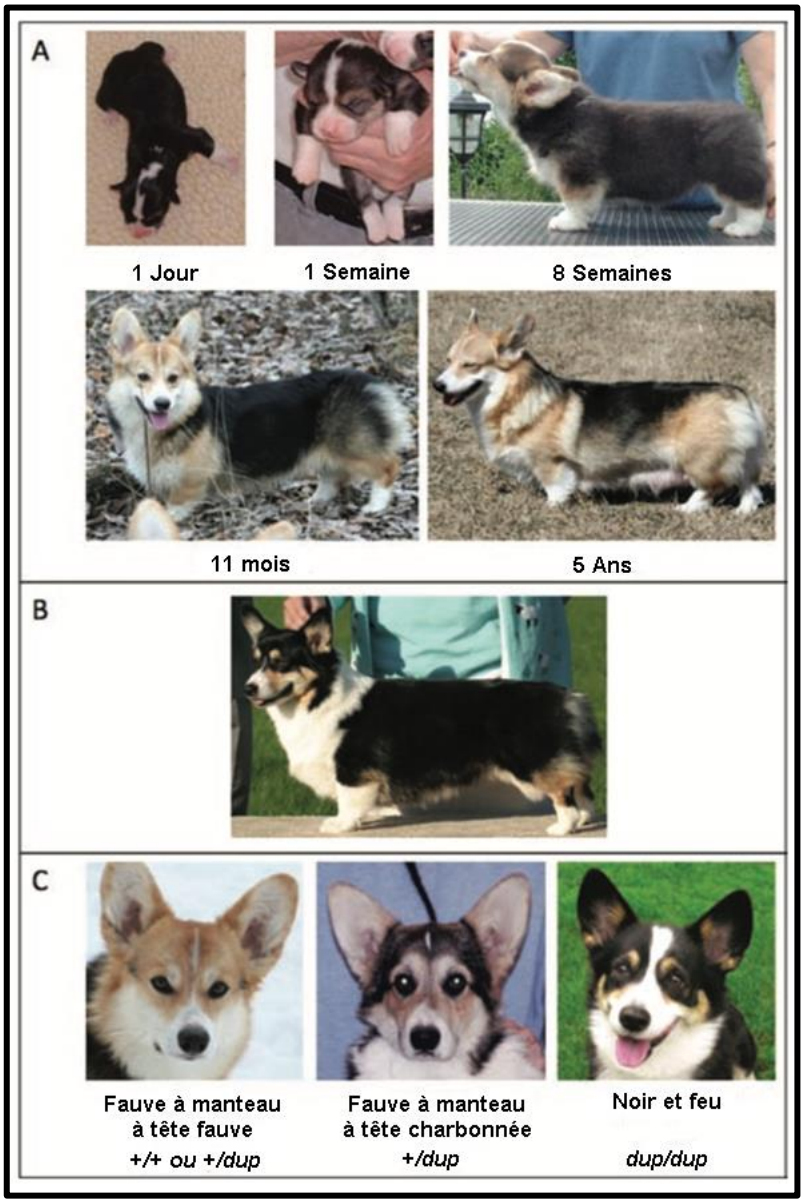


Figure 39 : Chiens fauves à manteau et noirs et feus (d'après Dreger et al., 2013)
A) Caractéristiques de la robe fauve à manteau qui est une robe évolutive. Le chien nait noir et feu et progressivement les marques feu envahissent le pelage pour ne laisser qu'un manteau sombre. B) Chien noir et feu. C) Génotypes associés aux robes fauve à manteau (homozygote sauvage ou hétérozygote pour la duplication, deux chiens de gauche) et noir et feu (homozygote pour la duplication, chien de droite).

4. *CORIN*

a. Mode d'action

Une mutation du gène *CORIN* (*Corin, serine peptidase*) a été mis en évidence chez des tigres dont la couleur a été qualifiée de dorée, et présentant des rayures très éclaircies comparées à celles des autres tigres (fig.40, Xu et al., 2017).

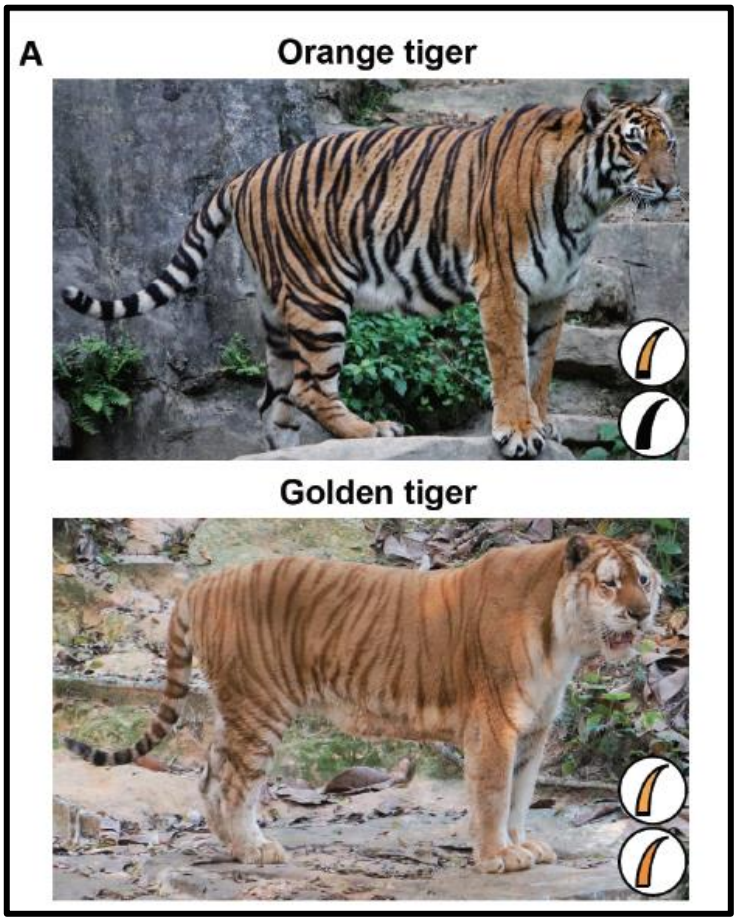


Figure 40 : Comparaison entre les phénotypes d'un tigre roux et d'un tigre doré (Xu et al., 2017)

Le temps d'effet plus long d'ASIP conduirait à une production de phéomélanine plus importante, et à une augmentation de la taille des bandes de phéomélanine sur les poils, leur donnant une couleur plus claire qu'un poil agouti traditionnel (*Golden tiger* = tigre doré). Le phénotype sauvage est présenté au-dessus (*Orange tiger* = tigre roux).

L'étude d'un mutant de souris pour *CORIN* a mis en évidence que ce gène n'était pas requis pour la formation du poil, mais qu'il agissait en aval d'*Agouti* et se comportait comme un suppresseur d'*Agouti* (Enshell-Seijffers et al., 2008).

Il a été montré que ce gène était principalement exprimé dans la papille dermique et qu'il codait une protéase transmembranaire. Le gène *CORIN* non muté (l'allèle sauvage) régulerait l'activité d'*ASIP* en diminuant sa durée d'action. Une mutation de *CORIN* pourrait donc conduire à une augmentation du temps d'action d'ASIP et donc à une production prolongée de phéomélanine lors du cycle pilaire (Xu et al., 2017).

À l'heure actuelle, le mécanisme d'action exact de *CORIN* sur *ASIP* n'est pas encore élucidé. CORIN ayant une activité de sérine protéase, il a été postulé que CORIN pourrait dégrader directement la protéine ASIP par clivage protéolytique. Un tel mécanisme a été mis en évidence

pour un des autres rôles de CORIN, qui est de réguler la pression artérielle par action directe sur le proANP (*pro atrial natriuretic peptide*) dans le cœur, en le clivant et en donnant ainsi naissance à l'ANP actif (Avigad Laron et al., 2019).

La mutation identifiée chez les tigres dorés engendre un remplacement d'une histidine par une tyrosine en position 587 dans la protéine. Au niveau de son mode de transmission, seuls les tigres homozygotes récessifs présentaient un phénotype altéré. Le phénotype des hétérozygotes est non différenciable des individus normaux. Il semblait donc qu'il s'agisse d'une transmission autosomique récessive (Xu et al., 2017).

b. Phénotypes résultants

La mutation sur *CORIN* entraîne un éclaircissement important des bandes eumélaniques chez les tigres « *golden* «, leur donnant une couleur presque dorée (voir figure 40 précédente).

L'extension des bandes aux pôles basal et apical du poil se ferait de façon indépendante et la différence de couleur entre poil agouti normal et poil agouti modifié par CORIN serait plus marquée chez le jeune, bien que persistant à l'âge adulte, en tout cas chez la souris (Enshell-Seijffers et al., 2008).

Chez la souris, une mutation de *CORIN* a été identifiée et nommée « *dirty blonde* » soit blond cendré. Les souris mutées présentent un phénotype de couleur éclaircie par rapport aux souris agouti (fig.41).

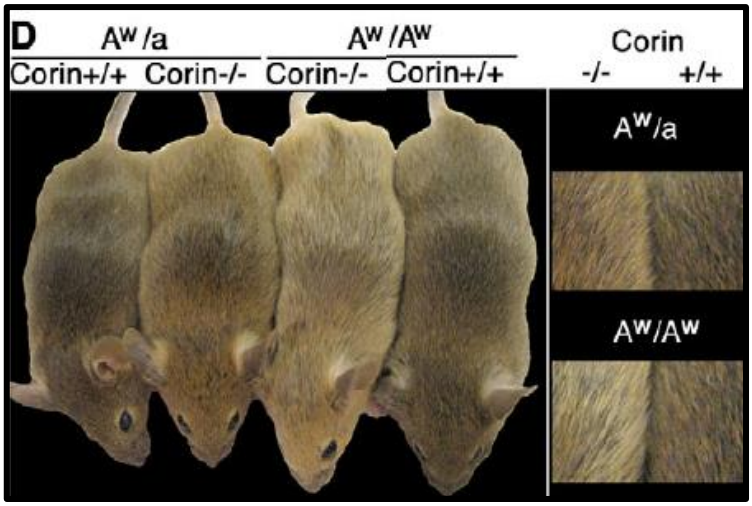


Figure 41 : Effets de *Corin* sur les phénotypes de souris agoutis (Enshell-Seijffers et al., 2008)
Les souris de gauches sont hétérozygotes *A^w/a*, tandis que celles de droites sont homozygotes *A^w/A^w*. Pour chacun des groupes sont présentées des souris homozygotes mutées *Corin* (*Corin -/-*), plus claires et homozygotes non-mutées (*Corin +/+*), plus sombres.

5. *SLC24A5*

a. Mode d'action

Il a été mis en évidence que *SLC24A5* était un gène qui codait l'échangeur d'ion NCKX5 (*sodium/potassium/calcium exchanger 5*), permettant l'échange de Na^+ et Ca^{2+} sous dépendance du K^+. Cet échangeur a principalement été retrouvé dans les mélanocytes, et les mélanophores chez les amphibiens (Williams et al., 2017). Il a été montré qu'il était le seul échangeur de la famille des NCKX (échangeurs sodium/potassium/calcium) à être exprimé exclusivement dans les mélanocytes et le seul situé en position intracellulaire, plus précisément

au niveau de l'appareil de Golgi (Rogasevskaia et al., 2019 ; Wilson et al., 2013), contrairement aux autres échangeurs qui sont membranaires.

Le mécanisme proposé de fonctionnement pour cette pompe est le suivant : NCKX5 ferait pénétrer le Ca^{2+} cytoplasmique dans le mélanosome grâce à un gradient sodique, lui-même créé à partir d'un échangeur Na^+/H^+ et d'une ATPase. Ainsi, l'accumulation de calcium dans le mélanosome activerait une protéase calcium-dépendante, qui participerait à la maturation des protéines mélanosomales, parmi lesquelles TYR et TYRP1 (Ginger et al., 2008).

Un variant humain de la protéine SLC24A5 (substitution d'une alanine par une thréonine en position 111 dans la protéine), aurait une activité bien plus limitée que la version sauvage de la protéine (Wilson et al., 2013). Dans ce cas, une réduction de l'activité d'échange de NCKX5 causerait une acidification importante à l'intérieur du mélanosome en limitant l'activité de l'échangeur Na^+/H^+, acidification qui favoriserait la production de phéomélanine en limitant l'activité de la tyrosinase, et donc une pigmentation plus claire de la peau chez les humains porteurs du variant. L'hypothèse semble viable, le pH des mélanosomes ayant été démontré comme étant plus élevé dans les populations à peau foncée, en comparaison aux populations caucasiennes (Wilson et al., 2013).

Certains articles suggèrent que SLC24A5 aurait aussi un rôle direct sur l'appareil de Golgi, en affectant la maturation de la tyrosinase, sans qu'aucune étude n'en ait encore apporté la preuve (Ginger et al., 2008).

Le fonctionnement de l'échangeur NCKX5 dans le mélanocyte est présenté dans la figure 42.

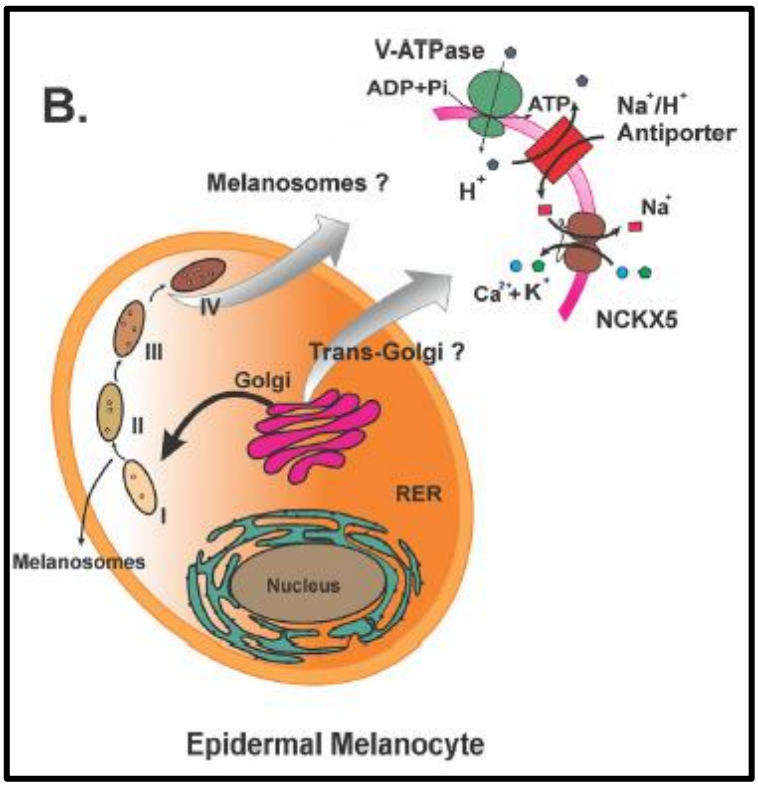


Figure 42 : Fonctionnement de l'échangeur NCKX5 dans un mélanocyte épidermique (Jalloul et al., 2016)

L'ATPase et l'échangeur Na^+/H^+ permettent de créer le gradient sodique à l'intérieur des mélanosomes. On observe ici qu'une diminution de l'activité du transporteur NCKX5 amènerait à une persistance de H^+ à l'intérieur du mélanosome, et donc à une acidification du milieu
Epidermal melanocyte = mélanocyte épidermique, *RER* = réticulum endoplasmique rugueux, *nucleux* = noyaux, *Na^+/H^+ antiporter* = échangeur Na^+/H^+, *V-ATPase* = ATPase

Une expérience menée par Williams et ses collaborateurs, sur des amphibiens (*Xenopus laevis*) a permis de montrer que le *knockdown* de *SLC24A5* induisait une diminution marquée de la pigmentation chez les xénopes, ainsi qu'une réduction significative du taux de marqueurs des mélanosomes (dont les enzymes TYR et TYRP1), sans diminution des marqueurs lysosomaux ainsi qu'une perte de MC1R (Williams et al., 2017 ; Ginger et al., 2008). Cela semblait suggérer que SLC24A5 était impliqué dans la formation précoce des mélanosomes.

Ces résultats ont été corroborés par d'autres études. En effet, après un *knockdown* de *SLC24A5*, on aurait une altération du fonctionnement de MC1R, mais aussi de l'expression des gènes intervenant dans l'homéostasie du cholestérol, provoquant une élévation du cholestérol intracellulaire (dont le rôle sur les mélanocytes et leur fonction est suspecté). On aurait aussi une expression diminuée de plusieurs gènes impliqués dans la pigmentation, comme *TYR*, *TYRP1* et PMEL17 (*Premelanosome protein 17*). SLC24A5 serait de plus lié fonctionnellement à MC1R et ASIP aurait un rôle régulateur négatif sur SLC24A5 (Wilson et al., 2013).

b. Phénotypes résultants

D'un point de vu phénotypique, *SLC24A5* a été identifié comme étant responsable de la couleur *golden* chez le poisson zèbre (Lamason et al., 2005).

Un variant du gène a été associé à une pigmentation plus claire dans les populations humaines européennes (Ginger et al., 2008), et serait plus précisément associé à des yeux bleus et cheveux blonds (de Araújo Lima et al., 2015). Chez l'humain, *SLC24A5* est aussi impliqué dans une forme d'albinisme oculo-cutané (fig.43) : il s'agit d'un caractère autosomique récessif, caractérisé par une hypopigmentation de la peau, des cheveux et des yeux, et associé à des troubles de la vision, un nystagmus et de la photophobie (Morice Picard et al., 2014 ; Vogel et al., 2008).

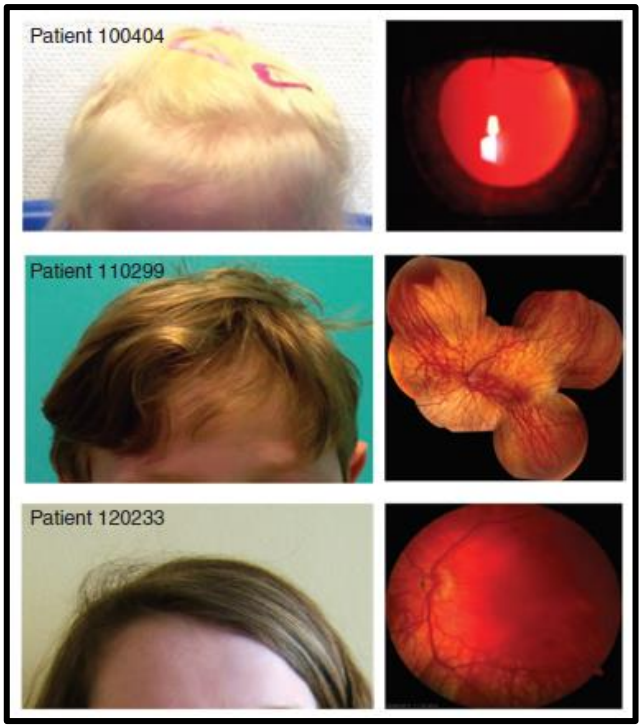


Figure 43 : Variations phénotypiques de patients atteints d'albinisme oculocutané de type 6 (OCA6) (Morice Picard et al., 2014)

La couleur des cheveux est présentée à gauche, et le phénotype oculaire à droite, par transillumination (patient 110299) ou par observation du fond d'œil (patients 100404 et 120233).

Chez la souris, des mutations de *SLC24A5* causent principalement une hypopigmentation au niveau des yeux (Ginger et al., 2008). Chez la poule, il s'agit d'une hypopigmentation des plumes (Liu et al., 2011).

Chez le cheval, une mutation récessive de *SLC24A5* est à l'origine de la couleur diluée crème et donne à l'état hétérozygote les robes palomino et isabelle (fig.44). En effet, l'état hétérozygote n'influence que la phéomélanine, tandis que l'état homozygote influence phéomélanine et eumélanine (Mariat et al., 2003).

Figure 44 : Cheval isabelle, présentant la dilution crème à l'état hétérozygote (source : https://www.animalgenetics.us/)

Une mutation récessive de *SLC24A5* serait aussi à l'origine du phénotype « *tiger-eye* » (iris jaune vif à orangé) chez le cheval de race Paso Fino (fig.45 ; Mack et al., 2017).

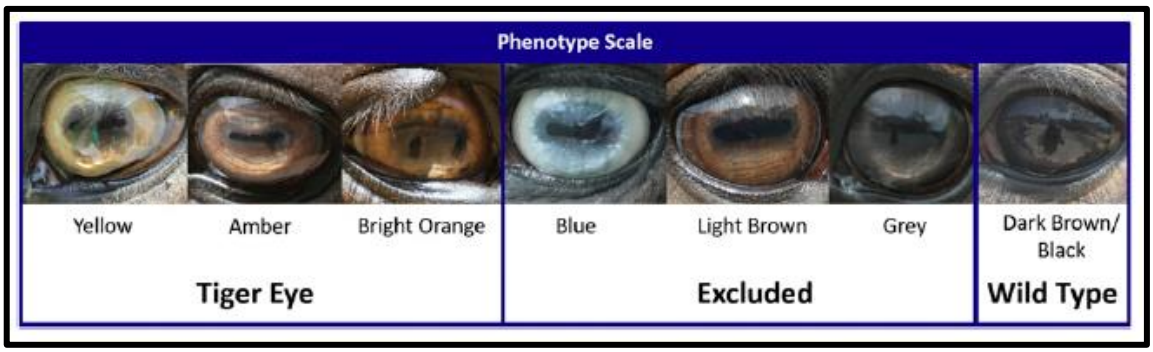


Figure 45 : Echelle phénotypique utilisée pour déterminer la couleur d'œil chez le cheval Paso Fino (Mack et al., 2017)

A gauche, les phénotypes *tiger-eye* jaune, ambre et orange ; au milieu, les phénotypes exclus, bleu, marron clair et gris ; à droite, le phénotype sauvage marron foncé à noir.

6. *CBD103*

Chez le chien, un troisième locus intervient dans la régulation du *switch* eumélanine/phéomélanine, en plus des loci *Extension (MC1R)* et *Agouti (ASIP*) : le locus K (*BlacK*), où le gène *CBD103* (beta défensine 103) a été identifié. Une mutation dans le gène de cette défensine produit une protéine à forte affinité pour MC1R et donne, selon les allèles concernés, un pelage uni eumélanique appelé par simplification noir dominant, ou de la bringeure (fig.46 ; Candille et al., 2007 ; Kerns et al., 2007).

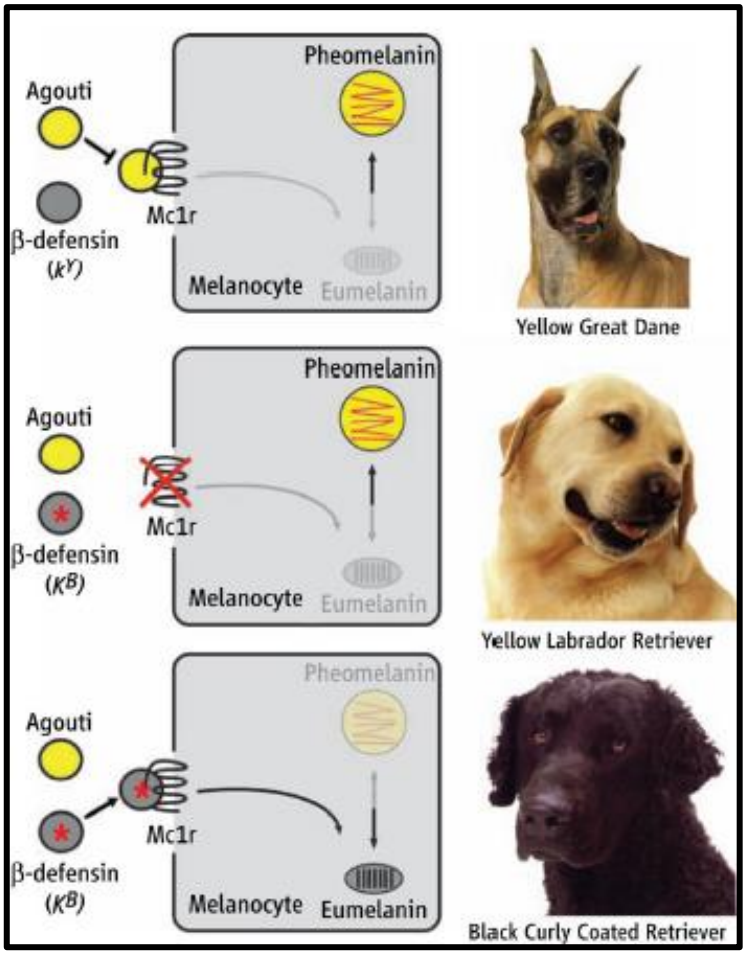


Figure 46 : Production régulée des eumélanines et phéomélanines chez le chien (Candille et al., 2007)

Premier cas (en haut) : les trois gènes (*ASIP*, *MC1R* et *CBD103*) sont à l'état sauvage. Les protéines produites sont normales. On a alors antagonisme d'Agouti sur MC1R et un pelage fauve avec des poils agoutis et noirs. La production des deux types de pigments est régulée.

Deuxième cas (au milieu) : MC1R a subi une mutation entraînant une perte de fonction. Peu importe l'état d'Agouti et de CBD103, l'animal aura un pelage fauve, uniquement pigmenté par de la phéomélanine.

Troisième cas (en bas) : si Agouti et MC1R sont sauvages mais que CBD103 est mutée, la protéine CBD103 mutée se fixe sur MC1R et l'active de manière permanente, orientant la production vers de l'eumélanine. Le chien est noir.

Pheomelanin = phéomélanine, *Eumelanin* = eumélanine, *Yellow Great Dane* = Dogue Allemand fauve, *Yellow Labrador Retriever* = Labrador retriever sable, *Black Curly Coated Retriever* = Retriever à poils bouclés noir

Trois allèles ont été identifiés sur ce locus, donnés ici par ordre de dominance (Kerns et al., 2007) :

- K^B, responsable du pelage eumélanique dominant, à l'état hétérozygote comme homozygote ;
- k^{br}, responsable de la bringeure ;
- k^y (ou k), récessif, considéré comme l'allèle sauvage, sans action sur MC1R, donnant alors un pelage fauve.

PARTIE EXPERIMENTALE

ETUDE PHENOTYPIQUE, GENEALOGIQUE ET GENETIQUE DE LA COULEUR SUNSHINE

I. BUT DE L'ETUDE

Le but de cette étude était triple :
- caractériser la modification de couleur sunshine ;
- identifier le mode de transmission du sunshine ;
- rechercher le gène et la mutation en cause dans le sunshine.

Pour ce faire, nous avons cherché à déterminer ce qu'était exactement le sunshine, par une étude phénotypique. Une étude généalogique nous a ensuite permis d'étudier le mode de transmission de cette couleur, et donc de la mutation concernée. Des études de cartographie génétique ont ensuite été entreprises, en se basant sur les résultats précédents, afin de tenter de trouver la mutation causale.

II. MATERIEL ET METHODE

A. Animaux

1. Chats

Cent soixante-sept chats ont été inclus dans l'étude :
- 98 chats de race Sibérien ;
- 69 chats d'autres races en qualité de contrôles.

Le tableau répertoriant les informations (sexe, couleur, statut pour le sunshine, analyses réalisées) des chats Sibérien inclus dans l'étude est présenté en annexe 1.

2. Méthode de recrutement

Les chats Sibérien ont été recrutés :
- lors d'expositions félines ;
- grâce à l'aide du LOOF qui a communiqué le protocole de l'étude et les fiches de prélèvement aux éleveurs de Sibérien ;
- grâce au Cercle des Amateurs de chats Sibérien (CASib) qui a communiqué sur l'étude auprès de ses adhérents ;
- grâce à l'aide de la juge internationale féline Eleonora Ruggiero.

Les chats des autres races ont été recrutés grâce à la biobanque FeliDNA gérée par VetAgro Sup et Antagene (www.antagene.com).

3. Critères d'inclusion

L'inclusion des chats Sibérien dans l'étude se basait essentiellement sur la couleur (sunshine ou non). Les chats roux n'ont pas été retenus pour l'étude phénotypique (poils) et génétique (recherche de la mutation), la modification sunshine étant difficile à apprécier sur le roux.

4. Fiche de prélèvement, consentement et éthique

Les chats Sibérien ont été inclus dans l'étude à la demande de leur propriétaire, après signature de la fiche de prélèvement et de consentement à l'utilisation des prélèvements pour des recherches en génétique (annexe 2).

Les chats des autres races ont été collectés dans le cadre de la biobanque FeliDNA et après signature de la fiche de prélèvement et de consentement de chaque propriétaire (annexe 2).

Tous les animaux étaient des animaux de propriétaires. Aucune procédure invasive n'a été réalisée sur les animaux inclus dans l'étude. Il n'y a pas d'expérimentation animale au sens de la Directive Européenne (Subject 5f of Article1, Chapter I of the Directive 2010/63/UE of the European Parliament and of the Council).

Cette étude a fait l'objet d'une déclaration au Comité d'éthique de VetAgro Sup Lyon. Elle a reçu l'avis favorable n° 2013 (annexe 3).

B. Arbres généalogiques

Les données de pedigree ont été collectées auprès des propriétaires en même temps que les échantillons d'ADN.

Les arbres généalogiques, constitués à partir des pedigrees des chats inclus dans l'étude, ont été dessinés à l'aide du logiciel Genopro (http://www.genopro.com/fr/).

Les autres arbres généalogiques (plus anciens, chats non inclus dans l'étude mais dont la couleur était reconnue phénotypiquement comme étant sunshine) utilisés dans l'étude pour permettre le déterminisme du mode de transmission de la mutation ont été extraits de la base de données Pawpeds (https://www.pawpeds.com/) et de la base de donnée Russe des pedigrees de chats Sibérien (http://tree.sibcat.info/), répertoriant notamment les chats avec leurs photos par couleur, ainsi qu'à partir du site MessyBeast (http://messybeast.com/).

C. Analyse des phénotypes

Les phénotypes de couleur des chats ont été évalués à l'aide de différents documents fournis par les éleveurs :

- photographies ;
- comptes rendus de jugements d'exposition ;
- pedigrees ;

et avec l'aide de la juge internationale Eleonora Ruggiero.

Des poils de certains des chats inclus dans l'étude ont été envoyés par les propriétaires et les éleveurs pour contribuer à l'analyse phénotypique. Ces poils ont été collés sur des feuilles blanches et pris en photo.

D. Extractions des ADN

Les prélèvements des chats inclus dans l'étude ont été envoyés directement par les propriétaires ou collectés par le Dr Marie Abitbol (brossettes buccales) ou par le vétérinaire traitant du chat, dans le cadre d'une visite médicale vétérinaire annuelle (sang).

1. Extraction de l'ADN à partir des échantillons sanguins

Le sang a été prélevé dans des tubes avec anticoagulant EDTA (Éthylène Diamine Tétra-Acétique) et l'extraction de l'ADN a été réalisée à l'aide de l'automate Maxwell16 de Promega (Madison, Wisconsin, USA : fiche d'utilisation en annexe 4) en se conformant aux recommandations du fabriquant.

Les ADN en solutions ont ensuite été conservés au réfrigérateur à +4°C.

2. Extraction de l'ADN à partir des brossettes buccales

L'ADN a été extrait à l'aide de l'automate Maxwell16 de Promega (Madison, Wisconsin, USA) en suivant les recommandations du fabriquant (annexe 4). Les ADN en solutions ont ensuite été conservés au réfrigérateur à +4°C.

3. Concentration des ADN

La concentration des ADN a été mesurée à l'aide d'un spectrophotomètre (Nanodrop 2000).

