

# Recherche finalisée de gènes de coloration et de l'épidermolyse bulleuse jonctionnelle chez le cheval

Depuis plusieurs années, l'INRA et les Haras nationaux ont cofinancé un programme d'analyse moléculaire du génome équin. Un travail conséquent de mise en place d'outils de cartographie - production et localisation de marqueurs génétiques, de banques d'ADN, de cartes de gènes autorisant des comparaisons entre espèces - a été entrepris dans notre laboratoire. L'objectif finalisé est d'identifier des gènes et les mutations responsables de caractères d'intérêt. Des tests moléculaires peuvent alors détecter les individus porteurs de ces gènes. Mis à la disposition de la profession, ils permettent d'orienter les croisements afin de conserver ou d'éradiquer ces caractères. Nous avons recherché trois gènes impliqués dans la coloration, robe crème et robe noire, et dans une maladie génétique, l'épidermolyse bulleuse jonctionnelle (EBJ).

## APPROCHE MOLÉCULAIRE DES GÈNES DE COLORATION CHEZ LE CHEVAL

En France, la couleur de la robe est un des éléments de base dans l'identification des équidés. Une nomenclature très détaillée a, d'ailleurs, été établie sous l'égide des Haras nationaux en 1998 pour servir de référence de terrain au cours des relevés de signalement.

Les couleurs de robe sont déterminées par la présence dans le poil et la peau de deux pigments : l'eumélanine de couleur noir/brun foncé et la phéomélanine de couleur jaune /rouge. Chez la souris, ces couleurs résultent de l'action d'une centaine de gènes dont certains ont un rôle prépondérant similaire chez plusieurs espèces d'animaux domestiques. C'est donc par comparaison interspécifique que nous avons mis en évidence les gènes des couleurs noire et crème chez le cheval.

Les couleurs de base chez le cheval (bai, alezan et noir) résultent essentiellement de l'action de deux loci, le locus Extension (E) et le locus Agouti (A). Ces couleurs

sont de plus modulées par d'autres gènes qui éclaircissent, foncent ou font grisonner les couleurs de base. Les individus alezans sont tous homozygotes  $E^e/E^e$  au locus Extension alors que les bais ou noirs possèdent l'allèle  $E^E$  en simple ( $E^E/E^E$ ) ou en double exemplaire ( $E^E/E^E$ ). La distinction entre le bai et le noir dépend alors du gène Agouti. La transmission des phénotypes suggère l'existence de deux allèles à ce locus : l'allèle dominant sauvage  $A^A$  est porté par les bais à l'état homozygote ou hétérozygote, l'allèle  $A^a$  récessif est présent en double exemplaire chez les individus noirs.

Nous avons confirmé le rôle du locus Agouti dans la couleur noire et montré l'existence, par séquençage systématique, d'une délétion dans la partie codante du gène. Un test moléculaire a été mis au point pour détecter les individus porteurs de « l'allèle noir » en simple ( $A^A/A^a$ ) ou double exemplaire ( $A^a/A^a$ ). On peut ainsi distinguer les individus véritablement noirs de ceux bai brun très foncés ou alezans brûlés.

La couleur crème aux yeux bleus peut être particulièrement recherchée comme

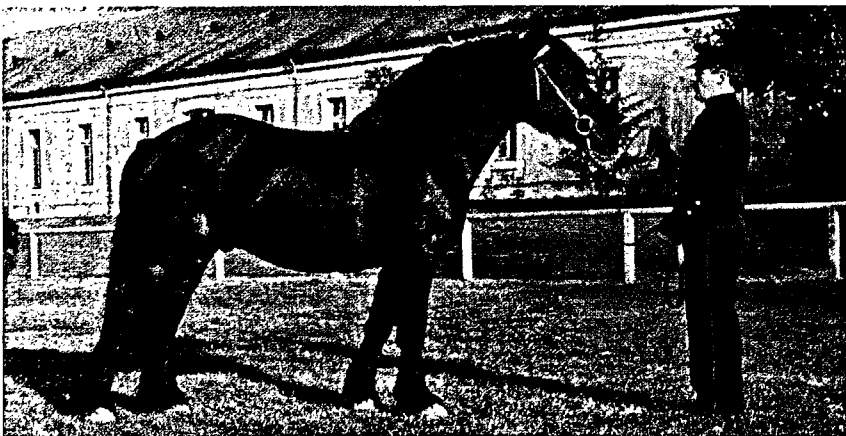
chez les lusitaniens de Bartabas ou exclue du standard du stud-book du poney Connemara. Les éleveurs sont alors confrontés à la nécessité de gérer au mieux cette apparition notamment par une meilleure identification génétique des reproducteurs.

