

ECOLE NATIONALE VETERINAIRE DE LYON

Année 2009 - Thèse n° 15



L'AMBRE CHEZ LE CHAT DES FORETS NORVEGIENNES, UN MYSTERE RESOLU

THESE

Présentée à l'UNIVERSITE CLAUDE-BERNARD - LYON I
(Médecine - Pharmacie)
et soutenue publiquement le 30 janvier 2009
pour obtenir le grade de Docteur Vétérinaire

par

PETERSCHMITT Marc
né le 5 avril 1983
à Colmar



ECOLE NATIONALE VETERINAIRE DE LYON

Année 2009 - Thèse n° 15



L'AMBRE CHEZ LE CHAT DES FORETS NORVEGIENNES, UN MYSTERE RESOLU

THESE

Présentée à l'UNIVERSITE CLAUDE-BERNARD - LYON I
(Médecine - Pharmacie)
et soutenue publiquement le 30 janvier 2009
pour obtenir le grade de Docteur Vétérinaire

par

PETERSCHMITT Marc
né le 5 avril 1983
à Colmar



DEPARTEMENT ET CORPS ENSEIGNANT DE L'ENVL
Directeur : Stéphane MARTINOT

	PR EX	PR 1	PR 2	ISPV, MC, MC(HC)	Contractuel, Associé, IPAC	Praticiens hospitaliers
DEPARTEMENT SANTE PUBLIQUE VETERINAIRE						
Microbiologie, Immunologie, Pathologie Générale	Y. RICHARD		A. KOUJO	V. GUERIN-FAUBLEE (HC) D. GREZEL		
Pathologie Infectieuse		M. ARTOIS	A. LACHERETZ	J. VIALARD (HC)		
Parasitologie et Maladies Parasitaires	MC. CHAUVÉ	G. BOURDOISEAU		MP. CALLAT-CARDINAL L. ZENNER		
Qualité et Sécurité des Aliments			P. DEMONT C. VERNOZY	A. GONTHIER S. COLARDELLE (ISPV) D. SERGENTET (stagiaire)		
Législation et Jurisprudence			A. LACHERETZ ML. DELIGNETTE	P. SABATIER (HC)		
Bio-Informatique - Bio-statistique				K. CHALVET-MONERAY		
DEPARTEMENT ANIMAUX DE COMPAGNIE						
Anatomie			T. ROGER	S. SAWAYA	C. BOULOCHER	
Chirurgie et Anesthésiologie		J.P. GENEVOIS	D. FAU E. VIGUIER D. REMY	C. CAROZZO K. PORTIER (stagiaire)	S. JUNOT	
Anatomie-pathologique/Dermatologie-Cancérologie			C. FLEURY	T. MARCHAL D. PIN	P. BELL D. WATRELOT-VIREUX	
Hématologie		C. FOURNEL				
Médecine interne		J.L. CADORE	L. CHABANNE	F. PONCE M. HUGONNARD C. ESCRIOU	I. BUBLOT M. PASTOR C. POUZOT (siamu) F. RIGOUT-PAULIK	
Imagerie Médicale						
DEPARTEMENT PRODUCTIONS ANIMALES						
Zootéchnie, Ethologie et Economie Rurale		M. FRANCK		L. MOUNIER	L. COMMUN	
Nutrition et Alimentation				D. GRANCHER (HC) L. ALVES DE OLIVEIRA G. EGRON S. BUFF		
Biologie et Pathologie de Reproduction		F. BADINAND	M. RACHAIL-BRETIN P. GUERIN	R. FRIKHA M.A. ARCANIGLI D. LE GRAND	A. C. LEFRANC	G. LESOBRE P. DEBARNOT P. OTZ
Pathologie Animaux de Production	P. BEZILLE	T. ALOGNINOUIWA				
DEPARTEMENT SCIENCES BIOLOGIQUES						
Physiologie/Thérapeutique			J.M. BONNET-GARIN	J.J. THIEBAULT (HC)		
Biophysique/Biochimie		E. BENOIT F. GARNIER		T. BURONFOSSE		
Génétique et Biologie moléculaire			F. GRAIN P. JAUSSAUD P. BERNY	V. LAMBERT C. PROUILLAC (stagiaire)		
Pharmacie/Toxicologie Législation du Médicament		G. KECK			T. AVISON (IPAC) G. MARTIN (IPAC)	
Langues						
DEPARTEMENT HIPPIQUE						
Pathologie équine	J.L. CADORE			A. BENAMOU-SMITH		
Clinique équine	O. LEPAGE			A. LEBLOND	M. GANGL	

A Monsieur le Professeur LINA
Professeur à la Faculté de Médecine de Lyon

Nous sommes très sensibles à l'honneur que vous
nous avez fait en acceptant la présidence de ce Jury.
Nous vous exprimons notre gratitude et nos hommages respectueux.

A Madame le Docteur LAMBERT
Maître de Conférences à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon

Vous m'avez accordé votre confiance et avez bien voulu guider ce travail.
Veuillez trouver ici le témoignage de ma profonde
reconnaissance et de ma sincère admiration.

A Madame le Professeur GRAIN
Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon

Vous avez bien voulu accepter de faire partie de ce Jury.
Nous sommes très honorés de votre présence.
Soyez-en sincèrement remerciée.

A MES PARENTS,

Qui n'ont jamais douté de mes ambitions et m'ont soutenu dès le départ.

A MES FRÈRES,

Pour tous les moments complices partagés ensemble.

A la mémoire de mon grand-père,

Et aux trois autres toujours présents à mes côtés.

A toute ma famille et tous mes amis du monde vétérinaire ou d'ailleurs.

A Christa UTESCHENY et Michael BALDA qui m'ont beaucoup appris sur cette couleur et qui ont défendu ce projet en Europe.

A tous les autres éleveurs européens de Norvégiens qui m'ont soutenu.

A Christophe Hermeline, photographe animalier et aux autres éleveurs qui m'ont autorisé à utiliser leurs photographies.

Aux administrateurs du LOOF qui ont défendu et partiellement financé cette thèse.

Au personnel du LVD 69 et au Docteur VIALARD pour leur contribution technique, matérielle et financière à ce projet.

Au clan « ambre » en France avec qui nous obtiendrons la reconnaissance de la couleur sur le territoire national.

Aux laboratoires Génindexe et Antagène pour avoir testé gratuitement certains ancêtres pour la GSD IV.

TABLE DES MATIÈRES

TABLE DES MATIÈRES	9
LISTE DES FIGURES	15
LISTE DES PHOTOGRAPHIES	16
LISTE DES TABLEAUX	17
LISTE DES ABRÉVIATIONS	18
INTRODUCTION	21

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE : LA MÉLANOGENÈSE ET SON CONTRÔLE GÉNÉTIQUE CHEZ LE CHAT DES FORÊTS NORVÉGIENNES
--

I. Le Chat des Forêts Norvégiennes	25
A. L'histoire de la race	25
B. Le standard de la race	26
1. Son standard LOOF	26
2. Son standard FIFe	28
C. Les couleurs de robe du Norvégien	29
II. La mélanogenèse	31
A. Le développement du système mélanocytaire	31
1. Origine embryologique	31
2. Migration des précurseurs	31
3. Colonisation de l'épiderme	32
4. Colonisation des follicules pileux	32
5. Différenciation des mélanoblastes en mélanocytes	32
a. Quelques données d'histologie	32
b. Le processus de différenciation	33
6. Destruction des mélanosomes	34
B. Sièges de la mélanogenèse	34
C. Les pigments mélaniques	34
D. La biosynthèse mélanique	35
1. Eumélanogenèse	37
a. La tyrosinase	37
b. Les Tyrosinase Related Protein	37
c. La protéine silver	38
2. Phaeomélanogenèse	38
3. Switch de la mélanogenèse	39
a. Rôle de l' α -MSH	39
b. Contrôle complémentaire	41
E. Pigmentation et cycle de croissance du poil	41
1. Description du cycle pileux	41
2. Mélanogenèse et cycle pileux	43
F. Régulation de la pigmentation cellulaire	43
1. Contrôle hormonal	43
a. Hormones mélanotropes : MSH et mélatonine	43
b. Autres hormones	45
c. Régulation au niveau cellulaire (unité fonctionnelle de mélanisation)	45

2.	Les rayons UV	45
3.	Contrôle génétique	47
	<i>a. Développement de la lignée mélanocytaire</i>	47
	<i>b. Voie de biosynthèses des mélanines</i>	47
	<i>c. Régulation des gènes de la famille des TRP</i>	48
	<i>d. Cofacteur de la tyrosinase</i>	48
	<i>e. Fonction et structure du mélanosome</i>	48
	<i>f. Transport des mélanosomes</i>	48
	<i>g. Type de mélanine produite</i>	48
III.	Le déterminisme génétique de la couleur chez le chat	50
A.	Pigmentation des yeux	50
B.	Pigmentation de la robe	50
1.	Loci <i>A</i> (<i>agouti</i> ou <i>ASIP</i>) et <i>T</i> (<i>tabby</i>): les poils unis, agouti et agouti transformés	50
	<i>a. Déterminisme génétique</i>	50
	<i>b. Phénotype</i>	51
	<i>c. Mode d'action</i>	52
2.	Locus <i>Wb</i> (<i>widebanding</i>)	54
	<i>a. Déterminisme génétique et phénotype</i>	54
	<i>b. Mode d'action</i>	54
3.	Locus <i>I</i> (<i>inhibitor</i>), l'inhibition du dépôt des mélanines	54
	<i>a. Déterminisme génétique et phénotype</i>	54
	<i>b. Mode d'action</i>	55
4.	Locus <i>B</i> (<i>brown</i> ou <i>TYRP1</i>), le type d'eumélanine	55
	<i>a. Déterminisme génétique et phénotype</i>	55
	<i>b. Mode d'action</i>	56
5.	Locus <i>C</i> (<i>colour</i> ou <i>TYR</i>), l'évolution vers l'albinisme	56
	<i>a. Déterminisme génétique et phénotype</i>	56
	<i>b. Mode d'action</i>	57
6.	Locus <i>D</i> (<i>dilution</i>)	57
	<i>a. Déterminisme génétique et phénotype</i>	57
	<i>b. Mode d'action</i>	57
7.	Locus <i>Dm</i> (<i>dilute modifier</i>)	58
	<i>a. Déterminisme génétique et phénotype</i>	58
	<i>b. Mode d'action</i>	58
8.	Locus <i>O</i> (<i>orange</i>)	59
	<i>a. Déterminisme génétique et phénotype</i>	59
	<i>b. Mode d'action</i>	60
9.	Locus <i>S</i> (<i>spotting</i>), les panachures blanches	61
	<i>a. Déterminisme génétique et phénotype</i>	61
	<i>b. Mode d'action</i>	62
10.	Locus <i>W</i> (<i>white dominant</i>), le blanc épistatique	63
	<i>a. Déterminisme génétique et phénotype</i>	63
	<i>b. Mode d'action</i>	63
11.	Le rufisme	63
IV.	Le gène <i>extension</i> ou <i>MC1R</i> codant pour le melanocortin receptor de type 1	65
A.	Etude moléculaire du gène et du récepteur	65
1.	Le gène <i>extension</i>	65
2.	Le récepteur MC1-R humain	66
	<i>a. Structures primaire et tertiaire</i>	67
	<i>b. Structure quaternaire</i>	69
	<i>c. Interactions moléculaires</i>	70
	<i>d. Mutations et conséquences sur la fonction du MC1-R</i>	71
B.	Les mutations du <i>MC1R</i> chez les Vertébrés	72
1.	La souris	72
	<i>a. La robe fauve récessive</i>	72
	<i>b. Les robes noires dominantes</i>	73
2.	Le cobaye	73
3.	Le lapin	73

4.	Le chien	74
	<i>a. La robe fauve récessive</i>	74
	<i>b. Le masque noir dominant</i>	74
5.	Les Félidés	74
6.	L'ours	75
7.	Le renard	75
8.	Les Mustélidés	76
9.	Les Oiseaux	76
	<i>a. Le plumage fauve</i>	76
	<i>b. Le plumage noir dominant</i>	76
10.	Le porc	77
	<i>a. Les robes fauves</i>	77
	<i>b. Les robes noires dominantes</i>	78
11.	Le cheval	78
12.	La vache	78
	<i>a. Les robes fauves</i>	78
	<i>b. La robe noire dominante</i>	80
13.	Le mouton	80
14.	La chèvre	80
15.	Le mammouth	80
16.	L'homme	81
	<i>a. Un gène important dans la pigmentation de l'homme</i>	81
	<i>b. Les différentes mutations décrites</i>	81
17.	Les autres Primates	84

PARTIE EXPÉRIMENTALE : ÉTUDE DE LA COULEUR AMBRE ET DE SON SUPPORT GÉNÉTIQUE

I.	Etude de la couleur ambre	91
A.	Etude généalogique de la couleur ambre	91
1.	Des couleurs classées X à l'ambre	91
	<i>a. Les deux premiers Norvégiens ambre</i>	91
	<i>b. Les autres naissances suspectes</i>	92
	<i>c. La première demande de reconnaissance</i>	93
	<i>d. La reconnaissance de la couleur par la FIFe</i>	94
2.	L'origine du phénomène X-Color	95
	<i>a. Contexte historique</i>	95
	<i>b. Etude généalogique des pedigrees des premiers Norvégiens X-Color</i>	95
3.	Les lignées concernées	97
	<i>a. Niro's Dunder possédait-il l'allèle ?</i>	97
	<i>b. D'où provient cette nouvelle couleur ?</i>	98
	<i>c. Babuschka a-t-elle transmis l'allèle ambre à d'autres descendants ?</i>	99
B.	Etude phénotypique de la couleur ambre	101
1.	Description des principales robes ambre	101
	<i>a. Ambre tabby avec ou sans blanc</i>	101
	<i>b. Ambre clair tabby avec ou sans blanc</i>	103
	<i>c. Ambre avec ou sans blanc</i>	105
	<i>d. Ambre clair avec ou sans blanc</i>	106
2.	Description des robes ambre dérivées	111
	<i>a. Ambre ticked tabby</i>	111
	<i>b. Ambre smoke et ambre silver tabby</i>	112
	<i>c. Ambre tortie et ambre torbie</i>	114
	<i>d. Ambre arlequin et ambre van</i>	115

C. Etude du déterminisme génétique de la couleur ambre	116
1. Déterminisme monogénique récessif	116
2. Déterminisme autosomal	117
3. Interactions entre l'allèle <i>ambre</i> et les autres gènes de couleur du chat	117
D. Analyse critique des hypothèses envisagées pour l'ambre	118
1. Les Norvégiens ambre sont-ils écaillé ?	118
2. Est-ce le fruit du rufisme ?	118
3. Serait-ce la couleur chocolat/lilas ?	119
4. Ou bien cinnamon/fawn ?	119
a. <i>Le premier mariage test</i>	120
b. <i>Les mariages-tests suivants</i>	120
5. Pourquoi pas la couleur golden shaded ?	121
6. Ou la couleur caramel ?	122
7. S'agit-il de glitter ?	123
a. <i>Le tip transparent</i>	123
b. <i>Norvégiens et Bleus Russes</i>	123
c. <i>Origine du tip transparent chez le Norvégien ambre</i>	124
8. La couleur ambre correspond-t-elle à une nouvelle mutation au locus <i>agouti</i> ?	124
II. Identification du support génétique de la couleur ambre	126
A. Matériel	126
1. Echantillons	126
2. Matériel expérimental	127
a. <i>Les amorces</i>	127
b. <i>Kits d'extraction et réactifs</i>	127
B. Méthode	127
1. Prélèvements sanguins et pileux	127
2. Extraction de l'ADN génomique	128
a. <i>Extraction manuelle à partir du sang</i>	128
b. <i>Extraction manuelle à partir du poil</i>	128
3. Amplification génique du <i>MC1R</i> félin	128
a. <i>Préparation du mélange réactionnel (MIX) et ajout de l'ADN</i>	128
b. <i>Nested PCR et semi-nested PCR</i>	129
c. <i>Réaction de polymérisation</i>	130
d. <i>Electrophorèse sur gel d'agarose</i>	130
4. Séquençage moléculaire	130
5. PCR-RFLP	131
6. Modélisation	131
C. Résultats	132
1. Amplification génique du <i>MC1R</i> félin	132
2. Séquençage	133
3. PCR-RFLP	135
4. Modélisation	137
III. Discussion : le gène <i>extension</i> et le phénotype ambre	139
A. Le gène <i>MC1R</i> félin	139
B. La substitution p.250G>A, origine du phénotype ambre	139
1. Choix des individus testés	139
2. p.Asp84Asn dans le second domaine transmembranaire	142
a. <i>Les acides aminés en présence</i>	143
b. <i>L'acide aspartique 84</i>	144
c. <i>Implication du deuxième domaine dans la fixation de l'α-MSH</i>	145
d. <i>Recherches complémentaires</i>	146
C. La mutation <i>ambre</i> dans la mélanogenèse	147
1. La couleur ambre peut-elle correspondre à une mutation <i>e</i> ?	147
2. Interactions probables entre un allèle <i>e</i> et les autres gènes de couleur de robe chez le chat	148
a. <i>Loci <i>agouti</i> et <i>tabby</i></i>	148
b. <i>Locus <i>brown</i></i>	149

<i>c. Locus colour</i>	150
<i>d. locus dilution</i>	150
<i>e. Locus inhibitor</i>	150
<i>f. Locus spotting</i>	151
<i>g. Locus white dominant</i>	151
<i>h. Locus widebanding</i>	151
<i>i. Locus orange</i>	151
<i>j. Glitter</i>	151
D. La couleur ambre est-elle spécifique de la race du Norvégien ?	152
E. Crise du X-Color dans le monde du Norvégien	154
1. La race et ses couleurs	154
<i>a. Un peu d'histoire</i>	154
<i>b. Les craintes engendrées par les novices</i>	154
2. Absence de sélection sur la couleur ?	155
3. Enjeux du phénomène X-Color en Europe	155
<i>a. Incidence de Kløfterhagens Babuschka dans les pedigrees européens</i>	155
<i>b. L'illogisme de la situation</i>	155
4. Evolution des opinions en France	156
5. Demande de reconnaissance de la couleur ambre par le LOOF	156
<i>a. Enjeu de cette couleur sur le territoire français</i>	157
<i>b. Plan d'élevage de la couleur en France</i>	157
<i>c. Les difficultés à venir</i>	158
F. Ambre et Glycogen Storage Disease de type IV	158
1. La glycogénose du Norvégien (ou GSD IV)	158
<i>a. Tableau clinique</i>	158
<i>b. Pathogénie</i>	159
<i>c. Historique de la glycogénose aux Etats-Unis</i>	160
2. Apparition de la GSD IV dans des lignées de Norvégien ambre	161
3. Campagne de dépistage et stratégie d'éradication	162
<i>a. Rappels</i>	162
<i>b. Résultats de la campagne de dépistage</i>	162
<i>c. Stratégie d'éradication</i>	163
4. Etudes généalogiques	164
CONCLUSION	167
BIBLIOGRAPHIE	169
ANNEXES	179
ANNEXE 1 : Etat civil des chats présentés en photographie	180
ANNEXE 2 : Les acides aminés, leurs caractéristiques et la nomenclature internationale	182
ANNEXE 3 : Les premiers Norvégiens X-Color nés entre 1992 et 1998	183
ANNEXE 4 : Séquence de l'allèle sauvage du <i>MC1R</i> et du <i>MC1-R</i> félins	184
ANNEXE 5 : Article sous presse dans la revue <i>Animal Genetics</i>	185
ANNEXE 6A : Les 20 échantillons analysés par PCR-SEQUENÇAGE (954bp)	198
ANNEXE 6B : Echantillons analysés par PCR-RFLP associé (Bst XI, couple s1/as4)	199
ANNEXE 7A : Extraction manuelle de l'ADN avec le kit NucleoSpin Blood® Quick Pure, Macherey Nagel	201
ANNEXE 7B : Extraction manuelle de l'ADN avec le kit NucleoSpin Tissue® XS, Macherey Nagel	202
ANNEXE 7C : Réactifs utilisés pour la PCR, la PCR-RFLP et l'électrophorèse de contrôle	203
ANNEXE 8 : Notice explicative envoyée aux éleveurs pour réaliser le prélèvement de poils	204
ANNEXE 9 : Population des chats dont le <i>MC1R</i> a été séquencé par Eizirik <i>et al.</i> (2003)	205
ANNEXE 10 : Alignement de séquences protéiques du <i>MC1-R</i> dans la région du 2 ^{ème} domaine transmembranaire	206
ANNEXE 11 : Quelques opinions d'éleveurs francophones de Norvégiens face au phénomène X-Color	212
ANNEXE 12A : Analyse du pedigree de D*Jasmin vom Waldfrieden	215
ANNEXE 12B : Analyse du pedigree de D*Olympia Edle von Rada	216

LISTE DES FIGURES

<u>Figure 1</u> : Les voies de migration des cellules de la crête neurale dans le tronc	31
<u>Figure 2</u> : Formation d'un bulbe pileux	32
<u>Figure 3</u> : Représentation de l'ultrastructure d'un mélanocyte	33
<u>Figure 4</u> : Formation des mélanosomes	33
<u>Figure 5</u> : Unité de mélanisation	34
<u>Figure 6</u> : Biosynthèse des mélanines	36
<u>Figure 7</u> : Structure de la tyrosinase	37
<u>Figure 8</u> : Bilan de la biosynthèse des mélanines	39
<u>Figure 9</u> : Voie de transduction de l' α -MSH	40
<u>Figure 10</u> : Conséquences possibles d'un MC1-R muté	40
<u>Figure 11</u> : Antagonisme compétitif de la protéine agouti	41
<u>Figure 12</u> : Cycle du follicule pileux	42
<u>Figure 13</u> : Les différents stimuli agissant sur le mélanocyte	43
<u>Figure 14</u> : Mode d'action des MSH sur le mélanocyte	44
<u>Figure 15</u> : Régulation de l'expression du MC1-R et de la réponse intracellulaire	46
<u>Figure 16</u> : Gènes intervenant dans la synthèse des mélanines	49
<u>Figure 17</u> : Différentes possibilités de répartition des mélanines dans le poil félin	51
<u>Figure 18</u> : Différents patrons possibles au locus <i>T</i>	52
<u>Figure 19</u> : Relation entre la répartition des mélanines et le locus <i>I</i>	55
<u>Figure 20</u> : Relation entre la répartition phaeomélanine/trichochrome et le gène <i>orange</i>	59
<u>Figure 21</u> : Variabilité de l'extension des panachures blanches chez le chat	61
<u>Figure 22</u> : Représentation de la rhodopsine bovine	66
<u>Figure 23</u> : Modélisation 3D de la rhodopsine avec le programme Molscript	67
<u>Figure 24</u> : Représentation du MC1-R humain	68
<u>Figure 25</u> : Représentation du MC1-R bovin codé par la mutation <i>e</i>	79
<u>Figure 26</u> : Polymorphismes identifiés dans le MC1-R humain	82
<u>Figure 27</u> : Principales mutations de type <i>e</i> répertoriées chez les espèces animales et l'homme	86
<u>Figure 28</u> : Principales mutations de type <i>E^D</i> répertoriées chez les espèces animales	88
<u>Figure 29</u> : Premier mariage à avoir donné naissance à des chatons ambre	92
<u>Figure 30</u> : Etude généalogique des premières naissances X-Color	96
<u>Figure 31</u> : Analyse du pedigree de <i>S*Wildwood's Imer</i>	97
<u>Figure 32</u> : Analyse généalogique de la descendance de Kløfterhagens Babuschka	100
<u>Figure 33</u> : Résultat du premier mariage-test	120
<u>Figure 34</u> : Résultat du troisième mariage-test	121
<u>Figure 35</u> : Position des différentes amorces sur le <i>MC1R</i> du chat domestique	127
<u>Figure 36</u> : Couples d'amorces utilisés pour la réalisation des nested PCR	129
<u>Figure 37</u> : Exemple de couples d'amorces utilisés pour la réalisation des semi-nested PCR	129
<u>Figure 38</u> : Visualisation sur gel d'agarose d'amplifiats obtenus par quelques couples d'amorces	132
<u>Figure 39</u> : Alignement des nucléotides 801 à 850 du <i>MC1R</i> de 8 individus génotypés et de la séquence AY237395	133
<u>Figure 40</u> : Electrophorégramme partiel d'un individu homozygote c.250AA, ambre (région du 250 ^{ème} nucléotide)	133
<u>Figure 41</u> : Alignement des nucléotides 226 à 275 du <i>MC1R</i> de 15 individus génotypés et de la séquence AY237395	134
<u>Figure 42</u> : Electrophorégramme partiel d'un individu homozygote c.250GG, sauvage (région du 250 ^{ème} nucléotide)	134
<u>Figure 43</u> : Alignement des acides aminés 70 à 121 déduits de 15 <i>MC1R</i> séquencés et de la séquence Q865E9	134
<u>Figure 44</u> : Electrophorégramme partiel d'un individu hétérozygote c.250GA (région du 250 ^{ème} nucléotide)	135
<u>Figure 45</u> : Coupure obtenue avec les enzymes de restriction Bst XI et Hpy 188I	135
<u>Figure 46</u> : Visualisation sur gel d'agarose des fragments obtenus par PCR-RFLP	136
<u>Figure 47</u> : Modélisation des récepteurs félins sauvage (A) et mutant (B)	138
<u>Figure 48</u> : Analyse généalogique des échantillons issus de Norvégiens de la lignée suédoise	140
<u>Figure 49</u> : Analyse généalogique des échantillons issus de Norvégiens de la lignée allemande	141
<u>Figure 50</u> : Analyse généalogique des échantillons issus de Norvégiens de la lignée hollandaise	141
<u>Figure 51</u> : Principales mutations décrites entre les 4 premiers domaines du MC1-R chez les Vertébrés	142
<u>Figure 52</u> : Représentation stéréochimique de l'asparagine, des acides aspartique et glutamique	143
<u>Figure 53</u> : Alignement protéique encadrant le 2 ^{ème} domaine transmembranaire du MC1-R pour 23 GPCR	144
<u>Figure 54</u> : Représentation stéréochimique de la méthionine, de la valine et de la leucine	146
<u>Figure 55</u> : Robes similaires à l'ambre dans les autres races félines	152
<u>Figure 56</u> : Conséquences biochimiques de la mutation <i>GBE1</i> sur le métabolisme du glycogène	159
<u>Figure 57</u> : Pedigree de <i>D*Jarl av Trollsfjord</i>	160
<u>Figure 58</u> : Pedigree de <i>N*Nano ur Skogi</i>	161

LISTE DES PHOTOGRAPHIES

<u>Photographie 1</u> : Jeune mâle Norvégien brown mackerel tabby et blanc	27
<u>Photographie 2</u> : Mâle Norvégien adulte black smoke et blanc	27
<u>Photographie 3</u> : Jeune mâle Norvégien red mackerel tabby et blanc	27
<u>Photographie 4</u> : Chaton femelle ambre tabby avec blanc âgée de 7 jours	101
<u>Photographie 5</u> : Chaton femelle ambre tabby avec blanc âgée de 3 mois	102
<u>Photographie 6</u> : Norvégienne ambre tabby avec blanc âgée de 8 mois	102
<u>Photographie 7</u> : Norvégienne ambre tabby avec blanc âgée de 18 mois	102
<u>Photographie 8</u> : Chaton femelle ambre clair tabby avec blanc âgée de 7 jours	103
<u>Photographie 9</u> : Chaton mâle ambre clair tabby avec blanc âgé de 2 mois	103
<u>Photographie 10</u> : Norvégien ambre clair tabby avec blanc âgé de 8 mois	104
<u>Photographie 11</u> : Norvégien ambre clair tabby avec blanc âgé de 18 mois	104
<u>Photographie 12</u> : Norvégienne ambre clair tabby âgée de 6 ans	104
<u>Photographie 13</u> : Chaton mâle ambre solid âgé de 7 jours	105
<u>Photographie 14</u> : Chaton mâle ambre solid âgé de 2 mois	105
<u>Photographie 15</u> : Norvégien ambre solid âgé de 16 mois	106
<u>Photographie 16</u> : Norvégienne ambre solid âgée de 10 mois	106
<u>Photographie 17</u> : Robes ambre tabby et ambre solid sur deux chattes âgées de 8 mois	106
<u>Photographie 18</u> : Chaton mâle ambre clair solid âgé de 21 jours	107
<u>Photographie 19</u> : Chaton mâle ambre clair solid âgé de 4 mois	107
<u>Photographie 20</u> : Norvégien ambre clair solid âgé de 9 mois	108
<u>Photographie 21</u> : Norvégien ambre clair solid âgé de 24 mois	108
<u>Photographie 22</u> : Norvégienne ambre clair solid avec blanc âgée de 6 ans	108
<u>Photographie 23</u> : Adulte ambre tabby	109
<u>Photographie 24</u> : Adulte golden tabby	109
<u>Photographie 25</u> : Adulte ambre solid	109
<u>Photographie 26</u> : Chaton mâle ambre tabby âgé de 2 mois	109
<u>Photographie 27</u> : Chaton mâle golden tabby âgé de 3 mois	109
<u>Photographie 28</u> : Chaton femelle ambre solid âgée de 2 mois	109
<u>Photographie 29</u> : Coussinets d'un chaton ambre tabby âgé de 2 mois	110
<u>Photographie 30</u> : Coussinets d'un chaton ambre tabby âgé de 5 mois	110
<u>Photographie 31</u> : Coussinets d'un chaton ambre solid âgé de 2 mois	110
<u>Photographie 32</u> : Racine des poils d'un chaton ambre solid âgé 2 mois	111
<u>Photographie 33</u> : « M » tabby d'un chaton ambre tabby âgée de 2 mois	111
<u>Photographie 34</u> : Norvégienne adulte ambre ticked tabby	111
<u>Photographie 35</u> : Norvégiens ambre smoke avec blanc (A) et ambre silver tabby (B)	112
<u>Photographie 36</u> : Norvégienne ambre clair silver tabby avec blanc âgée de 8 mois	112
<u>Photographie 37</u> : Norvégien ambre smoke âgé de 12 mois	113
<u>Photographie 38</u> : Norvégienne ambre clair smoke avec blanc âgée de 8 mois	113
<u>Photographie 39</u> : Norvégiennes ambre smoke avec blanc (A) et ambre clair smoke avec blanc (B)	113
<u>Photographie 40</u> : Chaton femelle ambre silver torbie avec blanc âgée de 2 mois	114
<u>Photographie 41</u> : Norvégienne ambre silver torbie avec blanc âgée de 12 mois	115
<u>Photographie 42</u> : Norvégienne ambre clair tortie smoke âgée de 6 mois	115
<u>Photographie 43</u> : Chaton femelle ambre tabby arlequin âgée de 1 mois	115
<u>Photographie 44</u> : Norvégienne ambre tabby arlequin âgée de 8 mois	115
<u>Photographie 45</u> : Chaton mâle « golden tabby » avec blanc âgé de 7 jours	116
<u>Photographie 46</u> : Norvégien « golden tabby » avec blanc âgé de 8 mois	116
<u>Photographie 47</u> : Un poil ambre tabby en microscopie optique	119

LISTE DES TABLEAUX

<u>Tableau 1</u> : Le standard FIFe du Chat des Forêts Norvégiennes	28
<u>Tableau 2</u> : Caractéristiques génétiques des robes « caramel » et abricot	58
<u>Tableau 3</u> : Description des robes caramel et abricot	58
<u>Tableau 4</u> : Proportions théoriques obtenues dans les mariages faisant intervenir le gène <i>orange</i>	59
<u>Tableau 5</u> : Relation entre la surdité et la couleur des yeux chez le chat blanc	63
<u>Tableau 6</u> : Principaux gènes et leurs actions dans la coloration de la robe du chat	64
<u>Tableau 7</u> : Structure moléculaire de l'��-MSH de différentes espèces	70
<u>Tableau 8</u> : Couleurs de robe et interactions entre les allèles des gènes <i>agouti</i> et <i>extension</i> chez le renard	75
<u>Tableau 9</u> : Dépistage d'un cheptel bovin pour la série <i>extension</i>	79
<u>Tableau 10</u> : Principales mutations de type <i>e</i> répertoriées chez les espèces animales et l'homme	85
<u>Tableau 11</u> : Principales mutations de type <i>E^D</i> répertoriées chez les espèces animales	87
<u>Tableau 12</u> : Evolution du phénomène X-Color en Europe dans les années 90	93
<u>Tableau 13</u> : Etude comparative de la descendance de Kl��fterhagens Babuschka et de Niro's Dunder	98
<u>Tableau 14</u> : Description phénotypique de la couleur ambre tabby	101
<u>Tableau 15</u> : Description phénotypique de la couleur ambre clair tabby	103
<u>Tableau 16</u> : Description phénotypique de la couleur ambre	105
<u>Tableau 17</u> : Description phénotypique de la couleur ambre clair	107
<u>Tableau 18</u> : Phénotypes obtenus lors des différents types de mariage réalisé	116
<u>Tableau 19</u> : Phénotypes et génotypes des chatons nés du 3��me mariage test	121
<u>Tableau 20</u> : Principales mutations murines donnant une robe jaune dominante	124
<u>Tableau 21</u> : Bilan des échantillons félins dont le <i>MC1R</i> a été étudié	126
<u>Tableau 22</u> : Composition finale du mélange réactionnel	129
<u>Tableau 23</u> : Paramètres optimisés du protocole d'amplification	130
<u>Tableau 24</u> : Concentration en MgCl ₂ et température d'hybridation optimales pour chaque couple d'amorces	130
<u>Tableau 25</u> : Protocole RFLP utilisé pour chaque enzyme de restriction	131
<u>Tableau 26</u> : Bilan du nombre de PCR-s��qu��n��ages et de PCR-RFLP réalisés	132
<u>Tableau 27</u> : Taille attendue des fragments avec les différents couples d'amorces utilisés	132
<u>Tableau 28</u> : Taille des fragments obtenus par RFLP selon l'enzyme de restriction utilisée	136
<u>Tableau 29</u> : Couleurs des 33 chats ambre étudiés (1)	137
<u>Tableau 30</u> : Couleurs des 33 chats ambre étudiés (2)	137
<u>Tableau 31</u> : Population des chats dont le <i>MC1R</i> a été séquéncé par Eizirik <i>et al.</i> (2003)	139
<u>Tableau 32</u> : Résultats théoriques attendus lors d'un mariage entre deux chats porteurs de GSD IV	162
<u>Tableau 33</u> : Prévalence théorique de la GSD IV dans différentes populations de Norvégiens européens	162
<u>Tableau 34</u> : Etude des pedigrees de Jasmin v. Waldfrieden et Olympia Edle v. Rada	165

LISTE DES ABRÉVIATIONS

AIDS : Association Internationale de Défense du Skogkatt
AA : Acide Aminé
bp : paire de base (nucléotide)
BET : Bromure d'ETHidium
CCFN : Club du Chat des Forêts Norvégiennes
CFA : Cat Fancy Association
ddNTP : 2',3' di-désoxyribonucléotide
DEKZV eV : Deutscher Edelkatzenzüchter Verband e.V. (club FIFe allemand)
DHI : 5,6-dihydroxyindole
DHICA : 5,6-dihydroxyindole-2-carboxylic acid
DOPA : 3,4-dihydroxyphénylalanine
EL : Extracellular Loop = boucle extracellulaire
EMS (code) : Easy Mind System
FFF : Fédération Féline Française
FIFe : Fédération Internationale Féline
GC% : pourcentage en nucléotides G et C (guanine et cytosine)
GPCR : Récepteur couplé à une protéine G
IBCP : Institut de Biologie et de Chimie des Protéines
IL : Intracellular Loop = boucle intracellulaire
LOOF : Livre Officiel des Origines Félines
LVD 69 : Laboratoire Vétérinaire Départemental du Rhône
MC1R (gène) ou MC1-R (protéine) : Melanocortin Receptor de type 1
MIX : mélange réactionnel
MSH : Melanocyte Stimulating Hormone
MSH-R : Melanocyte Stimulating Hormone Receptor
NFC : Norwegian Forest Cat
NFO : Norwegian Forest cat (code EMS attribué au Chat Norvégien dans le standard FIFe)
NRR : Norske Rasekattklubbens Riksforbund
nt : nucléotide
PCR : Réaction de Polymérisation en Chaîne
Pmel17 : Pre-melanosomal protein 17
RFLP : Polymorphisme de Longueur des Fragments de Restriction
RHC : Red Hair Colour
SNP : Single Nucleotide Polymorphism
SVERAK : SVEriges KAttklubbars Riksförbund
TBE : Tris Borate EDTA
TICA : The International Cat Association
T_m : température de fusion
TM : domaine TransMembranaire
TRP : Tyrosinase Related Protein
TYR (gène) et TYR (protéine) : tyrosinase
TYRP1 (gène) et TRP-1 (protéine) : Tyrosinase Related Protein de type 1
TYRP2 (gène) et TRP-2 (protéine) : Tyrosinase Related Protein de type 2
WCF : World Cat Federation
α-MSH : alpha-Melanocyte Stimulating Hormone
β-MSH : beta-Melanocyte Stimulating Hormone
γ-MSH : gamma-Melanocyte Stimulating Hormone

INTRODUCTION

Le Chat des Forêts Norvégiennes, race de tous les paradoxes. Ce géant venu du froid au comportement de feu, mi-fée et mi-viking fait partie des **racés émergentes** dans les pays européens. En France il se place dans le top cinq du nombre de naissances, derrière le traditionnel Persan, les Chartreux et Sacrés de Birmanie, deux races typiquement françaises et le Maine Coon, son « cousin » américain. Malgré une présence grandissante en exposition, il gagnerait à être mieux connu du grand public. N'étant pas doté d'un profil écrasé, d'une robe colourpoint ou bleue, ce chat reste beaucoup trop souvent confondu avec un simple matou à poil long parce qu'il n'a pas de trait ou de couleur distinctifs, facilement et rapidement reconnaissables pour les personnes non averties.

Pourtant cette race présente de nombreuses particularités et manifeste depuis quelques années une **couleur de robe exclusive** à laquelle on a attribué la dénomination publicitaire de **X-Color**. Renommée « **ambre** » en 2005, cette couleur si particulière au niveau des nuances et de son évolution n'a pas encore trouvé d'équivalent parmi les autres races félines.

Passionné de félinotechnie et plus particulièrement du Chat des Forêts Norvégiennes, le phénomène X-Color et ses polémiques m'ont interpellé dès 2004. Les premiers contacts avec les chats Norvégiens ambre et avec Christa Utescheny, éleveuse pionnière de cette couleur en Allemagne (chatterie vom Arlesbrunnen), m'ont définitivement convaincu qu'il ne s'agissait pas ici d'une couleur déjà décrite dans les autres races, mais d'un **phénotype bien distinct avec des particularités n'ayant jamais été rapportées**.

Les différentes caractéristiques du phénotype ambre et son déterminisme génétique ont ainsi pu être étudiés lors de déplacements en France et en Allemagne dans des chatteries élevant des spécimens ambre. L'étude phénotypique a été approfondie chez une chatte dont la robe combine l'ambre à la dilution et au silver grâce à l'observation, dès l'âge de 4 mois, de l'évolution particulière de cette couleur avec l'âge, mais également par le suivi de sa première portée née le 11 novembre 2008.

Animal pionnier dans l'étude de la pigmentation, la souris ne compte pas moins de 127 loci, comportant plus de 800 mutations affectant la mélanogenèse (Bossé, 2005) : un grand nombre d'entre elles ont trouvé des homologues chez l'homme et les autres espèces animales. La pigmentation normale résulte d'une succession d'étapes génétiquement contrôlées qui peuvent être bloquées lors de mutations et induire une anomalie pigmentaire. Les observations de la couleur ambre ont ainsi été confrontées à celles rapportées chez la **souris**, support de prédilection pour l'étude de la pigmentation chez les Mammifères.

Comparable aux couleurs « **fauves récessives** » décrites dans d'autres espèces animales, l'ambre ne semble s'exprimer que dans les **mélanocytes folliculaires** mais pas dans les mélanocytes épidermiques (peau et annexes) : ceci nous a orienté vers l'hypothèse d'un **gène candidat**, le gène *extension* codant pour le **melanocortin receptor de type 1** c'est-à-dire le **récepteur de la melanocortine de type 1 (MC1-R)** pour lequel de nombreuses mutations sont décrites dans toutes les classes de Vertébrés mais dont aucune n'a encore été officiellement identifiée chez le chat.

Après avoir rassemblé une vaste collection d'échantillons sanguins et/ou pileux issus de **toutes les lignées européennes de Norvégiens ambre** (descendants des premiers X-Color), nous avons étudié par séquençage puis par PCR-RFLP le gène *extension* de ces Norvégiens homozygotes ou hétérozygotes pour la couleur ambre. Ces travaux ont été réalisés au sein du

Laboratoire Vétérinaire Départemental du Rhône (LVD 69) à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon, en partie grâce au soutien financier accordé par le **LOOF**, Livre Officiel des Origines Félines du chat de race en France. Suite à ce travail, un **test de dépistage** génétique pour la mutation *ambre* proposé par le LVD 69 est à disposition des éleveurs, constituant un outil appréciable afin de faciliter et d'accélérer la sélection dans cette couleur en Europe. Cette recherche s'est également concrétisée par un **article sous presse** dans la revue *Animal Genetics*.

En identifiant une mutation du gène *extension* ségrégant avec la couleur ambre, ces travaux ont coupé court aux polémiques d'éleveurs qui expliquaient l'apparition de cette couleur chez le Norvégien par des mariages clandestins avec d'autres races. La réalisation du **dossier de demande de reconnaissance** de la couleur ambre dans le standard LOOF du Chat des Forêts Norvégiennes a été assurée en contrepartie du soutien financier accordé par le LOOF. Ce dossier a été remis aux intéressés en juillet 2008.

Dans cette même optique, l'élaboration d'un **plan d'élevage raisonné** de cette couleur en France est l'objet de travaux au sein d'un groupe d'éleveurs français. Les relations privilégiées instaurées avec Christa Utescheny et ses collaborateurs allemands ont permis de guider l'importation en France de très beaux Norvégiens ambre choisis pour leur phénotype et pour leur pedigree. Ces Norvégiens constitueront les premières bases de notre travail d'élevage en France.

Au cours de cette aventure, j'ai été confronté à un autre sujet délicat : la **Glycogénose de type IV (ou GSD IV)**. Il s'agit d'une maladie métabolique de stockage héréditaire spécifique à la race du Chat des Forêts Norvégiennes, décrite pour la première fois aux Etats-Unis (Fyfe *et al.* 1992) et qui a été ignorée en Europe presque jusqu'en 2007. Deuxième axe de ce travail au cours des vingt derniers mois, une action préventive de dépistage a pu être menée. En contact avec le Professeur Fyfe qui décrit la mutation en 1992, j'ai personnellement contribué à cette campagne de dépistage au niveau européen en qualité de vétérinaire conseil et en encadrant les études généalogiques des lignées concernées.

Ce travail est articulé en deux parties. La première partie présente la race du Chat des Forêts Norvégiennes, puis nous abordons les voies métaboliques de la **mélanogenèse** et son **contrôle génétique** depuis l'embryogenèse jusqu'à la pigmentation d'un chat adulte. Les différentes couleurs de robe connues à ce jour chez le chat sont présentées en soulignant celles qui sont autorisées par le standard de la race. Enfin, une étude spécifique du gène *extension* et de la protéine codée par ce gène, le **MC1-R** ou **melanocortin receptor de type 1** chez les Vertébrés fait l'objet d'un dernier point.

Dans un second temps, une étude complète du **phénotype** « ambre », de son **déterminisme génétique** et de son **origine généalogique** est présentée, pour finalement décrire les travaux expérimentaux qui ont permis de **déterminer le support génétique** de cette couleur chez le Chat des Forêts Norvégiennes. La discussion porte sur les résultats obtenus et envisage l'avenir de la couleur ambre dans la race du Chat des Forêts Norvégiennes en France et en Europe.

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

LA MÉLANOGENÈSE ET SON CONTRÔLE GÉNÉTIQUE CHEZ LE CHAT DES FORÊTS NORVÉGIENNES

I. Le Chat des Forêts Norvégiennes

C'est en **1949**, plusieurs années après la première exposition féline de Londres en 1871, que la **Fédération Internationale Féline (FIFe)** a été créée, regroupant initialement la France, la Belgique, la Hollande, la Suisse, le Danemark, la Suède, la Norvège, l'Italie, l'Autriche et l'Allemagne. Elle est aujourd'hui présente dans **40 pays**, ses missions principales sont la mise en place de règlements d'exposition unifiés, l'adoption de standards uniques, la gestion des livres d'origines et la formation de juges.

D'autres fédérations félines virent le jour en Europe comme la **WCF** (World Cat Federation) et aux Etats-Unis avec la **TICA** (The International Cat Association) ou la **CFA** (Cat Fancy Association). Par ailleurs chaque pays a vu naître des clubs surnommés les « **Indépendants** » qui ont créé leurs propres règles en dehors des fédérations félines citées précédemment. **Plusieurs livres d'origine peuvent donc coexister dans un même pays.**

Face à cette « jungle désorganisée », l'Europe a souhaité une rationalisation du monde félin parmi ses états membres et a voté une Directive Européenne imposant à chaque membre de choisir un organisme institutionnel, ou livre des origines, seul agréé à distribuer les pedigrees des chats de race nés sur le territoire national. **Le gouvernement français a appliqué cette directive en créant le LOOF ou Livre Officiel des Origines Félines par la loi du 6 janvier 1999.** Tout chat de race né en France après cette date doit posséder un pedigree LOOF pour être reconnu comme individu de race sur le territoire français. En parallèle, les éleveurs français peuvent également adhérer à d'autres associations félines comme la **FFF** ou Fédération Féline Française régie par les règles de la FIFe et demander des pedigrees complémentaires du pedigree LOOF. **Un chat de race né en France peut donc recevoir un pedigree FIFe, mais pour être reconnu comme chat de race en France, il doit avant tout être muni d'un pedigree LOOF.** Outre la distribution des pedigrees, le LOOF a aussi été créé pour promouvoir le chat de race en France, gérer les standards félins (dont les couleurs de robe) et le livre des affixes¹, former et agréer les juges, contrôler les expositions félines et valider les titres obtenus à cette occasion (Paragon *et al.*, 2000).

A. L'histoire de la race (Paragon & Vaissaire, 2003 ; Platz, 2006)

Le chat Norvégien est connu sous **plusieurs appellations**, on parle plus communément de Norvégien, de Chat des Forêts Norvégiennes ou encore de Chat des Bois Norvégiens. Certains se plaisent à conserver les noms autochtones d'origine, le Skogkatt ou le Norsk Skogkatt ou à utiliser des **abréviations**, NFC (Norwegian Forest Cat) ou NFO (Norwegian FOrest cat). NFO est l'abréviation attribuée à la race du Norvégien dans le code international EMS de la FIFe.

Le Norvégien a des origines **naturelles** et **anciennes** comme en attestent la mythologie scandinave et l'histoire des Vikings. Ce n'est que dans les années **1930** que les premiers passionnés réalisèrent l'originalité de ce robuste chat autochtone vivant dans les fermes et les forêts scandinaves. Pour préserver sa fourrure et son type des mésalliances avec les chats à poils courts, une sélection s'imposa mais fut interrompue par la 2^{nde} Guerre Mondiale et comme de nombreuses races, le Norvégien risqua l'extinction durant cette période.

Le premier standard fut rédigé en 1972, année de reconnaissance de la race en Norvège. **La FIFe n'a reconnu officiellement la race qu'en 1977**, lors de son Assemblée Générale à Paris. A

¹ Les affixes correspondent au nom des différents élevages (comparables à un nom de famille).

cette occasion, le chat Norvégien Pans Truls est présenté comme modèle pour l'écriture du standard FIFe. Ce standard a depuis été réajusté à trois reprises au gré des modes et pour éviter toute confusion avec le Maine Coon : le standard du Norvégien actuel ne correspond donc plus tout à fait à celui de Pans Truls.

Les premiers chats d'élevage sont appelés « **novices** » et leur enregistrement a été autorisé jusqu'en 1987 en Suède par la SVERAK (SVERiges Kattklubbars Riksförbund, fédération FIFe suédoise) et en 1990 en Norvège par la NRR (Norske Rasekattklubbers Riksforbund, fédération FIFe norvégienne). Ces novices étaient des **chats autochtones dont les parents étaient inconnus mais qui répondaient au standard du Norvégien et étaient donc autorisés à entrer dans un plan de sélection pour la race.**

Les premiers Skogkatt sont arrivés en Allemagne et aux Etats-Unis en 1979, en Grande Bretagne une année plus tard et **en France en 1982**. Aujourd'hui la Suède possède la plus grande population de Chat des Forêts Norvégiennes.

B. Le standard de la race

Chaque fédération féline ayant reconnu le Norvégien comme chat de race a écrit son propre standard pour la race en s'inspirant du premier standard FIFe décrit à partir de Pans Truls. En conséquence des différences peuvent exister entre les différents standards mais restent mineures et concernent des détails techniques. Nous avons choisi de ne présenter dans ce manuscrit que les standards LOOF et FIFe qui sont les plus suivis en France (et en Europe pour le standard FIFe).

La nationalité des chats de race est codée par une lettre, par exemple : *D** (Allemagne), *S** (Suède), *N** (Norvège), *DK** (Danemark), *F** (France), *FIN** (Finlande), *NL** (Hollande). **Le nom d'un chat de race se décompose d'un prénom qui lui est propre et du nom d'affixe de l'élevage où il est né.** Ce nom d'affixe peut-être placé en préfixe (exemple : *S*Wildwood's Imer*, *N*Kløfterhagens Babuschka*) ou en suffixe (*D*Rana vom Arlesbrunnen*, *D*Naglfar aus Brötzingen*). Long, fastidieux à écrire et difficile à lire (et encore davantage par la consonance scandinave de certains noms des chats présentés dans ce travail), nous avons pris la liberté, par souci de simplification, de ne pas toujours mentionner la nationalité ou le nom d'affixe après avoir donné son nom officiel. Par exemple, *S*Wildwood's Imer* deviendra Wildwood's Imer ou Imer.

1. Son standard LOOF (LOOF/web)

Le Norvégien s'est adapté au climat très rude des régions scandinaves en développant une fourrure dense et imperméable, ainsi qu'un gabarit important. Sa tête est triangulaire avec une mâchoire puissante et une abondante collerette, son corps assez long est très musclé.

TÊTE : de taille moyenne, la tête forme un **triangle** équilatéral (Photographie 1). Le front, légèrement arrondi, est suivi d'un **nez droit**, sans incurvation, ni stop (Photographie 2). Les mâles adultes présentent une évolution caractérisée par un élargissement de la tête et une ouverture du triangle formé par la pointe des oreilles et le bout du nez. Le museau suit les lignes de la tête, sans pinch. Le menton est **ferme** (Photographie 2).

YEUX : grands, en amande, les yeux sont placés légèrement en oblique et donnent au chat une expression **alerte** et **éveillée** (Photographie 1). Toutes les couleurs d'yeux sont autorisées quelle que soit celle de la robe.

OREILLES : de taille **moyenne à grande**, les oreilles sont bien ouvertes à la base, légèrement pointues au bout et placées dans le **prolongement du triangle**. Vu de profil, elles sont dirigées vers l'avant (Photographies 1 & 2). Les plumets sont souhaitables mais pas obligatoires (Photographie 3). La fourrure interne des oreilles s'étend jusqu'au coin externe de celles-ci.



Photographie 1 : Jeune mâle Norvégien brown mackerel tabby et blanc (Copyright Hermeline)



Photographie 2 : Mâle Norvégien adulte black smoke et blanc (Copyright Hermeline)

CORPS : **long** et substantiel, le corps est **massif**, avec une **ossature robuste** et une poitrine pleine et large. L'encolure est bien musclée (Photographie 3). Les pattes sont assez hautes par rapport au corps, elles sont très **musclées** et ont une ossature solide. Vu de l'arrière, les pattes sont parallèles. Les postérieurs sont plus hauts que les antérieurs. Les pieds sont **grands** et ronds, ils ont des **touffes de poils** entre les doigts. La queue est **longue, épaisse** à la base et **bien fournie**, elle est idéalement aussi longue que le corps (Photographie 3).

ROBE ET TEXTURE (Photographie 3) : la robe est double, constituée d'un **sous-poil laineux** donnant une impression de lourdeur et de profondeur, recouvert par de **longs poils de couverture imperméables et lustrés**. Le poil de couverture est d'une texture un peu huileuse. Il est plus court sur les épaules et va en s'allongeant progressivement. La **collerette** est composée de longs favoris qui partent de l'arrière des oreilles et d'un jabot très fourni. Les culottes sont volumineuses. La collerette et les **culottes** sont composées de poil laineux uniquement. La longueur de la fourrure et la densité du sous-poil varient avec les saisons

et une robe nettement plus courte en été ne doit pas être pénalisée en jugement. Le poil de couverture ne se développe pas avant l'âge de six mois. **La qualité de la fourrure est beaucoup plus importante que la couleur**. Toutes les couleurs sont autorisées, excepté le colourpoint, le sépia, le chocolat, le lilas, le cinnamon et le fawn. Toute quantité de blanc est acceptée quelle que soit la position.



Photographie 3 : Jeune mâle Norvégien red mackerel tabby et blanc (Copyright Hermeline)

PENALITES : tête ronde ou carrée, oreilles trop petites ou trop rapprochées, profil présentant une cassure, menton fuyant, yeux ronds, corps court, pattes courtes non proportionnées au corps, ossature fine, queue trop courte, poil soyeux ou cassant, manque de poil de couverture ou de sous-poil en période hivernale.

Les Norvégiens présentés sont F*Clooney du Clos de Sandvika (Photographie 1), F*Unick de Wood Lake (Photographie 2) et F*Cernowain des Elfes Bleues (Photographie 3). Des renseignements complémentaires sont disponibles en annexe 1.

2. Son standard FIFe (Tableau 1)

CARACTERISTIQUES		DESCRIPTION
TÊTE	Forme	Triangulaire équilatérale, bonne hauteur vue de profil, front légèrement bombé, profil long et droit sans cassure (ni stop)
	Menton	Ferme
OREILLES	Forme	Grandes , bonne largeur à la base, ornées de plumets, avec de longs poils sur le pavillon auriculaire et à l'intérieur
	Placement	Grandes et bien ouvertes . La ligne externe des oreilles est en continuité de la ligne de tête et de celle du menton.
YEUX	Forme	Grands, ovales, bien ouverts, placés légèrement en oblique
	Expression	Eveillée
	Couleur	Toutes couleurs autorisées quelle que soit celle de la robe
CORPS	Structure	Long, bien musclé et bien charpenté
MEMBRES	Structure	Musclés , corps haut sur pattes, les postérieurs sont légèrement plus longs que les antérieurs.
	Pattes	Grandes, rondes (en bonne proportion par apport aux membres)
QUEUE		Longue et fournie , elle doit atteindre au moins les épaules, et si possible le cou.
FOURRURE	Structure	Semi-long. Le sous-poil laineux est recouvert de longs poils de garde étanches, rugueux et brillants , sur le dos et les côtés. La collerette et la culotte sont bien fournies.
	Couleur	Toutes les couleurs sont autorisées, excepté le colourpoint, le sépia, le chocolat, le lilas, le cinnamon et le fawn. Toute quantité de blanc est acceptée quelle que soit la position.
REMARQUES	Général	Croissance lente à prendre en compte lors des jugements. Attention aux corps trop petits ou trop fins.
	Tête	Les mâles matures ont un élargissement du triangle que ne présentent pas les femelles.
	Fourrure	Elle n'est évaluée que sur la texture et la qualité . La longueur et la densité varient avec les saisons, les chatons peuvent prendre jusqu'à 6 mois pour avoir du poil de garde.
PENALITES	Tête	Ronde ou carré, profil avec un stop
	Oreilles	Petites, trop basses ou trop hautes
	Membres	Corps court sur pattes ou pattes trop fines
	Queue	Queue courte
	Fourrure	Fourrure sèche, avec des nœuds ou trop soyeuse

Tableau 1 : Le standard FIFe du Chat des Forêts Norvégiennes (d'après FIFe/web)

C. Les couleurs de robe du Norvégien (Erikers *et al.*, 1998)

A leurs débuts, les Norvégiens étaient peu nombreux et concouraient sans division de couleur. C'est en 1983 que la FIFe décida la réalisation de 4 groupes pour l'obtention des certificats : tabby avec ou sans blanc et unis avec ou sans blanc. Ces groupes ont ensuite été redivisés en 1991.

Groupe 1 : noir, bleu

Groupe 2 : idem groupe 1 avec blanc

Groupe 3 : noir tabby, bleu tabby

Groupe 4 : idem groupe 3 avec blanc

Groupe 5 : roux, crème, écaille et diluée tabby ou uni

Groupe 6 : idem groupe 5 avec blanc

Groupe 7 : silver, smoke (noir, roux, écaille et robes diluées correspondantes)

Groupe 8 : idem groupe 7 avec blanc

Groupe 9 : blanc aux yeux bleus, orange, verts ou vairons

La FIFe a interdit la robe colourpoint en juillet 1986, puis les robes chocolat et lilas en janvier 1989 et les robes cinnamon et fawn en 1994. Il est intéressant de remarquer que ces ajouts dans le standard des couleurs autorisées a suivi l'évolution des connaissances sur le phénomène X-Color. En effet les premiers Norvégiens X-Color ont été qualifiés successivement de golden, de chocolat, jusqu'à penser qu'ils puissent être cinnamon de 1992 à 1998.

La couleur X-Color, aujourd'hui renommée ambre est reconnue depuis janvier 2005 par la FIFe, seule fédération féline à l'avoir officiellement reconnue dans le standard du Norvégien à ce jour (avec quelques clubs indépendants qui ont calqué leur décision sur celle de la FIFe).

Trois éleveurs allemands se sont particulièrement impliqués dans la réussite de ce projet : **Christa Utescheny** est la propriétaire de l'élevage vom Arlesbrunnen, une des chatteries pionnières de la couleur ambre en Allemagne. Elle a réalisé des mariages-tests avec des Norvégiens ambre et a apporté des premiers éléments de réponse. Elle a reçu le soutien d'**Axel Platz**, éleveur et juge FIFe (chatterie allemande av Trulla), et de **Frank Langewische** (chatterie allemande av Haithabu), docteur vétérinaire qui a encadré la réalisation du dossier de demande de reconnaissance pour la FIFe.

Ce travail fait également référence à **Jette Eva Madsen**, éleveuse danoise de Norvégiens et juge FIFe de renommée internationale. Son statut de « monument inébranlable » dans le monde européen du Skogkatt lui a valu d'intervenir fréquemment sur le sujet, même si ses lignées d'élevage n'ont jamais été concernées par la couleur ambre.

Enfin ce travail fait également référence à Sylvia Erikers, première éleveuse à avoir fait naître des chatons de couleur ambre en 1992 en Suède, à Clarisse Vinot, première éleveuse française à avoir eu une portée d'ambre en France, et à Adriana Kajan, généticienne et juge TICA qui s'est aussi intéressée à cette couleur.

La FIFe utilise une **nomenclature internationale** appelée code EMS (Easy Mind System) : ce code a été créé par Eva Minde de nationalité norvégienne. Simple et compréhensible de tous, il présente l'avantage d'être uniforme : par exemple un chat noir est toujours identifié par la lettre « n » quelle que soit sa race. Le code EMS se décompose en **quatre parties** :

- la première s'écrit en lettres majuscules et indique la race (dans ce travail, nous parlerons uniquement de Norvégien, son code est NFO)
- la deuxième s'écrit en lettres minuscules et indique la couleur de la robe
- la troisième s'écrit en chiffres et indique le dessin de la robe : quantité de blanc et patron tabby. La couleur de la robe n'est pas un caractère important chez le Norvégien, et presque tous les chats avec blanc sont inscrits avec le nombre 09 quelle que soit l'extension des panachures blanches.
- la quatrième s'écrit en chiffres et indique la couleur des yeux. Chez le Norvégien, cette quatrième partie n'est mentionnée dans le code que pour les chats blancs.

Le code EMS utilisé pour la description de la robe et des yeux chez le NFO (FIFe/web)

COULEUR DE LA ROBE

a = blue (bleu)
d = red (orange, roux)
e = cream (crème)
f = black tortie (écaille noire)
g = blue tortie (écaille bleue)
n = black (noir)
s = silver, smoke (argenté, fumé)
t = amber (ambre)
w = white (blanc)
x = unrecognized colour (couleur non reconnue)
y = golden (golden)

DESSINS DE LA ROBE

01 = van
02 = arlequin
03 = bicolour (bicolore)
04 = mittet (1/3 de blanc)
09 = with white (quantité de blanc non définie)

22 = Blotched / classic tabby (marbré)
23 = Mackerel tabby (tigré)
24 = Spotted tabby
25 = Ticked tabby

COULEUR DES YEUX

61 = Blue eyed (bleu)
62 = Orange eyed (jaune)
63 = Odd eyed (vairon)
64 = Green eyed (vert)

Exemple : Norvégien ambre clair (dilué) uni bicolore = NFO at 03 (ou NFO at 09)

Norvégien écaille ambre silver blotched tabby et blanc = NFO fts 09 22

Dans la suite du manuscrit, nous utilisons ce code EMS qui permet de simplifier l'écriture des couleurs ou mentionnons parfois l'appellation anglophone car même en pays francophone, on parle plus couramment de chat black blotched tabby que de chat noir marbré.

II. La mélanogenèse

A. Le développement du système mélanocytaire (Aubin Houzelstein, 1997)

1. Origine embryologique

De la **crête neurale** dérivent presque toutes les cellules pigmentaires des Vertébrés, notamment les mélanocytes des follicules pileux, de l'épiderme et du derme. Située à la jonction entre l'ectoderme et le tube neural, la crête neurale libère des cellules lors de la fermeture de la gouttière neurale : celles-ci migrent alors à travers les tissus embryonnaires vers un site précis où elles termineront leur différenciation. La spécialisation de ces cellules en **mélanoblastes** est nécessaire et a lieu avant la migration cellulaire.

2. Migration des précurseurs

Après avoir quitté le tube neural①, les cellules de la crête neurale migrent selon plusieurs modalités possibles (Figure 1) :

- selon un trajet dorso-ventral, entre le tube neural et le sclérotome②
- ou dans la partie antérieure du somite pour participer à la formation du ganglion rachidien③
- entre le sclérotome et le dermomyotome④ ou encore entre deux somites consécutifs vers l'aorte dorsale⑤
- longitudinalement sous l'ectoderme⑥ voire le long de l'aorte dorsale⑦.
- La voie des futures cellules pigmentaires est différente, puisqu'elles migrent entre l'ectoderme et le dermomyotome⑧.

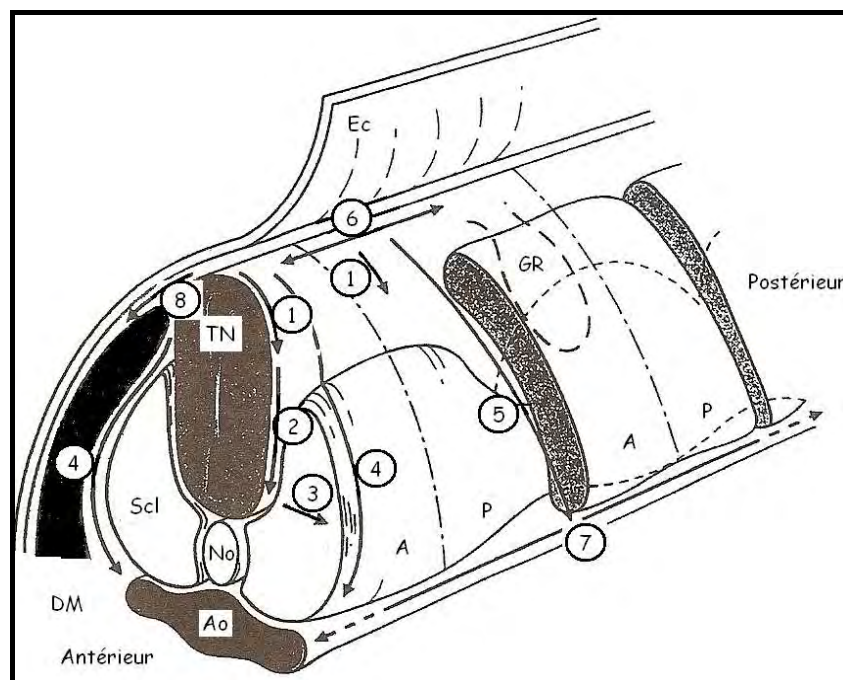


Figure 1 : Les voies de migration des cellules de la crête neurale dans le tronc (Bouchard, 1993)

A = partie antérieure d'un somite, Ao = aorte dorsale, DM = dermomyotome, Ec = ectoderme, GR = ganglion rachidien, No = notochorde, P = partie postérieure d'un somite, Scl = sclérotome, TN = tube neural.

3. Colonisation de l'épiderme

Suite à cette migration, les mélanoblastes présents dans le mésenchyme sous-épidermique traversent la lame basale sous-épidermique : ceux du tronc vont alors proliférer activement, contribuant à donner une répartition homogène de ces précurseurs dans tout l'embryon. **Les mélanocytes épidermiques dérivent tous d'un nombre originel limité et constant de mélanoblastes.**

4. Colonisation des follicules pileux

Des interactions entre l'épiderme et le **mésenchyme** permettent le développement des follicules pileux par invagination épidermique. Le bourgeon épidermique du follicule induit en retour une agrégation mésenchymateuse à l'origine de la **papille dermique** (Figure 2).

Les cellules de l'invagination épidermique possèdent une forte capacité mitotique et forment la **matrice** du bulbe pileux. Suite aux divisions, les cellules filles sont rejetées vers l'extérieur du follicule pileux en formation et se différencient suivant leur position : les cellules centrales donnent le poil (médulla, cortex et cuticule) et les cellules les plus externes donnent la gaine épithéliale interne.

Au cours de l'invagination épidermique, **les mélanoblastes migrent de l'épiderme vers le follicule pileux** en construction et colonisent la couche la plus interne de la matrice du bulbe pileux selon un mécanisme mal connu.

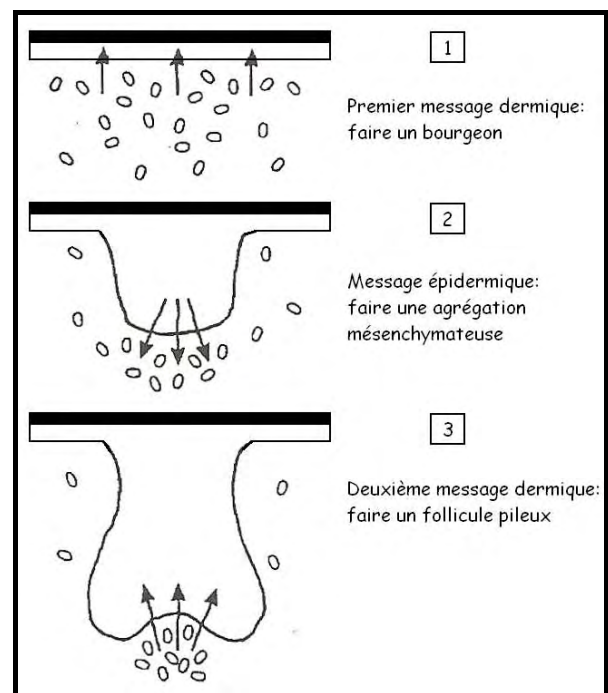


Figure 2 : Formation d'un bulbe pileux
(Aubin Houzelstein, 1997)

5. Différenciation des mélanoblastes en mélanocytes

a. Quelques données d'histologie

Un **mélanoblaste** est une cellule à forte capacité proliférative issue de la crête neurale (ou de la cupule optique) et qui n'a conservé que son potentiel mélanocytaire. Il ne possède que des mélanosomes immatures et sa différenciation conduit à un mélanocyte.

Un **mélanocyte** est une cellule différenciée issue d'un mélanoblaste et synthétise des pigments mélaniques grâce à une enzyme, la tyrosinase. Il se caractérise par son activité tyrosinase dans les mélanosomes matures, sa forme dendritique et un potentiel mitotique conservé. Cette définition est toutefois restrictive puisqu'il existe des mélanocytes particuliers, les mélanocytes albinos, tyrosinase négatifs et dendritiques, mais sans mélanosome mature.

Les **mélanosomes** sont des lysosomes modifiés, spécifiques des mélanoblastes/mélanocytes et constituent le **siège de la mélanogénèse**. On distingue 4 stades de mélanosomes (Figure 3).

- Stade 1 : organite sphérique dont la matrice comporte des filaments mal définis
- Stade 2 : organite elliptique avec une matrice laminaire ou filamenteuse bien définie
- Stade 3 : le dépôt mélanique a débuté sur la matrice
- Stade 4 : le dépôt mélanique dans la matrice est important et masque la structure interne de l'organite.

Ainsi, un mélanoblaste ne contient que des mélanosomes immatures (stades 1 et 2) alors que le mélanocyte possède en plus des mélanosomes matures (stades 3 et 4). Les mélanosomes périnucléaires migrent dans les dendrites au cours de leur maturation, puis sont transmis aux kératinocytes voisins.

Selon qu'ils contiennent de l'eumélanine ou de la phaeomélanine, les mélanosomes ne possèdent **pas la même structure** en microscopie électronique : les phaeomélanosomes présentent un dépôt hasardeux du pigment dans l'enchevêtrement des fibres de la matrice ; dans les eumélanosomes le dépôt eumélanique est ordonné et organisé sur les fibres parallèles de la matrice (Figure 4).

Eumélanosomes et phaeomélanosomes sont parfois présents dans un même mélanocyte, mais chaque mélanosome reste spécialisé dans la production d'un **type de mélanine**.

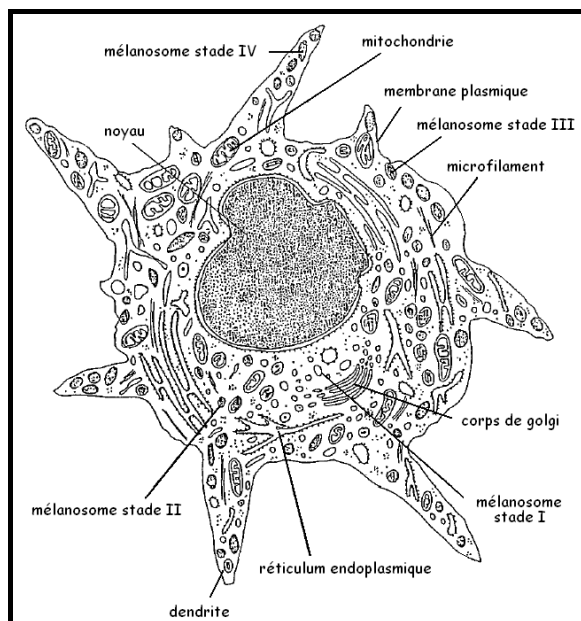


Figure 3 : Représentation de l'ultrastructure d'un mélanocyte (Lefèvre, 1989)

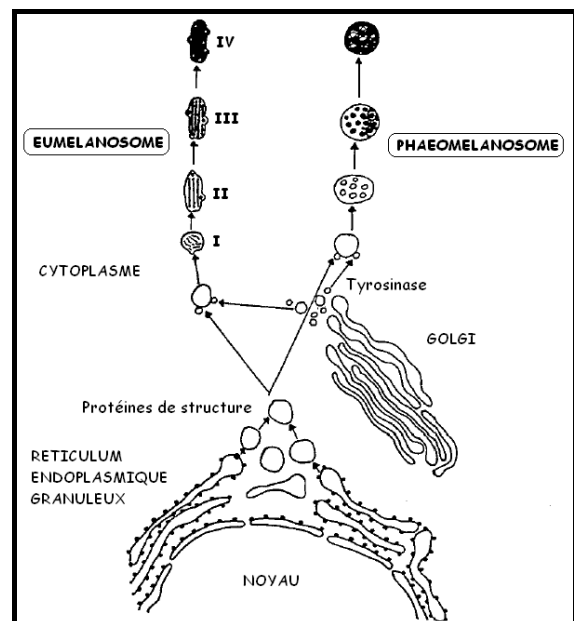


Figure 4 : Formation des mélanosomes (Meynadier, 1980)

b. Le processus de différenciation

Au cours de la vie fœtale, on observe une **inversion progressive** des proportions mélanoblastes/mélanocytes épidermiques, accompagnée d'une **maturation des mélanosomes**. Cette différenciation se perpétue au cours de la vie extra-utérine. Il existe alors :

- les mélano­blastes épidermiques : les mélanoblastes ne persistent que dans l'épiderme, très peu dans les follicules pileux.
- les mélano­cytes épidermiques : en faible proportion par rapport aux kératinocytes, ils se situent dans les couches basales de l'épiderme et ne se kératinisent pas. Dans les régions

poilues, on trouve quelques mélanoblastes épidermiques et très peu de mélanocytes épidermiques qui sont surtout concentrés dans les follicules pileux.

- les mélanocytes des follicules pileux : ils se situent dans la couche la plus interne de la matrice du bulbe pileux, juste au dessus de la membrane basale épidermique, à proximité de la papille dermique.

On parle d'**unité fonctionnelle de mélanisation** (Figure 5) : les mélanocytes transmettent la mélanine aux kératinocytes via les mélanosomes de stade 4, tandis que les kératinocytes leur fournissent les facteurs de croissance.

