RÉPUBLIQUE FRANÇAISE
Liberté
Égalité
Fraternité

VetAgro Sup

CAMPUS VETERINAIRE DE LYON

Année 2022 - Thèse n° 076

L'APPORT DES OUTILS DE GENETIQUE MOLECULAIRE DANS L'IDENTIFICATION DES ANOMALIES GENETIQUES CHEZ LES ESPECES CANINE ET FELINE

MOSAIQUES, CHIMERES ET JUMEAUX MONOZYGOTES

THESE

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

Et soutenue publiquement le 28 octobre 2022
Pour obtenir le titre de Docteur Vétérinaire

Par

CANU Morgane

UNIVERSITÉ DE LYON

RÉPUBLIQUE FRANÇAISE
Liberté
Égalité
Fraternité

VetAgro Sup

CAMPUS VETERINAIRE DE LYON

Année 2022 - Thèse n° 076

L'APPORT DES OUTILS DE GENETIQUE MOLECULAIRE DANS L'IDENTIFICATION DES ANOMALIES GENETIQUES CHEZ LES ESPECES CANINE ET FELINE

MOSAIQUES, CHIMERES ET JUMEAUX MONOZYGOTES

THESE

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

Et soutenue publiquement le 28 octobre 2022
Pour obtenir le titre de Docteur Vétérinaire

Par

CANU Morgane

UNIVERSITÉ DE LYON

Liste des enseignants du Campus vétérinaire de Lyon (26-01-2022)

Mme	ABITBOL	Marie	Professeur
M.	ALVES-DE-OLIVEIRA	Laurent	Maître de conférences
Mme	ARCANGIOLI	Marie-Anne	Professeur
Mme	AYRAL	Florence	Maître de conférences
Mme	BECKER	Claire	Maître de conférences
Mme	BELLUCO	Sara	Maître de conférences
Mme	BENAMOU-SMITH	Agnès	Maître de conférences
M.	BENOIT	Etienne	Professeur
M.	BERNY	Philippe	Professeur
Mme	BONNET-GARIN	Jeanne-Marie	Professeur
M.	BOURGOIN	Gilles	Maître de conférences
M.	BRUTO	Maxime	Maître de conférences Stagiaire
M.	BRUYERE	Pierre	Maître de conférences
M.	BUFF	Samuel	Professeur
M.	BURONFOSSE	Thierry	Professeur
M.	CACHON	Thibaut	Maître de conférences
M.	CADORÉ	Jean-Luc	Professeur
Mme	CALLAIT-CARDINAL	Marie-Pierre	Professeur
M.	CHABANNE	Luc	Professeur
Mme	CHALVET-MONFRAY	Karine	Professeur
M.	CHAMEL	Gabriel	Maître de conférences
M.	CHETOT	Thomas	Maître de conférences Stagiaire
Mme	DE BOYER DES ROCHES	Alice	Maître de conférences
Mme	DELIGNETTE-MULLER	Marie-Laure	Professeur
Mme	DJELOUADJI	Zorée	Professeur
Mme	ESCRIOU	Catherine	Maître de conférences
M.	FRIKHA	Mohamed-Ridha	Maître de conférences
M.	GALIA	Wessam	Maître de conférences
M.	GILLET	Benoit	AERC
Mme	GILOT-FROMONT	Emmanuelle	Professeur
M.	GONTHIER	Alain	Maître de conférences
Mme	GREZEL	Delphine	Maître de conférences
Mme	HUGONNARD	Marine	Maître de conférences
Mme	JOSSON-SCHRAMME	Anne	Chargé d'enseignement contractuel
M.	JUNOT	Stéphane	Professeur
M.	KODJO	Angeli	Professeur
Mme	KRAFFT	Emilie	Maître de conférences
Mme	LAABERKI	Maria-Halima	Maître de conférences
Mme	LAMBERT	Véronique	Maître de conférences
Mme	LE GRAND	Dominique	Professeur
Mme	LEBLOND	Agnès	Professeur
Mme	LEDOUX	Dorothée	Maître de conférences
M.	LEFEBVRE	Sébastien	Maître de conférences
Mme	LEFRANC-POHL	Anne-Cécile	Maître de conférences
M.	LEGROS	Vincent	Maître de conférences
M.	LEPAGE	Olivier	Professeur
Mme	LOUZIER	Vanessa	Professeur
M.	LURIER	Thibaut	Maître de conférences Stagiaire
M.	MAGNIN	Mathieu	Maître de conférences Stagiaire
M.	MARCHAL	Thierry	Professeur
Mme	MOSCA	Marion	Maître de conférences
M.	MOUNIER	Luc	Professeur
Mme	PEROZ	Carole	Maître de conférences
M.	PIN	Didier	Professeur
Mme	PONCE	Frédérique	Professeur
Mme	PORTIER	Karine	Professeur
Mme	POUZOT-NEVORET	Céline	Maître de conférences
Mme	PROUILLAC	Caroline	Professeur
Mme	REMY	Denise	Professeur
Mme	RENE MARTELLET	Magalie	Maître de conférences
M.	ROGER	Thierry	Professeur
M.	SAWAYA	Serge	Maître de conférences
M.	SCHRAMME	Michael	Professeur
Mme	SERGENTET	Delphine	Professeur
M.	TORTEREAU	Antonin	Maître de conférences
Mme	VICTONI	Tatiana	Maître de conférences
M.	VIGUIER	Eric	Professeur
Mme	VIRIEUX-WATRELOT	Dorothée	Chargé d'enseignement contractuel
M.	ZENNER	Lionel	Professeur

REMERCIEMENTS AU JURY

Au professeur Jean-Yves Blay,
De l'Université Claude Bernard Lyon 1, Faculté de médecine de Lyon,
Directeur général du Centre Léon Bérard,
Pour m'avoir fait l'honneur d'accepter la présidence de mon jury de thèse,
Hommages respectueux.

Au professeur Marie Abitbol,
De VetAgro Sup, Campus vétérinaire de Lyon,
Unité de génétique et de biologie moléculaire,
Pour m'avoir confié ce sujet et avoir accepté de relire ce travail,
Pour sa disponibilité, son soutien et sa bienveillance,
Toute ma reconnaissance et sincères remerciements.

Au docteur Véronique Lambert,
De VetAgro Sup, Campus vétérinaire de Lyon,
Unité de génétique et de biologie moléculaire,
Pour avoir accepté de relire ce travail et de participer à mon jury de thèse,
Pour ses conseils avisés,
Mes plus sincères remerciements.

A ma famille,

A ma mère, mon pilier et ma confidente depuis toujours. Merci de toujours répondre présente quand j'en ai besoin et d'être un soutien indéfectible dans les moments les plus durs. Merci pour nos fous-rires et nos moments « entre filles ». Merci d'être une femme exceptionnelle que j'admire et pour toutes les valeurs que tu m'as transmises. Je t'aime infiniment.

A mon père, je ne saurais comment te remercier d'avoir toujours cru en moi. Ta confiance et ton soutien ont largement contribué à faire de moi celle que je suis aujourd'hui. Merci pour tes conseils toujours avisés et pour ton écoute bienveillante. Je n'aurais pu rêver meilleur modèle comme père. Tu es mon roc et je t'aime fort.

A mon frère, mon acolyte depuis toujours. Merci pour tous ces moments passés ensemble, pour nos soirées, nos weekends, nos vacances et tous ces délires depuis notre plus tendre enfance. Je chéris notre complicité unique et à toutes épreuves. Merci de toujours croire en moi et d'être le petit frère le plus chouette du monde ! Tu me manques beaucoup depuis ton déménagement, je t'aime.

A mes grands-parents, merci pour tout votre amour.

A Raphaël, l'amour de ma vie. « Merci » n'est pas un mot assez fort pour exprimer ma gratitude. Je te remercie pour ta confiance, pour ton amour, pour ta présence auprès de moi à chaque instant, pour rendre mon quotidien plus heureux. Merc pour tout ce que nous avons partagé, et pour tout ce qu'il nous reste à vivre ensemble. Je t'aime plus que tout au monde.

A mes amis,

A mon groupe de clinique, Olivia, Gisèle et Céline : merci pour tous ces moments incroyables ! Pour ces fous rires, pour votre bienveillance, pour nos préchauffes et nos soirées mojitos framboise. Merci pour nos échanges pendant les rotations et pour votre soutien pendant les périodes plus difficiles. Vous êtes de véritables amies, je vous adore.

A mon co-groupe, Théotime, Simon et Marion, merci pour votre gentillesse et toutes ces plaisanteries échangées. Vous êtes géniaux !!

Aux gitanes, partenaires de soirées et amies inoubliables, merci pour tout, vous êtes les meilleures.

A Manon, la meilleure des colocataires et des pâtissières de Marcy l'Etoile. Merci d'avoir rendu ma quatrième année aussi sympa en ta compagnie. Tu es une amie chère à mon cœur.

A l'Office, merci pour tous ces bons moments lors nos premières années à l'école, je ne vous oublierai jamais !

A Sarah, merci d'être la personne entière, chaleureuse et naturelle qui te définis. Merci pour tous ces debriefings interminables en lendemain de boum et pour nos analyses poussées sur nos séries préférées. Je te souhaite tout le meilleur, tu le mérites.

A mes anciennes colocs, merci pour tous les bons souvenirs que je garde en mémoire.

A ma promo PLS, merci pour ces cinq années inoubliables !

A ma lignée,

A mon ancien, je te dois tellement… Merci de m'avoir accueillie à l'école véto comme tu l'as fait. Merci pour tous tes conseils, pour ta bonne humeur et d'avoir répondu présent dès qu'il le fallait. Merci d'être la personne que tu es et de m'avoir donné davantage confiance en moi. Mes années à Marcy n'auraient pas été aussi inoubliables sans toi. Notre duo, c'est pour toujours.

A mon poulot, par où commencer ? Merci de m'avoir suivie dans tous mes délires, merci pour toutes ces soirées mémorables, merci pour ta confiance. Nous avons réussi à rester proches au fil des années et je n'aurais pas pu espérer meilleur poulot pour embellir mes trois dernières années à l'école ! N'oublie pas que je t'adore.

A Delphine, la meilleure des hypo ! Trop fière de toi et que tu fasses partie de notre lignée. Merci pour ta spontanéité, ta sensibilité, ta générosité, ta bonne humeur. Tu es une perle rare.

TABLE DES MATIERES

TABLE DES MATIERES 9
TABLE DES ANNEXES 143
LISTE DES FIGURES 15
LISTE DES TABLEAUX 17
LISTE DES ABREVIATIONS 19
INTRODUCTION 21

Première partie : Etude bibliographique 23
I) Les génomes du chien et du chat, connaissances actuelles et outils d'étude disponibles 23
1. Rappels et définitions 23
2. Le génome canin 24
3. Le génome félin 25
4. Outils et techniques de génomiques disponibles chez le chien et le chat 26
a. Marqueurs microsatellites 27
b. *Single Nucleotide Polymorphism* (SNP) 27
c. Génotypage sur puces SNP ou à l'aide de microsatellites 28
i. Génotypage SNP par séquençage Sanger et de nouvelle génération (NGS) 28
ii. Génotypage SNP à l'aide des puces 30
- **Génotypage SNP faisant intervenir des puces de recherche** 30
- **Génotypage SNP faisant intervenir des puces commerciales** 30

iii. Génotypage de microsatellites par PCR et électrophorèse en gel d'agarose 31
iv. Génotypage de microsatellites par PCR et séquenceur automatique 32
d. Tests commerciaux utilisés en routine chez les espèces canines et félines 32
i. Profil ADN 33
ii. Contrôle des filiations 35
iii. Groupage sanguin par ADN chez le chat 36
iv. Génotypage pour des allèles de caractères d'intérêt 36
v. Tests génétiques pour le dépistage et le diagnostic de maladies héréditaires 38
- **Chez l'espèce canine** 38
- **Chez l'espèce féline** 38

II) Rappels de génétique de la couleur du chien et chat 39
1. **Rappels sur les bases de la pigmentation chez le chien et le chat** 39

2. Locus et gènes de coloration et longueur du pelage canins et félins utilisés dans notre étude expérimentale 41
a. Locus déterminant la couleur de base 41
i. Locus B (Brown) : détermine la couleur de l'eumélanine 41
ii. Locus E «(Extension) : détermine la production d'eumélanine 42
iii. Locus A (Agouti) : gouverne la proportion eumélanine- phéomélanine 43
iv. Locus K (BlacK) : gouverne la proportion eumélanine- phéomélanine chez le chien 44
v. Locus O (Orange) : détermine la couleur rousse chez le chat 45
b. Locus affectant l'intensité de la pigmentation 46
i. Locus I (Intensity) du chien : gouverne un éclaircissement de la phéomélanine 46
ii. Locus D (Dilution) du chien et du chat : gouverne une dilution de la couleur de base 47
iii. Locus I (Inhibitory) chez le chat : gouverne une inhibition de la phéomélanine 48
c. Locus responsables de patrons, de motifs et de marques dans le pelage 49
i. Présence de patrons contrastés chez le chat 49
ii. Panachure et robe blanche 49
d. Longueur du poil 51
III) Mosaïcisme et chimérisme chez le chien et le chat 52
1. Mosaïcisme 52
a. Mosaïcisme chromosomique 52
i. Les anomalies caryotypiques fréquentes chez le chat domestique 53
ii. Mosaïcisme et couleur de la robe chez le chat : zoom sur les chats mâles écaille de tortue et tricolores 54
b. Mosaïcisme d'un seul locus 56
c. Mosaïcisme épigénétique 57
2. Chimérisme 59
a. Les chimères d'origine naturelle 59
i. Chimérisme complet 59
- **Généralités** 59
- **Etude de plusieurs cas publiés chez les espèces canine et féline** 60
- **Quelques cas de chimérisme complet chez l'Homme** 64
ii. Chimérisme hématopoïétique 65
iii. Micro-chimérisme 67
b. Les chimères d'origine expérimentale 67
i. Les premières chimères expérimentales 67
- **Production de chimères par agrégation d'embryons précoces** 68
- **Production de chimères par injection** 69

ii. Le chimérisme iatrogène....70
3. Gémellité vraie chez le chien et scission d'embryons chez la souris 71
a. Les gestations gémellaires monozygotiques naturelles chez le chien 71
b. Obtention expérimentale d'individus génétiquement identiques par scission d'embryons précoces de souris 72

Deuxième partie : Etude expérimentale....75
I) Buts de l'étude et présentation des cas....75
1. Présentation des chats ayant été inclus dans l'étude 76
a. Picasso 76
b. Mâle Persan 79
c. Peter 79
d. Tweety 80
e. Norman....81
f. Sonate....82
g. Mâle bleu-crème 83
h. Spritz....83
i. Pio....84
j. Narnia 85
k. Chat bleu et noir....88
l. Kodak 89
2. Présentation des chiens ayant participé à l'étude 90
a. Keita et Issaka....90
b. Philibert....91
II) Matériel et méthodes 92
1. Animaux, prélèvements et éthique 92
a. Méthode de recrutement et critères d'inclusion....92
b. Réalisation des prélèvements 92
c. Consentement et éthique....93
2. Réalisation de caryotypes....93
3. Extraction des ADN....94
a. Extraction à partir des brossettes buccales 94
b. Extraction à partir des échantillons de sang 94
c. Extraction à partir des poils 94
4. Identification génétique 94
5. Génotypage pour des marqueurs microsatellites 94

6. Génotypage pour un panel de SNP 95
III) Résultats 96
1. Chats mâles au pelage écaille de tortue 96
a. Résultats des caryotypes effectués 96
b. Résultats des profils ADN 96
i. Résultats de Picasso 96
ii. Résultats du Persan 97
iii. Résultats de Peter 98
iv. Résultats de Tweety 99
v. Résultats de Norman 100
vi. Résultats de Sonate 100
vii. Résultats du mâle bleu-crème 101
viii. Résultats de Spritz 102
ix. Résultats de Pio 103
2. Chats de phénotype bleu et noir 103
a. Résultat du caryotype effectué 103
b. Résultats des profils ADN pour Narnia 104
c. Résultats des profils ADN pour le chat bleu et blanc 105
3. Chat écaille de tortue à poils courts présentant une touffe de poils longs 106
4. Chiots Azawahk 107
5. Chien bouvier Bernois 108
6. Données d'ascendance et de descendance pour les chats écaille de tortue et dilués 110
a. Mâle écaille de tortue Picasso 110
b. Mâle bleu et noir Narnia 111
IV) Discussion 113
1. Cas des chats mâles à la robe écaille de tortue ou tricolore 113
2. Cas des chats au pelage bleu, noir et blanc 116
3. Cas de Kodak, chat écaille de tortue à poils courts présentant une touffe de poils longs 118
4. Cas des jumeaux Azawahk supposés, Keita et Issaka 118
5. Cas de Philibert, le mâle Bouvier Bernois 118
6. Comment identifier des individus génétiquement uniques en pratique vétérinaire courante ? 119
CONCLUSION 123
BIBLIOGRAPHIE 125

TABLE DES ANNEXES

Annexe 1 : Etude des marqueurs microsatellites chez des jumeaux monozygotes de race Lévrier Irlandais 133
Annexe 2 : Fiches de prélèvement et de consentement pour chien et chat 134
Annexe 3 : Fiche du comité d'éthique de VetAgro Sup 136
Annexe 4 : Plaquette de cytogénétique de Toulouse 138
Annexe 5 : Résultats de génotypage pour Keïta et Issaka 139

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Caryotype normal du chien 25
Figure 2 : Caryotypes normaux des chats mâle et femelle 26
Figure 3 : Exemples illustrés de séquences microsatellites chez les mammifères 27
Figure 4 : Exemple d'un SNP chez trois individus canins différents 28
Figure 5 : Illustration schématique de la méthode de séquençage Sanger 29
Figure 6 : Electrophorèse en gel d'agarose 31
Figure 7 : Obtention d'un électrophorégramme avec l'utilisation d'un séquenceur automatique 32
Figure 8 : Prélèvements buccaux à l'aide d'une cytobrosse chez le chien et le chat 33
Figure 9 : Représentation schématique d'un mélanocyte ainsi que de ses différentes localisations tissulaires 39
Figure 10 : Origine de la pigmentation des poils par transmission de mélanosomes aux kératinocytes 40
Figure 11 : Schéma de la mélanogenèse au sein des mélanosomes 40
Figure 12 : Expressions phénotypique du locus *Brown* chez le chien et le chat 41
Figure 13 : Variations phénotypiques associées au locus E chez le chien 42
Figure 14 : Les couleurs ambre, russet et carnelian chez le chat 43
Figure 15 : Effets du locus *Agouti* chez le chien 43
Figure 16 : Phénotypes tabby et uni chez le chat 44
Figure 17 : Expressions phénotypiques du locus *Black* chez différentes races de chien 45
Figure 18 : Variations phénotypiques associées au locus *Orange* chez la chatte 46
Figure 19 : Illustration de l'expression du locus *Intensity* chez le chien 47
Figure 20 : Effets du locus de dilution chez le chien 47
Figure 21 : Dilutions des couleurs de base chez le chat 48
Figure 22 : Présentation des robes silver et smoke chez deux races de chat 48
Figure 23 : Quelques patrons associés au locus *Colour* chez le chat domestique 49
Figure 24 : Expression phénotypique de la panachure blanche chez le chat 50
Figure 25 : Différents types de panachures rencontrées chez le chien 50
Figure 26 : Mosaïcisme chromosomique de type 37,X/38,XY chez un chat de race Bengal 52
Figure 27 : Présentation des phénotypes de six chats mâles écaille de tortue ou tricolores 54
Figure 28 : Syndrome de Klinefelter chez un chat mâle écaille de tortue 56
Figure 29 : Phénotype de pelage pouvant être expliqué par un mosaïcisme somatique d'un seul locus 57
Figure 30 : Représentation schématique de l'inactivation de l'X chez une chatte écaille de tortue 58
Figure 31 : Mécanisme de dispermie à l'origine d'une chimère complète 59
Figure 32 : Couleur de pelage atypique chez Tiger, chienne Labrador retriever 60
Figure 33 : Robe écaille de tortue chez un chat mâle de race Maine coon 61
Figure 34 : Chatte Persan, appelée Harmonie des Persans de Rose, photographiée à différents âges 63
Figure 35 : Photographie des fœtus mâle et femelle partageant le même placenta 66

Figure 36 : Photographie de deux chimères interspécifiques de souris 68
Figure 37 : Photographies de chimères mouton-chèvre 68
Figure 38 : Illustration de la production de chimères par agrégation d'embryons précoces chez la souris 69
Figure 39 : Invalidation de gènes et obtention de souris *knockout* 70
Figure 40 : Jumeaux monozygotes de race Lévrier Irlandais connectés au même placenta lors de la césarienne 71
Figure 41 : Jumeaux monozygotes canins à l'âge de six semaines, avec leur mère 72
Figure 42 : Illustration de l'obtention de jumeaux monozygotes par scission d'un embryon au stade deux cellules, chez la souris 73
Figure 43 : Picasso P des Bos Zamours à l'âge adulte 76
Figure 44 : Photographies des deux parents de Picasso 76
Figure 45 : Rimelle des Bos des Zamours (a) et la portée de cinq chatons (b) issus de son mariage avec Picasso 77
Figure 46 : Pénélope (a) et la portée de sept chatons (b) issus de son mariage avec Picasso 78
Figure 47 : Photographie du Persan, sous anesthésie, lors de sa castration chez son vétérinaire 79
Figure 48 : Photographie de Peter, chez son vétérinaire 79
Figure 49 : Photographies de Tweety, mâle écaille de tortue bleu crème et blanc 80
Figure 50 : Photographies de Norman, mâle Maine coon 81
Figure 51 : Photographies des parents de Norman, chats de race Maine coon 82
Figure 52 : Photographie de Sonate, mâle écaille de tortue 82
Figure 53 : Photographie du mâle européen écaille de tortue, bleu et crème 84
Figure 54 : Photographies de Spritz, chat mâle européen écaille de tortue et blanc, lors de sa castration 84
Figure 55 : Photographie de Pio, mâle colourpoint écaille de tortue noir et roux 84
Figure 56 : Photographies de Narnia à différents âges, mâle British shorthair noir et bleu 85
Figure 57 : Photographies des deux parents de Narnia 86
Figure 58 : Jaïka et sa portée de deux chatons issus de son union à Narnia 86
Figure 59 : Portée d'Ozanna en 2020 et de ses trois chatons 87
Figure 60 : Bella (a) et sa portée (b) de quatre chatons issus de son union à Narnia 87
Figure 61 : Photographie de l'intérieur de la cuisse d'un chat de type européen bleu et blanc 88
Figure 62 : Photographies de Kodak, chat à poils courts possédant une touffe de poils longs sur le dos 89
Figure 63 : Keïta et Issaka à l'âge de trois mois 90
Figure 64 : Photographie de Philibert, mâle bouvier Bernois 91
Figure 65 : Mosaïcisme somatique par mutation du locus *Dilution* chez le chat bleu et noir 117
Figure 66 : Arbre de décision pour identifier une anomalie génétique suite à l'observation d'une particularité de pelage chez le chat domestique 120

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I : Résumé bref des modes de transmission des caractères 24
Tableau II : Liste des marqueurs utilisés à ce jour chez le chien pour l'établissement de l'empreinte génétique, ainsi que leurs localisations chromosomiques 34
Tableau III : Liste des marqueurs utilisés à ce jour chez le chat pour l'établissement de l'empreinte génétique, ainsi que leurs localisations chromosomiques 35
Tableau IV : Exemples d'allèles mutés de caractères d'intérêt dépistés par ADN chez l'espèce féline 37
Tableau V : Exemples d'allèles mutés de caractères d'intérêt dépistés par ADN chez l'espèce canine 37
Tableau VI : Présentation des locus *L* canins et félins gouvernant la longueur du poil 51
Tableau VII : Anomalies caryotypiques chez 38 chats mâles écaille rapportés dans la littérature 55
Tableau VIII : Résultats des tests ADN réalisés sur les échantillons de Tiger, chienne Labrador retriever au pelage atypique 61
Tableau IX : Empreintes génétiques du chat mâle écaille, de la femelle et de leur portée de quatre chatons d'après la norme ISAG 2012 62
Tableau X : Empreintes génétiques d'Harmonie, de ses deux parents et de l'un de ses frères, réalisées avec 14 marqueurs microsatellites de la norme ISAG 2010 64
Tableau XI : Liste des prélèvements effectués pour chaque animal 93
Tableau XII : Empreintes génétiques des différents échantillons ADN prélevés sur Picasso ..... … 96
Tableau XIII : Empreintes génétiques des différents échantillons ADN prélevés sur le Persan 97
Tableau XIV : Empreintes génétiques des différents échantillons ADN prélevés sur Peter et sur sa mère Finn 98
Tableau XV : Empreintes génétiques des différents échantillons ADN prélevés sur Tweety 99
Tableau XVI : Empreinte génétique de Norman 100
Tableau XVII : Empreintes génétiques des différents échantillons ADN prélevés sur Sonate 100
Tableau XVIII : Empreintes génétiques des différents échantillons ADN prélevés sur le mâle bleu-crème 101
Tableau XIX : Empreintes génétiques des différents échantillons ADN prélevés sur Spritz 102
Tableau XX : Empreintes génétiques des différents échantillons ADN prélevés sur Pio 103
Tableau XXI : Empreintes génétiques des différents échantillons ADN prélevés Narnia 104
Tableau XXII : Empreintes génétiques des différents échantillons ADN prélevés sur le chat bleu et noir 105
Tableau XXIII : Empreintes génétiques des différents échantillons ADN prélevés sur Kodak 106
Tableau XXIV : Empreintes génétiques de Keïta et Issaka à partir des échantillons sanguins 107
Tableau XXV : Empreintes génétiques de Philibert et ses deux parents 108
Tableau XXVI : Résultats obtenus pour le test du sarcome histiocytaire chez Philibert et ses deux parents 109

Tableau XXVII : Résultats obtenus pour le test du sarcome histiocytaire chez Philibert et ses deux chiots Romano et Ryder 109
Tableau XXVIII : Phénotypes et génotypes de la portée de chatons entre Picasso et Rimelle 110
Tableau XXIX : Phénotypes et génotypes de la portée de chatons entre Picasso et Pénélope 110
Tableau XXX : Phénotypes et génotypes de Narnia, Jaïka et leurs chatons pour la dilution. 111
Tableau XXXI : Phénotypes et génotypes, pour la dilution, des chatons issus de Narnia et Bella 111
Tableau XXXII : Résumé des hypothèses retenues et des analyses restant à effectuer chez les chats mâles écaille de tortue 116
Tableau XXXIII : Localisations chromosomiques des marqueurs avec un tri-allélisme chez Philibert 119

LISTE DES ABREVIATIONS

ADN : Acide Désoxyribonucléique
AFLP : *Amplified Fragment Lenght Polymorphism*
ARN : Acide Ribonucléique
dNTP : Désoxynucléotides
ddNTP : Di-désoxynucléotides
EDTA : Ethylène Diamine Tétra-Acétique
FGF5 *: fibroblast growth factor*
FTSS : *Fluorescent dye terminator Sanger sequencing*
Gb : Giga-bases
HLA : *Human Leukocyte Antigen* (Antigènes des Leucocytes Humains)
ISAG : *International Society for Animal Genetics*
Mb : Mega-bases
MLPH (gène) : Melanophilin
NGS : *New Generation Sequencing*
PCR : *Polymerase Chain Reaction*
SNP : *Single Nucleotide Polymorphisms*
SRY = *Sex-determining Region of Y chromosome*
STR : *Short Tandem Repeat*
WGS : *Whole Genome Shotgun*

INTRODUCTION

Depuis leur domestication il y a respectivement environ 15 000 et 8 000 ans, le chien et le chat sont devenus des compagnons de vie incontournables dans notre société. En France, on a estimé en 2021 à 14,2 millions le nombre de chats dans nos foyers pour 7,6 millions de chiens (Ministère de l'Agriculture : www.agriculture.gouv.fr). De plus, l'intérêt des français pour le chat domestique n'a fait que progresser depuis les années 2000, avec une population passée de 10 millions en 2006 à 14,2 millions en 2021 (FACCO : www.facco.fr ; Ministère de l'Agriculture : www.agriculture.gouv.fr).

Outre le comportement et le tempérament propres à chaque individu, le phénotype, extérieur comme la couleur de la robe, est un critère essentiel qui oriente le choix des propriétaires au moment de l'adoption (Carini *et al.,* 2020).
De plus, certains chats présentent des associations de couleurs originales ou des phénotypes complètement inhabituels qui les rendent uniques et qui intriguent aussi bien leurs propriétaires que les vétérinaires, scientifiques et passionnés de félinotechnie.

Depuis le XXème siècle, les généticiens ont mis en évidence des individus chimères et mosaïques, dans différentes espèces dont le chien et le chat, découverts fortuitement ou parce qu'ils possédaient une couleur de robe atypique, comme les chats mâles écaille de tortue ou le cas récent d'une chatte noire, bleue et blanche (Jaraud *et al.,* 2020).
Récemment en 2016, les premiers jumeaux monozygotes chez le chien ont été étudiés par Joonè et son équipe (Joonè *et al.,* 2016). Les deux chiots de race Lévrier Irlandais présentaient des allèles parfaitement identiques sur l'ensemble des marqueurs génétiques étudiés.
Mosaïques, chimères et vrais jumeaux ne présentent pas nécessairement de caractéristiques macroscopiques remarquables, mais on retrouve chez chacun d'entre eux des particularités génétiques uniques, permettant de les identifier comme des individus hors du commun.

L'objectif de cette thèse était d'étudier comment, à l'heure actuelle, nous pouvons mettre en évidence ces individus génétiquement singuliers chez le chien et le chat, avec les outils de la génétique moléculaire et de la cytogénétique dont nous disposons. Quels sont les indices permettant de suspecter une particularité génétique chez un individu à partir de sa couleur de pelage ? Quels sont les outils courants de cytogénétique et de biologie moléculaire à disposition du vétérinaire pour tenter d'expliquer l'origine de ces individus ? Comment déterminer s'il s'agit d'une chimère ou d'une mosaïque ? Comment vérifier que deux individus issus d'un même placenta ont une origine monozygote ?
Ce manuscrit de thèse présente les cas de 14 chiens et chats pour tenter d'apporter des réponses à ces questions et illustrer la diversité des quelques particularités génétiques chez le chien et le chat.

La première partie de notre travail a été consacrée à l'étude bibliographique et a porté dans un premier temps, sur une présentation succincte des génomes des espèces canine et féline ainsi que des principaux outils moléculaires permettant de les étudier. Nous avons ensuite rappelé les bases du déterminisme génétique des couleurs du pelage chez le chien et le chat, signes d'appels de particularités génétiques et enfin, nous nous sommes intéressés aux cas de mosaïques, chimères et jumeaux monozygotes rapportés par la littérature scientifique.

La seconde partie du manuscrit a été consacrée à notre étude expérimentale dans laquelle nous avons présenté 12 cas de chats caractérisés par des phénotypes de pelage rares et originaux, et les cas de trois chiens génétiquement uniques. Après la présentation des cas et du matériel et des méthodes utilisées, nous avons présentés les résultats de caryotypage et de génotypage qui ont été obtenu grâce à la collaboration des propriétaires des animaux, des vétérinaires référents et du laboratoire Antagene, partenaire de notre étude. Pour terminer, nous avons discuté des différents cas, dont certains ont pu être résolu et d'autres restent inexpliqués, au regard des connaissances actuelles.

Première partie : Etude bibliographique

Afin de faciliter la compréhension de l'étude expérimentale présentée en seconde partie, nous avons choisi de présenter succinctement les génomes des espèces canines et félines ainsi que les outils moléculaires actuellement disponibles pour les étudier.
Nous avons également fait des rappels de génétique de la couleur de la robe chez ces deux espèces. En effet, l'expression phénotypique de couleurs de robe inhabituelles peut être à l'origine de la découverte de cas particuliers de génétique comme des cas de chimérisme, de mosaïcisme ou de la gémellité, que nous avons abordés par la suite.

I) Les génomes du chien et du chat, connaissances actuelles et outils d'étude disponibles

1. Rappels et définitions

Chez le chien et le chat, l'information génétique est portée par les chromosomes, eux même formés, entre autres, d'**acide désoxyribonucléique** (ADN), localisés à l'intérieur du noyau des cellules. L'ordre d'enchainement des éléments constituants l'ADN (les nucléotides, dont il existe quatre types, A, T, G, C) constitue la séquence de l'ADN.

Un **gène** constitue une unité de l'information génétique correspondant à une séquence précise de l'ADN et codant une chaine polypeptidique ou un acide ribonucléique (ARN). Il gouverne la transmission, l'expression ou la modification d'un caractère héréditaire déterminé.

On appelle **génome** l'ensemble du matériel génétique d'un individu, donc l'ensemble des gènes portés par les chromosomes d'une cellule.

Un **chromosome** correspond à la forme condensée de la molécule d'ADN.

Le **caryotype** représente l'arrangement standard de l'ensemble des chromosomes d'une cellule, par paires et par ordre de taille décroissante. Il est caractéristique d'une espèce. On distingue les chromosomes autosomes des deux chromosomes sexuels (X et Y) qui permettent, sur un caryotype, de distinguer le mâle (XY) de la femelle (XX).

Un **locus** se définit comme une localisation unique d'une séquence au sein d'un chromosome.

Le terme d'**allèle** renvoie aux différentes versions possibles d'un même gène ou d'une même séquence d'ADN. Chaque individu possède deux allèles pour chaque locus autosomique, l'un en provenance de la mère et l'autre du père. Ce sont ces variations alléliques qui sont à l'origine des différences entre les individus.
Si les deux allèles sont identiques, l'individu est dit homozygote pour ce locus.
A l'inverse, si les deux allèles sont différents, l'individu est dit hétérozygote pour le locus.

Le **génotype** au sens large renvoie à la combinaison des allèles pour l'ensemble des locus d'un individu. Au sens strict, le génotype correspond à la combinaison d'allèles possible pour un locus donné.

Les caractères gouvernés par les gènes se transmettent à la descendance de plusieurs manières possibles, comme résumé dans le tableau I.

Tableau I. Résumé bref des modes de transmission des caractères

Mode de transmission	Caractéristiques
Autosomique récessif	Présence des deux allèles mutés (homozygotie) pour que le caractère s'exprime Présence de porteurs (ce sont les hétérozygotes)
Autosomique dominant	Présence d'un seul allèle suffisante (hétérozygotie) pour permettre l'expression du caractère Absence de porteurs, sauf si la pénétrance est incomplète*
Récessif lié à l'X	Mutation causale portée par le chromosome sexuel X Fréquence d'observation du caractère beaucoup plus élevée chez les mâles que chez les femelles Présence de femelles porteuses (les hétérozygotes, elles sont dites conductrices)
Dominant lié à l'X	Mutation causale portée par le chromosome sexuel X Fréquence d'observation du caractère légèrement plus élevée chez les femelles que chez les mâles Absence de porteurs
Lié à l'Y	Mutation causale portée par le chromosome sexuel Y Transmission de père à fils uniquement
Mode mitochondrial	Gène causal porté par l'ADN mitochondrial Transmission par les femelles uniquement
Mode polygénique	De nombreux gènes (auxquels s'ajoutent des facteurs d'environnement) déterminent le caractère. Mode de transmission complexe.

*Légende : * la pénétrance incomplète qualifie ici le phénomène de non-expression du génotype chez un hétérozygote pour une mutation dominante. Elle est fréquemment observée pour les caractères autosomiques dominants.*

2. Le génome canin

Le chien (*Canis familiaris*) est un sujet d'étude particulièrement intéressant du fait des informations évolutives précieuses qu'il peut fournir mais aussi grâce à sa grande diversité phénotypique (morphologique, physiologique, d'aptitudes, de comportements).
De plus, les manifestations cliniques souvent similaires entre les maladies héréditaires humaines et les maladies héréditaires canines à forte prévalence dans certaines races ont poussé plusieurs équipes de recherche à développer des outils d'analyse du génome, afin de mieux comprendre l'origine de ces maladies. Ces outils jouent aussi un rôle fondamental dans l'identification des signatures génétiques des différentes races. C'est aussi la place particulière du chien dans l'arbre évolutif chez les mammifères qui en a fait un guide important pour l'analyse comparative du génome humain.

Le premier séquençage complet du génome d'une chienne femelle Boxer nommée Tasha, a été réalisé en 2005 par le *BROAD Institute* (Boston, MA, États-Unis) sous la direction de Kerstin Lindblad-Toh, grâce à la méthode globale (*Whole Genome Shotgun* – WGS). La couverture de séquençage du génome était de 7,5 fois (7,5 X) ce qui a permis une lecture de 31,5 millions de séquences.

La longueur totale du génome s'élevait à **2,41 Gb** (giga bases) et 97 % de la séquence assemblée a été ordonnée et orientée sur les chromosomes (Lindblad-Toh *et al.,* 2005). La taille totale du génome canin était donc légèrement inférieure à celle de l'Homme ou de la souris.
Cela peut s'expliquer par le nombre faible de séquences répétées chez le chien en comparaison avec la souris et l'Homme : 31 % chez le génome canin contre 46 % chez l'Homme (Kirkness *et al.,* 2003).

Il a été montré que le génome canin était composé de 78 chromosomes (figure 1) comprenant 38 paires d'autosomes et une paire de chromosomes sexuels (Langford *et al.,* 1996). Notons que le chromosome X avec 128 Mb (méga bases) était le plus grand du caryotype, à l'inverse du chromosome Y qui était le plus petit (27 Mb).

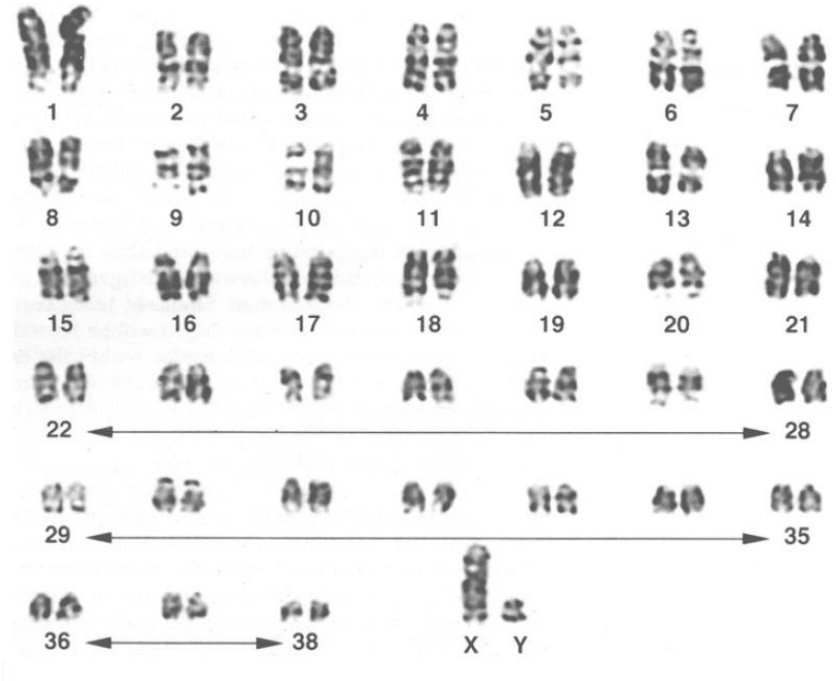


Figure 1 : Caryotype normal du chien
D'après (Langford *et al.,* 1996)
Le caryotype canin est composé de 38 paires d'autosomes et d'une paire de chromosomes sexuels.

L'annotation du génome du chien, donc l'identification de l'ensemble de ses gènes et de leurs fonctions biologiques, a déjà été publiée sous trois versions différentes, améliorées à chaque nouvelle version. **CanFam 3.1** constitue à ce jour la dernière version basée sur le génome du Boxer Tasha (Broeckx *et al.,* 2015).

3. Le génome félin

A l'instar du chien, le premier séquençage complet du génome du chat domestique (*Felis catus*) a été réalisé en 2007. C'est le génome d'un chat Abyssin de quatre ans, Cinnamon, qui a été entièrement séquencé par le *National Human Genome Research Institute* (NHGRI) grâce à la méthode globale (WGS).

La couverture de séquençage s'élevait à 1,9 X et a permis d'estimer une longueur totale du génome à **2,7 GB** avec 20 285 gènes prédits (Pontius *et al.,* 2007).

Le génome félin (figure 2) est composé de 38 chromosomes comprenant 18 paires d'autosomes et une paire de chromosome sexuel. De même que pour le chien, c'est le chromosome Y qui a la plus petite taille.

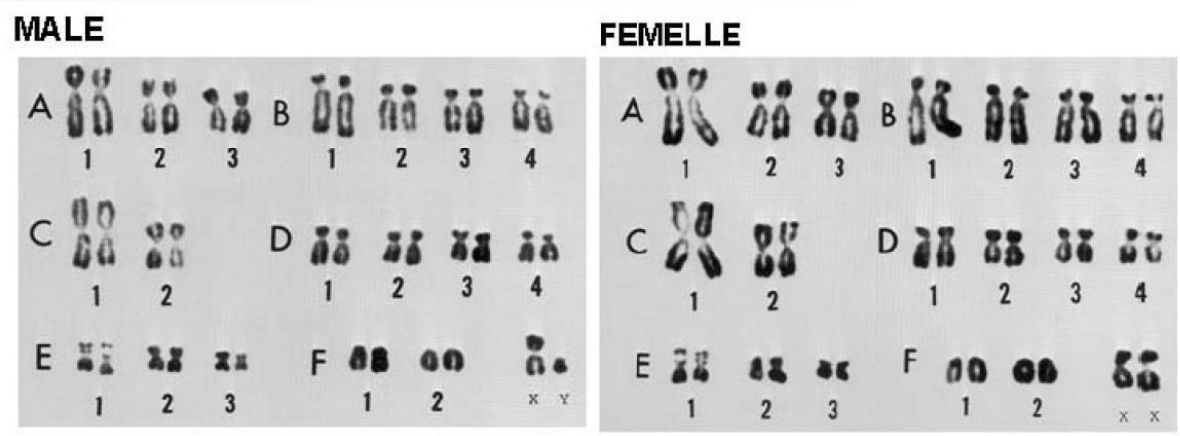


Figure 2 : Caryotypes normaux des chats mâle et femelle

D'après (Cho *et al.,* 1997)

Le caryotype félin est composé de 18 paires d'autosomes et d'une paire de chromosomes sexuels.