Le gène crème dilue les couleurs de base bai et alezan. En un exemplaire, il transforme les bais en isabelle et les alezans en palomino. En deux exemplaires, la dilution est totale et conduit aux individus crèmes aux yeux bleus.

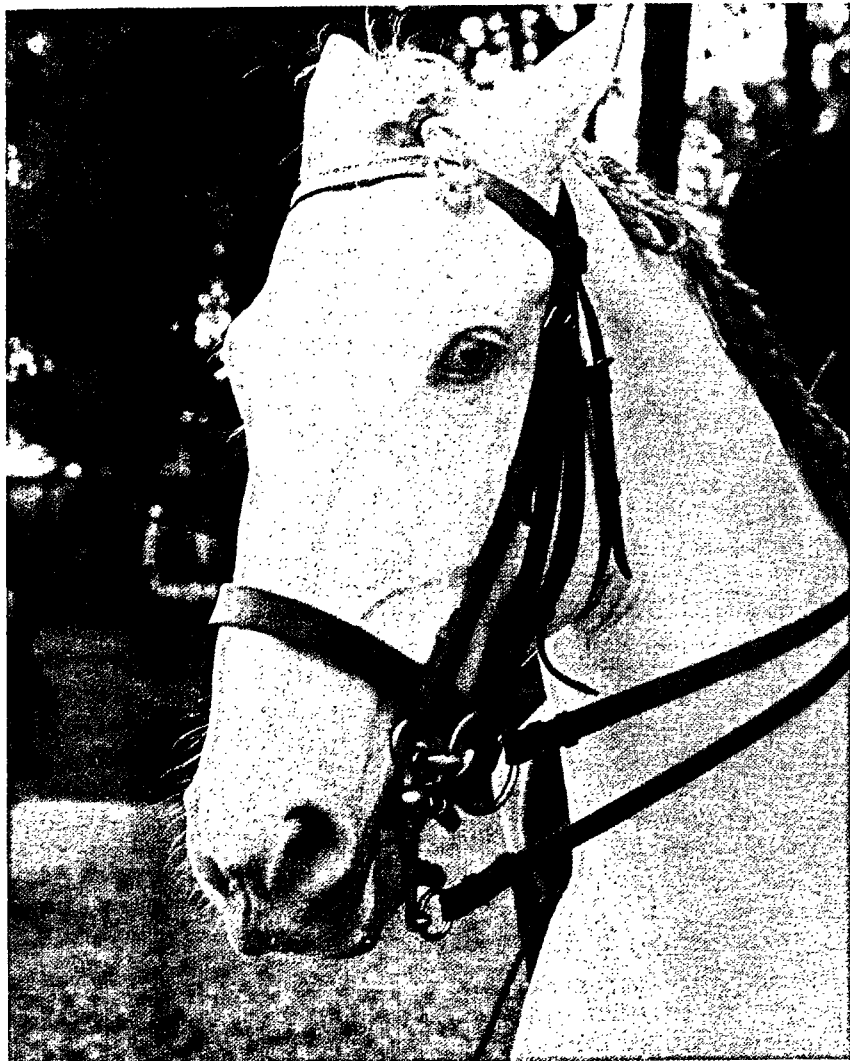
Compte tenu d'éléments tirés de la littérature, notamment chez la souris, nous avons tout d'abord considéré que cinq gènes étaient susceptibles d'être responsables de la couleur crème. La localisation sur le chromosome 21 du génome équin, a réduit ce nombre à deux. Ensuite, une analyse plus fine de marqueurs très proches de ces gènes et des gènes eux-mêmes sur un échantillon d'individus sélectionnés sur leur couleur, nous a permis de considérer le gène MATP au locus underwhite, comme très probablement le gène en cause. La mutation a été identifiée et a conduit à la mise au point d'un test ADN maintenant disponible sur le marché.