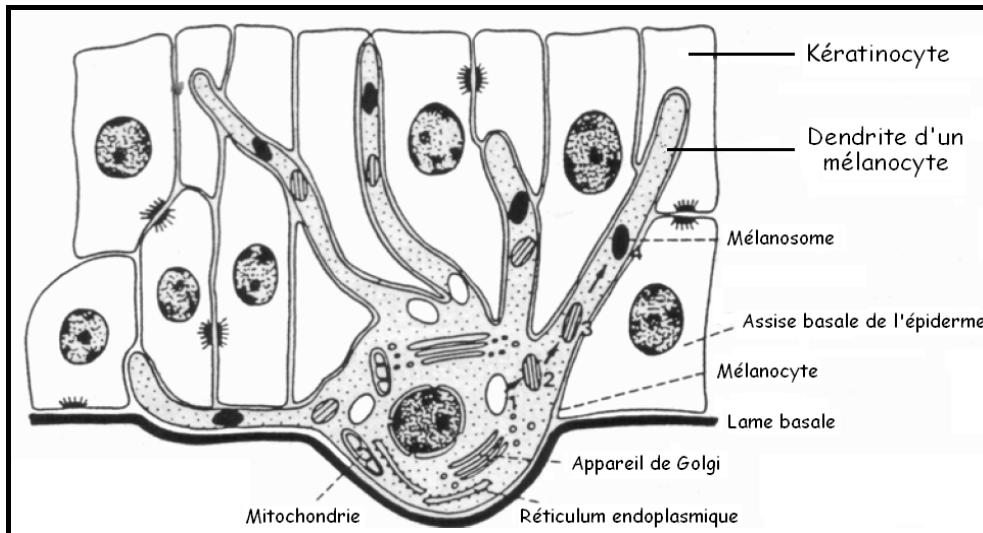


Figure 5 : Unité de mélanisation (Fargeras, 1995)

6. Destruction des mélanosomes

Les mélanosomes sont dégradés dans des mélanophagolysosomes intrakératinocytaires sous l'action d'enzymes lysosomiales (Césarini, 1995). Les résidus de mélanosomes et de mélanine sont éliminés à la surface de l'épiderme avec les kératinocytes. Une partie pourrait aussi être éliminée par voie lymphatique après passage dans le derme.

B. Siège de la mélanogénèse (Aubin Houzelstein, 1997)

La tyrosinase est fonctionnelle dès sa synthèse qui a lieu dans le réticulum endoplasmique, le golgi et les vésicules golgiennes, mais elle est liée à une molécule inhibitrice formant un complexe inactif très stable : la tyrosinase ne devient active qu'après avoir été incorporée dans la paroi du **mélanosome** et la mélanogénèse a exclusivement lieu dans ces organites cytoplasmiques.

C. Les pigments mélaniques (Decout, 2003)

Il existe différentes molécules dont les couleurs varient.

- Les eumélanines ou pigments « noirs » sont des molécules de haut poids moléculaire à base de carbone, d'hydrogène et d'azote. **Composés non soufrés**, elles sont principalement constituées de polymères de dihydroxy-5,6-indole liés à la protéine silver et absorbent presque toutes les radiations lumineuses : elles apparaissent sombres. Chez

le chat, les eumélanines sont codées par les allèles du locus *brown* (pigments noir, chocolat et cinnamon).

- Les **phaeomélanines** ou pigments « fauves » sont d'une couleur jaune gris à brun rouge. Aux atomes de carbone, d'hydrogène et d'azote se rajoute le **soufre** : la 5-S-cystéinyl DOPA en est le constituant majeur.
- Le **trichochrome** est un pigment dérivé des phaeomélanines. Il est responsable de la couleur des chats orange.

De façon plus anecdotique signalons l'existence de phaeomélanines noires qui ressemblent à des types clairs d'eumélanine (Sponenberg & Rotschild, 2001). De même des pigments mixtes existent et correspondent à un mélange entre eumélanine et phaeomélanine en différentes proportions (Fageras, 1995).

La couleur des poils ne reflète que celle des pigments mélaniques contrairement à la peau dont la couleur est due à la superposition de l'hémoglobine sur la pigmentation propre de l'épiderme. La couleur des poils ne dépend cependant pas que du **type** de pigment présent mais aussi de la **répartition** des granules pigmentaires dans le poil.

D. La biosynthèse mélanique (Decout, 2003)

La biosynthèse des pigments mélaniques est précédée de celle d'une enzyme-clé dans les prémélanosomes : la **tyrosinase**. Puis à partir de la L-tyrosine obtenue par l'action de peptidases sur des protéines disponibles dans l'organisme, les réactions successives vont permettre la formation de composés d'abord incolores, puis celle des mélanines (Figure 6).

La tyrosinase a la particularité de **catalyser 3 réactions chimiques** dans cette synthèse, successivement (Figure 6) :

- l'hydroxylation de la L-tyrosine en 3,4-dihydroxyphénylalanine ou DOPA ①
- l'oxydation de la L-DOPA en DOPAquinone ②
- l'oxydation du 5,6-dihydroxyindole ou DHI en indole-5,6-quinone uniquement dans la voie de l'eumélanogenèse ③.

Les deux premières réactions sont communes à l'eumélanogenèse et à la phaeomélanogenèse : la DOPAquinone, molécule très réactive s'engage alors rapidement dans une des deux voies et donnera soit le DOPochrome (eumélanogenèse) ou la CystéinylDOPA (phaeomélanogenèse).

L'hydroxylation est limitante et est la seule étape n'ayant pas lieu spontanément au pH physiologique : la tyrosinase doit être au préalable oxydée photochimiquement par la lumière UV en présence d'une protéine cuivrée (Alhaidari, 2001 & Scott et al., 2001).

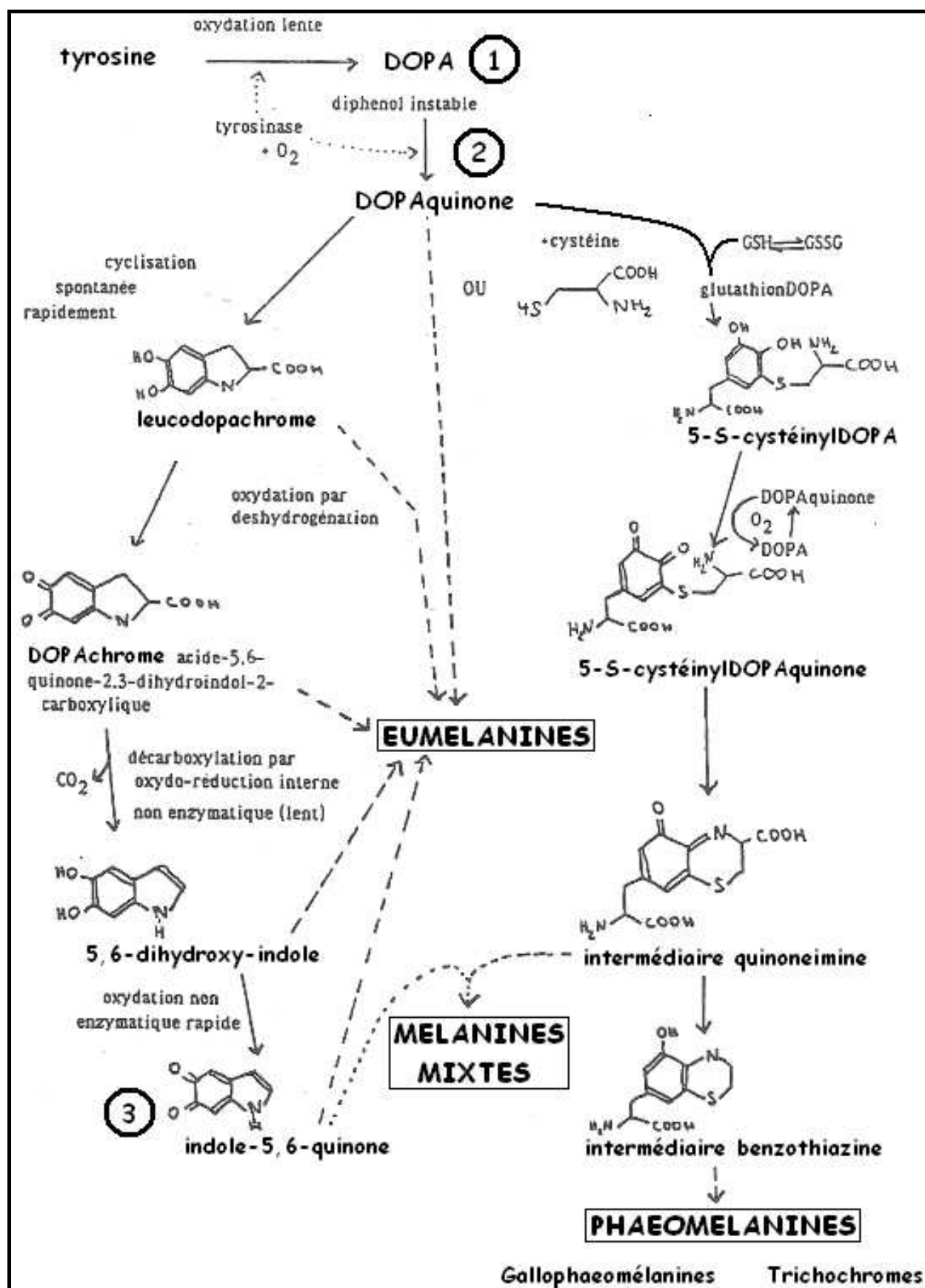


Figure 6 : Biosynthèse des mélanines (d'après Lefèvre, 1989)

1. Eumélanogenèse (Decout, 2003)

a. La tyrosinase

La tyrosinase est une **cuproprotéine** spécifique du mélanocyte (Figure 7) et dont on connaît actuellement trois isoenzymes différentes. Pour certains auteurs, elles correspondraient aux formes évolutives de la même enzyme, pour d'autres chaque isoenzyme coderait un pigment différent (Fargeras, 1995).

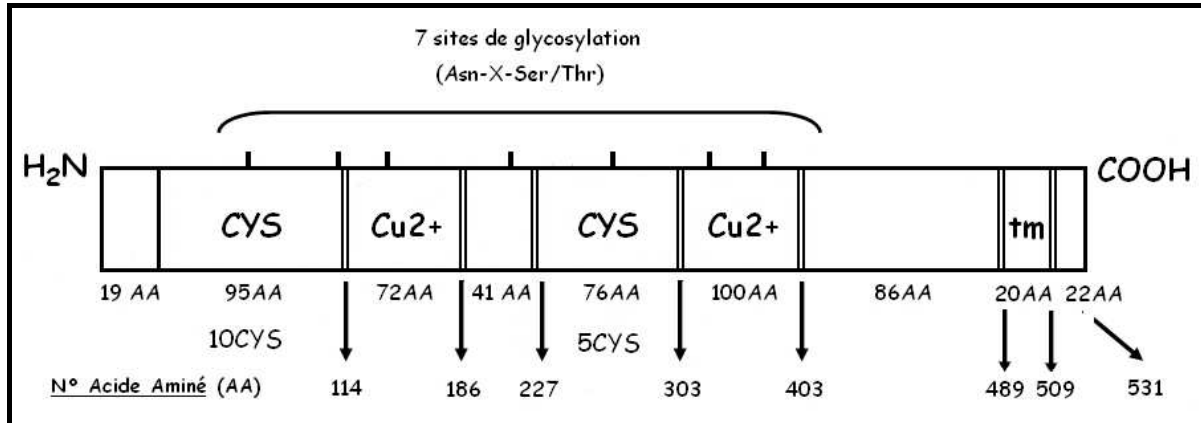


Figure 7 : Structure de la tyrosinase (d'après Aubin Houzelstein, 1997)

La tyrosinase est contenue dans le mélanosome, ancrée par sa partie hydrophobe transmembranaire (tm) dans la membrane mélanosomiale : son extrémité N-terminale (H₂N) est dans le mélanosome et son extrémité C-terminale est dans le cytosol (COOH). Des ponts disulfures contribuent à la structure tertiaire de l'enzyme (CYS = régions riches en cystéines), avec certaines histidines qui sont reliées aux atomes de cuivre (Cu²⁺ = sites de liaison au cuivre). Certaines cystéines se lieraient aussi au fer et permettraient l'activation de l'enzyme. Notez l'existence de 7 sites de glycosylations permettant la maturation de la tyrosinase.

L'épissage alternatif permet d'obtenir 4 ARN messagers de taille différente dont le plus long est le seul à coder pour une enzyme fonctionnelle : les trois autres transcrits auraient un rôle régulateur (inhibiteur compétitif de la tyrosinase). Lors de son passage dans l'appareil de Golgi, la protéine est **glycosylée** puis libérée dans les mélanosomes par le biais de vésicules golgiennes (Aubin Houzelstein, 1997).

La tyrosinase est inhibée par les groupements sulfhydryl (glutathion et cystéine) et le cuivre sous forme cuivrique.

b. Les Tyrosinase Related Protein

Moins connues mais également importantes, les Tyrosinase Related Protein, TRP-1 et TRP-2, interviennent plus tard dans la voie de l'eumélanogenèse (Figure 8).

- La **TRP-2** ou DOPochrome tautomérase transforme la DOPochrome en DHICA (5,6-dihydroxyindole-2-carboxylic acid) en présence de fer. La DOPochrome, fortement toxique pour le mélanocyte, peut aussi se transformer spontanément en DHI (5,6-dihydroxyindole) qui est très rapidement catabolisée par la tyrosinase en indole quinone, puis en mélanines. La fonction du DHICA est inconnue, il est plus stable et incorporé lentement dans le polymère de mélanine. TRP-2 en orientant vers la production de DHICA **minimise les effets cytotoxiques de la mélanogenèse**.

- La **TRP-1** possède une faible activité DOPAchrome tautomérase mais une importante activité DHICA oxydase : elle transforme le DHICA en acide carboxylique indole quinone. La TRP-1 **contrôle donc une étape finale dans l'eumélanogenèse** et aurait également un **rôle stabilisateur** en formant des hétérodimères tyrosinase/TRP-1 (Wikberg *et al.*, 2000).

Ces deux protéines permettent d'orienter le mélanocyte vers la production d'**eumélanines brunes et solubles**. Alors que la tyrosinase contrôle l'eumélanogenèse et la phaeomélanogenèse en tout ou rien, TRP-1 et TRP-2 régulent la qualité et la quantité des eumélanines produites de façon plus fine (Aubin Houzelstein, 1997).

TRP-1 et TRP-2 possèdent une structure comparable à celle de la tyrosinase (Figure 7). Elles contiennent deux régions riches en cystéines et deux sites de liaison au cuivre, plusieurs sites de glycosylations et une extrémité transmembranaire hydrophobe C-terminale : toutes deux sont intégrées dans la paroi du mélanosome comme la tyrosinase et forment un complexe multienzymatique, permettant une **régulation fine de l'eumélanogenèse** (Aubin Houzelstein, 1997).

c. La protéine silver

Comme TRP-1 et TRP-2, la protéine silver est **spécifique de l'eumélanogenèse** (Kobayashi *et al.*, 1995). Egalement nommée Pmel17, cette protéine transmembranaire permet de **fixer la mélanine à la matrice du mélanosome selon un dépôt ordonné**. Elle ne participe pas au complexe multienzymatique et ne catalyse aucune des réactions précédentes. Par contre, elle régule le taux mélanosomal de DHICA en les stabilisant ou en favorisant leur polymérisation en eumélanines, ce qui permet de **détoxifier le mélanocyte** par l'élimination des ions superoxydes associés (Aubin Houzelstein, 1997). Son rôle est crucial dans le bon développement des eumélanosomes (Kerje *et al.*, 2004).

En résumé, après l'obtention de L-DOPA, la synthèse d'eumélanine peut se faire selon trois voies différentes (Figure 8)

- à partir de DHICA obtenu grâce à la TRP-2 ①
- à partir d'indole quinone obtenu grâce à la tyrosinase ②
- à partir de l'acide carboxylique obtenu grâce à la TRP-1 ③.

2. Phaeomélanogenèse (Boucher, 1993)

La phaeomélanogenèse est consécutive à une eumélanogenèse déficiente : elle nécessite la présence de **groupement thiols** (cystéine et/ou glutathion) qui réagissent avec la DOPAquinone pour donner la cystéinyldOPA. La polymérisation de ces métabolites benzothiaziniques donne ensuite la phaeomélanine (Figures 6 & 8).

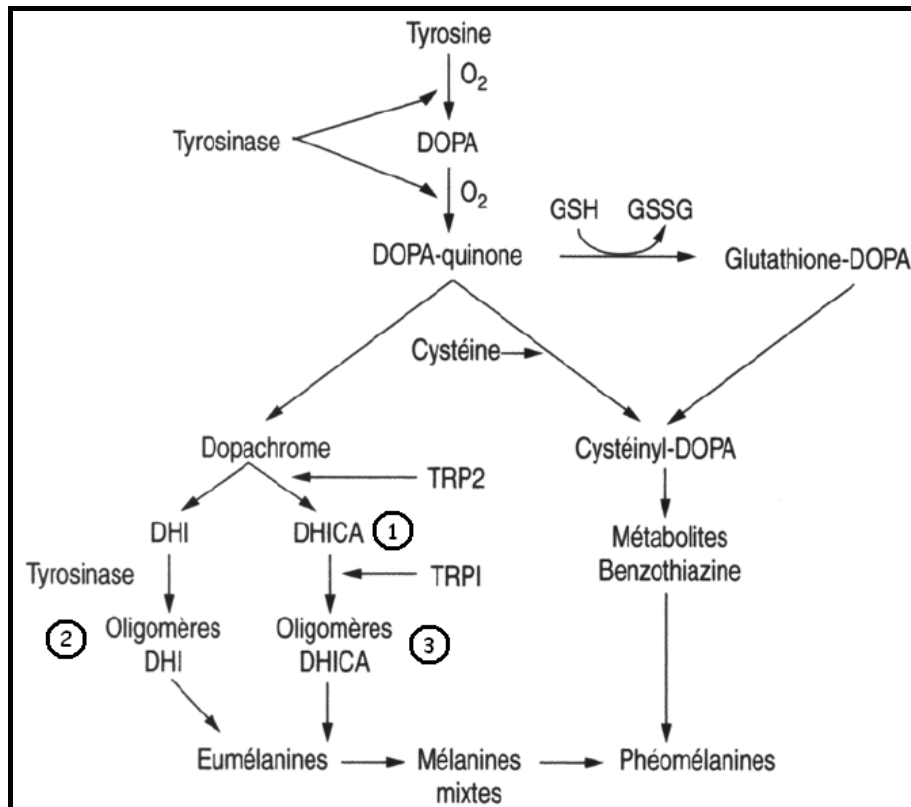


Figure 8 : Bilan de la biosynthèse des mélanines (d'après Lévy, 2005)

DHI = 5,6-dihydroxyindole, DHICA = 5,6-dihydroxyindole-2-carboxylic acid, DOPA = 3,4-dihydroxyphénylalanine, GSH = Glutathion Sulphydril Hydroxylase, GSSG = forme réduite de la GSH, TRP1 = Tyrosinase Related Protein de type 1, TRP2 = Tyrosinase Related Protein de type 2.

3. Switch de le mélanogénèse (Decout, 2003)

a. Rôle de l' α -MSH

Eumélanine et phaeomélanine ne sont pas spécifiques d'un mélanocyte, mais d'un mélanosome. Toutefois le mélanocyte ne peut produire qu'un seul des deux pigments à la fois.

L'hormone α -MSH (alpha-Melanocyte Stimulating Hormone) ou mélanotrophine est indispensable pour l'eumélanogénèse, elle vient se fixer sur le récepteur à l' α -MSH des mélanocytes : ce récepteur est appelé MC1-R ou Melanocortin Receptor de type 1. **La fixation de l'hormone active le MC1-R et la protéine G couplée (Figure 9), ce qui déclenche une cascade réactionnelle aboutissant à la production d'AMPc (Robbins *et al.*, 1993).**

- L'AMPc agit sur le locus *microphthalmia*, régulateur du gène *TYR* (gène de la tyrosinase), via l'activation de MAP-kinase (Wikberg *et al.*, 2000). *In vitro*, l' α -MSH induit une augmentation de la transcription du gène *TYR*, puis de la synthèse de la tyrosinase de 2 à 5 fois (Aubin Houzelstein, 1997).
- L'AMPc permet surtout l'activation de la tyrosinase : il n'agit pas directement sur l'enzyme mais inactive l'inhibiteur de la tyrosinase. *In vitro*, l'activité de la tyrosinase est augmentée de 5 à 50 fois par l' α -MSH (Halaban *et al.*, 1984).

Sans activation du MC1-R, on s'oriente vers la phaeomélanogénèse, notamment en cas d'inefficacité du récepteur (Robbins *et al.*, 1993, figure 10) ou en présence d'un antagoniste comme la protéine agouti (Lu *et al.*, 1994, figure 11).

L'orientation des synthèses se fait en fonction de la **quantité de tyrosinase présente** : un taux important entraînerait la production d'eumélanine et un taux faible entraînerait la production de phaeomélanine (Scott *et al.*, 2001).

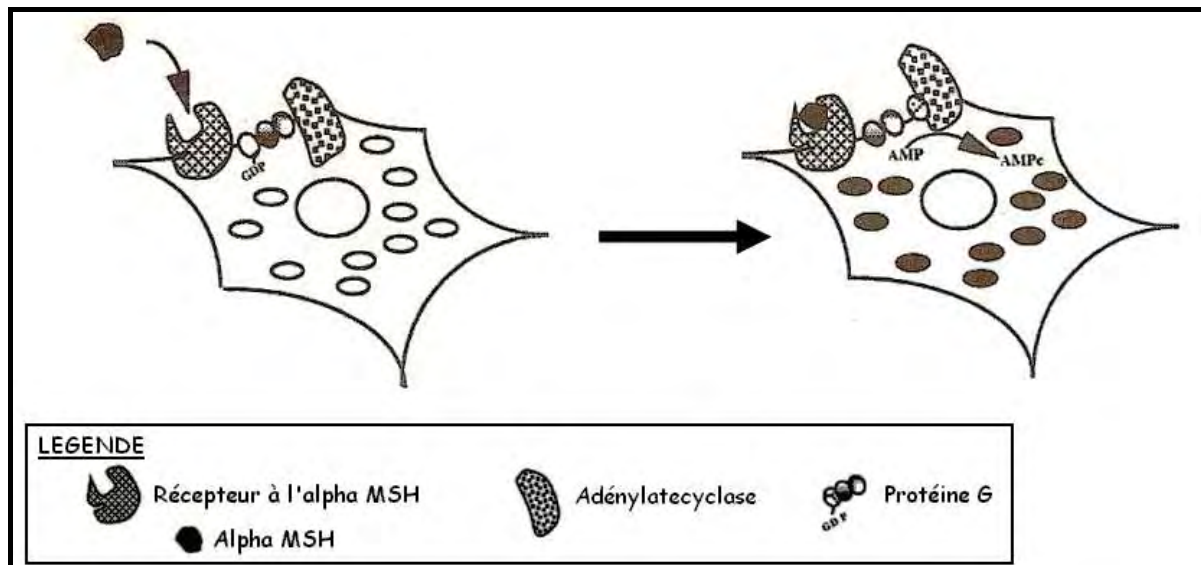


Figure 9 : Voie de transduction de l'α-MSH (d'après Aubin Houzelstein, 1997)

La fixation de l'α-MSH entraîne l'activation du récepteur et de la protéine G qui se dissocie puis active l'adénylatecyclase. Celle-ci provoque une augmentation du taux d'AMPc et permet l'activation de la tyrosinase : le mélanocyte synthétise de l'eumélanine.

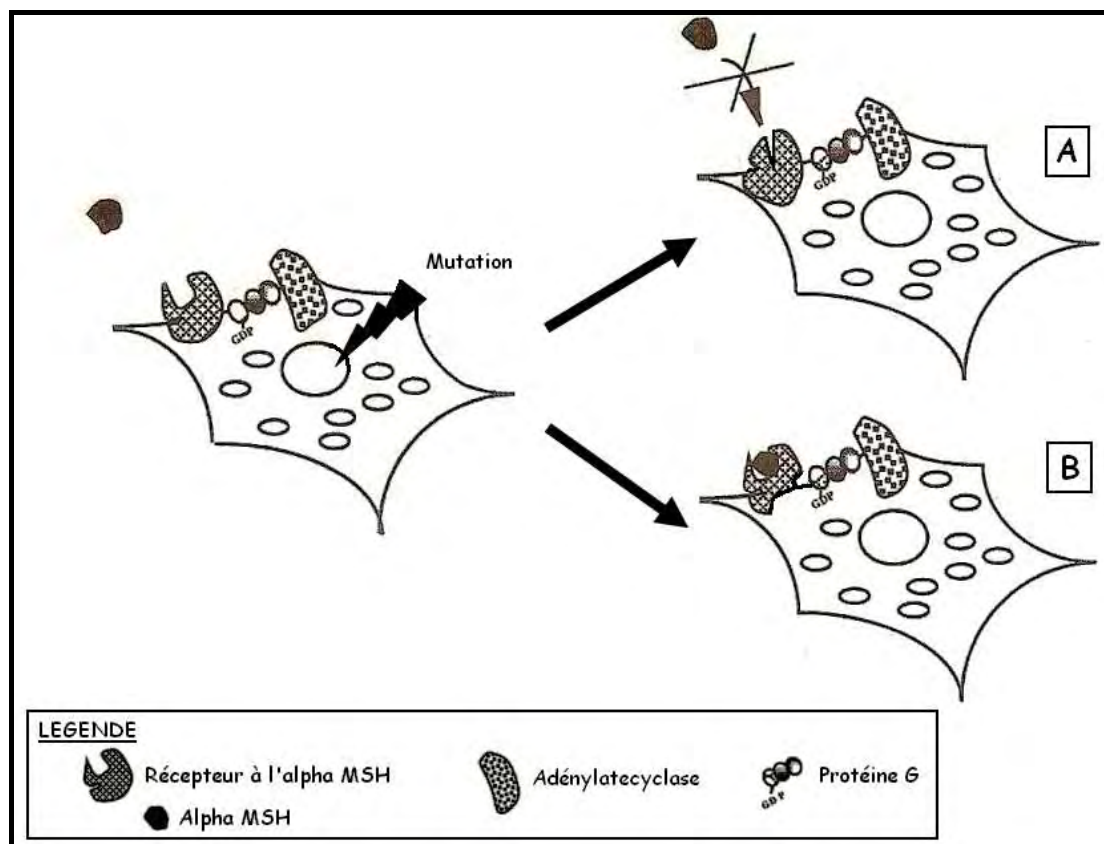


Figure 10 : Conséquences possibles d'un MC1-R muté (d'après Aubin Houzelstein, 1997)

Une mutation du gène *MC1R* peut coder pour un récepteur modifié et être responsable d'une baisse d'affinité pour l'α-MSH (Figure 10A) ou d'un mauvais couplage avec la protéine G (Figure 10B). Dans les deux cas, la cascade réactionnelle est bloquée : le mélanocyte synthétise de la phaeomélanine.

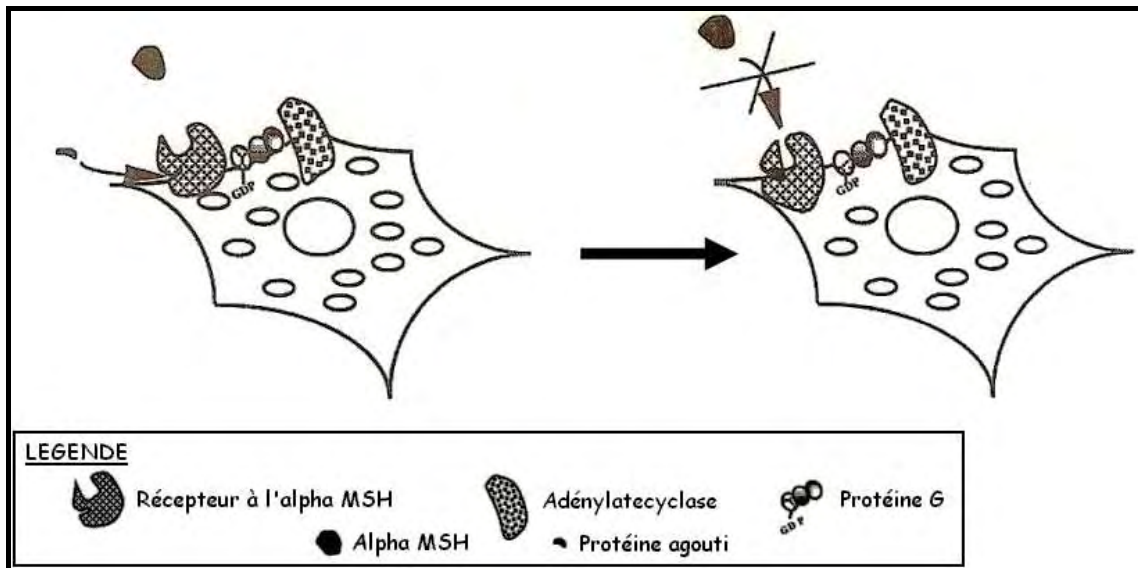


Figure 11 : Antagonisme compétitif de la protéine agouti (d'après Aubin Houzelstein, 1997)

La protéine agouti inhibe l'effet de l' α -MSH en se liant sur un autre site du récepteur. L' α -MSH ne peut plus se lier à son récepteur, la cascade réactionnelle est donc bloquée : le mélanocyte synthétise de la phaeomélanine.

b. Contrôle complémentaire

La teneur cellulaire en **composés soufrés** est un facteur déterminant dans l'orientation vers la phaeomélanogenèse (taux élevé) ou l'eumélanogenèse (taux faible) (Fargeras, 1995). En présence de groupements sulfhydryl et si les gènes codant pour les enzymes de la phaeomélanogenèse s'expriment, la DOPAquinone donne de la cystéinyldOPA, puis de la phaeomélanine, même en présence d' α -MSH. De plus, les groupements sulfhydryl inhibent la tyrosinase et donc la formation d'indole quinone, qui est une des voies spécifiques de l'eumélanogenèse.

Dans le cas contraire et en présence d' α -MSH, la DOPAquinone donne de la DOPochrome, puis de l'eumélanine.

L'**environnement cellulaire** peut également influencer le type de synthèse mélanique (teneur en oxygène, température, acidité ...).

L'orientation du switch se fait donc prioritairement en fonction du taux de **tyrosinase active** et de la **disponibilité en groupement thiols**. Toutefois un taux faible en tyrosinase active dans le mélanocyte serait insuffisant pour favoriser la phaeomélanogenèse en quantité telle que la robe apparaisse phaeomélanique (Aubin Houzelstein, 1997).

L'absence de la TRP-1, de la TRP-2, de la protéine silver et/ou d'autres régulateurs de l'eumélanogenèse serait des éléments essentiels et complémentaires pour l'orientation vers la phaeomélanogenèse (Kobayashi *et al.*, 1995).

E. Pigmentation et cycle de croissance du poil (Aubin Houzelstein, 1997)

1. Description du cycle pileux

Les follicules pileux ont une croissance cyclique divisée en 3 périodes :

- l'anagène (divisée en 6 stades) ou phase de croissance du poil (Figures 12A, 12E & 12F)
- le catagène ou phase de régression (Figures 12B & 12C)
- le télogène ou phase de quiescence (Figure 12D).

Lors de l'anagène, la racine de l'ancien poil est poussée vers la surface au fur et à mesure de la croissance du nouveau poil, qui émerge par l'ouverture ménagée par l'ancien follicule pileux. Les mastocytes joueraient un rôle dans le déclenchement d'un nouveau cycle.

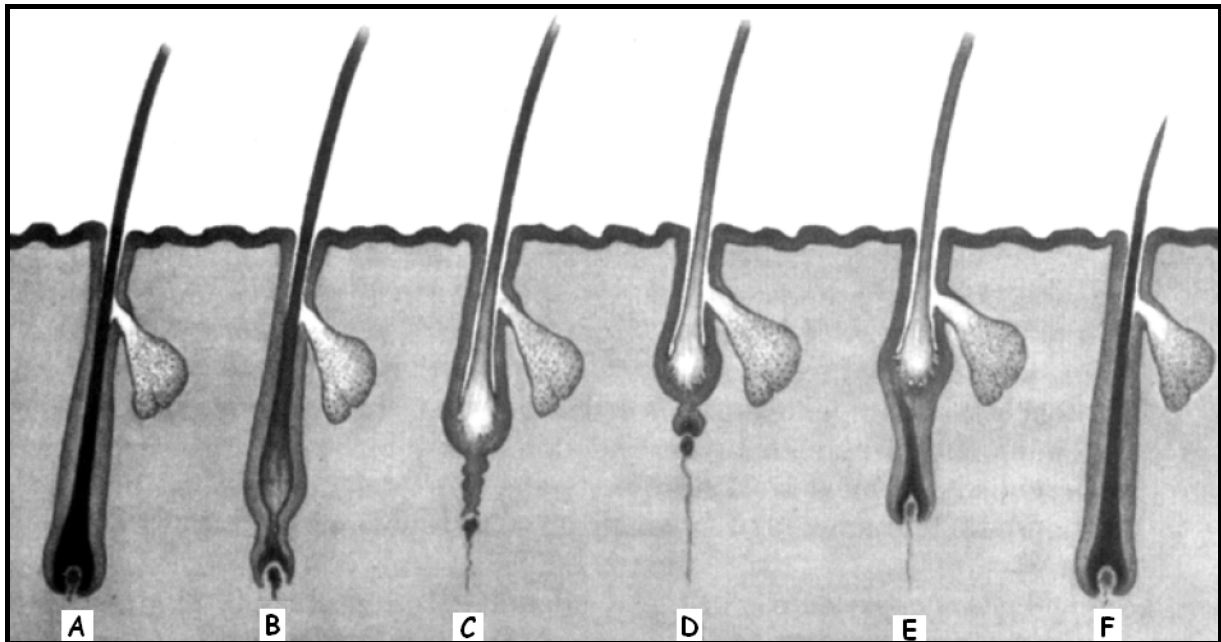


Figure 12 : Cycle du follicule pileux (d'après Scott *et al.*, 2001)

A = anagène du 1^{er} cycle ; B = début du catagène du 1^{er} cycle ; C = fin du catagène du 1^{er} cycle ; D = télogène du 1^{er} cycle ; E = début de l'anagène du 2^{ème} cycle, F = fin d'anagène du 2^{ème} cycle.

Le phénotype « poil long » est un caractère **récessif** chez le chat (Vella *et al.*, 1999), l'allèle correspondant est noté *l* (et l'allèle « poil court » est noté *L*⁺). Cependant, une grande variabilité de longueur existe et suppose l'intervention d'un **système polygénique** complexe. Dans les races à poil long ou mi-long dont le Norvégien, ce caractère récessif a été fixé à l'état **homozygote**, par sélection naturelle suite au climat rude des contrées scandinaves dans le cas du Norvégien.

Le locus *L* est homologue du locus *FGF5*, gène codant pour un **facteur de croissance des fibroblastes** (Fibroblast Growth Factor 5) qui régule le cycle pileux : lorsque cette protéine est mutée, il n'y a aucun signal, l'anagène se poursuit et le poil s'allonge. Trois mutations différentes ont été rapportées chez le chat, une de ces trois, p.Val61Asp, est spécifique du Norvégien ce qui témoigne de son origine unique par apport aux autres races à poil long (Drögemüller *et al.*, 2007). L'identification de Norvégiens hétérozygotes pour cette substitution et hétérozygotes pour la substitution p.Pro65His, ségrégant avec le « poil long » dans les autres races, prouve que le Norvégien a été croisé avec d'autres races, peut-être pour améliorer la qualité de sa fourrure.

« p.Val61Asp » et « p.Pro65His » correspondent à la nomenclature internationale utilisée pour décrire une substitution faux-sens. « p.Val61Asp » signifie que la valine 61 dans la séquence protéique (« p ») du Fibroblast Growth Factor 5 est remplacée par un acide aspartique ; « Val » et « Asp » correspondent aux **codes à 3 lettres** convenus par la nomenclature internationale pour la description des acides aminés. « p.Val61Asp » peut également s'écrire « p.V61D » et fait référence au **code à 1 lettre** de la nomenclature internationale (Annexe 2).

Il existe également une nomenclature pour la description des mutations dans la séquence codante de l'ADN que nous expliquerons ultérieurement. Dans la suite du manuscrit, nous n'indiquerons sauf exception que les modifications occasionnées dans la séquence protéique, en utilisant les codes à 3 lettres par souci de simplification.

2. Mélanogenèse et cycle pileux

La mélanogenèse n'a lieu qu'au cours des phases d'**anagène** III à VI, cesse dès le début du catagène et ne reprend qu'au cycle suivant.

Les mélanocytes folliculaires ont un seuil de sensibilité plus bas que les mélanocytes épidermiques et sont plus sensibles aux variations hormonales. En revanche, leur position anatomique plus profonde les rend moins sensibles aux stimuli externes, tels que les UV (Trinquier, 1990).

F. Régulation de la pigmentation cellulaire

Elle est contrôlée par de nombreux mécanismes (Figure 13), en plus de ceux qui ont déjà été décrits.

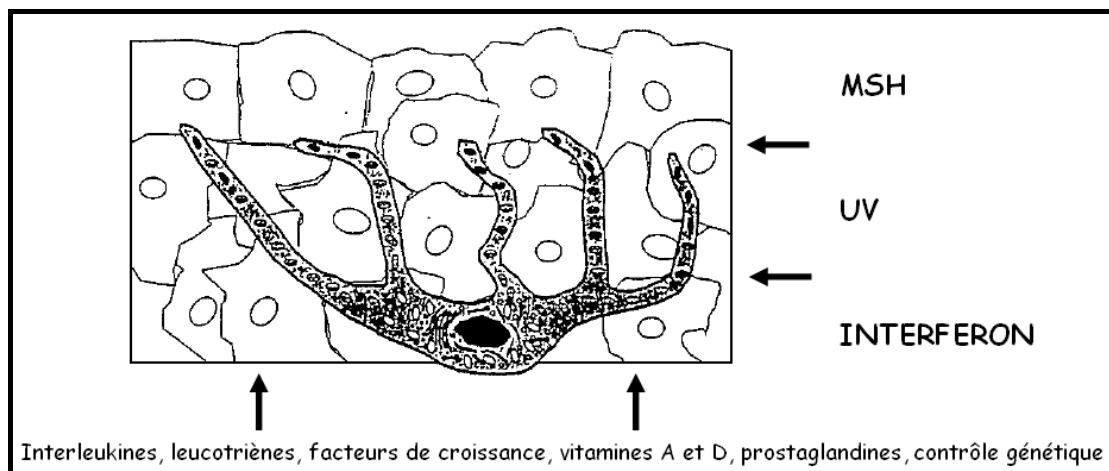


Figure 13 : Les différents stimuli agissant sur le mélanocyte (d'après Césarini, 1995)

1. Contrôle hormonal (Lévy, 2005)

a. Hormones mélanotropes : MSH et mélatonine

Les hormones mélanotropes

L'hypophyse synthétise plusieurs peptides à action mélanotrope (ou mélanocortine), dérivant d'un même précurseur, la pro-opiocortine : ce sont les **MSH** (Melanocyte Stimulating Hormone) avec l' α -MSH, le β -MSH et le γ -MSH, la lipotrophine et l'ACTH. La mélanogenèse résulte donc de l'action combinée de plusieurs hormones et surtout de celle des MSH sécrétées par la glande pituitaire à partir de la pro-opiomélanocortine (POMC).

L'ACTH possède des propriétés mélanostimulantes, mais son action n'est visible que lorsqu'elle est sécrétée en quantité anormalement élevée et prolongée (Fargeras, 1995).

L' α -MSH et ses rôles

L' α -MSH est synthétisée et libérée par les mélanocytes, les kératinocytes, les cellules de Langerhans, les fibroblastes et les cellules endothéliales. Son action majeure concerne la **régulation de l'inflammation cutanée**. Les autres mélanocortines ont de nombreuses autres fonctions, notamment dans la régulation des systèmes immunitaire et cardiovasculaire, mais aussi dans l'homéostasie pondérale et le comportement (alimentaire, sexuel, toilette, sommeil ...) (Wikberg *et al.*, 2000).

L' α -MSH est également l'hormone de l'eumélanogénèse. Son récepteur est nommé MC1-R et est codé par le gène *MC1R* ou *extension*. Sur un mélanocyte, les MC1-R sont organisés en foyers (environ 10^4 récepteurs par mélanocyte). Une fois l'hormone fixée, les complexes MSH/MC1-R seraient internalisés puis transportés vers les mélanosomes (①, figure 14).

L' α -MSH favorise la différenciation des mélanocytes en augmentant leur dendricité (Aubin Houzelstein, 1997), agit sur leur multiplication et stimule **uniquement l'eumélanogénèse** (Burchill & Thody, 1986 a et b) via la production d'AMPc (②, figure 14). L' α -MSH active la tyrosinase et n'a qu'une faible action stimulatrice de la synthèse de tyrosinase (③, figure 14).

Les taux de tyrosinase sont comparables durant la phaeomélanogénèse et l'eumélanogénèse, mais l'enzyme est moins glycosylée au cours de la phaeomélanogénèse, et est donc moins efficace dans le mélanosome (Burchill *et al.*, 1989). Durant la phaeomélanogénèse, la tyrosinase est également peu active de part sa liaison à une molécule inhibitrice. L'augmentation du taux d'AMPc suite à la fixation de l' α -MSH permet d'inactiver cet inhibiteur et d'induire l'eumélanogénèse.

C'est réellement la teneur cellulaire en tyrosinase active qui oriente soit vers l'eumélanogénèse, ou vers la phaeomélanogénèse.

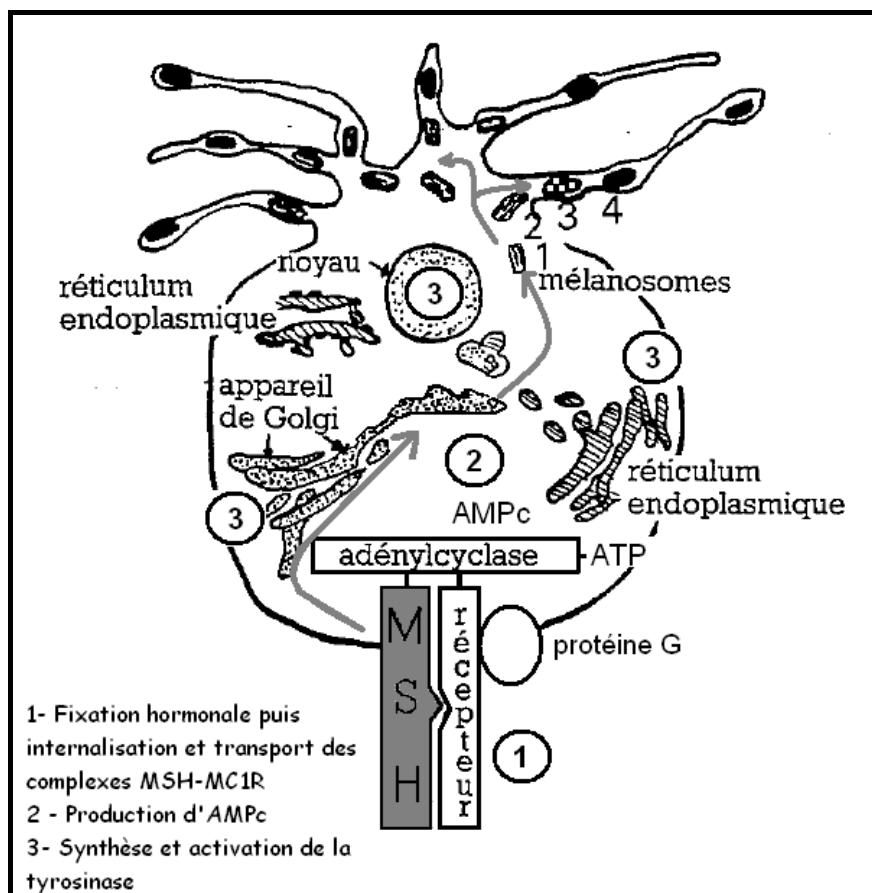


Figure 14 : Mode d'action des MSH sur le mélanocyte (d'après Guaguère *et al.*, 1985)

Mélatonine (Trinquier, 1990)

L'obscurité stimule la synthèse de ce polypeptide dans l'épiphyse, qui est un **antagoniste** des hormones mélanotropes. La mélatonine inhibe la mélanogénèse sans affecter l'activité tyrosinase, en intervenant donc à un stade ultérieur via une GMPc. Le couple MSH/mélatonine intervient chez les Mammifères surtout dans les **variations saisonnières** du pelage (suivant les variations de durée d'ensoleillement).

b. Autres hormones

Les œstrogènes, la progestérone et la testostérone ont une action stimulante sur la mélanogénèse. Mais dans les conditions physiologiques, cette action reste limitée à la région génitale.

Les hormones thyroïdiennes ont une action variable selon l'espèce : chez l'homme une hyperthyroïdie aboutit à une hypermélanose tandis que l'hypothyroïdie est responsable du même symptôme chez le chien. Notons également l'intervention possible des hormones hypophysaires dans certaines affections, de l'acide arachidonique et de ses dérivés (Guaguère *et al.*, 1985)

c. Régulation au niveau cellulaire (unité fonctionnelle de mélanisation)

Aujourd'hui on envisage une **régulation locale** de la prolifération des mélanocytes et de leur synthèse, de type **autocrine** ou **paracrine** (Scott *et al.*, 2001). Les mélanocytes expriment de nombreux récepteurs de surface, permettant des interactions avec les cellules voisines mais aussi des récepteurs pour des facteurs de croissance et des facteurs de communication. L'importance des interactions entre kératinocytes et mélanocytes pour l'eumélanogénèse a été démontrée *in vitro* (Duval *et al.*, 2002).

2. Les rayons UV (Chakraborty *et al.*, 1995)

Ils constituent le **stimulus inducteur le plus efficace** de la mélanogénèse. Les ultra-violets ont une action directe et indirecte sur les mélanocytes :

- augmentation du nombre de dendrites
- accroissement de la synthèse de tyrosinase et des mélanosomes
- activation de la tyrosinase.

L'essentiel de l'action pigmentogène des UV résulterait néanmoins d'une régulation paracrine à partir des kératinocytes (Alhaidari, 2001)

La pigmentation cellulaire dépend donc de nombreux paramètres différents qui interviennent dans la régulation de l'expression du MC1-R, **LE RECEPTEUR** de l'eumélanogénèse (Figure 15 sur la page suivante).

① Différents signaux favorisent la synthèse et l'expression du MC1-R : les UV, les mélanocortines (MC), END1 et les interleukines alors que les facteurs $TNF\alpha$, $TGF\beta$ et H_2O_2 exercent un contrôle inhibiteur.

② Dans le mélanocyte murin, les mélanocortines et la protéine agouti induisent la transcription du gène avec un rendement variable. Les ARN messagers (mRNA) sortent ensuite du noyau et sont traduits dans le réticulum endoplasmique grâce aux ribosomes ③.

④ Les protéines sont ensuite exportées vers le Golgi ⑤, puis sur la membrane plasmique, généralement sous forme de dimères. Certains mutants protéiques n'acquièrent pas cette aptitude à migrer et restent dans les organites cytosoliques.

⑥ La fixation du ligand permet ensuite l'activation du MC1-R membranaire.

⑦ Le couplage à la protéine G et à l'adénylatecyclase dépend de l'état de phosphorylation des protéines GRK2 ou GRK6 en contact avec l'extrémité C-terminale du MC1-R.

⑧ Le récepteur phosphorylé est internalisé dans une vésicule d'endocytose. L'avenir de ces vésicules n'a pas encore été élucidé.

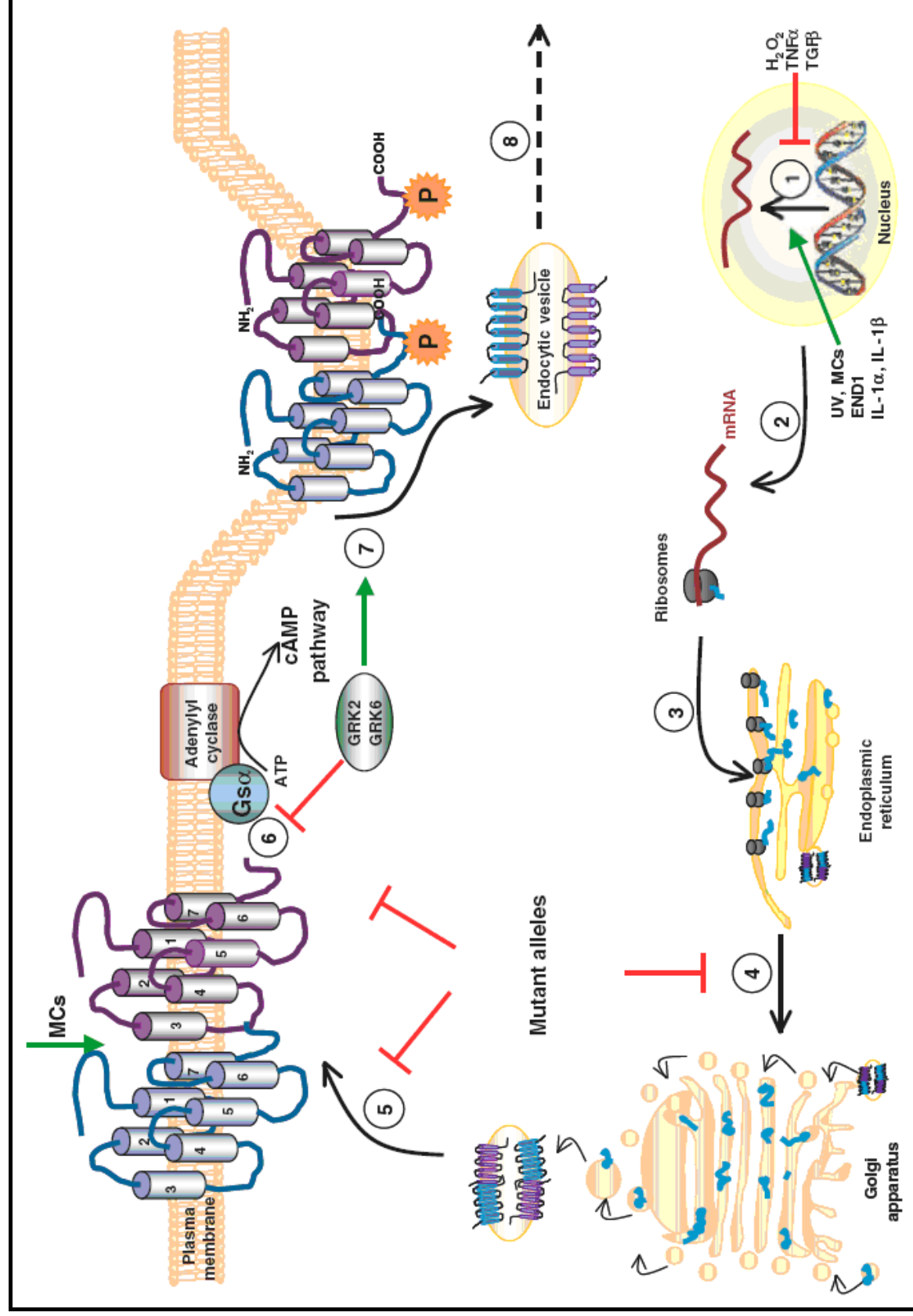


Figure 15 : Régulation de l'expression du MC1-R et de la réponse intracellulaire (Garcia-Borron *et al.*, 2005)

3. Contrôle génétique (Aubin Houzelstein, 1997, Jackson, 1997)

De nombreux gènes influencent la pigmentation et interviennent soit directement sur la lignée mélanocytaire, soit indirectement par les cellules voisines en particulier par les kératinocytes. Certains gènes n'agissent pas sur la cellule elle-même mais sur sa migration.

La pigmentation normale résulte d'une succession d'étapes. Toutes ces étapes dépendent du bon fonctionnement de protéines codées par les gènes de la pigmentation. Ceux-ci sont habituellement classés en « groupes fonctionnels », correspondant aux différentes étapes depuis la détermination des cellules précurseurs jusqu'à la présence des mélanosomes dans le cytoplasme des kératinocytes. Toute mutation sur ces gènes pourra induire une anomalie pigmentaire (Alhaidari, 2001).

Jackson (1997) récapitule les différents gènes intervenant dans la pigmentation chez l'homme et la souris. Certaines de ces séries alléliques sont homologues de celles du chat, elles sont soulignées et indiquées en gras ci-dessous.

a. Développement de la lignée mélanocytaire

- Le locus ***dominant white spotting*²** (*W* ou *KIT*) code pour le récepteur transmembranaire à activité tyrosine kinase : les mutations affectent soit le niveau d'expression du kit, soit l'activité tyrosine kinase.
- Le locus *steel* (*S*) code pour le facteur steel, agoniste du récepteur à activité tyrosine kinase. C'est un facteur de croissance essentiel pour la survie des mélanoblastes migrants.
- Le locus *piebald lethal* (*S* ou *EDNRB*) code pour le récepteur à l'endothéline B (*EDNRB*), facteur de croissance essentiel pour la survie des mélanoblastes migrants.
- Le locus *patch*² (*PDGFRA*) code pour le platelet-derived growth factor alpha (*PDGFRA*), facteur de croissance essentiel pour la survie des mélanoblastes migrants.
- Le locus *lethal spotted* (*ls*) code pour l'endothéline 3 : une mutation sur ce locus entraîne une accumulation de laminine, néfaste pour la migration des mélanoblastes.
- Le locus *splotch* (*Sp*) code pour le facteur de transcription Pax-3, fondamental pour l'activation des mélanoblastes (pour leur prolifération et migration depuis la crête neurale) et régule également l'expression du facteur de transcription MITF (Microphthalmia Transcription Factor).

b. Voie de biosynthèses des mélanines

- Le locus ***albinos*** ou ***colour*** (***C***) code pour la tyrosinase.
- Le locus ***brown*** (***B***) code pour la TRP-1, spécifique de l'eumélanogenèse.
- Le locus *slaty* (*slf*) code pour la TRP-2, spécifique de l'eumélanogenèse.

² Le gène *white spotting* est noté *S* chez le chat (à ne pas confondre avec le *S* murin qui correspond au locus *piebald lethal*) : à ce jour, on ne sait pas encore si le gène *white spotting* félin est homologue du gène murin *dominant white spotting* (*KIT*) ou du gène murin *patch* (*PDGFRA*) (Cooper et al., 2005).

c. Régulation des gènes de la famille des TRP

Le locus *microphthalmia* code pour le facteur de transcription MITF qui intervient surtout dans la différenciation mélanocytaire (par la régulation de l'expression des gènes *albinos* et *brown*) et sur la détermination des précurseurs de mélanoblastes.

d. Cofacteur de la tyrosinase

Le locus *mottled* code pour la protéine ATP7A, protéine de transport transmembranaire du cuivre. Une mutation sur ce gène peut être responsable d'une accumulation cytoplasmique du cuivre donc d'une chute de la cuprémie et du blocage de toutes les cuproprotéines de l'organisme à l'origine de nombreux effets pléiotropes.

e. Fonction et structure du mélanosome

- Le locus *pink-eyed dilution* (*p*) code pour une protéine P de la membrane mélanosomiale. P est vraisemblablement un transporteur transmembranaire de tyrosine mais également une protéine de structure stabilisatrice des enzymes TRP et interviendrait donc indirectement dans l'eumélanogenèse.
- Le locus *PMEL17* code pour la protéine Pmel17 (protéine silver).
- Autres loci : *pallid*, *pale ear* et *ocular albinism* (*OA*)

f. Transport des mélanosomes

- Les loci *dilute*, *leaden* et *ashen* codent respectivement pour la myosine Va (MYO5A), la mélanophiline (MLPH) et la protéine Rab27a (RAB27A), trois protéines du cytosquelette nécessaires à la répartition homogène des mélanosomes.
- Locus *dilute suppressor*³
- Le locus *beige* code pour la protéine LYST, protéine de fonction du mélanosome.

g. Type de mélanine produite

- Le locus *extension* (*MC1R* ou *E*) code pour le MC1-R, récepteur de l' α -MSH.
- Le locus *agouti* (*ASIP* ou *A*) code pour la protéine agouti, antagoniste compétitif de l' α -MSH pour son récepteur.

³ L'homologie entre le locus *dilute suppressor* de la souris et le locus *dilute modifier* du chat n'a pas été démontrée.

La figure 16 constitue une synthèse sur la régulation génétique de la pigmentation cellulaire et montre dans quelle voie métabolique interviennent les principaux gènes de la pigmentation identifiés chez la souris, puis dans d'autres espèces.

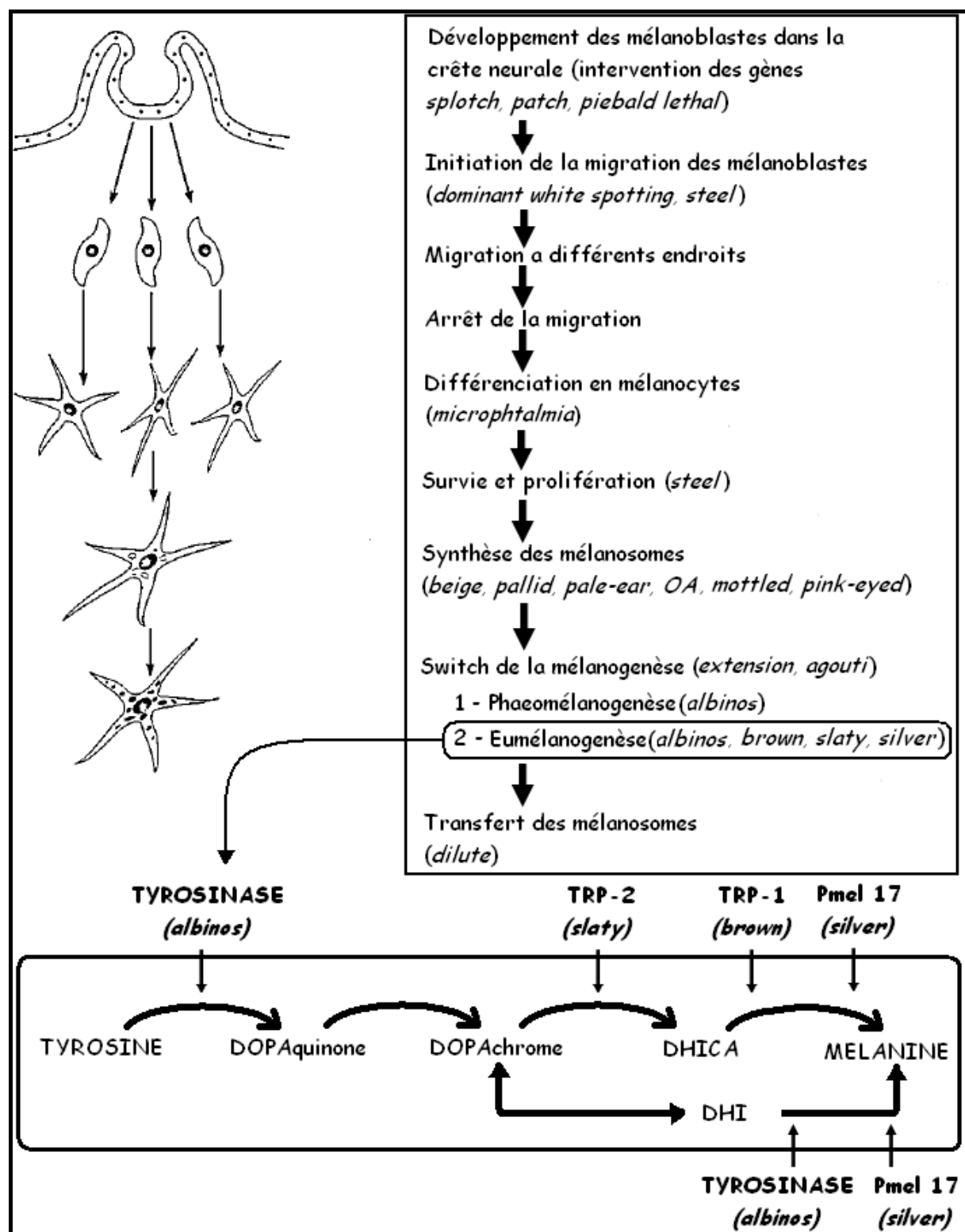


Figure 16 : Gènes intervenant dans la synthèse des mélanines
(d'après Césarini, 1995 & Alhaidari, 2001)

III. Le déterminisme génétique de la couleur chez le chat

A. Pigmentation des yeux (Vella *et al.*, 1999)

La couleur des yeux est déterminée par des systèmes **polygéniques** : tous les intermédiaires existent depuis le vert émeraude jusqu'au bleu saphir en passant par le cuivre. Il existe également des allèles pléiotropes (yeux bleus associés aux patrons point ou albinos).

B. Pigmentation de la robe (Brisson, 1989 & Vella *et al.*, 1999)

Chez le chat, on connaît à ce jour pas moins de 12 loci comportant 28 allèles (Bossé, 2005).

1. Loci *A* (*agouti* ou *ASIP*) et *T* (*tabby*) : les poils unis, agouti et agouti transformés

a. Déterminisme génétique

L'allèle sauvage *A*⁺ est dominant sur l'allèle *a*.

Le cas du locus *T* est un peu plus complexe. Même si les résultats ne sont pas significatifs, l'étude de Lyons *et al.* (2006) est en faveur d'un **locus majeur**, situé sur le chromosome B1 et associé à des **polygènes**. L'allèle ticked (*T*^a) serait dominant sur le mackerel (*T*⁺) lui-même dominant sur le blotched (*t*^b). L'intervention de polygènes permettrait d'obtenir une robe spotted à partir d'une robe mackerel.

D'autres déterminismes ont été proposés.

➤ Deux loci associés à des polygènes (Vella *et al.*, 1999) :

- ✓ Locus *ticked* épistatique : *T*^a ≥ *t*⁺ (dominance incomplète)
- ✓ Locus *mackerel* : *Mc*⁺ (mackerel) > *mc* (blotched)
- ✓ Polygènes transformant les patrons mackerel et blotched en spotted

Cette théorie expliquerait la persistance de marques tabby sous forme d'anneaux chez les individus ticked *T*^a/*t*⁺, *Mc*⁺/- et *T*^a/*t*⁺, *mc*/*mc* alors que les individus ticked sans anneaux seraient *T*^a/*T*^a, -/-.

➤ Trois loci associés à des polygènes (Lorimer-1/web) :

- ✓ Locus *ticked* épistatique sur les deux autres : *T*^a ≥ *t*⁺ (dominance incomplète)
- ✓ Locus *spotted* épistatique du locus *mackerel* : *Sp* (spotted) > *sp*⁺ (mackerel ou blotched)
- ✓ Locus *mackerel* : *Mc*⁺ (mackerel) > *mc* (blotched)
- ✓ Autres polygènes modifiant la robe spotted

Son fondement repose sur des observations empiriques : en effet, les mariages entre des chats mackerel donnent systématiquement des chatons mackerel ou blotched ; les mariages entre des chats spotted ou avec des chats mackerel et/ou blotched donnent des chatons spotted, mackerel et/ou blotched ; enfin les mariages entre des chats ticked (avec anneaux) ou avec des chats spotted, mackerel et/ou blotched donnent tous les patrons dans une même portée.

b. Phénotype

Chez la souris, le phénotype sauvage ou « white bellied agouti » est en apparence gris uniforme, excepté sur le ventre de couleur jaune clair. Ces poils gris sont « **agouti** » et les poils jaunes sont phaeomélaniques (Bossé, 2005).

La robe tabby (allèle A^+)

Chez le chat, le poil agouti se caractérise par un dépôt alternatif et successif des pigments mélaniques donnant un poil cerclé de **bandes eumélaniques et phaeomélaniques**, avec une **racine phaeomélanique** (Figure 17). Il diffère donc du poil agouti décrit chez la souris avec une bande subapicale phaeomélanique et une pointe eumélanique.

Le poil non agouti du chat tabby, également appelé poil uni, est eumélanique avec une courte racine phaeomélanique (Figure 17).

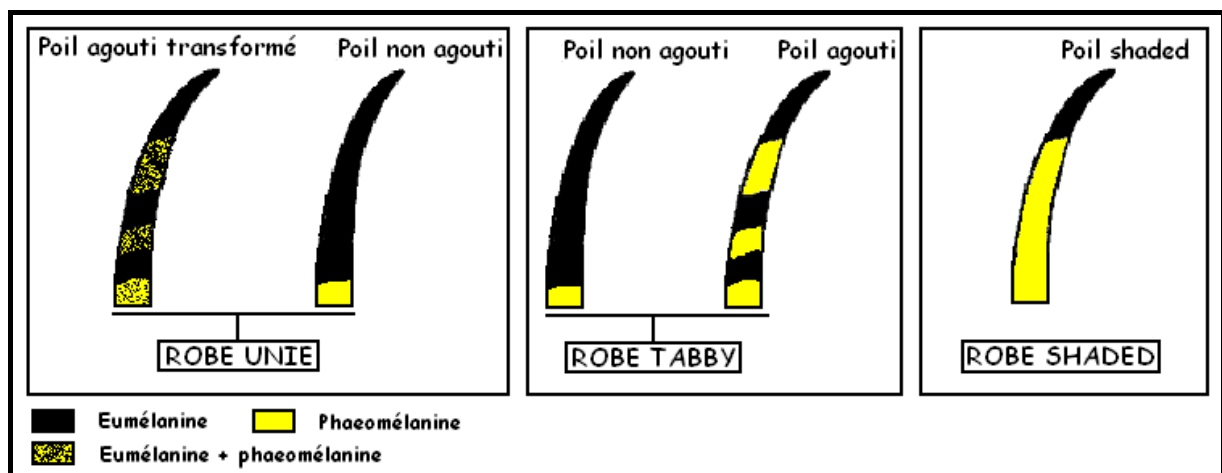


Figure 17 : Différentes possibilités de répartition des mélanines dans le poil félin (d'après Brisson, 1989)

La robe tabby du chat est déterminée par le locus T et se caractérise par des **rayures noires (poils unis)** sur un fond de poils agouti (Figure 18). Tous ces patrons sont autorisés dans le standard du Chat des Forêts Norvégiennes, les Norvégiens blotched et mackerel sont les plus représentés.

- La robe **ticked (ou abyssian)** est comparable à la robe « white bellied agouti » de la souris décrite plus haut. Tous les poils sont agouti, sauf quelques poils unis de la ligne dorsale (et parfois des poils unis regroupés en anneaux sur les pattes, la tête et la queue).
- Les robes **mackerel (ou striped)** et **spotted** possèdent approximativement autant de poils agouti que de poils unis. Chez le mackerel, les poils unis correspondent aux tigrures, chez le spotted ils correspondent aux spots. La robe mackerel est la robe sauvage chez le chat domestique (Bossé, 2005).
- La robe **blotched (ou classic)** possède plus de poils unis que de poils agouti. Les poils unis se situent dans les marbrures noires, les poils agouti se situent sur le reste du corps.

Certaines souris femelles sont dites « tabby » et présentent des rayures noires transversales sur un fond de poils agouti. Ce phénotype est codé par une mutation d'un gène situé sur le chromosome X et n'a strictement rien à voir avec la robe mackerel tabby du chat. Le gène *tabby* n'a toujours **aucun homologue murin** (Bossé, 2005).

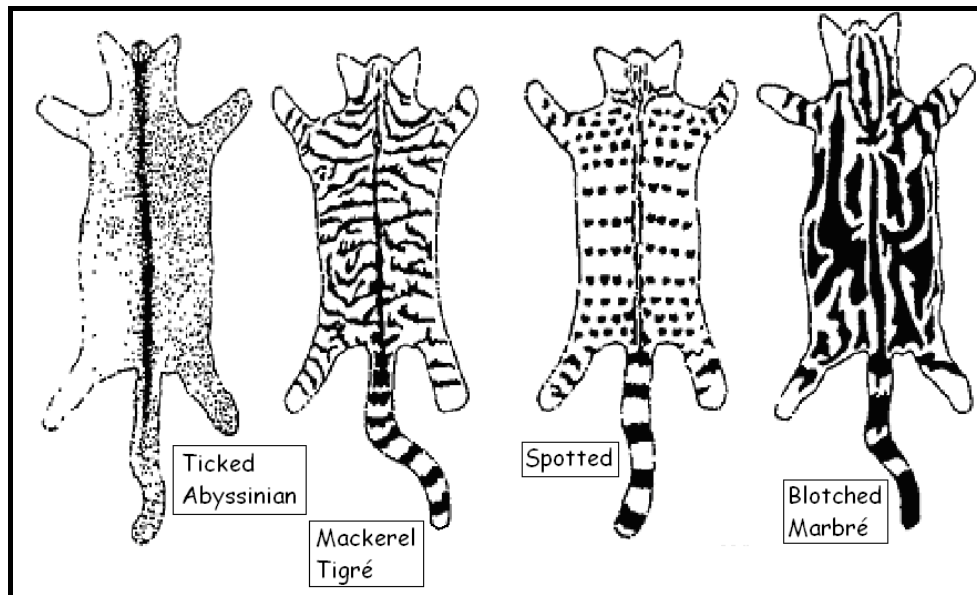


Figure 18 : Différents patrons possibles au locus *T* (d'après Brisson, 1989)

La robe unie ou solid ou self (allèle *a*)

La robe unie correspond à un **ensemble de poils unis sur un fond de poils agouti transformés**. Le poil uni du chat uni est similaire au poil uni du chat tabby, avec une courte racine fauve. Le poil agouti transformé présente une succession de bandes d'eumélanine et d'eumélanine probablement mélangée à de la phaeomélanine (Figure 17). Un poil agouti transformé contiendrait proportionnellement moins d'eumélanine qu'un poil uni et donc apparaîtrait moins sombre. Ceci expliquerait la persistance possible de marques fantômes sur les robes unies.

c. Mode d'action

Allèle *A*⁺

Il code pour la protéine agouti constituée de 135 résidus (Eizirik *et al.*, 2003). C'est une molécule paracrine régulant la pigmentation et produite au cours de l'anagène en quantité variable.

Plusieurs mécanismes d'action ont été proposés pour expliquer son action inhibitrice sur l'eumélanogenèse (Ollmann *et al.*, 1998).

- 1 - La protéine agouti aurait un effet inhibiteur indirect sur la tyrosinase (via l'AMPc) en régulant le taux de calcium intracellulaire grâce à sa capacité à bloquer les canaux calciques membranaires.
- 2 - La fixation de la protéine agouti sur le MC1-R commanderait l'internalisation du récepteur qui deviendrait inaccessible pour l' α -MSH.
- 3 - La fixation de la protéine agouti sur le MC1-R entraînerait une cascade réactionnelle avec une protéine G différente de celle recrutée par la fixation de l' α -MSH.

4 - La protéine agouti joue le rôle d'un **antagoniste compétitif**, cette hypothèse a été démontrée par Lu *et al.* (1994). La protéine agouti inhibe l'eumélanogenèse même en l'absence de mélanocortines (Hunt & Thody, 1995) ce qui suppose que la protéine agouti soit un **agoniste inverse** pour le MC1-R (Ollmann *et al.*, 1998) : elle stabiliserait le récepteur en configuration inactive tout en conservant sa propriété d'antagonisme et limiterait le transfert du signal intracellulaire de l' α -MSH.

Le site actif de la protéine agouti correspond à 40 acides aminés plutôt hydrophiles avec 5 ponts disulfures et interagit avec les boucles extracellulaires du MC1-R, alors que le site pour l' α -MSH est une cavité hydrophile dans le MC1-R transmembranaire : **la protéine agouti et l' α -MSH interagissent ainsi en deux sites différents du MC1-R** (Ollmann *et al.*, 1998).

Par analogie avec d'autres récepteurs et ligands, la fixation de la protéine agouti ou celle de l' α -MSH s'inhiberaient entre elles en provoquant des changements allostériques. Ces données sont en accord avec un mécanisme compétitif où la protéine agouti est capable de déplacer l'équilibre de liaison de façon réversible. L'action inhibitrice de la protéine agouti ne se limite toutefois pas seulement à cet antagonisme, mais modifierait également la maturation post-traductionnelle du MC1-R. Ceci altérerait le couplage avec la protéine G, voire provoquerait l'internalisation des récepteurs dans la cellule après la fixation de la protéine agouti. Cette double propriété de la protéine agouti expliquerait pourquoi les mutations « jaunes » au locus *agouti* donnent une robe plus jaune que les mutations « jaunes » au locus *extension* (Ollmann *et al.*, 1998).

En parallèle de son action sur le MC1-R, la protéine agouti possède aussi une action inhibitrice sur les enzymes spécifiques de l'eumélanogenèse (tyrosinase, TRP-1 et TRP-2) (Kobayashi *et al.*, 1995). La voie de la cystéinylDOPA reste fonctionnelle d'où la production de phaeomélanine.

Chez la souris « white bellied agouti », il y a peu de protéine agouti en début d'anagène puis la tendance s'inverse. **L'eumélanogenèse est donc possible seulement en début d'anagène ce qui se traduit par une racine fauve et une pointe noire.** Le gène murin sauvage est remarquable par son épissage alternatif capable de générer deux types de transcrits : en plus des transcrits « spécifiques du cycle folliculaire » responsables de la bande fauve subapicale, il y a également une production continue de transcrits « ventraux spécifiques » uniquement sur le ventre et responsables du ventre jaune (Bossé, 2005).

Chez le chat le mécanisme est complexe et probablement un peu différent, avec des **éléments régulateurs spatio-temporels**.

- La production de la protéine agouti serait diminuée dans certaines régions corporelles ou alors son affinité pour le MC1-R serait localement diminuée d'où les motifs tabby constitués de poils noirs.
- Il y aurait également des variations de la concentration en protéine agouti au cours de l'anagène d'où les multiples bandes sur le poil agouti.

Allèle a

La délétion des nucléotides 123 et 124 du gène *agouti* modifie complètement la séquence de la protéine agouti après le 40^{ème} résidu. Elle est responsable d'un codon stop prématuré après le 99^{ème} acide aminé qui fait disparaître l'extrémité C-terminale, fondamentale pour la fonction de la protéine agouti (Eizirik *et al.*, 2003). **La propriété inhibitrice de cette « protéine agouti transformée » sur l'eumélanogenèse est très fortement diminuée voire inexistante** et la teneur en eumélanine est quasiment inchangée d'une bande à l'autre : il s'agit d'un poil agouti transformé presque aussi sombre qu'un poil uni.

2. Locus *Wb* (*widebanding*)

a. Déterminisme génétique et phénotype

L'allèle ***Wb*** est à **dominance incomplète** sur ***wb*⁺** et son action est complétée par des **polygènes** : il est responsable du tipping et de la robe golden shaded. La robe shaded est en réalité bien plus complexe et ne se limite pas au gène *widebanding* (Johnson/web), mais nous ne détaillerons pas ce phénotype, car il est spécifique à certaines races et ne concerne pas le Norvégien.