Les progrès réalisés en génomique féline ont permis récemment à Buckley et ses collaborateurs d'obtenir une nouvelle version du génome de référence du chat domestique appelée **Felis_catus_9.0**. Dans cette version, les améliorations des caractéristiques génomiques comprenaient l'identification de gènes non codants, de pseudogènes et de nouveaux gènes qui étaient initialement absents dans les versions ultérieures (versions Felis_catus_5.0, 6.2 et 8.0). De plus, l'ARN a été utilisé pour établir le profil d'expression de nombreux tissus (Zhang et Schoenebeck, 2020).

Cette même année, un nouvel assemblage du génome du chat domestique basé sur une nouvelle technologie de séquençage permettant de générer des séquences longues a permis d'identifier un nouveau gène intervenant dans le nanisme chez le chat et d'améliorer la qualité de l'annotation du génome félin (Buckley *et al.,* 2020).

Enfin, en 2021, c'est le séquençage du génome d'un chat hybride F1 Bengal (issu du croisement *Felis catus* et *Prionailurus bengalensis*) qui a permis de résoudre l'assemblage haploïde continu pour les deux espèces parentes (Bredemeyer *et al.,* 2021).

4. Outils et techniques de génomiques disponibles chez le chien et le chat

Parmi les outils génomiques disponibles actuellement, les marqueurs moléculaires représentent des alliés précieux tant en recherche que pour les tests commerciaux. Nous avons choisi de présenter ci-dessous les deux catégories de marqueurs qui sont utilisées en routine actuellement chez le chien et le chat.

a. Marqueurs microsatellites

On appelle **microsatellite** ou *Short Tandem Repeat* (STR) la répétition en tandem un certain nombre de fois d'un motif central court, constitué de deux à six nucléotides en moyenne (figure 3).
Ces séquences répétées et polymorphes sont très nombreuses dans le génome des mammifères mais leur rôle *in vivo* n'est à ce jour pas connu. A ce jour, en biologie moléculaire, les microsatellites peuvent être utilisés comme marqueurs pour l'établissement de cartes d'identité génétique (profils ADN) et le contrôle de filiation (exclusion de parenté).

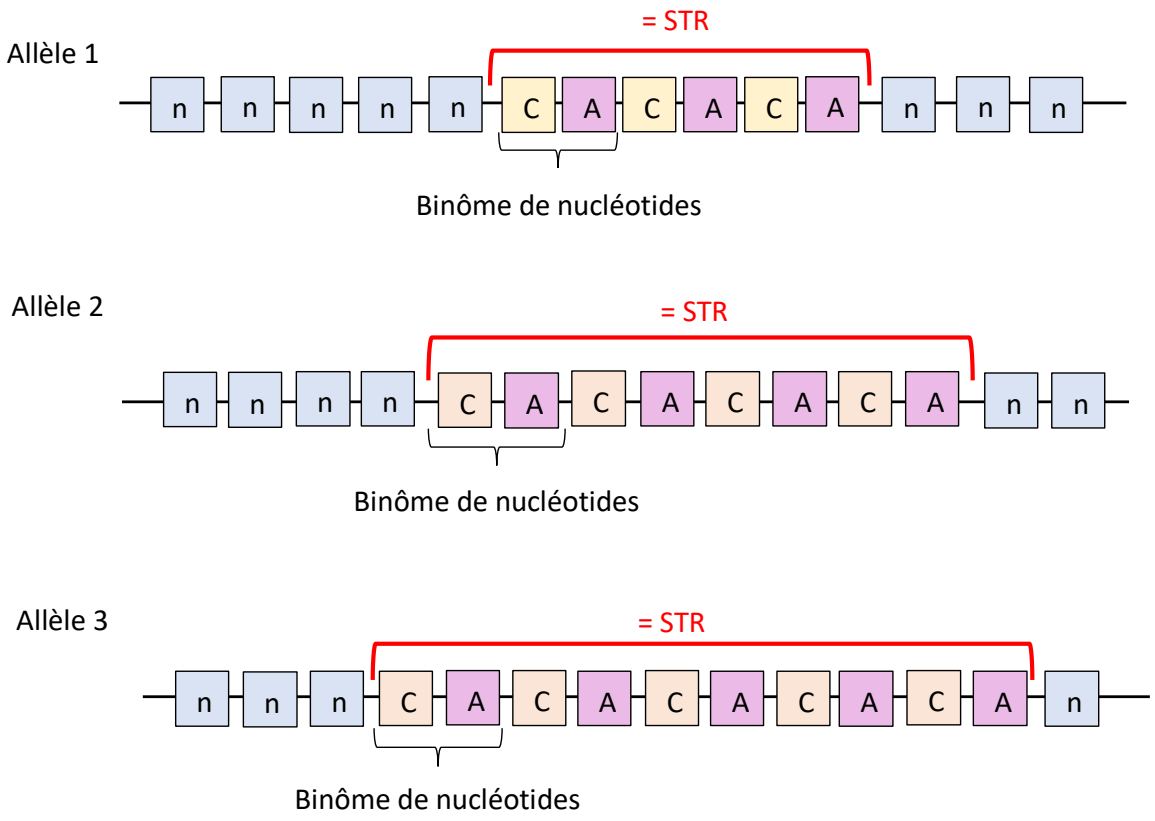


Figure 3 : Exemples illustrés de séquences microsatellites chez les mammifères
(Dessin personnel)
Pour un même microsatellite, l'allèle n°1 présente trois répétitions du motif CA à la suite ; l'allèle n°2 présente quatre répétitions du motif CA et l'allèle n°3 possède cinq répétitions de ce même motif CA.

b. *Single Nucleotide Polymorphism* (SNP)

Les **SNPs** ou *Single Nucleotide Polymorphisms* constituent la forme la plus importante de variation génétique dans le génome des mammifères.
Un polymorphisme unique de nucléotide se traduit par une différence d'une seule paire de bases dans une séquence d'ADN, codante ou non. Une illustration de cette description est présentée sur la figure 4. Il existe trois types de SNP, par changement, insertion ou délétion d'une base nucléotidique (Griffiths *et al.*, 2013a).

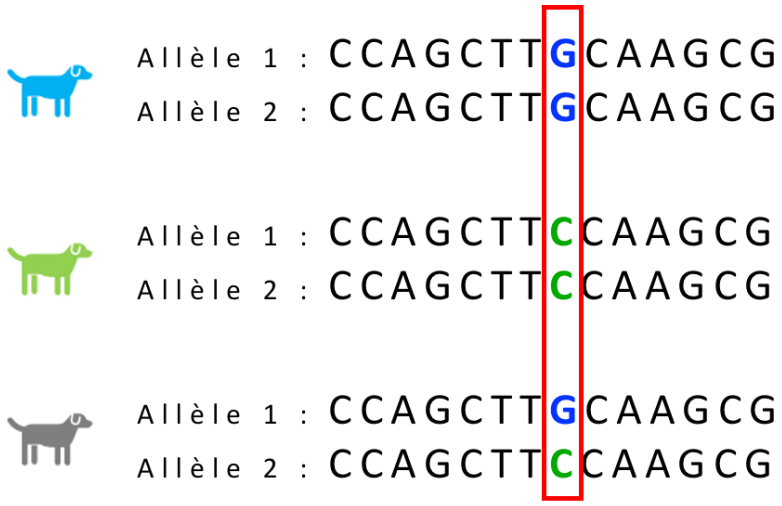


Figure 4 : Exemple d'un SNP chez trois individus canins différents
(Dessin personnel)
Le chien identifié par la couleur bleue présente un génotype GG, le chien en vert a un génotype CC et le chien en gris a un génotype GC.

c. Génotypage sur puces SNP ou à l'aide de microsatellites

Le **génotypage** se définit comme la technique/méthode permettant de déterminer les deux allèles que porte un individu pour un locus (marqueur microsatellite, SNP, gène par exemple) ou un ensemble de locus. Il permet donc d'établir le génotype de l'individu pour un ou plusieurs locus.

i. Génotypage SNP par séquençage Sanger et de nouvelle génération (NGS)

Le **séquençage Sanger**, développé en 1975, est une technique permettant de déterminer l'ordre des bases nucléotidiques au sein d'un fragment d'ADN en se basant sur le procédé de réplication de l'ADN. Plus précisément, une ADN polymérase va synthétiser le brin complémentaire de l'ADN matrice -dont on cherche à déterminer la séquence- en présence d'une amorce nucléotidique et de désoxynucléotides (dNTP) (Sanger et Coulson, 1975).
En 1977, le recours à l'utilisation des di-désoxynucléotides (ddNTP) complète la méthode initialement existante (Sanger *et al.*, 1977). L'élongation de la chaine est stoppée dès qu'un ddNTP est incorporé à une position, ce qui génère plusieurs fragments d'ADN dans le mélange.
La suite des évolutions du séquençage Sanger inclue le développement de la méthode dite « ***dye* terminator** », où les ddNTP sont marqués chacun par un fluorophore spécifique avant d'être intégrés dans le mélange (Tagu *et al.*, 2018). Le contenu est ensuite analysé par électrophorèse en gel dans des micro-capillaires. Une lecture par détection laser est réalisée en cours migration. La technique est entièrement automatisée.
Les résultats du séquençage apparaissent sous la forme d'un chromatogramme où chaque pic de couleur correspond à une base précise. Pour finir, la séquence du brin matrice est déduite par complémentarité de la séquence obtenue (Griffiths *et al.,* 2013b).

Le séquençage Sanger par fluorescence (*Fluorescent dye terminator Sanger sequencing* – FTSS) est illustré par la figure 5.

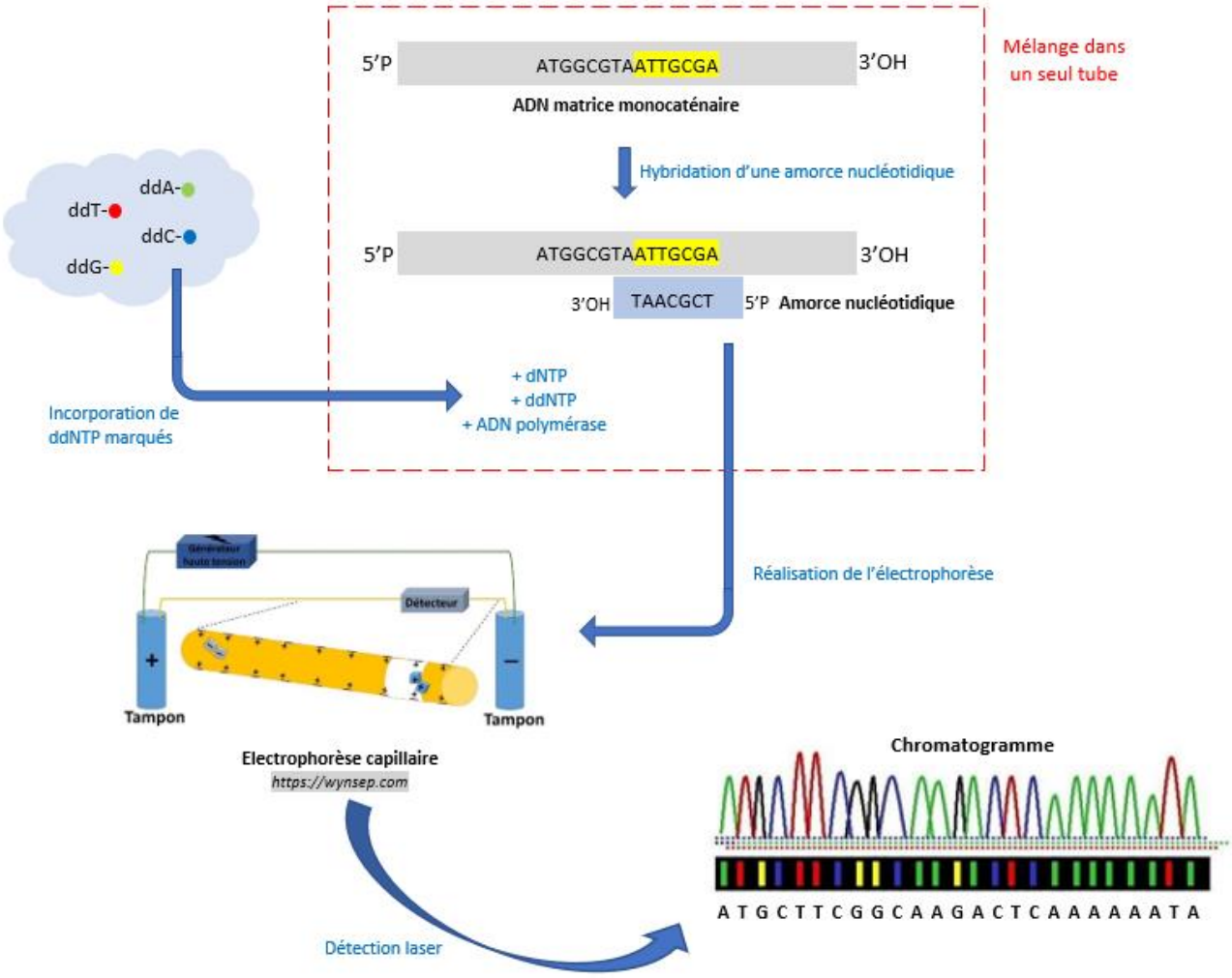


Figure 5 : Illustration schématique de la méthode de séquençage Sanger
(Dessin personnel)
Le mélange initial contient le brin d'ADN matrice, une amorce, une ADN polymérase, des dNTP et des ddNTP. Un ensemble de brins de longueur variable (dépendant de l'insertion d'un ddNTP) est synthétisé dans le mélange avant réalisation de l'électrophorèse dans un micro-capillaire. Par détection laser, on obtient un chromatogramme sur lequel chaque pic de couleur renvoie à une base précise, permettant ainsi une lecture de séquence du brin matrice.

Toutefois, cette technique souffrait de quelques limites dont une sensibilité réduite pour les allèles mutants rares, des complexités dans l'analyse des régions hautement polymorphes et des concentrations d'ADN élevées requises (Tipu et Shabbir, 2015).
Dans le cadre du séquençage des génomes entiers, elle nécessitait également un travail long et minutieux de cartographie génétique et physique des génomes en amont, afin de réaliser le séquençage des fragments d'ADN dans un ordre préétabli.

La volonté d'une part de séquencer des génomes entiers prégnante en recherche tant en diagnostic, ainsi que d'autre part de surmonter les limites de la méthode Sanger a poussé les scientifiques à élaborer des techniques de séquençage plus rapide et efficace depuis le

début du XXIème siècle. Ce fut l'émergence du **séquençage de nouvelle génération** ou *New Generation Sequencing* (NGS).
Également désigné par le nom de séquençage à haut débit, le NGS est un terme utilisé pour décrire différentes technologies récentes de séquençage, comme celles développées par les sociétés commerciales Illumina, Roche, PacBio, la technologie ion torrent ou nano-pore. Ces techniques permettent d'accroître considérablement le débit de productions de séquences. Les longues séquences, qui sont pour certaines de ces technologies, séquencées en petits fragments, sont reconstituées grâce à des outils créés spécifiquement pour réaliser l'assemblage de millions de séquences, comme pour un génome entier : on parle d'outils de bioinformatique (Tagu *et al.*, 2018).

Dans la continuité des progrès réalisés en matière de séquençage, un test génétique grand public à destination des chats, appelé **BasePaw**, est lancé par Anna Skaya en 2016. A partir d'un prélèvement buccal, BasePaw propose, par le séquençage NGS :

- d'évaluer les caractères de race et d'ascendance d'un chat ;
- de dépister le risque d'apparition de certaines affections par identification des mutations causales ou prédisposantes.

Il s'agit de la première entreprise à fournir directement aux consommateurs le séquençage ADN de leur chat (BasePaw, www.basepaws.com).

ii. Génotypage SNP à l'aide des puces

- **Génotypage SNP faisant intervenir des puces de recherche**

Le génotypage à l'aide des puces SNP, dans le cadre de la recherche, fait intervenir des puces de type *DNA microarray,* technique décrite pour la première fois en 1995 (Schena *et al.,* 1995). Actuellement, il existe deux méthodes de ce type (Lindgren *et al.,* 2011) commercialisées par les sociétés :

- **Affymetrix**, la première méthode de DNA microarray développée en 1995 ;
- **Illumina,** méthode développée plus récemment par Gunderson et son équipe en 2005, elle est à ce jour la technique la plus répandue (Gunderson e*t al.,* 2005).

Les deux méthodes consistent à génotyper, pour plusieurs dizaines de milliers de marqueurs SNP, un chien, en une seule expérience, grâce à la technique de l'hybridation moléculaire de l'ADN. Nous ne détaillerons pas la technique, qui n'a pas été utilisée dans notre partie expérimentale.

- **Génotypage SNP faisant intervenir des puces commerciales**

Certains panels de tests génétiques chez les espèces canine et féline font intervenir des puces de type SNP, comme :

- le panel proposé par le laboratoire *Embark Veterinary*, aux Etats-Unis, qui propose des « DNA kits » portant sur l'identification des races composant un chien croisé, des mutations de couleurs et texture de pelage et de mutations responsables de maladies (Embarvet.com) ;
- le panel proposé par le laboratoire *Genoscoper*, en Finlande, dont le test « MyDogDNA » explore les caractéristiques héréditaires (couleurs, textures de pelage et maladies) chez le chien (mydogdna.com).

Le principe est identique à celui des puces de recherche, les marqueurs étant des mutations causales ou des SNP associés à des mutations causales de caractères d'intérêt ou délétères. Des marqueurs complémentaires sont utilisés pour estimer la diversité génétique de l'individu qui peut ensuite être comparé à une base de données d'animaux déjà génotypés.

iii. Génotypage de microsatellites par PCR et électrophorèse en gel d'agarose

Le génotypage de **marqueurs microsatellites** par PCR (*polymerase chain reaction*) consiste à amplifier un microsatellite à l'aide d'amorces qui sont des oligonucléotides qui s'apparient spécifiquement avec les séquences flanquantes du microsatellite. On obtient un très grand nombre de copies de la séquence amplifiée. Par électrophorèse dans un gel d'agarose (figure 6), il est ensuite possible d'estimer la longueur de chaque allèle du microsatellite de l'individu étudié. Les tailles des produits PCR révèlent le nombre de répétitions dans un allèle (Griffiths *et al.,* 2013b). Un individu hétérozygote possèdera donc des produits de deux tailles différentes.

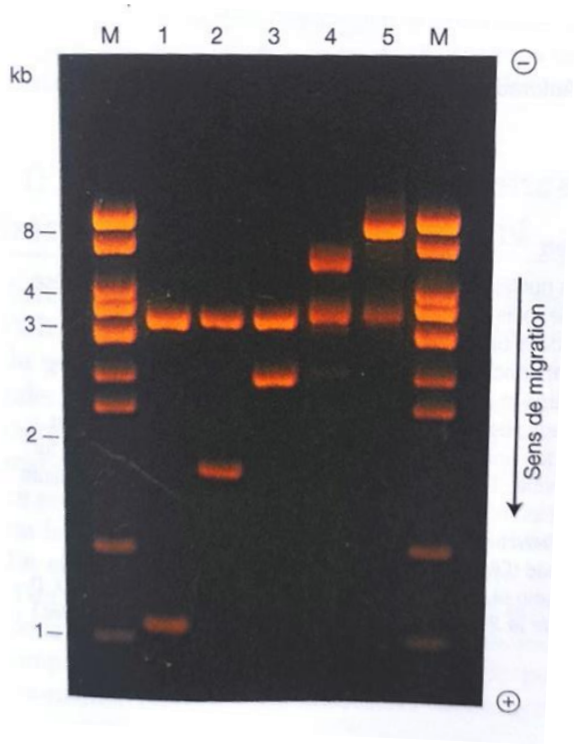


Figure 6 : Electrophorèse en gel d'agarose
D'après (Griffiths et al. 2013b)
Les fragments d'ADN de tailles différentes sont introduits dans des puits en haut du gel. Sous l'influence d'un courant électrique, les fragments migrent de la borne négative vers la borne positive en différentes positions sur le gel en fonction de leur taille. Les bandes d'ADN sont visibles grâce à un marquage au bromure d'éthidium révélé sous lumière ultraviolette.
A noter que les colonnes « M » correspondent aux marqueurs dont les tailles des fragments sont connus, et qui servent de référence.

iv. Génotypage de microsatellites par PCR et séquenceur automatique

Une autre technique possible de génotypage des marqueurs microsatellites utilise la technique PCR couplée à une analyse sur séquenceur automatique d'ADN de type Sanger. Les produits de PCR sont marqués par des fluorochromes grâce à l'utilisation d'amorces de PCR dont l'une est marquée par un fluorochrome. Les produits de PCR sont chargés, après réaction, dans les capillaires d'un séquenceur et le laser détecte la fluorescence lors de leur migration dans le capillaire. Une gamme étalon (séquences de tailles connues), marquée par un autre fluorochrome que le produit de PCR, est utilisée pour déterminer la taille en bases des fragments visualisables sous la forme de pics de fluorescence (figure 7).

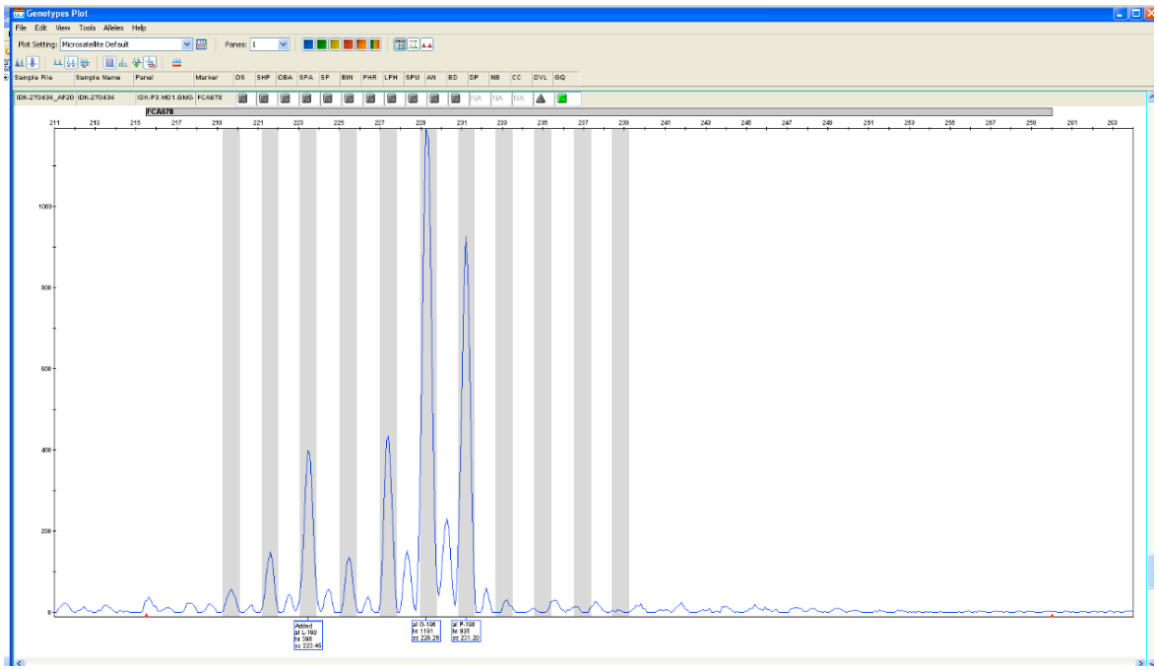


Figure 7 : Obtention d'un électrophorégramme avec l'utilisation d'un séquenceur automatique

(Source : Antagene)

Sur l'ordinateur, la fluorescence associée à chaque allèle du marqueur apparaît sous la forme d'un pic. Sur cette image, l'individu étudié possède trois allèles pour le marqueur, ce qui est inhabituel et constitue un signe d'appel pour explorer une particularité génétique chez cet individu.

Parmi les outils et techniques que nous venons de présenter, certains sont à la base de tests génétiques commercialisés par les laboratoires de génétique et génomique animale.

d. Tests commerciaux utilisés en routine chez les espèces canines et félines

Il existe un certain nombre d'outils et de tests génétiques utilisés en routine dans les laboratoires commerciaux de génétique, pour le chat et le chien (www.antagene.com et www.genindexe.com) :

- panels de marqueurs microsatellites pour l'identification ADN ;
- vérification ADN de la parenté et de la filiation des chiots et des chatons ;

- groupage sanguin par ADN chez le chat grâce au génotypage pour le locus en cause ;
- génotypage pour des mutations gouvernant des caractères d'intérêt, notamment les couleurs ou longueur et texture des poils ;
- génotypage pour des mutations gouvernant des caractères délétères : tests de dépistage et de diagnostic de maladies héréditaires ; et tests de prédisposition ou sensibilité.

Pour la réalisation de l'ensemble de ces tests, des prélèvements ADN sont nécessaires. Leur obtention peut se faire par prélèvement sanguin sur anticoagulant de type EDTA (Acide éthylène-Diamine-Tétra-Acétique, agent de chélation permettant de capter les ions Ca2+ qui jouent un rôle dans la coagulation), frottis buccal (le plus couramment utilisé, figure 8), ou par l'utilisation de semence, de poils, de biopsies ou prélèvements anatomo-pathologiques (www.antagene.com).

Figure 8 : Prélèvements buccaux à l'aide d'une cytobrosse chez le chien et le chat
(Source : Morgane Canu)
La cytobrosse est glissée entre la gencive et la joue de l'animal. Avec le pouce, une pression est exercée sur la joue en regard de la cytobrosse qu'il faut faire pivoter pendant 20 secondes environ. La cytobrosse est ensuite placée dans un tube contenant de l'éthanol, ou séchée à l'air libre durant quelques minutes avant d'être replacée dans son emballage papier.

i. Profil ADN

L'identification génétique ou empreinte génétique ou identité ADN ou profil ADN consiste à établir le génotype d'un individu pour un ensemble de marqueurs microsatellites ou SNP. Actuellement en France, chez les chiens et les chats, des marqueurs microsatellites sont utilisés.

En élevage canin et félin, cette empreinte génétique unique et infalsifiable permet de valoriser l'animal au sein d'un élevage, de sécuriser les saillies des reproducteurs, contrôler les filiations et d'officialiser les lignées.

A ce jour, l'empreinte génétique d'un chien ou d'un chat détermine la combinaison d'allèles que possède l'animal pour un certain nombre de marqueurs microsatellites validés par la norme internationale ISAG *(International Society for Animal Genetics)*.

Pour chacun des marqueurs étudiés, l'individu a reçu un allèle paternel et un allèle maternel, tous deux symbolisés soit par des lettres (de A à Z) ou par un nombre selon le laboratoire (double codification).

Aujourd'hui chez le chien, l'élaboration du profil ADN se base sur un panel de 22 marqueurs microsatellites répondant à la norme ISAG 2006 (tableau II) (ISAG).

Tableau II : Liste des marqueurs utilisés à ce jour chez le chien pour l'établissement de l'empreinte génétique, ainsi que leurs localisations chromosomiques
(ISAG)

Marqueurs	Localisations
AHTh130	Chromosome CFA36
AHTh171	Chromosome CFA06
AHTh260	Chromosome CFA16
AHTk211	Chromosome CFA26
AHTk253	Chromosome CFA23
AHT 121	Chromosome CFA13
AHT 137	Chromosome CFA11
CXX279	Chromosome CFA22
FH2054	Chromosome CFA12
FH2848	Chromosome CFA02
INRA21	Chromosome CFA21
INU005	Chromosome CFA33
INU030	Chromosome CFA12
INU055	Chromosome CFA10
REN105L03	Chromosome CFA11
REN162C04	Chromosome CFA07
REN169D01	Chromosome CFA14
REN169O18	Chromosome CFA29
REN247M23	Chromosome CFA15
REN54P11	Chromosome CFA18
REN64E19	Chromosome CFA34
Amelogenin (XY)	Chromosome X

21 marqueurs microsatellites polymorphes reconnus par l'ISAG

1 marqueur microsatellite de sexe

Aujourd'hui chez le chat, le profil ADN est réalisé en utilisant 15 marqueurs microsatellites définis par la norme ISAG 2012 et présentés dans le tableau III (ISAG ; Menotti-Raymond *et al.,* 2003).

Tableau III : Liste des marqueurs utilisés à ce jour chez le chat domestique pour l'établissement de l'empreinte génétique, ainsi que leurs localisations chromosomiques
D'après (Menotti-Raymond *et al.,* 2003)

Marqueurs	FCA026	FCA069	FCA075	FCA105	FCA149	FCA201	FCA220	FCA229	FCA293	FCA310	FCA441	FCA453	FCA649	FCA678	ZFXY
Localisation chromosomique	Chr. D4	Chr. B4	Chr. E2	Chr. A2	Chr. B1	Chr. B3	Chr. F2	Chr. A1	Chr. C1	Chr. C2	Chr. D3	Chr. A1	Chr. C1	Chr. A1	Chr. X

14 marqueurs microsatellites polymorphes reconnus par l'ISAG

1 marqueur microsatellite de sexe

Aujourd'hui, les normes ISAG 2006 et ISAG 2012 sont mise en œuvre par l'ensemble des laboratoires en Europe (ISAG).
Pour le chien et le chat, la probabilité d'obtenir des empreintes génétiques différentes pour des individus pris au hasard dans la population est supérieure à **99,9** % (à l'exception des vrais jumeaux pour lesquels les empreintes génétiques sont identiques).
De plus, la comparaison de deux empreintes génétiques établies indépendamment permet de vérifier l'identité génétique d'un chat ou d'un chien respectivement.
Enfin, un laboratoire assure que la probabilité de caractériser correctement les deux allèles au niveau de chacun des 22 marqueurs microsatellites testés chez le chien, et des 15 marqueurs microsatellites chez le chat, est supérieure à 99 % pour les deux espèces (Antagene, www.antagene.com).

ii. Contrôle des filiations

La comparaison de l'empreinte génétique d'un chiot ou d'un chaton avec celles de ses deux parents permet de vérifier la compatibilité génétique et donc de contrôler la filiation.
Si les empreintes sont compatibles, l'individu testé doit donc posséder pour chaque marqueur microsatellite un allèle en provenance du père et un allèle en provenance de la mère, ce qui est indispensable pour attester de la parenté directe du descendant.
On parle de filiation monoparentale lorsque l'individu est compatible avec l'un de ses deux parents, et de filiation complète s'il est compatible avec les deux parents.
En revanche, si l'incompatibilité concerne plus de deux marqueurs génétiques, alors la parenté est exclue. Il est toutefois possible d'observer une mutation rare sur un à deux marqueurs microsatellites chez le descendant, l'incompatibilité en résultant ne permet alors pas d'exclure la parenté avec les parents testés (Antagene).

iii. Groupage sanguin par ADN chez le chat

Les groupes sanguins correspondent à des déterminants antigéniques localisés sur la membrane des hématies et spécifiques pour chaque espèce (Stormont, 1982).
Chez le chat, il a été mis en évidence trois phénotypes déterminés par les antigènes A et B : groupe A, groupe B et groupe AB (le plus rare). Il a été montré que les chats appartenant au groupe B possédaient des alloanticorps contre le groupe A à titre élevé, ce qui entraînait deux conséquences (Hohenhaus, 2004) :

- une réaction hémolytique forte voire mortelle en cas de transfusion de sang de groupe A à un individu receveur de groupe B ;
- un risque élevé d'érythrolyse néonatale (souvent mortelle) chez les chatons de groupe A ou AB, lors de la prise du colostrum, si leur mère était de groupe B.

Pour les éleveurs félins, il est donc important de tester leurs reproducteurs afin de déterminer quels chats sont porteurs de l'allèle b récessif gouvernant le groupe sanguin B (génotype *b/b*) et ainsi pouvoir éviter les accouplements à risque.
Notons que seulement 35 % des chats environ possèderaient un faible taux d'anticorps anti-B responsables d'une réaction hémolytique faible (Auer *et al.*, 1982).

Pour le groupe AB, les études tendent à montrer qu'il n'existerait pas ou peu d'activité hémolysante ou agglutinante (Nectoux, 2018).
Une étude publiée en 2007 a décrit l'existence de groupes sanguins différents de ceux du groupe AB par mise en évidence d'un nouvel antigène érythorcytaire, nommé Mik, chez la plupart des chats (Weinstein *et al.,* 2007). De plus, l'étude récente de Binvel a démontré la présence d'alloanticorps naturels hors AB chez 7 % des chats étudiés de groupe A, qui ont présenté une incompatibilité lors du cross-match (Binvel *et al.,* 2021).

En France, des laboratoires proposent le dépistage du groupe sanguin avec l'ADN, afin d'orienter au mieux le choix des accouplements dans les élevages félins.
En pratique, la distinction entre les groupes A et AB n'est pas réalisé car le test ne permet pas de faire la différence entre le sérotype A et le sérotype AB (Antagene).
A ce jour, le seul laboratoire proposant le dépistage du groupe sanguin AB chez le chat est le laboratoire UC Davis situé en Californie (vgl.ucdavis.edu).

iv. Génotypage pour des allèles de caractères d'intérêt

Certains tests ADN permettent également de détecter des individus porteurs d'un caractère d'intérêt.
Dans le cadre de notre étude, nous ne présenterons aujourd'hui que les caractères d'intérêts chez le chien et le chat utiles pour le développement de la partie expérimentale (tableaux IV et V). Les détails concernant les allèles et leur impact sur le phénotype des individus seront précisés dans la partie II.2 de ce manuscrit.
A noter qu'il existe d'autres caractères qui peuvent être recherchés chez ces deux espèces comme les textures des poils, les caractéristiques morphologiques, ou encore les aptitudes et comportement.
Le tableau IV présente les tests de dépistage des caractères d'intérêt chez le chat.

Tableau IV : Exemples d'allèles mutés de caractères d'intérêt dépistés par ADN chez l'espèce féline

(Sources : PennGenn ; OMIA)

Locus	Nom du gène	Allèles	Caractère d'intérêt
Locus *A*	*ASIP*	Allèle *a*	Non-agouti
Locus *B*	*TYRP1*	Allèle *b*	Chocolat
		Allèle b^l	Cannelle
Locus *E*	*MC1R*	Allèle e	Ambre
		Allèle e^r	Russet
		Allèle e^c	Carnelian
Locus *C*	*TYR*	Allèle c^s	Colourpoint
		Allèle c^b	Sépia
		Allèle c^m	Mocha
		Allèle *c*	Albinos
Locus *D*	*MLPH*	Allèle *d*	Dilution
Locus *W*	*KIT*	Allèle W^S	*White spotting* (panachure)
		Allèle *W*	Couleur blanche dominante
Locus *L*	*FGF5*	Allèle *l*	Poils longs

Les caractères d'intérêt couramment recherché chez le chien sont résumés dans le tableau V.

Tableau V : Exemples d'allèles mutés de caractères d'intérêt dépistés par ADN chez l'espèce canine

(Sources : PennGenn ; OMIA ; Genimal)

Locus	Nom du gène	Allèles	Caractère d'intérêt
Locus *A*	*ASIP*	Allèle A^y	Pelage fauve, fauve charbonné
		Allèle *a*	Robe unie
		Allèle a^t	Robe noire et feu
Locus *B*	*TYRP1*	Allèle *b*	Couleur marron
Locus *E*	*MC1R*	Allèle e	Robe sable, crème ou fauve
		Allèle E^M	Masque sombre
		Allèle E^G	Couleur grizzle (lévriers)
		Allèle E^H	Couleur "sable" (cockers)
Locus *K*	*CBD103*	Allèle K^B	Pelage eumélanique dominant
		Allèle k^{br}	Robe bringée
Locus *D*	*MLPH*	Allèle *d*	Dilution
Locus *I*	*MFSD12*	Allèle *i*	Eclaircissement de la phéomélanine
Locus *S*	*MITF*	Allèle s^p	Panachure moyenne « piebald »
Locus *L*	*FGF5*	Allèle l	Poils longs

v. Tests génétiques pour le dépistage et le diagnostic de maladies héréditaires

De nombreux tests ADN, utilisables en dépistage ou comme examens complémentaires en diagnostic, sont disponibles à ce jour chez le chien et le chat. Nous ne les avons pas présentés car ils ne sont pas le sujet de notre étude. Nous avons juste rappelé les sources d'informations disponibles sur les maladies héréditaires et les tests disponibles.

- **Chez l'espèce canine**

Actuellement, ce sont 820 caractères héréditaires qui ont été répertorié chez le chien d'après la base de données OMIA (https://omia.org).
Du fait du nombre important et grandissant de caractères héréditaires identifiés au sein de l'espèce canine, plusieurs bases de données ont été développées sur internet, pour être accessibles aux propriétaires de chiens ou aux professionnels (laboratoires, éleveurs, vétérinaires). Nous en avons cité quelques-unes parmi les plus complètes et actualisées :

- **OMIA** (*Online Mendelian Inheritance in Animals* : https://omia.org) ;
- **DogWellNet** (https://dogwellnet.com) ;
- **Genodog** (https://genodog.fr) ;
- **Maladies Héréditaires du Chien (**http://www.maladieshereditairesduchien.com**) ;**
- **PennGenn** (https://www.vet.upenn.edu/research/academic-departments/clinical-sciences-advanced-medicine/research-labs-centers/penngen).

- **Chez l'espèce féline**

En ce qui concerne l'espèce féline, ce sont 378 caractères d'intérêts et maladies héréditaires qui ont été répertoriées aujourd'hui d'après la base de données OMIA (https://omia.org).
Chez le chat, il n'existe pas de base de données spécifique des caractères héréditaires félins. Les bases suivantes multi-espèces s'avèrent donc utiles :

- **OMIA** (https://omia.org) ;
- **PennGenn** (https://www.vet.upenn.edu/research/academic-departments/clinical-sciences-advanced-medicine/research-labs-centers/penngen).

Le site du **LOOF** (Livre Officiel des Origines Félines) constitue également une source d'information : https://loof.asso.fr/eleveurs/maladies.php.

II) Rappels de génétique de la couleur du chien et chat

1. Rappels sur les bases de la pigmentation chez le chien et le chat

D'après (Lin et Fisher, 2007 ; Nishimura, 2011 ; Kaelin et Barsh, 2013).

Chez le chien et le chat, comme chez le reste des mammifères, il a été montré qu'il existait des cellules pigmentaires spécialisées, les mélanocytes, au sein desquelles la production de pigments est réalisée dans des organites dérivés des lysosomes et appelés mélanosomes.
Il a été montré que les mélanocytes provenaient de la crête neuronale et étaient présents dans de multiples tissus comme le derme, l'épiderme, les follicules pileux, l'oreille interne, la rétine ou la choroïde (figure 9).

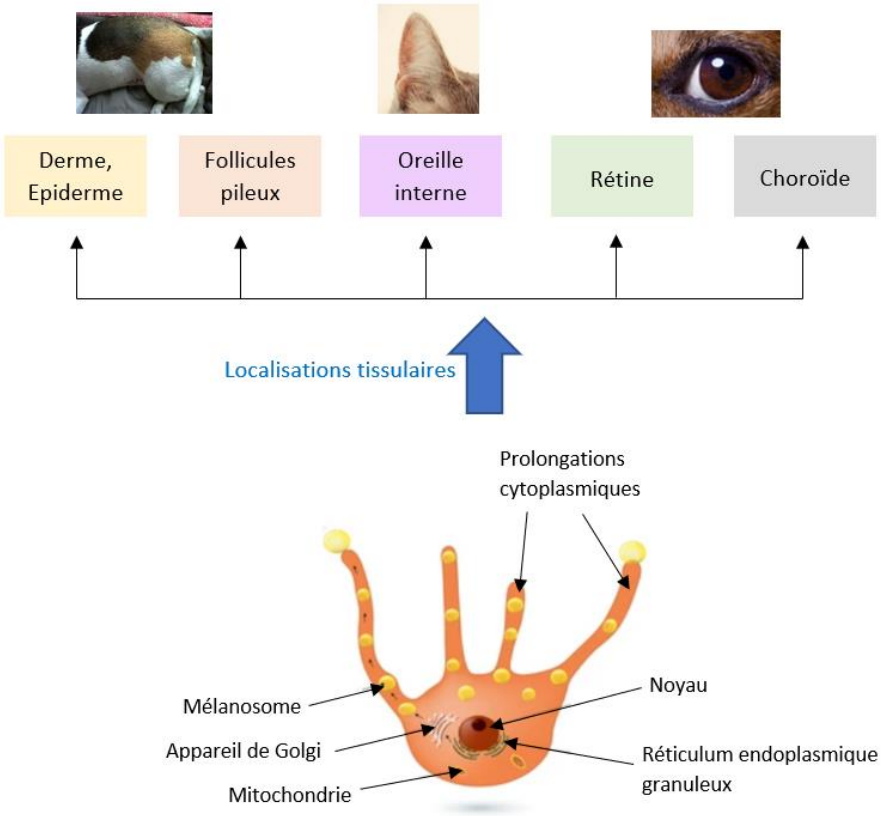


Figure 9 : Représentation schématique d'un mélanocyte ainsi que de ses différentes localisations tissulaires

(Dessin personnel, source : Brenner et Hearing, 2009)

Sur ce schéma, un mélanocyte contenant plusieurs mélanosomes est représenté. Ses autres organites sont les mitochondries, le réticulum endoplasmique granuleux ainsi que l'appareil de Golgi. Les cinq localisations tissulaires des mélanocytes sont mentionnées en différentes couleurs.

Il été mis en évidence que les mélanocytes situés en profondeur dans la peau transmettaient des mélanosomes, grâce à des extensions cytoplasmiques, aux cellules adjacentes comme les kératinocytes de la peau. De plus, des mélanocytes situés à la base des poils pouvaient charger la tige pilaire en mélanosomes au fur et à mesure de sa croissance, ce qui était à l'origine de la pigmentation des poils, comme le montre la figure 10.

