

GENETIQUE

Nouvelles perspectives dans la gestion des populations de chevaux

Avant la domestication, la sélection était régie par le hasard et les conditions environnementales. Elle s'est ensuite développée en fonction des connaissances empiriques des éleveurs. Ces méthodes ont été progressivement complétées par les données issues de la génétique quantitative basée sur l'évaluation mathématique des performances comme les gains et le classement. Récemment, une collaboration internationale s'est engagée pour appliquer les connaissances du génome à l'espèce équine. Les techniques de génétique moléculaire comme la production de marqueurs, l'élaboration de cartes génétiques, les banques d'ADN et le séquençage se sont développées pour identifier des gènes d'intérêt en élevage. Cette stratégie s'est déjà révélée efficace pour quelques caractères à déterminisme monogénique comme l'hyperkaliémie paralysante périodique, l'immunodéficience sévère combinée, le syndrome létal overo du poulain blanc et les couleurs de robe alezan et noir pour lesquels des tests diagnostiques sont déjà disponibles ou sur le point de l'être.

Deux stratégies qui dépendent de la connaissance du déterminisme génétique du caractère d'intérêt sont actuellement développées par les généticiens moléculaires. La première consiste à construire des cartes génétiques de l'ensemble du génome avec des marqueurs hautement polymorphes. Une fois les cartes établies, ces points d'ancrage sont utilisés pour déterminer la région du chromosome où se situe le gène d'intérêt, étudier finement cette région avec plus de marqueurs, et finalement identifier le gène et la mutation à l'origine du caractère. Cette méthode est appelée « clonage positionnel ». La seconde stratégie est de comparer les mêmes caractères chez des individus de différentes espèces. On utilise par analogie l'information génétique obtenue dans une espèce (l'homme ou la souris), par exemple pour une maladie, et on teste les gènes homologues chez le cheval. Cette

méthode est appelée « approche gène candidat ».

Chez le cheval, les deux stratégies sont utilisées car elles sont souvent complémentaires. Les données de cartographie génétique et la stratégie des gènes candidats ont déjà permis d'obtenir des résultats significatifs. L'objectif est d'identifier des gènes d'intérêt pour l'élevage, comme les gènes de susceptibilité ou responsables de maladies, et d'obtenir des tests moléculaires de dépistage pour aider les professionnels dans la gestion de l'élevage équin.

LA CARTOGRAPHIE DU GÉNOME

La construction des cartes du génome

La construction de cartes génomiques combine différentes techniques afin de localiser un maximum de marqueurs sur les chromosomes. Les marqueurs hautement polymorphes (microsatellites) sont ordonnés en fonction de leur ségrégation en familles sur la carte génétique. Des cellules d'hybrides somatiques résultant de la fusion entre les cellules de cheval et celles d'autres espèces comme le hamster, sont utilisées pour classer les marqueurs en groupes de synténie qui correspondent aux chromosomes. La technique des hybrides d'irradiation est fondée sur le même principe, mais contrairement à la technique précédente, elle ordonne les marqueurs les uns par rapport aux autres sur les chromosomes. L'hybridation *in situ* en fluorescence (FISH) visualise la localisation de marqueurs fluorescents directement sur les chromosomes en métaphase identifiés par un marquage différent. La cartographie physique consiste à aligner de grands fragments d'ADN obtenus au hasard dans le génome après avoir comparé leurs extrémités chevauchantes. Cette méthode est essentielle pour *in fine* identifier les gènes et les marqueurs dans une région donnée d'un chromosome, et dans le séquençage complet du génome. Toutes ces techniques contribuent à l'élaboration de la carte génomique.

Les marqueurs

Ce sont essentiellement des marqueurs de l'ADN. Ils peuvent être anonymes comme les microsatellites ou identifiés comme les gènes. Les cartes construites à l'aide de marqueurs anonymes ne sont pas transposables aux autres espèces tandis que celles établies avec des gènes permettent de créer des liens entre génomes de différentes espèces, base de la cartographie comparée. Les informations cartographiques d'une espèce sont alors utilisées dans une autre par extrapolation.

LES APPLICATIONS

Les maladies

Les maladies ayant une origine génétique sont nombreuses mais celles dont la transmission est mendélienne simple le sont beaucoup moins. Parmi les maladies à fort déterminisme génétique, il faut noter l'épithéliogenèse imperfecta, la maladie de Willbrand, l'immunodéficience sévère combinée, le syndrome du poulain blanc létal, le mélanome, la rhabdomyolyse, etc... Voici quelques exemples de maladies pour lesquels le gène a été identifié :

- L'hyperkaliémie paralysante périodique (HYPP).

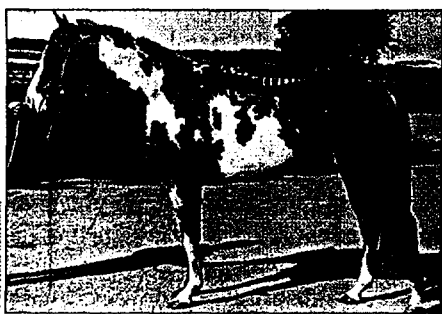
C'est une maladie à déterminisme « dominant » caractérisée par des épisodes de paralysie induits par le potassium suite à une réduction du potentiel membranaire des cellules musculaires de sujets atteints. L'HYPP est provoquée par une substitution d'un nucléotide dans la sous-unité alpha gène du canal sodique du muscle squelettique chez le cheval adulte. Cette maladie existe chez l'homme et au sein de la race Quarter Horse dans laquelle on suspecte un effet fondateur. A l'origine, un étalon largement utilisé était porteur du gène défectueux et l'a transmis à sa nombreuse descendance. Il existe un test ADN de dépistage.