Les différences d'intensité observées entre un black tabby foncé et un black tabby chaud s'expliquent par des polygènes responsables de variations des teintes phaeomélaniques (rufisme) et ne seraient pas dues aux polygènes d'allongement de la bande phaeomélanique.

On parle couramment de black tabby chaud ou golden tabby pour des chats Norvégiens présentant une couleur dorée et non dominante : ces couleurs sont le fruit de polygènes, **l'allèle *Wb* est théoriquement absent du patrimoine génétique de la race** (Madsen-1/web).

b. Mode d'action

L'action correspond à un **allongement de la bande agouti**, à savoir la région sur laquelle la protéine agouti inhibe l'eumélanogénèse durant la croissance du poil (Figure 17).

- Il n'a **aucune action sur une robe unie** car la protéine agouti transformée est inefficace.
- En allongeant la bande agouti, le taux d'eumélanine diminue ce qui explique la teinte dorée. On parle de **tipping**.
- Plus le tipping est conséquent, moins on a de bandes successives noires et fauves. **Les motifs tabby sont masqués**.

Le mécanisme exact est inconnu et deux hypothèses ont été proposées : le *widebanding* pourrait réguler la synthèse de la protéine agouti ou avoir une action inhibitrice directe sur la synthèse d'eumélanine.

3. Locus *I* (*inhibitor*), l'inhibition du dépôt des mélanines

a. Déterminisme génétique et phénotype

L'allèle ***I*** est **dominant** sur ***i*⁺** et donne une robe **smoke unie** (fumée) ou **silver tabby** (argent).

Le poil agouti transformé présente une **racine claire et une pointe d'apparence noire uniforme chez les smoke** alors que le poil agouti présente une racine blanche et une succession de **bandes transparentes et eumélaniques chez les silver tabby** (Figure 19).

Du fait de la teneur en phaeomélanine plus importante chez les chats tabby, l'action de l'allèle ***I*** sera mieux visible et donne des individus silver tabby d'apparence plus claire que les chats smoke uni. Certains individus smoke ont une portion racinaire claire si courte qu'ils sont facilement confondus avec des noirs unis.

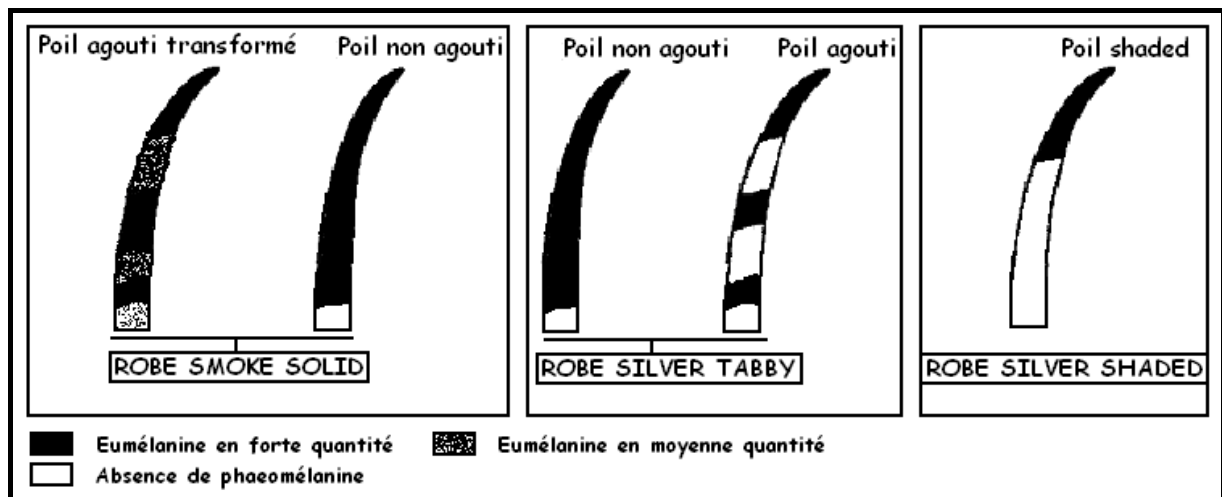


Figure 19 : Relation entre la répartition des mélanines et le locus *I*

L'allèle *I* a une grande variabilité d'expression ce qui suppose l'existence de **polygènes** comme pour le *widebanding* : l'association de ces polygènes (ou de l'allèle *Wb*) et de l'allèle *I* permet d'expliquer tous les stades entre le silver tabby, le silver shaded (Figure 19) et le chinchilla (où les poils ne présentent qu'une très courte pointe noire).

La phaeomélanine peut persister chez certains individus hétérozygotes *I/i**. Ce phénomène est appelé *tarnishing* et serait dû à une dominance incomplète.

b. Mode d'action

Chez la souris, le locus *silver* est homologue du locus *PMEL17* et régule la **polymérisation** et le **dépôt** des mélanines dans l'eumélanosome : lorsque cette voie est déficiente, il y a accumulation d'ions superoxydes au cours de la croissance du poil, responsable d'une perturbation de la voie oxydative du mélanocyte aboutissant à sa mort et donc à une diminution de la teneur en eumélanine d'où un pelage grisonnant (Aubin Houzelstein, 1997).

Des mutations sur le même gène (*PMEL17*) sont connues dans d'autres espèces (poule, cheval, chien) et ont une action très ciblée, responsable d'une **dilution de l'eumélanine** aboutissant au même phénotype grisonnant (Kerje *et al.*, 2004, Brunberg *et al.*, 2006, Clark *et al.*, 2006).

Chez le chat, l'action inhibitrice de l'allèle *I* fait disparaître la phaeomélanine et n'a pas ou peu d'action sur l'eumélanine. Le mécanisme moléculaire est donc vraisemblablement différent, peut-être en faisant intervenir d'autres gènes en parallèle ou en ayant un support génétique différent du locus *PMEL17*.

4. Locus *B* (*brown* ou *TYRP1*), le type d'eumélanine

a. Déterminisme génétique et phénotype

Cette série allélique compte chez le chat trois allèles à **dominance décroissante** qui sont chacun associés à une organisation particulière de l'eumélanine.

- *B** code pour une **eumélanine noire** organisée sous forme de granules sphériques.
- *b* code pour une **eumélanine chocolat** (brun) organisée sous forme de granules ovales.
- *b'* code pour une **eumélanine cannelle/cinnamon** (brun clair) organisée sous forme de baguettes.

La phaeomélanine peut être plus claire surtout pour les robes cinnamon (ceci dit, ce pigment possède une grande variabilité intrinsèque, du jaune gris au brun rouge).

Les standards FIFe et LOOF interdisent les couleurs chocolat et lilas, cinnamon et fawn pour le chat Norvégien. Une lignée de Norvégien chocolat aurait existé en Norvège, mais n'a jamais été confirmée par dépistage génétique. Le cinnamon n'a jamais été décrit dans cette race, mais il serait présomptueux d'affirmer que l'allèle *b'* est absent dans le pool génétique du Norvégien. En effet la robe ticked a été introduite par des novices descendant probablement de Somalis (Swepston-1/web) et qui auraient donc pu apporter simultanément l'allèle *cinnamon*.

b. Mode d'action

Il a récemment été démontré chez le chat que le locus *brown* correspond au locus *TYRP1* codant pour la Tyrosinase Related Protein de type 1 (TRP-1) (Lyons *et al.*, 2005 a & Schmidt-Küntzel *et al.*, 2005).

- L'allèle *cinnamon* est caractérisé par une substitution dans l'exon 2 responsable d'un codon stop prématuré et d'une protéine tronquée à 80%.
- Pour l'allèle *chocolat*, les auteurs ont mis en évidence plusieurs sites polymorphes ségrégant avec le phénotype, dont un dans l'exon 2 responsable d'une substitution faux-sens et un deuxième dans l'intron 6 qui pourrait entraîner une erreur d'épissage et faire disparaître l'exon 6.

L'eumélanine produite est identique mais elle s'organise en granules différents selon l'efficacité de la TRP-1, avec un degré de polymérisation du pigment eumélanique diminuant du noir au cinnamon.

5. Locus *C* (couleur ou *TYR*), l'évolution vers l'albinisme

a. Déterminisme génétique et phénotype

Cette série allélique compte cinq représentants chez le chat : $C^+ > c^b \geq c^s > c^a > c$. L'allèle *burmese* (c^b) contribue à donner un **pelage plus foncé aux niveaux des extrémités**, appelé sépia (museau, oreilles, pattes, queue). Ce contraste est encore accru avec l'allèle *siamois* ou *colourpoint* (c^s). Le mariage entre un chat burmese et un chat siamois donne la robe tonkinois qui correspond à un phénotype intermédiaire entre le sépia et le colourpoint, et qui suppose la codominance des allèles c^b et c^s . Les deux derniers allèles sont très rares et donnent des chats avec une **robe blanche** aux yeux bleus pâles (c^a) et rouges (c , albinos vrai). Histologiquement on retrouve des mélanocytes tyrosinase négatifs dans leur tissu cutané. L'allèle c est létal.

Cette série allélique agit également sur la **pigmentation des yeux** : l'allèle *burmese* est associé à des yeux jaunes gris à verts, l'allèle *siamois* est associé à des yeux bleus foncés et les allèles *albinos* sont respectivement associés à des yeux bleus clairs et rouges (reflet de la vascularisation).

Les standards FIFe et LOOF interdisent les couleurs sépia et colourpoint pour le chat Norvégien. Ces deux allèles sont théoriquement absents dans la population du Norvégien. Les deux allèles albinos n'existent pas non plus dans cette race, la robe blanche aux yeux bleus du Norvégien est dominante et codée par l'allèle *W*.

b. Mode d'action

Il a récemment été démontré chez le chat que locus *colour* correspond au locus *TYR* qui code pour la tyrosinase.

- L'allèle *c^b* se caractérise par la substitution p.Gly227Trp dont le tryptophane serait responsable d'encombrement stérique (Lyons *et al.*, 2005 b, Schmidt-Küntzel *et al.*, 2005).
- L'allèle *c^s* se caractérise par une autre substitution p.Gly301Arg modifiant localement l'environnement électrostatique et altérant vraisemblablement la conformation de la tyrosinase (Lyons *et al.*, 2005 b, Schmidt-Küntzel *et al.*, 2005).
- L'allèle *c^a* se caractérise par une délétion d'un nucléotide dans le deuxième exon, décalant le cadre de lecture et aboutissant à un codon stop prématuré, donc à une enzyme non fonctionnelle raccourcie de 40% de sa taille habituelle (Imes *et al.*, 2006).

Ces différents phénotypes correspondent à une stabilité décroissante de la tyrosinase à la chaleur et donc de son efficacité (Lyons *et al.*, 2005 b). Les extrémités corporelles sont plus froides ce qui explique la répartition de la pigmentation dans les patrons sépia et colourpoint. De plus on comprend pourquoi les chatons nés blanc ne s'assombrissent qu'au bout d'une semaine, étant passé de l'utérus à température corporelle au milieu extérieur plus frais. Ils s'assombrissent aussi en vieillissant suite à la baisse de leur température corporelle.

6. Locus *D* (dilution)

On décrit trois gènes de dilution chez la souris, *dilute*, *leaden* et *ashen* qui codent respectivement pour la myosine Va (MYO5A), la mélanophiline (MLPH) et la protéine Rab27a (RAB27A). Ces 3 protéines forment un complexe cytosquelettique lié aux mélanosomes matures et contribuent à leur mobilité et à leur **répartition homogène** dans la cellule (Bossé, 2005).

a. Déterminisme génétique et phénotype

L'allèle de dilution *d* est **récessif** et transforme les robes **noire, chocolat, cinnamon et orange** respectivement en robes **bleue, lilas, fawn et crème**. Il concerne les poils et la peau (museau et coussinets) mais est sans incidence sur la pigmentation des yeux. L'allèle *d* intéresse autant la phaeomélanine que l'eumélanine (Ishida *et al.*, 2006).

b. Mode d'action

Chez le chat, le locus *dilution* code pour la **mélanophiline**. L'allèle de dilution est caractérisé par la délétion d'un nucléotide dans l'exon 2 aboutissant à un codon stop prématuré et à une protéine correspondant en taille à 3% de la mélanophiline native, donc inefficace (Ishida *et al.*, 2006). D'autres mutations sur ce gène ou sur un des deux autres pourraient expliquer les différents types de robe bleue observées chez le chat.

Chez un chat de robe diluée, les granules d'eumélanine sont de taille variable, élargis et inégalement répartis en amas : ces amas n'absorbent que peu de lumière, ce qui explique l'aspect « dilué » de la robe.

7. Locus *Dm* (*dilute modifier*)

a. Déterminisme génétique et phénotype

L'allèle *Dm* est dominant et se rencontre chez les Siamois et les Orientaux, cet allèle ne s'exprime que sur une robe diluée : la robe bleue devient caramel, la robe lilas devient taupe, la robe fawn devient caramel fawn base et la robe crème devient abricot (Tableau 2). Cette couleur n'a jamais été rapportée et est théoriquement absente de la race du Skogkatt.

PHENOTYPE	GENOTYPE
Noir	$B^{+/-}, D^{+/-}, Dm/-$ ou dm^{+}/dm^{+}
Bleu	$B^{+/-}, d/d, dm^{+}/dm^{+}$
Caramel	$B^{+/-}, d/d, Dm/-$
Chocolat	b/b ou $b/b^{l}, D^{+/-}, Dm/-$ ou dm^{+}/dm^{+}
Lilas	b/b ou $b/b^{l}, d/d, dm^{+}/dm^{+}$
Taupe	b/b ou $b/b^{l}, d/d, Dm/-$
Cinnamon	$b^{l}/b^{l}, D^{+/-}, Dm/-$ ou dm^{+}/dm^{+}
Fawn	$b^{l}/b^{l}, d/d, dm^{+}/dm^{+}$
Caramel fawn base	$b^{l}/b^{l}, d/d, Dm/-$
Orange	$-/-, D^{+/-}, X^{o}/X^{o}$ ou $X^{o}/Y, Dm/-$ ou dm^{+}/dm^{+}
Crème	$-/-, d/d, X^{o}/X^{o}$ ou $X^{o}/Y, dm^{+}/dm^{+}$
Abricot	$-/-, d/d, X^{o}/X^{o}$ ou $X^{o}/Y, Dm/-$

Tableau 2 : Caractéristiques génétiques des robes « caramel » et abricot (Vella *et al.*, 1999)

Ces couleurs présentent une teinte **rosée** et **métallique** (Gullaude/web, Madsen-2/web). La différence entre le caramel, le taupe et le caramel fawn base est subtile, ces couleurs sont donc couramment enregistrées sous l'appellation **caramel**. L'abricot est une couleur chaude et claire qui évolue lentement (Tableau 3).

COULEUR	DESCRIPTION
Caramel uni	<u>Robe</u> : du lilas foncé au bleu chaud avec des reflets rappelant l'inox <u>Coussinets/museau</u> : du lilas foncé au mauve
Caramel tabby	<u>Robe</u> : gris brun avec des reflets métalliques, surtout sur les rayures de la queue et des pattes
Abricot	<u>Robe</u> : même couleur que le fruit ; teinte comparable à un crème silver

Tableau 3 : Description des robes caramel et abricot (Vella *et al.*, 1999)

b. Mode d'action

La mutation du *dilute suppressor* connue chez la souris correspond à une délétion, mais la protéine en question n'a pas d'homologue encore connu et son rôle est énigmatique (O'Sullivan *et al.*, 2004). Le locus *dilute modifier* du chat pourrait correspondre à ce locus de la souris, mais personne ne l'a encore démontré.

8. Locus *O* (orange) (Grimm, 1989 & Vella *et al.*, 1999)

a. Déterminisme génétique et phénotype

Cette série allélique est spécifique du chat et suscite depuis longtemps l'intérêt des généticiens (Miller & Hollander, 1986). Elle compte deux allèles portés sur le **chromosome sexuel X** et **codominants**, X^{O+} codant pour la robe sauvage **eumélanique** et X^O codant pour la robe **orange**. L'utilisation de microsatellites a permis de situer plus précisément le locus *orange* sur le gonosome X (Grahn *et al.*, 2005).

La couleur orange correspond au **trichochrome** et va du jaune sable au rouge orange. Les polygènes responsables de cette variation sont vraisemblablement ceux du rufisme. Le tableau 4 présente les différentes combinaisons de mariages possibles et les résultats théoriquement obtenus.

MARIAGE		DESCENDANTS				
Femelle	Mâle	Mâles		Femelles		
Couleur		Orange	Noir	Orange	Noire	Ecaille
Orange	Orange	100%	0%	100%	0%	0%
Noire	Orange	0%	100%	0%	0%	100%
Ecaille	Orange	50%	50%	50%	0%	50%
Orange	Noir	100%	0%	0%	0%	100%
Noire	Noir	0%	100%	0%	100%	0%
Ecaille	Noir	50%	50%	0%	50%	50%

Tableau 4 : Proportions théoriques obtenues dans les mariages faisant intervenir le gène *orange*

Action de la série allélique *agouti* sur l'allèle X^O

La distinction entre les robes orange unie et orange tabby est souvent difficile, d'autant plus que le trichochrome et la phaeomélanine sont de même teinte (Figure 20). Les chats orange unis arborent des marques tabby fantômes au point d'être confondus avec des chats orange tabby. Cet exercice est encore plus difficile quand on ne connaît pas les parents. Chez les chattes écaillés, l'identification de la couleur est facilitée par les régions noires sur lesquelles le patron tabby est bien visible.

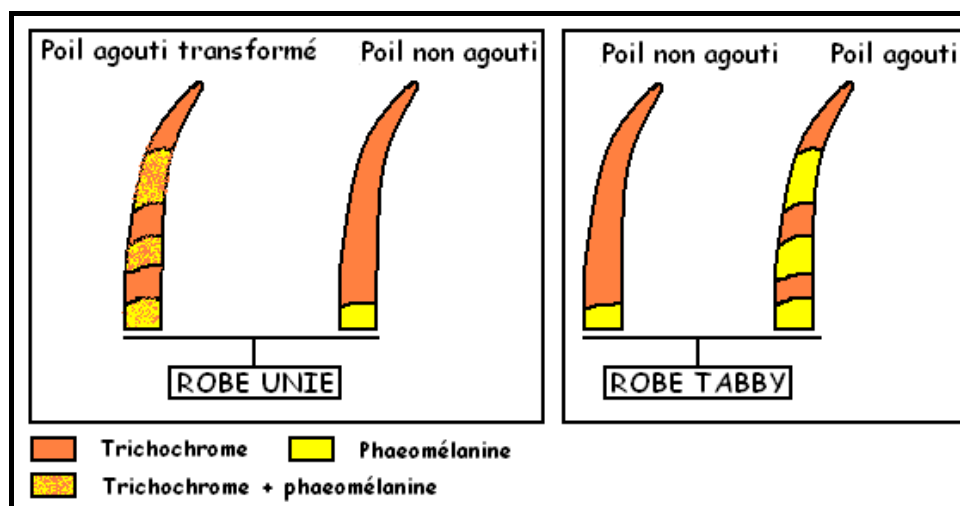


Figure 20 : Relation entre la répartition phaeomélanine/trichochrome et le gène *orange*

Le phénotype écaïlle

Chaque cellule (XX) de la femelle subit l'**inactivation d'un de ses chromosomes X**. Ce phénomène présente 5 caractéristiques énoncées ci-dessous.

- L'inactivation intervient précocement au cours de la vie embryonnaire.
- L'inactivation est spécifique des femelles Mammifères.
- L'inactivation est aléatoire par apport à l'origine parentale du chromosome X.
- L'inactivation concerne presque tous les loci du chromosome X (excepté des gènes de croissance).
- L'inactivation est permanente et transmise de manière clonale : suite aux mitoses, le chromosome X inactivé dans les cellules filles sera le même que celui de la cellule mère.

En pratique, l'observation d'un phénotype ne permet pas de détecter quel chromosome X a été inactivé dans une cellule donnée, sauf lors de la coexistence des allèles X^{O^+} et X^O . En effet, l'inactivation d'un des deux chromosomes X de chaque mélanoblaste (celui portant X^{O^+} ou celui portant X^O) conduit à des mélanocytes produisant soit de l'eumélanine, soit du trichochrome. Ceci contribue à faire apparaître le phénotype écaïlle, association de régions noires et orange sur une même chatte. Elle peut être torbie (écaïlle tabby) ou tortie (écaïlle unie).

Les **mâles écaïlles** existent exceptionnellement et sont la conséquence de 3 anomalies principales.

- La mutation somatique spontanée affecte l'allèle *orange* et entraîne un dépôt eumélanique à la place du trichochrome. Lorsque la mutation intervient tardivement lors de l'embryogenèse, elle ne s'exprime que par des spots noirs localisés. Par contre, si elle intervient précocement, le chat présente une robe comparable à la couleur écaïlle classique. Cet incident peut concerner TOUS les chats orange (mâle et femelle) qui sont fertiles et se reproduisent comme des chats oranges, car la mutation concerne rarement les cellules germinales.
- Syndrome de Klinefelter XXY : le mâle possède deux chromosomes X et un chromosome Y. Après inactivation d'un des deux chromosomes X, chaque cellule possède un chromosome Y et un X actif, aboutissant au patron écaïlle. Ces mâles sont systématiquement stériles.
- L'existence d'anastomoses vasculaires durant la gestation est responsable de chimérisme⁴ et permet le passage de cellules entre les fœtus femelles et mâles. Un chaton mâle peut donc posséder ses cellules (XY) originelles, mais aussi des cellules de ses frères et sœurs. Ceci fait apparaître la couleur écaïlle, pour peu que ses frères et sœurs soient de couleurs différentes de la sienne. Ces mâles sont fertiles et la couleur de ses descendants dépendra du génome de ses cellules germinales.

b. Mode d'action

L'allèle *orange* remplace le pigment eumélanique codé par le locus *brown* (noir, chocolat ou cinnamon) mais laisse intacte la région phaeomélanique (Figure 20). Ceci passe par un court-circuit de l'eumélanogenèse et la production d'une phaeomélanine modifiée, le trichochrome.

⁴ Une chimère est un individu ayant une ou plusieurs populations cellulaires à caryotypes différents provenant de deux ou plusieurs zygotes.

9. Locus *S* (*spotting*), les panachures blanches

a. Déterminisme génétique et phénotype

Le phénotype « panachures » est déterminé par un locus majeur, le *white spotting* (*S*), dont l'action est complétée par de nombreux **polygènes**. En pratique, chez le Norvégien, quatre types de blanc sont possibles :

- le blanc uniforme (indépendant du locus *S*)
- les panachures blanches dont la répartition et l'étendue sont très variables
- les gants blancs caractéristiques du Sacré de Birmanie qui sans sélection sont souvent associés au médaillon blanc
- le médaille ou spot blanc sous la gorge, sur la poitrine, le ventre et/ou les orteils.

Toute quantité de blanc est autorisée par le standard FIFe et par le standard LOOF quelle que soit sa localisation sur le corps (médaille, gant blanc).

Le modèle pie

Ce phénotype est le plus rencontré chez le chat Norvégien et correspond à l'expression de l'allèle *S* dominant et à **pénétrance variable**.

Une **échelle** a été établie en fonction de la répartition et de l'étendue du blanc, graduée de 1 à 9 (Figure 21). Empiriquement on admet que les niveaux de 1 à 4 correspondent aux hétérozygotes *S/s*⁺ alors que ceux de 5 à 9 correspondent aux homozygotes *S/S*. Le mariage entre chats de patron 1 à 3 peut donner des descendants arlequin, notamment lorsque certains de leurs ancêtres ont une extension du blanc importante. Ce saut de génération s'explique par l'intervention probable de **polygènes**.

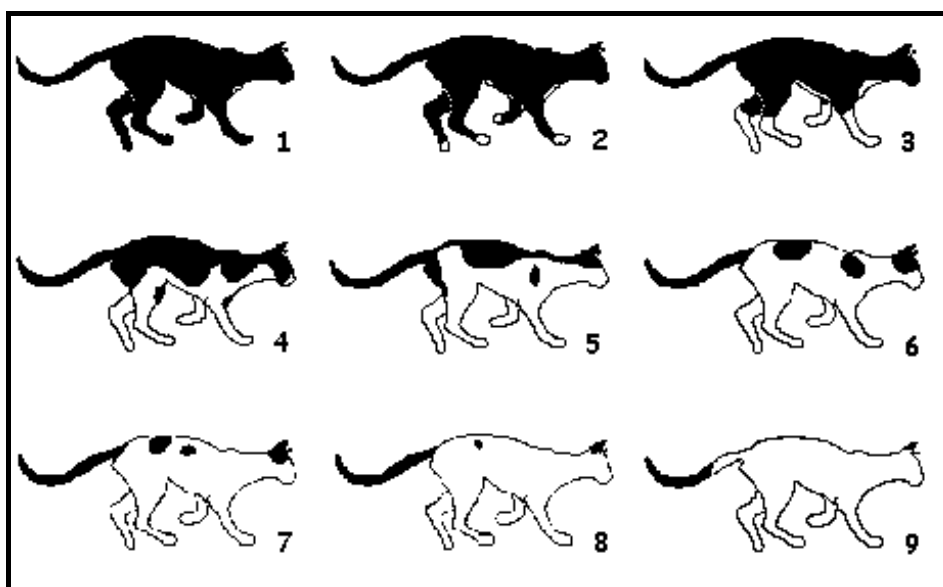


Figure 21 : Variabilité de l'extension des panachures blanches chez le chat
(d'après Vella *et al.*, 1999)

Le niveau 1 correspond à la présence de quelques poils blancs sous les aisselles ou sous la gorge ; les niveaux 4 et 5 correspondent à la répartition bicolore avec une extension du blanc de 40 à 60% ; les niveaux 6 et 7 représentent le modèle arlequin ; les niveaux 8 et 9 correspondent au modèle van, dernière étape avant le blanc uniforme qui est déterminé par le locus *W*.

Les gants

Autrefois supposés correspondre à un allèle récessif indépendant du locus *white spotting*, des mariages-tests auraient montré que les gants blancs sont en fait un caractère à dominance incomplète. Plusieurs hypothèses restent aujourd'hui possibles quant au déterminisme génétique (Vella *et al.*, 1999) :

- un troisième allèle du locus *white spotting* (*S*)
- un deuxième locus indépendant
- ou un système polygénique qui régule l'action du modèle pie.

Le médaillon blanc

Des mariages entre chats unicolores peuvent donner des chatons avec médaillon, tout comme des mariages entre chats bicolores peuvent donner des chatons avec seulement un médaillon blanc. Ce phénomène appelé **white locket** est vraisemblablement **récessif**.

b. Mode d'action

Chez la souris, les allèles codant pour les panachures provoquent une diminution du nombre originel de mélanoblastes et/ou agissent sur la différenciation. Tous les mélanoblastes migrent normalement à partir de la crête neurale mais faute d'une quantité suffisante de mélanoblastes fonctionnels, l'organisme présente finalement des plages blanches sans mélanocyte (Aubin Houzelstein, 1997).

Trois loci (*EDNRB*, *KIT*, *PDGFRA*) ont été identifiés comme responsables des phénotypes « panachure ou white spotting (série *S*) » ET « blanc dominant ou dominant white (série *W*) » chez les Mammifères : **dans une colonie de chats américains, le locus *S* a été situé dans la région du locus *KIT* sur le chromosome B1 (Cooper *et al.*, 2005)⁵**. Bien que cette région du génome félin soit incomplètement connue à ce jour, les gènes *KIT* et *PDGFRA* constituent un groupe de syntenie très conservé chez les Mammifères, c'est pourquoi le *white spotting* félin pourrait être homologue du *KIT* (gène *dominant white spotting* murin) ou du *PDGFRA* (gène *patch* murin), codant respectivement pour le récepteur à activité tyrosine kinase et pour un facteur de croissance essentiel à la survie des mélanoblastes migrants.

L'allèle *S* affecterait essentiellement l'étape migratoire des mélanoblastes (Vella *et al.*, 1999). Chez un chat avec peu de blanc, ce sont les régions les plus éloignées de l'ex-crête neurale (région dorsale) qui sont non pigmentées, à savoir la poitrine, le ventre, la gorge et les extrémités des membres. De même, les chats van ne possèdent des zones pigmentées qu'en région dorsale, sur la queue et la tête.

Suite à l'action de l'allèle *S*, la compétition pour la colonisation du territoire cutané est diminuée car les mélanoblastes fonctionnels sont moins nombreux. Chaque mélanocyte aura donc un territoire proportionnellement plus grand qu'il va coloniser suite à ses mitoses successives. Ceci explique pourquoi les plages noire et orange sont mieux délimitées chez une chatte écaillé et blanche.

⁵ Cette étude n'exclut pas l'existence d'autres supports génétiques pour « le gène *S* » car le phénotype « panachure blanche » est très répandu de par le monde. L'existence de plusieurs gènes comme chez la souris est donc très probable.

10. Locus *W* (*white dominant*), le blanc épistatique

a. Déterminisme génétique et phénotype

Différent de l'albinisme, l'allèle *W* est dominant, non létal et épistatique sur tous les autres gènes de couleur : quel que soit son patrimoine génétique, un chat portant un allèle *W* sera entièrement blanc et n'exprimera aucun des autres allèles de couleur. Toutefois certains chatons naissent blancs avec une tache sur la tête qui peut partiellement indiquer leur génotype mais cette tache s'efface ensuite.

Divers croisements ont montré que le blanc dominant ne correspond pas à un modèle pie étendu (Bossé, 2005). Contrairement à l'albinisme, les chats blancs uniformes n'ont aucun mélanocyte mais ont des yeux pigmentés (verts, jaunes, bleus ou vairons) car les précurseurs de l'épithélium rétinien ne proviennent pas du même tissu embryologique que les mélanocytes.

b. Mode d'action

Les gènes impliqués dans les robes blanches dominantes varient selon les espèces étudiées : ainsi la robe blanche du porc est codée par une mutation sur le locus *dominant white spotting* alors que c'est une mutation du locus *steel* qui est responsable à l'état homozygote du blanc dominant des races bovines Bleu Blanc Belge et Shorthorn (Bossé, 2005). Le gène murin homologue du gène *white dominant* félin n'est pas connu. Chez la souris, ces mutations empêchent la migration ou donnent des mélanoblastes non viables (Aubin Houzelstein, 1997) d'où l'absence de mélanocyte et la couleur blanche uniforme.

Les précurseurs des cellules du vestibule (oreille interne) sont issus de la crête neurale et peuvent également être affectés par la mutation *W* ce qui entraîne parfois une surdité unilatérale ou bilatérale chez le chat blanc uniforme (Tableau 5). Cette surdité est le plus souvent ipsilatérale à l'œil bleu lorsque le chat a les yeux vairons.

Sur 185 chats blancs,	Yeux bleus	Yeux jaunes
Sourds	37%	7%
Non sourds	32%	25%

Tableau 5 : Relation entre la surdité et la couleur des yeux chez le chat blanc (Vella *et al.*, 1999)

Les chats blancs aux yeux bleus sont plus prédisposés à la surdité que les blancs aux yeux jaunes ($p < 0,01$).

11. Le rufisme

Commandé par des **polygènes**, ce défaut est très difficile à éradiquer. Il correspond à une **grande variabilité de teinte du pigment phaeomélanique**, du jaune gris au brun rouge, et existe dans toutes les races félines. Il pose notamment problème dans les couleurs silver shaded et chinchilla où il est appelé tarnishing et correspondrait à une inhibition incomplète du dépôt de phaeomélanine.

Attention à ne pas confondre le rufisme qui correspond à une variation de couleur de la phaeomélanine avec l'allèle *widebanding* et d'autres polygènes qui font varier la longueur des bandes phaeomélaniques dans le poil.

Le tableau 6 récapitule les principaux gènes de couleurs décrits chez le chat et leurs caractéristiques majeures.

LOCI	ACTION	PHENOTYPE	ALLELES
<i>A</i>	Répartition de la couleur sur le poil	Agouti (robe tabby) ou non agouti (robe unie)	$A^+ > a$ <i>A</i> ⁺ = poil agouti <i>a</i> = poil agouti transformé
<i>B</i>	Couleur de base du pelage	Noir, brun (chocolat) ou brun clair (cinnamon, cannelle)	$B^+ > b > b'$ <i>B</i> ⁺ = eumélanine noire <i>b</i> = eumélanine chocolat <i>b'</i> = eumélanine cinnamon
<i>C</i>	Répartition de la couleur sur le corps	Entièrement coloré, burmese (sépia), siamois (colourpoint), albinos	$C^+ > c^b \geq c^s > c^a > c$ <i>C</i> ⁺ = coloration normale <i>c</i> ^b = patron burmese ou sépia <i>c</i> ^s = patron siamois <i>c</i> ^a = albinos aux yeux bleus <i>c</i> = albinos aux yeux rouges
<i>D</i>	Intensité de la coloration	Non dilué ou dilué	$D^+ > d$ <i>D</i> ⁺ = coloration normale <i>d</i> = coloration diluée
<i>I</i>	Inhibition du dépôt de la phaeomélanine	Argent ou non argent	$I > i^+$ <i>I</i> = inhibition <i>i</i> ⁺ = coloration normale
<i>S</i>	Taches blanches	Présentes ou absentes	$S > s^+$ <i>S</i> = panachures blanches <i>s</i> ⁺ = coloration normale
<i>T</i>	Proportion et répartition des poils agoutis par rapport aux poils unis	Ticked (abyssian), mackerel (striped, tigré), blotched (classic, marbré)	$T^a > T^+ > t^b$ <i>T</i> ^a = patron ticked <i>T</i> ⁺ = patron mackerel <i>t</i> ^b = patron blotched
<i>Wb</i>	Modification des poils tabby	Efface le motif tabby, repousse la mélanine au bout des poils	$Wb > wb^+$ <i>Wb</i> = tipping <i>wb</i> ⁺ = coloration normale
<i>W</i>	Cache tous les caractères de couleur	Blanc uniforme ou non blanc	$W > w^+$ <i>W</i> = blanc épistatique <i>w</i> ⁺ = coloration normale
<i>O</i>	Change la couleur de base en orange	Orange ou non orange ou écaille	$X^O = X^{O^+}$ <i>X</i> ^O = coloration orange <i>X</i> ^{O+} = coloration eumélanique
<i>Dm</i>	Assombrit la couleur diluée	Caramel ou non caramel	$Dm > dm^+$ <i>Dm</i> = modificateur de dilution <i>dm</i> ⁺ = coloration normale

Tableau 6 : Principaux gènes et leurs actions dans la coloration de la robe du chat (d'après Brisson, 1989)

IV. Le gène *extension* ou *MC1R* codant pour le melanocortin receptor de type 1

Dans cette partie, nous développons l'importance du gène *MC1R* et le fonctionnement de ce récepteur qui constitue une étape fondamentale pour l'eumélanogénèse chez les Vertébrés alors que les connaissances à ce sujet sont limitées chez le chat.

Nous utilisons les symboles imposés par la nomenclature internationale : *MC1R* fait référence au gène et MC1-R correspond à la protéine. MC1-R peut éventuellement être remplacé par MSH-R (Melanocyte Stimulating Hormone Receptor)

A. Etude moléculaire du gène et du récepteur

1. Le gène *extension*

Le terme « extension » (sous-entendu de l'eumélanine) vient de son mode d'action, il est en effet responsable de l'étendue de l'eumélanine par apport à la phaeomélanine sur le poil (Våge *et al.*, 1997).

Le gène *extension* correspond au gène *MC1R* codant pour le melanocortin receptor de type 1 ou MC1-R (Robbins *et al.*, 1993) et est situé sur le chromosome E2 chez le chat (Eizirik *et al.*, 2003). Le *MC1R* félin est long de 951 nucléotides (bp), constitué d'un seul exon bien conservé parmi les espèces de Mammifères. Il ne s'exprime que dans les mélanocytes et les cellules tumorales dérivées (Garcia-Borron *et al.*, 2005).

Le melanocortin receptor de type 1 interagit au niveau du switch de la mélanogénèse, différemment de la protéine *agouti* : la couleur noire (sauvage) est dominante sur la couleur jaune (Searle, 1968). En effet, le *MC1R* code pour le récepteur à l' α -MSH, première étape de l'eumélanogénèse. Deux phénotypes peuvent résulter d'une mutation sur ce locus (Robbins *et al.*, 1993) :

- soit le **MC1-R devient partiellement ou complètement inefficace**, la phaeomélanogénèse est alors privilégiée, ces mutations sont récessives (mutations *e*).
- soit le **MC1-R est activé** et l'eumélanogénèse est privilégiée, ces mutations sont dominantes (mutations *E* ou *E^D*).
 - ✓ Le récepteur peut être constitutivement activé : même sans fixation de l' α -MSH, cet allèle muté induit une activité adénylatecyclase suffisante pour produire 60% de l'activité maximale de l' α -MSH (ex : allèles *sombres* de la souris).
 - ✓ Le récepteur peut être hyperactif : il nécessite la fixation de l' α -MSH mais possède une activité basale supérieure et stimule plus efficacement l'adénylatecyclase en réponse à une même dose d'hormone (ex : allèle *tobacco* de la souris).

Ces mutations ne sont pas pléiotropes (Hauschka *et al.*, 1968) car le *MC1R* code pour un récepteur hormonal uniquement indispensable à l'eumélanogénèse.

Les effets inhibiteurs de la protéine *agouti* ne sont observables que sur un MC1-R fonctionnel (Ollmann *et al.*, 1998). L'allèle *e* inhibe l'eumélanogénèse et la protéine *agouti* n'aura donc aucune conséquence visible : le poil sera uniformément jaune. De même, un récepteur constitutivement activé (mutation *E^D*) ne sera pas bloqué par un antagoniste. **Les mutations du gène *extension* sont donc épistatiques sur les allèles de la série *agouti*.** Toutefois la protéine *agouti* conserve

parfois une action sur le MC1-R constitutivement activé en se comportant comme un agoniste inverse, ce qui est observé chez le renard (Våge *et al.*, 1997) : la protéine agouti ferait passer le récepteur en configuration inactive, tout en conservant sa propriété d'antagoniste compétitif et limiterait ainsi le transfert du signal intracellulaire de l' α -MSH. Dans ce cas, la mutation E^D n'est pas épistatique sur la série *agouti*.

2. Le récepteur MC1-R humain

Constitué de 317 acides aminés, le MC1-R appartient à la **classe A des récepteurs couplés aux protéines G (GPCR)** qui se divisent en trois classes : la classe A regroupe les **récepteurs apparentés à la rhodopsine** (Figure 22), la classe B regroupe les récepteurs sécrétoires et la classe C regroupe les récepteurs à neurotransmetteurs. La classe A est la plus large et contient plus de 1200 protéines identifiées (Rader *et al.*, 2004).

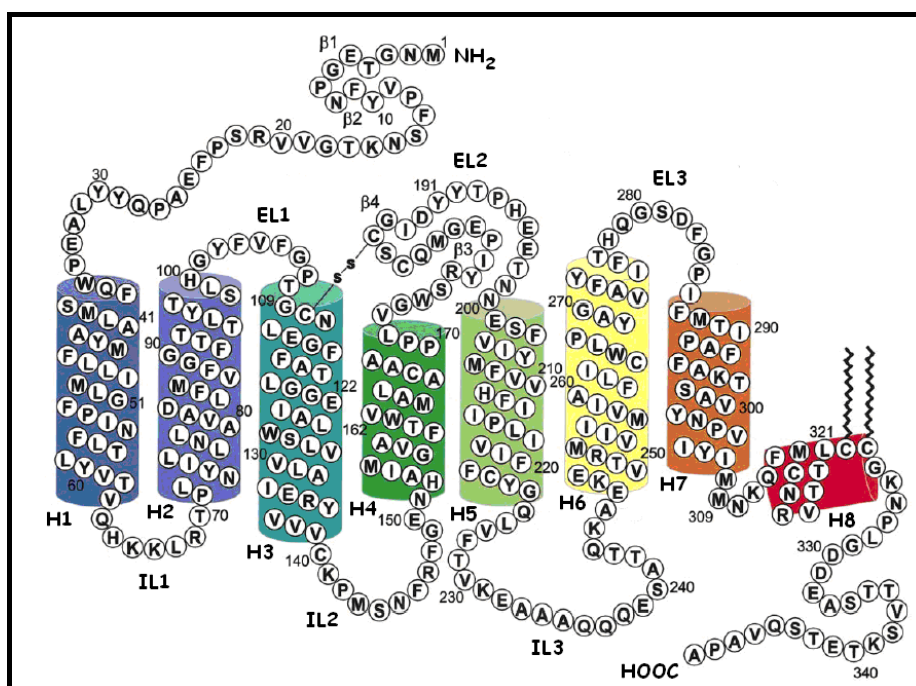


Figure 22 : Représentation de la rhodopsine bovine (d'après Menon *et al.*, 2001)

Les acides aminés sont symbolisés par leur code à 1 lettre de la nomenclature internationale (Annexe 2). L'extrémité N-terminale est extracellulaire (NH₂) et l'extrémité C-terminale est intracellulaire (HOOC). Les hélices α sont représentées par les cylindres (H1 à H7), la 8^{ème} hélice est intracellulaire (H8). La rhodopsine bovine présente 3 boucles extracellulaires (EL1 à EL3) et 3 boucles cytoplasmiques (IL1 à IL3). Les signes β ($\beta 1$ à $\beta 4$) indiquent les régions protéiques organisées en feuillet β . Le pont disulfure cys110-187 (-S-S-) cause une incurvation de la 2^{ème} boucle extracellulaire (EL2). Les cystéines 322 et 323 sont des sites de palmitoylation (〰).

Le **MC1-R** appartient à la superfamille des **melanocortin receptor (MCR)**, qui compte quatre autres représentants (Wikberg *et al.*, 2000).

- Le **MC2-R** ou récepteur « naturel » de l'ACTH intervient dans la régulation de la stéroïdogénèse des glandes surrénales.

Les fonctions physiologiques des 3 autres MCR sont moins bien connues.

- Le **MC3-R** interviendrait dans la régulation du système cardiovasculaire.
- Le **MC4-R** a un rôle incomplètement élucidé sur le comportement alimentaire et l'homéostasie pondérale.
- Le **MC5-R** régulerait la production de sébum par les glandes sébacées et interviendrait possiblement dans la régulation de la stéroïdogénèse des glandes surrénales.

Les MCR conservent les grandes caractéristiques des autres GPCR (Wikberg *et al.*, 2000) dont quelques résidus très conservés. Néanmoins le taux d'homologie avec les autres GPCR est faible, mais **important entre les 5 MCR** (de 40 à 60%). Le MC1-R présente la plus grande homologie (45%) avec le MC3-R. Tous MCR considérés, l'homologie est faible pour les domaines transmembranaires 4 et 5, les boucles intracellulaires et extracellulaires mais **elle est importante pour les domaines transmembranaires 1, 2, 3 et 7** (Schiöth *et al.*, 1998 a).

Le MC1-R humain contient **14 cystéines** dont 7 sont conservées chez les 5 MCR (Cys35, 78, 253, 267, 273, 289 & 315) et 4 sont communs à 4 des MCR (Cys125, 133, 191 & 275). Les trois autres sont spécifiques au MC1-R (Cys75, 79 & 215). Certaines forment des ponts disulfures (Cys35-273 & Cys267-275), d'autres interviennent dans le couplage avec la protéine G (Cys191, 215 & 315) (Frändberg *et al.*, 2001).

Les MCR sont difficiles à solubiliser et à cristalliser ce qui a freiné leur détermination 3D par les méthodes expérimentales usuelles. Le premier modèle a donc été réalisé par analogie avec la bactériorhodopsine (Prusis *et al.*, 1995) mais cette protéine n'est pas une GPCR et sa séquence montre un pourcentage d'homologie avec le MC1-R trop faible pour être fiable. Les modèles suivants ont été construits grâce aux avancées de la microscopie électronique et de la cristallographie sur la rhodopsine (Li *et al.*, 2004, Figure 23). Le

MC1-R humain a été le premier modèle disponible (Prusis *et al.*, 1997).

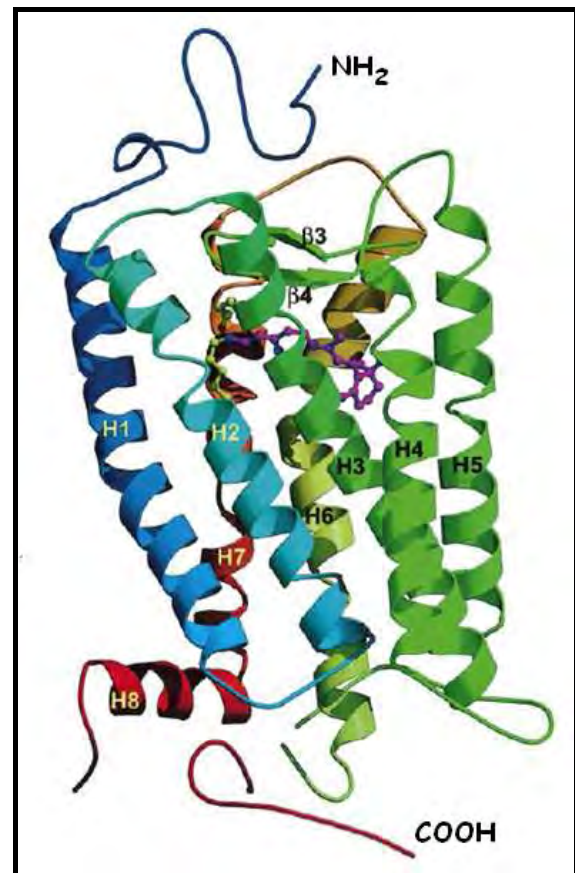


Figure 23 : Modélisation 3D de la rhodopsine avec le programme Molscript (d'après Menon *et al.*, 2001)

L'extrémité N-terminale est en haut (NH₂) et l'extrémité C-terminale est en bas (COOH). La 8^{ème} hélice (H8) est intracellulaire. Notez la position du ligand de la rhodopsine (le rétinol, en violet) au sein des domaines transmembranaires (H3, H4, H6 et H7) et l'organisation de la 3^{ème} boucle extracellulaire en feuillets β parallèles à la membrane (β3 et β4). Des portions de la 3^{ème} boucle intracellulaire (en vert) et de l'extrémité C-terminale (en rouge) n'ont pas été résolues.

a. Structures primaire et tertiaire (Garcia-Borron *et al.*, 2005)

Tout comme la rhodopsine, le MC1-R compte **7 domaines transmembranaires**, **3 boucles intracellulaires** (ou cytoplasmiques) et **3 boucles extracellulaires** pour un poids moléculaire d'environ 45 kDa. **L'extrémité N-terminale est extracellulaire, l'extrémité C-terminale est intracellulaire et ancrée dans la membrane à partir de la cystéine 315** (Figure 24).

L'extrémité N-terminale, codons 1 à 42

Elle contient **2 sites de glycosylation** sur les acides aminés 15 et 29 (Figure 24). La 35^{ème} cystéine forme un **pont disulfure** avec la cystéine 273 dans la 3^{ème} boucle extracellulaire.

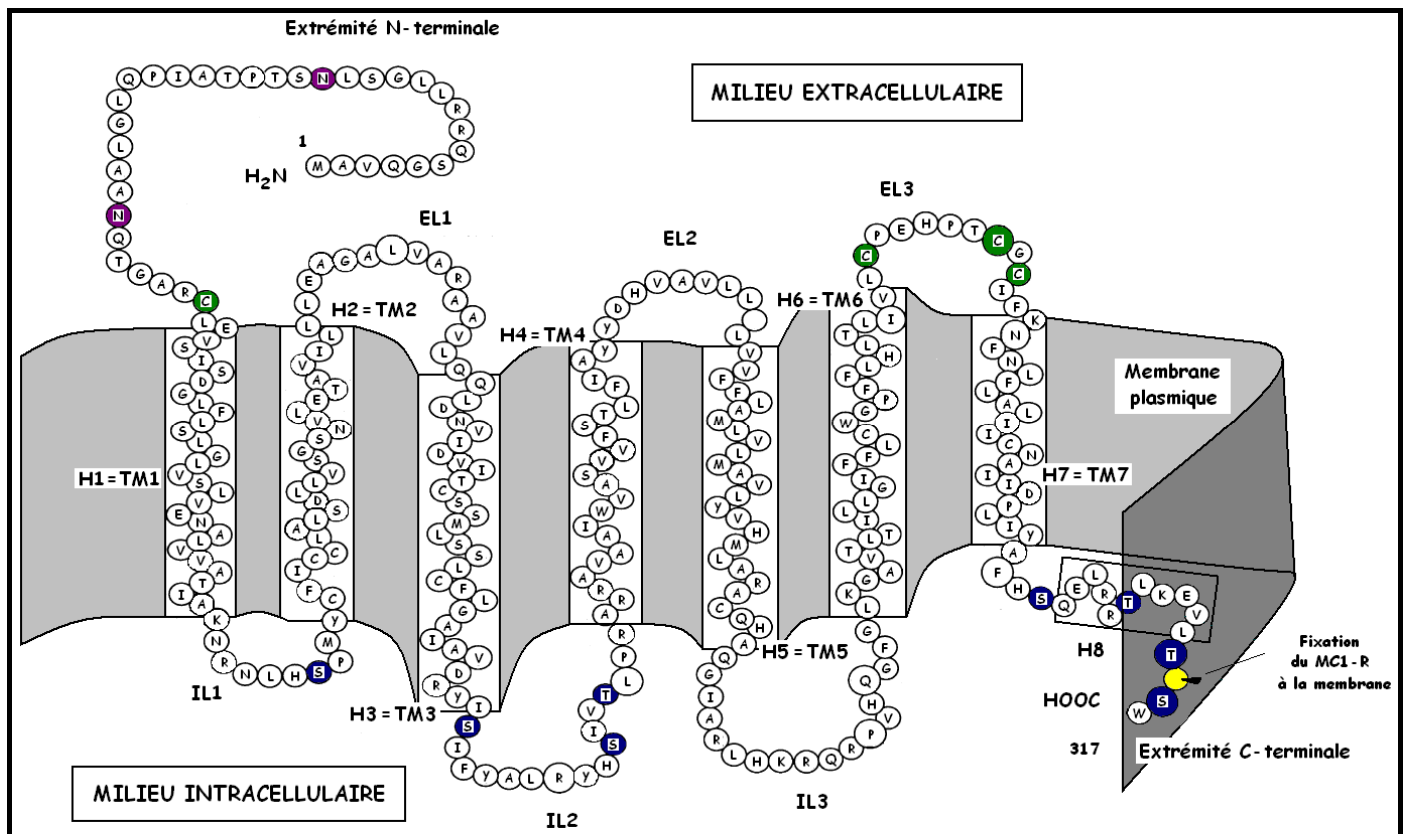


Figure 24 : Représentation du MC1-R humain (d'après Garcia-Borron *et al.*, 2005)

En violet sont représentés les 2 sites de glycosylation (asparagines 15 & 29), en bleu les sites de phosphorylation (sérines 71, 145, 154, 302 & 316 et thréonines 157, 308 & 314), en vert les 4 cystéines impliquées dans les ponts disulfures (Cys35-273 & Cys267-275) et en jaune la cystéine 315 qui constitue un site d'acylation et qui permet de fixer et de stabiliser le MC1-R à la membrane. EL1, EL2 & EL3 correspondent respectivement aux boucles extracellulaires 1, 2 & 3 ; IL1, IL2 & IL3 correspondent respectivement aux boucles intracellulaires 1, 2 & 3 ; H1 à H7 (ou TM1 à TM7) correspondent aux domaines transmembranaires 1 à 7. H8 correspond à la 8^{ème} hélice α qui est cytoplasmique. Les acides aminés sont représentés par leur code à 1 lettre de la nomenclature internationale (Annexe 2).

Les boucles extracellulaires (EL), codons 90 à 121, 181 à 189 & 261 à 281

Elles sont courtes surtout la 2^{ème} (Figure 24), contrairement à la plupart des autres GPCR pour lesquelles la 2^{ème} boucle extracellulaire occupe tout l'espace entre les 3^{ème}, 5^{ème} et 6^{ème} domaines avec un pont disulfure relié au 3^{ème} domaine (Cys110-187, figure 22). Cette absence locale d'encombrement stérique incite à penser que **cette région des MCR est destinée à interagir avec les ligands**.

Comparativement aux deux autres, la séquence de la 3^{ème} boucle extracellulaire est conservée et riche en prolines (Pro268 & 271) et cystéines (Cys267, 273 & 275) (Figure 24). Ces cystéines sont responsables de la structure tertiaire par deux ponts disulfures, Cys35-273 et Cys267-275. La 3^{ème} boucle extracellulaire est importante pour la bonne fixation du ligand, mais on ne sait pas par quel mécanisme : **cette boucle pourrait intervenir soit directement dans le site de fixation, soit indirectement par des déséquilibres électrostatiques sur le 6^{ème} domaine transmembranaire qui constitue en partie la cavité de fixation**.

Les boucles intracellulaires (IL), codons 61 à 74, 139 à 162 & 208 à 242

Elles constituent l'**interface du récepteur avec la protéine G** qui est chargée négativement et elles contiennent quelques sites de phosphorylation (Figure 24) pour le couplage (Chhajlani & Wikberg, 1992).

Chez la souris, la mutation *tobacco* située dans la 1^{ère} boucle intracellulaire est responsable d'un récepteur hyperactif et prouve que cette boucle est importante dans le processus de couplage.

Plusieurs mutations de type *e* sont également connues dans les 2^{ème} et 3^{ème} boucles intracellulaires. Dans la 3^{ème} boucle, les résidus 226 à 229 (voire 232, 233 & 238) sont fondamentaux pour le bon couplage de la protéine G au récepteur (Frändberg *et al.*, 1998).

Les domaines transmembranaires (TM)

Organisés en hélice α , les domaines sont placés perpendiculairement à la membrane dans le sens antihoraire. Plusieurs interviennent dans la confection du **site de fixation** pour l'hormone, avec notamment le 94^{ème} glutamate (TM2), les 117^{ème} et 121^{ème} aspartates (TM3) qui interagissent avec l'arginine de l' α -MSH.

La queue cytoplasmique C-terminale, codons 299 à 317

Cette région du récepteur interviendrait dans le fonctionnement des GPCR à plusieurs niveaux (Sanchez-Mas *et al.*, 2005) :

- **Interactions** du complexe récepteur-ligand avec la protéine G
- Libération de **messagers intracellulaires** pour la cascade réactionnelle
- **Fonctionnement** du récepteur qui passe par des sites d'acylation (cystéine 315 pour le MC1-R) et de phosphorylation (thréonine 308).
- **Fixation** à la membrane (cystéine 315) (Figure 24).

Très courte pour tous les MCR, l'extrémité C-terminale du MC1-R contient six résidus conservés dans les 5 MCR. La délétion des 3 derniers résidus est responsable d'une densité de MC1-R sur la membrane de seulement 3% de celle du mélanocyte sauvage, sans affecter la fonction du récepteur (Sanchez-Mas *et al.*, 2005). Ce mécanisme passerait essentiellement par le site d'acylation que constitue la cystéine 315. **La 315^{ème} cystéine est donc un élément fondamental pour l'eumélanogénèse via la densité de MC1-R et permettrait de stabiliser les MC1-R, ou serait nécessaire à leur migration jusqu'à la membrane.**

L'extrémité C-terminale de la rhodopsine s'organise en une 8^{ème} hélice amphipathique et s'ancree à la membrane par deux sites d'acylation (cystéines 322 & 323) (Figure 22). Un réseau de liaisons hydrogènes et ioniques relie cette hélice au 7^{ème} domaine transmembranaire et à la 1^{ère} boucle intracellulaire. **Cette structure est indispensable pour le couplage à la protéine G et existerait pour toutes les GPCR** (Swift *et al.*, 2006). Selon Menon *et al.* (2001), elle permettrait la fixation de messagers intracellulaires tels que des phospholipides anioniques (phosphatidylsérine).

b. Structure quaternaire (Zanna et al., 2008)

Les MC1-R humains sont capables de dimériser, ce processus intervient très tôt dans la synthèse du récepteur dès le passage par le réticulum endoplasmique. Outre les interactions hydrophobes, cette structure nécessite la formation de 4 ponts disulfures entre les deux monomères, faisant intervenir les cystéines déjà impliquées dans la structure tertiaire (Cys35, 267, 273 & 275). La perte d'un seul de ces ponts suffit à abolir la fonction du récepteur voire à empêcher la migration du dimère vers la membrane plasmique.

c. Interactions moléculaires

Interactions MC1-R et zinc (Holst *et al.*, 2002)

Outre ses rôles de métalloenzyme et de stabilisateur, le zinc peut également se comporter en ligand et moduler l'action de nombreuses protéines membranaires dont le MC1-R. Aux concentrations physiologiques, **le zinc est capable d'activer le complexe MSH-R/protéine G**, même en l'absence d' α -MSH dont les effets sont additifs. Pour ce faire, le zinc se placerait entre la cystéine 273 et l'aspartate 119 au sein du MC1-R voire entre le MC1-R et l' α -MSH qui porte des sites imidazoliques capables de fixer les ions métalliques. Le zinc endogène interviendrait donc en stabilisant la conformation tertiaire du MC1-R et en facilitant son couplage avec la protéine G.

Interactions MC1-R et α -MSH

Structure de l' α -MSH

La séquence protéique de l' α -MSH n'est pas connue dans toutes les espèces, mais est **bien conservée** et correspond à la séquence protéique des acides aminés 1 à 13 de l'ACTH dont 7 sont aussi en commun avec la β -MSH (Tableau 7).

ESPECES	CODE D'ACCES	SEQUENCE AA
<i>Homo sapiens</i> (homme)	0702463A	SYSMEHFRWG KPV
<i>Rana ridibunda</i> (grenouille)	1516329A	SYSMEHFRWG KPV
<i>Equus caballus</i> (cheval)	P61280	SYSMEHFRWG KPV

Tableau 7 : Structure moléculaire de l' α -MSH de différentes espèces

SYSMEHFRWG KPV = Ser-Tyr-Ser-Met-Glu-His-Phe-Arg-Trp-Gly-Lys-Pro-Val

Le core protéique « His-Phe-Arg-Trp » (histidine-phénylalanine-arginine-tryptophane) est commun à toutes les mélanocortines et est fondamental pour leur fixation aux MCR (Prusis *et al.*, 1995, Yang *et al.*, 1997). Tous les ligands capables de se fixer sur un MCR possèdent ce core, excepté la protéine agouti qui n'a aucun élément d'homologie avec les MSH, et qui se fixe sur un site différent du MC1-R que l' α -MSH (Ollmann *et al.*, 1998).

Site de fixation de l' α -MSH : les interactions moléculaires

Les régions du MC1-R intervenant dans la fixation hormonale sont les **extrémités N-terminale et C-terminale** et les **domaines transmembranaires 1, 2, 3 et 7**, dans lesquels on retrouve la plupart des mutations de type *e* des différentes espèces animales (Schiöth *et al.*, 1998 a).

La première modélisation est réalisée par homologie avec la bactériorhodopsine. Dans ce modèle, le ligand s'intercale dans une poche délimitée par les 2^{ème}, 3^{ème} et 6^{ème} domaines avec des interactions ioniques entre l'aspartate 117 (TM3) et l'histidine de l' α -MSH, l'histidine 260 (TM6) et le glutamate de l' α -MSH, l'aspartate 121 (TM3) et l'arginine de l' α -MSH, le glutamate 55 (TM1) et le tryptophane de l' α -MSH (Prusis *et al.*, 1995).

Le premier site décrit par Haskell-Luevano *et al.* (1996) est délimité par les 2^{ème}, 3^{ème} et 7^{ème} domaines transmembranaires et s'apparente à la poche décrite par Prusis *et al.* en 1995 : l'arginine 8 du ligand interagit avec le glutamate 94, l'aspartate 117 et l'aspartate 121

(liaisons ioniques hydrophiles⁶) voire avec la phénylalanine 280 (liaison aromatique) et l'asparagine 281 (liaison hydrogène) du MC1-R. Le deuxième site du MC1-R se définit par des **interactions hydrophobes** entre la phénylalanine 7 et le tryptophane 9 du ligand ET des résidus aromatiques des 4^{ème}, 5^{ème} et 6^{ème} domaines transmembranaires (Haskell-Luevano *et al.*, 1996).

Ultérieurement Yang *et al.* (1997) puis Lu *et al.* (1998) confirment le modèle d'Haskell-Luevano par mutagenèse dirigée, en supposant néanmoins une implication moindre du 94^{ème} glutamate voire de la 117^{ème} aspartate (Lu *et al.*, 1998). De plus, la substitution des 3 résidus acides (Glu94, Asp117 & Asp121) ne suffit pas à inactiver complètement la fixation du ligand et l'importance des interactions hydrophobes entre le MC1-R (Phe 175, 196 & 257) et le ligand (Phe7 & Trp9) est confirmée par Yang *et al.* (1997) puis par Mayorov *et al.* (2006). Ces interactions aromatiques sont toutefois quantitativement moins importantes que les interactions ioniques.

De leur côté, Schiöth *et al.* (1998 b) montrent que **l'extrémité C-terminale (Gly-Lys-Pro-Val) est absolument nécessaire pour une bonne affinité des MSH au MC1-R⁷**, contrairement à l'extrémité N-terminale.

d. Mutations et conséquences sur la fonction du MC1-R

Les mutations *e*

Les mutations localisées dans les boucles extracellulaires sont généralement corrélées à une baisse d'affinité pour l' α -MSH, alors que celles localisées dans les boucles intracellulaires sont plutôt corrélées à une baisse d'activité adénylatecyclase. Les mutations localisées dans les domaines transmembranaires déstabilisent l'hélice α et peuvent affecter soit le site du ligand hormonal ou le couplage à la protéine G quand la mutation siège en position plutôt intracellulaire.

Dans tous les cas, le taux d'AMPc est diminué et la cascade réactionnelle est bloquée ce qui empêche l'activation de la tyrosinase : les mutations de type *e* orientent finalement toutes vers la phaeomélanogenèse, quel que soit le mécanisme moléculaire initial.

Les mutations *E^D* (Lu *et al.*, 1998)

Fréquentes dans cette famille protéique, les mutations responsables de GPCR activés inhibent vraisemblablement les contraintes électrostatiques internes qui maintiennent le récepteur en conformation inactive. Leur disparition augmenterait l'affinité pour le ligand et abaisserait le seuil d'induction permettant une activité basale supérieure, même en absence de stimulation (Lefkowitz, 2004).

Il fut au départ supposé que le MC1-R activé répondait au même mécanisme. **Toutefois l'affinité des mutants [p.Glu92Lys], [p.Leu98Pro], [p.Asp119Lys] et [p.Cys123Arg]⁸ pour l' α -MSH est fortement inhibée *in vitro* : le mécanisme d'activation supposé des GPCR n'est donc pas extrapolable à celui du MC1-R.** Si le 92^{ème} glutamate, la 119^{ème} aspartate et la 123^{ème} cystéine étaient essentiels au maintien du MC1-R dans une conformation inactive, toute substitution de ces acides aminés devrait permettre d'obtenir une activation du récepteur. Néanmoins seule la substitution par un acide aminé **chargé positivement** (lysine, arginine) permet

⁶ L'histidine 260 est également impliquée dans la fixation de l' α -MSH par liaison ionique selon Yang *et al.* (1997).

⁷ La moindre affinité des β -MSH et γ -MSH pour le MC1-R serait liée aux variations de leur portion C-terminale, essentiellement via la 11^{ème} lysine et la 12^{ème} proline de l' α -MSH.

⁸ Les numéros 92, 98, 119 et 123 des résidus sont ceux de la séquence du MC1-R murin (Q01727). Ils correspondent aux résidus 94, 100, 121 et 125 de la séquence du MC1-R humain (Q01726), félin (Q865E9) et bovin (NP_776533).

d'obtenir un MC1-R constitutivement activé. Le récepteur p.Leu98Pro présente les mêmes caractéristiques pharmacologiques que les 3 mutants mentionnés ci-dessus suggérant que les leucines 98 (et 97^{9,10}) interviennent dans le même processus.

Par contre, quelle que soit le résidu substituant le **115^{ème} aspartate**⁹, le MC1-R obtenu est activé et son affinité pour le ligand n'est pas diminuée suggérant un mécanisme d'action différent, **via un réseau de liaisons ioniques ou hydrogènes maintenant le récepteur en conformation inactive.**

Présents dans les 5 MCR, les acides aminés 92, 115, 119 et 123 (MC1-R murin, Q01727) sont bien conservés dans cette région plutôt extracellulaire et interagissent avec l'arginine du pharmacophore de l' α -MSH (Yang *et al.*, 1997). **L'activation du MC1-R pour les mutants des résidus 92, 98, 119 et 123 serait due à un mécanisme de mimétisme du ligand**, c'est-à-dire que l'introduction locale d'une charge positive par mutagenèse mimerait les interactions de l'arginine 8 avec cette région du MC1-R, modifierait la conformation du 2^{ème} et/ou 3^{ème} domaine(s) transmembranaire(s) et **inhiberait l'affinité pour le ligand.** En situation physiologique, le récepteur serait maintenu en conformation inactive par le réseau acide des résidus 92, 115 et 119 qui interagiraient avec les triglycérides négatifs de la membrane.

Dernièrement des ligands de synthèse neutres ou chargés négativement et contenant des résidus aromatiques ont montré être capables de mimer les interactions hydrophobes décrites par Haskell-Luevano *et al.* (1996). **Le maintien d'un réseau hydrophobe serait suffisant à donner un récepteur constitutivement activé** (Holder & Haskell-Luevano, 2004).

B. Les mutations du *MC1R* chez les Vertébrés

Constitué d'un seul exon bien conservé, le *MC1R* est un **outil informatif** pour les études phylogénétiques. Plusieurs ont été réalisées chez les Mammifères (Harding *et al.*, 2000, Hoekstra & Nachman, 2003, Klungland & Våge 2003, Mundy *et al.*, 2003 a et b, Nachman *et al.*, 2003), les Oiseaux (Price & Bontrager, 2001, Theron *et al.*, 2001, Mundy, 2005) et les Reptiles (Rosenblum *et al.*, 2004).

1. La souris

Trois robes jaunes sont connues chez la souris (Searle, 1968), deux sont codées par des allèles de la série *agouti* (A^Y dominant et létal et A^W dominant) et la troisième est codée par un allèle de la série *extension*.

On connaît cinq allèles dans cette série chez la souris : E^{so} , E^{so-3J} et E^{rob} (noir) > E^+ (agouti) > e (jaune) avec une dominance incomplète des trois premiers. **Ces mutations sont toutes épistatiques sur les allèles du locus *agouti*** (Robbins *et al.*, 1993).

a. La robe fauve récessive

L'allèle e code pour une robe jaune claire à orange, les yeux sont noirs et le jeune e/e présente des poils dorsaux noirs qui s'éclaircissent en vieillissant (Hauschka *et al.*, 1968).

⁹ Les numéros 97 et 115 des résidus sont ceux de la séquence du MC1-R murin (Q01727). Ils correspondent aux résidus 99 et 117 de la séquence du MC1-R humain (Q01726), félin (Q865E9) et bovin (NP_776533).

¹⁰ La leucine 97 n'a pas été étudiée par Lu *et al.* (1998), toutefois la substitution p.Leu99Pro associée à une robe noire dominante dans l'espèce bovine code vraisemblablement pour un MC1-R constitutivement activé (Klungland *et al.*, 1995).

Cet allèle se caractérise par une délétion du 549^{ème} nucléotide (183^{ème} résidu dans la 2^{ème} boucle extracellulaire) décalant le cadre de lecture et aboutissant à un MC1-R raccourci de 134 acides aminés, **limité à 4 domaines transmembranaires** et **incapable de se coupler à la protéine G** (Robbins *et al.*, 1993).

b. Les robes noires dominantes

Les allèles *sombres* E^{so} et E^{so-3J} codent pour une robe entièrement noire chez les individus homozygotes alors que l'allèle *tobacco* E^{tob} est responsable d'un assombrissement progressif des poils dorsaux.

Les allèles E^{so-3J} et E^{so} se caractérisent respectivement par les substitutions p.Glu92Lys et p.Leu98Pro, dans le **deuxième domaine transmembranaire**. *In vitro* ces récepteurs sont insensibles à l' α -MSH, mais ont une activité adénylatecyclase équivalente à quatre fois celle du récepteur sauvage, soit 60% de l'activité maximale de ce dernier en l'absence de stimulation : ces récepteurs sont **constitutivement activés** (Robbins *et al.*, 1993). L'allèle E^{tob} contient une substitution dans la région correspondant à la première boucle intracellulaire : p.Ser69Leu. *In vitro* l'activité adénylatecyclase du récepteur tobacco suite à la fixation du ligand est plus élevée que celle du récepteur sauvage : il est dit **hyperactif**, son fonctionnement est inconnu (Robbins *et al.*, 1993).

D'autres polymorphismes sont connus chez la souris *Chaetodipus intermedius* (p.Arg18Cys, p.Arg109Trp, p.Arg160Trp et p.Gln233His) et sont tous associés à une couleur rappelant la robe tobacco. Ces 4 substitutions sont toutes responsables de perturbations ioniques locales et sont toutes possiblement responsables de ce phénotype (Nachman *et al.*, 2003). Toutefois chez d'autres individus, le même phénotype n'est associé à aucune de ces substitutions (Hoekstra & Nachman, 2003). Une étude *in vitro* de ces mutants conclurait sur leur incidence réelle.

2. Le cobaye

Trois allèles existent sur la série *extension* du cobaye : E (noir) > e^P (bicolore, mélange de noir et de fauve) > e (fauve) et l'allèle e^P serait incomplètement dominant sur e (Ibsen, 1919, Chase, 1939). Des individus bicolores peuvent naître de parents fauves e/e et se reproduisent comme des individus fauves : ce phénomène s'expliquerait par une mutation somatique (Ibsen, 1919).

Le séquençage du *MC1R* a depuis permis de corréliser la couleur fauve récessive du cobaye à une large délétion dans le gène conduisant à un récepteur non fonctionnel (Cone *et al.*, 1996).

3. Le lapin (Fontanesi *et al.*, 2006)

Empiriquement cinq allèles ont été décrits : dans l'ordre décroissant de dominance, E^D (noir) > E^S (argent ou steel) > E^+ (brun) > e^J (japonais, mélange de fauve et noir) > e (fauve, jaune ou rouge).

L'allèle e est caractérisé par la délétion des nucléotides 304 à 333, qui correspond à une délétion des acides aminés 102 à 111 dans la 1^{ère} **boucle extracellulaire** et code pour un récepteur inefficace.

L'allèle E^D a perdu les nucléotides 280 à 285 et code pour une protéine délétée des acides aminés 94 et 95 dans le 2^{ème} **domaine transmembranaire**. Cet allèle code vraisemblablement pour un **MC1-R constitutivement activé** compte tenu le rôle majeur de l'aspartate 94¹¹ dans l'activation du récepteur (Lu *et al.*, 1998).

¹¹ L'aspartate 94 du MC1-R du lapin (CAJ57384) est homologue de l'aspartate 92 du MC1-R murin (Q01727), également impliqué dans un MC1-R activé, comme nous l'avons vu précédemment (Robbins *et al.*, 1993).

4. Le chien

Dès 1957, Little émet l'hypothèse d'un allèle récessif *e*, dont le génotype *e/e* donne une robe fauve uniforme allant du jaune au rouge en passant par l'abricot, variabilité qui serait polygénique (Newton *et al.*, 2000). Cet allèle est épistatique sur les loci *agouti* et *brown*, mais l'épistasie sur le *brown* est incomplète puisque les lèvres, l'iris et la truffe des chiens fauves *B⁺/-* et *b/b* sont respectivement noirs et chocolat (Templeton *et al.*, 1977, Schmutz *et al.*, 2002). Little suppose également l'existence des allèles *E^M* et *e^{br}* codant respectivement pour le masque eumélanique et la robe bringée, en désaccord avec Winge, selon lequel ces phénotypes sont codés par des allèles de la série *agouti*.

a. La robe fauve récessive

Cette robe est connue dans plusieurs races dont les Retrievers, le Setter Irlandais et le Samoyède (Berryere *et al.*, 2005, Schmutz & Berryere, 2007 a et b). D'autres races à robe fauve possèdent l'allèle sauvage *E⁺* et des mutations sur d'autres loci (Schmutz *et al.*, 2002, Berryere *et al.*, 2005).

Pour l'anecdote, un labrador bicolore (2/3 noir, 1/3 fauve) né de parents fauve et noir a été décrit en 1987 et s'est reproduit comme un chien fauve. Il s'agissait probablement d'une mutation embryonnaire somatique (*E⁺→e* ou *e→E⁺*) ou d'une chimère (Sponenberg & Bigelow, 1987).

L'allèle *e* se caractérise par la substitution non-sens p.Arg306Ter et est responsable de la perte des 12 acides aminés terminaux (Everts *et al.*, 2000, Newton *et al.*, 2000). Le récepteur est tronqué et l'eumélanogénèse est complètement inhibée (Sanchez-Mas *et al.*, 2005), par la **disparition de la 308^{ème} thréonine et la 315^{ème} cystéine**. Ces deux acides aminés sont indispensables pour l'activation du récepteur et la cystéine stabilise également le récepteur à la membrane.

b. Le masque noir dominant (Newton *et al.*, 2000)

L'allèle *E^M* est caractérisé par la substitution p.Met264Val et est phénotypiquement corrélé au masque eumélanique dominant. Mais ce masque n'est pas systématiquement visible, notamment sur les robes noires ou à panachures blanches envahissantes. Par principe, le masque noir *E^M/-* ne peut pas non plus coexister avec une robe fauve uniforme *e/e*.

p.Met264Val coderait pour un **MC1-R hyperactif strictement limité à la face** selon un mode d'action inconnu, possiblement via une inhibition de l'antagonisme *agouti*, un meilleur couplage du MC1-R à l'adénylatecyclase ou une augmentation du nombre de récepteurs à la surface membranaire (Schmutz *et al.*, 2003).