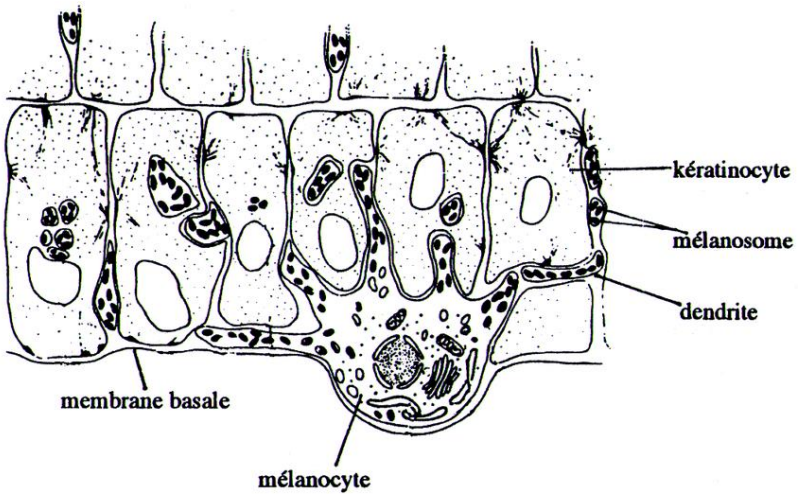


Figure 10 : Origine de la pigmentation des poils par transmission de mélanosomes aux kératinocytes

D'après (Mélissopoulos et Levacher, 2017)

Les mélanosomes sont transportés du corps cellulaire à l'extrémité des dendrites du mélanocyte par les microtubules. Leur contenu est ensuite transféré aux kératinocytes grâce à l'intervention d'un complexe protéique tripartite.

Deux grands types de pigments, synthétisés par ces cellules pigmentaires, ont été identifiés (figure 11) :

- les pigments eumélaniques : de couleur foncée, brune à noire ;
- les pigments phéomélaniques : de couleur claire, jaune à rouge.

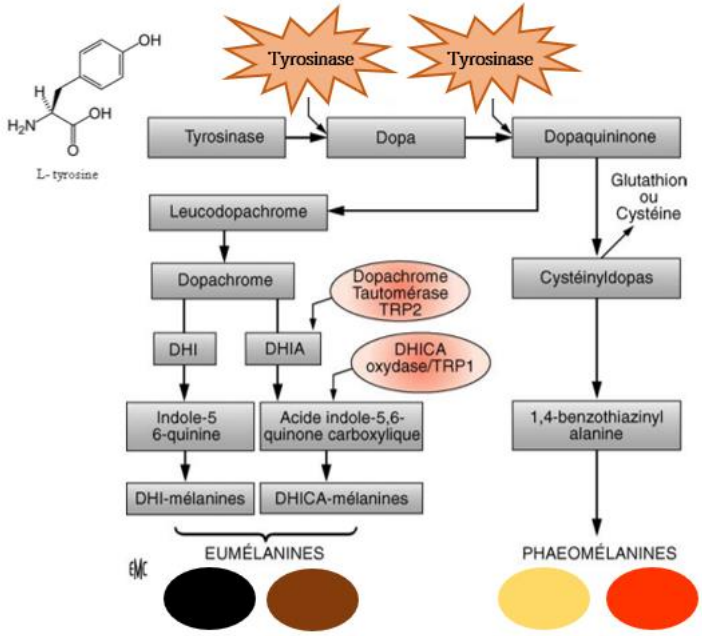


Figure 11 : Schéma de la mélanogenèse au sein des mélanosomes

D'après (Passeron *et al.*, 2005)

Le processus met en jeu différentes enzymes qui catalysent des réactions conduisant à la formation des pigments mélaniques dans les mélanosomes. On note que la synthèse des eumélanines fait intervenir de nombreux intermédiaires indoliques et que l'enzyme tyrosinase est indispensable à la synthèse des deux types de pigments.

2. Locus et gènes de coloration et longueur du pelage canins et félins utilisés dans notre étude expérimentale

D'après (Brancalion *et al.,* 2022 ; Lyons, 2015 ; Kaelin et Barsh 2013, Abitbol, 2012).

La génétique mendélienne canine et féline a supposé depuis longtemps l'existence de différents locus de coloration, qui ont, pour certains, été confirmés par la suite à l'échelle moléculaire (gènes et mutations). Nous avons dressé la liste des locus de pigmentation et de longueur du poil qui nous été utiles pour la partie expérimentale de notre étude. Cette liste n'est donc pas exhaustive. Pour des revues complètes sur le sujet, consulter (Brancalion *et al.,* 2022 ; Lyons, 2015 ; Kaelin et Barsh 2013, Abitbol, 2012) dont sont tirées les informations présentées ci-dessous.

a. Locus déterminant la couleur de base

La couleur de base du pelage est déterminée par la production d'eumélanine et les proportions eumélanine-phéomélanine. Il a été mis en évidence que quatre locus pouvaient interagir dans le déterminisme de la couleur de base.

i. Locus B (Brown) : détermine la couleur de l'eumélanine

Il a été montré que le locus *Brown* gouvernait la couleur de l'eumélanine qui pouvait varier du brun clair au noir et comprenait trois allèles chez le chat et deux allèles chez le chien (figure 12) :

- allèle B^+ (*Black*) codant une eumélanine noire : allèle sauvage et dominant ;
- allèle *b* (*brown*) codant une eumélanine marron et donnant une robe de couleur marron chez le chien et chocolat chez le chat ;
- allèle b^l (*brown light*) gouvernant une robe couleur cannelle chez le chat uniquement.

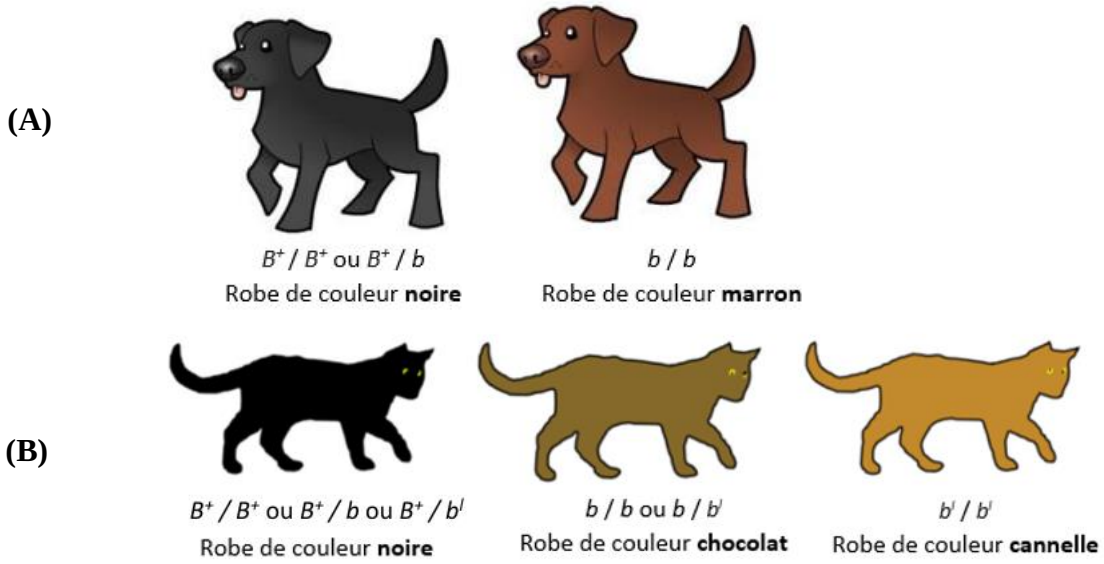


Figure 12 : Expressions phénotypique du locus *Brown* chez le chien et le chat

(Dessin personnel)

(A) : Robes de couleur noire et marron chez le chien en fonction des allèles portés par le locus B.
(B) : Chez le chat, l'homozygotie b^l / b^l détermine une troisième couleur de pelage, la robe cannelle.

ii. Locus E «(Extension) : détermine la production d'eumélanine

Il a été montré que, chez le chien, plusieurs allèles existaient pour le locus *Extension* (figure 13) :

- allèle E^{+} dominant qui gouverne la production possible d'eumélanine ;
- allèle E^{M} gouvernant un masque eumélanique ;
- allèle *e* récessif gouvernant l'absence de production d'eumélanine (robe sable, crème ou fauve sans eumélanine). Plusieurs allèles *e* différents ont en fait été identifiés dans différentes races de chiens (e^{1}, e^{2}, e^{A}) ;
- allèle E^{G} pour *grizzle* retrouvé chez le Barzoi, le Saluki et le lévrier Afghan gouvernant une extension des marques fauves chez les chiens noir marqué de fauve (Dreger et Schmutz 2012) ;
- allèle E^{H} présent chez les cockers Anglais et Américain, gouvernant la couleur appelée sable et caractérisée par une extension des marques fauves chez les chiens noir marqué de fauve.

Remarque : le locus *E* ne concerne que la coloration pilaire et pas celle de la peau : un chien peut donc être de génotype *e/e* (fauve) avec une truffe noire.

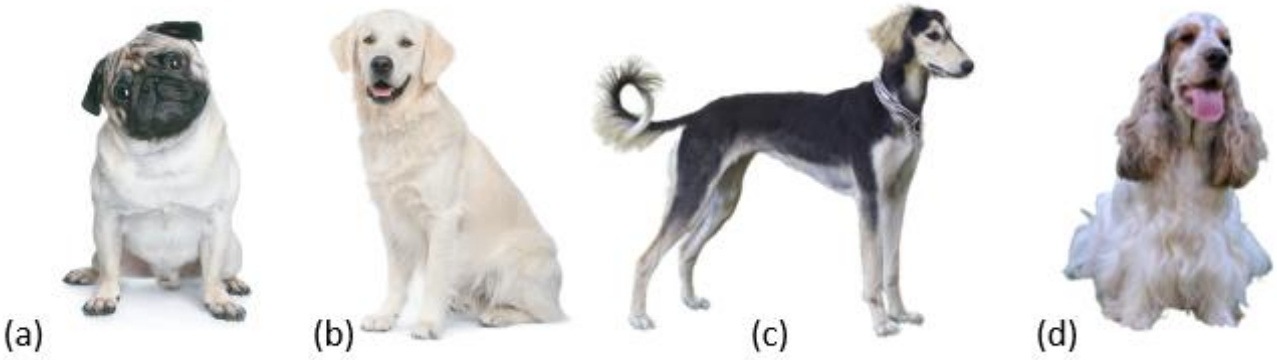


Figure 13 : Variations phénotypiques associées au locus *E* chez le chien
D'après (Brancalion *et al.,* 2022; Dreger et Schmutz 2010 ; Genomia)
Photo (a) : chien de race Carlin qui peut être E^{M}/E^{M} ou E^{M}/e pour le locus « Extension »
Photo (b) : couleur fauve uni chez le Retriever du Labrador qui porte le génotype e/e
Photo (c) : couleur grizzle chez un chien Saluki où l'allèle E^{G} s'exprime
Photo (d) : Illustration de la robe sable chez un cocker Anglais porteur de l'allèle E^{H}

Chez le chat, le locus *Extension* présentait également plusieurs allèles qui ont été identifiés comme suit (figure 14) :

- allèle *E*, dominant, à l'origine d'une production stable des eumélanines tout au long de la vie du chat ;
- allèle *e*, récessif, responsable de la couleur ambre qui se traduit par une disparition progressive des eumélanines, la couleur ambre apparaissant progressivement pour se stabiliser une fois le chat adulte. La couleur ambre n'a été décrite que chez la race Norvégien à l'heure actuelle (Peterschmitt *et al.,* 2009) ;
- allèle e^{r}, récessif, gouvernant l'équivalent de la couleur ambre mais chez le Burmese et appelée *russet* (Gustafson *et al.*, 2017) ;

- allèle e^c, récessif, gouvernant l'équivalent de la couleur ambre mais chez le Kurilian bobtail, appelée *carnelian* à l'état homozygote et *copal* à l'état hétérozygote (Bychkova *et al.,* 2020).

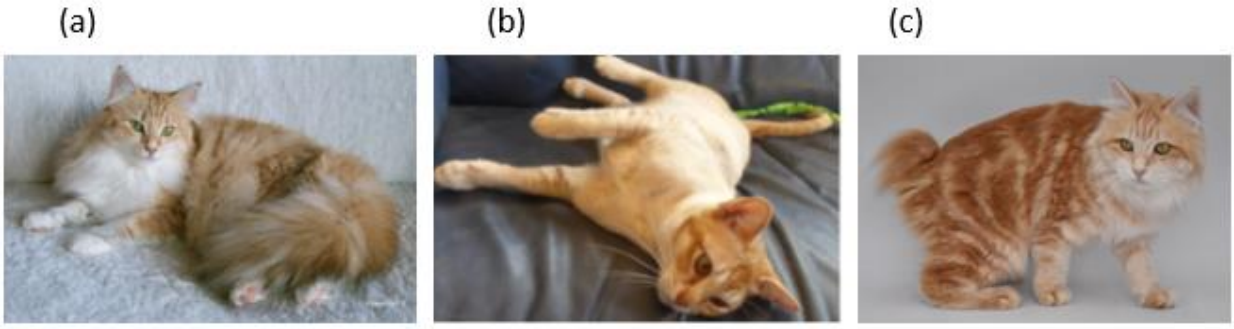


Figure 14 : Les couleurs ambre, russet et carnelian chez le chat
D'après (Peterschmitt *et al.,* 2009 ; Gustafson, *et al.*, 2017 ; Chatterie des Kurils de l'Ouest)
Les photos ci-dessus illustrent les robes portées chez le chat suite à des mutations du gène MCR1, respectivement la couleur ambre (a), la couleur russet (b) et la couleur carnelian (c).

iii. Locus A (Agouti) : gouverne la proportion eumélanine- phéomélanine

Il a été montré que le locus *Agouti* modifiait les proportions en eumélanine et phéomélanine dans les poils et le pelage des carnivores domestiques. Quatre allèles ont été identifiés chez le chien (figure 15) :

- allèle a^w, récessif, sauvage, qui gouverne la présence de poils agoutis et une robe appelée gris loup ;
- allèle A^y dominant, gouvernant les robes fauves et fauves charbonnées ;
- allèle a^t récessif, gouvernant les robes fauves à manteau et noir marqué de fauve ;
- allèle a récessif, gouvernant une robe eumélanique unie (cet allèle est très rare et restreint à quelques races canines, comme le Berger Allemand par exemple).

En termes de dominance, il a été retenu : $A^y > a^w > a^t > a$.

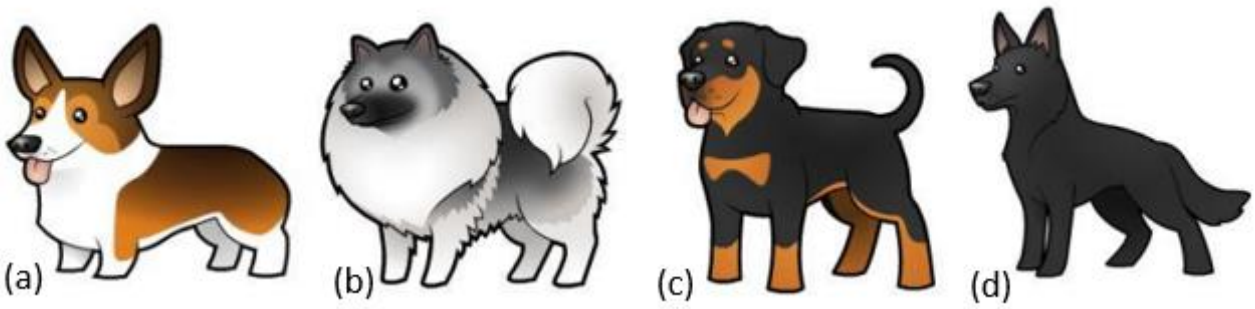


Figure 15 : Effets du locus *Agouti* chez le chien
D'après (Banquy, 2013)
Image (a) : Robe fauve charbonnée chez les chiens porteurs de l'allèle A^y dominant
Image (b) : Robe gris loup chez un chien porteur des génotypes a^w/a^w ; a^w/a ou a^w/a^t
Image (c) : Robe noire et feu chez un chien a^t/a^t ou a^t/a
Image (d) : Expression phénotypique du génotype a/a responsable d'une robe noire unie

Il a été mis en évidence que chez le chat, le locus *Agouti* ne présentait que deux allèles : l'allèle *A* (dominant), gouvernant la présence de poil agouti dans le pelage (phénotype tabby) et l'allèle *a* (non-agouti, récessif) gouvernant l'absence de poil agouti dans le pelage (robe unie), comme représenté sur la figure 16 (Eizirik *et al.,* 2010).
Remarque : il a été montré qu'il existait en fait plusieurs allèles *A* dans certaines races comme le Bengal ou le Savannah, ces races étant issues de programmes d'hybridation avec des espèces sauvages (*Prionailurus bengalensis* et *Leptailurus serval* respectivement, (Gershony *et al.,* 2014).

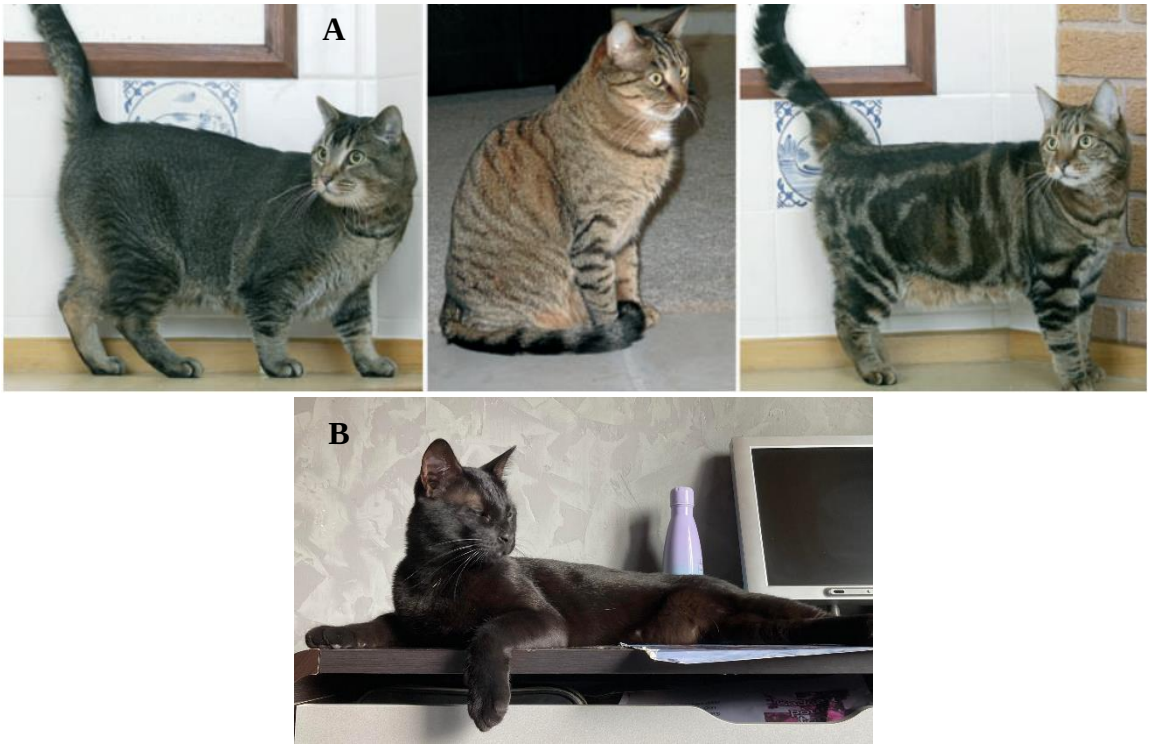


Figure 16 : Phénotypes tabby et uni chez le chat
D'après (Lyons et al., 2006) ; (Source : Léa Desmarécaux)
La photo (A) illustre la présence de poils agouti dans le pelage gouverné par l'allèle A et à l'origine de plusieurs phénotypes tabby. La photo (B) montre une robe noire unie chez un chat portant le génotype a/a.

iv. Locus K (BlacK) : gouverne la proportion eumélanine- phéomélanine chez le chien

Ce locus de couleur est une particularité du chien, que l'on n'a pas retrouvée chez l'espèce féline. Il a été montré que le locus *Black* était responsable des robes eumélaniques unies et dominante comme le noir dominant ou le marron dominant. Trois allèles différents ont été identifiés pour ce locus (figure 17) :

- allèle k^y (récessif, sauvage) gouvernant la couleur fauve ;
- allèle K^B (dominant) gouvernant la couleur dominante eumélanique unie ;
- allèle k^{br} (récessif) gouvernant la présence de rayures verticales eumélaniques dans le pelage à l'origine des robes bringées.

Figure 17 : Expressions phénotypiques du locus *Black* chez différentes races de chien
L'allèle K^B est responsable d'une couleur eumélanique unie chez le chien, comme illustrée sur l'image (a), alors que le génotype k^y/k^y entraîne un pelage de couleur fauve (photo c). Chez un chien de race Boxer portant le génotype k^{br}/k^{br} ou k^{br}/k^y, c'est une robe bringée qui s'exprime (photo b).

v. Locus O (Orange) : détermine la couleur rousse chez le chat

Il a été montré que ce locus de coloration était spécifique de l'espèce féline et il reste encore non identifié à l'échelle moléculaire à ce jour (bien que cartographié depuis longtemps : Schmidt-Küntzel *et al.,* 2009). Un de ses allèles provoque le remplacement des pigments eumélaniques par un pigment jaune-orangé (dit roux). Le locus *O* (*orange*) a été cartographié sur le chromosome X (Schmidt-Küntzel *et al.,* 2009).
Ce locus possède deux allèles :

- allèle O *orange* gouvernant la présence de poils roux ;
- allèle sauvage *o* responsable de l'absence de poils roux.

Du fait du portage de ce locus par un chromosome sexuel, les mâles comme les femelles peuvent exprimer un phénotype roux (génotypes XO/Y ou XO/XO) ou non-roux (génotypes Xo/Y ou Xo/Xo), mais seules les femelles peuvent présenter en même temps dans leur pelage des poils roux et des poils non-roux (génotype XO/Xo) : c'est la couleur écaille de tortue, illustrée sur la figure 18. Cette dernière résulte d'un phénomène particulier appelé « inactivation de l'X » qui se produit au cours du développement embryonnaire, chez l'ensemble des femelles de mammifères. Il s'agit de l'inactivation (extinction de la transcription des gènes) aléatoire d'un deux chromosomes X dans chaque cellule de l'embryon femelle : les gènes portés par ce chromosome ne sont donc plus exprimés (Lyon, 1999).
Lorsque le chromosome X portant l'allèle O est inactivé dans les mélanocytes de la peau, la plage de poils associée est de couleur eumélanique, et si le chromosome X portant l'allèle o est inactivé dans les mélanocytes de la peau, la plage de poils associée est de couleur rousse. Cela explique donc la coexistence possible de poils roux et eumélaniques chez la femelle XO/Xo uniquement.

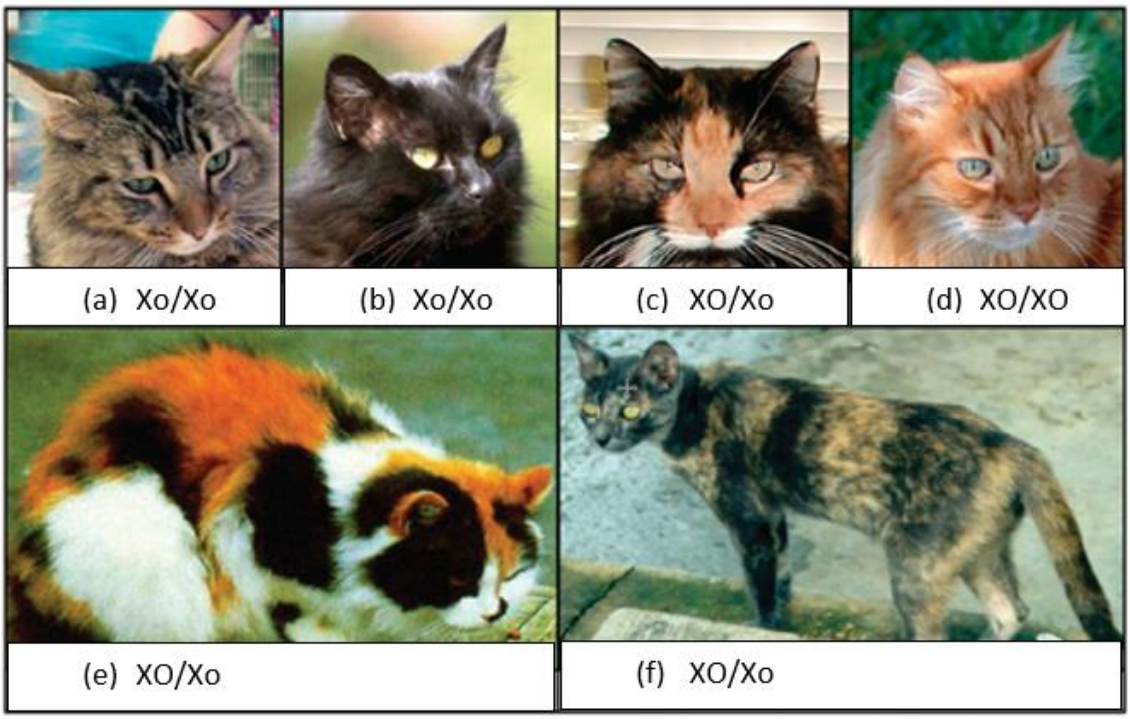


Figure 18 : Variations phénotypiques associées au locus *Orange* chez la chatte
D'après (Schmidt-Küntzel *et al.,* 2009)
Sur ces images, on remarque que les femelles Xo/Xo ne présentent pas la couleur rousse quelle que soit la couleur de poils initiale. Sur la photo (d), l'individu homozygote XO/XO a un pelage entièrement roux. Les individus sur les photos (c) et (f) sont hétérozygotes pour le locus Orange, ce qui se traduit par des plages de couleur rousse ou eumélanique. Enfin, la femelle sur la photo (e) arbore, outre un phénotype écaille de tortue, des plages de coloration blanche : on parle de robe « tricolore ».

b. Locus affectant l'intensité de la pigmentation

Il a été mis en évidence que certains locus pouvaient modifier l'intensité de la couleur de base en éclaircissant l'eumélanine et/ou la phéomélanine.

i. Locus I (Intensity) du chien : gouverne un éclaircissement de la phéomélanine

Chez le chien il a été mis en évidence que le locus *Intensity* était responsable d'une dilution de la phéomélanine uniquement. Deux allèles ont été identifiés : I^+ dominant sauvage sans effet et *i* récessif éclaircissant la phéomélanine. La couleur fauve devient alors sable, crème ou même blanc pur (figure 19).

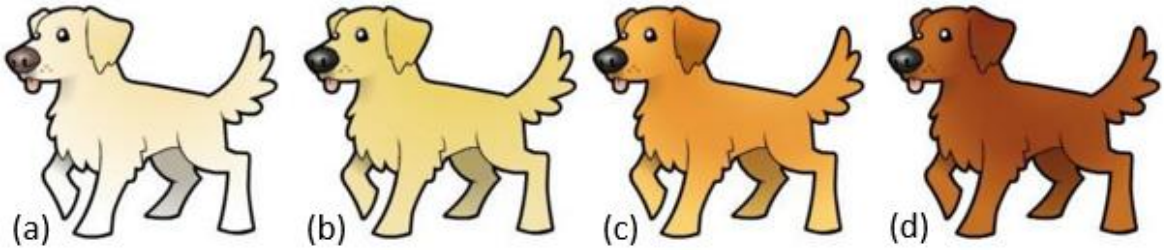


Figure 19 : Illustration de l'expression du locus *Intensity* chez le chien
D'après (Banquy, 2013)
L'expression du génotype i/i entraîne une modification d'intensité de la couleur initiale fauve (d) en sable (c), crème (b) ou blanc (a).

ii. Locus D (Dilution) du chien et du chat : gouverne une dilution de la couleur de base

Il a été montré que le phénotype de dilution chez le chien et le chat correspondait à un éclaircissement de la coloration de base du pelage du fait d'une agglutination des mélanosomes au sein des kératinocytes. Il en résultait un passage plus important de la lumière qui n'était pas observé lorsque les pigments étaient uniformément répartis.
Le locus *D* (dilution) avait un effet marqué sur l'eumélanine et faible sur la phéomélanine chez le chien, mais observable sur la phéomélanine et le pigment roux chez le chat. Deux allèles ont été identifiés chez le chien et le chat : D^+ dominant sauvage sans effet et *d* récessif diluant la couleur de base. Chez le chien, *d* est responsable du passage des robes noir et marron à bleu et beige respectivement, comme illustré sur la figure 20. L'effet sur la robe fauve est très peu visible (teinte plus mate).

Figure 20 : Effets du locus de dilution chez le chien
Passage de la robe noire (A 1) à bleue (A2), de la robe marron (B1) à beige (B2).

Chez le chat, les phénotypes noir, chocolat, cannelle et roux se retrouvent respectivement dilués en bleu, lilas, faon et crème (figure 21). Chez une femelle écaille de tortue noir et roux, la robe deviendra écaille de tortue bleu et crème.

Figure 21 : Dilutions des couleurs de base chez le chat
D'après (Abitbol 2012)
La robe noire devient bleue (photo a) ; le chocolat est dilué en lilas (b) ; la robe cannelle en faon (c) et le roux devient crème (d). Les couleurs non diluées sont illustrées par les encarts.

iii. Locus I (Inhibitory) chez le chat : gouverne une inhibition de la phéomélanine

Chez le chat uniquement, il a été montré que le locus *Inhibitory* était responsable d'un éclaircissement de certaines parties de la robe par diminution de la pigmentation phéomélanique (Menotti-Raymond *et al.,* 2009). Deux allèles ont été identifiés : l'allèle dominant *I* responsable de l'inhibition de la phéomélanine et dans une moindre mesure du pigment roux et l'allèle i^+, avec lequel tous les pigments s'expriment normalement.
Chez les chats tabby, *I* est responsable du passage d'une robe agouti (appelée tabby) à *silver* tabby, comme illustré sur la figure 22. La robe est appelée *smoke* chez les chats porteurs de l'allèle *I* et présentant une robe unie (non-agouti).

Figure 22 : Présentation des robes silver et smoke chez deux races de chat
Le chat British shorthair de l'image A présente une robe black silver tabby. C'est un Maine coon à robe black smoke qui est représenté sur l'image B.

c. Locus responsables de patrons, de motifs et de marques dans le pelage

Enfin, certains locus interviennent en superposant leurs effets aux robes de base, modifiées ou non, entraînant des panachures blanches, des motifs ou des contrastes dans la robe.

i. Présence de patrons contrastés chez le chat

Il a été montré qu'il existait plusieurs patrons de coloration chez le chat domestique (colourpoint, sépia, mink et mocha, figure 23), gouverné par le locus C (*Colour*) pour lequel on a dénombré six allèles :

- allèle *C*, dominant, sauvage, sans effet ;
- allèle c^s, récessif, responsable du patron colourpoint, emblématique du Siamois ;
- allèle c^b, récessif, donnant le patron sépia, emblématique du Burmese ;
- allèle c^m, récessif, donnant le patron mocha, identifié chez le Burmese (Yu *et al.*, 2019);
- deux allèles d'albinisme oculocutané complet appelés *c (Imes et al., 2006 ; Abitbol et al.,* 2016).

Les individus colourpoint et sépia sont respectivement c^s/c^s et c^b/c^b. Le patron mink est obtenu chez le chat hétérozygote de génotype c^s/c^b et présente un contraste moyen entre les extrémités et le reste du corps (figure 23).

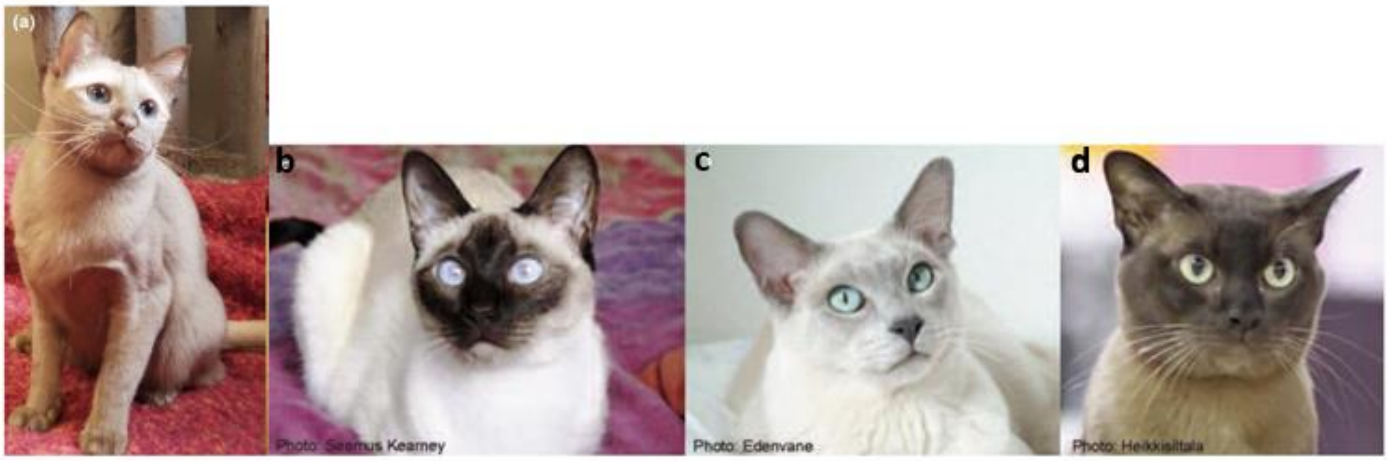


Figure 23 : Quelques patrons associés au locus *Colour* chez le chat domestique
D'après : (Yu *et al.*, 2019) ; (Abitbol, 2012)
Présentation du patron mocha (a) et sépia (d) chez le Burmese, ainsi que des patrons colourpoint (b) et mink (c).

ii. Panachure et robe blanche

Chez le chat, il a été mis en évidence que le locus W (*White*) déterminait la présence de panachures (allèle W^S dominant : *white spotting*) ou une coloration blanche uniforme (allèle *W* dominant : *white*) L'allèle sauvage w^+ était récessif (figure 24).

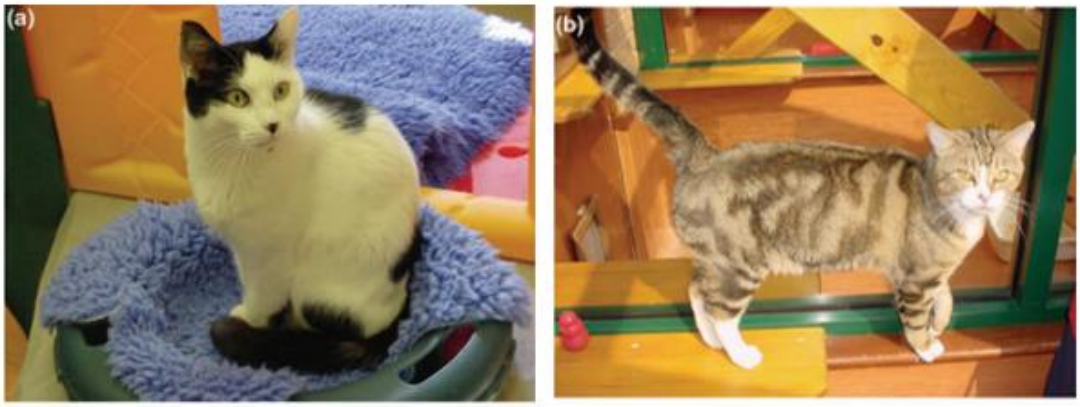


Figure 24 : Expression phénotypique de la panachure blanche chez le chat
D'après (Cooper *et al.,* 2006)
Présence d'une panachure blanche envahissante (photo a) ou d'une panachure restreinte (photo b) chez le chat.

Chez le chien, il a été mis en évidence que le locus *S* (*Spotting*) entraînait la présence de panachures dans le pelage. Il existe de nombreux phénotypes possibles selon l'expression des allèles du locus *S*, la présence de locus modificateurs et d'autres locus majeurs de panachure non encore identifiés. Une partie de ces phénotypes sont représentés sur la figure 25.
Les deux allèles identifiés à l'échelle moléculaire sont :

- allèle S^+ codant une robe uniformément colorée avec absence de panachure ou juste une panachure minimale ;
- allèle s^p gouvernant une panachure moyenne (*piebald*), dite irrégulière.

Dans la plupart des races, il a été montré que le génotype S^+/s^p donnerait une panachure limitée type pseudo-irlandaise ou moyenne (*piebald*) et le génotype s^p/s^p gouvernait une panachure envahissante.

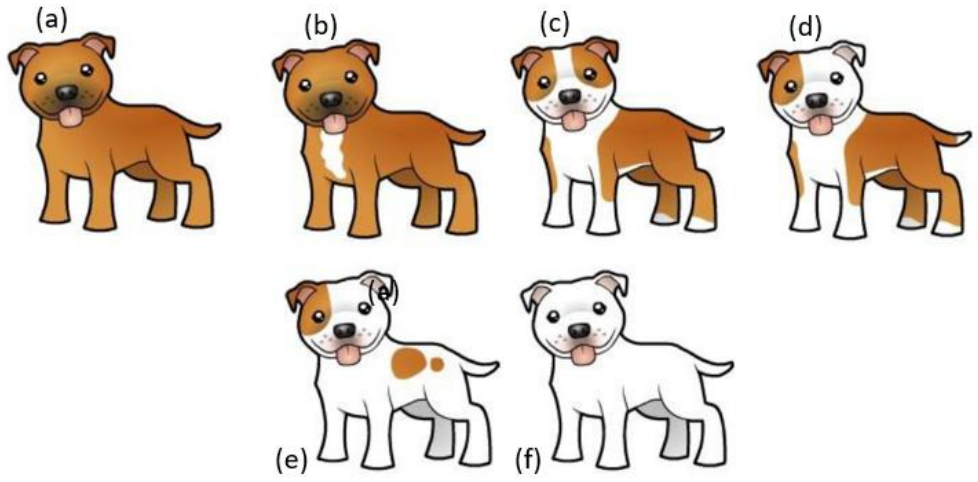


Figure 25 : Différents types de panachures rencontrées chez le chien
D'après (Banquy, 2013)
Les images (a) et (b) illustrent les phénotypes possibles pour un chien porteur de l'allèle S^+ : robe unie sans panachure ou panachure minimale. La panachure piebald ou moyenne est représentée sur les images (c) et (d) tandis que les deux derniers chiens portent une robe à panachure envahissante, et sont de génotype s^p/s^p .

d. Longueur du poil

Chez le chat et le chien, la longueur du poil est déterminée par les allèles du locus *L* (*Length ou Long-hair,* gène *FGF5 : Fibroblast growth factor 5,* dans les deux espèces), présentés dans le tableau VI.

Tableau VI : Présentation des locus *L* canins et félins gouvernant la longueur du poil
D'après : (Lloyd 1987) ; (Cadieu *et al.,* 2009)

Espèce	Locus	Allèles
Chien	Locus *L : Lenght* (gène *FGF5*)	L^+ : poils courts (dominant) *l* : poils longs
Chat	Locus *L* : *Long-hair* (gène *FGF5*)	*L* : pelage court (dominant) *l* : pelage long ou mi-long

Tous les locus présentés ci-dessus sont connus et pour tous un test ADN est commercialisé, excepté pour le *Orange* (roux) du chat qui a été cartographié sur le chromosome X, mais pas encore identifié (Schmidt-Küntzel *et al.,* 2009). Les chiens et chats peuvent donc être génotypés pour les différents allèles de ces locus.

III) Mosaïcisme et chimérisme chez le chien et le chat

1. Mosaïcisme

Le mosaïcisme se définit d'un point de vue génétique par la coexistence, chez un même individu, de deux ou plusieurs populations de cellules présentant des génotypes différents, mais issues d'un même zygote. C'est cette origine monozygotique qui permet de faire la différence entre un individu mosaïque et une chimère (qui est issue de plusieurs zygotes, voir partie suivante).
Le mosaïcisme génétique fait référence à un individu mosaïque pour lequel les deux ou plusieurs populations cellulaires de l'individu diffèrent soit par la structure ou le nombre de chromosomes (mosaïcisme chromosomique), soit par la séquence de l'ADN nucléaire ou de l'information mitochondriale (ADN porté par les mitochondries). En fonction de la lignée cellulaire concernée, on peut distinguer le mosaïcisme germinal ou somatique.

a. Mosaïcisme chromosomique

Le terme de mosaïcisme chromosomique désigne les anomalies du nombre de chromosomes au sein du caryotype, donc quand il existe au moins deux jeux de chromosomes différents chez un même individu (figure 26). Ce type de mosaïcisme est bien connu depuis l'utilisation de méthode d'élaboration du caryotype chez des individus présentant des phénotypes anormaux, et on l'a documenté récemment chez un chat mâle présentant une robe écaille de tortue (Bugno-Poniewierska e*t al.,* 2020). Néanmoins, caractériser ce mosaïcisme ne permet pas de conclure quant à l'origine mono ou polyzygotique de l'individu, on ne peut donc pas discerner un mosaïcisme vrai d'un mosaïcisme issu de chimérisme.

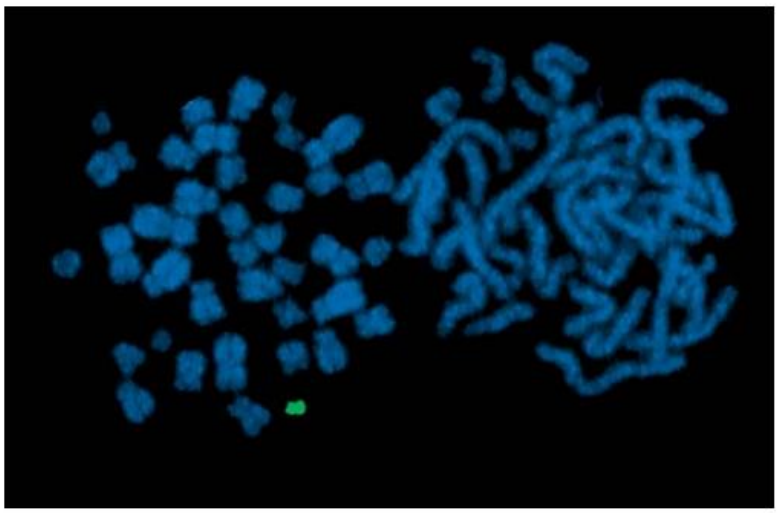


Figure 26 : Mosaïcisme chromosomique de type 37,X/38,XY chez un chat de race Bengal
D'après (Balogh *et al.,* 2015)
Par la technique de FISH (hybridation in situ fluorescente), la présence d'un chromosome Y est révélée par la sonde fluorescente verte à gauche de la photo, tandis que la plaque métaphasique à droite ne présente pas de chromosome Y.

i. Les anomalies caryotypiques fréquentes chez le chat domestique

Dans la continuité de notre réflexion sur le mosaïcisme chromosomique, il existe plusieurs anomalies caryotypiques qui sont fréquemment rencontrées dans l'espèce féline, et qui touchent les chromosomes sexuels. Elles peuvent être rencontrées de manière généralisée à toutes les cellules, ou en mosaïque.

