



## **CAMPUS VETERINAIRE DE LYON**

Année 2021 - Thèse n° 067

# ETUDE DE LA CORRELATION GENOTYPE-PHENOTYPE POUR LA PANACHURE DANS L'ESPECE FELINE

# THESE

Présentée à l'Université Claude Bernard Lyon 1 (Médecine – Pharmacie)

Et soutenue publiquement le 15 octobre 2021 Pour obtenir le grade de Docteur Vétérinaire

Par

**ROGGY** Julie







## **CAMPUS VETERINAIRE DE LYON**

Année 2021 - Thèse n° 067

# ETUDE DE LA CORRELATION GENOTYPE-PHENOTYPE POUR LA PANACHURE DANS L'ESPECE FELINE

# THESE

Présentée à l'Université Claude Bernard Lyon 1 (Médecine – Pharmacie)

Et soutenue publiquement le 15 octobre 2021 Pour obtenir le grade de Docteur Vétérinaire

Par

**ROGGY** Julie



#### Liste des Enseignants du Campus Vétérinaire de Lyon (20-05-2021)

ABITBOL ALVES-DE-OLIVEIRA ARCANGIOLI AYRAL BECKER BELLUCO BENAMOU-SMITH BENOIT BERNY BONNET-GARIN BOULOCHER BOURDOISEAU BOURGOIN **BRUY ERE** BUFF BURONFOSSE CACHON CADORÉ CALLAIT-CARDINAL CAROZZO CHABANNE CHALVET-MONFRAY DE BOYER DES ROCHES DELIGNETTE-MULLER DJELOUADJI ESCRIOU FRIKHA GAL TA GILOT-FROMONT GONTHIER GRANCHER GREZEL HUGONNARD JUNOT KODJO KRAFFT LAABERKI LAMBERT LE GRAND LEBLOND LEDOUX I FFFBVRF LEFRANC-POHL LEGROS LEPAGE LOUZIER MARCHAL MOISSONNIER MOSCA MOUNIER PEPIN PIN PONCE PORTIER POUZOT-NEVORET PROUILLAC REMY RENE MARTELLET ROGER SAWAYA SCHRAMME SERGENTET THIEBAULT TORTEREAU VIGUIER ZENNER

Marie Laurent Marie-Anne Florence Claire Sara Agnès Etienne Philippe Jeanne-Marie Caroline Gilles Gilles Pierre Samuel Thierry Thibaut Jean-Luc Marie-Pierre Claude Luc Karine Alice Marie-Laure Zorée Catherine Mohamed-Ridha Wessam Emmanuelle Alain Denis Delphine Marine Stéphane Angeli Emilie Maria-Halima Véronique Dominique Agnès Dorothée Sébastien Anne-Cécile Vincent Olivier Vanessa Thierry Pierre Marion Luc Michel Didier Frédérique Karine Céline Caroline Denise Magalie Thierry Serge Michael Delphine Jean-Jacques Antonin Eric

Lionel

DEPT-BASIC-SCIENCES DEPT-BASIC-SCIENCES DEPT-ELEVAGE-SPV DEPT-ELEVAGE-SPV DEPT-ELEVAGE-SPV DEPT-AC-LOISIR-SPORT DEPT-AC-LOISIR-SPORT DEPT-BASIC-SCIENCES DEPT-BASIC-SCIENCES DEPT-BASIC-SCIENCES DEPT-BASIC-SCIENCES DEPT-ELEVAGE-SPV DEPT-ELEVAGE-SPV DEPT-BASIC-SCIENCES DEPT-BASIC-SCIENCES DEPT-BASIC-SCIENCES DEPT-AC-LOISIR-SPORT DEPT-AC-LOISIR-SPORT DEPT-ELEVAGE-SPV DEPT-AC-LOISIR-SPORT DEPT-AC-LOISIR-SPORT DEPT-BASIC-SCIENCES DEPT-ELEVAGE-SPV DEPT-BASIC-SCIENCES DEPT-ELEVAGE-SPV DEPT-AC-LOISIR-SPORT DEPT-ELEVAGE-SPV DEPT-ELEVAGE-SPV DEPT-ELEVAGE-SPV DEPT-ELEVAGE-SPV DEPT-BASIC-SCIENCES DEPT-BASIC-SCIENCES DEPT-AC-LOISIR-SPORT DEPT-AC-LOISIR-SPORT DEPT-ELEVAGE-SPV DEPT-AC-LOISIR-SPORT DEPT-ELEVAGE-SPV DEPT-BASIC-SCIENCES DEPT-ELEVAGE-SPV DEPT-AC-LOISIR-SPORT DEPT-ELEVAGE-SPV DEPT-BASIC-SCIENCES DEPT-BASIC-SCIENCES DEPT-ELEVAGE-SPV DEPT-AC-LOISIR-SPORT DEPT-BASIC-SCIENCES DEPT-AC-LOISIR-SPORT DEPT-AC-LOISIR-SPORT DEPT-AC-LOISIR-SPORT DEPT-ELEVAGE-SPV DEPT-BASIC-SCIENCES DEPT-AC-LOISIR-SPORT DEPT-AC-LOISIR-SPORT DEPT-AC-LOISIR-SPORT DEPT-AC-LOISIR-SPORT DEPT-BASIC-SCIENCES DEPT-AC-LOISIR-SPORT DEPT-ELEVAGE-SPV DEPT-BASIC-SCIENCES DEPT-BASIC-SCIENCES DEPT-AC-LOISIR-SPORT DEPT-ELEVAGE-SPV DEPT-BASIC-SCIENCES DEPT-AC-LOISIR-SPORT DEPT-AC-LOISIR-SPORT

Professeur Maître de conférences Professeur Maître de conférences Maître de conférences Maître de conférences Maître de conférences Professeur Professeur Professeur Maître de conférences Professeur émérite Maître de conférences Maître de conférences Professeur Professeur Maître de conférences Professeur Maître de conférences Maître de conférences Professeur Professeur Maître de conférences Professeur Maître de conférences Maître de conférences Maître de conférences Maître de conférences Professeur Maître de conférences Maître de conférences Maître de conférences Maître de conférences Professeur Professeur Maître de conférences Maître de conférences Maître de conférences Professeur Professeur Maître de conférences Maître de conférences Maître de conférences Maître de conférences Professeur Professeur Professeur Professeur Maître de conférences Professeur Professeur Professeur Professeur Professeur Maître de conférences Professeur Professeur Maître de conférences Professeur Maître de conférences Professeur Professeur Maître de conférences Maître de conférences Professeur Professeur

DEPT-ELEVAGE-SPV

### REMERCIEMENTS

#### À Monsieur le Professeur Philippe Chevalier,

Pour m'avoir fait l'honneur d'accepter la présidence de mon jury de thèse Sincères remerciements pour votre gentillesse et votre réactivité Tous mes hommages les plus respectueux

### À Madame le Professeur Marie Abitbol,

Pour avoir encadré mon travail avec rigueur et compréhension Merci pour vos conseils et votre bienveillance Merci pour votre investissement tout au long de la rédaction de cette thèse Avec l'expression de toute ma gratitude et de mon profond respect

### À Madame le Docteur Véronique Lambert,

Pour l'intérêt que vous avez porté à ce travail Pour m'avoir fait l'honneur de participer à mon jury de thèse Mes plus sincères remerciements

### Au LOOF et aux éleveurs ayant participé,

Pour m'avoir permis d'étoffer ma partie expérimentale en me communiquant les résultats de leurs chats.

### **TABLE DES MATIERES**

LISTE DES ANNEXES	. 13
LISTE DES FIGURES	. 15
LISTE DES TABLEAUX	. 16
LISTE DES ABREVIATIONS	. 19
INTRODUCTION	. 23
PARTIE I : ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE	. 25
I. Mélanogénèse, mélanocytogénèse et pigmentation	. 27
A. Des cellules de la crête neurale aux mélanocytes	27
1. Crête neurale et CCN	27
2. L'induction des CCN	28
a. Les signaux inducteurs	28
b. Les protéines du destin mélanocytaire	30
c. La transition épithélio-mésenchymateuse	33
3. La migration des CCN	34
a. La prolifération des mélanoblastes	34
b. La survie des mélanoblastes	34
c. Les mécanismes de la migration	35
d. Les voies de migration	38
e. Le passage du derme à l'épiderme	39
4. La différenciation en mélanocytes	40
B. Les mélanocytes, des cellules pigmentaires	42
1. L'organisation des mélanocytes et la pigmentation	42
a. Les mélanocytes, structure et rôle	42
b. Le mélanosome et la synthèse pigmentaire	42
c. Le transport des mélanosomes et leur transfert aux kératinocytes	45
2. Les mélanocytes au sein du système pigmentaire épidermique	47
a. La structure de la peau	47
b. La structure et l'organisation du poil	49
c. Les mélanocytes épidermiques et la pigmentation	52

II.	Les mécanismes moléculaires à l'origine d'un défaut de pigmentation	. 55
Α.	Anomalies de mélanocytogénèse	. 55
	1. Gène KIT (KIT Proto-oncogene, Recepteur Tyrosine Kinase)	. 55
	a. <i>KIT</i> et couleur blanche chez différentes espèces	. 55
	b. KIT, un gène pléiotrope	. 57
	c. Mécanisme moléculaire	. 60
	2. Gène KITL (KIT Ligand)	. 63
	3. Gène MITF (Microphtalmia-Associated Transcription Factor)	. 64
	4. Gène PAX3 (Paired Box 3)	. 66
	5. Gène SOX10 (SRY-Box Transcription Factor 10)	. 67
	6. Gène EDN3 (Endothelin 3)	. 68
	7. Gène EDNRB (Endothelin Receptor type B)	. 68
В.	Anomalies de mélanogénèse	. 69
	1. Gène TYR (Tyrosinase)	. 69
C.	Récapitulatif	.71
III.	Les phénotypes de panachures chez le chat	. 73
А.	Les différentes panachures blanches	. 75
	1. Les gants blancs	. 75
	2. Les panachures blanches de la face	. 76
	3. Le médaillon et le collier	. 78
	4. Le ventre blanc	. 79
	5. Le bout de la queue blanc	. 79
В.	Les différents motifs	. 80
	1. La robe « sans panachure blanche »	.81
	2. Les motifs particolores	. 81
	a. Le motif <i>mitted</i>	.81
	b. Le motif bicolore au sens large	. 82
	c. Le motif arlequin	. 85
	d. Le motif van	. 85
	3. La robe blanche	. 86
C.	La place des panachures dans la nomenclature officielle	. 87
	1. Les races n'acceptant que le « motif » sans panachure	. 87
	2. Le Ragdoll	. 88
	3. Le Snowshoe	. 89
	4. Le Turc du Lac de Van	. 90
IV	La déterminisme génétique de la papachura blanche char la chat	01
۱ <b>۷.</b>	Les modèles historiques	01
А.	1 Lo modèle monogénique à quetre allèles de Whiting	. JT
	Le modèle hi-génique	. JI
D	La modèle actual	. 91 01
D.		. 91

		1.	La localisation des locus W et S	.91
			a. La localisation du locus S, responsable d'un phénotype marqué de blanc	.91
			b. La localisation du locus W, responsable d'un phénotype entièrement blanc	. 92
		2.	L'établissement du modèle monogénique	. 92
			a. L'identification de l'allèle W	. 92
			b. L'identification de l'allèle <i>W</i> <sup>s</sup>	. 93
			c. L'établissement du modèle monogénique tri-allélique	. 95
			d. L'insertion des fragments de rétrovirus	. 95
			e. Le déterminisme des différents grades de panachure	.96
			f. Le cas particulier des gants blancs du Sacré de Birmanie	. 96
P/	٩R.	TIE	E II : ETUDE EXPERIMENTALE	. 99
١.		Pr	résentation de l'étude	101
	A.		Etude de diverses races de chats	101
	Β.		Etude d'une race particulière : le Ragdoll	101
	C.		Hypothèses de départ	102
		1.	Le modèle pour toutes les races	102
		2.	Les modèles pour la race Ragdoll	103
			a. Le modèle monogénique à deux allèles	103
			b. L'hypothèse du nouvel allèle	103
II.		Μ	latériel et méthodes	105
	Α.		Recrutement des chats	105
	Β.		Génotypes	105
	C.		Phénotypes	105
	D.		Pedigrees	106
	Ε.		Analyses statistiques	106
	•	Re	ésultats	107
	Α.		Corrélation génotype-phénotype pour les diverses races	108
	Β.		Corrélation génotype-phénotype chez le Ragdoll	110
	C.		Analyse de la transmission de la panachure chez le Ragdoll	110
		1.	Analyse des données d'une famille de Ragdoll	110
		2.	Analyse globale chez le Ragdoll	112
	D.		Cas particuliers	115
		1.	Une chatte Norvégienne noire et blanche génotypée w <sup>+</sup> /w <sup>+</sup>	115
		2.	Une chatte Devon rex <i>cinnamon</i> et blanc génotypée $w^*/w^*$	117
		3.	Deux frères British shorthair chocolat et blanc, au phénotype semblable pour la	
		pa	anachure mais au génotype différent pour le gène <i>KIT</i>	118
		4.	Une chatte blanche issue d'un parent bicolore et d'un parent sans panachure	119

IV.	Dis	cussion	120
A.	Ρ	anachure chez les diverses races de chats	120
	1.	Biais et limites de l'étude	120
	2.	Panachure, blanc et insertion FERV1 dans les diverses races	120
	3.	Corrélation génotype phénotype dans les diverses races	121
В.	Ρ	anachure chez le Ragdoll	123
	1.	Présence d'une panachure et insertion FERV1 chez le Ragdoll	123
	2.	Corrélation génotype phénotype chez le Ragdoll	123
	а	. Biais et limite de l'étude	123
	b	Nombre d'insertions du FERV1 et étendue de la panachure	123
	3.	Analyse de la transmission de la panachure chez le Ragdoll	124
	а	. Biais et limite de l'étude	124
	b	. Transmission préférentielle d'un motif de panachure chez le Ragdoll	125
	4.	Comment expliquer la transmission préférentielle d'un motif de panachure ch	ez le
	Rag	doll ?	125
	а	. L'hypothèse d'un nouveau gène	125
	b	<ol> <li>L'hypothèse d'un nouvel allèle</li> </ol>	126
	С	. Un allèle W <sup>s</sup> identique dont l'expression est modifiée	126
C.	L	'insertion FERV1, une mutation instable ?	133
	1.	Colonisation du génome par les rétrovirus	133
	2.	Les rétrovirus endogènes, des séquences instables	135
	3.	Une instabilité jouant un rôle important dans l'évolution des espèces	137
	4.	Instabilité de l'insertion FERV1 et nouveaux allèles	137
	а	. Recombinaison homologue entre les LTR de l'insertion FERV1 de W <sup>s</sup> et	
	f	ormation d'un allèle W	137
	b	. L'hypothèse du nouvel allèle chez le Ragdoll mythe ou réalité ?	137
CON	CLU	SION	139
BIBL	IOG	RAPHIE	141
ANN	EXE	S	155

### LISTE DES ANNEXES

### LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Les différents domaines de la crête neurale et leurs dérivés	28
Figure 2 : Induction de la crête neurale et rôle des BMP et de la voie NOTCH	30
Figure 3 : Voie de différenciation des CCN en mélanocytes et rôle de MITF	32
Figure 4 : Mécanisme cellulaire et moléculaire de la migration	36
Figure 5 : Migration des mélanoblastes lors du développement embryonnaire	39
Figure 6 : Schéma simplifié des principaux facteurs impliqués dans la différenciation en	n
mélanocytes et de leurs interactions	41
Figure 7 : Le mélanocyte	43
Figure 8 : La synthèse de l'eumélanine et de la phéomélanine	44
Figure 9 : Le transport centrifuge des mélanosomes et leur transfert aux kératinocytes	46
Figure 10 : La structure du poil	50
Figure 11 : Une unité folliculaire	51
Figure 12 : Localisation des mélanocytes et pigmentation	53
Figure 13 : Phénotypes observés chez la souris lors de mutations de KIT	55
Figure 14 : Expression phénotypique d'une mutation de KIT chez différentes espèces	57
Figure 15 : Panachure et répartition de la couleur chez les chattes écailles de tortue	57
Figure 16 : Statut auditif (en pourcentage) en fonction du génotype chez 71 chats	58
Figure 17 : Structure et mode d'action de C-KIT	61
Figure 18 : Paramètres influençant la colonisation du corps par les mélanoblastes	62
Figure 19 : Influence de la vitesse de prolifération sur la colonisation par les mélanoblastes	s.63
Figure 20 : Epissage alternatif et production de deux isoformes de KIT-L	63
Figure 21 : Exemples de phénotypes de souris portant différentes mutations de MITF	65
Figure 22 : Panachures blanches chez le chien	66
Figure 23 : Phénotype Splashed White chez le cheval	66
Figure 24 : Le patron colourpoint chez le chat, un patron évolutif	69
Figure 25 : Les patrons colourpoint, mink et sépia chez le chat	70
Figure 26 : Principales définitions utilisées pour la nomenclature des robes de chats	73
Figure 27 : Le patron acromélanique <i>colourpoint</i>	74
Figure 28 : Chat noir atteint de vitiligo	75
Figure 29 : La panachure « gants blancs »	76
Figure 30 : Les panachures blanches de la face	77
Figure 31 : Les plages de couleur au niveau de la face dans les robes à panachur	e
envahissante	77
Figure 32 : Les panachures du poitrail	78
Figure 33 : La panachure « ventre blanc »	79
Figure 34 : La panachure « bout de la queue blanc »	79
Figure 35 : Classification par grades de la panachure chez le chat	80
Figure 36 : Le motif « sans panachure blanche »	81
Figure 37 : Le motif <i>mitted</i>	82
Figure 38 : Le motif <i>tuxedo</i>	83
Figure 39 : Le motif bicolore au sens strict	83
Figure 40 : Le motif mask and mantle	84
Figure 41 : Le motif cap and saddle	84
Figure 42 : Le motif arlequin	85

Figure 43 : Le motif van	86
Figure 44 : La robe blanche	86
Figure 45 : Sacré de Birmanie	87
Figure 46 : Ragdoll	89
Figure 47 : Snowshoe	90
Figure 48 : Turc du Lac de Van	90
Figure 49 : Famille F2 et ségrégation de l'allèle W	93
Figure 50 : Identification des allèles W et w <sup>s</sup>	94
Figure 51 : Famille F3 et ségrégation de l'allèle w <sup>s</sup>	94
Figure 52 : Identification de la mutation responsable des gants chez le sacré de Birmanie	97
Figure 53 : Modèle initial pour la corrélation génotype-phénotype, chez toutes les race	S
de chat	102
Figure 54 : Le modèle monogénique à deux allèles pour la panachure du Ragdoll	103
Figure 55 : L'hypothèse du nouvel allèle	104
Figure 56 : Représentation graphique du nombre d'insertions de FERV1 en fonction d	u
grade de panachure, pour des chats de diverses races	108
Figure 57 : Nombre d'insertions du FERV1 en fonction du phénotype, chez 15	2
Ragdoll	110
Figure 58 : Phénotype observé pour les chatons de Floyd de Gailande en fonction d	u
phénotype de la mère	111
Figure 59 : Représentation graphique de l'analyse de croisements chez le Ragdoll	113
Figure 60 : Arbre généalogique de Royina, chatte $w^*/w^*$ marquée de blanc	116
Figure 61 : Parenté de Ozalie, chatte $w^{+}/w^{+}$ marquée de blanc	117
Figure 62 : Deux chats British shorthair issus d'une même portée, au phénotype semblabl	е
pour la panachure, mais au génotype différent pour le gène KIT	118
Figure 63 : Oh My God, chatte blanche née d'une mère sans panachure et d'un pèr	е
bicolore	119
Figure 64 : Corrélation génotype-phénotype pour la panachure chez des chats de diverse	!S
races	122
Figure 65 : Corrélation génotype-phénotype pour la panachure chez le Ragdoll	124
Figure 66 : Corrélation génotype-phénotype sous l'hypothèse de la présence d'un nouve	3
allèle W <sup>sh</sup> chez le Ragdoll	126
Figure 67 : Modulation de la transcription d'un géne par des séquences régulatrices	127
Figure 68 : Recombinaison genetique en fonction de la localisation du locus W et d'un	e
eventuelle sequence regulatrice	129
Figure 69 : Consequences d'une recombinaison entre w et une eventuelle sequenc	e
regulatrice	130
Figure 70 : Influence du locus modificateur PATN1 sur le phénotype de panachure leopar	d
cnez le cneval	131
<b>Figure /1</b> : Schema simplifie des voles de signalisation et des molecules impliquées dan	S
Ta promeration, la survie, la migration et la differenciation des melanocytes ainsi que dan	122
Ta melanocylogenese	132
rigure 12 : La multiplication des retrovirus et l'integration de l'information genetiqu	ש 12∦
virale au genome de la cellule note	134 .r
rigure />: Les unierentes categories de retrovirus endogenes, en fonction de leu	126
CUISEI ValiUII	126
rigure /4. La recombinaison nomologue à l'Origine des LTR isoles	120

### LISTE DES TABLEAUX

### LISTE DES ABREVIATIONS

**ACTH :** Adreno CorticoTropic Hormone

- ADAMTS20 : ADAM Metallopeptidase With Thrombospondin Type 1 Motif 20
- **AP-1**: Adaptator Protein 1
- **AP-3**: Adaptator Protein 3
- ATP : Adénosine Tri-Phosphate
- BCL2 : B-cell Lymphoma 2
- **BLOC :** Biogenesis of Lysosome Related Organelles Complex
- **BMP** : Bone Morphogenetic Protein
- **CCN** : Cellules des Crêtes Neurales
- **CD117** : Cluster of Differenciation 117
- **CDC42** : Cell Division Cycle 42
- **CFTR** : Cystic fibrosis transmembrane conductance regulator
- C-KIT : Récepteur Tyrosine Kinase
- DCT : DOPAchrome Tautomérase
- **DHI** : DiHydroIndole
- **DHICA** : DiHydroxyIndole Carboxylic Acid
- **DOPA**: 3,4-DihydroxyPhenylalanine
- **Dsk :** Dominant Dark Skin
- EDN3 : Endothelin 3
- EDNRB : Endothelin Receptor type B
- Env : Enveloppe
- **ERK :** *Extracellular Signal-Related Kinase*
- **ERV** : Endogenous Retrovirus
- FERV1 : Feline Endogenous Retrovirus Type 1
- **FGF :** *Fibroblast Growth Factor*
- FOX : Forkhead Box Transcription Factor
- FOXD3 : Forkhead-Box Transcription Factor D3
- **Gag** : Group specific antigens
- **GP100 :** Glycoprotéine 100
- **HMG** : *High Mobility Group*
- **KIT** : Proto-Oncogène KIT, Récepteur Tyrosine Kinase
- **KIT-L**: C-KIT Ligand
- LAMPs : Lysosomal-Associated Membrane Proteins
- **LOD** : Logarithm of Odds
- LOOF : Livre Officiel des Origines Félines
- LROs : Lysosomes-Related Organelles
- LTR : Long Terminal Repeat Sequence
- **MAP-KINASES :** *Mitogen-Activated Protein Kinases*

**MEC :** Matrice Extra-Cellulaire

**MEK :** *Mitogen-Activated Kinase* 

**MITF :** *Microphtalmia-Associated Transcription Factor* 

MLPH : Mélanophiline

**M-MITF :** *Microphthalmia-Associated Transcription Factor M* 

MSA : Migratory Staging Area

NF1 : NeuroFibromin

**PAX :** Paired Box

PAX3 : Paired Box 3

**PBS :** Primer binding site

**PCP** : *Planar Cell Polarity* 

**PMEL17** : *Premelanosome Protein* 17

Pol : Polymérase

**RAB27** : Member RAS Oncogene Family 27

RAC1 : RAS-Related C3 Botulinum Toxin Substrate 1

**RC3A** : Récepteur du Facteur du Complément C3A

**REG**: Réticulum Endoplasmique Granuleux

**REL :** Réticulum Endoplasmique Lisse

**RFWD3** : Ring Finger And WD Repeat Domain 3

RHO: RAS Homologous Protein

**RHOA** : RAS Homologous Protein Family Member A

**SCF** : Stem Cell Factor

**SCFR** : Stem Cell Growth Factor Receptor

**SHH** : Sonic Hedgehog

**SNAIL2** : Snail Family Transcriptional Repressor 2

**SNP** : Single Nucléotide Polymorphism

**SOX :** *SRY-Related High-Mobility Group Box* 

**SOX2** : SRY-Related High-Mobility Group Box 2

**SOX9** : SRY-Related High-Mobility Group Box 9

**SOX10** : *SRY-Related High-Mobility Group Box 10* 

**SRY** : Sex-Determining Region of Y Chromosome

STR : Short Tandem Repeats

**TRPM** : Transient Receptor Potential Cation Channel Subfamily M Member 1

**TWIST1** : Twist Family BHLH Transcription Factor 1

TYR: Tyrosinase

**TYRP1 :** *Tyrosinase-Related Protein 1* 

**TYRP2 :** *Tyrosinase-Related Protein 2* 

UV : Ultra-Violet

**U3** : Unique 3'

**U5** : Unique 5'

**WNT** : Wingless-Related Integration Site

WNT3A : Wingless-Related Integration Site 3A

**ZEB**: Zinc Finger E-Box-Binding

**ZEB1 :** Zinc Finger E-Box-Binding Homeobox 1

**ZEB2**: Zinc Finger E-box-Binding Homeobox 2

**ZIC : Z**inc Fingers of the Cerebellum

**ZIC1 : Z**inc Fingers of the Cerebellum Family Member 1

**ZPA** : Zone of Polarizing Activity

**ZRS** : ZPA Regulatory Sequence

**α-MSH** : *α Melanocyte Stimulating Hormone* 

 $\beta$ -CAT :  $\beta$ -Caténine

### **INTRODUCTION**

La pigmentation est le résultat d'un processus complexe de colonisation de l'organisme par des cellules pigmentaires. Ces cellules, issues des cellules des crêtes neurales, subissent de nombreuses transformations induites par des signaux extérieurs et responsables de leur prolifération, migration et différenciation. Elles produisent ensuite des pigments, qui donneront leur couleur aux phanères et à la peau notamment (Silver *et al.*, 2006).

De nombreux gènes sont impliqués dans ce processus de pigmentation et sont donc responsables de modifications de la robe chez de nombreux animaux, lorsqu'ils sont mutés. Chez le chat, la couleur blanche résulte d'un défaut de colonisation de l'organisme par les cellules pigmentaires dans le cas de la panachure blanche et de la robe blanche dominante, ainsi que d'un défaut de production de pigments, chez les chats albinos et *colorpoint* (David *et al.*, 2014 ; Montague *et al.*, 2014 ; Abitbol *et al.*, 2017 ; Imes *et al.*, 2006 ; Lyons *et al.*, 2005).

La panachure chez le chat est très diversifiée et revêt un intérêt à la fois médical (la couleur blanche au niveau des oreilles étant notamment un facteur de risque de surdité et de développement d'un carcinome épidermoïde UV-induit) et esthétique. La connaissance du déterminisme génétique de la panachure est importante pour les éleveurs, car elle leur permet de prédire la robe des chatons en fonction du choix des reproducteurs.

Le modèle actuel de déterminisme de la panachure blanche est un modèle monogénique à quatre allèles localisés au niveau du locus *W*, où siège le gène *KIT* (*KIT Proto-Oncogene, Receptor Tyrosine Kinase ;* David *et al.,* 2014 ; Montague *et al.,* 2014). Suite à la découverte de mutations du gène *KIT*, un test ADN de dépistage des allèles de panachure féline a été commercialisé (David *et al.,* 2014). Il permet aux éleveurs de déterminer le génotype de leurs reproducteurs. Cependant, l'utilisation de ce test par des éleveurs français a rapidement mis en évidence que le modèle de déterminisme génétique de la panachure était incomplet et ne permettait pas d'expliquer la variabilité importante de l'étendue et des motifs de la panachure blanche.

L'objectif de notre travail, réalisé dans le cadre d'une thèse de doctorat vétérinaire, était d'affiner le modèle de transmission de la panachure blanche chez le chat domestique et notamment de caractériser la corrélation entre le génotype (statut génétique pour les allèles du locus *W*) et le phénotype (l'étendue de la panachure). Une partie de notre étude a porté sur des chats de diverses races, tandis qu'une autre partie a été ciblée sur le Ragdoll, une race de chats présentant différents patrons de panachure bien distincts et dans laquelle la robe blanche dominante n'est pas présente.

Dans une première partie bibliographique, nous avons présenté les bases cellulaires et moléculaires de la pigmentation puis de l'absence de pigmentation chez les mammifères, les différents types de panachure décrits chez le chat et le déterminisme génétique de la panachure féline. Dans la seconde partie du manuscrit, nous avons présenté l'étude expérimentale que nous avons menée, afin de caractériser la corrélation génotype-phénotype de la panachure féline. Enfin, nous avons discuté nos résultats et avons proposé des pistes de réflexion pour les expliquer et compléter notre étude.

PARTIE I : ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

### I. Mélanogénèse, mélanocytogénèse et pigmentation

### A. Des cellules de la crête neurale aux mélanocytes

### 1. Crête neurale et CCN

Au cours de l'embryogénèse apparaît un territoire cellulaire particulier : la crête neurale. Il a été montré qu'elle se mettait en place à la frontière entre l'ectoderme non-neural et la plaque neurale, à la fin de la gastrulation et au cours de la neurulation. Les cellules de la crête neurale (CCN), cellules transitoires qui composent la crête neurale, n'existent qu'à l'état embryonnaire. Elles sont caractérisées par leur multipotence et leur capacité de migration. Elles n'appartiennent à aucun des trois feuillets embryonnaires (mésoderme, endoderme et ectoderme) et constituent une unité embryologique à part (Mayor et Theveneau, 2013 ; Lorin, 2018).

Il a été mis en évidence que les CCN étaient à l'origine d'une grande diversité de types cellulaires. Elles peuvent notamment se différencier en mélanocytes, mais également en adipocytes, chondroblastes, ostéoblastes, myocytes, neurones et cellules gliales. Les potentialités de différenciation des CCN dépendent de la région de la crête neurale et donc des signaux inducteurs qu'elles reçoivent (figure 1). Les régions sacrée et vagale donneront essentiellement des cellules composant les ganglions parasympathiques du tube digestif. La région du futur crâne est à l'origine des cellules gliales crâniennes, des neurones et des tissus osseux, cartilagineux et conjonctif de la future tête. La région cardiaque de la crête neurale donne essentiellement le conjonctif des grosses artères et le tissu cartilagineux composant le larynx. Les cellules gliales périphériques et celles composant les futures glandes médullosurrénales sont issues de la crête neurale du tronc. Les mélanocytes en revanche ont la particularité d'être issus de l'ensemble de la crête neurale (Knecht et Bronner-Fraser, 2002).

Il a été mis en évidence que plusieurs étapes étaient essentielles pour obtenir un mélanocyte à partir d'une CCN non différenciée. Les plus importantes, que nous détaillerions par la suite, sont l'induction, la transition épithélio-mésenchymateuse, la prolifération, la migration et la différenciation.





Les cellules de la crête neurale (CCN) sont des cellules multipotentes à l'origine de nombreuses cellules différenciées. Leur destin cellulaire dépend en grande partie de leur emplacement le long de la crête neurale (CN) et donc des signaux inducteurs qu'elles recevront lors de l'embryogénèse. Les mélanocytes ont la particularité d'être issues de CCN réparties tout le long de la crête neurale. Production personnelle, d'après Lorin, 2018.

#### 2. L'induction des CCN

#### a. Les signaux inducteurs

Il a été mis en évidence que la crête neurale commençait à se former dès la fin de la gastrulation et au cours de la neurulation à partir de la plaque neurale. Les bords de cette dernière, les bourrelets neuraux, convergent jusqu'à fermer le tube neural, futur système nerveux central. La crête neurale constitue la structure issue des bourrelets neuraux et représentant le toit du tube neural (Mayor et Theveneau, 2013). Elle s'étend de la partie antérieure de l'embryon (la future tête) à sa partie postérieure (la future queue).

Cette induction se fait via des molécules de signalisation extra-cellulaires, sécrétées par les cellules de l'ectoderme, du neuroépithélium et du mésoderme sous-jacent. Plusieurs familles de gènes ont été particulièrement étudiées car impliquées dans l'induction des CCN : les gènes codant les BMP (*Bone morphogenetic protein*), les gènes de la voie NOTCH (antagonistes des BMP), de la voie WNT (*Wingless-related integration site*) et des FGF (*Fibroblast growth factor*). Les études ont montré que ces facteurs agissaient selon une séquence spatio-temporelle précise et déterminaient l'identité des futures CCN (Douarin *et al.*, 1999 ; Knecht et Bronner-Fraser, 2002).

Il a été montré qu'à la fin de la gastrulation, la notochorde sécrétait des signaux inducteurs tels que la Follilastine, la Chordine ou la Noggine (Huang et Saint-Jeannet, 2004). Ces molécules empêchaient la production des BMP, des facteurs de croissance responsables de l'inhibition de la différenciation des cellules de l'ectoderme en cellules neurale (cette voie de différenciation étant la voie empruntée par défaut par les cellules ectodermiques). En parallèle, des molécules antagonistes des BMP, telles que celles de la voie NOTCH, étaient sécrétées au centre de la plaque neurale (Glavic *et al.*, 2004). On voyait ainsi apparaître un gradient de concentration. En effet, il a été mis en évidence qu'au cœur de la plaque neurale la quantité de BMP était très faible et celle des protéines de signalisation NOTCH élevée, ce qui était à l'origine de la différenciation des cellules de Ce territoire en cellule du tube neural. Plus on s'éloignait du centre et plus la quantité de BMP augmentait, tandis que celle de Notch diminuait. A distance du centre de la plaque neurale, la différenciation en cellules neurales était donc inhibée et les cellules restaient des cellules ectodermiques. Les cellules des bords de la plaque neurale, qui recevaient un taux intermédiaire de ces deux molécules de signalisation devenaient les cellules de la plaque neurale (figure 2).



Figure 2 : Induction de la crête neurale et rôle des BMP et de la voie NOTCH

Lors de l'induction de la crête neurale, les bourrelets neuraux convergent jusqu'à fermer le tube neural. La crête neurale constitue la structure représentant le sommet de ce dernier. Un taux intermédiaire des signaux inducteurs BMP et NOTCH, ainsi que la présence des signaux spécifiques WNT et FGF sont à l'origine de l'induction de la crête neurale. Production personnelle, d'après Mort et al., 2015 ; Simões-Costa et Bronner, 2015.

Les effecteurs des voies WNT et FGF sont des signaux inducteurs spécifiques de la crête neurale. De nombreuses études ont montré leur rôle dans l'induction des CCN (Dunn *et al.*, 2000 ; García-Castro *et al.*, 2002 ; Monsoro-Burq *et al.*, 2003 ; Lewis *et al.*, 2004 ; Huang et Saint-Jeannet, 2004). Ces signaux inducteurs agissaient sur les cellules précurseurs de la crête neurale via l'expression de facteurs de transcription. Ces derniers étaient très variés et répartis en différentes familles : FOX (*Forkhead box*), SNAIL, TWIST, ZEB (*Zinc finger E-box-binding*), SOX (*SRY-related high-mobility group box*), RHO (*RAS homologous protein*), PAX (*Paired box*), ZIC (*zinc fingers of the cerebellum*) par exemple. Ces facteurs de transcription agissaient ensuite en activant ou inhibant soit d'autres facteurs de transcription, soit des gènes effecteurs déterminants dans la voie de différenciation de la cellule.

### b. Les protéines du destin mélanocytaire

*MITF* (*Microphtalmia-associated transcription factor*) est considéré comme le « gène maître » du destin mélanocytaire. Il a été montré chez la souris que des mutations de *MITF* conduisaient à des défauts de pigmentation (souris entièrement blanche, avec des taches blanches ou avec ou couleur diluée, voir partie II). L'isoforme *M-MITF* était un facteur de

transcription spécifique du lignage mélanocytaire, fortement impliqué dans la différenciation des mélanoblastes et notamment dans la mise en place des mélanosomes (Steingrímsson *et al.*, 2004).