NB 1 : La robe bringée n'est corrélée à aucune mutation de la séquence du *MC1R*, excluant définitivement l'existence de l'allèle *e^{br}* évoqué par Little (Schmutz *et al.*, 2003).

NB 2 : D'autres sites polymorphes sont décrits notamment la substitution p. Ser90Gly, autrefois supposée coder pour la robe noire dominante de certaines races. Cette hypothèse a définitivement été écartée depuis (Kerns *et al.*, 2003).

5. Les Félinés (Eizirik *et al.*, 2003)

Aucune mutation de type *e* n'a encore été rapportée dans cette famille, contrairement à deux mutations *E^D* connues chez le jaguar et le jaguarundi. Chez le jaguar *Panthera Onca*, la délétion

des nucléotides 301 à 315 correspondant à une délétion des acides aminés 101 à 105 ségrége avec la robe noire dominante. Adjacente à cette délétion, on trouve une substitution d'un résidu très conservé, p.Leu109Thr. Chez le jaguarundi *Herpailurus yaguarondi*, la robe noire dominante est associée à une délétion des nucléotides 283 à 306, soit celle des résidus 95 à 102. La même mutation a été identifiée chez le singe *Leontopithecus chrysomelas* (tamarin à tête de lion) et est responsable du même phénotype (Mundy & Kelly, 2003 b).

Codant pour des **récepteurs constitutivement activés**, ces deux délétions supposent que la perte des codons en commun, 101 et 102, est responsable de la modification d'activité du récepteur. Mais ceci est à relativiser car les leucines 99 et 100 - délétées chez le jaguarundi - contribuent également à maintenir le récepteur en conformation inactive (Lu *et al.*, 1998).

6. L'ours (Ritland *et al.*, 2001)

Certains spécimens d'*Ursus americanus pallus* revêtissent une robe blanche, non albinos (yeux et peau pigmentés). Ce phénotype est corrélé à la substitution p.Tyr298Cys dans le MC1-R, et ne reflète pas seulement l'expression de cette mutation mais aussi celle de polygènes limitant la phaeomélanogenèse, un peu comme les cheveux blonds chez l'homme.

Cette mutation siège dans la portion terminale du 7^{ème} domaine transmembranaire. Fondamentale pour l'activation et la stabilité du récepteur, **l'extrémité C-terminale serait déstabilisée** par la substitution p.Tyr298Cys qui lui est directement adjacente.

7. Le renard

Cet animal présente un large panel de couleurs dont le déterminisme génétique est complexe (Tableau 8). La série *extension* se constitue de deux allèles, E^D et E^+ (Adalsteinsson *et al.*, 1987).

- Chez le renard roux *Vulpes vulpes*, l'allèle E^D (noir) est incomplètement dominant sur l'allèle E^+ (coloration normale).
- Chez le renard polaire *Alopex lagopus*, l'allèle E^D (bleu) est dominant sur l'allèle E^+ (coloration normale).

PHENOTYPE	LOCUS <i>A</i>	LOCUS <i>E</i>
<i>Vulpes vulpes</i>		
Roux	A^R/A^R	E^+/E^+
Alaska silver = noir	A^R/A^R	E^D/E^D
Silver standard = noir	a/a	E^+/E^+
<i>Alopex lagopus</i>		
Blanc gris	A^W/A^W	E^+/E^+
Bleu	A^W/A^W	E^D/E^D
Noir	a/a	E^+/E^+

Tableau 8 : Couleurs de robe et interactions entre les allèles des gènes *agouti* et *extension* chez le renard (d'après Adalsteinsson *et al.*, 1987)

Vulpes vulpes: A^R (roux) > a (noir) et E^D (noir incomplètement épistatique sur *agouti*) > E^+ (la couleur dépend des allèles portés au locus *agouti*).

Alopex lagopus: A^W (blanc gris) > a (noir) et E^D (bleu incomplètement épistatique sur *agouti*) > E^+ (la couleur dépend des allèles portés au locus *agouti*).

L'allèle E^D se caractérise par la substitution p.Cys125Arg, située dans le 3^{ème} domaine **transmembranaire** et homologue de la cystéine 123 chez la souris (Våge *et al.*, 1997). Les études *in vitro* montrent que le récepteur muté est **constitutivement activé** (25 à 90% de l'activation maximale du MC1-R en l'absence d'hormone), dont les mécanismes moléculaires ont été élucidés par Lu *et al.* (1998).

L'action de l'allèle E^D sur les allèles de la série *agouti* est **incomplètement épistatique** et cette caractéristique n'a été décrite que chez le renard. Ainsi, selon Ollmann *et al.* (1998), la protéine *agouti* conserverait une action sur le MC1-R constitutivement activé du renard et se comporterait comme un agoniste inverse : elle ferait passer le récepteur en configuration inactive, tout en conservant sa propriété d'antagoniste et limiterait le transfert du signal intracellulaire de l' α -MSH.

8. Les Mustélidés (Hosoda *et al.*, 2005)

Le polymorphisme interspécifique et intraspécifique du *MC1R* est important mais rarement associé à des variations phénotypiques, bien que ces mutations rappellent des mutations déjà décrites dans d'autres espèces chez qui elles ont des effets visibles.

9. Les Oiseaux

La poule présente un polymorphisme important sur cette série allélique. Le phénotype sauvage correspond à un mélange d'eumélanine et de phaeomélanine et est codé par deux allèles E^+ qui diffèrent par deux substitutions : p.Thr143Ala et p.Cys213Arg (Kerje *et al.*, 2003). Ces sites polymorphes seraient sans conséquence moléculaire (Ling *et al.*, 2003).

a. Le plumage fauve

Le phénotype buttercup proche du phénotype sauvage est codé par l'allèle e^{bc} récessif qui contient les mutations p.Glu92Lys, p.Met71Thr et p.His215Pro (Kerje *et al.*, 2003). La coexistence de p.Glu92Lys et p.Met71Thr est décrite chez des individus noirs. Ceci incite à penser que la substitution p.His215Pro qui concerne un codon conservé est responsable du phénotype buttercup, même si elle n'aurait aucune conséquence sur le fonctionnement du MC1-R *in vitro* selon Ling *et al.* (2003).

Le plumage fauve est récessif et codé par l'allèle e^Y . Ce dernier est caractérisé par trois substitutions : p.Asp37Gly, p.Cys33Trp et p.Leu244Pro.

- p.Cys33Trp siège dans l'**extrémité N-terminale** et concerne un codon conservé relié par un pont disulfure à la cystéine 271 de la 3^{ème} boucle extracellulaire.
- p.Leu244pro survient dans le 6^{ème} **domaine transmembranaire**.

Ces deux mutations empêcheraient l'activation de l'adénylatecyclase, la première en affectant la **conformation du récepteur** et la seconde en empêchant la **fixation de l'agoniste** (Takeuchi *et al.*, 1996) mais aucune étude *in vitro* n'est disponible.

b. Le plumage noir dominant

Sa dominance est incomplète et ce déterminisme serait lié au dimorphisme sexuel (Kerje *et al.*, 2003) : le plumage noir est codé par trois allèles E^D , possédant en commun la substitution p.Glu92Lys située dans le 2^{ème} **domaine transmembranaire** qui est déjà décrite chez la souris (Robbins *et al.*, 1993). Elle code pour un **récepteur constitutivement activé** (Ling *et al.*, 2003).

Ces mutations « noir dominant » sont décrites dans d'autres espèces d'oiseaux.

- La substitution p.Glu92Lys est corrélée au plumage noir dominant du sucrier à ventre jaune *Coereba flaveola* (Theron *et al.*, 2001) et au plumage brun de la caille du Japon, *Coturnix Japonica* (Nadeau *et al.*, 2006). Elle coderait pour un **récepteur constitutivement activé** dans les deux espèces.
- Chez l'oie des neiges *Anser c. caerulescens*, la substitution p.Val85Met code pour un plumage bleu à dominance incomplète (Mundy *et al.*, 2004). Cette mutation survient dans le **2^{ème} domaine transmembranaire**, région fondamentale pour la fonction du MC1-R.
- Chez le stercoraire deux substitutions sont décrites sur l'arginine 230 (Mundy *et al.*, 2004) : p.Arg230His associée à un plumage noir dominant chez *Stercorarius parasiticus* et p.Arg230Cys corrélée à un plumage noir dominant chez *Catharacta skua*. Une mutation comparable, p.Gln233His, dans la **3^{ème} boucle intracellulaire** pourrait être responsable d'eumélanisme chez la souris, *Chaetodipus intermedius* (Nachman *et al.*, 2003).
- Le mérion leucoptère, *Malurus leucopterus* se divise en deux sous-espèces dont les mâles sont respectivement bleus et noirs (plumage sauvage). La substitution p.Alala16Thr est corrélée au plumage bleu récessif (Doucet *et al.*, 2004).

10. Le porc

La série *extension* des Suidés est complexe, on distingue les quatre types d'allèles suivants classés dans l'ordre décroissant de dominance (Kijas *et al.*, 1998) :

- **E⁺** allèle sauvage codant pour une robe brune. Cet allèle n'existe pas chez les Suidés domestiques.
- **E^{D1}** (races Large Black et Meishan) et **E^{D2}** (race Hampshire) codant pour les robes noires.
- **E^P** codant pour les robes black spotted (races Piétain et Large White), blanche dominante (races Landrace et Yorkshire) ou cuivre (races Hereford et Tamworth).
- **e** pour la robe cuivre (race Duroc).

a. Les robes fauves

L'allèle **e** diffère de la séquence sauvage par les substitutions p.Alala240Thr et p.Alala161Val. Selon Kijas *et al.* (1998), p.Alala161Val n'aurait aucune incidence car une valine à la même position code pour un récepteur fonctionnel chez le cheval. Une étude ultérieure infirme cette hypothèse (Dun *et al.*, 2007) : cette valine siège en effet à proximité de la **deuxième boucle cytoplasmique fondamentale pour l'activité adénylatecyclase**, où de multiples mutations de type **e** ont déjà été décrites dans le MC1-R humain : p.Arg142His, p.Arg151Cys, p.Arg160Trp et p.Arg162Pro.

L'alanine 240 - bien conservée - se situe dans le **6^{ème} domaine transmembranaire**, région dans laquelle aucune mutation affectant l'efficacité du récepteur n'a encore été décrite. Néanmoins l'hélice α serait déstabilisée suite au remplacement d'une alanine hydrophobe par une thréonine hydrophile (Kijas *et al.*, 1998) et **affecterait la fixation de l'hormone** qui dépend également d'un réseau de liaisons hydrophobes dans lequel des acides aminés du 6^{ème} domaine interviennent (Haskell-Luevano *et al.*, 1996).

Une troisième substitution a été identifiée dans la région amont non codante : elle pourrait concerner le promoteur du *MC1R* et limiterait sa transcription ce qui aboutirait à l'inhibition de l'eumélanogenèse (Dun *et al.*, 2007).

L'allèle E^P se caractérise par la substitution, p.Asp121Asn et l'insertion de deux cytosines après le 67^{ème} nucléotide aboutissant à un **codon stop prématuré après 55 acides aminés** et donc à un MC1-R inefficace (Kijas *et al.*, 2001). E^P code pour une robe cuivre ou blanche associée à des spots noirs : les spots seraient dus à des mutations somatiques dans l'allèle E^P et la dépigmentation serait la conséquence de mutations dans des gènes codant pour la phaeomélanogenèse ou d'un défaut de migration des mélanoblastes suite à l'inefficacité du MC1-R (Kijas *et al.*, 2001). L'allèle E^P peut également coder la robe blanche des races Landrace et Yorkshire mais on n'en sait pas plus actuellement sur les modalités du déterminisme orientant soit vers une robe spotted, soit vers une robe blanche uniforme (Dun *et al.*, 2007).

b. Les robes noires dominantes

L'allèle E^{D1} présente deux substitutions p.Val92Met et p.Leu99Pro (Kijas *et al.*, 1998) : deux mutations sont rapportées dans la même région du récepteur¹² chez la vache (p.Leu99Pro, Klungland *et al.*, 1995) et la souris (p.Leu98Pro, Robbins *et al.*, 1993), et codent pour un **récepteur constitutivement activé**. L'incidence réelle de p.Val92Met est vraisemblablement nulle.

L'allèle E^{D2} est caractérisé par la substitution p.Asp121Asn (Kijas *et al.*, 1998), siégeant dans le 3^{ème} **domaine transmembranaire**. Dans la même région¹³ sont décrites les mutations p.Asp117Gln, p.Asp117Gly et p.Asp121Asn chez des singes (Haitina *et al.*, 2007), p.Asp121Asn chez le mouton (Våge *et al.*, 1999) et p.Cys125Arg toutes responsables d'eumélanisme et codant pour un **récepteur activé** chez le renard (Våge *et al.*, 1997).

11. Le cheval (Marklund *et al.*, 1996, Rieder *et al.*, 2001)

La robe alezane récessive du cheval est corrélée à la substitution p.Ser83Phe. Cette mutation affecte un résidu conservé dans le **deuxième domaine transmembranaire** en remplaçant un acide aminé hydrophile par un hydrophobe qui **déstabilise l'hélice α** et rend le récepteur inefficace. Cette mutation est retrouvée chez le cheval de Prjevalski qui arbore une robe fauve claire aux extrémités noires. Une mutation sur le même codon a été identifiée chez l'homme, p.Ser83Leu (Code d'accès : AAQ62970), mais aucune donnée n'est disponible sur le phénotype de ces individus.

Même si des auteurs rapportent l'existence de robe noire dominante chez le cheval (Rieder *et al.*, 2001), aucun autre polymorphisme du *MC1R* équin n'a encore été rapporté.

12. La vache

a. Les robes fauves

L'allèle E^+ code pour la robe sauvage, brun rouge E^+/e à brun foncé E^+/E^+ , avec un museau cerclé de noir : la tête, l'encolure, l'extrémité des membres et l'arrière-train sont plus foncés. Cette robe est celle des races Jersiaise, Brune Suisse et Normande (Seo *et al.*, 2007).

L'allèle e^{G4} ou E^1 code pour les robes éclaircies des races Gasconne, Aubrac (Rouzaud *et al.*, 2000) et Tarentaise (Maudet & Taberlet, 2002). Il se caractérise par la duplication de 12

¹² Ces trois espèces ont un MC1-R de taille différente, leurs mutations respectives concernent donc 3 résidus différents (Porc, 320 acides aminés (AA), Q9TU05 ; Vache, 317 AA, NP_776533 ; Souris, 315 AA, Q01727).

¹³ La substitution p.Asp121Asn du porc concerne un acide aminé différent des autres substitutions décrites (les MC1-R du mouton, des Primates et du renard sont constitués de 317 AA, donc 3 de moins que le MC1-R porcin).

nucléotides en position 669, soit 4 acides aminés, glycine-isoleucine-alanine-arginine, insérés après le 223^{ème} résidu, dans la 3^{ème} boucle intracellulaire, région fondamentale pour le bon couplage de la protéine G (Frändberg *et al.*, 1998). Cet insert modifie la conformation de la boucle et serait responsable d'une eumélanogenèse moins importante et d'une robe plus claire.

L'allèle *e* code pour une robe rouge récessive avec une grande variabilité d'expression selon les races : Salers (rouge brun), Limousine (rouge), Charolaise et Blonde d'Aquitaine (crème) (Rouzaud *et al.*, 2000), Holstein pie rouges (Joerg *et al.*, 1996), Montbéliarde et Abondance (Maudet & Taberlet, 2002). L'allèle *e* se caractérise par la délétion de la guanine 310 qui aboutit à un codon stop prématuré donc à une protéine tronquée (155 acides aminés sur 317) : l' α -MSH ne peut pas se fixer sur le récepteur hormonal **constitué de seulement 3 domaines transmembranaires** (Figure 25).

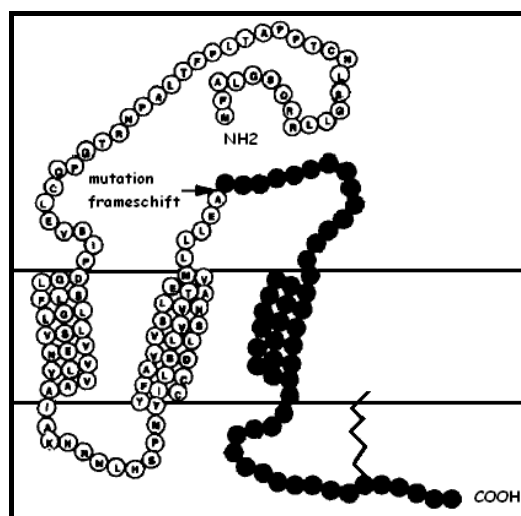


Figure 25 : Représentation du MC1-R bovin codé par la mutation *e* (Rouzaud *et al.*, 2000)

D'autres sites polymorphes ont été identifiés (Tableau 9) dont les conséquences réelles sur le phénotype mériteraient d'être déterminées :

- l'insertion d'une thymine en position 603 chez des vaches de race Flamande, entraînant un décalage du cadre de lecture à partir du 201^{ème} codon.
- la substitution p.Arg223Trp des races italiennes, dans la 3^{ème} boucle intracellulaire, où siège également la mutation *E¹* (ou *e^{6A}*).

Breed	Coat color	<i>E⁺/E⁺</i>	<i>E⁺/E¹</i>	<i>E¹/E¹</i>	<i>E^D/E^D</i>	<i>e/e</i>	Others	Total
French cattle breeds considered for RDO cheese study								
Abondance	Brown and White	...	...	...	...	32	...	32
Montbéliarde	Red and White	...	...	...	...	32	...	32
Tarentaise	Reddish with black	...	2	30	...	...	...	32
Prim'Holstein	Black and White	...	...	...	32	...	...	32
Other French cattle breeds								
Aubrac	Brownish with black	...	1	7	...	...	...	8
Blanc Bleu	Roan	5	...	...	...	...	...	5
Blonde d'Aquitaine	Light brown	...	...	...	...	6	...	6
Brune des Alpes	Brownish black	3	2	2	...	...	1	8
Charolais	White	...	...	...	...	10	...	10
Flamande	Brown/black	...	...	...	...	...	4	4
Gascogne	Grey	2	1	1	...	...	...	4
Limousine	Red	...	...	...	...	10	...	10
Maine Anjou	Brown and white	...	...	...	...	4	...	4
Normande	Brown, black and white	8	...	...	...	...	...	8
Salers	Brown	...	...	...	...	10	...	10
Simmental	Light brown and white	...	...	...	...	5	...	5
Villard de Lans	Light brown	...	...	...	...	20	...	20
Vosgienne	Black and White	...	...	...	12	...	...	12
Italian cattle breeds								
Chianina	White	2	...	...	...	2	1	5
Marchigiana	White	...	...	...	...	...	5	5
Maremmiana	Grey	...	...	...	...	...	5	5
Piemontese	Grey	...	...	...	...	...	5	5
Pezzata Rossa Italiana	Red and White	...	...	...	...	5	...	5
Rendena	Brown	5	...	...	...	...	...	5
Valdaostana Pezzata Rossa	Red and White	...	...	...	...	...	5	5

Tableau 9 : Dépistage d'un cheptel bovin pour la série *extension* (d'après Maudet & Taberlet, 2002)

La première colonne indique les races des individus étudiés (18 races françaises, 7 races italiennes), la deuxième indique le phénotype associé et les colonnes suivantes indiquent le génotype obtenu pour le *MC1R* (allèles *E⁺*, *E¹*, *E^D*, *e* ou un autre allèle).

b. La robe noire dominante (Klungland *et al.*, 1995, Rouzaud *et al.*, 2000)

Codée par E^D (races Holstein et Vosgienne) **épistatique sur la série agouti**, cette robe est corrélée à la substitution p.Leu99Pro. Une mutation similaire (p.Leu98Pro = E^{so}) est rapportée chez la souris et code pour un **récepteur constitutivement activé** (Robbins *et al.*, 1993).

L'identification de deux bovins noirs (respectivement E^+/e et E^+/E^+) a prouvé l'existence de la robe noire récessive dans cette espèce. D'autres bovins E^+/e et E^+/E^+ étaient rouges. Ces deux phénomènes sont vraisemblablement l'expression de mutations au locus *agouti* (Klungland *et al.*, 1995). L'allèle E^D a aussi été identifié chez un individu noir ET rouge ainsi que chez sa mère rouge uniforme et de génotype E^D/e (Klungland & Våge, 1999). Ces observations pourraient correspondre à une mutation au locus *agouti* avec une épistasie incomplète sur l'allèle E^D .

13. Le mouton (Våge *et al.*, 1999)

Deux allèles sont connus : E^+ (sauvage) et E^D (noir dominant). E^D se caractérise par deux substitutions p.Met73Lys et p.Asp121Asn¹⁴, il est **épistatique sur toute la série agouti**. p.Met73Lys siège dans la 1^{ère} **boucle intracellulaire** et p.Asp121Asn se situe dans le 3^{ème} **domaine transmembranaire**.

In vitro p.Asp121Asn **diminue l'affinité** du MC1-R pour l' α -MSH de 10 à 100 fois. Mais sa seule présence ne suffirait pas à donner un récepteur constitutivement activé selon Våge *et al.* dont les résultats s'opposent aux conclusions apportées par Lu *et al.* (1998).

p.Met73Lys permet une activation du MC1-R en l'absence d'hormone, équivalente à 40% de celle de l'activité maximale. Contrairement aux mutations p.Glu92Lys (souris), p.Leu98Pro (souris), p.Leu99Pro (vache) et p.Cys125Arg (renard) codant pour un récepteur constitutivement activé moins affin pour l'hormone, p.Met73Lys **augmente l'affinité** pour le ligand et **stabiliserait le récepteur**, selon un mécanisme probablement similaire à celui de l'allèle *tobacco* chez la souris, p.Ser69Leu (Robbins *et al.*, 1993).

14. La chèvre (Wu *et al.*, 2006)

La robe de la chèvre de race Boer se caractérise par des panachures blanches étendues avec tête et encolure orange. Ce phénotype est corrélé à la substitution, p.Lys226Glu, à proximité du site d'insertion de l'allèle bovin E^1 (Rouzaud *et al.*, 2000). Dans la 3^{ème} **boucle intracellulaire**, l'acide aminé 226 est fondamental pour le bon **couplage de la protéine G** au récepteur (Frändberg *et al.*, 1998).

15. Le mammoth (Römpler *et al.*, 2006)

Une étude réalisée sur *Mammuthus primigenius* a identifié trois sites polymorphes sur le MC1-R : p.Thr21Ala, p.Arg67Cys et p.Arg301Ser. L'expression *in vitro* de ce récepteur (triple muté) montre une activité basale équivalente à 35% de l'activité du récepteur sauvage, déficit d'activité qui serait en grande partie dû à p.Arg67Cys.

¹⁴ Les mutants p.Asp121Asn du mouton et du porc concernent deux acides aminés différents, leur MC1-R est de taille différente (Mouton, 317 AA, CAA74298 ; Porc, 320 AA, Q9TU05).

16. L'homme

a. Un gène important dans la pigmentation de l'homme

Excepté l'albinisme, les variations de couleur chez l'homme sont essentiellement dues à des mutants du *MC1R* : plus de 60 variants ont déjà été identifiés sur ce locus (Zanna *et al.*, 2008). Bien que riche en polymorphismes, le *MC1R* ne jouerait aucun rôle dans la pigmentation noire de l'espèce humaine (Harding *et al.*, 2000). Ces mutations sont de type *e* et prédisposent les mélanocytes humains aux **effets délétères des UV sur l'ADN** (Scott *et al.*, 2002, Beaumont *et al.*, 2005, Rouzaud *et al.*, 2005), donc aux mélanomes (Valverde *et al.*, 1996, Healy *et al.*, 1999, Palmer *et al.*, 2000, Kennedy *et al.*, 2001) et aux carcinomes cutanés (Bastiaens *et al.*, 2001 a, Box *et al.*, 2001).

Ces variants se caractérisent par le **phénotype RHC** (Red Hair Colour) : poils roux à blonds, peau blanche prédisposée aux brûlures solaires, au bronzage difficile voire impossible (Xu *et al.*, 1996) et possiblement dotée de taches de rousseurs (Flanagan *et al.*, 2000, Bastiaens *et al.*, 2001 b). Les phénotypes sont classés en quatre groupes selon l'échelle de Fitzpatrick, allant du type 1 (peau blanche, incapable de bronzer et brûlant facilement) au type 4 (peau foncée, bronzant facilement et brûlant rarement).

Contrairement aux autres espèces animales, les mutations *e* humaines s'expriment donc autant dans les mélanocytes folliculaires que les mélanocytes épidermiques.

Le caractère RHC est de déterminisme récessif. Toutefois **les hétérozygotes expriment parfois également ce phaeomélanisme** (châtain roux/blonds) alors que les homozygotes mutés auront eux un phénotype « extrême » : cheveux roux et peau très claire accompagnée de rousseurs. Ceci s'explique par l'aptitude naturelle des MC1-R à dimériser : ainsi, chez un individu hétérozygote, deux récepteurs, un sauvage et un muté, peuvent s'associer et l'inefficacité du MC1-R muté va empêcher l'expression du MC1-R fonctionnel (Zanna *et al.*, 2008).

Un doublet d'allèles mutés, identiques ou non, est corrélé à un phénotype récessif plus phaeomélanique (Flanagan *et al.*, 2000) et est assorti de plus de rousseurs (Bastiaens *et al.*, 2001 b).

Le phénotype phaeomélanique est dans quelques rares cas associé à un génotype sauvage au *MC1R* (Valverde *et al.*, 1995, Flanagan *et al.*, 2000), probablement dû à un mutant au locus *agouti*, au sujet duquel les connaissances restent limitées chez l'homme (Rees, 2003).

b. Les différentes mutations décrites

Les sites polymorphes sont multiples (Figure 26) mais **l'interprétation de leurs conséquences moléculaires est difficile**. Les allèles mutés ont en effet souvent au moins deux sites polymorphes (Valverde *et al.*, 1995) d'où les difficultés de différencier les conséquences moléculaires propres à chacun, excepté par des études *in vitro*.

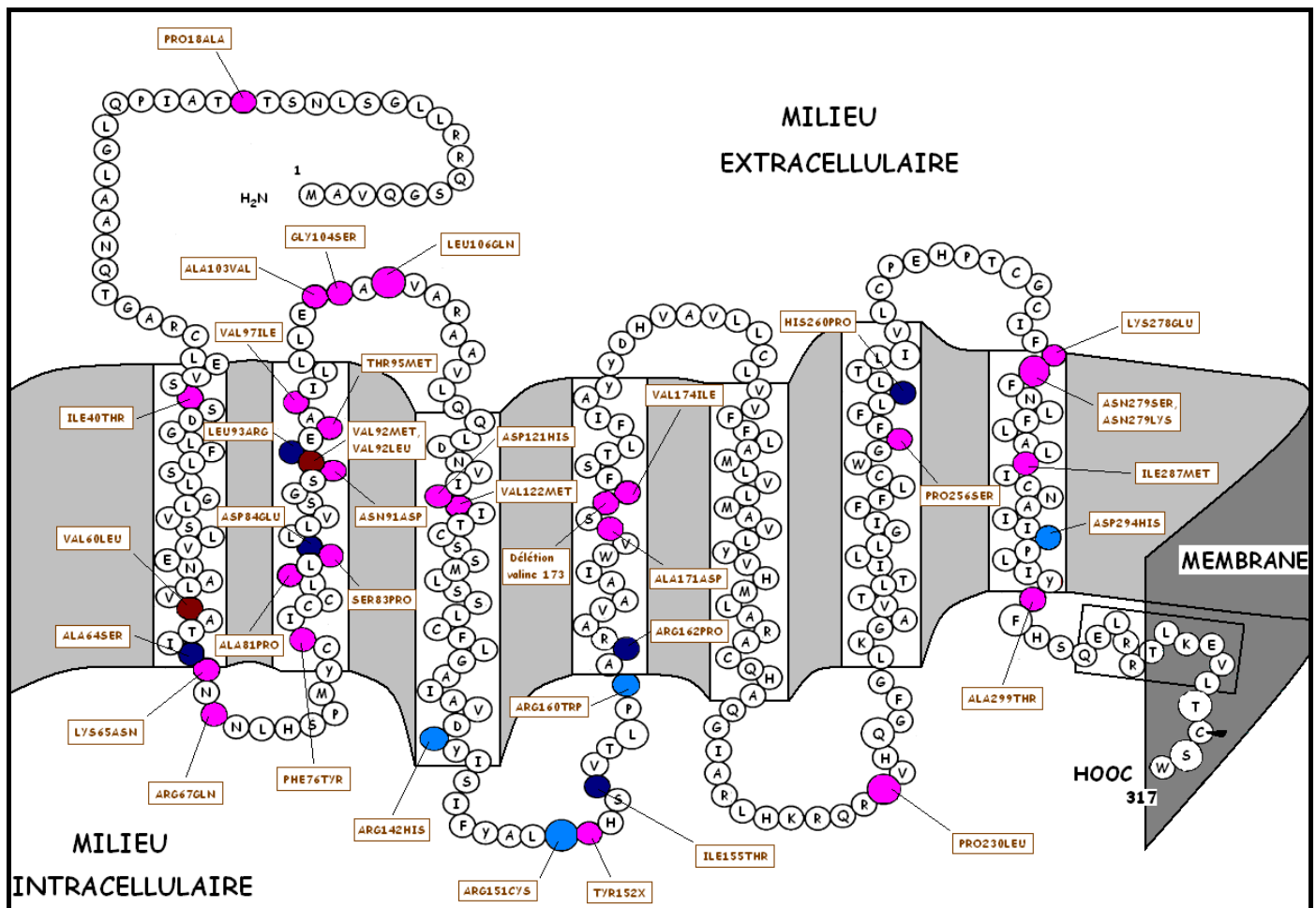


Figure 26 : Polymorphismes identifiés dans le MC1-R humain (d'après Ringholm *et al.*, 2004)

En bleu clair sont indiquées les substitutions étroitement associées à un phénotype RHC et affectant l'activité adénylatecyclase. En bleu foncé sont indiquées les autres substitutions étroitement associées à un phénotype RHC. En rouge sont indiquées les substitutions non corrélées à un phénotype RHC mais affectant l'activité adénylatecyclase. En rose sont indiqués tous les autres mutants identifiés.

p.Ile40Thr se situe dans le 1^{er} domaine transmembranaire (TM1), côté extracellulaire (Jimenez-Cervantes *et al.*, 2001). Cet acide aminé est conservé dans plusieurs MCR de Mammifères séquencés à ce jour. *In vitro*, cette substitution est responsable d'une **baisse de couplage à la protéine G**, possiblement par une déstabilisation du récepteur et une incapacité à adopter la bonne conformation pour ce couplage, mais aussi d'une **affinité pour l' α -MSH diminuée**. La contribution de TM1 dans la fixation de l'agoniste est aujourd'hui connue, avec les résidus 48, 52 et 55, trois acides aminés situés du même côté de l'hélice α que l'isoleucine 40 (Prusis *et al.*, 1995 et 1997).

Plusieurs substitutions sont connues dans la 1^{ère} boucle intracellulaire :

- p.Val60Leu (Box *et al.*, 1997, Flanagan *et al.*, 2000) : cette mutation n'est corrélée à **aucun phénotype RHC *in vivo*** mais elle code pour un récepteur partiellement inefficace *in vitro*, via une baisse d'activité adénylatecyclase (Schiöth *et al.*, 1999, Jimenez-Cervantes *et al.*, 2001).
- p.Ala64Ser (Valverde *et al.*, 1995) limiterait l'activité adénylatecyclase.
- p.Lys65Asn (Box *et al.*, 1997)
- p.Arg67Gln (Rana *et al.*, 1999)

Dans la région du 2^{ème} **domaine transmembranaire** sont décrites les substitutions :

- p.Asp84Glu (Valverde *et al.*, 1995, Koppula *et al.*, 1997, Flanagan *et al.*, 2000)
- p.Val92Met (Valverde *et al.*, 1995, Box *et al.*, 1997, Koppula *et al.*, 1997, Rana *et al.*, 1999, Flanagan *et al.*, 2000)
- p.Leu93Arg (Mas *et al.*, 2002)

La substitution p.Asp84Glu affectant un résidu très conservé est mineure mais suffisante pour déstabiliser l'hélice α et est corrélée à un phénotype phaeomélanique comme la substitution p.Ser83Phe chez le cheval (Marklund *et al.*, 1996).

p.Val92Met concerne un acide aminé conservé mais le remplacement d'une valine par une méthionine n'est pas intrinsèquement important. Cette substitution n'est **pas corrélée à un phénotype phaeomélanique** (Rana *et al.*, 1999). Pour autant le mutant p.Val92Met a démontré dans certaines études *in vitro* une **plus faible aptitude à fixer l'hormone** (Xu *et al.*, 1996). Cette tendance est ultérieurement confirmée pour p.Val92Met et pour p.Asp84Glu (respectivement de 100 et 10 fois) pour qui l'**activité adénylatecyclase est aussi diminuée** (Ringholm *et al.*, 2004) alors qu'elle est in affectée pour p.Val92Met (Koppula *et al.*, 1997).

p.Leu93Arg intervient dans une région critique pour les interactions du MC1-R avec l' α -MSH (Yang *et al.*, 1997). L'introduction d'une arginine chargée positivement dans le site de fixation annihilerait les liaisons ioniques entre l' α -MSH et les résidus acides 94, 117 et 121 et **diminuerait donc l'affinité pour l'hormone**.

Deux substitutions sont décrites dans le 3^{ème} **domaine transmembranaire** (Jimenez-Cervantes *et al.*, 2001) :

- p.Asp121His concerne un acide aminé dont l'importance pour la fixation de l'hormone a été montrée par mutagenèse dirigée (Yang *et al.*, 1997). Toutefois seule la substitution par un résidu chargé positivement est effective et code pour un récepteur constitutivement activé (Lu *et al.*, 1998).
- p.Val122Met concerne un acide aminé conservé dans plusieurs MC1-R de Mammifères séquencés à ce jour. *In vitro* l'affinité du récepteur pour l'hormone est fortement inhibée (le résidu 121 adjacent est fondamental pour la fixation hormonale) et son couplage à la protéine G est partiellement diminué.

Ces deux mutations sont volontairement non répertoriées sur les schémas récapitulatifs car les auteurs ne mentionnent pas le phénotype associé. Compte tenu de la position et de la moindre affinité de ces mutants pour l'hormone, il pourrait s'agir de mutations codant pour des récepteurs constitutivement activés.

Plusieurs substitutions sont connues dans la région de la 2^{ème} **boucle intracellulaire** :

- p.Arg142His (Flanagan *et al.*, 2000)
- p.Arg151Cys (Box *et al.*, 1997, Rana *et al.*, 1999, Flanagan *et al.*, 2000)
- p.Ile155Thr (Flanagan *et al.*, 2000)
- p.Arg160Trp (Box *et al.*, 1997, Flanagan *et al.*, 2000)
- p.Arg162Pro (Mas *et al.*, 2002)
- p.Arg163Gln (Jimenez-Cervantes *et al.*, 2001) : fréquente dans les populations asiatiques, **elle n'est corrélée à aucun phénotype RHC**.

In vitro le mutant p.Arg142His a une **affinité pour l'hormone diminuée** et une **activité adénylatecyclase fortement amoindrie** tout comme le mutant p.Arg151Cys (Schiöth *et al.*, 1999). Les acides aminés 142 à 145 et 151 à 154 sont en effet fondamentaux dans l'activation des protéines kinases AMPc dépendantes (Chhajlani & Wikberg, 1992) qui interviennent dans le couplage de la protéine G. p.Ile155Thr aurait les mêmes conséquences moléculaires.

In vitro le mutant p.Arg160Trp a également une **aptitude à stimuler l'adénylatecyclase diminuée** (Schiöth *et al.*, 1999) : p.Arg160Trp inhiberait l'interaction électrostatique de la 2^{ème} boucle avec la protéine G chargée négativement, tout comme p.Arg162Pro, même si aucune étude *in vitro* n'est disponible pour ce mutant (Mas *et al.*, 2002). **Excepté p.Arg142His toutes ces mutations font disparaître une charge positive nécessaire à capter une charge négative de la protéine G.**

p.Arg163Gln est rapportée dans le 4^{ème} **domaine transmembranaire** (Box *et al.*, 1997, Rana *et al.*, 1999), son l'affinité pour l'hormone est un peu amoindrie mais sans conséquence sur l'activation de l'adénylatecyclase (Ringholm *et al.*, 2004). Même si cette substitution est corrélée à une chevelure rousse, elle n'aurait qu'une **faible incidence dans ce phénotype**.

Dans le 6^{ème} **domaine**, p.His260Pro est étroitement associée au phénotype RHC et est responsable d'une **baisse d'affinité hormonale** (Yang *et al.*, 1997).

p.Asp294His (Valverde *et al.*, 1995, Box *et al.*, 1997, Flanagan *et al.*, 2000) concerne un acide aminé très conservé dans le 7^{ème} **domaine transmembranaire** et modifie l'environnement électrostatique. *In vitro*, l'affinité pour l' α -MSH est légèrement diminuée et l'**aptitude à stimuler l'adénylatecyclase est fortement réduite** (Schiöth *et al.*, 1999).

17. Les autres Primates (Haitina *et al.*, 2007)

La robe orange de l'Orang-outan *Pongo pygmaeus* est génétiquement différente du phénotype RHC humain et pourrait être l'expression d'une mutation A^Y au locus *agouti*. **Aucune mutation de type e n'est aujourd'hui décrite chez les primates.**

Outre la délétion des codons 95 à 102 décrite chez le tamarin à tête de lion *Leontopithecus chrysomelas* (Mundy & Kelly, 2003 b), d'autres polymorphismes responsables de MC1-R activés sont décrits chez les Primates, notamment chez le singe hurleur à manteau *Alouatta palliata* et chez le callimico *Callimico goeldii*. Le pelage noir du singe hurleur est corrélé à la substitution p.Asp117Gln affectant un résidu dont l'implication dans les récepteurs activés est connue (Lu *et al.*, 1998). La robe noire du callimico serait également due à un MC1-R constitutivement activé, il pourrait être codé par une substitution de l'acide aminé 87¹⁵.

Les lémurs bambou doré *Hapalemur aureus* et à crinière *Varecia variegata* présentent des robes mélangeant poils fauves et poils noirs. Le MC1-R dans les deux espèces contient plusieurs sites polymorphes : p.Asp117Gly et p.Cys315Phe affectant le site d'acylation nécessaire à l'activation du récepteur. Chez le lémur à crinière, on note également les substitutions p.Asp121Asn et p.Glu94Lys. p.Asp121Asn est décrite sur le même résidu chez le mouton, mais les avis de Lu *et al.* (1998) et Våge *et al.* (1999) s'opposent par rapport à son aptitude réelle à

¹⁵ Haitina *et al.* (2007) rapportent deux substitutions dans le MC1-R du callimico, p.Leu87Val et p.Ala107Val. La séquence du MC1-R humain (Q01726) porte une valine au résidu 107 sans conséquence phénotypique. Il semble donc que le MC1-R activé du callimico soit codé par la substitution du résidu 87, d'autant plus qu'une substitution sur ce même acide aminé est décrite chez l'oie polaire et responsable d'un plumage bleu dominant (Mundy *et al.*, 2004).

activer le MC1-R. Quoiqu'il en soit, la mutagenèse des résidus 94 et 117 (voire 121) engendre des MC1-R activés et **les effets de ces mutations sont additifs** dans un même récepteur (Lu *et al.*, 1998). Ce n'est toutefois pas le cas chez ces lémurs à dominante fauve et cette différence serait due à la **perte du site d'acylation (Cys315)** et/ou à la **protéine agouti qui empêcherait l'activation du récepteur**. Ce phénomène a déjà été décrit pour le MC1-R Arg125 activé du renard que la protéine agouti est capable de faire passer en configuration inactive en conservant son action inhibitrice sur l'eumélanogénèse (Ollmann *et al.*, 1998).

Les principales mutations de type *e* et *E^D* sont listées dans les tableaux 10 et 11. Les figures 27 et 28 récapitulent la position des différentes mutations décrites précédemment.

ESPECES	MUTATION	REGION	CONSEQUENCES MOLECULAIRES
Poule (1)	p.Cys33Trp	N-terminale	Baisse d'affinité pour l'hormone
Porc (1)	nt67insCC/codon stop 56	N-terminale	Perte de 6 domaines
Homme (1)	p.Ala64Ser	TM1/IL1	Baisse d'activité adénylatecyclase
Cheval	p.Ser83Phe	TM2	Baisse d'affinité pour l'hormone
Homme (2)	p.Asp84Glu	TM2	Baisse d'affinité pour l'hormone
Homme (3)	p.Leu93Arg	TM2	Baisse d'affinité pour l'hormone
Vache (1)	Délétion G310/codon stop 156	EL1	Perte de 4 domaines
Lapin	Délétion nt 304-333 Délétion codon 102-111	EL1	Baisse d'affinité pour l'hormone
Homme (4)	p.Arg142His	TM3/IL2	Baisse d'affinité et d'activité adénylatecyclase
Homme (5)	p.Arg151Cys	IL2	Baisse d'activité adénylatecyclase
Homme (6)	p.Ile155Thr	IL2	Baisse d'activité adénylatecyclase
Homme (7)	p.Arg160Trp	IL2	Baisse d'activité adénylatecyclase
Porc (2)	p.Ala161Val	IL2/TM4	Baisse d'activité adénylatecyclase
Homme (8)	p.Arg162Pro	IL2/TM4	Baisse d'activité adénylatecyclase
Souris	Délétion C549/codon stop 195	EL2	Perte de 3 domaines
Vache (2)	nt669, ins 12nt codon223, ins Gly-Ile-Ala-Arg	IL3	Baisse d'activité adénylatecyclase
Chèvre	p.Lys226Glu	IL3	Baisse d'activité adénylatecyclase
Porc (3)	p.Ala240Thr	TM6	Baisse d'affinité pour l'hormone
Poule (2)	p.Leu244Pro	TM6	Baisse d'affinité pour l'hormone
Homme (9)	p.His260Pro	TM6	Baisse d'affinité pour l'hormone
Homme (10)	p.Asp294His	TM7	Baisse d'affinité et d'activité adénylatecyclase
Ours	p.Tyr298Cys	TM7	Baisse d'activité adénylatecyclase
Chien	p.Arg306Ter	C-terminale	Baisse d'activité adénylatecyclase

Tableau 10 : Principales mutations de type *e* répertoriées chez les espèces animales et l'homme
 TM2, TM3, TM4, TM6 et TM7 correspondent aux 2^{ème}, 3^{ème}, 4^{ème}, 6^{ème} et 7^{ème} domaines transmembranaires. EL1 et EL2 correspondent aux 1^{ère} et 2^{ème} boucles extracellulaires. IL1, IL2 et IL3 correspondent aux 1^{ère}, 2^{ème} et 3^{ème} boucles intracellulaires. Les numéros attribués à certaines espèces correspondent aux numéros utilisés dans la figure 27.

Ce tableau permet de montrer que les mutations de type *e* siègent dans presque toutes les régions du MC1-R, avec une plus forte concentration dans les TM2, TM6 et TM7 constitutifs du site de fixation de l'hormone et dans les 2^{ème} et 3^{ème} boucles intracellulaires, qui constituent une interface importante pour le bon couplage avec la protéine G.

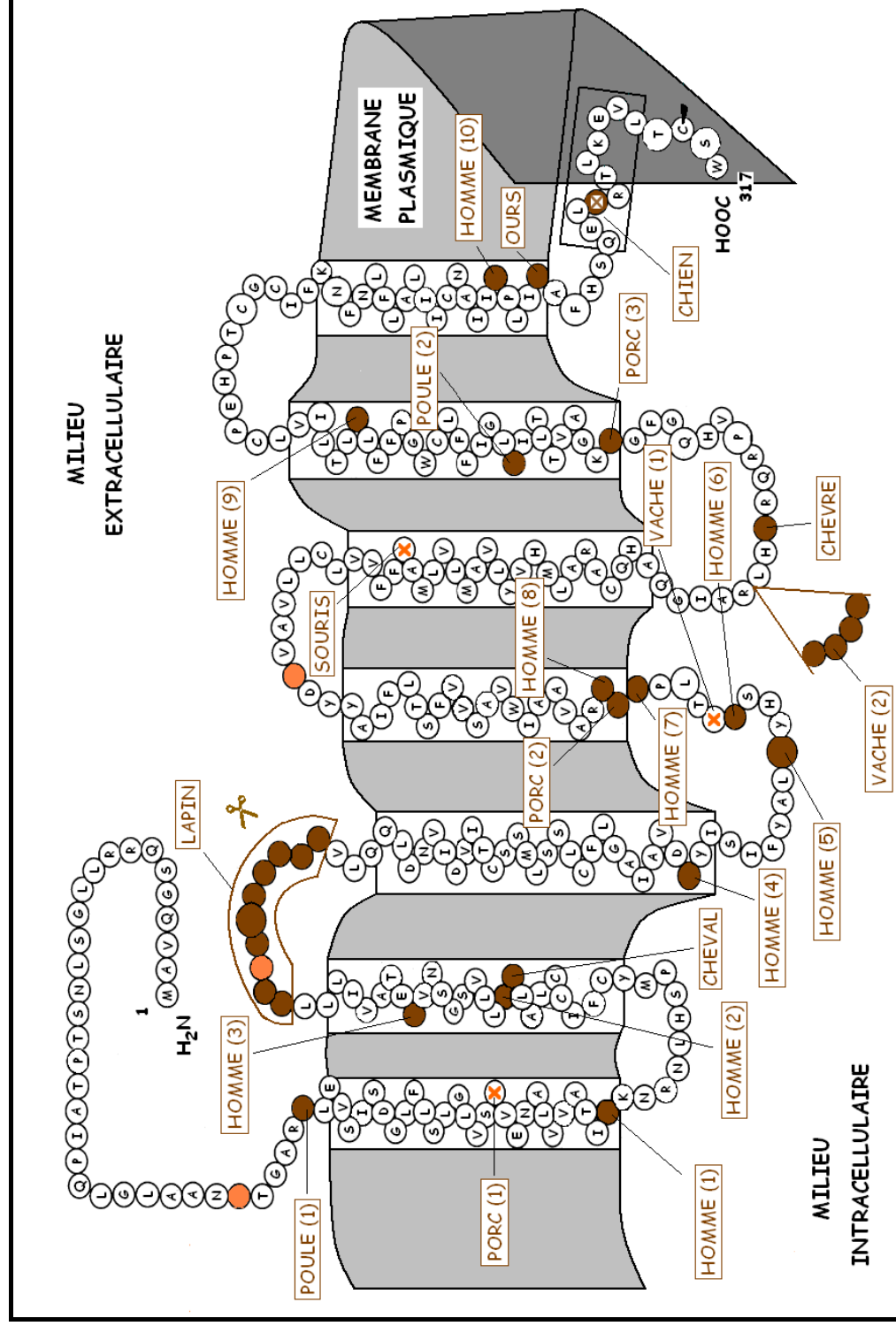


Figure 27 : Principales mutations de type e répertoriées chez les espèces animales et l'homme

Les acides aminés sont représentés par leur code à 1 lettre de la nomenclature internationale, la séquence proposée est celle du MC1-R humain (Q01726). Les résidus indiqués en orange correspondent à l'emplacement des mutations frameshift : le rond orange correspond au début de la modification de séquence et la croix orange correspond au codon stop prématuré. Les résidus indiqués en brun correspondent à l'emplacement des mutations sans décalage du cadre de lecture (18 substitutions faux-sens, 1 insertion (vache 2) et 1 délétion (lapin, ><)) : celui correspondant à la mutation du chien comprend une croix centrale pour rappeler qu'il s'agit d'une substitution non-sens. Les chiffres accompagnant les espèces sont ceux indiqués dans le tableau 10, les caractéristiques exactes des mutations indiquées dans cette figure sont disponibles dans le tableau 10.

ESPECES	MUTATION	REGION	CONSEQUENCES MOLECULAIRES
Mérion	p.Ala16Thr	N-terminale	Modèle non étudié
Souris (1)	p.Ser69Leu	IL1	Récepteur hyperactif
Mouton (1)	p.Met73Lys	IL1	Récepteur hyperactif
Oie Callimico	p.Val85Met p.Leu87Val ¹⁶	TM2	Modèle non étudié
Souris (2), lémur (1), oiseaux (poule, caille, sucrier)	p.Glu92Lys (p.Glu94Lys)	TM2	Récepteur constitutivement activé
Lapin	Délétion nt 280-285 Délétion codon 94-95	TM2	Modèle non étudié
Porc (1)	p.Leu99Pro	TM2	Modèle non étudié
Vache	p.Leu99Pro	TM2	Modèle non étudié
Souris (3)	p.Leu98Pro	TM2	Récepteur constitutivement activé
Jaguarundi, tamarin	Délétion nt 283-307 Délétion codon 95-102	TM2/EL1	Modèle non étudié
Jaguar	Délétion nt 301-315 Délétion codon 101-105 p.Leu109Thr	EL1	Modèle non étudié
Singe hurleur Lémurs (2)	p.Asp117Gln p.Asp117Gly	TM3	Récepteur constitutivement activé
Porc (2)	p.Asp121Asn	TM3	Modèle non étudié
Mouton (2), lémur (3)	p.Asp121Asn	TM3	Récepteur partiellement activé ?
Renard	p.Cys125Arg	TM3	Récepteur constitutivement activé
Stercoraire	p.Arg230Cys p.Arg230His	IL3	Modèle non étudié
Chien	p.Met264Val	IL3/TM6	Modèle non étudié

Tableau 11 : Principales mutations de type E^D répertoriées chez les espèces animales

TM2, TM3 et TM6 correspondent aux 2^{ème}, 3^{ème} et 6^{ème} domaines transmembranaires. EL1 correspond à la 1^{ère} boucle extracellulaire. IL1 et IL3 correspondent aux 1^{ère} et 3^{ème} boucles intracellulaires.

Ce tableau souligne le fait que les mutations de type E^D siègent presque uniquement entre les 2^{ème} et 3^{ème} domaines transmembranaires (résidus 92 à 123, séquence du MC1-R murin, Q01727). Cette répartition suffit à elle-même pour prouver la très grande importance de cette région dans le bon fonctionnement du MC1-R et vient appuyer les conclusions expérimentales de Lu *et al.* (1998).

¹⁶ Les substitutions p.Val85Met (oie des neiges) et p.Leu87Val (callimico) concernent le même résidu (le MC1-R de l'oie polaire est constitué de 315 AA et celui du callimico en compte 317 AA).

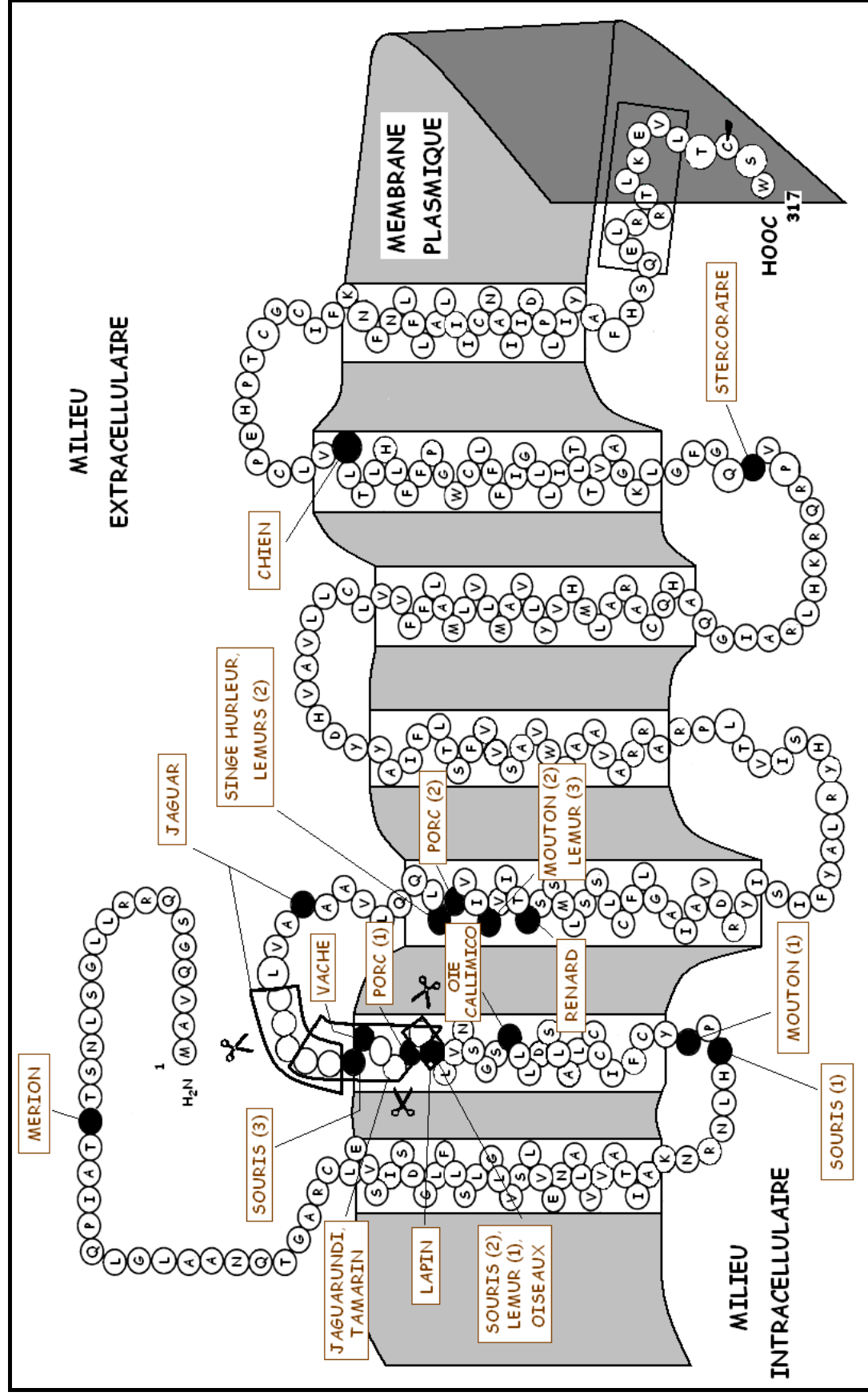


Figure 28 : Principales mutations de type E^b répertoriées chez les espèces animales

Les acides aminés sont représentés par leur code à 1 lettre de la nomenclature internationale, la séquence proposée est celle du MC1-R humain (Q01726). Les résidus indiqués en noir correspondent à l'emplacement des mutations E^D séquencées dans les différentes espèces animales (15 substitutions et 3 délétions (%)). Les chiffres accompagnant les espèces sont ceux indiqués dans le tableau 11, les caractéristiques exactes des mutations indiquées dans cette figure sont disponibles dans le tableau 11.

PARTIE EXPÉRIMENTALE

ÉTUDE DE LA COULEUR AMBRE
ET DE SON SUPPORT GÉNÉTIQUE

Après avoir étudié les **origines généalogiques** et le **déterminisme génétique** de la couleur ambre chez le Chat des Forêts Norvégiennes, je me suis attaché à étudier de visu les **différentes caractéristiques du phénotype**. En effet, ayant acquis une chatte ambre et grâce à sa première portée née en novembre 2008, mais aussi par mes déplacements essentiellement en Allemagne, j'ai pu suivre l'évolution de la couleur au cours de la vie.

Animal pionnier dans l'étude de la pigmentation, la souris ne compte pas moins de 127 loci, comportant plus de 800 mutations affectant la mélanogenèse (Bossé, 2005). Environ 25% de ces mutations ont trouvé des homologues chez l'homme (Alhaidari, 2001) et certaines d'entre elles existent aussi chez d'autres espèces de Mammifères.

La pigmentation normale résulte d'une succession d'étapes génétiquement contrôlées qui peuvent être bloquées lors de mutations et induire une anomalie pigmentaire.

Rares, mais bien réelles, les mutations existent et j'ai rapidement privilégié cette hypothèse après les premières observations généalogiques et phénotypiques. Cette hypothèse est également privilégiée en Allemagne depuis le résultat des mariages-tests (Klinka, 2003). Je me suis donc logiquement intéressé à la **souris** chez qui les connaissances sur la pigmentation sont les plus complètes. Différentes caractéristiques du déterminisme génétique et du phénotype m'ont **orienté vers l'hypothèse du gène *extension*** et ont motivé la réalisation d'une **recherche moléculaire** pour éprouver cette hypothèse.

I. Etude de la couleur ambre

A. Etude généalogique de la couleur ambre

Afin de faciliter la compréhension, ce chapitre débute par quelques données bibliographiques sur l'histoire de la couleur ambre, anciennement appelée X-Color, puis il se poursuit par l'étude généalogique.

1. Des couleurs classées X à l'ambre

a. Les deux premiers Norvégiens ambre (Erikers et al., 1998)

Le cinq février **1992** est désormais gravé dans l'histoire du Norvégien car cette date a signé la naissance de la première portée controversée, chez Sylvia Erikers de la chatterie suédoise Wildwood's. Cette portée née de *S*Wildwood's Humla*, femelle **blue spotted tabby** (NFO a 24) et *S*Amazonas Camilo*, mâle **black blotched tabby** (NFO n 22) se constituait de cinq chatons (Figure 29) : un blue solid (NFO a), un black solid (NFO n), un blue blotched tabby (NFO a 22) et deux mâles ***S*Wildwood's Iros*** et ***S*Wildwood's Imer*** enregistrés initialement en **black blotched tabby** et **blue mackerel tabby**.



Figure 29 : Premier mariage à avoir donné naissance à des chatons ambre

Les deux parents sont blue et black tabby. Les chatons obtenus sont blue et black solid, blue tabby, amber tabby (Iros) et amber light tabby (Imer). Imer et Iros sont entourés en noir.

Imer et Iros ressemblaient à des torbie avec une répartition des couleurs très particulières. Leurs tigrures étaient respectivement de couleur noire pour Iros et bleue pour Imer tandis que les régions correspondant au poil tabby étaient abricot pour Iros et beige clair pour Imer.

De nombreux éleveurs arguèrent à l'époque que la chatte, habitant chez une amie de l'éleveuse avait été mal surveillée et qu'une **deuxième saillie** avait eu lieu. Il ne servait donc à rien d'épiloguer plus longtemps sur le sujet, ce genre de problème ne se réitérerait probablement plus. Les couleurs obtenues étaient certes impossibles entre le mariage d'une blue tabby et d'un black tabby. Mais le mystère restait entier ... En effet même si une deuxième saillie était à l'origine d'Imer et d'Iros, quel pouvait être le géniteur capable d'engendrer de telles couleurs ?

L'évolution de la couleur ne permit plus aucun doute, en exposition les juges décidèrent qu'Iros à quatre mois était golden tabby. L'histoire n'en resta pas là : alors âgés d'un an, Imer et Iros furent respectivement réenregistrés en lilas spotted tabby et chocolat blotched tabby, couleurs interdites dans le standard du Norvégien.

b. Les autres naissances suspectes (Erikers et al., 1998)

L'explosion des naissances dans les années suivantes a montré que ces deux mâles n'étaient pas des « phénomènes » isolés (Tableau 12, annexe 3). La Suède, foyer de la couleur, recensa 33 chatons sur 22 portées en sept ans. Ils furent initialement enregistrés en chocolat ou en lilas.

La naissance de chatons X-Color atteignit l'Allemagne avec **D*Bedellin av Takeskog**, première femelle, née le 4 juillet 1994. En Allemagne, deux nouveaux Norvégiens X-Color virent le jour en 1997 (D*Mister X av Takeskog) et en 1998 (D*Sir Henry av Ljusdal).

ANNEES		92	93	94	95	96	97	98
Nombre de chatons X-Color	Suède	2	6	3	2	5	5	10
	Allemagne	0	0	1	0	0	1	1
Nombre de portées concernées	Suède	1	4	1	2	4	4	6
	Allemagne	0	0	1	0	0	1	1

Tableau 12 : Evolution du phénomène X-Color en Europe dans les années 90

En 1997, la Norvège annonça la naissance d'un chat Norvégien chocolat mackerel tabby et blanc, *N*Stjernen's Nikolai*. Nous ne sommes pas en mesure aujourd'hui de dire si ce chat est réellement chocolat ou s'il s'agit seulement d'un black tabby « délavé ». Quoiqu'il en soit, sa robe et sa lignée n'ont rien à voir avec l'ambre. Une carence en tyrosine ou phénylalanine a été proposée pour expliquer l'existence de la couleur chocolat dans cette lignée (Madsen-3/web).

c. La première demande de reconnaissance (Erikers et al., 1998)

Certains éleveurs ont alors émis l'hypothèse que ces **Norvégiens X-Color étaient cinnamon**. C'est sur cette base qu'une exposition fut organisée par la FIFe le 8 février 1998, elle réunissait des Skogkatt de couleur classique et des X-Color, mais également d'autres chats chocolat et lilas ainsi que des Abyssins et des Somalis cinnamon et fawn. La comparaison des couleurs réfuta l'hypothèse de l'allèle *chocolat* mais était en faveur du cinnamon.

La même année, des **analyses microscopiques de poils X-Color** furent réalisées. Ces poils furent confrontés sous le microscope à ceux de British Shorthair chocolat et lilas, d'Abyssins cinnamon et fawn et de Norvégiens black tabby. Les résultats confirmèrent les conclusions établies lors de l'exposition.

Si les chatons nés après cette date ont été enregistrés cinnamon ou fawn, le statut des premiers X-Color n'a pas été systématiquement réévalué. En effet, cinnamon et fawn étaient aussi interdits dans le standard et fermaient la porte aux expositions. Par ailleurs à quoi bon rechanger les qualifications de ces chats alors qu'on n'en avait aucune certitude ? Tout ceci conduisit à une **dénomination « publicitaire »** : le Norvégien X-Color.

Le 16 **mai 1998** à **Borlänge** en Suède, les éleveurs tentèrent d'obtenir la reconnaissance de la couleur lors d'une exposition SVERAK (FIFe) : 18 X-Color étaient présents, dont le bien connu Wildwood's Imer (Binder, 1998). La conclusion fut unanime, type et qualité de fourrure étaient aussi bons que chez les Norvégiens de couleur classique. **La demande fut toutefois couronnée d'échec** à une voix près, car le nombre de chats présentés était insuffisant et parce qu'une juge invitée était absente.

En conséquence **certain X-Color suédois furent enregistrés en golden tabby** (Madsen-4/web) : couleur autorisée par le standard, le golden tabby ouvrait la porte aux expositions et au pedigree FIFe. Compte tenu des incertitudes, l'ambre pouvait entrer dans la catégorie golden (différent du shaded) et cette décision n'était pas totalement injustifiée. Ceci n'a cependant pas été sans conséquence sur l'étude généalogique. Comment, en effet, distinguer un ambre d'un golden sur le papier à posteriori ?

d. La reconnaissance de la couleur par la FIFe (Utescheny & Langewische, 2004)

Ce n'est que cinq années plus tard, le 21 mai 2003, que le comité FIFe s'est à nouveau réuni. Suite à ce scrutin, seuls trois votants étaient en faveur de la reconnaissance de la couleur, les vingt-six autres n'y étaient pas opposés mais exigeaient que d'autres recherches soient effectuées au préalable (Swepston-2/web). Un mariage test entre une X-Color et un Somali fawn ticked avait alors déjà démontré que **le X-Color n'était pas une mutation de la série B et qu'il était génétiquement noir**. Mais les lobbys ont fait pression, supposant que le mariage avait été faussé et que le père n'était pas celui qu'on prétendait, bien que les deux chatons obtenus fussent ticked.

Après avoir démontré que l'allèle *ambre* était différent des allèles de couleur déjà connus chez le chat, les éleveurs allemands rédigèrent un texte proposant de **reconnaître le « noir modificateur » et ses dérivés, parmi toutes les couleurs déjà reconnues chez le Chat des Forêts Norvégiennes, excepté le roux et le blanc épistatiques**. Cette demande a fait suite au nombre croissant d'éleveurs travaillant avec ces couleurs et à l'échec de la première tentative à Borlänge en 1998 (Swepston-3/web).

A Wiesbaden, en Allemagne, les 17 et 18 janvier 2004 se tenait l'exposition pour la reconnaissance du « noir modificateur » organisée par la DEKZV eV (Deutscher Edelkatzenzüchter Verband eV, club FIFe allemand). Vingt-huit Norvégiens ambre étaient présents et provenaient d'élevages allemands et suisse : vom Arlesbrunnen (*D**), Icecat's (*D**), Magic Starlight's (*D**), Baltimoor (*D**), vom Grüntal (*CH**), av Trulla (*D**), fra Drømmeskogen (*D**), of Born Castle (*D**) et aus Brötzingen (*D**). Il s'agissait de vingt-sept chats tabby et du premier ambre solid officiel, *D**Aragon aus Brötzingen. Trois de ces chats étaient silver, Aragon était smoke et une femelle était torbie.

La FIFe a accepté cette nouvelle couleur dans le standard du chat Norvégien lors de son Assemblée Générale au Portugal le 28 mai 2004, l'a renommée **ambre** et lui a attribué la **lettre t pour le code de couleur EMS**. Depuis le 1^{er} janvier 2005, ces Norvégiens ambre peuvent gagner les différents titres en concourant au côté des chats de couleur classique dans les groupes déjà existants (FFH, 2004).

Groupe 1 : ambre et ambre clair (dilué)

Groupe 2 : idem groupe 1 avec blanc

Groupe 3 : ambre tabby, clair ou non

Groupe 4 : idem groupe 3 avec blanc

Groupe 5 : ambre écaille clair ou non, self ou tabby

Groupe 6 : idem groupe 5 avec blanc

Groupe 7 : ambre silver tabby, ambre smoke (clair ou non, écaille ou non)

Groupe 8 : idem groupe 7 avec blanc

La Fédération Internationale Féline est la seule fédération féline à avoir reconnu la couleur **ambre** dans le standard du Chat des Forêts Norvégiennes (avec quelques clubs indépendants). En France, les éleveurs ne peuvent actuellement pas recevoir de pedigree pour des chatons ambre nés sur le territoire national, car le LOOF n'a toujours pas reconnu cette couleur dans le standard du Norvégien.

2. L'origine du phénomène X-Color

a. Contexte historique

L'étude généalogique remonte systématiquement à deux ancêtres, **N**Kløfterhagens Babuschka*** (née le 27 février 1981) et **N**Niro's Dunder*** (né le 29 juin 1983), tous deux black mackerel tabby. Trois filles nées de ce mariage en Norvège ont très probablement hérité de l'allèle *ambre* (Figure 30), deux d'entre elles ont été exportées en Suède (**N**DeaDia*** av *Æsene*, femelle noire et **N**Frøy Sparetta*** av *Æsene*, femelle blue mackerel tabby et blanc) et une au Danemark (**N**Isis*** av *Æsene*, femelle blue mackerel tabby). Ces trois femelles n'ont jamais été mariées à des mâles consanguins et n'ont donc **jamais engendré de chatons ambre**. Les deux premiers chatons officiellement ambre (*Iros* et *Imer*) sont des produits consanguins de *DeaDia* (chats N° 1 et 2, figure 30) et sont nés 8 années après la naissance de *DeaDia*, période qui correspond au temps nécessaire pour réaliser les premiers mariages consanguins en Suède. *DeaDia* et *Frøy Sparetta* avaient respectivement été importées par Sylvia Erikers (éleveuse de la chatterie *S**Wildwood's**) et Greta Groneberg (éleveuse de la chatterie *S**Tassajara's**), deux sœurs qui ont volontairement marié les descendants de ces deux chattes après la naissance des deux premiers Norvégiens X-Color, pour identifier quels chats portaient l'allèle dans cette lignée. Ceci explique l'**explosion des naissances X-Color** après 1992 (Figure 30).

La naissance des premiers chatons X-Color en Allemagne a été le fruit du hasard puisque les trois premiers sont des descendants consanguins d'*Isis* (chats N°12, 22 et 29, figure 30). A partir de 1997, les éleveurs allemands ont importé les premiers X-Color suédois pour élargir leur lignée (Binder, 1998).

Le phénomène a rapidement ameuté la scène européenne du Norvégien : *Babuschka* descend en effet de **Pans Truls**, père « fondateur » de la race, ce qui aurait pu impliquer que l'anomalie était son héritage direct d'autant plus que *Truls* était d'une couleur très chatoyante.

b. Etude généalogique des pedigrees des premiers Norvégiens X-Color

Le pedigree de *Wildwood's Imer* et d'*Iros* montre la présence du mariage de *Babuschka* avec *Dunder* des côtés maternel et paternel, via ***DeaDia*** av *Æsene* (Figure 31). Tout comme *Iros*, les trois sœurs de la portée n'ont jamais reproduit, mais certaines d'entre elles étaient possiblement hétérozygotes.

La plupart des chatons ambre nés entre 1992 et 1998 avait *Imer* pour père. Le pedigree de la mère présentait alors systématiquement le mariage *Babuschka* x *Dunder*. Pour les quelques chatons non affiliés à *Imer*, on retrouve *Babuschka* et *Dunder* des côtés maternel et paternel, via *DeaDia*, *Frøy Sparetta* et/ou *Isis* av *Æsene*. **Aucun autre ancêtre n'est présent dans les pedigrees de Norvégiens X-Color de façon répétitive.**

La plupart des chatons ambre nés après 2000 est issue d'un, voire de deux parents ambre. Le nombre de Norvégiens ambre a littéralement explosé ces dernières années rendant l'étude laborieuse et sans réel intérêt. **Tous les Norvégiens officiellement ambre connus à ce jour s'inscrivent dans cette même lignée avec ce mariage-clé (*Babuschka* x *Dunder*) des côtés maternel et paternel** (*Utescheny*, communication personnelle).

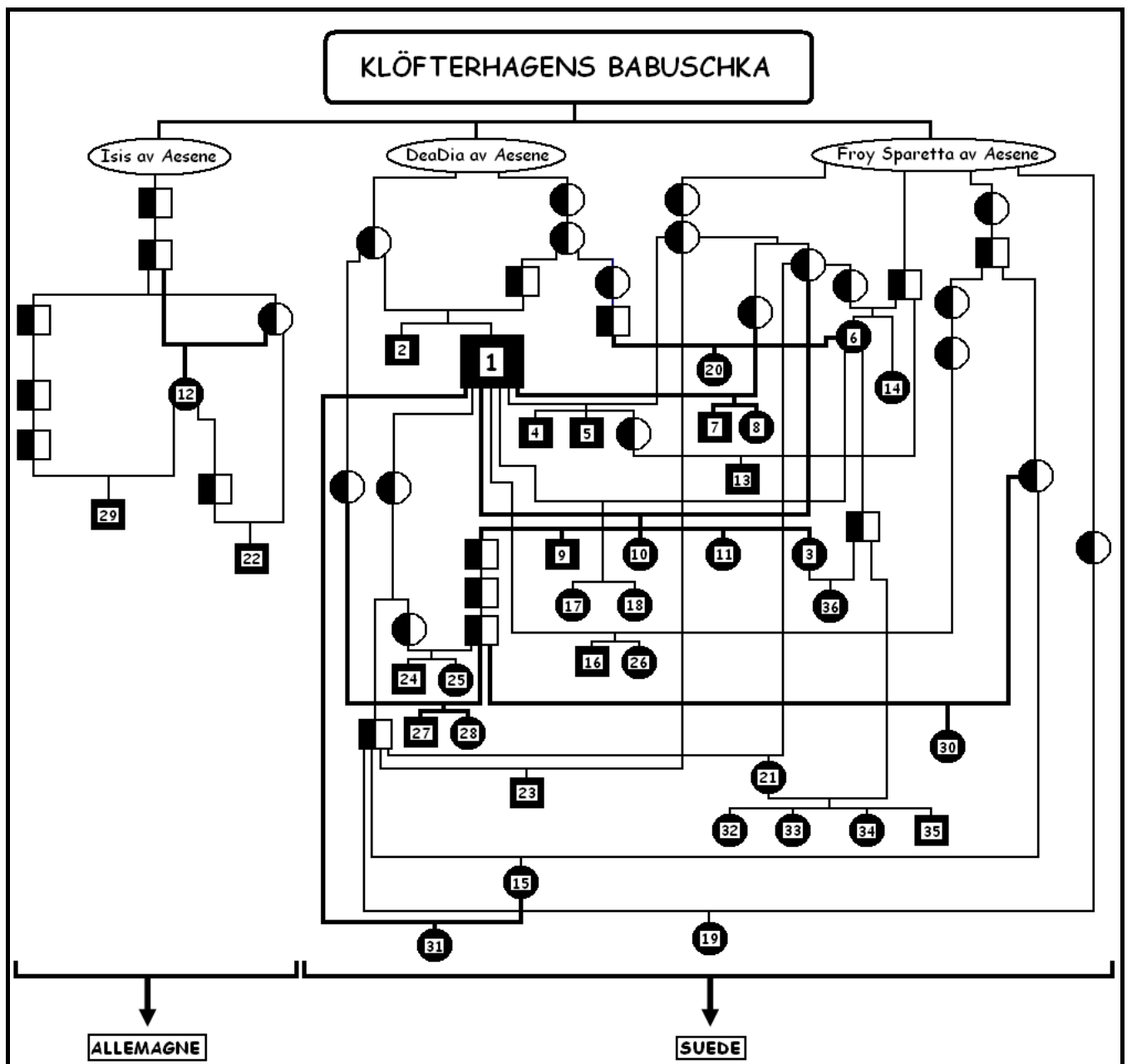


Figure 30 : Etude généalogique des premières naissances X-Color

Les rectangles représentent les mâles, les ronds représentent les femelles. Les symboles colorés indiquent que l'individu est ambre, les symboles à demi-colorés indiquent que le chat est très vraisemblablement porteur de l'allèle *ambre*. Les chats ni ambre, ni porteurs n'ont pas été représentés pour alléger la figure. La correspondance entre les numéros et l'identité des chats est disponible dans l'annexe 3. Cet arbre généalogique représente les mariages suédois réalisés entre 1992 et 1998 pour identifier les chats porteurs issus de *N*DeaDia* et *N*Frøy Sparetta av Aesene*, contrairement à l'Allemagne où les premiers X-Color ont plutôt été le fruit du hasard issus de *N*Isis av Aesene*. Ces études généalogiques ont été réalisées avec les bases de données *Pawpeds* et *Shaggytail*.