- **Syndrome triple X** (39 XXX)

La présence de trois chromosomes X, donc d'une trisomie X, est rencontrée chez des individus développant un phénotype femelle, sans possibilité de reproduction. Un seul cas porteur d'une trisomie 39 XXX a été rapporté comme étant gestante (Thomsen *et al*., 1987).

- **Syndrome de Klinefelter** (39 XXY)

Le syndrome de Klinefelter, présent chez l'Homme, correspond à une trisomie XXY chez le mâle. Cette anomalie a été décrite chez le chat pour la première fois en 1975 par Centerwall et Benirschke, dans le cadre d'une étude portant sur des mâles écaille de tortue (Centerwall et Benirschke, 1975). Il est apparu que les individus touchés développaient un phénotype mâle mais demeuraient stériles, par hypoplasie testiculaire (König *et al.,* 1983). Une dégénérescence des tubules, une hyperplasie du tissu interstitiel ainsi qu'une absence de cellules germinales et donc de spermatogenèse ont été mis en évidence chez un chat mâle écaille de tortue portant cette anomalie caryotypique (Pedersen *et al.,* 2014).

- **Syndrome de Klinefelter en mosaïque** (38 XX / 39 XXY ou 38 XY / 39 XXY)

On parle de syndrome de Klinefelter « en mosaïque » lorsque seulement une partie des cellules possède une trisomie XXY. Le phénotype ainsi que la stérilité des individus présentant ce syndrome dépendent des régions anatomiques touchées par l'anomalie (Centerwall et Benirschke, 1973). Le syndrome de Klinefelter en mosaïque a été retrouvé majoritairement chez les chats mâles écaille de tortue ou tricolores stériles, comme nous allons le voir dans la partie suivante.

- **Syndrome de Turner** (37 XO)

La Syndrome de Turner est une monosomie décrite chez l'espèce humaine qui se caractérise chez la femme par une stature de petite taille, une absence de puberté ainsi qu'une stérilité, du fait d'une hypoplasie de l'appareil génital. Chez le chat, quatre cas de monosomie 37 XO ont été rapportés :

- un cas de femelle de race Burmese de deux ans et demi qui présentait un anoestrus primaire sans anomalie somatique associée (Johnston *et al.,* 1983) ;
- les cas de trois chatons morts ou euthanasiés dans leurs premiers mois de vie (Romagnoli et Schlafer, 2006).

- **Autres anomalies, constitutionnelles ou en mosaïque**

Il existe d'autres cas de mosaïcisme chromosomique rapportés chez le chat, comme par exemple 38 XX / 38 XY (Moran *et al.*, 1984). Le phénotype ainsi que la stérilité dépendaient également de la répartition des cellules au sein des organes reproducteurs.
A titre d'information, des anomalies XXY et XO ont également été mises en évidence chez le chien (Romagnoli et Schlafer, 2006).

ii. Mosaïcisme et couleur de la robe chez le chat : zoom sur les chats mâles écaille de tortue et tricolores

Dans cette partie, nous nous intéresserons plus particulièrement au mosaïcisme chez l'espèce féline, qui peut se caractériser par un phénotype écaille de tortue chez des individus de sexe mâle. Pour rappel, les chattes hétérozygotes XO/Xo pour le locus *Orange* peuvent arborer une robe écaille de tortue ou tricolore (écaille de tortue et blanc). Il a été montré que ces deux robes pouvaient se retrouver chez des chats mâles, qui étaient pour la plupart stériles, à quelques exceptions près.

En 1973, Centerwall et Benirschke se sont intéressés à 25 chats mâles écailles et tricolores : 19 cas issus de la littérature déjà publiée, et six nouveaux cas présentés par les auteurs (figure 27).

Figure 27 : Présentation des phénotypes de six chats mâles écaille de tortue ou tricolores

D'après (Centerwall et Benirschke 1973)

(a) Chat mâle tricolore à poils longs, âgé de deux ans, de caryotype 39 XXY et stérile
(b) Jeune chat mâle écaille de tortue de 15 mois, 38 XX / 57 XXY et stérile
(c) Chat mâle tricolore de 2,5 ans, 38 XX / 38 XY et stérile
(d) Chat mâle tricolore d'âge inconnu, 38 XX / 38 XY et fertile avec cinq portées engendrées
(e) Chat mâle écaille de tortue 38 XY / 57 XXY, décédé avant d'atteindre la maturité sexuelle
(f) Chat mâle tricolore âgé de cinq ans, de caryotype 38 XY et fertile

Parmi les 16 caryotypes de chats mâles matures et stériles obtenus, 14 d'entre eux présentaient une trisomie XXY, donc un syndrome de Klinefelter (39 XXY) ou un syndrome de Klinefelter assorti d'une trisomie des autosomes en mosaïque (38 XY / 57 XXY), qui correspondait à une triploïdie en mosaïque (57 XXY correspond à la triploïdie chez le chat).
Deux chats sur les six nouveaux étudiés se sont révélés fertiles, dont un cas en particulier qui ne présentait pas d'anomalie sur son caryotype (38 XY).
Les anomalies caryotypiques des chats mosaïques semblaient impacter directement la fertilité de ces individus lorsqu'elles touchaient les autosomes (cas 38 XY / 57 XXY), mais pas toujours lorsqu'elles ne touchaient que les chromosomes sexuels (un cas sur les deux de caryotype 38 XY / 38 XX).

De manière similaire, Moran *et al.* ont étudiés les caryotypes d'un groupe de 38 chats mâles écailles ou tricolores rapportés auparavant dans la littérature scientifique, et présentés dans le tableau VII.

Tableau VII : Anomalies caryotypiques chez 38 chats mâles écaille rapportés dans la littérature
D'après (Moran et *al.*, 1984)

Caryotypes	***Nombre de cas rapportés***	***Pourcentage (%)***
39 XXY	11	28,9
38 XX / 38 XY	7	18,4
38 XY	6	15,8
38 XY / 39 XXY	5	13,2
38 XY / 39 XYY	1	2,6
38 XX / 39 XXY	4	10,5
38 XY / 57 XXY	2	5,3
38 XY / 39 XXY / 40 XXYY	1	2,6
38 XX / 38 XY / 39 XXY / 40 XXYY	1	2,6
Total	38	100

Les résultats ont montré que 84,2 % des mâles étudiés, soit 32 individus, présentaient une anomalie caryotypique au niveau des chromosomes sexuels (trisomie XXY ou mosaïcisme chromosomique XX / XY par exemple).
Il a aussi été rapporté que cinq mâles seulement sur 29 avec des chromosomes sexuels anormaux étaient fertiles, contre 24 individus stériles.
On a noté également que le nombre de cas le plus élevé avec un caryotype anormal chez ces mâles correspondait une fois encore à la trisomie XXY, donc au syndrome de Klinefelter. Ils représentaient presque 66 % des cas publiés dans la littérature jusqu'en 1984, dont un exemple est visible sur la figure 28.

Figure 28 : Syndrome de Klinefelter chez un chat mâle écaille de tortue
D'après (Moran *et al.*, 1984)
A droite est représenté le chat mâle écaille dont le caryotype situé à gauche est issu. Noter la présence de trois chromosomes sexuels XXY.

Les anomalies de type mosaïcisme chromosomique se rencontraient également fréquemment chez les chats mâles écailles ou tricolores. De plus, nous avons vu qu'elles s'accompagnaient souvent d'une perte des fonctions de reproduction chez ces individus.

Il existe toutefois des cas de chats mâles écailles fertiles sans anomalie chromosomique associée : nous pouvons citer le chat présenté en (f) de la figure 27 ou encore les cas de deux chats appelés *Briama Fantastik* et *Lenora Lia Josef* étudiés en 1984 et de tous deux de caryotype 38 XY (Moran *et al.*, 1984).

Rappelons enfin que la seule découverte d'un mosaïcisme chromosomique chez un individu ne permet pas de faire la différence entre mosaïque et chimère.

b. Mosaïcisme d'un seul locus

Une mutation somatique ponctuelle d'un unique gène, si elle est transmise par division mitotique à une nouvelle lignée cellulaire, peut donner naissance au mosaïcisme d'un seul gène, chez un individu. L'individu est fait de deux populations cellulaires : une population de cellules originelles possédant l'allèle d'origine et une lignée cellulaire portant l'allèle muté.
Cette situation permettrait d'expliquer, par exemple, les cas des chiens fauves avec une tache noire isolée, ou les chats roux avec une tache noire isolée (figure 29).

Figure 29 : Phénotype de pelage pouvant être expliqué par un mosaïcisme somatique d'un seul locus

(Source : Instagram/*mister.enzoviola)*

Noter la tache noire (génotype E/-) chez ce chien qui est fauve (génotype e/e).

Dans le cas d'une mutation somatique ponctuelle d'un unique gène on peut parler de mutation réverse, en particulier si la tache de couleur observée est de couleur sauvage (noir par exemple chez le chat) sur un pelage de couleur mutée (bleue par exemple chez le chat).

c. Mosaïcisme épigénétique

Le **mosaïcisme épigénétique** désigne une altération de l'expression d'un gène/d'un groupe de gènes, sans qu'un changement dans la séquence nucléotidique ne soit associé. C'est notamment le cas du mosaïcisme lié à l'X rencontré chez les femelles des mammifères (figure 30). Mais il peut également survenir chez les autosomes.

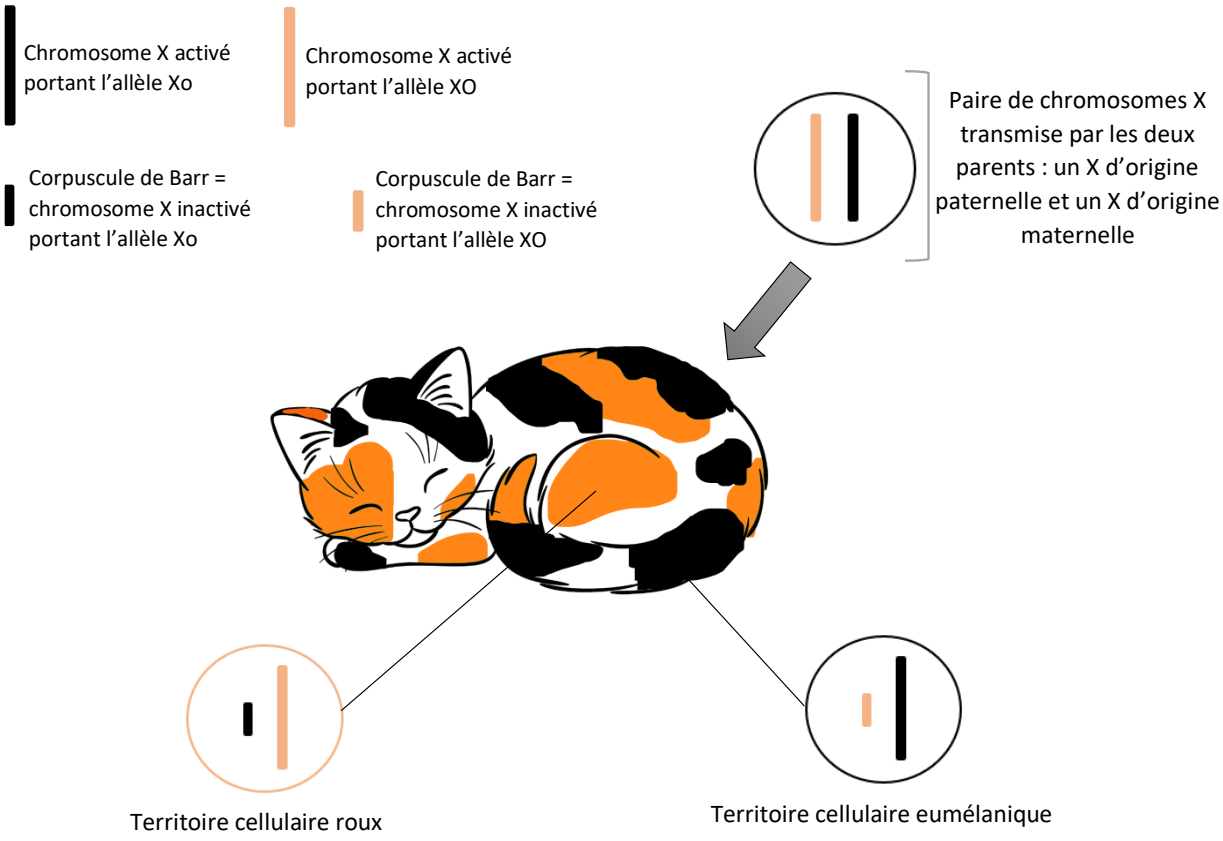


Figure 30 : Représentation schématique de l'inactivation de l'X chez une chatte écaille de tortue

(Dessin Personnel)

Chez la chatte écaille, le mosaïcisme épigénétique repose sur l'inactivation aléatoire d'un des deux chromosomes X au sein d'un territoire cellulaire, sans impacter la séquence nucléotidique dudit chromosome. Dans les plages de couleur rousse, c'est le chromosome portant l'allèle Xo qui est inactivé (il est appelé corpuscule de Barr) et dans les plages eumélaniques, c'est l'allèle XO qui ne s'exprime pas.

Le processus d'inactivation de l'X se produit chez tous les mammifères femelles : il s'agit d'une inactivation aléatoire de l'un des deux chromosomes X dans chaque cellule précocement dans le développement embryonnaire. Le Dr Mary Lyon est la première à avoir décrit ce phénomène en 1961 en étudiant le phénotype tacheté de souris femelles hétérozygotes pour des gènes codant la couleur de la fourrure (Lyon, 1961).

Ce phénomène a été décrit comme un mécanisme compensatoire de l'expression des gènes entre les mâles (XY) et les femelles (XX). Le chromosome X étant plus grand et porteur de nombreux gènes par rapport au chromosome Y (plus petit et dont les gènes sont essentiellement tournés vers la spermatogenèse), les femelles seraient dotées d'une double quantité des produits des gènes liés à l'X (Lyon, 1999). Ainsi, l'inactivation de l'X (également appelée lyonisation) permettrait de pallier cette disparité.

2. Chimérisme

Une **chimère** se définit par la coexistence de deux ou plusieurs populations cellulaires présentant des génotypes différents au sein d'un même individu, et issues de deux ou plusieurs zygotes. La chimère se différencie donc de la mosaïque qui elle provient d'une seule lignée zygotique. Ainsi, le mosaïcisme chromosomique peut être issu de mosaïcisme ou de chimérisme. Il existe plusieurs types de chimères.

a. Les chimères d'origine naturelle

i. Chimérisme complet

- **Généralités**

On parle de chimère complète lorsque le chimérisme touche l'ensemble de l'organisme. Deux mécanismes peuvent être à l'origine de ce type de chimère :

- la fusion précoce de deux zygotes séparés et génétiquement distincts, *in utero*, aboutissant ainsi à la formation d'un unique zygote : on parle également de chimérisme tétragamétique (Ford, 1969) ;
- la dispermie ou fécondation par deux spermatozoïdes différents de l'ovocyte et de son globule polaire, aboutissant à un zygote contenant deux informations génétiques distinctes, comme illustré sur la figure 31 (Hong *et al.,* 2013).

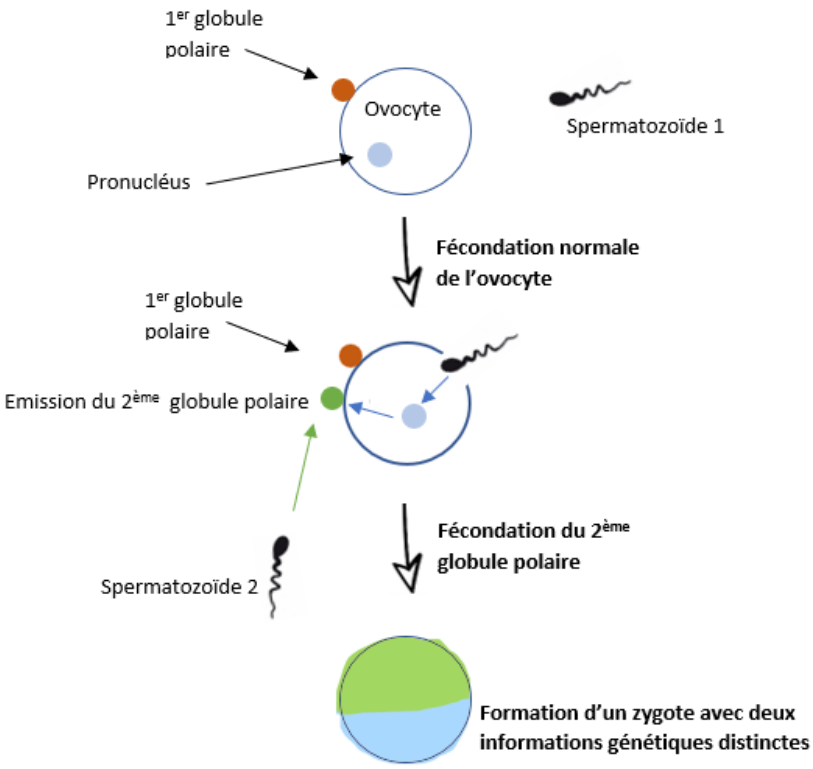


Figure 31 : Mécanisme de dispermie à l'origine d'une chimère complète

(Dessin Personnel)

Le deuxième globule polaire, libéré lors de la fécondation de l'ovocyte, peut être fécondé par un deuxième spermatozoïde, à l'origine d'un zygote contenant une information génétique double.

- **Etude de plusieurs cas publiés chez les espèces canine et féline**

Le premier cas de chimérisme complet chez le chien a été décrit en 2012 chez une chienne Labrador retriever, par les scientifiques Dreger et Schmutz (Dreger et Schmutz, 2012). La chienne présentait un phénotype de pelage singulier caractérisé par des nombreuses taches bien délimitées de couleur noire et sable en alternance (figure 32).

Figure 32 : Couleur de pelage atypique chez Tiger, une chienne Labrador retriever
D'après (Dreger et Schmutz, 2012)
Les photos montrent Tiger à la naissance (a), à six mois (b) et avec les autres chiots de la portée (c). Noter l'originalité de son pelage.

Tiger était un des chiots d'une portée de neuf chiots qui présentaient les phénotypes de robe suivants : trois chiots noirs, trois chiots sable, deux chiots bleus et un chiot marron. Le phénotype atypique de Tiger a poussé l'éleveur à s'interroger sur son origine mais aussi sur sa fertilité possible. L'ADN de Tiger a été prélevé à partir d'un frottis buccal et de poils dans deux zones pigmentées noire et sable. Des tests ADN pour des allèles de la couleur de la robe ont été réalisés sur les trois échantillons :

- allèle *e* du locus *Extension* (*E*) ;
- allèles A^y et a^t du locus *Agouti* (*A*).

De plus, Tiger présentait un appareil génital femelle correctement développé à l'âge de dix mois. La recherche du chromosome Y a donné des résultats négatifs pour l'ensemble des trois échantillons ADN étudiés.
Les résultats des analyses sont présentés dans le tableau VIII.

Tableau VIII : Résultats des tests ADN réalisés sur les échantillons de Tiger, chienne Labrador retriever au pelage atypique
D'après (Dreger, Schmutz 2012)

Echantillon prélevé	Génotype pour E	Génotype pour A	Chromosomes sexuels
Frottis buccal	*e/e*	a^t/a^t	XX
Poils de couleur sable	*e/e*	a^t/a^t	XX
Poils de couleur noire	*E/e*	a^w/a^t	XX

Les génotypes du frottis buccal et des poils de couleur sable étaient identiques ; en revanche celui des poils noirs était différent pour les deux locus étudiés. Par conséquent, les auteurs ont conclu que Tiger était très probablement une chimère issue de la fusion de deux zygotes XX, après exclusion de l'hypothèse de mosaïcisme suite à une mutation ponctuelle (réversion simple de l'allèle *e* en allèle *E* par exemple, qui avait déjà été observée chez un Labrador retriever mosaïque étudié par Sponenberg et Bigelow en 1987).

Chez le chat domestique, il existe de nombreux cas de chats mâles au pelage écaille de tortue. Certains ont pu être expliqués (grâce à des caryotypes) par un mosaïcisme ou une trisomie des chromosomes sexuels constitutive ou en mosaïque, mais très peu ont fait l'objet d'une analyse moléculaire complète (Moran *et al.*, 1984). Un cas bien exploré et ayant conclu à un chimérisme a été publié en 2020 (Bugno-Poniewierska *et al.,* 2020). Dans cette étude, les auteurs se sont intéressés à un chat mâle de race Maine coon âgé de 12 mois, présentant une robe particulière constituée de roux et de quelques plages noires (figure 33).

Figure 33 : Robe écaille de tortue chez un chat mâle de race Maine coon
D'après (Bugno-Poniewierska *et al.,* 2020)
Noter la dominance de la couleur rousse parsemée de quelques plages de poils de couleur noire au niveau de l'oreille gauche, de l'antérieur droit et de la cuisse gauche.

L'analyse du caryotype n'ayant pas montré d'anomalie, les auteurs ont exclu une possible trisomie XXY et se sont donc plutôt orientés vers un chimérisme chromosomique 38 XY /38 XY. Ce chat s'est avéré fertile et a donné naissance à quatre chatons. Des prélèvements de poils, de sang, ainsi que l'exérèse des testicules ont été réalisés. Des échantillons sanguins ont également été prélevés pour la femelle et les quatre chatons de sa portée.
L'ensemble des résultats des profils ADN pour le mâle écaille de tortue, la femelle et les chatons de leur portée sont présentés dans le tableau IX.

Tableau IX : Empreintes génétiques du chat mâle écaille, de la femelle et de leur portée de quatre chatons, d'après la norme ISAG 2012
D'après (Bugno-Poniewierska *et al.,* 2020)

	Père (cas étudié)			**Mère**	**Chaton 1**	**Chaton 2**	**Chaton 3**	**Chaton 4**
Marqueurs	**Sang**	**poils**	**Testicules**					
FCA069	107/109	107/-	107/-	93/109	**107**/109	**107**/109	**107**/109	93/**107**
FCA075	132/136	132/136	132/136	136/-	136/-	**132**/136	**132**/136	**132**/136
FCA105	199/203	199/203	199/203	195/199	199/**203**	199/**203**	199/**203**	195/199
FCA149	**122/124/129/132**	122/132	122/132	124/130	124/**132**	130/**132**	**122**/130	124/**132**
FCA220	214/-	214/-	214/-	214/-	214/-	214/-	214/-	214/-
FCA229	166/168	166/168	166/168	168/-	168/-	166/168	166/168	166/168
FCA310	126/136	126/136	126/136	120/136	120/136	120/**126**	120/**126**	120/**126**
FCA441	**151/155/159/163**	**151/155/159/163**	151/159	159/167	159/-	159/-	**151**/167	**151**/167
FCA678	190/202	190/202	190/202	190/196	190/196	190/196	190/196	196/**202**
FCA026	150/152	150/152	150/152	150/-	150/-	150/-	150/-	150/-
FCA453	188/-	188/-	188/-	188/-	188/-	188/-	188/-	188/-
FCA201	**143/151/155**	151/155	**143/151/155**	155/157	155/157	**151**/157	155/	**151**/157
FCA293	179/189	179/189	179/189	187/189	189/-	187/189	179/187	189/-
FCA649	126/-	126/-	126/-	126/-	126/-	126/-	126/-	126/-
ZFXY	XY	XY	XY	XX	XX	X**Y**	X**Y**	XX

**En gras sont identifiés les anomalies sur le profil ADN du chat mâle écaille, ainsi que les allèles transmis uniquement par lui à ses chatons*

L'échantillon sanguin a révélé la présence de trois allèles pour le marqueur FCA201 et de quatre allèles pour les marqueurs FCA149 et FCA441. De même, quatre allèles pour le locus FCA441 et trois allèles pour le locus FCA201 ont été retrouvés respectivement dans les poils et les testicules. Tous ces allèles surnuméraires identifiés étaient les mêmes.
L'analyse des empreintes génétiques des chatons a montré qu'aucun d'entre eux n'avait hérité d'allèles supplémentaires comme ceux découvert sur les trois locus. Cela suggérait que la lignée germinale provenait d'un seul type cellulaire.
Pour expliquer ce phénotype écaille ainsi que la fertilité du cas étudié, l'hypothèse de loin la plus probable était un chimérisme de type 38 XY /38 XY.

Peu de temps auparavant, une étude publiée en mai 2020 s'était penchée sur le cas d'une chatte présentant une couleur de robe atypique caractérisée par des plages de pelage noir, bleu et blanc (figure 34 ; Jaraud *et al.,* 2020).

Figure 34 : Chatte Persan, appelée Harmonie des Persans de Rose, photographiée à différents âges

D'après (Jaraud-Darnault, 2015).

Photographies d'Harmonie à un mois (a) ; à deux mois et demi (b) ; à l'âge adulte (c)

La coloration bleue se manifeste chez les individus homozygotes pour l'allèle de dilution *d* (génotype *d/d*) et résulte de la dilution du noir. Par conséquent, la coexistence, chez un même individu, des deux couleurs noire et bleue est tout à fait inhabituelle et impossible du point de vue de la génétique formelle.

Les deux parents de la chatte (appelée Harmonie) étaient de phénotype bleu tabby pour le père et écaille de tortue noire et rousse avec une panachure blanche pour la mère.

L'ADN d'Harmonie a été collecté à l'aide de deux frottis buccaux, de deux prélèvements sanguins et des deux échantillons de poils bleus et noirs. Des brossettes buccales ont également été réalisées pour les deux parents d'Harmonie ainsi que pour l'un de ses frères.

Les résultats des empreintes génétiques (profils ADN) réalisées chez Harmonie, ses deux parents et l'un de ses frères sont présentées dans le tableau X.

Tableau X : Empreintes génétiques d'Harmonie, de ses deux parents et de l'un de ses frères, réalisées avec 14 marqueurs microsatellites de la norme ISAG 2010
D'après (Jaraud *et al.,* 2020)

	Harmonie			Mère	Père	Frère
Marqueurs	**Sang**	**Poils bleus**	**Poils noirs**			
FCA026	**150/154/158**	154/158	154/158	150/-	154/158	154/156
FCA069	107/107	107/107	107/107	107/107	107/107	107/107
FCA075	**134/136/138**	**134/136/138**	**134/136/138**	134/136	136/138	136/136
FCA105	**195/197/201**	**195/197/201**	**195/197/201**	195/195	197/201	195/197
FCA149	122/124	122/124	122/124	122/124	122/122	122/122
FCA201	149/159	149/159	149/159	149/159	143/159	143/159
FCA220	212/124	212/124	212/124	212/212	212/124	212/212
FCA229	168/168	168/168	168/168	168/168	168/168	168/168
FCA293	179/187	179/187	179/187	179/187	179/187	179/187
FCA310	**124/136/138**	**124/136/138**	**124/136/138**	136/138	124/138	124/138
FCA441	**155/159/163**	**155/159/163**	159/163	155/163	159/163	155/159
FCA453	188/188	188/188	188/188	188/188	188/188	188/188
FCA678	**190/196/198**	**190/196/198**	**190/196/198**	190/198	196/198	190/196
ZFXY	162/162	162/162	162/162	162/162	159/162	159/162

En gras sont signalées les anomalies sur le profil ADN d'Harmonie

Les profils ADN ont révélé la présence de trois allèles pour sept des quatorze marqueurs utilisés.
Le génotypage effectué pour la dilution a de plus révélé que les poils bleus d'Harmonie étaient homozygotes *d/d* et que les poils noirs ainsi que les cellules sanguines étaient hétérozygotes *D/d*.
Il a également été précisé qu'Harmonie était fertile et qu'elle avait eu deux portées de cinq et six chatons, tous entièrement dilués et aves des profils ADN normaux.
La seule hypothèse pouvant expliquer le cas était celle d'un chimérisme complet. La présence d'un tri-allélisme sur plusieurs marqueurs (localisés sur des chromosomes différents) et la fertilité d'Harmonie ont conduit les auteurs à rejeter les hypothèses de mosaïcisme par mutation somatique du locus *D* ainsi que l'aneuploïdie pour plusieurs autosomes (non viable). L'étiologie précise de ce chimérisme est toutefois restée inconnue, bien que l'hypothèse de dispermie ait semblée la plus probable (Jaraud *et al.,* 2020).

- **Quelques cas de chimérisme complet chez l'Homme**

Plusieurs cas de chimérisme complet chez l'Homme ont été décrit au sein de la littérature scientifique. Pour la plupart d'entre eux, il s'agissait de découvertes fortuites à l'occasion d'examens médicaux ou d'analyses (transfusions sanguines, greffes), notamment parce que ces individus présentaient un phénotype et une fertilité normaux.
Ci-dessous sont décrits quelques exemples rapportés à différentes époques.

En 1981, Watkins et son équipe se sont intéressés au cas d'un homme en bonne santé, fertile, pour lequel un chimérisme avait été identifié à l'occasion d'un don du sang. L'examen sérologique de son sang a révélé un phénotype inhabituel ABO, sans preuve concrète de l'existence de deux lignées de globules rouges distinctes. Des glycosyltransférases spécifiques des deux groupes sanguins ont été mises en évidence et la découverte de fibroblastes de caryotype 46 XY (culture sur prélèvement de peau) ont suggéré que l'individu étudié était une chimère avec deux lignées cellulaires différentes (Watkins *et al.,* 1981).

En 1983, c'est un jeune garçon âgé de 12 ans qui a éveillé la curiosité de la communauté scientifique de l'époque. Des examens réalisés dans un service pédiatrique ont montré un surpoids important de 20 kg, des testicules pendulaires ainsi qu'une absence de puberté. La recherche du chromosome X s'avérant positive au sein de plusieurs types cellulaires, il a été conclu que ce jeune garçon souffrait du syndrome de Klinefelter. Toutefois, 11 ans plus tard, le jeune homme âgé de 23 ans présentait une corpulence normale et idéale, des testicules symétriques et normaux, ainsi qu'une libido ordinaire. Les investigations menées sur le caryotype de l'individu ont révélé la présence d'un chimérisme 46 XX / 46 XY au sein de la population de cellules lymphocytes notamment (Schoenle *et al.,* 1983).

En 2002, un chimérisme tétragamétique 46 XX / 46 XX a été rapporté chez une femme de 52 ans qui était fertile et possédait un phénotype normal. Cette patiente avait réalisé des tests d'histocompatibilité avec les membres de sa famille en vue d'une transplantation rénale. Les résultats obtenus laissaient suggérer qu'il n'était pas possible qu'elle soit la mère biologique de ses trois fils à cause d'une discordance au niveau des haplotypes HLA (*Human Leucocyte Antigen*), localisés sur les leucocytes. Les auteurs ont mis en évidence la présence de plus de deux allèles sur les locus testés, répartis sur 14 chromosomes, en analysant les marqueurs microsatellites de plusieurs tissus de la patiente. Ils en ont conclu qu'il s'agissait bien d'une chimère complète (Yu *et al.,* 2002).

ii. Chimérisme hématopoïétique

On définit par chimérisme hématopoïétique le phénomène qui touche les cellules de la lignée sanguine et qui se caractérise par la coexistence de cellules issues de deux origines génétiques différentes au sein du compartiment lympho-hématopoïétique. Il existe deux origines possibles à ce phénomène :

- une origine spontanée : une connexion circulatoire au niveau des placentas peut s'établir lors de gestation gémellaire. Un échange de cellules souches survient alors chez les deux jumeaux ou plus fréquemment chez l'un deux uniquement. Le chimérisme est découvert fortuitement lors de la détermination des groupes sanguins car les deux populations cellulaires chimères peuvent posséder des groupes différents, avec une tolérance immunitaire parfaite (Dunsford *et al.,* 1953 ; Yunis *et al.,* 2007) ;
- une origine artificielle : on peut citer les transfusions sanguines (chimérisme temporaire ; (Schechter *et al.*, 1977), les transplantations de moelle osseuse (Alizadeh *et al.,* 2002) ou les allogreffes de cellules souches (chimérisme permanent ; Dubois *et al.,* 2017). Cette catégorie correspond donc au chimérisme iatrogène (voir après).

Un des cas les plus connus de chimérisme de la lignée sanguine lors de gestation gémellaire est celui du free-martinisme rencontrée chez les bovins. Il se produit lorsque des connexions vasculaires se forment entre les placentas de deux jumeaux de sexe différent et que des cellules souches hématopoïétiques sont échangées. Il en résulte une masculinisation de l'appareil reproducteur chez le jumeau femelle à des degrés variables et l'installation d'un chimérisme XX / XY (Padula 2005). Par conséquent, les génisses XX possédant un jumeau mâle XY vont présenter des troubles de la reproduction avec des ovaires non fonctionnels ou un appareil génital intersexué. Il a été montré que la proportion de cellules étrangères chez les deux jumeaux étaient similaires et particulièrement stable dans le temps (Marcum e*t al.,* 1972). Chez les moutons, l'incidence de ce free-martinisme est estimé entre un et 2 % des gestations gémellaires (Dain 1971).

En 2011, un troisième cas rare de chimérisme de la lignée sanguine chez l'espèce humaine a été décrit, dans le cas d'une grossesse monochoriale dizygote spontanée, découverte sur une discordance de sexes fœtaux. Une chimère hématopoïétique 46 XX / 46 XY a été mise en évidence sur les cellules lymphocytaires de la jumelle. Les autres cellules de l'organisme présentaient un caryotype 46 XX et son groupe sanguin était normal. De plus, la recherche du gène *SRY* (*Sex-determining Region of Y* chromosome) s'est avérée négative (Loriaux *et al.,* 2011).

Plus récemment, Joonè et *al*. ont rapporté pour la première fois une suspicion de free-martinisme chez l'espèce canine, en présentant un cas de gestation gémellaire monochorionique chez une chienne Boerboel primipare de deux ans et demi, ayant été inséminée artificiellement (Joonè *et al.,* 2017). La mise-bas par césarienne (non urgente) a donné 11 chiots vivants sur 15. Les 14 et 15ème fœtus, à terme mais décédés au moment de la césarienne, étaient de sexes différents et partageaient le même placenta (figure 35).

Figure 35 : Photographie de fœtus canins mâle et femelle partageant le même placenta
D'après (Joonè *et al.,* 2017)
Noter la présence d'un second ombilic, issu du 15ème fœtus, et partant du même placenta.

La comparaison des profils ADN issus des cellules sanguines, avec ceux des tissus, a montré la présence de plus de deux allèles détectés sur plusieurs locus, confirmant un chimérisme sanguin. La dissection des appareils reproducteurs a révélé :

- chez le fœtus mâle, une descente testiculaire vers les canaux inguinaux retardée ;
- chez le fœtus femelle, une absence macroscopique de gonades, de l'utérus et du vagin, bien que du tissu ovarien résiduel ait été visualisé au microscope.

L'hypoplasie interne de l'appareil reproducteur du fœtus femelle était fortement évocatrice de free-martinisme et a fait de ce cas le premier cas rapporté suspectant l'existence du free-martinisme chez le chien.

iii. Micro-chimérisme

On désigne par micro-chimérisme la persistance en faible quantité (< 5 % du total) de cellules d'une population génétiquement différente chez un individu. Il est défini par la quantité et l'espérance de vie des cellules étrangères chez un individu, ce qui permet de qualifier ce chimérisme de courte ou de longue durée (Bloch *et al.,* 2013).
Le chimérisme foeto-maternel est la forme de micro-chimérisme la plus rencontrée. Il se caractérise par le transfert de cellules entre la mère et le fœtus au cours de la gestation (Bianchi 2007 ; Gammill et Nelson 2010) :

- on parle de micro-chimérisme maternel lorsque des cellules de la mère sont présentes chez le fœtus ;
- on parle de micro-chimérisme fœtal lorsque les cellules du fœtus sont transmises à la mère.

Il a été montré que cette forme de micro-chimérisme était fréquente au sein de l'espèce humaine : ces échanges cellulaires sont présents à partir de la quatrième semaine de grossesse et se poursuivent jusqu'à l'accouchement. Ce chimérisme foeto-maternel peut persister plusieurs années après l'accouchement dans certaines circonstances (Bloch *et al.,* 2013).

b. Les chimères d'origine expérimentale

i. Les premières chimères expérimentales

C'est dans les années 1960 que les premières chimères expérimentales ont vu le jour dans les laboratoires. Leur fabrication s'inscrivait dans une volonté d'envisager de nouvelles perspectives dans l'étude du développement *in utero* des mammifères.
Tarkowski *et al.,* sont les premiers à avoir réalisé la formation d'un blastocyte chimérique par agrégation de deux embryons de souris, qui pourrait ensuite être implanté au sein de l'utérus d'une mère porteuse (Tarkowski 1961). Si plusieurs autres équipes de scientifiques ont pu réaliser cet exploit chez des rats et des souris dans les années suivantes, les embryons ont malheureusement décédés systématiquement lors de l'implantation, ou peu de temps après (Mulnard 1973 ; Stern 1973).
La première chimère interspécifique chez les rongeurs a été créée par Gardner et Johnson, par injection d'ICM (*Inner Cell Mass*) de rat au sein de blastocytes de souris (Gardner 1968). Cependant, la validité des embryons créés a été remise en cause lorsqu'une forte sélection contre les cellules de rat a été mise en évidence au cours de la gestation.

Il faut attendre 1980 pour que les premières chimères interspécifiques viables soient produites entre deux espèces de souris : *M. musculus* et *M. caroli*, comme le montre la figure 36 (Rossant, Frels 1980).

Figure 36 : Photographie de deux chimères interspécifiques de souris
D'après (Rossant et Frels 1980)
Ces deux chimères ont été obtenues par fusion d'embryons de souris des espèces M. musculus et M. caroli.

Chez les plus gros mammifères, des chimères mouton-chèvres ont été réalisées, comme illustrées dans la figure 37 (Fehilly e*t al.,* 1984).

Figure 37 : Photographies de chimères mouton-chèvre
D'après (Fehilly *et al.*, 1984)
Noter la superposition des pelages du mouton et de la chèvre chez ces trois individus, ainsi que la présence des cornes similaires à celles de la chèvre chez la chimère adulte (photo de droite).

Expérimentalement, il existe deux techniques pouvant produire des individus chimériques (Monget, Veitia 2014).

- **Production de chimères par agrégation d'embryons précoces**

La première technique est celle de l'agrégation entre deux embryons précoces appartenant à la même espèce, comme réalisée par Tarkowski et son équipe pour créer des souris chimériques (voir plus haut). Plus précisément, Tarkowski et son équipe ont utilisé des embryons au stade huit cellules en provenance de souris de pelage différents :

- des souris albinos ;
- des souris pigmentées.

L’amas cellulaire obtenu après agrégation a été transplanté dans une femelle receveuse, où il s'est développé normalement pour donner une chimère complète et tétra-parentale (figure 38).

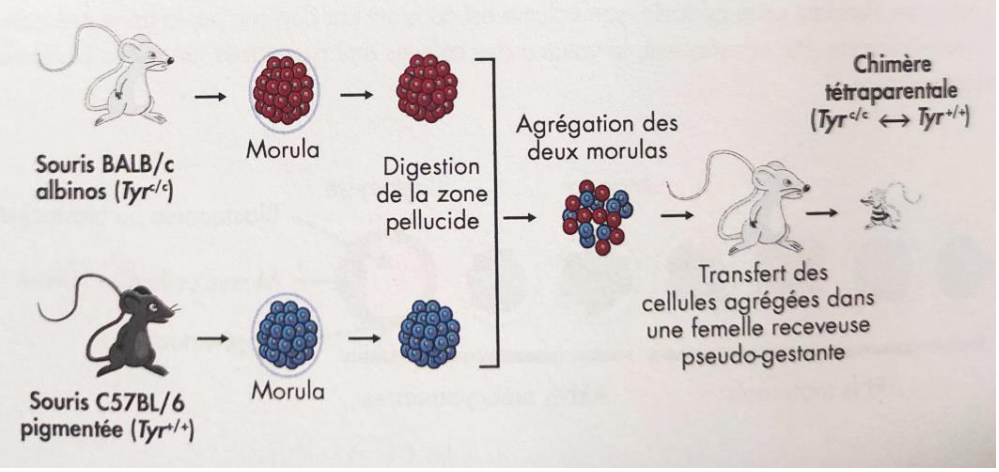


Figure 38 : Illustration de la production de chimères par agrégation d’embryons précoces chez la souris

Source : (Monget *et al.*, 2014)

L’amas cellulaire issu de l’agrégation des deux morulas est transféré dans la souris receveuse. La chimère obtenue est un individu bicolore composé de cellules diploides aux génotypes différents pour le gène Tyr (tyrosinase) qui gouverne l'albinisme (Tyr^{c}) et le pelage pigmenté (Tyr^{+}).

- **Production de chimères par injection**

Les chimères dites « d’injection » sont obtenues en injectant des cellules souches pluripotentes issues d’un individu ou d'un embryon A dans un blastocystes B, puis en implantant les embryons modifiés au sein de mères porteuses pour la suite de leur développement (Slack, 2004). Chez la souris ce procédé permet de créer des souris transgéniques (et notamment des souris dites KO pour *knockout*, c'est à dire invalidées ou un ou plusieurs gènes) grâce à l'utilisation de cellules ES (*Embryonic Stem cells*) et à la recombinaison homologue (Slack, 2004). Nous ne détaillerons pas cette méthode, illustrée en figure 39.