E. Génotypage sur puce

Les chats ont été génotypés à l'aide de la puce féline à marqueurs SNP Illumina 63K (www.illumina.com).

Après extraction et mesure de la concentration des ADN, ces derniers ont été envoyés au laboratoire NEOGEN pour le génotypage (www.neogen.com), effectué sur une plateforme Illumina (www.illumina.com) selon les recommandations du fabriquant.

La réassignation de certains SNP, initialement positionnés sur le génome de référence Felis_catus 6.2 publié en 2013, au génome de référence Felis_catus 9.0 publié en 2018 (www.ensembl.org) a été effectuée à l'aide de l'utilitaire BLAST, en comparant les 200 paires de bases entourant chaque SNP (fournies par le laboratoire NEOGEN) avec le génome félin Felis_catus 9.0 (https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi).

F. Séquençage de génome entier

Un séquençage complet du génome d'un chat Sibérien sunshine a été réalisé.

Ce séquençage complet a été effectué par le laboratoire GATC (GATC Biotech, Eurofins, Ebersberg, Allemagne). Le séquençage a été réalisé sur une plateforme Illumina HiSeq3000 (www.illumina.com), avec la technologie paired-end (fragments de 150pb) et une profondeur de 30X. Les alignements sur le génome de référence du chat (Felis_catus 8.0, www.ensembl.org) et l'extractions des variants génomique de type SNP et Indel ont été réalisés par GATC.

G. Analyses statistiques des génotypes

Les fréquences alléliques ont été comparées à l'aide d'un test du Chi2 et une correction de Bonferroni pour les tests multiples a été appliquée. Le logiciel PLINK a été utilisé (http://pngu.mgh.harvard.edu/~purcell/plink/).

H. Prédiction de l'effet des variants SNP

Nous avons utilisé les logiciels en ligne PolyPhen-2 (http://genetics.bwh.harvard.edu/pph2/) et PROVEAN (http://provean.jcvi.org/seq_submit.php) pour prédire l'effet des variants de type SNP sur les protéines.

I. Génotypage pour le variant

Le génotypage pour le variant c.2383C>T de *CORIN* a été effectué par PCR (*polymerase chain reaction*) puis séquençage Sanger à l'aide de 100 ng d'ADN génomique et des amorces 5'- ACCCGCTGTCTTTCCTGC-3' et 5'- GCAATGAGGACACAGCCAC-3'. Une amplification à une température d'hybridation des amorces de 58°C et 35 cycles a été réalisée à l'aide du kit GoTaq G2 Hot Start® (Promega Corporation, Madison, USA), conformément aux préconisations du fabriquant. Les amorces ont été dessinées à l'aide du logiciel Primer3 (http://primer3.ut.ee/). Les produits de PCR ont été envoyés à GATC (GATC Biotech AG, Konstanz, Allemagne) où ils ont été séquencés dans les deux sens. Les chromatogrammes obtenus ont été visualisés à l'aide du logiciel FinchTV (https://digitalworldbiology.com/FinchTV). Les séquences obtenues ont été comparées avec les séquences de référence. L'alignement des séquences a été réalisé à l'aide de l'utilitaire Multalin (http://multalin.toulouse.inra.fr/multalin/multalin.html).

J. Alignement des protéines

Les séquences protéiques de CORIN de différentes espèces ont été extraites de la banque de données Ensembl (www.ensembl.org). L'alignement des séquences obtenues a été réalisé à l'aide de l'utilitaire Multalin (http://multalin.toulouse.inra.fr/multalin/multalin.html).

III. RESULTATS

Nous avons d'abord étudié le phénotype de la couleur sunshine, pour en déterminer les caractéristiques et les différentes variantes.

Nous avons ensuite procédé à l'établissement d'arbres généalogiques pour les chats intégrés à l'étude.

Enfin, l'étude moléculaire visait à rechercher le gène et la mutation en cause dans le phénotype sunshine.

A. Etude phénotypique

1. Patron brown sunshine tabby

. Couleur des poils : tous les chats inclus dans notre étude n'ont présenté le sunshine qu'associé à un patron tabby (avec les quatre variations possibles : mackerel, spotted, blotched ou ticked, bien que la variation ticked ait été peu souvent observée).

Les chatons naissaient avec une couleur de base brown tabby (= black tabby). La couleur semblait évolutive, avec un éclaircissement de la robe plus ou moins marqué avec l'âge, menant le marquage tabby à devenir brun-clair à abricot chez certains individus (fig.47 à 50).

La base du poil était entre un blond et un noisette (fig.48). C'est ce qui donnait cette couleur caractéristique « dorée » au pelage. Bien que s'éclaircissant parfois aussi, elle était sujette à des changements moins drastiques que les marques tabby (fig.50).

Analysés individuellement, les poils agoutis (formant le fond de robe) présentaient une bande de phéomélanine allongée et une pointe d'eumélanine, rappelant les poils *tipped*, bien que la bande foncée soit plus longue que chez ces derniers. Les poils non-agoutis (situés dans les marques tabby) présentaient le même aspect, avec une pointe d'eumélanine qui semblait plus longue encore que sur les poils agoutis modifiés sunshine (fig. 49).

Les chats sunshine présentaient une décoloration blanche autour du nez et de la bouche, ainsi qu'un triangle éclairci au-dessus du nez, caractéristiques. Cette décoloration s'étendait généralement jusqu'au plastron, avec une plage blanche, plus ou moins marquée. Ils présentaient de plus un « M » classique du tabby sur le front (fig.50).

A noter que le plumeau de la queue était toujours noir, tout comme les poils en zone palmaire et plantaire.

. Couleur de la truffe : elle était rose, avec une absence de liseré eumélanique (ou liseré limité aux coins supérieurs externes et peu prononcé).

. Couleur des yeux : ils étaient généralement jaunes à verts.

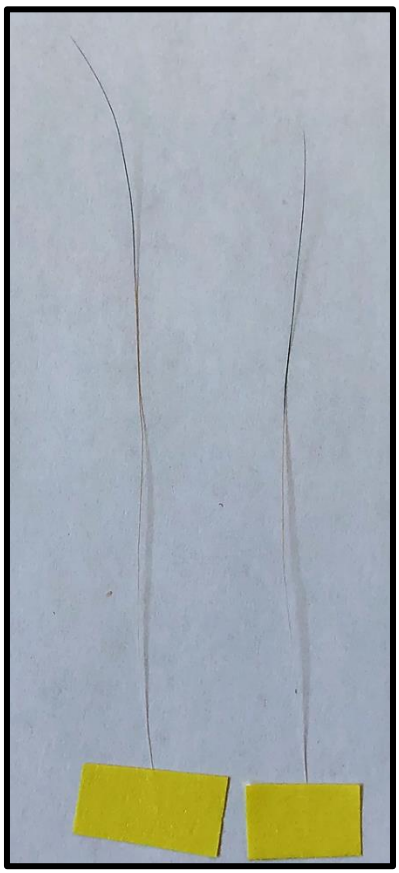
. Couleur des coussinets : ils étaient noirs chez les chats brown tabby et sunshine.

Figure 47 : Sibérien sunshine mackerel tabby

Figure 48 : sous-poil d'un chat sunshine mackerel tabby

(Photographies : Marie Abitbol)
Notez l'impression de doré de l'ensemble du chat et la base des poils de couleur doré-abricot.

A



B

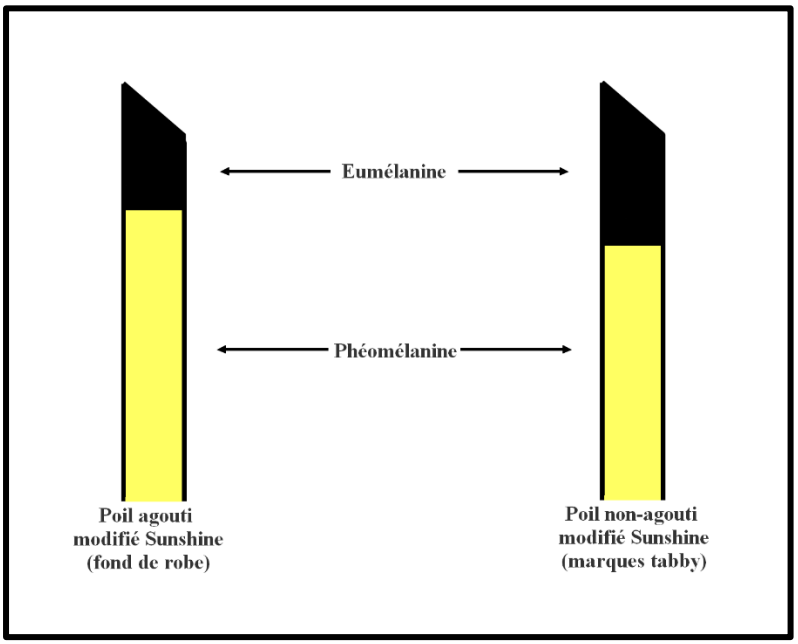


Figure 49 : Photo de poils de chat brown sunshine tabby et répartition des pigments
A. Deux poils de chat Sibérien brown sunshine tabby. Noter la base des poils qui est gris-blanchâtre, suivie d'une longue bande de phéomélanine dorée à rousse puis l'extrémité des poils qui est noire.
B. Répartition schématique des pigments dans les poils d'un chat sunshine tabby.
(Photographie : Marie Abitbol ; dessin personnel)

A

B

Figure 50 : Sibérien brown tabby avec et sans modification sunshine

A. Sibérien sunshine tabby – femelle adulte. Remarquez les marques tabby éclaircies et l'aspect très doré de l'ensemble. B. Sibérien brown tabby et blanc non sunshine – mâle adulte. Notez les marques tabby foncées, le cuir de la truffe rouge brique et son liseré noir.
(Photographies : Ghislaine Cabos)

Dans la figure 51 sont présentées les caractéristiques faciales du sunshine. Le contour de la bouche et du nez étaient blancs, avec un triangle éclairci au-dessus de la truffe. La truffe était rose, sans liseré. On observait le marquage en « M » sur le front (fig.51).

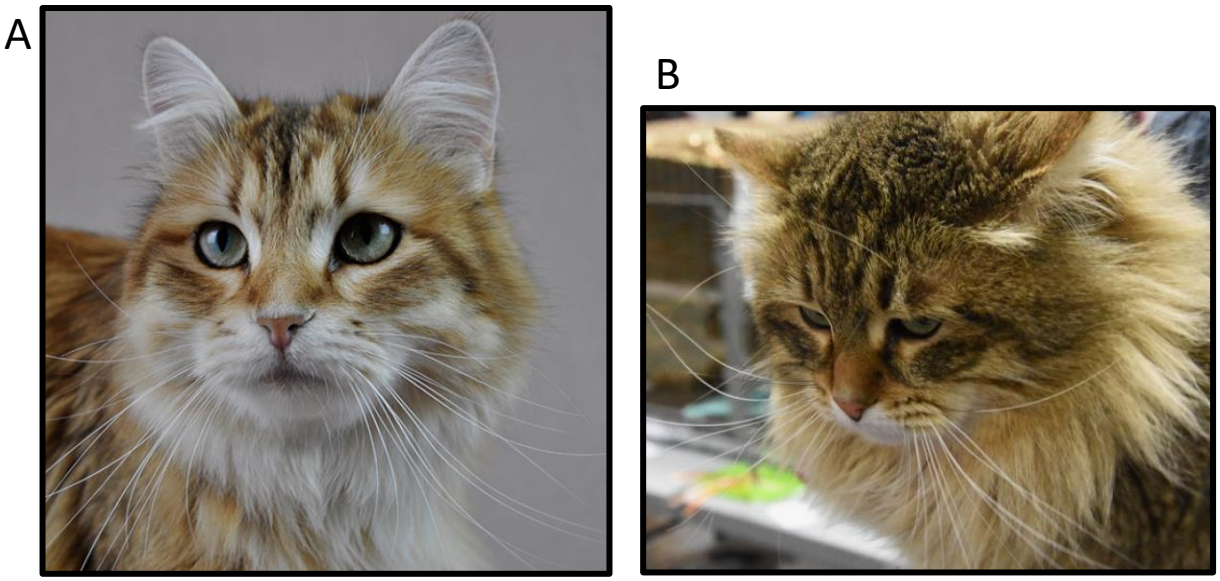


Figure 51 : Caractéristiques faciales de la modification sunshine
A. Sibérien brown sunshine tabby – femelle adulte (Photographie : Eleonora Ruggiero). B. Sibérien brown tabby non sunshine – mâle adulte (Photographie : Pascal Degory).
Notez la large zone éclaircie sous le menton et autour du nez, le triangle au-dessus du nez, la truffe rose sans liseré chez le chat en A.

La figure 52 présente un chat sunshine et permet d'apprécier la pigmentation noire du bout de la queue, des coussinets et poils les entourant.

Figure 52 : Sibérien brown sunshine tabby adulte
(Photographie : Alyse Brisson)
Cette photo permet d'apercevoir les coussinets noirs, ainsi que les poils qui les entourent, eux aussi noirs.

Bien que la couleur de la truffe semblait être en général un rose franc et sans contour, nous avons observé des chats Sibérien sunshine possédant un très léger liseré autour du nez, se cantonnant à la bordure des ailes des celui-ci (fig.53).

Figure 53 : Sibérien brown sunshine tabby et blanc, mâle adulte
(Photographie : Eleonora Ruggiero)
Notez le très léger marquage sombre sur l'aile du nez. La truffe est rose.

Nous avons observé que la modification sunshine était évolutive (fig.54), la couleur de pelage du chat s'éclaircissant lorsqu'il passait du stade chaton à adulte et que cette modification persistait à l'âge adulte, en étant stable.

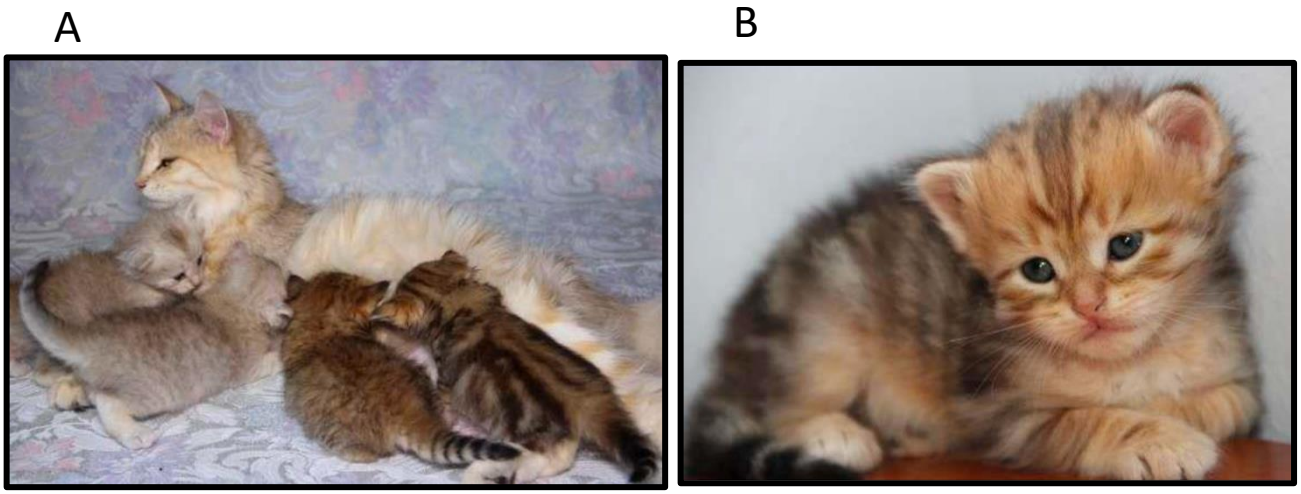


Figure 54 : Evolution de la modification sunhine chez le chat brown tabby
(Photographies : Eleonora Ruggiero)
A. Deux chatons brown sunshine tabby (à droite) âgés de trois semaines, avec leur mère. Notez les marques tabby noires. B. Chaton à deux mois (même chaton que le deuxième en partant de la droite sur la photo A). Notez l'éclaircissement des marques tabby très net sur la face et le bout de la queue noir.

En résumé, nous avons défini la modification sunshine, sur une base brown tabby, ainsi :
- couleur évolutive, pour laquelle le noir du marquage tabby s'éclaircit progressivement, avec persistance de la couleur plus foncée au niveau de l'extrémité de la queue, de la ligne du dos et de la face palmaire/plantaire des membres ;
- décoloration blanche autour de la truffe et de la bouche, s'étendant généralement au plastron ;
- présence d'un triangle éclairci au-dessus de la truffe ;
- truffe rose, sans liseré eumélanique ou avec liseré très peu marqué persistant uniquement sur les ailes du nez ;
- coussinets noirs.

Remarque : n'ayant pas observé la modification sunshine sur la base blue tabby, nous ne la décrirons pas.

2. Couleurs dérivées du sunshine

a. Modification sunshine sur une base silver tabby, aussi appelée bimétal

Nous avons observé des chats black silver tabby présentant la modification sunshine.

. Couleur des poils : pour rappel, le patron black silver tabby, présente un éclaircissement (blanchiment) de la phéomélanine de la base du poil et de la bande subapicale des poils agoutis. La couleur black silver sunshine tabby semblait là encore évolutive. On a observé une division dorso-ventrale de la coloration chez les chats silver sunshine, avec une couleur abricot rappelant le sunshine traditionnel au niveau du ventre et des membres, et un éclaircissement silver du patron au niveau de la ligne du dos, commençant entre les deux oreilles et s'étendant jusqu'au bout de la queue (fig.55 à 57).

Chez les chats sunshine silver, les poils agoutis (formant le fond de robe) étaient globalement divisés en deux catégories, ceux de la région ventrale présentaient une pigmentation très éclaircie (base blanche et pointe noire peu étendue et peu marquée), et ceux de la région dorsale présentaient une répartition entre eumélanine et phéomélanine modifiée : l'eumélanine était repoussée à la pointe du poil comme chez les chats brown sunshine tabby et la phéomélanine ayant subi la dilution liée à *I* (allèle *inhibition*, locus *I*) apparaissait blanche-grise à transparente. Les poils non-agoutis (marquages tabby) présentaient une apparence similaire à celle des poils non-agouti des chats brown sunshine tabby mais avec une phéomélanine plus jaune que rousse-dorée (fig. 57 et 58). La délimitation entre les deux catégories de poils (région dorsale et région ventrale) n'était pas exclusive. Certains chats possédaient les deux catégories de poils sur le dos et les flancs.

Le pourtour du nez et de la bouche était blanc. Le dessous des membres était foncé.

. Couleur du nez : il était rose, sans liseré (fig.55 et 56).

. Couleur des yeux : ils étaient généralement jaunes à verts (fig.55 et 56).

. Couleur des coussinets : ils étaient noirs.

Figure 55 : Sibérien black sunshine silver tabby, femelle adulte
(Photographie : Eleonora Ruggiero)
Notez les yeux verts, la partie dorsale silver tabby, la queue noire et la partie ventrale abricot.

Figure 56 : Sibérien black sunshine silver tabby, jeune femelle
(Photographie : Eleonora Ruggiero)
Notez la truffe rose et sans liseré, les yeux jaunes, la partie ventrale du chat avec des marques tabby abricot, et le silver tabby sur le front.

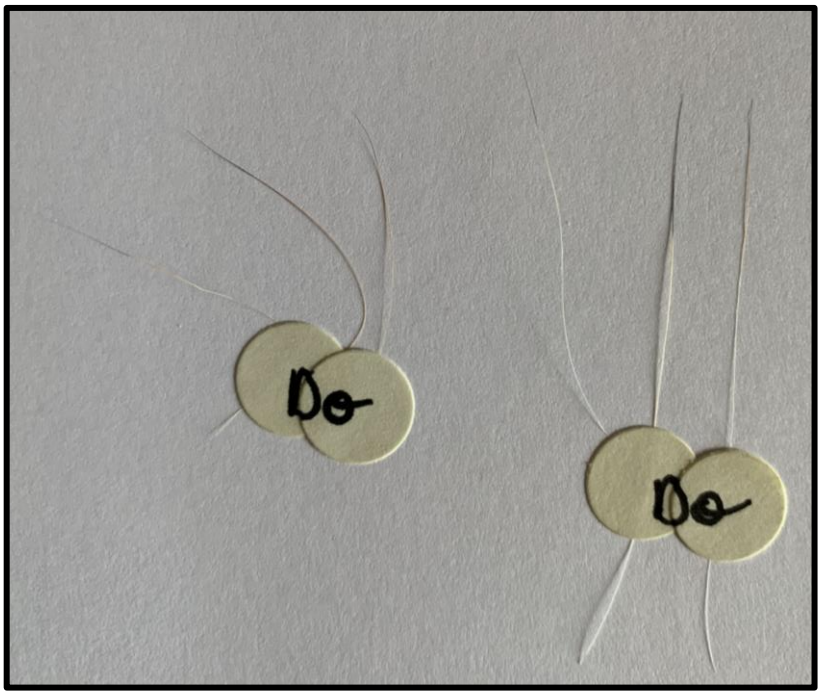


Figure 57 : Photographies de poils d'un chat black sunshine silver tabby
À gauche sont présentés des poils de la région ventrale du chat : noter la base blanchâtre, puis une bande de phéomélanine jaune pâle à dorée et enfin une pointe noire.
À droite sont présentés des poils de la région dorsale : noter que la quasi-totalité de la longueur des poils est blanchâtre (comme un poil silver) avec une pointe noire. Seul le poil de droite présente une pointe noire très réduite et une coloration jaune sous cette pointe noire.
(Photographie : Marie Abitbol)

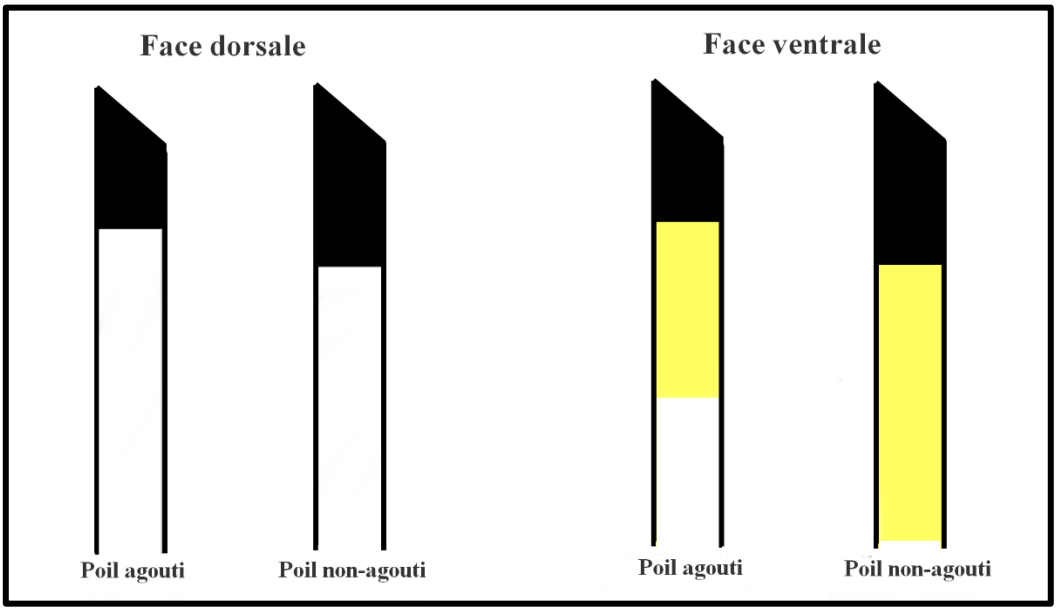


Figure 58 : Répartition schématique des pigments dans les différents types de poils observés chez un chat black sunshine silver tabby (dessin personnel)
La représentation est schématique. Sur le dos et les flancs des chats sunshine silver tabby, des poils des quatre catégories ont été observés. Sur le ventre étaient plutôt présents les poils dits «face ventrale».

Remarque : n'ayant pas observé la modification sunshine sur la base blue silver tabby, nous ne la décrirons pas.

b. Modification sunshine sur le patron colourpoint, Sibérien de variété Neva masquerade

La variété Neva masquerade correspond à la présence du patron colourpoint.

. Couleur des poils : la base de la robe est blanc ivoire, sauf au niveau de la face et des extrémités (bout de la queue et des membres) qui conservent un patron sunshine tabby ou sunshine silver tabby.

Nous avons observé que le pourtour du nez et de la bouche étaient blancs, avec triangle éclairci au-dessus du nez. Nous avons observé des poils foncés au niveau du plumeau de la queue et en face palmaire/plantaire des membres (fig. 59 et 60).

. Couleur du nez : il était rose, sans liseré (fig. 59 et 60).

. Couleur des yeux : ils étaient du bleu caractéristique des chats colourpoint (fig. 59 et 60).

. Couleur des coussinets : ils étaient noirs.

Figure 59 : Sibérien sunshine Neva masquerade, mâle adulte
(Photographie fournie par le club de race du Sibérien CASib)
Notez la coloration restreinte aux extrémités du chat et les yeux bleus (patron colourpoint), le triangle blanc au-dessus du nez, le cuir du nez rose et sans liseré (modification sunshine)

Il s'agit de chats colourpoint, dont la base serait alors un sunshine (ou un bimétal, bien que la distinction sur un chat colourpoint soit particulièrement complexe à faire). Cette couleur est sous l'influence du locus C (génotype c^s/c^s, voir partie 1, paragraphe I.C.3.), donnant ce qui est communément appelé chez le Sibérien un patron Neva masquerade.

Figure 60 : Sibérien sunshine (et probablement silver) Neva masquerade, mâle adulte
(Photographie fournie par le club de race du Sibérien CASib)
Notez la coloration restreinte aux extrémités du chat et les yeux bleus (patron colourpoint), le triangle blanc au-dessus du nez, le cuir du nez rose et sans liseré (modification sunshine) et la couleur générale du chat très blanche.

Remarque : n'ayant pas observé la modification sunshine sur la base blue point tabby, avec ou sans silver, nous ne la décrirons pas.

B. Etude généalogique et déterminisme génétique

1. Etude généalogique

Nous avons remonté les généalogies de certains chats de l'étude, afin d'apprécier la transmission de la modification sunshine dans les pedigrees.

Nous présenterons ici le cas de la femelle Sibérien brown sunshine tabby ayant servi au séquençage de génome entier (fig.61).

Figure 61 : Sibérien brown sunshine tabby femelle à cinq mois
(Photographie : Ghislaine Cabos)

Elle possédait la modification de couleur caractéristique du sunshine. Elle a été enregistrée comme brown spotted tabby (golden). Ses deux parents ont été déclarés de couleur brown tabby, sans golden. On a retrouvé, à la génération précédente, deux chats enregistrés en brown tabby (golden), un de chaque côté de l'ascendance.

La figure 62 représente l'arbre généalogique partiel de cette femelle, montrant la transmission du sunshine dans son pedigree.

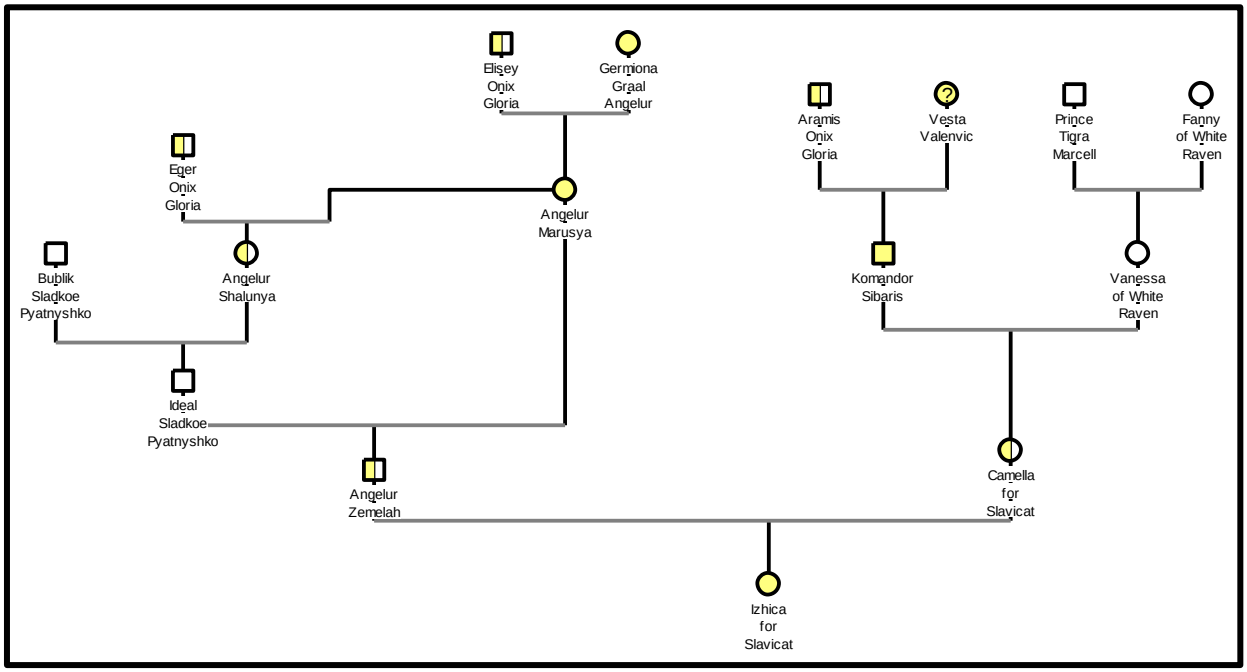


Figure 62 : Arbre généalogique partiel de la femelle brown sunshine tabby dont le génome a été séquencé

Les carrés représentent les mâles, les ronds les femelles ; l'allèle responsable du sunshine est représenté en jaune clair. Un chat sunshine est supposé homozygote pour cet allèle sous l'hypothèse d'un mode de transmission autosomique récessif du sunshine (symbole complètement jaune), tandis que les porteurs (symbole à moitié jaune) seraient hétérozygotes. Les points d'interrogation représentent les chats de statut inconnu pour le sunshine.

L'arbre généalogique complet de la femelle a été tracé, afin de mettre en évidence les individus « de fondation », qui représentent les premiers individus à avoir présenté le phénotype sunshine ou transmis celui-ci. Cet arbre complet est représenté en figure 63.