	Enfants	Enfants ayant reproduit	Petits-enfants	Petits-enfants ayant reproduit
Kløfterhagens Babuschka	13	9	120 (dont 64 avec Dunder)	72 (dont 39 avec Dunder)
Niro's Dunder	24	22	252 (dont 103 de Polaris et 64 avec Babuschka)	159 (dont 70 de Polaris et 39 avec Babuschka)

Tableau 13 : Etude comparative de la descendance de Kløfterhagens Babuschka et de Niro's Dunder

b. D'où provient cette nouvelle couleur ?

Le caractère ambre n'est aujourd'hui connu que dans la lignée de Babuschka dont seules trois filles issues de son mariage avec Dunder semblent avoir été porteuses : DeaDia, Frøy Sparetta et Isis av Æsene (Figure 30).

S'il s'agit d'une **mutation spontanée** apparue dans le génome des cellules germinales de Babuschka, la présence de l'allèle dans d'autres lignées est à exclure, compte tenu de la rareté des mutations (imaginez la fréquence d'apparition spontanée et indépendante d'une mutation identique dans deux lignées différentes !). Si toutefois cette **mutation est ancestrale**, il serait logique de la retrouver dans d'autres lignées ou dans les populations sauvages de chats scandinaves ce qui n'a jamais été rapporté.

Babuschka a eu une seule demi-sœur ayant reproduit, N*Kløfterhagens Cassandra pour qui on ne connaît aucun descendant ambre. Une étude exhaustive des cousins de Babuschka serait intéressante, au moins pour réfuter l'existence de Norvégiens ambre dans d'autres lignées, mais les bases de données actuelles ne nous permettent pas de la réaliser. De plus, l'interprétation serait difficile, de savoir si la couleur ambre est issue dans ces pedigrees d'une lignée cousine ou de Babuschka, car cette dernière est présente dans presque tous les pedigrees de Norvégiens européens actuels.

D'anciens éleveurs scandinaves rapportent depuis longtemps l'existence de chats de **couleurs « bizarres »**, alors enregistrés en brown tabby et écartés de la reproduction. De là à conclure qu'il s'agissait déjà de chats ambre et que la couleur existe dans d'autres lignées ? Ceci n'a jamais été officiellement démontré.

Un Norvégien a été incriminé comme potentiellement ambre, il s'agissait d'un descendant de N*Torvmyra's Edvard Erobreren (père de Babuschka) et de N*Dovregubbens Mischa, petit fils de Torvmyra's Eviva Solterona, sœur de N*Torvmyra's Edvard Erobreren (père de Babuschka) (Utescheny, communication personnelle).

Babuschka ne serait donc que la face cachée de l'iceberg et l'ambre serait déjà présent depuis des décennies dans sa lignée paternelle. Cette lignée a pu engendrer d'autres lignées parallèles qui dissémineraient actuellement l'allèle *ambre* à bas bruit, mais sans le montrer faute de consanguinité. Avec seulement une demi-sœur ayant reproduit, il serait présomptueux de conclure à la possession exclusive de l'allèle par Babuschka. Elle a aussi sans doute été le seul Norvégien porteur à être très utilisé dans un schéma de reproduction, ce qui expliquerait pourquoi aucune lignée parallèle n'est connue.

- c. *Babuschka a-t-elle transmis l'allèle ambre à d'autres descendants que DeaDia, Frøy Sparetta et Isis ?*

Babuschka a été mariée à 6 reprises.

- 1982 et 1983 : avec N*Colosseum's Emil Oppaamold
- 1984 et 1985 : avec N*Niro's Dunder
- 1986 : avec N*Pans Polaris, fils de N*Niro's Dunder
- 1987 : avec N*Pans Tarner, fils de N*Pans Polaris

Mariage Babuschka x Oppaamold (Figure 32)

N*Odin av Æsene a été exporté dans la chatterie allemande Sma-Troll's comme Kløfterhagens Cassandra, demi-sœur paternelle de Babuschka. Mais la couleur ambre n'est jamais apparue dans les portées entre Odin et Cassandra ou leurs descendants, ce qui suppose que Cassandra n'était pas porteuse. Un doute subsiste par contre pour Odin, mais faute de consanguinité suffisante, il est impossible d'apporter une réponse définitive. Aucun des autres enfants de ce mariage n'a eu de descendant ambre.

Mariage Babuschka x Dunder (Figure 32)

Trois filles de ce mariage ont transmis l'allèle *ambre* : **DeaDia**, **Isis** (nées en novembre 1984) et **Frøy Sparetta av Æsene** (née en novembre 1985). DeaDia et Frøy Sparetta ont été achetées par deux éleveuses suédoises (chatteries S*Wildwood's et S*Tassajara's). Isis a rejoint le Danemark (chatterie DK*Feles Ferox) puis certains de ses descendants sont partis en Allemagne (chatterie D*av Takeskog).

Mariage Babuschka x Tarner

N*Husfjelle's Melissa est une des filles peu connue de Babuschka. La lignée s'éteint rapidement après Melissa sans faire apparaître l'allèle *ambre*.

Mariage Babuschka x Polaris (Figure 32)

Le cas de N*Iris av Æsene issue de ce mariage a longtemps déconcerté, un mariage-test entre Iris et Wildwood's Imer a donné deux chatons non ambre. Il est certes impossible de conclure avec seulement deux chatons, mais ce résultat ne permet pas de confirmer le statut porteur d'Iris.

Seul un enfant d'Iris a eu des descendants ambre, son fils S*Tassajara's Conrad. Du mariage entre Conrad et S*Bluetail's Lorenga sont nées S*Truelove's Aila et Amorina en novembre 1989. Mariées à Wildwood's Imer, Amorina et Aila donnent naissance à des chatons ambre en 1993 puis 1994. On suppose alors que les deux ont hérité l'allèle de leur père, Tassajara's Conrad (lui-même petit-fils de Babuschka via Iris). Pourtant l'étude du pedigree de Bluetail's Lorenga montre qu'elle peut posséder l'allèle étant petite fille de Frøy Sparetta. Amorina et Aila n'ont donc pas forcément hérité l'allèle de leur père Conrad ... mais de leur mère ! En 1993, on ne savait pas encore que Frøy Sparetta avait aussi hérité l'allèle de sa mère Babuschka. Fort de cette découverte un mariage-test est réalisé entre Wildwood's Imer et Bluetail's Lorenga en juin 1993 et confirme cette hypothèse. Rien ne nous permet donc de prouver que Conrad portait l'ambre. Il semble donc qu'Iris n'a pas transmis l'allèle et ce vraisemblablement car elle ne le portait pas non plus.

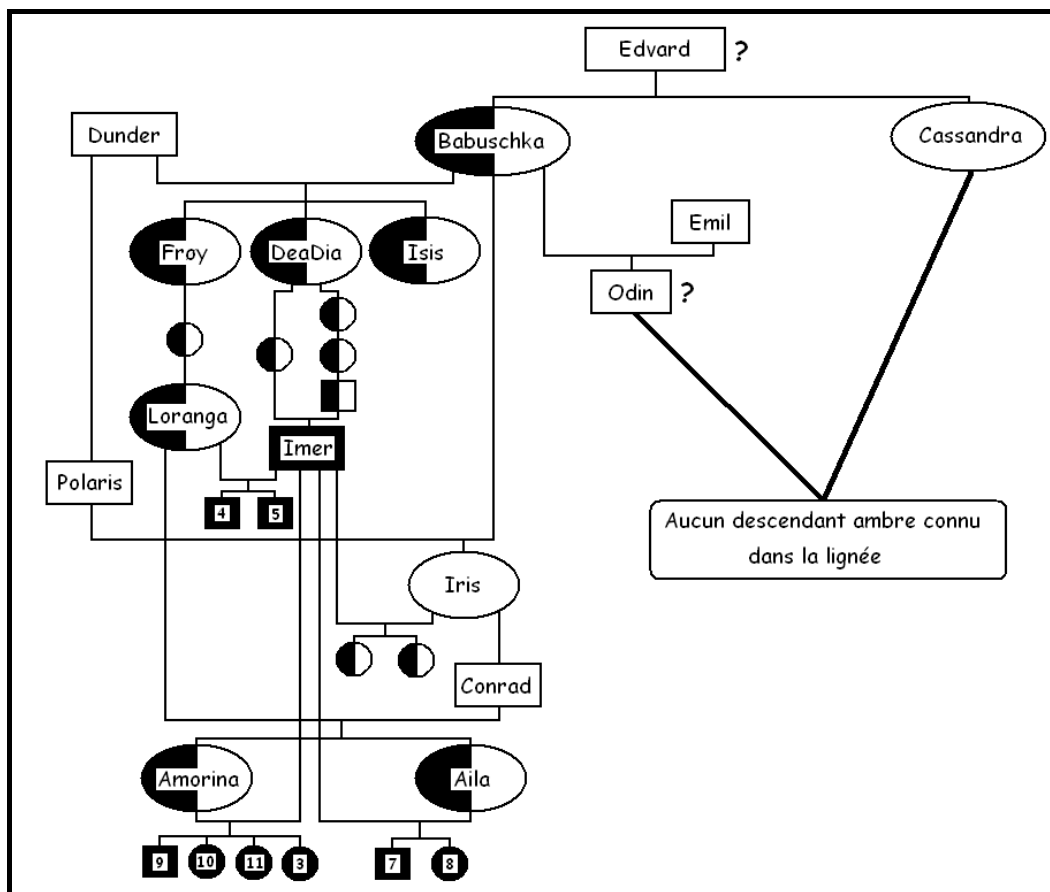


Figure 32 : Analyse généalogique de la descendance de Kløfterhagens Babuschka

Les rectangles correspondent à des mâles et les cercles à des femelles. Les symboles colorés indiquent que l'individu est ambre, les symboles à demi-colorés indiquent que le chat est très vraisemblablement porteur de l'allèle *ambre*. Les symboles blancs indiquent que l'individu n'est vraisemblablement pas porteur (ou qu'il subsiste un doute lorsqu'il est associé à un point d'interrogation). La correspondance entre les numéros et l'identité des chats est disponible dans l'annexe 3. Ces études généalogiques ont été réalisées avec les bases de données *Pawpeds* et *Shaggytail*.

Edvard = N*Torvmyra's Edvard Erobreren; Babuschka = N*Kløfterhagens Babuschka; Cassandra = N*Kløfterhagens Cassandra; Dunder = N*Niro's Dunder; Emil = N*Colosseum's Emil Oppaamold; Frøy = N*Frøy Sparetta av Æsene; DeaDia = N*DeaDia av Æsene; Isis = N*Isis av Æsene; Odin = N*Odin av Æsene; Loranga = S*Bluetail's Loranga; Imer = S*Wildwood's Imer; Polaris = N*Pans Polaris; Iris = N*Iris av Æsene; Conrad = S*Tassajara's Conrad; Amorina = S*Truelove's Amorina; Aila = S*Truelove's Aila.

Les éleveurs ont longtemps été déconcertés car Babuschka semblait incapable de transmettre l'allèle lors d'un mariage différent de celui avec Dunder. Ceci a amené certains à supposer que l'origine de l'ambre était intrinsèque à la gestation de Babuschka, en envisageant une mutation spontanée durant cette période. Pour autant, DeaDia, Isis (novembre 1984) et Frøy Sparetta (novembre 1985) sont nées dans deux portées différentes. L'hypothèse d'une mutation intervenant deux fois à une année d'intervalle, systématiquement pendant la gestation et concernant le même gène tient de l'utopie.

Si uniquement trois filles de Babuschka ont montré posséder l'allèle, plus de la moitié de ses petits-enfants descend d'une de ces trois filles. Ses autres enfants (dont on n'a pas mis en évidence le portage de l'allèle *ambre*) ont été peu utilisés dans les programmes de sélection ce qui biaise l'interprétation et ses conclusions. De plus, il n'a jamais été prouvé que tous ses descendants avec Colosseum's Emil Oppaamold et Pans Turner n'ont pas hérité cet allèle. Il s'agit de pures spéculations qui ne seront jamais prouvées faute de descendance pour certains de ces chats.

B. Etude phénotypique de la couleur ambre

La couleur ambre peut coexister avec les autres couleurs existant dans la race du Chat des Forêts Norvégiennes : solid ou tabby (avec les 4 patrons mackerel, spotted, blotched ou ticked), possiblement dilué, silver ou smoke, torbie ou tortie, avec ou sans blanc.

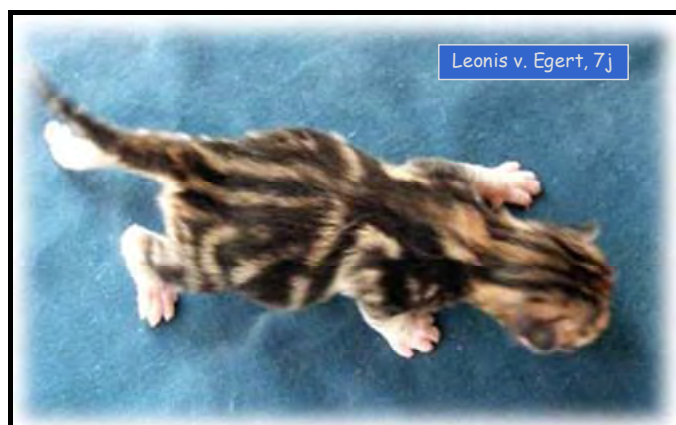
1. Description des principales robes ambre

a. Ambre tabby avec ou sans blanc (Tableau 14, photographies 4 à 7)

AMBRE TABBY / AMBER TABBY	
CARACTERES	DESCRIPTION
COULEUR DE LA FOURRURE	Le chat naît avec des motifs tabby noirs. Les régions entre les rayures sont de couleur orange à brun. Certains chatons ont l'apparence de torbie, d'autres ressemblent à des brown tabby chauds. Les coussinets sont roses. En grandissant, les marques tabby foncées et les régions entre les rayures s'éclaircissent, ceci sera d'autant mieux visible que le chaton naît foncé. La couleur originelle n'est alors identifiable qu'au niveau de la queue, du dos et de l'extrémité des pattes. Les coussinets deviennent foncés. La teinte des marques tabby va du brun orange au cinnamon chez l'adulte. Entre les rayures la couleur est abricot. Des panachures dans la région nasale, sur l'extrémité des membres voire sur la queue cachent les poils foncés, la couleur des coussinets et celle de la truffe. Les chats ambre tabby et blanc peuvent donc être confondus avec des red tabby et blanc d'où la nécessité de suivre l'évolution de la couleur. Une confusion est aussi possible avec l'ambre uni, compte tenu des marques tabby fantômes. Quand il n'y a pas de blanc, l'élément de distinction est la couleur des coussinets chez le chaton (roses chez l'ambre tabby, foncés chez l'ambre uni) et la couleur de la truffe chez l'adulte (rose chez l'ambre tabby, foncée chez l'ambre uni)
COULEUR DE LA TRUFFE	Rose, sans contour
CONTOUR DES YEUX	Foncé, seal à brun pâle
COULEUR DES COUSSINETS (adulte)	Foncés, seal à brun pâle

Tableau 14 : Description phénotypique de la couleur ambre tabby (d'après Utescheny & Langewische, 2004)

Nous avons volontairement montré l'évolution de la couleur sur un même chat lorsque c'était possible, en choisissant des photographies pédagogiques et qui mettent le look de ces Norvégiens en valeur. **Merci de respecter le copyright de ces photographies et de ne pas les utiliser sans autorisation.** L'état civil des chats présentés ci-dessous est disponible en annexe 1.



Photographie 4 : Chaton femelle ambre tabby avec blanc âgée de 7 jours (Copyright Kowarsch)

Le chaton ambre tabby revêt une couleur particulière, historiquement décrite comme étant torbie. Ceci est mieux visible avec un patron blotched, comme celui de Leonis, qui délimite bien les régions de poils agouti (fauves) et les régions de poils non agouti (noires).



Photographie 5 : Chaton femelle ambre tabby avec blanc âgée de 3 mois (Copyright Kowarsch)

Notez l'évolution de la couleur entre la naissance et 3 mois. Les rayures commencent à brunir. Ceci est très variable, certains chatons ambre tabby apparaissent déjà beaucoup plus fauves au même âge. Le motif blotched tabby « jaunirait » plus lentement que les motifs spotted/mackerel et ticked.



Photographie 6 : Norvégienne ambre tabby avec blanc âgée de 8 mois (Copyright Kowarsch)

A 8 mois, Leonis a déjà presque atteint sa couleur adulte. Les marbrures sont toujours bien délimitées, de couleur brun orangé sur un fond de poils fauves. Ces marbrures vont progressivement s'atténuer voire s'effacer et donner une robe fauve uniforme après un certain âge (de façon très variable et pas systématique). Notez la persistance de poils noirs sur les extrémités (queue, plumets sur les oreilles). Le museau est rose, reflet de la panachure blanche qui le recouvre. Les yeux peuvent prendre toutes les teintes entre le vert émeraude et le jaune ambre.



Photographie 7 : Norvégienne ambre tabby avec blanc âgée de 18 mois (Copyright Kowarsch)

Leonis a atteint sa couleur adulte, la couleur des marbrures s'est déjà un peu atténuée mais le motif blotched reste distinct dans la robe. Cette chatte présente une couleur ambre tirant vers le caramel, avec peu de rufisme.

b. Ambre clair tabby avec ou sans blanc (Tableau 15, photographies 8 à 12)

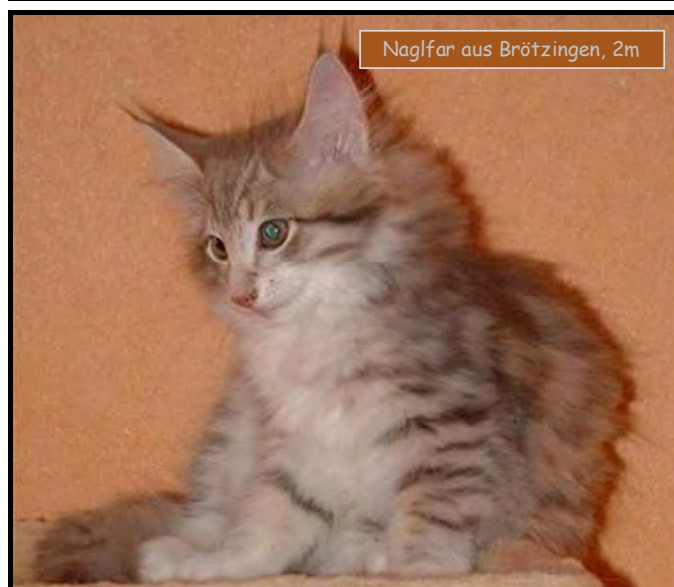
AMBRE CLAIR TABBY / AMBER LIGHT TABBY	
CARACTERES	DESCRIPTION
COULEUR DE LA FOURRURE	Le chat naît avec des motifs tabby bleus. Les régions entre les rayures sont beiges à bleu clair. Certains chatons ont l'apparence de torbie bleu crème, d'autres ressemblent à des bleus tabby avec du rufisme. Les coussinets sont roses. En grandissant, les marques tabby et les régions entre les rayures s'éclaircissent, ceci sera d'autant mieux visible que le chaton ressemble à un bleu tabby à la naissance. La couleur originelle n'est alors identifiable qu'au niveau de la <u>queue</u>, du <u>dos</u> et de l'<u>extrémité des pattes</u>. Les coussinets deviennent foncés. La couleur des marques tabby va du beige rosé au fawn chez l'adulte. Entre les rayures la couleur est beige clair. Les chats ambre clair tabby et blanc peuvent être confondus avec des crème tabby et blanc et avec des ambre clair solid et blanc compte tenu des marques tabby fantômes. Les éléments de distinction sont ceux décrits précédemment en l'absence de panachure.
COULEUR DE LA TRUFFE	Rose, sans contour
CONTOUR DES YEUX	Foncé, gris bleu à gris ardoise
COULEUR DES COUSSINETS (adulte)	Foncés, gris bleu à gris ardoise

Tableau 15 : Description phénotypique de la couleur ambre clair tabby (d'après Utescheny & Langewische, 2004)



Photographie 8 : Chaton femelle ambre clair tabby avec blanc âgée de 7 jours (Copyright Schäfer)

Cette couleur a historiquement été comparée au torbie bleu crème. Le motif blotched de Nerthus délimite des marbrures distinctes et facilite le déterminisme de la couleur. Avec un motif mackerel ou spotted mal délimité, les chatons ont souvent une apparence de bleu tabby avec rufisme et l'identification de la couleur est donc beaucoup moins facile. Notez la couleur rose du museau (non pris dans la panachure blanche).



Photographie 9 : Chaton mâle ambre clair tabby avec blanc âgé de 2 mois (Copyright Schäfer)

Frère de Nerthus, Naglfar présente la même couleur mais avec un motif spotted. Sa couleur à la naissance était moins évidente. A l'âge de 2 mois, plus aucun doute n'est possible, on note déjà un éclaircissement conséquent de sa robe, avec une apparence bleue rosée. Certains chatons ambre clair tabby ont déjà une robe très beige à l'âge de 3-4 mois.



Photographie 10 : Norvégien ambre clair tabby avec blanc âgé de 8 mois (Copyright Veneranda)

Notez l'évolution de la couleur au bout de 8 mois, Naglfar présente toujours une teinte très bleue, surtout sur la ligne dorsale et sur la queue. Sa couleur s'est éclaircie très lentement, plus lentement que celle de sa sœur Nerthus. Le motif spotted est toujours bien visible.



Photographie 11 : Norvégien ambre clair tabby avec blanc âgé de 18 mois (Copyright Hermeline)

A 18 mois, Naglfar présente une couleur plus beige clair avec des reflets rosés après sa première mue. Des poils bleus persistent sur le corps, notamment sur la ligne dorsale et sur la queue. Le motif tabby s'est atténué et n'est déjà plus distinguable. Notez la couleur rose du museau (pris dans la panachure blanche). Les yeux peuvent revêtir toutes les teintes entre le vert émeraude et le jaune ambre. Les photographies avec la lumière naturelle sont les plus représentatives de la couleur réelle, d'importantes variations peuvent également exister en utilisant le flash (Photographie 12)



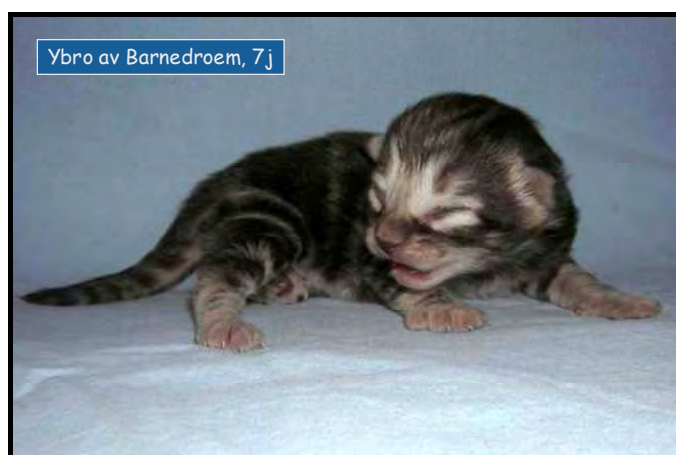
Photographie 12 : Norvégienne ambre clair tabby âgée de 6 ans (Copyright Schäfer)

Cette chatte adulte a revêtu sa couleur définitive et ne présente plus aucun poil bleu, même sur la queue. La robe ressemble au fawn avec des reflets rosés, elle est presque uniforme, sans motif tabby. L'utilisation du flash fausse la couleur et donne l'impression d'avoir une chatte avec beaucoup de rufisme. Ayant vu cette chatte en vrai, sa couleur se rapproche plus de celle de Naglfar à 18 mois (Photographie 11) sans les poils bleus.

c. Ambre avec ou sans blanc (Tableau 16, photographies 13 à 17)

AMBRE / AMBER	
CARACTERES	DESCRIPTION
COULEUR DE LA FOURRURE	Le chaton naît noir, ses coussinets et sa truffe sont foncés. Il présente des rayures très prononcées, au point d'être confondu avec un chaton tabby. En grandissant, le chat s'éclaircit et la couleur originelle n'est alors identifiable qu'au niveau du <u>museau</u>, de la <u>queue</u>, du <u>dos</u> et de l'<u>extrémité des pattes</u>. Cette couleur s'éclaircit plus lentement que l'ambre tabby. L'adulte présente une robe de couleur abricot à cinnamon. Les rayures fantômes persistent jusqu'à l'éclaircissement suffisant, elles peuvent rester très contrastées. Les coussinets et la truffe restent foncés. Une confusion est possible avec la couleur red self et blanc (l'ambre solid présente un aspect fumé caractéristique qui permet la distinction pour les connaisseurs).
COULEUR DE LA TRUFFE	Foncée, seal à brun clair (elle s'obscurcit avec l'âge) Communément appelé « museau noir »
CONTOUR DES YEUX	Foncé, seal à brun clair
COULEUR DES COUSSINETS (adulte)	Foncés, seal à brun clair (ils s'éclaircissent légèrement avec l'âge)
COULEUR DES OREILLES	Les oreilles s'éclaircissent plus lentement que le reste du corps

Tableau 16 : Description phénotypique de la couleur ambre
(d'après Utescheny & Langewische, 2004)



Photographie 13 : Chaton mâle ambre solid âgé de 7 jours (Copyright Balda)

D'apparence black (silver) tabby pour un éleveur inexpérimenté, Ybro est en fait ambre solid, une couleur beaucoup plus foncée que l'ambre tabby (Photographie 4). Il revêt des marques fantômes prononcées qui nous permettent même de dire qu'il est homozygote pour le blotched. Notez la couleur de la truffe et des coussinets (membre postérieur gauche). Le chaton ambre solid présente un masque clair (lunette) très évocateur autour des yeux.



Photographie 14 : Chaton mâle ambre solid âgé de 2 mois (Copyright Balda)

Au même âge, Ybro présente un éclaircissement beaucoup moins marqué que Leonis, ambre tabby (Photographie 5). Cette observation est valable pour tous les chatons ambre solid, tous « jaunissent » après 4 mois d'âge. Notez la couleur gris-beige entre les rayures des membres, elle est très évocatrice de la couleur ambre solid. Museau et coussinets sont foncés (voire plus foncés qu'à l'âge de 7 jours, photographie 13), les marques fantômes restent très marquées.



Photographie 15 : Norvégien ambre solid âgé de 16 mois (Copyright Balda)

Ybro a presque atteint sa couleur adulte et garde un museau et des coussinets noirs. Les marques fantômes sont toujours discernables, surtout sur la face et les membres. En comparaison avec la robe ambre tabby, Ybro présente beaucoup plus de poils noirs (queue, oreilles, contour du museau) que Leonis au même âge (Photographie 7). Sa teinte est très chaude.



Photographie 16 : Norvégienne ambre solid âgée de 10 mois (Copyright Utescheny)

Elle illustre la variabilité de teinte de l'ambre solid allant du brun orange (Photographie 15) au brun jaune (Photographie 16). Cette variabilité est aussi décrite pour la couleur ambre tabby et est vraisemblablement à relier aux polygènes du rufisme, déjà rapportés dans les couleurs classiques.



Photographie 17 : Robes ambre tabby et ambre solid sur deux chattes âgées de 8 mois (Copyright Utescheny)

Notez la différence de teinte entre les couleurs ambre tabby (abricot) et ambre solid (brun) sur deux chattes du même âge : la chatte ambre tabby s'est déjà plus éclaircie que son homologue ambre solid. Notez également l'extrémité foncée des oreilles qui changent de couleur plus tardivement.

d. Ambre clair avec ou sans blanc (Tableau 17, photographies 18 à 22)

AMBRE CLAIR / AMBER LIGHT	
CARACTERES	DESCRIPTION
COULEUR DE LA FOURRURE	Le chaton naît bleu, ses coussinets et sa truffe sont foncés. Il présente des rayures très prononcées, au point d'être confondu avec un <u>chaton tabby</u> .
	En grandissant, le chat <u>s'éclaircit</u> et la couleur originelle n'est alors identifiable qu'au niveau du <u>museau</u> , de la <u>queue</u> , du <u>dos</u> et de l' <u>extrémité des pattes</u> . Cette couleur s'éclaircit plus lentement que l'ambre et l'ambre clair tabby.
	L'adulte présente une robe de couleur beige rosé à fawn . Les rayures fantômes persistent jusqu'à l'éclaircissement suffisant, elles peuvent rester très contrastées. Les coussinets et la truffe restent foncés.
	Une confusion est possible avec la couleur crème unie et blanc (l'ambre clair présente un aspect fumé caractéristique qui permet la distinction pour les connaisseurs).

COULEUR DE LA TRUFFE	Gris bleu foncé (elle s'obscurcit avec l'âge) Communément appelé « museau gris »
CONTOUR DES YEUX	Gris bleu foncé
COULEUR DES COUSSINETS (adulte)	Gris bleu foncé (ils s'éclaircissent légèrement avec l'âge)

Tableau 17 : Description phénotypique de la couleur ambre clair
(d'après Utescheny & Langewische, 2004)



Photographie 18 : Chaton mâle ambre clair solid
âgé de 21 jours (Copyright Rylander)

Cendi Lavendi ressemble à s'y méprendre à un blue tabby. Notez toutefois la couleur mauve uniforme du museau et le marquage clair en lunette autour des yeux. Ces caractéristiques sont évocatrices de la couleur ambre clair solid. Sa couleur est bien plus foncée que celle de Nerthus, ambre clair tabby (Photographie 8). On distingue des marques fantômes, mais il est difficile de dire quel est son motif tabby sous-jacent.



Photographie 19 : Chaton mâle ambre clair solid
âgé de 4 mois (Copyright Rylander)

Excepté la couleur de la truffe, ce jeune chat présente toutes les caractéristiques d'un blue tabby, avec des marques fantômes marquées sur la tête et les membres. La truffe s'est assombrie et a revêtu sa couleur bleu ardoise. Les coussinets ont également une couleur bleu mauve. La teinte de la robe est différente de celle de l'ambre clair tabby qui apparaît plus beige (Photographies 9 & 10). La robe semble s'être éclaircie en 3 mois mais cette impression est liée aux différences d'éclairage et d'appareil photographique. En réalité, cette couleur évolue encore plus lentement que la robe ambre solid.



Florinella's Cendi Lavendi, 9m

Photographie 20 : Norvégien ambre clair solid âgé de 9 mois (Copyright Rylander)

Agé de 9 mois, Cendi Lavendi présente toujours une robe « bleue » avec des marques fantômes qui semblent révéler un motif blotched. Cette robe n'est pas comparable à l'ambre clair tabby (Photographie 10, Naglfar au même âge) et s'éclaircit plus lentement que l'ambre solid (Photographie 16, Evalena au même âge). La complexité de cette couleur explique pourquoi elle n'a été décrite que dernièrement. Je pense personnellement que S*Taylor Hill's Cupido (fils de Wildwood's Imer), né en 1993 et enregistré en bleu tabby a été le premier Norvégien ambre clair solid.



Florinella's Cendi Lavendi, 24m

Photographie 21 : Norvégien ambre clair solid âgé de 24 mois (Copyright Rylander)

Plus d'une année plus tard, on commence à distinguer les effets de l'ambre : le bleu devient brun gris, semble s'être délavé, mais garde sa teinte originelle au contour du museau foncé, sur les oreilles et dans les marques fantômes toujours très marquées (non visibles sur cette photographie).



Kira van Moraja, 6a

Photographie 22 : Norvégienne ambre clair solid avec blanc âgée de 6 ans (Copyright Schimmel)

Notez la couleur foncée de la truffe et du coussinet non pris dans la panachure blanche. Adulte, Kira revêt une robe beige clair avec des reflets rosés. Quelques poils foncés persistent sur la queue et sur la tête. Son motif tabby s'est effacé sauf sur le front. A terme, l'ambre clair solid et l'ambre clair tabby sont de teinte comparable (se référer à la photographie 11, la photographie 12 est faussée par l'utilisation du flash). Ces deux robes semblent moins soumises à l'action du rufisme que les robes ambre tabby et ambre solid.

La couleur ambre se définit par six caractéristiques.

- Le noir devient abricot et le bleu devient beige clair. Des poils foncés persistent sur le dos, l'extrémité de la queue et l'extrémité des pattes.
- Les marques tabby foncées des robes tabby s'éclaircissent.
- La truffe est rose pour les robes tabby (Photographie 23) et foncée pour les robes unies (Photographies 25 & 28). Elle est rouge brique cerclée de noir chez les chats black tabby chaud (« golden ») ou non (Photographies 24 & 27).
- Le contour des yeux restent foncés (Photographies 23 & 25).
- Les coussinets sont foncés chez l'adulte. Seuls ceux des robes tabby sont roses à la naissance et s'obscurcissent (Photographies 29 à 31).
- La présence de panachures blanches peut masquer certains des indices précédents.



Photographie 23 : Adulte ambre tabby (Sannafjällets Guldus, copyright Sandberg)



Photographie 24 : Adulte golden tabby (Thorin v. Egert, copyright Kowarsch)



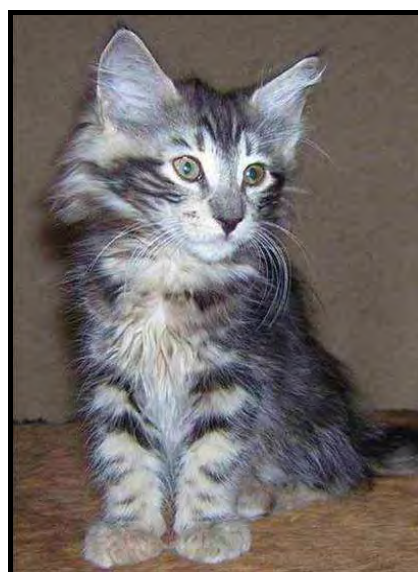
Photographie 25 : Adulte ambre solid (Krusmons Golden Gate, copyright Johansson)



Photographie 26 : Chaton mâle ambre tabby âgé de 2 mois (Yngvi av Barnedroem, copyright Balda)



Photographie 27 : Chaton mâle golden tabby âgé de 3 mois (Odin v. Egert, copyright Kowarsch)



Photographie 28 : Chaton femelle ambre solid âgée de 2 mois (Yordis av Barnedroem, copyright Balda)



Photographie 29 : Coussinets d'un chaton ambre tabby âgé de 2 mois
(Copyright Balda)



Photographie 30 : Coussinets d'un chaton ambre tabby âgé de 5 mois
(Copyright Balda)



Photographie 31 : Coussinets d'un chaton ambre solid âgé de 2 mois
(Copyright Balda)

Si pour certains chats, la couleur adulte est acquise dès 5 mois, pour d'autres il faudra attendre **12 à 24 mois**. La couleur définitive nécessite encore 2 à 3 années pour se stabiliser. La couleur à la naissance est **très variable**, certains chatons ambre naissent en effet très sombres. De même la couleur des chatons ambre d'une même portée peut évoluer de façon extrêmement variable tant en durée qu'en intensité. Chez l'adulte, les robes ambre ont une teinte variant de **l'orange au cinnamon**. Ces variations sont vraisemblablement dues aux polygènes du rufisme.

L'évolution de la couleur serait la conséquence de deux mécanismes.

- Mes observations m'incitent à penser que **les mélanocytes folliculaires du chaton ambre tabby ne sont plus (ou peu) capables d'eumélanogenèse dès la naissance**. En effet, sur le tronc, plus le poil pousse, plus la racine fauve s'allonge. Seule la pointe reste noire et la longueur de cette portion noire correspond approximativement à la longueur des poils à la naissance. Les chatons ambre tabby présentent souvent une robe fauve dès l'âge de 3 mois. Au même âge, la racine fauve des poils d'un chaton ambre uni est moins longue et cette robe n'atteint sa couleur fauve que chez un animal plus âgé, suggérant que **les mélanocytes folliculaires sont toujours capables d'eumélanogenèse chez le chaton ambre uni**.
- Suite **aux premières mues**, l'eumélanine disparaît, laisse place au pigment ambre, probablement un **pigment riche en soufre** tel que la **phaeomélanine** et donne une nouvelle fourrure d'apparence plus fauve. La queue du Norvégien ne perd que peu de poils lors des mues. La durée de vie supérieure de ces poils expliquerait pourquoi la queue du Norvégien ambre conserve plus longtemps ses poils noirs.

Un **suivi cinétique par dosage des pigments eumélanique et phaeomélanique** dans le poil d'un Norvégien ambre (avant et après la première mue) permettrait d'éclaircir ce point. Ceci a déjà été réalisé sur le poil bovin (Mohanty *et al.*, 2008).

Pour faire la distinction entre un chaton ambre uni et un black tabby

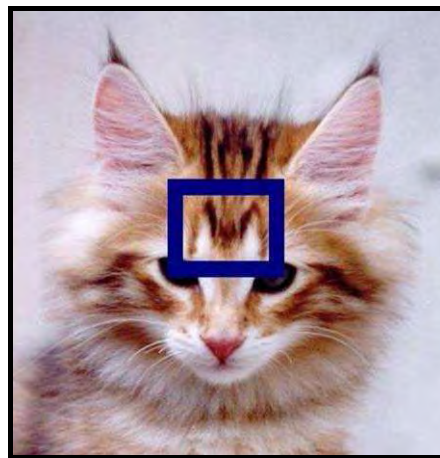
A la naissance, le chaton ambre solid est difficilement différenciable d'un black tabby pour un œil non averti. Après 5 semaines la **truffe** est toujours noire foncée (Photographie 28) alors que celle d'un chaton black tabby a déjà revêtu sa couleur rouge brique au contour eumélanique (Photographie 27). Les **faces plantaires et palmaires** s'éclaircissent (Photographie 31) contrairement à celles d'un chaton black tabby, alors que les coussinets sont foncés pour les deux robes. C'est aussi à cet âge que les premières modifications sont observables sur la fourrure : on observe un éclaircissement de la **racine du poil** (Photographie 32), qui leur donne une apparence de faux silver et qui n'existe pas chez un black tabby. Les marques fantômes tabby restent discernables chez le jeune adulte puis s'amenuisent jusqu'à disparaître.

Pour faire la distinction entre un chaton ambre tabby et un black tabby

Entre les rayures noires on observe une couleur brun orange, surtout sur la tête et les pattes. La couleur du chaton ambre tabby est plus claire et mieux contrastée que celle du chaton ambre uni et du chaton black tabby, surtout au niveau des membres antérieurs (Photographies 26 à 28). Sur la tête, les deux **branches verticales** du « M » tabby sont orange chez l'ambre tabby dès la naissance (Photographie 33), contrairement au black tabby. La couleur de leur **truffe** est rose dès la naissance (Photographie 33), différente de celle d'un ambre uni (Photographie 28) et de celle d'un black tabby (Photographie 27). Les chatons ambre tabby naissent avec des **coussinets roses** et les poils des **faces plantaires et palmaires** sont **clairs** (Photographie 29) contrairement aux chatons black tabby. De plus les coussinets du chaton ambre tabby s'obscurcissent, mais les poils des faces plantaires et palmaires restent clairs (Photographie 30). Après 5 semaines, on note déjà un roussissement de la **racine des poils**.



Photographie 32 : Racine des poils d'un chaton ambre solid âgé 2 mois (Copyright Balda)



Photographie 33 : « M » tabby d'un chaton ambre tabby âgée de 2 mois (Jaspis v. Arlesbrunnen) (Copyright Utescheny)

2. Description des robes ambre dérivées

a. Ambre ticked tabby

La robe ticked tabby n'a jamais été prisee par le grand public et elle n'est pas fréquente dans la population du Norvégien, même si l'allèle est dominant. La robe ambre ticked (Photographie 34) est donc encore plus rare. Cette couleur donne l'impression de **s'éclaircir plus rapidement** que pour les autres patrons tabby (sauf sur la queue et la ligne dorsale, qui portent des poils unis).



Photographie 34 : Norvégienne adulte ambre ticked tabby (Copyright Schimmel)

Chatte sans blanc, l'absence de marques tabby est liée au patron ticked. Notez la persistance de poils noirs sur la queue. On devine un coussinet noir sur le membre postérieur gauche. La truffe est rose sans liseré noir. Remarquez la variabilité de couleur entre cette chatte et les chats des photographies 7 et 23.

b. Ambre smoke et ambre silver tabby

L'observation des poils ambre smoke et ambre silver tabby montre une **racine transparente plus longue** que sur un poil black smoke ou black silver tabby. Toutefois une robe ambre smoke ou ambre silver est différente d'une robe silver shaded ou chinchilla et garde un **fond de couleur fauve** (Photographie 35) ou **beige** si elle est diluée (Photographie 36), ce qui suppose que l'inhibition du pigment ambre dans le poil est incomplète.

Chez l'adulte, la robe ambre smoke correspond à un mélange de **poils beiges à brun clair** et les **régions riches en eumélanine ne sont presque pas modifiées** : les chats ambre smoke sont donc aussi des « museaux noirs » (Photographie 35A). Chez l'ambre silver tabby, la robe est également **éclaircie (abricot/caramel ou beige délavés)**, les poils de la collerette, des pattes et de la queue semblent blancs. Le contour des yeux, les coussinets et les poils sombres restent foncés (Photographies 35B & 36).



Photographie 35 : Norvégiens ambre smoke avec blanc (A) et ambre silver tabby (B) (Copyright Schröder & Utescheny)

Notez la couleur du museau qui permet de déterminer si le chat est tabby ou solid. Nikko présente un smoke peu marqué (A). Des traces eumélaniques persistent chez lui contrairement à Octavian (B) dont la couleur fait penser à un red silver pour un éleveur inexpérimenté : les poils de la collerette semblent blancs chez Octavian et ceci est dû à un silver très clair.



Photographie 36 : Norvégienne ambre clair silver tabby avec blanc âgée de 8 mois (Copyright Hermeline)

Rana a déjà presque revêtu sa couleur adulte à 8 mois. Notez la teinte fawn et les reflets rosés. Des poils bleus restent présents sur la face dorsale de la queue. Le patron spotted tabby est à peine visible, cette impression est aussi liée à la race, car le spotted est plus difficile à objectiver sur des chats à poils longs que des chats à poils courts. De plus le Norvégien n'a jamais été sélectionné pour améliorer la qualité de son spotted. Les poils de la collerette et ceux de la face ventrale de la queue apparaissent blancs, ceci est dû à la présence du silver, même si le silver reste modéré sur cette chatte. La région du museau est prise dans la panachure blanche.

Certaines robes ambre silver (Photographie 35B) et ambre smoke (Photographie 37) sont très claires, cette variabilité pourrait être due aux polygènes complétant l'action du *widebanding*. La présence du silver est également parfois plus difficile à visualiser (Photographies 35A, 38 & 39) et ceci est probablement lié à la variabilité d'inhibition phaeomélanique (tarnishing). Cette variabilité associée à l'action des polygènes précédemment cités aboutit à un **large éventail** de robe ambre smoke et ambre silver allant du brun légèrement éclairci au beige.



Photographie 37 : Norvégien ambre smoke âgé de 12 mois (Copyright Montonen)

Notez la couleur du museau. Il Nostro exhibe sa couleur définitive à seulement 12 mois : les marques tabby fantômes sont effacées, plus aucun poil noir n'est observable excepté au contour du museau. Ce chat n'est pas dilué, mais revêt un smoke très marqué qui lui donne une apparence de silver shaded sur un fond rosé. Comparez à la couleur équivalente non smoke (Photographies 15 & 16) et à d'autres ambre smoke (Photographie 35A au même âge, photographie 39A à 6 ans). L'action du smoke varie donc selon l'individu, phénomène déjà décrit pour les robes black smoke.



Photographie 38 : Norvégienne ambre clair smoke avec blanc âgée de 8 mois (Copyright Rylander)

Camomilla a initialement été enregistrée blue silver tabby et blanc. L'identification de la couleur est rendue très difficile par le blanc sur le museau et le silver peu marqué. Les régions beiges au dessus des orbites et la couleur plus foncée dans la région nasale sont les seuls indices pour déterminer la vraie couleur. Dans ce cas, la couleur des coussinets ne nous est d'aucun recours (ils sont foncés chez l'ambre clair smoke et le blue silver tabby), par contre les poils plantaires et palmaires seraient un élément intéressant : gris foncés chez un blue silver tabby ou beiges chez un ambre clair smoke, en l'absence de panachure.



Photographie 39 : Norvégiennes ambre smoke avec blanc (A) et ambre clair smoke avec blanc (B) (Copyright Rylander)

Camomilla (B), même chatte que la photographie 38 quelques mois plus tard. L'éclaircissement et les contours plus sombres du museau (autour du blanc) confirment la couleur ambre. Elle garde une teinte très bleutée sur le corps et sa couleur définitive devrait ressembler à celle de la chatte en photographie 22. Sa mère Flora est ambre smoke et blanc non diluée (A) : elle revêt sa couleur adulte, son museau n'est pas complètement pris dans le blanc. Comparez la différence de teinte entre les deux couleurs.

Pour réaliser la diagnose des couleurs ambre silver tabby et ambre smoke, il faut retenir que les six caractéristiques générales préalablement définies pour l'ambre restent valables (encadré page 109).

De plus, le niveau d'inhibition phaeomélanique de l'allèle *I* est extrêmement variable d'un individu à l'autre, mais aussi d'une région à l'autre chez un même individu : certains poils seront presque blancs, d'autres auront une teinte abricot à peine atténuée.

Cette action concerne uniquement les régions soumises à l'action de l'ambre.

- Les poils dont la concentration eumélanique est initialement très peu modifiée (dos, queue, extrémité des membres) subissent l'action du silver comme un poil noir classique.
- Le contour des yeux, les coussinets et la truffe (ambre smoke) sont eumélaniques et leur couleur n'est pas modifiée.

c. Ambre tortie et ambre torbie

Les six éléments d'identification décrits précédemment restent valables. Dans un premier temps on cherche à savoir si le chaton est tabby ou uni (Photographie 40), puis il faudra suivre l'évolution des poils noirs (ou bleus) en abricot (ou beige), alors que les poils orange sont inchangés.

On rencontre **deux difficultés majeures** pour déterminer ces couleurs chez une femelle adulte. Le trichochrome (pigment orange) est une phaeomélanine modifiée alors que le pigment ambre correspond probablement à de la phaeomélanine. Macroscopiquement la distinction entre les régions orange et abricot (ou crème et beige, si la robe est ambre écaillé diluée) s'avère compliquée (Photographies 41 & 42). **Il peut y avoir confusion entre les couleurs ambre écaillé ET orange ou ambre.** En pratique, l'éleveur a suivi l'évolution du chaton donc sait à quoi se tenir. Ceci est d'autant plus difficile en présence de rufisme qui rend l'ambre très orange. Des confusions sont également possibles en présence de panachures blanches. Toutefois, les chattes ambre écaillé et blanc présentent des taches ambre et orange mieux délimitées, ce qui facilite la diagnose si l'ambre est de teinte plutôt caramel.



Photographie 40 : Chaton femelle ambre silver torbie avec blanc âgée de 2 mois (Copyright Utescheny)

De couleur ambre silver torbie et blanc, la distinction des régions ambre et orange est encore facile chez Masquerade à cet âge. Les panachures blanches et les rayures encore noires contribuent à mieux délimiter les régions de poils orange (membre antérieur gauche, œil droit) et les régions de poils ambre. En contrepartie les panachures blanches peuvent gêner pour dire si la chatte est torbie ou tortie en cachant la couleur du museau et celle des coussinets. Mais Masquerade a une couleur de base très fauve et cette couleur des régions de poils agouti permet de conclure qu'elle est bien tabby : la couleur d'une ambre tortie smoke est plus foncée au même âge. L'action du silver est identique à ce qui a déjà été décrit : il éclaircit la robe.



Photographie 41 : Norvégienne ambre silver torbie avec blanc âgée de 12 mois (Copyright Knäble)

Les panachures de Masquerade contribuent à mieux distinguer les régions de poils ambre des régions de poils orange (membre postérieur droit). Sa couleur s'est déjà bien éclaircie, on devine quelques vestiges eumélaniques sur les lignes dorsale et nucale. Le motif tabby est déjà bien atténué, voire effacé sur la partie postérieure du corps. Malgré le silver, la robe garde une teinte fauve.



Photographie 42 : Norvégienne ambre clair tortie smoke âgée de 6 mois (Copyright Schön)

Notez le museau noir qui atteste du génotype homozygote *a/a*. La distinction des régions crème (joue gauche, base de la queue) et ambre clair est déjà très difficile chez cette jeune chatte. Cette difficulté est liée à l'absence de panachures blanches et à un smoke très prononcé faisant penser à un silver shaded (beaucoup plus marqué que le silver de Masquerade, photographie 41). Même les marques fantômes sont effacées sur le corps, certaines subsistent sur les membres.

d. Ambre arlequin et ambre van

Les **difficultés** liées à la présence de panachures blanches sont logiquement accrues par les patrons arlequin et van (Photographies 43 & 44). La couleur ne pourra être identifiée avec certitude qu'à l'âge adulte, sauf si le chat est lui-même issu de deux parents ambre et blanc.



Photographie 43 : Chaton femelle ambre tabby arlequin âgée de 1 mois (Copyright Verena)



Photographie 44 : Norvégienne ambre tabby arlequin âgée de 8 mois (Copyright Verena)

Enregistrée black tabby arlequin, la vraie couleur de Princess n'a été identifiée qu'à l'âge de 5 mois. Un éleveur inexpérimenté peut facilement s'y faire prendre avec autant de blanc. Huit mois plus tard avec l'évolution de la couleur, plus de doute possible !

C. Etude du déterminisme génétique de la couleur ambre

1. Déterminisme monogénique récessif

La couleur ambre se transmet toujours entre deux individus de phénotype noir -ou dilué ou silver ou roux- (Figure 29), entre un individu ambre et un noir ou entre deux individus ambre, suggérant un **déterminisme récessif et monogénique** (Tableau 18).

MARIAGE (n)	Chatons Phénotypes	FEMELLE		MÂLE	
		AMBRE	WT	AMBRE	WT
Ambre x ambre (20)		44	0	45	0
WT non-porteur x ambre (20)		0	54	0	48
WT porteur x ambre (20)		25	20	23	23
WT porteur x WT porteur (14)		7	22	8	21
WT non-porteur x WT non-porteur (20)		0	42	0	45

Tableau 18 : Phénotypes obtenus lors des différents types de mariage réalisé

WT correspond au phénotype sauvage, non ambre. Entre parenthèses est indiqué le nombre de mariages considérés.

Le mariage de deux Norvégiens ambre tabby (chatterie Xanthoria's, Hollande) a autrefois semé le doute avec la naissance d'un chaton d'apparence black tabby (Utescheny, communication personnelle). Avec le recul, **ce chaton était vraisemblablement ambre uni** et non pas black tabby. Si D*Aragon aus Brötzingen a été le premier enregistré sous cette couleur en 2002, S*Taylor Hill's Cupido, fils de Wildwood's Imer a sûrement été le premier ambre uni dès février 1993, puis S*Taylor Hill's Dione la même année et S*Kattbossens Imelda en 1996. Du fait de leur ressemblance à de mauvais silver tabby, plusieurs des premiers chatons ambre solid ont été vendus en chats de compagnie et ont donc été perdus de vue.

Les chats porteurs de l'allèle *ambre* ont souvent un sous-poil couleur abricot (Utescheny, communication personnelle) et les lignées ambre comptent de nombreux chats enregistrés golden tabby (Photographies 45 & 46). Ces observations laissent suggérer une **récessivité incomplète** de l'allèle *ambre*. Il contribuerait ainsi comme les polygènes du *widebanding* à allonger la racine fauve, même chez un individu hétérozygote.



Photographie 45 : Chaton mâle « golden tabby » avec blanc âgé de 7 jours (Copyright Kowarsch)

Notez la difficulté à différencier un black tabby chaud d'un ambre tabby (Photographie 4). Pour ce faire, regarder la couleur du museau, des coussinets, des faces plantaires et palmaires en l'absence de panachure blanche.



Photographie 46 : Norvégien « golden tabby » avec blanc âgé de 8 mois (Copyright Kowarsch)

La couleur « golden tabby » du Norvégien est génétiquement et phénotypiquement différente du golden shaded et correspond à un black tabby « chaud ».

2. Déterminisme autosomal

La couleur ambre existe chez mâle et femelle et est récessive dans les deux sexes (Tableau 18). Elle n'est donc ni portée par la fraction non homologue du chromosome Y, ni limitée ou influencée par le sexe. De plus, une femelle ambre peut donner naissance à des mâles non ambre. La couleur ne se transmet pas par le gonosome X, mais par un **autosome**.

Le déterminisme génétique de la couleur ambre est **autosomal**, **non influencé par le sexe**, **récessif** et vraisemblablement soumis à l'action de **polygènes** responsables de la grande variabilité de teinte (probablement comparable au rufisme). Dans la suite du travail, l'allèle *ambre* sera représenté par la lettre **e** et l'allèle sauvage par la lettre **E**.

3. Interactions entre l'allèle *ambre* et les autres gènes de couleur du chat

Locus A : les mariages-tests entre des « museaux noirs » et des Norvégiens unis (Utescheny & Langewische, 2004) puis le dépistage génétique des « museaux noirs » pour la série *agouti* ont montré qu'ils étaient **a/a** et ont donc **définitivement prouvé l'existence de la robe ambre solid** (Utescheny/web, Balda-1/web).

Locus B : comme les allèles *chocolat* et *cinnamon* sont théoriquement absents du réservoir génétique de la race du Skogkatt, leurs interactions avec l'allèle *ambre* ne sont pas connues.

Locus C : le Norvégien ne possède que l'allèle sauvage dans cette série allélique, aucune connaissance n'est donc disponible à ce sujet.

Locus D : la première portée X-Color avait déjà prouvé l'existence de l'ambre dilué (Figure 29). Cette réalité n'a jamais été remise en question, semble-t-il, puisque déjà Iros et Imer ont été respectivement et successivement enregistrés en black, golden, chocolat, cinnamon puis ambre tabby ET en blue, blue golden, lilas, fawn puis ambre clair tabby.

Locus I : l'allèle *ambre* peut coexister avec l'allèle **I**. *S*Porfyrgårdens Scarlett Surprise* a été la première ambre silver.

Locus S : la robe ambre existe avec des panachures blanches.

Locus T : les quatre motifs tabby se rencontrent chez le Norvégien ambre.

Locus W : *NL*Norsk Suvenir Romek*, Norvégien blanc est le père de la première femelle ambre importée en France. Il est donc au moins hétérozygote pour l'allèle. Existe-t-il pour autant des individus blancs homozygotes pour l'*ambre W/-, e/e*? Ce point est impossible à vérifier à partir du phénotype. En effet, il faudrait :

- que les deux parents soient ambre. Mais si la robe d'un tel chat est blanche, au moins un des parents doit être blanc.
- ou que le mariage d'un tel chat avec un chat ambre n'engendre que des chatons ambre. Mais si il est blanc, statistiquement 50% des chatons doivent être blancs.

A l'avenir une analyse génotypique permettra peut-être d'élucider ce point. **L'allèle W est probablement épistatique sur la couleur ambre** qui n'est qu'une variante de la robe noire. Par conséquent, les individus **W/-, e/e** doivent théoriquement pouvoir exister.

Locus Wb : à ma connaissance, l'allèle **Wb** est absent du pool génétique du Norvégien chez qui la couleur golden correspond à un black tabby chaud. Ceci implique que la robe ambre golden shaded

ne devrait jamais se rencontrer chez des Norvégiens pure race, et il faut s'en réjouir car l'identification des couleurs de robe est déjà suffisamment difficile.

Locus O : S*Tailor Hill's Dione a été la première femelle ambre écaillé en 1993. Le mariage d'une femelle ambre écaillé et d'un mâle ambre a engendré deux chatons orange (Vinot, communication personnelle). Ces deux chatons sont homozygotes pour l'*ambre* mais ne l'expriment pas : **l'orange est donc épistatique sur l'ambre**, ce qui était prévisible puisque l'ambre n'est rien d'autre qu'une variante de la robe noire.

D. Analyse critique des hypothèses envisagées pour l'ambre

Les **couleurs interdites** par le standard ont rapidement été envisagées pour expliquer le phénomène X-Color. Les éleveurs de Norvégiens n'étaient en effet pas habitués à ces couleurs et n'étaient par conséquent pas forcément capables d'en faire la distinction. De plus, la sélection des années 90 s'est tournée vers l'accentuation du type avec des Norvégiens « orientalisés » (von Ritter, 1988). En assistant à l'émergence des Norvégiens X-Color, il n'y avait qu'un pas à effectuer pour suspecter des accouplements clandestins avec les races orientales dont le réservoir de couleurs est impressionnant ! Ceci explique ce foisonnement d'hypothèses dont les fondements scientifiques étaient parfois **irréalistes**.

1. Les Norvégiens ambre sont-ils écaillé ?

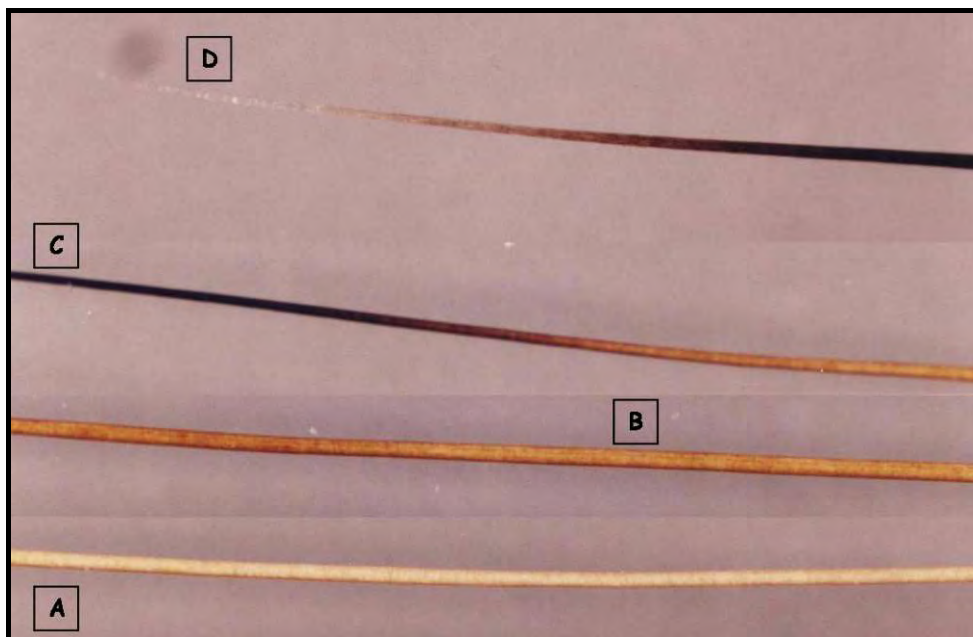
En 1992, certains pensaient que les deux premiers X-Color étaient torbie et qu'un des pères avait été accidentellement orange. L'existence de mâles écaillé a certes déjà été rapportée mais ils sont presque systématiquement stériles, ce que n'était pas Wildwood's Imer. L'allèle *orange* n'était pas présent dans la portée qui l'a vu naître (Figure 29) et Imer ne s'est pas reproduit comme un chat orange, ce qui écarte les hypothèses de chimérisme et de mutation spontanée somatique de l'allèle X^O . De plus, le caractère est transmis indépendamment du chromosome X et de nombreux vestiges eumélaniques attestent de son **statut génétiquement noir** (et non orange), ce qui exclut une translocation du locus X^O sur un autre chromosome.

Même la répartition des plages orange correspondant strictement aux régions agouti est troublante. L'explosion des naissances X-Color qui a suivi a définitivement rayé cette hypothèse des esprits.

2. Est-ce le fruit du rufisme ?

Universellement répandu dans toutes les races, le rufisme est un défaut bien connu. Les éleveurs et les juges internationaux ont rapidement écarté cette possibilité en observant **l'évolution de la couleur**. Confronté aux analyses microscopiques (Photographie 47), le rufisme n'explique pas la pointe transparente. De plus, le fait marquant du poil ambre est la **longueur de la racine fauve** plus que sa couleur, alors que le rufisme correspond à des variations de teinte de la phaeomélanine, allant du jaune gris au brun rouge.

L'ambre ne concerne qu'une seule lignée de Norvégiens, avec une évolution systématiquement identique et un déterminisme **monogénique et récessif**. Cette couleur n'a définitivement rien à voir avec le rufisme polygénique, défaut très répandu dans la race du Norvégien pour qui aucune sélection n'est menée sur la couleur et dont l'évolution chez un chat est incomparable à celle de l'ambre.



Photographie 47 : Un poil ambre tabby en microscopie optique (Copyright Lorimer)

L'organisation des strates pigmentaires dans le poil ambre tabby comprend une longue racine crème (1/3 de la longueur du poil) (A), une longue bande orange brun (B), une bande brune évoluant vers le noir (C) et souvent une pointe transparente. Cette organisation générale varie en fonction des individus et de la région de prélèvement (Lorimer-2/web).

Cette étude microscopique apporte des éléments intéressants mais doit être analysée prudemment. En effet, le protocole n'est pas connu, on ne sait pas sur combien d'individus elle a porté, quelles étaient les couleurs (tabby ou non, silver ou non ...), où ont été prélevés les poils et à quel âge. De plus aucune information n'est disponible concernant l'identité des chats donc l'étude généalogique est impossible.

3. Serait-ce la couleur chocolat/lilas ?

Agés d'un an, Wildwood's Imer et Iros ont respectivement été réenregistrés en lilas et en chocolat : la récessivité de cet allèle concordait avec les observations du terrain et des Persans ou des Orientaux chocolat auraient pu s'infiltrer dans la race par le biais des novices. **Toutefois cette hypothèse manque de réalisme car le phénotype ambre et son évolution ne rappelle en rien la couleur chocolat**, que ce soit chez l'adulte ou chez le chaton, et n'explique en rien non plus les observations microscopiques (Photographie 47). L'hypothèse eut son heure de gloire jusqu'en 1998, date à laquelle les mariages-tests ont mis fin à l'ère du Norvégien chocolat.

4. Ou bien cinnamon/fawn ?

Ce n'est qu'en 1998 que cette hypothèse a ouvertement été émise après avoir trouvé des similitudes macroscopiques et microscopiques avec ces couleurs chez l'Abyssin (Erikers *et al.*, 1998). De plus, le *cinnamon* est récessif et le sang du Somali coule vraisemblablement dans les veines de certains Norvégiens actuels et aurait pu apporter l'allèle *cinnamon* simultanément à l'allèle *ticked*. Les chats ambre présentent des poils foncés sur la ligne dorsale et la queue qui peuvent rappeler un vestige de *ticked*.

Toutefois ces vestiges existent aussi sur les robes ambre tabby non *ticked*, alors que l'allèle *ticked* dominant ne s'exprime pas simultanément à un autre patron tabby. De plus, **la robe cinnamon ne subit pas la même évolution et n'a aucun poil ou autre vestige foncé** : coussinets, truffe, contour des yeux, pointe des poils (Photographie 47). L'ambre ne présente pas non plus la

teinte du cinnamon, plus terne à mon goût et sans reflet métallique. Enfin, Babuschka, mère de l'ambre n'a aucun ancêtre ticked et ses ancêtres ne sont pas en parenté directe avec des descendants ticked. Les **mariages-tests** ont définitivement laissé cette hypothèse aux oubliettes (Utescheny & Langewische, 2004).

a. Le premier mariage test

S*Kattbossens Ludmilla (enregistrée « cinnamon » spotted) a été mariée à un mâle Somali fawn ticked b' / b' , $T^a / -$, et l'union engendra deux femelles ticked, noire et bleue (Figure 33). Ce mariage confirme que les chats ambre ne sont **ni chocolat, ni cinnamon** et **écarte également la possibilité d'un nouvel allèle muté au locus *brown***, hypothèse non négligeable puisqu'il existe dans le règne animal une grande variabilité du pigment eumélanique, allant du noir au beige (Aubin Houzelstein, 1997). En effet, si l'allèle *ambre* était une mutation au locus *brown* :

- récessive à l'allèle *cinnamon*, on aurait obtenu des chatons cinnamon et/ou fawn.
- dominante à l'allèle *cinnamon*, on aurait obtenu des chatons ambre.
- codominante à l'allèle *cinnamon*, on aurait alors obtenu un mélange entre ces deux couleurs qui ne ressemble probablement pas à du noir ou du bleu.

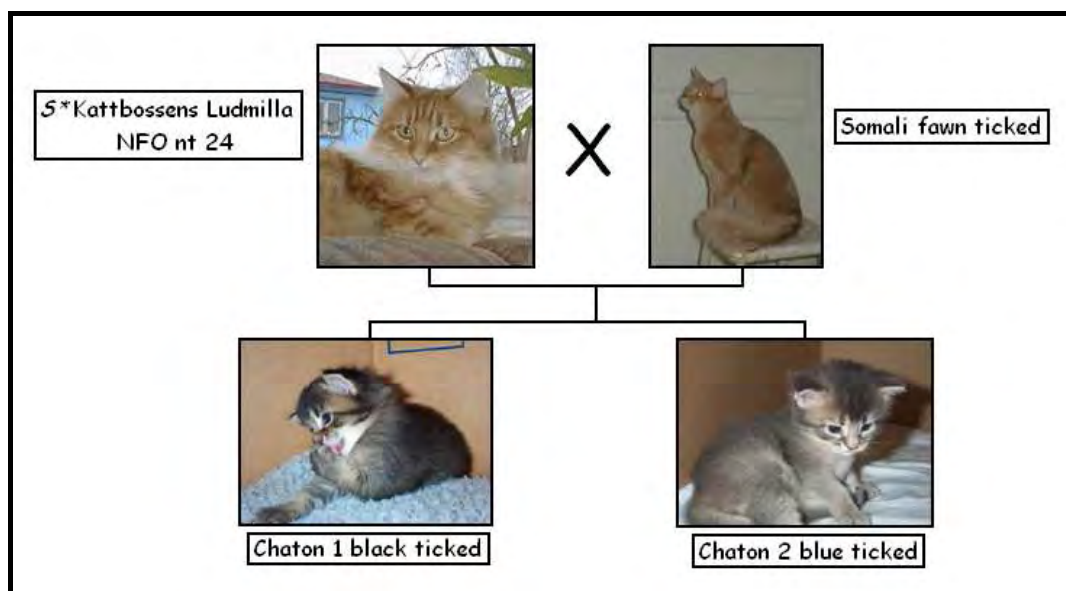


Figure 33 : Résultat du premier mariage-test

Les Norvégiens ambre sont donc **génétiquement noirs** et un allèle indépendant de la série *brown* transforme la robe noire. Ceci a été confirmé depuis par le **dépistage moléculaire** de la série allélique *B* chez un Norvégien X-Color. Le chat en question est homozygote B^+ / B^+ , statuant définitivement qu'il est génétiquement noir (Balda-2/web).

b. Les mariages-tests suivants

Bien que la présence du ticked chez les chatons atteste en partie de la paternité, les opposants avancèrent que le mariage avait été truqué, ce qui conduisit à d'autres mariages-tests. D*Kalahari vom Arlesbrunnen (enregistrée « cinnamon » spotted) saillie par un Sacré de Birmanie chocolat donna naissance à quatre chatons, trois noirs et un bleu, tous mackerel ou blotched. En

plus de conforter les conclusions précédentes, **ce résultat écarte l'hypothèse d'une nouvelle mutation sur le locus *colour***.

Un mariage a été conduit en F1 entre deux frère et sœur black blotched tabby, de génotype $A^+/a, B^+/b, C^+/c^s, s^+/s^+, t^b/t^b, E^+/e$, et engendra deux chatons black blotched tabby, un chaton seal point blotched tabby et blanc, un chaton chocolat et blanc et un chaton X-Color (ambre) blotched tabby et blanc (Figure 34, tableau 19). Ce résultat n'apporte donc rien de nouveau. Notons toutefois l'apparition de médaillon et de gants blancs alors que les deux parents étaient sans blanc. Il s'agit vraisemblablement de white locket, caractère récessif qui proviendrait du grand-père, Sacré de Birmanie, même si des mariages-tests auraient montré que le gantage serait un caractère à dominance incomplète (Vella *et al.*, 1999).

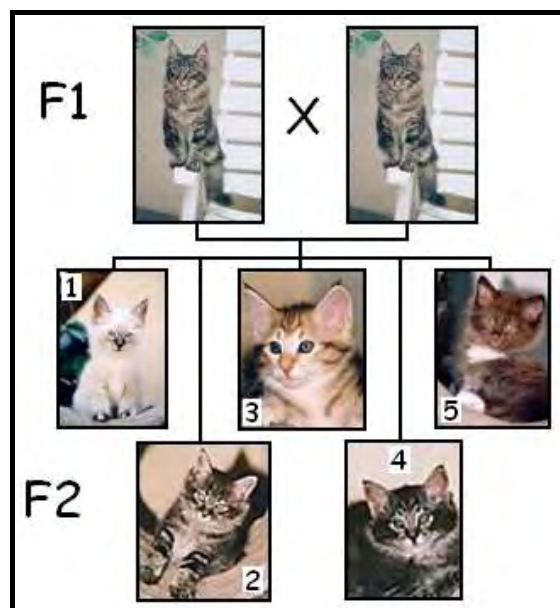


Figure 34 : Résultat du troisième mariage-test

Parents black blotched tabby
 Chaton 1 = seal point blotched tabby et blanc
 Chaton 2 = black blotched tabby
 Chaton 3 = ambre blotched tabby et blanc
 Chaton 4 = black blotched tabby
 Chaton 5 = chocolat et blanc

GENOTYPE PARENTS (F1)	$A^+/a, B^+/b, C^+/c^s, s^+/s^+, t^b/t^b, E^+/e$	
GENOTYPE CHATONS (F2)	Black blotched tabby	$A^+/-, B^+/-, C^+/-, s^+/s^+, t^b/t^b, E^+/-$
	Seal point blotched et blanc	$A^+/-, B^+/-, c^s/c^s, s^+/s^+, t^b/t^b, E^+/-$
	Chocolat et blanc	$a/a, b/b, C^+/-, s^+/s^+, t^b/t^b, E^+/-$
	Ambre blotched et blanc	$A^+/-, B^+/-, C^+/-, s^+/s^+, t^b/t^b, e/e$

Tableau 19 : Phénotypes et génotypes des chatons nés du 3^{ème} mariage test

5. Pourquoi pas la couleur golden shaded ?

Même si certaines caractéristiques de la robe et les analyses microscopiques concordent en partie, le phénotype golden shaded du Persan n'a jamais été décrit et l'allèle *Wb* est théoriquement absent du pool génétique du Chat des Forêts Norvégiennes. Cet allèle est dominant (à pénétrance variable) alors que l'allèle *ambre* est **récessif**.

De plus les chats golden shaded ont une truffe cerclée d'un liseré noir, absent chez le Norvégien ambre tabby. De même, les robes **ambre silver** existent mais ne ressemblent en rien au silver shaded ou au chinchilla. L'existence de la robe **ambre unie** est aujourd'hui confirmée, ce qui invalide encore l'hypothèse du *widebanding* qui ne s'exprime que sur les robes tabby !

Ce dernier argument interpelle et écarte également le fait qu'il puisse s'agir de black tabby très chauds, comme certains éleveurs l'ont proposé. En effet, **comment parler de black TABBY**

chaud sur des individus arborant des robes unies ? D'ailleurs ce phénotype « chaud » est lié à des polygènes, déterminisme génétique différent de celui de la robe ambre.

La chatterie hollandaise van Moraja entreprit un mariage entre une Persane golden shaded et un Norvégien ambre tabby : la Persane mit au monde une femelle de type golden tabby (Kerkhoff/web). En envisageant l'*ambre* comme une mutation sur le même locus que le *widebanding*, compte tenu de la récessivité de l'*ambre* et de la dominance de *Wb* sur la couleur sauvage, l'allèle *Wb* devrait être dominant sur l'allèle *ambre* : le mariage pouvait donc engendrer des chatons golden shaded ou black tabby plus ou moins chauds, mais sûrement pas ambre (la mère étant de race Persane, la probabilité pour elle de porter l'allèle *ambre* était faible voire nulle). Le résultat du mariage n'apporte finalement **aucun élément réellement nouveau**, si ce n'est que les deux parents et le chaton avaient tous un phénotype différent.

Des juges conseillèrent à Sylvia Erikers de réenregistrer Imer et Iros en golden tabby à l'âge de 4 mois. Cette hypothèse est toutefois difficile à analyser, à cause du cadre très flou de cette couleur dont **le support génétique est probablement multiple et encore inconnu**.

Chez le chat, la **truffe** pourrait être un critère distinctif : dans les teintes golden (non shaded), certains chats ont une truffe couleur rouge brique et cerclée d'un liseré eumélanique, d'autres ont une truffe rose sans liseré. Tous sont pourtant enregistrés en golden tabby. Chez le Norvégien, les premiers sont dits black tabby chauds ou par abus de langage golden tabby et les seconds sont dits ambre. La couleur « golden à truffe rose » observée dans d'autres races est-elle génétiquement similaire à l'ambre du Norvégien ?

6. Ou la couleur caramel ?

Fin 2001, Madsen proposa l'allèle *modificateur de dilution*¹⁷ pour expliquer l'ambre. En effet, l'allèle *Dm* est dominant mais ne s'exprime que chez un chat dilué. Or l'allèle de dilution est récessif, ce qui pouvait expliquer pourquoi la transmission de la couleur semblait récessive. De plus, l'expression de *Dm* n'est connue que chez les races orientales à pelage court qui auraient pu être utilisées à tort pour « orientaliser » le type du Skogkatt dans les années 90. Chez le Norvégien, le phénotype aurait pu s'exprimer différemment à cause des poils longs (Madsen-2/web).