Le procédé des chimères d’injection peut aussi être utilisé pour la création de chimère Homme-animal afin de faire croître des organes humains chez l’animal (essentiellement le porc) en vue de transplantations. Ces animaux chimériques constituent ainsi des « réserves » d’organes pour des transplantations humaines (Morata Tarifa *et al.,* 2020). Pour le moment, les essais expérimentaux ne sont pas encourageants et la création de ce type de chimères soulève des questions éthiques importantes.

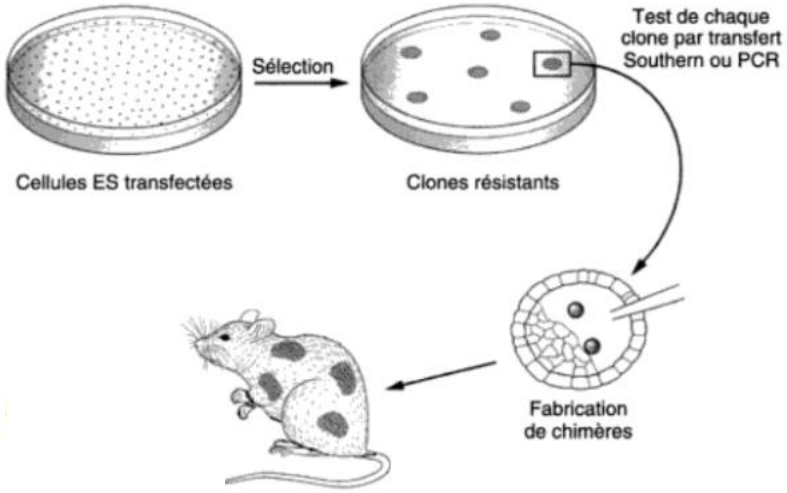


Figure 39 : Invalidation de gènes et obtention de souris *knockout*
(Source : Slack, 2004)
Cette figure illustre la mise en culture de cellules ES recombinées avec le procédé de la recombinaison homologue pour en invalider un gène, la formation de clones de cellules ES recombinées, puis la transplantation au sein de blastocytes de ces cellules ES au génome modifié (invalidation = knockout, d'un gène) pour donner une souris chimère, ici bicolore, qui sera à l'origine de la future lignée knockout.

Pour plus de détails, voir par exemple le livre de Slack (Slack, 2004).

ii. Le chimérisme iatrogène

La dernière catégorie que nous allons évoquer dans ce manuscrit est le chimérisme iatrogène. Il a surtout été étudié en médecine humaine dans le cadre de la transplantation de greffons, de la réalisation de transfusions sanguines ou encore via les techniques de procréations médicalement assistées.
Nous avons rapidement évoqué l'existence d'un chimérisme hématopoïétique d'origine iatrogène chez l'Homme, que nous pouvons diviser en deux catégories :

- le chimérisme temporaire, rencontré lors de transfusions sanguines. En 1977, Schechter *et al.* ont étudié la présence et la persistance de lymphocytes atypiques chez des patients ayant reçu une transfusion. Durant la première semaine suivant la transfusion, ils ont montré l'installation temporaire d'un chimérisme de la lignée sanguine (Schechter *et al.*, 1977) ;
- le chimérisme permanent suite à des transplantations de cellules souches ou de moelle osseuse. Après la transplantation, la co-existence des cellules souches du donneur avec celles du receveur entraîne une modification du profil génétique de l'individu, et donc un chimérisme sanguin permanent (Merzoni *et al.,* 2014).

Les transplantations d'organe sont également concernées par l'installation d'un micro-chimérisme permanent chez l'individu receveur, notamment les transplantations rénales. Récemment, Lowsky et Strober ont étudié l'existence d'un chimérisme mixte chez des patients ayant reçu à la fois une greffe de rein et de moelle osseuse afin d'induire une bonne tolérance chez le receveur (Lowsky et Strober 2019).

A noter qu'un chimérisme peut également se mettre en place si le greffon rénal est colonisé par les cellules du receveur ou lorsque des cellules souches hématopoïétiques du donneur persistent chez l'individu greffé (Albano *et al.,* 2012).

Enfin, l'apparition de grossesse monochoriale dizygote et de chimère de la lignée sanguine chez l'homme semble être favorisée par les techniques de procréation médicalement assistée, comme l'ont souligné certains auteurs (Loriaux *et al.,* en 2011).
D'autres cas similaires de chimérisme chez des jumeaux issus de fécondation *in vitro* ont été rapporté par Martos-Moreno *et al.,* (2013) ou Fumoto *et al.,* (2014).

3. Gémellité vraie chez le chien et scission d'embryons chez la souris

a. Les gestations gémellaires monozygotiques naturelles chez le chien

Les gestations gémellaires monozygotiques ont été rapportées chez le cheval (Govaere *et al.,* 2009) ou la vache (del Río *et al.*, 2006). Des descriptions sont également disponibles chez la souris (Wallace et Williams, 1965). Chez l'Homme, on estime à environ 1/330 le nombre de naissance gémellaire monozygotique (Hall, 2003).
Le premier cas de jumeaux monozygotes dans l'espèce canine a été décrit en 2016 chez le lévrier Irlandais (Joonè *et al.*, 2016). Une chienne de quatre ans a été présentée pour césarienne d'urgence suite à deux heures d'efforts expulsifs infructueux. Au cours de la chirurgie, deux fœtus mâles vivants ont été observés dans le même sac chorionique. Ils étaient reliés par deux cordons ombilicaux au même placenta unique, comme le montre la figure 40.

Figure 40 : Jumeaux monozygotes de race lévrier Irlandais connectés au même placenta lors de la césarienne
D'après (Joonè *et al.*, 2016)
Noter les deux cordons ombilicaux reliés à un unique placenta.

Les deux chiots mâles ont présenté un développement tout à fait normal. Malgré leur apparence phénotypique très similaire, ils présentaient des marques blanches de taille et de forme différentes au niveau de leur pelage (figure 41).

Figure 41 : Jumeaux monozygotes canins à l'âge de six semaines, avec leur mère
D'après (Joonè *et al.*, 2016)
Noter les panachures blanches différentes sur le poitrail et l'extrémité des pattes.

Des prélèvements de sang à deux semaines et six semaines d'âge, ainsi que des prélèvements buccaux ont été réalisés chez les deux jumeaux. L'étude de 38 séquences microsatellites, ainsi que des marqueurs pour l'amélogénine et le gène *SRY*, ont montré une identité parfaite entre les deux jumeaux (annexe 1). L'identité ADN ainsi que l'origine placentaire unique ont confirmé l'hypothèse de gémellité monozygotique.

Depuis, d'autres cas de gestation gémellaire monozygotique ont été rapportés chez le chien :

- nous avons évoqué précédemment l'étude de Jonnè et son équipe, qui avaient mis en évidence un cas de gestation dizygote monochoriale entre deux fœtus partageant le même placenta chez une chienne Boerboel (Joonè *et al.,* 2017) ;
- un autre cas similaire a été décrit chez une chienne Berger Allemand en 2017, mais les deux fœtus partageant le même site placentaire sont décédés *in utero* le 52ème jour après ovulation (Urhausen *et al.,* 2017).

Actuellement, il n'existe aucun cas rapporté de jumeaux monozygotes chez le chat.

b. Obtention expérimentale d'individus génétiquement identiques par scission d'embryons précoces de souris

Expérimentalement, une technique d'obtention de jumeaux monozygotes par scission d'embryon précoce a été décrite. En 1952, le scientifique allemand F. Seidel a démontré que le clivage d'embryons précoces au stade deux cellules chez le lapin ou la souris pouvait donner deux animaux viables et fertiles après réimplantation dans les oviductes de femelles receveuses (Seidel, 1952). Ce procédé est illustré dans la figure 42.

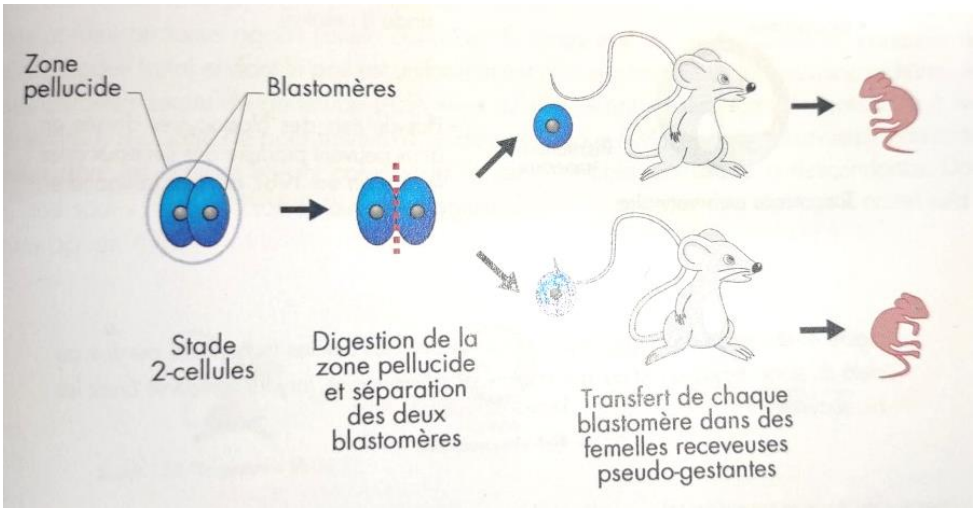


Figure 42 : Illustration de l'obtention de jumeaux monozygotes par scission d'un embryon au stade deux cellules, chez la souris

Source : (Monget *et al.*, 2014)

Le clivage des deux blastomères et leur implantation dans deux femelles receveuses permet l'obtention de deux souriceaux jumeaux.

Cette expérience a montré que chaque blastomère issu de l'embryon précoce pouvait donner un individu parfaitement différencié grâce à la totipotence des cellules embryonnaires au tout début du développement. Il s'agit d'une illustration expérimentale de ce qu'il peut se produire *in vivo* pendant les gestations gémellaires des mammifères.

Deuxième partie : Etude expérimentale

I) Buts de l'étude et présentation des cas

Au cours de cette étude expérimentale, nous nous sommes intéressés à des cas de chats et de chiens présentant des phénotypes inhabituels de couleur de robe, suspectés d'être jumeaux ou pour lesquels des anomalies sur leurs profils ADN ou résultats de tests ADN ont été détectés. Ces animaux étaient les chats :

- Picasso, un mâle Maine Coon **écaille de tortue** (dilué : bleu et crème) ;
- un mâle Persan **écaille de tortue** ;
- Peter, un mâle de type européen **écaille de tortue (**tabby et blanc) ;
- Tweety, un mâle de type européen **écaille de tortue** (dilué : bleu et crème, et blanc) ;
- Norman, un mâle Maine coon supposé **écaille de tortue** (silver, tabby et blanc) ;
- Sonate, un mâle de type européen **écaille de tortue** ;
- un mâle de type européen bleu-crème, **écaille de tortue** (dilué : bleu et crème) ;
- Spritz, un mâle de type européen **écaille de tortue** (et blanc) ;
- Pio, un mâle de type européen **écaille de tortue** (et colourpoint) ;
- Narnia, un mâle British shorthair au pelage **noir et bleu** (et à panachure minimale) ;
- un chat mâle (de nom inconnu) de type européen **noir et bleu** (et blanc) ;
- Kodak, un mâle de type européen à poils courts **écaille de tortue** présentant **une touffe de poils longs** sur le dos ;

ainsi que les chiens :

- Keïta et Issaka, deux frères Azawakh issus d'**un même placenta** ;
- Philibert, un mâle Bouvier Bernois présentant un **résultat de test ADN de maladie atypique**.

Dans un premier temps, nous avons choisi de présenter chacun des individus inclus dans l'étude, sous forme de descriptions individuelles.
Dans un second temps, nous avons exploité des outils de génétiques moléculaires utilisés en routine par les laboratoires commerciaux pour explorer ces cas.
Cette seconde partie a donc été structurée de manière classique en :
- matériel et méthodes ;
- résultats ;
- discussion.

1. Présentation des chats ayant été inclus dans l'étude

a. Picasso

Picasso P des Bos Zamours, était un chat mâle de race Maine coon, polydactyle, présentant une robe écaille de tortue bleue et crème (figure 43).

Figure 43 : Picasso P des Bos Zamours à l'âge adulte
(Source : Chatterie de LoClarine)
On remarque que les proportions de bleu et de crème semblent réparties de manière homogène dans l'ensemble du pelage.

Les parents de Picasso étaient (figure 44) :

- Witchcoon's Lord Dewin PP, un mâle de couleur bleue ;
- O'Bella des Bos Zamours, une femelle écaille de tortue bleue et crème (et tabby).

Figure 44 : Photographies des deux parents de Picasso
(Source : Chatterie de LoClarine)
Noter la présence d'une robe diluée chez la mère (photo de gauche) et le père (à droite).

Picasso s'est révélé fertile : il a engendré 12 chatons répartis en deux portées. Le mariage avec Rimelle, femelle Maine coon écaille de tortue noire et rousse (silver et tabby), a donné cinq chatons (figure 45). Le mariage avec Pénélope, femelle Maine coon rousse, a donné sept chatons (figure 46).

Figure 45 : Rimelle des Bos des Zamours (a) et la portée de cinq chatons (b) issus de son mariage avec Picasso

(Source : Chatterie de LoClarine)

La portée était constituée d'une femelle écaille de tortue bleue et crème (tabby et silver, b1), d'une femelle crème (et silver, b2), d'un mâle noir (silver et tabby, b3), d'un mâle bleu (et smoke, b4) et d'un mâle noir (et smoke, b5).

Figure 46 : Pénélope (a) et la portée de sept chatons (b) issus de son mariage avec Picasso
(Source : Chatterie de LoClarine)
Pénélope, tout comme ses sept chatons, présentait un phénotype roux. La portée était constituée de cinq femelles et de deux mâles.

b. Mâle Persan

Nous avons recruté un chat Persan mâle présentant une robe écaille de tortue noire et rousse (figure 47).

Figure 47 : Photographie du Persan, sous anesthésie, lors de sa castration chez son vétérinaire
(Source : Dr Marine Lestrille)

Nous ne disposions pas d'informations ni sur son ascendance, ni concernant sa fertilité avant sa castration.

c. Peter

Peter était un chat mâle de type européen qui vivait en Allemagne, de couleur écaille de tortue (tabby et blanc, figure 48).

Figure 48 : Photographie de Peter, chez son vétérinaire
(Source photo : Dr Wabe Bakker)
Peter présente un phénotype écaille de tortue tabby (variété mackerel) et blanc.

Peter présentait un phénotype extérieur mâle, sa fertilité n'était cependant pas connue.
La mère de Peter, nommée Finn, était connue du vétérinaire nous ayant rapporté ce cas (couleur de pelage non rapportée). Peter avait été castré et ses testicules avaient été l'objet d'une analyse histologique ayant mis en évidence une hypoplasie partielle du tissu testiculaire (source : Dr Wabe Bakker).

d. Tweety

Dans le cadre de notre étude, nous avons également étudié le cas de Tweety, un chat mâle de type européen, écaille de tortue bleu crème (et blanc, figure 49).

Figure 49 : Photographies de Tweety, mâle écaille de tortue bleu crème et blanc
(Source : Mélanie Dubois)
Cette figure présente différents clichés de Tweety, montrant bien son phénotype écaille bleu et crème à panachure blanche.

Tweety ayant été castré à l'âge de six mois, nous n'avons pas su s'il était fertile ou stérile. Ses testicules présentaient toutefois un développement normal pour un chat de sexe mâle. De plus, Tweety était un chaton trouvé errant, avant d'être adopté par ses propriétaires, nous n'avions donc pas de renseignements sur ses parents.

e. Norman

Norman était un chat mâle Maine coon, supposé écaille de tortue, et présentant une robe silver, tabby et blanc (figure 50).

Figure 50 : Photographies de Norman, mâle Maine coon
(Source photo : La Chatterie de la Maison Fleurie)
Ces clichés présentent Norman à l'âge de trois mois environ (photos A et B) puis à l'âge adulte (C et D). La particularité de Norman réside dans la présence de plages de couleur crème à rousse au sein du patron tabby, sur le dos.

Norman était né à la Chatterie de la Maison Fleurie, suite à l'union de Blaze, femelle Maine coon de robe écaille de tortue bleue et crème (et blanche), avec Syn, mâle Maine coon de couleur black silver tabby (et blanc), comme montré sur la figure 51.

Figure 51 : Photographies des parents de Norman, chats de race Maine coon
(Source photo : La Chatterie de la Maison Fleurie)
A gauche : Blaze, mère de Norman, son père Syn est représenté à droite.

Norman ayant été adopté par une famille, il a donc été castré car il n'était pas resté à l'élevage pour devenir reproducteur. Par conséquent, nous ne disposions pas d'informations concernant sa fertilité et il n'a pas eu de descendance.

f. Sonate

Le cas de Sonate était celui d'un chat mâle de type européen, écaille de tortue noir et roux (figure 52).

Figure 52 : Photographie de Sonate, mâle écaille de tortue
(Source : Dr Julie Colin de Verdière)
Bien que le pelage soit majoritairement de couleur noire, noter la présence de plages rousses, surtout au niveau de la face à droite, du cou ou de la cuisse droite.

La fertilité de Sonate ainsi que son ascendance n'étaient pas connus.

g. Mâle bleu-crème

Nous avons inclus dans l'étude un chat mâle de type européen, écaille de tortue bleu et crème (figure 53).

Figure 53 : Photographie du mâle européen écaille de tortue, bleu et crème
(Source : Dr Véronique Hees)
Les clichés ont été pris par sa vétérinaire traitant au moment de sa castration.

Le chat présentait deux testicules de taille, de forme et d'aspect normaux pour un mâle. Ayant été castré, nous n'avions cependant pas d'informations relatives à sa fertilité. De même, les phénotypes de ses parents n'étaient pas connus.

h. Spritz

Spritz était un chat européen mâle présentant une robe écaille de tortue noire et rousse, avec une panachure blanche envahissante (figure 54).

Figure 54 : Photographies de Spritz, chat mâle européen écaille de tortue et blanc, lors de sa castration
(Source : Dr Julie Oger, Clinique Entrechats)

Comme pour le mâle bleu-crème ou Sonate, l'ascendance ainsi que les capacités reproductrices de Spritz n'étaient pas connues. Au moment de sa castration, Spritz présentait deux testicules normalement développés.

i. Pio

Pio était un chat mâle de type européen, écaille de tortue noir et roux mais également caractérisé par son patron colourpoint, comme montré sur la figure 55.

Figure 55 : Photographie de Pio, mâle colourpoint écaille de tortue noir et roux
(Source : Dr Jennifer Maïano)
Noter chez Pio la couleur claire majoritaire du pelage due au patron colourpoint, avec du roux au niveau du nez, des pattes et des oreilles (les points). Une tache eumélanique unique est visible à l'extrémité de son antérieur gauche.

j. Narnia

Narnia était un chat mâle de race British shorthair, arborant un pelage de couleur noire et bleue (avec une panachure minimale et les yeux bleus) comme le montre la figure 56.

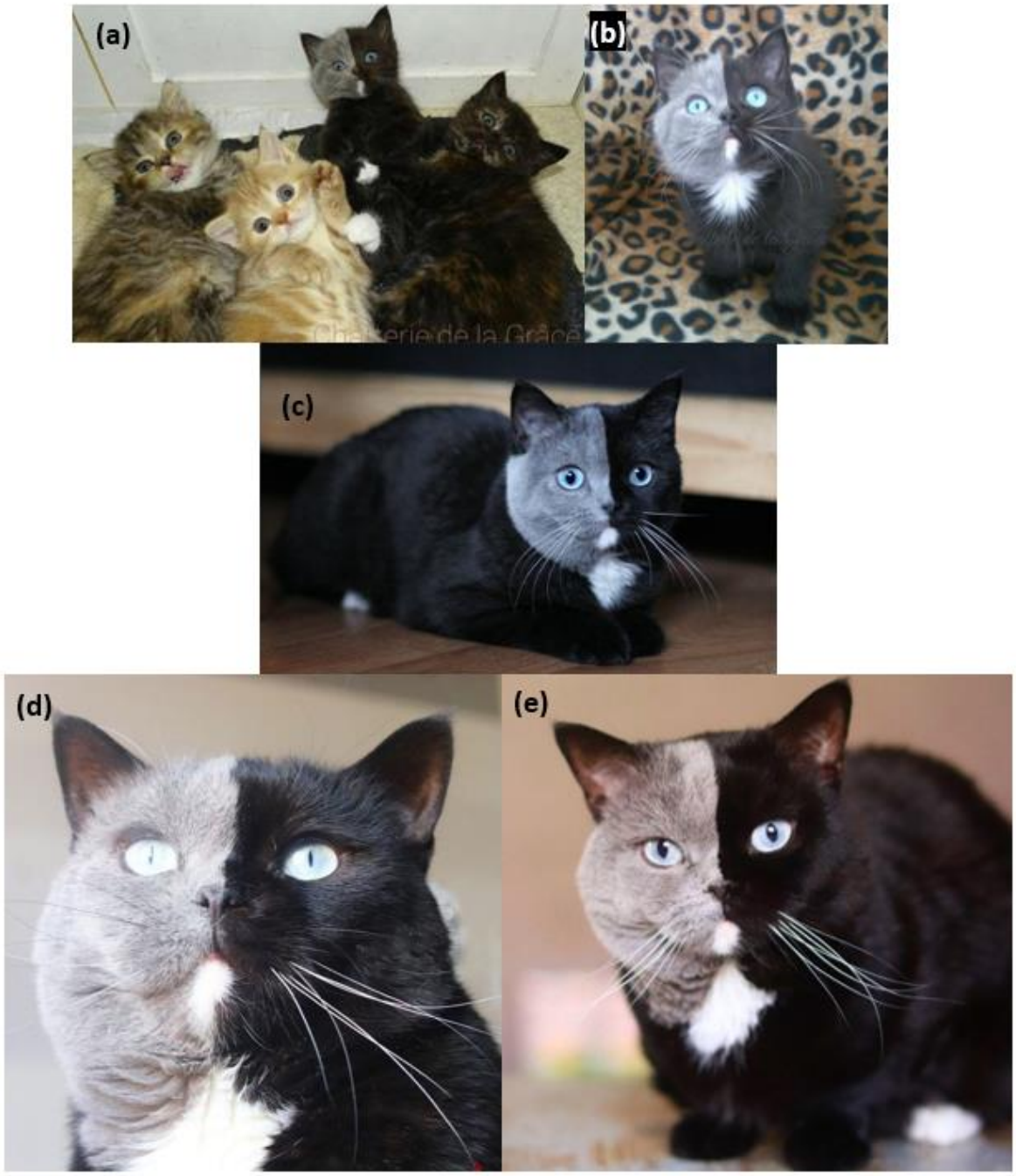


Figure 56 : Photographies de Narnia à différents âges, mâle British shorthair noir et bleu
(Source : Chatterie de la Grâce)
Les photographies ci-dessus présentent Narnia avec ses sœurs (a), à deux mois (b), à cinq mois (c) et à l'âge adulte (photos d et e).
Noter la répartition atypique des poils dilués, partageant la face de Narnia en deux couleurs distinctes. Narnia présente également des plages de coloration blanche sur le menton, sous le cou et à l'extrémité des deux postérieurs.

Les deux parents de Narnia étaient (figure 57) :

- Jeen, femelle British shorthair de couleur bleue unie ;
- Muscari, mâle British longhair au pelage roux et blanc (red tabby).

Figure 57 : Photographies des deux parents de Narnia
(Source : Chatterie de la Grâce)
Ces deux photographies montrent Jeen (à gauche) et Muscari (à droite).

Narnia s'est avéré être fertile et a engendré de nombreuses portées au sein de l'élevage. Nous avons récolté les informations des deux premières portées, issues de son mariage avec Jaika et Bella, au sein de la Chatterie de la Grâce.
Son mariage avec Jaïka, femelle British shorthair de robe cannelle, a donné deux chatons (figure 58).

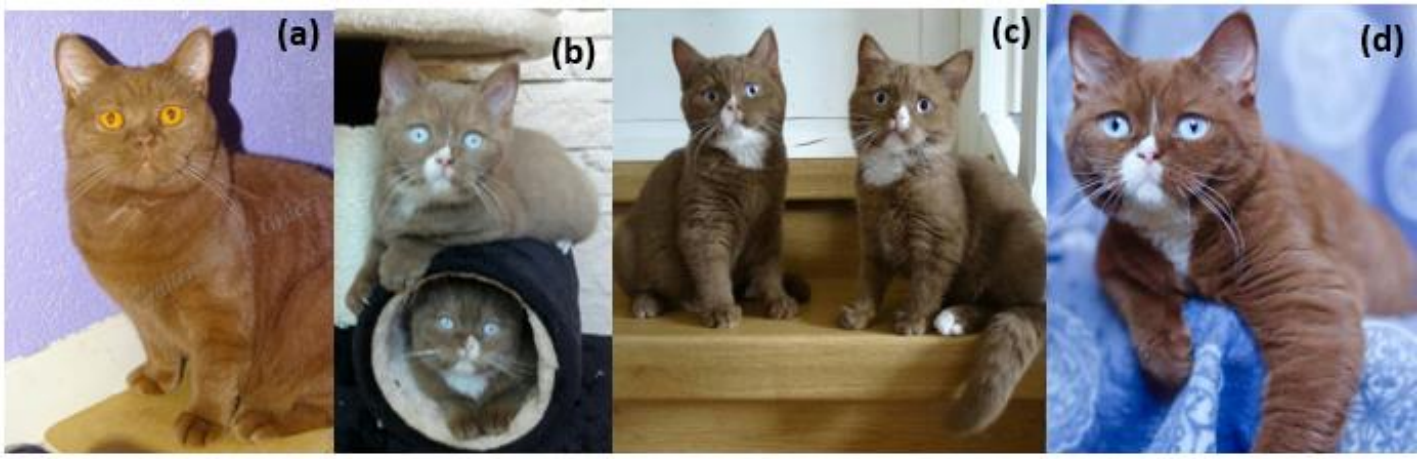


Figure 58 : Jaïka et sa portée de deux chatons issus de son union à Narnia
(Source : Chatterie de la Grâce)
Jaïka (a) présentait une robe cannelle tout comme ses deux filles, Ozanna et Orphée, qui possédaient en plus une panachure minimale. Les deux chatons avaient respectivement trois et quatre mois sur les photos (b) et (c). La dernière photo (d) montre Ozanna à l'âge adulte.

Ozanna a eu à son tour plusieurs portées, dont une en 2020 comportant trois chatons : deux mâles de robe cannelle et une femelle faon (figure 59).

Figure 59 : Portée d'Ozanna en 2020 et de ses trois chatons
(Source : Chatterie de la Grâce)
Une des femelles de la portée portait la couleur faon, dilution de la couleur cannelle (photo de droite). Les deux mâles constituant le reste de la portée étaient de couleur cannelle (photo de gauche).

La deuxième portée de Narnia a été obtenue lors de son mariage avec Bella, femelle British shorthair écaille de tortue bleue et crème (figure 60) : quatre chatons de phénotypes différents ont vu le jour.

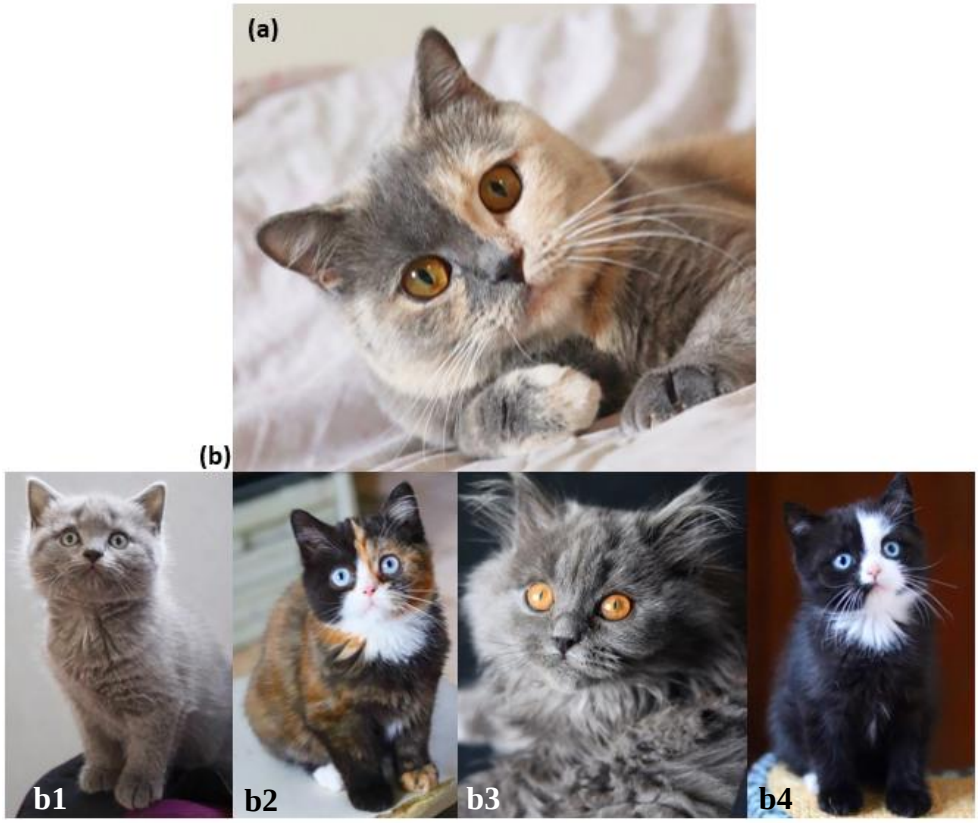


Figure 60 : Bella (a) et sa portée (b) de quatre chatons issus de son union à Narnia
(Source : Chatterie de la Grâce)
La portée était constituée de deux chatons à la robe unie bleue, une femelle à poils courts (b1) et un mâle à poils longs (b3), d'une femelle tricolore (b2) et d'un mâle noir et blanc (b4).

k. Chat bleu et noir

Nous avons collecté des informations pour un chat mâle de type européen (dont le nom ne nous a pas été communiqué), de couleur bleue et blanche, qui possédait une tache noire sur une cuisse (figure 61).

Figure 61 : Photographie de l'intérieur de la cuisse d'un chat de type européen bleu et blanc

(Source photo : Maeva Dahan)

Noter la présence d'une tache noire étendue à l'intérieur de la cuisse, alors que le chat présente une robe diluée de couleur bleue (et blanche).

Nous ne disposions pas d'informations sur son ascendance ou sa fertilité avant sa castration.

I. Kodak

Le dernier chat étudié dans ce manuscrit était Kodak, un chat mâle de type européen écaille de tortue (et tabby) à poils courts, présentant une touffe de poils roux et longs sur le dos (figure 62).

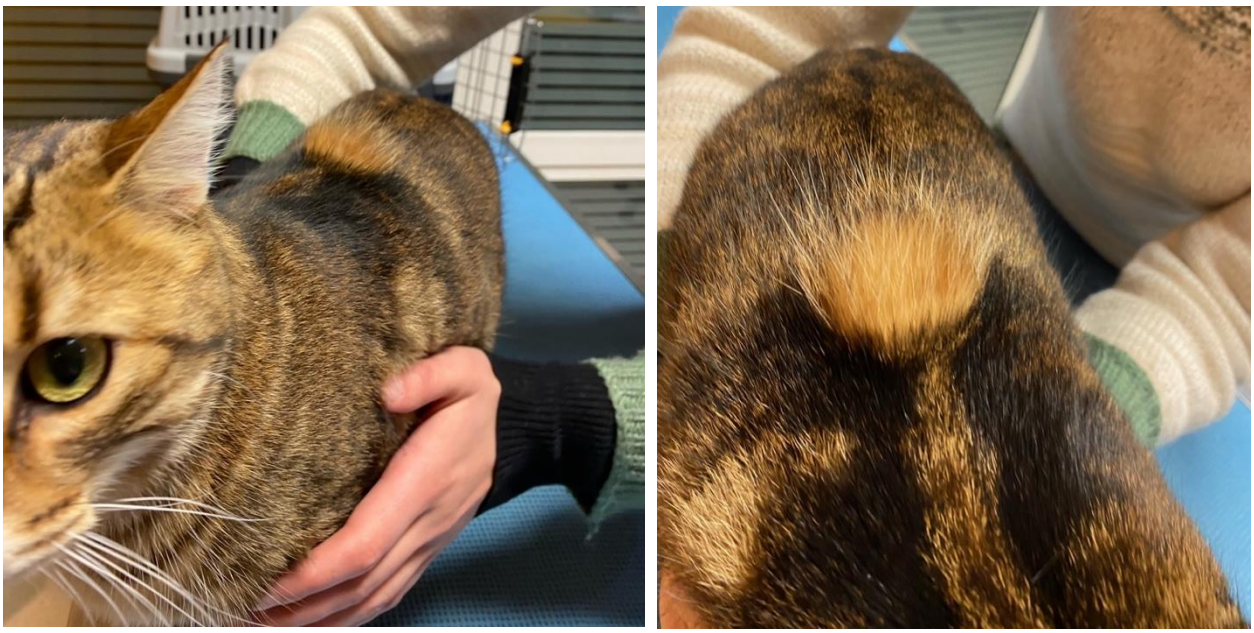


Figure 62 : Photographies de Kodak, chat à poils courts possédant une touffe de poils longs sur le dos

(Source : Dr Cécile Thomas)

Noter la répartition anormale du patron tabby sur le pelage de Kodak ainsi que la présence, sur le dos, de la touffe de poils longs et roux.

L'ascendance de Kodak ou sa possible fertilité n'étaient pas connus.

2. Présentation des chiens ayant participé à l'étude

a. Keita et Issaka

Keïta et Issaka étaient deux chiots frères de race Azawahk présentant une robe de couleur fauve charbonné et blanc (figure 63).
Leur particularité résidait dans le fait qu'au moment de la naissance, les deux chiots étaient enveloppés dans un même placenta unique (absence de photo), ce qui avait suggéré qu'il puisse s'agir de vrais jumeaux (jumeaux monozygotes).

Figure 63 : Keïta et Issaka à l'âge de trois mois
(Source : Corine Lundqvist)
Keita est à gauche sur les photos en duo et en bas à droite sur la photo de profil.
Issaka se trouve à droite sur les photos en duo et en bas à gauche sur la photo de profil.

Les deux frère Azawahk avaient été acquis par une éleveuse française auprès d'un élevage situé à la frontière entre le Niger et le Mali. Nous ne disposions pas de renseignements sur leurs parents, ni sur leurs frères et sœurs de portée.

b. Philibert

Le dernier cas de notre étude était celui de Philibert, mâle bouvier Bernois adulte, qui ne présentait pas d'anomalie phénotypique extérieure (figure 64).

Figure 64 : Photographie de Philibert, mâle bouvier Bernois
(Source : Claire Scheid)
Noter l'absence d'anomalie de couleur visible dans son pelage. Philibert présentait une robe noire et feu avec des panachures blanches sur l'encolure ; le chanfrein et les pattes, typiques du Bouvier Bernois.

Les anomalies génétiques portées par Philibert ont été mises en évidence au moment de la réalisation du test ADN de prédisposition pour le sarcome histiocytaire, en vue de lui faire réaliser une saillie. Philibert était fertile : une portée de cinq chiots vivants, quatre mâles et une femelle, sont nés après son union avec une femelle Bouvier Bernois. Cinq autres chiots bien formés étaient morts-nés.

II) Matériel et méthodes

1. Animaux, prélèvements et éthique

a. Méthode de recrutement et critères d'inclusion

Notre étude a concerné 12 chats et trois chiens, soit 15 animaux adultes. Les chats de notre étude ont été recrutés sur la base de leur phénotype inhabituel. Les éleveurs, les propriétaires ou les vétérinaires traitants des animaux nous ont contacté après avoir remarqué leur pelage atypique.
La propriétaire de Keita et Issaka nous a directement contacté pour investiguer une possible origine monozygotique de ses deux chiots, après leur adoption.
Enfin, les anomalies génétiques de Philibert ont été mises en évidence à l'occasion d'un test ADN réalisé en vue de le mettre à la reproduction.
L'inclusion des chats pour cette étude reposait donc uniquement sur la couleur de la robe et les chiens ont été sélectionnés sur la découverte fortuite d'une anomalie à investiguer (placenta unique et tests de dépistage de maladies génétiques).

b. Réalisation des prélèvements

Pour chaque individu étudié, plusieurs prélèvements ont pu être effectués :

- réalisation de deux brossettes buccales par le propriétaire de l'animal ou le vétérinaire traitant, qui ont été envoyées au laboratoire Antagene situé à La Tour de Salvagny ou directement au Dr Marie Abitbol ;
- prélèvements sanguins sur tube EDTA (Ethylène Diamine Tétra-Acétique), après réalisation d'une prise de sang chez le vétérinaire traitant de l'animal, dans le cadre de son parcours de soin ;
- récolte de poils avec leurs racines intactes, dans différentes zones du pelage, réalisée par le propriétaire ou le vétérinaire traitant.

Le tableau XI récapitule pour chaque animal les prélèvements ayant été réalisés.

Tableau XI : Liste des prélèvements effectués pour chaque animal

	Nom de l'animal	Brossettes	Sang	Poils
CHATS	Picasso	X	X	Noirs et roux
	Persan	X	X	Noirs et roux
	Peter	X	X	
	Tweety	X	X	Noirs et roux
	Norman	X		
	Sonate	X		Noirs et roux
	Mâle bleu-crème	X		Bleus et crème
	Spritz	X	X	Noirs, roux et blancs
	Pio	X		Noirs et Roux
	Narnia	X	X	Bleus et noirs
	Chat bleu et blanc	X		Bleus, noirs et blancs
	Kodak	X		Poils noirs, roux et tiquetés
CHIENS	Keita		X	
	Issaka		X	
	Philibert		X	

Les prélèvements sanguins de Keïta et Issaka ont été effectués par deux vétérinaires différents à plusieurs jours de décalage. En plus de ces prélèvements, deux brossettes buccales ont pu être réalisées pour Finn, la mère de Peter ; pour les deux parents de Philibert ainsi que pour sa portée de chiots.

c. Consentement et éthique

Tous les animaux de cette étude étaient des animaux de propriétaires. Ces derniers ont signé la fiche de prélèvement et de consentement pour l'utilisation des échantillons dans la cadre de la recherche génétique (annexe 2).

Aucune procédure invasive n'a été pratiquée sur les animaux participant à l'étude. Aucune expérimentation animale au sens strict n'a été réalisée, comme définie par la Directive Européenne (Subject 5f of Article1, Chapter I of the Directive 2010/63/UE of the European Parliament and of the Council).

De plus, une déclaration au Comité d'Ethique de VetAgro Sup a été déposée au préalable pour notre étude, et a reçu l'avis favorable n°2210 (annexe 3).

2. Réalisation de caryotypes

Les prélèvements sanguins pour la réalisation des caryotypes chez Picasso, Tweety et Sonate ont été envoyés à la Plateforme de Cytogénétique de l'École nationale vétérinaire de Toulouse par les vétérinaires les ayant effectués.

En annexe 4 se trouve la plaquette du laboratoire de Toulouse.

3. Extraction des ADN

a. Extraction à partir des brossettes buccales

L'ADN issu des brossettes buccales a été extrait à l'aide de l'automate Maxwell de Promega (Madison, Wisconsin, USA) en suivant les recommandations du fabriquant, disponibles sur le site internet suivant : http://france.promega.com/ ; ou à l'aide du kit NucleoSpin 96 Tissue DNA Kit (Macherey-Nagel EURL, Hoerdt, France).

b. Extraction à partir des échantillons de sang

Le sang récolté dans les tubes EDTA a été extrait à l'aide de l'automate Maxwell Promega en se conformant aux recommandations du fabriquant (http://france.promega.com/).

c. Extraction à partir des poils

De même que précédemment, l'extraction de l'ADN à partir des poils (avec leur racine) a été réalisée grâce à l'automate Maxwell Promega (Madison, Wisconsin, USA) selon les indications du fabriquant (http://france.promega.com/).

La concentration en ADN des échantillons a ensuite été mesurée par un spectrophotomètre (NanoDrop®).

4. Identification génétique

Un aliquote d'ADN a été envoyé pour chaque cas étudié au laboratoire Antagene pour la réalisation des empreintes génétiques, lorsque l'ADN avait été extrait par le Dr Marie Abitbol.

5. Génotypage pour des marqueurs microsatellites

Les génotypages ont été réalisés par le laboratoire Antagene (www.antagene.com). Les prélèvements d'ADN ont été amplifiés en mélangeant les échantillons avec 5 µL de mastermix Taq Polymérase (Type-It PCR Kit, Qiagen). Les produits d'amplification ont ensuite été résolus par électrophorèse capillaire, sur un séquenceur automatique d'ADN ABI PRISM 3130 XL (ThermoFisher Scientific, Waltham, Massachusetts).
La migration s'est effectuée en conditions dénaturantes dans un mélange de formamide (ThermoFisher Scientific, Waltham, Massachusetts) et d'un marqueur de taille (600 Liz, ThermoFisher Scientific), qui était réparti équitablement dans l'ensemble des puits du *run*.
Les électrophérogrammes ont été analysés grâce au logiciel GENEMAPPER 4.1 (ThermoFisher Scientific).
Pour chaque ADN canin, 21 marqueurs microsatellites ainsi qu'un marqueur de sexe ont été amplifiés puis analysés sur le séquenceur automatique d'ADN. Pour les chats, ce sont 15 marqueurs microsatellites et un marqueur de sexe.

Les résultats des génotypes ont été exprimés codés en lettres, en accord respectivement avec la norme ISAG 2006 et ISAG 2012.

