

C. Les CNV chez le Chien

L'histoire évolutive du Chien (*Canis familiaris*) a été singulière depuis sa domestication il y a plus de 15 000 ans. Il existe plus de 350 races de Chiens toutes génétiquement, et phénotypiquement très diverses tant au niveau morphologique que comportemental. Afin de respecter les standards de race les éleveurs ont sélectionné de manière draconienne les reproducteurs sur leur phénotype. Le nombre de reproducteurs au sein de certaines races étant très faible, la consanguinité peut y être très importante. L'Homme a ainsi créé des groupes d'individus très proches génétiquement, des isolats génétiques, où le polymorphisme est faible. L'homogénéité génétique et phénotypique du Chien, au sein des races, et la diversité et le nombre de races canines en font un bon modèle pour l'étude des maladies génétiques humaines (Lindblad-Toh *et al.*, 2005 ; Karlsson *et al.*, 2007).

Le Chien partage le même environnement que nous, c'est l'animal domestique le plus médicalisé et dont le génome est le mieux annoté, après la Souris (Lindblad-Toh *et al.*, 2005). Si le Chien ne présente pas les facilités et la praticité d'élevage de la Souris ou du Rat, celui-ci présente spontanément plus de 350 maladies héréditaires dont la majorité sont similaires à des maladies humaines (OMIA, www.ncbi.nlm.nih.gov/omia). Chaque race présente quelques maladies génétiques spécifiques. Toutes ces caractéristiques font du Chien un modèle puissant pour les études génétiques.

De nombreux outils sont à disposition des chercheurs en génétique canine. Des cartes d'hybrides d'irradiation (Mellersch *et al.*, 2000 ; Hitte *et al.*, 2005), une séquence de référence du génome d'une résolution de 7,5X (Lindblad-Toh *et al.*, 2005), plus de 2,5 millions de SNP identifiés chez diverses races (Lindblad-Toh *et al.*, 2005), ainsi que des puces de génotypage à haut débit (Karlsson *et al.*, 2007) sont disponibles pour les études de génétique canine.

Les CNV chez le Chien ont jusqu'à maintenant reçu assez peu d'attention, comparativement aux SNP et aux microsatellites. Ces variants contribuent pourtant certainement, chez le Chien, comme chez les autres espèces de mammifères, au polymorphisme au sein des races et entre les races (Chen *et al.*, 2009 ; Nicholas *et al.*, 2009).

Des études avaient suggérées l'implication des CNV dans les particularités phénotypiques de certaines races, comme la ligne dorsale des Rhodesian et Thai ridgebacks (Salmon Hillebertz *et al.*,

2007). La première étude des CNV sur l'ensemble du génome canin a été publiée en février 2009 par Nicholas *et al.* dans *Genome Research*.

Nicholas *et al.* ont recherché les CNV de 17 Chiens de différentes races et d'un loup, par hybridation comparative à haute résolution en prenant comme référence le génome d'un Boxer femelle. Cette étude s'intéressait uniquement aux CNV dans les régions présentant des duplications segmentaires. Nicholas *et al.* ont détecté 3583 CNV dont 1578 duplications et 2005 délétions dans 678 régions distinctes du génome canin. Cette étude montrait que 20% de la séquence des duplications segmentaires était couverte par des CNV. Nicholas *et al.* ont trouvé en moyenne 199 CNV par race, variant de 118 pour le Pointer allemand à 298 pour le Basenji. Soixante huit pourcent des CNV qu'ils ont détectés étaient retrouvés chez au moins deux individus. Le génome du Boxer femelle (appelée Tasha) qui a été séquencé par Lindblad-Toh *et al.* en 2005 a également été comparé au génome de référence utilisé dans cette étude. Les auteurs ont pu détecter 169 CNV dans le génome de Tasha.