Si pour Madsen, l'ambre se rapproche du caramel par certains aspects (reflets métalliques, couleur des coussinets, évolution de la teinte), pour d'autres, les Norvégiens ambre ne rappellent en rien le caramel (Gullaud/web) ou seulement les robes ambre diluées (Fiedler, 2002). **Cette hypothèse ne fait donc pas l'unanimité et laisse de nombreuses questions sans réponse.**

- Comment expliquer l'existence de la couleur ambre non diluée alors que l'allèle *Dm* n'a d'action que sur les robes diluées ?
- Comment expliquer qu'on fasse si facilement la différence entre les couleurs ambre et ambre clair alors qu'il est très difficile de faire la différence entre les différentes nuances de caramel ?
- Comment expliquer l'épistasie du pigment orange sur l'ambre alors que le *modificateur de dilution* transforme le crème en abricot ?

Quoiqu'il en soit, si l'allèle en cause était *Dm*, la couleur ambre serait apparue beaucoup plus tôt. En effet, Isis et Frøy Sparetta av Æsene étaient blue tabby et portaient l'allèle *ambre*. L'allèle *Dm* étant dominant, ces chattes n'auraient pas dûes être blue tabby mais ambre tabby !

¹⁷ L'ambre a initialement été appelé noir modificateur (Utescheny & Langewische, 2004), à différencier du gène *modificateur de dilution*.

7. S'agit-il de glitter ?

a. Le tip transparent

La présence de ce tip transparent interpelle (Lorimer-2/web, photographie 47). Initialement décrit chez le chat de race **Bengal** et qualifié de **glitter** pour l'aspect brillant qu'il donne à la couleur, il est depuis également connu dans les races **Bleu Russe** et **Chausie**. Son déterminisme génétique est récessif et le gène du glitter intervient probablement dans la synthèse d'eumélanine en tout début d'anagène (pointe dépigmentée). Sous le microscope, le glitter apparaît comme un « trou d'air » entourant la couleur du poil. Il est parfois décrit comme une bulle d'air, presque comme le cristal et réfracte la lumière (Kerr, 1997).

Conclure que le Norvégien ambre descend du Bengal serait un raccourci trop facile et très probablement erroné. Le Bengal né en Californie en 1963 à partir d'un chat-léopard d'Asie et d'un American Shorthair est devenu depuis un melting-pot félin. La race est reconnue par la TICA en 1991, par le LOOF en 1997 et ne l'a été que dernièrement par la FIFe (Paragon & Vaissaire, 2003). Les premiers Bengals n'ont été importés en Europe qu'en 1991 et sont donc arrivés en Scandinavie bien après la naissance de Kløfterhagens Babuschka (1981), voire même après les deux premiers Norvégiens X-Color.

L'origine de ce tip transparent est complètement ignorée chez le Bleu Russe alors que le gène chez le Chausie est supposé descendre du *Felis chaus*, chat sauvage africain, avec un ancêtre commun possible avec le Bengal. **Le mariage entre Chausie et Norvégien est des plus improbables**, car les adeptes de cet hybride récent n'ont aucun intérêt d'y introduire l'allèle / (poil long), sans compter la probabilité nulle de trouver un tel chat en Scandinavie durant les années 80-90 et le peu d'intérêt qu'aurait bien eu un éleveur de Norvégiens d'introduire cette race encore instable et au standard complètement opposé !

b. Norvégiens et Bleus Russes

Début des années 80, un club indépendant allemand enregistra la descendance de deux Bleus Russes D*Punny et D*Bommy vom Freyhof en Norvégien et **leurs deux descendants, Bleus Russes, ont été utilisés comme reproducteurs Norvégiens.**

Il s'agissait vraisemblablement d'un stratagème pour pouvoir introduire l'allèle / (poil long) dans le pool génétique du Bleu Russe. En effet, une chasse à outrance et les guerres ont bien failli aboutir à l'extinction du Nebelung (Bleu Russe à poil long), quasi éteint depuis 1870. Dans ce contexte plusieurs éléments deviennent troublants. Sauvé de justesse de l'extinction, une sélection stricte du Nebelung a commencé à la même époque où la chatterie vom Freyhof a fraudé. On ne retrouve aucune trace de cet élevage ni du club ou des chats dans les bases de donnée, à croire que toutes les preuves se sont évaporées. Depuis cette période, d'autres couleurs ont d'ailleurs été autorisées dans le standard du Bleu Russe, notamment le noir et le blanc uniforme, forcément issus d'autres races. Les années 80-90 ont également vu une sélection du Norvégien vers un type plus longiligne (« orientalisé ») et la confusion entre un Norvégien Bleu « allongé » et un Nebelung n'est pas impossible pour un œil non averti.

Vraisemblablement le Norvégien aurait donc pu être utilisé dans l'ombre pour sauver le Nebelung. La consanguinité étroite pratiquée dans cette lignée pourrait s'expliquer par la volonté de fixer l'allèle / à l'état homozygote sur une robe bleue et d'obtenir un pseudo Nebelung à partir du Norvégien (D*Olsok fra Drømmeskogen, né en 1983 issu de ce courant sanguin, coefficient = 26,2% (Swepston-4/web)). Race récente dont la reconnaissance date de 1976 en FIFe, les

classes novices du Norvégien ont été ouvertes jusqu'à la fin des années 80 et étaient probablement moins intransigeantes que celles du Bleu Russe qui avait déjà été dénaturé par l'apport de sang Siamois.

c. Origine du tip transparent chez le Norvégien ambre

Ce tip transparent décrit par Lorimer provient donc probablement du Bleu Russe. Mais le mystère n'en est rendu que plus complexe. En effet le tip transparent n'explique pas la couleur, et pour cause la couleur ambre ressemble-t-elle au bleu nébuleux du Bleu Russe ? **Un autre gène est vraisemblablement responsable de la longue racine fauve.**

Tous les Norvégiens ambre actuels proviennent de Babuschka dont tous les ancêtres connus étaient de purs Norvégiens. Certes certains Norvégiens ambre présentent ces chats Bleus Russes très loin dans leur pedigree, mais ils sont une minorité et chez ces derniers l'allèle *ambre* est un héritage indépendant, provenant d'une des trois filles de Babuschka.

Cette pointe transparente provient probablement du Bleu Russe et serait plus répandue qu'on ne le pense, surtout si les incidents similaires ont été nombreux. Elle ne serait donc **pas une marque spécifique** de l'ambre comme on l'a cru au départ, d'autant plus qu'elle n'est pas systématiquement présente. L'observation de ce **tip transparent sur des poils de Norvégiens non ambre et descendants de ces Bleus Russes** conclurait définitivement que les deux caractères sont indépendants.

8. La couleur ambre correspond-t-elle à une nouvelle mutation au locus *agouti* ?

La longue racine fauve du poil ambre pourrait être codée soit par l'allèle *Wb* associé à des polygènes, soit par une **nouvelle mutation au locus *agouti*** (Lorimer-2/web), associés au gène du tip transparent. L'hypothèse du golden shaded a d'ores et déjà été écartée (truffe rose sans liseré, déterminisme récessif, existence de Norvégiens ambre solid).

Le contrôle génétique du switch de la mélanogenèse fait intervenir **deux gènes majeurs**, *agouti* et *extension*. La protéine *agouti* est un antagoniste compétitif de l' α -MSH (Figure 11) et altérerait aussi le couplage avec la protéine *G* ou provoquerait l'internalisation des MC1-R (Ollmann *et al.*, 1998) ce qui oriente vers la phaeomélanogenèse. Plusieurs mutations sont décrites sur le locus *agouti* de la souris (Tableau 20).

ALLELES		PHENOTYPE			
Symbole	Nom	Pelage	Viabilité si homozygote	Pléiotropie	Expressivité variable
<i>A^y</i>	<i>lethal yellow</i>	Jaune	Non	Oui	Non
<i>A^{vy}</i>	<i>viable yellow</i>	Jaune à pseudo-agouti	Oui	Oui	Oui
<i>A^{iapy}</i>	<i>intracisternal particle yellow</i>	Jaune à pseudo-agouti	Oui	Oui	Oui
<i>A^{iy}</i>	<i>intermediate yellow</i>	Jaune moins intense	Oui	Oui	Non
<i>A^{sy}</i>	<i>sienna yellow</i>	Jaune foncé (poil jaune à pointe noire)	Oui	Oui	Non
<i>A^w</i>	<i>white bellied agouti</i>	Dos agouti, ventre blanc à jaune	Oui	Non	Non
<i>A⁺</i>	<i>agouti</i>	Agouti	Oui	Non	Non

Tableau 20 : Principales mutations murines donnant une robe jaune dominante (d'après Aubin Houzelstein, 1997)

Outre la couleur fauve, l'apparence tabby de tous les chats ambre et la confusion des chatons ambre unis avec des chatons black tabby ont longtemps déconcerté le monde du X-Color et aurait pu s'expliquer par une nouvelle mutation au locus *agouti*. Néanmoins les allèles « robe jaune » sur le locus *agouti* murin sont **dominants et pléiotropes** (Searle, 1968) contrairement à l'allèle *ambre*. Ces mutations du gène *agouti* codent pour une protéine agouti normale mais surexprimée. Cette surproduction de protéine agouti provoque une surfixation au MC1-R expliquant la robe jaune, mais aussi une surfixation au MC4-R responsable d'effets pléiotropes (Wolff, 2003) : obésité, diabète II, baisse de fécondité chez la femelle, prédisposition à développer certaines tumeurs ...

Depuis les observations microscopiques, les **mariages-tests** (Utescheny & Langewische, 2004) puis le **dépistage génétique** pour la série *agouti* ont confirmé l'existence de la robe ambre unie : les Norvégiens ambre à truffe rose sont tabby, A^*/A^* ou A^*/a , et ceux à truffe noire sont tous a/a (Utescheny/web). L'allèle *ambre* n'est donc pas une nouvelle mutation au locus *agouti*.

Compte tenu de l'**origine unique** de l'ambre et de son apparente inexistence dans d'autres races, j'ai privilégié l'hypothèse d'une nouvelle mutation de déterminisme **autosomal récessif** et active sur toutes les couleurs, excepté le blanc et l'orange. L'épistasie de l'allèle *orange* sur l'allèle *ambre* prouve que les deux couleurs sont bien différentes : l'ambre correspondrait à un pigment riche en soufre différent du trichochrome, tel que la **phaeomélanine**.

Robe fauve récessive mais génétiquement noire, l'ambre pourrait correspondre à la première mutation féline du locus *extension* et qui coderait pour un récepteur à l' α -MSH partiellement inefficace. De plus, les allèles du gène *extension* ne s'expriment que dans les **mélanocytes folliculaires** mais aucunement dans les mélanocytes épidermiques et ont des **interactions complexes avec les allèles de la série *agouti*** (Aubin Houzelstein, 1997), caractéristiques également observées chez les Norvégiens ambre.

II. Identification du support génétique de la couleur ambre

La plupart du temps, l'identification du gène responsable d'un phénotype donné débute par une **étude comparative** du phénotype mutant en utilisant les connaissances disponibles dans les autres espèces animales (ou humaine) afin de proposer un **gène candidat** (dans notre cas, le gène *extension* ou *MC1R* codant pour le melanocortin receptor de type 1). On détermine ensuite la **localisation approximative** du locus muté par analyse de liaison dans des familles d'individus où ségrège le caractère. L'utilisation des groupes de syngénie conservés entre espèces facilite l'identification des gènes candidats. Il reste ensuite à déterminer la séquence complète du gène dans l'espèce étudiée par **séquençage moléculaire**.

Comme la séquence wild-type du *MC1R* félin (code d'accès : AY237395, annexe 4) était déjà connue (Eizirik *et al.*, 2003), nous avons directement pu recourir à un **séquençage** pour déterminer l'enchaînement exact en nucléotides de ce gène chez des individus de couleur ambre. Cette étape était précédée d'une **amplification génique** par PCR. Dans un second temps, nous avons déterminé le génotype des individus étudiés en développant un test de **PCR-RFLP associé**, qui est désormais réalisé et commercialisé par le LVD 69 pour faciliter la sélection dans cette couleur.

Nous avons finalement contacté le Professeur Gilbert Deléage, Directeur de l'Institut de Biologie et de Chimie des Protéines (IBCP, Lyon) en proposant la réalisation d'une **modélisation** des MC1-R félins sauvage et muté, pour évaluer les effets moléculaires possibles de la mutation *ambre* identifiée par séquençage. Cette collaboration a abouti à un **article sous presse** dans la revue *Animal Genetics* (Annexe 5).

A. Matériel

1. Echantillons

Nous avons constitué une collection de plusieurs échantillons (sang et/ou poil). L'étude a été limitée à 3 chats témoins, 2 Norvégiens non porteurs et 1 Européen, car Eizirik *et al.* (2003) n'ont montré aucun polymorphisme du *MC1R* sur 43 chats issus de plusieurs races différentes. Nous disposons également de 4 échantillons de chats Sibériens (« golden tabby » à truffe rose) et de 69 échantillons de Norvégiens ambre¹⁸ ou porteurs (Tableau 21, annexes 6A & 6B).

Un Norvégien est considéré comme ambre par apport à sa couleur et considéré comme porteur s'il est issu d'au moins un parent ambre ou s'il a engendré des chatons ambre. Un Norvégien non porteur est un chat de couleur classique dont l'étude généalogique ne permet pas de remonter à la femelle fondatrice, Kløfterhagens Babuschka.

TOTAL	STATUT		PAYS D'ORIGINE	ECHANTILLONS
	Chats non porteur	3	2 NFO, 1 Européen (France)	Sang (2), poil (1)
	Sibérien golden	4	Allemagne	Sang (2), poil (2)
	NFO ambre	33	Suède (25), Allemagne (41), Hollande (3)	Sang (23), Poil (46)
	NFO porteur	36		
	76			

Tableau 21 : Bilan des échantillons félins dont le *MC1R* a été étudié

¹⁸ Tous ces Norvégiens sont apparentés plus ou moins loin dans la généalogie car l'ambre est une couleur encore jeune.

2. Matériel expérimental

a. Les amorces

Les amorces sont des **oligonucléotides**, capables de **s'hybrider spécifiquement** sur le brin d'ADN de séquence complémentaire, et choisis de façon à **encadrer et à délimiter la séquence d'ADN à amplifier**. Les amorces doivent être :

- de petite taille (~ 20bp) permettant une hybridation rapide et avec une séquence unique.
- de GC% (pourcentage en guanine et cytosine) supérieur à 50%. Les amorces débutent et se terminent préférentiellement par une guanine ou une cytosine.
- de T_m (température de fusion) équivalentes. Elle est calculée en fonction du nombre de liaisons hydrogènes donc de leur composition en nucléotide : leur longueur et leur GC% doivent donc être sensiblement voisins.
- de plus, elles ne doivent pas former de structures secondaires, ni posséder de complémentarité entre elles (formation de dimères).

Plusieurs amorces (sens et antisens) ont été utilisées : s1, as2, s3, as4, s5 et as6 (Figure 35). Elles ont été synthétisées par EUROGENTEC en Belgique, leurs séquences sont confidentielles.

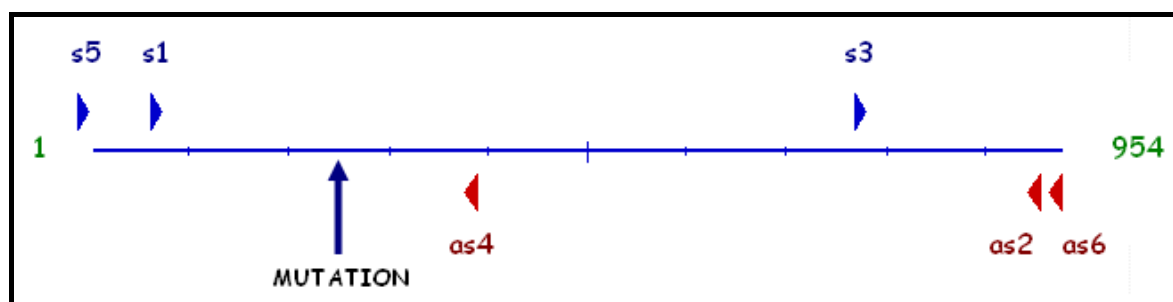


Figure 35 : Position des différentes amorces sur le *MC1R* du chat domestique

b. Kits d'extraction et réactifs

L'ADN génomique a été extrait à partir de prélèvements sanguins (NucleoSpin Blood® Quick Pure, Macherey Nagel) ou à partir de poils (NucleoSpin Tissue® XS, Macherey Nagel) (Annexes 7A & 7B).

Les réactifs utilisés pour la réaction PCR, la restriction enzymatique (PCR-RFLP) et l'électrophorèse de contrôle des amplifiats sont présentés en annexe 7C.

B. Méthode

1. Prélèvements sanguins et pileux

Les échantillons sanguins ont été réalisés par les vétérinaires traitants : 2 à 3 mL sur tube EDTA avec un envoi rapide après le prélèvement et sans précaution particulière (excepté le rembourrage et l'imperméabilité).

Les échantillons pileux ont été réalisés par les éleveurs après envoi d'une notice explicative (Annexe 8). Les précautions exigées dans la réalisation du prélèvement ont été :

- **d'arracher les poils** (et non pas de broser) pour avoir le follicule pileux, contenant les seules cellules du poil.
- de prélever des poils courts plus faciles à scotcher et à utiliser.
- **de scotcher ces poils par la pointe** sur une feuille pour faciliter l'utilisation de l'échantillon.
- **de séparer chaque prélèvement** (enveloppe, pochette plastique) pour éviter les contaminations.

La plupart des prélèvements (sang et poils) a été bien réalisée, ils ont été envoyés sans précaution particulière, puis stockés à **+4°C** jusqu'à l'extraction de l'ADN.

2. Extraction de l'ADN génomique

a. Extraction manuelle à partir du sang

On utilise le kit **NucleoSpin Blood® Quick Pure** avec trois étapes successives (Annexe 7A) :

- Lyse cellulaire et digestion des protéines
- Extraction de l'ADN
- Mise en solution de l'ADN extrait : l'ADN est récupéré dans l'éluat, sous un volume de 50 μL .

b. Extraction manuelle à partir du poil

On utilise le kit **NucleoSpin Tissue® XS** pour optimiser la faible quantité d'ADN disponible dans les échantillons pileux. Les étapes sont les suivantes (Annexe 7B) :

- Prélyse
- Lyse cellulaire et digestion des protéines
- Extraction de l'ADN
- Mise en solution de l'ADN extrait : l'ADN est récupéré dans l'éluat, sous un volume de 20 μL .

3. Amplification génique du *MC1R* félin

a. Préparation du mélange réactionnel (MIX) et ajout de l'ADN

Les réactifs sont décongelés puis centrifugés sauf la Taq polymérase qui est sortie au dernier moment. On identifie ensuite les tubes eppendorf et on réalise le mélange réactionnel (MIX) en y introduisant les réactifs (Tableau 22).

Dans chaque tube, le volume du MIX constitué est de 58 μL auquel on ajoute 2 μL d'ADN dans un second temps à l'aide de pipettes munies de cône à filtre (sauf dans le tube servant de témoin négatif où il est remplacé par 2 μL d'eau).

Les tubes sont finalement centrifugés un court instant afin d'homogénéiser les mélanges.

REACTIFS	Concentration finale souhaitée	Volume à ajouter dans chaque tube (μL)	+ 2 μL ADN extrait
H ₂ O (aguantant)	Qsp 58 μL	42,28	
Tampon Taq (10x)	1x	6	
MgCl ₂ (25 mM)	0,8 mM	1,92	
dNTP (10 mM)	200 μM	1,2	
MC1-R sens (10 mM) ¹⁹	0,4 μM	2,4	
MC1-R antisens (10 mM) ¹⁹	0,4 μM	2,4	
Taq polymérase (1 U/ μL)	0,03 U/ μL	1,8	
TOTAL		58	

Tableau 22 : Composition finale du mélange réactionnel

b. Nested PCR et semi-nested PCR

Selon le résultat de la première amplification (follicules pileux pauvres en ADN, sangs hémolysés pour lesquels la quantité de matériel amplifié était insuffisante), nous avons parfois été contraints à réaliser une **nouvelle amplification** en changeant le couple d'amorces, par nested PCR (Figure 36) ou par semi-nested PCR (Figure 37) et/ou à utiliser des **extraits d'ADN dilués** au dixième (en cas de suspicion d'éléments inhibiteurs de la PCR dans l'extrait d'ADN).

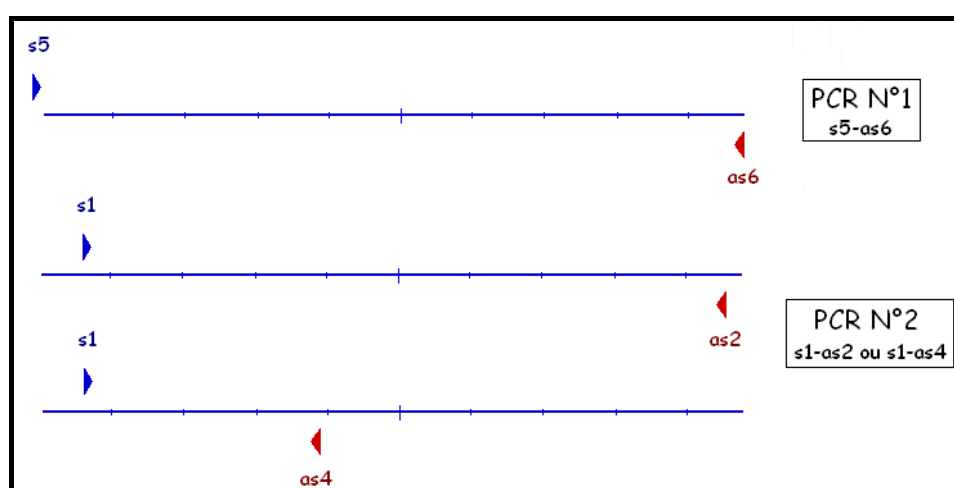


Figure 36 : Couples d'amorces utilisés pour la réalisation des nested PCR

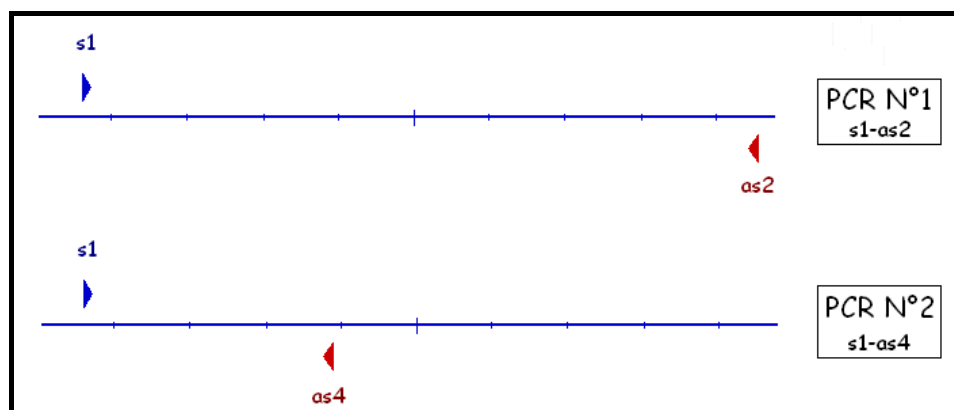


Figure 37 : Exemple de couples d'amorces utilisés pour la réalisation des semi-nested PCR

¹⁹ Les couples d'amorces sont différents en fonction de la méthode utilisée.

c. Réaction de polymérisation

Pour permettre la meilleure amplification possible, certains paramètres sont à **optimiser** : la température d'hybridation, la durée des différentes phases du cycle, le nombre de cycles et la concentration en $MgCl_2$ (Tableaux 23 & 24). Afin d'obtenir une grande quantité de matériel amplifié, nous avons réalisé **40 cycles**. Dans ces conditions, la réaction de polymérisation dure 2h43.

PHASE DU CYCLE	TEMPERATURE (°C)	DUREE (min)
Pré-dénaturation	94	3
Dénaturation	94	1
Hybridation	Voir tableau 24	1
Elongation	72	1
Elongation terminale	72	10

Tableau 23 : Paramètres optimisés du protocole d'amplification

Couples d'amorces	Concentration en $MgCl_2$ (mM)	Température d'hybridation (°C)
s1-as2	0,8	60,1
s1-as4	0,8	60,1
s3-as6	0,8	55
s5-as6	0,8	55
s5-as4	1	55

Tableau 24 : Concentration en $MgCl_2$ et température d'hybridation optimales pour chaque couple d'amorces

d. Electrophorèse sur gel d'agarose

Pour obtenir un **gel à 1,5%** on pèse 0,75 gramme d'agarose que l'on verse dans un erlenmeyer contenant 50 mL de tampon TBE (Tris Borate EDTA, 0,5x concentré), puis on y ajoute le bromure d'éthidium (BET à 1 mg/mL) pour obtenir une concentration finale de **BET de 0,5 μ g/mL**.

Dans chaque puits, on dépose un échantillon à tester (9 μ L d'amplifiat) ou le témoin négatif ou le marqueur de poids moléculaire (ladder 100 bp ou ladder 20 bp). La migration se fait sous **50 ou 100 volts** dans le tampon TBE 0,5x concentré. Le gel est ensuite placé sous un **rayonnement UV** qui permet de visualiser les fragments amplifiés sous forme de bandes rose orangée, puis le gel est photographié à l'aide d'un **appareil polaroid**.

4. Séquençage moléculaire

Il a été sous-traité par des prestataires de service (Cogenics / GENOME express, Grenoble et BIOFIDAL, Vaulx-en-Velin) qui ont utilisé la **méthode enzymatique de Sanger** et ont réalisé un séquençage double brin.

Il consiste en une synthèse *in vitro* de fragments d'ADN, complémentaires du fragment à séquencer, qui se termine après l'incorporation d'un **ddNTP** (2',3' di-désoxyribonucléotide). Chaque ddNTP est lié à un **fluorochrome** différent. Après séparation par électrophorèse capillaire des molécules ainsi marquées, un photomètre laser couplé à un programme informatique permet d'identifier le nucléotide en 3' terminal.

La séquence est retranscrite sous forme d'un **électrophorégramme** : c'est la courbe graphique représentant le pic d'absorption obtenu pour chaque fluorochrome lié à son nucléotide ; le pic de chaque nucléotide est visualisé d'une couleur différente (G = noir, C = bleu, A = vert, T = rouge). En considérant la couleur des différents pics, le programme identifie la séquence nucléotidique, cette dernière est ensuite vérifiée et validée par l'opérateur.

5. PCR-RFLP

Deux enzymes de restriction ont été utilisées sur les produits PCR obtenus avec le couple d'amorces s1-as4 pour les analyser en PCR-RFLP : **Bst XI**, **fastdigest** (FERMENTAS) et **Hpy 188I** (NEW ENGLAND BIOLABS). Le protocole de la RFLP est présenté dans le tableau 25.

ETAPES	REACTIFS	Bst XI, fastdigest (μL)	Hpy 188I (μL)
1	Produit PCR (s1-as4)	10	10
	Tp enzyme 10x	3	5
	Enzyme 1 U/ μL	1	1
	H ₂ O	16	34
2	Incuber à 37°C	5 min, puis ajouter 1 μL d'enzyme et laisser incuber 5 min.	60 min, puis ajouter 1 μL d'enzyme et laisser incuber encore 60 min.
3	Electrophorèse sur gel d'agarose à 2%. Déposer 13 μL de digestat et 2 μL de tampon de charge 6x concentré (bleu-sucrose).		

Tableau 25 : Protocole RFLP utilisé pour chaque enzyme de restriction

6. Modélisation

Elle a été réalisée à l'IBCP grâce au programme *Geno3D* (Combet *et al.*, 2002), **par homologie avec d'autres GPCR** dont le récepteur β_2 -adrénergique. Les potentiels électrostatiques ont été calculés avec le programme *Delphi* (Rocchia *et al.*, 2001) et les surfaces moléculaires ont été construites avec le programme *MSMS* (Sanner *et al.*, 1996).

C. Résultats

Le tableau 26 résume le nombre d'échantillons traités par séquençage et ceux traités par RFLP. La liste complète des individus testés par PCR-séquençage et par PCR-RFLP est disponible en annexes 6A et 6B.

	WILD-TYPE (2 NFO, 1 Eur.)	AMBRE	PORTEUR	SIBERIEN	TOTAL
Séquençage 954 bp	3	12	3	2	20
PCR-RFLP	0	21	33	2	56
TOTAL	3	33	36	4	76

Tableau 26 : Bilan du nombre de PCR-séquençages et de PCR-RFLP réalisés

NFO = chat Norvégien, Eur. = chat de gouttière européen

1. Amplification génique du *MC1R* félin

Les fragments obtenus par les différents protocoles PCR (avec des couples d'amorces différents) sont de la taille attendue (Tableau 27, figure 38).

AMORCES	as2	as4	as6
s1	921 bp	344 bp	
s3	215 bp		222 bp
s5		377 bp	961 bp

Tableau 27 : Taille attendue des fragments avec les différents couples d'amorces utilisés



Figure 38 : Visualisation sur gel d'agarose d'amplifiats obtenus par quelques couples d'amorces

(1) échantillon sanguin, couple s5-as6 ; (2) échantillon sanguin, couple s1-as2 ; (3) échantillon pileux, couple s1-as2 ; (4) échantillon sanguin, couple s1-as4 ; (5) échantillon pileux, couple s1-as4 ; (6) et (7) échantillon pileux traité par semi-nested PCR : couple s1-as2 (puits 6) puis couple s1-as4 (puits 7) ; (8) marqueur de poids moléculaire, ladder 100 bp.

2. Séquençage

Le séquençage complet de la région codante du *MC1R* (954 bp) de 3 chats présumés homozygotes pour l'allèle sauvage permet de confirmer la séquence sauvage (AY237395, annexe 4) rapportée par Eizirik *et al.* (2003), excepté un polymorphisme nucléotidique en position 840 (Single Nucleotide Polymorphism, SNP), **c.840T>C**²⁰ (Figure 39). Les 3 chats sont homozygotes c.840CC²¹.

<i>Felis catus</i> (AY237395)	801	CCCTCGACACCCCATCTGTGGCTGCGTCTTCAAGAACTTTAACCTCTTCC	850
07/16, Européen WT		CCCTCGACACCCCATCTGTGGCTGCGTCTTCAAGAACTTTAACCTCTTCC	
07/18, Norvégien WT		CCCTCGACACCCCATCTGTGGCTGCGTCTTCAAGAACTTTAACCTCTTCC	
08/85, Norvégien WT		CCCTCGACACCCCATCTGTGGCTGCGTCTTCAAGAACTTTAACCTCTTCC	
07/04, Norvégien A		CCCTCGACACCCCATCTGTGGCTGCGTCTTCAAGAACTTTAACCTCTTCC	
07/40, Norvégien A		CCCTCGACACCCCATCTGTGGCTGCGTCTTCAAGAACTTTAACCTCTTCC	
07/03, Norvégien P		CCCTCGACACCCCATCTGTGGCTGCGTCTTCAAGAACTTTAACCTCTTCC	
07/94, Sibérien		CCCTCGACACCCCATCTGTGGCTGCGTCTTCAAGAACTTTAACCTCTTCC	
08/83, Sibérien		CCCTCGACACCCCATCTGTGGCTGCGTCTTCAAGAACTTTAACCTCTTCC	

Figure 39 : Alignement des nucléotides 801 à 850 du *MC1R* de 8 individus génotypés et de la séquence AY237395

WT signifie wild-type, A signifie ambre, P signifie porteur d'ambre. Le SNP c.840T>C est surligné en gris, les 8 individus sont homozygotes c.840CC. La séquence nucléotidique complète du *MC1R* félin (AY237395, wild-type) est disponible dans l'annexe 4, le code accompagnant les échantillons génotypés correspond à leur numéro d'extrait (Annexe 6A).

L'amplification et le séquençage complet de la région codante du *MC1R* de Norvégiens ambre révèlent l'existence de 2 SNP, **c.840T>C** (Figure 39) et **c.250G>A**²² (Figures 40 & 41). Ce dernier SNP est absent de la séquence sauvage du *MC1R* (Figure 42). Ces observations sont confirmées sur 12 Norvégiens ambre, tous sont homozygotes c.840CC et homozygotes c.250AA.

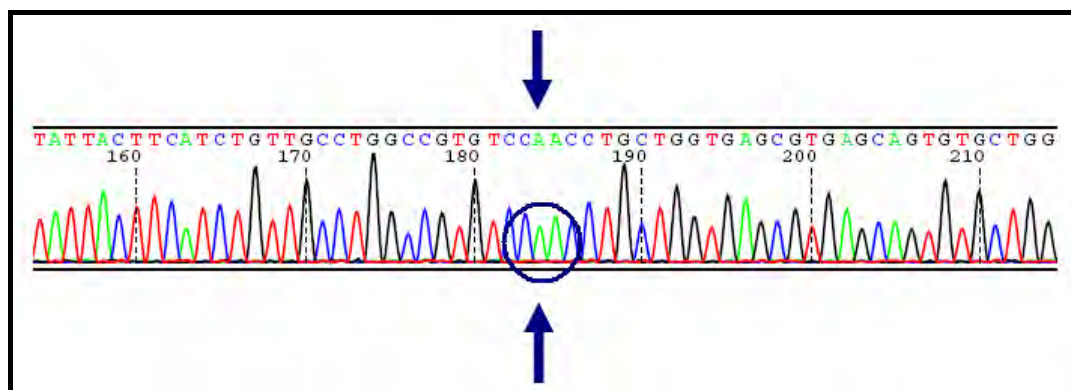


Figure 40 : Electrophorégramme partiel d'un individu homozygote c.250AA, ambre (région du 250^{ème} nucléotide)

Le nucléotide 250 est pointé par les flèches, il s'agit d'une adénine (pic vert).

<i>Felis catus</i> (AY237395)	226	TTCATCTGTTGCCTGGCCGTGTCCGACCTGCTGGTGAGCGTGAGCAAGTGT	275
07/16, Européen WT		TTCATCTGTTGCCTGGCCGTGTCCGACCTGCTGGTGAGCGTGAGCAAGTGT	
07/18, Norvégien WT		TTCATCTGTTGCCTGGCCGTGTCCGACCTGCTGGTGAGCGTGAGCAAGTGT	
08/85, Norvégien WT		TTCATCTGTTGCCTGGCCGTGTCCGACCTGCTGGTGAGCGTGAGCAAGTGT	
07/01, Norvégien A		TTCATCTGTTGCCTGGCCGTGTCCGACCTGCTGGTGAGCGTGAGCAAGTGT	
07/04, Norvégien A		TTCATCTGTTGCCTGGCCGTGTCCGACCTGCTGGTGAGCGTGAGCAAGTGT	
07/40, Norvégien A		TTCATCTGTTGCCTGGCCGTGTCCGACCTGCTGGTGAGCGTGAGCAAGTGT	

²⁰ Tout comme pour les mutants protéiques, il existe une nomenclature pour décrire les SNP : c.840T>C signifie que dans la région codante du *MC1R* (c) la thymine 840 est remplacée par une cytosine.

²¹ c.840CC signifie que l'individu est homozygote pour le variant possédant la cytosine en position 840.

²² La guanine 250 est remplacée par une adénine dans la séquence codante du *MC1R*.

07/41, Norvégien A	TTCATCTGTTGCCTGGCCGTGTCC A ACCTGCTGGTGAGCGTGAGCAGTGT
07/61, Norvégien A	TTCATCTGTTGCCTGGCCGTGTCC A ACCTGCTGGTGAGCGTGAGCAGTGT
07/65, Norvégien A	TTCATCTGTTGCCTGGCCGTGTCC A ACCTGCTGGTGAGCGTGAGCAGTGT
07/104, Norvégien A	TTCATCTGTTGCCTGGCCGTGTCC A ACCTGCTGGTGAGCGTGAGCAGTGT
08/24, Norvégien A	TTCATCTGTTGCCTGGCCGTGTCC A ACCTGCTGGTGAGCGTGAGCAGTGT
07/03, Norvégien P	TTCATCTGTTGCCTGGCCGTGTCC*ACCTGCTGGTGAGCGTGAGCAGTGT
08/26, Norvégien P	TTCATCTGTTGCCTGGCCGTGTCC*ACCTGCTGGTGAGCGTGAGCAGTGT
07/94, Sibérien	TTCATCTGTTGCCTGGCCGTGTCCGACCTGCTGGTGAGCGTGAGCAGTGT
08/83, Sibérien	TTCATCTGTTGCCTGGCCGTGTCCGACCTGCTGGTGAGCGTGAGCAGTGT

Figure 41 : Alignement des nucléotides 226 à 275 du *MC1R* de 15 individus génotypés et de la séquence AY237395

* = G/A. WT signifie wild-type, A signifie ambre, P signifie porteur d'ambre. Le SNP c.250G>A est surligné en gris. Les individus WT et les Sibériens sont tous homozygotes c.250GG, les Norvégiens ambre sont tous homozygotes c.250AA et les Norvégiens porteurs sont hétérozygotes c.250GA (représentés par le signe * dans l'alignement). La séquence nucléotidique complète du *MC1R* félin (AY237395, wild-type) est disponible dans l'annexe 4, le code accompagnant les échantillons génotypés correspond à leur numéro d'extrait (Annexe 6A).

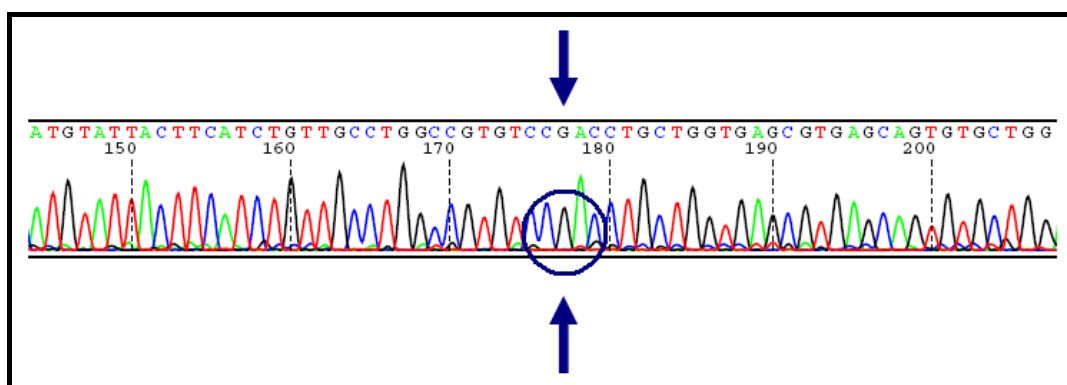


Figure 42 : Electrophorégramme partiel d'un individu homozygote c.250GG, sauvage (région du 250^{ème} nucléotide)

Le nucléotide 250 est pointé par les flèches, il s'agit d'une guanine (pic noir).

Le SNP 840 est silencieux. Le SNP 250 modifie l'acide aminé 84 dans la séquence du *MC1-R* : l'aspartate 84 est remplacé par une asparagine, p.Asp84Asn ou p.D84N (Figure 43).

<i>Felis catus</i> (Q865E9)	70	HSPMYFFICCLAVSDLLVSVSSVLETAVMLLLEAGALAGRAAVVQRLDDIID	121
07/16, Européen WT		HSPMYFFICCLAVSDLLVSVSSVLETAVMLLLEAGALAGRAAVVQRLDDIID	
07/18, Norvégien WT		HSPMYFFICCLAVSDLLVSVSSVLETAVMLLLEAGALAGRAAVVQRLDDIID	
08/85, Norvégien WT		HSPMYFFICCLAVSDLLVSVSSVLETAVMLLLEAGALAGRAAVVQRLDDIID	
07/01, Norvégien A		HSPMYFFICCLAVSNLLVSVSSVLETAVMLLLEAGALAGRAAVVQRLDDIID	
07/04, Norvégien A		HSPMYFFICCLAVSNLLVSVSSVLETAVMLLLEAGALAGRAAVVQRLDDIID	
07/40, Norvégien A		HSPMYFFICCLAVSNLLVSVSSVLETAVMLLLEAGALAGRAAVVQRLDDIID	
07/41, Norvégien A		HSPMYFFICCLAVSNLLVSVSSVLETAVMLLLEAGALAGRAAVVQRLDDIID	
07/61, Norvégien A		HSPMYFFICCLAVSNLLVSVSSVLETAVMLLLEAGALAGRAAVVQRLDDIID	
07/65, Norvégien A		HSPMYFFICCLAVSNLLVSVSSVLETAVMLLLEAGALAGRAAVVQRLDDIID	
07/104, Norvégien A		HSPMYFFICCLAVSNLLVSVSSVLETAVMLLLEAGALAGRAAVVQRLDDIID	
08/24, Norvégien A		HSPMYFFICCLAVSNLLVSVSSVLETAVMLLLEAGALAGRAAVVQRLDDIID	
07/03, Norvégien P		HSPMYFFICCLAVS*LLVSVSSVLETAVMLLLEAGALAGRAAVVQRLDDIID	
08/26, Norvégien P		HSPMYFFICCLAVS*LLVSVSSVLETAVMLLLEAGALAGRAAVVQRLDDIID	
07/94, Sibérien		HSPMYFFICCLAVSDLLVSVSSVLETAVMLLLEAGALAGRAAVVQRLDDIID	
08/83, Sibérien		HSPMYFFICCLAVSDLLVSVSSVLETAVMLLLEAGALAGRAAVVQRLDDIID	

Figure 43 : Alignement des acides aminés 70 à 121 déduits de 15 *MC1R* séquencés et de la séquence Q865E9

* = D/N. WT signifie wild-type, A signifie ambre, P signifie porteur d'ambre. La substitution p.D84N est surlignée en gris. Les individus WT et les Sibériens possèdent tous un aspartate en position 84 et les Norvégiens ambre possèdent tous une asparagine à cette position. Le signe * en position 84 des Norvégiens porteurs indique qu'ils possèdent un *MC1-R* avec un aspartate et un *MC1-R* avec une asparagine. La séquence protéique complète du *MC1-R* félin (Q865E9, wild-type) est disponible dans l'annexe 4.

Ces observations sont ensuite confirmées après amplification et séquençage du *MC1R* de 3 Norvégiens portant l'allèle *ambre*. Tous sont homozygotes c.840CC (Figure 39) et hétérozygotes c.250GA (Figures 41 & 44).

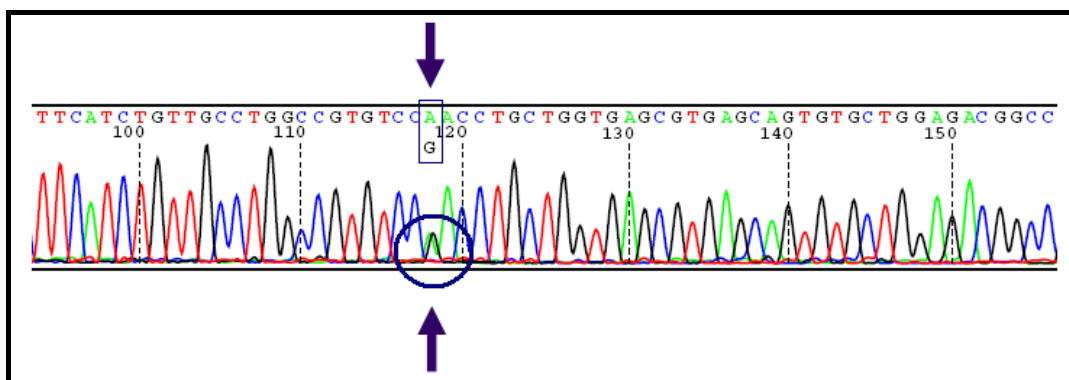


Figure 44 : Electrophorégramme partiel d'un individu hétérozygote c.250GA (région du 250^{ème} nucléotide)

Le nucléotide 250 est pointé par les flèches, le programme informatique retranscrit un pic vert (adénine) et un pic noir (guanine).

Ultérieurement l'amplification et le séquençage complet de la région codante du *MC1R* de 2 Sibériens « golden tabby » montrent qu'ils sont homozygotes c.840CC (Figure 39) et homozygotes c.250GG (Figures 41 & 42).

3. PCR-RFLP

Après avoir identifié le SNP c.250G>A ségrégant avec le phénotype *ambre*, nous avons recherché s'il existe des enzymes de restriction capables de cliver l'ADN au niveau du SNP créé par la mutation *ambre* afin de développer un test de PCR-RFLP associé. Nous en identifions deux.

Hpy 188I coupe la séquence sauvage et Bst XI coupe la séquence de l'allèle *ambre* (Figure 45).

- Hpy 188I reconnaît la séquence 5' TCNGA 3' ⁽²³⁾ et peut ainsi couper la séquence possédant une guanine en position 250.
- Bst XI reconnaît la séquence 5' CCANNNNNNTGG 3' et peut ainsi couper la séquence possédant une adénine en position 250.

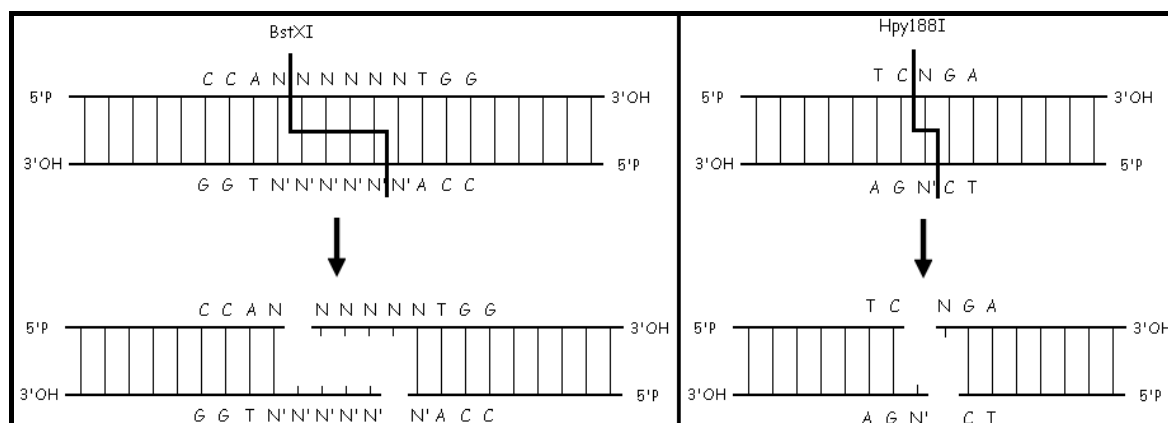


Figure 45 : Coupure obtenue avec les enzymes de restriction Bst XI et Hpy 188I

²³ T = thymine, C = cytosine, G = guanine, A = adénine. N correspond à un nucléotide parmi ces quatre (T, C, G ou A).

Néanmoins comme il existe plusieurs sites de restriction possibles pour ces deux enzymes dans la séquence complète du *MC1R* (954 bp), nous définissons une nouvelle amorce as4 : l'amplifiat obtenu à partir du couple s1-as4 ne contient qu'un site de restriction pour Bst XI et pour Hpy 188I. Les résultats attendus en utilisant le couple s1-as4 et les différentes enzymes de restriction sont indiqués dans le tableau 28.

GENOTYPE	Homozygote c.250GG	Homozygote c.250AA	Hétérozygote c.250GA
Non digéré	1 fragment (344 bp)	1 fragment (344 bp)	1 fragment (344 bp)
Hpy 188I (coupe WT)	2 fragments (223 bp + 121 bp)	1 fragment (344 bp)	3 fragments (344 bp + 223 bp + 121 bp)
Bst XI (coupe ambre)	1 fragment (344 bp)	2 fragments (226 bp + 118 bp)	3 fragments (344 bp + 226 bp + 118 bp)

Tableau 28 : Taille des fragments obtenus par RFLP selon l'enzyme de restriction utilisée

Nous privilégions finalement l'enzyme **Bst XI**, qui est fastdigest, c'est-à-dire qu'elle permet une digestion complète en 5 minutes seulement et permet une meilleure organisation du travail et un gain de temps. L'enzyme Hpy 188I est utilisée pour confirmation lorsque les résultats obtenus avec Bst XI sont douteux par apport au génotype supposé de l'animal.

Nos 56 échantillons restants (54 Norvégiens et 2 Sibériens « golden tabby ») sont ainsi testés par PCR-RFLP. **Tous les résultats obtenus** (Figure 46) **concordent aux résultats attendus** (Tableau 28). Les 21 Norvégiens ambre sont tous homozygotes c.250AA, les 33 Norvégiens portant l'*ambre* sont tous hétérozygotes c.250GA et les 2 Sibériens sont homozygotes c.250GG.

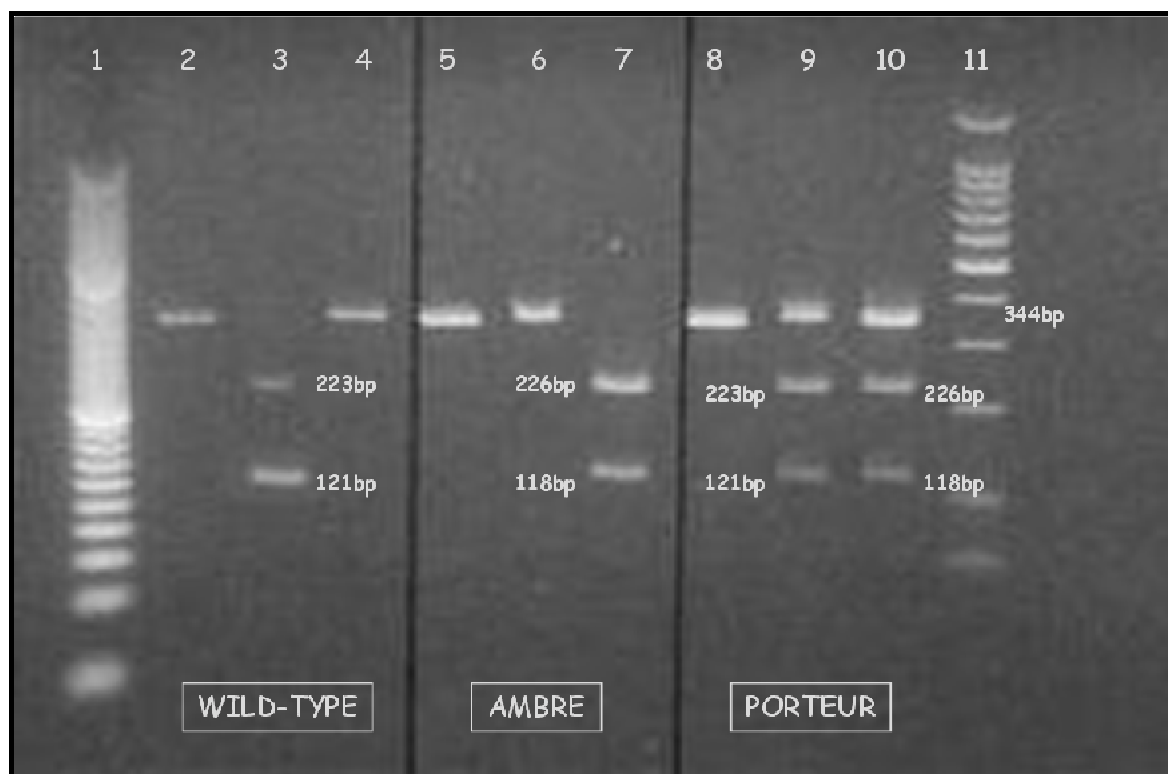


Figure 46 : Visualisation sur gel d'agarose des fragments obtenus par PCR-RFLP

(1) Ladder 20 bp ; (2, 5, 8) amplifiats non digérés ; (3, 6, 9) amplifiats digérés par Hpy 188I ; (4, 7, 10) amplifiats digérés par Bst XI ; (11) Ladder 100 bp.

Nous avons travaillé à partir de **plusieurs variantes** de la couleur ambre (Tableaux 29 & 30, annexes 6A & 6B), notamment avec un échantillon de Norvégien ambre clair uni, couleur encore très rare dont la détermination est souvent difficile. Le résultat obtenu confirme que ces Norvégiens d'apparence « bleue » issus de lignées ambre et dont l'éclaircissement de la robe est très lent, sont bien ambre dilué uni comme on le supposait.

COULEURS	NOMBRE DE CHATS ETUDIÉS
Ambre tabby (ticked, mackerel, spotted ou blotched)	20
Ambre solid	9
Ambre clair tabby	3
Ambre clair solid	1
TOTAL	33

Tableau 29 : Couleurs des 33 chats ambre étudiés (1)

COULEURS	NOMBRE DE CHATS ETUDIÉS
Ambre	20 (16 tabby, 4 solid)
Ambre clair	4 (3 tabby, 1 solid)
Ambre silver ou smoke	7 (3 silver, 4 smoke)
Ambre écaille	2 (1 torbie, 1 tortie)
TOTAL	33

Tableau 30 : Couleurs des 33 chats ambre étudiés (2)

4. Modélisation

Compte tenu de la corrélation parfaite entre les génotypes supposés (ambre ou porteurs) et les résultats obtenus par séquençage puis par RFLP associé, et connaissant l'importance de cette région du MC1-R pour son bon fonctionnement, nous avons contacté le Professeur Gilbert Deléage (IBCP, Lyon) pour essayer d'objectiver les effets moléculaires de la mutation *ambre*.

L'allèle c.250G code pour le MC1-R wild-type avec un acide aspartique en position 84.

L'allèle c.250A code pour le MC1-R mutant avec une asparagine en position 84.

Les alignements entre les différentes GPCR montrent 30% d'homologie ce qui témoigne de la **fiabilité du modèle** et permet d'**extrapoler les données obtenues par cristallographie rayons X** avec d'autres protéines de cette même famille. Après modélisation, le calcul des potentiels électrostatiques de surface des MC1-R sauvage et mutant montre un **changement de charge important au fond de la cavité où vient se fixer l' α -MSH** (Figure 47). La cavité du récepteur sauvage (A) a un potentiel fortement négatif (taches rouges) contrairement à celle du récepteur mutant (B).

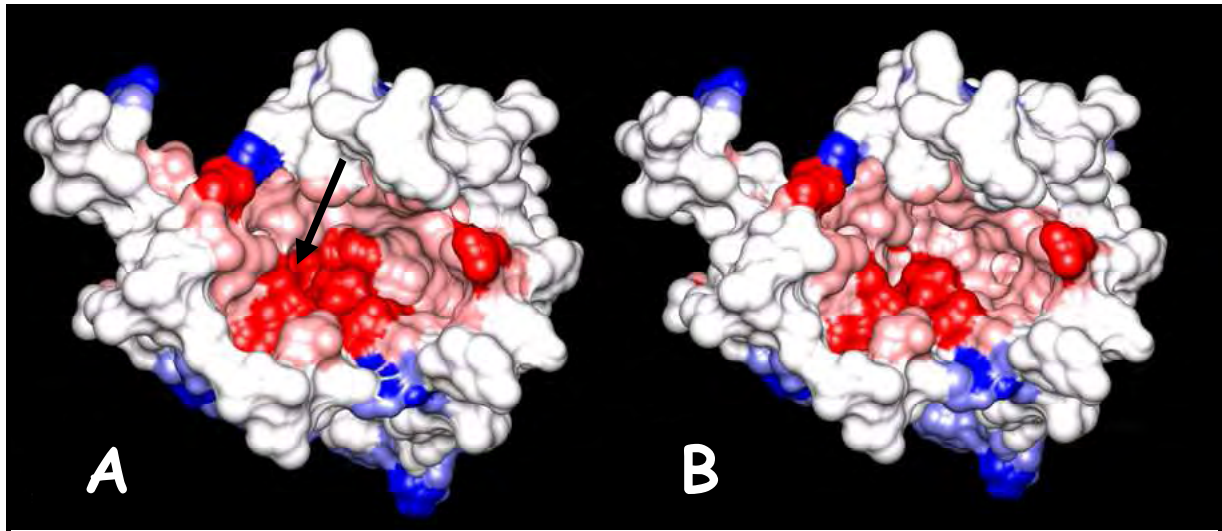


Figure 47 : Modélisation des récepteurs félins sauvage (A) et mutant (B) (Peterschmitt *et al.*, 2008)

La cavité hydrophile est au centre, le 84^{ème} acide aminé est indiqué par la flèche noire et se situe au fond de cette cavité. Les surfaces rouges ont un potentiel électrostatique fortement négatif et les surfaces bleues ont un potentiel électrostatique fortement positif. Les couleurs plus pâles correspondent à un potentiel électrostatique de surface moins important (rose = faiblement négatif, bleu clair = faiblement positif).

III. Discussion : le gène *extension* et le phénotype ambre

Dans un premier temps, nous discuterons les résultats obtenus et l'importance de l'aspartate 84 dans le MC1R, puis nous essayerons de comprendre comment l'allèle *ambre* interagit avec les autres allèles de couleur félins. Dans un second temps, nous analyserons les multiples conséquences qu'a eues l'apparition de cette couleur chez le chat de race et plus particulièrement dans l'élevage du Chat des Forêts Norvégiennes.

A. Le gène *MC1R* félin

Nous n'avons pas déterminé la séquence complète pour tous les individus en raison du prix de revient de ces analyses. Néanmoins le *MC1R* a été séquencé pour 20 chats (17 Norvégiens, 2 Sibériens et 1 Européen) et n'a permis d'identifier que deux SNP. La séquence du *MC1R* félin est donc **bien conservée**, observation qui conforte ce qui est rapporté dans la littérature.

La substitution **c.840T>C est silencieuse** et ne modifie pas la phénylalanine 280. Sa présence chez tous les chats dont nous avons déterminé la séquence complète du *MC1R* interpelle. En effet, la séquence wild-type (AY237395, annexe 4) a été identifiée par une étude ultérieure (Eizirik *et al.*, 2003) qui a porté sur 43 chats dont l'origine géographique était essentiellement américaine (Tableau 31, annexe 9). Toutefois il est surprenant que cette étude n'ait pas rapporté ce polymorphisme car certains de ces chats étaient issus de **races typiquement européennes** (dont 3 Norvégiens).

Cette constatation reflète des croisements probables avec des races américaines autochtones pour élargir le réservoir génétique de chacune de ces races étrangères sur le continent américain (dont le Maine Coon pour le Norvégien). Sur le continent africo-asiatique, on semble retrouver le même allèle que chez les chats d'origine américaine. Une **étude phylogénétique** serait intéressante pour situer généalogiquement et comprendre l'histoire des différentes races félines, et s'inscrirait sur une liste déjà longue de recherches similaires sur le *MC1R* dans les autres espèces animales.

CONTINENT AMERICAIN				AUTRES CONTINENTS	
Gouttière	Bombay	Maine Coon	Sphinx	Europe	Afrique / Asie mineure
19	5	2	1	Norvégien (3), British Shorthair (2), Scottish Fold (1)	Somali/ Abyssin (4), gouttière Botswana (1) gouttière d'Israël (3), Mau Egyptien (1), Turc de Van (1)
27				6	10
43					

Tableau 31 : Population des chats dont le *MC1R* a été séquencé par Eizirik *et al.* (2003)

B. La substitution p.250G>A, origine du phénotype ambre

1. Choix des individus testés

La rareté des polymorphismes du *MC1R* félin et la corrélation parfaite des résultats obtenus avec le génotype connu des individus testés incitent à penser que c.250G>A est responsable du phénotype étudié.

Les individus dont le génotype a été déterminé ont été sélectionnés dans des courants sanguins éloignés, de façon à couvrir toute la lignée ambre depuis son apparition en 1992 jusqu'aux lignées allemandes, suédoises et hollandaises actuelles (Figures 48, 49 & 50).

Les deux premiers Norvégiens de cette lignée sélectionnés pour génotypage du *MC1R* ont été choisis pour leur lien de filiation, il s'agissait de **S*Tailor Hill's Dione** (Figure 48, chat A) et de sa fille **S*Kattbossens Ludmilla** (Figure 48, chat B) : les deux chattes sont ambre (donc homozygotes pour la mutation) et Dione est une des premières X-Color (née en novembre 1993), la plus âgée parmi les Norvégiens dont nous avons pu obtenir des prélèvements et donc la plus proche des premiers chats porteurs. De plus, Ludmilla a pour père Wildwood's Imer, le premier Norvégien ambre.

Imer a hérité ses deux allèles *ambre* de DeaDia av Aesene et Dione a hérité les deux siens de Frøy Sparetta av Aesene (Figure 48). Dès l'obtention de ces deux premières séquences, nous avons donc pu confirmer que la mutation transmise par Frøy Sparetta et DeaDia était identique ce qui est venu appuyer les conclusions de notre analyse généalogique.

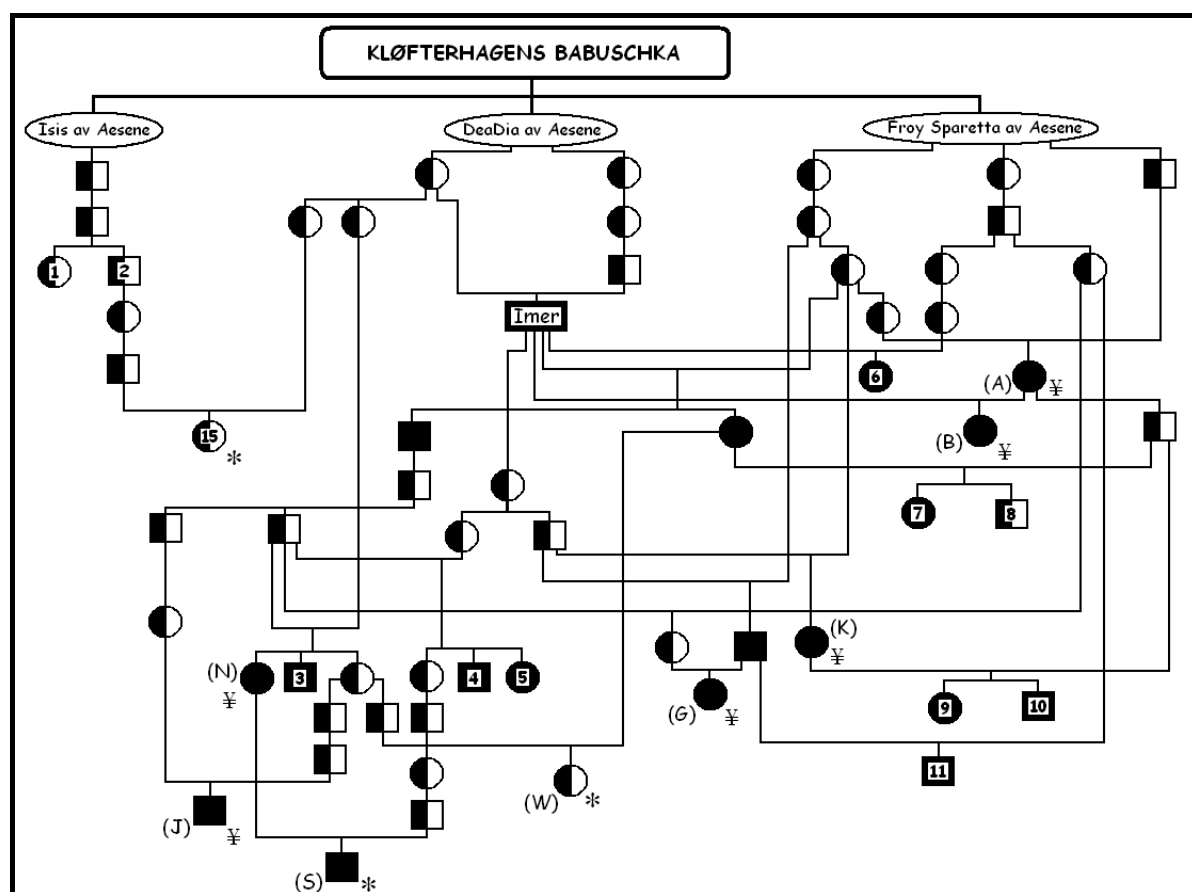


Figure 48 : Analyse généalogique des échantillons issus de Norvégiens de la lignée suédoise

Les rectangles symbolisent les mâles et les cercles symbolisent les femelles. Les symboles partiellement noirs représentent les hétérozygotes et ceux entièrement noirs représentent les homozygotes mutés (ambre). Les chats ni ambre, ni porteurs n'ont pas été représentés pour alléger la figure. Les symboles associés au signe * représentent les chats dont le *MC1R* a été séquencé et ceux associés au signe † représentent les chats dont le *MC1R* n'a été analysé par PCR-RFLP. Les autres Norvégiens génotypés pour le *MC1R* ne sont pas représentés sur les figures 48, 49 et 50, car ils sont tous en parenté plus ou moins proche avec les Norvégiens génotypés déjà représentés sur ces trois figures. Ces études généalogiques ont été réalisées avec les bases de données *Pawpeds* et *Shaggytail*. La correspondance des lettres (ou chiffres) associées aux individus génotypés est disponible dans les annexes 6A et 6B. Les chiffres indiquent le même chat dans les figures 48, 49 et 50, à savoir : (1) D*Jinni av Takeskog ; (2) D*Jankothan av Takeskog ; (3) S*Wildwood's Peter Pan ; (4) S*Royal Imp's Maurice ; (5) S*Royal Imp's Tinne ; (6) S*Porfyrgårdens Yeni ; (7) S*Tailor Hill's Lucina ; (8) S*Tailor Hill's Linos ; (9) S*Tailor Hill's Kassiopeia ; (10) S*Tailor Hill's Kastor ; (11) S*Porfyrgårdens BlackBurn ; (12) D*Zampino vom Trollberg ; (13) D*Baltimoor's Cappuccino ; (14) D*Infinity vom Rombergsdeich ; (15) D*Wencke vom Arlesbrunnen.

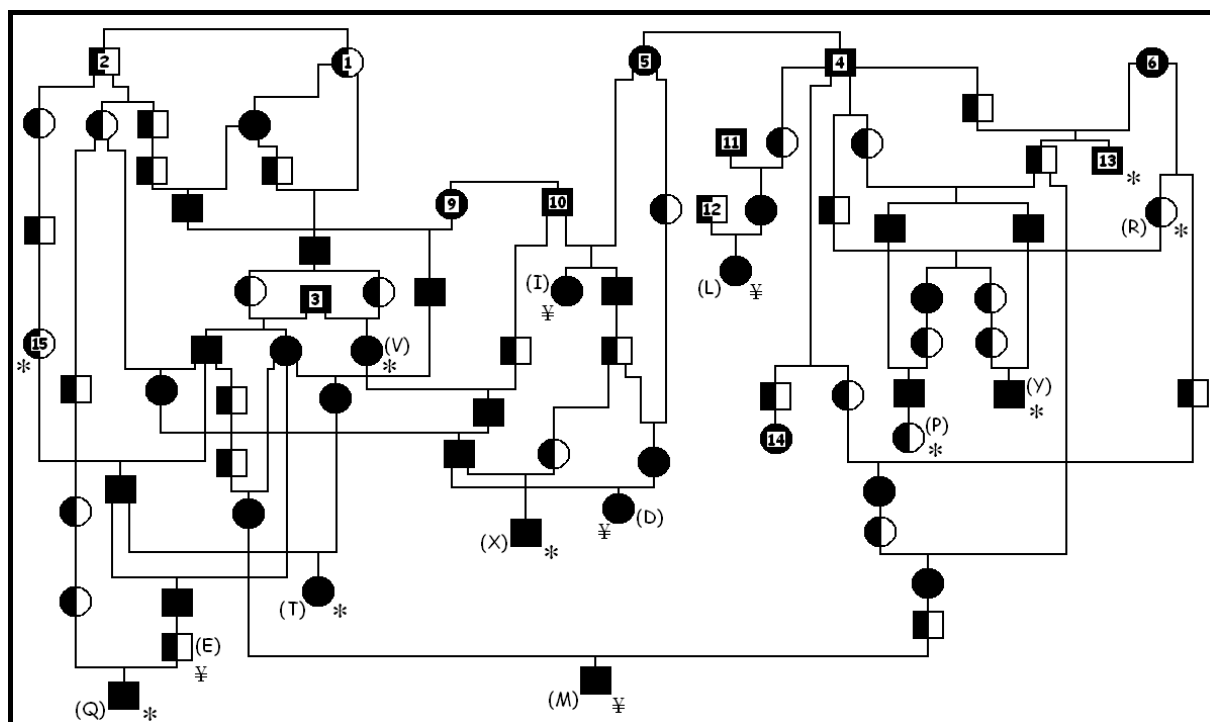


Figure 49 : Analyse généalogique des échantillons issus de Norvégiens de la lignée allemande
Se référer à la légende de la figure 48.

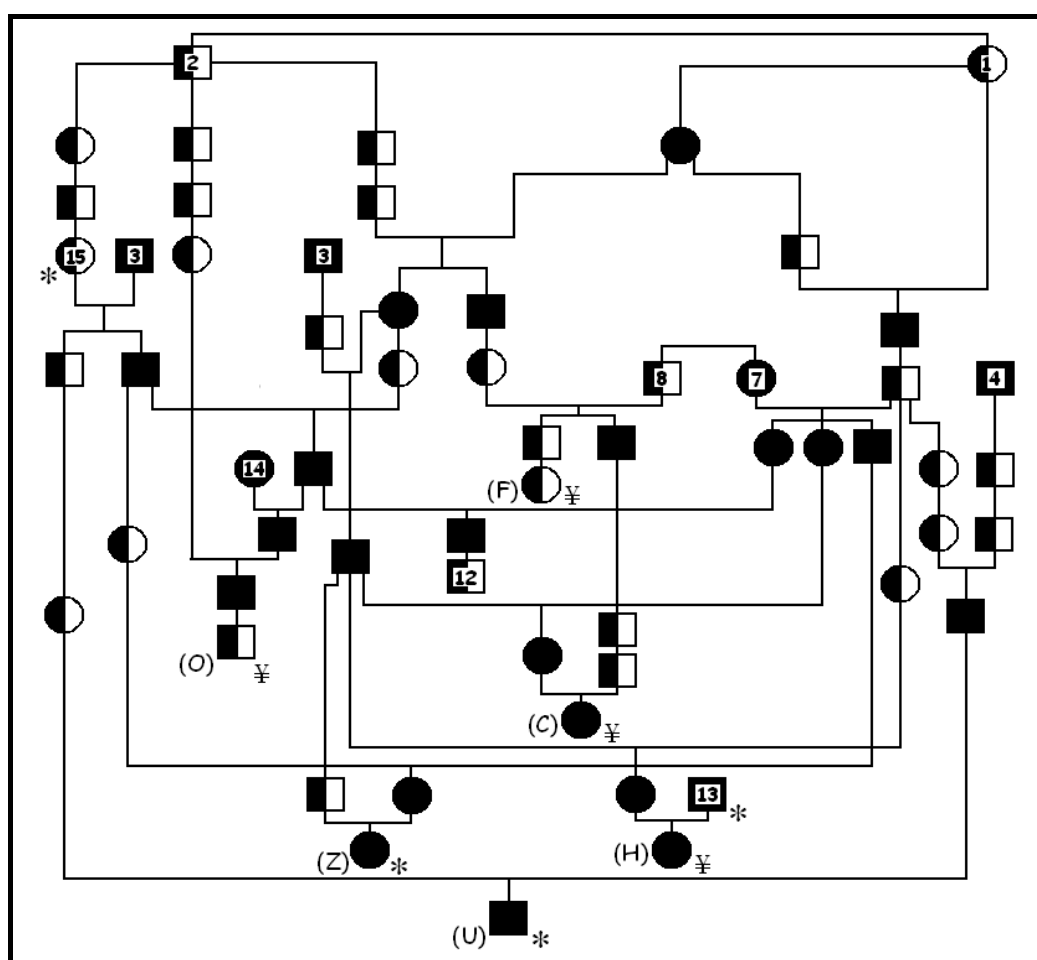


Figure 50 : Analyse généalogique des échantillons issus de Norvégiens de la lignée hollandaise
Se référer à la légende de la figure 48.

2. p.Asp84Asn dans le second domaine transmembranaire

La mutation c.250G>A est une substitution faux-sens, elle remplace l'acide aspartique 84 par une asparagine, p.Asp84Asn. Elle concerne un résidu localisé dans le second domaine transmembranaire du MC1-R, qui est une région fondamentale pour le bon fonctionnement du récepteur hormonal (Tableaux 10 & 11).

Des mutations responsables de phaeomélanisme ont déjà été décrites dans cette région chez d'autres espèces, p.Ser83Phe chez le cheval codant pour la robe alezane (Marklund *et al.*, 1996) et p.Asp84Glu chez l'homme responsable d'une chevelure rousse (Valverde *et al.*, 1995) : toutes deux déstabilisent l'hélice α du 2^{ème} domaine transmembranaire dont l'implication dans le site de fixation de l'hormone est aujourd'hui démontrée, tant par mutagenèse dirigée que par mutagenèse naturelle (Figure 51).