6. Génotypage pour un panel de SNP

Les génotypages ont été réalisés par le laboratoire Antagene. La librairie AmpliSeq™ a été préparée selon le mode opératoire fourni par le fournisseur ThermoFisher Scientific® grâce au kit Ion AmpliSeq 2.0 Librairy. Elle a ensuite été chargée sur une puce Ion 540™ par le Ion Chef™ (Ion 540™ Kit – Chef) qui a été séquencée par le séquenceur Ion GeneStudio™ S5 Prime (Ion S5™ Sequencing Kit).
Plusieurs éléments ont été renseignés au moment de lancer le séquençage :

- le génome de référence de l'animal ;
- Un fichier contenant les barcodes attribués aux différents échantillons ;
- un fichier hotspot qui renseignait pour chaque marqueur SNP ses caractéristiques (ex : position dans le génome de référence) ;
- l'allèle de référence ainsi que l'allèle variant.

Le logiciel « Torrent Suite » qui est associé au séquenceur a ensuite traité les données de séquençage obtenues à partir des amplicons. Il a associé chaque séquence lue à un échantillon grâce aux barcodes. Les séquences ont ensuite été alignées au génome de référence, générant des fichier BAM (*Binary Alignement Map*). L'algorithme Variant Caller a été utilisé pour obtenir le génotype des marqueurs cibles pour chaque échantillon. Pour un marqueur donné, l'échantillon était défini comme homozygote ou hétérozygote pour l'allèle de référence, ou homozygote pour l'allèle variant, en fonction de la fréquence d'obtention des différents allèles. Le séquenceur donnait également des indices de qualité pour chaque marqueur (couverture originale, qualité de la séquence), ainsi que la fréquence de lecture de l'allèle variant permettant de conclure sur le génotype. L'ensemble de ces données a été exporté sous forme de fichier Excel® afin d'être analysé.

III) Résultats

1. Chats mâles au pelage écaille de tortue

a. Résultats des caryotypes effectués

Nous avons proposé aux vétérinaires référents des différents cas de proposer un examen du caryotype aux propriétaires des animaux. Nous avons obtenu des données de caryotype pour les individus mâles écaille de tortue Picasso et Sonate.
Le caryotype de Picasso était de 38 XY, sans anomalie.
Le caryotype de Sonate était 38 XY, sans anomalie.
Pour les autres mâles écaille de tortue Persan, Tweety, Peter, Norman, le mâle bleu-crème, Spritz, Pio et Kodak nous n'avons pas obtenu de donnée de caryotype.

b. Résultats des profils ADN

i. Résultats de Picasso

Les résultats des empreintes génétiques obtenues à partir de l'ADN de l'écouvillon buccal, du prélèvement sanguin et des échantillons de poils (non-dissociés, donc bleu et crème) de Picasso sont présentés dans le tableau XII.

Tableau XII : Empreintes génétiques des différents échantillons ADN prélevés sur Picasso

Marqueur	Brossette buccale	Sang passage 1	Sang passage 2	Poils bleus et crèmes mélangés
FCA026	RR	RR	RR	RR
FCA069	KM	KM	KM	KK
FCA075	SS	SS	SS	SS
FCA105	QQ	QQ	QQ	QQ
FCA149	GHK	GHK	GHK	GH
FCA201	QS	QS	QS	SS
FCA220	JK	- -	- -	JK
FCA229	PP	PP	PP	PP
FCA293	FGL	FGL	FGL	FG
FCA310	MM	MM	MM	MM
FCA441	MOP	MOP	MOP	MO
FCA453	KK	KK	KK	KK
FCA649	GG	GG	GG	GG
FCA678	LP	LP	LP	LL
ZFXY	XY	XY	XY	XY

Les tirets indiquent que les allèles n'ont pas pu être déterminés et les éléments de couleur rouge correspondent aux anomalies et particularités notables.

Nous avons observé que les allèles des marqueurs FCA069, FCA201 et FCA678 différaient pour le prélèvement de poils (génotypes KK, SS et LL respectivement) par rapport aux autres échantillons qui avaient donné le même résultat (génotypes KM, QS et LP respectivement). De plus, on a noté la présence de trois allèles pour les marqueurs FCA149, FCA293 et FCA441 concernant la brossette buccale et l'échantillon sanguin, dont l'analyse a été effectuée deux fois.

ii. Résultats du Persan

L'identification génétique issue des prélèvements buccal, sanguin et des poils noirs et roux du Persan est présentée dans le tableau XIII.

Tableau XIII : Empreintes génétiques des différents échantillons ADN prélevés sur le Persan

Marqueur	Brossette buccale	Sang	Poils noirs	Poils roux
FCA026	RT	RT	RR	RR
FCA069	FN	FN	FN	FN
FCA075	ST	ST	ST	ST
FCA105	MNP	MNP	MN	MNP
FCA149	GJL	GJL	JL	GJL
FCA201	QRS	QRS	RS	RS
FCA220	- -	- -	JK	- -
FCA229	OP	OP	PP	PP
FCA293	FF	FF	FF	FF
FCA310	LRS	LRS	LRS	LRS
FCA441	OO	OO	OO	OO
FCA453	KM	KM	KM	KM
FCA649	GI	GI	GG	GG
FCA678	OP	OP	OP	OP
ZFXY	XY	XY	XY	XY

Les tirets indiquent que les allèles n'ont pas pu être déterminés et les éléments de couleur rouge correspondent aux anomalies et particularités notables.

Nous avons remarqué que les génotypes pour les marqueurs FCA026, FCA229 et FCA649 n'étaient pas les mêmes pour les prélèvements de poils (RR, PP et GG respectivement) que pour la brossette buccale et le sang (allèles RT, OP et GI respectivement).
Trois allèles ont été identifiés pour les marqueurs FCA105, FCA149, FCA201 et FCA310, avec pour ce dernier marqueur, un triallélisme pour l'ensemble des quatre prélèvements.

iii. Résultats de Peter

Le tableau XIV présente les résultats des profils ADN des prélèvements de sang et de la brossette buccale chez Peter ainsi que de la brossette buccale réalisée chez sa mère, Finn.

Tableau XIV : Empreintes génétiques des différents échantillons ADN prélevés sur Peter et sur sa mère Finn

Marqueurs	Finn Brossette buccale	Peter Sang	Peter Brossette buccale
FCA026	ST	**P**T	**PQ**T
FCA069	KL	K**MN**	K**MN**
FCA075	RS	**P**R	RR
FCA105	OR	**PRS**	**PS** (doute PRS)
FCA149	LL	LL	LL
FCA201	KQ	Q**R**	Q**R**
FCA220	KK	K**L**	K**L**
FCA229	OP	**M**P	**M**P
FCA293	JL	**F**JL	**F**JL
FCA310	KR	K**L**	K**L**
FCA441	MM	M**N**	M**N**
FCA453	NO	**L**N	**L**N
FCA649	GI	II	II
FCA678	LP	LP	LP
ZFXY	XX	X**Y**	X**Y**

Les éléments de couleur rouge correspondent aux anomalies et particularités notables.
En gras sont représentés les allèles forcément transmis par le père de Peter, inconnu.

Remarquons d'abord que les allèles des marqueurs FCA026 et FCA105 de Peter n'étaient pas les mêmes entre le sang et la brossette (respectivement allèles PT / PQT et PR / RR). Peter possédait trois allèles pour les marqueurs FCA026, FCA105, FCA069, et FCA293 avec pour les deux derniers des résultats similaires entre le sang et la brossette.
L'empreinte génétique de la mère de Peter, Finn, ne montrait pas d'anomalie, avec deux allèles pour chaque marqueur testé.

iv. Résultats de Tweety

Les prélèvements de poils (roux et noirs), de sang et la brossette buccale ont permis la réalisation des empreintes génétiques pour Tweety, dont les résultats apparaissent dans le tableau XV.

Tableau XV : Empreintes génétiques des différents échantillons ADN prélevés sur Tweety

Marqueurs	Brossette buccale	Sang	Poils noirs	Poils roux
FCA026	RS	RS	RS	RS
FCA069	KP	KP	KP	KP
FCA075	RS	RS	RS	RS
FCA105	PQ	PQ	PQ	PQ
FCA149	GK	GK	GK	GK
FCA201	KQ	QQ	QQ	QQ
FCA220	KK	KK	KK	KK
FCA229	NP	NP	NP	NP
FCA293	FJ	JL	JL	JL
FCA310	LR	LR	LR	LR
FCA441	NN	NN	NN	NN
FCA453	LL	LL	LL	LL
FCA649	HH	HH	HH	HH
FCA678	LP	LP	LP	LP
ZFXY	XY	XY	XY	XY

Les éléments de couleur rouge correspondent aux anomalies et particularités notables

Pour Tweety, nous avons identifié que les résultats obtenus pour la brossette buccale ne correspondaient pas à ceux des autres prélèvements pour deux marqueurs (FCA201 et FCA293) :

- identification des allèles KQ pour le marqueur FCA201 contre QQ pour les autres prélèvements ;
- identification des allèles FJ pour FCA293 contre JL pour le sang et les poils (roux et noirs).

L'ensemble de l'empreinte génétique montrait cependant, deux allèles au maximum, pour chaque marqueur.

v. Résultats de Norman

Les empreintes génétiques obtenues à partir des cellules buccales de Norman sont présentées dans le Tableau XVI.

Tableau XVI : Empreinte génétique de Norman

Marqueurs	FCA026	FCA069	FCA075	FCA105	FCA149	FCA201	FCA220	FCA229	FCA293	FCA310
Brossette buccale	QR	LM	SS	PR	JL	OQ	KK	MQ	JK	RR

FCA441	FCA453	FCA649	FCA678	ZFXY
MN	KK	GG	LR	XY

Les résultats de la brossette buccale ne montraient pas d'anomalie pour les 15 marqueurs utilisés.

vi. Résultats de Sonate

Les empreintes génétiques issues de la brossette buccale, du sang et des échantillons de poils de Sonate sont présentés dans le Tableau XVII.

Tableau XVII : Empreintes génétiques des différents échantillons ADN prélevés sur Sonate

Marqueurs	Brossette buccale	Poils noirs	Poils roux
FCA026	RU	RU	RU
FCA069	NN	NN	NN
FCA075	PS	PS	PS
FCA105	OR	OR	OR
FCA149	JL	JL	JL
FCA201	FS	FS	FS
FCA220	KK	KK	KK
FCA229	OP	OP	OP
FCA293	FJ	FJ	FJ
FCA310	JM	JM	JM
FCA441	MM	MM	MM
FCA453	KM	KM	KM
FCA649	GM	GM	GM
FCA678	PQ	PQ	PQ
ZFXY	XY	XY	XY

Les résultats obtenus ne montraient pas d'anomalie au niveau des marqueurs utilisés. De plus, les empreintes génétiques des trois prélèvements effectués correspondaient parfaitement.

vii. Résultats du mâle bleu-crème

Pour le mâle bleu-crème, les prélèvements buccaux et de poils roux et noirs ont donné les empreintes génétiques suivantes (tableau XVIII).

Tableau XVIII : Empreintes génétiques des différents échantillons ADN prélevés sur le mâle bleu-crème

Marqueurs	Brossette buccale	Poils noirs	Poils roux
FCA026	PQ	PQ	PQ
FCA069	KK	KK	KK
FCA075	ST	ST	ST
FCA105	NO	NO	NO
FCA149	GL	GL	GL
FCA201	KM	KM	KM
FCA220	KL	KL	KL
FCA229	LP	LP	LP
FCA293	FJ	FJ	FJ
FCA310	MR	MR	MR
FCA441	MN	MN	MN
FCA453	MN	MN	MN
FCA649	HM	HM	HM
FCA678	LP	LP	LP
ZFXY	XY	XY	XY

Les profils AND obtenus ne montraient pas d'anomalie. Pour chaque marqueur, deux allèles ont été identifiés et étaient identiques entre la brossette, les poils noirs et les poils roux.

viii. Résultats de Spritz

Les résultats des identifications génétiques de Spritz, réalisées à partir des prélèvements de poils (noirs, roux et blancs), de sang et de la brossette, sont présentés dans le tableau XIX.

Tableau XIX : Empreintes génétiques des différents échantillons ADN prélevés sur Spritz

Marqueurs	Brossette buccale	Sang	Poils noirs	Poils roux	Poils blancs
FCA026	RT	RT	RT	RT	RT
FCA069	FM	FM	FM	FM	FM
FCA075	RU	RU	RUO	RUO	RU
FCA105	OS	OS	OS	OS	OS
FCA149	JL	JL	JL	JL	JL
FCA201	RT	RT	RT	RT	RT
FCA220	KK	KK	KK	KK	KK
FCA229	PP	PP	PP	PP	PP
FCA293	FJ	FJ	FJL	FJL	FJ
FCA310	LM	LM	LMN	LMN	LM
FCA441	MP	MP	MPN	MPN	MP
FCA453	KM	KM	KMN	KMN	KM
FCA649	GL	GL	GL	GL	GL
FCA678	LM	LM	LM	LM	LM
ZFXY	XY	XY	XY	XY	XY

Les éléments de couleur rouge correspondent aux anomalies et particularités notables.

Nous avons constaté que les profils ADN différaient entre les prélèvements de poils noirs et roux et les autres prélèvements effectués (brossette buccale, sang et poils blancs) pour cinq des marqueurs : FCA075, FCA293, FCA310, FCA441 et FCA453. Ces derniers ont montré un tri-allélisme pour les poils noirs et roux avec les allèles RUO, FJL, LMN, MPN et KMN respectivement.

ix. Résultats de Pio

L'identification génétique en provenance des prélèvements buccal et des poils noirs et roux de Pio est présentée dans le tableau XX.

Tableau XX : Empreintes génétiques des différents échantillons ADN prélevés sur Pio

Marqueurs	Brossette buccale	Poils noirs	Poils roux
FCA026	PR	PR	PR
FCA069	MM	MM	MM
FCA075	RS	RS	RS
FCA105	MM	MM	MM
FCA149	JJ	JJ	JJ
FCA201	LQ	LQ	LQ
FCA220	KK	KK	KK
FCA229	QQ	QQ	QQ
FCA293	JJ	JJ	JJ
FCA310	KK	KK	KK
FCA441	NO	NO	NO
FCA453	KO	KO	KO
FCA649	- -	- -	- -
FCA678	MO	MO	MO
ZFXY	XY	XY	XY

Les tirets indiquent que les allèles n'ont pas pu être déterminés pour le marqueur FCA649.

Les résultats obtenus n'ont pas montré d'anomalie : nous avons noté la présence de deux allèles par marqueur et les profils ADN concordaient parfaitement entre les différents prélèvements (cellules buccales et poils).

2. Chats de phénotype bleu et noir

Dans cette partie, nous avons présenté les résultats obtenus pour Narnia et le chat sans nom, qui présentaient tous les deux un phénotype noir et dilué, ainsi que des marques blanches.

a. Résultat du caryotype effectué

Nous avons proposé aux vétérinaires référents des deux cas de proposer un examen du caryotype aux propriétaires des animaux. Nous avons obtenu des données de caryotype pour Naria uniquement.
Le caryotype de Narnia était de 38 XY, sans anomalie.

b. Résultats des profils ADN pour Narnia

L'identification génétique obtenue à partir des prélèvements buccal, sanguin et des poils noirs et bleus de Narnia est présentée dans le tableau XXI.

Tableau XXI : Empreintes génétiques des différents échantillons ADN prélevés Narnia

Marqueurs	Brossette buccale (bleu)	Brossette buccale (noir)	Sang	Poils noirs	Poils bleus
FCA026	RX	RX	RX	RX	RX
FCA069	MN	MN	MN	MN	MN
FCA075	QS	QS	QS	QS	QS
FCA105	NP	NP	NP	NP	NP
FCA149	HL	HL	HL	HL	HL
FCA201	PR	PR	PR	PRK	PR
FCA220	HK	HK	HK	HK	HK
FCA229	PR	PR	PR	PR	PR
FCA293	IK	IK	IK	IK	IK
FCA310	JR	JR	JR	JRL	JR
FCA441	NN	NN	NN	NN	NN
FCA453	LM	LM	LM	LM	LM
FCA649	GM	GM	GM	GM	GM
FCA678	MP	MP	MP	MP	MP
ZFXY	XY	XY	XY	XY	XY

Les éléments de couleur rouge correspondent aux anomalies et particularités notables.

Nous avons remarqué que seuls les résultats issus des prélèvements de poils noirs différaient des autres empreintes génétiques, avec trois allèles obtenus pour deux marqueurs : FCA201 et FCA310, respectivement allèles PRK et JRL.

c. Résultats des profils ADN pour le chat bleu et blanc

Les résultats des empreintes génétiques des différents prélèvements pour le chat bleu et blanc (à tâche noire sur la cuisse) sont présentés dans le tableau XXII.

Tableau XXII : Empreintes génétiques des différents échantillons ADN prélevés sur le chat bleu et blanc

Marqueurs	Brossette buccale	Poils noirs	Poils bleus	Poils blancs
FCA026	PP	PP	PP	PP
FCA069	MN	MN	MN	MN
FCA075	MS	MS	MS	MS
FCA105	PR	PR	PR	PR
FCA149	GK	GK	GK	GK
FCA201	LS	LS	LS	LS
FCA220	KL	KL	KL	KL
FCA229	NP	NP	NP	NP
FCA293	JJ	JJ	JJ	JJ
FCA310	RR	RR	RR	RR
FCA441	MM	MM	MM	MM
FCA453	KL	KL	KL	KL
FCA649	GH	GH	GH	GH
FCA678	LQ	LQ	LQ	LQ
ZFXY	XY	XY	XY	XY

Les résultats ont montré la présence de deux allèles pour chaque marqueur étudié chez le chat, avec des profils ADN identiques entre les différents prélèvements effectués.

3. Chat écaille de tortue à poils courts présentant une touffe de poils longs

Pour Kodak, un profil buccal ainsi que les identifications génétiques à partir des poils (noirs, roux et tiquetés) ont été réalisés et sont résumés dans le tableau XXIII.

Tableau XXIII : Empreintes génétiques des différents échantillons ADN prélevés sur Kodak

Marqueurs	Brossette buccale	Poils noirs	Poils roux	Poils tiquetés
FCA026	TU	TU	TU	TU
FCA069	FM	FM	FM	FM
FCA075	QS	QS	QS	QS
FCA105	OR	OR	OR	OR
FCA149	KK	KK	KK	KK
FCA201	QS	QS	QS	QS
FCA220	KK	KK	KK	KK
FCA229	OP	OP	OP	OP
FCA293	IJ	IJ	IJ	IJ
FCA310	MR	MR	MR	MR
FCA441	NN	NN	NN	NN
FCA453	LM	LM	LM	LM
FCA649	IM	IM	IM	IM
FCA678	LL	LL	LL	LL
ZFXY	XY	XY	XY	XY

Nous avons remarqué que les génotypes pour l'ensemble des marqueurs étaient similaires entre tous les prélèvements effectués. Deux allèles ont été identifiés pour chaque marqueur.

4. Chiots Azawahk

Dans le tableau XXIV sont présentés les résultats des empreintes génétiques de Keïta et Issaka suite aux prélèvements de sang effectués.
En annexe 5 est présenté l'ensemble des résultats pour tous les marqueurs testés (empreintes génétiques, marqueurs complémentaires, panel phénotypique).

Tableau XXIV : Empreintes génétiques de Keïta et Issaka à partir des échantillons sanguins

Marqueur	Keïta	Issaka
AHTh130	GJ	GJ
AHTh171	HM	HM
AHTh260	NS	NS
AHTk211	JN	JN
AHTk253	JM	JM
AHT 121	LO	LO
AHT 137	GH	GH
CXX279	JN	JN
FH2054	BG	BG
FH2848	NN	NN
INRA21	JK	JK
INU005	OO	OO
INU030	LM	LM
INU055	LN	LN
REN105L03	KL	KL
REN162C04	KM	KM
REN169D01	MO	MO
REN169O18	OO	OO
REN247M23	JL	JL
REN54P11	NP	NP
REN64E19	MM	MM
AMEL	XY	XY

Pour chaque marqueur, les résultats sont parfaitement identiques entre les deux chiens. Le tableau de l'annexe 5 montrait également que les résultats obtenus étaient identiques pour l'ensemble des marqueurs testés.

5. Chien bouvier Bernois

Pour finir, nous présentons les empreintes génétiques (tableau XXV) ainsi que les résultats du test pour le sarcome histiocytaire (tableau XXVI) pour Philibert et ses deux parents. Pour rappel, deux brossettes buccales ont été réalisées pour chaque individu.

Tableau XXV : Empreintes génétiques de Philibert et ses deux parents

Marqueur	Philibert	Mère	Père
AHTh130	NN	NN	NN
AHTh171	**HH**	HH	HH
AHTh260	LM	LQ	LM
AHTk211	JM	JJ	JM
AHTk253	OO	MO	OO
AHT 121	LL	LN	LL
AHT 137	**GGP**	GP	GG
CXX279	KN	NN	KN
FH2054	BC	BC	BC
FH2848	KO	KK	KO
INRA21	JJ	JJ	JJ
INU005	OO	NO	OO
INU030	JM	JM	JM
INU055	LP	LM	LP
REN105L03	JP	NP	JP
REN162C04	MM	MM	MM
REN169D01	OO	OO	OO
REN169O18	LO	LL	LO
REN247M23	**JKN**	JN	JK
REN54P11	IK	IQ	IK
REN64E19	MM	MM	MM
AMEL	XY	XX	XY

Les éléments de couleur rouge correspondent aux anomalies et particularités notables.

Nous avons noté la présence de trois allèles pour les marqueurs AHT137 et REN247M23. Les empreintes génétiques pour les deux parents de Philibert ne montraient pas d'anomalie. De plus, ces résultats ont confirmé la compatibilité de la filiation de Philibert avec ses deux géniteurs.

Tableau XXVI : Résultats obtenus pour le test du sarcome histiocytaire chez Philibert et ses deux parents

Marqueurs SNP	Localisations chromosomiques	Philibert	Mère	Père
SH110	Chromosome 2	CC	CC	AC
SH111	Chromosome 5	AG	AG	AG
SH112	Chromosome 5	AG	AG	AG
SH113	Chromosome 11	**GGA**	AG	GG
SH114	Chromosome 11	**TTC**	CT	TT
SH115	Chromosome 11	**TTC**	CT	TT
SH116	Chromosome 14	AT	TT	AA
SH117	Chromosome 14	AG	GG	AA
SH118	Chromosome 14	CT	TT	CC
SH119	Chromosome X	**CCT**	CC	TT

Le test repose sur des marqueurs SNP dont les allèles sont indiqués.
Les éléments de couleur rouge correspondent aux anomalies et particularités notables.

Nous avons remarqué qu'il existait trois allèles pour quatre des marqueurs SNP utilisés pour dépister la sensibilité au sarcome histiocytaire chez le Bouvier Bernois : SH113, SH114, SH115 et SH119. Les trois premiers marqueurs sont portés par le chromosome 11 tandis que le dernier se situe au niveau du chromosome sexuel X.
Les résultats pour les deux parents ne montraient que des marqueurs bi-alléliques.

Sont présentés dans le tableau XXVII les résultats de génotypage pour le test du sarcome histiocytaire obtenus pour deux des cinq chiots de la portée de Philibert (Ryder et Romano). Aucune donnée n'a pu être obtenue pour les trois autres chiots.

Tableau XXVII : Résultats obtenus pour le test du sarcome histiocytaire chez Philibert et ses deux chiots Romano et Ryder

Marqueurs SNP	Localisations chromosomiques	Philibert	Romano	Ryder
SH110	Chromosome 2	CC	*	*
SH111	Chromosome 5	AG	AG	AG
SH112	Chromosome 5	TC	TC	TC
SH113	Chromosome 11	**GGA**	AG	AG
SH114	Chromosome 11	**TTC**	TC	TC
SH115	Chromosome 11	**TTC**	TC	TC
SH116	Chromosome 14	AT	*	*
SH117	Chromosome 14	AG	GG	AG
SH118	Chromosome 14	AG	AA	AG
SH119	Chromosome X	**CCT**	*	*

Les étoiles signifient que les résultats n'ont pas pu être obtenus.
Les éléments de couleur rouge correspondent aux anomalies et particularités notables.

Ryder et Romano ne présentaient pas de particularité pour les quatre marqueurs ayant montré un tri-allélisme chez Philibert.

6. Données d'ascendance et de descendance pour les chats écaille de tortue et dilués

a. Mâle écaille de tortue Picasso

Picasso s'est révélé fertile : il a engendré 12 chatons répartis en deux portées. Le mariage avec Rimelle, femelle Maine Coon écaille de tortue noire et rousse (silver et tabby), a donné cinq chatons (figure 45). Le mariage avec Pénélope, femelle Maine Coon rousse, a donné sept chatons (figure 46).
Les deux tableaux XXVIII et XXIX présentent les phénotypes et les génotypes des chatons issus des deux croisements de Picasso avec Rimelle et Pénélope, pour le locus *Orange*.

Tableau XXVIII : Phénotypes et génotypes de la portée de chatons entre Picasso et Rimelle

	Couleur de base des pigments	Génotype
Femelle Rimelle	Ecaille de tortue	XO/Xo
Chaton ♀ b1	Ecaille de tortue	**XO**/Xo ou XO/**Xo**
Chaton ♀ b2	Roux	XO/**XO**
Chaton ♂ b3	Noir	Xo/**Y**
Chaton ♂ b4	Noir	Xo/**Y**
Chaton ♂ b5	Noir	Xo/**Y**

En gras sont représentés les chromosomes sexuels transmis par Picasso lors de ce mariage
Remarque : seules les couleurs de base de l'eumélanine et de la phéomélanine ont été indiquées.

Nous avons remarqué que Picasso avait transmis son Y à ses fils et un chromosome XO à sa fille rousse. Pour l'autre fille écaille de tortue, l'origine des chromosomes X n'a pas pu être tranchée entre père et mère car la mère était écaille de tortue.

Tableau XXIX : Phénotypes et génotypes de la portée de chatons entre Picasso et Pénélope

	Couleur de base des pigments	Génotype
Femelle Pénélope	Roux	XO/XO
♀ Chatons (x5)	Roux	XO/**XO**
♂ Chatons (x2)	Roux	XO/**Y**

En gras sont représentés les chromosomes sexuels transmis par Picasso lors de ce mariage
Remarque : seules les couleurs de base de l'eumélanine et de la phéomélanine ont été indiquées.

Nous avons remarqué que Picasso avait transmis son Y à ses fils et un chromosome XO à ses filles rousses. Aucune fille écaille de tortue n'était née de ce mariage.

b. Mâle bleu et noir Narnia

Narnia s'est avéré être fertile et a engendré de nombreuses portées.

Son mariage avec Jaïka, femelle British shorthair de robe cannelle (non diluée), a donné deux chatons, Ozanna et Orphée, également de couleur cannelle, donc non diluées (figure 58). Ozanna a eu à son tour plusieurs portées, dont une comportant trois chatons : deux mâles de robe cannelle (non diluée) et une femelle faon (robe diluée, figure 59). La présence d'un chaton au phénotype dilué au sein de cette portée permet d'affirmer qu'Ozanna était porteuse de l'allèle récessif *d* pour le locus de la dilution (génotype *D/d*).
Le tableau XXX résume la couleur de base de la robe ainsi les génotypes pour le locus *dilution* chez Jaïka et ses deux filles Orphée et Ozanna.

Tableau XXX : Phénotypes et génotypes de Narnia, Jaïka et leurs chatons pour la dilution

	Couleur de base des pigments	**Génotype**
Mâle Narnia	Noir, bleu (et blanc)	Présence des allèles *D* et *d*
Femelle Jaïka	Cannelle	*D/-*
Ozanna	Cannelle	*D/d*
Orphée	Cannelle	*D/-*

Le tiret indique que l'allèle de dilution ne peut pas être déterminé : allèle *D* ou *d*.

L'origine de l'allèle *d* d'Ozanna n'a pas pu être déterminée. Elle a pu hériter cet allèle de sa mère Jaïka ou de son père Narnia.

La deuxième portée de Narnia a été obtenue lors de son mariage avec Bella, femelle British shorthair écaille de tortue bleue et crème (figure 60). La portée était constituée de deux chatons à la robe unie bleue (diluée), une femelle et un mâle ; d'une femelle tricolore (non diluée) et d'un mâle noir et blanc (non dilué).
La couleur ainsi que les génotypes des chatons issus du mariage de Narnia et Bella pour le locus *Dilution* sont présentés dans le tableau XXXI.

Tableau XXXI : Phénotypes et génotypes, pour la dilution, des chatons issus de Narnia et Bella

	Couleur de base des pigments	**Génotype**
Mâle Narnia	Noir, bleu (et blanc)	Présence des allèles *D* et *d*
Femelle Bella	Ecaille bleue et crème	*d*/*d*
Chaton ♀ b1	Bleue	***d***/*d*
Chaton ♀ b2	Tricolore	***D***/*d*
Chaton ♂ b3	Bleu	***d***/*d*
Chaton ♂ b4	Noir (et blanc)	***D***/*d*

Le tiret indique que l'allèle de dilution ne peut pas être déterminé : allèle *D* ou *d*.
En gras sont représentés les allèles de dilution transmis par Narnia lors de ce mariage

La mère, Bella, était diluée. Elle avait transmis un allèle *d* à tous ses chatons. L'autre allèle *d* de la fille bleue et du fils bleu provenaient de Narnia. L'allèle non dilué *D* de la fille tricolore et du fils noir et blanc provenaient de Narnia. Narnia avait donc transmis deux allèles à sa descendance : *D* et *d*.

IV) Discussion

1. Cas des chats mâles à la robe écaille de tortue ou tricolore

D'après la littérature scientifique, les hypothèses possibles pour expliquer l'origine de la robe écaille de tortue chez des chats mâles sont :

- un syndrome de Klinefelter : caryotype 39 XXY (Moran *et al.,* 1984) ;
- un mosaïcisme chromosomique : par exemple un caryotype 38 XY / 38 XY ou 38 XY / 38 XX ou encore 38 XY / 39 XXY ou 38 XY / 57 XXY (Moran *et al.,* 1984) ;
- ce mosaïcisme pourrait être issu d'un chimérisme complet : fusion de deux embryons roux et noir *in utero* ou dispermie (Jaraud *et al.,* 2020 ; Bugno-Poniewierska *et al.,* 2020) ;
- un mosaïcisme d'un unique locus survenu après une mutation de réversion sur le locus *Orange* : une réversion dans une cellule embryonnaire, de Xo vers XO, ou de XO vers Xo, pourrait expliquer la présence de plages rousses et noires à l'âge adulte chez un chat mâle (hypothèse : aucune preuve n'a été publiée dans la littérature scientifique à notre connaissance) ;
- un micro-chimérisme, résultant en une transmission d'un petit nombre de cellules portant l'allèle Xo ou XO au cours du développement embryonnaire, d'un embryon à l'autre (hypothèse : aucune preuve n'a été publiée dans la littérature scientifique à notre connaissance).

Pour rappel, plus de deux allèles ont été mis en évidence pour plusieurs marqueurs chez les chats mâles **Picasso, Persan, Peter et Spritz**, qui présentaient une robe écaille de tortue.
L'analyse caryotypique de **Picasso** n'ayant montré aucune anomalie, nous avons pu écarter l'hypothèse d'un syndrome de Klinefelter (trisomie des chromosomes sexuels) pour cet individu. De plus, il possédait six marqueurs microsatellites situés sur différents chromosomes ayant une discordance de profil entre les différents prélèvements ou plus de deux allèles. Ce mâle était fertile et avait une descendance. L'hypothèse d'un mosaïcisme chromosomique de type 38 XY / 38 XY était la plus probable ou moins probablement d'un mosaïcisme de type 38 XY / 38 XX, 38 XY / 39 XXY ou 38 XY / 57 XXY (fertilité peu probable, Moran *et al.,* 1984). L'hypothèse de plusieurs mutations à plusieurs locus a pu être écartée du fait du nombre de marqueurs concernés.
Aucune donnée de caryotype n'ayant été disponible pour le **Persan, Peter et Spritz**, la trisomie XXY n'a pas pu être écartée dans leurs cas. Cependant, ces trois mâles possédaient plusieurs marqueurs, situés sur des chromosomes différents, avec des incompatibilités entre les différents prélèvements ou plus de deux allèles :
- sept marqueurs pour le Persan ;
- cinq marqueurs pour Spritz ;
- quatre marqueurs pour Peter.

Par conséquent, il était là aussi peu probable que plusieurs mutations soient survenues sur plusieurs locus indépendants pour chaque individu. Ces trois mâles étaient donc très probablement des mosaïques chromosomiques, tout comme Picasso. Cependant, dans leurs

cas, le type de mosaïcisme n'a pas pu être précisé, leur fertilité n'ayant pas pu être documentée. Seule l'analyse histologique des testicules de Peter pourrait nous orienter vers une probable stérilité ou hypo-fertilité, et donc l'exclusion d'un mosaïcisme de type 38 XY /38 XY car il avait été noté sur son compte rendu d'analyse une hypoplasie partielle du tissu testiculaire.
L'hypothèse d'un mosaïcisme chromosomique étant la plus probable pour Picasso, le Persan, Peter et Spritz, s'est alors posé la question de l'origine de ce mosaïcisme : mosaïcisme vrai (individu issu d'un unique zygote) ou mosaïcisme issu de chimérisme (individu issu de plusieurs zygotes).
Deux cas de chimérisme félin ont été publiés dans la littérature scientifique, notamment celui d'Harmonie des Persans de Rose, comme décrit dans la partie bibliographique de ce manuscrit. Si le pelage d'Harmonie différait complètement de celui de Picasso par sa couleur noire, bleue et blanche ; les résultats obtenus pour son caryotype (normal) ainsi que pour son profil ADN (plusieurs allèles pour sept marqueurs localisés sur des chromosomes différents) étaient assez similaires de ceux rapportés chez Picasso. De plus, elle était fertile, tout comme Picasso. Dans le cas d'Harmonie, les auteurs ont conclu à un cas de chimérisme en écartant les autres hypothèses (Jaraud *et al.,* 2020). **L'hypothèse d'un mosaïcisme dû à un chimérisme** (fusion de deux embryons mâles roux et noir *in utero* ou dispermie) **semblait donc probable dans le cas de Picasso**. Notons que l'analyse de la descendance de Picasso a montré qu'il transmettait un chromosome Y, un chromosome XO sans que l'on puisse savoir s'il transmettait un chromosome Xo (tableaux XXX et XXXI). Nous n'avons donc pas pu déterminer si le chimérisme probable de Picasso concernait aussi ses cellules germinales.
Pour le Persan, Peter et Spritz, les données dont nous disposions (aucune information sur leur fertilité notamment) **n'ont pas permis de trancher entre mosaïcisme vrai ou mosaïcisme issu de chimérisme**.

L'étude du cas de **Tweety** a montré la présence de deux allèles pour chaque marqueur microsatellite étudié, mais des allèles différents pour deux marqueurs, entre le frottis buccal et les trois autres prélèvements : sang, poils noirs, poils roux.
Aucun caryotype n'ayant été réalisé, nous n'avons pas pu écarter l'hypothèse d'une trisomie des chromosomes sexuel (syndrome de Klinefelter XXY).
De plus, il s'agissait uniquement du profil ADN du frottis buccal qui divergeait des autres. Il est possible que le chat ait léché un congénère peu avant la réalisation de ce frottis et que son prélèvement ait été contaminé. Avant toute formulation d'hypothèses, **la réalisation de nouveaux prélèvements nous a semblée indispensable**, ainsi qu'une analyse caryotypique.

Les empreintes génétiques réalisées chez **Sonate, le mâle bleu-crème et Pio** nous ont permis d'**écarter un mosaïcisme chromosomique** pour expliquer la couleur écaille de tortue chez ces individus, puisque deux allèles ont été identifiés pour l'ensemble des marqueurs microsatellites testés et qu'ils concordaient pour les différents prélèvements effectués.
Par conséquent, l'hypothèse la plus probable pour expliquer la robe du **mâle bleu-crème**, qui était caractérisée par une répartition des plages crèmes et bleues identique à celle observée chez certaines femelles écaille de tortue, était une **trisomie des chromosomes sexuels (XXY), qui devra être explorée par la réalisation d'un caryotype**.
Pour **Pio**, qui présentait une unique tache noire dans une robe rousse, l'hypothèse d'une **mutation de réversion** de l'allèle XO vers Xo au sein d'une cellule qui aurait donné un clone de cellules pigmentaires exprimant l'allèle Xo au niveau cutané, nous a semblée la plus

probable. Etant donné que le gène responsable de la couleur rousse au locus *Orange* n'est pas connu à ce jour, il toujours impossible de le séquencer pour vérifier avec certitude l'hypothèse d'une mutation de réversion. Lorsque ce gène sera identifié, le séquençage de l'ADN issu de poils noirs et de poils roux de Pio pourra permettre de tester cette hypothèse.
Concernant **Sonate**, sa robe caractérisée par une répartition des plages rousses et noires identique à celle observée chez certaines femelles écaille de tortue, son caryotype normal, et l'absence de toute anomalie sur ses profils ADN, ont rendu son cas particulièrement intriguant. Nous avons pu formuler l'hypothèse d'une **mutation de réversion** de l'allèle de XO vers Xo ou Xo vers XO **au niveau de l'embryon précoce**, ayant engendré deux populations de cellules pigmentaires exprimant le roux et le noir. **D'autres hypothèses sont également envisageables** : micro-chimérisme, translocation du locus *Orange* sur un autosome par exemple.
Notons que Moran et son équipe ont également rapporté un cas probable de mutation de réversion chez le chat appelé *Lenora Lia Josef*, mâle présentant une robe écaille avec une minorité de poils roux dans son pelage. L'analyse de son caryotype n'avait pas montré d'anomalie. L'étude de son ascendance et de sa progéniture ont conduit les auteurs à écarter toutes les hypothèses et à conserver celle d'une mutation de réversion ayant généré localement des plages de couleur rousse dans son pelage (Moran *et al.,* 1984).
De plus, nous pouvons également citer le cas d'Haslan, chat mâle de race Maine coon à la robe crème, présentant un spot de couleur bleue au niveau du dos, étudié par Ambre Jaraud-Darnault. Comme Pio et Sonate, Haslan présentait deux allèles pour chaque marqueur sur son identification génétique. De plus, les résultats étaient similaires entre les différents prélèvements (racines de poils et cellules buccales). Dans son cas, l'auteure a aussi privilégié l'hypothèse d'une mutation de réversion pour expliquer cette tâche de couleur.

Les résultats seuls de la brossette buccale réalisée chez **Norman** ne nous ont pas permis pas de conclure quant à l'origine de sa robe eumélanique et blanche présentant une tâche phéomélanique ou rousse. Malgré plusieurs relances, les propriétaires n'ont pas souhaité pousser les investigations. Une **analyse phénotypique du pelage** de Norman nous a semblé le préliminaire indispensable avant de réaliser d'autres analyses moléculaires, sa tâche crème sur le dos étant caractérisée par un pigment non déterminé : présence d'un résidu de phéomélanine chez un chat silver (la mutation *Silver, I,* inhibant l'expression de la phéomélanine) ou poils réellement roux.

L'hypothèse la plus probable que nous avons retenue pour chacun des cas, et les analyses complémentaires restant à effectuer, sont présentées en synthèse dans le tableau XXXII.

Tableau XXXII : Résumé des hypothèses retenues et des analyses restant à effectuer chez les chats mâles écaille de tortue

Chat	Hypothèse retenue	Analyses restant à effectuer
Picasso	Mosaïcisme chromosomique issu de chimérisme	Etude de la descendance (chimérisme germinal ?)
Persan	Mosaïcisme chromosomique	*Etude de la fertilité manquante pour conclure*
Peter	Mosaïcisme chromosomique	
Spritz	Mosaïcisme chromosomique	
Tweety	Aucune	Caryotype, nouveaux prélèvements buccaux
Mâle bleu-crème	Trisomie XXY	Caryotype
Sonate	Mutation de réversion	*Séquençage du locus Orange impossible*
Pio	Mutation de réversion	Caryotype
Norman	Aucune	Analyse phénotypique des poils

Les données en italiques correspondent aux analyses impossibles à effectuer à ce jour.

2. Cas des chats au pelage bleu, noir et blanc

Nous avons retenu deux hypothèses pouvant expliquer la présence d'un spot de couleur noire chez le **chat européen bleu et blanc** :

- un mosaïcisme suite à une mutation de réversion au niveau du gène de la dilution ;
- un micro-chimérisme.

Les résultats des empreintes génétiques n'ont pas montré d'anomalie, avec la présence de deux allèles pour chacun des marqueurs microsatellites.
Les prélèvements de cellules buccales et de poils ont donné des résultats ADN identiques. Il semblait donc qu'une seule population cellulaire soit présente dans les différents prélèvements. Tous ces arguments n'étaient donc pas en faveur d'un mosaïcisme chromosomique. Pour conclure, un **mosaïcisme somatique portant sur le locus *Dilution*** nous a semblé l'hypothèse la plus vraisemblable pour expliquer la couleur noire localisée sur la face interne de la cuisse du chat sans nom. Plus précisément, nous avons pu supposer qu'un évènement rare à l'origine d'une réversion de l'allèle *d* vers *D* s'était produit dans un nombre limité de cellules (ou une seule cellule ayant engendré un clone) au cours du développement embryonnaire, comme illustré sur la figure 65.