● L'immunodéficience sévère combinée (SCID).

Elle affecte les poulains de race arabe qui présentent une déficience très prononcée en immunoglobulines et en lymphocytes B et T. Les poulains meurent avant l'âge de 3 mois. Cette maladie est causée par une délétion dans une sous-unité d'un gène de kinase qui produit alors une protéine tronquée inactive. C'est une maladie à déterminisme récessif identique à celle observée chez la souris. Comme pour HYPP, un étalon atteint aurait transmis cette maladie à sa descendance. Un test ADN est disponible.

● Le syndrome léthal overo du poulain blanc (OWLS).

Il atteint la descendance de certains chevaux de couleur pie. Les poulains blancs issus de parents pie « frame overo » meurent en quelques jours de complications dues à l'absence d'innervation végétative intestinale (maladie d'Hirschsprung chez l'homme). Le gène du récepteur à l'endothéline (EDNRB) est connu pour son implication dans la régulation du développement des cellules de la crête neurale qui deviennent les ganglions nerveux mésentériques et les mélanocytes. L'approche « gène candidat » a révélé la présence d'un allèle défavorable (Lys118) dû à une mutation remplaçant une isoleucine par une lysine en position 118 de la protéine endothéline. Un test ADN est disponible.

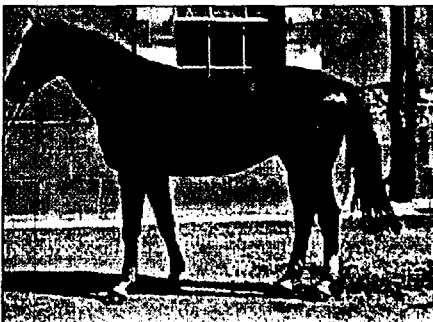


La couleur de la robe

La couleur de robe du cheval constitue un sujet très attractif et beaucoup étudié. Par analogie avec les données génétiques de la coloration de la robe chez la souris, des formules phénotypiques pour la plupart des patrons de coloration sont proposées chez le cheval. Des mutations dans certains gènes ont été identifiées pour plusieurs d'entre elles.

● La couleur alezan

Une approche « gène candidat » a été utilisée pour identifier le gène du récepteur de la mélanocortine 1 (MC1R) comme le gène responsable de la couleur alezan chez les chevaux homozygotes (caractère récessif). Le séquençage du gène révèle une mutation unique d'un nucléotide modifiant la protéine d'un acide aminé. Les chevaux porteurs du gène alezan sont détectés par un simple test ADN.



● Le blanc léthal (OLWS)

La mutation du gène EDNRB (Ile118Lys) provoquant la mort des poulains (voir ci-dessus) est également responsable d'une des couleurs blanches de la robe. Le blanc léthal est un syndrome à caractère récessif rencontré chez les poulains. Jusqu'à présent, tous les parents de ces individus sauf un ont un phénotype pie dit « frame overo ».



● La couleur noire

Suivant une approche « gène candidat », le gène agouti a été identifié comme responsable de la couleur noire des animaux à l'état homozygote (caractère récessif) par S. Rieder dans notre laboratoire. Le séquençage montre une délétion dans la séquence codante du gène modifiant profondément la taille de la protéine agouti, ce qui la rendrait inactive. Un simple test PCR permet d'iden-

tifier les chevaux porteurs de l'allèle « noir ».



La biodiversité

Le grand nombre de marqueurs produits par la cartographie du génome peut, par ailleurs, être utilisé pour estimer la variabilité intra et inter-populations. Le calcul d'index renseigne sur la structure de la population et permet de comparer les races pour une meilleure connaissance de la spécificité de chacune et de son évolution. Certaines études utilisent des marqueurs communs, ce qui permet une comparaison des races au niveau international.

La cartographie du génome équin et la cartographie comparée commencent à fournir des outils d'analyse moléculaire de caractères déterminés génétiquement. Le nombre des caractères détectables par un test ADN est encore faible aujourd'hui, mais va considérablement augmenter dans le futur. Ces tests permettront d'identifier des chevaux porteurs de gènes d'intérêt pour l'élevage.

Les éleveurs, les associations de races, et plus généralement, l'ensemble des acteurs de la filière, pourront ainsi utiliser ces tests moléculaires pour la gestion des élevages et des populations.

G. GUERIN

SOURCE :

Article traduit de celui en anglais présenté par G. Guérin (INRA, Centre de Recherches de Jouy, Laboratoire de Génétique biochimique et de Cytogénétique, 78352 Jouy-en-Josas Cedex, France) à la 51^e réunion de la FEZ (EAAP), La Haye, Pays-Bas, 21 au 21 août 2000.