Chez la souris, il a été mis en évidence que la transcription de MITF était contrôlée par les facteurs PAX3 (Paired box 3) et SOX10 (SRY-Box transcription factor 10), activés par WNT3A (Wingless-related integration site 3A). Des sites de liaison sur le promoteur de MITF permettaient à PAX3 et SOX10 de venir s'y attacher et d'agir en synergie pour activer sa transcription (Potterf et al., 2000). Cependant, PAX3 et SOX10 étaient également responsables de la différenciation des cellules gliales. Il a été mis en évidence que deux facteurs de transcription avaient un rôle prépondérant dans ce mécanisme en inhibant la transcription de MITF : FOXD3 (Forkhead-box transcription factor D3) et SOX2 (SRY-related high-mobility group box 2). Il a été montré que FOXD3 était capable de se fixer sur PAX3 et donc de l'empêcher d'activer la transcription de MITF (Thomas et Erickson, 2009). SOX2, en revanche, agissait en se fixant directement sur le promoteur de MITF et en inhibant son expression. Ainsi, en présence de PAX3 et SOX10 uniquement, une CCN se différenciait en mélanoblaste, tandis que la présence supplémentaire de FOXD3 ou SOX2 conduisait à la différenciation de la CCN en cellule gliale. Des expériences ont ainsi montré que la délétion de SOX2 ou de FOXD3 menait à une différenciation accrue en mélanocytes, aux dépends des cellules gliales. A l'inverse, une surexpression de SOX2 ou de FOXD3 conduisait à une absence de mélanocytes (figure 3), (Kos et al., 2001 ; Adameyko et al., 2012). L'activation ou non de FOXD3 et SOX2 n'est pas encore parfaitement élucidée. Il semblerait que l'expression de FOXD3 soit initialement activée par ZIC1 (zinc fingers of the cerebellum family member 1) et PAX3 puis maintenue par SNAIL2 (Snail Family Transcriptional Repressor 2) et SOX9 (SRY-related high-mobility group box 9). Un autre mécanisme de contrôle de la différenciation en mélanoblaste ou en cellule gliale existerait. Il s'agirait d'un rétrocontrôle par M-MITF. Une fois activé, ce dernier inhiberait SNAIL2, FOXD3, SOX9 et SOX2, ce qui renforcerait la différenciation de la cellule en mélanoblaste (Adameyko et al., 2012).



### Figure 3 : Voie de différenciation des CCN en mélanocytes et rôle de MITF

PAX3 et SOX10, dont la transcription est contrôlée par les WNT, NOTCH et FGF, sont responsables de la différenciation des CCN en mélanocytes mais aussi en cellules gliales. C'est la présence de FOXD3 et SOX2 qui est déterminante. Ces derniers sont en effet capables d'inhiber l'expression de M-MITF, un gène du destin mélanocytaire et donc d'induire la différenciation en cellule gliale et non pas en mélanocyte.

Production personnelle, d'après Thomas et Erickson, 2009 ; Adameyko et al., 2012 ; Kos et al., 2001.

Il a été montré que le récepteur tyrosine kinase C-KIT était le second marqueur précoce de la détermination du lignage mélanocytaire. Cette protéine est aussi connue sous le nom de SCFR (*Stem cell growth factor receptor*), proto-oncogène C-KIT ou CD117 (*Cluster of differenciation 117*). Cette protéine, exprimée dès le début de la neurulation, est également une molécule clé du destin mélanocytaire. Luo et ses collaborateurs (Luo *et al.*, 2003) ont montré que les CCN exprimant le récepteur tyrosine kinase C-KIT se différenciaient invariablement en

mélanoblastes. Il a également été montré que chez le chat, une altération de l'expression de C-KIT avait pour conséquence un phénotype marqué de blanc (David *et al.*, 2014, voir souspartie II de la partie bibliographique). Le ligand de C-KIT est un facteur de croissance appelé KIT-L (C-KIT ligand) ou SCF (*Stem Cell Factor*). Cette protéine s'exprime sous deux formes : une protéine libre soluble produite par le dermatome dorsal et une protéine exprimée à la surface des kératinocytes de l'épiderme. L'interaction entre C-KIT et son ligand conduit à l'activation du récepteur et de son activité kinase. C-KIT phosphoryle et active ainsi d'autres molécules de transduction du signal. La cascade de signalisation, induite par la fixation de KIT-L, aboutit finalement à une réponse moléculaire adaptée, comprenant essentiellement la traduction et l'expression de protéines effectrices.

M-MITF et C-KIT interagissent de manière complexe. Il a été montré que M-MITF était nécessaire à l'expression de C-KIT dans les mélanoblastes (Opdecamp *et al.*, 1997). En parallèle, Hou *et al.* (Hou *et al.*, 2000) ont montré que C-KIT régulait la stabilité et l'activité de M-MITF.

### c. La transition épithélio-mésenchymateuse

Il a été mis en évidence que les différents facteurs de transcription, activés par les signaux inducteurs (voies des WNT, FGF, NOTCH), étaient également responsables de la transition épithélio-mésenchymateuse, via l'activation de gènes effecteurs. Ce phénomène regroupe la délamination des CCN, c'est-à-dire leur désolidarisation du neuroépithélium, ainsi que l'acquisition de leurs capacités migratoires.

D'une part, ces facteurs de transcription, notamment SNAIL, FOXD3, TWIST1 (*Twist Family BHLH Transcription Factor 1*), ZEB1 et ZEB2 (respectivement *Zinc finger E-box-binding homeobox 1* et 2), (Mayor et Theveneau, 2013 ; Lamouille *et al.*, 2014), inhibaient l'expression des molécules d'adhérence, en particulier les E-cadhérines, mais également les occludines et claudines qui formaient les jonctions serrées, ainsi que les desmoplakines, qui constituaient les desmosomes. Cela avait pour conséquence de faire perdre aux CCN les jonctions cellulaires les liant les unes aux autres et donc de leur permettre de se détacher du neuroépithélium. C'est la délamination.

D'autre part, des cascades d'activation complexes entraînaient l'expression de petites GTPases RHO qui clivaient le réseau d'actine et permettaient sa réorganisation. Les CCN passaient ainsi d'une polarisation apico-basale à une polarisation avant-arrière, avec présence de lamellipodes et filopodes sur leur partie antérieure. De plus, d'autres petites GTPases initiaient la mise en place de nouvelles structures d'adhérences, ce qui permettait ensuite aux CCN de s'ancrer sur la MEC (matrice extra-cellulaire) et de se déplacer (Lamouille *et al.*, 2014 ; Theveneau et David, 2014).

De plus, ces facteurs de transcription permettaient l'expression de gènes effecteurs spécifiques des différentes populations engendrées par les CCN. Il y avait notamment la mise en place de protéines de surface, capables d'interagir avec la MEC et ainsi de guider la CCN lors de sa migration.

A l'issue de la transition épithélio-mésenchymateuse, les CCN avaient donc acquis l'ensemble de leurs propriétés migratoires.

### 3. La migration des CCN

### a. La prolifération des mélanoblastes

Une fois la transition épithélio-mésenchymateuse effectuée, il a été mis en évidence que les mélanoblastes migraient dans une zone appelée MSA (*Migratory staging area*). Cette zone, aussi appelée « Aire de pause de migration », était située à proximité du tube neural, entre l'épiderme et les somites (Domingues *et al.*, 2013). Les mélanoblastes y proliféraient, avant d'entreprendre la suite de leur migration. Des études chez la souris ont en effet montré qu'entre le dixième et le quinzième jour d'embryogénèse, le nombre de mélanoblastes dans la région dorsale du tronc passait de moins de 100 à environ 20 000 (Luciani *et al.*, 2011). Cette prolifération se faisait sous le contrôle de molécules inductrices sécrétées par le micro-environnement. Mackenzie et son équipe ont montré que C-KIT était nécessaire à la prolifération des mélanoblastes (Mackenzie *et al.*, 1997). M-MITF ainsi que d'autres facteurs de transcription entraient également en jeu dans le contrôle de la multiplication des mélanoblastes (Cichorek *et al.*, 2013). Ces derniers entreprenaient ensuite leur migration.

### b. La survie des mélanoblastes

L'apoptose, ou mort cellulaire programmée, est un mécanisme déterminant dans le développement embryonnaire et donc dans la mélanocytogénèse. L'apoptose conduit à la fragmentation progressive de la cellule et à sa dégradation en corps apoptotiques. Différents signaux peuvent induire une apoptose : la présence d'un stress, de signaux membranaires ou nucléaires ou au contraire la disparition d'un signal de survie. C'est ce dernier mécanisme qui est prédominant lors de l'embryogénèse. Ainsi, il a été montré que la présence de certaines molécules était requise afin de maintenir intacte la population de mélanoblastes (Brill *et al.*, 1999). Plusieurs molécules agissaient ainsi de manière coordonnée pour moduler l'apoptose des mélanoblastes, notamment M-MITF, C-KIT, KIT-L, ADAMTS20 (*ADAM Metallopeptidase With Thrombospondin Type 1 Motif 20*) et BCL2 (*B-cell lymphoma 2*).

La métalloprotéase ADAMTS20 a un rôle dans la survie des mélanoblastes. En effet, des souris mutées pour le gène ADAMTS20 présentaient un phénotype marqué d'un ventre blanc. Une
expérience de marquage des mélanoblastes a permis de montrer qu'une déficience en ADAMTS20 conduisait à une réduction du nombre de mélanoblastes au cours de leur migration (Silver *et al.*, 2008). Au vu des connaissances actuelles, il semblerait qu'ADAMTS20 agisse sur la voie de signalisation KIT, en permettant l'interaction entre C-KIT et KIT-L. Steel et ses collaborateurs (1992) ont de plus montré que la présence de C-KIT et donc la voie de signalisation induite par la réception de KIT-L, était nécessaire à la survie des mélanoblastes.

Le facteur de transcription M-MITF, spécifique des mélanoblastes, était également nécessaire à la survie des mélanoblastes. Si ses actions anti-apoptotiques n'ont pas été entièrement élucidées, il semblerait que son rôle d'activation de la transcription et de maintenance sur KIT soit déterminant pour la survie des mélanoblastes (McGill *et al.*, 2002).

*BCL2* est un gène anti-apoptotique fortement exprimé dans les mélanoblastes et mélanocytes. Il a été montré qu'il était nécessaire à leur survie au cours de l'embryogénèse mais également à celle des mélanocytes après la naissance de l'individu (Mak *et al.*, 2006). Il a été mis en évidence que M-MITF était capable de contrôler l'expression de *BCL2* en se liant à son promoteur et en régulant sa transcription. McGill *et al.* (2002) ont ainsi montré qu'une baisse de la quantité de M-MITF conduisait à une augmentation de la transcription de *BCL2* et donc à un maintien de la population de mélanoblastes.

#### c. Les mécanismes de la migration

#### • Les mécanismes cellulaires de la migration

Des études ont mis en évidence que la migration des CCN (figure 4) reposait sur une polarisation avant-arrière. Celle-ci est essentiellement assurée par des petites RHO-GTPases dont les plus étudiées ont été RAC1 (*RAS-related C3 botulinum toxin substrate 1*), CDC42 (*Cell division cycle 42*) et RHOA (*RAS homologous protein family member A*). Ces protéines contrôlaient la dynamique du cytosquelette d'actine. A l'avant de la cellule, RAC1 et CDC42 induisaient la formation d'extensions cytoplasmiques rétractiles appelées pseudopodes. Ces derniers étaient de deux types : on trouvait des structures larges, les lamellipodes et des filopodes, de petites structures fines situées à l'extrémité des lamellipodes (Mattila et Lappalainen, 2008).

Des structures d'adhérences, composées de protéines transmembranaires interagissant avec le cytosquelette ont également été mises en place au niveau de ces protrusions. Il s'agissait ici d'intégrines qui étaient à l'origine d'adhérences focales entre le mélanoblaste et la MEC.

Le déplacement était ensuite assuré par les contractions du cytosquelette d'actine, contrôlées par RHOA qui induisait la formation de fibres de stress à l'origine de la contractilité du cytosquelette. Ces fibres de stress étaient composées de deux fibres d'actine antiparallèles et d'un filament de myosine capable de faire coulisser ces deux fibres l'une par rapport à l'autre. Ainsi, l'arrière de la cellule, libre, était tiré vers l'avant. Le front de la cellule constituait un point fixe, puisqu'il était maintenu immobile par les structures d'adhérence (Mattila et Lappalainen, 2008 ; Lamouille *et al.*, 2014 ; Theveneau et David, 2014).

L'enchainement de ces cycles composés de la protrusion, de l'adhésion et de la rétraction permettait ainsi le déplacement de la cellule au sein de son environnement.





Lors de la protrusion, la CCN forme des lamellipodes et des filopodes. Vient ensuite l'adhérence, lors de laquelle des adhérences focales vont se former au bout des filopodes, entre la CCN et la MEC, constituant un point fixe. La cellule va ensuite s'avancer vers ce point fixe lors de la rétraction, grâce aux contractions de ses fibres de stress, constituées de fibres d'actine et de filaments de myosine faisant glisser ces dernières les unes par rapport aux autres.

Production personnelle, d'après Lamouille et al., 2014 ; Mattila et Lappalainen, 2008 ; Theveneau et David, 2014.

#### • Le phénomène d'inhibition de contact

Des expériences *in vivo* sur des CCN de xénope ont mis en évidence un phénomène d'inhibition de contact (Carmona-Fontaine *et al.*, 2008). En effet, le contact entre deux CCN induisait la voie WNT/PCP (*Planar cell polarity*) responsable de l'activation de la GTPase RHOA. Cela entrainait la rétractation des structures migratoires (lamellipodes et filopodes) et donc l'arrêt de la migration des CCN. Ces dernières se repolarisaient et repartaient dans le sens opposé (Theveneau, 2012). Ce mécanisme avait pour conséquence de favoriser la dispersion des cellules dans les zones où leur densité était la plus faible. En revanche, il ne modifiait pas

significativement la répartition des mélanoblastes à l'échelle de l'individu. Il a été montré que pour des distances supérieures à 28µm (soit l'échelle d'une cellule), l'espacement des cellules n'était pas significativement différent de celui obtenu dans une répartition aléatoire (Mort *et al.*, 2016).

## • Le phénomène d'attraction réciproque

Cependant, il a été mis en évidence que les CCN restaient globalement groupées lors de leur migration, ce qui montrait qu'un mécanisme autre que l'inhibition de contact entrait en jeu. En effet, des études chez le poulet ont montré que les cellules s'éloignant du flux migratoire y revenaient ensuite inéluctablement (Theveneau, 2012). De même, des CCN isolées en arrière de ce flux migraient systématiquement en direction de ce dernier, même si des territoires permissifs leur autorisaient des directions différentes. Il a ainsi été montré l'existence d'un phénomène d'attraction réciproque (Carmona-Fontaine et al., 2008 ; Theveneau, 2012). Les CCN sécrétaient le facteur du complément C3A et exprimaient, à leur surface, le récepteur RC3A (récepteur au facteur du complément C3A). L'interaction C3A-RC3A permettait, via une cascade de réaction, l'activation de RAC1. Celle-ci favorisait à son tour la formation de protrusions à la surface de la cellule et donc la polarisation puis la migration dans la direction de l'interaction. Ainsi, dans les zones de faible densité cellulaire, les interactions entre cellules se réduisaient de plus en plus, tout comme l'effet de l'inhibition de contact. Les cellules marginales se dépolarisaient donc peu à peu. Lors de l'interaction avec un facteur du complément C3A produit par les cellules du flux migratoire, ces cellulaires isolées se repolarisaient et repartaient en direction de la zone de densité cellulaire élevée (Theveneau, 2012).

#### • Les voies de signalisation

La migration des futurs mélanoblastes fait appel à de nombreuses interactions de type ligandrécepteur. Ceux-ci contrôlent la mobilité de la cellule en induisant des modifications du cytosquelette ainsi que l'expression des protéines d'adhérence à la MEC, notamment des intégrines et cadhérines, très versatiles. Nous nous intéresserons plus particulièrement aux couples C-KIT/KIT-L et EDN3/EDNRB (respectivement Endothelin 3 et *Endothelin Receptor type B* ainsi qu'à  $\beta$ -CAT ( $\beta$ -caténine).

Il a été montré que le récepteur C-KIT était nécessaire à l'induction des mélanoblastes mais également à leur survie, à leur migration et à leur prolifération (Lamoreux *et al.*, 2010). Chez la souris, il a été montré que l'interaction avec le ligand exprimé à la surface des kératinocytes était absolument nécessaire pour la migration des mélanocytes dans le derme et dans l'épiderme, en régulant leur survie et leur adhésion (Tabone-Eglinger *et al.*, 2012).

Les mélanoblastes exprimaient également à leur surface le récepteur EDNRB. Celui-ci a comme ligands les endothélines 1,2 et 3. L'EDN3, exprimée par l'ectoderme, a un rôle de guide des mélanoblastes lors de la migration. En effet, il a été montré que l'interaction EDN3/EDNRB était impliquée dans la dernière partie de la migration des mélanoblastes (Lee *et al.*, 2003).

La protéine  $\beta$ -CAT a également un rôle dans la migration des mélanoblastes. Luciani et son équipe (Luciani *et al.*, 2011) ont montré que des souris n'exprimant pas  $\beta$ -CAT présentaient un phénotype entièrement blanc, tandis que les souris de la lignée sauvage étaient noires. En revanche, les souris surexprimant  $\beta$ -CAT étaient grise, ce qui montrait un effet-dose de la  $\beta$ -CAT. Celle-ci agissait en interagissant avec les cadhérines, formant des liaisons focales contrôlant l'adhérence des mélanoblastes et donc leur mobilité.

MITF a également été impliqué dans la migration des mélanoblastes. Il avait notamment un rôle indirect d'activation de l'expression de C-KIT et du gène de la  $\beta$ -CAT (Hou *et al.*, 2000 ; Luciani *et al.*, 2011).

## d. Les voies de migration

Des études ont mis en évidence que, tout en continuant de proliférer, les mélanoblastes entamaient, à partir du 10ème jour embryonnaire chez la souris, leur migration en direction de la partie ventrale de l'embryon. Cette migration était initiée selon un gradient temporel rostro-caudal (Domingues *et al.*, 2013).

Deux voies de migration ont été distinguées : la voie dorso-latérale et la voie ventrale.

## • La voie dorso-latérale

La voie dorso-latérale correspond à la voie de migration de la première vague de mélanoblastes. Ceux-ci se dirigent latéralement, depuis le futur dos de l'embryon, en direction de la partie ventrale. Le trajet migratoire passe entre les somites et le futur épiderme (figure 5).

#### • La dédifférenciation des précurseurs des cellules de Schwann et la voie ventrale

Comme décrit au paragraphe I.A.1. de la partie bibliographique, les mélanocytes et cellules gliales proviennent d'une CCN précurseur bipotente commune. Ce sont les signaux inducteurs reçus par la cellule qui définissent sa différenciation en mélanoblaste ou en précurseur des cellules gliales. Cependant, il a été démontré qu'une dédifférenciation avait également lieu.

En effet, par des expériences de marquage chez la souris, Adameyko et ses collaborateurs (Adameyko *et al.*, 2009) ont montré que les mélanoblastes issus de la migration dorsale n'atteignaient jamais la région ventrale de l'embryon. Ils ont de plus mis en évidence

l'existence d'une deuxième vague de mélanoblastes, se différenciant à proximité de la partie distale de nerfs spinaux. Après marquage des précurseurs des cellules nerveuses, ces mélanoblastes étaient marqués, au même titre que les cellules nerveuses. Cette expérience a donc montré que certains mélanoblastes avaient pour origine des précurseurs des cellules nerveuses. Ces mélanoblastes de la deuxième vague ont donc suivi une migration ventrale. (figure 5). Cette dernière leur permettait d'atteindre les futurs dos et flancs mais également les futurs membres et ventre, ce que ne pouvaient faire les mélanoblastes issus de la migration dorso-latérale.



Figure 5 : Migration des mélanoblastes lors du développement embryonnaire

Les mélanoblastes sont issus de deux voies de migration : la voie dorsale, directe et la voie ventrale. Les mélanoblastes provenant de cette deuxième voie sont issus des cellules nerveuses composant les nerfs spinaux, après dédifférenciation.

Production personnelle, d'après Adameyko et al., 2009 ; Mort et al., 2015.

#### e. Le passage du derme à l'épiderme

Il a été montré que la migration le long de la voie dorso-latérale ou de la voie ventrale permettait aux mélanoblastes de coloniser l'ensemble de l'organisme. Mais ils devaient ensuite passer dans l'épiderme où ils se différenciaient en mélanocytes. Ils migraient du derme, composé d'un tissu conjonctif dense et fibro-élastique vers l'épiderme, un épithélium pluristratifié constitué en majorité de précurseurs des kératinocytes.

Nishimura et son équipe (1999) ont montré que les E-cadhérines, inhibées depuis la transition épithélio-mésenchymateuse, étaient exprimées fortement lors du passage dans l'épiderme.

Elles formaient des jonctions adhérentes entre les mélanoblastes et les kératinocytes de l'épiderme, leur permettant ainsi de se déplacer entre ces derniers. Le mécanisme de migration était similaire à celui de la migration dermique. Le mélanoblaste commençait par déployer des pseudopodes au niveau de sa partie antérieure. Il formait ensuite des jonctions adhérentes avec le support (les kératinocytes) grâce aux E-cadhérines, puis il rétractait son cytosquelette pour se regrouper et s'avancer jusqu'à son point fixe. Il recommençait ensuite ce même cycle jusqu'à arriver à sa destination finale.

Tous les mélanoblastes ne migraient pas dans l'épiderme, une partie restait dans le derme et assurait la suite de la colonisation de l'organisme. Luciani et ses collaborateurs (2011) ont montré que, malgré leur multiplication intense, le nombre de mélanoblastes du derme restait inchangé. Ils ont ainsi montré que ces divisions cellulaires étaient asymétriques : à chaque division, une cellule fille quittait le derme pour migrer dans l'épiderme. Cependant, ce passage était également soumis à un autre mécanisme de contrôle. Il a en effet été montré que chez des souris mutées appelées *Dsk (Dominant dark skin*) et présentant un nombre très important de mélanoblastes dermiques, la colonisation de l'épiderme par ces derniers n'était pas supérieure à celle des souris non mutées. En effet, les souris *Dsk* et les souris présentant un génotype sauvage présentaient la même quantité de mélanoblastes épidermiques (Raamsdonk *et al.*, 2004).

## 4. La différenciation en mélanocytes

La différenciation en mélanocyte se caractérise par l'obtention d'une cellule différenciée à partir d'une cellule pluripotente, la CCN. Cette différenciation repose sur l'acquisition de caractères spécifiques des mélanocytes, notamment les mélanosomes (les organites où se produit la synthèse des pigments) et les dendrites. Cependant, tous les mélanoblastes ne se différencient pas en mélanocytes lors de l'embryogénèse. Ainsi, certains restent sous forme indifférenciée. C'est le cas des mélanoblastes migrant dans le bulge des follicules pileux : ils forment une réserve de cellules souches mélanocytaires (voir paragraphe I.B.2.c de la partie bibliographique), (Pascucci *et al.*, 2006 ; Tanimura *et al.*, 2011).

Comme les autres étapes de la mélanocytogénèse, la différenciation en mélanocytes repose sur l'expression de gènes spécifiques, régulée essentiellement par des signaux envoyés par le territoire embryonnaire adjacent.

Ainsi, des facteurs génétiques et épigénétiques très variés contrôlent la différenciation en mélanoblastes. On peut citer notamment l' $\alpha$ -MSH ( $\alpha$  melanocyte stimulating hormone) mais également l'ACTH (*Adreno corticotropic hormone*) ainsi que certaines hormones sexuelles, comme les œstrogènes ou la progestérone. Après la naissance, certains facteurs environnementaux, notamment les rayons ultra-violets, ont également une action sur la différenciation en mélanocyte (Hirobe, 2011).

Les gènes impliqués dans la différenciation en mélanocytes sont extrêmement nombreux et loin d'être tous connus. Nous nous restreindrons donc aux plus documentés, notamment chez la souris, organisme modèle : *MITF, KIT, DCT (DOPAchrome tautomérase), TRP1 (Tyrosinase-related protein 1), TYR* (Tyrosinase), ainsi que ceux codant les facteurs de transcription les régulant (notamment *SOX10, SOX2, PAX3* et *FOXD3*). Nous avons vu l'importance de M-MITF et de C-KIT dans l'induction des mélanoblastes et leur rôle dans l'orientation de la CCN vers un destin de mélanocyte. Ce sont donc des acteurs précoces de la différenciation mélanocytaire. Cette dernière commence très tôt et se poursuit tout au long de la migration des mélanocytes jusqu'à l'épiderme. L'enzyme DCT, aussi appelée TYRP2, est un autre acteur de la différenciation en mélanocyte, produit peu de temps après le début de la migration, sous le contrôle de M-MITF et de SOX10 (figure 6). TYR et TYRP1 sont produits à la fin de la migration (Silver *et al.*, 2006).

TYR, DCP et TYRP1 sont trois enzymes clés de la synthèse de pigments. Il a été montré que la protéine TYR était activée indirectement par l' $\alpha$ -MSH. Elle catalyse les deux premières étapes de la transformation de la tyrosine en eumélanine, tandis que DCP et TYRP1 catalysent des réactions plus tardives (voir paragraphe I.B.1.b de la partie bibliographique). En présence de cystéine, ces étapes peuvent être modifiées et conduire à la production de phéomélanine, un autre pigment mélanique (voir paragraphe I.B.1.b de la partie bibliographique). Il a été montré que DCT jouait également un rôle dans la détoxification du mélanocyte, en régulant la présence d'intermédiaires toxiques (Guyonneau *et al.*, 2004).



## <u>Figure 6 :</u> Schéma simplifié des principaux facteurs impliqués dans la différenciation en mélanocytes et de leurs interactions

Les gènes TYRP1, DCT, ainsi que les facteurs de transcription M-MITF, C-KIT et ceux les régulant (PAX3, SOX10, SOX2 et FOXD3) sont très fortement impliqués dans la différenciation en mélanocytes. Flèche : action d'activation, T : action de répression.

Production personnelle, d'après Adameyko et al., 2012 ; Guyonneau et al., 2004 ; Kos et al., 2001 ; Silver et al., 2006.

## B. Les mélanocytes, des cellules pigmentaires

## 1. L'organisation des mélanocytes et la pigmentation

## a. Les mélanocytes, structure et rôle

Il a été montré qu'au cours de la leur différenciation, les mélanocytes (figure 7) se déformaient afin de générer des protrusions cytoplasmiques appelées dendrites, faisant d'eux des cellules dendritiques. Ils acquéraient également des organites spécialisés : les mélanosomes, où était produit la mélanine. Ils perdaient en revanche une partie de leurs appareils de Golgi ainsi que de leurs REG (réticulum endoplasmique granuleux) tandis que le nombre de REL (réticulum endoplasmique lisse) et de mitochondries restait constant dans le cytosol (Hirobe, 1995)

La mélanine produite par les mélanocytes a plusieurs rôles. Elle permet principalement une protection contre les rayons ultra-violets. On peut rappeler ici la prédisposition forte des chats blancs (ne possédant donc pas de mélanine épidermique) aux carcinomes épidermoïdes UV-induits. Il a été mis en évidence que ces individus présentaient en effet 14 fois plus de risques de développer cette tumeur que les chats pigmentés (Bensignor *et al.*, 2014). La mélanine a également pour effet de colorer le pelage, permettant ainsi aux félins de se camoufler lors de la chasse. Chez notre chat domestique, le rôle esthétique de la coloration du pelage est également très important.

## b. Le mélanosome et la synthèse pigmentaire

#### • Le mélanosome, un organite spécialisé

Les mélanosomes appartiennent à une famille d'organite spécialisés, les LROs (*Lysosomes-related organelles*), ils contiennent en effet des hydrolases acides et des marqueurs de la membrane lysosomale, ou LAMPs (*lysosomal-associated membrane proteins*). Ils possèdent également la voie d'endocytose et leur pH est acide. Ce sont les organites de la fabrication et du stockage de la mélanine. Ils peuvent être de deux types : les phéomélanosomes, responsables de la synthèse de phéomélanine et les eumélanosomes, où est fabriquée l'eumélanine.

On distingue quatre stades de maturation des mélanosomes coexistant au sein des mélanocytes. Les mélanosomes des stades I et II sont dits « prémélanosomes ». ils sont caractérisés par la présence de vésicules intraluminales et d'un réseau fibrillaire organisé, ainsi que par l'absence de pigment. Les stades III et IV correspondent aux stades de fabrication et d'accumulation de la mélanine. Au fur et à mesure de leur maturation, les mélanosomes migrent de manière centrifuge, vers l'extrémité des dendrites (figure 7), (Delevoye *et al.*, 2011; Démarchez, 2019).



#### Figure 7 : Le mélanocyte

Le mélanocyte est une cellule dendritique se caractérisant par la présence de mélanosomes. Ces derniers peuvent être classés selon quatre stades de maturation, migrant de manière centrifuge. N = noyau; REL: Reticulum endoplasmique lisse; REG: Reticulum endoplasmique granuleux; M = mitochondrie; G = appareil de Golgi.

Production personnelle, d'après Delevoye et al., 2011 ; Démarchez, 2019 ; T. Hirobe, 1995.

#### • Les prémélanosomes et l'acquisition du protéome nécessaire à la synthèse de pigments

Le stade I de la maturation des mélanosomes est caractérisé par le passage d'un endosome précurseur à un prémélanosome possédant un réseau intraluminal de structures fibrillaires organisées. Ce réseau fibrillaire repose essentiellement sur la protéine PMEL17 (Premelanosome protein 17) appelée aussi GP100 (Glycoprotéine 100), une protéine transmembranaire présente dans la membrane des endosomes précurseurs. Au cours du stade I, les molécules de PMEL17 sont regroupées puis séquestrées dans des vésicules intra-luminales. Elles sont ensuite clivées puis s'auto-assemblent pour former des fibres amyloïdes caractéristiques des prémélanosomes et supports du stockage de la mélanine (Delevoye *et al.*, 2011).

Les prémélanosomes de stade II ont une forme ovale, dite « en ballon de rugby », due à la présence de ce réseau intraluminal fibrillaire. Ce stade correspond à l'acquisition des enzymes nécessaires à la synthèse de pigments : TYR, TYRP1 et DCT. Ces enzymes sont regroupées dans les endosomes, séquestrées dans une vésicule qui transite jusqu'au prémélanosome, avant de fusionner avec ce dernier. Ce transport est fortement régulé, notamment grâce aux adaptateurs AP-1 et AP-3 (*respectivement adaptator protein 1 et 3*) et aux complexes BLOC (*biogenesis of lysosome related organelles complex*). A la fin du stade II, les prémélanosomes possèdent le protéome nécessaire à la synthèse de la mélanine (Delevoye *et al.*, 2011).

#### • Les mélanosomes de stade III et IV et la synthèse pigmentaire

La synthèse et l'accumulation de mélanine se fait au cours des stades III et IV de la maturation des mélanosomes. Deux sortes de mélanine peuvent être produites, en fonction du type de mélanosome. L'eumélanine ou « mélanine vraie », de couleur brun-noir, est un polymère hétérogène de DHI (*Dihydroindole*) et de DHICA (*Dihydroxyindole carboxylic acid*). La phéomélanine, en revanche, est de couleur jaune-rouge et est principalement composée de dérivés benzothiazine contenant du soufre (Démarchez, 2019).

La synthèse de mélanine (figure 8) se fait à partir de tyrosine, un composé exogène fourni par le sang. Elle met également en jeu l'enzyme TYR qui catalyse les premières réactions de la synthèse de la mélanine. Les enzymes DCT et TYRP1 sont ensuite requises pour la formation d'eumélanine, tandis que la synthèse de phéomélanine nécessite de la cystéine, un composé soufré (Delevoye *et al.*, 2011).





DOPA = 3,4-dihydroxyphénylalanine ; DHI = Dihydroindole ; DHICA = Dihydroxyindole carboxylic acid Production personnelle, d'après Delevoye et al., 2011 ; Démarchez, 2019.

Le stade IV de maturation conduit à l'obtention d'un mélanosome saturé en mélanine, prêt à être transféré aux cellules voisines, dans son intégralité. Le mélanosome a en effet un rôle de séquestration, non seulement du pigment mais aussi des résidus oxygénés libérés lors de la synthèse de ce dernier (Delevoye *et al.*, 2011).

#### c. Le transport des mélanosomes et leur transfert aux kératinocytes

Il a été montré qu'au cours de leur maturation, les mélanocytes migraient de manière centrifuge (figure 7), vers la région distale des dendrites du mélanocyte. Il a été mis en évidence que ce transport était permis par le réseau de microtubules des dendrites et la kinésine (figure 9), (Hara *et al.*, 2000). Ce moteur moléculaire était capable d'interagir avec le mélanosome ainsi qu'avec un microtubule et de glisser le long de celui-ci, ce qui avait pour effet de déplacer le mélanosome. Le transport par la kinésine permettait de déplacer ces organites de la région péri-nucléaire à la moitié distale de la dendrite (Hara *et al.*, 2000 ; Bahadoran *et al.*, 2002 ; Delevoye *et al.*, 2011).

Le mélanosome était ensuite pris en charge par la myosine Va, un autre moteur moléculaire (figure 9). Il a en effet été montré que des souris homozygotes mutées pour le gène codant cette protéine présentaient un défaut de distribution périphérique des mélanosomes (Bahadoran *et al.*, 2002). La myosine interagissait, via son extrémité C-terminale, avec le mélanosome et via son extrémité N-terminale, avec les filaments d'actine. Il a de plus été montré que RAB27 (*Member RAS oncogene family 27*), une protéine de la famille des petites GTPases RAS était impliqué dans ce transport (Bahadoran *et al.*, 2001). Cette molécule permettait en effet le recrutement de la myosine Va sur le mélanosome. Une autre protéine était nécessaire à la fixation de la myosine Va sur le mélanosome : la MLPH (mélanophiline). Il se formait ainsi un complexe RAB27-MLPH-myosine Va, permettant la fixation du mélanosome et son déplacement le long des fibres d'actine jusqu'à l'extrémité distale des dendrites ou le long des bords latéraux (Bahadoran *et al.*, 2002 ; Delevoye *et al.*, 2011).

Une fois acheminés à l'extrémité des dendrites, il a été montré que les mélanosomes étaient transférés aux cellules voisines, les kératinocytes. Le mécanisme exact de ce transfert est encore inconnu, bien que plusieurs modèles aient été envisagés (figure 9). Le premier modèle proposait un transfert de type cytocrine : le mélanocyte déployait des protrusions, les filopodes contenant les mélanosomes. Les filopodes étaient ensuite phagocytés par les kératinocytes (Riley, 1997 ; Scott *et al.*, 2002). Dans le deuxième modèle, le mélanocyte créait des protrusions qui s'étendaient jusqu'aux kératinocytes, formant ainsi des conduits dans lesquels les mélanosomes s'engageaient avant de gagner le cytoplasme des kératinocytes. Dans le troisième modèle proposé, le mélanocyte libérait des vésicules contenant les mélanosomes étaient ensuite phagocytés par les mélanosomes. Ces vésicules étaient ensuite phagocytées par le kératinocyte. Dans le dernier modèle, les pigments des mélanosomes étaient exocytés dans le milieu intracellulaires puis phagocytés par les kératinocytes (Wu et Hammer, 2014)



#### Figure 9 : Le transport centrifuge des mélanosomes et leur transfert aux kératinocytes

Le transport des mélanosomes à l'extrémité des dendrites se fait en deux phases. Ils sont d'abord pris en charge par la kinésine, qui évolue le long des microtubules (1) puis par le complexe myosine Va -RAB27 – MLPH (2). Une fois à l'extrémité de la dendrite, les mélanosomes, ou seulement les pigments qu'ils contiennent, sont transférés aux kératinocytes selon un mécanisme encore inconnu. Les quatre modèles actuels sont présentés ici (3). M = mélanocyte ; N = noyau ; D = dendrite ; K = kératinocyte Production personnelle, d'après Hara et al., 2000 ; Bahadoran et al., 2001 ; Delevoye et al., 2011 ; Wu et Hammer, 2014.