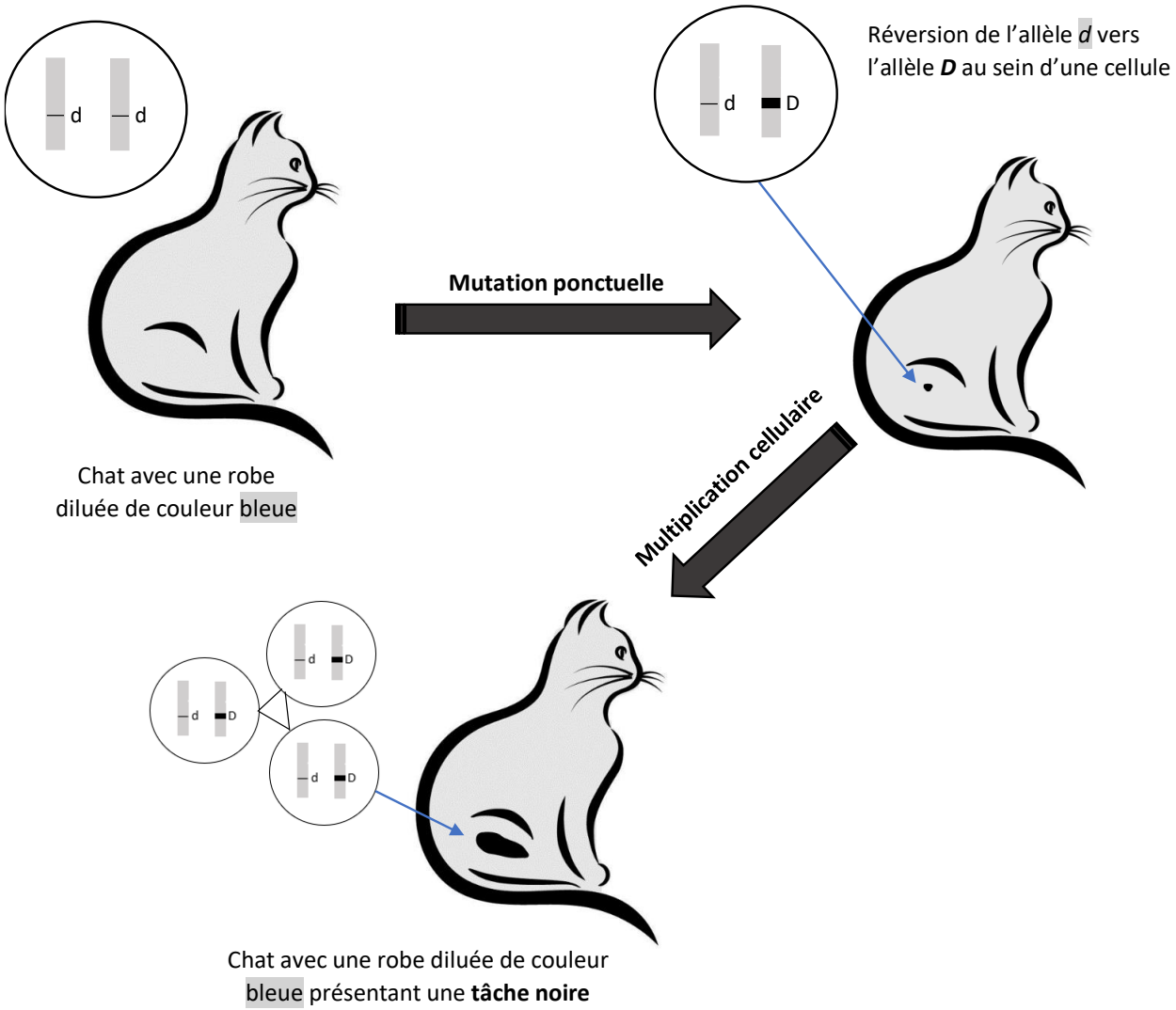


Figure 65 : Mosaïcisme somatique par mutation du locus *Dilution* chez le chat bleu et blanc
(Dessin Personnel)
Ce schéma montre comment une mutation ponctuelle au sein d'une cellule peut expliquer un phénotype inhabituel chez un chat, en reprenant le cas du chat européen bleu et blanc étudié dans notre manuscrit.

Le séquençage du gène responsable de la dilution (gène *MLPH : melanophilin*), à partir de poils (ou mieux, d'une biopsie cutanée) dans la zone noire, et dans la zone bleue, pourrait apporter un élément de réponse concernant de l'existence de cette mutation de réversion chez le chat bleu et blanc.

Les résultats obtenus pour **Narnia** ont révélé l'existence de trois allèles pour deux marqueurs (FCA201 et FCA310) sur le prélèvement des poils noirs uniquement. Les poils noirs contenaient donc des cellules génétiquement différentes des poils bleus et des autres types cellulaires explorés (lignée blanche du sang et cellules épithéliales buccales).
Etant donné l'absence d'anomalies sur les autres prélèvements, l'hypothèse d'un mosaïcisme chromosomique complet semblait peu probable. De plus, la localisation de ce tri-allélisme sur deux chromosomes différents rendait également peu plausible la possibilité de mutations de réversion sur deux locus indépendants. Cependant, l'analyse de la descendance de Narnia a montré qu'il transmettait aussi bien un allèle *D* qu'un allèle *d* à ses chatons (tableau XXXI).

Le génotypage ultérieur de Narnia pour la dilution a montré qu'il était hétérozygote *D/d* (génotypage à partir de sang ; données personnelles communiquées ultérieurement par le Dr Abitbol). Il était donc génétiquement noir et la tache bleue constituait sa particularité, contrairement au cas précédent du chat sans nom qui était majoritairement bleu, avec une tache noire.
L'hypothèse d'un micro-chimérisme caractérisé par le transfert tardif de quelques cellules homozygotes pour la dilution nous a semblé improbable, compte tenu du fait que seules les cellules des poils noirs présentaient un profil différent des autres types cellulaires, et non les cellules des poils bleus. De **nouvelles analyses**, à partir de nouveaux prélèvements de poils réalisés dans les zones bleue, noire et blanche seront prochainement réalisés, afin de refaire des profils ADN et tenter de percer le mystère de la robe de Narnia.

3. Cas de Kodak, chat écaille de tortue à poils courts présentant une touffe de poils longs

Les empreintes génétiques de Kodak étaient caractérisées par la présence de deux allèles pour tous les marqueurs étudiés. De plus, les données correspondaient entre les différents prélèvements effectués. Il n'était donc très peu probable que Kodak soit une mosaïque chromosomique.
Un **micro-chimérisme** nous a semblé une **hypothèse plausible** pour expliquer la particularité phénotypique de ce chat. Nous avons pu supposer que des cellules de génotype *l/l* et XO/Y avaient été transmises au fœtus de Kodak (qui aurait alors été *L/-* et Xo/Y).
Aucun cas similaire à celui de Kodak n'a été rapporté dans la littérature scientifique.
Il aurait été intéressant de réaliser un séquençage du gène gouvernant la longueur du poil chez Kodak afin de déterminer le génotype, pour le locus *L* (gène *FGF5 : fibroblast growth factor*) des cellules des poils courts et des poils longs, mais aussi des cellules de poils noirs et de poils roux.

4. Cas des jumeaux Azawahk supposés, Keita et Issaka

L'identité parfaite des résultats de Keïta et Issaka a confirmé qu'il s'agissait de deux **jumeaux monozygotes**.
Nous avons pu faire une analogie entre le cas de nos jumeaux Azawakh et celui des jumeaux Lévrier Irlandais publié par Joonè et son équipe, pour lesquels une identité parfaite des allèles avait également été mise en évidence suite au génotypage de plusieurs marqueurs (Joonè *et al.,* 2016).

5. Cas de Philibert, le mâle Bouvier Bernois

Les résultats obtenus pour Philibert ont montré la présence de trois allèles pour deux marqueurs sur son empreinte génétique (marqueurs AHT137 et REN247M23) ainsi que pour quatre marqueurs testés pour le sarcome histiocytaire (marqueurs SH113, SH114, SH115 et SH119). Le tableau XXXIII présente la localisation chromosomique de ces marqueurs :

Tableau XXXIII : Localisations chromosomiques des marqueurs avec un tri-allélisme chez Philibert

Marqueurs présentant un tri-allélisme	Localisation chromosomique
AHT137	Chromosome CFA11
REN247M23	Chromosome CFA15
SH113	Chromosome CFA11
SH114	Chromosome CFA11
SH115	Chromosome CFA11
SH119	Chromosome X

Quatre des six marqueurs présentant trois allèles étaient localisés sur le chromosome 11 (CFA11). Aucun caryotype n'ayant été réalisé pour Philibert, **l'hypothèse d'un mosaïcisme chromosomique, restait possible**. Même sans caryotype pour le confirmer, l'hypothèse d'une trisomie du chromosome 11 était peu probable, aucun phénotype particulier n'ayant été observé chez Philibert, qui était en parfaite santé. De plus, la présence de trois allèles pour un marqueur du chromosome 15 et du chromosome X, était en faveur d'un mosaïcisme chromosomique.

Le mosaïcisme de Philibert était-il germinal ?

L'analyse des génotypes de deux des descendants de Philibert, Ryder et Romano, semblait montrer que Philibert ne transmettait pas ses trois allèles pour les marqueurs tri-alléliques. Toutefois, plusieurs marqueurs n'avaient pas pu être analysés et il aurait été intéressant de pouvoir réaliser le génotypage de l'ensemble de la portée. Il nous manquait donc des informations pour pouvoir répondre avec précision à cette question.

6. Comment identifier des individus génétiquement uniques en pratique vétérinaire courante ?

Les questions abordées en introduction de ce manuscrit portaient sur l'identification d'indices évocateurs d'une anomalie génétique chez le chat et le chien et sur la façon dont des outils de génétique moléculaire disponibles en routine permettent d'étudier ces particularités, et de conclure quant à leur origine.

L'arbre de décision présenté sur la figure 66 résume la conduite à tenir face à une suspicion d'anomalie ou particularité génétique, en prenant l'exemple du chat domestique.

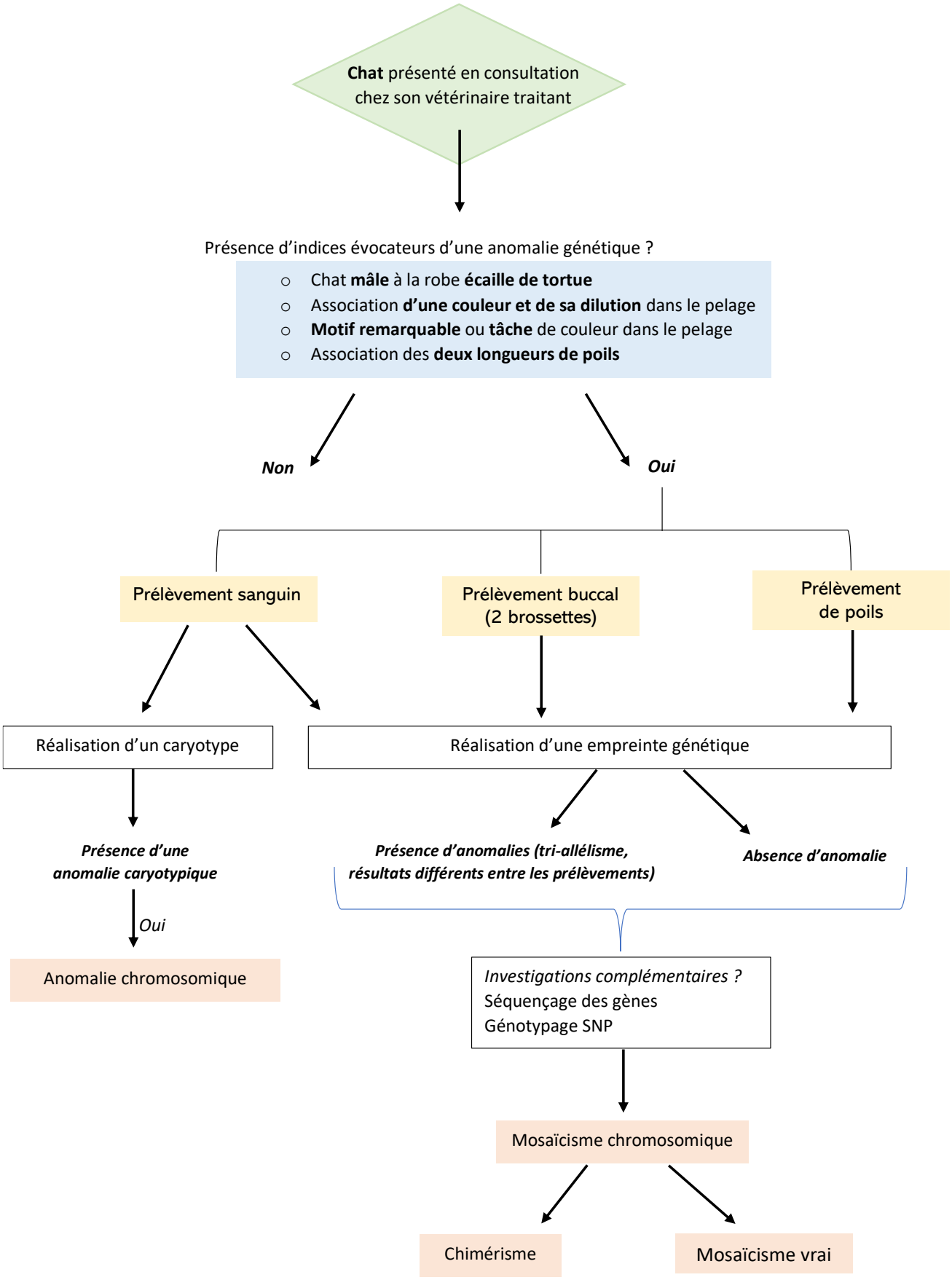


Figure 66 : Arbre de décision pour identifier une anomalie génétique suite à l'observation d'une particularité de pelage chez le chat domestique

(Dessin Personnel)

Le schéma ci-dessus reprend la marche à suivre lorsque l'on suspecte une anomalie génétique chez un chat amené en consultation chez son vétérinaire.

- ***Comment et où envoyer les prélèvements ?***

Le prélèvement sanguin effectué en vue de réaliser un **caryotype** doit être envoyé à la Plateforme de Cytogénétique de l'École nationale vétérinaire de Toulouse. Attention à **bien respecter les consignes de prélèvement et d'envoi** du prélèvement sanguin (annexe 4).

Plusieurs laboratoires en France sont susceptibles de réaliser les **profils ADN** à partir des prélèvements buccaux, sanguins ou de poils, **par exemple** :

- le laboratoire Antagene (La-Tour-de-Salvagny, www.antagene.com)
- le Laboratoire Genindexe (Loudéac, www.genindexe.com)
- le laboratoire Genimal (Virigneux, www.genimal.com)

Il est nécessaire de se renseigner au préalable auprès du laboratoire choisi en cas d'envoi de prélèvement autre qu'un frottis buccal.

Notons également que les écoles vétérinaires d'Alfort (EnvA) et de Lyon (VetAgro Sup) disposent d'un service de Conseil en Génétique canine et féline :
EnvA : Dr Lucie Chevallier
VetAgro Sup : Pr Marie Abitbol

CONCLUSION

L'objectif de cette thèse était d'étudier comment des outils de génétique moléculaire utilisés en routine par les laboratoires de génétique animale, pourraient permettre d'identifier des individus portant des particularités génétiques au sein des espèces canine et féline, et de tenter de comprendre l'étiologie moléculaire de ces particularités.

A travers les cas de 12 chats et de trois chiens, dont certains présentaient des phénotypes atypiques et remarquables, nous avons tenté d'appréhender si ces individus étaient porteurs d'une particularité ou "anomalie" génétique, grâce à la réalisation de cartes d'identification génétique (profils ADN) et de caryotypes, mais aussi grâce à un génotypage pour des caractères d'intérêts.

Notre travail de thèse portait sur les cas de neuf chats mâles présentant une robe écaille de tortue, deux chats à la robe noire et bleue, un chat à poils courts possédant une touffe de poils longs ; ainsi que sur deux chiots présumés jumeaux de race Azawakh et un chien bouvier Bernois au résultat de test ADN surprenant pour le sarcome histiocytaire.

Grâce à la réalisation d'un caryotype et d'un profil ADN, nous avons pu montrer que l'un des chats mâles écaille de tortue était une mosaïque, probablement issue de chimérisme, et probablement complète.

Pour trois autres chats mâles écaille de tortue nous avons conclu à un très probablement mosaïcisme chromosomique, sans pouvoir trancher entre chimérisme ou mosaïcisme vrai.

Pour trois autres chats écaille de tortue, nous avons fait des hypothèses, mais le caryotypage reste avant tout indispensable pour trancher en faveur d'une hypothèse ou d'une autre.

Pour deux mâles écaille nous n'avons pas pu conclure, faute de prélèvements suffisants. Pour le dernier mâle écaille nous avons conclu à une mutation de réversion probable, ayant écarté les hypothèses d'anomalie chromosomique et de mosaïcisme chromosomique.

L'analyse des résultats d'un des deux chats noirs et bleus nous a orienté vers l'hypothèse d'une mutation somatique de réversion. Pour le deuxième chat noir et bleu, des analyses complémentaires sont nécessaires pour explorer plus en détails son cas.

Nous avons pu mettre en évidence l'origine monozygotique des deux chiots supposés jumeaux, grâce au génotypage d'un large ensemble de marqueurs, parfaitement identiques chez les deux chiens Azawakh.

Enfin, nous avons mis en évidence la présence de trois allèles pour des marqueurs préférentiellement situés sur un même chromosome, chez le chien bouvier Bernois. Plusieurs hypothèses restent possibles pour expliquer ce cas qui devra être exploré plus en profondeur pour tenter d'en percer le mystère.

Pour conclure, notre travail a montré comment des outils de cytogénétique et de génétique moléculaire actuellement disponibles (réalisation de caryotypes, identification génétique, génotypage) peuvent permettre d'identifier des individus porteurs de particularités génétiques chez le chat et le chien, et de quelle manière rechercher ces particularités et interpréter les résultats.

Les phénotypes atypiques, comme les couleurs de robe notamment, ne sont pas les seuls critères d'alerte pour rechercher un mosaïcisme ou un chimérisme. Dans sa pratique quotidienne, le vétérinaire peut ainsi être amené à découvrir des individus singuliers génétiquement. Les conseils et explications qu'il pourra prodiguer aux propriétaires de ces animaux seront bienvenus, d'autant plus si ces individus sont destinés à la reproduction.

BIBLIOGRAPHIE

ABITBOL M., (2012). Génétique de la couleur et de la texture du pelage chez le chat domestique. *Bulletin de l'Académie Vétérinaire de France*., Vol(165), no.3, pp. 205-214.

ALBANO L., RAK J. M., AZZOUZ D. F., CASSUTO-VIGUIER E., GUGENHEIM J. et LAMBERT N. C., (2012). Chimerism in women with end stage renal diseases: Who's who? *Chimerism*., Vol(3), no.2, pp. 48-50.

ALIZADEH M., BERNARD M., DANIC B., DAURIAC C., BIREBENT B., LAPART C., et *al*., (2002). Quantitative assessment of hematopoietic chimerism after bone marrow transplantation by real-time quantitative polymerase chain reaction. *Blood*., Vol(99), no.12, pp. 4618-4625.

ALIZADEH M., BOURHIS J., DUBOIS V., ETANCELIN P., FARCHI O., FERRAND O., *et al.*, (2017). Etude du chimérisme après allogreffe de cellules souches hématopoïétiques : Recommandations de la Société francophone de greffe de moelle et de thérapie cellulaire (SEGM-TC). [en ligne]. *EM Consulte*. Vol(106), no.1S, pp. 6.
Disponible sur : https://www.em-consulte.com/revue/bulcan [Consulté le 19 mai 2022]

AUER L., BELL K. et COATES S., (1982). Blood transfusion reactions in the cat. *Journal of the American Veterinary Medical Association*., Vol(180), no.7, pp. 729-730.

BALOGH O., BERGER A., PIEŃKOWSKA-SCHELLING A., WILLMITZER F., GREST P., JANETT F., *et al.*, (2015). 37,X/38,XY Mosaicism in a Cryptorchid Bengal Cat with Müllerian Duct Remnants. *Sexual Development: Genetics, Molecular Biology, Evolution, Endocrinology, Embryology, and Pathology of Sex Determination and Differentiation*., Vol(9), no.6, pp. 327-332.

BANQUY G., (2013). La génétique des couleurs de robe du chien. [en ligne].
Disponible sur : https://studylibfr.com/doc/8481724. [Consulté le 13 mai 2022]

BIANCHI D. W., (2007). Robert E. Fetomaternal cell trafficking: a story that begins with prenatal diagnosis and may end with stem cell therapy. *Journal of Pediatric Surgery*., Vol(42), no.1, pp. 12-18.

BINVEL M., ARSENAULT J., DEPRÉ B. et BLAIS M. C., (2021). Identification of 5 novel feline erythrocyte antigens based on the presence of naturally occurring alloantibodies. *Journal of Veterinary Internal Medicine*., Vol(35), no.1, pp. 234-244.

BLOCH Evan M., JACKMAN R. P., LEE T. et BUSCH M. P., (2013). Transfusion-associated microchimerism : the hybrid within. *Transfusion Medicine Reviews*., Vol(27), no.1, pp. 10-20.

BRANCALION L., HAASE B., WADE C. M., (2022). Canine coat pigmentation genetics: a review. *Anim Genet*., Vol(53), no.1, pp. 3-34.

BREDEMEYER K. R., HARRIS A. J., LI G., ZHAO L., FOLEY N. M., ROELKE-PARKER M., *et al*., (2021). Ultracontinuous Single Haplotype Genome Assemblies for the Domestic Cat (Felis catus) and Asian Leopard Cat (Prionailurus bengalensis). *The Journal of Heredity*., Vol(112), no.2, pp. 165-173.

BRENNER M. et HEARING J. (2009). What are melanocytes really doing all day long…? *Experimental Dermatology*., Vol(18), no.9, pp. 799-819.

BROECKX B. J.G., HITTE C., COOPMAN F., VERHOEVEN G. E.C., DE KEULENAER S., DE MEESTER E., *et al.*, (2015). Improved canine exome designs, featuring ncRNAs and increased coverage of protein coding genes. *Scientific Reports*., Vol(5), pp. 12810.

BUCKLEY R. M., DAVIS B. W., BRASHEAR W. A., FARIAS F. H.G., KUROKI K., GRAVES T., *et al.*, (2020). A new domestic cat genome assembly based on long sequence reads empowers feline genomic medicine and identifies a novel gene for dwarfism. *PLoS genetics*., Vol(16), no.10, pp. e1008926.

BUGNO-PONIEWIERSKA M., KIJ B., WITARSKI W., WOJTASZEK M., RADKO A., PODBIELSKA A., et *al.*, (2020). Fertile male tortoiseshell cat with true chimerism 38,XY/38,XY. *Reproduction in Domestic Animals = Zuchthygiene*., Vol(55), no.9, pp. 1139-1144.

BYCHKOVA E., GOLUBEVA N., FILIPPOVA E., SANGINA L. et MARKOV A., (2020). A New Mutation in the MC1R Gene Leads to Unique Carnelian Color in Kurilian Bobtails. *Russian Journal of Genetics*., Vol(56), pp. 108-111.

CADIEU E., NEFF M. W., QUIGNON P., WALSH K., CHASE K., PARKER H. G., *et al.*, (2009). Coat Variation in the Domestic Dog Is Governed by Variants in Three Genes. *Science (New York, N.Y.)*., Vol(326), no.5949, pp. 150-153.

CABRERA TRUJILLO L. et ENGEL-GLATTER S., (2014). Human-Animal Chimera : A Neuro Driven Discussion? Comparison of Three Leading European Research Countries. *Science Engineering Ethics*. Vol(21), no.3., pp. 595-617.

CARINI Robert M., SINSKI J., WEBER J. D., (2020). Coat Color and Cat Outcomes in an Urban U.S. Shelter. *Animals (Basel)*., Vol(10), no.10, pp. 1720.

CENTERWALL W. R. et BENIRSCHKE K., (1973). Male tortoiseshell and calico (T-C) cats. Animal models of sex chromosome mosaics, aneuploids, polyploids, and chimerics. *The Journal of Heredity*., Vol(64), no.5, pp. 272-278.

CENTERWALL, W. R. et BENIRSCHKE K., (1975). An animal model for the XXY Klinefelter's syndrome in man: tortoiseshell and calico male cats. *American Journal of Veterinary Research*., Vol. 36, no.9, pp. 1275-1280.

CHO K. W., YOUN H. Y., WATARI T., TSUJIMOT H., HASEGAWA A. et SATOH H., (1997). A proposed nomenclature of the domestic cat karyotype. *Cytogenetics and Cell Genetics*., Vol(79), no.1-2, pp. 71-78.

COOPER M.P., FRETWELL N., BAILEY S.J. et LYONS L. A., (2006). White spotting in the domestic cat (Felis catus) maps near KIT on feline chromosome B1. *Animal Genetics*. Vol(37), no.2, pp. 163-165.

DAIN A., (1971). The incidence of freemartinism in sheep. *Journal of Reproduction and Fertility*. Vol(24), no.1, pp. 91-97.

DE BOECK. Mutation, réparation et recombinaison. In : GRIFFITHS Anthony J. F., CARROL S. B., WESSLER S. R. et DOEBLEY J., De Boeck, (2013a). *Introduction à l'analyse génétique*. Bruxelles : De Boeck Supérieur, pp. 561-597.

DE BOECK. L'Isolement et la manipulation des gènes. In : GRIFFITHS Anthony J. F., CARROL S. B., WESSLER S. R. et DOEBLEY J., De Boeck, (2013b). *Introduction à l'analyse génétique*. Bruxelles : De Boeck Supérieur, pp. 561-597.

DEL RÍO S. N., KIRKPATRICK B. W. et FRICKE P. M., (2006). Observed frequency of monozygotic twinning in Holstein dairy cattle. *Theriogenology*., Vol(66), no.5, pp. 1292-1299.

DREGER D. L. et SCHMUTZ S. M., (2012). A case of canine chimerism diagnosed using coat color tests. *Molecular and Cellular Probes*., Vol(26), no.6, pp. 253-255.

DUNSFORD I., BOWLEY C. C., HUTCHISON A. M., THOMPSON J. S., SANGER R. et RACE R. R., (1953). A human blood-group chimera. *British Medical Journal*., Vol(2), no.4827, pp. 81.

EIZIRIK E., DAVID V. A., BUCKLEY-BEASON V., ROELKE M. E., SCHÄFFER A. A., HANNAH S. S., *et al.*, (2010). Defining and Mapping Mammalian Coat Pattern Genes : Multiple Genomic Regions Implicated in Domestic Cat Stripes and Spots. *Genetics*., Vol(184), no.1, pp. 267-275.

FEHILLY C. B., WILLADSEN S. M. et TUCKER E. M., (1984). Interspecific chimaerism between sheep and goat. *Nature*., Vol(307), no.5952, pp. 634-636.

FORD C. E., (1969). Mosaics and chimaeras. *British Medical Bulletin*., Vol(25), no.1, pp. 104-109.

FUMOTO S., HOSOI K., OHNISHI H., HOSHINA H., YAN K., SAJI H. et OKA A., (2014). Chimerism of buccal membrane cells in a monochorionic dizygotic twin. *Pediatrics*., Vol(133), no.4, pp. 1097-1100.

GAMMILL H. S. et NELSON J. L., (2010). Naturally acquired microchimerism. *The International Journal of Developmental Biology*., Vol(54), no.2-3, pp. 531-543.

GARDNER R. L., (1968). Mouse chimeras obtained by the injection of cells into the blastocyst. *Nature*., Vol(220), no.5167, pp. 596-597.

GERSHONY L. C., PENEDO M. C. T., DAVIS B. W., MURPHY W. J., HELPS C. R. et LYONS L. A., (2014). Who's behind that mask and cape? The Asian leopard cat's Agouti (ASIP) allele likely affects coat colour phenotype in the Bengal cat breed. *Animal Genetics*., Vol(45), no.6, pp. 893-897.

GOVAERE J., HOOGEWIJS M., DE SCHAUWER C., VAN ZEVEREN A., SMITS K., CORNILLIE P. et DE KRUIF A., (2009). An abortion of monozygotic twins in a warmblood mare. *Reproduction in Domestic Animals = Zuchthygiene*., Vol(44), no.5, pp. 852-854.

GUNDERSON K. L., STEEMERS F. J., LEE G., MENDOZA L. G. et CHEE M. S., (2005). A genome-wide scalable SNP genotyping assay using microarray technology. *Nature Genetics*., Vol(37), no.5, pp. 549-554.

GUSTAFSON N. A., GANDOLFI B. et LYONS L. A., (2017). Not another type of potato: MC1R and the russet coloration of Burmese cats. *Animal Genetics*., Vol(48), no.1, pp. 116-120.

HALL J. G., (2003). Twinning. *Lancet (London, England)*., Vol(362), no.9385, pp. 735-743.

HOHENHAUS A. E., (2004). Importance of blood groups and blood group antibodies in companion animals. *Transfusion Medicine Reviews*., Vol(18), no.2, pp. 117-126.

HONG X., YING Y., XU X., LIU Y., CHEN Z., LAN X., *et al.*, (2013). A dispermic chimera was identified in a healthy man with mixed field agglutination reaction in ABO blood grouping and mosaic 46, XY/46, XX karyotype. *Transfusion and Apheresis Science: Official Journal of the World Apheresis Association: Official Journal of the European Society for Haemapheresis*., Vol(48), no.2, pp. 223-228.

IMES D. L., GEARY L. A., GRAHN R. A. et LYONS L. A., (2006). Albinism in the domestic cat (Felis catus) is associated with a tyrosinase (TYR) mutation. *Animal Genetics*., Vol(37), no.2, pp. 175-178.

JARAUD-DARNAULT A., (2015). *Mosaicisme et chimérisme chez le chat domestique*. ENVA : Thèse de doctorat vétérinaire, Faculté de Médecine, Créteil, p.120.

JARAUD A., BOSSE P., DUFAURE DE CITRES C., TIRET L., GACHE V., ABITBOL M., (2020). Feline chimerism revealed by DNA profiling [en ligne]. *Animal genetics*, Vol(51), no. 4., pp 631-633.
Disponible sur : https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32452546. [Consulté le 2 novembre 2021]

JOHNSTON S. D., BUOEN L. C., MADL J. E., WEBER A. F. et SMITH F. O., (1983). X-Chromosome monosomy (37,XO) in a Burmese cat with gonadal dysgenesis. *Journal of the American Veterinary Medical Association*., Vol(182), no.9, pp. 986-989.

JOONÈ C. J., DE CRAMER Kgm et NÖTHLING, J. O., (2016). The first case of genetically confirmed monozygotic twinning in the dog. *Reproduction in Domestic Animals = Zuchthygiene*., Vol(51), no.5, pp. 835-839.

JOONÈ C. J., DE CRAMER K. G. M. et NÖTHLING J. O., (2017). Dizygotic monochorionic canine fetuses with blood chimaerism and suspected freemartinism. *Reproduction, Fertility, and Development*., Vol(29), no.2, pp. 368-373.

KAELIN C. B. et BARSH G. S., (2013). Genetics of pigmentation in dogs and cats. *Annual Review of Animal Biosciences*., Vol(1), pp. 125-156.

KIRKNESS E. F., BAFNA V., HALPERN A. L., LEVY S., REMINGTON K., RUSCH D. B., *et al.*, (2003). The dog genome: survey sequencing and comparative analysis. *Science (New York, N.Y.)*., Vol(301), no.5641, pp. 1898-1903.

KÖNIG H., SCHÄRER V., KÜPFER U. et TSCHUDI P., (1983). Testicular hypoplasia (lack of spermatogonia) and left-sided epididymal aplasia in a tricolored male cat with 39/XXY karyotype. *DTW. Deutsche tierarztliche Wochenschrift*., Vol(90), no.9, pp. 341-343.

LANGFORD C. F., FISCHER P. E., BINNS M. M., HOLMES N. G. et CARTER N. P., (1996). Chromosome-specific paints from a high-resolution flow karyotype of the dog. *Chromosome Research*., Vol(4), no.2, pp. 115-123.

LE MEUR G., STIEGER K., SMITH A.J., WEBER M., DESCHAMPS J.Y., NIVARD D*., et al.* (2007). Restoration of vision in RPE65-deficient Briard dogs using an AAV serotype 4 vector that specifically targets the retinal pigmented epithelium, *Gene Therapy*., Vol(14), no.4. pp. 292-303.

LIN J. Y. et FISHER D. E., (2007). Melanocyte biology and skin pigmentation. *Nature*., Vol(445), no.7130, pp. 843-850.

LINDBLAD-TOH K., WADE C. M., MIKKELSEN T. S., KARLSSON E. K., JAFFE D. B., KAMAL M., *et al*., (2005). Genome sequence, comparative analysis and haplotype structure of the domestic dog. *Nature*., Vol(438), no.7069, pp. 803-819.

LINDGREN D., HÖGLUND M. et VALLON-CHRISTERSSON J., (2011). Genotyping techniques to address diversity in tumors. *Advances in Cancer Research*., Vol(112), pp. 151-182.

LLOYD A. T., (1987). Cats from history and history from cats. *Endeavour*., Vol(11), no.3, pp. 112-115.

LORIAUX A., BOULET S., DELORME V., ALTHUSER M., GIROUD LATHUILE C., GREGO S., *et al.*, (2011). Tetragametic chimerism: Case report. *Journal De Gynecologie, Obstetrique Et Biologie De La Reproduction*., Vol(40), no.1, pp. 77-80.

LOWSKY R. et STROBER S., (2019). Combined kidney and hematopoeitic cell transplantation to induce mixed chimerism and tolerance. *Bone Marrow Transplantation*., Vol(54), no. Suppl 2, pp. 793-797.

LYONS L. A., BAILEY S. J., BAYSAC K. C., BYRNS G., ERDMAN C. A., FRETWELL N., *et al.*, (2006). The Tabby cat locus maps to feline chromosome B1. *Animal Genetics*., Vol(4), pp. 383-386.

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

LYON M. F., (1999). X-chromosome inactivation. *Current Biology*, Vol(9), no.7, pp. 235-237.

LYON M. F., (1961). Gene action in the X-chromosome of the mouse (Mus musculus L.)., *Nature*, Vol(190), no. 22, pp. 372–373

MARCUM J. B., LASLEY J. F. et DAY B. N., (1972). Variability of sex-chromosome chimerism in cattle from heterosexual multiple births. *Cytogenetics*., Vol(11), no.5, pp. 388-399.

MARTOS-MORENO G. Á, CAMPOS C., FLORES R., YTURRIAGA R., PÉREZ-JURADO L. A. et ARGENTE J., (2013). Blood cell chimerism in dizygotic twins conceived by in vitro fertilization. *Anales De Pediatria (Barcelona, Spain: 2003)*., Vol(79), no.4, pp. 248-252.

MELISSOPOULOS A. et LEVACHER C., (1998). *La peau : Structure et physiologie*. 1ère Edition. Paris : Lavoisier, 152 p.

MENOTTI-RAYMOND M., DAVID Victor. A., ROELKE M. E., CHEN Z. Q., MENOTTI K. A., SUN S., *et al.,* (2003). Second-generation integrated genetic linkage/radiation hybrid maps of the domestic cat (Felis catus). *The Journal of Heredity*., Vol(94), no.1, pp. 95-106.

MENOTTI-RAYMOND M., DAVID V. A., EIZIRIK E., ROELKE M. E., GHAFFARI H. et O'BRIEN S. J., (2009). Mapping of the domestic cat « SILVER » coat color locus identifies a unique genomic location for silver in mammals. *The Journal of Heredity*., Vol(100), no. Suppl 1, pp. S8-13.

MERZONI J., EWALD G. M., PAZ A. A., DAUDT L. E. et JOBIM L. F. J., (2014). Quantification of mixed chimerism allows early therapeutic interventions. *Revista Brasileira De Hematologia E Hemoterapia*., Vol(36), no.5, pp. 369-372.

MONGET P. et VEITIA R. A., (2014). *Introduction à la génétique moderne*. 1ère Edition. Paris : Ecole Polytechnique EDS, 315 p.

MORAN C., GILLIES C. B. et NICHOLAS F. W., (1984). Fertile male tortoiseshell cats. Mosaicism due to gene instability? *The Journal of Heredity*., Vol(75), no.5, pp. 397-402.

MORATA TARIFA C., LÓPEZ NAVAS L., AZKONA G. et SÁNCHEZ PERNAUTE R., (2020). Chimeras for the twenty-first century. *Critical Reviews in Biotechnology*., Vol(40), no.3, pp. 283-291.

MULNARD J., (1973). Formation of chimeric blastocysts by fusion of rat and mice embryos at stage 8. *Comptes Rendus Hebdomadaires Des Séances De l'Académie Des Sciences. Série D: Sciences Naturelles*., Vol(276), no.3, pp. 379-381.

NECTOUX A., GOY-THOLLOT I., GUIDETTI M., CHAPRIER B., BOURGEOIS S., BOISVINEAU C., et al., (2018). Detection of naturally occurring alloantibody by an in-clinic antiglobulin-enhanced and standard crossmatch gel column test in non-transfused domestic shorthair cats. *Journal of Veterinary Internal Medicine (JVIM)*., Vol(33), no.3, pp 588 - 595.

NISHIMURA E. K., (2011). Melanocyte stem cells: a melanocyte reservoir in hair follicles for hair and skin pigmentation. *Pigment Cell & Melanoma Research*., Vol(24), no.3, pp. 401-410.

PADULA A. M., (2005). The freemartin syndrome: an update. *Animal Reproduction Science*., Vol(87), no.1-2, pp. 93-109.

PASSERON T., BALLOTTI R. et ORTONNE J. -P., (2005). Mélanogenèse. *EMC - Dermatologie-Cosmétologie*., Vol(2), no.4, pp. 204-216.

PEDERSEN A. S., BERG L. C., ALMSTRUP K. et THOMSEN P. D., (2014). A tortoiseshell male cat: chromosome analysis and histologic examination of the testis. *Cytogenetic and Genome Research*., Vol(142), no.2, pp. 107-111.

PETERSCHMITT M., GRAIN F., ARNAUD B., DELÉAGE G. et LAMBERT V., (2009). Mutation in the melanocortin 1 receptor is associated with amber colour in the Norwegian Forest Cat. *Animal Genetics*., Vol(40), no.4, pp. 547-552.

PONTIUS, *et al.*, (2007). Initial sequence and comparative analysis of the cat genome. *Genome Research*., Vol(17), no.11, pp. 1675-1689.

PRIAT C., HITTE C., VIGNAUX F., RENIER C., JIANG Z., JOUQUAND S., *et al.* (1998). A wholegenome radiation hybrid map of the dog genome, *Genomics*. Vol(54), no.3, pp. 361-378.

ROMAGNOLI S. et SCHLAFER D. H., (2006). Disorders of sexual differentiation in puppies and kittens: a diagnostic and clinical approach. *The Veterinary Clinics of North America. Small Animal Practice*., Vol(36), no.3, pp. 573-606.

ROSSANT J. et FRELS W. I., (1980). Interspecific chimeras in mammals: successful production of live chimeras between Mus musculus and Mus caroli. *Science (New York, N.Y.)*., Vol(208), no.4442, pp. 419-421.

SANGER F. et COULSON A. R., (1975). A rapid method for determining sequences in DNA by primed synthesis with DNA polymerase. *Journal of Molecular Biology*., Vol(94), no.3, pp. 441-448.

SANGER F., NICKLEN S. et COULSON A. R., (1977). DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*., Vol(74), no.12, pp. 5463-5467.

SCHECHTER G. P., WHANG-PENG J. et MCFARLAND W., (1977). Circulation of donor lymphocytes after blood transfusion in man. *Blood*., Vol(49), no.4, pp. 651-656.

SCHENA M., SHALON D., DAVIS R. W. et BROWN P. O., (1995). Quantitative monitoring of gene expression patterns with a complementary DNA microarray. *Science (New York, N.Y.)*., Vol(270), no.5235, pp. 467-470.

SCHMIDT-KÜNTZEL A., NELSON G., DAVID V. A., SCHÄFFER A. A., EIZIRIK E., ROELKE M. E., *et al*., (2009). A domestic cat X chromosome linkage map and the sex-linked orange locus: mapping of orange, multiple origins and epistasis over nonagouti. *Genetics*., Vol(181), no.4, pp. 1415-1425.

SCHOENLE E., SCHMID W., SCHINZEL A., MAHLER M., RITTER M., SCHENKER T., *et al*., (1983). 46,XX/46,XY chimerism in a phenotypically normal man. *Human Genetics*., Vol(64), no.1, pp. 86-89.

SEIDEL F., (1952). Die Entwicklungspotenzen einer isolierten Blastomere der Zweizellenstadiums in Saugetier EI. *Naturwissenschaften*., Vol(39), pp. 355-356.

SLACK J. M. W., (2004). *Biologie du développement*. 2ème édition. Bruxelles : De Boeck Supérieur., 482 p.

SPONENBERG D. P., BIGELOW B., (1987). An extension locus mosaic Labrador retriever dog. *Journal of Heredity.*, Vol(78), no.6, p. 406.

STERN M. S., (1973). Letter: Chimaeras obtained by aggregation of mouse eggs with rat eggs. *Nature*., Vol(243), no.5408, pp. 472-473.

STORMONT C. J., (1982). Blood groups in animals. *Journal of the American Veterinary Medical Association*., Vol(181), no.10, pp. 1120-1124.

TAGU D., JAUBERT-POSSAMAI S. et MÉREAU A., (2018). *Principes des techniques de biologie moléculaire et génomique*. 3ème Edition. Versailles : Editions Quae., 312 p.

TARKOWSKI A. K., (1961). Mouse chimaeras developed from fused eggs. *Nature*., Vol(190), pp. 857-860.

THOMSEN P. Dybdahl, BYSKOV A. G., BASSE A., (1987). Fertility in tow cats with X-chromosome mosaicism and unilateral ovarian dysgenesis. *Journal of reproduction and fertility*., Vol(80), no.1, pp. 43 - 47.

TIPU H. N. et SHABBIR A., (2015). Evolution of DNA sequencing. *Journal of the College of Physicians and Surgeons--Pakistan: JCPSP*., Vol(25), no.3, pp. 210-215.

URHAUSEN C., WOLF K., BEINEKE A., DIERKS C., SCHMICKE M., EINSPANIER A. et GÜNZEL-APEL A. R., (2017). Monochorial diamniotic dizygotic twins in a German Shepherd Dog: A case report. *Reproduction in Domestic Animals = Zuchthygiene*., Vol(52), no.1, pp. 140-143.

VOS P., HOGERS R., BLEEKER M., REIJANS M., VAN DE LEE T., HORNES M., *et al.*, (1995). AFLP: a new technique for DNA fingerprinting. *Nucleic Acids Research*., Vol(23), no.21, pp. 4407-4414.

WALLACE M. E. et WILLIAMS D. A., (1965). Monozygotic twinning in mice. *Journal of Medical Genetics*., Vol(2), no.1, pp. 26-31.

WATKINS W. M., YATES A. D., GREENWELL P., BIRD G. W., GIBSON M., ROY T. C., WINGHAM J. et LOEB W., (1981). A human dispermic chimaera first suspected from analyses of the blood group gene-specified glycosyltransferases. *Journal of Immunogenetics*., Vol(8), no.2, pp. 113-128.