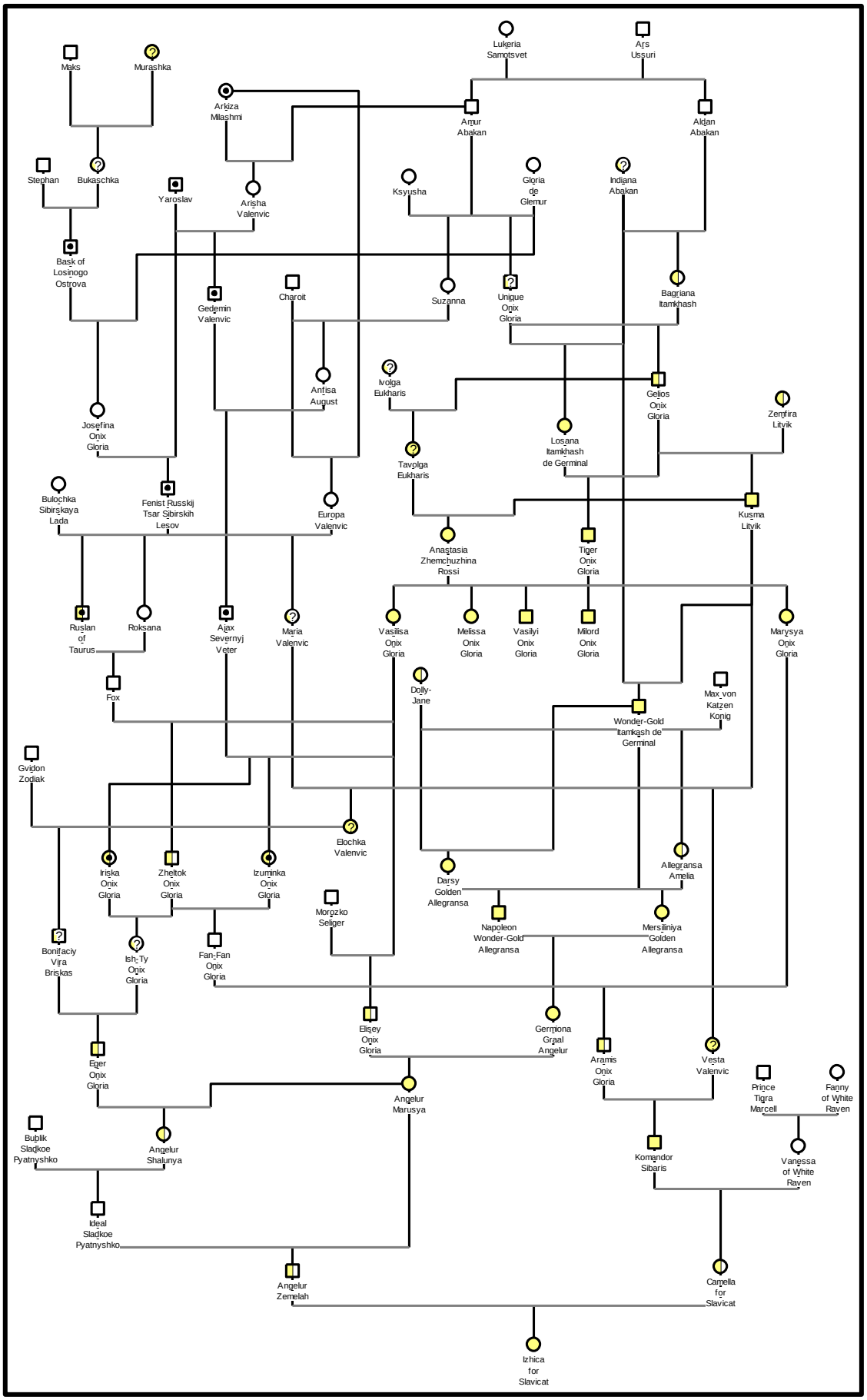


Figure 63 : Arbre généalogique de la femelle dont le génome a été séquencé

Légende figure 63 : Les carrés représentent les mâles, les ronds les femelles ; l'allèle responsable du sunshine est représenté en jaune clair. Un chat sunshine est supposé homozygote pour cet allèle sous l'hypothèse d'un mode de transmission autosomique récessif du sunshine (symbole complètement jaune), tandis que les porteurs (symbole à moitié jaune) seraient hétérozygotes. Les points d'interrogation représentent les chats de statut inconnu pour le sunshine. Les individus avec un point au centre de leur symbole étaient silver.

Plusieurs individus de fondations ont été identifiés.

Parmi eux, nous avons identifié Indiana Abakan. Enregistrée en « ny » dans la base de données de pedigrees Pawpeds (https://pawpeds.com/), soit golden, elle a cependant été enregistrée en « n » sur la plupart des autres pedigrees, dont la base de données SibCat (http://tree.sibcat.info), soit un brown tabby traditionnel. Malheureusement, la seule photo que nous possédions d'elle était floue et mal exposée et permettait peu de distinguer sa couleur exacte. Il apparaissait qu'elle possèdait un ton très clair, presque sunshine, mais avec un liseré assez marqué autour du nez.

Malgré cette incertitude quant à sa couleur, sa portée avec Unique Onix Gloria, un chat uni noir, a mené à la naissance de deux chatons enregistrés comme golden (et possédant, au vu des photos, un léger liseré noir autour du nez) : Losana Itamkhash de Germinal et Leopoldina Itamkhash de Germinal (non représentée sur l'arbre généalogique).

D'autres de ses descendants ont permis de conforter la présence du sunshine, notamment à travers de nombreux porteurs hétérozygotes (ayant donné naissance à des chats sunshine), comme Gelios Onix Gloria.

Un autre individu qui pouvait être considéré comme de fondation, était Kusma Litvik. Indéniablement sunshine d'après les photos existantes, on retrouvait à la fois Unique Onyx Gloria et Indiana Abakan dans ses ancêtres côté paternel. La provenance de l'allèle du sunshine du côté maternel a été difficile à déterminer, au vu du manque d'informations sur les chats qui en constituaient l'arbre. Kusma Litvik et Indiana Abakan ont de plus eu une portée ensemble, donnant naissance à Wonder-Gold Itamkhash de Germinal et Wasiliy-Gold Itamkhash de Germinal (non représenté sur l'arbre généalogique), deux chats enregistrés comme golden. La photo de Wonder-Gold montrait un chat effectivement sunshine, bien que possédant encore un très léger liseré autour du nez.

Une autre femelle de fondation nous a semblé être Murashka. Bien que ne possédant aucune photo pour le confirmer, elle a été enregistrée comme « ny », donc golden. Cependant sa fille Bukashka, elle aussi enregistrée golden, semblait plutôt être d'un brown tabby très éclairci, avec une légère décoloration du nez mais un liseré marron persistant.

Enfin un dernier individu de fondation possible était Ivolga Eukharis. Il s'agissait d'une femelle Sibérien enregistrée dans Pawpeds en « ny », dont les parents étaient pour l'un silver, et pour l'autre tortie (écaille de tortue). Aucune photo d'elle n'a été trouvée.

Afin d'étudier la transmission du sunshine nous avons sélectionné les animaux dont le sunshine était confirmé, et analysé ensuite le mode de transmission de la couleur au sein de leur famille.

Un bon exemple était constitué par les diverses portées de Tiger Onix Gloria (sunshine confirmé sur photographie) et Anastasia Zhemchuzhina Rossi (également sunshine confirmée). Toute leur descendance, soit treize chats, a été enregistrée en « ny » dans Pawpeds. Seuls cinq chats sont représentés sur l'arbre généalogique en figure 64, dont le sunshine a été confirmé sur photographie. La figure 64 illustre une transmission qui semble compatible avec un mode de transmission autosomique récessif pour le sunshine.

Ainsi, tous les individus nés de deux parents sunshine étaient tous sunshine. Les individus nés d'un croisement entre un porteur et un sunshine étaient soit sunshine, soit non sunshine. Quant aux individus nés de deux parents porteurs ils étaient soit sunshine soit non sunshine.

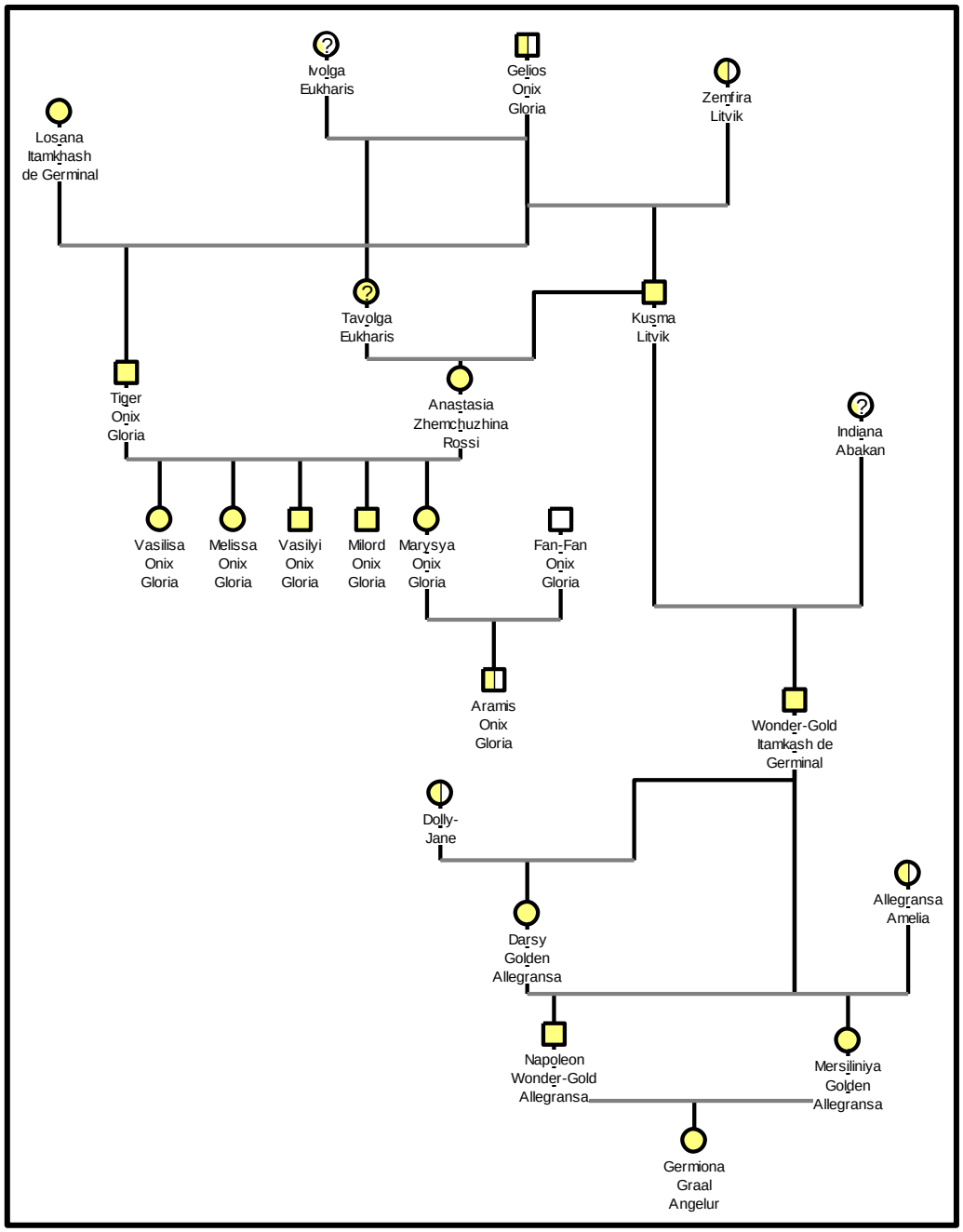


Figure 64 : Arbre généalogique illustrant la transmission récessive du sunshine sur plusieurs générations

Les carrés représentent les mâles, les ronds les femelles ; l'allèle responsable du sunshine est représenté en jaune clair. Un chat sunshine est supposé homozygote pour cet allèle sous l'hypothèse d'un mode de transmission autosomique récessif du sunshine (symbole complètement jaune), tandis que les porteurs (symbole à moitié jaune) seraient hétérozygotes. Les points d'interrogation représentent les chats de statut inconnu pour le sunshine.

L'hypothèse d'un mode de transmission autosomique récessif pour le sunshine était en accord avec tous les arbres généalogiques des animaux sunshine inclus dans notre étude (non présentés ici). Outre la transmission récessive du sunshine, tous ces chats avaient en commun, au moins chez l'un de leurs ancêtres, la présence de l'un des individus identifiés comme « de fondation » avec notamment une partie des chats avec l'affixe Onix Gloria dans leurs lignées.

En ce qui concerne le sunshine associé au silver (ou bimétal), son développement semblait récent. Nous avons en particulier identifié que divers mariages de Kusma Litvik, l'un avec Viola Sarji, l'autre avec Izuminka Onix Gloria, deux chattes silver, avaient donnés naissances à des chats enregistrés comme silver, mais présentant en partie ventrale des poils dorés, rappelant le bimétal (fig.65).

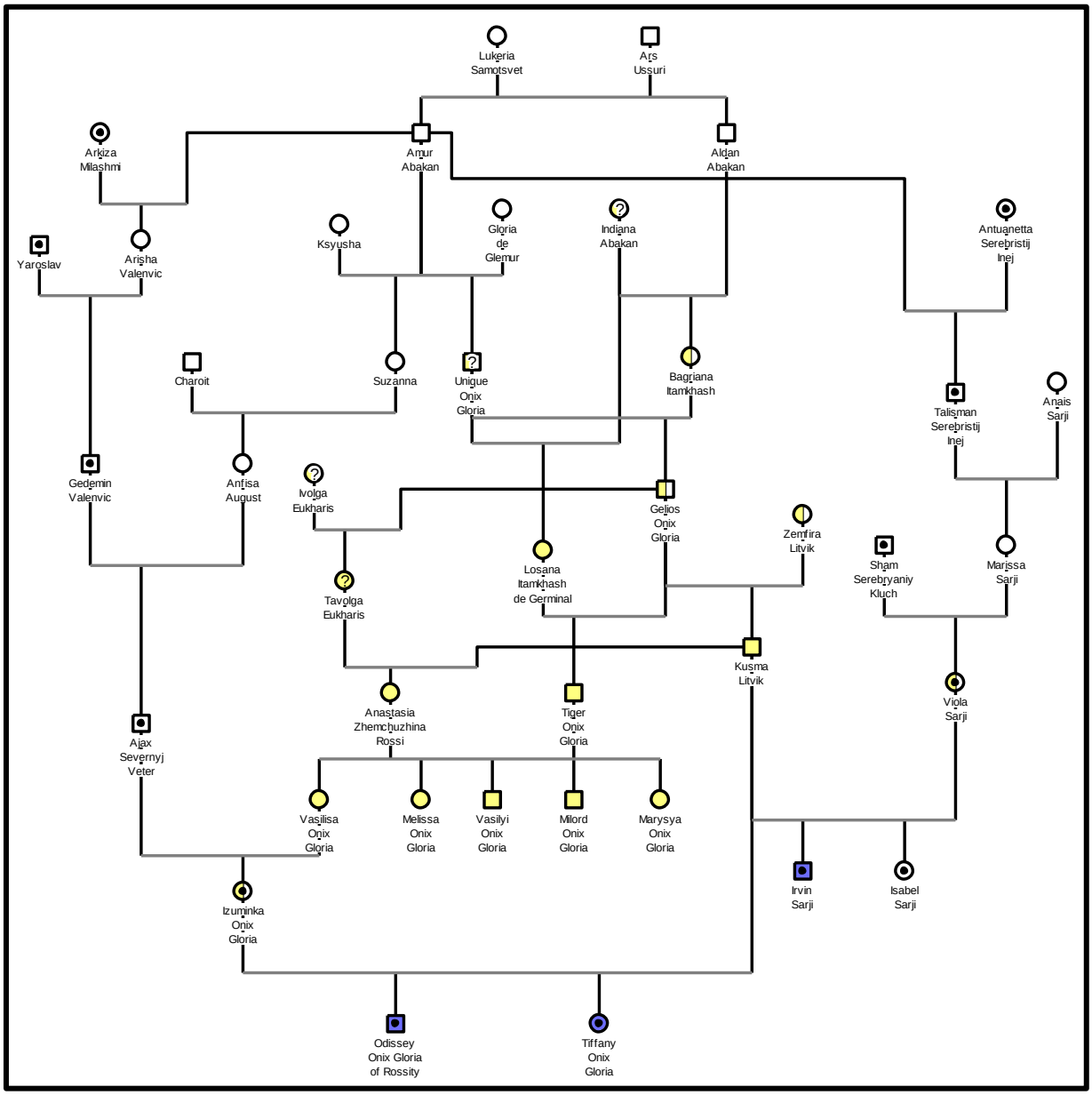


Figure 65 : Arbre généalogique des premiers bimétal supposés

Les carrés représentent les mâles, les ronds les femelles ; l'allèle responsable du sunshine est représenté en jaune clair. Un chat sunshine est supposé homozygote pour cet allèle sous l'hypothèse d'un mode de transmission autosomique récessif du sunshine (symbole complètement jaune), tandis que les porteurs (symbole à moitié jaune) seraient hétérozygotes. Les points d'interrogation représentent les chats de statut inconnu pour le sunshine. Les individus avec un point au centre de leur symbole étaient silver. Les chats silver avec des marques dorées en région ventrale (possibles bimétals) sont représentés en bleu.

Des arbres de chats bimétals dont la couleur a été confirmée sur photographie ont ensuite été analysés, pour vérifier qu'on obtenait bien une transmission dominante pour le silver (la présence d'un allèle *I* suffisant à obtenir du silver, voir partie bibliographique) et récessive pour le sunshine. L'un de ces arbres est représenté en figure 66.

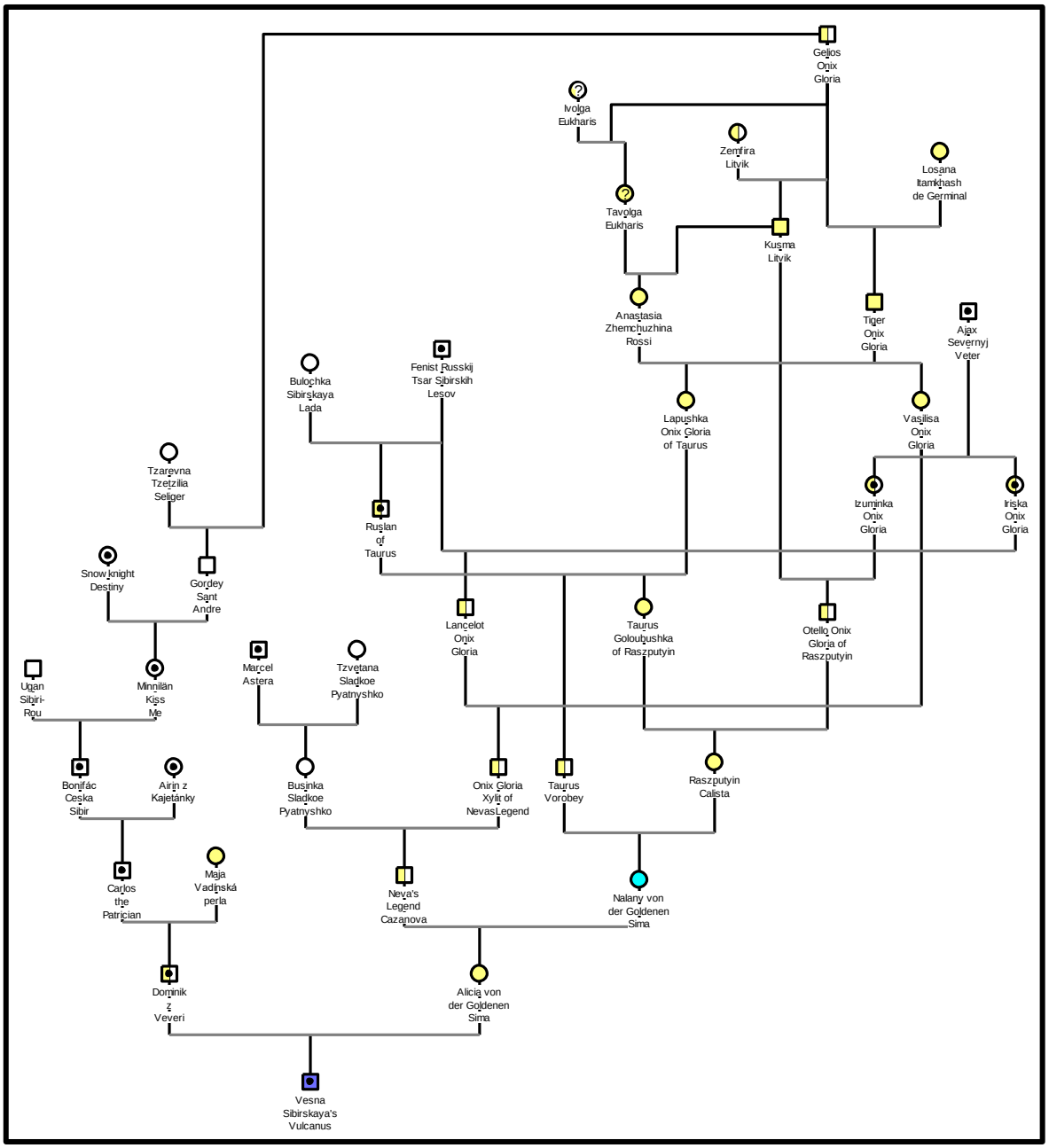


Figure 66 : Exemple d'un arbre généalogique d'un chat bimétal

Les carrés représentent les mâles, les ronds les femelles ; l'allèle responsable du sunshine est représenté en jaune clair. Un chat sunshine est supposé homozygote pour cet allèle sous l'hypothèse d'un mode de transmission autosomique récessif du sunshine (symbole complètement jaune), tandis que les porteurs (symbole à moitié jaune) seraient hétérozygotes. Les points d'interrogation représentent les chats de statut inconnu pour le sunshine. Les individus avec un point au centre de leur symbole étaient silver. Les chats silver avec des marques dorées en région ventrale (bimétals) sont représentés en bleu. L'individu représenté en cyan est d'une couleur inscrite « ay », soit bleu golden.

Nous avons constaté que les arbres étaient compatibles avec une transmission autosomique dominante de la modification silver et une transmission autosomique récessive du sunshine.

En conclusion, les données des arbres généalogiques étaient compatibles avec un mode de transmission autosomique récessif pour le sunshine, et il semblait que le sunshine associé à la présence de silver donne la couleur sunshine silver, également appelée bimétal.

2. Analyse du mode de transmission

Nous avons analysé le mode de transmission de la modification sunshine à l'aide des documents de généalogie et de portées fournis par les éleveurs.

Les résultats sont récapitulés dans le tableau IV.

Tableau IV : Portées analysées en fonction de la couleur des parents et des chatons

Type de mariage	Sexe des chatons	Chatons sunshine	Chatons bimétal	Chatons silver	Chatons brown
Sunshine x bimétal	23 mâles 15 femelles	11	27	0	0
Sunshine x sunshine	4 mâles 5 femelles	9	0	0	0
Bimétal x ns	5 mâles 1 femelle	0	0	6	0
Sunshine x ns	16 mâles 7 femelles	6	1	2	21
Ns x ns	8 mâles 8 femelles	5	2	2	7

Légende : Ns = non sunshine = brown ou blue tabby, noir ou bleu, silver ou smoke

Nous avons regroupé les chats sunshine et bimétal (= sunshine et silver) et séparé les différents types de mariages. Nous avons comparé les proportions observées et attendues, sous l'hypothèse d'un mode de transmission autosomique récessif, à l'aide d'un test du Chi2 (avec correction de Yates si nécessaire). Les résultats sont présentés dans le tableau V.

Tableau V : Analyse statistique des portées

Type de mariage	Nombre de chatons	Chatons sunshine	Chatons non sunshine	Chi2
Sunshine x sunshine	47	47	0	-
Proportions attendues (modèle autosomique récessif)	*47*	*47*	*0*	
Sunshine x ns sans chaton sunshine	23	0	23	-
Proportions attendues (modèle autosomique récessif)	*23*	*0*	*23*	
Sunshine x ns avec chaton sunshine	13	7	6	*p-value* = 0,84 non significatif
Proportions attendues (modèle autosomique récessif)	*13*	*6,5*	*6,5*	
Ns x ns avec chaton sunshine	16	7	9	*p-value* = 0,46 non significatif
Proportions attendues (modèle autosomique récessif)	16	4	12	

Légende : Ns = non sunshine = brown ou blue tabby, noir ou bleu, silver ou smoke
Sunshine = sunshine et sunshine silver
Les proportions attendues sont indiquées sous l'hypothèse d'un mode de transmission autosomique récessif.

L'analyse statistique des résultats des accouplements était en accord avec un mode de transmission autosomique récessif pour la modification sunshine du chat Sibérien.

C. Etude moléculaire

1. Analyse du séquençage de génome entier

Le génome entier d'un chat sunshine a été séquencé par le laboratoire GATC (https://www.eurofinsgenomics.eu/en/custom-dna-sequencing/gatc-services/). Les séquences brutes ont été alignées sur le génome de référence du chat (Felis_catus 8.0, www.ensembl.org) par GATC et les variants génomiques de type SNP et INDEL ont été identifiés. GATC a ainsi fourni le tableau des variants différant entre notre chat séquencé et le génome de référence (Felis_catus 8.0).

Nous avons extrait les variants homozygotes présents chez le chat séquencé et le différenciant du génome de référence. Les données ont ensuite été comparées avec la liste de nos gènes candidats (voir partie IV. D. de l'étude bibliographique) et des gènes de pigmentation publiée en 2019 (Baxter et al., 2019), afin de sélectionner les variants pouvant affecter la pigmentation.

a. Variants présents à l'état homozygote dans un gène candidat

Nous avons cherché les variants siégeant dans la liste de nos gènes candidats, ainsi que leur possible impact au niveau phénotypique. Nous nous sommes restreints aux variants présents dans la séquence codante des gènes (exons) et dans les sites conservés d'épissage. De plus, nous n'avons considéré que les variants non synonymes des exons.

En cas de gène pouvant posséder plusieurs noms (comme *Agouti/ASIP*), le site Ensembl (www.ensembl.org) a été utilisé, nous permettant d'obtenir le code universel du gène pour faciliter les recherches.

. Gène candidat ***CORIN***

Ce gène a été identifié sur le chromosome B1 félin (www.ensembl.org).

Nous avons identifié deux SNP non synonymes dans *CORIN*, d'impact faible à fort prédit par Polyphen et PROVEAN (tab.VI) : une thymine remplaçant une cytosine en position 166234440, le codon CGC devenant un TGC engendrant le remplacement d'une arginine par une cystéine, en position 795 (R795C) ; et une adénine remplaçant une guanine position 166261374, le codon ATG devenant un ATA engendrant le remplacement d'une méthionine par une isoleucine, en position 1037 dans la protéine (M1037I).

Tableau VI : variants homozygotes non synonymes identifiés dans le gène candidat *CORIN*

Variant	Chr	Position	Référence	Chat séquencé	Modification prédite	Impact PolyPhen-2	Impact PROVEAN
c.2383C>T	B1	166234440	C	T/T	R795C	Bénin	Délétère
c.3111G>A	B1	166261374	G	A/A	M1037I	Bénin	Neutre

La nomenclature des variants est présentée d'après le HGNC (*Hugo Gene Nomenclature Comittee*, https://www.genenames.org/). Chr : chromosome. La position est présentée d'après le génome de référence Felis_catus 8.0.

. Gène candidat ***SLC24A5***

Ce gène a été situé sur le chromosome B3.

Nous avons identifié un SNP non-synonyme dans *SLC24A5*, d'impact faible (prédictions Polyphen-2 = bénin et PROVEAN = neutre) : une guanine remplaçant une cytosine en position 55888135, le codon GGA devenant un GCA et engendrant le remplacement d'une glycine par une alanine, en position 180 dans la protéine.

Nous n'avons identifié aucun autre INDEL ou SNP non-synonyme ou affectant un site d'épissage dans les gènes candidats dont nous avions dressé la liste pour le phénotype sunshine (voir partie IV. D. de l'étude bibliographique).

b. Variants présents à l'état homozygote dans des gènes de pigmentation autres

Nous avons identifié plusieurs variants SNP dans des gènes de pigmentation et présents à l'état homozygote dans le génome du chat sunshine séquencé. Ils sont présentés en annexe 5.

2. Etude d'association

Nous avons génotypé 25 chats Sibérien sunshine et contrôles à l'aide de la puce à marqueurs SNP. Le détail des chats génotypés est présenté dans le tableau VII.

Tableau VII : Liste des chats génotypés sur puce

Chat	Couleur	Groupe	Remarque
S1	Brown sunshine tabby	Sunshine	
S2	Brown sunshine tabby	Sunshine	
B1	Bimétal	Sunshine	
B2	Bimétal	Sunshine	
S3	Brown sunshine tabby	Sunshine	
B3	Bimétal	Sunshine	
S4	Brown sunshine tabby	Sunshine	
S5	Brown golden tabby	Sunshine	Atypique (très roux)
S6	Brown sunshine tabby	Sunshine	
S7	Brown sunshine tabby	Sunshine	
S8	Brown sunshine tabby	Sunshine	
B4	Bimétal	Sunshine	Nez peu typique
C1	Brown tabby	Contrôle	
C2	Brown tabby et blanc	Contrôle	
C3	Brown tabby et blanc	Contrôle	
C4	Brown tabby et blanc	Contrôle	Issu de sunshine
C5	Brown tabby	Contrôle	
C6	Brown tabby et blanc	Contrôle	Issu de sunshine
C7	Blue cream tortie	Contrôle	
C8	Brown tabby	Contrôle	
C9	Black silver tabby	Contrôle	
C10	Brown tabby	Contrôle	
C11	Brown tabby	Contrôle	
C12	Brown tabby	Contrôle	
C13	Brown tabby	Contrôle	

Nous avons analysé les génotypes à l'aide du logiciel PLINK, en effectuant une étude d'association. Dans un premier temps, les génotypes des 12 chats du groupe sunshine ont été comparés aux génotypes des 13 chats du groupe contrôle, sans appliquer de modèle particulier et sans correction pour les tests multiples. Les résultats sont présentés dans la figure 67.

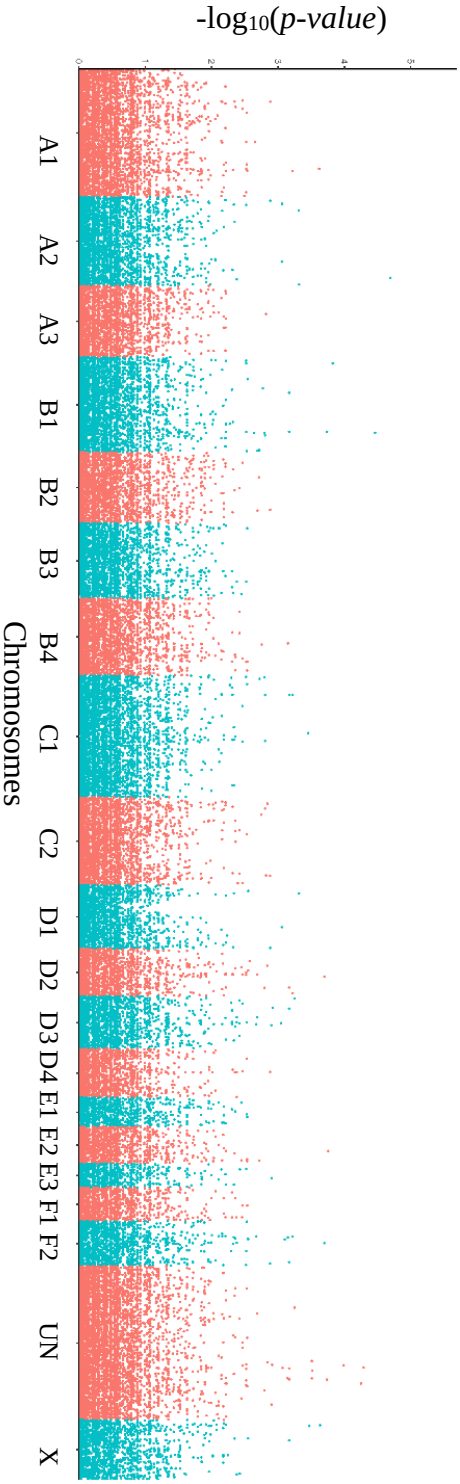


Figure 67 : Manhattan plot de l'étude d'association chez les 25 chats Sibérien

En abscisse sont représentés les chromosomes félins, avec UN = *unknown* (inconnu). En ordonnées sont représentée les *p-value* de l'étude d'association entre le caractère sunshine et chaque SNP, sans correction pour les tests multiples. Chaque point représente un marqueur SNP. Les marqueurs sont représentés en fonction de leur position sur chaque chromosome, d'après le génome de référence Felis_catus 6.2.

Nous avons identifié quelques marqueurs dépassant une *p-value* non corrigée de 10^{-4} sur le chromosome A2, le chromosome B1 et parmi les chromosomes non assignés à un chromosome (UN).