Une fois le transport et le transfert achevés, les mélanosomes résident au sein des kératinocytes, principaux constituants de la peau et des poils.

#### 2. Les mélanocytes au sein du système pigmentaire épidermique

#### a. La structure de la peau

#### • Présentation et rôle de la peau

La peau est l'organe le plus étendu de l'organisme, couvrant la quasi-totalité de l'animal. Elle représente une interface entre le corps et le milieu extérieur. Cette enveloppe externe possède de nombreux rôles. On peut citer notamment la protection contre la dessication, contre les agressions mécaniques (chocs, frottements, morsures), contre les agressions physiques (notamment les rayons ultra-violets), les agressions biologiques telles que la pollution ou la présence de caustiques ainsi que contre les agressions biologiques, comme les bactéries ou les agents fongiques. La peau joue également un rôle dans la communication inter-individuelle, via la sécrétion d'odeurs et le hérissement du poil, ainsi que dans la perception sensorielle mécanique et thermique. Elle permet aussi la synthèse de vitamine D, sous l'action des rayons ultra-violets. La peau, par le biais du pelage, a également un rôle esthétique important (Miller *et al.*, 2013 ; Bensignor et Vidémont, 2016).

La peau est composée de trois couches superposées. De la plus profonde à la plus superficielle, on trouve l'hypoderme, le derme et l'épiderme.

#### • L'hypoderme

L'hypoderme est, selon les auteurs, considéré ou non comme une couche de la peau. Il s'agit d'un tissu conjonctif lâche riche en adipocytes, des cellules dérivées des fibroblastes et spécialisées dans le stockage de la graisse. L'hypoderme assure un rôle d'amortissement, de protection thermique, de réserve graisseuse et d'interface entre la peau à proprement parler et les structures sous-jacentes. Il abrite également des fibres nerveuses, des vaisseaux sanguins et lymphatiques, ainsi qu'une partie des corpuscules de Pacini de la peau, qui sont des mécanorécepteurs (Miller *et al.*, 2013).

#### • Le derme

Le derme est situé entre l'hypoderme et l'épiderme. C'est un tissu assurant les rôles de soutien, de réserve et de nutrition de l'épiderme. Il est essentiellement constitué d'une MEC composée d'eau, de protéoglycanes et d'acide hyaluronique. On retrouve également des protéines, notamment des fibres de collagène qui assurent la résistance de la peau, de l'élastine qui lui donnent sa souplesse et son élasticité et de la fibronectine qui permet sa cohésion et son adhérence avec l'épiderme et l'hypoderme. Le derme contient également des cellules, essentiellement des fibroblastes et des cellules du système immunitaire (lymphocytes, macrophages et mastocytes). On y trouve également des terminaisons

nerveuses et des vaisseaux sanguins et lymphatiques (Bensignor et Vidémont, 2016; Albanese, 2017).

Le derme est séparé de l'épiderme par la jonction dermo-épidermique, ou membrane basale épidermique. Il s'agit d'une structure très fine et extrêmement adhésive aux structures qui l'entourent. Elle est composée de quatre épaisseurs. La couche la plus profonde de la jonction dermo-épidermique, la zone fibrillaire, est constituée de fibres de collagène qui permettent l'adhérence au derme. On trouve ensuite la *lamina densa*, zone d'ancrage à la fois pour les fibres dermiques et épidermiques. Un peu plus superficiellement se trouve la *lamina lucida*, constituée elle aussi de fibres d'ancrages. La dernière épaisseur est constituée par la membrane plasmique des cellules les plus profondes de l'épiderme, celles de la couche basale. Ces cellules, représentées en majorité par des kératinocytes, mais également par quelques mélanocytes et cellules de Merkel, sont solidement fixées à la *lamina lucida* via des structures d'adhérence. Les kératinocytes notamment présentent des hémidesmosomes permettant un ancrage fort avec la couche sous-jacente. La jonction dermo-épidermique joue ainsi un rôle fondamental d'adhérence entre le derme et l'épiderme. Mais elle présente également une fonction de contrôle des échanges entre ces deux structures, ainsi que de support de la migration des kératinocytes (Breitkreutz *et al.*, 2009 ; Démarchez, 2015).

#### • L'épiderme

L'épiderme est la structure la plus superficielle de la peau. C'est également la plus mince : elle est 10 à 40 fois plus fine que le derme, selon la zone étudiée (Bensignor et Vidémont, 2016). C'est un épithélium stratifié, composé de quatre couches. La plus profonde, faisant le lien avec la jonction dermo-épidermique, est la couche basale. Elle assure la production des kératinocytes des couches sus-jacentes. Superficiellement à la couche basale, se trouve la couche spineuse, ou couche de Malpighi. On trouve ensuite la couche granuleuse puis la couche cornée (Miller *et al.*, 2013 ; Bensignor et Vidémont, 2016).

Les cellules les plus nombreuses composant l'épiderme sont les kératinocytes (95 % environ). Ils sont produits au niveau de la couche basale et migrent ensuite vers la surface en se différenciant. Ainsi, plus ils sont superficiels et plus ils sont plats et chargés en kératine. Cette migration vers la surface prend environ 22 jours chez l'Homme (H. Rhodes et H.Werner, 2018). Une fois celle-ci achevée, ils meurent et desquament. Les kératinocytes présentent des structures d'adhérence, les desmosomes et sont empilés de manière très dense ce qui permet d'assurer en grande partie les fonctions de protection et de semi-imperméabilité de la peau.

D'autres cellules sont présentes dans l'épiderme, en quantités bien plus faibles. On trouve notamment les mélanocytes qui ont essentiellement un rôle de protection contre les UV. Il y a également des cellules de Langherans qui ont un rôle de reconnaissance des agents pathogènes dans la réponse immunitaire. On trouve aussi des structures nerveuses, telles que les terminaisons nerveuses libres ou les terminaisons nerveuses du complexe de Merkel, responsables de la sensibilité tactile, douloureuse et thermique (Albanese, 2017).

## b. La structure et l'organisation du poil

#### • La structure du poil

Les poils sont des structures issues de l'épiderme. Ils sont présents chez le chat sur la quasitotalité de la peau, à l'exception des jonctions avec les muqueuses, des coussinets et du nez. D'un point de vue embryonnaire, les follicules pileux proviennent à la fois du mésoderme et de l'ectoderme. Les poils sont formés dans les follicules pileux, diverticules prenant naissance dans l'épiderme et se prolongeant dans le derme.

La base du follicule pileux s'appelle le bulbe. Cette région renferme la racine du poil, la papille dermique et la matrice pilaire. La matrice est responsable de la formation du poil ainsi que des gaines épithéliales interne et externe, qui constituent les parois du follicule pileux. Un renflement de ces gaines, dans la partie profonde du follicule pilaire, constitue le bulge, renflement à la base du muscle arrecteur du poil. Cette région n'a pas été observée chez le chat mais a été décrite chez l'Homme, la souris et le chien (Pascucci *et al.*, 2006 ; Tanimura *et al.*, 2011). La papille dermique, un amas de MEC riche en facteurs de croissance, est située sous la matrice pilaire et contrôle la croissance du poil. Ce dernier est formé de la racine et de la tige et sort en partie de la surface de l'épiderme par l'infandibulum (ou orifice folliculaire). Il est constitué de cellules kératinisées organisées de manière concentrique : la couche la plus interne est la medulla, constituée d'une alternance d'air et de cellules faiblement kératinisées et pigmentées. Autour de la medulla, on trouve le cortex, constitué de cellules mortes fortement kératinisées et pigmentées, responsables de la pigmentation du poil. Le cortex est entouré par la cuticule, un empilement de cellules mortes transparentes kératinisées (figure 10), (Dréno, 2009 ; Mélissopoulos et Levacher, 2012 ; Behrendt *et al.*, 2012).

Les glandes sébacées sont des structures associées aux follicules pileux. Ce sont des glandes responsables de la production de sébum, une sécrétion riche en acides gras. Cette substance recouvre la couche cornée superficielle ainsi que les poils et leur confère souplesse, résistance et protection antibactérienne et antifongique. On compte une ou plusieurs glandes sébacées par follicule pileux (Miller *et al.*, 2013 ; Bensignor et Vidémont, 2016).

Le muscle arrecteur est une autre structure attenante au follicule pileux. Il est tendu dans le grand angle formé par le follicule pileux et la surface cutanée et permet ainsi la piloérection lors de sa contraction. Chez le chat, cela joue un rôle dans la régulation thermique, ainsi que dans les interactions sociales (Bensignor et Vidémont, 2016).



#### Figure 10 : La structure du poil

Production personnelle, d'après Dréno, 2009 ; Mélissopoulos et Levacher, 2012.

#### • Le cycle pilaire

Il a été montré que le cycle pilaire était organisé en trois phases. La première, la phase anagène, est la phase de croissance durant laquelle le bulbe a une activité kératogène. Elle est suivie de la phase catagène, caractérisée par la résorption du follicule pileux. La phase télogène est une phase de repos, le poil est maintenu en place mais n'évolue pas. Lors de la phase anagène suivante, un nouveau poil croît et fait tomber l'ancien. Chez les carnivores domestiques, ce cycle dure environ six mois (Dréno, 2009 ; Bensignor et Vidémont, 2016).

#### • Les différents types de poils et leur organisation

On distingue, chez le chat, trois types de poils. Le poil de jarre et le poil de garde sont deux catégories de poils primaires, les plus longs, localisés dans les follicules primaires. Les follicules secondaires contiennent les poils secondaires, plus courts, constituant le duvet de l'animal. Ces follicules sont organisés en unités folliculaires, constituées d'un follicule primaire central principal contenant un poil de jarre, autour duquel sont présents deux à cinq follicules primaires plus petits contenant des poils de garde. Ils sont eux-mêmes entourés de six à 12 follicules secondaires, abritant chacun un poil de duvet. Chaque unité folliculaire contient 12 à 20 poils sortant d'un même infandibulum (figure 11). On parvient donc à une densité pilaire très importante chez le chat, avec entre 600 et 1800 poils par cm2 de pelage. Chez les chats au poil court, représentant le phénotype sauvage, les poils de jarre mesurent en moyenne 4,5cm. Les chats à poils longs, en revanche, ont des poils mesurant jusqu'à 15 cm (Bensignor et Vidémont, 2016). Certaines races présentent cependant des exceptions. Le Devon Rex par exemple, possède des poils primaires. Le phénotype Rex est caractérisé par des poils crantés ou ondulés (Bensignor et Vidémont, 2016).



Figure 11 : Une unité folliculaire

Chez le chat, les poils sont organisés en unités folliculaires, composées d'un poil primaire de jarre, de deux à cinq poils primaires de garde et de six à 12 poils secondaires (duvet). Production personnelle, d'après Bensignor et Vidémont, 2016.

Outre les poils primaires et secondaires, les chats possèdent des poils spécialisés : les vibrisses et les tylotriches. Les vibrisses sont des poils très longs et rigides, présents au niveau des pâtons (où ils sont organisés en quatre rangées) de la joue et des paupières supérieures. On trouve également trois à quatre vibrisses au niveau des carpes. Ce sont des mécanorécepteurs

très importants pour la vie sociale et les déplacements du chat. Leur structure est similaire à celle du poil, à quelques exceptions près. On y trouve un sinus sanguin entourant la gaine épithéliale externe sur les ¾ de la surface, lui-même délimité par un plexus sensoriel. Les poils tylotriches, disséminés dans le pelage, ont également un rôle dans la sensibilité tactile du chat (Bensignor et Vidémont, 2016).

## c. Les mélanocytes épidermiques et la pigmentation

## • La localisation et l'organisation des mélanocytes épidermiques

Les mélanocytes sont présents essentiellement dans la peau, mais également dans l'œil (au niveau de la choroïde et de l'iris), dans l'oreille interne, le cœur, le cerveau ainsi qu'au niveau de certaines muqueuses. Cependant, nous nous intéresserons uniquement ici aux mélanocytes cutanés. Ces derniers sont répartis dans différentes régions de l'épiderme : certains migrent dans les follicules pileux, dans le bulge ou dans la papille dermique, tandis que d'autres restent dans la couche basale de l'épiderme (figure 12). Les mélanoblastes présents dans le derme lors de l'embryogénèse ont tous disparus à la naissance (Démarchez, 2019).

Il a été montré qu'une population de mélanocytes était localisée dans la couche basale de l'épiderme et était responsable de la pigmentation de la peau. Chez l'Homme, les mélanocytes épidermiques représentaient 10 % des cellules de la couche basale, les autres cellules étant des kératinocytes. (Cichorek *et al.*, 2013). Il a été mis en évidence que les individus à peau claire et à peau foncée avaient la même proportion de mélanocytes. C'était leur activité et le type de mélanine produit qui était à l'origine d'une différence de pigmentation. (Démarchez, 2019)

Il a été montré chez la souris qu'une autre partie des mélanocytes investissait les follicules pileux. Certains rejoignaient ensuite la matrice pilaire et étaient à l'origine de la pigmentation des poils : ils proliféraient et produisaient des pigments lors de la phase anagène du cycle pilaire, c'est-à-dire lors de la croissance du poil. (Cichorek *et al.*, 2013 ; Slominski *et al.*, 2005). D'autres mélanocytes se situaient dans le bulge des follicules pileux. Ils étaient incomplètement différenciés et constituaient donc une réserve de cellules souches mélanocytaires. Ces cellules souches restaient quiescentes durant la phase télogène du cycle pileux. En revanche, lorsque le poil entrait en phase anagène, une partie de ces cellules proliféraient et se différenciaient en mélanocytes, produisant alors des pigments. Une fois en phase catagène, les mélanocytaires quiescentes (Lee et Fisher, 2014).



#### Figure 12 : Localisation des mélanocytes et pigmentation

Les mélanocytes sont répartis dans la couche basale de l'épiderme et dans le follicule pileux. Ils sont organisés en unités de mélanisation. Ils fournissent des mélanosomes aux kératinocytes adjacents. Au sein de la tige pilaire, les mélanosomes sont essentiellement répartis dans le cortex, à l'origine de la coloration du poil. Des cellules souches mélanocytaires restent quiescentes dans le bulge du follicule pileux.

Production personnelle, d'après Behrendt et al., 2012 ; Cichorek et al., 2013 ; Démarchez, 2019 ; Miller et al., 2013 ; Nordlund, 2007 et Slominski et al., 2005.

#### • La pigmentation de la peau et des poils

Il a été montré que les mélanocytes de la couche basale de l'épiderme étaient organisés en unités épidermiques de mélanisation, comprenant un mélanocyte et 30 à 40 kératinocytes. Le contact entre les kératinocytes et le mélanocyte était permis par les dendrites de ce dernier. Le mélanocyte pouvait ainsi transférer des mélanosomes à tous les kératinocytes de son unité et ainsi engendrer une pigmentation homogène de la peau (Nordlund, 2007 ; Cichorek *et al.*,

2013). Les mélanosomes se répartissaient au pôle apical des kératinocytes. Ils formaient une coiffe au-dessus du noyau, le protégeant efficacement des rayons solaires mutagènes (Miller *et al.*, 2013).

Il a été mis en évidence que les mélanocytes des follicules pileux étaient organisés en unités mélanocytaires folliculaires, comprenant un mélanocyte pour cinq kératinocytes du bulbe pileux. En revanche, les mélanocytes du follicule sont plus grands que ceux de l'épiderme, avec des dendrites plus longues. Ils produisent également des mélanosomes plus gros et qui ne s'agglutinent pas, contrairement à ceux des mélanocytes de l'épiderme. Les kératinocytes des unités mélanocytaires folliculaires sont à l'origine des cellules constitutives du futur poil. Si les cellules de la médulla et du cortex contiennent des mélanosomes, ce sont celles du cortex, beaucoup plus chargées, qui sont responsables de la pigmentation du poil (figure 12), (Slominski *et al.*, 2005 ; Behrendt *et al.*, 2012 ; Démarchez, 2019).

Il a été montré que les mélanocytes des follicules pileux avaient une activité cyclique. Ils ne sont actifs que durant la phase anagène du poil, c'est-à -dire lors de sa croissance. Ils régressent ensuite puis environ 70 % entrent en apoptose lors de la phase catagène. Les 30 % restant persistent en phase quiescente lors de la phase télogène. Lors de la phase anagène suivante, des cellules souches mélanocytaires quiescentes sont recrutées pour remplacer les mélanocytes manquants et former de nouvelles unités mélanocytaires folliculaires (Slominski *et al.*, 2005).

## II. Les mécanismes moléculaires à l'origine d'un défaut de pigmentation

La couleur blanche chez le chat, mais également chez les autres mammifères est due à une absence de pigmentation. Celle-ci peut être liée à une anomalie lors de la migration, la différenciation, la survie ou la différenciation des mélanocytes ainsi qu'à une anomalie lors de la synthèse des mélanines. Les principales molécules impliquées dans ces évènements ont été décrites dans la partie I. Nous allons désormais nous intéresser aux conséquences lors d'anomalies dans la synthèse ou l'activité de ces dernières. Nous nous restreindrons aux mutations responsables d'une perte de fonction (et non d'un gain de fonction, conduisant généralement à un phénomène néoplasique).

## A. Anomalies de mélanocytogénèse

#### 1. Gène KIT (KIT Proto-oncogene, Recepteur Tyrosine Kinase)

#### a. *KIT* et couleur blanche chez différentes espèces

Chez la souris, 178 mutations de *KIT* (locus *W*) ont été référencées (Mouse Genome Informatics, 2020). Parmi elles se distinguent *W* (*dominant white spotting*) et  $W^{v}$  (*viable dominant white spotting*), modèles historiques particulièrement étudiés. Il a été montré que la plupart des allèles de *KIT* étaient responsables, à l'état hétérozygote, d'un phénotype marqué de blanc. A l'état homozygote, ils étaient généralement responsables d'un pelage entièrement blanc, ou de la mort périnatale de l'individu (figure 13), (Geissler *et al.*, 1981 ; Bernstein *et al.*, 1990 ; Ruan *et al.*, 2005 ; Magnol *et al.*, 2007).



Figure 13 : Phénotypes observés chez la souris lors de mutations de KIT

Sco1, Sco5, Sow3 et Whc1 sont quatre allèles du locus W. On observe que les souris hétérozygotes ont quelques marques blanches, tandis que les homozygotes sont majoritairement blancs. +/- = hétérozygote, -/- = homozygote.

D'après Magnol et al., 2007, CC BY 2.0.

Chez le chat (figure 14), des mutations responsables de la robe blanche et des panachures ont été identifiées sur le chromosome B1 félin, au niveau du gène *KIT* (Cooper *et al.*, 2006 ; David *et al.*, 2014), (voir partie IV). Trois mutations différentes ont été décrites : une mutation dominante responsable de la robe blanche, une mutation gouvernant les panachures et une

mutation responsable de la présence des gants blancs du Sacré de Birmanie (David *et al.*, 2014 ; Montague *et al.*, 2014).

Chez l'homme (figure 14), il a été montré que le piébaldisme, une affection autosomique récessive, était due à une mutation de *KIT*. Cette affection se traduit cliniquement par une mèche de cheveux blancs sur la partie frontale du cuir chevelu, parfois accompagnée d'une plage dépigmentées circonscrite sur le front. D'autre plages dépigmentées de distribution symétrique peuvent être retrouvées ailleurs sur le corps, chez 10 % à 20 % des individus. Plus de 60 mutations différentes de *KIT* responsables de piébaldisme ont été décrites (Spritz, 1994 ; Oiso *et al.*, 2013 ; El Kouarty et Dakhama, 2016)

Chez la vache de race Hereford (figure 14), il a été montré que la panachure blanche, envahissant les membres, le ventre, le poitrail et la tête était due à une mutation de *KIT* (Garrick et Ruvinsky, 2014).

Chez le cheval (figure 14), près de 30 mutations de *KIT* ont été identifiées comme responsables d'une robe marquée de blanc. Parmi elles, on retrouve la robe blanche et les patrons tobiano (patron pie présentant des plages blanches étendues et régulières), sabino (patron pie marqué par des taches blanches irrégulières envahissant les membres, la tête et parfois le ventre) et rouan (robe parsemée de poils blancs, associée au gène *KIT* mais de mutation inconnue à ce jour), (Haase *et al.*, 2007 ; Grilz-Seger *et al.*, 2020).

Chez le porc (figure 14), il a été montré que la robe entièrement blanche et une partie des robes marquées de blanc étaient dues à des mutations de *KIT* (Johansson Moller *et al.*, 1996 ; Rothschild et Ruvinsky, 2011 ; Wu *et al.*, 2019).

Chez le chien, il a été mis en évidence qu'une mutation autosomique dominante de *KIT* à l'origine d'une panachure blanche chez le Berger Allemand était apparue spontanément en 2000. Ces chiens marqués de blancs sont appelés « Panda » (Wong *et al.*, 2013). Un second allèle de *KIT* a été identifié dans une lignée de Braques de Weimar présentant une panachure (Gerding *et al.*, 2013).



<u>Figure 14 :</u> Expression phénotypique d'une mutation de KIT chez différentes espèces a. chat noir et blanc ; b. front d'un enfant atteint de piébaldisme ; c. cheval bai tobiano ; d. vache de race Hereford ; e. truie de race Hampshire. Photos : a. Hehaden CC BY-NC 2.0 : b. El Kouarty et Dakhama 2016. CC BY 2.0 : c. David Lewis, CC BY-

Photos : a. Hehaden, CC BY-NC 2.0 ; b. El Kouarty et Dakhama 2016, CC BY 2.0 ; c. David Lewis, CC BY-NC-ND 2.0 ; d. Ryan Somma, CC BY-SA 2.0 ; e. De Jean, CC BY 2.0

#### b. KIT, un gène pléiotrope

#### • Mutation de KIT et répartition des taches de couleur chez les chattes tricolores

Chez les chattes écailles de tortue, il a été observé que la présence de panachure blanche, due à une mutation de *KIT*, modifiait la répartition des zones rousses et noires. En effet, il semblerait que plus le chat présente de panachure, plus les plages seraient distinctes (figure 15). Le mécanisme à l'origine de ce phénomène n'a pas été exploré. Il a cependant été émis l'hypothèse que la baisse du nombre de mélanocytes, causée par la mutation de *KIT*, était à l'origine d'une diminution de la compétition entre les mélanocytes. Ces derniers coloniseraient alors chacun une zone plus importante, ce qui se manifesterait par des taches mieux délimitées (Robinson, 1977 ; Hartwell, 2016)



Figure 15 : Panachure et répartition de la couleur chez les chattes écailles de tortue

a. chattes écaille de tortue (black tortie) ; b. chatte écaille de tortue (black tortie) et blanc, avec une panachure couvrant moins de 20 % du pelage ; c. chatte écaille de tortue (black tortie) et blanc, avec une panachure couvrant plus de 60 % du pelage. On remarque que la séparation entre les taches rousses et noires augmente avec la panachure.

Photos : a. The Pingus, CC BY-NC-ND 2.0 ; b. Hehaden, CC BY-NC 2.0 ; c. Michael Frank Franz, CC BY-NC 2.0.

# • Mutation de *KIT* et anomalies liées à la lignée mélanocytaire : surdité et hypopigmentation irienne

Chez le chat, on a observé une association entre la couleur blanche unie du pelage et une surdité (Hartwell, 2017b). Une étude réalisée par Cvejic et son équipe (Cvejic *et al.*, 2009) a étudié la corrélation entre la couleur blanche unie et la surdité chez le chat. Parmi les 84 chats blancs de l'étude, 20,9 % étaient sourds. 10,7 % présentaient une surdité bilatérale et 9,5 %, une surdité unilatérale.

David et son équipe ont comparé le génotype pour les allèles du blanc dominant (W) et de la panachure ( $w^s$ ) et le statut auditif, sur une cohorte de 71 chats. Dans cette étude, tous les chats sourds avaient au moins une copie de l'allèle W. Les chats homozygotes W/W étaient tous sourds, ainsi qu'une partie des chats hétérozygotes  $W/w^+$  (figure 16), (David *et al.*, 2014).



*Figure 16* : *Statut auditif (en pourcentage) en fonction du génotype chez 71 chats D'après David et al., 2014.* 

Il a ainsi été mis en évidence une corrélation positive entre la présence de l'allèle *W* et une déficience auditive chez le chat. La surdité n'étant pas toujours présente, *W* est donc à pénétrance incomplète pour le caractère surdité. La présence d'autres loci modulateurs du statut auditif est donc possible.

Il a été montré que les mélanocytes (et non les pigments) étaient nécessaires pour le développement normal de la cochlée, organe creux situé au niveau de l'oreille interne. Les mélanocytes étaient également nécessaires, chez un individu possédant une cochlée normalement développée, pour permettre l'intégration du son (Lamoreux *et al.*, 2010). En l'absence de mélanocytes, au cours des semaines suivant la naissance, la cochlée et le saccule dégénéraient au lieu de se développer. Il a notamment été observé, au niveau de l'oreille interne de chatons blancs de quelques semaines, une atrophie de la strie vasculaire et une rupture de la membrane de Reissner, deux constituants de la cochlée (Ryugo et Menotti-Raymond, 2012).

Chez la souris, il a été observé que plusieurs mutations de *KIT*, notamment  $W^v$ , étaient responsables de surdité. Le caractère surdité montrait une pénétrance incomplète, chez les individus hétérozygotes comme homozygotes. Une dégénérescence de la cochlée, similaire à celle observée chez des chats blancs a également été observée (Schrott *et al.*, 1990).

Chez l'homme, quelques cas d'individus atteints de piébaldisme avaient également une déficience auditive (El Kouarty et Dakhama, 2016).

L'équipe de David a également étudié la corrélation entre l'allèle *W* et la couleur de l'iris chez le chat. Dans cette espèce, une hypopigmentation de l'iris se traduit en effet par une couleur bleue, pouvant classiquement être associée à un phénotype blanc et à de la surdité (Strain, 2017). Parmi les 120 chats de l'étude, la totalité des chats sans panachure (n = 19) présentait des iris pigmentés. Les chats *W/W* présentaient en revanche une probabilité d'avoir des yeux bleus 77 fois supérieure à celle des autres chats (p < 0,0001). Les chats hétérozygotes (*W/w*<sup>+</sup>) présentaient une probabilité quatre fois supérieure d'avoir les yeux bleus par rapport au reste de la population féline (p = 0,046). L'allèle *W* avait donc un effet sur la couleur de l'œil. De même que pour la surdité, *W* est à pénétrance incomplète pour l'hypopigmentation de l'iris. Il s'agit ici encore probablement d'un caractère polygénique. Notons que chez les chats *colourpoint*, la couleur bleue de l'œil est due à l'allèle *c*<sup>s</sup> situé sur le locus *C* (gène *TYR*, à l'origine d'une altération de la fonction de la tyrosinase, voir paragraphe II.B.1 de la partie bibliographique) et non à l'allèle *W* de *KIT* (David *et al.*, 2014)

#### • Mutation de KIT et anomalies liées à la lignée germinale : stérilité

Il a été montré que le récepteur C-KIT, codé par *KIT* était exprimé par les cellules germinales primordiales, par les ovocytes immatures et par les spermatogonies. Ainsi, de nombreuses mutations de *KIT* conduisaient à une stérilité des individus porteurs (Grimaldi *et al.*, 2002 ; Ruan *et al.*, 2005). L'étude de souris hétérozygotes composites *W/W*<sup>v</sup> stériles a montré qu'elles présentaient un appauvrissement en cellules germinales dans les ovaires ou les testicules, rendant impossible la production de gamètes. Les femelles avaient des taux d'œstrogènes et de progestérone diminués (Hamamah *et al.*, 2012 ; Lotinun et Krishnamra, 2016).

#### • Mutation de KIT et anomalies liées à la lignée hématopoïétique : anémie et lymphopénie

Pour de nombreuses mutations de *KIT* étudiées chez la souris, les homozygotes étaient non viables et mouraient dans la première semaine de vie. L'équipe de Fleischman et Mintz a transplanté *in utero* des cellules hépatiques de souris  $w^+/w^+$  à des embryons W/W, permettant ainsi leur survie. Le foie étant l'organe permettant l'essentiel de l'hématopoïèse chez le fœtus (avec la rate), cette expérience a permis de montrer que la mortalité des nouveau-nés W/W était due à une forte anémie (Fleischman et Mintz, 1979). L'étude d'individus surexprimant l'érythropoïétine, donc capables de compenser en partie l'anémie due à l'absence de C-KIT, a

permis de montrer que le développement de la lignée lymphoïde nécessitait la présence de ce récepteur (Waskow *et al.,* 2002).

Il a également été montré qu'une absence de C-KIT avait un très fort impact sur la lignée mastocytaire. La liaison C-KIT / KITL permettait ainsi la prolifération, la survie, la migration et la maturation des précurseurs des mastocytes (Galli *et al.*, 1993).

#### • Mutation de *KIT* et anomalies liées aux cellules de Cajal : aganglionose

L'études de souris portant l'allèle *W* a mis en évidence que le gène *KIT* était nécessaire pour la mise en place du réseau de cellules de Cajal. Le péristaltisme de ces souris était réduit, du fait de l'absence d'ondes lentes intestinales normalement générées par les cellules de Cajal. La présence d'un mégacôlon n'a cependant pas été rapporté chez ces individus (Huizinga *et al.*, 1995 ; Poitras, 1998).

## c. Mécanisme moléculaire

## • Structure et mode d'action de C-KIT

Il a été montré que C-KIT était un récepteur à activité tyrosine kinase qui liait KIT-L (voir partie I). Il a été mis en évidence que C-KIT était composé d'une partie extra-cellulaire comprenant cinq domaines de type immunoglobines et d'une partie cytoplasmique divisée en un domaine de liaison à l'ATP (Adénosine Tri-Phosphate) et d'un domaine phosphotransférase. La liaison de KIT-L sur le domaine extra-cellulaire conduisait à la formation d'un dimère de récepteurs qui activait l'activité kinase intrinsèque de C-KIT et permettait la phosphorylation de molécules de signalisation qui agissaient ensuite sur l'expression de gènes effecteurs (Blume-Jensen et al., 1991). Cette voie de signalisation était nécessaire pour le développement des mélanocytes mais également des précurseurs des cellules hématopoïétiques, des mastocytes, des cellules germinales ainsi que des cellules intestinales de Cajal (Alexeev et Yoon, 2006). Dans le cas des mélanocytes, l'activation de C-KIT activait la protéine RAS, une petite Rho-GTPase, qui permettait ensuite l'activation de la voie des MAP-KINASES (Mitogen-activated protein kinases), dont les acteurs les plus étudiés sont MEK (Mitogen-activated kinase) et ERK (Extracellular signal-related kinase). L'activation de cette voie influençait la migration, la survie, la prolifération et la différenciation des mélanoblastes, ainsi que la synthèse pigmentaire (Alexeev et Yoon, 2006; Picardo et Cardinali, 2011), (figure 17).



#### <u>Figure 17 :</u> Structure et mode d'action de C-KIT

Lors de la liaison avec KIT-L, deux C-KIT s'associent pour former un dimère activé responsable de la phosphorylation de RAS et de l'activation de la voie des MAP-kinases qui régule l'expression de gènes effecteurs. La liaison C-KIT/KIT-L régule la migration, la prolifération, la survie et la différenciation des mélanocytes, ainsi que la mélanogénèse.

Production personnelle, d'après Blume-Jensen et al., 1991 ; Alexeev et Yoon, 2006 ; Picardo et Cardinali, 2011.

#### • Une diminution de la prolifération est à l'origine de l'absence localisée de pigmentation

Par des expériences chez la souris, Mort et son équipe ont mis en évidence que plus la densité de mélanoblastes augmentait, plus leur vitesse de migration et de prolifération diminuait (figure 18, a et b). En utilisant les résultats de leurs expériences, ils ont créé un simulateur de répartition des mélanoblastes à la surface du corps. En modifiant les valeurs de dispersion (D, correspondant à la vitesse de migration) et de temps de division cellulaire (Tc, inversement proportionnel à la vitesse de prolifération), ils ont montré que la colonisation du corps était beaucoup plus sensible à des modifications de la prolifération que de la migration (Mort *et al.,* 2016), (figure 18c).



#### Figure 18 : Paramètres influençant la colonisation du corps par les mélanoblastes

a. Graphique montrant la dispersion des mélanoblastes en fonction de leur densité. La dispersion diminue fortement lorsque la densité cellulaire augmente. b. Graphique montrant le temps de division cellulaire (inversement proportionnel à la prolifération) des mélanoblastes en fonction de leur densité. La prolifération diminue fortement avec la densité cellulaire. c. Graphique montrant la probabilité de colonisation du corps entier par les mélanoblastes en fonction du temps de division cellulaire et de la dispersion. Le rouge indique une probabilité de 1 et le bleu, de 0. La colonisation est très sensible à la vitesse de prolifération.

D'après Mort et al., 2016 ; CC BY 4.0.

L'équipe de Mort a ensuite étudié des souris  $W^v/w^+$  (avec un ventre blanc) et des souris homozygotes  $NF1^{-/-}$  n'exprimant pas la protéine NF1 (*Neurofibromin 1*) qui a une action répressive sur RAS et donc sur la voie de signalisation induite par C-KIT. Ces souris invalidées pour NF1 montraient une surexpression de l'activité de C-KIT. Les auteurs ont observé que chez les souris  $W^v/w^+$ , la densité de mélanoblastes était diminuée par rapport à la souche sauvage, en revanche leur vitesse de migration était augmentée. Chez les souris  $NF1^{-/-}$ , la densité de mélanoblastes était augmentée et la vitesse de migration était diminuée de manière non significative. Une diminution de la vitesse de migration des mélanoblastes n'était donc pas responsable des marques blanches abdominales. L'équipe de Mort *et al.* a suggéré que les modifications de vitesse de migration étaient des conséquences des changements de densité cellulaire.

En corrigeant la vitesse de prolifération par la densité cellulaire, les auteurs ont ensuite montré que la prolifération cellulaire relative était diminuée chez les souris  $w^v/w^t$ . L'utilisation du simulateur de répartition des mélanoblastes (figure 19) a permis de montrer qu'avec la vitesse de prolifération des souris  $W^v/w^t$ , les mélanoblastes ne colonisaient pas l'ensemble de la surface de l'embryon, ce qui conduisait à un ventre blanc, similaire à celui observé en pratique. De plus, en diminuant la vitesse de prolifération, les taches abdominales étaient de plus en plus fréquentes et larges. Les plus grosses étaient suivies de taches dorsales, ce qui correspondait aux phénotypes observés en pratique.



Figure 19 : Influence de la vitesse de prolifération sur la colonisation par les mélanoblastes

a. Graphique montrant le temps de division cellulaire corrigé en fonction du génotype. Chez les souris  $W^v/w^*$ , le temps de division cellulaires corrigé est fortement augmenté, ce qui signifie que la vitesse relative de prolifération est fortement diminuée. b. Simulation de la colonisation par les mélanoblastes en fonction du temps de division cellulaire. Pour un temps de division cellulaire de 10 h, soit équivalent à celui des souris  $W^v/w^*$ , les mélanoblastes n'atteignent pas le ventre, barre d'échelle : 500 µm. c. Souris  $W^v/w^*$  présentant un ventre blanc.

D'après Mort et al., 2016 ; CC BY 4.0.

#### 2. Gène KITL (KIT Ligand)

Il a été montré que le KIT-L était présent sous deux formes, une forme soluble et une forme liée à la membrane plasmique. La présence de ces deux formes était une conséquence de l'épissage alternatif qui permettait ou non l'expression de l'exon 6. Ce dernier codait un site de clivage protéolytique. La forme membranaire résultait d'un épissage supprimant l'exon 6. Le précurseur de la forme soluble au contraire exprimait l'exon 6, qui permettait le clivage de la protéine et supprimait le domaine responsable de l'attache membranaire (Jiang *et al.,* 2000), (figure 20).



Figure 20 : Epissage alternatif et production de deux isoformes de KIT-L

L'épissage alternatif conduit à la formation de deux isoformes de KIT-L, l'une soluble et l'autre liée à la membrane plasmique.