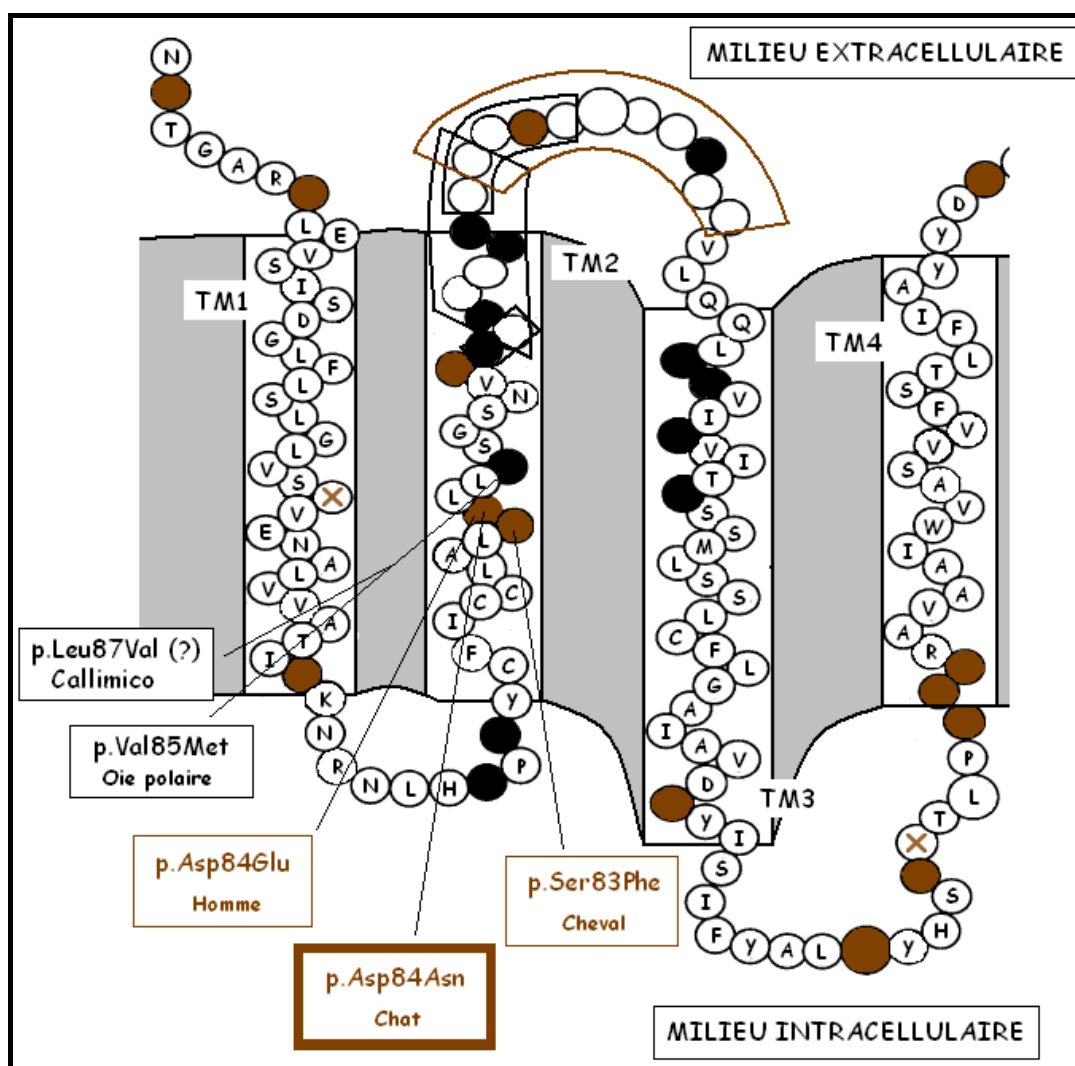


Figure 51 : Principales mutations décrites entre les 4 premiers domaines du MC1-R chez les Vertébrés

TM1, TM2, TM3 et TM4 correspondent respectivement aux 1^{er}, 2^{ème}, 3^{ème} et 4^{ème} domaines transmembranaires. Les mutations représentées en brun correspondent à des mutations responsables de phaeomélanisme, celles représentées en noir correspondent à des mutations responsables d'eumélanisme. Nous avons rappelé la nature des 4 substitutions décrites dans la même région que la mutation *ambre* : mutations *e* chez l'homme, le cheval et le chat ET mutations *E^D* chez l'oie polaire et le callimico. Nommée p.Leu87Val par Haitina *et al.* (2007), nous supposons que la substitution du callimico devrait plutôt s'appeler p.Val87Leu (d'où le point d'interrogation), car ce résidu du MC1-R est une valine conservée chez de nombreuses espèces et est homologue de la valine 85 chez l'oie polaire (se reporter à la figure 53). Pour connaître la nature exacte des autres mutations, se référer aux tableaux 10 et 11 et aux figures 27 et 28.

Chez l'homme, le récepteur mutant p.Glu84 fait partie des substitutions dont l'**expression phénotypique est mal définie** (Rees, 2003). Décrit à maintes reprises, ce polymorphisme reste rare dans la population humaine mais plusieurs études le mentionnent, avec une corrélation parfaite à un phénotype RHC de déterminisme récessif (Valverde *et al.*, 1995, Koppula *et al.*, 1997, Flanagan *et al.*, 2000, Kennedy *et al.*, 2001). D'autres études sont moins catégoriques sur les effets réels du mutant p.Glu84 (Valverde *et al.*, 1996, Healy *et al.*, 1999, Bastiaens *et al.*, 2001 a).

Enfin, l'étude *in vitro* menée par Ringholm *et al.* (2004) montre que le mutant p.Glu84 a une affinité 10 fois inférieure pour l' α -MSH que le récepteur sauvage ET que son activité adénylatecyclase se limite à 15% de l'activité physiologique normale.

La substitution p.Asp84Glu est associée à un risque significatif de développer un **mélanome** (Valverde *et al.*, 1996, Kennedy *et al.*, 2001) ou un **carcinome cutané** (Bastiaens *et al.*, 2001 a). Contrairement à l'eumélanine, la phaeomélanine n'est en effet pas photoprotectrice et produit des radicaux libres cancérogènes en réponse aux UV. Ceci ne concerne vraisemblablement pas le Norvégien ambre, car comme toutes les mutations *e* décrites dans les autres espèces animales, l'action de la mutation **ambre** ne semble concerner que les **mélanocytes folliculaires** (la peau et ses annexes épidermiques sont eumélaniques), contrairement à l'homme où le phénotype RHC concerne les poils et la peau.

Cette spécificité explique sans doute aussi pourquoi cette prédisposition aux tumeurs cutanées n'a jamais été rapportée dans les autres espèces de robe fauve uniforme.

a. Les acides aminés en présence

La substitution p.Asp84Asn remplace un acide aminé acide au pH cellulaire (chargé négativement) par un acide aminé neutre mais polaire (Figure 52) et occasionne une déstabilisation de l'hélice α par les modifications électrostatiques engendrées.

La substitution décrite sur le même résidu chez l'homme est capable d'annihiler le fonctionnement du récepteur alors que le changement d'acide aminé ne modifie pas la charge électrique et fait peu varier le pK_A (Annexe 2) : la seule **gène stérique** occasionnée par l'introduction d'un groupement $-CH_2$ est vraisemblablement suffisante pour affecter l'efficacité du récepteur (Figure 52).

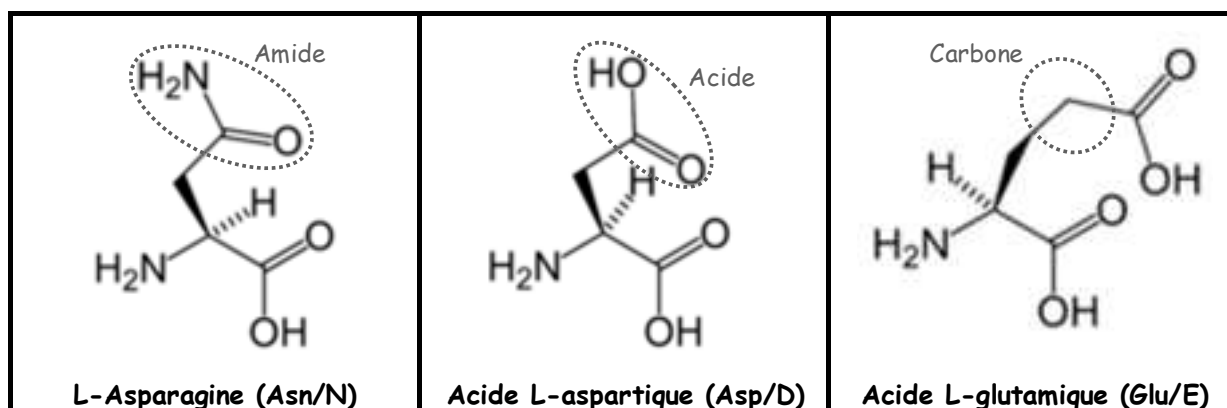


Figure 52 : Représentation stéréochimique de l'asparagine, des acides aspartique et glutamique

Dans l'asparagine, le groupement acide est remplacé par un groupement amide. L'acide glutamique compte un groupement carbone supplémentaire par rapport à l'acide aspartique.

b. L'acide aspartique 84

L'aspartate 84 est un **résidu très conservé**, autant chez les diverses espèces animales dont le MC1R a été séquencé que dans les autres MCR et les autres GPCR (Figure 53), dont la rhodopsine, prototype d'étude des GPCR de classe A (Rader *et al.*, 2004). Parmi toutes les espèces dont la séquence nucléotidique du MC1R est identifiée, aucune ne possède un acide aminé différent à cette position (Annexe 10).

MC1-R		75	TM2										100	114	TM3	
Mammifères																
Chat	70	HSPMYFFICCLAVSD	LLV	SVSSV	LETAV	MLL	LEAG	ALAGRA	AVVQ	R	LD	DI	ID			121
Homme	70	HSPMYCFICCLALS	DLV	SGSNV	LETAV	ILL	LEAG	ALVARA	AVLQ	QLD	N	VID				121
Souris	68	HSPMYFFICCLALS	DLV	SVSIV	LETTI	ILL	LEV	GILVAR	VALV	QQLD	N	LID				119
Cheval	70	HSPMYFFICCLAVS	DLV	SMSNV	LEMAI	LLL	LEAG	VLATQ	ASVL	QQLD	N	IID				121
Prjevalski	70	HSPMYFFICCLAVF	DLV	SMSNV	LEMAI	LLL	LEAG	VLATQ	ASVL	QQLD	N	IID				121
Sanglier	73	HSPMYFVCCCLAVS	DLV	SVSNV	LETAV	LLL	LEAG	ALAAQ	AAVVQ	QLD	N	VMD				124
Lapin	70	HSPMYCFICCLALS	DLV	SVSSV	LETAV	LLL	LEAG	ALAGRA	AVVQ	QLD	D	VID				121
Vache	70	HSPMYFFICCLAVS	DLV	SVSNV	LETAV	MLL	LEAG	VLATQ	AAVVQ	QLD	N	VID				121
Mouton	70	HSPMYFFICCLAMS	DLV	SVSNV	LETAV	MLL	LEAG	VLATRA	AAVVQ	QLD	N	VID				121
Chien	70	HSPMYFFIGCLAVS	DLV	SVTNV	LETAV	MLL	VEAG	ALAAQ	AAVVQ	QLD	D	IID				121
Renard roux	70	HSPMYFFIGCLAVS	DLV	SVTNV	LETAV	MLL	VEAG	ALAAQ	AAVVQ	QLD	D	IID				121
Autres Vertébrés																
Poule	68	HSPTYFFICCLAVS	DML	SVSNL	AEITL	FMLL	MEHG	VLVIR	ASIVR	HMD	N	VID				119
Orvet	61	HSPMYFFICCLAVS	DML	SVSNV	GETTF	MLL	IEHG	VLDIE	PATV	RCVD	D	VMD				112
Poisson danio	75	HSPMYFFICCLAVAD	MLV	SVSNV	ETL	FMLL	TEHG	LLVT	AKML	QHL	D	N	VID			126
Autres GPCR																
MC2-R humain	56	QAPMYFFICSLAIS	DML	GS	LYK	ILEN	ILIL	RNM	GYL	KPR	GSF	ETT	ADD	I	ID	107
MC2-R murin	56	QSPMYFFICSLAIS	DML	GS	LYK	ILEN	ILIM	FRN	MGY	LKPR	GSF	EST	ADD	I	ID	107
MC3-R humain	70	HSPMYFFLCSLAVAD	MLV	SVSNA	LETIM	IAIV	HS	DYLT	FEDQ	FIO	HMD	N	I	F	D	121
MC3-R murin	70	HSPMYFFLCSLAAAD	MLV	SVLSN	SETIM	IAV	INS	DSL	TLED	QFIO	HMD	N	I	F	D	121
MC4-R humain	75	HSPMYFFICSLAVAD	MLV	SVSNG	SETIV	ITLL	NS	-T	DTDA	QSFT	VNI	D	N	VID		126
MC4-R murin	75	HSPMYFFICSLAVAD	MLV	SVSNG	SETIV	ITLL	NS	-T	DTDA	QSFT	VNI	D	N	VID		126
MC5-R humain	68	HSPMYFFVCSLAVAD	MLV	SMSSA	WETIT	IYLL	NNK	H	LVIAD	AFVR	HID	N	V	F	D	119
MC5-R murin	68	HSPMYFFVCSLAVAD	MLV	SMSSA	WETIT	IYLL	NNK	H	LVIAD	TFVR	HID	N	V	F	D	119
Rhodopsine bov.	69	RTPLNYILLNLAVAD	LFM	VFG	GFTT	LYT	SLH	GYF	VFG	PTG	CN	LEG	FF	A	T	LG 120

Figure 53 : Alignement protéique encadrant le 2^{ème} domaine transmembranaire du MC1-R pour 23 GPCR

Les acides aminés sont représentés par leur code à 1 lettre de la nomenclature internationale. TM2 correspond au 2^{ème} domaine transmembranaire (résidus 75 à 100), TM3 correspond au 3^{ème} domaine transmembranaire (résidus 114 à 144) (Ringholm *et al.*, 2004). Les résidus surlignés en gris clair sont conservés par rapport à la séquence du MC1-R félin. L'aspartate 84 (D) est surligné en jaune, la sérine 83 (S) est surlignée en rouge et la valine 87²⁴ (V) est surlignée en bleu. Le glutamate 94 (E) et les aspartates 117 et 121 (D) sont surlignés en gris foncé (numéro donné selon la séquence féline, Q865E9). Code d'accès : MC1-R chat (Q865E9), homme (Q01726), souris (Q01727), cheval (P79166), cheval de Prjevalski (AAB96911), sanglier (Q9TU05), lapin (CAJ57384), vache (NP_776533), mouton (CAA74298), chien (AAC33737), renard roux (CAA62349), poule (BAD91484), orvet (AAT90151) et poisson danio (NP_851301) ; MC2-R humain (Q01718) et murin (NP_032586) ; MC3-R humain (NP_063941) et murin (NP_032587) ; MC4-R humain (P32245) et murin (P56450) ; MC5-R humain (P33032) et murin (P41149) ; Rhodopsine bovine (NP_001014890).

Des études de cristallographie réalisées sur la rhodopsine bovine ont identifié deux régions importantes dans le 2^{ème} domaine transmembranaire (Tanuj Sapra *et al.*, 2006). La première région est **centrée sur l'aspartate 83²⁵** (résidus 76 à 87), elle **stabiliserait la conformation**

²⁴ La valine 87 dans la séquence du MC1-R félin (Q865E9) est homologue de la valine 85 dans la séquence du MC1-R de l'oie polaire (AAS49202) : ce résidu est bien conservé entre les MC1-R des différentes espèces.

²⁵ L'aspartate 83 de la rhodopsine bovine (NP_001014890) est homologue de l'aspartate 84 du MC1-R félin. Voir figure 53.

tertiaire de cette région de l'hélice qui se courbe sur le 83^{ème} acide aminé. Cet aspartate contribue également à positionner les différentes hélices entre elles et fait partie d'un **réseau de liaisons hydrogènes** entre plusieurs résidus très conservés parmi les GPCR de classe A apparentés à la rhodopsine : l'asparagine 55 (TM1), l'aspartate 83 (TM2), l'alanine 299 et l'asparagine 302 (TM7). L'aspartate 83 interagit aussi avec la 120^{ème} glycine (TM3) et quelques autres acides aminés des 6^{ème} et 7^{ème} domaines transmembranaires. Elle requiert au sein de ce réseau de liaisons hydrogènes une fonction structurale de stabilisation de la rhodopsine, voire de son activation (Menon *et al.*, 2001, Li *et al.*, 2004).

c. Implication du deuxième domaine dans la fixation de l' α -MSH

Le potentiel négatif de surface du site de fixation hormonale est fortement modifié par la substitution p.Asp84Asn (Figure 47) et donc **empêcherait la fixation de l' α -MSH**. L'aspartate 84 interviendrait donc dans la **cavité hydrophile** décrite par Prusis *et al.* (1995), Haskell-Luevano *et al.* (1996) et Yang *et al.* (1997), mais elle n'a jamais été mentionnée parmi les autres résidus acides - glutamate 94, aspartates 117 et 121 - qui interagissent avec l'arginine 8 de l' α -MSH (Yang *et al.*, 1997). Ces trois résidus acides dont l'importance pour la fonction du récepteur a déjà été abordée (Lu *et al.*, 1998) sont par ailleurs très conservés parmi les 5 MCR (Figure 53).

Notre modèle indique que l'aspartate interviendrait à part entière dans ce réseau d'interaction. Toutefois **p.Asp84Asn ne modifie que la charge de surface sans affecter la polarité** (l'asparagine est polaire, mais neutre). Ceci pourrait expliquer pourquoi l'eumélanogenèse est **incomplètement inhibée** chez le Norvégien ambre (persistance d'eumélanine dans certains poils) contrairement aux robes fauves récessives décrites dans d'autres espèces. Une autre hypothèse pour expliquer cette différence de la robe ambre serait que le résidu 84 est **fonctionnellement moins important pour la fixation du ligand** que le glutamate 94 et les aspartates 117 et 121.

Les 3 principaux modèles (Prusis *et al.*, Haskell-Luevano *et al.*, Yang *et al.*) attestent de la **régulation multifactorielle** des interactions entre le MC1-R et l'hormone avec plusieurs acides aminés plus ou moins impliqués (d'autres résidus interviennent sûrement, mais ne sont toujours pas connus). Ceci expliquerait la **variabilité** des conséquences observées lors de mutations, d'autant plus que les structures 3D sont très flexibles et que les molécules peuvent s'adapter les unes aux autres lors d'une substitution localisée. **Les interactions électrostatiques sont particulièrement importantes dans les milieux hydrophobes** (membrane plasmique) et cet aspartate 84 siégeant au fond de la poche de fixation « capture » sûrement une charge positive de l'hormone. Des modifications géométriques coordonnées des chaînes latérales environnantes doivent probablement venir compléter ces interactions (Deléage, communication personnelle).

Cette région du MC1-R est particulièrement intéressante pour la compréhension de son fonctionnement, puisque **des mutations situées à proximité peuvent avoir des effets complètement opposés en fonction des modifications engendrées** (électrostatiques ou autres).

Outre la substitution p.Glu92Lys initialement décrite chez la souris et qui code pour un récepteur constitutivement activé (Robbins *et al.*, 1993), il faut également mentionner la substitution p.Val85Met décrite chez l'oie polaire (Figure 51) et qui coderait aussi pour un récepteur constitutivement activé (Mundy *et al.*, 2004). Plus récemment Haitina *et al.* (2007) ont également montré l'implication probable du résidu 87 dans un MC1-R activé chez le callimico. Nommée p.Leu87Val, nous pensons que cette substitution devrait plutôt s'appeler p.Val87Leu, car ce résidu du MC1-R est une valine conservée chez de nombreuses espèces et est homologue de la valine 85 chez l'oie polaire (Figure 53) chez qui sa substitution coderait pour un MC1-R activé.

Chez la souris, l'introduction d'une lysine positive à la place d'un résidu acide **mime les effets de la fixation de la 8^{ème} arginine** de l'hormone et contribue à donner un MC1-R activé (Lu *et al.*, 1998).

Le mécanisme de p.Val85Met n'est pas encore élucidé, mais semble **différent** de p.Glu92Lys. En effet les résidus valine et méthionine appartiennent à la même classe d'acide aminé et diffèrent seulement par l'atome de soufre en plus dans la méthionine. Il en est de même pour la leucine qui ne diffère de la valine que par un groupement -CH₂ supplémentaire (Figure 54).

Le mécanisme de p.Val85Met (oie polaire) et de p.Leu87Val (ou plutôt p.Val87Leu, callimico) passe peut-être par un **encombrement stérique** (Annexe 2), respectivement via l'atome de soufre ou via le groupement carbone, mais vraisemblablement pas par une modification électrostatique.

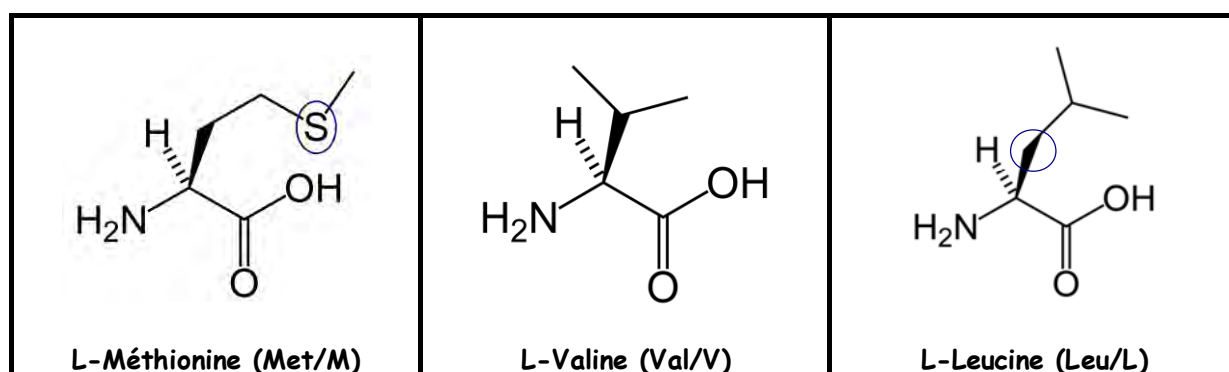


Figure 54 : Représentation stéréochimique de la méthionine, de la valine et de la leucine
L'atome de soufre de la méthionine et le groupement carbone supplémentaire de la leucine sont entourés.

Quoiqu'il en soit, il est très intéressant de noter que les substitutions p.Ser83Phe (cheval), p.Asp84Glu (homme), p.Asp84Asn (chat), p.Leu87Val (callimico) et p.Val85Met (oie, homologue du résidu 87) situées à quelques acides aminés d'écart engendrent deux phénotypes complètement différents.

d. Recherches complémentaires

Une des particularités de l'ambre concerne l'**inefficacité partielle et évolutive** du MC1-R muté qu'on expliquerait possiblement par la conservation d'une asparagine neutre (mais polaire !) en position 84. Il serait donc intéressant de **modéliser** le mutant équin, p.Ser83Phe (dont l'inefficacité est phénotypiquement complète) et le mutant humain, p.Asp84Glu afin de comparer les effets de ces mutants avec le mutant *ambre*. Cette démarche devrait être corrélée en parallèle aux données apportées par la mutagenèse dirigée.

Par ailleurs, des études *in vitro* sur le résidu 87 seraient intéressantes pour éclaircir son rôle dans l'obtention de MC1-R activé ou peut-être dans l'obtention de récepteur hyperactif. La **mutagenèse dirigée** sur cet acide aminé permettrait peut-être aussi d'apporter une réponse sur son mécanisme d'action.

C. La mutation *ambre* dans la mélanogénèse

1. La couleur ambre peut-elle correspondre à une mutation *e* ?

Jamais officiellement décrits, des allèles mutés sont supposés exister (ou avoir existé) sur le gène *extension* du chat. Outre la robe noire dominante et épistatique sur le locus *agouti* rapportée en 1926 (Vella *et al.*, 1999), **deux types de noir** sont aujourd'hui décrits chez le chat, le noir bleu codé par l'allèle *a* et le noir sépia qui pourrait être codé par un allèle *E^D*. De même chez le chat Chausie, la robe **grizzled dominante** (comparable à la robe steel du lapin) serait codée par une mutation similaire à l'allèle *E^S* du lapin et s'apparenterait donc à une robe noire dominante (Kajon, communication personnelle).

Toutefois aucune mutation *e* n'a jamais été décrite chez le chat, ni chez les autres espèces de Félidés (Eizirik *et al.*, 2003).

Caractérisée par une robe **fauve récessive**, l'ambre est **sans effet pléiotrope**. Son expression n'est visible que dans les **mélanocytes folliculaires**, mais aucunement dans les mélanocytes de la peau ni des annexes épidermiques qui sont eumélaniques et dépendent des allèles portés sur les autres séries, dont les gènes *brown* et *dilution*. Ceci avait déjà été établi par Templeton *et al.* en 1977 pour le chien et le mécanisme n'est toujours pas élucidé. Il existerait un contrôle précoce de l'expression du *MC1R* selon le tissu, dès l'embryogenèse (Schmutz *et al.*, 2002).

L'ambre se démarque toutefois des autres robes fauves récessives. En effet, quelques poils peuvent rester noirs (ou partiellement noirs) chez le chat ambre adulte et reflètent un **pouvoir eumélanogénique résiduel**. Ce pouvoir eumélanogénique semble à peine affecté à la naissance. **Une évolution similaire n'a été décrite que chez la souris** : le souriceau naît avec un pelage jaune foncé qui devient jaune clair chez l'adulte au fur et à mesure des mues (Aubin Houzelstein, 1997), bien que la mutation murine *e* code pour un *MC1R* tronqué des 3 derniers domaines transmembranaires.

Si l'efficacité résiduelle du *MC1R* ambre peut s'expliquer par les conséquences moléculaires de la mutation, l'évolution de la couleur est plus difficile à interpréter. Existe-t-il une **déstabilisation croissante** du récepteur avec l'âge ? Si oui, le mécanisme est inconnu. Mes observations personnelles me laissent plutôt penser que le chaton ambre tabby ne synthétise pas d'eumélanine (ou très peu) après la naissance, contrairement au chaton ambre solid²⁶. Une voie d'eumélanogénèse complémentaire existe peut-être au cours du développement embryonnaire et s'inactiverait à la naissance ce qui expliquerait la couleur des chatons et son évolution.

Après la première mue du chaton, la pointe des poils reste noire ce qui suggère que l'eumélanogénèse est toujours possible, mais uniquement en tout début d'anagène et en quantité progressivement moindre au fur et à mesure des mues. Une hypothèse serait que cette eumélanine soit **synthétisée dans les mélanocytes épidermiques en début d'anagène** (lorsque le poil est encore dans l'épiderme, ce qui correspond à la pointe du poil mature), et ne soit pas issue des mélanocytes folliculaires, dont l'eumélanogénèse est affectée par la mutation *ambre*. Ceci

²⁶ Ces aptitudes différentes à l'eumélanogénèse entre les robes ambre tabby et ambre solid sont discutées dans la partie suivante.

impliquerait que les **contributions propres des mélanocytes épidermiques et folliculaires soient différentes chez le jeune chat**, par rapport aux autres espèces.

Etonnamment les chatons ambre solid présentent des marques tabby fantômes très prononcées qui vont lentement s'effacer chez l'adulte. Le patron tabby s'atténue également chez l'ambre tabby donnant une robe fauve « uniforme », au point de ne réussir à la distinguer d'une robe ambre unie que par la couleur de la truffe.

Ainsi l'épistasie de la mutation *e* sur le locus *agouti* classiquement décrite dans les autres espèces animales ne serait effective que sur la robe ambre adulte chez le chat et constitue le premier cas d'épistasie incomplète d'un allèle *e* sur la série *agouti*.

L'allèle E^D du renard est connu pour être sans effet sur la protéine agouti qui se comporterait comme un agoniste inverse envers ce MC1-R constitutivement activé (Ollmann *et al.*, 1998). Chez le chat, l'épistasie incomplète de la mutation *ambre* serait la conséquence de l'**activité MC1-R résiduelle initiale** et de l'existence du locus *tabby*, spécifique au chat, qui détermine les régions de poils agouti et de poils unis.

Selon Schmutz *et al.* (2003), les régions corporelles auraient des valeurs seuils différentes pour le switch de la protéine agouti sur le MC1-R, avec un **seuil plus bas pour la face** ce qui expliquerait pourquoi la région faciale est la dernière à s'éclaircir chez le Norvégien ambre uni, sauf le museau dont les mélanocytes épidermiques sont insensibles à l'action de la mutation *e*.

2. Interactions probables entre un allèle *e* et les autres gènes de couleur de robe chez le chat

a. Loci agouti et tabby

Chez le chat $E^+/-$, un poil agouti correspond à une succession de bandes phaeomélaniques et eumélaniques. Spécifique au chat, le gène *tabby* module localement l'activité de la protéine agouti et détermine la répartition des poils agouti et des poils unis sur le corps.

Les chatons ambre tabby ressemblent à des chats écaille de tortue avec les rayures noires et les régions intermédiaires fauves. Ces poils fauves sont probablement pigmentés essentiellement à base de phaeomélanine et ne sont pas des poils agouti comme on l'entend classiquement chez le chat. Sous le microscope, le poil est **pseudo-agouti** et se constitue d'une longue racine fauve et d'une étroite bande noire (Photographie 47) dont la persistance serait due à l'activité eumélanogénique résiduelle.

Les chatons ambre solid ressemblent à des black tabby foncés et leurs poils présentent une racine fauve. Ces poils s'éclaircissent et deviennent fauves chez l'adulte.

La protéine agouti interagit au niveau des boucles extracellulaires du récepteur (Ollmann *et al.*, 1998), ces régions de la protéine ne sont théoriquement pas modifiées par la substitution p.Asp84Asn. Haitina *et al.* (2007) a prouvé *in vitro* que **la protéine agouti garde son action inhibitrice sur un MC1-R partiellement efficace**. **Le poil agouti serait donc le seul à apparaître jaune à la naissance car il subit une inhibition double**, celle du MC1-R muté et celle de la protéine agouti, tandis que le poil uni et le poil agouti transformé subissent essentiellement l'inhibition du MC1-R muté et très peu l'action anti-eumélanique de la protéine agouti. Pour les

mutations *e* décrites dans d'autres espèces, le récepteur muté est complètement inefficace et oriente donc vers la phaeomélanogenèse quel que soit le génotype au locus *agouti*.

L'action de la mutation *e* est incomplète à la naissance, ce qui expliquerait pourquoi les poils unis et les poils agouti transformés sont foncés. Néanmoins l'allèle *e* n'est sûrement pas sans répercussion chez le chaton ambre uni et l'inefficacité débutante du MC1-R associée à la faible inhibition de la protéine agouti transformée expliquerait certes la **robe plus sombre** de ces chatons, MAIS AUSSI leurs **marques fantômes**. En effet, le taux en phaeomélanine d'un poil agouti transformé ambre serait légèrement supérieur à celui d'un poil agouti transformé noir, d'où une distinction des régions de poils unis et de poils agouti transformés plus facile que chez un chaton noir uni.

L'action complémentaire de la protéine agouti chez les individus tabby serait aussi une des explications de l'**éclaircissement plus rapide** des robes ambre tabby par apport aux robes ambre solid²⁷. Cette même action expliquerait la durée variable d'éclaircissement selon le patron tabby : plus rapide chez les ticked (forte proportion de poils agouti) que chez les spotted, mackerel (proportion équivalente en poils agouti et unis) que chez les blotched (forte proportion de poils unis).

Le gène *tabby* est donc impliqué dans l'épistasie incomplète de l'allèle *ambre* sur les allèles de la série *agouti*, car il détermine la répartition des poils unis en inhibant localement l'action inhibitrice de la protéine agouti.

Les chats ambre uni et noir uni ont la même couleur de museau, aussi bien chez le jeune que chez l'adulte. Un adulte ambre solid n'est phénotypiquement pas différent d'un noir dont les poils ont été brunis et dont la truffe constitue le seul vestige de la couleur passée. **Cette réalité ne s'applique pas à la robe tabby** : en effet, chez le chat ambre tabby, le museau est rose alors qu'il est rouge brique avec un liseré eumélanique chez le black tabby. **La mutation *ambre* aurait donc malgré tout un effet sur les mélanocytes épidermiques au contour du museau** et ferait disparaître le liseré eumélanique, par un mécanisme inconnu et non rapporté dans d'autres espèces animales.

Chez l'adulte, les coussinets sont foncés quelle que soit la couleur de base (ambre tabby ou solid, black tabby ou solid). Les coussinets du chaton ambre tabby sont roses. Comment expliquer que les coussinets s'obscurcissent et **suivent une évolution différente de celle de la truffe** qui reste rose ? La connaissance du déterminisme des couleurs de ces annexes épidermiques apporterait peut-être la réponse.

b. Locus brown

Une mutation *e* limite ou bloque complètement l'eumélanogenèse, mais n'a **aucune action sur le type d'eumélanine** produite dans les régions insensibles à cette mutation *e* : ce contrôle est réalisé par le locus *B* qui intervient en aval dans la voie métabolique. L'action de la mutation *ambre* sur une eumélanine chocolat ou cinnamon serait identique à celle de l'*ambre* sur l'eumélanine noire, mais aboutirait à une couleur différente : les interactions entre *MC1R* et *TYRP1* ont été décrites chez le chien (Schmutz *et al.*, 2002) et ne seront probablement jamais observées chez le Norvégien car les allèles *b* et *b'* n'existeraient pas dans la race.

²⁷ Occasionnellement les marques tabby et les marques fantômes restent visibles chez l'adulte ambre sur la tête et les extrémités des membres. Chez le chat, cette persistance localisée des rayures serait la conséquence d'une **double inhibition** localement exercée sur la protéine agouti : inhibition imposée par le locus *tabby* dans la rayure ET moindre sensibilité de certaines régions à la protéine agouti, dont la face (Schmutz *et al.*, 2003).

c. Locus colour

Le gène *extension* régule l'entrée dans l'eumélanogénèse via une élévation du taux de tyrosinase active dont la synthèse est permise par le locus *colour*. Les robes ambre sépia ou ambre colourpoint sont donc génétiquement possibles car l'action du locus *C* fait suite à celle du locus *E*: **les régions sombres deviendraient donc fauves**. Dans les régions blanches (colourpoint et albinos), la tyrosinase est instable et ne permet pas la synthèse d'eumélanine, ni celle de phaeomélanine, pigment majeur dans la robe ambre. **L'allèle ambre n'aurait donc aucune action sur les poils blancs**. Néanmoins seul l'allèle sauvage *C*⁺ existerait chez le Norvégien et ces robes ne se rencontreraient donc jamais, sauf peut être dans une autre race.

d. Locus dilution

La robe ambre clair apparaît sans ambiguïté diluée chez le chaton d'apparence bleue dont les poils sont encore riches en eumélanine et chez l'adulte d'apparence beige dont les poils sont riches en phaeomélanine. **Compte tenu de ces observations, l'allèle de dilution d concerne donc les deux pigments chez le chat** comme le suppose Ishida *et al.* (2006), contrairement à Vella *et al.* (1999) pour qui la dilution n'aurait d'action que sur la constitution des granules d'eumélanine.

La robe alezane diluée est dénommée palomino (fauve clair aux crins blancs) lorsque le cheval est hétérozygote et cremello (crème aux crins blancs) lorsqu'il est homozygote (Danjou, 2001). La mutation équine a été identifiée sur le locus *MATP* (Mariat *et al.*, 2003) et concerne un gène différent de celui responsable de la dilution chez le chat. Une robe crème est également décrite chez le chien. Toutefois ces gènes « crème » chez le cheval et le chien ont typiquement une action de dilution de la phaeomélanine, action beaucoup plus faible voire inexistante sur l'eumélanine (Mariat *et al.*, 2003, Schmutz *et al.*, 2007 a).

L'allèle de dilution présent dans la race Doberman correspond à une mutation du locus *melanophilin*, même gène de dilution que chez le chat et affectant surtout les granules eumélaniques. **Les effets de cette mutation sur la robe fauve récessive seraient à peine perceptibles chez le chien (Schmutz *et al.*, 2007 b), contrairement à la robe ambre clair du chat**. La couleur ambre contient-elle plus d'eumélanine que le phénotype ne le laisse supposer ? Seuls des dosages pourraient apporter la réponse. Cette différence serait toutefois plutôt liée au fait que l'allèle de dilution du chat concerne autant la phaeomélanine que l'eumélanine (Ishida *et al.*, 2006) contrairement à l'allèle de dilution du Doberman, alors que les deux concernent le même gène.

e. Locus inhibitor

En associant l'inhibition du dépôt phaeomélanique (allèle *I*) et l'inhibition de l'eumélanogénèse (allèle *e*), un poil silver ambre devrait présenter une racine transparente et une bande noire terminale. En pratique, une bande fauve plus ou moins allongée s'intercale entre la racine transparente et la bande noire, témoignant d'une **inhibition phaeomélanique incomplète**. Ce défaut pourrait correspondre au **tarnishing**, d'autant plus que l'ambre silver n'a jamais subi aucune sélection sur la qualité du silver. L'avenir apportera peut être la réponse si une sélection permet d'obtenir des robes comparables au silver shaded.

La robe ambre silver du chat n'est pas comparable aux robes silver fauve [ee] des autres espèces, car **l'action du silver semble différente chez le chat** et ne concerne pas l'eumélanine comme chez les autres espèces (Kwon *et al.*, 1995, Kerje *et al.*, 2004, Brunberg *et al.*, 2006, Clark *et al.*, 2006).

f. *Locus spotting*

L'allèle **S** intervient en amont de la mélanogenèse, sur la survie des mélanoblastes migrants. Des mariages expérimentaux ont montré que les panachures des cobayes fauves **e/e** sont plus étendues que celles des individus bicolores. Les cobayes **e^P/e** auraient également des panachures plus envahissantes que les animaux **e^P/e^P** (Chase, 1939). De même, les balzanes chez le cheval alezan sont proportionnellement plus étendues que chez le cheval noir et un MC1-R muté diminuerait la migration et la survie des mélanoblastes chez la souris (Kijas *et al.*, 2001). Même si le MC1-R ambre (partiellement inefficace) nuirait moins à la survie des mélanoblastes que le MC1-R fauve murin, **l'ambre pourrait favoriser l'extension des panachures** et rendre l'identification des couleurs plus difficile.

g. *Locus white dominant*

Responsable d'anomalie migratoire ou de viabilité modifiée des mélanoblastes (Vella *et al.*, 1999), son action est en amont dans la mélanogenèse. Par conséquent **l'allèle W devrait conserver son épistasie chez un individu ambre**. Ceci ne peut pas être conclu par des mariages-tests pour les raisons évoquées précédemment, mais la disponibilité actuelle d'un test génétique pour l'allèle *ambre* devrait permettre de lever le voile sur cette épistasie supposée.

h. *Locus widebanding*

L'allèle **Wb** allonge la période de production de la protéine agouti pendant l'anagène (Vella *et al.*, 1999). Les interactions entre le MC1-R muté et la protéine agouti sont complexes et varient avec l'inefficacité croissante du récepteur : *l'ambre* n'exprime complètement son épistasie sur la protéine agouti que chez l'adulte. Ceci suppose que **l'allèle ambre est aussi épistatique sur l'allèle widebanding chez le chat adulte Wb/-, e/e**. Mais l'expression des deux allèles est sensiblement identique avec un allongement de la bande phaeomélanique : bien malin donc celui qui réussira à distinguer les effets de l'allèle **e** de ceux de l'allèle **Wb**. L'allèle **Wb** n'existerait pas chez le Norvégien, ses interactions avec *l'ambre* s'observeront peut-être dans une autre race.

i. *Locus orange*

Le locus *orange* oriente vers la synthèse d'eumélanine (**X^{O+}**) ou celle de trichochrome (**X^O**). Un mariage a montré l'épistasie de l'allèle *orange* sur la mutation *ambre* (Vinot, communication personnelle) et suppose donc que **la synthèse du trichochrome est possible, même en l'absence du signal provoqué par la fixation de l'α-MSH sur le MC1-R**. Un récepteur partiellement inefficace n'empêche donc pas la synthèse du pigment orange, tout comme il n'empêche pas la phaeomélanogenèse : la synthèse du trichochrome est donc possiblement une voie parallèle à la phaeomélanogenèse.

j. *Glitter*

Le tip transparent n'a jamais été décrit pour les mutations **e** recensées chez les Vertébrés et ne trouve aucune signification dans l'hypothèse d'une mutation du *MC1R* puisque seule l'eumélanogenèse est bloquée (donc la pointe ne devrait pas être blanche ... éventuellement fauve). **Ce phénotype n'a donc rien à voir avec l'ambre** et proviendrait du Bleu Russe ou était déjà présent chez certains novices : il devrait donc se retrouver chez des Norvégiens de couleur classique.

D. La couleur ambre est-elle spécifique de la race du Norvégien ?

Le Sibérien est né sur le **continent européen** de croisements entre des chats domestiques de l'Est et des chats autochtones du nord de la Russie. Cette race est **plus jeune de quelques années** que le Norvégien et des **similitudes** existent entre son phénotype et celui des premiers Norvégiens. De plus, **son phénotype « golden tabby » se rapproche de l'ambre** (Figure 55A).

Associée à une truffe rose et des coussinets noirs, la couleur « golden tabby » du Sibérien est fauve, récessive et présenterait la même évolution avec l'âge, mais avec un éclaircissement moins marqué. Les couleurs golden dérivées (diluée, silver, solid ...) ne sont pas décrites chez le Sibérien (peut-être parce qu'elles n'existent pas encore ... ?) et ne peuvent pas être comparées à celles de l'ambre.

L'origine géographique et le phénotype nous ont donc incités à **rechercher la même mutation du MC1R dans cette race**. Nous avons obtenu la séquence complète du MC1R pour deux individus puis testé deux autres individus par PCR-RFLP.

c.840T>C est le seul SNP identifié par séquençage et la substitution c.250G>A n'a été retrouvée chez aucun des 4 Sibériens golden tabby. Ce phénotype est donc génétiquement différent de l'ambre.



Figure 55 : Robes similaires à l'ambre dans les autres races félines

A = jeune chat Sibérien décrit en « golden » spotted tabby, B = chat Persan golden shaded, C = chat Chausie décrit en « brown » ticked tabby, D = chat Bengal décrit en « brown » spotted tabby. Notez la couleur de la truffe (rose chez le Sibérien, rouge brique cerclée de noir chez les autres races) et celle de la queue, de la ligne dorsale, des faces plantaires et palmaires (noires).

De même, selon Kajon, la couleur golden shaded (Figure 55B) pourrait avoir le même support génétique que l'ambre (Kajon, communication personnelle), ce serait dans ce cas un autre allèle du gène *extension* chez le chat. **A mon sens, cette hypothèse est peu probable** car le phénotype golden shaded est intermédiaire entre la coloration noire sauvage et l'ambre, alors qu'en pratique l'allèle *widebanding* est dominant sur l'allèle sauvage. **Ne faudrait-il pas plutôt envisager une mutation « jaune dominante » au locus *agouti* comme possible support génétique de la couleur golden shaded chez le chat, puisque l'allèle *widebanding* intervient également au niveau du switch de la mélanogenèse ?**

Si c'était le cas, ceci conduirait à redéfinir chez le chat une série *agouti* à 3 allèles codant 3 phénotypes différents : A^W (anciennement *widebanding*, *Wb*) dominant sur A^+ (*agouti*) dominant sur a (uni). **Ceci expliquerait pourquoi on a empiriquement décrit que le *widebanding* ne s'exprimait pas sur une robe unie** (puisque selon cette théorie, pour être uni, le chat ne pourrait pas porter l'allèle A^W). La séquence du gène *agouti* est connue chez le chat, il ne reste donc plus qu'à caractériser moléculairement ce gène chez des chats de couleur golden shaded.

Depuis la reconnaissance officielle de l'ambre par la FIFe en 2005, deux nouvelles races prétendent aujourd'hui posséder cette couleur : le Chausie (Figure 55C) et le Bengal (Figure 55D). **J'émetts personnellement des réserves quant à l'existence de cette même mutation dans ces races**, à moins d'imaginer que la mutation *ambre* est ancienne et que l'ancêtre fondateur l'a disséminée sur tous les continents. En effet, ces deux races sont jeunes et **éloignées du Norvégien** autant par leur origine géographique que par leur standard. Pour ma part, les analogies entre la robe ambre du Norvégien et la robe fauve de ces races ne m'apparaissent pas évidentes, d'autant plus que la truffe associée à cette couleur est **cerclée d'un liseré eumélanique**.

Ces robes fauves sont à mon avis un héritage direct des Félidés sauvages dont sont issus le Bengal et le Chausie et dont certaines espèces présentent des robes similaires (Eizirik *et al.*, 2003), mais indépendantes du *MC1R*. Une **étude de séquençage** serait nécessaire pour étayer ou définitivement infirmer cette hypothèse. A défaut d'identifier la même mutation, elle permettrait peut-être de découvrir un autre polymorphisme du *MC1R* ou une nouvelle série allélique.

Tous les autres gènes intervenant dans le switch de la mélanogenèse sont des candidats intéressants pour les robes fauves décrites dans ces autres races félines.

Le gène *K* (*K* pour *black*) responsable de la robe noire dominante chez le chien (Kerns *et al.*, 2004) n'est pas l'équivalent du *MC1R* mais de la *béta-défensin 103* dont la protéine a pour cible le MC1-R (Candille *et al.*, 2007). Chez le chien cette série *K* compte trois allèles K^B (noir dominant), k^{br} (bringure) et k^+ (sauvage) avec des **interactions épistatiques entre les gènes *agouti*, *extension* et *black*** (Kerns *et al.*, 2007).

D'autres gènes interagissant au niveau du switch de la mélanogenèse sont aussi connus chez la souris, avec les mutations *mahogany* et *mahoganoid* concernant deux gènes différents. Ces deux mutants orientent vers l'eumélanogenèse et suppriment tous les effets de la protéine *agouti in vivo* (couleur, obésité ...) alors que la mutation *e* de la souris empêche l'expression de ces deux mutants. Ces deux gènes agissent vraisemblablement sur la synthèse de la protéine *agouti*, sa sécrétion ou sa fixation sur un récepteur membranaire (Miller *et al.*, 1997).

E. Crise du X-Color dans le monde du Norvégien

1. La race et ses couleurs

a. Un peu d'histoire

Les objectifs de la sélection étaient initialement la **préservation des caractéristiques naturelles** du Norvégien qui a été façonné par le rude climat nordique (robustesse, aptitude à la chasse, fertilité, fourrure, sous poil laineux, touffes de poils interdigitées ...). Au départ, la couleur n'a jamais été un objectif pour les sélectionneurs contrairement à la qualité de la fourrure et les classes novices sont restées ouvertes jusqu'à la fin des années 80, **sans tenir compte de la couleur pour la reconnaissance**. C'est par ce biais que le ticked a été introduit dans la population entre autre par la reconnaissance du chat N**Raggen* malgré les protestations de certains éleveurs. Le blanc uniforme serait apparu lui aussi avec un novice dans les années 80 et n'aurait jamais existé chez les chats de ferme de l'époque. Ces deux couleurs ont eu le bon sens d'apparaître avant les années 90, au contraire des X-Color. Car une partie du problème vient de là : en effet, les conséquences de **certaines reconnaissances « abusives »** ont été un foisonnement de couleurs, une réorganisation des expositions et l'apparition progressive de restrictions dans les standards.

b. Les craintes engendrées par les novices

Considérant la diversité croissante de couleurs dans la race, les professionnels ont imposé des limites pour enrayer cette multiplication des couleurs. Néanmoins les classes novices ne devaient pas être fermées prématurément sinon la race aurait souffert de consanguinité. Or si on savait quel caractère phénotypique devait présenter un novice, on ne connaissait pas précisément son origine²⁸. L'apport de races extérieures était en ce sens **inévitables et surtout dangereux** pour le look, le type, le caractère et le gabarit du Norvégien. La crainte secrète concernait surtout un apport incontrôlé de tares héréditaires dont le Norvégien serait originellement exempt : maladie polykystique rénale et cardiomyopathie (Persan, Maine Coon), amyloïdose hépatique (Siamois, Oriental) ou rénale (Abyssin), atrophie rétinienne progressive (Abyssin) ...

Si l'ambre a atteint un tel degré de défiance, c'est aussi pour ces raisons. Et pour cause, très tôt **la sélection a viré vers un type extrême** (von Ritter, 1988) : nez très long rectiligne, triangle isocèle, corps longiligne ... et cette évolution s'est ressentie au niveau du gabarit et de la qualité de poil, au point que certains Norvégiens ressemblaient à s'y méprendre au Mandarin. Etrangement **les races Orientales possèdent un large panel de couleurs** qui auraient très bien pu expliquer l'apparition d'une nouvelle couleur chez le Norvégien.

Les **rumeurs** ont rapidement percées, notamment concernant Babuschka. Ironiquement elle n'a d'ailleurs été critiquée qu'à partir du moment où on a su que le problème remontait à elle. Pour d'autres éleveurs, ces couleurs ont toujours existé mais suite à la division en 9 groupes de 1991, déterminer la vraie couleur est devenu un challenge spécial, alors qu'autrefois ces couleurs étaient classées intuitivement dans les black et blue tabby (Swepston-1 & 4/web).

²⁸ Pour rappel, les novices sont des chats autochtones dont les parents sont inconnus mais qui répondent au standard de la race et sont donc autorisés à entrer dans un plan de sélection pour l'établissement de la race.

2. Absence de sélection sur la couleur ?

Il serait prétentieux d'avancer que le Norvégien n'a jamais été sélectionné sur sa couleur. Ses couleurs ont en effet suivi l'**effet de mode** et les **enjeux commerciaux**, notamment avec la couleur silver (Fournier, 2004). La sélection reflète également un comportement naturel : en effet entre deux chatons de qualités techniques équivalentes on privilégiera celui dont la couleur est la plus brillante et la mieux contrastée. Aujourd'hui les black tabby ont une couleur plus chatoyante et les silver une couleur plus brillante. Les motifs tabby sont mieux délimités, la répartition et la proportion du blanc sont également mieux valorisées. Mais à l'inverse cette sélection entraîne aussi le déclin des premières couleurs du Norvégien (Madsen-5/web). Donc même si les couleurs du Norvégien ne sont pas aussi jolies que dans les autres races, **une sélection a malgré tout été inconsciemment menée**.

3. Enjeux du phénomène X-Color en Europe

a. Incidence de Kløfterhagens Babuschka dans les pedigrees européens

Le phénomène X-Color ne s'est déclaré que 10 ans après la naissance de Babuschka. Compte tenu de sa descendance nombreuse, il était donc **inconcevable d'éliminer tous les reproducteurs issus de sa lignée**, car une telle démarche aurait conduit à évincer la moitié des reproducteurs européens en 2003. Impossible à réaliser sur le plan pratique, cette démarche aurait été des plus préjudiciables pour la race sur le plan génétique (Madsen-6/web).

Aujourd'hui que l'hypothèse d'une autre race a été écartée, le noyau dur persiste et dénonce les **conséquences de la consanguinité** pratiquée pour fixer la couleur. Prétendre qu'elle n'ait pas eu de conséquences sur le type et le gabarit serait mentir. Toutefois il serait peut-être judicieux de se rappeler que certains piliers de la race ont eux aussi été outrageusement utilisés avec une consanguinité étroite, sans que cela ne pose problème.

b. L'illogisme de la situation

Simultanément à la naissance du Neva Masquerade (Sibérien colourpoint) et du Bombay (Burmese noir), certains ont proposé de faire de ces chats X-Color une **nouvelle race** (Swepston-4/web). Mais si les X-Color devenaient une race individuelle, comment aurait-on géré la consanguinité et quel sort fallait-il réserver aux chats hétérozygotes ?

Même si je comprends les réticences initiales, on note par cette proposition que les éleveurs anti X-Color n'avaient **pas compris la problématique** ou s'en moquaient. N'est-il pas également ironique que les éleveurs de Norvégiens ambre se soient battus pendant 13 années avant d'obtenir la reconnaissance, alors que de nombreux chats dans les couleurs classiques étaient issus des mêmes lignées, portaient l'allèle *ambre* et que par conséquent ces chats étaient encore plus dangereux sur les plans génétique et sanitaire ?!

- Ainsi S* Svarte Petters Bernard a été sacré Mâle Norvégien de la SVERAK en 1997 puis Skogkatt of the Year la même année. Il a terminé sa carrière Champion d'Europe soit le plus haut titre qu'un chat puisse briguer selon les règles FIFe. Ce même chat a été le père de 6 chatons ambre.
- S* Tassajara's Tigris, fille de Wildwood's Imer (donc hétérozygote) est également Championne d'Europe et sacrée Femelle Norvégienne de la SVERAK, en 1997.

Les exemples similaires de Norvégiens porteurs de la couleur et ayant eu un parcours récompensé sont nombreux, alors qu'on savait pertinemment qu'ils portaient l'allèle (et dans la même logique qu'ils représentaient un **risque pour la race**). On comprend alors sans peine la rancœur des éleveurs de Norvégiens X-Color, à qui on a refusé une reconnaissance pendant plus de 10 ans, pour des chats dont les qualités techniques étaient parfois équivalentes aux meilleurs sujets des couleurs classiques, prétextant qu'ils étaient dangereux ... alors que leurs frères et sœurs de portée, tout aussi dangereux étaient acclamés en expositions !

Dès 1992, des éleveurs de renom ont suspecté un croisement avec une autre race, ce qui a contribué à répandre de nombreux préjugés et à influencer les plus jeunes : actuellement le spectre du X-Color persiste à défigurer le « pur » Norvégien pour de nombreux éleveurs européens. Personne n'est pourtant capable de dire de quelle race proviendrait la couleur ambre.

D'autres opposants argumentent que l'ambre est inintéressant pour le Norvégien qui n'est pas un chat de couleur mais un chat de look et d'expression. Aujourd'hui rien n'est moins sûr et l'évolution des mentalités semble le démontrer. Même si le Norvégien doit garder ses caractéristiques premières, après 30 années de sélection, il sera bientôt temps de ne plus dédaigner les éleveurs qui tentent d'obtenir de jolies couleurs en complément du type.

Les éleveurs de Norvégiens ambre sont également critiqués de produire une couleur particulière, sans réelle volonté de sélection sur le type. Durant les premières années, les mariages ont en effet été guidés par la volonté d'identifier les chats portant l'allèle, parfois au mépris du type. Aujourd'hui, même si des efforts restent à faire, certains Norvégiens ambre n'ont plus rien à envier aux Norvégiens de couleur classique.

4. Evolution des opinions en France (François & Runzis/web)

En 2004, **rare**s encore étaient les éleveurs français qui se sentaient concernés par la problématique. Certains ne la mesuraient pas réellement ou restaient campés sur leur position faute d'information, voire par simple obstination (Annexe 11). Bien que les travaux allemands eussent écarté tous les gènes de couleurs du chat, nombreux étaient les éleveurs qui croyaient encore à un mariage extérieur. Toutefois, selon un sondage, si une preuve scientifique venait confirmer la mutation, rares seraient les éleveurs qui ne reconnaîtraient pas la légitimité de la couleur, mais tout aussi rares seraient ceux qui accepteraient de travailler avec. On attend donc de voir.

5. Demande de reconnaissance de la couleur ambre par le LOOF

Comme nous l'avons déjà abordé, la gestion des pedigrees est différente en France de ce qu'elle est dans la plupart des pays étrangers, à savoir que **tout chat de race né sur le territoire français doit posséder un pedigree LOOF**. Même inscrit à la FIFe, un éleveur français ne peut pas obtenir des pedigrees pour des chatons ambre, car le LOOF ne reconnaît pas encore cette couleur.

Responsable des recherches et vétérinaire de formation, j'ai donc encadré la réalisation d'un **dossier pour la demande de reconnaissance** de l'ambre dans le standard du Norvégien. Le LOOF devrait prochainement décider de reconnaître (ou non) cette couleur. Ce travail se fait

conjointement avec l'Association Internationale de Défense du Skogkatt (AIDS, un des clubs français du chat Norvégien).

a. Enjeu de cette couleur sur le territoire français

L'enjeu réel va bien au-delà de simples considérations propres à certains éleveurs et la question n'est pas de savoir si on aime ou non la couleur ou le type de ces chats. Il faut tenir compte de cette réalité, **l'allèle *ambre* appartient au patrimoine génétique de la race** et des chats hétérozygotes sont depuis longtemps présents en France.

Les caractéristiques de l'ambre ne peuvent qu'interpeller les passionnés de génétique féline et il serait regrettable de lui barrer la route en s'appuyant sur des motifs conservateurs, alors que cette couleur est un élément de richesse pour le Norvégien. La reconnaissance de cette couleur par le LOOF devrait donc s'inscrire dans la suite logique de ce travail, d'autant plus qu'il sera achevé par une **publication** dans la littérature scientifique internationale (Annexe 5).

b. Plan d'élevage de la couleur en France

Le type doit primer sur la couleur et les chats ambre allemands importés sur le territoire français en 2007 et 2008 sont le fruit d'un **choix réfléchi pour le phénotype et le pedigree** (nous avons privilégié l'importation de très bons sujets de lignées stables mais consanguins). Cette reconnaissance permettra aux éleveurs intéressés d'améliorer le type dans ces couleurs et de profiter de la diversité de robes sans devoir écarter un reproducteur d'un plan d'élevage sous prétexte qu'il est (ou peut être) porteur de la mutation *ambre*. Suite à la consanguinité plus marquée, le problème récurrent dans ces lignées concerne une **perte d'ossature**, à améliorer au long terme.

De déterminisme récessif, une **consanguinité raisonnée** sera indispensable pour faire apparaître la couleur en France. Pour la réduire, deux schémas sont possibles :

- soit l'importation de sujets ambre généalogiquement éloignés, mais ce schéma est limité par le manque de stabilité de certaines lignées de Norvégiens ambre dans lesquelles d'importants efforts de sélection restent à faire.
- ou l'importation ciblée de très beaux chats issus de lignées ambre génétiquement stables (et par conséquent plus consanguins) et l'ouverture génétique avec des individus issus des meilleures lignées françaises.

Dans les deux cas, la première étape passera par la **naissance de chatons hétérozygotes** qui seront ensuite **sélectionnés sur leur type**. Pour cette raison nous avons décidé d'introduire des chats ambre (et pas seulement porteurs) en France : en effet, les descendants d'un chat ambre sont tous porteurs alors que ceux d'un porteur ne le sont qu'à 50%. Aujourd'hui le **test génétique** proposé par le LVD 69 permet de contourner cet obstacle, puisque ce test permet d'identifier les chatons hétérozygotes pour l'allèle *ambre* avant le sevrage et de réserver ces plus beaux chatons pour l'élevage.

c. Les difficultés à venir

L'identification des couleurs est déjà particulièrement complexe chez le chat et l'apparition d'un nouvel allèle n'est bien sûr pas faite pour simplifier le tout. Ainsi, déterminer si une robe ambre est silver ou smoke n'est pas toujours évident, tout comme les robes ambre torbie avec peu d'orange et sans blanc.

Le déterminisme d'une robe ambre avec des panachures très envahissantes devient également un challenge : il faut donc éviter de marier deux individus E^+/e avec blanc, de cette façon, on n'obtient aucun chaton ambre e/e , S/S (c'est-à-dire arlequin ou van). Si par contre les deux parents sont ambre et blanc, on sait d'avance que tous les chatons obtenus sont ambre et l'extension des panachures ne constitue plus une difficulté pour identifier la couleur.

Une autre difficulté sera de faire comprendre que les « museaux noirs » d'apparence tigrée sont génétiquement unis. En FIFe et dans les clubs indépendants, les juges n'ont jamais vraiment accepté l'idée que ces Norvégiens soient unis, sauf lors de preuve génétique à l'appui. Ils les reclassaient donc systématiquement dans les groupes 3 et 4 (tabby) ce qui invalidait tous les rapports de jugement et titres attribués puisque le chat était jugé dans le mauvais groupe !

Compte tenu des polémiques récurrentes rencontrées par les éleveurs en exposition, la DEKZV eV (club FIFe allemand) a réitéré sa demande à la FIFe pour l'ouverture de deux nouveaux groupes²⁹ : ambre sans blanc (uni/tabby) et ambre avec blanc. Mais celle-ci a été à nouveau refusée (Utescheny, communication personnelle).

F. Ambre et Glycogen Storage Disease de type IV

1. La glycogénose du Norvégien (ou GSD IV)

Maladie analogue de la maladie d'Andersen chez l'homme, elle a été décrite pour la première fois aux **Etats-Unis** en **1992** sur des **Norvégiens adolescents** possédant certains ancêtres communs (Fyfe *et al.*, 1992). Classée parmi les maladies métaboliques de stockage, cette maladie héréditaire est **autosomale et récessive** : la mutation a été identifiée en 1996 et un **test de dépistage** est commercialisé pour contribuer à l'éradication de cette tare héréditaire.

Cette mutation siège dans le gène *GBE* codant pour la **Glycogen Branching Enzyme** (GBE) et est notée *GBE1*. Des substitutions sont décrites dans le même gène chez l'homme (Bao *et al.*, 1996, Moses & Parvari, 2002) et chez le cheval Quarter Horse (Ward *et al.*, 2004) mais la symptomatologie clinique varie selon les espèces et selon les mutations. La mutation identifiée chez le chat Norvégien est complexe et se caractérise par une délétion de 6200 nucléotides sur presque tout l'exon 12 qui est remplacée par un insert de 334 nucléotides (Fyfe *et al.*, 2007).

a. Tableau clinique (Fyfe *et al.*, 1992, Coates *et al.*, 1996)

La plupart des chatons homozygotes mutés est **mort-née** ou décède dans les premières heures, ce qui en fait une maladie difficile à diagnostiquer car la mortalité périnatale est fréquente en élevage félin et souvent sans diagnostic car sans autopsie.

²⁹ Jusqu'alors, les Norvégiens ambre ont été jugés dans les groupes déjà existants en couleur équivalente. Un Norvégien ambre tabby et blanc est par exemple jugé dans le même groupe que les Norvégiens black tabby et blanc.

Il y aurait environ 12% de chatons survivants (Fyfe *et al.*, 2007) qui sont **cliniquement normaux jusqu'à l'âge d'environ 4 mois**. Les principaux signes sont alors une **hyperthermie élevée** (~ 40°C) d'origine inconnue et récalcitrante à tout traitement, des **trémulations musculaires** et une **amyotrophie** rapide associée à un **arrêt de croissance**. L'évolution se fait vers une ataxie symétrique des quatre membres et une dépression des réactions posturales, des réflexes neuromusculaires et du fonctionnement des nerfs crâniens : **le tableau initialement musculaire devient neuromusculaire avec une atteinte multifocale à diffuse du système nerveux central**.

La maladie est **toujours fatale**, suite à une décompensation cardiaque ou à un coma. S'il n'est pas euthanasié avant, le chat homozygote muté décède généralement avant le 15^{ème} mois.

b. Pathogénie

Le glycogène consiste en une chaîne de glucoses liés en α 1-4 avec des ramifications glycosyl tous les 8 à 12 résidus. C'est la **molécule de stockage de l'énergie** dans le foie et les muscles des Mammifères.

La GBE correspond à la α 1-6 glycosyl-transférase, enzyme qui catalyse la **réaction de ramification** du glycogène. Suite à la mutation, son activité enzymatique est inférieure à 10% de l'activité physiologique chez les chats homozygotes mutés (Fyfe *et al.*, 1992). Cette voie métabolique devient donc déficiente et la structure du glycogène présente beaucoup moins de ramifications glycosyl (Figure 56).

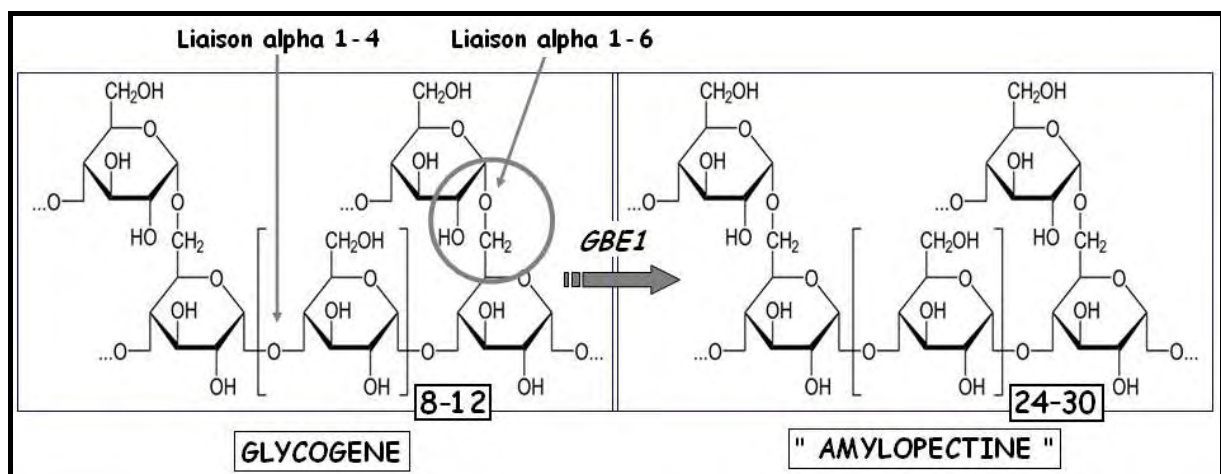


Figure 56 : Conséquences biochimiques de la mutation *GBE1* sur le métabolisme du glycogène

La mutation *GBE1* code pour une enzyme non fonctionnelle qui donne une molécule faiblement ramifiée, similaire à l'amylopectine, forme de stockage de l'énergie dans le règne végétal.

Suite à l'incapacité d'utiliser le glycogène anormal, les chatons **nouveau-nés sont hypoglycémiques** ce qui entraînerait leur mort via un arrêt cardiaque, une atteinte des centres respiratoires centraux et/ou un coma neurogène.

Les chatons homozygotes mutés qui survivent à cette période sont momentanément capables de maintenir une glycémie stable grâce aux voies parallèles de la néoglucogénèse (à partir des acides gras et des acides aminés glucoformateurs). Néanmoins **l'accumulation intracellulaire et multisystémique** de ce glycogène insoluble serait responsable chez ces derniers d'une

inflammation qui évolue vers la nécrose cellulaire : la forte hyperthermie et les symptômes musculaires en seraient les premiers témoins. Après avoir épuisé toutes les ressources énergétiques de l'organisme, le jeune chat décède d'un arrêt cardiaque, parfois précédé d'un coma neurogène (Fyfe *et al.*, 2007).

c. Historique de la glycogénose aux Etats-Unis

Les premiers Norvégiens ont été importés sur le continent américain en 1979 et la maladie n'a été identifiée que 13 années plus tard. Le pool génétique de la race était initialement réduit sur le continent américain d'où le recours à la **consanguinité**. Les 13 années s'expliquent donc par le temps nécessaire pour que les descendants d'un ancêtre porteur soient mariés ensemble. Si des reproducteurs hétérozygotes pour la *GBE1* n'avaient pas été exportés aux Etats Unis, la GSD IV ne serait peut-être toujours pas connue à ce jour.

Aux Etats-Unis, **deux lignées fondatrices** ont été identifiées, avec **D*Jarl av Trollsfjord** (N*Asta av Tofteberg x D*Cri-Cri von Oslo), mâle allemand né en 1984 et **N*Nano ur Skogi** (N*Mjavos Satie x N*Pans Tøffen), femelle norvégienne née en 1981.

Très vraisemblablement, Jarl a hérité l'allèle de sa mère **Asta av Tofteberg** (Figure 57) dont le frère **N*Alex av Tofteberg** portait aussi la mutation. Les parents d'Asta et d'Alex (N*Zumack x N*Dronning Åsa) étaient novices et aucun élément ne permet aujourd'hui de statuer lequel est à l'origine de la dissémination de l'allèle muté.

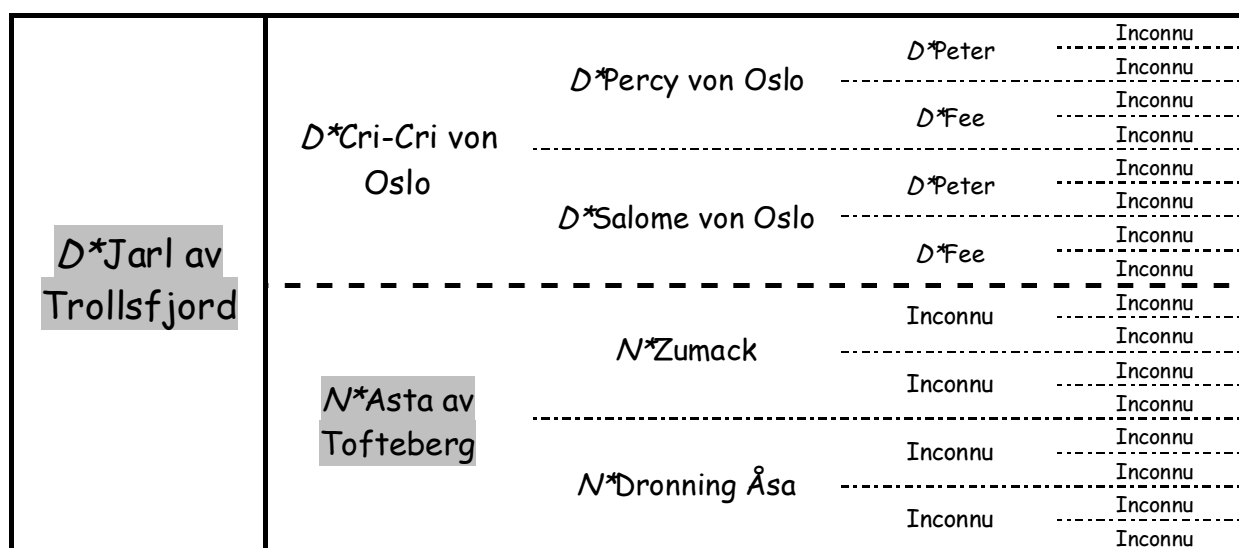


Figure 57 : Pedigree de D*Jarl av Trollsfjord

La lignée paternelle est représentée dans la partie supérieure du pedigree, la lignée maternelle correspond à la partie inférieure. Jarl av Trollsfjord et Asta av Tofteberg sont surlignés en gris, Asta est l'origine de la GSD IV chez Jarl av Trollsfjord. Cette conclusion est déduite de la confrontation de nombreux pedigrees de chats porteurs de GSD IV en Europe. Les analyses généalogiques ont été réalisées grâce aux bases de données *Pawpeds* et *Shaggytail*.

L'analyse généalogique de Nano est plus difficile voire effrayante. En effet, Nano regroupe dans son pedigree plusieurs novices qui ont été des **pilliers pour la race** (Figure 58) : N*Pans Truls, N*Pans Trulte, N*Pippa Frøken Skogpus, N*Josefine, N*Skrekken et N*Saga. Pans Tøffen, père de Nano ur Skogi est un étalon qui a beaucoup reproduit ce qui incite à **chercher l'origine de la mutation plutôt dans le pedigree de la mère Mjavos Satie**. A ce stade, les éléments restent insuffisants pour statuer de qui Satie aurait hérité l'allèle, même si la logique et la confrontation des différentes lignées porteuses de GSD IV m'ont orienté vers **Josefine** et **Saga**.

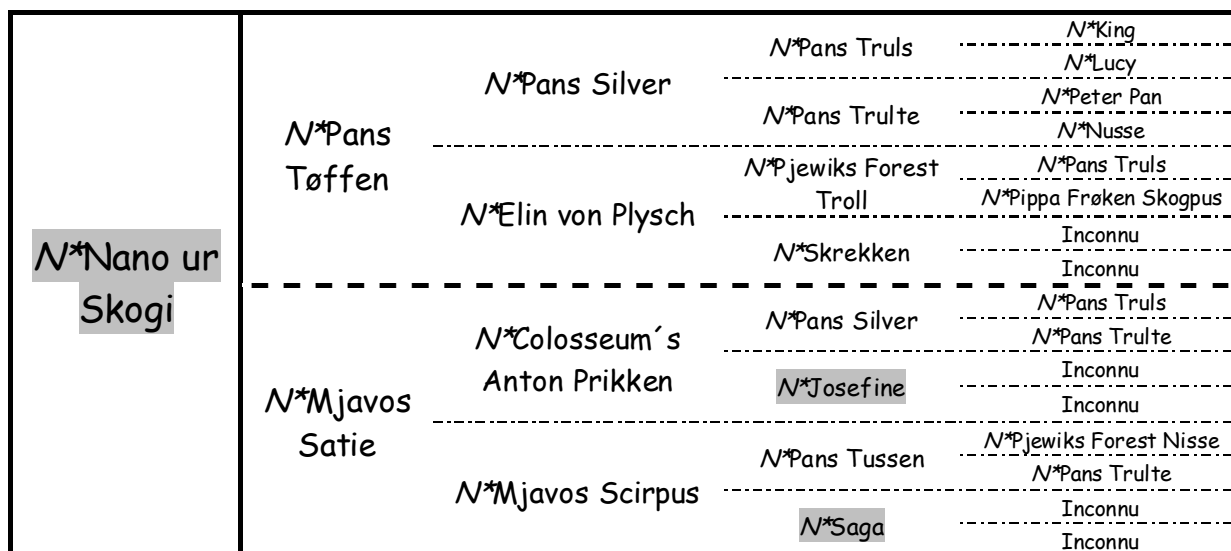


Figure 58 : Pedigree de N*Nano ur Skogi

La lignée paternelle est représentée dans la partie supérieure du pedigree, la lignée maternelle correspond à la partie inférieure. Nano ur Skogi et deux autres femelles sont surlignées en gris : ces deux femelles, Josefine et Saga correspondent aux deux origines les plus probables de la GSD IV chez Nano ur Skogi. Les analyses généalogiques ont été réalisées grâce aux bases de données *Pawpeds* et *Shaggytail*.

La découverte d'une relation géographique existant entre les ancêtres de Nano et la lignée av Tofteberg permettrait d'aller plus loin car un ancêtre commun est vraisemblablement à l'origine de TOUS les novices porteurs de la mutation *GBE1*.

2. Apparition de la GSD IV dans des lignées de Norvégiens ambre

La crainte ancestrale des éleveurs anti X-Color est finalement devenue réalité, même si personne n'aurait imaginé que la maladie véhiculée par certains Norvégiens ambre serait intrinsèque à la race. En effet, la GSD IV a été ignorée en Europe jusqu'en 2007, bien que parents, frères et cousins de Jarl et Nano aient reproduit en Scandinavie. D*Jasmin vom Waldfrieden décédée en 2005 et D*Olympia Edle von Rada décédée en 2007 ont été les deux premiers Norvégiens officiellement morts de la forme juvénile de GSD IV en Europe. Ces deux femelles étaient ambre. Si certains détracteurs se plairont à dire qu'ils avaient raison, je préfère y voir un **clin d'œil de la nature**. En effet, si l'ambre n'avait pas définitivement prouvé que la mutation *GBE1* existe toujours en Europe, combien d'années aurait-il fallu encore attendre pour en prendre conscience ? Et combien de nouvelles générations seraient nées porteuses de cette mutation ?

Le décès d'Olympia a permis de conduire une **campagne d'éradication** en France et dans les pays limitrophes, pour laquelle je continue d'œuvrer et qui a sensibilisé depuis peu les pays scandinaves encore très réfractaires jusqu'alors.