Nous avons analysé le tableau des résultats individuels des SNP présentant les plus fortes *p-values*, avant et après correction de Bonferroni pour les tests multiples (tab.VIII).

Tableau VIII : Résultats de l'étude d'association, avant et après correction de Bonferroni, pour les 20 marqueurs présentant les *p-values* les plus significatives

Chr	SNP	*p-value* non corrigée	*p-value* Bonferroni
A2	chrA2.213229082	$2{,}037 \times 10^{-5}$	1
B1	chrB1.190190050	$3{,}467 \times 10^{-5}$	1
UN	chrUn13.9964347	$5{,}161 \times 10^{-5}$	1
UN	chrUn8.13335617	$5{,}651 \times 10^{-5}$	1
UN	chrUn13.9586940	0,0001027	1
B1	chrB1.27123912	0,0001502	1
E2	chrE2.50376100	0,0001764	1
B1	chrB1.188241628	0,0001834	1
UN	chrUn13.12344998	0,0001834	1
F2	chrF2.46274570	0,0002015	1
D2	chrD2.77878487	0,0002015	1
X	chrX.11164970	0,0002337	1
A1	chrA1.233053939	0,0002411	1
UN	chrUn13.10512914	0,0003086	1
UN	chrUn13.8864847	0,0003108	1
UN	chrUn13.12073551	0,0003108	1
X	chrX.12753921	0,0003401	1
C1	chrC1.115852335	0,0003532	1
D1	chrD1.17425830	0,0004835	1
A2	chrA2.226725985	0,0004835	1

Légende. Chr : chromosome

Nous avons constaté qu'aucun SNP ne présentait une *p-value* significative après correction de Bonferroni.

Nous avons remarqué que six SNP parmi les SNP avec les meilleures *p-values* étaient non assignés à un chromosome (UN) et étaient assignés à un même segment d'ADN appelé UN13. Un septième SNP était assigné au segment UN8.

La puce à marqueurs SNP a été développée à partir de la séquence de référence féline Felis_catus 6.2 publiée en 2013 (www.ensembl.org). Depuis, deux nouveaux assemblages et annotation ont été publiés : Felis_catus 8.0 et Felis_catus 9.0 (www.ensembl.org).

Nous avons cherché la position des marqueurs SNP assignés aux segments chromosomiques UN8 et UN13 dans la dernière version du génome félin Felis_catus 9.0, à l'aide de l'utilitaire BLAST. Les résultats sont présentés dans le tableau IX.

Tableau IX. Résultats de l'étude d'association, avant et après correction de Bonferroni, pour les 20 marqueurs présentant les p-values les plus significatives, après réassignation sur le génome de référence Felis_catus 9.0

Chr 6.2	SNP	*Position dans 6.2*	*Chr 9.0*	*Position dans 9.0*	*p-value* non corrigée	*p-value* Bonferroni
A2	chrA2.213229082	213229082	A2	-	$2{,}037 \times 10^{-5}$	1
B1	chrB1.190190050	190190050	B1	166236605	$3{,}467 \times 10^{-5}$	1
UN	chrUn13.9964347	inconnue	B1	170916548	$5{,}161 \times 10^{-5}$	1
UN	chrUn8.13335617	inconnue	B1	167763890	$5{,}651 \times 10^{-5}$	1
UN	chrUn13.9586940	inconnue	B1	171308832	0,0001027	1
B1	chrB1.27123912	27123912	B1	27123912	0,0001502	1
E2	chrE2.50376100	50376100	E2	-	0,0001764	1
B1	chrB1.188241628	188241628	B1	167852412	0,0001834	1
UN	chrUn13.12344998	inconnue	B1	168325362	0,0001834	1
F2	chrF2.46274570	46274570	F2	-	0,0002015	1
D2	chrD2.77878487	77878487	D2	-	0,0002015	1
X	chrX.11164970	11164970	X	-	0,0002337	1
A1	chrA1.233053939	233053939	A1	-	0,0002411	1
UN	chrUn13.10512914	inconnue	B1	170347423	0,0003086	1
UN	chrUn13.8864847	inconnue	B1	172047936	0,0003108	1
UN	chrUn13.12073551	inconnue	B1	168732779	0,0003108	1
X	chrX.12753921	12753921	X	-	0,0003401	1
C1	chrC1.115852335	115852335	C1	-	0,0003532	1
D1	chrD1.17425830	17425830	D1	-	0,0004835	1
A2	chrA2.226725985	226725985	A2	-	0,0004835	1

Chr 6.2 : chromosome du génome de référence 6.2. Chr 9.0 : chromosome du génome de référence 9.0. Les tirets indiquent des positions non recherchées dans 9.0 et laissées assignées à 6.2.

Nous avons ainsi mis en évidence que les sept SNP non assignés dans le génome de référence 6.2 étaient situés sur le chromosome B1 dans le génome de référence 9.0.
Nous avons corrigé les positions et refait le Manhattan plot avec les positions corrigées.

Le Manhattan Plot obtenu après cette réassignation est présenté en figure 68.

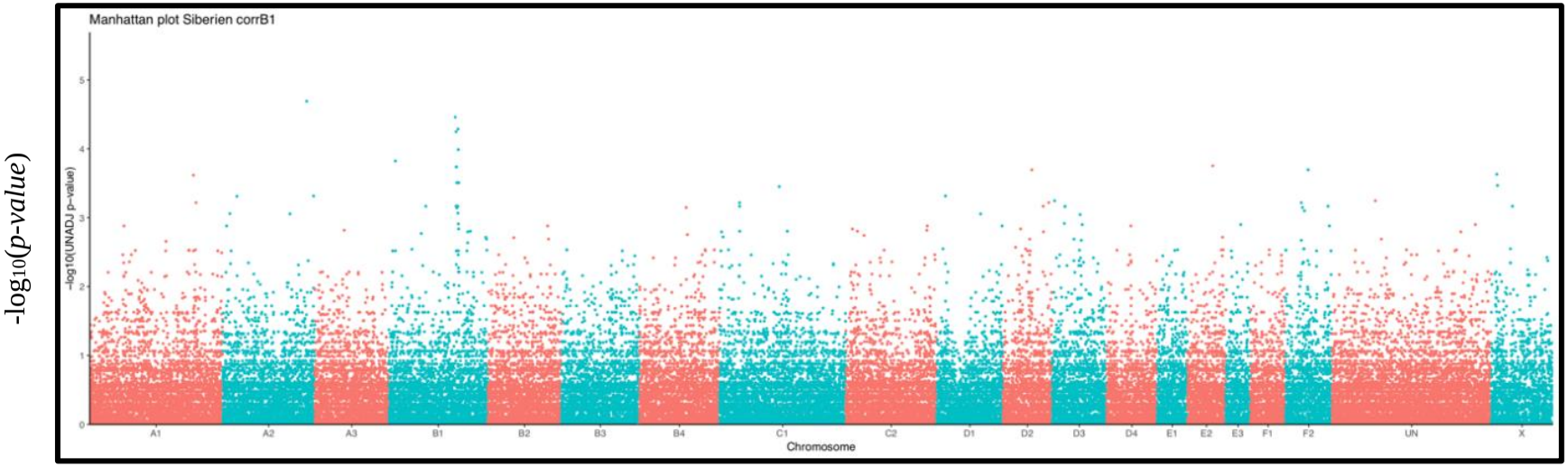


Figure 68 : Manhattan plot de l'étude d'association chez les 25 chats Sibérien, après réassignation de certains SNP

En abscisse sont représentés les chromosomes félins, avec UN = *unknown* (inconnu). En ordonnées sont représentée les *p-value* de l'étude d'association entre le caractère sunshine et chaque SNP, sans correction pour les tests multiples. Chaque point représente un marqueur SNP. Les marqueurs sont représentés en fonction de leur

Le Manhattan plot montrait un pic de marqueurs SNP associés au caractère sunshine, situés dans la même région (pic) du chromosome B1. Le marqueur le plus associé (*p-value* non corrigée = $2{,}037 \times 10^{-5}$) était situé sur le chromosome A2. Le deuxième SNP le plus associé était situé sur le chromosome B1 (*p-value* non corrigée = $3{,}467 \times 10^{-5}$) en position 166236605.

Dans cette région, était situé le gène *CORIN*, entre les position 167578182 et 167835768 (séquence codante de *CORIN* d'après www.ensembl.org, génome de référence Felis_catus 9.0).

3. Etude d'homozygotie

Nous avons effectué une analyse manuelle des génotypes des chats du groupe sunshine afin d'identifier des régions homozygotes partagées entre ces chats, compte tenu du mode de transmission autosomique récessif du caractère sunshine. Puis nous avons affiné la recherche pour identifier les régions homozygotes partagées entre les chats sunshine mais non partagées par les chats contrôles. Nous avons identifié une unique région, située sur le chromosome B1. Le résultat de l'analyse pour une portion du chromosome B1 est présentée en figure 69.

Chr	SNP	Position 6.2	Position 9.0	S1	S2	B1	B2	S3	B3	S4	S5	S6	S7	S8	B4	C1	C2	C3	C4	C5	C6	C7	C8	C9	C10	C11	C12	C13
B1	chrB1.164305081	164305081	136025759	CT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	CT	CT	TT	TT	TT	TT	CT	CC	CC	TT	TT	CC	TT	CC	CC	TT	CT	TT
B1	chrB1.164366396	164366396	136074688	00	GT	GG	00	00	GG	GG	TT	GT	GG	GG	GG	GG	GT	TT	TT	GT	00	TT	GT	TT	GT	GT	GT	GT
B1	chrB1.180310560	180310560	152310727	GG	GG	GG	GG	GG	AG	AG	AG	GG	AG	AG	AG	GG	GG	AG	AG	GG	AA	AG	GG	GG	GG	AG	AG	AG
B1	chrB1.187884760	187884760	158631490	AC	CC	AA	AA	AC	AA	CC	AA	AC	CC	AC	AA	AC	AC	AA	AA	CC	AA	AC	CC	AA	AA	CC	AC	AA
B1	chrUn13.13714472	13714472	162196477	CC	CC	CC	CC	CC	CC	CC	CC	CC	CC	CC	CC	CC	CC	TC	TC	CC	CC	TC	TT	CC	CC	CC	TC	TT
B1	chrB1.190190050	190190050	166236405	00	CC	CC	CC	CC	00	CC	CC	CC	CC	CC	CC	TT	TT	TT	TT	CC	CC	TT	CC	00	00	CC	TT	00
B1	chrUn8.13335617	13335617	167763790	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AG	AA	AG	AG	AG	AG	AG	GG	AG	AG	AG	AG	AG
B1	chrB1.188265817	188265817	167833139	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	GA	AA	GA	GA	GA	GA	GA	GA	AA	AA	GA	GA	GA
B1	chrB1.188241628	188241628	167852212	TT	TT	TT	TG	TT	TG	TT	TG	TT	TT	TT	TG	TG	TG	GG	TG	TG	GG	TG	GG	GG	TG	TG	TG	GG
B1	chrB1.188217856	188217856	167874350	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	GA	AA	GA	GA	GA	GA	GA	GA	AA	AA	GA	GA	GA
B1	chrUn13.12536479	12536479	168124069	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	GA	GA	AA	AA	GG	GA	GA	AA	GG
B1	chrUn13.12344998	12344998	168325262	TT	TT	TT	TG	TT	TG	TT	TG	TT	TT	TT	TG	TG	TG	GG	TG	TG	GG	TG	GG	GG	TG	TG	TG	GG
B1	chrB1.108034137	108034137	168498725	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	CT	CT	TT	TT	CT	CC	TT	TT	CC	CT	CT	CT	TT
B1	chrUn13.12273969	12273969	168514995	CC	CC	CC	CC	CC	CC	CC	CC	CC	CC	CC	CC	TC	TC	CC	CC	TC	TT	CC	CC	TT	TC	TC	TC	CC
B1	chrUn13.12073551	12073551	168732679	AA	AA	AA	CA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	CA	AA	CA	AA	CA	CA	AA	CC	CC	CC	CA	CA	CA
B1	chrUn13.12034833	12034833	168770715	TT	TT	TT	TC	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TC	TT	TC	TT	TT	CC	TT	CC	CC	CC	TT	TC	TC
B1	chrUn13.10512914	10512914	170347323	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GT	GG	GG	GG	GT	TT	GG	TT	GT	GT	GG	GT	TT
B1	chrUn13.10117097	10117097	170698195	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	GA	GA	GA	AA	GA	AA	AA	GG	GA	AA	AA	GG	GA
B1	chrUn13.10024183	10024183	170870831	CC	CC	CC	CT	CC	CC	CC	CC	CC	CC	CC	CC	CT	CC	00	CC	CC	CT	CC	TT	TT	CT	CC	TT	TT
B1	chrUn13.9964347	9964347	170916448	AA	AA	AA	AG	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AG	AA	00	AA	AG	GG	AA	GG	GG	GG	AA	GG	GG
B1	chrUn13.9654573	9654573	171242316	GG	GG	GG	GA	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GA	GG	GA	GG	GG	GA	GG	GA	GA	GA	GG	AA	AA
B1	chrUn13.9586940	9586940	171308732	00	TT	TT	TC	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TC	00	TC	00	TT	CC	TT	TC	CC	CC	TT	CC	CC
B1	chrUn13.9495127	9495127	171398680	GG	GG	00	GG	AG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	AG	AG	AG	GG	AG	AA	GG	GG	AA	AG	GG	AA	AG
B1	chrUn13.9437505	9437505	171459060	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	GA	AA	GA	AA	GA	GA	AA	AA	GA	AA	AA	GG	GA
B1	chrUn13.9091933	9091933	171809721	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	AG	GG	AG	GG	GG	AG	GG	GG	AA	AA	GG	AA	GG
B1	chrUn13.8864847	8864847	172047836	TT	TT	TT	CT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	CT	CT	CT	TT	CT	CT	TT	CT	CC	CT	TT	CC	CC
B1	chrB1.194973579	194973579	202478307	AA	AA	AA	GG	AG	AA	AG	AG	GG	AG	AA	GG	GG	GG	GG	AG	GG	AG	AG	GG	GG	GG	GG	AG	GG
B1	chrB1.227176670	227176670	204913331	AG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	AG	AG	GG	GG	GG	GG	AG	AA	AA	GG	AG	AA	GG	AA	AA	GG	AG	AG
B1	chrB1.225993279	225993279	205859795	AG	AG	AG	AG	AG	AG	AA	AA	AA	AG	AA	AG	GG	AG	AG	GG	AG	AG	GG	AG	GG	GG	GG	GG	AG

Figure 69 : Région homozygote partagée par les chats sunshine, une fois les marqueurs réassignés

Chr : chromosome. Les positions des SNP sont indiquées dans les génomes de référence 6.2 et 9.0. Les chats du groupe sunshine sont présentés en rouge (S1 à S8 et B1 à B4). Les chats du groupe contrôle sont présentés en vert (C1 à C13). Le surlignage rouge indique un génotype homozygote. Le surlignage vert indique un génotype hétérozygote.

Sur le chromosome B1, une zone d'homozygotie a été trouvée, partagée par les chats sunshine, mais pas par les chats contrôles. Cette région s'étendait de la position 158631490 à la position 202478307. Cette région contenait de nombreux gènes (présentés en annexe 6), dont le gène candidat *CORIN*.

4. Etude du variant candidat retenu

A l'issue de l'analyse du séquençage entier du génome d'un chat sunshine et de l'analyse combinée d'association et de cartographie d'homozygotie, nous avons retenu le variant c.2383C>T de *CORIN* comme variant candidat pour la mutation responsable du phénotype sunshine.

Nous avons génotypé un panel de 157 chats sunshine et contrôles, de différentes races, pour ce variant. Les résultats sont présentés dans le tableau X.

Tableau X. Génotypes des chats pour le variant c.2383C>T de *CORIN*

	Génotype			
Race et couleur	***C/C***	***C/T***	***T/T***	**Nombre**
Sibérien sunshine tabby	0	0	27	27
Sibérien bimétal (sunshine silver)	0	9	7	16
Sibérien sunshine tabby point (silver inclus)	0	**1***	6	7
Sibérien goldenSib£	0	0	2	2
Sibérien contrôle tabby	7	26	0	33
Sibérien contrôle non-agouti (unis)	2	0	**1****	3
DSH	18	0	0	18
Maine coon	2	0	0	2
Sphynx	3	0	0	3
Sacré de Birmanie	1	0	0	1
Nebelung	3	0	0	3
Persan	1	0	0	1
British	7	0	0	7
Devon rex	2	0	0	2
Kurilian bobtail	29	**3*****	0	32
Total	**75**	**39**	**43**	**157**

Légende :
* chat blue sunshine tabby point ; ** chat black smoke et blanc ; *** chat golden (copal) tabby, chat testé E^{+}/e^{c} pour l'allèle *copal*
£ le patron goldenSib e été assimilé au patron sunshine dans notre étude. Pour plus de détails sur la différence entre le goldenSib et le sunshine, voir la partie dicussion et la figure 74.
Les chats roux et crème ont été exclus de l'analyse (n = 7). Les chats présentant un phénotype ressemblant au sunshine, mais qualifié d'extrême golden, ont été exclus de l'analyse (n = 3). Voir partie discussion.

Nous avons observé que les chats sunshine et goldenSib (voir partie discussion) étaient tous homozygotes mutés pour le variant (n = 29). Nous avons observé que les chats bimétal (= sunshine silver) étaient homozygotes mutés (n = 7) ou hétérozygotes (n = 9). Les chats colourpoint sunshine étaient tous homozygotes pour le variant sauf un chat, à la robe bleue sunshine tabby point, un patron de robe très clair. Les chats Sibérien contrôles et tabby étaient soient hétérozygotes, soit homozygotes sauvages pour le variant. Parmi les trois chats Sibérien contrôles et non-agoutis, deux chats étaient non porteurs du variant et un chat était homozygote muté.

Afin d'étudier l'impact potentiel du variant identifié sur la protéine CORIN, nous avons effectué un alignement des séquences de CORIN chez différentes espèces. L'alignement complet est présenté en annexe 7. Nous avons observé que l'arginine 795 (R795) qui était prédite remplacée par une cystéine (R795C) chez les chats sunshine, s'alignait avec une arginine chez toutes les espèces analysées sauf deux : le poulet et le cheval chez qui cette arginine était remplacée par une histidine dans la protéine sauvage.

Dans CORIN, le remplacement de l'arginine 795 (position dans la protéine de chat) par une histidine était prédit neutre par le logiciel de prédiction de l'impact des changements d'acides aminés PROVEAN. En revanche, le remplacement de l'arginine 795 par une cystéine ou le remplacement de l'histidine, à la même position, par une cystéine, étaient prédits délétères.

IV. DISCUSSION

A. Emergence du sunshine

Bien que le sunshine existe depuis des années, la demande de reconnaissance de cette couleur auprès des fédérations et livres des origines félins est récente. En effet, il avait d'abord été supposé que le sunshine avait une origine similaire au golden chez le Persan (fig.70), à savoir une mutation dominante du locus *Wideband* (*Wb*)*.

Figure 70 : Persan golden shaded (source : Takashi Hososhima)

L'apparition des chats bimétals a cependant remis en cause cette théorie. En effet, la coexistence du silver (locus *Inhibitor*, allèle *I* dominant) avec la mutation du locus *Wb* donne du silver shaded ou du chinchilla, et la coexistence de poils golden et de poils silver est donc impossible. Il fallait trouver une autre explication à la coexistence du golden et du silver chez le Sibérien, et donc à la couleur dorée du Sibérien.

* *Remarque :* l'existence d'un locus mendélien *Wb* et d'un allèle dominant *Wb* n'est pas confirmée à ce jour. Il est possible que la modification golden (jaunissement du fond de robe) soit indépendante de la modification shaded (supposée due à *Wb*), même chez le Persan.

De plus, le golden (ou sunshine comme on l'appelle désormais) du Sibérien possède des caractéristiques propres, différant de celles du golden shaded du Persan. Les Sibérien golden ont en effet une absence de liseré autour de la truffe et les marques tabby sont présentes mais l'eumélanine perd son caractère foncé pour devenir brun-rouge. On n'observe pas cela chez le chat black golden shaded où l'eumélanine reste noire, mais où la bande de phéomélanine des poils agoutis est agrandie et les marques tabby effacées. De plus, les chats golden shaded ont un liseré eumélanique autour de la truffe (fig.71).

A B

Figure 71 : Comparaison du golden shaded et du sunshine
A) Sibérien black sunshine tabby présentant des marques tabby rougeâtres, sauf au niveau du bout de la queue qui reste noir, une truffe rose et un effacement du liseré.
(Photographie : Yves Zalensky)
B) Persan black golden shaded présentant un effacement des marques tabby, une répartition homogène d'une eumélanine noire dans le pelage et une truffe rouge brique avec un liseré marqué.
(Photographie : Cat Fancier Association (www.persianbc.org))

Parmi les éleveurs, la juge et éleveuse Eleonora Ruggiero fut dans les premières à compiler des données sur les chats sunshine et bimétals, et à supposer qu'il s'agissait d'une nouvelle mutation, sans doute récessive, qui n'avait rien à voir avec le golden shaded des autres races.

B. Définition phénotypique du sunshine

1. Sunshine et bimétal

Nous avons défini le sunshine comme étant une couleur avec une base de poils blond à noisette et un marquage tabby noir à brun, évolutif, ayant tendance à l'éclaircissement au fur et à mesure de la croissance pour finalement donner du brun clair ou de l'abricot. Les caractéristiques les plus pertinentes pour la reconnaissance de la couleur étaient les traits faciaux – nez rose, sans liseré ou avec un liseré très discret, triangle éclairci au-dessus du nez, et contour de la bouche blanc, ce blanc s'étendant généralement au plastron – et les extrémités noires, qu'il s'agisse du dessous des pattes ou du bout de la queue.

La distinction entre un chat sunshine et un chat brown tabby était généralement aisée, de par ces caractéristiques. En effet, un chat brown tabby avait le nez rouge brique, avec liseré, et le pelage était plus foncé et non évolutif. En cas de doute, un prélèvement de poils pourrait permettre de faire la différence : en effet, nous avons observé que les poils sunshine présentaient une extension de la bande de phéomélanine et que l'eumélanine était repoussée au bout du poil. Ces poils étaient bien différents des poils agoutis et non-agoutis traditionnels (fig.72).

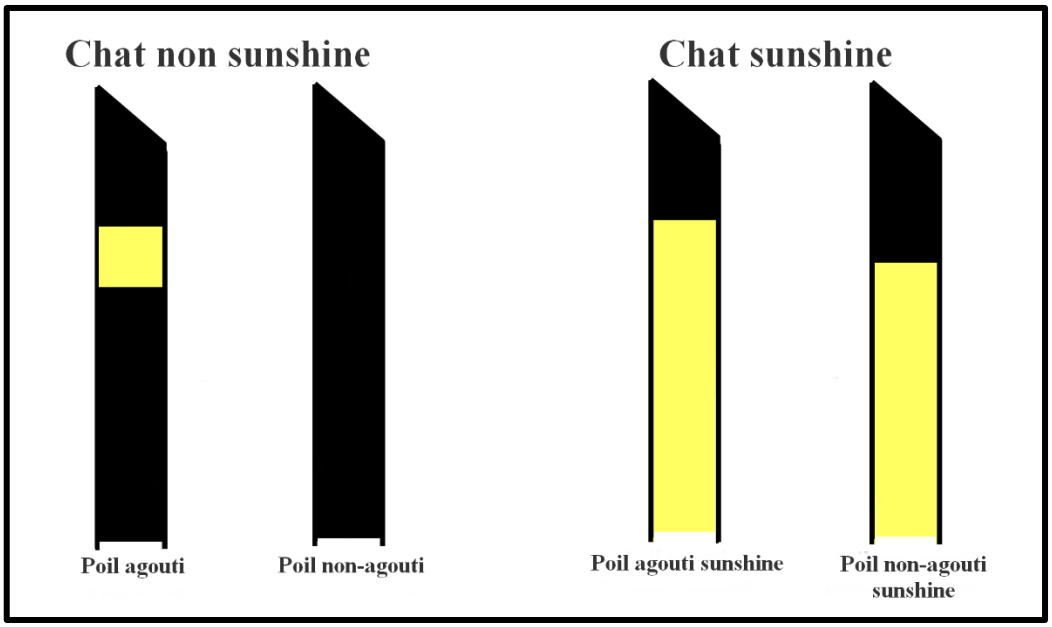


Figure 72 : Représentation schématique de poils agoutis, non-agoutis et de poils sunshine
Notez l'eumélanine repoussée à la pointe pour les poils sunshine, qu'ils soient agoutis ou non

Un chat bimétal possédait un patron délimité en deux parties assez facilement reconnaissables. Il gardait en partie ventrale les caractéristiques du sunshine (bien que la base du poil soit généralement relativement éclaircie par rapport au sunshine, avec un blond clair), ainsi que les caractéristiques faciales, comme le nez rose et le contour blanc. La partie dorsale était occupée par la modification silver, partant du front et s'étendant jusqu'au bout de la queue, le pelage paraissant plus froid (gris argenté) au niveau dorsal qu'au niveau ventral. Là encore, bien que la couleur soit relativement caractéristique à l'œil nu, une analyse des poils pourrait permettre de lever le doute quant à la couleur d'un chat.

S'il était relativement aisé de distinguer un chat sunshine d'un bimétal lorsqu'ils étaient chatons ou jeunes chats, la difficulté apparaissait chez certains spécimens adultes de bimétal, dont la longueur du poil et l'évolution de la robe pouvaient parfois laisser penser qu'ils étaient simplement sunshine. Les photographies de l'animal jeune étaient généralement suffisantes pour faire la différence.

La distinction entre les robes sunshine, bimétal et brown tabby chez des chatons est illustrée en figure 73.

Figure 73 : Comparaison de chatons bimétal (sunshine silver), sunshine, et brown tabby
Notez notamment le nez rose et le contour de bouche blanc s'étendant au plastron chez les deux chatons sunshine, ainsi que la couleur générale dorée. La dilution silver est visible sur le front du chaton bimétal.
(Photographie : Silvia Perego)

2. Sunshine ou goldenSib

En 2018, Eleonora Ruggiero a fait la distinction entre le sunshine (contour du nez sans liseré, nez rose, base des poils abricot/noisette clair) et ce qu'elle a ensuite appelé le goldenSib (contour du nez marron, nez brique, base du poil noisette, fig.74). En effet, elle avait remarqué la présence de chats qui n'étaient pas tout à fait sunshine, mais dont la couleur générale était éclaircie par rapport à un brown tabby traditionnel, tout comme le sous poil (fig.75). Ces chats gardaient cependant un liseré assez marqué autour du nez, principale caractéristique dont elle s'est servie pour classer les chats.

Figure 74 : Sibérien de couleur goldenSib

Notez le nez couleur brique du nez.

Figure 75 : Bases des poils de couleur noisette chez un Sibérien goldenSib

(Photographie : Eleonora Ruggiero)

Compte tenu de ce qu'elle avait observé comme transmission des deux couleurs dans les pedigrees, elle avait ensuite supposé qu'il s'agissait de deux mutations récessives différentes d'un même gène, avec l'allèle responsable du goldenSib qui serait dominant sur l'allèle responsable du sunshine.

N'ayant nous-même jamais observé de Sibérien goldenSib, et les deux chats décrits comme goldenSib et génotypés pour le variant de *CORIN* que nous avons identifié étant homozygotes mutés, comme les chats sunshine, nous avons plutôt émis l'hypothèse d'une sélection progressive des chats sur la modification sunshine la plus marquée et donc la plus spectaculaire visuellement. En effet, les premiers chats sunshine supposés présentaient eux aussi un liseré foncé qui dépassait parfois les ailes du nez, bien que le nez tendait toujours vers le rose. Le liseré aurait progressivement disparu chez les individus sunshine au fur et à mesure des croisements.

Pour ce qui est de l'individu présenté en figure 74, il ne présentait pas tant un liseré qu'un nez rouge brique. Sa base de poil était de plus très éclaircie. Ce chat était homozygote muté pour le variant de *CORIN* identifié, malgré son nez peu caractéristique.

3. Neva masquerade et sunshine

Une autre difficulté s'était posée pour les chats Neva masquerade. Leur patron colourpoint repoussait toutes les couleurs aux extrémités du chat ou presque, et le peu de couleur qui restait au niveau de la face, des membres et de la queue était généralement insuffisant pour déterminer, sur photo, s'il s'agissait d'un chat réellement bimétal ou sunshine. Seule la truffe donnait une bonne indication. De façon à ne pas faire d'erreur dans notre phénotypage, nous avons donc exclu des analyses de cartographie les chats de variété Neva masquerade.

De plus, notons que la nuance entre sunshine et bimétal était également difficile à faire, les marques faciales (triangle éclairci au-dessus du nez, papillon blanc autour de la bouche) et de la queue (pointe noire) des deux couleurs étaient très similaires. Chez certains chats, la couleur

sur le front restait assez étendue pour apercevoir une plage de silver, en plus du sunshine au niveau du nez, mais il s'agissait de cas rares.

Le génotypage pour le variant de *CORIN* de sept chats Neva masquerade décrits comme sunshine a montré que six d'entre eux étaient homozygotes mutés et l'un d'entre eux était hétérozygote. Ce chat hétérozygote présentait une robe décrite comme blue sunshine tabby point. Il était donc dilué et d'une couleur très pâle. Nous avons supposé que la description de sa couleur avait pu être erronée, du fait de la dilution de la couleur de base et du faible marquage de son liseré de nez du à la dilution du noir en bleu. Nous n'avons pas pu observer de photos de cet individu et aucun compte rendu de jugement d'exposition ne nous a été fourni pour attester de la couleur de cet individu. Une observation directe des poils de ce chat permettra peut-être de trancher quant à son statut sunshine ou non.

4. Roux et sunshine

Dans notre cohorte de chats Sibérien nous avions sept chats roux et crèmes, dont certains avaient été décrits comme sunshine. De plus, certains de ces chats étaient également colourpoint (variété Neva masquerade). Nous n'avons pas pu définir les caractéristiques de la modification sunshine sur une base rousse ou crème, la modification sunshine nous étant apparue quasi impossible à distinguer sur un chat roux ou crème.

5. Aspect évolutif du sunshine

L'aspect évolutif de la robe peut sans doute s'expliquer par un mécanisme semblable à celui proposé pour la modification ambre présente chez le Norvégien (Peterschmitt et al., 2009). Nous avons donc supposé que les zones qui conservaient une pigmentation noire étaient celles qui muaient le moins (la ligne du dos, la queue et les pattes notamment), tandis que les autres zones étaient soumises à une régulation de la production d'eumélanine par *CORIN* et son variant c.2383C>T, après la naissance, amenant à des poils dont la pointe eumélanique était encore présente, mais de plus en plus repoussée au bout du poil, donnant cette impression de couleur éclaircie.

C. Génotypage et cartographie du locus du sunshine

1. Etude d'association et cartographie d'homozygotie

L'étude d'association et la cartographie d'homozygotie permettent toutes les deux de déterminer des régions du génome susceptibles d'héberger la mutation causale pour une maladie ou un phénotype d'intérêt. Bien qu'en pratique, les deux soient complémentaires, elles possèdent toutes les deux des avantages et des inconvénients.

L'étude d'association se base sur la proximité entre marqueur et mutation causale pour déterminer sur quel chromosome, et à quel niveau de celui-ci, la mutation peut être située. Si un marqueur est fortement associé à un caractère (le phénotype sunshine, dans notre cas), alors la mutation causale est probablement située proche de ce marqueur.