Production personnelle, d'après Jiang et al., 2000.

La liaison de KIT-L sur son récepteur C-KIT permet la dimérisation et l'activation de ce dernier et la mise en place des voies de signalisation décrites au paragraphe précédent.

Il a été montré chez la souris que des mutations de *SI* (locus *Steel*, gène *KITL*) ou de *W* (gène *KIT*) avaient des conséquences phénotypiques similaires : couleur blanche (sur la totalité du corps ou non) surdité, anémie, stérilité, déficience en mastocytes et en cellules de Cajal (Jiang *et al.*, 2000).

#### 3. Gène MITF (Microphtalmia-Associated Transcription Factor)

Chez le chat, il a été montré que *MITF* était situé sur le chromosome A2 félin (2020). Il code une protéine présentant un motif « zip leucine, hélice-boucle-hélice » permettant la formation d'un homodimère ou d'un hétérodimère, ainsi qu'un domaine de liaison à l'ADN. Quatre régions permettant l'activation de *MITF* (activation domains) ont également été identifiées. Il a été montré que les régions codant l'hélice-boucle-hélice ont été particulièrement bien conservées entre espèces, tandis que les séquences codant les domaines adjacents étaient plus diversifiées (Steingrímsson *et al.*, 2004).

Il a été mis en évidence que les mutations de *MITF* qui touchaient les domaines de liaison à l'ADN ou d'activation de la transcription étaient semi-dominantes. La protéine codée ne pouvait pas directement activer d'autres gènes mais était capable de se dimériser avec des protéines et ainsi de les empêcher de modifier l'expression de certains gènes. Les mutations touchant les domaines de dimérisation ou de régulation de la transcription étaient récessives et conduisaient à une baisse d'activité de MITF, voire à son inactivation (Steingrímsson *et al.,* 2004).

Chez l'homme, il a été montré qu'une mutation de *MITF* était impliquée dans le syndrome de Waardenburg de type 2 (Tassabehji *et al.*, 1994). Cette affection se caractérise par un ensemble d'anomalies congénitales associant un ou plusieurs des symptômes suivants : anomalie de la pigmentation (cutanée, capillaire, ou irienne), surdité, anomalies morphologiques faciales et troubles neurologiques. Il s'agit d'une maladie rare, résultant d'un défaut de migration des CCN lors du développement embryonnaire.

Des études chez la souris ont mené à l'identification de 56 allèles mutés (Mouse Genome Informatics, 2020) affectant la lignée mélanocytaire à des degrés plus ou moins élevés (figure 21). La moitié environ de ces mutations étaient récessives tandis que les autres étaient semidominantes. On peut citer l'allèle *Mitf*<sup>*Mi-Wh*</sup> (*white*) qui conduisait, chez un animal homozygote, à un phénotype entièrement blanc, tandis que les souris hétérozygotes présentaient une couleur diluée et un ventre blanc. L'allèle *Mitf*<sup>*mi-rw*</sup> (*red-eyed white*, blanc aux yeux rouges) était responsable, à l'état homozygote d'un phénotype blanc excepté sur le dessus de la tête, ainsi que d'une diminution de la taille des yeux et d'une perte de la pigmentation oculaire, les yeux apparaissant rouges. L'allèle *Mitf*<sup>*mi-vit*</sup> (vitiligo) conduisait à une dépigmentation progressive : les souriceaux naissaient avec un pelage bicolore qui peu à peu se dépigmentait, jusqu'à finir parfois entièrement blanc. Des anomalies de développement des ostéoclastes ont également été mises en évidence, conduisant principalement à de l'ostéopétrose (Steingrímsson *et al.*, 2004).



Figure 21 : Exemples de phénotypes de souris portant différentes mutations de MITF

a. A gauche, une souris Mitf<sup>Mi-Wh</sup>/Mitf<sup>+</sup> avec une couleur diluée et à droite une souris Mitf<sup>Mi-Wh</sup>/Mitf<sup>Mi-Wh</sup>/Mitf<sup>\*</sup> avec une couleur diluée et un ventre blanc; c. Souris <sup>Wh</sup> entièrement blanche; b. Souris Mitf<sup>Mi-Wh</sup>/Mitf<sup>+</sup> avec une couleur diluée et un ventre blanc; c. Souris Mitf<sup>mi-rw</sup>/Mitf<sup>mi-rw</sup> blanches avec une tache colorée sur la tête et des yeux de taille réduite; d. Souris Mitf<sup>mi-vit</sup>/Mitf<sup>mi-vit</sup>: la souris en haut à droite a un mois, celle en bas à droite a dix mois et celle en haut à gauche a deux ans. La souris en bas à gauche est Mitf<sup>+</sup>/Mitf<sup>+</sup>. Adapté de Steingrímsson et al., 2004.

Chez le chien, il a été mis en évidence que des mutations de *MITF* étaient responsables des panachures blanches (figure 22) chez la plupart des races. Classiquement, plusieurs allèles ont été décrits. L'allèle dominant  $S^+$  du locus *White spotting (S) serait* responsable d'une robe entièrement pigmentée. Par ordre de dominance décroissante, on trouvait ensuite l'allèle  $s^i$  (pour *irish spotting*) qui coderait pour la panachure irlandaise,  $s^p$  (*piebald spotting*) qui serait responsable d'un phénotype pie et l'allèle  $s^w$  qui coderait pour une panachure blanche envahissant la quasi-totalité du corps ou pour une robe entièrement blanche. Une panachure « pseudo-irlandaise » a également été décrite. Les données de la génétique moléculaire ne recouvrent cependant pas totalement ces allèles décrits par la génétique mendélienne. Il a en effet été montré que dans de nombreuses races, il existerait un allèle  $S^+$  dominant, semi-dominant ou récessif selon les cas. Les hétérozygotes  $S^+/s$  seraient pies et les homozygotes s/s auraient une panachure envahissante équivalente à celle produite par l'allèle  $s^w$  (Karlsson *et al.*, 2007 ; Schmutz *et al.*, 2009 ; Körberg *et al.*, 2014).



*Figure 22 : Panachures blanches chez le chien* a. Berger des Shetlands à panachure irlandaise ; b. Cocker anglais bicolore ; c. Epagneul japonais à panachure envahissante. Photos : a. Marcia O'Connor, CC BY-NC 2.0 ; b. Kurt, CC BY-NC-ND 2.0 ; c. Tundra Ice, CC BY-NC-ND 2.0.

Il a été montré chez le cheval que des mutations de *MITF* (*SW1*, *SW3* et *SW5*) étaient impliquées dans le déterminisme de la panachure *Splashed White* (*« éclaboussé de blanc »,* figure 23). Ce patron, très variable d'un individu à l'autre, touchait généralement la tête et pouvait se généraliser aux membres et à la ligne du dessous. Il était souvent accompagné par des yeux de couleur bleue. Il a également été montré que le phénotype *Splashed White* était souvent associé à de la surdité (Hauswirth *et al.*, 2012 ; Henkel *et al.*, 2019)



Figure 23 : Phénotype Splashed White chez le cheval

a. Patron Splashed White généralisé à la tête, aux membres et au ventre. Le cheval a également les yeux bleus ; b. Jument et son poulain de phénotype Splashed White. Les deux chevaux présentent une « belle face », des balzanes hautes et des yeux bleus. Photos : a. Pitke, CC BY 2.0 ; b. Kersti Nebelsiek, CC BY 2.0.

Des mutations de *MITF* ont également été identifiées chez le rat (Opdecamp *et al.*, 1998), la vache (Garrick et Ruvinsky, 2014), le poisson-zèbre (Lister *et al.*, 1999), le hamster (Graw *et al.*, 2003) et la caille (Mochii *et al.*, 1998).

## 4. Gène PAX3 (Paired Box 3)

Il a été montré que PAX3 était un facteur de transcription formé de deux domaines de liaison à l'ADN (un domaine *paired* composé de deux motifs hélice-boucle-hélice et un domaine de type homéoboîte) et d'un domaine c-terminal d'activation de la transcription (Lacombe, 2009). PAX3 est impliqué dans la mélanocytogénèse (voir partie I) mais aussi dans le développement des cellules gliales, dans la myogénèse (Buckingham *et al.*, 2003) et dans le développement cranio-facial (Zalc et Relaix, 2015).

Chez la souris, il a été montré que des mutations de *PAX3*, locus *Sp* (*Splotch*), provoquaient, à l'état hétérozygote, un phénotype caractérisé par des marques blanches au niveau de la queue, des membres et du ventre. Chez les homozygotes, la plupart des mutations de *PAX3* provoquaient une létalité embryonnaire due à de nombreux défauts anatomiques tels qu'un défaut de fermeture du tube neural, des anomalies musculaires et des anomalies de formation du cœur (Epstein *et al.*, 2004 ; Trainor, 2013).

Chez l'homme, des mutations de *PAX3* ont été identifiées comme étant impliquées dans les syndromes de Waardenburg de types 1 et 3. Le syndrome de Waardenburg de type 1 regroupe des anomalies de pigmentation, de la surdité et des anomalies morphologiques faciales (notamment une dystopie canthale). Le syndrome de Waardenburg de type 3 regroupe ces trois symptômes et inclut de plus des anomalies des membres supérieurs (Lemattre et Blanchet, 2018a).

Chez le cheval, il a été montré que des mutations de *PAX3* (*SW2* et *SW4*) conduisaient également à un phénotype *Splashed White*. Il semblerait que les hétérozygotes composites, portant à la fois une mutation de *MITF* et une mutation de *PAX3*, possèdent une panachure plus envahissante que les hétérozygotes simples (Hauswirth *et al.*, 2012 ; Henkel *et al.*, 2019).

## 5. Gène SOX10 (SRY-Box Transcription Factor 10)

Il a été montré que SOX10 était un facteur de transcription formé d'un domaine de dimérisation, d'un domaine de liaison à l'ADN de type HMG (*High mobility group*, groupe de forte mobilité) et de deux domaines d'activation de la transcription. SOX10 est impliqué dans le développement des mélanocytes mais également dans la mise en place du système nerveux périphérique et particulièrement du système nerveux intestinal (Wegner 2010 ; Genetics Home Reference 2020).

Chez la souris, il a été montré qu'une mutation de SOX10 était responsable, à l'état hétérozygote, d'un phénotype marqué de blanc sur les membres et le ventre ainsi que d'une aganglionose (absence de cellules de Cajal dans l'intestin terminal) causant un mégacôlon par défaut de péristaltisme.

Chez l'homme, il a été mis en évidence que des mutations de *SOX10* étaient impliquées dans le syndrome de waardenburg de type 2 et dans le syndrome de Waardenburg-Shah, ou syndrome de Waardenburg de type 4. Ce dernier regroupant des anomalies pigmentaires, de la surdité, des déficiences neurologiques et une maladie de Hirschprung (aganglionose).

## 6. Gène EDN3 (Endothelin 3)

Il a été montré que EDN3 était une protéine de 21 acides aminés, impliquée lors de l'embryogénèse dans le développement des mélanocytes et du système nerveux intestinal (Pinet, 2004).

Chez la souris, des mutations récessives de *EDN3* ont été identifiées comme responsables, à l'état homozygote, d'un phénotype entièrement blanc, à l'exception de la tête et du bas du dos. Les souris homozygotes présentaient également une aganglionose responsable d'un mégacôlon (Jackson, 1997).

Chez l'homme, il a été montré que des mutations de *EDN3* étaient impliquées dans le syndrome de Waardenburg-Shah (Jackson, 1997).

## 7. Gène EDNRB (Endothelin Receptor type B)

EDNRB est un récepteur à sept domaines transmembranaires capable de fixer les endothélines 1, 2 et 3 (EDN3). Lors de l'embryogénèse, EDNRB est impliqué dans le développement des mélanocytes et du système nerveux entérique (Pinet, 2004).

Chez la souris, il a été mis en évidence que des mutations d'*EDNRB* conduisaient, à l'état hétérozygote, à un phénotype marqué de blanc et à l'état homozygote, à une couleur blanche dominante et à une aganglionose, responsable d'un mégacôlon et de la mort de l'animal (Jackson, 1997 ; Matsushima *et al.*, 2002)

Chez l'homme, il a été montré que des mutations d'*EDNRB* étaient impliquées dans les syndromes de Waardenburg de type 1 et de Waardenburg-Shah (Lemattre et Blanchet, 2018a; Morimoto *et al.*, 2018).

Chez le cheval, il a été mis en évidence qu'une mutation d'*EDNRB* était responsable à l'état hétérozygote du patron overo. Les poulains homozygotes étaient blancs ou presque entièrement blancs et mourraient dans les jours suivant leur naissance, à cause d'une absence de péristaltisme du gros intestin causé par une aganglionose (Nicholas, 2013).

Chez le rat, une mutation d'*EDNRB* a été décrite comme responsable d'un phénotype blanc et d'une aganglionose menant à la mort de l'animal (Gariepy *et al.*, 1996).

## B. Anomalies de mélanogénèse

## 1. Gène TYR (Tyrosinase)

Il a été montré que le gène *TYR* était localisé, chez le chat, sur le chromosome D1 félin (O'Brien *et al.*, 1986). TYR catalyse les deux premières réactions de la synthèse de mélanine à partir de tyrosine (voir paragraphe I.B.1.b de la partie bibliographique, figure 8). Une perte d'activité de cette enzyme ou sa disparition conduit à une absence totale ou partielle de pigmentation.

Il a été mis en évidence que les patrons acromélaniques du chat (*colourpoint, mink* et sépia) étaient dus à des mutations de *TYR*, situées au locus *C* (*Colour*) félin. Celles-ci menaient à une thermosensibilité de l'enzyme TYR, qui devenait inactive dans les parties les plus chaudes du corps. Il a été montré que l'allèles *c*<sup>s</sup> (s pour *Siamese*, Siamois), récessif sur *C*, était responsable à l'état homozygote, du patron *colourpoint*, typique de la race Siamois, qui se manifeste par un défaut de pigmentation sur les flancs, le dos et le ventre (figure 24 et 25), (Lyons *et al.*, 2005 ; Schmidt-Küntzel *et al.*, 2005). Les extrémités du corps (membre, tête et queue), plus froides, sont pigmentées. Pour la même raison, un chat *colourpoint* apparait plus clair l'été et plus coloré l'hiver. Ce patron acromélanique est également dépendant de l'âge du chat : les chatons naissent très clairs et la pigmentation apparait petit à petit. Le patron *colourpoint* est également associé à des yeux de couleur bleue (Abitbol, 2012 ; Hartwell, 2015).





a. Chatte seal (noire) colourpoint et blanche d'un mois et demi ; b. Même chatte à un an. La pigmentation est restreinte aux extrémités, plus froides. Une tache pigmentée sur l'épaule gauche est présente et résulte d'une baisse de température localisée due à une dépilation à la suite d'une blessure. La chatte présente également de la panachure blanche. Photos personnelles.

Il a été montré que l'allèle  $c^b$  (b pour Burmese), récessif sur C et co-dominant avec  $c^s$ , était à l'origine des patrons *mink* et sépia (figure 25). Un chat  $c^b/c^b$  avait un phénotype sépia (contraste peu marqué entre les extrémités et le reste du corps et yeux verts ou dorés) tandis qu'un chat  $c^b/c^s$  est *mink* (contraste moyen entre les extrémités et le reste du corps, yeux aigue-marine), (Lyons *et al.*, 2005 ; Schmidt-Küntzel *et al.*, 2005).



Figure 25 : Les patrons colourpoint, mink et sépia chez le chat

a. Tonkinois seal (noir) colourpoint aux yeux bleus ; b. Tonkinois mink aux yeux aigue-marine ; c. Burmese sépia aux yeux dorés.

Photos : a. Stephen McGrath, CC BY NC-ND 2.0 ; b. Francis Mariani, CC BY NC-ND 2.0 ; c. Robert Couse-Baker, CC BY 2.0.

Chez le chat, il a été montré que l'allèle c, récessif sur C,  $c^s$  et  $c^b$ , était responsable d'albinisme. Les homozygotes étaient entièrement dépigmentés et avaient un pelage blanc avec des yeux bleu pâle à effet rouge en lumière directe. Cette absence de pigmentation de l'œil entrainait une photophobie (Imes *et al.*, 2006 ; Abitbol *et al.*, 2017).

L'albinisme oculocutané (pelage blanc et peau rose, yeux rouges, roses ou bleu pâle) dû à une mutation du gène *TYR* a été décrit chez de nombreuses autres espèces, comme la souris, le hamster (Pomerantz et Li, 1974), le rat (Giebel *et al.*, 1991), le lapin (Song *et al.*, 2017), le capucin brun (Galante Rocha de Vasconcelos *et al.*, 2017), la vache (Schmutz *et al.*, 2002) mais aussi chez l'homme. Il a été montré chez ce dernier que des mutations récessives de *TYR* étaient responsables de l'albinisme oculocutané de type 1A (absence totale de synthèse pigmentaire), de type 1B (absence quasi-totale de synthèse pigmentaire) et de type 1 avec pigmentation minime (absence modérée de synthèse de mélanine), (Grønskov *et al.*, 2007 ; Hayashi et Suzuki, 2013). Des formes d'albinisme avec pigmentation partielle ont également été décrites chez le lama (Anello *et al.*, 2019) et chez la souris (Song *et al.*, 2017).

Des phénotypes similaires au patron *colourpoint* du chat ont été décrits chez d'autres espèces. Chez le lapin (Aigner *et al.*, 2000), la souris (Kwon *et al.*, 1989) et le rat (Kuramoto *et al.*, 2010), il a été montré que des mutations de *TYR* étaient responsables d'un phénotype dit Himalayen, similaire au patron *colourpoint* du chat. La pigmentation était restreinte aux extrémités, la tyrosinase étant inactivée par la chaleur. Chez l'homme, il a été montré que des mutations de *TYR* était responsables de l'albinisme oculocutané de type 1 thermosensible, où la pigmentation était restreinte aux zones froides (bras et jambes), (Giebel *et al.*, 1991).
# C. Récapitulatif

L'essentiel des mutations décrites dans la partie II et leurs conséquences sont rassemblés dans le tableau I. Il est à noter que cette liste ne se veut pas exhaustive.

<u>Tableau I :</u> Les principales protéines à l'origine d'un défaut de pigmentation lorsqu'elles sont déficientes

Protéine	Conséquences possibles	Espèces dans lesquelles ces conséquences ont été				
codée	d'une mutation	décrites				
		Chat	Souris	Homme	Autres	
C-KIT	Robe blanche/panachure	Х	Х		Cheval, cochon	
	Régions cutanées	v	v	v	Cheval, chien, cochon,	
	dépigmentées	^	^	^	vache	
	Robe parsemée de poils				Cheval	
	blancs					
	Hypopigmentation irienne	Х	Х			
	Surdité	Х	Х			
	Stérilité		Х			
	Anémie		Х			
	Déficit en mastocytes		Х			
	Aganglionose		Х			
KIT-L	Identiques à C-KIT		Х			
MITF	Robe blanche/panachure	v	x		Chien, rat, poisson-	
			^		zèbre, caille, hamster	
	Régions cutanées		x	v	Chien, rat, vache,	
	dépigmentées		^	^	caille, hamster	
	Dilution de la couleur		Х			
	Dépigmentation progressive		Х			
	Hypopigmentation irienne			Х		
	Anomalies de		x		Hamster	
	développement de l'œil		^			
	Ostéopétrose		Х			
	Anomalies morphologiques			Х		
	Déficits mentaux			Х		
PAX3	Robe blanche/panachure				cheval	
	Régions cutanées		x	v		
	dépigmentées		^	^		
	Hypopigmentation irienne			Х		
	Surdité			Х		
	Anomalies anatomo-		v	v		
	morphologiques		^	^		

Protéine	Conséquences possibles	Espèces dans lesquelles ces conséquences ont été					
codée	d'une mutation	décrites					
		Chat	Souris	Homme	Autres		
SOX10	Régions cutanées		x	x			
	dépigmentées						
	Hypopigmentation irienne			Х			
	Surdité			Х			
	Aganglionose		Х	Х			
EDN3	Régions cutanées		х	x			
	dépigmentées						
	Hypopigmentation irienne			Х			
	Surdité			Х			
	Aganglionose		Х	Х			
EDNRB	Robe blanche/panachure				Rat, cheval		
	Régions cutanées	v	v				
	dépigmentées		^	^			
	Hypopigmentation irienne			Х			
	Surdité		Х	Х			
	Aganglionose		Х	Х	Rat		
TYR	Robe blanche	x	x	x	Hamster, rat, capucin		
					brun, lapin, vache		
	Régions cutanées		v		Lama		
	dépigmentées		^				
	Pigmentation thermo-	Y	Y	Y	Lapin, rat		
	dépendante	^					
	Hypopigmentation irienne	Х	x	x	Hamster, rat, capucin		
					brun, lapin, vache		

Les cases grisées correspondent aux phénotypes caractérisés par une diminution voire une absence de la pigmentation de la peau et du pelage

# III. Les phénotypes de panachures chez le chat

La variété de robes des chats est assez extraordinaire. On utilise, pour les décrire, une nomenclature codifiée. Différents critères sont utilisés, comme la couleur de base ou le patron (figure 26). L'un de ces critères, celui qui nous intéresse ici, est le motif de la robe, c'est-à-dire la présence ou non de panachures blanches et leur répartition.

**Robe** : ensemble formé par la couleur, une éventuelle modification de celle-ci, le patron et le motif, auxquels s'ajoutent parfois les caractéristiques de texture du poil.

**Couleur :** couleur de base du pelage. Cela correspond à la couleur de la mélanine (eumélanine ou phéomélanine) présente dans les poils : noir, chocolat, cannelle ou roux. On peut citer le cas particulier des chattes écailles de tortue, qui ont des plages rousses et eumélaniques. Le blanc, qui est une absence de pigmentation, est également considéré comme couleur de base.

**Couleur modifiée :** modification de la couleur de base, via une dilution (noir dilué en bleu par exemple) une recoloration (bleu modifié recoloré en caramel par exemple) ou une modification (comme ambre, *smoke*, *silver* ou *golden*).

**Patron :** répartition de la couleur sur la surface du corps du chat. Le patron comprend la division, le patron acromélanique et le motif.

**Division :** correspond à la présence ou non de poils agoutis et de dessins dans le pelage. On décrit les divisions uni (ou solide), *tabby* et *tipped (shaded et shell/chinchilla)*. La division *tabby* comprend les chats *ticked tabby* (tiquetés), *mackerel tabby* (tigrés) et *blotched tabby* (tabby classique).

**Patron acromélanique :** modification de la pigmentation du poil en fonction de la température extérieure, de la température du chat et de l'âge de ce dernier. Les extrémités (la tête, les membres et la queue) apparaissent plus foncées que le reste du corps qui est éclairci. On décrit trois patrons acromélaniques : *colourpoint*, sépia et *mink*.

**Panachure :** présence d'une ou de plusieurs marques blanches sur le pelage.

**Motif :** répartition des panachures sur le corps du chat. Du moins coloré au plus coloré, on a : *mitted*, bicolore, arlequin et van. Remarque : en félinotechnie, le gantage du Sacré de Birmanie et le *locket* ne sont pas considérés comme des motifs, bien qu'ils soient de la panachure.

<u>Figure 26 :</u> Principales définitions utilisées pour la nomenclature des robes de chats D'après Abitbol, 2012 et LOOF, 2020 Les panachures sont caractérisées par leur couleur blanc pur. Leurs contours sont bien délimités et elles n'évoluent pas au cours du temps. Ainsi, toute zone blanche présente sur un chat n'est pas forcément une panachure.

On peut citer notamment le patron acromélanique *colourpoint* (figure 27 ; voir paragraphe II.B.1 de la partie bibliographique), qui se manifeste par un défaut de pigmentation sur le dos, les flancs et le ventre, tandis que les extrémités (membres, tête et queue) sont pigmentées. La couleur blanche présente sur les flancs des chats *colourpoint* ne répond pas aux différents critères des panachures (blanc pur, contours bien délimités, non-évolutive) et n'en est donc pas une.



#### *Figure 27 : Le patron acromélanique colourpoint*

Chat bluepoint. Ses flancs apparaissent blanc cassé en raison de son patron acromélanique colourpoint Photo de Antti, CC BY 2.0.

Des zones blanches peuvent également apparaître avec l'âge. Celles-ci peuvent avoir différentes origines. La plus commune est l'apparition de poils blancs clairsemés dans le pelage, particulièrement au niveau du museau, chez les chats âgés. Ce phénomène, similaire à la canitie chez l'homme, est dû à un épuisement des follicules pileux en mélanocytes. Un autre phénomène est, après une blessure, la pousse de poil blancs au niveau de la cicatrice. Le chat gardera cette tâche blanche pour le reste de sa vie. On peut également citer le vitiligo (figure 28), une affection auto-immune responsable de la destruction progressive des mélanocytes. La peau et les poils se dépigmentent donc petit à petit, formant des taches blanches dans le pelage. Le vitiligo peut également être localisé à la région péri-oculaire, formant des « lunettes » blanches autour des yeux. Ces trois causes de dépigmentation sont acquises et ne peuvent donc être considérées comme des panachures blanches (Hartwell, 2017a).



*<u>Figure 28 :</u> Chat noir atteint de vitiligo Photo de Pictures Courtesy of Scrappys Facebook, avec l'accord de la propriétaire.* 

# A. Les différentes panachures blanches

Les panachures blanches que l'on retrouve sur le pelage des chats sont diverses. Elles peuvent s'étendre plus ou moins et s'associer, pour former ce qu'on appelle des motifs. Nous allons ici répertorier les différents types de panachures blanches que l'on peut observer couramment chez nos chats domestiques.

#### 1. Les gants blancs

Les gants (figure 29) désignent des marques blanches sur l'extrémité des membres. Ces tâches blanches peuvent marquer uniquement le bout des doigts ou remonter jusqu'en haut des pattes. Les gants des postérieurs sont généralement plus envahissants que ceux des antérieurs. Ils remontent également souvent plus haut sur la face plantaire, formant un éperon sur les membres pelviens. Les gants peuvent être irréguliers et marqués de taches colorées, ce qui est en général discriminatoire pour certaines races. Dans le cas des panachures envahissantes, les gants blancs remontent jusqu'au ventre et se fondent dans le reste de la panachure.



Figure 29 : La panachure « gants blancs »

Chatte black tortie et blanc, avec des gants blancs. Les gants sont des marques blanches à l'extrémité des membres. Ils peuvent recouvrir uniquement l'extrémité de la patte ou remonter sur le membre. La chatte de la photo a également une panachure sur le ventre et le cou. Photo de Hehaden, CC BY-NC 2.0. Schéma : production personnelle.

#### 2. Les panachures blanches de la face

Différentes panachures peuvent marquer la face des chats. On trouve notamment le menton blanc, la flamme et le masque blanc (figure 30).

Le menton est un type de panachure blanche retrouvée sur la face. Il peut communiquer ou non avec un éventuel médaillon (*locket* en anglais, marque blanche sur le poitrail) ou avec un masque.

La flamme est une autre panachure blanche de la face. Il s'agit d'une marque longiligne verticale, en forme de biseau, située sur l'arête du nez. C'est une marque discrète, que l'on retrouve plutôt dans les motifs à panachure peu envahissante.

Le masque blanc recouvre tout ou partie des pâtons, de l'arête du nez, voire des pommettes ou du front. Il peut être plus ou moins étendu et régulier. Le masque en « V renversé » est un type particulier de masque, symétrique, formant une pointe sur le front et s'élargissant en descendant jusqu'au nez.



#### Figure 30 : Les panachures blanches de la face

a. Ragdoll sealpoint et blanc avec un menton blanc ; b. chat bleu et blanc avec une flamme blanche ; c. chat noir et blanc avec un masque blanc.

D'après Livre Officiel des Origines Félines, 2017. Photos : a. de WJ van den Eijkhof, CC BY-NC-ND 2.0 ; b. Rick Cameron, CC BY-NC-ND 2.0 ; c. Hehaden, CC BY-NC 2.0. Schémas : production personnelle.

Dans le cas des motifs envahissants, le masque se fond dans la panachure du reste du corps. On considère alors que ce n'est plus le blanc qui forme des taches sur la couleur mais l'inverse (figure 31). On parle alors de toque (ou *cap* en anglais) pour une tache colorée marquant le haut du crâne et de marques van (en référence au motif de même nom) pour les taches marquant le coté médial de la base des oreilles. On peut également décrire la moustache, qui désigne une tache colorée sur des pâtons blancs, le *nose-snip* (littéralement « le bout du nez »), une tache à la base de l'arête du nez, ou *l'eye-patch* (« cache-œil »), une marque colorée faisant le pourtour de l'œil.



#### Figure 31 : Les plages de couleur au niveau de la face dans les robes à panachure envahissante

a. chat brown tabby et blanc avec une toque ; b. chat roux et blanc van avec des marques van ; c. chat noir et blanc avec une moustache ; d. chat brown tabby et blanc avec un nose-snip ; e. chat noir et blanc avec un eye-patch.

D'après Hartwell, 2017a. Photos : a. Michael Frank Franz, CC BY-NC 2.0 ; b. Tambako The Jaguar, CC BY-ND 2.0 ; c. Taymour Matin, CC BY-NC-ND 2.0 ; d. The.Rohit, CC BY-NC 2.0 ; e. Candace, CC BY-NC-ND 2.0. Schémas : production personnelle.

Il est à noter que ces cinq types de marques ne sont pas des panachures, mais bien des plages de couleur au sein d'une panachure envahissante.

# 3. Le médaillon et le collier

On retrouve, dans la région du poitrail et des épaules du chat trois types de panachures : le médaillon, le collier ouvert et le collier fermé (figure 32).

Le médaillon (ou *locket*), correspond à une marque blanche sur le poitrail du chat. Il peut être très localisé ou s'étendre jusqu'au menton et/ou jusqu'au ventre. Notons que le médaillon n'est pas classé dans la panachure en France, lorsqu'il est restreint.

Le collier est une panachure blanche sur le poitrail s'étendant sur les épaules du chat et pouvant faire complètement le tour de son cou (collier fermé) ou non (collier ouvert).

Les poils de la région du cou et du poitrail étant souvent plus longs que ceux du reste du corps, les contours du médaillon ou du collier sont souvent imprécis.



#### Figure 32 : Les panachures du poitrail

a. chat noir avec un médaillon blanc ; b. chat noir et blanc avec un collier blanc ouvert ; c. chat brown tabby et blanc avec un collier blanc fermé.

Photos : a. Kristof brokowski, CC BY-NC 2.0 ; b. David Lewis, CC BY-NC-ND 2.0 ; c. Till Westermayer, CC BY-SA 2.0. Schémas : production personnelle.

#### 4. Le ventre blanc

Le ventre peut également être marqué de blanc (figure 33). Cette panachure s'étend généralement de l'intérieur des cuisses jusqu'à la base des membres thoraciques. Elle peut également communiquer avec un éventuel médaillon. Sur des robes moyennement à fortement marquées de blanc, la panachure du ventre remonte généralement haut sur les flancs de l'animal.



*Figure 33 : La panachure « ventre blanc » Chat noir et blanc avec un ventre blanc. Cette panachure peut juste marquer la ligne du dessous ou remonter sur les flancs de l'animal. Photo : Hehaden, CC BY-NC 2.0. Schéma : production personnelle.* 

# 5. Le bout de la queue blanc

Le bout de la queue peut également présenter une marque blanche à son extrémité (figure 34). Celle-ci s'étend rarement au-delà de quelques centimètres.



<u>Figure 34 :</u> La panachure « bout de la queue blanc » Chat noir et blanc avec le bout de la queue blanc Photo : Nattywoohoo, CC BY-NC-ND 2.0. Schéma : production personnelle.

# B. Les différents motifs

D'après le Livre Officiel des Origines Féline (LOOF), les motifs des chats se déclinent en quatre catégories : *mitted*, bicolore, arlequin et van (LOOF, 2020). Les robes « sans panachure blanche » et « blanc uni » ne sont pas considérées comme des motifs.

Une autre classification (figure 35) consiste à classer les panachures en 10 grades différents, le 1 correspondant à un chat entièrement coloré et le 10 à une panachure envahissant la totalité du corps du chat. Ces grades sont ensuite regroupés en trois catégories : *low grade white spotting, medium grade white spotting,* ou *high-grade white spotting* (littéralement « panachure blanche peu marquée », « moyennement marquée » et « fortement marquée »). Ainsi la première catégorie comprend des panachures couvrant moins de 40 % de la surface du corps, la deuxième, 40 à 60 % et la dernière catégorie, plus de de 60 % de la surface du corps. (David *et al.*, 2014 ; Hartwell, 2017a).



Figure 35 : Classification par grades de la panachure chez le chat

Cette classification comprend dix grades. Le premier correspond à un chat entièrement coloré et le dernier à un pelage blanc. Les grades deux, trois et quatre appartiennent à la sous-catégorie des panachures peu marquées (moins de 40 % du pelage est blanc), le grade cinq à la sous-catégorie des panachures moyennement marquées (de 40 à 60 % du pelage est blanc) et les grades six à neuf, aux panachures fortement marquées (plus de 60 % du pelage est blanc). Production personnelle, d'après David et al., 2014 ; Hartwell, 2017a.

La proposition de classification suivante a pour vocation de respecter au mieux ces deux types de nomenclature tout en étant la plus rigoureuse possible. Les différents motifs sont classés selon la proportion de surface blanche, du moins marqué au plus envahissant.

#### 1. La robe « sans panachure blanche »

La robe « sans panachure blanche » (figure 36) correspond à une robe ne présentant pas la moindre panachure blanche. Elle correspond au grade 1 de la classification chiffrée (Hartwell, 2017a).



<u>Figure 36 :</u> Le motif « sans panachure blanche » Chat black silver tabby sans panachure blanche D'après Hartwell, 2017a. Photo : Hugo Lemaire, avec son accord. Schéma : production personnelle.

## 2. Les motifs particolores

Les motifs particolores, caractérisés par la présence de régions colorées et de régions blanches, correspondent dans la nomenclature LOOF aux « vrais » motifs de panachures. On trouve ainsi les motifs *mitted*, bicolore, arlequin et *van*. Dans la nomenclature en grades, les motifs particolores correspondent aux grades 2 à 9.

## a. Le motif mitted

Le motif *mitted*, que l'on peut traduire par « ganté », correspond à une robe marquée par des gants blancs et d'autres marques blanches uniquement localisées au menton, poitrail et ventre (figure 37). On retrouve par exemple fréquemment dans ce motif le médaillon et le ventre blanc. Le bout de la queue blanche en revanche n'appartient pas à ce motif. Aucune tache colorée n'est acceptée dans les gants, sinon le motif est qualifié de bicolore et non plus de *mitted* (Livre Officiel des Origines Félines, 2017). Le motif *mitted* appartient au grades 2 et 3 de la classification sur 10 grades (à noter que tous les grades 2 et 3 ne sont en revanche pas des motifs *mitted*) (Hartwell, 2017a).

Dans la nomenclature officielle, pour désigner un chat portant ce motif, on ajoutera *mitted* à la fin du nom de la couleur.



*Figure 37 : Le motif mitted* Chat black mitted. D'après Hartwell, 2017a ; Livre Officiel des Origines Félines, 2017. Photo : Andrea Joseph, CC BY-NC-ND 2.0. Schéma : production personnelle.

#### b. Le motif bicolore au sens large

Le motif bicolore au sens large, utilisé dans la nomenclature officielle du LOOF regroupe tous les chats particolores n'appartenant à aucun des trois motifs *mitted*, arlequin et van.

Pour désigner un chat marqué de ce motif, on ajoutera à la suite de la couleur de base « et blanc » ou « et blanc bicolore » (LOOF, 2009).

Tous les chats bicolores n'appartiennent pas forcément à une des catégories suivantes. En revanche, ils peuvent tous être classés selon la nomenclature par grades.