Dans cette étude, sur les 460 régions présentant des CNV récurrents (retrouvés chez au moins deux individus testés), 235 présentaient une architecture simple, c'est-à-dire que les points de cassure étaient concordants entre les individus. Les 225 autres régions étaient plus complexes, c'est-à-dire que la localisation des points de cassure variait entre les individus. Vingt régions présentaient des CNV multi-alléliques : pour le même locus, certains individus portaient une délétion, d'autres une duplication, d'autres les deux et d'autres aucun variant.

Cette étude recensait également 9137 duplications segmentaires qui couvraient, d'après leurs résultats, 107Mb soit 4,21% du génome du Chien et affecteraient 841 gènes. Ces résultats étaient proches des résultats trouvés chez l'Homme (Bailey *et al.*, 2004) et chez la Souris (She *et al.*, 2008). Nicholas *et al.* ont observés que ces duplications segmentaires étaient plus souvent intrachromosomiques qu'interchromosomiques, et que les régions péricentromériques et subtélomériques étaient particulièrement riches en duplications segmentaires. Plusieurs études ont montré que les duplications segmentaires présentaient 4 à 20 fois plus de CNV que les autres régions du génome (Iafrate *et al.*, 2004 ; Sebat *et al.*, 2004 ; Sharp *et al.*, 2005 ; Perry *et al.*, 2006 ; Graubert *et al.*, 2007 ; She *et al.*, 2008).

Les CNV que Nicholas *et al.* ont mis en évidence touchaient 429 gènes, ou parties de gènes, impliqués dans des fonctions diverses. Le contenu géniques de ces CNV laissait envisager que certains des variants pouvaient contribuer à la variation phénotypique entre les races et/ou à la différence de sensibilité aux maladies. Par exemple, Nicholas *et al.* ont trouvé que plusieurs gènes impliqués dans le fonctionnement des cytochromes étaient touchés par des CNV. Un de ces gènes, *CYP3A12* (*Cytochrome P450, family 3, subfamily A, number 12*), est impliqué dans le métabolisme hépatique de nombreuses substances médicamenteuses (Schuetz, 2004). Huit Chiens, de races différentes (Lévrier afghan, Labrador, Berger allemand, Rottweiler, Westie, Yorkshire, Boxer et Doberman pinscher) présentaient une délétion partielle de ce gène. Une sensibilité à certaines molécules, telles que les sulfonamides, le carprofène ou l'acépromazine, avait été rapportée pour trois des races qui présentaient la délétion : Doberman pinscher, Labrador et Boxer (Nicholas *et al.*, 2009). De telles observations laissaient suggérer que le nombre de copies du gène *CYP3A12* pourrait avoir un effet sur le métabolisme des médicaments chez le Chien. Une étude d'association entre la présence de CNV dans le gène *CYP3A12* et une sensibilité à des substances médicamenteuses serait nécessaire pour tester cette hypothèse.

Nicholas *et al.* ont également observé que le gène *GCKR* (*Glucokinase regulatory protein*), codant pour une protéine régulatrice de la glucokinase, était situé dans une région très remaniée du génome canin. Ce gène a été associé au diabète de type 2 chez l'Homme (Saxener *et al.*, 2007). Nicholas *et al.* ont suggéré qu'une délétion dans ce gène pourrait être associée à la prédisposition de certaines races au diabète. Une étude plus détaillée serait nécessaire pour tester cette hypothèse. Si un CNV dans le gène *GCKR* s'avérait être associé au diabète dans certaines races, le Chien pourrait servir de modèle d'étude de cette maladie. L'étude des CNV dans cette espèce, comme dans d'autres, pourrait aiguiller les chercheurs sur de nouvelles pistes concernant l'étiologie de certaines maladies complexes encore mal connues.