Une étude d'association a l'avantage de nécessiter bien moins de cas que d'autres méthodes employées historiquement, comme par exemple l'analyse de liaison. De plus, si le caractère est récessif (comme c'était le cas pour le sunshine), et qu'il a été fortement sélectionné, notamment par une consanguinité importante, la taille des populations échantillonnées peut être réduite, et permettre malgré tout un résultat concluant.

Cependant, il y a nécessité que le caractère ou la maladie pour laquelle la mutation est recherchée soit correctement défini, avec une classification des individus non ambigüe. Il s'agit d'une des raisons pour lesquelles nous avons fait revérifier notre classement phénotypique des chats par des éleveurs et juges, suspectant que nos groupes de couleurs pouvaient avoir été mal définis, donnant des résultats peu significatifs sur la représentation du Manhattan plot initial (fig.67). De plus, et bien que le nombre de cas puisse être plus limité que dans une étude de liaison traditionnelle, l'étude d'association nécessite quand même une cohorte de plus de deux chats présentant le caractère étudié, ce qui n'est pas toujours possible, en fonction du caractère étudié. Dans l'idéal, pour un caractère récessif, le recrutement et le génotypage d'un groupe de 20 chats présentant le caractère étudié et de 20 chats contrôles sont recommandés (Gandolfi et Alhaddad, 2015).

La puce utilisée dans notre étude pour cette étude d'association (puce féline Illumina 63k) était basée sur la version du génome *felCat5* (Willet et Haase, 2014) et possédait une densité de marqueurs relativement peu importante comparée aux puces d'autres espèces (puce canine Illumina 170k par exemple, www.illumina.com), rendant la cartographie par étude d'association peu puissante. De plus, certains des marqueurs SNP annotés UN (pour *unknown*), dont la localisation était alors inconnue lors du développement de la puce, ont depuis été réassignés sur divers chromosomes (Gandolfi et al., 2018). Bien que cela n'ait pas empêché de nombreuses découvertes de mutations chez le chat (Gandolfi et Alhaddad, 2015; Abitbol et al., 2015), il s'est avéré que dans notre étude, cela nous a posé un vrai problème, notre région candidate étant justement placée dans une région non assignée initialement à un chromosome et notée UN. Le résultat de notre première étude d'association (fig.67) était très décevant, ne montrant aucun groupe de SNP, ni pic particulier sur un chromosome se détachant du bruit de fond, comme c'est souvent le cas pour les caractères mendéliens simples (fig.76).

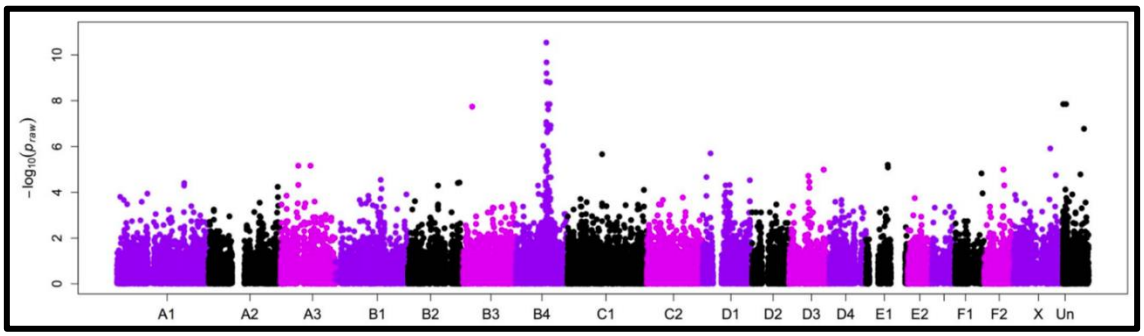


Figure 76 : Exemple de Manhattan plot significatif chez le chat (Gandolfi et al., 2013)
Manhattan plot de l'étude d'association pour le caractère poil frisé chez le chat selkirk rex. On note un net pic de marqueurs SNP situés sur le chromosome B4, se détachant du bruit de fond.

La présence de marqueurs avec une *p-value* suggérant une association et situés sur le chromosome inconnu UN (fig.67) nous a incité à rechercher la localisation correcte de ces marqueurs non assignés sur le génome félin dans sa version FelCat5 initiale. Nous avons ainsi recherché l'assignation correcte, sur la dernière version du génome félin, *Felis_catus 9.0* (www.ensembl.org) de nombreux marqueurs. Ces marqueurs bien associés étaient tous situés sur le chromosome B1, dans la même région. Cette situation illustre la difficulté de travailler sur le génome félin, dont il existe plusieurs versions successives du séquençage, de l'assemblage et de l'annotation, avec des qualités croissantes (voir partie 2. suivante ; Gandolfi et al., 2018; www.ensembl.org).

La cartographie d'homozygotie se base sur la transmission des haplotypes entre générations, permettant de déterminer les régions candidates pour la mutation causale en cherchant des régions d'homozygotie de taille importante. Là où l'étude d'association nécessite une cohorte d'au moins trois chats présentant le caractère pour fournir des résultats (résultats dont la certitude est améliorée par la taille de la cohorte en question), la cartographie d'homozygotie peut être effectuée chez n'importe quel individu, et ne nécessite au minimum que deux chats présentant le caractère étudié pour permettre une première identification d'une région candidate. Utilisée seule, avec ensuite une approche gène candidat, elle permet de mettre en évidence des régions d'homozygotie et d'y rechercher des gènes candidats (Abitbol et al., 2015). Son utilisation en conjugaison avec une étude d'association permet potentiellement de pallier une insuffisance de cas dans l'étude d'association ou de définir plus précisément la région candidate. Il a en effet été démontré que les variants homozygotes pathogéniques (responsables de maladies) étaient la plupart du temps situés dans des régions d'homozygotie de grande taille (Wakeling et al., 2019). L'utilisation de ces deux études de manière combinée permet de grandement diminuer le nombre de gènes candidats à étudier par la suite, et de limiter les coûts de séquençages de ces gènes pour trouver la mutation causale (Alkuraya, 2010).
Cette approche présente cependant des inconvénients : la taille de la région d'homozygotie recherchée est choisie arbitrairement, et l'analyse est faite par un ordinateur. Si une région d'homozygotie est plus petite que les paramètres rentrés (et pourtant bien présente), elle ne sera pas révélée dans les résultats, et l'on pourra passer à côté. Une analyse manuelle serait alors nécessaire pour contrer ce phénomène, mais cela reste en pratique difficilement réalisable. Au contraire, la liste des régions d'homozygotie, en fonction des paramètres choisis, peut parfois être importante, donnant de nombreuses régions candidates pour un unique caractère (Alazami et al., 2015).

2. Différentes versions de l'annotation du génome félin

Le génome du chat, contrairement au génome du chien, a subi un nombre important de reséquençages et d'annotations au fur et à mesure des années.

Le reséquençage d'un génome se fait actuellement par coupure aléatoire de l'ADN en petits morceaux, eux-mêmes séquencés, dont les séquences sont ensuite réassemblées pour former un génome continu (stratégie dite du *whole genome shotgun*). La découpe de l'ADN étant aléatoire, et le séquençage ne pouvant être ciblé pour obtenir exactement une séquence de chacun des morceaux générés, il est nécessaire d'effectuer ce séquençage de façon répétée pour pouvoir ensuite obtenir des zones de superposition, qui vont permettre de remettre les fragments dans l'ordre, avec un minimum d'erreurs et de trous dans la séquence finale. Or, le premier séquençage du génome du chat (Pontius et al., 2007) n'avait été effectué qu'à une profondeur d'1,9 fois le génome, donnant lieu à beaucoup de trous et d'erreurs d'assemblage. *Felis_catus 6.2*, quant à lui, se basait sur un séquençage effectué à une profondeur de 14 fois le génome (Montague et al., 2014), permettant de limiter ces erreurs, mais encore loin d'être parfait. La couverture du séquençage pour *Felis_catus 8.0* avait une profondeur de 20 fois le génome (Li et al., 2016). Aujourd'hui nous disposons de la dernière annotation : la version *Felis_catus 9.0*, qui a été publiée en juin 2018 dans les bases de données (www.ensembl.org).
En comparaison, le génome du chien avait immédiatement été séquencé à une profondeur de 7,5 fois le génome (Lindblad-Toh et al., 2005), permettant une annotation relativement facile de celui-ci grâce à son taux important de synténie conservée par rapport à l'homme et à la souris (Ostrander et Wayne, 2005). Le génome du chat, quant à lui, a donc subi de nombreuses modifications dans son annotation, faisant bouger des portions de chromosomes entières d'une position à une autre et modifiant la place des gènes et même leur existence (gènes devenus des pseudogènes ou totalement disparus entre la version 6.2 et la version 9.0).

L'annotation des séquences consiste à déterminer, grâce à des prédictions de bioinformatique, où sont situés les gènes, les introns et les exons sur le génome, en se basant sur des homologies de séquence avec la souris et l'homme, espèces chez lesquelles les connaissances en la matière sont bien plus précises. Ainsi, chez le chat, les séquençages successifs ont nécessité de réannoter chacune des versions, permettant une amélioration de l'annotation de version en version. De plus, les annotations les plus récentes ont pu être affinées grâce à l'utilisation de séquençages supplémentaires par rapport au chat Abyssin sur lequel chaque version s'est basée. Ainsi, les génomes des chats séquencés pour diverses études ont pu être comparés à ce génome originel et permettre d'améliorer la qualité des annotations.
Ces différences d'annotation expliquent les problèmes rencontrés lors de notre étude d'association. En effet, en 2018, une étude sur la puce Illumina 63k a mis en évidence que 6893 SNPs étaient situés dans une région inconnue avec la version 6.2 du génome félin. Après réassignation d'une partie de ces SNP, grâce à l'utilisation de la version 8.0, seuls 704 (soit 1,1 %) des SNPs n'étaient pas assignés à une région précise (Gandolfi et al., 2018).

3. Le gène candidat *CORIN*

CORIN, notre gène candidat majeur pour le sunshine, est prédit coder une protéine inhibitrice d'ASIP. Cette inhibition, ponctuelle, permet de limiter l'action d'ASIP dans le temps par un mécanisme encore non élucidé, et donc par la suite (via l'action d'ASIP sur MC1R, et l'action de MC1R sur le *switch* entre phéomélanogénèse et eumélanogénèse) le ratio phéomélanine/eumélanine du poil. Chez un animal pour laquelle la protéine CORIN est mutée, et donc non fonctionnelle, cette inhibition d'ASIP n'a pas lieu. ASIP agit alors plus longtemps et empêche l'activation de MC1R par l'α-MSH et ainsi la production d'eumélanine. La quantité de phéomélanine dans le poil est alors augmentée, d'où une apparence plus claire du pelage.

Chez les tigres « golden », cet éclaircissement est particulièrement marqué. La mutation ponctuelle qui a été identifiée par Xu et collaborateurs, à transmission autosomique récessive, entraîne une modification au niveau du sixième domaine LDLR (*Low-Density Lipoprotein Receptor*) de CORIN, perturbant son fonctionnement et entraînant un dépôt de phéomélanine plus important dans les poils de l'animal, qu'ils soient agoutis (fond de robe fauve) ou non (rayures) que chez un tigre de phénotype sauvage (Xu et al., 2017). Ainsi, tout le pelage est éclairci, bien que les rayures restent plus foncées que le fond de robe. Contrairement à celles des chats sunshine, ces rayures sont cependant très «abricot», peu importe où elles sont situées sur le corps. De plus, la couleur « golden » du tigre est plus marquée chez le jeune que chez l'adulte, ce qui constitue un schéma inverse à celui que nous avons observé chez le chat domestique de race Sibérien. La mutation n'étant cependant pas identique chez les deux espèces, il ne semble pas improbable qu'elles aient des effets légèrement différents. L'éclaircissement global de la robe et le dépôt plus important de phéomélanine dans le poil, associé à une réduction de la longueur du segment eumélanique apical du poil, restent cependant deux phénomènes conservés dans les deux espèces.

Chez les souris mutées dans *CORIN* la protéine a été rendue entièrement non fonctionnelle. Les chercheurs ont observé un éclaircissement de la robe (bien que celui-ci soit moindre que chez le tigre). Les poils présents chez les souris mutées avaient une bande basale de phéomélanine plus étendue que chez les souris de phénotype sauvage (Enshell-Seijffers et al., 2008), comme ce que nous avons observé chez le Sibérien sunshine.

Une des particularités de l'espèce féline, que nous avons observée chez le chat Sibérien, est la présence de chats à la fois sunshine et silver. Leurs poils présentaient une répartition étrange des pigments : les poils agoutis du fond de robe avaient un mélange de phéomélanine « non pigmentée » apparaissant argentée, ou *silver*, et de phéomélanine jaune à dorée, en plus de

l'eumélanine à leur pointe. De plus, nous avons observé des chats sunshine silver hétérozygotes pour le variant c.2383C>T, dont nous discuterons ci-après. Ces singularités laissent penser qu'il existe une possible interaction entre *CORIN* et le gène responsable du silver. Ce gène n'étant pas identifié à ce jour, il est pour le moment impossible de faire des hypothèses fonctionnelles. Il est cependant utile de noter que, chez les tigres, l'association d'une mutation homozygote de *SLC45A2* (gène candidat pour le *silver* chez le chat (Menotti-Raymond et al., 2009)) et de la mutation de *CORIN*, menait à des tigres entièrement blancs, avec un marquage presque fantôme (Xu et al., 2017).

4. Un variant candidat dans *CORIN*

Nous avons identifié, à la suite de notre approche gène candidat et d'un clonage positionnel, un variant de *CORIN* comme associé au phénotype sunshine du chat Sibérien. Ce variant c.2383C>T était prédit engendrer le remplacement d'une arginine par une cystéine en position 795 dans la protéine CORIN (R795C). Ce changement d'acide aminé était prédit délétère.

Les données de la bibliographie (Xu et al., 2017, Avigad-Laron et al., 2019) et des bases de données positionnaient ce variant R795C dans le domaine SR (*scavenger receptor*) de la protéine (https://www.uniprot.org/uniprot/Q9Y5Q5). Ce type de domaine est prédit coder des récepteurs de ligands (Hohenester et al., 1999). Or, CORIN a été décrite comme une protéine à activité sérine protéase, requise pour l'inhibition d'ASIP lors du *switch* de production entre l'eumélanine et la phéomélanine (Avigad-Laron et al., 2019). Bien que l'action de CORIN sur ASIP ne soit pas encore élucidée, il est possible de faire l'hypothèse qu'une mutation au niveau d'un site de liaison à un ligand (pourquoi pas ASIP) puisse altérer le fonctionnement de CORIN et ainsi avoir un effet sur la régulation de la synthèse des pigments eumélanines et phéomélaniques dans le temps et l'espace.

D. Questions soulevées par l'étude du sunshine

1. Les chats unis n'expriment-ils pas le phénotype sunshine ?

Aucun chat uni sunshine n'a pu être observé au cours de notre étude ou au travers de nos diverses recherches. Leur existence n'est a priori pas non plus rapportée par les éleveurs. Bien qu'il semble que le sunshine ne s'exprime pas sur un patron uni, il nous est impossible d'être catégoriques quant à son existence ou non. En effet, dans notre cohorte de chats Sibérien, seuls trois chats étaient unis. Deux chats ne portaient pas le variant c.2383C>T et un chat était homozygote muté pour ce variant. Ce chat était noir et blanc. Il était issu de deux reproducteurs tabby et porteurs hétérozygotes du variant et l'un de ses frères de portée était sunshine tabby et homozygote muté pour le variant.

Notre hypothèse principale pour expliquer la non-expression de la modification sunshine sur un chat de robe unie est que la protéine CORIN, lorsqu'elle est non mutée, agit (supposément) en clivant ASIP. En cas de mutation de CORIN, l'activité d'ASIP serait prolongée. ASIP agit par pics, permettant le dépôt de phéomélanine dans le poil au fur et à mesure de sa croissance. Si son action n'est plus inhibée par CORIN, ces phases de dépôt de phéomélanine pourraient être prolongées. Ainsi, CORIN agissant sur ASIP, il est normal que son effet normal ou altéré ne soit visible que sur des poils agoutis, présentant de la phéomélanine. Un chat uni de génotype *a/a* présente une protéine ASIP qui n'est pas ou peu fonctionnelle. CORIN, mutée ou non, n'aura alors pas ou peu d'effet sur le pelage de cet animal. On aurait une épistasie récessive de *a* sur *CORIN*.

Cependant, nous avons observé que chez les chats sunshine tabby, les poils agoutis et les poils non-agoutis présentaient un aspect modifié. En particulier, les poils des marques tabby (poils non-agoutis ou unis) présentaient une base phéomélanique augmentée en taille par rapport aux poils non-agoutis d'un chat non-sunshine. Il est donc étonnant qu'aucune modification de la base du poil ne soit visible chez un chat sunshine uni. Le seul chat uni et homozygote muté de notre cohorte présentait un patron décrit par son propriétaire comme black smoke, c'est à dire noir fumé (due à la présence d'au moins un allèle *I* du locus *Inhibitor* = *SILVER*), avec la base des poils éclaircie. L'un des deux parents étant silver (porteur d'un allèle *I*), ce patron était possible chez le chaton. Il serait cependant intéressant d'observer en détails les poils de ce chat, lorsqu'il sera adulte, de façon à déterminer si la base des poils éclaircie ressemble bien à celle d'un chat smoke ou à celle des poils non-agoutis d'un chat sunshine. Enfin, à l'avenir, nous espérons que des chats unis non smoke et homozygotes mutés naitront, permettant d'apprécier l'effet du variant c.2383C>T chez les chats unis.

2. La mutation s'exprimerait-elle à l'état hétérozygote ?

Nous avons identifié dans notre cohorte des chats Sibérien bimétals hétérozygotes pour le variant de *CORIN*. Ces chats sunshine silver hétérozygotes étaient indissociables des homozygotes à l'œil nu et sur photos (fig.77).

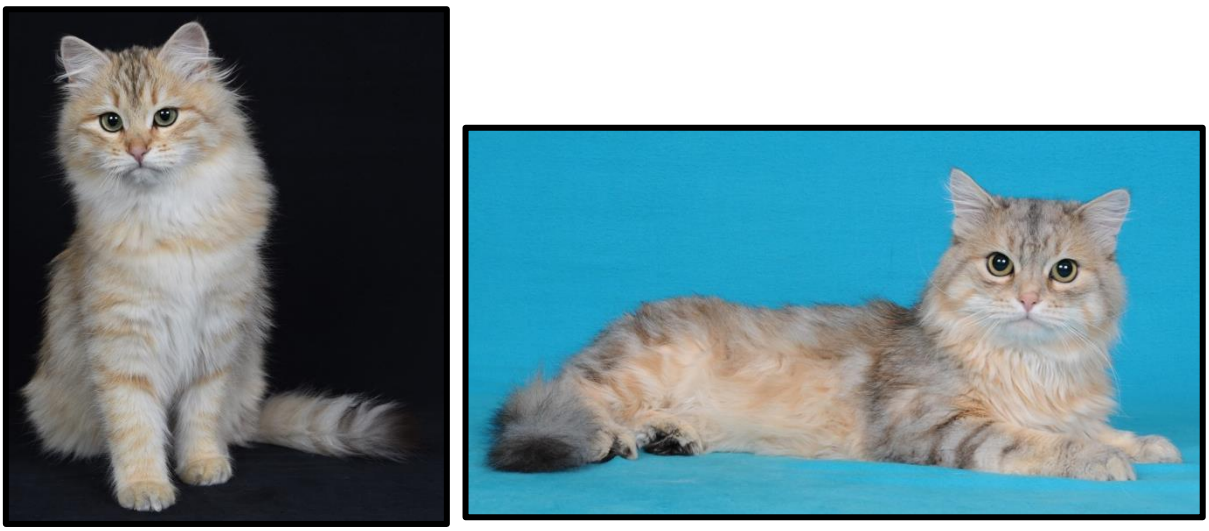


Figure 77 : Photographies de chats Sibérien bimétals
L'individu de gauche est homozygote muté pour le variant c.2383C>T de *CORIN*. Le chat de droite est hétérozygote pour ce variant. Tous deux sont silver.
(Photographies : Eleonora Ruggiero et Leo Bosch respectivement)

Le sunshine étant une mutation ne s'exprimant phénotypiquement qu'à l'état homozygote lorsqu'elle n'était pas associée au silver, notre première hypothèse repose donc sur une interaction entre le gène situé au locus *Inhibitor* et *CORIN*. Le gène responsable du silver et son fonctionnement n'ayant pas encore été identifiés, il reste pour le moment impossible d'expliquer cette interaction.

3. Coexistence chez le Sibérien de la mutation sunshine et d'une autre mutation ?

Nous avons observé que trois chats Sibérien inclus dans notre étude et déclarés comme sunshine possédaient en fait un phénotype distinct du sunshine. Leur robe était éclaircie mais tendait vers l'abricot, voire le roux pour un des chats (fig.78) et vers une modification de la robe appelée « extrême golden » pour les deux autres chats (fig.79). Nous avons exclu ces chats du groupe sunshine mais les avons quand même génotypés pour le variant c.2383C>T. Ces trois chats étaient hétérozygotes pour le variant.

Figure 78 : Comparaison entre un Sibérien sunshine et un Sibérien avec un pelage roux-abricot distinct du sunshine

Le chat du haut est sunshine. Il a été génotypé homozygote muté pour le variant c.2383C>T. Le chat du bas présente une modification de la couleur du pelage qui tend vers le roux et est distincte du sunshine. Il a été génotypé hétérozygote pour le variant.
(Photographie : Marie Abitbol)

A

B

Figure 79 : Chats Sibériens présentant un phénotype extrême golden
A : chaton mâle ; B : chat mâle adulte
Notez dans les deux cas une couleur proche du sunshine (fond de robe clair, nez rose et sans liseré, extrémité de la queue noire), mais avec un fond de robe plus roux, des pieds marqués de blanc, une délimitation marquée entre le dos coloré et le ventre entièrement blanc (particulièrement visible en photographie A).
(Photographies : Burian's Secret Siberian Cat)

Le phénotype extrême golden a été décrit récemment chez le British. Il a également été appelé *copper* (cuivré) (http://messybeast.com/copper-british-shorthairs.htm). Les chats *copper* présentent une base de pelage abricot, un nez rose sans liseré ou avec un liseré peu prononcé, un marquage blanc autour du nez et de la bouche s'étendant au plastron et au-dessous des membres, et un bout de queue noir. Le triangle éclairci au-dessus du nez est moins marqué que chez le Sibérien (fig.80 et 81).

Figure 80 : British shorthair extrême golden de face
Notez le nez rose sans liseré, le tour du nez et de la bouche blancs, la couleur générale presque abricot et le bout de la queue noir.
(Photographie : Alyse Brisson)

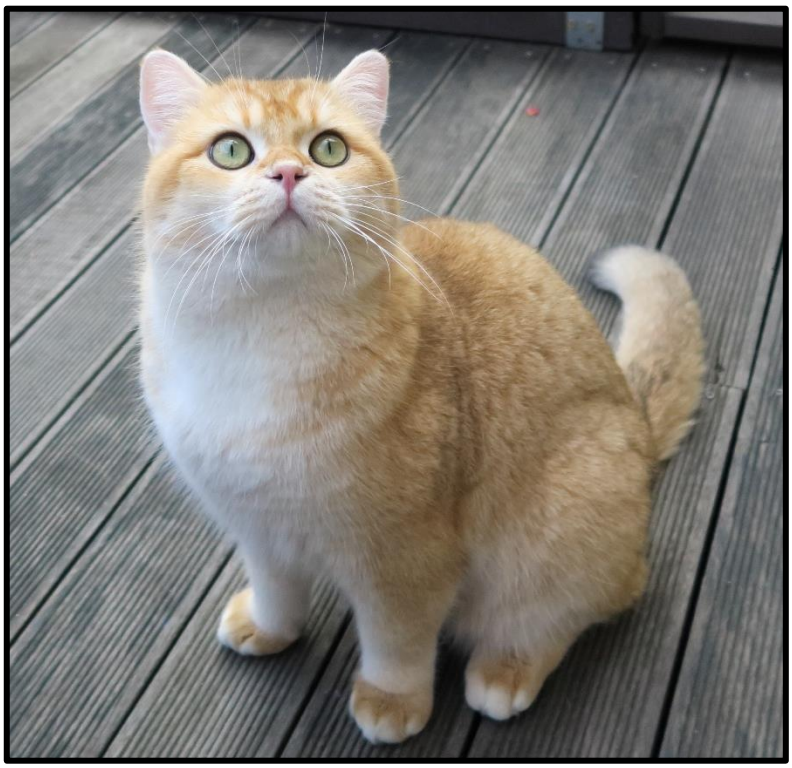


Figure 81 : British Shorthair extrême golden
Notez le nez rose sans liseré, le petit triangle blanc au-dessus du nez, le tour du nez et de la bouche blancs, le bout de la queue noir. Notez également le bout des pieds blancs.
(Photographie : Lucyna Grzenkowicz)

Parmi les chats contrôles d'autres races que le Sibérien génotypés pour le variant c.2383C>T de *CORIN*, nous avions trois chats British extrême golden. Tous étaient homozygotes sauvages pour le variant.
Le séquençage complet de *CORIN* chez des chats Sibérien et British extrême golden pourrait s'avérer utile. Si aucun nouveau variant n'est découvert dans *CORIN*, une étude par clonage positionnel pourrait permettre d'identifier le variant génétique en cause dans ce phénotype.

Nous avons également émis l'hypothèse que la mutation *Wb* du Persan (golden shaded) aurait pu être présente chez les individus hétérozygotes pour le variant c.2383C>T et présentant un phénotype de pelage similaire au sunshine (extrême golden et bimétal). *Wb* ayant un effet similaire à celui du variant de *CORIN* sur les poils (eumélanine repoussée à la pointe du poil), il faudrait alors envisager une possible interaction entre *Wb* et *CORIN* qui expliquerait le maintien du marquage tabby (habituellement effacé par la présence de *Wb*). L'existence et le fonctionnement du locus *Wb* n'étant pas élucidés, nous n'avons pas pu tester cette hypothèse.

Enfin, il est possible qu'une autre mutation de pelage existe chez le Sibérien, par exemple une mutation identique ou similaire à celle gouvernant le golden du British. En effet, la modification de la couleur appelée golden tabby chez le British ressemble au sunshine du Sibérien (fig.82).

Figure 82 : Mâle British shorthair golden blotched tabby
Notez l'aspect doré général, le bout de la queue noir, le museau blanc et le nez tendant vers le rose.
(Photographie : Chatterie Nekobaa)

Les chats British golden tabby présentent une base de poil entre le noisette et le roux, donnant un aspect général doré au pelage. Le motif tabby est bien visible. Le bout de la queue, le dessous des pattes et les coussinets sont noirs. Au niveau de la face, on retrouve le « M » du motif tabby sur le front et du blanc autour de la bouche, s'étalant vers le plastron. L'envahissement du blanc sur le plastron est cependant moindre que chez le Sibérien sunshine. Une autre différence repose sur le nez. Bien que sa teinte semble globalement rose chez la plupart des British golden tabby,

avec un triangle éclairci au-dessus de celui-ci, nous avons observé chez certains individus un nez dont la couleur varie entre le rose et le rouge brique, avec parfois un liseré, et un triangle blanc moins marqué que chez le Sibérien sunshine (fig.83).

Figure 83 : Femelle British shorthair golden spotted tabby
Bien que le pelage ressemble au sunshine chez le Sibérien, on peut noter le liseré noir assez prononcé sur le nez, qui est rose et l'absence de triangle blanc au-dessus du nez.
(Photographie : Chatterie No Demetra)

Les premières observations des éleveurs suggèrent que la transmission est, comme pour le sunshine, autosomique récessive ((http://messybeast.com/). La mutation à l'origine de la modification golden du British est inconnue à ce jour. Nous n'avons donc pas pu tester l'hypothèse de sa présence chez le Sibérien.
Parmi les chats contrôles d'autres races que le Sibérien génotypés pour le variant c.2383C>T de *CORIN*, nous avions deux chats British golden tabby. Tous deux étaient homozygotes sauvages pour le variant.

4. *ASIP, CORIN* et *MC1R*

Comme nous l'avons vu, le phénotype golden/sunshine est présent dans de nombreuses races de chat. A l'issue de notre étude nous avons identifié un variant dans *CORIN*, associé au phénotype sunshine du chat Sibérien. Chez le Kurilian bobtail, une mutation du gène *MC1R* a récemment été mise en évidence (Abitbol et Gache, 2019 ; Bychkova et al., 2020). Les chats homozygotes mutés, lorsqu'ils sont tabby, présentent à l'âge adulte un pelage d'aspect roux tabby (fig.84) avec un nez rose, un contour de la bouche éclairci, des coussinets et des pattes claires.

Figure 84 : Kurilian bobtail tabby et de phénotype carnelian (serdolic)
Notez le contour de la bouche éclairci, le nez rose et le bout des pattes clair.
(Photographie : Pauline Dekens)

Chez les chats homozygotes mutés et unis (non-agoutis, de génotype *a/a* pour *ASIP*), il a été observé la présence de marques fantômes importantes (similaire à celles de l'ambre chez le Norvégien), un contour de la bouche non éclairci et une truffe rouge (fig.85, Bychkova et al., 2020).

Figure 85 : Kurilian bobtail unis *a/a* et carnelian (serdolic) (Bychkova et al., 2020)
Notez l'importance du marquage fantôme et le contour de la bouche pigmenté.

Ce qui nous intéresse plus particulièrement dans le cadre de notre étude est la mise en évidence de Kurilian bobtails porteurs de la mutation de *MC1R* (hétérozygotes). Lorsqu'ils sont tabby, ces chats présentent une modification appelée «golden» là encore. Bien que présentant une partie des caractéristiques du carnelian (serdolic), ces chats rappellent surtout étrangement les Sibérien sunshine. Les chats tabby hétérozygotes ont un nez rose avec un triangle éclairci au-dessus du nez et peu ou pas de liseré, un marquage blanc autour du nez et de la bouche qui s'étend vers le plastron, une couleur générale entre le noisette et l'abricot avec un marquage tabby plus foncé, et des coussinets noirs (fig.86).

Figure 86 : Kurilian bobtail golden tabby et hétérozygote pour une mutation de *MC1R* (Bychkova et al., 2020)
Notez le nez rose sans liseré, le triangle éclairci, le blanc s'étendant de la face au plastron, la coloration noisette du poil et le marquage tabby plus marqué sur le front et les pattes. Le dessous des pattes noir peut-être deviné.

Les chats unis (non-agoutis, *a/a*) ne présentent pas de modification de la couleur lorsqu'ils sont hétérozygotes pour la mutation de *MC1R* (Abitbol et Gache, 2019 ; Bychkova et al., 2020).

Les Kurilian bobtail carnelian (serdolic) tabby portant en plus au moins un allèle *I*, c'est à dire silver, évoquent singulièrement les Sibérien bimétals. Ils ont le nez rose, une délimitation ventro-dorsale entre l'éclaircissement silver du patron en région dorsale et une coloration tendant vers l'abricot en région ventrale, associée à des coussinets noirs (fig.87).