#### • Le motif *tuxedo*

Le motif *tuxedo* (signifiant smocking en anglais) correspond à une robe marquée de blanc sur le ventre et la collerette (médaillon ou collier ouvert) (figure 38). Ce motif comprend également fréquemment le masque blanc, les gants (pouvant être panachés de marques colorées) et le bout de la queue blanche. La surface du corps recouverte par un pelage blanc ne doit pas excéder 40 % (Hartwell, 2017a). Le motif *tuxedo* appartient ainsi au grade 4/10.

Dans le langage commun, le terme tuxedo est utilisé essentiellement pour les chats noirs marqués de blanc mais il peut désigner des chats de n'importe quelle couleur de base, à partir du moment où les critères de panachure sont respectés.



#### <u>Figure 38 :</u> Le motif tuxedo Chat noir et blanc au motif tuxedo.

D'après Hartwell, 2017a<sup>+</sup>; Golden, 2019. Photo : Hehaden, CC BY-NC 2.0. Schéma : production personnelle.

## • Le motif bicolore au sens strict

Le motif bicolore (figure 39) fait référence à une robe marquée de blanc sur 40 à 60 %, appartenant donc à la catégorie *medium grade white spotting* (Hartwell, 2017a). Les gants blancs remontent jusqu'en haut des pattes et se fondent dans le ventre blanc. Ce dernier peut remonter sur les flancs, voire isoler des taches de couleurs. On retrouve également un collier ouvert ou fermé, ainsi qu'un masque plus ou moins étendu sur la face. Le bout de la queue peut également être marqué de blanc. Dans la classification par grades, le motif bicolore appartient au grade 5/10.



<u>Figure 39 :</u> Le motif bicolore au sens strict Chat noir et blanc bicolore. D'après Hartwell, 2017a.. Photo : Artis Logins, CC BY-NC 2.0. Schéma : production personnelle.

#### • Le motif mask and mantle

Le motif *mask and mantle* (figure 40), littéralement « masque et manteau » correspond à une panachure remontant jusqu'en haut des flancs. Seuls la queue, le dos, les épaules et le haut du crâne sont colorés. La couleur peut être continue des oreilles à la queue ou être interrompue au niveau des épaules par un collier fermé (Golden, 2019). Ce motif appartient également au grade 6/10.



<u>Figure 40 :</u> Le motif mask and mantle Chat roux et blanc, au motif mask and mantle. D'après Hartwell, 2017a et Golden, 2019. Photo : Tanakawho, CC BY 2.0; Schéma : production personnelle.

#### • Le motif cap and saddle

Le motif *cap and saddle* (figure 41), qu'on peut traduire par « toque et selle », est marqué par une panachure blanche envahissant plus de 60 % de la surface du pelage. On arrive donc ici dans la catégorie *high grade white spotting* et à un stade de 7/10 dans la classification par grades (Lemattre et Blanchet, 2018b). Les oreilles et éventuellement le sommet du crâne sont colorés, tout comme la région caudale du dos. La queue peut être colorée ou rester blanche (Golden, 2019).



## *Figure 41 : Le motif cap and saddle* D'après Hartwell, 2017a et Golden, 2019. Photo : Tanakawho, CC BY-NC 2.0. Schéma : production personnelle.

#### c. Le motif arlequin

Le motif arlequin (figure 42) correspond à une robe envahie par la panachure blanche, la couleur étant restreinte à la queue, la tête et jusqu'à quatre petites taches sur le dos (Abitbol, 2012). Selon les auteurs, la surface recouverte par la panachure doit représenter entre 50 et 80 % de la surface du pelage (Livre Officiel des Origines Félines, 2017), plus de 60 % (Hartwell, 2017a) ou entre 50 et 75 % (FIFe, 2020). Dans la classification par grades, le motif arlequin appartient aux grades 7 et 8.

Dans la nomenclature du LOOF, on rajoutera « et blanc arlequin » pour désigner ce motif (LOOF, 2009).



<u>Figure 42 :</u> Le motif arlequin Chat chocolat tabby et blanc arlequin. D'après Hartwell, 2017a et Golden, 2019. Photo : Wj van den Eijkhof, CC BY-NC-ND 2.0. Schéma : production personnelle.

## d. Le motif van

Le motif van (figure 43) est caractérisé par une panachure envahissant la quasi-totalité du corps. Seules les oreilles et éventuellement la queue sont colorées. Jusqu'à trois taches sont admises sur le dos, les flancs ou l'arrière des membres, tant que la surface totale colorée ne dépasse pas 20 % (Livre Officiel des Origines Félines, 2017). Dans la classification par grade, ce motif appartient au stade 9/10 (Hartwell, 2017a).

Dans la nomenclature du LOOF, on rajoutera « et blanc van » pour désigner ce motif (LOOF, 2009).



<u>Figure 43 :</u> Le motif van Chatte black tortie et blanc van.

D'après Hartwell, 2017a et Golden, 2019. Photo : Inkeri Siltala, CC BY-NC-ND 2.0. Schéma : production personnelle.

#### 3. La robe blanche

La robe blanche (figure 44) correspond à un chat dont la robe à l'âge adulte est totalement blanche, sans aucune tache colorée. On est donc ici au stade 10/10 de la classification chiffrée (Hartwell, 2017a).

Comme détaillé au parapgraphe II.A.1.b. de la partie bibliographique, la robe blanche peut être associée à une surdité unilatérale ou bilatérale.

Les chats blancs ont les yeux colorés (verts, jaunes ou oranges) ou dépigmentés (un ou deux yeux bleus), contrairement aux chats albinos, très rares, qui ont les yeux bleus très pâles avec un fort reflet rouge (Imes *et al.*, 2006 ; Abitbol *et al.*, 2017)



<u>Figure 44 :</u> La robe blanche Chat blanc aux yeux vairons (un œil vert et un œil bleu). D'après Hartwell, 2017b. Photo de Callum Hoare, CC BY 2.0. Schéma : production personnelle.

# C. La place des panachures dans la nomenclature officielle

En France, le LOOF (Livre Officiel des Origines Félines) est la fédération responsable de la gestion des standards des différentes races de chats. Il est ainsi défini, pour chacune d'entre elles, le caractère type, la morphologie standard, mais également les couleurs autorisées. Si certaines races acceptent toutes les robes (à l'exception de l'ambre, spécifique du Norvégien), comme le Persan ou le Manx, d'autres sont en partie caractérisées par leur robe. On trouve ainsi des races n'acceptant qu'une seule couleur comme le Chartreux, toujours bleu. Certaines n'autorisent qu'un type de patron, comme le Siamois qui est obligatoirement *colourpoint*, ou de division, comme l'Abyssin, toujours *ticked tabby*. D'autres races enfin n'acceptent que certains motifs de panachures. Nous avons présenté dans les paragraphes suivants les races présentant une restriction concernant la panachure.

## 1. Les races n'acceptant que le « motif » sans panachure

La présence de panachure blanche est rédhibitoire dans les races suivantes : Abyssin, Asian, Bengal, Burmese Américain, Burmese Anglais, Burmilla, Bombay, Chartreux, Ceylan, Korat, Nebelung, Ocicat, Russe, Somali, Singapura, Sokoke, Thaï et Tonkinois.

Chez le Chaussie et le Toyger, la présence d'un médaillon, si elle n'est pas rédhibitoire, est considérée comme un défaut (Livre Officiel des Origines Félines, 2017).

Le gantage caractéristique du Sacré de Birmanie (figure 45) n'est pas considéré comme une panachure. Cette race est donc considérée en zootechnie comme une race n'acceptant que les robes entièrement pigmentées (Livre Officiel des Origines Félines, 2017).



<u>Figure 45 :</u> Sacré de Birmanie Chat Sacré de Birmanie sealpoint. Photo de D\*Cyrielle's Yosie, CC BY-SA 2.0.

#### 2. Le Ragdoll

Le Ragdoll, dont le nom signifie « poupée de chiffon » en référence à son caractère placide, est une race récente crée dans les années 1960 en Californie. C'est un chat de format moyen à grand, au poil mi-long. Son pelage est composé d'une grande quantité de poil de couverture et de peu de sous-poil. Il possède fréquemment une collerette. Sa robe est caractérisée par le patron acromélanique *colourpoint*. Toutes les couleurs sont acceptées. En revanche, les motifs sont fortement sélectionnés : si un Ragdoll particolore peut être *mitted*, bicolore ou *van*, la répartition des panachures est règlementée (Höltschi, 2013 ; Livre Officiel des Origines Félines, 2017).

La robe sans panachure est acceptée chez le Ragdoll et est appelée *colourpoint*. Elle correspond à celle décrite en III.B.1.

Pour le motif *mitted*, les gants des antérieurs ne doivent couvrir que les doigts. En revanche, les membres pelviens doivent être blancs jusqu'au milieu des cuisses. La panachure blanche doit recouvrir l'intégralité des jarrets. Aucune tâche de couleur n'est tolérée dans le gantage. Un menton blanc doit être présent et communiquer avec un médaillon blanc, devant luimême communiquer avec un ventre blanc. Une flamme est acceptée à condition qu'elle ne descende pas jusqu'à la truffe.

Le motif bicolore comprend une panachure blanche envahissant les quatre membres, le ventre et le poitrail. Le collier peut être fermé ou ouvert. Ce motif est caractérisé par un masque blanc en forme de V renversé ne devant pas s'étendre au-delà du bord externe des yeux. Le masque communique avec un menton blanc.

Le motif van correspond à celui décrit en III.B.3, à ceci près que la queue doit être colorée. Le chat doit également porter les marques van décrites en III.A.2. Il est à noter que le motif van est accepté en tant que nouvelle couleur : un Ragdoll van pourra donc être présenté en exposition mais pas recevoir de prix (figure 46), (Livre Officiel des Origines Félines, 2017).



#### Figure 46 : Ragdoll

a. Ragdoll red tabby point ; b. Ragdoll sealpoint mitted ; c. Ragdoll sealpoint et blanc bicolore, d. Ragdoll bleue tortie et blanc van.

Photos : a. Pacificat Ragdolls, CC BY-NC-ND 2.0 ; b. WJ van den Eijkhof, CC BY-NC-ND 2.0 ; c. Gatil Ragbelas cattery, CC BY-SA 2.0 ; d. Maisey, CC BY 2.0.

#### 3. Le Snowshoe

Le Snowshoe (figure 47) est une race de chat récente, reconnue depuis 1983, issue de croisements entre des chats de race Siamois, American Shorthair et peut-être Sacré de Birmanie. La fourrure du Snowshoe est courte. Si toutes les couleurs sont acceptées, le patron acromélanique *colourpoint* est obligatoire. De plus, seuls les motifs *mitted* et bicolore sont autorisés.

Pour le motif *mitted*, les gants des membres thoraciques ne doivent pas dépasser la jonction entre les doigts et la patte. Pour les membres pelviens en revanche, les gants peuvent remonter jusqu'au jarret. Le bout de la queue blanc n'est pas accepté, tout comme le ventre blanc. Un médaillon, voire un collier ouvert est accepté. Au niveau de la face, seul le menton blanc est accepté.

Pour le motif bicolore, la panachure blanche remonte jusqu'en haut des membres et envahit le ventre et le poitrail de l'animal. Au niveau de la face, le masque blanc est obligatoire mais son tracé peut varier. Le menton blanc est souvent présent. Quelques taches banches sont acceptées sur les flancs du Snowshoe (Livre Officiel des Origines Félines, 2017).



<u>Figure 47 :</u> Snowshoe a. Snowshoe sealpoint mitted ; b. Snowshoe sealpoint et blanc bicolore. Photos : a. rmcnicholas, CC BY-NC-ND 2.0 ; b. Michael Frank Franz, CC BY-NC 2.0.

#### 4. Le Turc du Lac de Van

Le Turc du Lac de Van (figure 48) est une race de chat de grande taille assez peu répandue. La fourrure de ce chat est mi-longue, très fournie en poil de jarre mais avec très peu de sous-poil. L'hiver, le Turc du Lac de Van présente une collerette très large et une queue très fournie. Si la couleur rousse est la plus commune, toutes sont acceptées à l'exception de chocolat, lilas, cannelle, faon et leurs dérivés dans le tortie. Les patrons acromélaniques ne sont pas admis. On trouve les motifs van et la robe blanche.

Pour le motif *van*, la queue doit être colorée. Les taches sur le haut de la tête forment deux flammes non coalescentes envahissant le front. Les oreilles doivent être blanches (Livre Officiel des Origines Félines, 2017).



<u>Figure 48 :</u> Turc du Lac de Van Chatte Turc du Lac de Van black tortie et van, b. Chat Turc du Lac de Van blanc. Photos : a. Inkeri Siltala, CC BY-NC-ND 2.0 ; b. gadgetgirl, CC BY-NC-ND 2.0 .

# IV. Le déterminisme génétique de la panachure blanche chez le chat

## A. Les modèles historiques

#### 1. Le modèle monogénique à quatre allèles de Whiting

Dès 1919, Whiting a étudié le déterminisme génétique des marques blanches et du motif blanc chez le chat. Par analyse phénotypique de la descendance de nombreux chats (blancs, particolores ou entièrement colorés), il a proposé un modèle monogénique à quatre allèles. Le locus W était ainsi le siège d'une série allélique responsable de la présence ou non de panachures. La série allélique proposée était : W (blanc, en anglais *White dominant*) >  $w^m$ (panachure envahissante, ou *much spotted* ) >  $w^l$  (panachure légère, ou *little spotted*) >  $w^+$ (phénotype sauvage sans panachure, en anglais *wild type*).

#### 2. Le modèle bi-génique

Un modèle comportant deux gènes bi-alléliques a ensuite été proposé et conservé plusieurs décennies (Robinson, 1977 ; Wagner et Wolsan, 1987 ; Abitbol, 2012). Le premier locus, *S* (pour *White Spotting*, littéralement marqué de blanc) était supposé déterminer la présence ou non de panachure (autres qu'une couleur blanche envahissant la totalité du corps). Il comportait deux allèles : *S* (responsable de la présence de marques blanches) > *s* (absence de marques blanches). Un autre locus, *W* (pour *White*) était supposé déterminer la présence ou l'absence totale de pigmentation, donc un pelage blanc. Deux allèles étaient décrits : *W* (*White dominant*, ou blanc) > *w* (phénotype sauvage pigmenté ou *wild type*). *W* a également été supposé pléiotrope, responsable de la pigmentation mais aussi du statut auditif, au vu de la proportion non négligeable de chats blancs sourds (voir paragraphe II.A.1.b. de la partie bibliographique). Cette proportion n'étant cependant pas égale à 100 % des chats blancs, *W* était considéré à pénétrance incomplète pour ce caractère.

Il a par la suite été démontré que le déterminisme des panachures et du pelage blanc dépendaient d'un seul et même gène (David *et al.*, 2014).

## B. Le modèle actuel

1. La localisation des locus W et S

# a. La localisation du locus *S*, responsable d'un phénotype marqué de blanc

L'utilisation de marqueurs génétiques a permis de montrer que le locus responsable de la panachure chez le chat se situait à proximité du gène *KIT* sur le chromosome B1 félin (Cooper

*et al.*, 2006). L'étude comprenait 114 chats, aux phénotypes de panachures variés (sans panachure, bicolores ou vans). L'équipe de Cooper a sélectionné deux gènes potentiellement impliqués (*EDNRB*, *KIT*) et cinq marqueurs, deux adjacents à *EDNRB* et trois à *KIT*. L'analyse de liaison génétique a permis de montrer que le locus codant la panachure blanche chez le chat se situait vraisemblablement dans la région de *KIT*, faisant de ce dernier un candidat sérieux.

# b. La localisation du locus *W*, responsable d'un phénotype entièrement blanc

Une étude réalisée par David et son équipe (2014) a permis de localiser le locus responsable du pelage blanc, nommé *W* jusqu'alors. Ils ont pour cela sélectionné un chat issu d'une lignée de chats blancs que nous nommerons F1, maintenue à l'Université Johns Hopkins pour étudier la surdité de ces animaux. Le chat en question, un mâle, a été accouplé avec une femelle pigmentée et sans panachure. Un chat blanc est né, supposé donc hétérozygote pour *W*. Ils l'ont fait se reproduire avec quatre femelles entièrement colorées, donc homozygotes pour  $w^{+}$ . Nous nommerons cette famille F2. Les chatons issus de ces accouplements étaient tous soit blancs soit colorés, en proportions à peu près égales (figure 49), ce qui correspondait au résultat attendu, sous l'hypothèse d'un allèle *W* dominant.

L'équipe de David a ensuite réalisé une étude de liaison afin de cartographier le locus *W* chez les F1 et F2. Ils ont ainsi démontré que *W* était significativement lié à trois STR (*Short Tandem Repeats*) proches de *KIT*. Les LOD scores étaient en effet compris entre 6,0 et 6,3 (un LOD score supérieur à trois indique une liaison génétique). Pour les STR liés aux autres gènes candidats (*EDNRB, SP1, PAX3, SNAI2, EDN3, MITF, SOX10*), le LOD score était négatif, ce qui a permis leur exclusion. Ils ont donc conclu que le locus *W* et le gène *KIT* étaient liés.

## 2. L'établissement du modèle monogénique

## a. L'identification de l'allèle W

David *et al.* ont ensuite comparé les 21 exons et sites d'épissages de *KIT* entre les chats blancs et les chats colorés des familles F1 et F2. Aucune différence significative n'a été relevée. Ils ont donc analysé les régions régulant l'expression de *KIT* et ont ainsi identifié une insertion de 617pb dans l'intron 1 de *KIT* (figure 50).

L'insertion identifiée dans l'intron 1 a été caractérisée comme appartenant à un rétrovirus félin endogène 1 (FERV1, acronyme de « *Feline endogenous retrovirus type 1* »). Le fragment inséré comprenait une séquence virale incomplète incluant le LTR (« *Long terminal repeat »,* que l'on peut traduire par « séquence longue répétée »), composé entre autres de sept répétitions d'un bloc de 46 pb de long. L'ensemble composé de l'intron 1 original entrecoupé

par le LTR a donc été identifié comme l'allèle *W* (pour *White*), responsable d'un phénotype entièrement blanc.

L'insertion correspondant à l'allèle W a ensuite été recherchée chez les individus F2. La corrélation entre la présence de l'insertion et le phénotype blanc a été confirmée (figure 49), avec une valeur p = 0,00014.



Figure 49 : Famille F2 et ségrégation de l'allèle W

Un mâle homozygote blanc et une femelle homozygote colorée ont été accouplés pour donner un mâle blanc hétérozygote. Ce dernier a été accouplé à quatre femelles homozygotes colorées. La descendance obtenue a permis l'identification de l'allèle W. Les ronds correspondent aux femelles, les carrés aux mâles et les losanges aux embryons ou fœtus. Les formes noires correspondent aux chats colorés et les blanches, aux chats blancs.

Adapté de David et al., 2014

## b. L'identification de l'allèle W<sup>s</sup>

Dans la famille F1 de chats blancs, trois individus présentaient un phénotype particolore (donc coloré marqué de blanc). La recherche de l'allèle *W* chez ces chats s'est révélée infructueuse, tout comme celle de *w*<sup>+</sup>, l'allèle sauvage codant un chat entièrement coloré. Une analyse PCR a révélé l'existence, au niveau du site d'insertion du LTR chez les chats blancs, d'une séquence de 7125 pb (figure 50). Celle-ci montrait 98,4 % d'analogie avec un élément de type FERV1 (ERV1-1\_FCa-I). Elle possédait également deux fois la séquence du LTR correspondant à l'allèle *W*. Cette insertion longue était identique chez les trois chats marqués de blanc et a donc été caractérisée comme l'allèle *W*<sup>s</sup> (pour *White spotting*), responsable de la présence de panachures blanches.



Figure 50 : Identification des allèles W et W<sup>s</sup>

Deux fragments issus de rétrovirus endogènes, insérés au niveau de l'intron 1 de KIT sont à l'origine des allèles W et W<sup>s</sup>, responsables respectivement d'un phénotype blanc ou marqué de blanc. Le gène KIT est situé sur le chromosome B1 félin. Un agrandissement montre la structure du gène KIT avec 21 exons en rose et les introns en blanc. KIT I1 5' = régions 5' de l'intron 1 de KIT ; KIT I1 3' = régions 3' de l'intron 1 de KIT.

Production personnelle, d'après David et al., 2014.

La recherche de l'allèle *W*<sup>s</sup> dans la famille F1 ainsi que dans une famille indépendante appelée F3 (figure 51) a permis de montrer la corrélation entre la présence de celui-ci et un phénotype marqué de blanc.



Figure 51 : Famille F3 et ségrégation de l'allèle W<sup>s</sup>

Pour la famille F3, un mâle coloré et une femelle hétérozygote pour l'allèle W<sup>s</sup> ont été accouplés. La recherche de l'allèle W<sup>s</sup> dans cette famille F3 et dans F1 a permis de démontrer la corrélation entre la présence de ce dernier et le phénotype marqué de blanc. Les ronds correspondent aux femelles et les carrés aux mâles. Les formes noires correspondent aux chats colorés et les noires et blanches, aux chats marqués de blancs.

Adapté de David et al., 2014.

#### c. L'établissement du modèle monogénique tri-allélique

L'analyse des trois familles F1, F2 et F3 a également permis d'établir un ordre de récessivité pour les trois allèles du locus W : W (*White*) >  $W^s$  (*White spotting*) >  $w^+$  (*wild type*).

Ce modèle monogénique à trois allèles a ensuite été confirmé par une étude chez 270 chats. Parmi ceux-là se trouvaient 33 blancs, 94 chats à panachures et 143 entièrement colorés. Ils provenaient de 33 races différentes, 12 parmi elles acceptant le motif blanc et 16 acceptant la présence de panachures. Les chats ont été génotypés pour le locus *W* et les allèles trouvés ont été comparés aux phénotypes observés. Les 33 chats blancs présentaient tous au moins un allèle *W*. Parmi les 94 individus marqués de blancs, un seul avait un génotype ( $w^+/w^+$ ) ne correspondant pas à celui attendu ( $W^s/W^s$  ou  $W^s/w^+$ ). Chez les 143 individus entièrement colorés, 140 présentaient le génotype attendu ( $w^+/w^+$ ) et trois présentaient un autre génotype ( $W^s/W^s$  ou  $W^s/w^+$ ). Deux de ces trois chats étaient cependant de la race Sphynx qui est nue, rendant difficile l'appréciation du phénotype. Bien que la correspondance ne soit pas parfaite, la corrélation était très forte, la valeur p étant inférieure à 0,0001 pour les trois associations phénotype-génotype(s) attendu(s).

Le modèle monogénique tri-allélique du déterminisme de la panachure et du pelage blanc a donc été confirmé. Le locus *W* renfermait le gène *KIT*, sur le chromosome B1. L'allèle blanc dominant *W* était bien dominant à pénétrance complète. *W* était également épistatique dominant : la présence de l'allèle *W* conduit à une absence totale de mélanocytes épidermiques. Elle cache ainsi la couleur de base du chat, sa division et un éventuel patron acromélanique.

## d. L'insertion des fragments de rétrovirus

Comme les autres mammifères, les chats portent dans leur génome des séquences originaires de rétrovirus endogènes, qui se sont greffées dans leur génome au cours d'une infection puis se sont amplifiées par rétrotransposition. En revanche, la plupart des insertions de rétrovirus endogènes se font dans les régions intergéniques et n'ont donc pas de conséquence notable (Medstrand *et al.*, 2002). L'insertion de ces fragments dans l'intron 1 de *KIT* est donc un cas remarquable.

Au vu des séquences obtenues (figure 50), il semblerait que les allèles *W* et *W*<sup>s</sup> soient issus d'un unique épisode d'insertion. Celui-ci aurait conduit à l'obtention de l'allèle *W*<sup>s</sup>, contenant la séquence complète du FERV1. Il aurait ensuite pu y avoir une recombinaison entre les deux LTR, à l'origine de l'allèle *W* (David *et al.*, 2014).

L'insertion de FERV1 des allèles *W* et *W*<sup>s</sup> fragmente une séquence similaire à celle d'un site appelé *KIT DNase Hypersensitive site 2*. Cette séquence est connue chez la souris pour avoir un rôle de régulation des cellules hématopoïétiques, des mélanocytes et des cellules souches embryonnaires et pour être particulièrement conservée. Elle est notamment connue pour

être nécessaire à un fort niveau d'expression de C-KIT (Cairns *et al.*, 2003). La raison pour laquelle l'insertion courte d'un LTR a une action plus importante que l'insertion complète du FERV1 n'est pas connue à ce jour (David *et al.*, 2014).

#### e. Le déterminisme des différents grades de panachure

Comme nous l'avons vu dans la partie II, la diversité des phénotypes de panachures est énorme. Il y a en effet un continuum entre le grade 0 (chat entièrement coloré) et le grade 10 (correspondant à un chat blanc). Comment une telle diversité de phénotypes peut-elle être déterminée par seulement trois allèles ?

Il a été montré par David *et al.* que les homozygotes *W*<sup>s</sup>/*W*<sup>s</sup> avaient tendance à être plus marqués de blancs que les hétérozygotes. En effet, en s'intéressant aux chats van de l'étude (des chats Turc du lac de Van et Japanese Bobtail), l'équipe a observé que 13 des 16 chats fortement marqués étaient homozygotes. Il semblerait donc que les chats possédant les deux allèles *W*<sup>s</sup> aient une panachure blanche plus envahissante que les chats ne possédant qu'une copie de cet allèle. Cela ne suffit cependant pas à expliquer la diversité de panachures présentes chez le chat. D'autres gènes rentreraient ainsi probablement en compte dans le déterminisme de la panachure.

## f. Le cas particulier des gants blancs du Sacré de Birmanie

Des séquençages complets de génome chez le chat, réalisés par Montague *et al.* (2014) ont montré que les Sacré de Birmanie étaient homozygotes pour l'allèle sauvage  $w^+/w^+$ , alors qu'ils avaient tous le motif ganté. La diversité génétique des quatre Sacré de Birmanie de l'étude, au niveau du locus *KIT* était de plus particulièrement faible. Ils ont donc comparé les exons de *KIT* de ces quatre Sacré de Birmanie à ceux de 729 autres chats (409 étant issus de 21 races, cinq autres étant issus d'un parent Sacré de Birmanie et d'un autre chat et enfin 315 n'appartenant pas à une race identifiée). Ils ont ainsi identifié deux mutations faux-sens adjacentes (des SNP : *single nucléotide polymorphism*), compatibles avec le phénotype ganté des Sacré de Birmanie (figure 52).

Afin de confirmer cette hypothèse, Montague et son équipe ont génotypé ces deux SNP chez 150 chats Sacré de Birmanie et les ont comparés à ceux des 729 autres chats. Ils ont ainsi pu observer que tous les Sacré de Birmanie possédaient cette double mutation de manière homozygote. Les cinq chats croisés Sacré de Birmanie de première génération possédaient tous une seule copie de cette mutation mais ne présentaient pas le phénotype ganté. La mutation conduisant à l'expression du motif ganté chez les Sacré de Birmanie était donc récessive. Cette mutation double (c.1035\_1036delinsCA), a pour conséquence de changer deux acides aminés de C-KIT : l'acide aminé 345, à l'origine un glutamate, devient un aspartate, tandis que l'histidine 346 devient une asparagine. Ces changements d'acides aminés affectent le domaine de réception de C-KIT (Montague *et al.*, 2014). Or, il a été montré que des modifications de ce domaine conduisaient à une dissociation anticipée de C-KIT et de son ligand et donc à une réduction de la voie de transduction normalement induite (Blechman *et al.*, 1995).



*<u>Figure 52 :</u> Identification de la mutation responsable des gants chez le sacré de Birmanie Production personnelle, d'après Montague et al., 2014.* 

Ainsi, si la description phénotypique de la panachure chez le chat est ancienne, son déterminisme moléculaire a été élucidé récemment, permettant depuis le génotypage des chats et l'analyse de la corrélation génotype-phénotype.

PARTIE II : ETUDE EXPERIMENTALE

Les travaux de David et ses collaborateurs (David *et al.*, 2014) ont permis d'identifier le déterminisme moléculaire de la panachure blanche chez le chat. Cependant, l'étendue de la panachure n'y était pas étudiée avec précision. A notre connaissance, aucune donnée n'a été publiée sur la corrélation entre le statut génétique d'un chat pour la mutation de *KIT* et l'étendue des taches blanches dans le pelage. Or nous avons vu que cette étendue pouvait être très variable, avec un continuum de panachure blanche, depuis quelques poils blancs jusqu'à une robe uniformément blanche.

Nous nous sommes donc intéressées à la corrélation entre le génotype et le phénotype pour la panachure blanche féline.

# I. Présentation de l'étude

Notre étude a porté sur des chats de différentes races, recrutés sur la base du volontariat. Nous avons également spécifiquement focalisé une partie de notre étude sur le Ragdoll.

# A. Etude de diverses races de chats

Nous avons inclus des données issues de diverses races. Toutes n'étaient pas représentées, pour des raisons pratiques, aucune donnée ne pouvant être obtenue pour certaines races. Nous avons également inclus des cas de fratries ou familles présentant un intérêt particulier pour l'étude de la corrélation génotype-phénotype.

# B. Etude d'une race particulière : le Ragdoll

Le Ragdoll est une race particulièrement intéressante pour l'étude de la panachure. On y retrouve en effet quatre motifs bien distincts : sans panachure, *mitted*, bicolore et van (voir paragraphe III.C.2 de la partie bibliographique). Ces quatre motifs présentent de surcroît une très faible variabilité d'un individu à l'autre, ce qui permet d'établir des catégories et donc un modèle, plus facilement que pour des races chez lesquelles on retrouve un continuum entre les grades 1 et 10.

Le Ragdoll présente également l'avantage de ne pas posséder l'allèle W, responsable de la couleur blanche. Cela présente pour nous un intérêt puisque nous avons utilisé des données issues du laboratoire Genoscoper (MyCatDNA : https://mycatdna.com/), qui utilise la technologie des puces à ADN. Leur technique permet ainsi de repérer la présence du LTR, donc d'une insertion FERV1, signant la présence d'un allèle *W*<sup>s</sup> ou *W*, mais pas de les discriminer.

En outre, le Ragdoll est une race assez répandue, comprenant un grand nombre d'individus et donc de grands échantillons à analyser. En effet, 2700 naissances de chats Ragdoll ont été enregistrées en 2019 en France (LOOF, 2019).

Nous avons donc inclu des données de génotype et de phénotype de Ragdoll. Nous avons également inclu des données de généalogie, afin d'étudier la transmission de l'information codant la panachure à la descendance.

# C. Hypothèses de départ

# 1. Le modèle pour toutes les races

D'après l'étude menée par David et collaborateurs (David *et al.*, 2014), les panachures du chat domestique s'expliquent par la présence de l'allèle  $W^s$  et la robe uniformément blanche par la présence de l'allèle W, comme décrit au paragraphe IV.B.2.c de la partie bibliographique. L'étude de David et collaborateurs a également mis en évidence une corrélation entre le nombre de versions de l'allèle  $W^s$  et l'étendue de la panachure blanche. On aurait donc un modèle monogénique à trois allèles.

L'hypothèse de départ était donc (figure 53) :

- un chat  $w^*/w^*$  présenterait un phénotype sans panachure ;
- un chat w<sup>+</sup>/W<sup>s</sup> présenterait un phénotype bicolore (au sens large) ;
- un chat W<sup>s</sup>/W<sup>s</sup> présenterait un phénotype de blanc envahissant (arlequin ou van) ;
- un chat *W/* présenterait une robe uniformément blanche.



## Figure 53 : Modèle initial pour la corrélation génotype-phénotype, chez toutes les races de chat

Illustration du modèle monogénique à trois allèles, notre hypothèse de départ pour toutes les races de chats.

Production personnelle, d'après David et al., 2014.

#### 2. Les modèles pour la race Ragdoll

#### a. Le modèle monogénique à deux allèles

Chez le Ragdoll, on retrouverait l'hypothèse du modèle monogénique à trois allèles, simplifiée en modèle monogénique à deux allèles, l'allèle *W* étant absent chez le Ragdoll.

Le modèle était donc (figure 54) :

- un chat  $w^*/w^*$  présenterait un phénotype sans panachure ;
- un chat  $w^*/W^s$  présenterait un phénotype *mitted* ou éventuellement bicolore ;
- un chat *W*<sup>s</sup>/*W*<sup>s</sup> présenterait un phénotype bicolore ou éventuellement van.



<u>Figure 54 :</u> Le modèle monogénique à deux allèles pour la panachure du Ragdoll Le modèle monogénique à deux allèles permettrait d'expliquer les différents motifs du Ragdoll. Production personnelle, d'après David et al., 2014.

## b. L'hypothèse du nouvel allèle

Une autre hypothèse circulant sur internet tente d'expliquer le déterminisme génétique de la panachure du Ragdoll. Cette hypothèse est beaucoup relayée par les sites d'éleveurs de Ragdoll, ainsi que par l'Association Française du Ragdoll (AFR, https://www.ragdoll.asso.fr/), mais n'est fondée sur aucune étude scientifique.

D'après cette hypothèse, un nouvel allèle serait spécifique du Ragdoll. Nous allons l'appeler ici  $W^{SR}$  pour le distinguer de  $W^{s}$  (SR pour « allèle S du Ragdoll »). Ce nouvel allèle serait dominant sur les deux autres. Il s'agirait donc d'un modèle monogénique à trois allèles :  $W^{SR}$ >  $W^{s}$  >  $W^{t}$ 

D'après ce modèle (figure 55) :

- un chat  $w^*/w^*$  présenterait un phénotype sans panachure ;
- un chat W<sup>s</sup>/w<sup>+</sup> présenterait un phénotype mitted ;
- un chat W<sup>s</sup>/W<sup>s</sup>, W<sup>SR</sup>/w<sup>+</sup>, ou W<sup>SR</sup>/W<sup>s</sup> présenterait un phénotype bicolore ;
- un chat *W*<sup>*sr*</sup>/*W*<sup>*sr*</sup> présenterait un phénotype van.



#### Figure 55 : L'hypothèse du nouvel allèle

Le modèle monogénique à trois allèles permettrait d'expliquer les différents motifs du Ragdoll. Il est largement présente sur internet mais ne repose sur aucune étude scientifique. W<sup>SR</sup> désigne le nouvel allèle propre au Ragdoll (SR pour « allèle S du Ragdoll »).

Production personnelle, d'après Chevaldin (2018) ; Cosme (2019) ; Franco (2020).

Cette hypothèse du nouvel allèle différencie également les différents types de bicolores : les bicolores  $W^s/W^s$ , sont appelés « faux bicolores », les  $W^{SR}/W^{+}$  sont les « vrais bicolores » et les  $W^{SR}/W^s$  sont appelés « *Mid High White* » (« blanc à mi-hauteur »), (Chevaldin, 2018 ; Cosme, 2019 ; Franco, 2020).

# II. Matériel et méthodes

# A. Recrutement des chats

Les chats ont été recrutés grâce à la collaboration de différents éleveurs et via la diffusion d'un appel relayé par le LOOF (Annexe 1). Les propriétaires ont envoyé spontanément les données de phénotype, de génotype et de pedigree de leurs animaux, qui ont été rassemblées de manière anonyme. Nous avons également consulté les fiches publiques des chats disponibles sur le site du laboratoire Genoscoper (site *MyCatDNA* : http://mycatdna.com/).

# B. Génotypes

Nous avons utilisé les résultats de génotypage du laboratoire Genoscoper, disponibles sur le site *MyCatDNA* (http://mycatdna.com/). Les résultats utilisés étaient uniquement ceux envoyés directement par les propriétaires des animaux ou rendus publiques par les propriétaires sur le site *MyCatDNA*. Pour quelques chats, un résultat de test ADN pour la panachure, effectué auprès du laboratoire VGL (*Veterinary Genetics Laboratory* : https://vgl.ucdavis.edu/) nous a été communiqué de manière volontaire par le propriétaire de l'animal.

Nous avons collecté uniquement les données de génotypage pour le nombre d'insertions de FERV1 dans le gène *KIT*. Pour les analyses ADN réalisées auprès du laboratoire Genoscoper (test *MyCatDNA*), le résultat comprenait une indication du nombre d'insertions FERV1 dans *KIT* mais sans distinguer l'allèle *W*<sup>s</sup> de l'allèle *W*. Pour les analyses ADN réalisées auprès du laboratoire VGL, le résultat indiquait le génotype exact du chat pour le locus *W* (nombre d'allèles  $w^+$ ,  $W^s$  et *W* portés par le chat).