## L'ÉPIDERMOLYSE BULLEUSE JONCTIONNELLE

L'épidermolyse bulleuse jonctionnelle (EBJ) des chevaux est une maladie connue depuis longtemps par les éleveurs qui l'appelaient « la maladie des pieds rouges du poulain ». En France, elle est observée principalement chez les chevaux de trait, notamment dans les races de trait Breton et Comtois. C'est une maladie néonatale létale qui se caractérise



© LES HARAS NATIONAUX



© LES HARAS NATIONAUX

► par une absence de revêtement cutané, surtout dans la partie distale des membres et parfois par la perte d'un ou de plusieurs sabots. Sa transmission est héréditaire à déterminisme autosomal récessif et, en conséquence, des animaux sains peuvent donner naissance à des poulains atteints. Seuls, les individus portant les deux allèles mutés sont malades. Dans le but d'identifier ces animaux porteurs sains et permettre ainsi une meilleure gestion des croisements, nous avons entrepris l'identification du gène et de la mutation causale.

Chez l'homme, l'épidermolyse bulleuse jonctionnelle de Herlitz (EBJH) est la forme la plus proche du point de vue symptomatique et lésionnel de celle observée chez le cheval. Des mutations dans trois gènes codant pour la laminine 5, qui a une fonction d'ancrage de l'épiderme au derme, sont impliquées dans la maladie humaine.

Ces trois gènes ont été pris comme gènes candidats chez le cheval, c'est-à-dire comme gènes très probablement impliqués dans la maladie. Des marqueurs génétiques polymorphes ont été recherchés dans les régions génomiques proches des trois gènes avant de rechercher par une analyse d'association, un lien entre les marqueurs isolés et la maladie. Parallèlement, le séquençage des ADNc des trois gènes a permis d'obtenir les séquences équines encore inconnues. Les séquences des ADNc d'individus malades et d'individus non-porteurs ont également été comparées. Au cours de ce travail, une mutation décrite par un autre laboratoire chez un trait Belge a été recherchée dans nos populations ressources.

L'objectif finalisé de ce travail, qui était de développer un test moléculaire pour le conseil génétique, a ainsi pu être achevé. Dès lors, la fréquence des étalons privés

et nationaux porteurs du gène a pu être évaluée dans différentes races de trait. Elle était, en 2003, de 8% chez les traits Comtois et de 14% chez les traits Bretons et nulle chez 201 étalons d'autres races (ardennais, percherons, auxois, cobs normands, traits du Nord, poitevins et boulonnais).

En 2004, un programme d'éradication de ce gène par la voie mâle a été entrepris par les Haras nationaux en concertation avec les associations de races. Il propose aux éleveurs une information sur la maladie et son mode de transmission ainsi que des mesures à prendre pour éviter l'emploi d'étalons porteurs sains. Dans un premier temps, il n'y a pas eu de remise en cause de l'approbation de ces étalons, mais une incitation au dépistage par le test ADN de l'EBJ était conseillée. En effet, un accouplement entre un étalon porteur et une jument non-porteuse ne présente pas de risque pour leurs descendants mais cette pratique a l'inconvénient de conserver le gène muté dans la population. Pour éviter cela, les approbations ultérieures se feront uniquement sur les étalons non-porteurs du gène muté. Des incitations financières diverses accompagnent ce plan de gestion dans ces deux races de chevaux de trait. La poursuite des actions engagées devrait ainsi voir diminuer la fréquence du gène dans les deux populations.

### CONCLUSION

Les résultats des travaux de génétique moléculaire entrepris il y a une dizaine d'années commencent à porter leurs fruits. Des tests ADN pour des caractères simples sont actuellement disponibles sur le marché à des coûts abordables. Ils permettent de connaître précocement le génotype des reproducteurs et constituent une aide objective lors des croisements. Les propriétaires peuvent ainsi améliorer la qualité de leur élevage en faisant des choix plus conformes à leurs attentes et les organismes d'élevage être en mesure de promouvoir des races compétitives certifiées indemnes de certaines tares génétiques. ■

#### Gérard GUERIN

INRA, centre de recherches de Jouy  
Laboratoire de Génétique biochimique et de Cytogénétique  
78352, Jouy-en-Josas cedex, France