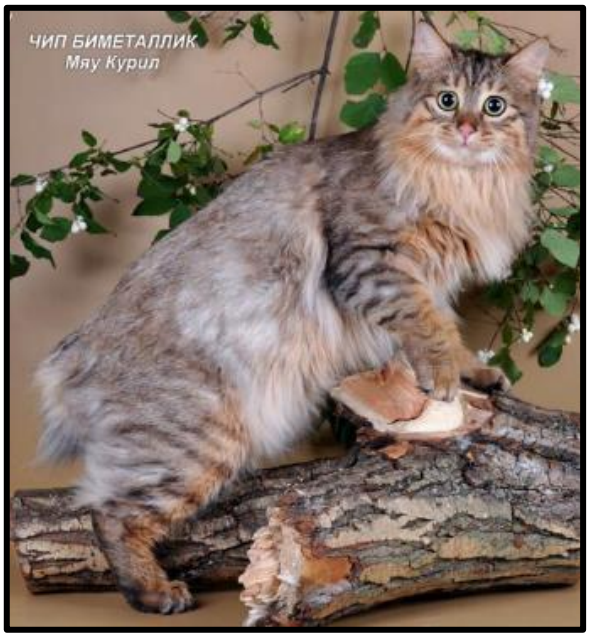


Figure 87 : Kurilian Bobtail black silver carnelian (Bychkova et al., 2020)
Notez la délimitation ventro-dorsale entre le dos silver et le ventre de couleur abricot, le nez rose et le dessous des pattes noirs.

Cette similitude entre les couleurs - golden et silver serdolic du Kurilian, engendrées par une mutation de *MC1R*, et les couleurs - sunshine et bimétal du Sibérien, dont la mutation est probablement située dans *CORIN*, pourrait s'expliquer par des interactions entre les protéines codées par ces deux gènes (fig.88). Les trois protéines et les trois gènes appartiennent à la même voie de contrôle de la pigmentation, qui régule le *switch* entre phéomélanogénèse et eumélanogénèse. Il n'est donc pas aberrant que des mutations touchant des protéines différentes de cette même voie aboutissent à des résultats phénotypiques similaires.

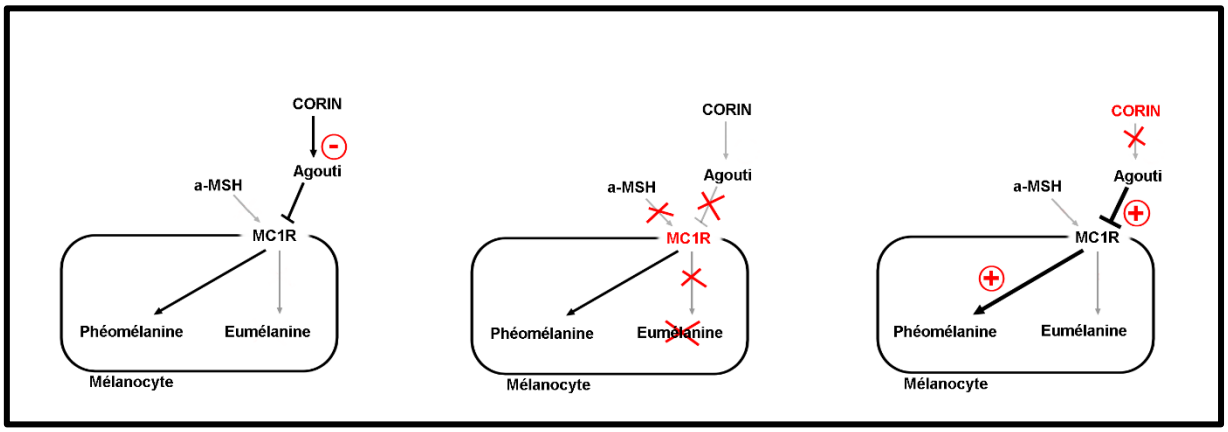


Figure 88 : Résumé des hypothèses d'interactions entre les protéines CORIN, ASIP et MC1R

A) CORIN et ASIP (Agouti) sont toutes les deux fonctionnelles. CORIN cliverait Agouti, limitant dans le temps sa durée d'action. Agouti se fixe séquentiellement sur MC1R et inhibe l'eumélanogénèse, orientant vers la production de phéomélanine. Le poil est agouti, avec une/des bande(s) de phéomélanine limitée(s), le chat est brown tabby.

B) MC1R est mutée et non fonctionnelle. Ses ligands et antagonistes n'ont plus d'effet sur elle. Dans ce cas-là, peu importe le statut pour Agouti ou pour CORIN, la production de pigment sera orientée vers la phéomélanogénèse. Le poil n'a plus d'eumélanine. Le chat est ambre, russet ou carnelian.

C) CORIN est mutée, la protéine est incapable de cliver ou clive peu Agouti. Agouti a un temps d'action augmenté, se fixant plus longtemps sur MC1R, d'où une production de phéomélanine augmentée. Le poil a une bande de phéomélanine agrandie. Le chat est golden.

Sur un chat uni, Agouti est non fonctionnelle, l'α-MSH peut donc se fixer sur MC1R et orienter la mélanogénèse vers l'eumélanine. Le chat est uni eumélanique (situation non représentée sur la figure).

CONCLUSION

Le but de cette thèse était de fournir un support scientifique, notamment aux éleveurs félins, concernant une couleur d'apparition récente chez le Sibérien : le sunshine.
Bien que le moment exact de l'apparition de cette couleur dans les arbres généalogiques ait été difficile à identifier, la présence du sunshine parmi diverses lignées de Sibérien actuelles et l'existence de chats sunshine silver (également appelés bimétals) faisaient du sunshine une couleur à part, dont la définition était nécessaire pour faciliter le travail des éleveurs et des juges.
Ainsi, nous avons souhaité apporter une définition du phénotype sunshine, afin de faciliter l'identification des individus sunshines. L'analyse des données généalogiques a de plus permis de confirmer l'hypothèse, préalablement formulée, d'une transmission autosomique récessive de cette couleur. La recherche du déterminisme moléculaire de la modification sunshine a été effectuée à l'aide d'outils actuels de génomique féline. Nous avons génotypé une cohorte de chats sunshines, bimétals et contrôles à l'aide de la puce féline à marqueurs SNP et fait séquencer le génome entier d'un chat sunshine.
La combinaison d'une étude d'association et d'une cartographie d'homozygotie nous a permis de mettre en évidence une unique région candidate. Dans cette région, nous avons identifié le gène candidat *CORIN*.
Les données de séquençage du chat sunshine avaient de plus permis l'identification de deux variants génomiques, dont l'un était situé dans le gène *CORIN*. Ainsi, nous avons identifié un variant candidat majeur pour le phénotype sunshine. Ce variant, appelé c.2383C>T, causait le remplacement d'une arginine par une cystéine, en position 795 de la protéine (R795C). Nous avons ensuite génotypé une large cohorte de chats Sibérien et de chats d'autres races pour ce variant. Le variant était présent à l'état homozygote chez tous les individus identifiés comme sunshine dans notre étude, et chez environ la moitié des chats sunshine silver (l'autre moitié étant hétérozygote pour le variant). La corrélation forte entre le génotype et le phénotype nous a conduit à considérer le variant c.2383C>T de *CORIN* comme potentiellement responsable du phénotype sunshine. L'étude de poils de chats sunshines a renforcé cette hypothèse, en révélant une modification de la répartition des pigments eumélaniques et phéomélaniques le long de la tige pilaire, modification auparavant mise en évidence pour des mutations de *CORIN* identifiées chez la souris et le tigre. Certains éléments, en plus du mécanisme d'action exact de *CORIN* encore mal connu, restent cependant à préciser. Le principal est l'existence de chats sunshine silver hétérozygotes, tandis que la mutation ne s'exprime qu'à l'état homozygote chez les sunshines traditionnels. Bien qu'une interaction entre le sunshine et le silver soit suspectée, de nouvelles études, et notamment l'identification de la mutation causale du silver, seront nécessaires afin de comprendre le mécanisme à l'origine de cette disparité.
Nous espérons avoir contribué à la caractérisation du sunshine du Sibérien et ainsi aidé les éleveurs et les juges, notamment pour la reconnaissance officielle de la couleur par les fédérations félines qui ne l'ont pas encore reconnue. De plus, l'existence d'autres couleurs proches du sunshine, dans diverses races de chats, devrait conduire à envisager *CORIN* comme un gène candidat pertinent pour les futures études qui porteront sur ces couleurs.

BIBLIOGRAPHIE

Aberdein, D., Munday, J.S., Gandolfi, B., Dittmer, K.E., Malik, R., Garrick, D.J., Lyons, L.A., *et al.* (2017), "A FAS-ligand variant associated with autoimmune lymphoproliferative syndrome in cats", *Mammalian Genome: Official Journal of the International Mammalian Genome Society*, Vol. 28 No. 1–2, pp. 47–55.

Abitbol, M. (2012), "Genetics of coat colour and texture in domestic cats", *Bulletin de l'Académie Vétérinaire de France*, Vol. 165, pp. 205–214.

Abitbol, M., Bossé, P., Grimard, B., Martignat, L. and Tiret, L. (2016), "Allelic heterogeneity of albinism in the domestic cat", *Animal Genetics*, Vol. 48 No. 1, pp. 127–128.

Abitbol, M. and Gache, V. (2019), "Copal, a new MC1R allele in the domestic cat", *Animal Genetics*, Vol. 50 No. 5, pp. 553–554.

Abitbol, M., Hitte, C., Bossé, P., Blanchard-Gutton, N., Thomas, A., Martignat, L., Blot, S., *et al.* (2015), "A COLQ Missense Mutation in Sphynx and Devon Rex Cats with Congenital Myasthenic Syndrome", *PLoS ONE*, Vol. 10 No. 9.

Abitbol, M., Legrand, R. and Tiret, L. (2014), "A missense mutation in melanocortin 1 receptor is associated with the red coat colour in donkeys", *Animal Genetics*, Vol. 45 No. 6, pp. 878–880.

Alazami, A.M., Patel, N., Shamseldin, H.E., Anazi, S., Al-Dosari, M.S., Alzahrani, F., Hijazi, H., *et al.* (2015), "Accelerating Novel Candidate Gene Discovery in Neurogenetic Disorders via Whole-Exome Sequencing of Prescreened Multiplex Consanguineous Families", *Cell Reports*, Vol. 10 No. 2, pp. 148–161.

Alhaidari, Olivry and Ortonne. (1999), "Melanocytogenesis and melanogenesis: genetic regulation and comparative clinical diseases", *Veterinary Dermatology*, Vol. 10 No. 1, pp. 3–16.

Alkuraya, F.S. (2010), "Homozygosity mapping: One more tool in the clinical geneticist's toolbox", *Genetics in Medicine*, Vol. 12 No. 4, pp. 236–239.

Allen, J.R.L.R., Strong, C. de G. and Johnson, S. (2014), "Highlighting blondes: a tissue-specific KITLG enhancer shows us how", *Pigment Cell & Melanoma Research*, Vol. 27 No. 6, pp. 1007–1008.

Aoki, H., Yamada, Y., Hara, A. and Kunisada, T. (2009), "Two distinct types of mouse melanocyte: differential signaling requirement for the maintenance of non-cutaneous and dermal versus epidermal melanocytes", *Development*, Vol. 136 No. 15, pp. 2511–2521.

de Araújo Lima, F., de Toledo Gonçalves, F. and Fridman, C. (2015), "SLC24A5 and ASIP as phenotypic predictors in Brazilian population for forensic purposes", *Legal Medicine*, Vol. 17 No. 4, pp. 261–266.

Avigad Laron, E., Aamar, E. and Enshell-Seijffers, D. (2019), "The Serine Protease Activity of Corin Is Required for Normal Pigment Type Switching", *The Journal of Investigative Dermatology*, Vol. 139 No. 1, pp. 257–259.

Baxter, L.L., Watkins-Chow, D.E., Pavan, W.J. and Loftus, S.K. (2019), "A curated gene list for expanding the horizons of pigmentation biology", *Pigment Cell & Melanoma Research*, Vol. 32 No. 3, pp. 348–358.

Berryere, T.G., Kerns, J.A., Barsh, G.S. and Schmutz, S.M. (2005), "Association of an Agouti allele with fawn or sable coat color in domestic dogs", *Mammalian Genome*, Vol. 16 No. 4, pp. 262–272.

Brisson, A. (2016), *Le nouveau chat de race de Alyse Brisson*, JMG Editions, 300p.

Bultman, S.J., Michaud, E.J. and Woychik, R.P. (1992), "Molecular characterization of the mouse agouti locus", *Cell*, Vol. 71 No. 7, pp. 1195–1204.

Bychkova, E.O., Golubeva, N.A., Filippova, E.A., Sangina, L.O. and Markov, A.V. (2020), "A New Mutation in the MC1R Gene Leads to Unique Carnelian Color in Kurilian Bobtails", *Russian Journal of Genetics*, Vol. 56 No. 1, pp. 108–111.

Candille, S.I., Kaelin, C.B., Cattanach, B.M., Yu, B., Thompson, D.A., Nix, M.A., Kerns, J.A., *et al.* (2007), "A β-Defensin Mutation Causes Black Coat Color in Domestic Dogs", *Science (New York, N.Y.)*, Vol. 318 No. 5855, pp. 1418–1423.

Chang, C.-Y., Pasolli, H.A., Giannopoulou, E.G., Guasch, G., Gronostajski, R.M., Elemento, O. and Fuchs, E. (2013), "NFIB is a governor of epithelial–melanocyte stem cell behaviour in a shared niche", *Nature*, Vol. 495 No. 7439, pp. 98–102.

Cichorek, M., Wachulska, M., Stasiewicz, A. and Tymińska, A. (2013), "Skin melanocytes: biology and development", *Advances in Dermatology and Allergology/Postępy Dermatologii I Alergologii*, Vol. 30 No. 1, pp. 30–41.

Commo, S. and Bernard, B.A. (2000), "Melanocyte Subpopulation Turnover During the Human Hair Cycle: An Immunohistochemical Study", *Pigment Cell Research*, Vol. 13 No. 4, pp. 253–259.

Cook, D., Brooks, S., Bellone, R. and Bailey, E. (2008), "Missense Mutation in Exon 2 of SLC36A1 Responsible for Champagne Dilution in Horses", *PLoS Genetics*, Vol. 4 No. 9.

Cooper, M.P., Fretwell, N., Bailey, S.J. and Lyons, L.A. (2006), "White spotting in the domestic cat (Felis catus) maps near KIT on feline chromosome B1", *Animal Genetics*, Vol. 37 No. 2, pp. 163–165.

David, V.A., Menotti-Raymond, M., Wallace, A.C., Roelke, M., Kehler, J., Leighty, R., Eizirik, E., *et al.* (2014), "Endogenous Retrovirus Insertion in the KIT Oncogene Determines White and White spotting in Domestic Cats", *G3: Genes, Genomes, Genetics*, Vol. 4 No. 10, pp. 1881–1891.

Dreger, D.L., Parker, H.G., Ostrander, E.A. and Schmutz, S.M. (2013), "Identification of a mutation that is associated with the saddle tan and black-and-tan phenotypes in Basset Hounds and Pembroke Welsh Corgis", *The Journal of Heredity*, Vol. 104 No. 3, pp. 399–406.

Dreger, D.L. and Schmutz, S.M. (2011), "A SINE insertion causes the black-and-tan and saddle tan phenotypes in domestic dogs", *The Journal of Heredity*, Vol. 102 Suppl 1, pp. S11-18.

Duhl, D.M.J., Vrieling, H., Miller, K.A., Wolff, G.L. and Barsh, G.S. (1994), "Neomorphic agouti mutations in obese yellow mice", *Nature Genetics*, Vol. 8 No. 1, pp. 59–65.

Eizirik, E., David, V.A., Buckley-Beason, V., Roelke, M.E., Schäffer, A.A., Hannah, S.S., Narfström, K., *et al.* (2010), "Defining and Mapping Mammalian Coat Pattern Genes: Multiple Genomic Regions Implicated in Domestic Cat Stripes and Spots", *Genetics*, Vol. 184 No. 1, pp. 267–275.

Eizirik, E., Yuhki, N., Johnson, W.E., Menotti-Raymond, M., Hannah, S.S. and O'Brien, S.J. (2003), "Molecular Genetics and Evolution of Melanism in the Cat Family", *Current Biology*, Vol. 13 No. 5, pp. 448–453.

Enshell-Seijffers, D., Lindon, C. and Morgan, B.A. (2008), "The serine protease Corin is a novel modifier of the agouti pathway", *Development (Cambridge, England)*, Vol. 135 No. 2, pp. 217–225.

Enshell-Seijffers, D., Lindon, C., Wu, E., Taketo, M.M. and Morgan, B.A. (2010), "β-Catenin activity in the dermal papilla of the hair follicle regulates pigment-type switching", *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, Vol. 107 No. 50, pp. 21564–21569.

Fontanesi, L., Beretti, F., Riggio, V., Dall'Olio, S., González, E.G., Finocchiaro, R., Davoli, R., *et al.* (2009), "Missense and nonsense mutations in melanocortin 1 receptor (MC1R) gene of different goat breeds: association with red and black coat colour phenotypes but with unexpected evidences", *BMC Genetics*, Vol. 10 No. 1, p. 47.

Gandolfi, B. and Alhaddad, H. (2015), "Investigation of inherited diseases in cats: Genetic and genomic strategies over three decades", *Journal of Feline Medicine and Surgery*, Vol. 17 No. 5, pp. 405–415.

Gandolfi, B., Alhaddad, H., Abdi, M., Bach, L.H., Creighton, E.K., Davis, B.W., Decker, J.E., *et al.* (2018), "Applications and efficiencies of the first cat 63K DNA array", *Scientific Reports*, Vol. 8 No. 1, pp. 1–15.

Gandolfi, B., Alhaddad, H., Joslin, S.E.K., Khan, R., Filler, S., Brem, G. and Lyons, L.A. (2013), "A splice variant in KRT71 is associated with curly coat phenotype of Selkirk Rex cats", *Scientific Reports*, Vol. 3, p. 2000.

Gershony, L.C., Penedo, M.C.T., Davis, B.W., Murphy, W.J., Helps, C.R. and Lyons, L.A. (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", *Animal Genetics*, Vol. 45 No. 6, pp. 893–897.

Ginger, R.S., Askew, S.E., Ogborne, R.M., Wilson, S., Ferdinando, D., Dadd, T., Smith, A.M., *et al.* (2008), "SLC24A5 Encodes a trans-Golgi Network Protein with Potassium-dependent Sodium-Calcium Exchange Activity That Regulates Human Epidermal Melanogenesis", *Journal of Biological Chemistry*, Vol. 283 No. 9, pp. 5486–5495.

Grahn, R.A., Lemesch, B.M., Millon, L.V., Matise, T., Rogers, Q.R., Morris, J.G., Fretwell, N., *et al.* (2005), "Localizing the X-linked orange colour phenotype using feline resource families", *Animal Genetics*, Vol. 36 No. 1, pp. 67–70.

Gustafson, N.A., Gandolfi, B. and Lyons, L.A. (2017), "Not another type of potato: MC1R and the russet coloration of Burmese cats", *Animal Genetics*, Vol. 48 No. 1, pp. 116–120.

Haskell, H. (2010), "Introduction", in Busam, K.J. (Ed.), *Dermatopathology*, W.B. Saunders, Philadelphia, pp. 1–8.

Hoekstra, H.E. (2006), "Genetics, development and evolution of adaptive pigmentation in vertebrates", *Heredity*, Vol. 97 No. 3, pp. 222–234.

Hohenester, E., Sasaki, T. and Timpl, R. (1999), "Crystal structure of a scavenger receptor cysteine-rich domain sheds light on an ancient superfamily", *Nature Structural Biology*, Vol. 6 No. 3, pp. 228–232.

Houschyar, K., Borrelli, M., Tapking, C. and Popp, D. (2020), "Molecular Mechanisms of Hair Growth and Regeneration: Current Understanding and Novel Paradigms. - PubMed - NCBI", *Karger*, Vol. 236 No. 4, pp. 271–280.

Imes, D.L., Geary, L.A., Grahn, R.A. and Lyons, L.A. (2006), "Albinism in the domestic cat (Felis catus) is associated with a tyrosinase (TYR) mutation", *Animal Genetics*, Vol. 37 No. 2, pp. 175–178.

Ishida, Y., David, V.A., Eizirik, E., Schäffer, A.A., Neelam, B.A., Roelke, M.E., Hannah, S.S., *et al.* (2006), "A homozygous single-base deletion in MLPH causes the dilute coat color phenotype in the domestic cat", *Genomics*, Vol. 88 No. 6, pp. 698–705.

Jalloul, A.H., Rogasevskaia, T.P., Szerencsei, R.T. and Schnetkamp, P.P.M. (2016), "A Functional Study of Mutations in K+-dependent Na+-Ca2+ Exchangers Associated with Amelogenesis Imperfecta and Non-syndromic Oculocutaneous Albinism", *The Journal of Biological Chemistry*, Vol. 291 No. 25, pp. 13113–13123.

Joshi, S.S., Tandukar, B., Castaneda, M., Jiang, S., Diwakar, G., Hertzano, R.P. and Hornyak, T.J. (2018), "Characterization of a new, inducible transgenic mouse model with GFP expression in melanocytes and their precursors", *Gene Expression Patterns : GEP*, Vol. 27, pp. 76–84.

Kaelin, C.B., Xu, X., Hong, L.Z., David, V.A., McGowan, K.A., Schmidt-Küntzel, A., Roelke, M.E., *et al.* (2012), "Specifying and Sustaining Pigmentation Patterns in Domestic and Wild Cats", *Science (New York, N.Y.)*, Vol. 337 No. 6101, pp. 1536–1541.

Kerns, J.A., Cargill, E.J., Clark, L.A., Candille, S.I., Berryere, T.G., Olivier, M., Lust, G., *et al.* (2007), "Linkage and Segregation Analysis of Black and Brindle Coat Color in Domestic Dogs", *Genetics*, Vol. 176 No. 3, pp. 1679–1689.

Kerns, J.A., Newton, J., Berryere, T.G., Rubin, E.M., Cheng, J.-F., Schmutz, S.M. and Barsh, G.S. (2004), "Characterization of the dog Agouti gene and a nonagoutimutation in German Shepherd Dogs", *Mammalian Genome: Official Journal of the International Mammalian Genome Society*, Vol. 15 No. 10, pp. 798–808.

Lamason, R.L., Mohideen, M.-A.P.K., Mest, J.R., Wong, A.C., Norton, H.L., Aros, M.C., Jurynec, M.J., *et al.* (2005), "SLC24A5, a putative cation exchanger, affects pigmentation in zebrafish and humans", *Science (New York, N.Y.)*, Vol. 310 No. 5755, pp. 1782–1786.

Li, G., Hillier, L.W., Grahn, R.A., Zimin, A.V., David, V.A., Menotti-Raymond, M., Middleton, R., *et al.* (2016), "A High-Resolution SNP Array-Based Linkage Map Anchors a New Domestic Cat Draft Genome Assembly and Provides Detailed Patterns of Recombination", *G3 (Bethesda, Md.)*, Vol. 6 No. 6, pp. 1607–1616.

Lindblad-Toh, K., Wade, C.M., Mikkelsen, T.S., Karlsson, E.K., Jaffe, D.B., Kamal, M., Clamp, M., *et al.* (2005), "Genome sequence, comparative analysis and haplotype structure of the domestic dog", *Nature*, Vol. 438 No. 7069, pp. 803–819.

Lipinski, M.J., Froenicke, L., Baysac, K.C., Billings, N.C., Leutenegger, C.M., Levy, A.M., Longeri, M., *et al.* (2008), "The ascent of cat breeds: Genetic evaluations of breeds and worldwide random-bred populations", *Genomics*, Vol. 91 No. 1, pp. 12–21.

Liu, X., Luo, J., Hu, X., Yang, H., Lv, X., Feng, C., Tong, J., *et al.* (2011), "Repression of Slc24a5 can reduce pigmentation in chicken", *Frontiers in Bioscience (Elite Edition)*, Vol. 3, pp. 158–165.

Lyons, L.A. (2010), "Feline Genetics: Clinical Applications and Genetic Testing", *Topics in Companion Animal Medicine*, Vol. 25 No. 4, pp. 203–212.

Lyons, L.A. (2012), "Genetic testing in domestic cats", *Molecular and Cellular Probes*, Vol. 26 No. 6, pp. 224–230.

Lyons, L.A. (2015), "DNA mutations of the cat: the good, the bad and the ugly", *Journal of Feline Medicine and Surgery*, Vol. 17 No. 3, pp. 203–219.

Lyons, L.A., Bailey, S.J., Baysac, K.C., Byrns, G., Erdman, C.A., Fretwell, N., Froenicke, L., *et al.* (2006), "The Tabby cat locus maps to feline chromosome B1", *Animal Genetics*, Vol. 37 No. 4, pp. 383–386.

Lyons, L.A., Creighton, E.K., Alhaddad, H., Beale, H.C., Grahn, R.A., Rah, H., Maggs, D.J., *et al.* (2016), "Whole genome sequencing in cats, identifies new models for blindness in AIPL1 and somite segmentation in HES7", *BMC Genomics*, Vol. 17.

Lyons, L.A., Foe, I.T., Rah, H.C. and Grahn, R.A. (2005), "Chocolate coated cats: TYRP1 mutations for brown color in domestic cats", *Mammalian Genome: Official Journal of the International Mammalian Genome Society*, Vol. 16 No. 5, pp. 356–366.

Lyons, L.A., Imes, D.L., Rah, H.C. and Grahn, R.A. (2005), “Tyrosinase mutations associated with Siamese and Burmese patterns in the domestic cat (Felis catus)”, *Animal Genetics*, Vol. 36 No. 2, pp. 119–126.

Mack, M., Kowalski, E., Grahn, R., Bras, D., Penedo, M.C.T. and Bellone, R. (2017), “Two Variants in SLC24A5 Are Associated with ‘Tiger-Eye’ Iris Pigmentation in Puerto Rican Paso Fino Horses”, *G3: Genes|Genomes|Genetics*, Vol. 7 No. 8, pp. 2799–2806.

Mariat, D., Taourit, S. and Guérin, G. (2003), “A mutation in the MATP gene causes the cream coat colour in the horse”, *Genetics, Selection, Evolution : GSE*, Vol. 35 No. 1, pp. 119–133.

Marks, M.S. and Seabra, M.C. (2001), “The melanosome: membrane dynamics in black and white”, *Nature Reviews. Molecular Cell Biology*, Vol. 2 No. 10, pp. 738–748.

Mauler, D.A., Gandolfi, B., Reinero, C.R., O’Brien, D.P., Spooner, J.L., Lyons, L.A. and and 99 Lives Consortium. (2017), “Precision Medicine in Cats: Novel Niemann-Pick Type C1 Diagnosed by Whole-Genome Sequencing”, *Journal of Veterinary Internal Medicine*, Vol. 31 No. 2, pp. 539–544.

Menotti-Raymond, M., David, V.A., Eizirik, E., Roelke, M.E., Ghaffari, H. and O’Brien, S.J. (2009), “Mapping of the Domestic Cat ‘SILVER’ Coat Color Locus Identifies a Unique Genomic Location for Silver in Mammals”, *Journal of Heredity*, Vol. 100 No. Suppl 1, pp. S8–S13.

Mesler, A. (2018), *Dynamics of Hair Follicle Morphogenesis and Skin Homeostasis*, Université du Michigan, PHD thesis, 174p, disponible : http://hdl.handle.net/2027.42/145798.

Michaud, E.J., Bultman, S.J., Stubbs, L.J. and Woychik, R.P. (1993), “The embryonic lethality of homozygous lethal yellow mice (Ay/Ay) is associated with the disruption of a novel RNA-binding protein”, *Genes & Development*, Vol. 7 No. 7A, pp. 1203–1213.

Millar, S.E., Miller, M.W., Stevens, M.E. and Barsh, G.S. (1995), “Expression and transgenic studies of the mouse agouti gene provide insight into the mechanisms by which mammalian coat color patterns are generated”, *Development*, Vol. 121 No. 10, pp. 3223–3232.

Montague, M.J., Li, G., Gandolfi, B., Khan, R., Aken, B.L., Searle, S.M.J., Minx, P., *et al.* (2014), “Comparative analysis of the domestic cat genome reveals genetic signatures underlying feline biology and domestication”, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, Vol. 111 No. 48.

Morice-Picard, F., Lasseaux, E., François, S., Simon, D., Rooryck, C., Bieth, E., Colin, E., *et al.* (2014), “SLC24A5 Mutations Are Associated with Non-Syndromic Oculocutaneous Albinism”, *Journal of Investigative Dermatology*, Vol. 134 No. 2, pp. 568–571.

Morris, D. (1999), *Cat Breeds of the World: A Complete Illustrated Encyclopedia*, New York: Viking, 256p.

Napolitano, A., Di Donato, P. and Prota, G. (2001), "Zinc-Catalyzed Oxidation of 5-S-Cysteinyldopa to 2,2'-Bi(2H-1,4-benzothiazine): Tracking the Biosynthetic Pathway of Trichochromes, the Characteristic Pigments of Red Hair", *The Journal of Organic Chemistry*, Vol. 66 No. 21, pp. 6958–6966.

Ollmann, M.M., Lamoreux, M.L., Wilson, B.D. and Barsh, G.S. (1998), "Interaction of Agouti protein with the melanocortin 1 receptor in vitro and in vivo", *Genes & Development*, Vol. 12 No. 3, pp. 316–330.

Ostrander, E.A. and Wayne, R.K. (2005), "The canine genome", *Genome Research*, Vol. 15 No. 12, pp. 1706–1716.

Peters, L., Humble, E., Kröcker, N., Fuchs, B., Forcada, J. and Hoffman, J.I. (2016), "Born blonde: a recessive loss-of-function mutation in the melanocortin 1 receptor is associated with cream coat coloration in Antarctic fur seals", *Ecology and Evolution*, Vol. 6 No. 16, pp. 5705–5717.

Peterschmitt, M., Grain, F., Arnaud, B., Deléage, G. and Lambert, V. (2009), "Mutation in the melanocortin 1 receptor is associated with amber colour in the Norwegian Forest Cat", *Animal Genetics*, Vol. 40 No. 4, pp. 547–552.

Plonka, P.M., Passeron, T., Brenner, M., Tobin, D.J., Shibahara, S., Thomas, A., Slominski, A., *et al.* (2009), "What are melanocytes really doing all day long…?", *Experimental Dermatology*, Vol. 18 No. 9, pp. 799–819.

Pontius, J.U., Mullikin, J.C., Smith, D.R., Team, A.S., Lindblad-Toh, K., Gnerre, S., Clamp, M., *et al.* (2007), "Initial sequence and comparative analysis of the cat genome", *Genome Research*, Vol. 17 No. 11, pp. 1675–1689.

Prieur, D.J. and Collier, L.L. (1981), "Morphologic basis of inherited coat-color dilutions of cats", *Journal of Heredity*, Vol. 72 No. 3, pp. 178–182.

Rogasevskaia, T.P., Szerencsei, R.T., Jalloul, A.H., Visser, F., Winkfein, R.J. and Schnetkamp, P.P.M. (2019), "Cellular localization of the K+-dependent Na+–Ca2+ exchanger NCKX5 and the role of the cytoplasmic loop in its distribution in pigmented cells", *Pigment Cell & Melanoma Research*, Vol. 32 No. 1, pp. 55–67.

San-Jose, L.M., Ducrest, A.-L., Ducret, V., Simon, C., Richter, H., Wakamatsu, K. and Roulin, A. (2017), "MC1R variants affect the expression of melanocortin and melanogenic genes and the association between melanocortin genes and coloration", *Molecular Ecology*, Vol. 26 No. 1, pp. 259–276.

Sartore, S., Landoni, E., Maione, S., Tarducci, A., Borrelli, A., Soglia, D., Rasero, R., *et al.* (2017), "Polymorphism Analysis of Ch1 and Ch2 Genes in the Siberian Cat", *Veterinary Sciences*, Vol. 4 No. 4, p. 63.