# C. Phénotypes

Pour les Ragdolls, nous avons déterminé le phénotype de panachure de chaque chat en nous basant sur l'information du code EMS disponible pour les chats de race (code *Easy Mind System*, de la FIFe codant la robe des chats : http://fifeweb.org/wp/breeds/breeds\_ems.php). Chaque phénotype a ensuite été vérifié grâce à des photographies du chat publiées soit sur le site *MyCatDNA*, soit sur le site de l'éleveur

Pour les chats des autres races, nous avons déterminé le phénotype en utilisant la classification par grades à partir de photographies publiées sur le site *MyCatDNA*, sur le site de l'éleveur, ou nous ayant été envoyées directement par le propriétaire. Nous avons pris soin de déterminer le grade de panachure avant de prendre connaissance du génotype, afin de ne pas être influencées.

#### **D.** Pedigrees

Les pedigrees des chats nous ont été envoyés directement par les propriétaires ou ont été collectés sur le site *Pawpeds*, une base de données recensant des pedigrees de chats inscrit à un livre des origines et publiés en ligne de manière anonyme par les propriétaires volontaires (https://pawpeds.com/).

## E. Analyses statistiques

Des tests du chi 2 d'adéquation ont été réalisés afin de tester la validité de certaines hypothèses, en comparant la distribution phénotypique observée des chats à la distribution phénotypique théorique. Ces tests du chi 2 ont été réalisés avec un risque  $\alpha$  égal à 0,05.

#### F. Ethique

Le projet de recherche a été soumis au comité d'éthique de VetAgro Sup et a reçu l'avis favorable n° 2129.
# III. Résultats

Nous avons collecté les résultats des test ADN pour le locus *W* (insertion FERV1 dans le gène *KIT*, test MyCatDNA) pour 152 Ragdoll inscrit au LOOF. Parmi ces individus, 14 chats ne présentaient pas de panachure, 62 chats avait un motif *mitted* et 76 chats étaient bicolores.

De plus, nous avons collecté les résultats des tests ADN pour le locus *W* (insertions FERV1 dans le gène *KIT*, tests MyCatDNA ou VGL) pour 385 chats des races suivantes :

- 28 Abyssin et Somali ;
- 30 Bengal ;
- 32 Devon Rex ;
- 24 Sphynx ;
- 149 Maine coon ;
- 122 Sibérien.

Nous avons également collecté les résultats des tests ADN pour le locus *W* (insertions FERV1 dans le gène *KIT*, tests *MyCatDNA* ou VGL) pour huit chats des races suivantes qui ont fait l'objet d'une analyse familiale :

- trois chats Norvégien ;
- un chat Devon Rex ;
- deux chats British shorthair ;
- deux chats Maine coon.

Nous avons collecté les données de généalogie en utilisant les ressources de l'élevage de Val de Beauvoir pour 135 chats et à partir de la base de données Pawpeds pour 720 chats.

#### A. Corrélation génotype-phénotype pour les diverses races

Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau II et la figure 56.

<u>Tableau II :</u> Nombre	d'insertions de	FERV1 en f	onction du	grade de	panachure,	pour des	chats de
diverses races							

Insertions de FERV1 Grade De panachure	0	1	2	Total
1	243	0	0	243
2	3	5	0	8
3	0	25	0	25
4	0	45	1	46
5	0	22	6	28
6	0	6	7	13
7	0	2	5	7
8	0	3	1	4
9	0	0	0	0
10	0	11	0	11
Total	246	119	20	385

Légende : résultats des tests ADN pour le locus W pour 385 chats de diverses races. Parmi les 243 chats sans panachure, la totalité n'avaient aucun allèle portant l'insertion FERV1. Trois des huit chats de grade de panachure égal à 2 n'avaient aucune insertion FERV1, tandis que cinq chats avaient un allèle portant l'insertion FERV1. Pour les 99 chats dont la panachure était gradée entre 3 et 5, 93 % avaient un seul allèle portant l'insertion FERV1 et 7 % possédaient deux allèles portant cette insertion. Pour les 24 chats possédant une panachure de grade supérieur ou égal à 6, 46 % des chats possédaient un seul allèle portant l'insertion FERV1 et 54 % des chats possédaient deux allèles portant l'insertion FERV1.



<u>Figure 56 :</u> Représentation graphique du nombre d'insertions de FERV1 en fonction du grade de panachure, pour des chats de diverses races

Ces résultats ont montré que les 243 chats sans panachure de l'étude étaient de génotype  $w^*/w^*$  et que les 11 chats entièrement blancs testés possédaient une seule insertion FERV1.

Nous avons mis en évidence que la majorité (97,7 %) des chats particolores (n = 131), possédaient au moins un allèle comportant une insertion FERV1. Les trois chats de génotype  $w^{t}/w^{t}$  et portant une panachure ont tous été classés en grade 2 d'après la classification chiffrée, ce qui correspondait à une panachure très discrète.

Nous avons également mis en évidence que parmi les 104 chats portant au moins un allèle possédant une insertion FERV1 et portant une panachure d'un grade compris entre 2 et 5 (soit une panachure ne remontant pas plus haut que la ligne du ventre), 93 % des chats possédaient un seul allèle portant l'insertion FERV1, les autres possédant deux allèles portant l'insertion FERV1. En revanche, parmi les 24 chats possédant une panachure de grade supérieur ou égal à 6 d'après la classification chiffrée, 46 % des chats possédaient un seul allèle portant l'insertion FERV1.

Ainsi, pour résumer nos observations :

- les chats sans panachure étaient tous  $w^*/w^*$ ;
- Les chats *mitted* étaient  $w^*/W^s$  et plus rarement  $w^*/w^*$ ;
- les chats bicolores, arlequins ou van pouvaient être w<sup>+</sup>/W<sup>s</sup> ou W<sup>s</sup>/W<sup>s</sup>, avec une probabilité d'être homozygote qui augmentait avec l'étendue de la panachure ;
- les chats blancs étaient W/w<sup>+</sup> ou W/W.

Ceci en utilisant les données actuelles postulant que  $W > W^{S} > w^{+}$ , qu'un allèle W codait une robe entièrement blanche et que  $W^{S}$  codait une robe marquée de blanc.

# B. Corrélation génotype-phénotype chez le Ragdoll



Les résultats obtenus sont présentés dans la figure 57.

#### Figure 57 : Nombre d'insertions du FERV1 en fonction du phénotype, chez 152 Ragdoll

Parmi les 152 Ragdoll génotypés pour la panachure blanche, les 14 chats sans panachures ne possédaient aucune copie de l'insertion FERV1, les 62 chats mitted possédaient une unique insertion et les 76 chats bicolores possédaient soit une insertion (12 %), soit deux insertions (88 %).

Ces résultats ont révélé que les 14 chats sans panachure de l'étude étaient de génotype  $w^*/w^*$ , tandis que tous les chats marqués de blancs (n = 138) possédaient au moins un allèle comportant une insertion FERV1.

Nous avons mis en évidence que tous les chats *mitted* (n = 62) possédaient un unique exemplaire de l'insertion FERV1. En revanche, les chats bicolores (n = 76) pouvaient posséder l'insertion en un ou deux exemplaires, avec des proportions respectives de 12 % et de 88 %.

#### C. Analyse de la transmission de la panachure chez le Ragdoll

#### 1. Analyse des données d'une famille de Ragdoll

L'analyse de croisements, effectuée à partir de photographies de portées postées sur des sites d'éleveurs, a permis d'observer que, lors d'un croisement entre un Ragdoll bicolore et un Ragdoll sans panachure, on obtenait en général soit uniquement des chatons *mitted*, soit des chatons sans panachures et des chatons bicolores.

L'élevage du Val de Beauvoir a aimablement accepté de nous laisser utiliser ses données, en certifiant que les photos et données publiées sur leur site étaient conformes à la réalité. L'élevage possédait un seul mâle, Floyd de Gailande, bicolore, qui a été accouplé à quatre femelles. Parmi elles, une chatte était de phénotype sans panachure, deux chattes étaient *mitted* et une chatte était de phénotype bicolore. Floyd de Gailande a engendré 135 chatons pour 28 portées différentes. Les phénotypes observés sont présentés dans la figure 58.



# <u>Figure 58 :</u> Phénotype observé pour les chatons de Floyd de Gailande en fonction du phénotype de la mère

Les phénotypes observés sont donnés en pourcentages. D'après les données de la Chatterie du Val de Beauvoir, avec l'aimable autorisation de Danièle Clabecq.

Floyd de Gailande avait donné naissance à des chatons sans panachure, il possédait donc au moins un allèle  $w^{\star}$  et était donc un bicolore hétérozygote.

Nous avons observé que parmi les 17 chatons issus de Floyd et d'une mère sans panachure, 41 % étaient sans panachure (n = 7), aucun n'était *mitted* (n = 0) et 59 % étaient bicolores (n = 10).

Pour les chatons issus de Floyd et d'une mère *mitted* (n = 77), 26 % étaient sans panachure (n = 20), 30 % étaient *mitted* (n = 23) et 44 % étaient bicolores (n = 34).

Pour les chatons nés de Floyd et d'une mère bicolore (n = 41), aucun n'était sans panachure (n = 0), 51 % étaient *mitted* (n = 21) et 49 % étaient bicolores (n = 20).

Nous avons effectué un test du chi 2 pour vérifier l'hypothèse que le Ragdoll se comportait comme les autres races, c'est-à-dire que  $W^{S}$  était dominant à pénétrance complète. Nous avons séparé d'une part les bicolores et les *mitted* (donc tous les chats possédant une panachure) et d'autre part les chats sans panachure, issus de Floyd et d'une mère sans panachure, puis nous avons comparé les phénotypes des chatons produits aux phénotypes attendus. Nous avons obtenu un chi2 de 2,76, inférieur au chi2 de référence (3,84), la différence de proportions était donc non statistiquement significative, pour un risque  $\alpha = 0,05$  (tableau III).

<u>Tableau III :</u> Effectifs de chatons avec et sans panachure dans la descendance d'un accouplement entre un mâle Ragdoll bicolore et des femelles sans panachure

	Avec panachure	Sans panachure	Total
Observés	7	10	17
Théoriques	8,5	8,5	17

Ce résultat nous a permis de conclure que dans ces accouplements de Ragdoll analysés, le déterminisme génétique de la panachure était identique à celui observé dans les autres races de chat.

#### 2. Analyse globale chez le Ragdoll.

Nous nous sommes intéressées au phénotype de chatons nés lors de croisements entre un chat sans panachure (supposé homozygote sauvage  $w^+/w^+$ ) et un chat hétérozygote bicolore (n = 226), ainsi qu'entre un chat sans panachure (supposé homozygote sauvage  $w^+/w^+$ ) et un chat *mitted* (n = 276), supposé hétérozygote d'après les résultats obtenus en I.C.2. Pour les chats hétérozygotes bicolores, nous avons sélectionné des chats bicolores issus d'un parent bicolore et d'un parent sans panachure (donc homozygote sauvage  $w^+/w^+$ ). Pour sélectionner les individus à inclure dans l'étude, nous avons utilisé l'outil de recherche de *Pawpeds*, qui nous a permis de cibler le phénotype voulu. Les chats ont ensuite été sélectionnés aléatoirement, en limitant à trois le nombre de chats avec le même affixe, afin d'éviter d'avoir des chats issus des mêmes lignées et donc avec un patrimoine génétique similaire.

Les résultats sont présentés dans le tableau IV et la figure 59.

Phénotype des chatons Croisements	Sans panachure	Mitted	Bicolore	Total
Bicolore x sans panachure	120	3	103	226
Mitted x sans panachure	145	125	6	276
Mitted x mitted	55	111	52	218

Légende : dans ce tableau, les chats bicolores et mitted étaient tous supposés hétérozygotes w<sup>+</sup>/W<sup>s</sup> car issus d'un parent sans panachure.



# Figure 59 : Représentation graphique de l'analyse de croisements chez le Ragdoll

Analyse de croisements chez le Ragdoll, entre des chats bicolores (supposés hétérozygotes  $w^+/W^{s}$ ), des chats sans panachure (supposé homozygote sauvage  $w^+/w^+$ ), des chats mitted (supposés hétérozygotes). Pour les chats bicolores, nous avons sélectionné des chats issus d'un parent bicolore et d'un parent sans panachure, afin de n'avoir que des bicolores hétérozygotes.

Nous avons observé que les croisements d'un chat sans panachure avec un chat avec panachure (*mitted* ou bicolore) hétérozygote avaient engendré 265 chatons sans panachure et 237 chatons avec panachure (*mitted* ou bicolore). Nous avons comparé ces proportions observées aux proportions théoriques attendues sous l'hypothèse d'un mode de transmission autosomique dominant à pénétrance complète de l'allèle de panachure. Les données sont présentées dans le tableau V.

<u>Tableau V :</u> Effectifs de chatons avec et sans panachure dans la descendance de Ragdoll particolores
hétérozygotes accouplés à des Ragdoll sans panachure

	Avec panachure	Sans panachure	Total
Observés	237	265	502
Théoriques	251	251	502

Nous avons obtenu un chi2 de 1,56, inférieur au chi2 de référence (3,84), la différence de proportions était donc non statistiquement significative, pour un risque  $\alpha$  = 0,05. Ce résultat nous a permis de conclure que dans ces accouplements de Ragdoll analysés, le déterminisme génétique de la panachure était identique à celui observé dans les autres races de chat et identique à celui observé dans l'élevage Val de Beauvoir (tableau V).

Pour les croisements entre un parent sans panachure (supposé homozygote sauvage  $w^{+}/w^{+}$ ) et un parent *mitted*, nous avons observé six chatons bicolores (soit une proportion de 2,2 %), 125 chatons *mitted* (45,3 %) et 145 chatons sans panachure (52,5 %).

Pour les croisements entre un parent sans panachure (supposé homozygote sauvage  $w^{+}/w^{+}$ ) et un parent bicolore hétérozygote, nous avons observé 103 chatons bicolores (45,6 %), trois chatons *mitted* (1,3 %) et 120 chatons sans panachure (53,1 %).

Pour les croisements entre deux chats *mitted*, nous avons recensé 52 chatons bicolores (23,9 %), 111 chatons *mitted* (50,9 %) et 55 chatons sans panachure (25,2 %).

Ces résultats nous ont indiqué qu'un chat possédant un seul allèle muté pouvait être soit bicolore soit *mitted*, mais également que les individus dans sa descendance héritant de cet allèle muté étaient en grande majorité du même motif de panachure.

En effet, pour les chatons issus du croisement entre un chat *mitted* et un chat sans panachure (supposé homozygote sauvage  $w^+/w^+$ ), nous avons observé que les chatons portant du blanc (n = 131) étaient à 95,4 % de phénotype *mitted* (n = 125).

Pour les chatons issus du croisement entre un chat bicolore hétérozygote et un chat sans panachure (supposé homozygote sauvage  $w^+/w^+$ ), les chatons portant du blanc (n = 105) étaient en grande majorité (97,2 %) de phénotype bicolore (n = 103).

Nous avons effectué un test du chi2 afin d'objectiver cette transmission préférentielle du motif de panachure à la descendance, c'est-à-dire le fait que les chatons portant une panachure et issus d'un parent *mitted* et d'un parent sans panachure étaient essentiellement *mitted* et que les chatons portant une panachure et issus d'un parent bicolore hétérozygote et d'un parent sans panachure étaient essentiellement bicolores. Nous avons donc émis comme hypothèse H0 que les chatons issus d'un parent sans panachure et d'un parent *mitted* ou bicolore hétérozygote étaient soit *mitted* soit bicolore, sans préférence pour l'un ou l'autre de ces motifs (effectifs théoriques attendus de 50 % pour chaque catégorie de panachure). Nous avons obtenu des chi2 de 108,1 et 94,4 respectivement, très supérieurs au chi2 de référence (3,84). L'hypothèse H0 était donc rejetée, pour un risque  $\alpha = 0,05$ . La différence observée était statistiquement significative (tableaux VI et VII).

Tableau VI : Effectifs de chatons mitted et bicolores dans la descendance	e de Ragdoll mitted et de
Ragdoll sans panachure	

	Mitted	Bicolore	Total
Observés	125	6	131
Théoriques	65 <i>,</i> 5	65 <i>,</i> 5	131

<u>Tableau VII :</u> Effectifs de chatons mitted et bicolores dans la descendance de Ragdoll bicolore et de Ragdoll sans panachure

	Mitted	Bicolore	Total
Observés	3	103	106
Théoriques	53	53	106

Nous avons donc conclu qu'il y avait une transmission préférentielle du motif de panachure à la descendance par le parent hétérozygote.

# **D.** Cas particuliers

Nous nous sommes intéressés à quelques cas particuliers de chats, dont les éleveurs nous ont envoyés les données familiales, car leur phénotype ne correspondait pas à celui attendu.

# **1.** Une chatte Norvégienne noire et blanche génotypée $w^*/w^*$

Le premier cas était celui de Royina, une chatte Norvégienne née de deux parents sans panachure. Sa mère, Gatina, était noire et avait été genotypée  $w^+/w^+$  pour le gène *KIT*. Son père était Hurricane, un chat *black silver tabby*, également génotypé  $w^+/w^+$ . L'identité des parents avait été vérifiée par contrôle de filiation. Gatina et Hurricane ont eu trois chatons : un mâle *black silver blotched tabby*, un mâle *brown blotched tabby* et une femelle, Royina, noire et blanche. Royina possédait quatre gants blancs et un médaillon. Elle avait été testée pour le gène *KIT* et était  $w^+/w^+$  (figure 60).



Royina Asha de Leinoya  $w^{\dagger}/w^{\dagger}$ 

Risam Asha de Leinoya

Romik Asha de Leinoya

#### Figure 60 : Arbre généalogique de Royina, chatte w<sup>+</sup>/w<sup>+</sup> marquée de blanc

Royina est une chatte de génotype  $w^*/w^*$  mais possédant quatre gants blancs et un médaillon. Ses parents et ses frères sont tous sans panachure. Les ronds correspondent aux femelles et les carrés aux mâles. Les formes bleu foncé correspondent aux chats colorés et les bleues et blanches, aux chats marqués de blancs. Les résultats du génotypage pour KIT sont notés sous le chat, lorsque l'analyse a été réalisée.

Photos fournies par les propriétaires de Royina et de Hurricane.

Nous avions ici un chat marqué de blanc, mais qui n'était pas porteur de l'allèle W<sup>s</sup> responsable de la panachure.

## 2. Une chatte Devon rex *cinnamon* et blanc génotypée $w^*/w^*$

Ozalie était un chatte Devon rex de couleur *cinnamon* et blanc. Elle possédait un médaillon ainsi que des gants blancs aux membres pelviens. Elle avait été testée pour le gène *KIT* et était  $w^+/w^+$ . Elle a eu deux chatons avec un mâle sans panachure (supposé homozygote sauvage  $w^+/w^+$ ). L'un de ses deux chatons est né avec un médaillon blanc (figure 61).



#### <u>Figure 61 :</u> Parenté de Ozalie, chatte $w^*/w^*$ marquée de blanc

Ozalie était une chatte  $w^*/w^*$  mais possédant deux gants blancs et un médaillon. Elle a eu deux chatons dont l'un était marqué d'un médaillon tandis que l'autre ne portait pas de panachure. Les ronds correspondent aux femelles, les carrés aux mâles et les losanges aux chats dont le sexe est indéterminé. Les formes bleu foncé correspondent aux chats colorés et les bleues et blanches, aux chats marqués de blancs. Le résultat du génotypage pour W est noté sous le chat, lorsqu'il a été réalisé. Photos fournies par la propriétaire d'Ozalie.

Nous avions donc ici une chatte marquée de blanc, mais qui n'était pas porteuse de l'allèle *W*<sup>s</sup> responsable de la panachure, ayant engendré un chaton également marqué de blanc (médaillon).

# **3.** Deux frères British shorthair chocolat et blanc, au phénotype semblable pour la panachure mais au génotype différent pour le gène *KIT*

Pepito et Qa Puccino étaient deux chats *British shorthair* de couleur chocolat et blanc, issus d'une même portée. Ils avaient tous les deux une panachure de type bicolore en classification simplifiée ou de grade 5 en classification chiffrée, c'est-à-dire une panachure envahissant les quatre membres, le ventre et le cou. Pepito a été génotypé  $W^s/W^s$  pour le gène *KIT*, tandis que Qa Puccino a été génotypé  $W^s/w^{+}$  (figure 62).



<u>Figure 62 :</u> Deux chats British shorthair issus d'une même portée, au phénotype semblable pour la panachure, mais au génotype différent pour le gène KIT

#### a. Pepito ; b. Qa Puccino

Pepito et Qa Puccino étaient tous deux chocolat et blanc, avec une panachure similaire de grade 5. Pepito était homozygote  $W^s/W^s$  tandis que Qa Puccino était hétérozygote  $W^s/W^*$ .

Ces deux chats possédant un génotype différent pour *W* avaient un phénotype de panachure similaire.

# 4. Une chatte blanche issue d'un parent bicolore et d'un parent sans panachure

Oh My God était une chatte Maine coon blanche. Son père était noir et blanc bicolore et sa mère était *brown tabby*. Un contrôle de filiation a été réalisé et a confirmé la parenté. Oh My God a été testée pour W et a été génotypée  $w^+/W$ . Son père a été génotypé  $w^+/W^{s}$  (figure 63).



Oh My God *w⁺/W* 

#### Figure 63 : Oh My God, chatte blanche née d'une mère sans panachure et d'un père bicolore

Oh My God était entièrement blanche et a été génotypée w<sup>+</sup>/W. Aucun de ses parents ne possédait l'allèle W. Les ronds correspondent aux femelles et les carrés aux mâles. Les formes bleu foncé correspondent aux chats colorés les bleues et blanches, aux chats marqués de blancs et les blanches correspondent aux chats blancs. Le résultat du génotypage pour KIT est noté sous le chat, lorsqu'il a été réalisé.

Photos fournies par la propriétaire.

Ainsi, la chatte Oh My God était issue d'un parent bicolore testé  $w^+/W^s$  et d'un parent sans blanc alors qu'elle-même était uniformément blanche et testée  $w^+/W$ .

# **IV.** Discussion

# A. Panachure chez les diverses races de chats

## 1. Biais et limites de l'étude

Un premier biais de cette étude est le nombre limité de races inclues. En effet, la plupart de nos données ont été obtenues grâce à des éleveurs qui nous ont donné accès à la page de leurs chats sur le site du laboratoire Genoscoper (*MyCatDNA*), ce qui nous permettait ensuite d'accéder aux fiches publiques des chats de la même race.

Signalons également que seuls des chats de race ont été inclus, les chats de maison sans pedigree n'étant quasiment jamais génotypés.

Un second biais est dû à la répartition de la panachure dans les races étudiées. Nous avons en effet essentiellement cumulé des données sur des chats sans panachure, beaucoup moins sur des chats légèrement marqués de blancs et encore moins sur des chats à la panachure envahissante, ou sur des chats entièrement blancs. Nos résultats sont ainsi moins représentatifs pour les robes fortement marquées de blancs.

Une autre limite de l'étude a été que les données de génotypage collectées étaient essentiellement issues du laboratoire Genoscoper (*MyCatDNA*), qui ne discriminait pas l'allèle  $W^{S}$  de l'allèle W. Cependant, ayant eu accès aux photos des chats et aucun chat blanc n'ayant été observé avec plus d'une insertion FERV1, nous avons été confiants dans le fait que les chats avec panachure et homozygotes pour une insertion FERV1 étaient des homozygotes  $W^{S}/W^{S}$  et les chats uniformément blancs et hétérozygotes étaient de génotype  $w^{+}/W$  et pas  $w^{+}/W^{S}$ . Notons de plus que les mariages entre chats blancs étant interdits par de nombreuses fédérations félines, dont le LOOF (Livre Officiel des Origines Félines, www.loof.asso.fr), du fait d'un risque accru de surdité, il était normal que nous n'ayons observé aucun chat blanc homozygote pour l'insertion FERV1.

# 2. Panachure, blanc et insertion FERV1 dans les diverses races

Nous avons pu observer une corrélation presque parfaite entre la présence d'une insertion FERV1 et la présence de blanc dans la robe des chats de l'étude, que ce soit une panachure ou une couleur entièrement blanche. En effet, aucun des 243 chats sans panachure de l'étude ne possédait d'allèle portant l'insertion FERV1. En revanche, la quasi-totalité (98 %) des 142 chats blancs ou particolores portaient au moins un exemplaire de l'insertion FERV1. Pour les trois chats portant une panachure mais n'ayant aucun allèle porteur de l'insertion FERV1, ils avaient tous une panachure très discrète, restreinte au bout des doigts.

Notons de plus, que pour certains cas de familles atypiques pour lesquelles nous avons pu collecter de l'information, les chats avec une panachure et testés  $w^{+}/w^{+}$  avaient tous une

panachure très minimale localisée au niveau des doigts ou du poitrail (médaillon ou *locket*), (figures 60 et 61). Notons d'ailleurs que ces chats, lorsqu'ils sont enregistrés au LOOF sont enregistré comme "sans panachure" (www.loof.asso.fr). L'origine de cette panachure minimale reste inconnue à ce jour.

Il est intéressant de noter cette corrélation presque parfaite entre la présence d'une insertion FERV1 (et donc probablement de  $W^{S}$ ) et la panachure. Ce modèle est en effet plutôt simple si on le compare à celui de la panachure blanche chez d'autres espèces.

Chez le chien tout d'abord, il a été montré que le déterminisme de la panachure était complexe. La plupart des panachures étaient déterminées par le gène *MITF* (*Melanocyte Inducing Transcription Factor* ou *Microphthalmia-Associated Transcription Factor*) dont les mutations causales n'ont toujours pas été totalement identifiées (Baranowska Körberg *et al.,* 2014 ; Schmutz *et al.,* 2009 ; Karlsson *et al.,* 2007). Le mode de transmission de cette panachure canine due à *MITF* a de plus été montré variable selon les races (Schmutz *et al.,* 2009). En plus de *MITF,* il a été mis en évidence le gène *SILV* (*Silver*) comportant de très nombreux allèles dont certains à l'état homozygote déterminaient une décoloration blanche envahissante (phénotype "double merle" ; Varga *et al.,* 2020 ; Langevin *et al.,* 2018 ; Clark *et al.,* 2006). Des mutations de *KIT* ont également été décrite chez le berger Allemand et le braque de Weimar et associées à un phénotype marqué de blanc (Wong *et al.,* 2013 ; Gerding *et al.,* 2013).

Chez le cheval, il a été montré que le déterminisme de la panachure était très complexe, puisque près de 30 mutations de *KIT* ont été identifiées comme responsables d'un marquage blanc. Il a également été mis en évidence que des mutations de *PAX3* (*Paired Box 3*), de *MITF*, de *TRPM1* (*Transient Receptor Potential Cation Channel Subfamily M Member 1*) et *RFWD3* (*Ring Finger And WD Repeat Domain 3*) étaient impliquées dans le déterminisme de certains types de panachures (Haase *et al.*, 2007 ; Hauswirth *et al.*, 2012 ; Henkel *et al.*, 2019 ; Bellone *et al.*, 2013 ; Holl *et al.*, 2016).

Ainsi, chez le chat domestique, le déterminisme génétique de la panachure semble beaucoup moins complexe que dans d'autres espèces domestiques.

# 3. Corrélation génotype phénotype dans les diverses races

Nous avons également pu observer une corrélation entre le nombre d'insertions du FERV1 et l'étendue de la panachure, chez les chats marqués de blanc. En effet, les 104 chats portant une panachure de grade maximal 5 d'après la classification chiffrée (soit des chats bicolores dont la panachure ne remontait pas plus haut que le ventre) possédaient en grande majorité (93 %) un seul allèle portant l'insertion FERV1. Cette fréquence diminuait ensuite à moins de 50 % chez les 24 chats portant une panachure de grade supérieur à 5 (donc des chats bicolores fortement marqués de blanc, des arlequins et des vans). En effet, 54 % des chats portant une panachure envahissant plus de 60 % de la surface du corps possédaient deux allèles porteurs de l'insertion FERV1. Il semblait donc y avoir une corrélation entre le nombre d'allèles porteurs

de l'insertion FERV1 et l'étendue de la panachure, celle-ci augmentant chez les homozygotes  $W^{S}/W^{S}$  (figure 64).





La séparation n'était cependant pas nette entre les différents motifs de panachure, d'une part parce qu'on avait un continuum dans l'étendue de la panachure et d'autre part car les résultats ne permettaient pas de séparer clairement les différents phénotypes.

# B. Panachure chez le Ragdoll

## 1. Présence d'une panachure et insertion FERV1 chez le Ragdoll

Une première observation à souligner ici est que l'insertion FERV1 était bien présente chez les Ragdoll que nous avons étudiés. Nous avons également identifié, dans notre cohorte de Ragdoll testés pour la panachure, une corrélation parfaite entre la présence de l'insertion FERV1 et la panachure. En effet, les 138 Ragdoll de l'étude portant une panachure possédaient l'insertion FERV1. A l'opposé, aucun des 14 Ragdoll sans panachure ne possédait un allèle portant l'insertion FERV1. Un test du chi2 nous a également permis de confirmer que *W*<sup>s</sup> se comportait chez le Ragdoll comme chez les autres races félines (tableau III).

# 2. Corrélation génotype phénotype chez le Ragdoll

#### a. Biais et limite de l'étude

Les Ragdoll appartenant à notre cohorte de chats testés pour le nombre d'insertions de FERV1 étaient essentiellement des chats gardés comme reproducteurs dans des élevages. Nous avions donc ici un biais de recrutement, puisque les Ragdoll ayant une panachure ne correspondant pas aux critères de sélection des éleveurs avaient généralement été écartés de la reproduction. Pour cette même raison, nous n'avons observé aucun Ragdoll van dans notre cohorte. Ce motif est en effet peu apprécié et reconnu uniquement comme « nouvelle couleur » en France (www.loof.asso.fr). Les Ragdoll van sont donc rarement conservés comme reproducteurs et donc peu fréquemment testés avec l'outil *MyCatDNA*.

#### b. Nombre d'insertions du FERV1 et étendue de la panachure

Nous avons pu observer une corrélation entre le nombre d'insertion FERV1 et l'étendue de la panachure, chez le Ragdoll. Il semblerait qu'un individu possédant deux insertions du FERV1 ait en moyenne une panachure plus envahissante qu'un individu ne possédant qu'une seule insertion FERV1. En effet, les 62 chats *mitted* de l'étude possédaient un unique exemplaire de l'insertion FERV1. En revanche les 76 chats bicolores pouvaient avoir un ou deux allèles portant l'insertion FERV1, avec des proportions respectives de 12 % et de 88 % (figure 65).



#### Figure 65 : Corrélation génotype-phénotype pour la panachure chez le Ragdoll

Les génotypes observés pour chaque phénotype sont notés dans le tableau de droite. Les Ragdoll sans panachure ne possédaient aucune insertion de FERV1, les mitted possédaient tous une unique insertion de FERV1 et les bicolores en possédaient soit deux soit une seule, avec des proportions respectives de 88 % et 12 %.

Production personnelle.

Cette observation ne permettait cependant pas d'expliquer la grande stabilité de l'étendue et de la répartition de la panachure d'un individu à l'autre chez le Ragdoll. En effet, au sein d'un groupe de chats possédant le même motif, la répartition de la panachure était homogène, contrairement aux autres races de chats ou la diversité d'étendue et de motifs de la panachure était bien plus importante. Différentes hypothèses peuvent être envisagées pour expliquer cette répartition de la panachure (voir partie IV.B.4 ci-dessous).

#### 3. Analyse de la transmission de la panachure chez le Ragdoll

#### a. Biais et limite de l'étude

Une des limites de la sélection des données de phénotype et de pedigree des chats sur le site *Pawpeds* était l'impossibilité de vérifier l'exactitude des données publiées sur le site et notamment le phénotype des individus. La quasi-absence de chats van (cinq chats sur 61786 enregistrés dans la base de données) était notamment à souligner. Elle pouvait s'expliquer par

le fait que, ce motif étant plutôt rejeté par les éleveurs, le code EMS de ces chats soit erroné et qu'ils soient enregistrés en tant que bicolores. Il est également à souligner que les Ragdoll étant des chats *colorpoint*, leurs flancs sont presque blancs. Il a donc pu être difficile de distinguer un bicolore d'un van pour le propriétaire de l'animal.

#### b. Transmission préférentielle d'un motif de panachure chez le Ragdoll

Nous avons observé qu'un chat possédant un seul allèle muté pouvait être soit bicolore soit *mitted*, mais que les chatons dans la descendance d'un reproducteur hétérozygote étaient en grande majorité du même motif de panachure que le parent hétérozygote (soit bicolore, soit *mitted*), ce qui a été confirmé par un test du chi2 (tableaux V à VII). Plusieurs hypothèses pourraient expliquer cette situation. Nous les avons présentées dans la partie IV.B.4 ci-dessous.

# 4. Comment expliquer la transmission préférentielle d'un motif de panachure chez le Ragdoll ?

# a. L'hypothèse d'un nouveau gène

Pour expliquer nos résultats, on pourrait tout d'abord imaginer qu'un gène autre que *KIT* soit impliqué dans le déterminisme de la panachure blanche chez le Ragdoll. En effet, les gènes impliqués dans la survie, la multiplication, la migration et la différenciation des mélanocytes sont très nombreux (voir I.A. de la partie 1) et sont autant de candidats pour porter une nouvelle mutation. On pourrait ainsi imaginer que la panachure soit gouvernée d'une part par l'allèle  $W^{S}$  du gène *KIT* et d'autre part par un autre allèle sur un autre locus. Cela se rapprochait du modèle du déterminisme de la panachure blanche du chien ou du cheval, chez qui plusieurs locus ont été impliqués (voir paragraphe IV.A.2. au-dessus). Cette hypothèse n'est cependant pas cohérente, puisque la totalité des 138 Ragdoll génotypés portant de la panachure portaient au moins un exemplaire de l'insertion FERV1, supposée provenir de  $W^{S}$ . En effet, dans le cas où un autre gène aurait été impliqué dans la panachure, on se serait attendu à avoir des chats  $w^{+}/w^{+}$  avec de la panachure.

## b. L'hypothèse d'un nouvel allèle

Une autre hypothèse permettant d'expliquer nos résultats serait qu'un nouvel allèle du gène *KIT* serait apparu chez le Ragdoll (voire dans d'autres races de la population féline). Cet allèle contiendrait l'insertion FERV1 et conduirait à un phénotype bicolore chez des individus hétérozygotes, contrairement à l'allèle  $W^S$ , qui conduirait à un phénotype *mitted* à l'état hétérozygote. On aurait donc un cas d'hétérogénéité allélique où un même phénotype (le phénotype bicolore) pourrait être obtenu par trois combinaisons génétiques différentes : une homozygotie  $W^S/W^S$ , une hétérozygotie  $w^r/W^{SR}$  ( $W^{SR}$  désignant le nouvel allèle propre au Ragdoll) ou une hétérozygotie composite  $W^S/W^{SR}$  (figure 66).



# <u>Figure 66</u> : Corrélation génotype-phénotype sous l'hypothèse de la présence d'un nouvel allèle W<sup>sR</sup> chez le Ragdoll

L'hypothèse d'un nouvel allèle pourrait expliquer la présence de bicolores hétérozygotes et d'une transmission préférentielle du motif de panachure. On aurait alors les Ragdoll sans panachure qui seraient w<sup>+</sup>/w<sup>+</sup>, les Ragdoll mitted qui seraient w<sup>+</sup>/W<sup>S</sup> et les Ragdoll bicolores qui pourraient être soit  $W^{S}/W^{S}$ , soit w<sup>+</sup>/ $W^{SR}$ , soit  $W^{S}/W^{SR}$  ( $W^{SR}$  désignant le nouvel allèle propre au Ragdoll). Production personnelle.