WEINSTEIN N. M., BLAIS M. C., HARRIS K., OAKLEY D. A., ARONSON L. R. et GIGER U., (2007). A newly recognized blood group in domestic shorthair cats: the Mik red cell antigen. *Journal of Veterinary Internal Medicine*., Vol(21), no.2, pp. 287-292.

YU N., KRUSKALL M. S., YUNIS J. J., KNOLL J. H. M., UHL L., ALOSCO S., *et al.*, (2002). Disputed maternity leading to identification of tetragametic chimerism. *The New England Journal of Medicine*., Vol(346), no.20, pp. 1545-1552.

YU Y., GRAHN R. A. et LYONS L. A., (2019). Mocha tyrosinase variant: a new flavour of cat coat coloration. *Animal Genetics*., Vol(50), no.2, pp. 182-186.

YUNIS E. J., ZUNIGA J., ROMERO V. et YUNIS E. J., (2007). Chimerism and tetragametic chimerism in humans: implications in autoimmunity, allorecognition and tolerance. *Immunologic Research*., Vol(38), no.1-3, pp. 213-236.

ZHANG W. et SCHOENEBECK J. J., (2020). The ninth life of the cat reference genome, Felis_catus. *PLoS Genetics*., Vol(16), no.10, pp. e1009045.

Sites web :

Antagene : www.antagene.com

FACCO : www.facco.fr

Ministère de l'Agriculture et de la Souveraineté Alimentaire : https://agriculture.gouv.fr

ANNEXE 1 : Etude des marqueurs microsatellites chez des jumeaux monozygotes de race lévrier Irlandais

D'après (Joonè *et al.*, 2016)

Locus	Femelle blanche	Mâle bringé	Femelle bringée	Mâle bringé foncé	Femelle bringée foncée	Jumeau A	Jumeau B
AHT 121	104	96,104	96,104	96,104	96,104	96,104	96,104
AHT 137	131	131	131	-	131	131	131
AHTh130	129	129	129	129	129	129	129
AHTh171	219	219	219	219	219	219	219
AHTh260	244	244	244	-	244	244	244
AHTk211	91	91	91	91	91	91	91
AHTk253	288,292	288,292	288,292	288,292	288,292	288,292	288,292
AMEL	XX	XY	XX	-	XX	XY	XY
CXX279	118,122	122,124	122	122	122,124	122	122
FH2001	136,148	148	136,148	136,148	136,148	148	148
FH2054	156,172	156,172	156,172	156,172	172	172	172
FH2328	200	200,204	200	200,204	200	200	200
FH2848	-	-	-	-	-	238,242	238,242
INRA21	99,101	99,101	99,101	99,101	99,101	99,101	99,101
INU005	124,132	124,132	124,132	132	124,132	132	132
INU030	144,152	144,152	144	-	144,152	144,152	144,152
INU055	214,218	214,220	214,220	-	214,220	218,220	218,220
LEI004	95	95	95	-	95	95	95
REN105L03	231,241	231	231,241	-	231,241	231	231
REN162C04	202	202	202	202	202	202	202
REN169D01	216	216	216	-	216	216	216
REN169O18	164,168	162,164	164,168	164,168	162,164	164,168	164,168
REN247M23	268,278	268,278	278	-	268,278	278	278
REN54P11	228,236	228,240	228,236	228,236	228,240	228,240	228,240
REN64E19	147,153	145,149	145,149	145,149	149,153	145,147	145,147
SRY	-	Y	-	Y	-	Y	Y
VGLO760	21,1	21,1	21,1	21,1	21,1	21,1	21,1
VGLO910	17,1	17,1	17,1	17,1	17,1	17,1	17,1
VGLO1063							
VGLO1165	29,30	16,30	29,30	29,30	29,30	16,3	16,3
VGLO1541	18	17,18	17	17,18	18	17	17
VGLO1828	20	20,21	20	20	20,21	20,21	20,21
VGLO2009	9	9,15	9,15	9	9	15	15
VGLO2136	15	15,16	15,16	15	15	15,16	15,16
VGLO2409	19	18,19	19	18,19	19	18,19	18,19
VGLO2918	21,22	22,24	21,23	23,24	21,22	21,23	21,23
VGLO3008	12	12	12	12	12	12	12
VGLO3112	14	13	13	13	13	14	14
VGLO3235	13,16	13,16	12,13	12,13	13,16	12,13	12,13
VGLO3438	14	14,17	14,17	14	14	14,17	14,17

Les profils générés à partir des échantillons de sang et de tissus pour les jumeaux A et B étant identiques, aucune distinction entre les deux prélèvements n'a été faite pour les jumeaux.
Un tiret (-) signifie que l'amplification du locus a échoué.

ANNEXE 2 : Fiches de prélèvement et de consentement pour chien et chat

VetAgro Sup
Campus Vétérinaire de Lyon

Recherches génétiques chez le Chat

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

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

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

Identité du chat :

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

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

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

Couleur : _

Remarques éventuelles :

Nom et coordonnées postales :

Adresse électronique :

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

Lu et approuvé.

Date Signature

Nous vous remercions d'envoyer cette fiche accompagnée du pedigree et des prélèvements au :

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

VetAgro Sup
Campus Vétérinaire de Lyon

Recherches génétiques chez le Chien

Dans le cadre de recherches génétiques dans les différentes races canines, nous collectons des échantillons ADN **de chiens LOF** appartenant à toutes races.

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

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

Identité du chien:

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

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

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

Couleur : _

Remarques éventuelles :

Vos coordonnées postales :

Adresse électronique :

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

Lu et approuvé.

Date Signature

Nous vous remercions d'envoyer cette fiche accompagnée du pedigree et des prélèvements au :

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

ANNEXE 3 : Fiche du comité d'éthique de VetAgro Sup

Revue Ethique d'un Projet d'utilisation d'animaux à des fins scientifiques

Comité d'Ethique Jacques Bonnod
de VetAgro Sup n°18

Numéro Comité d'Ethique : **2210**

Titre du Projet :
«L'apport des outils de la génétique moléculaire dans l'identification et le dépistage des anomalies génétiques chez les espèces canines et félines».

Demandeur : **Morgane Canu A6**
Responsable de la mise en œuvre en conformité avec l'autorisation : Marie Abitbol

Etablissement Utilisateur : VetAgro Sup – campus vétérinaire
Date de l'avis : 03/02/2022

☒ Avis Favorable
☐ Avis Favorable sous réserve de modification de la version proposée (version 2)
☐ Avis Favorable sous condition d'apporter des réponses aux questions posées
☐ Avis Non Favorable en l'état

Commentaires :

Signature du Président :
p.o./

ANNEXE 4 : Plaquette de cytogénétique de Toulouse

Déroulement d'une analyse

Prélèvement sanguin
J0

Envoi par Chronopost

Réception des prélèvements et culture cellulaire 72h à 37°C
J1

Traitements cellulaires et étalement des cellules sur lame
J4 à J8

Analyse des lames au microscope
J8 à J9

Coloration des chromosomes au GIEMSA
J8

Etablissement du certificat
J10

Envoi des certificats aux demandeurs
J10

Conditions pour une bonne analyse

L'analyse chromosomique est une technique délicate qui nécessite une culture de cellules sanguines vivantes.

C'est pourquoi nous exigeons :

1. Un tube **hépariné** (bouchon vert)
2. Une fiche de renseignements complétée et signée par le vétérinaire qui tiendra lieu de certificat
3. Un prélèvement **stérile**, réalisé de préférence en début de semaine
4. Une expédition immédiate en **Chronopost**
5. Isoler les tubes des **températures extrêmes**.

Malgré ces précautions, d'autres facteurs que nous ne maîtrisons pas peuvent entrer en jeu, notamment :

- Le stress de l'animal
- La réponse aux agents mitogènes (indispensables à la multiplication cellulaire) est variable d'un individu à l'autre
- Le risque de contamination lors du prélèvement

En dehors des conditions citées ci-dessus, nous ne pourrons garantir la réussite de l'analyse (résultat inexploitable).

Si vous souhaitez envoyer plus de 20 échantillons, veuillez contacter le laboratoire afin de planifier vos analyses.
Les fiches de renseignements et les tubes nécessaires aux analyses peuvent vous être envoyés sur simple demande.

Pour des informations complémentaires, n'hésitez pas à nous contacter.

ENVT
Laboratoire de Cytogénétique
UMR INRA-ENVT - Génétique Cellulaire
23 chemin des Capelles
BP87614
31076 TOULOUSE Cedex 3

Tel : 05.61.19.39.53
Fax : 05.61.19.39.24
Email : labocyto@envt.fr

Bovins : recherche de la Translocation Robertsonienne 1/29

La translocation 1/29 est l'anomalie chromosomique la plus fréquente chez les bovins.
Cette anomalie, présente dès la naissance, est héréditaire.

Le bovin possède 60 chromosomes. La translocation 1/29 résulte d'une fusion entre le chromosome 1 et le chromosome 29. Cette réunion provoque une réduction du nombre de chromosomes des animaux porteurs (de 60 à 59 chromosomes). Les porteurs de la translocation 1/29 ne présentent pas d'anomalies particulières de développement et apparaissent tout à fait normaux.
Toutefois, il a été montré que cette anomalie pourrait réduire de 5 à 10 % la fertilité des animaux porteurs.

Cet effet néfaste est dû à la formation d'une certaine quantité de spermatozoïdes ou d'ovocytes anormaux (avec du matériel génétique en plus ou en moins) qui, lorsqu'ils participent à la fécondation, conduisent à une mortalité embryonnaire précoce. Cette mortalité peut se traduire par une augmentation d'environ 24 jours de l'intervalle inter-vêlage ainsi que part une légère augmentation de l'âge au premier vêlage. L'impact de cette anomalie est plus important pour la femelle que pour le mâle.

De plus, un animal porteur de la translocation 1/29 aura une chance sur deux de la transmettre à sa descendance quelque soit le sexe.
Afin d'éviter la diffusion massive de cette anomalie et ses conséquences économiques néfastes, la Commission Nationale d'Amélioration Génétique (CNAG) a adopté en 1986 un texte imposant le contrôle des jeunes taureaux destinés à l'insémination artificielle.

Sangliers : contrôle de statut chromosomique

Les élevages de sangliers font l'objet d'une réglementation particulière par un arrêté du 20 Août 2009 dont l'application est assurée par les Services Vétérinaires Départementaux.

La pureté génétique est l'une des conditions exigées pour la création d'un élevage. Le contrôle chromosomique réalisé à partir de cultures lymphocytaires est le moyen mis en œuvre au laboratoire pour contrôler cette pureté génétique. Le principe consiste à déterminer le nombre de chromosomes des individus pour distinguer les individus sangliers «purs» à 36 chromosomes, des hybrides «porcs x sangliers» à 37 ou 38 chromosomes.

Autres espèces (chevaux, chiens, chats ...)

Recherche d'anomalies chromosomiques potentiellement responsables de problèmes de reproduction

Tarifs

Pour des raisons comptables, nous exigeons de joindre le chèque de paiement à l'ordre de « l'agent comptable INRA » avec le prélèvement.
Aucun résultat ne sera délivré avant réception du règlement.

Toutefois, sachez que :
- les analyses inexploitables ne vous seront pas facturées
- le chèque ne sera encaissé qu'après émission de votre facture (délai de 2 semaines à 2 mois)

Délai d'analyse :
- 10 jours pour les bovins et les sangliers
- autres espèces = 1 mois

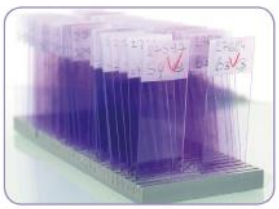
Résultats communiqués :
- par courrier obligatoirement
- par fax ou mails à votre demande

	PRIX TTC	TECHNIQUES UTILISEES
Bovins	36.06 €	Coloration conventionnelle
Sangliers	36.06 €	Coloration conventionnelle
Porcs	58.60 €	Coloration en bandes GTG
Chevaux	69.39 €	Coloration en bandes GTG, bandes C et conventionnelle
Chiens/Chats	69.39 €	Coloration en bandes GTG, bandes C et conventionnelle

UMR INRA-ENVT - Génétique Cellulaire

ANALYSE CHROMOSOMIQUE
(BOVINS, SANGLIERS ...)

LABORATOIRE DE CYTOGENETIQUE
UMR-INRA/ENVT
GENETIQUE CELLULAIRE



ANNEXE 5 : Résultats de génotypage pour Keïta et Issaka

Nom du marqueur	Type	Référence	Allèle variant	**KEITA**	**ISSAKA**
AH0JFQO	DEL	TCC	-	Absent	Absent
AH0JFQQ	SNP	T	C	Hétérozygote	Hétérozygote
AH0JFQR	SNP	A	G	Absent	Absent
AH0JFQS	SNP	G	A	Absent	Absent
AH0JFQT	SNP	G	C	Hétérozygote	Hétérozygote
AH1SDW0	SNP	G	C	Hétérozygote	Hétérozygote
AH1SDW1	SNP	T	C	Absent	Absent
AH1SDWZ	SNP	A	G	Absent	Absent
AH21B26	SNP	G	A	Hétérozygote	Hétérozygote
AH21B29	SNP	G	A	Hétérozygote	Hétérozygote
AH3999C	SNP	T	G	Absent	Absent
AH3999E	SNP	A	G	Hétérozygote	Hétérozygote
AH3999F	SNP	G	A	Homozygote	Homozygote
AH3999G	SNP	T	C	Hétérozygote	Hétérozygote
AH3999H	SNP	C	T	Hétérozygote	Hétérozygote
AH5I8FN	SNP	G	A	Absent	Absent
AH5I8FO	SNP	C	T	Homozygote	Homozygote
AH5I8FP	SNP	A	G	Homozygote	Homozygote
AH6R6LW	SNP	C	T	Homozygote	Homozygote
AH6R6LX	SNP	C	A	Homozygote	Homozygote
AH704R0	SNP	C	T	Absent	Absent
AH704R2	SNP	T	C	Homozygote	Homozygote
AH704R4	SNP	T	C	Hétérozygote	Hétérozygote
AH704R5	SNP	T	C	Hétérozygote	Hétérozygote
AH892X8	SNP	A	T	Homozygote	Homozygote
AH892YB	SNP	C	A	Homozygote	Homozygote
AHABH31	SNP	G	A	Absent	Absent
AHABH34	SNP	G	C	Homozygote	Homozygote
AHABH35	SNP	G	A	Absent	Absent
AHBKF99	SNP	C	T	Absent	Absent
AHBKGAB	SNP	A	G	Hétérozygote	Hétérozygote
AHBKGAC	SNP	T	G	Hétérozygote	Hétérozygote
AHBKGAE	SNP	T	C	Homozygote	Homozygote
AHCTEGK	SNP	A	G	Homozygote	Homozygote
AHCTEGM	SNP	A	G	Homozygote	Homozygote
AHD2CMP	SNP	G	A	Absent	Absent
AHD2CMR	SNP	T	A	Homozygote	Homozygote
AHD2CMU	SNP	A	G	Hétérozygote	Hétérozygote
AHFBAS1	SNP	A	G	Hétérozygote	Hétérozygote
AHFBASY	SNP	G	A	Absent	Absent

AHGJ8Y7	SNP	C	G	Hétérozygote	Hétérozygote
AHGJ8Y9	SNP	A	G	Hétérozygote	Hétérozygote
AHGJ8ZA	SNP	A	G	Hétérozygote	Hétérozygote
AHHS65D	SNP	C	T	Hétérozygote	Hétérozygote
AHHS65E	SNP	A	G	Homozygote	Homozygote
AHHS65F	SNP	T	C	Hétérozygote	Hétérozygote
AHHS65G	SNP	G	C	Homozygote	Homozygote
AHHS65H	SNP	G	A	Hétérozygote	Hétérozygote
AHHS65I	SNP	C	T	Hétérozygote	Hétérozygote
AHI15BL	SNP	A	G	Absent	Absent
AHI15BN	SNP	G	C	Homozygote	Homozygote
AHI15BO	SNP	G	T	Hétérozygote	Hétérozygote
AHKA3HV	SNP	C	T	Absent	Absent
AHKA3HW	SNP	G	A	Absent	Absent
AHKA3HX	SNP	G	T	Homozygote	Homozygote
AHLJ1N3	SNP	A	G	Homozygote	Homozygote
AHLJ1N4	SNP	C	T	Hétérozygote	Hétérozygote
AHLJ1N5	SNP	A	G	Hétérozygote	Hétérozygote
AHLJ1N6	SNP	C	T	Absent	Absent
AHMSZT9	SNP	C	A	Absent	Absent
AHMSZUB	SNP	C	T	Homozygote	Homozygote
AHMSZUD	SNP	G	A	Homozygote	Homozygote
AHN1X0I	SNP	T	A	Homozygote	Homozygote
AHN1X0J	SNP	A	G	Hétérozygote	Hétérozygote
AHN1X0K	SNP	G	A	Homozygote	Homozygote
AHN1X0L	SNP	A	G	Hétérozygote	Hétérozygote
AHPAV6Q	SNP	A	G	Homozygote	Homozygote
AHPAV6R	SNP	G	C	Hétérozygote	Hétérozygote
AHPAV6S	SNP	T	C	Homozygote	Homozygote
AHPAV6U	SNP	A	G	Absent	Absent
AHQJUC0	SNP	C	T	Homozygote	Homozygote
AHQJUC2	SNP	G	A	Absent	Absent
AHQJUCZ	SNP	T	C	Hétérozygote	Hétérozygote
AHRSSI9	SNP	G	A	Hétérozygote	Hétérozygote
AHS1QPD	SNP	A	G	Homozygote	Homozygote
AHS1QPG	SNP	C	T	Absent	Absent
AHS1QPH	SNP	C	A	Homozygote	Homozygote
AHUAOVL	SNP	T	C	Hétérozygote	Hétérozygote
AHUAOVN	SNP	A	G	Absent	Absent
AHUAOVO	SNP	C	T	Homozygote	Homozygote
AHUAOVQ	SNP	G	A	Hétérozygote	Hétérozygote
AHVJM1V	SNP	G	C	Hétérozygote	Hétérozygote
AHVJM1W	SNP	A	G	Absent	Absent
AHVJM1X	SNP	T	C	Absent	Absent

AHVJM1Y	SNP	C	T	Absent	Absent
AHWSK71	SNP	T	C	Hétérozygote	Hétérozygote
AHWSK72	SNP	A	G	Hétérozygote	Hétérozygote
AHWSK73	SNP	C	A	Absent	Absent
AHWSK74	SNP	A	G	Absent	Absent
AHWSK76	SNP	G	A	Hétérozygote	Hétérozygote
AHX1JD9	SNP	C	T	Absent	Absent
AHX1JED	SNP	A	T	Homozygote	Homozygote
AHX1JEE	SNP	T	C	Absent	Absent
AHZAHKI	SNP	G	A	Absent	Absent
AHZAHKJ	SNP	T	C	Hétérozygote	Hétérozygote
AHZAHKM	SNP	G	A	Absent	Absent
BICF2G630102146	SNP	T	C	Hétérozygote	Hétérozygote
BICF2G630111735	SNP	T	C	Hétérozygote	Hétérozygote
BICF2G630122583	SNP	G	A	Hétérozygote	Hétérozygote
BICF2G630133028	SNP	C	T	Absent	Absent
BICF2G630133994	SNP	A	G	Homozygote	Homozygote
BICF2G630149030	SNP	T	C	Homozygote	Homozygote
BICF2G630159183	SNP	G	A	Hétérozygote	Hétérozygote
BICF2G630187649	SNP	A	T	Homozygote	Homozygote
BICF2G630187658	SNP	G	A	Absent	Absent
BICF2G630200354	SNP	G	A	Homozygote	Homozygote
BICF2G630209373	SNP	T	C	Hétérozygote	Hétérozygote
BICF2G630209508	SNP	C	T	Hétérozygote	Hétérozygote
BICF2G630209886	SNP	T	C	Absent	Absent
BICF2G630220326	SNP	T	C	Hétérozygote	Hétérozygote
BICF2G630221287	SNP	G	A	Absent	Absent
BICF2G630264994	SNP	A	G	Hétérozygote	Hétérozygote
BICF2G630271966	SNP	C	T	Hétérozygote	Hétérozygote
BICF2G630274628	SNP	C	T	Hétérozygote	Hétérozygote
BICF2G630276039	SNP	A	G	Hétérozygote	Hétérozygote
BICF2G630276136	SNP	C	T	Hétérozygote	Hétérozygote
BICF2G630306265	SNP	G	A	Absent	Absent
BICF2G630307199	SNP	G	T	Homozygote	Homozygote
BICF2G630326688	SNP	A	G	Hétérozygote	Hétérozygote
BICF2G630328172	SNP	G	A	Hétérozygote	Hétérozygote
BICF2G630328323	SNP	C	T	Hétérozygote	Hétérozygote
BICF2G630340940	SNP	A	G	Homozygote	Homozygote
BICF2G630340944	SNP	T	C	Homozygote	Homozygote
BICF2G630365778	SNP	G	T	Homozygote	Homozygote
BICF2G630367177	SNP	A	C	Absent	Absent
BICF2G630382763	SNP	T	C	Homozygote	Homozygote
BICF2G630409193	SNP	A	G	Absent	Absent
BICF2G630437783	SNP	C	A	Hétérozygote	Hétérozygote

BICF2G630449851	SNP	T	C	Hétérozygote	Hétérozygote
BICF2G630453264	SNP	C	G	Homozygote	Homozygote
BICF2G630467607	SNP	G	T	Absent	Absent
BICF2G630474528	SNP	A	G	Absent	Absent
BICF2G630488267	SNP	C	T	Homozygote	Homozygote
BICF2G630499189	SNP	A	G	Hétérozygote	Hétérozygote
BICF2G630504410	SNP	T	C	Homozygote	Homozygote
BICF2G630539759	SNP	G	A	Absent	Absent
BICF2G630552597	SNP	A	G	Homozygote	Homozygote
BICF2G630552598	SNP	G	A	Absent	Absent
BICF2G630558437	SNP	T	C	Hétérozygote	Hétérozygote
BICF2G630594648	SNP	C	T	Absent	Absent
BICF2G630634836	SNP	T	G	Homozygote	Homozygote
BICF2G630653298	SNP	C	T	Absent	Absent
BICF2G630666362	SNP	C	T	Homozygote	Homozygote
BICF2G630689403	SNP	A	G	Absent	Absent
BICF2G630691635	SNP	C	G	Absent	Absent
BICF2G630704611	SNP	G	A	Homozygote	Homozygote
BICF2G630708384	SNP	A	G	Homozygote	Homozygote
BICF2G63078341	SNP	A	G	Absent	Absent
BICF2G630798972	SNP	C	T	Absent	Absent
BICF2G63088115	SNP	G	A	Homozygote	Homozygote
BICF2G63090019	SNP	A	T	Homozygote	Homozygote
BICF2P1010945	SNP	A	G	Homozygote	Homozygote
BICF2P1019402	SNP	A	G	Homozygote	Homozygote
BICF2P103615	SNP	C	T	Hétérozygote	Hétérozygote
BICF2P105070	SNP	T	C	Homozygote	Homozygote
BICF2P1060087	SNP	C	T	Absent	Absent
BICF2P1138733	SNP	G	A	Hétérozygote	Hétérozygote
BICF2P1141966	SNP	G	A	Absent	Absent
BICF2P1159837	SNP	A	G	Homozygote	Homozygote
BICF2P1173491	SNP	A	G	Hétérozygote	Hétérozygote
BICF2P1181787	SNP	G	A	Homozygote	Homozygote
BICF2P1183665	SNP	G	A	Absent	Absent
BICF2P1192522	SNP	G	A	Homozygote	Homozygote
BICF2P1193353	SNP	T	C	Hétérozygote	Hétérozygote
BICF2P1216677	SNP	T	C	Absent	Absent
BICF2P1226745	SNP	A	G	Absent	Absent
BICF2P1226838	SNP	G	A	Absent	Absent
BICF2P1271174	SNP	T	C	Absent	Absent
BICF2P1286728	SNP	T	C	Absent	Absent
BICF2P129347	SNP	C	T	Homozygote	Homozygote
BICF2P129670	SNP	C	T	Absent	Absent
BICF2P1308802	SNP	A	C	Absent	Absent

BICF2P1310805	SNP	C	A	Hétérozygote	Hétérozygote
BICF2P1344095	SNP	A	G	Hétérozygote	Hétérozygote
BICF2P1346673	SNP	A	G	Absent	Absent
BICF2P1357746	SNP	A	G	Hétérozygote	Hétérozygote
BICF2P1362405	SNP	A	G	Absent	Absent
BICF2P1369088	SNP	C	T	Hétérozygote	Hétérozygote
BICF2P1391407	SNP	T	C	Hétérozygote	Hétérozygote
BICF2P1454500	SNP	C	T	Absent	Absent
BICF2P155421	SNP	G	T	Absent	Absent
BICF2P157421	SNP	G	A	Hétérozygote	Hétérozygote
BICF2P164304	SNP	C	T	Hétérozygote	Hétérozygote
BICF2P182473	SNP	T	C	Hétérozygote	Hétérozygote
BICF2P184963	SNP	C	T	Hétérozygote	Hétérozygote
BICF2P237994	SNP	C	T	Hétérozygote	Hétérozygote
BICF2P246592	SNP	C	A	Absent	Absent
BICF2P250787	SNP	A	C	Hétérozygote	Hétérozygote
BICF2P251850	SNP	T	G	Absent	Absent
BICF2P277987	SNP	T	C	Hétérozygote	Hétérozygote
BICF2P285489	SNP	T	C	Hétérozygote	Hétérozygote
BICF2P345056	SNP	A	G	Homozygote	Homozygote
BICF2P345488	SNP	T	C	Hétérozygote	Hétérozygote
BICF2P347679	SNP	C	T	Hétérozygote	Hétérozygote
BICF2P378969	SNP	C	A	Absent	Absent
BICF2P382742	SNP	A	G	Hétérozygote	Hétérozygote
BICF2P401677	SNP	T	C	Homozygote	Homozygote
BICF2P414351	SNP	G	A	Hétérozygote	Hétérozygote
BICF2P42825	SNP	T	C	Absent	Absent
BICF2P452541	SNP	T	C	Absent	Absent
BICF2P457665	SNP	C	T	Absent	Absent
BICF2P464536	SNP	A	G	Absent	Absent
BICF2P465276	SNP	A	G	Homozygote	Homozygote
BICF2P46604	SNP	A	G	Absent	Absent
BICF2P46672	SNP	G	A	Hétérozygote	Hétérozygote
BICF2P496466	SNP	A	G	Homozygote	Homozygote
BICF2P496837	SNP	A	G	Absent	Absent
BICF2P516667	SNP	C	T	Homozygote	Homozygote
BICF2P554817	SNP	C	T	Homozygote	Homozygote
BICF2P561057	SNP	T	G	Homozygote	Homozygote
BICF2P567552	SNP	G	A	Homozygote	Homozygote
BICF2P590440	SNP	T	C	Homozygote	Homozygote
BICF2P600196	SNP	T	C	Absent	Absent
BICF2P615597	SNP	T	G	Homozygote	Homozygote
BICF2P624936	SNP	A	G	Homozygote	Homozygote
BICF2P635172	SNP	A	G	Homozygote	Homozygote

BICF2P635478	SNP	C	T	Absent	Absent
BICF2P643134	SNP	C	T	Hétérozygote	Hétérozygote
BICF2P65087	SNP	C	T	Hétérozygote	Hétérozygote
BICF2P651575	SNP	T	C	Absent	Absent
BICF2P70891	SNP	A	C	Absent	Absent
BICF2P725743	SNP	C	G	Hétérozygote	Hétérozygote
BICF2P728698	SNP	A	G	Hétérozygote	Hétérozygote
BICF2P774003	SNP	T	G	Absent	Absent
BICF2P789367	SNP	C	T	Absent	Absent
BICF2P798404	SNP	G	A	Homozygote	Homozygote
BICF2P805553	SNP	G	A	Homozygote	Homozygote
BICF2P840653	SNP	G	A	Hétérozygote	Hétérozygote
BICF2P842510	SNP	C	T	Hétérozygote	Hétérozygote
BICF2P878175	SNP	G	A	Absent	Absent
BICF2P885380	SNP	A	G	Hétérozygote	Hétérozygote
BICF2P923421	SNP	T	C	Hétérozygote	Hétérozygote
BICF2P935470	SNP	G	A	Homozygote	Homozygote
BICF2P950116	SNP	G	A	Hétérozygote	Hétérozygote
BICF2P963969	SNP	C	T	Homozygote	Homozygote
BICF2P990814	SNP	A	G	Homozygote	Homozygote
BICF2P998036	SNP	G	T	Hétérozygote	Hétérozygote
BICF2S22910736	SNP	T	C	Absent	Absent
BICF2S22912385	SNP	C	T	Absent	Absent
BICF2S22913753	SNP	G	A	Hétérozygote	Hétérozygote
BICF2S22926284	SNP	T	C	Absent	Absent
BICF2S22928800	SNP	A	G	Homozygote	Homozygote
BICF2S22943825	SNP	A	G	Absent	Absent
BICF2S23018785	SNP	C	T	Hétérozygote	Hétérozygote
BICF2S23028732	SNP	T	A	Homozygote	Homozygote
BICF2S23031254	SNP	C	A	Homozygote	Homozygote
BICF2S23049416	SNP	T	C	Hétérozygote	Hétérozygote
BICF2S23057560	SNP	C	T	Absent	Absent
BICF2S23111132	SNP	G	A	Absent	Absent
BICF2S23124313	SNP	T	C	Homozygote	Homozygote
BICF2S23126079	SNP	C	T	Absent	Absent
BICF2S23138418	SNP	A	G	Hétérozygote	Hétérozygote
BICF2S23141330	SNP	T	A	Hétérozygote	Hétérozygote
BICF2S23214514	SNP	C	A	Homozygote	Homozygote
BICF2S23246455	SNP	C	T	Hétérozygote	Hétérozygote
BICF2S23250041	SNP	C	A	Hétérozygote	Hétérozygote
BICF2S23326150	SNP	C	T	Absent	Absent
BICF2S23329382	SNP	C	A	Absent	Absent
BICF2S23333411	SNP	A	G	Absent	Absent
BICF2S23356653	SNP	G	A	Hétérozygote	Hétérozygote

BICF2S23357186	SNP	G	C	Hétérozygote	Hétérozygote
BICF2S2338108	SNP	C	T	Homozygote	Homozygote
BICF2S23429022	SNP	G	A	Absent	Absent
BICF2S23434277	SNP	G	C	No Call	No Call
BICF2S23449478	SNP	G	A	Hétérozygote	Hétérozygote
BICF2S23519644	SNP	T	C	Absent	Absent
BICF2S2351979	SNP	T	C	Homozygote	Homozygote
BICF2S23529290	SNP	T	C	Hétérozygote	Hétérozygote
BICF2S23535154	SNP	A	G	Homozygote	Homozygote
BICF2S2359809	SNP	G	A	Hétérozygote	Hétérozygote
BICF2S23614068	SNP	C	A	Homozygote	Homozygote
BICF2S236196	SNP	G	A	Hétérozygote	Hétérozygote
BICF2S23626625	SNP	G	C	Hétérozygote	Hétérozygote
BICF2S23648905	SNP	C	T	Homozygote	Homozygote
BICF2S23649947	SNP	C	T	Hétérozygote	Hétérozygote
BICF2S23713161	SNP	A	G	Hétérozygote	Hétérozygote
BICF2S23737033	SNP	A	G	Homozygote	Homozygote
BICF2S2399705	SNP	C	T	Homozygote	Homozygote
DIL	SNP	G	A	Absent	Absent
DM	SNP	G	A	Absent	Absent
G1425f16S28	SNP	G	A	Absent	Absent
INT	SNP	C	T	Hétérozygote	Hétérozygote
KP081776	SNP	T	G	Homozygote	Homozygote
Locus_a,AH21B24	SNP	C	T	Absent	Absent
Locus_Ay	MNP	TCTCA	GCTCG	Absent	Absent
Locus_Baus	SNP	T	G	Absent	Absent
Locus_Bc	SNP	T	A	Absent	Absent
Locus_Bd	DEL	CCT	-	Absent	Absent
Locus_Be	SNP	T	G	Absent	Absent
Locus_Bs	SNP	C	T	Absent	Absent
Locus_Cu1	SNP	C	T	Absent	Absent
Locus_Cu2	COMPLEX	CCTGAAGC	ACA	Absent	Absent
Locus_d2	SNP	G	C	Absent	Absent
Locus_E,AHWSK70	SNP	G	A	Absent	Absent
Locus_e2	SNP	C	G	Absent	Absent
Locus_e3	DEL	AG	-	Absent	Absent
Locus_Eg	SNP	C	A	Absent	Absent
Locus_Eh	SNP	C	T	Absent	Absent
Locus_Em,AHX1JD8	SNP	C	T	Hétérozygote	Hétérozygote
Locus_H	SNP	T	G	Absent	Absent
Locus_Hr2	INS	-	T	Absent	Absent
Locus_K	DEL	CCC	-	Hétérozygote	Hétérozygote
PL	SNP	G	T	Absent	Absent
PL2	SNP	C	T	Absent	Absent

PPD-DC1	SNP	C	T	Absent	Absent
PPD-DC2	SNP	C	T	Absent	Absent
QC,AHCTEGI	SNP	G	C	Absent	Absent
RALY	INS	-	CCCCAGGTCAGAGTTT	Absent	Absent
SHEDDING	SNP	T	C	Absent	Absent
TIGRP2P116826	SNP	G	A	Absent	Absent
TIGRP2P164720	SNP	G	A	Hétérozygote	Hétérozygote
TIGRP2P177606	SNP	G	C	Absent	Absent
TIGRP2P215708	SNP	A	T	Hétérozygote	Hétérozygote
TIGRP2P255960	SNP	A	G	Hétérozygote	Hétérozygote
TIGRP2P283310	SNP	G	A	Hétérozygote	Hétérozygote
TIGRP2P316532	SNP	T	C	Absent	Absent
TIGRP2P354499	SNP	C	T	Absent	Absent
TIGRP2P356245	SNP	T	G	Hétérozygote	Hétérozygote
TIGRP2P362535	SNP	C	T	Absent	Absent
TIGRP2P372104	SNP	C	T	Absent	Absent
TIGRP2P389035	SNP	T	C	Absent	Absent
TIGRP2P407751	SNP	C	A	Absent	Absent
Z_P1	SNP	T	C	Hétérozygote	Hétérozygote
Z_P10	SNP	T	G	Absent	Absent
Z_P11	SNP	G	A	Absent	Absent
Z_P12	SNP	C	A	Hétérozygote	Hétérozygote
Z_P13	SNP	C	T	Absent	Absent
Z_P14	SNP	A	G	Absent	Absent
Z_P15	SNP	C	T	Absent	Absent
Z_P16	SNP	T	A	Absent	Absent
Z_P17	SNP	G	T	Hétérozygote	Hétérozygote
Z_P18	SNP	T	G	Hétérozygote	Hétérozygote
Z_P19	SNP	A	C	Absent	Absent
Z_P20	SNP	G	A	Hétérozygote	Hétérozygote
Z_P21	SNP	T	C	Homozygote	Homozygote
Z_P22	SNP	G	C	Hétérozygote	Hétérozygote
Z_P23	SNP	A	T	Absent	Absent
Z_P24	SNP	A	C	Absent	Absent
Z_P25	SNP	T	C	Hétérozygote	Hétérozygote
Z_P26	SNP	G	T	Absent	Absent
Z_P27	SNP	T	C	Hétérozygote	Hétérozygote
Z_P28	SNP	G	A	Absent	Absent
Z_P29	SNP	T	A	Absent	Absent
Z_P3	SNP	C	T	Hétérozygote	Hétérozygote
Z_P30	SNP	G	A	Hétérozygote	Hétérozygote
Z_P31	SNP	C	T	Absent	Absent
Z_P32	SNP	T	G	Hétérozygote	Hétérozygote
Z_P33	SNP	C	G	Absent	Absent

Z_P34	SNP	A	G	Homozygote	Homozygote
Z_P35	SNP	C	A	Absent	Absent
Z_P36	SNP	T	C	Absent	Absent
Z_P37	SNP	C	A	Hétérozygote	Hétérozygote
Z_P38	SNP	G	A	Homozygote	Homozygote
Z_P39	SNP	A	C	Hétérozygote	Hétérozygote
Z_P4	SNP	A	C	Hétérozygote	Hétérozygote
Z_P40	SNP	A	G	Absent	Absent
Z_P41	SNP	G	T	Absent	Absent
Z_P42	SNP	G	C	Absent	Absent
Z_P43	SNP	C	T	Absent	Absent
Z_P44	SNP	G	A	Absent	Absent
Z_P45	SNP	A	C	Homozygote	Homozygote
Z_P48	SNP	G	A	Hétérozygote	Hétérozygote
Z_P49	SNP	A	C	Absent	Absent
Z_P5	SNP	C	G	Hétérozygote	Hétérozygote
Z_P50	SNP	G	A	Absent	Absent
Z_P51	SNP	C	A	Absent	Absent
Z_P52	SNP	C	T	Absent	Absent
Z_P53	SNP	G	C	Absent	Absent
Z_P54	SNP	G	A	Homozygote	Homozygote
Z_P55	SNP	C	A	Absent	Absent
Z_P56	SNP	G	A	Homozygote	Homozygote
Z_P57	SNP	G	T	Absent	Absent
Z_P58	SNP	G	T	Hétérozygote	Hétérozygote
Z_P59	SNP	G	A	Absent	Absent
Z_P6	SNP	C	T	Absent	Absent
Z_P60	SNP	A	T	Absent	Absent
Z_P61	SNP	G	A	Absent	Absent
Z_P62	SNP	C	T	Absent	Absent
Z_P63	SNP	G	A	Hétérozygote	Hétérozygote
Z_P65	SNP	C	A	Hétérozygote	Hétérozygote
Z_P66	SNP	T	A	Hétérozygote	Hétérozygote
Z_P67	SNP	A	G	Hétérozygote	Hétérozygote
Z_P68	SNP	A	G	Absent	Absent
Z_P69	SNP	C	T	Hétérozygote	Hétérozygote
Z_P7	SNP	C	G	Absent	Absent
Z_P70	SNP	A	G	Hétérozygote	Hétérozygote
Z_P71	SNP	G	T	Absent	Absent
Z_P72	SNP	T	C	Hétérozygote	Hétérozygote
Z_P73	SNP	T	C	Hétérozygote	Hétérozygote
Z_P74	SNP	A	C	Hétérozygote	Hétérozygote
Z_P75	SNP	C	T	Absent	Absent
Z_P78	SNP	G	C	Homozygote	Homozygote

Z_P79	SNP	A	G	Hétérozygote	Hétérozygote
Z_P8	SNP	A	G	Homozygote	Homozygote
Z_P80	SNP	A	G	Hétérozygote	Hétérozygote
Z_P81	SNP	G	C	Absent	Absent
Z_P82	SNP	C	T	Homozygote	Homozygote
Z_P83	SNP	A	G	Hétérozygote	Hétérozygote
Z_P84	SNP	C	G	Absent	Absent
Z_P85	SNP	T	A	Absent	Absent
Z_P86	SNP	G	C	Absent	Absent
Z_P87	SNP	A	G	Absent	Absent
Z_P88	SNP	C	T	Hétérozygote	Hétérozygote
Z_P9	SNP	C	T	Absent	Absent

L'APPORT DES OUTILS DE GENETIQUE MOLECULAIRE DANS L'IDENTIFICATION DES ANOMALIES GENETIQUES CHEZ LES ESPECES CANINE ET FELINE

MOSAIQUES, CHIMERES ET JUMEAUX MONOZYGOTES

Auteur

Canu Morgane

Résumé

En médecine vétérinaire, le praticien peut être confronté à des chiens et des chats présentant un phénotype extérieur atypique, comme par exemple une couleur de robe singulière. C'est notamment le cas chez le chat, où la couleur écaille de tortue ne peut génétiquement être présente que chez les femelles. Or des cas de mâles écaille de tortue ont depuis longtemps été rapportés. Nous nous sommes intéressés à ces cas atypiques, en tentant de les caractériser et de déterminer leur étiologie, à l'aide des outils de génétique moléculaire actuellement disponibles pour le praticien.

Nous avons réalisé une synthèse bibliographique des connaissances disponibles sur les génomes canins et félins ainsi que sur les outils moléculaires permettant de les étudier. Nous avons aussi rappelé les bases du déterminisme génétique de la couleur du pelage, qui peut constituer un critère d'appel pour une particularité génétique avant de présenter des cas de chimères, de mosaïques et de jumeaux monozygotes publiés. La deuxième partie du manuscrit présente l'étude que nous avons réalisée, sur les cas de 12 chats présentant des phénotypes de pelage inhabituels, et trois chiens génétiquement remarquables. Grâce à la collaboration des propriétaires, des vétérinaires et des assistants vétérinaires ayant vu ces animaux, ainsi que du laboratoire Antagene, des prélèvements et leur analyse cytogénétique et moléculaire ont été effectués (caryotypes, empreintes génétiques et génotypage) afin de tenter déterminer l'étiologie des particularités de ces 15 cas.

Nous avons pu faire les hypothèses et dans certains cas les confirmer de : chimérisme, mosaïcisme chromosomique, mutation somatique de réversion ou encore origine monozygotique pour deux individus. Enfin, nous avons brièvement présenté la conduite à tenir, à destination des vétérinaires suspectant une particularité génétique chez un de leurs patients canins ou félins, pour explorer cette particularité génétique à l'aide des outils commerciaux actuels de cytogénétique et de génomique.

Mots-clés

Génétique, Anomalies, Chimérisme, Mosaïcisme, Gémellité, Carnivores domestiques

Jury

Président du jury	:	**Pr**	**BLAY Jean-Yves**
Directeur de thèse	:	**Pr**	**ABITBOL Marie**
1er assesseur	:	**Pr**	**ABITBOL Marie**
2ème assesseur	:	**Dr**	**LAMBERT Véronique**

RÉPUBLIQUE FRANÇAISE
Liberté
Égalité
Fraternité

VetAgro Sup