Saternus, R., Pilz, S., Gräber, S., Kleber, M., März, W., Vogt, T. and Reichrath, J. (2015), "A Closer Look at Evolution: Variants (SNPs) of Genes Involved in Skin Pigmentation, Including EXOC2, TYR, TYRP1, and DCT, Are Associated With 25(OH)D Serum Concentration", *Endocrinology*, Vol. 156 No. 1, pp. 39–47.

Schmidt-Küntzel, A., Eizirik, E., O'Brien, S.J. and Menotti-Raymond, M. (2005), "Tyrosinase and Tyrosinase Related Protein 1 Alleles Specify Domestic Cat Coat Color Phenotypes of the albino and brown Loci", *Journal of Heredity*, Vol. 96 No. 4, pp. 289–301.

Schmidt-Küntzel, A., Nelson, G., David, V.A., Schäffer, A.A., Eizirik, E., Roelke, M.E., Kehler, J.S., *et al.* (2009), "A Domestic cat X Chromosome Linkage Map and the Sex-Linked orange Locus: Mapping of orange, Multiple Origins and Epistasis Over nonagouti", *Genetics*, Vol. 181 No. 4, pp. 1415–1425.

Slominski, A., Plonka, P.M., Pisarchik, A., Smart, J.L., Tolle, V., Wortsman, J. and Low, M.J. (2005), "Preservation of Eumelanin Hair Pigmentation in Proopiomelanocortin-Deficient Mice on a Nonagouti (a/a) Genetic Background", *Endocrinology*, Vol. 146 No. 3, pp. 1245–1253.
Slominski, A., Tobin, D.J., Shibahara, S. and Wortsman, J. (2004), "Melanin Pigmentation in Mammalian Skin and Its Hormonal Regulation", *Physiological Reviews*, Vol. 84 No. 4, pp. 1155–1228.

Vogel, P., Read, R.W., Vance, R.B., Platt, K.A., Troughton, K. and Rice, D.S. (2008), "Ocular Albinism and Hypopigmentation Defects in Slc24a5—I— Mice", *Veterinary Pathology*, Vol. 45 No. 2, pp. 264–279.

Vrieling, H., Duhl, D.M., Millar, S.E., Miller, K.A. and Barsh, G.S. (1994), "Differences in dorsal and ventral pigmentation result from regional expression of the mouse agouti gene", *Proceedings of the National Academy of Sciences*, Vol. 91 No. 12, pp. 5667–5671.

Wakeling, M.N., Laver, T.W., Wright, C.F., De Franco, E., Stals, K.L., Patch, A.-M., Hattersley, A.T., *et al.* (2019), "Homozygosity mapping provides supporting evidence of pathogenicity in recessive Mendelian disease", *Genetics in Medicine*, Vol. 21 No. 4, pp. 982–986.

Whiting, P.W. (1918), "Inheritance of coat-color in cats", *Journal of Experimental Zoology*, Vol. 25 No. 2, pp. 539–569.

Willet, C.E. and Haase, B. (2014), "An updated felCat5 SNP manifest for the Illumina Feline 63k SNP genotyping array", *Animal Genetics*, Vol. 45 No. 4, pp. 614–615.

Williams, R.M., Winkfein, R.J., Ginger, R.S., Green, M.R., Schnetkamp, P.P. and Wheeler, G.N. (2017), "A functional approach to understanding the role of NCKX5 in Xenopus pigmentation", *PLoS ONE*, Vol. 12 No. 7.

Wilson, B.D., Ollmann, M.M. and Barsh, G.S. (1999), "The role of agouti-related protein in regulating body weight", *Molecular Medicine Today*, Vol. 5 No. 6, pp. 250–256.

Wilson, S., Ginger, R.S., Dadd, T., Gunn, D., Lim, F.-L., Sawicka, M., Sandel, M., *et al.* (2013), "NCKX5, a natural regulator of human skin colour variation, regulates the expression of key pigment genes MC1R and alpha-MSH and alters cholesterol homeostasis in normal human melanocytes", *Advances in Experimental Medicine and Biology*, Vol. 961, pp. 95–107.

Wu, X. and Hammer, J.A. (2014), "Melanosome transfer: it is best to give and receive", *Current Opinion in Cell Biology*, Vol. 29, pp. 1–7.

Xu, X., Dong, G.-X., Schmidt-Küntzel, A., Zhang, X.-L., Zhuang, Y., Fang, R., Sun, X., *et al.* (2017), "The genetics of tiger pelage color variations", *Cell Research*, Vol. 27 No. 7, pp. 954–957.

Yamaguchi, Y. and Hearing, V.J. (2006), "Melanocyte Distribution and Function in Human Skin", in Hearing, V.J. and Leong, S.P.L. (Eds.), *From Melanocytes to Melanoma: The Progression to Malignancy*, Humana Press, Totowa, NJ, pp. 101–115.

Yang, Z., Shi, H., Ma, P., Zhao, S., Kong, Q., Bian, T., Gong, C., *et al.* (2018), "Darwinian positive selection on the pleiotropic effects of KITLG explain skin pigmentation and winter temperature adaptation in Eurasians", *Molecular Biology and Evolution*, Vol. 35 No. 9, pp. 2272–2283.

Yoshinaga, Y., Daum, C., He, G. and O'Malley, R. (2018), "Genome Sequencing", *Methods in Molecular Biology (Clifton, N.J.)*, Vol. 1775, pp. 37–52.

Yu, Y., Grahn, R.A. and Lyons, L.A. (2019), "Mocha tyrosinase variant: a new flavour of cat coat coloration", *Animal Genetics*, Vol. 50 No. 2, pp. 182–186.

WEBOGRAPHIE

База родословных сибирских кошек – Главная (base de données russe de pedigrees), en ligne, consulté le 17 août 2017 : http://tree.sibcat.info/.

Accueil | Fédération Féline Française, en ligne, consulté le 13 août 2019 : https://www.fff-asso.fr/.

Cream Dilution | Equine Coat Color | Animal Genetics, en ligne, consulté le 5 avril 2020 : https://www.animalgenetics.us/equine/coat_color/Cream.asp.

Ensembl genome browser 101, en ligne, consulté le 7 juillet 2018 : http://www.ensembl.org/index.html.

Fédération Internationale Féline : Introduction to the FIFe, en ligne, consulté le 13 août 2019 : http://fifeweb.org/index.php.

Hartwell S. (2013), *« BIMETALLIC » SIBERIANS & PLATINUM PERSIANS*, en ligne, consulté le 1 août 2017 : http://messybeast.com/bimetallic.htm.

Hartwell S. (2014), *RUSSIAN SUNSHINE - GOLDEN COLOURS IN SIBERIAN AND KURILIAN BOBTAIL CATS*, en ligne, consulté le 1 août 2017 : http://messybeast.com/sunshine-kurilean-golden.htm.

Hartwell S. (2016), *« COPPER » PHENOTYPE IN BRITISH TIPPED SHORTHAIRS (ULTRA-WIDE-BAND)*, en ligne, consulté le 10 septembre 2019 : http://messybeast.com/copper-british-shorthairs.htm.

LOOF - Standards, en ligne, consulté le 13 août 2019 : https://www.loof.asso.fr/standards/guide.php.

PawPeds (base de données française de pedigrees), en ligne, consulté le 17 août 2017 : https://www.pawpeds.com/.

Siberian Breed, en ligne, consulté le 13 août 2019 : https://www.tica.org/breeds/browse-all-breeds?view=article&id=878:siberian-breed&catid=79.

ANNEXES

Annexe 1 : Liste des chats Sibérien inclus dans le projet de recherche

Chat	Sexe	Couleur	Sunshine	Génotypage puce
S1	f	Black golden spotted tabby	oui	oui + séquençage
C3	m	Brown blotched tabby et blanc	non	oui
	m	Brown golden blotched tabby et blanc	non	non
	m	Brown blotched tabby	non	non
C6	m	Brown spotted tabby et blanc	non	oui
C4	m	Brown blotched tabby et blanc	non	oui
	m	Brown golden spotted tabby	oui	non
C5	m	Brown mackerel tabby	non	non
S2	f	Brown golden spotted tabby	oui	non
	m	Seal tabby golden point	sunshine point	non
	f	Brown mackerel tabby	non	non
	f	Seal tabby point	non	non
	m	Blue silver sunshine tabby point	sunshine point	non
	f	Seal point et blanc	non	non
C2	f	Brown mackerel tabby et blanc	non	oui
B1	f	Bimetal	bimétal	oui
	f	Bimetal	bimétal	non
B2	m	Bimetal	bimétal	oui
	f	Bimetal	bimétal	non
	m	Bimetal	bimétal	non
	f	Bimetal	bimétal	non
	f	Bimétal	bimétal	non
	f	Blue sunshine tabby	oui	non
C1	f	Brown tabby	non	oui
S3	f	Black golden tabby	oui	oui
	f	Bimetal	oui	non
	m	Red point sunshine	roux	non
S4	f	Black golden spotted tabby	oui	oui
	m	Brown sunshine tabby et blanc	oui	non
S5	f	Black golden tabby (atypique, très roux)	non : extrême golden	oui
S6	f	Black golden tabby	oui	oui
	m	Seal silver tabby point golden	sunshine point	non
	f	Black golden tabby	oui	non
	f	Seal tabby golden point	sunshine point	oui
C12	m	Brown tabby	non	oui
C11	f	Brown tabby	non	oui
S7	f	Black golden tabby	oui	oui
C8	f	Brown tabby	non	oui
C13	m	Brown tabby	non	oui
	m	Brown tabby	non	non
S8	m	Black golden tabby	oui	oui
C9	m	Black silver tabby	non	oui
C10	f	Brown tabby	non	oui
B4	m	Bimetal	bimétal	oui
C7	f	Brown tabby	non	oui
	m	Brown sunshine tabby et blanc	oui	non
	f	Bimetal	bimétal	non
	m	Brown sunshine tabby et blanc	oui	non
	f	Brown sunshine tabby et blanc	oui	non
	f	Brown sunshine tabby	oui	non
	m	Brown tabby et blanc	non	non
	f	Brown sunshine tabby	oui	non
	f	Blue sunshine tabby point	sunshine point	non
	f	Blue tabby	non	non
	f	black tortie tabby et blanc	non	non
	m	Black golden blotched tabby	oui	non
	m	Red sunshine tabby	roux	non
	f	Bimetal, black tortie sunshine silver tabby	bimétal	non
	m	Cream silver tabby et blanc	roux	non
	m	Red silver tabby	roux	non
	m	Black silver tabby et blanc	non	non
	m	Red silver tabby et blanc	roux	non
	f	Red silver tabby et blanc	roux	non
	f	Black silver tabby	non	non
	f	Bimetal et blanc	bimétal	non
	m	Black smoke	non	non
	f	Black sunshine tabby et blanc	oui	non
	f	Black smoke et blanc	non	non
	m	Black silver tabby (+tache rousse)	non	non
	f	Blue mackerel tabby	non	non
	f	Brown mackerel tabby	non	non
	f	Seal tabby golden point	sunshine point	non
	f	Blue mackerel tabby sunshine	oui	non
	f	Brown spotted tabby sunshine	oui	non
	f	Noir	non	non
		Bimetal	bimétal	non
	f	Brown Sunshine Tabby	oui	non
	f	Black tortie silver tabby	non	non
	m	Brown tabby	non	non
	m	Seal tabby point	non	non
	m	Brown tabby	non	non
	m	Seal tabby point	non	non
	f	Brown tabby	non	non
	m	Brown Golden Tabby	oui	non
	f	Black sunshine silver tabby (Bimetal)	bimétal	non
	m	Black sunshine silver tabby (Bimetal)	bimétal	non
	m	Brown sunshine tabby	oui	non
	m	Black sunshine silver tabby (Bimetal)	bimétal	non
	f	Bimetal	bimétal	non
	m	Black Golden Tabby	oui	non
	f	Black sunshine silver tabby (Bimetal)	bimétal	non
	f	Brown Sunshine Tabby	oui	non
	f	Bimetal	bimétal	non
	m	Brown Tabby	non	non
	m	Bimetal Crème	roux	non
	m	Brown golden tabby extrême (pieds blancs)	non : extrême golden	non
	f	Bimetal Point	sunshine point	non
	m	Brown golden tabby extrême (pieds blancs)	non : extrême golden	non

Annexe 2 : Certificat de prélèvement

VetAgro Sup
Campus Vétérinaire de Lyon

Recherches génétiques chez le Chat

Dans le cadre de recherches génétiques dans les différentes races félines, nous collectons des échantillons ADN **de chats LOOF** appartenant à toutes races.

- remplir le formulaire
- joindre une photocopie du pedigree et une photo du chat, que vous pouvez envoyer par mail
- joindre 5ml de sang prélevé sur EDTA (tube à bouchon violet, envoi en courrier simple dans une enveloppe à bulles) ou 2 brossettes buccales ou **2 cotons tiges** (qui peuvent être réalisées par vous-même et envoyées en lettre simple).

Les docteurs vétérinaires de l'Ecole Vétérinaire de Lyon (VetAgro Sup) ainsi que tous les membres du projet **CHAT** s'engagent à respecter une totale confidentialité sur les informations transmises.
En cas de besoin, vous pouvez contacter le Dr. Marie Abitbol au 04-78-87-25-66
ou par mail : marie.abitbol@vetagro-sup.fr.

Identité du chat :

(Numéro de dossier VetAgro Sup si le chat a été reçu en consultation à VetAgro Sup : _ _ _ _ _ _ _ _ _ _ _ _ _)

Nom : _ Date de naissance :_ _ _ _ _ _ _ _ _ _ _ _

Sexe : mâle femelle Race : _ _ _ _ _ _ _ _ _ _ _ _ N° d'identification : _ _ _ _ _ _ _ _ _ _ _ _

Couleur : _

Remarques éventuelles :

Nom et coordonnées postales :

Adresse électronique :

Je consens à l'utilisation du prélèvement ADN de mon chat décrit ci-dessus à des fins de recherche génétique.
- Le prélèvement pourra être utilisé par VetAgro Sup et ses laboratoires partenaires.
- L'identité du prélèvement restera confidentielle.

Lu et approuvé.
Date Signature

Nous vous remercions d'envoyer cette fiche accompagnée des prélèvements, (du pedigree et d'une photo) au :

Dr Marie ABITBOL
Génétique
VetAgro Sup - Campus Vétérinaire de Lyon
1 Avenue Bourgelat
69280 Marcy L'Etoile

Annexe 4 : Extraits du manuel de l'automate Maxwell 16 (Promega)

Promega

Technical Manual

Maxwell® 16 LEV Blood DNA Kit and Maxwell® 16 Buccal Swab LEV DNA Purification Kit

INSTRUCTIONS FOR USE OF PRODUCT AS1290 AND AS1295

www.promega.com

PRINTED IN USA.
Revised 1/11

Part# TM333

3. Before You Begin

Maxwell® 16 Instrument Hardware and Firmware Setup

To use the Maxwell® 16 LEV Blood DNA Kit or Buccal Swab LEV DNA Purification Kit, the Maxwell® 16 Instrument must be configured with LEV hardware. If your Maxwell® 16 Instrument contains standard elution volume (SEV) hardware, it will need to be reconfigured using the Maxwell® 16 LEV Hardware Kit (Cat.# AS1250). Reconfiguring the instrument is simple and easy. Refer to the *Maxwell® 16 Instrument Technical Manual* specific for your instrument for directions.

Materials to Be Supplied by the User

- optional, rotating tube mixer for liquid blood samples
- benchtop vortex mixer
- pipettors and pipette tips for sample transfer into prefilled reagent cartridges
- 1.5–2.0ml tubes for incubation of samples (e.g., Microtubes, 1.5ml [Cat.# V1231])
- heating block set at 56°C
- microcentrifuge (buccal swab protocol)
- buccal swabs (e.g., Puritan Medical Products Cat.# 25-806 1PD or 25-806 1PC)

3.A. Preparation of Whole Blood Samples (Cat.# AS1290)

Whole Blood Sample Processing Capacity

The total yield of genomic DNA from whole blood samples depends on the sample volume and number of white blood cells/ml. Each cartridge supplied in the Maxwell® 16 LEV Blood DNA Purification Kit is designed to purify genomic DNA from up to 300µl of whole blood, assuming an average number of white blood cells in the range of 4×10^6 to 1.1×10^7/ml whole blood (values for a normal healthy adult; 1).

Note: Whole blood samples collected in EDTA, ACD or heparin tubes can be used. These samples may be either fresh or frozen. Frozen samples should be thawed before processing. We recommend mixing all blood samples before use. EDTA blood collection tubes are preferred if the purified DNA will be used in downstream amplification assays.

1. Mix all blood samples for at least 5 minutes at room temperature.
2. Prepare and label incubation tubes compatible with heating block.
3. Add 30µl of Proteinase K (PK) Solution to each incubation tube.
4. Add liquid blood (up to 300µl) to each incubation tube.
5. Add 300µl of Lysis Buffer to each incubation tube.
6. Vortex each tube for 10 seconds.
7. Incubate each tube in the heating block (set to 56°C) for 20 minutes. During this incubation, prepare cartridges as described in Section 3.C.
8. Transfer each blood lysate sample from the incubation tube to well #1 of each cartridge. (Well #1 is the well closest to the cartridge label and furthest from the user.)

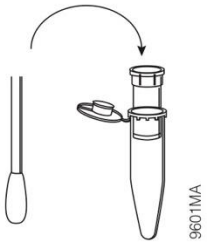
3.B. Preparation of Buccal Swab Samples (Cat.# AS1295)

Buccal Swab Sample Processing Capacity

The total yield of genomic DNA from buccal swab samples depends on the cellular material contained on the swabs. Each cartridge supplied in the Maxwell ® 16 Buccal Swab LEV DNA Purification Kit is designed to purify genomic DNA from 1 or 2 buccal swabs.

Note: Customers have performed this protocol successfully with samples collected using Pur-Wraps Sterile Polyester Tipped Applicators, Puritan Medical Products Cat.# 25-806 1PD or Pur-Wraps Sterile Cotton Tipped Applicators, Puritan Medical Products Cat.# 25-806 1PC. We also recommend using Promega Microtubes, 1.5ml (Cat.# V1231) for sample preparation.

1. Collect samples with a standard buccal swab collection procedure.
2. Assemble a Clearing Column/microtube for each sample.
3. Cut the head off the applicator stick. Add dried swab head to the Clearing Column/microtube assembly.
4. In a separate tube, mix 300µl Lysis Buffer + 30µl Proteinase K for each sample.



5. Add 330µl of Lysis Buffer/Proteinase K to swab head in the Clearing Column/microtube assembly.
6. Close tube over the Clearing Column and vortex for 10 seconds.

   Note: If using tubes other than the recommended Cat.# V1231, the tube may not close.
7. Incubate for 20 minutes at 56°C.

   Note: Some flowthrough from the column may be observed in the microtube after incubation. This is normal.
8. Centrifuge the Clearing Column/microtube assembly with swab for 2 minutes at maximum speed.
9. Remove the Clearing Column with swab head and discard.
10. Add flowthrough to well #1 of the Maxwell® 16 LEV cartridge (see section 3.C for cartridge preparation) .
11. Process using Maxwell® 16 in LEV Research Mode using the LEV Blood method (see Section 4).
12. Once the extraction is complete, remove and cap each elution tube. Store appropriately until use.

3.C. Maxwell® 16 Cartridge Preparation

1. Change gloves before handling cartridges, LEV Plungers and Elution Tubes. Place the cartridges to be used in the Maxwell ® 16 LEV Cartridge Rack (Cat.# AS1251). Place each cartridge in the rack with the label side facing away from the Elution Tubes. Press down on the cartridge to snap it into position. Carefully peel back the seal so that all plastic comes off the top of the cartridge. Ensure that all sealing tape and any residual adhesive are removed before placing cartridges in the instrument.
2. Place one plunger into well #8 of each cartridge.
3. Place an empty Elution Tube into the Elution Tube position for each cartridge in the Maxwell® 16 LEV Cartridge Rack. Add 50µl of Elution Buffer to the bottom of each Elution Tube.

Notes:

1. If you are processing fewer than 16 samples, center the cartridges on the platform.
2. Specimen or reagent spills on any part of the Maxwell ® 16 LEV Cartridge Rack should be cleaned with a detergent-water solution, followed by a bacteriocidal spray or wipe, then water. Do not use bleach on any instrument parts.

Well Contents	User Adds:
1. Binding Buffer	Sample
2. Paramagnetic Cellulose Particles	
3. Wash Buffer	
4. Wash Buffer	
5. Wash	
6. Wash	
7. Water	
8. Empty	Plunger

8592TA

Figure 1. Maxwell® 16 LEV DNA Purification Cartridge. This figure shows the contents of a cartridge. In all cases, lysate sample is added to well #1.

Figure 2. Setup and configuration in the Maxwell® 16 LEV Cartridge Rack. Elution Buffer is added to the Elution Tubes as indicated.

4. Instrument Run: AS2000 and AS3000 Instruments

Setup for AS2000 Maxwell® 16 Instruments

Refer to the *Maxwell® 16 Instrument Operating Manual* #TM295 for more detailed information.

To run the "Blood" protocol, you must have Maxwell ® 16 firmware version 4.71 or higher installed on your instrument.

1. Turn on the Maxwell® 16 Instrument. The instrument will power up, display the firmware version number, proceed through a self-check and home all moving parts.
2. Verify that the instrument settings indicate an "LEV" hardware configuration and "Rsch" operational mode setting.
3. Select "Run" on the Menu screen, and press the Run/Stop button to start the method.
4. Select "DNA" on the menu screen, then select "OK" at the Verification screen.
5. Select "Blood" on the Menu screen, then select "OK" at the Verification screen. "Blood" Method is used for both kits (Cat.# AS1290 and AS1295).
6. Open the door when prompted to do so on the screen. Press the Run/Stop button to extend the platform.

   Warning: Pinch point hazard.

7. Transfer the Maxwell® 16 LEV Cartridge Rack containing the prepared cartridges on the Maxwell® 16 Instrument platform. Ensure that the rack is placed in the Maxwell® 16 Instrument with the Elution Tubes closest to the door. The rack will only fit in the instrument in this orientation. If you have difficulty fitting the rack on the platform, check that the rack is in the correct orientation. Ensure that the cartridge rack is level on the instrument platform.

   Note: Hold the Maxwell® 16 LEV Cartridge Rack by the sides to avoid dislodging cartridges from the rack.

8. Verify that samples were added to well #1 of the cartridges, cartridges are loaded on the instrument, Elution Tubes are present with 50µl of Elution Buffer and LEV Plungers are in well #8.
9. Press the Run/Stop button. The platform will retract. Close the door.

   Warning: Pinch point hazard.

10. The Maxwell® 16 Instrument will immediately begin the purification run. The screen will display the steps performed and the approximate time remaining in the run.

    Notes:

    1. Pressing the Run/Stop button or opening the door will pause the run.
    2. If the run is abandoned before completion, the instrument will wash the particles off the plungers and eject the plungers into well #8 of the cartridge. The sample will be lost.

11. When the automated purification run is complete, the LCD screen will display a message that the method has ended.

End of Run

12. Follow on-screen instructions at the end of the method to open door. Verify that plungers are located in well #8 of the cartridge at the end of the run. If plungers are not removed from the magnetic plunger bar, push them down gently by hand to remove them.

13. Press the Run/Stop button to extend the platform out of the instrument.

14. Remove the Maxwell® 16 LEV Cartridge Rack from the instrument. Remove Elution Tubes containing DNA, and close the tubes.

    Note: Following the automated purification procedure, the LEV Cartridge Rack will be warm. It will not be too hot to touch. To remove the rack from the instrument platform, hold onto the sides of the rack.

15. Remove the cartridges and plungers from the Maxwell® 16 LEV Cartridge Rack, and discard as hazardous waste. Do not reuse reagent cartridges, LEV Plungers or Elution Tubes.

Setup for AS3000 Maxwell® 16 MDx Instruments

Refer to the *Maxwell® 16 MDx Instrument Technical Manual* #TM320 for detailed information. To run the "Blood" protocol, you must have the Maxwell® 16 Firmware version 1.10 or higher installed on your instrument

1. Turn on the Maxwell® 16 MDx Instrument. The instrument will power up, display the firmware version number, proceed through a self-check and home all moving parts.

2. Verify that the Home screen indicates "LEV" and the LEV hardware is present. Press "Run" to continue.

3. Enter user and PIN, if this option is enabled.

4. At the Protocols screen, select "DNA".

5. At the Method screen, select "Blood".

6. On the next screen, verify that the correct user was chosen. The protocol should read "DNA". Select "Run/Stop" to continue.

Annexe 5 : Variants présents à l'état homozygote dans des gènes de pigmentation, chez le chat séquencé

La description du phénotype peut être animale ou humaine.

Gène	Nom complet du gène	Phénotype, localisation	Affection humaine	Description du phénotype	Variant	Génotype du chat séquencé	Séquence de référence
ATM	*ATM Serine/Threonine Kinase*	corps	Ataxie-télangiectasie	Hyperpigmentation, taches café au lait	g.6867289A>G	G/G	A
					g.6867319G>A	A/A	G
					g.6870325G>T	T/T	G
					g.6905233G>A	A/A	G
					g.6928522T>C	C/C	T
BLM	*BLM RecQ Like Helicase*	corps	Syndrome de Bloom	Peau hypo- et hyperpigmentée, sensibilité au soleil,macules café au lait	g.5445350C>A	A/A	C
					g.5452089A>G	G/G	A
					g.5452135G>C	C/C	G
					g.5452162C>T	T/T	C
					g.5452312C>T	T/T	C
BRCA2	*BRCA2 DNA Repair Associated*	corps	Anémie de Fanconi	Hyperpigmentation, taches café au lait	g.11551892T>C	C/C	T
					g.11591404C>A	A/A	C
CTC1	*CST Telomere Replication Complex Component 1*	corps	Dyskératose congénitale	Cheveux grisonnants, hyperpigmentation réticulée de la peau	g.2957967A>G	G/G	A
CYP11A1	*Cytochrome P450 Family 11 Subfamily A Member 1*	corps	Maladie d'Addison, congénitale, avec inversion de sexe 46XYI, partielle ou complète	Hyperpigmentation	g.31931605T>C	C/C	T
					g.31943555A>G	G/G	A
DSTYK	*Dual Serine/Threonine And Tyrosine Protein Kinase*	corps	Paraplégie spastique 23	Grisonnement des cheveux prématuré, taches café au lait, hypopigmentation de régions de la peau	g.43919427T>C	C/C	T
ECE1	*Endothelin Converting Enzyme 1*	corps, yeux	Décrit un mutant murin	Souris mutante, mélanocytes manquants au niveau de l'épiderme, de la choroïde et de la glande de Harder	g.15598262T>C	C/C	T
EPG5	*Ectopic P-Granules Autophagy Protein 5 Homolog*	corps, yeux	Syndrome de Vici	Hypopigmentation de la peau et des cheveux; albinisme cutané et oculaire, hypopigmentation rétinienne	g.65629747A>G	G/G	A
					g.65704422G>C	C/C	G
ESCO2	*Establishment Of Sister Chromatid Cohesion N-Acetyltransferase 2*	corps	Syndrome de Roberts (SC phocomelia)	Hyperpigmentation ethypopigmentation de la peau, taches café au lait, cheveux blonds à argentés	g.49224421A>G	G/G	A
FANCE	*FA Complementation Group E*	corps	Anémie de Fanconi	Hyperpigmentation, taches café au lait	g.34399165A>G	G/G	A
					g.34403038G>A	A/A	G
					g34407976C>G	G/G	C
GLI3	*GLI Family Zinc Finger 3*	corps	Décrit un mutant murin	Souris mutante, tache au niveau du ventre, hypopigmentation	g.71354872G>C	C/C	G
HPS4	*HPS4 Biogenesis Of Lysosomal Organelles Complex 3 Subunit 2*	corps, yeux	HPS4, syndrome de Hermansky Pudlak 4	Hypopigmentation de la peau et des cheveux, hypopigmentation de la rétine ; existe aussi un mutant murin	g.26032285T>C	C/C	T
					g.26039398A>G	G/G	A
KITLG	KIT Ligand	corps, yeux	Hyperpigmentation familiale progressive avec ou sans hypopigmentation (FPHH)	Zones de peau hyper- ou hypopigmentées; existent aussi des mutants chez la souris et le poisson-zèbre	g.110891538C>T	T/T	C

KRT14	*Kératine 14*	corps	Syndrom de Naegeli-Franceschetti-Jadassohn, dermatopathie réticulaire	Motif réticulé d'hyperpigmentation dans les deux maladies	g.40137835G>T	T/T	G
LYST	*Lysosomal Trafficking Regulator*	corps, yeux	Syndrome de Chediak-Higashi	Hypopigmentation de la peau, des cheveux et de l'iris; existe aussi un mutant murin	g.13072376G>A	A/A	G
					g.13072862G>A	A/A	G
					g.13072878T>C	C/C	T
					g.13073766A>G	G/G	A
					g.13075763A>G	G/G	A
					g.13076387A>G	G/G	A
					g.13121616A>G	G/G	A
					g.13121841A>G	G/G	A
MCM4	*Minichromosome Maintenance Complex Component 4*	corps	Immunodéficience 54	Hyperpigmentation de la peau	g.1135166G>C	C/C	G
MLH1	*MutL Homolog 1*	corps	*Mismatch repair cancer syndrome*	Hyperpigmentation, taches café au lait, taches de rousseur au pli axillaire	g.154070606G>A	A/A	G
					g.154070777G>A	A/A	G
					g.154070876T>C	C/C	T
NBN	Nirbine	corps	Syndrome de Nimègue	Taches café au lait ou hypopigmentées	g.37511458C>T	T/T	C
PALB2	*Partner And Localizer Of BRCA2*	corps	Anémie de Fanconi	Hyperpigmentation, taches café au lait	g.22477163G>A	A/A	G
PAX3	*Paired box 3*	corps, yeux	Syndrome de Waardenburg 1, 3	Régions hypopigmentées sur la face, le tronc et les membres, mèches, sourcils et cils hypopigmentés, grisonnement prématuré, hétérochromie des iris, iris hypopigmentés ; existe aussi des mutants chez la souris et le poisson-zèbre	g.206375258C>T	T/T	C
PCNT	Pericentrine	corps	*Microcephalic osteodysplastic primordial dwarfism type II*	Hyperpigmentation et hypopigmentation, taches café au lait	g.367842G>T	T/T	G
					g.387378A>G	G/G	A
					g.406781C>T	T/T	C
PMS2	*Repair System Component*	corps	*Mismatch repair cancer syndrome*	Hyperpigmentation, taches café au lait, taches de rousseur au pli axillaire	g.5303771T>C	C/C	T
					g.5303803C>T	T/T	C
POLH	*DNA Polymerase Eta*	corps	Xeroderma pigmentosum	Macules ou taches pigmentées ou dépigmentées ; existe aussi un mutant murin	g.41949305A>G	G/G	A
POMC	*Proopiomelanocortin*	corps	Obésité, maladie d'Addison et cheveux roux due à une déficience en POMC	Peau pâle, cheveux roux ; existent aussi des mutants chez la souris et le poisson-zèbre	g.120796502G>C	C/C	G
					g.120799132G>A	A/A	G
SHROOM2	*Shroom Family Member 2*	corps, yeux	Déficits de pigmentation rétinienne et de la peau chez le Xenope	Déficit de pigmentation rétinienne, problèmes de régulation au niveau de la biogénèse des mélanosomes	g.6756540A>C	C/C	A
					g.6758436G>C	G/G	C
					g.6802061C>A	A/A	C
					g.6802271G>C	C/C	G
TSC1	*TSC Complex Subunit 1*	corps	Sclérose tubéreuse complexe	Hypopigmentation, macules hypomélaniques	g.90541670A>G	G/G	A

Annexe 6 : Liste des gènes présents dans la région candidate

Légende :

Gene stable ID : référence du gène dans la base de données Ensembl.