Ce modèle expliquerait que les chatons issus d'un parent bicolore hétérozygote et d'un parent homozygote sauvage et portant une panachure blanche, soient bicolores et non *mitted*, puisque porteurs de ce nouvel allèle  $W^{SR}$  et non de l'allèle  $W^{S}$ .

# c. Un allèle W<sup>s</sup> identique dont l'expression est modifiée

Une autre hypothèse qui permettrait d'expliquer nos résultats serait que le même allèle W<sup>S</sup> soit présent chez tous les Ragdoll portant une panachure, mais que son expression soit modifiée.

#### • Une expression modulée par des séquences régulatrices

On pourrait tout d'abord avoir des séquences régulatrices qui moduleraient l'expression de  $W^{s}$ . Les séquences régulatrices sont des séquences d'ADN non-codant qui permettent la fixation de facteurs spécifiques de transcription qui sont des protéines qui agissent sur le promoteur du gène pour stimuler, ou au contraire, inhiber la transcription d'un gène. Ces séquences sont appelées *enhancer* (en anglais, « amplificateur ») lorsqu'elles recrutent des facteurs activateurs et *silencer* (en anglais, « inhibiteur ») lorsqu'elles recrutent des facteurs inhibiteurs (figure 67 ; Hanna *et al.*, 2005).



Figure 67 : Modulation de la transcription d'un gène par des séquences régulatrices

Les séquences régulatrices, les enhancers et les silencer, sont des séquences capables respectivement d'activer ou d'inhiber la transcription et donc l'expression d'un gène. Pour cela, elles recrutent des facteurs spécifiques de transcription, activateurs ou inhibiteurs, qui se lient au promoteur et modulent son activité.

Production personnelle, d'après Levine et Tjian, 2003.

Les séquences régulatrices sont connues notamment en médecine où elles jouent un rôle majeur dans la gravité de certaines affections, comme la myopathie de Duchenne, la mucoviscidose ou l'ataxie-télangiectasie (Grange, 2016). Pour ce qui est de la pigmentation, il a été montré chez la drosophile (Gdula *et al.*, 1996 ; Rebeiz et Williams, 2017) et chez la souris (Murisier et Beermann, 2006) que des séquences régulatrices modulaient la coloration du

corps. Il a également été montré chez l'Homme, la souris, le chien et le chat que certains cas de polydactylie étaient dus à des mutations d'une séquence appelée *ZRS* (acronyme de « *ZPA Regulatory Sequence* » ou « Séquence de Régulation de la ZPA », ZPA étant l'acronyme de « *Zone of Polarizing Activity* », ou « zone d'activité polarisante »). La séquence *ZRS* a été identifiée comme une séquence régulatrice de l'expression du gène *SHH* (*Sonic Hedgehog*). Le gène *SHH* code une molécule de signalisation impliquée dans la structuration des membres et le nombre de doigts. Lorsque des mutations sont présentes dans la séquence *ZRS*, qui se trouve à longue distance du gène *SHH* qu'elle régule, l'expression de *SHH* est perturbée et conduit à l'ajout de doigts sur le membre, lors du développement embryonnaire (Lettice *et al.*, 2008).

Il serait donc possible d'avoir une ou plusieurs mutations dans une séquence régulatrice de *KIT*, ce qui modifierait son expression et donc l'étendue de la panachure. Pour que cette hypothèse soit valable, il faudrait cependant que la séquence régulatrice portant la mutation soit située sur le même chromosome que *KIT*, donc que les séquences soient liées. Il faudrait également que *KIT* et la séquence régulatrice mutées soient situées à proximité, pour expliquer le pourcentage très faible de recombinaisons (entre 2,8 % et 4,6 % d'après les résultats obtenus dans la partie II.C.2.), (figures 68 et 69).



# <u>Figure 68 :</u> Recombinaison génétique en fonction de la localisation du locus W et d'une éventuelle séquence régulatrice

Recombinaison génétique de W et d'une éventuelle séquence régulatrice en fonction de leur localisation. Si les deux locus sont sur des chromosomes différents, ils sont dits indépendants : il y a alors 50 % de recombinaisons, dues au brassage inter-chomosomique. Si les deux locus sont sur le même chromosome et relativement proches, les recombinaisons sont dues au brassage intrachromosomique et donc à d'éventuels crossing-over. Plus les locus sont éloignés, plus la probabilité d'un crossing-over entre eux est élevée et donc plus la proportion de gamètes recombinés sera importante. SR M = séquence régulatrice mutée ; SR NM = séquence régulatrice non mutée. Le locus W est situé sur le chromosome B1 félin.

Production personnelle, d'après Klug et al., 2006.



#### Figure 69 : Conséquences d'une recombinaison entre W et une éventuelle séquence régulatrice

Résultats du croisement entre un homozygote sauvage et un bicolore hétérozygote, qui d'après l'hypothèse de la séquence régulatrice possèderait un allèle W<sup>s</sup> et une séquence régulatrice mutée. Les chatons issus des gamètes recombinés du parent bicolore seraient mitted ou sans panachure, alors que les chatons issus des gamètes non recombinés du parent bicolore seraient bicolores ou sans panachure. Les étoiles indiquent que les allèles sont hérités du parent bicolore. Les éclairs indiquent que les allèles sont hérités du parent homozygote sauvage. Les résultats de croisements obtenus sont indiqués à droite du schéma. SR M = séquence régulatrice mutée ; SR NM = séquence régulatrice non mutée. Production personnelle.

#### • Une expression modulée par des modifications épigénétiques

Des modifications épigénétiques pourraient également être impliquées et moduler l'expression de *KIT*. L'épigénétique étant un domaine très vaste, nous ne développerons pas cette partie ici.

#### • Une expression modulée par des gènes modificateurs

Il a été montré que les gènes modificateurs étaient des gènes capables d'influencer l'expression phénotypique d'un autre gène. Les gènes modificateurs permettaient d'expliquer la variabilité phénotypique de nombreux caractères. Ils ont notamment été beaucoup étudiés dans le cas des maladies héréditaires. Pour certaines de ces maladies, en effet, on a observé une grande variabilité de leur pénétrance, de leur expressivité (de leur sévérité), dues à des gènes modificateurs. Ces gènes modificateurs pouvaient être plusieurs, se combiner et ainsi modifier le phénotype. Les gènes modificateurs codent des protéines affectant le phénotype de la maladie due au gène causal, en interagissant soit directement sur la même voie biologique soit sur une voie biologique alternative, de manière fonctionnelle et/ou quantitative, en compensant ou au contraire, en aggravant les effets du gène causal (Lamoril *et al.*, 2008).

L'importance des gènes modificateurs a été démontrée dans le cas de la mucoviscidose. En effet, bien qu'il ait été montré qu'elle était secondaire à une mutation du gène *CFTR* (*cystic fibrosis transmembrane conductance regulator,* ce qui peut se traduire par « régulateur de conductance transmembranaire de la mucoviscidose »), une hétérogénéité très importante de l'expression clinique et de la sévérité des symptômes restait inexpliquée, notamment pour ce qui était de l'atteinte pulmonaire. Il a été montré que des gènes modificateurs étaient impliqués et modulaient l'expression clinique de cette maladie (Davies *et al.*, 2005 ; Boyle, 2007 ; Lamoril *et al.*, 2008).

Citons également le gène modificateur du phénotype léopard chez le cheval, une panachure présente, entre autres, chez les Appaloosa (figure 70 ; Bellone *et al.*, 2013 ; Holl *et al.*, 2016).



<u>Figure 70 :</u> Influence du locus modificateur PATN1 sur le phénotype de panachure léopard chez le cheval

Chez les chevaux ne portant pas la mutation du gène TRPM1 (Transient Receptor Potential Cation Channel Subfamily M Member 1) responsable du léopard (allèle dominant LP), le génotype au locus PATN1 (pattern 1) n'a pas d'influence (photos a et b) ; chevaux sans panachure et de génotype PATN1 (présence de l'allèle muté dominant PATN1) ou patn1 (absence d'allèle muté PATN1). Chez les chevaux hétérozygotes (LP/lp) ou homozygotes mutés léopard (LP/LP) c'est le génotype pour PATN1 qui gouverne l'étendue de la panachure (photos c à f). Au locus PATN1 a été identifié le gène RFWD3 (Ring Finger And WD Repeat Domain 3).

D'après Holl et al., 2016.

On pourrait donc imaginer avoir des gènes modificateurs impliqués dans le déterminisme de la panachure du Ragdoll. Si l'on s'intéresse aux mécanismes cellulaires et moléculaires de la pigmentation, on remarque que de très nombreuses protéines et donc autant de gènes, sont impliqués dans la prolifération, la survie, la migration et la différenciation des mélanocytes, puis dans la mélanogénèse (voir I.A. de la partie bibliographique et figure 71).



# <u>Figure 71 :</u> Schéma simplifié des voies de signalisation et des molécules impliquées dans la prolifération, la survie, la migration et la différenciation des mélanocytes ainsi que dans la mélanocytogénèse

Les molécules et voies de signalisation impliquées dans la mise en place des mélanocytes et dans la mélanogénèse sont très nombreuses. Leurs séquences codantes sont autant de candidates à une mutation et à la formation d'un gène modificateur qui pourrait être impliqué dans l'expression de la panachure. Les flèches représentent les interactions (qu'elles soient activatrices ou inhibitrices) entre les différentes molécules.

ADAMTS20 = ADAM Metallopeptidase With Thrombospondin Type 1 Motif 20; B-CAT =  $\beta$ -Caténine; BCL2 = B-cell Lymphoma 2; CDC42 = Cell Division Cycle 42; C-KIT = Récepteur Tyrosine Kinase; DCT = DOPAchrome Tautomérase; EDN3 = Endothelin 3; EDNRB = Endothelin Receptor type B; FGF = Fibroblast Growth Factor; FOXD3 = Forkhead-Box Transcription Factor D3; KIT-L = C-KIT Ligand; M-MITF = Microphthalmia-Associated Transcription Factor M; PAX3 = Paired Box 3; RAC1 = RAS-Related C3 Botulinum Toxin Substrate 1; RHOA = RAS Homologous Protein; SOX10 = SRY-Related High-Mobility Group Box 10; SOX2 = SRY-Related High-Mobility Group Box 2; TYR = Tyrosinase; TYRP1 = Tyrosinase-Related Protein 1; WNT = Wingless-Related Integration Site.

Production personnelle, d'après Hou et Pavan, 2008 et Adameyko et al., 2012.

Ainsi, on pourrait avoir une mutation d'un de ces gènes. Cette mutation ne serait alors pas suffisante pour, à elle seule, gouverner un phénotype de panachure (comme expliqué au paragraphe B.4.a. de cette discussion), mais pourrait influencer l'expression de  $W^S$ , en compensant la modification de la protéine C-KIT, ou au contraire en amplifiant son effet. On pourrait donc imaginer que, chez les Ragdoll bicolores hétérozygotes, on aurait une mutation

d'un/de gène(s) modificateur(s), qui amplifierait l'effet de W<sup>s</sup> et donc qui conduirait à un phénotype bicolore alors que l'on s'attendait à un phénotype *mitted*.

Cependant, comme expliqué plus tôt dans le cas des séquences régulatrices, il faudrait que cette séquence mutée soit située sur le chromosome B1 et à proximité du locus *W*, pour expliquer la transmission préférentielle très marquée du motif de panachure à la descendance. On remarque également dans la littérature que, d'une part les gènes modificateurs agissent souvent à plusieurs, pour former un « fonds génétique » et d'autre part qu'ils ont tendance à augmenter fortement la variabilité inter-individuelle, de manière difficilement prévisible (Davies *et al.*, 2005 ; Rahit et Tarailo-Graovac, 2020). Or, dans le cas de la panachure du Ragdoll, la transmission préférentielle d'un motif est très fortement marquée et donc compliquée à expliquer par l'hypothèse de gènes modificateurs.

# C. L'insertion FERV1, une mutation instable ?

#### 1. Colonisation du génome par les rétrovirus

Les rétrovirus endogène (ERV, acronyme de « *endogenous retrovirus* ») ont été découverts dans les années 1960. Il a alors été montré qu'il s'agissait de séquences d'ADN héritées de virus exogènes, qui auraient colonisé des cellules puis intégré leur génome par rétrotranscription. Lorsque cette colonisation se faisaient dans une cellule de la lignée germinale et que cette cellule survivait, on avait alors transmission de la séquence virale à la descendance (figure 72), (Mager et Stoye, 2015 ; Medina et Perron, 2017).



# <u>Figure 72 :</u> La multiplication des rétrovirus et l'intégration de l'information génétique virale au génome de la cellule hôte

Les rétrovirus possèdent des transcriptases capables de rétrotranscrire leur ARN en ADN, ce qui permet l'intégration au génome de la cellule-hôte. L'ADN issu du rétrovirus est ensuite transcrit en ARNm et les séquences codant les protéines de la capside, de l'enveloppe virale et des rétrotranscriptases sont traduites. Le rétrovirus est ensuite assemblé puis excrété hors de la cellule. Lorsque cette colonisation touche une cellule de la lignée germinale et que celle-ci survit à l'infection, on a transmission de la séquence virale à la descendance.

Production personnelle, d'après Mager et Stoye, 2015 ; Campeau et Roy, 2019.

Il a été montré que les séquences de rétrovirus endogènes pouvaient s'amplifier par deux mécanismes : d'autres réinfections ou des rétrotranscriptions. En effet, les rétrovirus possèdent une séquence codant une transcriptase inverse, capable de retro-transcrire la séquence d'ARNm en séquence d'ADN, ainsi qu'une séquence codant une intégrase, capable de réintégrer cette séquence dans le génome de la cellule (Mager et Stoye, 2015 ; Medina et Perron, 2017).

#### 2. Les rétrovirus endogènes, des séquences instables

Les rétrovirus endogènes (ERV : Endogenous RetroVirus) ont été classés en quatre catégories.

Il a été montré que la première contenait les rétrovirus les plus conservés, non distinguables des virus d'origine. Leur séquence était composée, aux extrémités, de deux LTR (*Long Terminal Repeat*) eux-mêmes composée d'une séquence U3 (pour « unique 3' »), au niveau de l'extrémité 3', de séquences répétées et d'une séquence U5 (pour « unique 5' ») au niveau de l'extrémité 5'. Les deux LTR, d'une taille allant de 300 à 1000 paires de bases, étaient séparés d'une séquence codant les protéines virales, d'environ 6000 à 9000 paires de bases. Cette séquence contenait un site de liaison à l'ARNt, nommé *PBS* (acronyme de « *primer binding site »*), ainsi que les gènes *Gag, Pol* et *Env*. Le gène *Gag* (pour « *group specific antigens »*) codait une polyprotéine ensuite découpée en protéines de la capside, de la nucléocapside et de la matrice. Le gène *Pol* (pour « polymérase ») codait une rétrotranscriptase, une protéase et une intégrase. *Env* (pour « enveloppe ») était un gène codant les spicules, des protéines de l'enveloppe virale.

La deuxième catégorie de rétrovirus endogènes renfermait les rétrovirus ayant subi une altération d'un ou plusieurs gènes. Cette altération touchait le plus souvent le gène *env* et avait pour conséquence d'empêcher la réplication et la dissémination extra-cellulaire.

Les rétrovirus endogènes de la troisième catégorie étaient composés des deux LTR, des *PBS*, ainsi que d'une séquence sans homologie avec la séquence virale originale.

La dernière catégorie, une dizaine de fois plus conséquente en nombre de séquences que les trois autres, renfermaient des LTR isolés. L'hypothèse prédominant actuellement, vis-à-vis de l'origine de ces LTR isolés, serait des recombinaisons homologues, entre des séquences de rétrovirus plus complètes (figures 73 et 74), (Mager et Stoye, 2015).

#### 1. ERV complet

U3 R	U5 PBS	Gag	Pol	Env	U3	R	U5
	mont altárá						
2. ERV legere	ment altere						
U3 R	U5 PBS	Gag	Pol		U3	R	U5
3. ERV fortem	ient altéré						
U3 R	U5 PBS				U3	R	U5
U3 R	U5 PBS				U3	R	U5

#### 4. LTR isolé



#### Figure 73 : Les différentes catégories de rétrovirus endogènes, en fonction de leur conservation

Les rétrovirus endogènes peuvent être classés en quatre catégories : ceux parfaitement conservés, comprenant les deux LTR (Long Terminal Repeat), le PBS (Primer Binding Site) et les gènes Gag, Pol et Env ; ceux légèrement altérés, généralement au niveau du gène Env ; les ERV (Endogenous RetroVirus) fortement altéré ; les LTR isolés. Production personnelle, d'après Mager et Stoye, 2015).



#### Figure 74 : La recombinaison homologue, à l'origine des LTR isolés

Une recombinaison homologue entre les LTR (Long Terminal Repeat) des ERV (Endogenous RetroVirus) serait à l'origine de la formation des LTR isolés. Production personnelle d'après Kejnovský et al., 2012.

#### 3. Une instabilité jouant un rôle important dans l'évolution des espèces

Il a été montré qu'au cours de l'évolution, les infections par les rétrovirus avaient été particulièrement importantes, au point que, chez l'Homme, les HERV (*Human Endogenous RetroVirus*) représenteraient aujourd'hui 8 % du génome. Ces rétrovirus endogènes étaient cependant assez instables car contenant des éléments répétés. Ils auraient subi de nombreuses mutations et phénomènes d'amplification, à l'origine de familles multigéniques considérables. Ces séquences virales étaient dans leur grande majorité inactivées, car non soumises à une pression de sélection. Cependant, il a été mis en évidence que certaines séquences avaient joué un rôle particulièrement important au cours de l'évolution. On peut citer notamment ici l'appropriation du gène *env* par des cellules eucaryotes. Il a été montré que ce gène codait la glycoprotéine d'enveloppe du virus et avait été sélectionné et modifié au cours de l'évolution. Il a été montré qu'il était à l'origine de deux gènes codant des protéines appelées syncitines, nécessaires à la formation du placenta, chez les mammifères placentaires (Blaise *et al.*, 2003 ; Dupressoir et Heidmann, 2011 ; Lavialle *et al.*, 2013).

#### 4. Instabilité de l'insertion FERV1 et nouveaux allèles

# a. Recombinaison homologue entre les LTR de l'insertion FERV1 de $W^s$ et formation d'un allèle W

Il a été montré que l'insertion FERV1 présente dans l'allèle *W*<sup>s</sup> de *KIT* était composée de deux LTR entourant une séquence virale incomplète (David *et al.*, 2014). Il s'agissait donc probablement d'un rétrovirus endogène appartenant à la catégorie deux ou trois selon la classification, en fonction de la conservation (figure 73). Comme décrit précédemment, il a été mis en évidence que les LTR isolés étaient environ dix fois plus nombreux que les autres ERV. On peut donc en déduire que les recombinaisons homologues entre LTR (figure 74), conduisant à un LTR isolé sont des événements relativement fréquents. Cela permettrait d'expliquer l'apparition d'un allèle *W* chez la chatte Oh My God (paragraphe III.D.4 de la partie expérimentale, figure 63), à partir de l'allèle *W*<sup>s</sup> de son père.

#### b. L'hypothèse du nouvel allèle chez le Ragdoll... mythe ou réalité?

Si la formation d'un allèle *W* à partir de *W*<sup>S</sup> de *KIT* s'expliquait facilement, il était en revanche plus compliqué d'expliquer l'apparition d'un nouvel allèle conduisant, à l'état hétérozygote, à un phénotype bicolore chez le Ragdoll. On savait que ce nouvel allèle, s'il existait, contiendrait au moins un LTR car il était détecté par la technologie du laboratoire Genoscoper (*MyCatDNA*),

cette technologie reposant sur une technique de puces à ADN détectant la présence du LTR du FERV1. Ainsi, l'éventuelle mutation se situerait plutôt au niveau de la séquence entourée par les LTR ou sur une toute autre séquence du gène *KIT*. Ce type de mutation serait donc moins probable que la recombinaison homologue entre les LTR conduisant à l'allèle *W*. On pouvait également remarquer que dans l'expérience menée par David et son équipe (David *et al.,* 2014), parmi les 94 chats de différentes races portant une panachure blanche, tous possédaient un ou deux allèles *W*<sup>S</sup> et aucun ne possédait d'autre allèle conduisant à une panachure. Bien que l'échantillon soit plutôt petit, cela semblait plutôt en défaveur d'une instabilité de *W*<sup>S</sup> et de la formation d'autres allèles gouvernant des phénotypes marqués de blancs.

De plus, on ne sait actuellement pas expliquer pourquoi le LTR isolé de l'allèle W de *KIT* donne un phénotype entièrement blanc, plus extrême que le phénotype marqué de blanc induit par l'allèle  $W^{S}$ , contenant une insertion beaucoup plus longue. Il est ainsi difficile de prédire l'effet d'une mutation de la séquence de  $W^{S}$  délimitée par les LTR.

Au vu de nos résultats et des données récoltées dans la littérature, l'hypothèse qui nous semble la plus probable est que tous les Ragdoll portant une panachure possèdent le même allèle  $W^{S}$ . En effet, comme expliqué ci-dessus, la probabilité de l'apparition d'un nouvel allèle W<sup>SR</sup> semble très réduite. Ainsi, on aurait un seul allèle W<sup>S</sup>, dont l'expression serait modifiée chez certains hétérozygotes, pour conduire à un phénotype bicolore plutôt que mitted. L'hypothèse de plusieurs gènes modificateurs ne semble pas pertinente pour expliquer cette modulation de l'expression de W<sup>S</sup>. En effet, elle ne permet pas d'expliquer la transmission préférentielle très marquée du motif des hétérozygotes à leur descendance. L'hypothèse d'une séquence régulatrice située à proximité de KIT, en revanche, semble plausible et à même d'expliquer d'une part la corrélation génotype-phénotype du Ragdoll et d'autre part la transmission préférentielle du motif chez les hétérozygotes (figures 68 et 69). Afin de tester cette hypothèse, il serait nécessaire d'effectuer un séquençage complet de la région de KIT et de ses séquences régulatrices, chez des chats Ragdoll hétérozygotes mitted et bicolores. On pourrait alors tester l'effet des éventuels variants identifiés sur la transcription, par exemple in vitro grâce à un système rapporteur plasmidique ou grâce à des modèles in vivo tels que des embryons de souris transgéniques, comme cela l'a été fait pour tester l'effet de variants non-codants dans la séquence ZRS gouvernant une polydactylie (voir partie IV.B.4.c. de la partie expérimentale), (Lettice et al., 2008)].

# CONCLUSION

Dans cette étude, réalisée dans le cadre d'une thèse de doctorat vétérinaire, nous avions pour objectif d'affiner le modèle du déterminisme génétique de la panachure blanche dans l'espèce féline et notamment de caractériser la corrélation entre le génotype et le phénotype (étendue de la panachure).

Nous nous sommes d'abord intéressées aux chats de diverses races, chez qui un modèle génétique était établi depuis quelques années : le modèle monogénique à quatre allèles ( $W > W^S > w^+$  et l'allèle spécifique du Sacré de Birmanie "g" qui gouverne les gants). Nous avons montré une corrélation quasiment parfaite entre la présence de l'insertion FERV1 et donc d'un allèle  $W^S$  et celle d'une panachure. De plus, nous avons montré une corrélation partielle entre le nombre d'allèles  $W^S$  et l'étendue de la panachure, cette dernière semblant augmenter en taille chez les homozygotes.

Nous avons également récolté des cas particuliers de familles de chats dont les phénotypes ne pouvaient s'expliquer par ce modèle. Cela nous a permis d'émettre l'hypothèse que l'insertion FERV1 de  $W^{s}$  était instable et que la présence de taches blanches très réduites dans le pelage pouvait être indépendante de la présence de l'allèle  $W^{s}$ .

Nous avons ensuite focalisé notre étude sur le Ragdoll. Nous avons mis en évidence chez cette race une corrélation parfaite entre la présence de l'insertion FERV1 et celle d'une panachure. Au sein des chats marqués de blancs, nos résultats ont montré que 100 % des chats *mitted* de l'étude étaient hétérozygotes. En revanche, 88 % des bicolores étaient homozygotes et 12 % étaient hétérozygotes. Mais le résultat le plus remarquable était le fait que, lors du croisement entre un chat hétérozygote et un chat homozygote sauvage, plus de 95 % des chatons marqués de blanc possédaient le motif de panachure de leur parent hétérozygote. On avait donc une transmission préférentielle très marquée du motif de panachure à la descendance. Nous avons avancé plusieurs hypothèses permettant d'expliquer ce résultat. Parmi elles, les principales étaient l'apparition d'un nouvel allèle propre au Ragdoll et gouvernant un phénotype bicolore à l'état hétérozygote, la présence de gènes modificateurs et l'existence de séquences régulatrices modulant l'expression de  $W^{s}$ . C'est cette dernière hypothèse que nous privilégions, mais qui demande désormais à être explorée du point de vue moléculaire.

# BIBLIOGRAPHIE

Abitbol, M., 2010. Les gènes gouvernant la couleur de la robe chez le chien. *Point Veterinaire*, 311 : 66-72.

Abitbol, M, 2012. Génétique de la couleur et de la texture du pelage chez le chat domestique. *Bull. Acad. Vét. France*, tome 165.

Abitbol, M., Bossé, P., Grimard, B., Martignat, L., Tiret, L., 2017. Allelic heterogeneity of albinism in the domestic cat. *Animal Genetics*, 48, 1 : 127-128. DOI : 10.1111/age.12503.

Adameyko, I., et al., 2009. Schwann cell precursors from nerve innervation are a cellular origin of melanocytes in skin. *Cell*, 139, 2 : 366-379. DOI : 10.1016/j.cell.2009.07.049.

Adameyko, I., et al., 2012. Sox2 and Mitf cross-regulatory interactions consolidate progenitor and melanocyte lineages in the cranial neural crest. *Development (Cambridge, England)*, 139, 2 : 397-410. DOI : 10.1242/dev.065581.

Aigner, B., Besenfelder, U., Müller, M., Brem, G., 2000. Tyrosinase gene variants in different rabbit strains. *Mammalian Genome: Official Journal of the International Mammalian Genome Society*, 11, 8 : 700-702. DOI : 10.1007/s003350010120.

Albanese, F., 2017. *Canine and feline skin cytology, A comprehensive and illustrated guide to the interpretation of skin lesions via cytological examination*. Springer Nature, Arezzao, Italy.

Alexeev, V., Yoon, K., 2006. Distinctive Role of the cKit Receptor Tyrosine Kinase Signaling in Mammalian Melanocytes. *Journal of Investigative Dermatology*, 126, 5 : 1102-1110. DOI : 10.1038/sj.jid.5700125.

Anello, M., Fernández, E., Daverio, M. S., Vidal-Rioja, L., Di Rocco, F., 2019. TYR Gene in Llamas: Polymorphisms and Expression Study in Different Color Phenotypes. *Frontiers in Genetics*, 10. DOI : 10.3389/fgene.2019.00568.

Bahadoran, P., et al., 2001. Rab27a: A key to melanosome transport in human melanocytes. *The Journal of Cell Biology*, 152, 4 : 843-850. DOI : 10.1083/jcb.152.4.843.

Bahadoran, P., Ortonne, J.-P., Ballotti, R., 2002. Que "trafiquent" les mélanosomes? *médecine/sciences*, 18, 2 : 205-209. DOI : 10.1051/medsci/2002182205.

Behrendt, K., et al., 2012. A function for Rac1 in the terminal differentiation and pigmentation of hair. *Journal of cell science*, 125 : 896-905. DOI : 10.1242/jcs.091868.

Bensignor, E., Germain, P.-A., Gardini, F., 2014. *Guide Pratique de Dermatologie du Chien et du Chat*. Med'Com, Paris. 352 p

Bensignor, E., Vidémont, E., 2016. *Guide pratique de dermo-cosmétique vétérinaire*. Med'Com, Paris. 160 p

Bernstein, A., et al., 1990. The mouse W/c-kit locus. *Ciba Foundation Symposium*, 148: 158-166; discussion 166-172.

Blaise, S., de Parseval, N., Bénit, L., Heidmann, T., 2003. Genomewide screening for fusogenic human endogenous retrovirus envelopes identifies syncytin 2, a gene conserved on primate evolution. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 100, 22 : 13013-13018. DOI : 10.1073/pnas.2132646100.

Blechman, J. M., et al., 1995. The fourth immunoglobulin domain of the stem cell factor receptor couples ligand binding to signal transduction. *Cell*, 80, 1: 103-113. DOI: 10.1016/0092-8674(95)90455-7.

Blume-Jensen, P., Claesson-Welsh, L., Siegbahn, A., Zsebo, K. M., Westermark, B., Heldin, C. H., 1991. Activation of the human c-kit product by ligand-induced dimerization mediates circular actin reorganization and chemotaxis. *The EMBO Journal*, 10, 13 : 4121-4128.

Boyle, M. P., 2007. Strategies for Identifying Modifier Genes in Cystic Fibrosis. *Proceedings of the American Thoracic Society*, 4, 1 : 52-57. DOI : 10.1513/pats.200605-129JG.

Breitkreutz, D., Mirancea, N., Nischt, R., 2009. Basement membranes in skin: unique matrix structures with diverse functions? *Histochemistry and Cell Biology*, 132, 1: 1-10. DOI: 10.1007/s00418-009-0586-0.

Brill, A., Torchinsky, A., Carp, H., Toder, V., 1999. The Role of Apoptosis in Normal and Abnormal Embryonic Development. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics*, 16, 10: 512-519. DOI: 10.1023/A:1020541019347.

Buckingham, M., et al., 2003. The formation of skeletal muscle: from somite to limb. *Journal of Anatomy*, 202, 1 : 59-68. DOI : 10.1046/j.1469-7580.2003.00139.x.

Cairns, L. A., et al., 2003. Kit regulatory elements required for expression in developing hematopoietic and germ cell lineages. *Blood*, 102, 12 : 3954-3962. DOI : 10.1182/blood-2003-04-1296.

Campeau, A., Roy, S., 2019. *Culture cellulaire animale et végétale*. chap 10. Saint-Hyacinthe, Québec, Canada. Centre collégial de développement de matériel didactique. 501 p

Carmona-Fontaine, C., et al., 2008. Contact inhibition of locomotion in vivo controls neural crest directional migration. *Nature*, 456, 7224 : 957-961.

Chevaldin, A., 2018. La génétique du Ragdoll. Disponible sur http://www.ragdoll.asso.fr/ index.php/genetique/la-genetique-du-ragdoll, consulté le 11/02/2021.

Cichorek, M., Wachulska, M., Stasiewicz, A., Tymińska, A., 2013. Skin melanocytes: biology and development. *Advances in Dermatology and Allergology/Postępy Dermatologii I Alergologii*, 30, 1 : 30-41. DOI : 10.5114/pdia.2013.33376.

Cooper, M. P., Fretwell, N., Bailey, S. J., Lyons, L. A., 2006. White spotting in the domestic cat (Felis catus) maps near KIT on feline chromosome B1. *Animal Genetics*, 37, 2 : 163-165. DOI : 10.1111/j.1365-2052.2005.01389.x.
Cosme, E., 2019. Chatterie Koantiri - Le gène S. Disponible sur http://koantiri.free.fr/ geneS.html, consulté le 11/02/2021.

Cvejic, D., Steinberg, T. A., Kent, M. S., Fischer, A., 2009. Unilateral and bilateral congenital sensorineural deafness in client-owned pure-breed white cats. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 23, 2 : 392-395. DOI : 10.1111/j.1939-1676.2008.0262.x.

David, V. A., et al., 2014. Endogenous retrovirus insertion in the KIT oncogene determines white and white spotting in domestic cats. *G3 (Bethesda, Md.)*, 4, 10 : 1881-1891. DOI : 10.1534/g3.114.013425.

Davies, J., Alton, E., Griesenbach, U., 2005. Cystic fibrosis modifier genes. *Journal of the Royal Society of Medicine*, 98 Suppl 45 : 47-54.

Delevoye, C., Giordano, F., van Niel, G., Raposo, G., 2011. La biogenèse des mélanosomes. *Medecine sciences : M/S*, 27, 2 : 153-162. DOI : 10.1051/medsci/2011272153.

Démarchez, M., 2015. La jonction dermo-épidermique. Disponible sur https://biologiedelapeau.fr/spip.php?article47, consulté le 13/04/2020.

Démarchez, M., 2019. Le mélanocyte et la pigmentation. Disponible sur https://biologiedelapeau.fr/spip.php?article12, consulté le 15/04/2020.

Domingues, M. J., Larue, L., Bonaventure, J., 2013. Migration des cellules du lignage mélanocytaire. *M/S. Médecine sciences [ISSN papier : 0767-0974 ; ISSN numérique : 1958-5381], 2013, Vol. 29, N° 3; p. 287-292*. DOI : 10.1051/medsci/2013293015.

Douarin, N. L., LeDouarin, N. M., Kalcheim, C., 1999. *The Neural Crest*. Cambridge University Press. 472 p

Dréno, B., 2009. Anatomie et physiologie de la peau et de ses annexes. Disponible sur https://www.em-consulte.com/en/article/232246. Consulté le 14/04/2020

Dunn, K. J., Williams, B. O., Li, Y., Pavan, W. J., 2000. Neural crest-directed gene transfer demonstrates Wnt1 role in melanocyte expansion and differentiation during mouse development. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 97, 18 : 10050-10055. DOI : 10.1073/pnas.97.18.10050.

Dupressoir, A., Heidmann, T., 2011. Les syncytines - Des protéines d'enveloppe rétrovirales capturées au profit du développement placentaire. *médecine/sciences*, 27, 2 : 163-169. DOI : 10.1051/medsci/2011272163.

El Kouarty, H., Dakhama, B. S. B., 2016. Piebaldisme: une anomalie pigmentaire à reconnaitre: à propos d'un cas et revue de la littérature. *The Pan African Medical Journal*, 25. DOI : 10.11604/pamj.2016.25.155.10499.

Epstein, C. J., Erickson, R. P., Wynshaw-Boris, A. J., 2004. *Inborn Errors of Development: The Molecular Basis of Clinical Disorders of Morphogenesis*. Oxford University Press. 1110 p

FIFe, 2020. Fédération Internationale Féline. Disponible sur http://fifeweb.org/index.php, consulté le 29/05/2020.

Fleischman, R. A., Mintz, B., 1979. Prevention of genetic anemias in mice by microinjection of normal hematopoietic stem cells into the fetal placenta. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 76, 11: 5736-5740. DOI: 10.1073/pnas.76.11.5736.

Franco, V., 2020. The Genetics of Ragdoll, the colour and the variety. Disponible sur http://www.ragdollsbonbonkitty.com/en/the-genetics-of-ragdoll. Consulté le 11/02/2021.

Galante Rocha de Vasconcelos, F. T., et al., 2017. A novel nonsense mutation in the tyrosinase gene is related to the albinism in a capuchin monkey (Sapajus apella). *BMC Genetics*, 18, 1 : 39. DOI : 10.1186/s12863-017-0504-8.

Galli, S. J., Tsai, M., Wershil, B. K., 1993. The c-kit receptor, stem cell factor, and mast cells. What each is teaching us about the others. *The American Journal of Pathology*, 142, 4: 965-974.

García-Castro, M. I., Marcelle, C., Bronner-Fraser, M., 2002. Ectodermal Wnt Function as a Neural Crest Inducer. Disponible sur https://science.sciencemag.org/content/297/5582/848, consulté le 04/04/2020.

Gariepy, C. E., Cass, D. T., Yanagisawa, M., 1996. Null mutation of endothelin receptor type B gene in spotting lethal rats causes aganglionic megacolon and white coat color. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 93, 2 : 867-872. DOI : 10.1073/pnas.93.2.867.

Garrick, D., Ruvinsky, A., 2014. The Genetics of Cattle, 2nd Edition. CABI publishing. 634 p

Gdula, D. A., Gerasimova, T. I., Corces, V. G., 1996. Genetic and molecular analysis of the gypsy chromatin insulator of Drosophila. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 93, 18 : 9378-9383. DOI : 10.1073/pnas.93.18.9378.

Geissler, E. N., McFarland, E. C., Russell, E. S., 1981. Analysis of pleiotropism at the dominant white-spotting (W) locus of the house mouse: a description of ten new W alleles. *Genetics*, 97, 2:337-361.