Chen *et al.* ont réalisé, en 2009, la première cartographie des CNV sur la totalité du génome canin. Ils ont détecté, par hybridation comparative, les CNV de 9 chiens représentatifs de 4 groupes de races : deux bergers, deux chiens asiatiques, deux chiens de chasse et trois mastiffs. Les génomes de ces 9 chiens ont été comparés au génome de référence d'un Boxer. Chen *et al.* ont ainsi pu identifier 155 CNV dans 60 régions distinctes du génome. Les critères d'inclusion des CNV dans cette étude étaient très stringents ce qui expliquait le faible nombre de CNV détectés, par rapport à ce qui était attendu, suite aux résultats publiés par Nicholas *et al.*. Certains CNV étaient spécifiques d'un groupe de races ou d'une race et d'autres communs à plusieurs groupes. Ceci suggérait que

certains variants étaient apparus avant la divergence des races et d'autres plus récemment, après la création de certaines races.

Les 155 CNV touchaient 56 gènes. Ce nombre de gènes touchés, recensés par Chen *et al.*, était très certainement sous-estimé, car tous les gènes du Chien ne sont pas encore connus ou annotés. Néanmoins, Chen *et al.* ont observé que certaines catégories fonctionnelles de gènes telles que celles impliquées dans l'olfaction et l'immunité étaient surreprésentées dans les régions présentant des CNV. De telles observations avaient déjà été effectuées chez la Souris (Cutler *et al.*, 2007 ; Graubert *et al.*, 2007) et chez l'Homme (Redon *et al.*, 2006). Chen *et al.* ont également identifié des CNV qui touchaient des gènes connus pour être impliqués dans des maladies humaines, notamment des cancers. Ils ont, par exemple, détecté chez un Rottweiler une duplication dans le gène *CSMD1*, (*CUB and Sushi multiple domains 1 precursor*), gène potentiellement suppresseur de tumeur chez l'Homme (Muscheck *et al.*, 2000). Les Rottweilers sont particulièrement prédisposés aux cancers, surtout aux ostéosarcomes (Chen *et al.*, 2009). Afin d'étudier plus en détail l'effet de ce variant, Chen *et al.* ont recherché les CNV dans le gène *CSMD1* chez 22 autres Rottweilers : 14 présentaient la duplication. Ils ont également recherché cette duplication chez 29 Chiens d'autres races, aucun ne présentait la duplication. Cette duplication en tandem de 273kb touchait un intron de *CSMD1*. Les auteurs ont étudié le taux de conservation et ont recherché la présence d'éléments de régulation de la région touchée, afin de déterminer si cette duplication pouvait avoir un impact direct sur la fonction du gène *CSMD1*. Ils ont trouvé, dans cette région, 8 zones très conservées au sein des mammifères, dont 5 pouvaient potentiellement contenir des éléments régulateurs. Une de ces régions était un site de liaison potentiel à la protéine p53, suppresseur de tumeur. Si cette duplication touchait effectivement un élément de liaison à p53, elle aurait des chances d'entraîner une altération des voies de régulation du cycle cellulaire. Des études plus détaillées seraient nécessaires pour savoir si ce variant est spécifique du Rottweiler et s'il pourrait être associé à la vulnérabilité accrue de cette race aux cancers.

Chen *et al.* ont également détecté d'autres CNV qui pourraient avoir des conséquences phénotypiques importantes. Par exemple, ils ont identifié un CNV dans le gène *MAGI2*, (*Membrane-associated guanylate kinase inverted 2*), chez un Pointer allemand. Ce gène a été associé à l'épilepsie chez l'Homme (Marshall *et al.*, 2008). Le Pointer allemand est une race très à risque pour l'épilepsie (Slater, 2007). Ce CNV pourrait être intéressant à étudier afin de déterminer son impact précis et son association potentielle à l'épilepsie.

Chen *et al.* ont également détecté, chez trois chiens, un CNV dans le gène *CBD103*, (*Beta defensin 103*), impliqué dans des processus immunitaires, le comportement alimentaire et la couleur du pelage (Candille *et al.*, 2007).

Prouver la causalité de certains variants dans des maladies permettrait d'augmenter le nombre de modèles canins spontanés pour ces maladies.