Gene start (bp) : début du gène (en paires de bases)

Gene end (bp) : fin du gène (en paires de bases)

Gene description : description du gène

Gene name : acronyme du gène

Chr : chromosome

Gene stable ID	Gene start (bp)	Gene end (bp)	Gene description	Gene name	Chr
ENSFCAG00000029750	155001814	155002435			B1
ENSFCAG00000031818	155434727	155558564	trans-2,3-enoyl-CoA reductase like [Source:VGNC Symbol;Acc:VGNC:66060]	TECRL	B1
ENSFCAG00000047788	155727470	155791272			B1
ENSFCAG00000048177	155983188	156034685			B1
ENSFCAG00000035103	156286219	156286335	U5 spliceosomal RNA [Source:RFAM;Acc:RF00020]	U5	B1
ENSFCAG00000042606	156864061	156864167	U6 spliceosomal RNA [Source:RFAM;Acc:RF00026]	U6	B1
ENSFCAG00000051953	156892419	157037544			B1
ENSFCAG00000041992	157112342	157180486			B1
ENSFCAG00000051670	157181068	157194798			B1
ENSFCAG00000038361	157352496	157353307			B1
ENSFCAG00000006176	157453764	157990772	adhesion G protein-coupled receptor L3 [Source:VGNC Symbol;Acc:VGNC:78449]	ADGRL3	B1
ENSFCAG00000051618	158062783	158074350			B1
ENSFCAG00000048235	158172106	158173164			B1
ENSFCAG00000046916	158235244	158251922			B1
ENSFCAG00000042384	158277865	158281732			B1
ENSFCAG00000045424	158282695	158289348			B1
ENSFCAG00000042676	158412421	158418840			B1
ENSFCAG00000042587	158462390	158475650			B1
ENSFCAG00000051055	158830796	158856079			B1
ENSFCAG00000033959	158847924	158848031	U6 spliceosomal RNA [Source:RFAM;Acc:RF00026]	U6	B1
ENSFCAG00000034323	159144093	159144242	Small nucleolar RNA SNORA62/SNORA6 family [Source:RFAM;Acc:RF00091]	SNORA62	B1
ENSFCAG00000040081	159267286	159267401	U5 spliceosomal RNA [Source:RFAM;Acc:RF00020]	U5	B1
ENSFCAG00000039939	159557551	159557652	U6 spliceosomal RNA [Source:RFAM;Acc:RF00026]	U6	B1
ENSFCAG00000044936	159574823	159691044			B1
ENSFCAG00000041183	160193324	160193430	U6 spliceosomal RNA [Source:RFAM;Acc:RF00026]	U6	B1
ENSFCAG00000047547	160381280	160399923			B1
ENSFCAG00000051019	160439732	160516875			B1
ENSFCAG00000053829	160686879	160688235			B1
ENSFCAG00000046668	161078118	161119815			B1
ENSFCAG00000049672	161179898	161180793			B1
ENSFCAG00000042292	161238826	161259375			B1
ENSFCAG00000047897	161494384	161495566			B1
ENSFCAG00000053516	161550520	161570803			B1
ENSFCAG00000049272	161615840	161787229			B1
ENSFCAG00000037605	161642686	161642788	U6 spliceosomal RNA [Source:RFAM;Acc:RF00026]	U6	B1
ENSFCAG00000037972	161741331	161741435	Metazoan signal recognition particle RNA [Source:RFAM;Acc:RF00017]	Metazoa_SRP	B1
ENSFCAG00000049505	161802100	161833749			B1
ENSFCAG00000025634	161873105	161946596	insulin like growth factor binding protein 7 [Source:VGNC Symbol;Acc:VGNC:78514]	IGFBP7	B1
ENSFCAG00000003905	161946571	161988754	RNA polymerase II subunit B [Source:VGNC Symbol;Acc:VGNC:68947]	POLR2B	B1
ENSFCAG00000024100	161989061	162002293	nitric oxide associated 1 [Source:VGNC Symbol;Acc:VGNC:63843]	NOA1	B1
ENSFCAG00000046155	162020236	162102630	RE1 silencing transcription factor [Source:NCBI gene;Acc:101086719]	REST	B1
ENSFCAG00000033400	162042895	162042810	U5 spliceosomal RNA [Source:RFAM;Acc:RF00020]	U5	B1
ENSFCAG00000036073	162122435	162134539	serine peptidase inhibitor, Kazal type 2 [Source:NCBI gene;Acc:101086969]		B1
ENSFCAG00000053078	162224846	162236703			B1
ENSFCAG00000032905	162261913	162269041	HOP homeobox [Source:VGNC Symbol;Acc:VGNC:78509]	HOPX	B1
ENSFCAG00000023281	162299610	162356065	theg spermatid protein like [Source:VGNC Symbol;Acc:VGNC:80017]	THEG	B1
ENSFCAG00000001942	162367530	162385499	ADP ribosylation factor like GTPase 9 [Source:VGNC Symbol;Acc:VGNC:78453]	ARL9	B1
ENSFCAG00000027600	162388994	162416416	signal recognition particle 72 [Source:VGNC Symbol;Acc:VGNC:65685]	SRP72	B1
ENSFCAG00000028186	162424058	162472539	phosphoribosylaminoimidazole carboxylase and phosphoribosylaminoimidazolesuccinocarboxamide synthase [Source:NCBI gene;Acc:101084705]		B1
ENSFCAG00000026916	162450413	162484350	phosphoribosyl pyrophosphate amidotransferase [Source:VGNC Symbol;Acc:VGNC:68979]	PPAT	B1
ENSFCAG00000006574	162497824	162538427	aminoadipate-semialdehyde dehydrogenase [Source:VGNC Symbol;Acc:VGNC:59456]	AASDH	B1
ENSFCAG00000006569	162543788	162684667	KIAA1211 [Source:VGNC Symbol;Acc:VGNC:63093]	KIAA1211	B1
ENSFCAG00000051487	162744617	162823640			B1

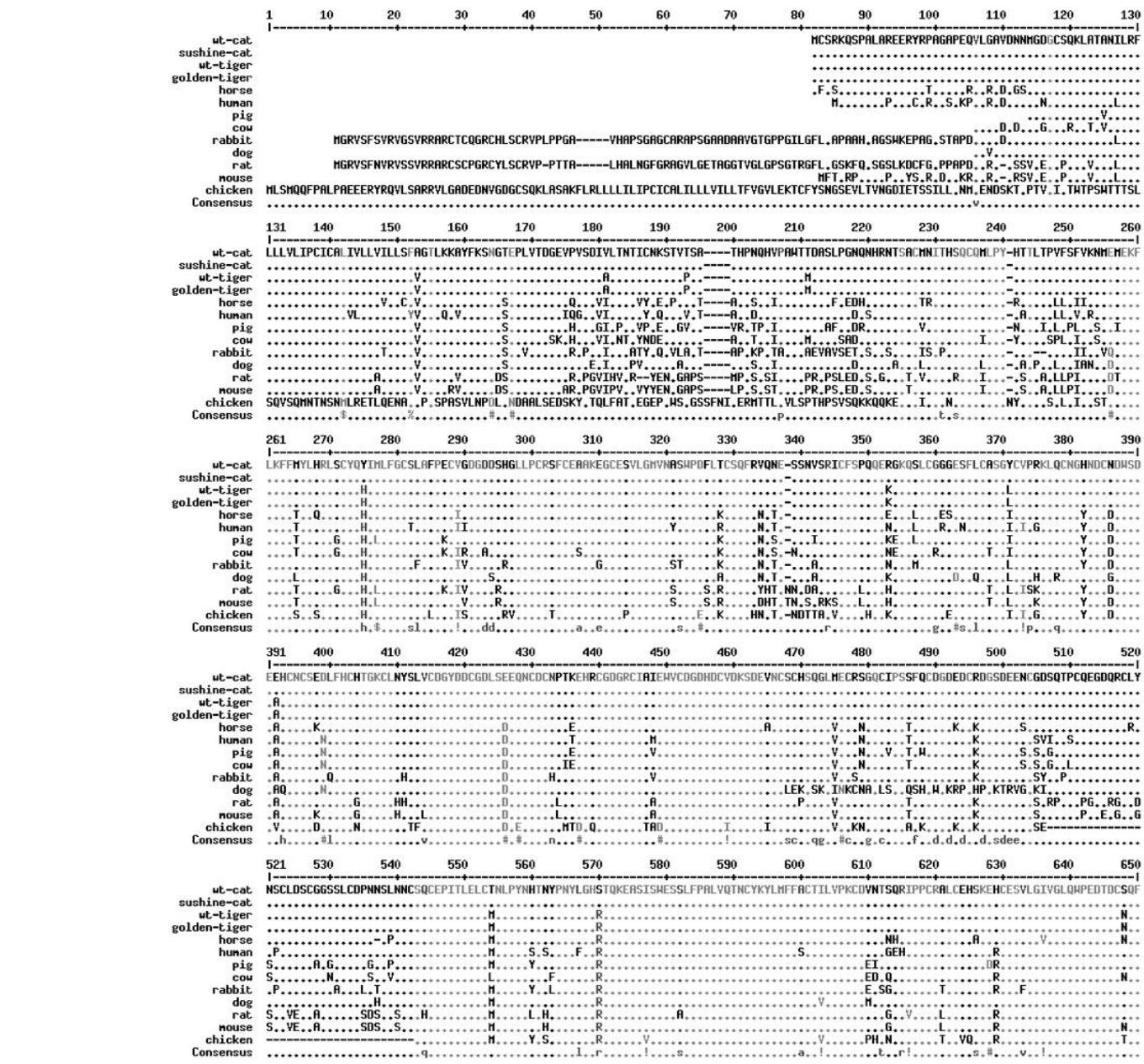
ENSFCAG00000014189	162847451	162917496	centrosomal protein 135 [Source:VGNC Symbol;Acc:VGNC:60768]	CEP135	B1
ENSFCAG00000050445	162915282	162915371	U2 spliceosomal RNA [Source:RFAM;Acc:RF00004]	U2	B1
ENSFCAG00000018823	162950225	163012240	exocyst complex component 1 [Source:VGNC Symbol;Acc:VGNC:78489]	EXOC1	B1
ENSFCAG00000034057	163035195	163051530	exocyst complex component 1-like [Source:NCBI gene;Acc:109499159]	EXOC1L	B1
ENSFCAG00000033933	163069136	163069232	U6 spliceosomal RNA [Source:RFAM;Acc:RF00026]	U6	B1
ENSFCAG00000032413	163120600	163120708	U6 spliceosomal RNA [Source:RFAM;Acc:RF00026]	U6	B1
ENSFCAG00000034809	163222187	163260227	neuromedin U [Source:VGNC Symbol;Acc:VGNC:78536]	NMU	B1
ENSFCAG00000024688	163262483	163298023	phosducin like 2 [Source:VGNC Symbol;Acc:VGNC:64079]	PDCL2	B1
ENSFCAG00000001064	163306317	163429115	clock circadian regulator [Source:VGNC Symbol;Acc:VGNC:60970]	CLOCK	B1
ENSFCAG00000029712	163437829	163465543	transmembrane protein 165 [Source:VGNC Symbol;Acc:VGNC:66288]	TMEM165	B1
ENSFCAG00000028749	163486397	163501116	steroid 5 alpha-reductase 3 [Source:VGNC Symbol;Acc:VGNC:65674]	SRD5A3	B1
ENSFCAG00000047893	163570007	163582904			B1
ENSFCAG00000041744	163602040	163610035			B1
ENSFCAG00000009679	163645097	163694085	kinase insert domain receptor [Source:VGNC Symbol;Acc:VGNC:67936]	KDR	B1
ENSFCAG00000034578	163729513	163729610	U6 spliceosomal RNA [Source:RFAM;Acc:RF00026]	U6	B1
ENSFCAG00000044448	163865222	163877972			B1
ENSFCAG00000003112	163952966	164039337	KIT proto-oncogene, receptor tyrosine kinase [Source:VGNC Symbol;Acc:VGNC:67950]	KIT	B1
ENSFCAG00000047166	164051459	164054427			B1
ENSFCAG00000009141	164396130	164435731	platelet derived growth factor receptor alpha [Source:VGNC Symbol;Acc:VGNC:78545]	PDGFRA	B1
ENSFCAG00000050420	164441876	164442877			B1
ENSFCAG00000024388	164506401	164507445			B1
ENSFCAG00000025271	164538067	164540471	GS homeobox 2 [Source:VGNC Symbol;Acc:VGNC:62733]	GSX2	B1
ENSFCAG00000042399	164544372	164550967			B1
ENSFCAG00000046226	164546351	164565377			B1
ENSFCAG00000045270	164575888	164629420	cysteine rich hydrophobic domain 2 [Source:NCBI gene;Acc:101091277]	CHIC2	B1
ENSFCAG00000046905	164707067	164713018			B1
ENSFCAG00000050892	164756715	164760680			B1
ENSFCAG00000053356	164776694	164821814			B1
ENSFCAG00000037919	164800208	164800361	Small nucleolar RNA SNORA62/SNORA6 family [Source:RFAM;Acc:RF00091]	SNORA62	B1
ENSFCAG00000053718	164881406	164882775			B1
ENSFCAG00000048778	164970238	164974067			B1
ENSFCAG00000007897	164985852	165219014	ligand of numb-protein X 1 [Source:VGNC Symbol;Acc:VGNC:68078]	LNX1	B1
ENSFCAG00000022148	165121372	165200640	factor interacting with PAPOLA and CPSF1 [Source:VGNC Symbol;Acc:VGNC:78498]	FIP1L1	B1
ENSFCAG00000007895	165208440	165613746	sec1 family domain containing 2 [Source:VGNC Symbol;Acc:VGNC:80001]	SCFD2	B1
ENSFCAG00000045595	165620859	165625231	RAS like family 11 member B [Source:NCBI gene;Acc:101093183]	RASL11B	B1
ENSFCAG00000039441	165694075	165694191			B1
ENSFCAG00000042785	165695548	165697284	endogenous retrovirus group MER34 member 1, envelope [Source:NCBI gene;Acc:109491388]	ERVMER34-1	B1
ENSFCAG00000053107	165717706	165720887			B1
ENSFCAG00000041278	165724066	165726688			B1
ENSFCAG00000039603	165725580	165725699			B1
ENSFCAG00000014294	165761362	165819635	ubiquitin specific peptidase 46 [Source:VGNC Symbol;Acc:VGNC:66889]	USP46	B1
ENSFCAG00000050609	166034114	166056728			B1
ENSFCAG00000039233	166058161	166058263	U6 spliceosomal RNA [Source:RFAM;Acc:RF00026]	U6	B1
ENSFCAG00000047230	166058621	166063974			B1
ENSFCAG00000047850	166090464	166092533			B1
ENSFCAG00000006689	166204739	166243478	spermatogenesis associated 18 [Source:VGNC Symbol;Acc:VGNC:80009]	SPATA18	B1
ENSFCAG00000027835	166257158	166274425	sarcoglycan beta [Source:VGNC Symbol;Acc:VGNC:65075]	SGCB	B1
ENSFCAG00000042278	166276294	166299479	leucine rich repeat containing 66 [Source:NCBI gene;Acc:101087575]		B1
ENSFCAG00000023410	166354033	166428228	defective in cullin neddylation 1 domain containing 4 [Source:VGNC Symbol;Acc:VGNC:61383]	DCUN1D4	B1
ENSFCAG00000040001	166449728	166450117			B1
ENSFCAG00000003695	166472928	166530707	cell wall biogenesis 43 C-terminal homolog [Source:VGNC Symbol;Acc:VGNC:61295]	CWH43	B1
ENSFCAG00000027332	166609392	166622390	OCIA domain containing 2 [Source:VGNC Symbol;Acc:VGNC:63947]	OCIAD2	B1
ENSFCAG00000023294	166631075	166657432	OCIA domain containing 1 [Source:VGNC Symbol;Acc:VGNC:63946]	OCIAD1	B1
ENSFCAG00000043440	166664353	166664648			B1

ENSFCAG00000052403	166695415	166696479			B1
ENSFCAG00000005489	166734443	166966042	FRY like transcription coactivator [Source:VGNC Symbol;Acc:VGNC:62371]	FRYL	B1
ENSFCAG00000053823	166933508	166933621			B1
ENSFCAG00000032126	166957021	166957135	U6 spliceosomal RNA [Source:RFAM;Acc:RF00026]	U6	B1
ENSFCAG00000048880	166968063	166970326			B1
ENSFCAG00000025777	166973287	166978056	zygote arrest 1 [Source:VGNC Symbol;Acc:VGNC:80119]	ZAR1	B1
ENSFCAG00000005486	166978710	166985747	solute carrier family 10 member 4 [Source:VGNC Symbol;Acc:VGNC:65183]	SLC10A4	B1
ENSFCAG00000009221	167050131	167121664	SLAIN motif family member 2 [Source:VGNC Symbol;Acc:VGNC:65176]	SLAIN2	B1
ENSFCAG00000048782	167112980	167113751			B1
ENSFCAG00000014348	167224840	167315871	tec protein tyrosine kinase [Source:VGNC Symbol;Acc:VGNC:66057]	TEC	B1
ENSFCAG00000014347	167318596	167382392	TXK tyrosine kinase [Source:VGNC Symbol;Acc:VGNC:66719]	TXK	B1
ENSFCAG00000045081	167369512	167428106	NIPA like domain containing 1 [Source:NCBI gene;Acc:101089608]	NIPAL1	B1
ENSFCAG00000009134	167447993	167482927	cyclic nucleotide gated channel subunit alpha 1 [Source:VGNC Symbol;Acc:VGNC:61011]	CNGA1	B1
ENSFCAG00000031403	167498700	167570098	nuclear transcription factor, X-box binding like 1 [Source:VGNC Symbol;Acc:VGNC:63793]	NFXL1	B1
ENSFCAG00000006125	167578182	167835768	corin, serine peptidase [Source:VGNC Symbol;Acc:VGNC:78471]	CORIN	B1
ENSFCAG00000006122	167839861	167920708	ATPase phospholipid transporting 10D (putative) [Source:NCBI gene;Acc:101097392]	ATP10D	B1
ENSFCAG00000023811	167968905	167982345	COMM domain containing 8 [Source:VGNC Symbol;Acc:VGNC:61077]	COMMD8	B1
ENSFCAG00000007122	168001961	168383118	gamma-aminobutyric acid type A receptor beta1 subunit [Source:VGNC Symbol;Acc:VGNC:62423]	GABRB1	B1
ENSFCAG00000019171	168415147	168481591	gamma-aminobutyric acid type A receptor alpha4 subunit [Source:VGNC Symbol;Acc:VGNC:62420]	GABRA4	B1
ENSFCAG00000039360	168654391	168654630	cytochrome c oxidase subunit 7B2 [Source:VGNC Symbol;Acc:VGNC:78473]	COX7B2	B1
ENSFCAG00000027986	168921515	169041436	gamma-aminobutyric acid type A receptor alpha2 subunit [Source:VGNC Symbol;Acc:VGNC:62418]	GABRA2	B1
ENSFCAG00000034116	169143572	169211090	gamma-aminobutyric acid type A receptor gamma1 subunit [Source:VGNC Symbol;Acc:VGNC:78501]	GABRG1	B1
ENSFCAG00000034336	169438176	169438324	U1 spliceosomal RNA [Source:RFAM;Acc:RF00003]	U1	B1
ENSFCAG00000047539	169884234	169946206			B1
ENSFCAG00000043593	170094318	170151162			B1
ENSFCAG00000028486	170293020	170322486	glucosamine-6-phosphate deaminase 2 [Source:VGNC Symbol;Acc:VGNC:62631]	GNPDA2	B1
ENSFCAG00000028580	170325041	170347641	GUF1 homolog, GTPase [Source:VGNC Symbol;Acc:VGNC:62740]	GUF1	B1
ENSFCAG00000006282	170358790	170394049	Yip1 domain family member 7 [Source:VGNC Symbol;Acc:VGNC:67144]	YIPF7	B1
ENSFCAG00000029885	170488906	170489280			B1
ENSFCAG00000030570	170589687	170845851	potassium channel tetramerization domain containing 8 [Source:VGNC Symbol;Acc:VGNC:78518]	KCTD8	B1
ENSFCAG00000049103	171308010	171309391			B1
ENSFCAG00000049144	171704111	171723175			B1
ENSFCAG00000018569	171751920	171878482	glutaredoxin and cysteine rich domain containing 1 [Source:VGNC Symbol;Acc:VGNC:62723]	GRXCR1	B1
ENSFCAG00000036356	171990790	171991881			B1
ENSFCAG00000015213	172061760	172289239	ATPase phospholipid transporting 8A1 [Source:VGNC Symbol;Acc:VGNC:60027]	ATP8A1	B1
ENSFCAG00000043473	172300095	172305842	shisa family member 3 [Source:NCBI gene;Acc:101092109]	SHISA3	B1
ENSFCAG00000048922	172305903	172309695			B1
ENSFCAG00000033789	172345184	172345284	U6 spliceosomal RNA [Source:RFAM;Acc:RF00026]	U6	B1
ENSFCAG00000044789	172396346	172417461			B1
ENSFCAG00000048800	172448823	172461956			B1
ENSFCAG00000044080	172498566	172530596	BEN domain containing 4 [Source:NCBI gene;Acc:101092606]	BEND4	B1
ENSFCAG00000048604	172531557	172532984			B1
ENSFCAG00000024533	172566207	172650181	solute carrier family 30 member 9 [Source:VGNC Symbol;Acc:VGNC:65315]	SLC30A9	B1
ENSFCAG00000040948	172672446	172693225	transmembrane protein 33 [Source:NCBI gene;Acc:101092851]	TMEM33	B1
ENSFCAG00000050550	172693246	172719206			B1
ENSFCAG00000045230	172854075	172857296	paired like homeobox 2B [Source:NCBI gene;Acc:101093103]	PHOX2B	B1
ENSFCAG00000007444	172919278	173250340	LIM and calponin homology domains 1 [Source:VGNC Symbol;Acc:VGNC:63229]	LIMCH1	B1
ENSFCAG00000025457	173313189	173328206	ubiquitin C-terminal hydrolase L1 [Source:VGNC Symbol;Acc:VGNC:66795]	UCHL1	B1
ENSFCAG00000012843	173442006	173751710	amyloid beta precursor protein binding family B member 2 [Source:VGNC Symbol;Acc:VGNC:67737]	APBB2	B1
ENSFCAG00000012841	173755834	173808546	NOP2/Sun RNA methyltransferase family member 7 [Source:VGNC Symbol;Acc:VGNC:63896]	NSUN7	B1
ENSFCAG00000048980	173810884	173834748			B1
ENSFCAG00000046888	173841063	173841705			B1
ENSFCAG00000051878	173868302	173865062			B1
ENSFCAG00000012399	173905189	174067808	RNA binding motif protein 47 [Source:VGNC Symbol;Acc:VGNC:64535]	RBM47	B1

ENSFCAG00000035547	174122815	174135779	cholinergic receptor nicotinic alpha 9 subunit [Source:VGNC Symbol;Acc:VGNC:78469]	CHRNA9	B1
ENSFCAG00000012394	174208322	174208897	ras homolog family member H [Source:VGNC Symbol;Acc:VGNC:68162]	RHOH	B1
ENSFCAG00000024887	174256333	174356646	NEDD4 binding protein 2 [Source:VGNC Symbol;Acc:VGNC:63702]	N4BP2	B1
ENSFCAG00000037355	174304986	174305092	U6 spliceosomal RNA [Source:RFAM;Acc:RF00026]	U6	B1
ENSFCAG00000003209	174442885	174577888	PDS5 cohesin associated factor A [Source:VGNC Symbol;Acc:VGNC:64097]	PDS5A	B1
ENSFCAG00000033193	174619458	174689802	ubiquitin conjugating enzyme E2 K [Source:VGNC Symbol;Acc:VGNC:80098]	UBE2K	B1
ENSFCAG00000038568	174675118	174675271	U12 minor spliceosomal RNA [Source:RFAM;Acc:RF00007]	U12	B1
ENSFCAG00000024033	174747387	174748389			B1
ENSFCAG00000032694	174797482	174838042	small integral membrane protein 14 [Source:VGNC Symbol;Acc:VGNC:80006]	SMIM14	B1
ENSFCAG00000009600	174862219	174884197	UDP-glucose 6-dehydrogenase [Source:VGNC Symbol;Acc:VGNC:66805]	UGDH	B1
ENSFCAG00000023567	174892812	174907866	lipoic acid synthetase [Source:VGNC Symbol;Acc:VGNC:63227]	LIAS	B1
ENSFCAG00000012284	174908363	174912635	ribosomal protein L9 [Source:VGNC Symbol;Acc:VGNC:79993]	RPL9	B1
ENSFCAG00000026771	174919472	174953922	klotho beta [Source:VGNC Symbol;Acc:VGNC:63126]	KLB	B1
ENSFCAG00000001781	174978996	175063214	replication factor C subunit 1 [Source:VGNC Symbol;Acc:VGNC:69294]	RFC1	B1

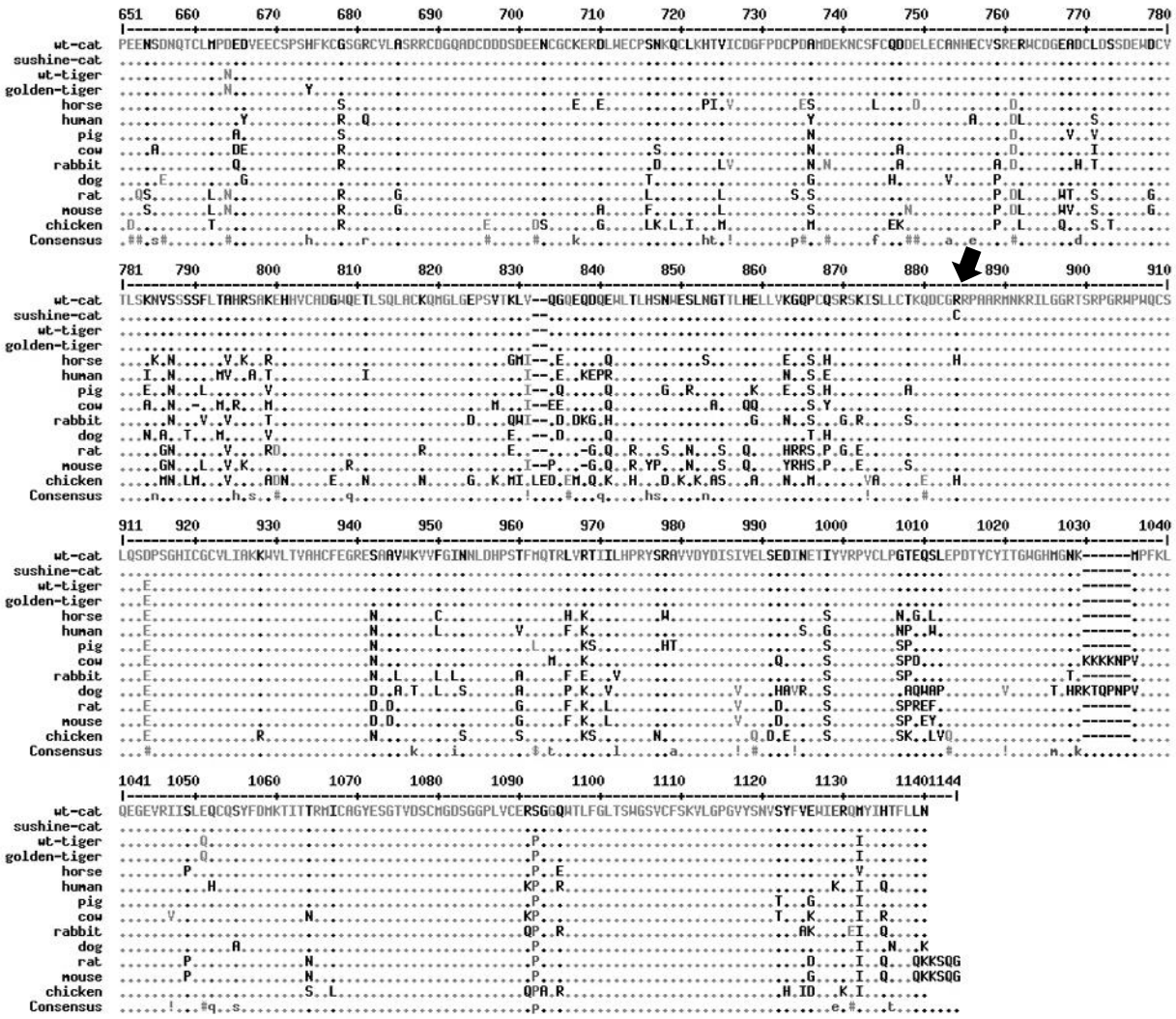
Annexe 7 : Alignement des protéines CORIN chez différentes espèces

Légende, *wt-cat* : chat non sunshine, *sunshine-cat* : chat Sibérien sunshine, *wt-tiger* : tigre non golden, *golden-tiger* : tigre golden, *horse* : cheval, *human* : homme, *pig* : porc, *cow* : vache, *rabbit* : lapin, *dog* : chien, *mouse* : souris, *chicken* : poulet, consensus : séquence consensus. Les points indiquent des acides-aminés identiques. Les traits indiquent les délétions.



Légende, *wt-cat* : chat non sunshine, *sunshine-cat* : chat Sibérien sunshine, *wt-tiger* : tigre non golden, *golden-tiger* : tigre golden, *horse* : cheval, *human* : homme, *pig* : porc, *cow* : vache, *rabbit* : lapin, *dog* : chien, *mouse* : souris, *chicken* : poulet, consensus : séquence consensus. Les points indiquent des acides-aminés identiques. Les traits indiquent les délétions.

L'arginine en position 795 dans la protéine du chat est indiquée par une flèche.



BEAUVOIS Hélène

CARACTÉRISATION D'UNE NOUVELLE COULEUR DE PELAGE CHEZ LE CHAT SIBÉRIEN

Thèse d'Etat de Doctorat Vétérinaire : Lyon, le *13 Novembre 2020*

RESUME :

Dans les décennies passées, de nombreux gènes ont été identifiés comme étant à l'origine de diverses couleurs et patrons de robe dans l'espèce féline. Notre travail a porté sur une modification de la couleur propre à la race de chat Sibérien et appelée sunshine. Nous avons recruté une cohorte de chats Sibérien sunshine et contrôles qui nous a permis de proposer une description phénotypique de la modification sunshine. L'analyse de données généalogiques nous a permis de confirmer le mode de transmission autosomique récessif du sunshine. De plus, à l'aide d'outils et de stratégies de génomique féline actuels, nous avons identifié un variant génétique associé au phénotype sunshine. Ce variant, situé dans un gène candidat majeur, présentait une corrélation génotype-phénotype forte et était associé à une modification de la répartition des pigments eumélaniques et phéomélaniques le long du poil. Ainsi, nous espérons avoir contribué à la caractérisation du phénotype sunshine du chat Sibérien, base préalable à la reconnaissance officielle de cette modification de la couleur, en particulier en France, et ouvert la possibilité à des études complémentaires.

MOTS CLES :

- Sibérien (race féline)
- Génétique Animale
- Mutation (biologie)
- Follicule du poil
- Pigments animaux

JURY :

Président : Monsieur le Professeur Olivier THAUNAT

1er Assesseur : Madame la Professeure Marie ABITBOL
2ème Assesseur : Monsieur le Professeur Philippe BOSSE

DATE DE SOUTENANCE : 13 Novembre 2020