Genetics Home Reference, G. H., 2020. SOX10 gene. Disponible sur https://ghr.nlm.nih.gov/gene/SOX10, consulté le 28/05/2020.

Gerding, W. M., Akkad, D. A., Epplen, J. T., 2013. Spotted Weimaraner dog due to de novo KIT mutation. *Animal Genetics*, 44, 5 : 605-606. DOI : 10.1111/age.12056.

Giebel, L. B., Tripathi, R. K., King, R. A., Spritz, R. A., 1991. A tyrosinase gene missense mutation in temperature-sensitive type I oculocutaneous albinism. A human homologue to the Siamese cat and the Himalayan mouse. *Journal of Clinical Investigation*, 87, 3 : 1119-1122.

Glavic, A., Silva, F., Aybar, M. J., Bastidas, F., Mayor, R., 2004. Interplay between Notch signaling and the homeoprotein Xiro1 is required for neural crest induction in Xenopus embryos. *Development (Cambridge, England)*, 131, 2 : 347-359. DOI : 10.1242/dev.00945.

Golden, A., 2019. 7+ Bicolor Pattern Variations in Cats (And Why They Occur). Disponible sur https://pethelpful.com/cats/Bicolor-Patterns-in-Cats, consulté le 18/04/2020.

Grange, P. de la, 2016. Altérations de l'épissage et maladies rares. *médecine/sciences*, 32, 12 : 1111-1119. DOI : 10.1051/medsci/20163212015.

Graw, J., Pretsch, W., Löster, J., 2003. Mutation in intron 6 of the hamster Mitf gene leads to skipping of the subsequent exon and creates a novel animal model for the human Waardenburg syndrome type II. *Genetics*, 164, 3 : 1035-1041.

Grilz-Seger, G., et al., 2020. A Genome-Wide Association Analysis in Noriker Horses Identifies a SNP Associated With Roan Coat Color. *Journal of Equine Veterinary Science*, 88 : 102950. DOI : 10.1016/j.jevs.2020.102950.

Grimaldi, P., Rossi, P., Dolci, S., Ripamonti, C. B., Geremia, R., 2002. Molecular genetics of male infertility: stem cell factor/c-kit system. *American Journal of Reproductive Immunology (New York, N.Y.: 1989)*, 48, 1 : 27-33. DOI : 10.1034/j.1600-0897.2002.01095.x.

Grønskov, K., Ek, J., Brondum-Nielsen, K., 2007. Oculocutaneous albinism. *Orphanet Journal of Rare Diseases*, 2, 1 : 43. DOI : 10.1186/1750-1172-2-43.

Guyonneau, L., Murisier, F., Rossier, A., Moulin, A., Beermann, F., 2004. Melanocytes and Pigmentation Are Affected in Dopachrome Tautomerase Knockout Mice. *Molecular and Cellular Biology*, 24, 8 : 3396-3403. DOI : 10.1128/MCB.24.8.3396-3403.2004.

H. Rhodes, K., H.Werner, A., 2018. *Small Animal Dermatology*. Blackwell's Five-Minute Veterinary Consult. Third edition. Wiley Blackwell. 652 p

Haase, B., et al., 2007. Allelic Heterogeneity at the Equine KIT Locus in Dominant White (W) Horses. *PLoS Genetics*, 3, 11. DOI : 10.1371/journal.pgen.0030195.

Hamamah, S., Mieusset, R., Olivennes, F., Frydman, R., 2012. *Male Sterility and Motility Disorders: Etiological Factors and Treatment*. Springer Science & Business Media.

Hanna, N., Parfait, B., Vidaud, D., Vidaud, M., 2005. Mécanismes et conséquences des mutations. *médecine/sciences*, 21, 11 : 969-980. DOI : 10.1051/medsci/20052111969.

Hara, M., et al., 2000. Kinesin participates in melanosomal movement along melanocyte dendrites. *The Journal of Investigative Dermatology*, 114, 3 : 438-443. DOI : 10.1046/j.1523-1747.2000.00894.x.

Hartwell, S., 2015. Colourpointed Cats - Siamese, Balinese, Javanese, Singhalese. Disponible sur http://messybeast.com/colourpoints-siamese-balinese.htm, consulté le 21/04/2020.

Hartwell, S., 2016. Tortoiseshell and Tricolour Cats. Disponible sur http://messybeast.com/ tricolours.htm, consulté le 08/02/2021. Hartwell, S., 2017a. Bicolores - Tuxedo and Magpie Cats. Disponible sur http://messybeast.com/bicolours.htm, consulté le 17/04/2020.

Hartwell, S., 2017b. White Cats, Eye Colours and Deafness. Disponible sur http://messybeast.com/whitecat.htm, consulté le 22/04/2020.

Hauswirth, R., et al., 2012. Mutations in MITF and PAX3 cause « splashed white » and other white spotting phenotypes in horses. *PLoS genetics*, 8, 4: e1002653. DOI: 10.1371/journal.pgen.1002653.

Hayashi, M., Suzuki, T., 2013. Orphanet: Albinisme oculo cutané. Disponible sur https://www.orpha.net/consor/cgi-bin/OC\_Exp.php?Lng=FR&Expert=55, consulté le 13/05/2020.

Henkel, J., et al., 2019. Whole-genome sequencing reveals a large deletion in the MITF gene in horses with white spotted coat colour and increased risk of deafness. *Animal Genetics*, 50, 2 : 172-174. DOI : 10.1111/age.12762.

Hirobe, T., 1995. Structure and function of melanocytes : microscopic morphology and cell biology of mouse melanocytes in the epidermis and hair follicle. *Histology and Histopathology*, 10, 1 : 223-237.

Hirobe, T., 2011. How are proliferation and differentiation of melanocytes regulated? *Pigment Cell & Melanoma Research*, 24, 3 : 462-478. DOI : 10.1111/j.1755-148X.2011.00845.x.

Höltschi, P., 2013. Ragdoll. FFF - Le site de la Fédération Féline Française. Disponible sur https://www.fff-asso.fr/race/ragdoll/. Consulté le 29/05/2020

Hou, L., Panthier, J. J., Arnheiter, H., 2000. Signaling and transcriptional regulation in the neural crest-derived melanocyte lineage: interactions between KIT and MITF. *Development (Cambridge, England)*, 127, 24 : 5379-5389.

Hou, L., Pavan, W., 2008. Transcriptional and signaling regulation in neural crest stem cellderived melanocyte development: do all roads lead to MITF? *Cell research*, 18 : 1163-1176. DOI : 10.1038/cr.2008.303.

Huang, X., Saint-Jeannet, J.-P., 2004. Induction of the neural crest and the opportunities of life on the edge. *Developmental Biology*, 275, 1 : 1-11. DOI : 10.1016/j.ydbio.2004.07.033.

Huizinga, J. D., Thuneberg, L., Klüppel, M., Malysz, J., Mikkelsen, H. B., Bernstein, A., 1995. W/kit gene required for interstitial cells of Cajal and for intestinal pacemaker activity. *Nature*, 373, 6512 : 347-349. DOI : 10.1038/373347a0.

Imes, D. L., Geary, L. A., Grahn, R. A., Lyons, L. A., 2006. Albinism in the domestic cat (Felis catus) is associated with a tyrosinase (TYR) mutation. *Animal Genetics*, 37, 2 : 175-178. DOI : 10.1111/j.1365-2052.2005.01409.x.

Jackson, I. J., 1997. Homologous Pigmentation Mutations in Human, Mouse and Other Model Organisms. *Human Molecular Genetics*, 6, 10 : 1613-1624. DOI : 10.1093/hmg/6.10.1613.

Jiang, X., et al., 2000. Structure of the active core of human stem cell factor and analysis of binding to its receptor Kit. *The EMBO Journal*, 19, 13: 3192-3203. DOI: 10.1093/emboj/19.13.3192.

Johansson Moller, M., et al., 1996. Pigs with the dominant white coat color phenotype carry a duplication of the KIT gene encoding the mast/stem cell growth factor receptor. *Mammalian Genome: Official Journal of the International Mammalian Genome Society*, 7, 11 : 822-830. DOI : 10.1007/s003359900244.

Karlsson, E. K., et al., 2007. Efficient mapping of mendelian traits in dogs through genomewide association. *Nature Genetics*, 39, 11 : 1321-1328. DOI : 10.1038/ng.2007.10.

Kejnovský, E., Hawkins, J., Feschotte, C., 2012. Plant Transposable Elements : Biology and Evolution 2. Disponible sur /paper/Plant-Transposable-Elements-%3A-Biology-and-Evolution-Kejnovsk%C3%BD-Hawkins/d64e82e5e3e811bed84d7c929331e6d8a1f8f89f, consulté le 05/05/2021.

Klug, W. S., Cummings, M. R., Spencer, C. A., 2006. *Génétique 8e édition*. Pearson Education. 872 p

Knecht, A. K., Bronner-Fraser, M., 2002. Induction of the neural crest: a multigene process. *Nature Reviews Genetics*, 3, 6 : 453-461. DOI : 10.1038/nrg819.

Körberg, I. B., et al., 2014. A Simple Repeat Polymorphism in the MITF-M Promoter Is a Key Regulator of White Spotting in Dogs. *PLOS ONE*, 9, 8: e104363. DOI: 10.1371/journal.pone.0104363.

Kos, R., Reedy, M. V., Johnson, R. L., Erickson, C. A., 2001. The winged-helix transcription factor FoxD3 is important for establishing the neural crest lineage and repressing melanogenesis in avian embryos. *Development (Cambridge, England)*, 128, 8 : 1467-1479.

Kuramoto, T., Yokoe, M., Yagasaki, K., Kawaguchi, T., Kumafuji, K., Serikawa, T., 2010. Genetic analyses of fancy rat-derived mutations. *Experimental Animals*, 59, 2 : 147-155. DOI : 10.1538/expanim.59.147.

Kwon, B. S., Halaban, R., Chintamaneni, C., 1989. Molecular basis of mouse Himalayan mutation. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 161, 1: 252-260. DOI: 10.1016/0006-291X(89)91588-X.

Lacombe, Di., 2009. Maladies des gènes du développement codant pour des facteurs de transcription. Académie nationale de médecine. Disponible sur http://www.academie-medecine.fr/maladies-des-genes-du-developpement-codant-pour-des-facteurs-de-transcription/. Consulté le 28/05/2020

Lamoreux, M. L., Delmas, V., Larue, L., Bennett, D., 2010. *The Colors of Mice: A Model Genetic Network*. John Wiley & Sons. 209 p

Lamoril, J., Ameziane, N., Deybach, J.-C., Bouizegarène, P., Bogard, M., 2008. Notions de génétique moléculaire pour comprendre l'hérédité. *Immuno-analyse & Biologie Spécialisée*, 23, 6 : 331-352. DOI : 10.1016/j.immbio.2008.10.005.

Lamouille, S., Xu, J., Derynck, R., 2014. Molecular mechanisms of epithelial-mesenchymal transition. *Nature Reviews. Molecular Cell Biology*, 15, 3 : 178-196. DOI : 10.1038/nrm3758.

Lavialle, C., Cornelis, G., Dupressoir, A., Esnault, C., Heidmann, O., Vernochet, C., Heidmann, T., 2013. Paleovirology of 'syncytins', retroviral env genes exapted for a role in placentation. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 368, 1626. DOI: 10.1098/rstb.2012.0507.

Lee, H.-O., Levorse, J. M., Shin, M. K., 2003. The endothelin receptor-B is required for the migration of neural crest-derived melanocyte and enteric neuron precursors. *Developmental Biology*, 259, 1 : 162-175. DOI : 10.1016/s0012-1606(03)00160-x.

Lee, J. H., Fisher, D. E., 2014. Melanocyte Stem Cells as Potential Therapeutics in Skin Disorders. *Expert opinion on biological therapy*, 14, 11: 1569-1579. DOI: 10.1517/14712598.2014.935331.

Lemattre, C., Blanchet, P., 2018a. guide Pratique : Syndrome de Waardenburg. Disponible sur https://www.reseau-maladies-rares.fr/guides-pratiques/syndrome-de-waardenburg, consulté le 03/05/2020.

2018b. Guide Pratique : Syndrome de Waardenburg. Disponible sur https://www.reseaumaladies-rares.fr/guides-pratiques/syndrome-de-waardenburg, consulté le 03/05/2020.

Lettice, L. A., Hill, A. E., Devenney, P. S., Hill, R. E., 2008. Point mutations in a distant sonic hedgehog cis-regulator generate a variable regulatory output responsible for preaxial polydactyly. *Human Molecular Genetics*, 17, 7 : 978-985. DOI : 10.1093/hmg/ddm370.

Levine, M., Tjian, R., 2003. Transcription regulation and animal diversity. *Nature*, 424, 6945 : 147-151. DOI : 10.1038/nature01763.

Lewis, J. L., Bonner, J., Modrell, M., Ragland, J. W., Moon, R. T., Dorsky, R. I., Raible, D. W., 2004. Reiterated Wnt signaling during zebrafish neural crest development. *Development*, 131, 6 : 1299-1308. DOI : 10.1242/dev.01007.

Lister, J., Robertson, C. P., Lepage, T., Johnson, S. L., Raible, D., 1999. Nacre Encodes a Zebrafish Microphthalmia-Related Protein That regulates neural-crest-derived pigment cell fate. *Development (Cambridge, England)*, 126 : 3757-3767.

LOOF, 2009. Nomenclature des robes. Disponible sur https://www.loof.asso.fr/ eleveurs/nomenclature.php, consulté le 21/04/2020.

LOOF, 2017. Standards loof. Disponible sur https://www.loof.asso.fr/download/ 05\_standards\_20200101.pdf. Consulté le 17/04/2020

LOOF, 2020. Codes race/couleur. Disponible sur https://www.loof.asso.fr/eleveurs/ codes.php, consulté le 18/04/2020.

Lorin, T., 2018. Les cellules des crêtes neurales : « la seule chose intéressante » chez les Vertébrés ? Disponible sur https://planet-vie.ens.fr/thematiques/developpement/phases-dudeveloppement/les-cellules-des-cretes-neurales-la-seule-chose, consulté le 03/04/2020.

Lotinun, S., Krishnamra, N., 2016. Disruption of c- Kit Signaling in Kit W-sh/W-sh Growing Mice Increases Bone Turnover. *Scientific Reports*, 6, 1 : 1-15. DOI : 10.1038/srep31515.

Luciani, F., et al., 2011. Biological and mathematical modeling of melanocyte development. *Development (Cambridge, England)*, 138, 18 : 3943-3954. DOI : 10.1242/dev.067447.

Luo, R., Gao, J., Wehrle-Haller, B., Henion, P. D., 2003. Molecular identification of distinct neurogenic and melanogenic neural crest sublineages. *Development*, 130, 2 : 321-330. DOI : 10.1242/dev.00213.

Lyons, L. A., Imes, D. L., Rah, H. C., Grahn, R. A., 2005. Tyrosinase mutations associated with Siamese and Burmese patterns in the domestic cat (Felis catus). *Animal Genetics*, 36, 2 : 119-126. DOI : 10.1111/j.1365-2052.2005.01253.x.

Mackenzie, M. A., Jordan, S. A., Budd, P. S., Jackson, I. J., 1997. Activation of the receptor tyrosine kinase Kit is required for the proliferation of melanoblasts in the mouse embryo. *Developmental Biology*, 192, 1 : 99-107. DOI : 10.1006/dbio.1997.8738.

Mager, D. L., Stoye, J. P., 2015. Mammalian Endogenous Retroviruses. *Microbiology Spectrum*, 3, 1. DOI : 10.1128/microbiolspec.MDNA3-0009-2014.

Magnol, L., et al., 2007. KIT is required for hepatic function during mouse post-natal development. *BMC Developmental Biology*, 7:81. DOI: 10.1186/1471-213X-7-81.

Mak, S.-S., Moriyama, M., Nishioka, E., Osawa, M., Nishikawa, S.-I., 2006. Indispensable role of Bcl2 in the development of the melanocyte stem cell. *Developmental Biology*, 291, 1: 144-153. DOI: 10.1016/j.ydbio.2005.12.025.

Matsushima, Y., Shinkai, Y., Kobayashi, Y., Sakamoto, M., Kunieda, T., Tachibana, M., 2002. A mouse model of Waardenburg syndrome type 4 with a new spontaneous mutation of the endothelin-B receptor gene. *Mammalian Genome: Official Journal of the International Mammalian Genome Society*, 13, 1: 30-35. DOI: 10.1007/s00335-001-3038-2.

Mattila, P. K., Lappalainen, P., 2008. Filopodia: molecular architecture and cellular functions. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 9, 6 : 446-454. DOI : 10.1038/nrm2406.

Mayor, R., Theveneau, E., 2013. The neural crest. *Development (Cambridge, England)*, 140, 11 : 2247-2251. DOI : 10.1242/dev.091751.

McGill, G. G., et al., 2002. Bcl2 Regulation by the Melanocyte Master Regulator Mitf Modulates Lineage Survival and Melanoma Cell Viability. *Cell*, 109, 6 : 707-718. DOI : 10.1016/S0092-8674(02)00762-6.

Medina, J., Perron, H., 2017. Séquences provenant d'éléments génétiques mobiles, face cachée du génome humain. *médecine/sciences*, 33, 2 : 151-158. DOI : 10.1051/medsci/20173302010.

Medstrand, P., Lagemaat, L. N. van de, Mager, D. L., 2002. Retroelement Distributions in the Human Genome: Variations Associated With Age and Proximity to Genes. *Genome Research*, 12, 10 : 1483-1495. DOI : 10.1101/gr.388902.

Mélissopoulos, A., Levacher, C., 2012. La peau, Structure et physiologie. Lavoisier. 272 p

Miller, W. H., Griffin, C. E., Campbell, K. L., 2013. *Muller and Kirk's Small Animal Dermatology*. Elsevier, St.Louis, Missouri 63043.

Mochii, M., Ono, T., Matsubara, Y., Eguchi, G., 1998. Spontaneous transdifferentiation of quail pigmented epithelial cell is accompanied by a mutation in the Mitf gene. *Developmental Biology*, 196, 2 : 145-159. DOI : 10.1006/dbio.1998.8864.

Monsoro-Burq, A.-H., Fletcher, R. B., Harland, R. M., 2003. Neural crest induction by paraxial mesoderm in Xenopus embryos requires FGF signals. *Development*, 130, 14 : 3111-3124. DOI : 10.1242/dev.00531.

Montague, M. J., 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 of the United States of America*, 111, 48 : 17230-17235. DOI : 10.1073/pnas.1410083111.

Morimoto, N., Mutai, H., Namba, K., Kaneko, H., Kosaki, R., Matsunaga, T., 2018. Homozygous EDNRB mutation in a patient with Waardenburg syndrome type 1. *Auris, Nasus, Larynx*, 45, 2 : 222-226. DOI : 10.1016/j.anl.2017.03.022.

Mort, R. L., Jackson, I. J., Patton, E. E., 2015. The melanocyte lineage in development and disease. *Development (Cambridge, England)*, 142, 4 : 620-632. DOI : 10.1242/dev.106567.

Mort, R. L., et al., 2016. Reconciling diverse mammalian pigmentation patterns with a fundamental mathematical model. *Nature Communications*, 7, 1: 1-13. DOI: 10.1038/ncomms10288.

Mouse Genome Informatics, 2020. Mitf MGI Mouse Gene Detail. Disponible sur http://www.informatics.jax.org/marker/MGI:104554, consulté le 26/05/2020.

Murisier, F., Beermann, F., 2006. Genetics of pigment cells, lessons from the tyrosinase gene family. *Histology and histopathology*. DOI : 110.14670/HH-21/567

Nicholas, F. W., 2013. Introduction to Veterinary Genetics. John Wiley & Sons. Chicester, United Kingdom. 329 p

Nishimura, E. K., Yoshida, H., Kunisada, T., Nishikawa, S. I., 1999. Regulation of E- and P- cadherin expression correlated with melanocyte migration and diversification. *Developmental Biology*, 215, 2 : 155-166. DOI : 10.1006/dbio.1999.9478.

Nordlund, J. J., 2007. The melanocyte and the epidermal melanin unit: an expanded concept. *Dermatologic Clinics*, 25, 3 : 271-281, vii. DOI : 10.1016/j.det.2007.04.001.

O'Brien, S. J., Haskins, M. E., Winkler, C. A., Nash, W. G., Patterson, D. F., 1986. Chromosomal mapping of beta-globin and albino loci in the domestic cat. A conserved mammalian chromosome group. *The Journal of Heredity*, 77, 6: 374-378. DOI: 10.1093/oxfordjournals.jhered.a110264.

Oiso, N., Fukai, K., Kawada, A., Suzuki, T., 2013. Piebaldism. *The Journal of Dermatology*, 40, 5 : 330-335. DOI : 10.1111/j.1346-8138.2012.01583.x.

Opdecamp, K., Nakayama, A., Nguyen, M. T., Hodgkinson, C. A., Pavan, W. J., Arnheiter, H., 1997. Melanocyte development in vivo and in neural crest cell cultures: crucial dependence on the Mitf basic-helix-loop-helix-zipper transcription factor. *Development (Cambridge, England)*, 124, 12 : 2377-2386.

Opdecamp, K., et al., 1998. The rat microphthalmia-associated transcription factor gene (Mitf) maps at 4q34-q41 and is mutated in the mib rats. *Mammalian Genome: Official Journal of the International Mammalian Genome Society*, 9, 8 : 617-621. DOI : 10.1007/s003359900832.

Pascucci, L., Mercati, F., Gargiulo, A. M., Pedini, V., Sorbolini, S., Ceccarelli, P., 2006. CD34 glycoprotein identifies putative stem cells located in the isthmic region of canine hair follicles. *Veterinary Dermatology*, 17, 4 : 244-251. DOI : 10.1111/j.1365-3164.2006.00527.x.

Picardo, M., Cardinali, G., 2011. The Genetic Determination of Skin Pigmentation: KITLG and the KITLG/c-Kit Pathway as Key Players in the Onset of Human Familial Pigmentary Diseases. *Journal of Investigative Dermatology*, 131, 6 : 1182-1185. DOI : 10.1038/jid.2011.67.

Pinet, F., 2004. À quoi sert le système endothéline ? *médecine/sciences*, 20, 3 : 339-345. DOI : 10.1051/medsci/2004203339.

Poitras, P., 1998. Pacemaker intestinal et péristaltisme. *M/S. Médecine sciences [revue papier, ISSN : 0767-0974], 1998, Vol. 14, N° 8-9; p.966.* DOI : 10.4267/10608/1175.

Pomerantz, S. H., Li, J. P.-C., 1974. Tyrosinase in the skin of albino hamsters and mice. *Nature*, 252, 5480 : 241-243. DOI : 10.1038/252241a0.

Potterf, S. B., Furumura, M., Dunn, K. J., Arnheiter, H., Pavan, W. J., 2000. Transcription factor hierarchy in Waardenburg syndrome: regulation of MITF expression by SOX10 and PAX3. *Human Genetics*, 107, 1 : 1-6. DOI : 10.1007/s004390000328.

Raamsdonk, C. D. V., Fitch, K. R., Fuchs, H., Angelis, M. H. de, Barsh, G. S., 2004. Effects of G-protein mutations on skin color. *Nature Genetics*, 36, 9 : 961-968. DOI : 10.1038/ng1412.

Rahit, K. M. T. H., Tarailo-Graovac, M., 2020. Genetic Modifiers and Rare Mendelian Disease. *Genes*, 11, 3. DOI : 10.3390/genes11030239.

Rebeiz, M., Williams, T. M., 2017. Using Drosophila pigmentation traits to study the mechanisms of cis-regulatory evolution. *Current Opinion in Insect Science*, 19: 1-7. DOI: 10.1016/j.cois.2016.10.002.

Riley, P. A., 1997. Naevogenesis: a hypothesis concerning the control of proliferation of melanocytes with special reference to the growth of intradermal naevi. *Dermatology (Basel, Switzerland)*, 194, 3 : 201-204. DOI : 10.1159/000246101.

Robinson, R., 1977. *Genetics for Cat Breeders*. Pergamon Press Ltd., Great Britain. DOI: 10.1016/C2013-0-02829-0.

Rothschild, M. F., Ruvinsky, A., 2011. The Genetics of the Pig. CABI edition. 525 p

Ruan, H.-B., Zhang, N., Gao, X., 2005. Identification of a Novel Point Mutation of Mouse Proto-Oncogene c-kit Through N-Ethyl-N-nitrosourea Mutagenesis. *Genetics*, 169, 2 : 819-831. DOI : 10.1534/genetics.104.027177.

Ryugo, D. K., Menotti-Raymond, M., 2012. Feline Deafness. *The Veterinary clinics of North America. Small animal practice*, 42, 6 : 1179-1207. DOI : 10.1016/j.cvsm.2012.08.008.

Schmidt-Küntzel, A., Eizirik, E., O'Brien, S. J., Menotti-Raymond, M., 2005. Tyrosinase and tyrosinase related protein 1 alleles specify domestic cat coat color phenotypes of the albino and brown loci. *The Journal of Heredity*, 96, 4 : 289-301. DOI : 10.1093/jhered/esi066.

Schmutz, S. M., Berryere, T. G., Ciobanu, D. C., Mileham, A. J., Schmidtz, B. H., Fredholm, M., 2002. A form of albinism in cattle is caused by a tyrosinase frameshift mutation. *Mammalian Genome*. DOI : 10.1007/s00335-002-2249-5.

Schmutz, S. M., Berryere, T. G., Dreger, D. L., 2009. MITF and White Spotting in Dogs: A Population Study. *Journal of Heredity*, 100, suppl\_1 : S66-S74. DOI : 10.1093/jhered/esp029.

Schrott, A., Melichar, I., Popelár, J., Syka, J., 1990. Deterioration of hearing function in mice with neural crest defect. *Hearing Research*, 46, 1-2 : 1-7. DOI : 10.1016/0378-5955(90)90134-b.

Scott, G., Leopardi, S., Printup, S., Madden, B. C., 2002. Filopodia are conduits for melanosome transfer to keratinocytes. *Journal of Cell Science*, 115, Pt 7 : 1441-1451.

Silver, D. L., Hou, L., Pavan, W. J., 2006. The Genetic Regulation of Pigment Cell Development. *Neural Crest Induction and Differenciation*. Advances in Experimental Medicine and Biology 589. Landes Bioscience and Springer Science & Business Media, New York, U.S.A.

Silver, D. L., Hou, L., Somerville, R., Young, M. E., Apte, S. S., Pavan, W. J., 2008. The secreted metalloprotease ADAMTS20 is required for melanoblast survival. *PLoS genetics*, 4, 2 : e1000003. DOI : 10.1371/journal.pgen.1000003.

Simões-Costa, M., Bronner, M. E., 2015. Establishing neural crest identity: a gene regulatory recipe. *Development*, 142, 2 : 242-257. DOI : 10.1242/dev.105445.

Slominski, A., Wortsman, J., Plonka, P. M., Schallreuter, K. U., Paus, R., Tobin, D. J., 2005. Hair Follicle Pigmentation. *The Journal of investigative dermatology*, 124, 1: 13-21. DOI: 10.1111/j.0022-202X.2004.23528.x.

Song, Y., et al., 2017. CRISPR/Cas9-mediated mutation of tyrosinase (Tyr) 3' UTR induce graying in rabbit. *Scientific Reports*, 7, 1 : 1-8. DOI : 10.1038/s41598-017-01727-y.

Spritz, R. A., 1994. Molecular basis of human piebaldism. *The Journal of Investigative Dermatology*, 103, 5 Suppl : 137S-140S. DOI : 10.1111/1523-1747.ep12399455.

Steel, K. P., Davidson, D. R., Jackson, I. J., 1992. TRP-2/DT, a new early melanoblast marker, shows that steel growth factor (c-kit ligand) is a survival factor. *Development (Cambridge, England)*, 115, 4 : 1111-1119.

Steingrímsson, E., Copeland, N. G., Jenkins, N. A., 2004. Melanocytes and the microphthalmia transcription factor network. *Annual Review of Genetics*, 38: 365-411. DOI: 10.1146/annurev.genet.38.072902.092717.

Strain, G. M., 2017. Hearing disorders in cats. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 19, 3 : 276-287. DOI : 10.1177/1098612X17695062.

Tabone-Eglinger, S., Wehrle-Haller, M., Aebischer, N., Jacquier, M.-C., Wehrle-Haller, B., 2012. Membrane-bound Kit ligand regulates melanocyte adhesion and survival, providing physical interaction with an intraepithelial niche. *The FASEB Journal*, 26, 9: 3738-3753. DOI: 10.1096/fj.12-206045.

Tanimura, S., et al., 2011. Hair Follicle Stem Cells Provide a Functional Niche for Melanocyte Stem Cells. *Cell Stem Cell*, 8, 2 : 177-187. DOI : 10.1016/j.stem.2010.11.029.

Tassabehji, M., Newton, V. E., Read, A. P., 1994. Waardenburg syndrome type 2 caused by mutations in the human microphthalmia (MITF) gene. *Nature Genetics*, 8, 3 : 251-255. DOI : 10.1038/ng1194-251.

Theveneau, É., 2012. Migrations collectives de cellules mésenchymateuses: Un facteur du complément à la rescousse. *médecine/sciences*, 28, 4 : 360-362. DOI : 10.1051/medsci/2012284009.

Theveneau, É., David, N., 2014. Migrations cellulaires collectives. *médecine/sciences*, 30, 8-9 : 751-757. DOI : 10.1051/medsci/20143008012.

Thomas, A. J., Erickson, C. A., 2009. FOXD3 regulates the lineage switch between neural crestderived glial cells and pigment cells by repressing MITF through a non-canonical mechanism. *Development (Cambridge, England)*, 136, 11 : 1849-1858. DOI : 10.1242/dev.031989.

Trainor, P., 2013. *Neural Crest Cells: Evolution, Development and Disease*. Academic Press. 488p

Wagner, A., Wolsan, M., 1987. Pelage mutant allele frequencies in domestic cat populations of Poland. *The Journal of Heredity*, 78, 3: 197-200. DOI: 10.1093/oxfordjournals.jhered.a110356.

Waskow, C., Paul, S., Haller, C., Gassmann, M., Rodewald, H.-R., 2002. Viable c-Kit(W/W) mutants reveal pivotal role for c-kit in the maintenance of lymphopoiesis. *Immunity*, 17, 3 : 277-288. DOI : 10.1016/s1074-7613(02)00386-2.

Wegner, M., 2010. SOX10 (SRY (sex determining region Y)-box 10). Disponible sur http://atlasgeneticsoncology.org/Genes/GC\_SOX10.html, consulté le 28/05/2020.

Weiss, R. A., 2006. The discovery of endogenous retroviruses. *Retrovirology*, 3: 67. DOI: 10.1186/1742-4690-3-67.

Whiting, P. W., 1919. Inheritance of White-Spotting and Other Color Characters in Cats. *The American Naturalist*, 53, 629 : 473-482.

Wong, A. K., Ruhe, A. L., Robertson, K. R., Loew, E. R., Williams, D. C., Neff, M. W., 2013. A de novo mutation in KIT causes white spotting in a subpopulation of German Shepherd dogs. *Animal Genetics*, 44, 3 : 305-310. DOI : 10.1111/age.12006.

Wu, X., Hammer, J. A., 2014. Melanosome transfer: It is best to give and receive. *Current opinion in cell biology*, 0 : 1-7. DOI : 10.1016/j.ceb.2014.02.003.

Wu, Z., et al., 2019. Whole-Genome Resequencing Identifies KIT New Alleles That Affect Coat Color Phenotypes in Pigs. *Frontiers in Genetics*, 10. DOI : 10.3389/fgene.2019.00218.

Zalc, A., Relaix, F., 2015. Pax3 et Pax7: gardiens du développement craniofacial. *médecine/sciences*, 31, 8-9: 723-725. DOI: 10.1051/medsci/20153108007.

UniProtKB, 2020., MITF. Disponible sur https://www.uniprot.org/uniprot/M3XD75, consulté le 03/05/2020.

### ANNEXES

<u>Annexe 1 :</u> Message à l'intention des éleveurs de chats, relayé par le LOOF, afin d'obtenir des données de phénotype, de génotype et de pedigree de leurs animaux



# Information LOOF

#### Message du Pr Marie Abitbol : Thèse vétérinaire sur le blanc chez les chats

Chers éleveurs,

Dans le cadre d'une thèse vétérinaire menée à VetAgro Sup (école vétérinaire de Lyon), nous recherchons des résultats de tests ADN pour les mutations de la panachure blanche (taches blanches) et du blanc dominant (tests appelés WS et W, réalisés dans n'importe quel laboratoire) assortis de photographies des chats correspondants. Le but de l'étude est d'étudier la corrélation entre la présence des mutations du blanc, et l'étendue des taches blanches (ou la présence d'une robe uniformément blanche), chez toutes les races de chats.

L'étude se fait dans le cadre d'une thèse vétérinaire encadrée par le Pr Marie Abitbol (VetAgro Sup). Les informations nominatives que vous enverrez resteront strictement confidentielles. L'ensemble des informations de couleur, génétiques et éventuellement de pedigree sera rassemblé de façon anonyme et fera l'objet d'une analyse statistique également anonyme, afin d'améliorer la caractérisation et la compréhension du déterminisme génétique des couleurs chez le chat.

Aucune participation financière n'est demandée pour cette étude et les résultats seront publiés dans un manuscrit de thèse, qui sera librement accessible et envoyé en PDF sur demande, lorsqu'il sera disponible. Sans votre aide active, cette recherche ne pourra pas aboutir. Nous vous remercions par avance pour votre participation.

Pour toute information et l'envoi des photographies et résultats de tests ADN, n'hésitez pas à contacter par mail le Pr Marie ABITBOL à l'adresse suivante : marie.abitbol@vetagro-sup.fr

## ETUDE DE LA CORRELATION GENOTYPE-PHENOTYPE POUR LA PANACHURE DANS L'ESPECE FELINE

### Auteur

ROGGY Julie

### Résumé

La pigmentation résulte d'un processus complexe de colonisation de l'organisme par les cellules pigmentaires et de production de pigments. De nombreux gènes sont impliqués et peuvent donc être responsables, en cas de mutation, d'un défaut de pigmentation se manifestant par une panachure blanche. Chez le chat, la panachure est très diversifiée et son déterminisme est expliqué en partie par un modèle monogénique à quatre allèles, localisés au niveau du locus W, où siège le gène KIT  $(W > W^{S} > w^{+}$  et l'allèle du Sacré de Birmanie "g"). Dans cette étude, nous avions pour objectif d'affiner ce modèle. En nous intéressant d'abord à des chats de diverses races, nous avons montré une corrélation partielle entre le nombre d'allèles W<sup>S</sup> et l'étendue de la panachure, cette dernière semblant augmenter chez les homozygotes lorsqu'on les compare aux hétérozygotes. L'étude de différentes familles de chats nous a également permis d'émettre l'hypothèse que la mutation  $W^{s}$ , due à une insertion FERV1, était instable et que la présence d'une panachure réduite pouvait être indépendante de la présence de l'allèle *W*<sup>s</sup>. Nous nous sommes ensuite intéressées au Ragdoll, une race aux motifs de panachure très distincts. Nos résultats ont montré que les chats *mitted* de l'étude étaient tous hétérozygotes pour  $W^{S}$ , tandis que les chats bicolores étaient soit homozygotes (à 88 %), soit hétérozygotes (à 12 %). Nous avons également mis en évidence que lors du croisement entre un chat hétérozygote et un chat homozygote sauvage, plus de 95 % des chatons margués de blanc possédaient le motif de panachure de leur parent hétérozygote. Nous avons proposé plusieurs hypothèses permettant d'expliquer cette transmission préférentielle du motif de panachure à la descendance, celle que nous privilégions étant la présence de séquences régulatrices modulant l'expression de W<sup>S</sup>.

Mots-clés

Chats, blanc, génétique, ADN, gène KIT

Jury			
Président du jury	:	Pr	CHEVALIER Philippe
Directeur de thèse	:	Pr	ABITBOL Marie
Assesseur :		Dr	LAMBERT Véronique