Le nombre de CNV détecté par animal, dans l'étude de Chen *et al.* (allant de 11 CNV pour le Boxer à 26 CNV pour un Akita, avec en moyenne 18,2 CNV) était similaire au nombre qu'ont trouvé Graubert *et al.* chez la Souris (de 2 CNV chez C57BL/6Tac à 38 CNV chez NOD/LtJ, avec en moyenne 22 CNV par génome). Le nombre de CNV chez la Souris étant similaire voire un peu supérieur à celui de l'Homme (She *et al.*, 2008), Chen *et al.* suggéraient que la prévalence des CNV chez le Chien était comparable à celle de l'Homme. Néanmoins, ces différentes études n'utilisaient pas les mêmes méthodes de détection et d'analyse des CNV, ce qui les rend très difficile à comparer. La stringence des critères d'inclusion des CNV est un élément déterminant des études, au-delà des différentes résolutions des techniques moléculaires utilisées pour détecter les CNV. Suivant les algorithmes utilisés, les résultats varient significativement. Par exemple, les résultats de Nicholas *et al.* (qui trouvaient en moyenne 199 CNV par race, dans les seules duplications segmentaires) laissaient présager un nombre bien plus élevé de CNV sur la totalité du génome. Or Cheng *et al.* en ont identifié 10 fois moins.

Chen *et al.* ont réalisé un arbre phylogénique à partir des CNV qu'ils avaient trouvés. Ils ont observé que le contenu en CNV de chaque race permettait de retracer approximativement l'histoire évolutive des races présentes dans l'étude. Connaître la phylogénie du Chien est cruciale pour sélectionner les races utilisées dans les études génétiques. L'étude de Chen *et al.* suggérait qu'en recensant un plus grand nombre de CNV chez le Chien, il soit possible de construire un arbre phylogénique précis des races. Les insertions et délétions de moins de 1 kb (appelés indels) sont déjà utilisés comme marqueurs génétiques pour étudier les populations de chiens et de loups. Le profil de répartition des CNV, chez le Chien, suggère qu'une partie des variants qui ségrègent au sein des races était déjà présente chez les Chiens fondateurs. Ces variants sont sûrement en déséquilibre de liaison avec les séquences avoisinantes et devraient ainsi être détectables en génotypant les SNP, comme c'est déjà le cas chez l'Homme (Carter, 2007 ; McCarroll, 2008). Le génotypage d'un grand nombre de SNP chez le Chien, pour réaliser des études d'association, devrait pouvoir être utilisé pour détecter les CNV, comme chez l'Homme. La prochaine avancée

technologique serait de cartographier les CNV avec une résolution de 10 kb, chez les races de Chien les plus courantes (Chen *et al.*, 2009).

Une cartographie exhaustive des CNV des différentes races de Chien pourrait apporter un complément avantageux aux SNP, pour les études de génétique canine, et permettra sûrement de mieux comprendre les effets phénotypiques de ces variants, chez le Chien comme chez l'Homme.

L'étude de Nicholas *et al.* était limitée dans la mesure où seuls les CNV associés aux duplications segmentaires ont été identifiés. La détection des CNV dans l'étude de Chen *et al.* était limitée par une sélection très stricte des variants, ce qui augmentait considérablement le nombre de faux négatifs. Dans ces deux études, les CNV d'un seul individu de chaque race ont été recensés, ce qui n'était pas significatif de l'ensemble de la race. D'autres études seront nécessaires afin d'étudier la prévalence des CNV dans l'ensemble du génome canin, au sein des races, et entre les races de Chiens.

De telles études pourraient permettre de mieux connaître de nouvelles variations du génome sous-jacentes à la diversité morphologique, physiologique, comportementale et à la différence de vulnérabilité aux maladies, au sein des races, et entre les différentes races canines.

[MCours.com](https://www.mcourses.com)