Réaction malheureusement prévisible, certains opposants ont utilisé cette dramatique histoire pour diaboliser encore plus l'ambre. Mais **l'amalgame ambre et GSD IV est une tragique méprise** ! La maladie a certes surgi aux Etats-Unis la même année où apparaissait l'ambre quelques milliers de kilomètres plus loin, mais les premiers Norvégiens ambre n'ont été importés outre Atlantique que plusieurs années plus tard. De plus, le dépistage réalisé au courant de l'année 2007 dans plusieurs pays européens a révélé l'existence de nombreux porteurs de GSD IV dans des lignées où la couleur ambre n'est jamais apparue.

En réalité, le seul péché de l'ambre est d'avoir croisé des porteurs de GSD IV et d'avoir réitéré la tragédie américaine : **en fixant ce caractère récessif par consanguinité, les éleveurs ont malheureusement aussi sélectionné la mutation *GBE1* simultanément.** Les deux loci sont situés sur deux chromosomes différents ce qui écarte toute relation génétique entre les deux gènes : le *GBE* se situe sur le chromosome C2 (Pontius *et al.*, 2007) et le *MC1R* sur le chromosome E2 (Eizirik *et al.*, 2003).

3. Campagne de dépistage et stratégie d'éradication

a. Rappels

La maladie est **autosomale récessive**, trois schémas sont donc possibles.

- 1 - Si les deux parents sont sains N/N , la descendance sera saine.
- 2 - Si un des deux parents est porteur hétérozygote N/m , statistiquement on doit obtenir 50% de porteurs et 50% de sains. Si un chat porteur n'est marié qu'à des chats sains au cours de sa carrière, il disséminera la mutation silencieusement.
- 3 - Si les deux parents sont hétérozygotes, on obtiendra les proportions suivantes dans la descendance : 25% de malades, 50% de porteurs inapparents et 25% de sains (Tableau 32).

Allèles hérités	m	N
m	m/m (= malade)	N/m (= porteur)
N	N/m (= porteur)	N/N (= sain)

Tableau 32 : Résultats théoriques attendus lors d'un mariage entre deux chats porteurs de GSD IV
N symbolise l'allèle normal, m symbolise l'allèle *GBE1* récessif

b. Résultats de la campagne de dépistage

Sur **110 chats testés** issus de toutes les lignées ambre allemandes et en ne considérant que les chats d'élevage nés strictement avant 2007, 21 porteurs ont été identifiés, soit **19,1%** (Tableau 33). Les diverses lignées ambre allemandes sont inégalement atteintes.

A titre de comparaison, **12%** de la population ont été estimés hétérozygotes par Antagène (plus de 1000 Norvégiens testés, France et pays limitrophes) et **9,5%** par Laboklin (540 Norvégiens testés, Allemagne-Suisse)³⁰ (Tableau 33).

	Fréquence NFO N/m	Fréquence allèle WT	Fréquence allèle muté	Fréquence NFO N/N	Fréquence NFO m/m
Lignées ambre allemandes	19,1%	89,3%	10,7%	79,8%	1,1%
France, pays limitrophes	12%	93,6%	6,4%	87,6%	0,4%
Allemagne, Suisse	9,5%	95,0%	5,0%	90,3%	0,2%

Tableau 33 : Prévalence théorique de la GSD IV dans différentes populations de Norvégiens européens
WT signifie wild-type, NFO signifie Norvégien

³⁰ La comparaison doit être relativisée et tenir compte du fait que les données fournies par Antagène et Laboklin comptent tous les chats dépistés porteurs entre l'été 2007 et l'été 2008, alors que la fréquence calculée de portage dans les lignées ambre allemandes ne compte que les reproducteurs nés avant 2007, faute d'information suffisante.

En considérant le tableau 33, un chaton sur cent décédait théoriquement de GSD IV dans les lignées ambre allemandes, avant les mesures prises pour éradiquer la mutation. La prévalence de la maladie restait très modérée d'autant plus que seulement 12% des chatons homozygotes mutés développaient la forme juvénile, soit **environ 1 chaton sur 1000**.

c. Stratégie d'éradication

L'élimination de la GSD IV passe avant tout par un **dépistage systématique de TOUS les reproducteurs**. En effet, en France, outre la lignée de D*Jana av Trollsford (sœur de D*Jarl av Trollsford, figure 57), trois nouvelles lignées ont été identifiées qui, si le dépistage n'avait pas été systématique, seraient restées inconnues pendant plusieurs années encore. Certains éleveurs affirmeront qu'ils connaissent les problèmes inhérents à leurs lignées et qu'une telle démarche est complètement absurde. Pourtant, il faut plusieurs années avant de voir les premiers effets de l'introduction de la mutation dans un schéma de sélection, surtout quand la consanguinité est faible. De plus, un mariage entre porteurs ne donne statistiquement qu'un chaton mort sur quatre, situation peu alarmante surtout en période périnatale. Seule la forme juvénile est caractéristique. Mais pour le bien-être animal et la réputation de la race, **la naissance de chatons homozygotes mutés doit être évitée** car cette expérience est cauchemardesque pour les futurs propriétaires.

Dans le cas de la couleur ambre, le **réservoir génétique est réduit**, ce qu'il ne faut pas négliger pour élaborer un programme de sélection et préserver la couleur. Trois cas sont possibles.

- Les éleveurs pourraient décider de stériliser tous leurs porteurs et de tester tous leurs descendants conservés pour l'élevage dans une démarche informative, en amont et en aval. Mais compte tenu de la proportion de chats hétérozygotes sains, cette démarche appauvrirait le pool génétique de ces lignées.
- L'alternative serait de conserver les meilleurs sujets porteurs de GSD IV et de les marier à des Norvégiens homozygotes sains, de préférence issus de nouvelles lignées : les plus beaux chatons seraient testés pour sauvegarder le patrimoine génétique et tous les chatons non testés ou porteurs sains seraient vendus en compagnie, identifiés et si possible stérilisés avant la vente.
- Enfin tout nouvel individu introduit dans le plan d'élevage devrait être testé pour ne pas reproduire la même catastrophe dix années plus tard. De même, pour toute saillie extérieure, le statut des deux parents devrait être connu ou au moins celui des chatons issus de ce mariage, destinés à l'élevage.

En pratique, chaque éleveur a géré la situation indépendamment et nombreux sont ceux qui ont stérilisé tous leurs chats porteurs. En effet, **le protocole de sauvegarde est financièrement lourd** et le prix d'un test plus celui de la stérilisation augmente nettement le prix d'achat du chaton. De plus la stérilisation précoce n'est pas encore entrée dans les mœurs de la profession vétérinaire en Europe ce qui implique pour l'éleveur de faire entièrement confiance aux futurs acheteurs.

Enfin, le **manque de recul** actuel sur la maladie peut aussi effrayer et décourager les éleveurs de faire naître des chatons porteurs : en effet, dans certaines lignées, nombreuses sont les portées issues d'un seul parent porteur qui sont décimées à la naissance ou dans les premiers

mois. Coïncidence ou réalité ? Les chatons hétérozygotes pour la GSD IV pourraient-ils être plus fragiles ? Après tout, l'accumulation du glycogène anormal est multisystémique et l'activité enzymatique de la GBE est très faible chez certains porteurs, de seulement 17% de l'activité physiologique normale (Fyfe *et al.*, 1992). Ceci pourrait expliquer pourquoi les porteurs dans certaines lignées peuvent présenter un **tableau clinique très polymorphe**.

4. Etudes généalogiques

La confrontation des pedigrees des Norvégiens porteurs européens et américains m'a permis de cibler plus précisément l'origine de la GSD IV dans les lignées ambre allemandes.

- **D*Jankothan av Takeskog** et **D*Jinni av Takeskog** (*S*Morky's Mathilda* x *DK*Hopeless Tribes Goran*) portaient l'allèle *ambre* et vraisemblablement la mutation *GBE1*. Cet héritage de la mutation *GBE1* proviendrait de Mathilda et remonterait à **N*Alex av Tofteberg**, car une autre lignée porteuse est issue de *S*Morky's Maximilian*, frère de Morky's Mathilda. Jankothan est celui qui a le plus contribué à disséminer la mutation en parallèle de l'ambre.
- Un ancien mâle finlandais, **FIN*Tähtyiön Alfa** aurait également porté la mutation *GBE1*. Il ne portait pas l'allèle *ambre*, mais est le grand-père d'une chatte portant ambre et GSD IV qui est présente dans le pedigree de nombreux Norvégiens ambre actuels. Deux autres lignées danoises non ambre et porteuses de GSD IV semblent se rejoindre également par ce mâle. Zumack et Dronning Åsa ne figurent pas dans le pedigree d'Alfa.
- **D*Holly von der Graftschaft** a transmis la mutation *GBE1* mais ne portait vraisemblablement pas l'allèle *ambre*. Elle aurait pu hériter la GSD IV de **N*Odin av Æsene**, fils de Kløfterhagens Babuschka. Tout comme Alfa, Odin est en effet un mâle fréquemment retrouvé dans les pedigrees de chats porteurs et qui ne descend ni de Zumack, ni de Dronning Åsa. Babuschka est une descendante directe de la novice Saga, déjà incriminée dans le pedigree de Nano ur Skogi. Si Kløfterhagens Babuschka (mère de l'ambre) est à l'origine de la GSD IV dans le pedigree d'Holly, **cela expliquerait pourquoi certaines lignées d'ambre étaient déjà « plombées » originellement**.
- Sept chats ambre suédois ont été importés en Allemagne à la fin des années 90. Parmi ces sept, *S*Taylor Hill's Kastor* et *S*Taylor Hill's Kassiopeia* étaient sains. **S*Royal Imp's Tinne** portait la mutation *GBE1* et son frère *S*Royal Imp's Maurice* aurait donc pu la porter. *S*Porfyrgårdens Yeni* ne semble pas l'avoir portée. Par contre, **S*Wildwood's Peter Pan**, demi-frère de Tinne était probablement porteur. Marié à plusieurs femelles (dont une femelle hétérozygote pour la *GBE1*), il a été le géniteur de nombreuses portées à problème (chatons mort-nés). Peter Pan n'a pas pu être testé, néanmoins une de ses sœurs, *S*Wildwood's Repris*, restée en Suède et présente dans la plupart des pedigrees ambre suédois actuels porte la mutation *GBE1* ce qui conforte cette hypothèse. L'origine de la GSD IV se cache donc vraisemblablement derrière **S*Svarte Petters Bernard**, père de Peter Pan et de Tinne, qui ne descend pas de Zumack, ni de Dronning Åsa.

Le dépistage, à ses débuts en Suède, devrait bientôt permettre d'**estimer la fréquence de la mutation dans les lignées ambre suédoises**, voire peut-être d'**identifier les autres novices porteurs**, à l'origine de la GSD IV dans la population du Norvégien.

Les **schémas de transmission probables** de la mutation *GBE1* chez les deux premières chattes ambre officiellement décédées de GSD IV sont présentés dans le tableau 34³¹ (Annexes 12A & 12B).

NOM	Lignée paternelle	Lignée maternelle
D*Jasmin vom Waldfrieden	S*Royal Imp's Tinne ou D*Khalif v. Arlesbrunnen	D*Janko than av Takeskog
D*Olympia Edle von Rada	D*Jinni av Takeskog	D*Janko than av Takeskog ou S*Wildwood's Peter Pan

Tableau 34 : Etude des pedigrees de Jasmin v. Waldfrieden et Olympia Edle v. Rada

L'ambre a donc permis de clarifier la situation pour la GSD IV et de sensibiliser les éleveurs européens : malgré l'information apportée par John Fyfe dans les années 90, peu d'éleveurs de Norvégiens n'y ont prêté attention avant 2007. Certains étaient même persuadés qu'il s'agissait d'une spécificité américaine possiblement héritée d'un mariage illicite avec un Maine Coon, pour élargir le pool génétique du Norvégien sur le territoire américain.

A ce jour, même si certains opposants de l'ambre sont trop butés pour se remettre en question, tous devraient pourtant accepter l'idée que l'ambre a sans doute sauvé la race de la GSD IV : **en effet le dépistage européen a montré l'existence d'une lignée danoise porteuse très utilisée et qui a disséminé la mutation *GBE1* dans de nombreuses chatteries européennes non ambre**. Comment aurait évolué la situation dans quelques années si personne n'avait eu connaissance de la GSD IV ? Espérons que le programme de santé mené avec l'organisme de félinotechnie Pawpeds contribue à sensibiliser l'élevage danois et à les faire entrer dans cette sélection contre la GSD IV.

³¹ Tous les ancêtres n'ont pas été testés, mais par déduction, voici le scénario le plus probable.

CONCLUSION

Décrite pour la première fois en février 1992, la couleur ambre a seulement été rapportée dans **une lignée de Chat des Forêts Norvégiennes** qui a été exportée depuis la Norvège vers la Suède et l'Allemagne dans les années 90. Alors que la couleur de la robe n'est pas un caractère particulièrement sélectionné dans la race du Norvégien, la couleur ambre est au centre des débats et le fruit de **multiples polémiques** depuis dix-sept ans et n'a cessé de diviser la scène européenne du Skogkatt. Malgré l'opposition parfois virulente de certains éleveurs, la couleur ambre a été reconnue par la **Fédération Internationale Féline en janvier 2005**, après le résultat de mariages-tests qui ont prouvé que les Norvégiens ambre étaient **génétiquement noirs**.

Chez le chat, on décrit onze gènes majeurs intervenant dans la couleur de la robe. Ces gènes régulent diverses étapes ou voies métaboliques de la mélanogenèse depuis l'embryogenèse jusqu'à la synthèse pigmentaire. Chacun de ces onze gènes possède deux ou plusieurs allèles ce qui permet une **grande variabilité de couleurs** de robe chez le chat, variabilité qui est plus limitée dans la race du Norvégien dont le standard interdit certaines couleurs.

Le gène *extension* code pour le **melanocortin receptor de type 1** ou **récepteur de la mélanocortine de type 1**, ce récepteur joue un rôle fondamental dans la **synthèse du pigment eumélanique**. Deux types de mutations sont rapportées sur ce gène, celles codant pour une robe noire dominante (E^D ou E) et celles codant pour une robe fauve récessive (e). De nombreuses mutations e ont déjà été recensées dans les espèces de Vertébrés, mais **aucune mutation du gène *extension* n'a été identifiée chez le chat**. Fauve et à déterminisme récessif, la robe ambre est également associée à des annexes épidermiques eumélaniques. Ces trois caractéristiques ont constitué une de nos bases pour suspecter l'intervention du gène *extension* dans l'apparition de cette nouvelle couleur chez le Chat des Forêts Norvégiennes.

A partir d'une collection de 69 échantillons issus de Norvégiens ambre ou porteurs, nous avons démontré, par séquençage du gène *MC1R* puis par PCR-RFLP, une **corrélation parfaite** entre le génotype supposé des chats testés et l'existence de la substitution **p.Asp84Asn** identifiée dans le gène *extension*. Cette mutation concerne un résidu fondamental pour les interactions entre le MC1-R et l' α -MSH.

Ce travail apporte tous les arguments scientifiques nécessaires pour définitivement **inscrire l'ambre au large panel des couleurs** connues chez le chat. Cette couleur décrite uniquement chez le Norvégien correspond au premier allèle muté du gène *extension* chez le chat. Cette mutation e est également la première à être identifiée dans la grande famille des Félidés qui revêt de nombreuses couleurs de robe, y compris de teinte fauve. Elle est également la première à présenter ce type d'épistasie sur la série *agouti*, épistasie qui n'est complètement effective que sur la robe adulte contrairement aux autres espèces. Ces travaux font l'objet d'un article sous presse dans la revue *Animal Genetics*.

Le **test de dépistage** (PCR-RFLP associé) proposé par le Laboratoire Vétérinaire Départemental du Rhône facilitera également la sélection entamée sur le Norvégien ambre par les éleveurs allemands, suédois et hollandais depuis déjà plusieurs années. En effet, ce test permettra de déterminer avant le sevrage quels sont les chatons hétérozygotes pour l'allèle *ambre* alors qu'auparavant le seul moyen de le savoir était d'attendre les premières portées du chat.

Ce travail devrait permettre dans un avenir proche de **faire reconnaître cette couleur en France par le LOOF**, organisme de sélection féline et distributeur de pedigrees en vigueur sur le territoire national, ainsi que par les autres fédérations félines étrangères qui ne l'ont pas encore inscrite dans le standard du Skogkatt. Ces reconnaissances signeront alors la résolution officielle du mystère ambre chez le Chat des Forêts Norvégiennes, en acceptant cette couleur comme une caractéristique naturelle du patrimoine génétique de la race.

Le Professeur responsable
de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon

Véronique LANBERT



Le Président de la thèse

Emme LINA



Vu : Le Directeur de l'Ecole
Nationale Vétérinaire de Lyon

LE DIRECTEUR

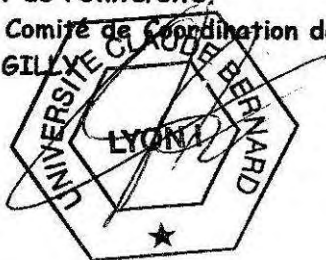
Stéphane MARTINOT

Vu et permis d'imprimer

Lyon, le 15 DEC. 2008

Pour le Président de l'Université,

Le Président du Comité de Coordination des Etudes Médicales,
Professeur F.N GILLYE



BIBLIOGRAPHIE

- ADALSTEINSSON S., HERSTEINSSON P., GUNNARSSON E. (1987)
Fox colors in relation to colors in mice and sheep. *The Journal of heredity*, **78**, 4, 235-237.
- ALHAIDARI Z. (2001)
Troubles de la pigmentation mélanique, in Encyclopédie Vétérinaire, Dermatologie 2600, Ed Elsevier, Paris, 1-10.
- AUBIN HOUZELSTEIN G. (1997)
Les gènes de pigmentation chez la souris. Thèse de Doctorat Vétérinaire, Faculté de Médecine, Créteil 135 p.
- BAO Y., KISHNANI P. WU J.Y., CHEN Y.T. (1996)
Hepatic and neuromuscular forms of Glycogen Storage Disease type IV caused by mutations in the same *glycogen branching enzyme* gene. *The Journal of clinical investigation*, **97**, 4, 941-948.
- BASTIAENS M.T., TER HUURNE J.A., KIELICH C., GRUIS N.A., WESTENDORP R.G., VERMEER B.J., *et al.* (2001 a)
Melanocortin-1 Receptor gene variants determine the risk of nonmelanoma skin cancer independently of fair skin and red hair. *American journal of human genetics*, **68**, 4, 884-894.
- BASTIAENS M., TER HUURNE J., GRUIS N., BERGMAN W., WESTENDORP R., VERMEER B.J., *et al.* (2001 b)
The *melanocortin-1-receptor* gene is the major freckle gene. *Human molecular genetics*, **10**, 16, 1701-1708.
- BEAUMONT K.A., NEWTON R.A., SMIT D.J., LEONARD J.H., STOW J.L., STURM R.A. (2005)
Altered cell surface expression of human MC1R variant receptor alleles associated with red hair and skin cancer risk. *Human molecular genetics*, **14**, 15, 2145-2154.
- BERRYERE T.G., KERNS J.A., BARSH G.S., SCHMUTZ S.M. (2005)
Association of an *Agouti* allele with fawn or sable coat color in domestic dogs. *Mammalian genome*, **16**, 4, 262-272.
- BINDER M. (1998)
Norwegische Waldkatzen in den Farben Cinnamon und Fawn auf der FIFé-Show in Börlange (S). *Katzen Extra*, **8**/1998, 28-34.
- BOSSE P. (2005)
Génétique de la couleur du pelage chez les mammifères : de la souris au chat. Communications.
Bulletin de l'Académie Vétérinaire de France, **158**, supplément au N°4, 499-508.
- BOUCHARD B. (1993)
Le développement embryonnaire du système mélanocytaire et sa pathologie. *m/s*, **9**, 417-424.
- BOUCHER, S. (1993)
Les robes du lapin (*Oryctolagus cuniculus*). Etude génétique des patrons "blanc aux yeux bleus", "agouti gris" et "chamois". Thèse de Doctorat Vétérinaire, Faculté de Médecine, Nantes, 191 p.
- BOX N.F., WYETH J.R., O'GORMAN L.E., MARTIN N.G., STURM R.A. (1997)
Characterization of *melanocyte stimulating hormone receptor* variant alleles in twins with red hair. *Human molecular genetics*, **6**, 11, 1891-1897.
- BOX N.F., DUFFY D.L., IRVING R.E., RUSSELL A., CHEN W., GRIFFITHS L.R., *et al.* (2001)
Melanocortin-1 receptor genotype is a risk factor for basal and squamous cell carcinoma. *The Journal of investigative dermatology*, **116**, 2, 224-229.
- BRISSEON A. (1989)
De quelle couleur seront mes chatons? Abrégé de la génétique de la robe, Ed. Le Point Vétérinaire, Maisons-Alfort, 104 p.
- BRUNBERG E., ANDERSSON L., COTHRAN G., SANDBERG K., MIKKO S., LINDGREN G. (2006)
A missense mutation in *PMEL17* is associated with the silver coat color in the horse. *BMC genetics*, **9**, 7:46.
- BURCHILL S.A. & THODY A.J. (1986 a)
Melanocyte-stimulating hormone and the regulation of tyrosinase activity in hair follicular melanocytes of the mouse. *The Journal of endocrinology*, **111**, 2, 225-232.
- BURCHILL S.A., THODY A.J., ITO S. (1986 b)
Melanocyte-Stimulating Hormone, tyrosinase activity and the regulation of eumelanogenesis and pheomelanogenesis in the hair follicular melanocytes of the mouse. *The Journal of endocrinology*, **109**, 1, 15-21.
- BURCHILL S.A., VIRDEN R., THODY A.J. (1989)
Regulation of tyrosinase synthesis and its processing in the hair follicular melanocytes of the mouse during eumelanogenesis and pheomelanogenesis. *The Journal of investigative dermatology*, **93**, 236-240.
- CANDILLE S.I., KAELIN C.B., CATTANACH B.M., YU B., THOMPSON D.A., NIX M.A., *et al.* (2007)
A *-defensin* mutation causes black coat color in domestic dogs. *Science*, **318**, 5855, 1418-23.
- CESARINI J.P. (1995)
Hyper et hypopigmentations transitoires chez les mammifères. 42^{ème} Séminaire « Peau et pelage », Société Francophone de Cynotechnie, Artigues-Pres-Bordeaux, 234-241.

- CHAKRABORTY A., SLOMINSKI A., ERMAK G., HWANG J., PAWELEK J. (1995)
Ultraviolet B and melanocyte-stimulating hormone (MSH) stimulate mRNA production for α -MSH receptors and proopiomelanocortin-derived peptides in mouse melanoma cells and transformed keratinocytes. *The Journal of investigative dermatology*, **105**, 655-659.
- CHASE H.B. (1939)
Studies on the Tricolor Pattern of the Guinea Pig. II. The Distribution of Black and Yellow as Affected by White Spotting and by Imperfect Dominance in the Tortoise Shell Series of Alleles. *Genetics*, **24**, 4, 622-643.
- CHHAJLANI V. & WIKBERG J.E. (1992)
Molecular cloning and expression of the human *melanocyte stimulating hormone receptor* cDNA. *FEBS letters*, **309**, 417-420.
- CLARK L.A., WAHL J.M., REES C.A., MURPHY K.E. (2006)
Retrotransposon insertion in *SILV* is responsible for merle patterning of the domestic dog. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **103**, 5, 1376-81.
- COATES J.R., PAXTON R., COX N.R., BRAUND K.G., STEISS J.E., BAKER H.J., *et al.* (1996)
A case presentation and discussion of type IV Glycogen Storage Disease in a Norwegian Forest Cat. *Progress in Veterinary Neurology*, **7**, 1, 5-11.
- COMBET C., JAMBON M., DELEAGE G., GEOURJON C. (2002)
Geno3D: automatic comparative molecular modelling of protein. *Bioinformatics*, **18**, 1, 213-214.
- CONE R.D., LU D., KOPPULA S., VAGE D.I., KLUNGLANG H., BOSTON B., *et al.* (1996)
The Melanocortin Receptors: agonists, antagonists, and the hormonal control of pigmentation. *Recent progress in hormone research*, **51**, 287-317.
- COOPER M.P., FRETWELL N., BAILEY S.J., LYONS L.A. (2005)
White spotting in the domestic cat (*Felis catus*) maps near *KIT* on feline chromosome B1. *Animal genetics*, **37**, 2, 163-165.
- DANJOU O. (2001)
Couleur de robe chez le cheval contrôle génétique. Thèse de Doctorat Vétérinaire, Université Claude Bernard, Lyon, 67 p.
- DECOUT M. (2003)
Les génodermatoses responsables de troubles de la pigmentation chez les carnivores domestiques. Thèse de Doctorat Vétérinaire, Université Claude Bernard, Lyon, 108 p.
- DOUCET S.M., SHAWKEY M.D., RATHBURN M.K., MAYS H.L., MONTGOMERIE R. (2004)
Concordant evolution of plumage colour, feather microstructure and a *melanocortin receptor* gene between mainland and island populations of a fairy-wren. *Proceedings. Biological sciences / The Royal Society*, **271**, 1549, 1663-1670.
- DRÖGEMÜLLER C., RÜFENACHT S., WICHERT B., LEEB T. (2007)
Mutations within the *FGF5* gene are associated with hair length in cats. *Animal Genetics*, **38**, 3, 218-21
- DUN G., LI X., CAO H., ZHOU R., LI L. (2007)
Variations of *melanocortin receptor 1 (MC1R)* gene in three pig breeds. *Journal of genetics and genomics*, **34**, 9, 777-82.
- DUVAL C., SMIT N.P., KOLB A.M., REGNIER M., PAVEL S., SCHMIDT R. (2002)
Keratinocytes control the pheo/eumelanin ratio in cultured normal human melanocytes. *Pigment cell research*, **15**, 6, 440-446.
- EIZIRIK E., YUHKI N., JOHNSON W.E., MENOTTI-RAYMOND M., HANNAH S.S., O'BRIEN S.J. (2003)
Molecular genetics and evolution of melanism in the cat family. *Current biology*, **13**, 5, 448-453.
- ERIKERS S., FLINK M., OLSSON U. (1998)
Cinnamon and fawn Norwegian Forest Cats: vote for me! FIFé, Börlange, 50p.
- EVERTS R.E., ROTHUIZEN J., VAN OOST B.A. (2000)
Identification of a premature stop codon in the *melanocyte-stimulating hormone receptor* gene (*MC1R*) in Labrador and Golden retrievers with yellow coat colour. *Animal genetics*, **31**, 3, 194-199.
- FARGERAS J. (1995)
Physiologie de la peau et du pelage, 42^{ème} séminaire « Peau et pelage », Société Francophone de Cynotechnie, Artigues-Pres-Bordeaux, 49-70.
- FFH (FEDERATION FELINE HELVETIQUE) (2004)
L'assemblée Générale de la Fédération Internationale Féline - FIFé - les 27 & 28 mai 2004 à Albufeira Portugal. Autres propositions : propositions des membres N° 16, 8/9.
- FIEDLER A.B. (2002)
Norwegische Waldkatzen in den neuen Farben : Beobachtungen und Vermutungen. *Katzen Extra*, **2**/2002, 10-15.
- FLANAGAN N., HEALY E., RAY A., PHILIPS S., TODD C., JACKSON I.J., *et al.* (2000)
Pleiotropic effects of the *melanocortin 1 receptor (MC1R)* gene on human pigmentation. *Human molecular genetics*, **9**, 17, 2531-2537.

- FONTANESI L., TAZZOLI M., BERETTI F., RUSSO V. (2006)
Mutations in the *melanocortin 1 receptor (MC1R)* gene are associated with coat colours in the domestic rabbit (*Oryctolagus cuniculus*). *Animal genetics*, **37**, 5, 489-493.
- FOURNIER A. (2004)
Côté race : le Norvégien. *Côté Chat*, **36**, 9-19
- FRÄNDBERG P.A., DOUFEXIS M., KAPAS S., CHHAJLANI V. (1998)
Amino acid residues in third intracellular loop of melanocortin 1 receptor are involved in G-protein coupling. *Biochemistry and molecular biology international*, **46**, 5, 913-22.
- FRÄNDBERG P.A., DOUFEXIS M., KAPAS S., CHHAJLANI V. (2001)
Cysteine residues are involved in structure and function of Melanocortin 1 Receptor: substitution of a cysteine residue in transmembrane segment two converts an agonist to antagonist. *Biochemical and biophysical research communications*, **281**, 4, 851-857.
- FYFE J.C., GIGER U., VAN WINCKLE T.J., HASKINS M.E., STEINBERG S.A., WANG P., *et al.* (1992)
Glycogen Storage Disease type IV: inherited deficiency of branching enzyme activity in cats. *Pediatric research*, **32**, 6, 719-725.
- FYFE J.C., KURZHALS R.L., HAWKINS M.G., WANG P., YUHKI N., GIGER U., *et al.* (2007)
A complex rearrangement in *GBE1* causes both perinatal hypoglycemic collapse and late-juvenile-onset neuromuscular degeneration in glycogen storage disease type IV of Norwegian Forest Cats. *Molecular genetics and metabolism*, **90**, 4, 383-392.
- GARCIA-BORRON J.C., SANCHEZ-LAORDEN B.L., JIMENEZ-CERVANTES C. (2005)
Melanocortin-1 receptor structure and functional regulation. *Pigment cell research*, **18**, 393-410.
- GRAHN R.A., LEMESCH B.M., MILLION L.V., MATISE T., ROGERS Q.R., MORRIS J.G., *et al.* (2005)
Localizing the X-linked orange colour phenotype using feline resource families. *Animal genetics*, **36**, 1, 67-70.
- GRIMM, D. (1989)
Le gène *orange*. Thèse de Doctorat Vétérinaire, Université Claude Bernard, Lyon, 109 p.
- GUAGUERE E., ALHAIDARI Z., ORTONNE J.P. (1985)
Troubles de la pigmentation mélanique en dermatologie des carnivores : élément de physiopathologie. *Point vétérinaire*, **17**, 549-557.
- HAITINA T., RINGHOLM A., KELLY J., MUNDY N.I., SCHIÖTH H.B. (2007)
High diversity in functional properties of *melanocortin 1 receptor (MC1R)* in divergent primate species is more strongly associated with phylogeny than coat color. *Molecular biology and evolution*, **24**, 9, 2001-2008.
- HALABAN R., POMERANTZ S.H., MARSHALL S., LERNER A.B. (1984)
Tyrosinase activity and abundance in Cloudmann melanoma cells. *Archives of biochemistry and biophysics*, **230**, 383-387.
- HARDING R.M., HEALY E., RAY A.J., ELLIS N.S., FLANAGAN N., TODD C., *et al.* (2000)
Evidence for variable selective pressures at *MC1R*. *American journal of human genetics*, **66**, 4, 1351-1361.
- HASKELL-LUEVANO C., SAWYER T.K., TRUMPP-KALLMEYER S., BIKKER J.A., HUMBLET C., GANTZ I., *et al.* (1996)
Three-dimensional molecular models of the hMC1R melanocortin receptor: complexes with melanotropin peptide agonists. *Drug design and discovery*, **14**, 3, 197-211.
- HAUSCHKA T.S., JACOBS B.B., HOLDRIDGE B.A. (1968)
Recessive yellow and its interaction with belted in the mouse. *The Journal of heredity*, **59**, 6, 339-341.
- HEALY E., TODD C., JACKSON I.J., BIRCHMACHIN M., REES J.L. (1999)
Skin type, melanoma, and melanocortin 1 receptor variants. *The Journal of investigative dermatology*, **112**, 512-513.
- HOEKSTRA H.E. & NACHMAN M.W. (2003)
Different genes underlie adaptive melanism in different populations of rock pocket mice. *Molecular ecology*, **12**, 5, 1185-1194.
- HOLDER J.R. & HASKELL-LUEVANO C. (2004)
Melanocortin ligands: 30 years of structure-activity relationship (SAR) studies. *Medicinal research reviews*, **24**, 325-356.
- HOLST B., ELLING C.E., SCHWARTZ T.W. (2002)
Metal Ion-mediated Agonism and Agonist Enhancement in Melanocortin MC1 and MC4 Receptors. *The Journal of biological chemistry*, **277**, 49, 47662-47670.
- HOSODA T., SATO J.J., SHIMADA T., CAMPBELL K.L., SUZUKI H. (2005)
Independent nonframeshift deletions in the *MC1R* gene are not associated with melanistic coat coloration in three Mustelid lineages. *The Journal of heredity*, **96**, 5, 607-613.
- HUNT G. & THODY A.J. (1995)
Agouti protein can act independently of melanocyte-stimulating hormone to inhibit melanogenesis. *The Journal of endocrinology*, **147**, R1-4.

- IBSEN H.L. (1919)
Tricolor inheritance. IV. The triple allelo-morphic series in guinea-pigs. *Genetics*, **4**, 6, 597-606.
- IMES D.L., GEARY L.A., GRAHN R.A., LYONS L.A. (2006)
Albinism in the domestic cat (*Felis catus*) is associated with a *tyrosinase* (*TYR*) mutation. *Animal genetics*, **37**, 2, 175-178.
- ISHIDA Y., DAVID V.A., EIZIRIK E., SCHAFER A.A., NEELAM B.A., ROELKE M.E., *et al.* (2006)
A homozygous single-base deletion in *MLPH* causes the dilute coat color phenotype in the domestic cat. *Genomics*, **88**, 6, 698-705.
- JACKSON I.J. (1997)
Homologous pigmentation mutations in human, mouse and other model organisms. *Human molecular genetics*, **6**, 10, 1613-1624.
- JIMENEZ-CERVANTES C., GERMER S., GONZALEZ P., SANCHEZ J., SANCHEZ C.O., GARCIA-BORRÓN J.C. (2001)
Thr40 and Met122 are new partial loss-of-function natural mutations of the human *melanocortin 1 receptor*. *FEBS Letters*, **508**, 44-48.
- JOERG H., FRIES H.R., MEIJERINK E., STRANZINGER G.F. (1996)
Red coat color in Holstein cattle is associated with a deletion in the *MSHR* gene. *Mammalian genome*, **7**, 4, 317-318.
- KENNEDY C., TER HUURNE J., BERKHOUT M., GRUIS N., BASTIAENS M., BERGMAN W., *et al.* (2001)
Melanocortin 1 receptor (*MC1R*) gene variants are associated with an increased risk for cutaneous melanoma which is largely independent of skin type and hair color. *The Journal of investigative dermatology*, **117**, 2, 294-300.
- KERJE S., LIND J., SCHÜTZ K., JENSEN P., ANDERSSON L. (2003)
Melanocortin 1-receptor (*MC1R*) mutations are associated with plumage colour in chicken. *Animal genetics*, **34**, 4, 241-248.
- KERJE S., SHARMA P., GUNNARSSON U., KIM H., BAGCHI S., FREDRIKSSON R., *et al.* (2004)
The Dominant white, Dun and Smoky color variants in chicken are associated with insertion/deletion polymorphisms in the *PMEL17* gene. *Genetics*, **168**, 3, 1507-18.
- KERNS J.A., OLIVIER M., LUST G., BARSH G.S. (2003)
Exclusion of *Melanocortin-1 Receptor* (*MC1R*) and *Agouti* as candidates for Dominant Black in dogs. *The Journal of heredity*, **94**, 1, 75-79.
- KERNS J.A., NEWTON J., BERRYERE T.G., RUBIN E.M., CHENG J.F., SCHMUTZ S.M., *et al.* (2004)
Characterization of the dog *Agouti* gene and a non-agouti mutation in German Shepherd Dogs. *Mammalian genome*, **15**, 10, 798-808.
- KERNS J.A., CARGILL E.J., CLARK L.A., CANDILLE S.I., BERRYERE T.G., OLIVIER M., *et al.* (2007)
Linkage and segregation analysis of black and brindle coat color in domestic dogs. *Genetics*, **176**, 1679-1689.
- KERR L. (1997)
L'importance du glitter. *Bengal Bulletin*, **3**/1997.
- KIJAS J.M.H., WALES R., TÖRNSTEN A., CHARDON P., MOLLER M., ANDERSSON L. (1998)
Melanocortin Receptor 1 (*MC1R*) mutations and coat color in pigs. *Genetics*, **150**, 3, 1177-1185.
- KIJAS J.M., MOLLER M., PLASTOW G., ANDERSSON L. (2001)
A frameshift mutation in *MC1R* and a high frequency of somatic reversions cause black spotting in pigs. *Genetics*, **158**, 2, 779-785.
- KLINKA C. (2003)
Den Waldkatzen in X-Farben auf der Spur ... *Katzen Extra*, **10**/2003, 24-30.
- KLUNGLAND H., VAGE D.I., GOMEZ-RAYA L., ADALSTEINSSON S., LIEN S. (1995)
The role of melanocyte-stimulating hormone (MSH) receptor in bovine coat color determination. *Mammalian genome*, **6**, 9, 636-639.
- KLUNGLAND H. & VAGE D.I. (1999)
Presence of the *dominant extension* allele *E(D)* in red and mosaic cattle. *Pigment cell research*, **12**, 6, 391-393.
- KLUNGLAND H. & VAGE D.I. (2003)
Pigmentary switches in domestic animal species. *Annals of the New York Academy of Sciences*, **994**, 331-338.
- KOBAYASHI T., VIEIRA W.D., POTTERF B., SAKAI C., IMOKAWA G., HEARING V.J. (1995)
Modulation of melanogenic protein expression during the switch from eu- to pheomelanogenesis. *Journal of cell science*, **108**, 2301-2309.
- KOPPULA S.V., ROBBINS L.S., LU D., BAACK E., WHITE C.R., SWANSON N.A., *et al.* (1997)
Identification of common polymorphisms in the coding sequence of the human *MSH receptor* (*MC1R*) with possible biological effects. *Human mutation*, **9**, 1, 30-36.
- KWON B.S., HALABAN R., PONNAZHAGAN S., KIM K., CHINTAMANENI C., BENNETT D., *et al.* (1995)
Mouse *silver* mutation is caused by a single base insertion in the putative cytoplasmic domain of *PMEL 17*. *Nucleic acids research*, **23**, 1, 154-158.

- LEFEVRE A. (1989)
La robe du cheval, nomenclature et déterminisme génétique. Thèse de doctorat vétérinaire, Université Paul Sabatier, Toulouse. 86p.
- LEFKOWITZ R.J. (2004)
Historical review: a brief history and personal retrospective of seven-transmembrane receptors. *Trends in pharmacological sciences*, **25**, 8, 413-22.
- LEVY, F. (2005)
Les génodermatoses de l'épiderme, de la jonction dermo-épidermique et des annexes folliculaires du chien. Thèse de Doctorat Vétérinaire, Université Claude Bernard, Lyon, 167 p.
- LI J., EDWARDS P.C., BURGHAMMER M., VILLA C., SCHERTLER G.F.X. (2004)
Structure of bovine rhodopsin in a trigonal crystal form. *Journal of molecular biology*, **343**, 5, 1409-1438.
- LING M.K., LAGERSTROM M.C., FREDRIKSSON R., OKIMOTOR., MUNDY N.I., TAKEUCHI S., *et al.* (2003)
Association of feather colour with constitutively active melanocortin 1 receptors in chicken. *European journal of biochemistry / FEBS*, **270**, 7, 1441-1449.
- LU D., WILLARD D., PATEL I.R., KADWELL S., OVERTON L., KOST T., *et al.* (1994)
Agouti protein is an antagonist of the melanocyte-stimulating-hormone receptor. *Nature*, **371**, 6500, 799-802.
- LU D., INGE VAGE D., CONE R.D. (1998)
A ligand-mimetic model for constitutive activation of the Melanocortin-1 Receptor. *Molecular endocrinology*, **12**, 4, 592-604.
- LYONS L.A., FOE I.T., RAH H.C., GRAHN R.A. (2005 a)
Chocolate coated cats: *TYRP1* mutations for brown color in domestic cats. *Mammalian genome*, **16**, 5, 356-366.
- LYONS L.A., IMES D.L., RAH H.C., GRAHN R.A. (2005 b)
Tyrosinase mutations associated with Siamese and Burmese patterns in the domestic cat (*Felis catus*). *Animal genetics*, **36**, 2, 119-126.
- 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*, **37**, 4, 383-386.
- MARIAT D., TAOURIT S., GUERIN G. (2003)
A mutation in the *MATP* gene causes the cream coat colour in the horse. *Genetics, selection, evolution*, **35**, 1, 119-33.
- MARKLUND L., MOLLER M.J., SANDBERG K., ANDERSSON L. (1996)
A missense mutation in the gene for melanocyte-stimulating hormone receptor (*MC1R*) is associated with the chestnut coat color in horses. *Mammalian genome*, **7**, 12, 895-899.
- MAS J.S., SANCHEZ C.O., GHANEM G., HAYCOCK J., TERUEL J.A.L., GARCIA-BORRON, J.C., *et al.* (2002)
Loss-of-function variants of the human *melanocortin-1 receptor* gene in melanoma cells define structural determinants of receptor function. *European journal of biochemistry / FEBS*, **269**, 6133-6141.
- MAUDET C. & TABERLET P. (2002)
Holstein's milk detection in cheeses inferred from *Melanocortin Receptor 1 (MC1R)* gene polymorphism. *Journal of dairy science*, **85**, 707-715.
- MAYOROV A.V., HAN S.Y., CAI M., HAMMER M.R., TRIVEDI D., HRUBY V.J. (2006)
Effects of macrocycle size and rigidity on Melanocortin Receptor-1 and -5 selectivity in cyclic lactam α -Melanocyte-Stimulating Hormone analogs. *Chemical biology & drug design*, **67**, 5, 329-335.
- MENON S.T., HAN M., SAKMAR T.P. (2001)
Rhodopsin: Structural Basis of Molecular Physiology. *Physiological reviews*, **81**, 1659-1688.
- MEYNADIER J. (1980)
Précis de physiologie cutanée, Edition de la Porte Vente, Paris.
- MILLER K.A., GUNN T.M., CARRASQUILLO M.M., LAMOREUX M.L., GALBRAITH D.B., BARSH G.S. (1997)
Genetic studies of the mouse mutations *mahogany* and *mahoganoid*. *Genetics*, **146**, 1407-1415.
- MILLER W.J. & HOLLANDER W.F. (1986)
The sex-linked black cat fallacy: a textbook case. *The Journal of heredity*, **77**, 6, 463-464.
- MOHANTY T.R., SEO K.S., PARK K.M., CHOI T.J., CHOE H.S., BAIK D.H., *et al.* (2008)
Molecular variation in pigmentation genes contributing to coat colour in native Korean Hanwoo cattle. *Animal genetics*, **39**, 550-553.
- MOSES S.W. & PARVARIR. (2002)
The variable presentations of glycogen storage disease type IV: a review of clinical, enzymatic and molecular studies. *Current molecular medicine*, **2**, 2, 177-188.
- MUNDY N.I., KELLY J., THERON E., HAWKINS K. (2003 a)
Evolutionary genetics of the *Melanocortin-1 Receptor* in vertebrates. *Annals of the New York Academy of Sciences*, **994**, 307-312.

- MUNDY N.I. & KELLY J. (2003 b)
Evolution of a pigmentation gene the *melanocortin-1 receptor*, in primates. *American journal of physical anthropology*, **121**, 67-80.
- MUNDY N.I., BADCOCK N.S., HART T., SCRIBNER K., JANSSEN K., NADEAU N.J. (2004)
Conserved genetic basis of a quantitative plumage trait involved in mate choice. *Science*, **303**, 5665, 1870-1873.
- MUNDY N.I. (2005)
A window on the genetics of evolution: *MC1R* and plumage colouration in birds. *Proceedings. Biological sciences / The Royal society*, **272**, 1573, 1633-1640.
- NACHMAN M.W., HOEKSTRA H.E., D'AGOSTINO S.L. (2003)
The genetic basis of adaptive melanism in pocket mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **100**, 9, 5268-5273.
- NADEAU N.J., MINVIELLE F., MUNDY N.I. (2006)
Association of a Glu92Lys substitution in *MC1R* with extended brown in Japanese quail (*Coturnix japonica*). *Animal genetics*, **37**, 3, 287-289.
- NEWTON J.M., WILKIE A.L., HE L., JORDAN S.A., METALLINOS D.L., HOLMES N.G., *et al.* (2000)
Melanocortin 1 receptor variation in the domestic dog. *Mammalian genome*, **11**, 1, 24-30.
- OLLMANN M.M., LAMOREUX M.L., WILSON B.D., BARSH G.S. (1998)
Interaction of Agouti protein with the melanocortin 1 receptor *in vitro* and *in vivo*. *Genes & Development*, **12**, 3, 316-330.
- O'SULLIVAN T.N., WU X.S., RACHEL R.A., HUANG J.D., SWING D.A., MATESIC L.E., *et al.* (2004)
Dsu functions in a *MYO5A*-independent pathway to suppress the coat color of dilute mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **101**, 48, 16831-6.
- PALMER J.S., DUFFY D.L., BOX N.F., AITKEN J.F., O'GORMAN L.E., GREEN A.C., *et al.* (2000)
Melanocortin-1 receptor polymorphisms and risk of melanoma: is the association explained solely by pigmentation phenotype? *American journal of human genetics*, **66**, 1, 176-186.
- PARAGON B.M., MALANDAIN E., KRETZ C. (2000)
Structures et fonctionnement de la félinophilie en Europe. In : Guide pratique de l'élevage félin, Royal Canin, Paris.
- PARAGON B.M. & VAISSAIRE J.P. (2003)
Chat de race. In : Encyclopédie Royal Canin du Chat : GALLITELLI B., ROLLAND G., Aniwa, Paris.
- PETERSCHMITT M., GRAIN F., ARNAUD B., DELEAGE G., LAMBERT V. (2009)
Mutation in the *melanocortin 1 receptor (MC1R)* is associated with amber colour in the Norwegian Forest Cat. *Animal genetics*, sous presse.
- PLATZ A. (2006)
Interessengemeinschaft der Norwegischer Waldkatzen im 1 DEKZV (FIFe) - Die Norwegische Waldkatze für Liebhaber und Züchter. 1 DEKZV eV, FIFe, Weiden, 116p.
- PONTIUS J.U., MULLIKIN J.C., SMITH D.R., AGENCOURT SEQUENCING TEAM, LINDBLAD-TOH K., GNERRE S., *et al.* (2007)
Initial sequence and comparative analysis of the cat genome. *Genome research*, **17**, 11, 1675-1689.
- PRICE T. & BONTRAGER A. (2001)
Evolutionary genetics: the evolution of plumage patterns. *Current biology*, **11**, 10, 405-408.
- PRUSIS P., FRÄNDBERG P.A., MUCENIECE R., KALVINSH I., WIKBERG J.E.S. (1995)
A three dimensional model for the interaction of MSH with the melanocortin-1 receptor. *Biochemical and biophysical research communications*, **210**, 1, 205-10.
- PRUSIS P., SCHIÖTH H.B., MUCENIECE R., HERZYK P., AFSHAR M., HUBBARD R.E., *et al.* (1997)
Modeling of the three-dimensional structure of the human melanocortin 1 receptor, using an automated method and docking of a rigid cyclic melanocyte-stimulating hormone core peptide. *Journal of molecular graphics & modelling*, **15**, 5, 307-17, 334.
- RADER A.J., ANDERSON G., ISIN B., GOBIND KHORANA H., BAHAR I., KLEIN SEETHARAMAN J. (2004)
Identification of core amino acids stabilizing rhodopsin. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **101**, 7246-7251.
- RANA B.K., HEWETT-EMMETT D., JIN L., CHANG B.H., SAMBUUGHIN N., LIN M., *et al.* (1999)
High polymorphism at the human *Melanocortin 1 Receptor* locus. *Genetics*, **151**, 4, 1547-1557.
- REES J.L. (2003)
Genetics of hair and skin color. *Annual review of genetics*, **37**, 67-90.
- RIEDER S., TAOURIT S., MARIAT D., LANGLOIS B., GUERIN G. (2001)
Mutations in the *agouti (ASIP)*, the *extension (MC1R)*, and the *brown (TYRP1)* loci and their association to coat color phenotypes in horses (*Equus caballus*). *Mammalian genome*, **12**, 6, 450-455.

- RINGHOLM A., KLOVINS J., RUDZISH R., PHILLIPS S., REES J.L., SCHIÖTH H.B. (2004)
Pharmacological characterization of loss of function mutations of the human *Melanocortin 1 Receptor* that are associated with red hair. *The Journal of investigative dermatology*, **123**, 5, 917-923.
- RITLAND K., NEWTON C., MARSHALL H.D. (2001)
Inheritance and population structure of the white-phased "Kermode" black bear. *Current biology*, **11**, 18, 1468-1472.
- ROBBINS L.S., NADEAU J.H., JOHNSON K.R., KELLY M.A., ROSELLI-REHFUSS L., BAACK E., *et al.* (1993)
Pigmentation phenotypes of variant extension locus alleles result from point mutations that alter MSH receptor function. *Cell*, **72**, 6, 827-834.
- ROCCHIA W., ALEXOV E., HONIG B. (2001)
Extending the applicability of the nonlinear Poisson-Boltzmann equation: multiple dielectric constants and multivalent ions. *The Journal of physical chemistry*, **105**, 6507-6514.
- RÖMPLER H., ROHLAND N., LALUEZA-FOX C., WILLERSLEV E., KUZNETSOVA T., RABEDER G., *et al.* (2006)
Nuclear gene indicates coat-color polymorphism in Mammoths. *Science*, **13**, 5783, 62.
- ROSENBLUM E.B., HOEKSTRA H.E., NACHMAN M.W. (2004)
Adaptive reptile color variation and the evolution of the *MC1R* gene. *Evolution; international journal of organic evolution* **58**, 8, 1794-1808.
- ROUZAUD F., MARTIN J., GALLET P.F., DELOURME D., GOULEMOT-LEGER V., AMIGUES Y., *et al.* (2000)
A first genotyping assay of French cattle breeds based on a new allele of the *extension* gene encoding the melanocortin-1 receptor (*MC1R*). *Genetics, selection, evolution*, **32**, 5, 511-520.
- ROUZAUD F., KADEKARO A.L., ABDEL-MALEK Z.A., HEARING V.J. (2005)
MC1R and the response of melanocytes to ultraviolet radiation. *Mutation research*, **571**, 1-2, 133-152.
- SANCHEZ-MAS J., SANCHEZ-LAORDEN B.L., GUILLO L.A., JIMENEZ-CERVANTES C., GARCIA-BORRON J.C. (2005)
The melanocortin-1 receptor carboxyl terminal pentapeptide is essential for MC1-R function and expression on the cell surface. *Peptides*, **26**, 1848-1857.
- SANNER M.F., SPEHNER J.C., OLSON A.J. (1996)
Reduced surface: An efficient way to compute molecular surfaces. *Biopolymers*, **38**, 3, 305-320.
- SCHIÖTH H.B., YOOK P., MUCENIECE R., WIKBERG J.E.S., SZARDENINGS M. (1998 a)
Chimeric melanocortin MC1 and MC3 receptors: identification of domains participating in binding of Melanocyte-Stimulating Hormone peptides. *Molecular Pharmacology*, **54**, 154-161.
- SCHIÖTH H.B., MUTULIS F., MUCENIECE R., PRUSIS P., WIKBERG J.E.S. (1998 b)
Selective properties of C- and N-terminals and core residues of the melanocyte-stimulating hormone on binding to the human melanocortin receptor subtypes. *European journal of pharmacology*, **349**, 359-366.
- SCHIÖTH H.B., PHILLIPS S.R., RUDZISH R., BIRCH-MACHIN M.A., WIKBERG J.E., REES J.L. (1999)
Loss of function mutations of the human *melanocortin 1 receptor* are common and are associated with red hair. *Biochemical and biophysical research communications*, **260**, 2, 488-491.
- SCHMIDT-KÜNTZEL A., EIZIRIK E., O'BRIEN S.J., MENOTTI-RAYMOND M. (2005)
Tyrosinase and *Tyrosinase Related Protein 1* alleles specify domestic cat coat color phenotypes of the *albino* and *brown* loci. *The Journal of heredity*, **96**, 4, 289-301.
- SCHMUTZ S.M., BERRYERE T.G., GOLDFINCH A.D. (2002)
TYRP1 and *MC1R* genotypes and their effects on coat color in dogs. *Mammalian genome*, **13**, 7, 380-387.
- SCHMUTZ S.M., BERRYERE T.G., ELLINWOOD N.M., KERNS J.A., BARSH G.S. (2003)
MC1R studies in dogs with melanistic mask or brindle patterns. *The Journal of heredity*, **94**, 1, 69-73.
- SCHMUTZ S.M. & BERRYERE T.G. (2007 a)
The genetics of cream coat color in dogs. *The Journal of heredity*, **98**, 5, 544-548.
- SCHMUTZ S.M. & BERRYERE T.G. (2007 b)
Genes affecting coat colour and pattern in domestic dogs: a review. *Animal genetics*, **38**, 539-549.
- SCOTT D.W., MILLER W.H., GRIFFIN C.E. (2001)
Small Animal Dermatology, 6th edition, Ed. W.B. Saunders Company, Philadelphie, 1528p.
- SCOTT M.C., WAKAMATSU K., ITO S., KADEKARO A.L., KOBAYASHI N., GRODEN J., *et al.* (2002)
Human melanocortin 1 receptor variants, receptor function and melanocyte response to UV radiation. *Journal of cell science*, **115**, 11, 2349-2355.
- SEARLE A.G. (1968)
An *extension* series in the mouse. *The Journal of heredity*, **59**, 6, 341-342.
- SEO K., MOHANTY T.R., CHOI T., HWANG I. (2007)
Biology of epidermal and hair pigmentation in cattle: a mini-review. *Veterinary dermatology*, **18**, 6, 392-400.
- SPONENBERG D.P. & BIGELOW B. (1987)
An *extension* locus mosaic Labrador retriever dog. *The Journal of heredity*, **78**, 6, 406.

- SPONENBERG D.P. & ROTHSCCHILD M.F. (2001)
Genetics of coat colour and hair texture. In: The Genetics of the Dog, RUVINSKY A., SAMPSON J., Ed CABI publishing, Oxon.
- SWIFT S., LEGER A.J., TALAVERA J., ZHANG L., BOHM A., KULIOPULOS A. (2006)
Role of the PAR1 Receptor 8th Helix in signaling the 7-8-1 receptor activation mechanism. *The Journal of biochemical chemistry*, **281**, 7, 4109-4116.
- TAKEUCHI S., SUZUKI H., YABUUCHI M., TAKAHASHI S. (1996)
A possible involvement of melanocortin 1-receptor in regulating feather color pigmentation in the chicken. *Biochimica et biophysica acta*, **1308**, 2, 164-168.
- TANUJ SAPRA K., PARK P.S.H., FILIPEK S., ENGEL A., MÜLLER D.J., PALCZEWSKI K. (2006)
Detecting molecular interactions that stabilize native bovine rhodopsin. *Journal of molecular biology*, **358**, 255-269.
- TEMPLETON J.W., STEWART A.P., FLETCHER W.S. (1977)
Coat color genetics in the Labrador retriever. *The Journal of heredity*, **68**, 134-136.
- THERON E., HAWKINS K., BERMINGHAM E., RICKLEFS R.E., MUNDY N.I. (2001)
The molecular basis of an avian plumage polymorphism in the wild: A *melanocortin-1-receptor* point mutation is perfectly associated with the melanic plumage morph of the bananaquit *Coereba flaveola*. *Current biology*, **11**, 8, 550-557.
- TRINQUIER, I. (1990)
La pigmentation mélanique cutanée chez le chien et le chat. Thèse de Doctorat Vétérinaire, Université Paul Sabatier, Toulouse, 111 p.
- UTESCHENY C. & LANGEWISCHE F.W. (2004)
X-Colours: vote for me! Antrag N°1 für die FIFe-Generalversammlung 2004 in Portugal.
1 DEKZV eV, Asslar, Deutschland (FIFe), Pforzheim, 87p.
- VAGE D.I., LU D., KLUNGLAND H., LIEN S., ADALSTEINSSON S., CONE R.D. (1997)
A non-epistatic interaction of *agouti* and *extension* in the fox, *Vulpes vulpes*. *Nature genetics*, **15**, 3, 311-315.
- VAGE D.I., KLUNGLAND H., LU D., CONE R.D. (1999)
Molecular and pharmacological characterization of dominant black coat color in sheep. *Mammalian genome*, **10**, 1, 39-43.
- VALVERDE P., HEALY E., JACKSON I., REES J.L., THODY A.J. (1995)
Variants of the *melanocyte-stimulating hormone receptor* gene are associated with red hair and fair skin in humans. *Nature genetics*, **11**, 3, 328-330.
- VALVERDE P., HEALY E., SIKKINK S., HALDANE F., THODY A.J., CAROTHERS A., *et al.* (1996)
The Asp84Glu variant of the *melanocortin 1 receptor* (*MC1R*) is associated with melanoma. *Human molecular genetics*, **5**, 10, 1663-1666.
- VELLA C.M., SHELTON L.M., MAC-GONAGLE J.J., STANGLEIN T.W. (1999)
Color inheritance. In: Robinson's Genetics for Cat Breeders and Veterinarians 4th Edition. Ed by Butterworth-Heinemann, Elsevier Health Science.
- VON RITTER M. (1988)
Lettre ouverte au bulletin du Club des Chats des Forêts Norvégiennes. *Bulletin du CCFN*, **7**, 13-14.
- WARD T.L., VALBERG S.J., ADELSON D.L., ABBEY C.A., BINNS M.M., MICKELSON J.R. (2004)
Glycogen Branching Enzyme (*GBE1*) mutation causing equine Glycogen Storage Disease IV. *Mammalian genome*, **15**, 570-577.
- WIKBERG J.E., MUCENIECE R., MANDRIKA I., PRUSIS P., LINDBLOM J., POST C., *et al.* (2000)
New aspects on the melanocortins and their receptors. *Pharmacological research*, **42**, 5, 393-420.
- WOLFF G.L. (2003)
Regulation of yellow pigment formation in mice: a historical perspective. *Pigment cell research*, **16**, 1, 2-15.
- WU Z.L., LI X.L., LIU Y.Q., GONG Y.F., LIU Z.Z., WANG X. J., *et al.* (2006)
The red head and neck of Boer goats may be controlled by the recessive allele of the *MC1R* gene. *Animal research*, **55**, 313-322.
- XU X., THÖRNWALL M., LUNDIN L.G., CHHAJLANI V. (1996)
Val92Met variant of the *melanocyte stimulating hormone receptor* gene. *Nature genetics*, **14**, 4, 384.
- YANG Y., DICKINSON C., HASKELL-LUEVANO C., GANTZ I. (1997)
Molecular basis for the interaction of [Nle4,D-Phe7] melanocyte stimulating hormone with the human melanocortin-1 receptor (melanocyte alpha-MSH receptor). *The Journal of biological chemistry*, **272**, 23000-23010.
- ZANNA P.T., SANCHEZ-LAORDEN B.L., PEREZ-OLIVA A.B., TURPIN M.C., HERRAIZ C., JIMENEZ-CERVANTES C., *et al.* (2008)
Mechanism of dimerization of the human melanocortin 1 receptor. *Biochemical and biophysical research communications*, **368**, 2, 211-6.

WEBOGRAPHIE

- BALDA M. (1) (2007) (Page consultée le 12 décembre 2007)
Norwegische Waldkatzen av Barnedroem. « EC Ybro av Barnedroem, amber nonagouti : Gen-Zertifikat », [En ligne]. Adresse URL: http://www.barnedroem.de/pictures/3tomcat/10-ybro/Zertifikat_Fips_600dpi_Canon_01_b00_1000.jpg
- BALDA M. (2) (2007) (Page consultée le 15 décembre 2007)
Norwegische Waldkatzen av Barnedroem. « Grosser Europa Champion Baltimoor's Black Cola », [En ligne]. Adresse URL: http://www.barnedroem.de/pictures/3tomcat/01-blackcola/Baltimoor's_BlackCola_cinnamon_600_1500.jpg
- FIFe, Fédération Internationale Féline (Page consultée le 10 avril 2008)
Breed standards, Norwegian Forest Cat, [En ligne]. Adresse URL : http://www.fifeweb.org/wp/breeds/breeds_prf_stn.html
- FRANCOIS M.P. & RUNZIS S. (2004) (Page consultée le 30 octobre 2005)
Association Internationale de Défense du Skogkatt. « Dossier X-Color », [En ligne]. Adresse URL: http://skogkatt-norvegien.org/race/xcolors_mai2004.php
- GULLAUD M. (Page consultée le 22 septembre 2007)
« Les X-color chez le Norvégien: hypothèses et conjectures », [En ligne]. Adresse URL: <http://nouveau.felin.free.fr/mag/Xcolor.htm>
- JOHNSON C.W. (1999) (Page consultée le 18 février 2007)
« The Genetics of Shaded Silver American Shorthairs. », [En ligne]. Adresse URL: <http://my.net-link.net/~cwjohnso/genetics.html>
- KERKHOFF L. (2007) (Page consultée le 15 décembre 2007)
Noorse Boskat van Moraja. « TEST NESTEN Noorse Boskat Zwart amber tabby ticked X Perzisch golden shaded tabby », [En ligne]. Adresse URL: <http://home.hccnet.nl/c.w.kerkhoff/kittens.html>
- LOOF, Livre Officiel des Origines Félines (Page consultée le 10 avril 2008)
Les standards LOOF, Norvégien, [En ligne]. Adresse URL : http://loof.asso.fr/loof/racine/default.asp?num=775&id=212&art_cat=&show_all=0&archive=0&page=2
- LORIMER H.E. (1) (Page consultée le 22 septembre 2007)
Site d'Heather E. Lorimer Ph.D. « My working hypothesis of tabby pattern inheritance », [En ligne]. Adresse URL: <http://cc.ysu.edu/~helorime/TabPat.html>
- LORIMER H.E. (2) (Page consultée le 15 décembre 2007)
Site d'Heather E. Lorimer Ph.D. « Norwegian Forest Cat "X" colors », [En ligne]. Adresse URL: <http://cc.ysu.edu/~helorime/NFCX.html>
- MADSEN J.E. (1) (2001) (Page consultée le 30 octobre 2005)
Jette's Webpage. « Black tabby or golden - What should we call the colours? », [En ligne]. Adresse URL: <http://www.skovkat.dk/jetteweb/golden.htm>
- MADSEN J.E. (2) (2001) (Page consultée le 30 octobre 2005)
Jette's Webpage. « X-coloured Forest Cats - a new theory! », [En ligne]. Adresse URL: <http://www.skovkat.dk/jetteweb/dilutemodifier.htm>
- MADSEN J.E. (3) (2003) (Page consultée le 30 octobre 2005)
Jette's Webpage. « A new theory about x-colour », [En ligne]. Adresse URL: <http://www.skovkat.dk/jetteweb/tyrosine.htm>
- MADSEN J.E. (4) (2002) (Page consultée le 30 octobre 2005)
Jette's Webpage. « The X-colours in NFO - a story with no ending », [En ligne]. Adresse URL: <http://www.skovkat.dk/jetteweb/xtimes51.htm>
- MADSEN J.E. (5) (2001) (Page consultée le 30 octobre 2005)
Jette's Webpage. « Colors », [En ligne]. Adresse URL: <http://www.skovkat.dk/jetteweb/colors.htm>
- MADSEN J.E. (6) (2003) (Page consultée le 30 octobre 2005)
La Maison Forte Norsk Skogkatt, International Skogkatt Secretary. « Some final thoughts on topics discussed at the World Show meeting: The x-colors. », [En ligne]. Adresse URL: http://ourworld.compuserve.com/homepages/L_P_sweepston/copenhag2.htm
- SWEPSTON P. (1) (2002) (Page consultée le 30 octobre 2005)
La Maison Forte Norsk Skogkatt, International Skogkatt Secretary. « 10th Norwegian Forest Cat Breeders' Symposium : FIFé World Show, Helsinki, Finland », [En ligne]. Adresse URL: http://ourworld.compuserve.com/homepages/L_P_sweepston/helsinki1.htm
- SWEPSTON P. (2) (2004) (Page consultée le 30 octobre 2005)

La Maison Forte Norsk Skogkatt, International Skogkatt Secretary. « About those colors ...! », [En ligne]. Adresse URL: http://ourworld.compuserve.com/homepages/L_P_sweepston/newcol.htm.

SWEPSTON P. (3) (2004) (Page consultée le 30 octobre 2005)

La Maison Forte Norsk Skogkatt, International Skogkatt Secretary. « 1. DEKZV Antrag Nr. 1 für die FIFé Generalversammlung 2004 in Portugal », [En ligne]. Adresse URL: http://ourworld.compuserve.com/homepages/L_P_sweepston/amber.htm

SWEPSTON P. (4) (1998) (Page consultée le 30 octobre 2005)

La Maison Forte Norsk Skogkatt, International Skogkatt Secretary. « Norwegian Forest Cat Breeders' Meeting: FIFé World Show, Poznan, Poland. », [En ligne]. Adresse URL: http://ourworld.compuserve.com/homepages/L_P_sweepston/Poznan98.htm

UTESCHENY C. (2006) (Page consultée le 12 décembre 2007)

Norwegische Waldkatzen vom Arlesbrunnen. « Farbbestimmungen durch Gen-Test möglich », [En ligne]. Adresse URL: http://www.v-arlesbrunnen-nfo.de/html/news/new_g.htm

Base de données suédoise, PAWPEDS [En ligne].

Adresse URL: <http://www.pawpeds.com/cgi-bin/NFO>

Base de données danoise, SHAGGYTAIL [En ligne].

Adresse URL : <http://www.shaggytail.dk/sbook/stam.htm>

ANNEXES

ANNEXE 1 : Etat civil des chats présentés en photographie

ANNEXE 2 : Les acides aminés, leurs caractéristiques et la nomenclature internationale

ANNEXE 3 : Les premiers Norvégiens X-Color nés entre 1992 et 1998

ANNEXE 4 : Séquence de l'allèle sauvage du *MC1R* et du *MC1-R* félins

ANNEXE 5 : Article sous presse dans la revue *Animal Genetics*

ANNEXE 6A : Les 20 échantillons analysés par PCR-SEQUENÇAGE (954bp)

ANNEXE 6B : Echantillons analysés par PCR-RFLP associé (Bst XI, couple s1/as4)

ANNEXE 7A : Extraction manuelle de l'ADN avec le kit NucleoSpin Blood® Quick Pure, Macherey Nagel

ANNEXE 7B : Extraction manuelle de l'ADN avec le kit NucleoSpin Tissue® XS, Macherey Nagel

ANNEXE 7C : Réactifs utilisés pour la PCR, la PCR-RFLP et l'électrophorèse de contrôle

ANNEXE 8 : Notice explicative envoyée aux éleveurs pour réaliser le prélèvement de poils

ANNEXE 9 : Population des chats dont le *MC1R* a été séquencé par Eizirik *et al.* (2003)

ANNEXE 10 : Alignement de séquences protéiques du *MC1-R* dans la région du 2^{ème} domaine transmembranaire

ANNEXE 11 : Quelques opinions d'éleveurs francophones de Norvégiens face au phénomène X-Color

ANNEXE 12A : Analyse du pedigree de *D*Jasmin vom Waldfrieden*

ANNEXE 12B : Analyse du pedigree de *D*Olympia Edle von Rada*

ANNEXE 1 : Etat civil des chats présentés en photographie

NOM	SEXE	COULEUR	NAISSANCE	COPYRIGHT	PROPRIETAIRE
Chatterie v. ARLESBRUNNEN (D*) (Eleveur : Christa UTESCHENY)					
Evalena v. Arlesbrunnen	F	NFO nt	19/05/04	Utescheny	
Jaspis v. Arlesbrunnen	F	NFO nt 22	11/05/05	Utescheny	M. Wenig (v. Bergwald, Allemagne)
La-Luna v. Arlesbrunnen	F	NFO at 22	24/02/00	Schäfer	B. Schäfer (aus Brötzingen, Allemagne)
Masquerade v. Arlesbrunnen	F	NFO fts 09 23	22/02/07	Utescheny	P. Knäbel (Higher Thor, Allemagne)
Nikko-Tidison v. Arlesbrunnen	M	NFO nts 09	26/08/06	Schröder	M. Schröder (vd Lusshardt, Allemagne)
Octavian v. Arlesbrunnen	M	NFO nts 22		Utescheny	I. Larsen (Dansbjerg's, Danemark)
Rana v. Arlesbrunnen	F	NFO ats 09 24	27/05/07	Hermeline C.	M. Peterschmitt (France)
Chatterie av BARNEDROEM (D*) (Eleveur : Michael BALDA)					
Ruby Tuesday av Barnedroem	F	NFO ft	25/07/07	Balda	
Ybro av Barnedroem	M	NFO nt	14/04/05	Balda	M. Balda
Yngvi av Barnedroem	M	NFO nt 22	14/04/05	Balda	I. Salvay (Bosques Vikingos, Argentine)
Yordis av Barnedroem	F	NFO nt	14/04/05	Balda	
Chatterie of BRIGHT HOUSE (CH*) (Eleveur : Lüthi VERENA)					
Princess of Bright House	F	NFO nt 09 22	24/07/07	Verena	L. Verena
Chatterie aus BRÖTZINGEN (D*) (Eleveur : Bärbel SCHÄFER)					
Naglfar aus Brötzingen	M	NFO at 09 24	27.03.07	Schäfer, Veneranda, Hermeline C.	M.Veneranda / M. Milville (de Wood Lake, France)
Nerthus aus Brötzingen	F	NFO at 09 22	27.03.07	Schäfer	B. Schäfer
Chatterie du CLOS DE SANDVIKA (F*) (Eleveur : Caroline DECORTE)					
Clooney du Clos de Sandvika	M	NFO n 09 23	27/06/07	Hermeline C.	C. Decorte
Chatterie v. EGERT (D*) (Eleveur : Edith KOWARSCH)					
Amaretto v. Egert	M	NFO n 09 22	09/04/06	Kowarsch	E. Kowarsch
Leonis v. Egert	F	NFO nt 09 22	07/04/07	Kowarsch	E. Kowarsch
Odin v. Egert	M	NFO n 09 22	août 2007	Kowarsch	E. Kowarsch
Thorin v. Egert	M	NFO n 09 22	18/06/03	Kowarsch	E. Kowarsch
Chatterie des ELFES BLEUES (F*) (Eleveur : Elodie HOUDAS)					
Cernowain des Elfes Bleues	M	NFO d 09 23	01/04/07	Hermeline C.	E. Houdas / G. Cournud (La Cachouteba, France)

Chatterie FLORINELLA'S (S*) (Eleveur : Ann-Louise RYLANDER)					
Florinella's Cendi Lavendi	M	NFO at	23/05/06	Rylander	A.L. Rylander
Florinella's Camomilla Vanilla	F	NFO ats 09	23/05/06	Rylander	A.L. Rylander
Chatterie KRUSMONS (S*) (Eleveur : Yvonne SCHÖN)					
Krusmons Gloria	F	NFO gts	06/11/03	Schön	Y. Schön
Krusmons Golden Gate	M	NFO nts	06/11/03	Johansson	R. Johansson (Finnugur's, Suède)
Krusmons Il Nostro	M	NFO nts	21/01/05	Montonen	E. Montonen (Asphagen's, Suède)
Chatterie van MORAJA (NL*) (Eleveur : Lida KERKHOFF)					
Kira van Moraja	F	NFO at 09	20/04/01	Schimmel	S. Schimmel (av Solvfaks, Allemagne)
Chatterie SANNAFJÄLLETS (S*) (Eleveur : Anita Östlung)					
Sannafjällets Guldus	M	NFO nt 24	22/08/03	Östlung	C. Sandberg (Amazawi's, Suède)
Sannafjällets Flora	F	NFO nts 09	19/09/02	Rylander	A.L. Rylander (Florinella's, Suède)
Chatterie av SOLVFAKS (D*) (Eleveur : Silvia SCHIMMEL)					
Felidae av Solvfaks	F	NFO nt 25	04/07/02	Schimmel	S. Schimmel
Chatterie de WOOD LAKE (F*) (Eleveur : Monique MILVILLE)					
Unick de Wood Lake	M	NFO ns 09	02/05/03	Hermeline C.	M. Milville

**ANNEXE 2 : Les acides aminés, leurs caractéristiques
et la nomenclature internationale**

<i>ACIDE AMINE</i>	Code à 1 lettre	Code à 3 lettres	Masse molaire (g/mol)	pK _A	Abondance relative
<i>ALANINE</i>	A	Ala	89.09		7.86
<i>ARGININE</i>	R	Arg	174.20	12.48	5.39
<i>ASPARAGINE</i>	N	Asn	132.12		4.15
<i>ASPARTATE</i>	D	Asp	133.10	3.90	5.34
<i>CYSTEINE</i>	C	Cys	121.16	8.18	1.51
<i>GLUTAMATE</i>	E	Glu	147.13	4.07	6.66
<i>GLUTAMINE</i>	Q	Gln	146.15		3.95
<i>GLYCINE</i>	G	Gly	75.07		6.94
<i>HISTIDINE</i>	H	His	155.16	6.04	2.29
<i>ISOLEUCINE</i>	I	Ile	131.17		5.91
<i>LEUCINE</i>	L	Leu	131.17		9.64
<i>LYSINE</i>	K	Lys	146.19	10.54	5.93
<i>METHIONINE</i>	M	Met	149.21		2.37
<i>PHENYLALANINE</i>	F	Phe	165.19		3.97
<i>PROLINE</i>	P	Pro	115.13		4.81
<i>SERINE</i>	S	Ser	105.09		6.83
<i>THREONINE</i>	T	Thr	119.12		5.41
<i>TRYPTOPHANE</i>	W	Trp	204.23		1.14
<i>TYROSINE</i>	Y	Tyr	181.19	10.46	3.04
<i>VALINE</i>	V	Val	117.15		6.73
<i>STOP</i>	X	Ter			

Ce tableau récapitule quelques caractéristiques des 21 acides aminés et leurs abréviations dans la nomenclature internationale. La masse molaire permet d'estimer la taille (donc l'encombrement stérique qu'ils peuvent occasionner en cas de mutation) et le pK_A permet d'estimer leur acidité relative.

ANNEXE 3 : Les premiers Norvégiens X-Color nés entre 1992 et 1998

Numéro dans la figure 30	NOM	SEXE	NAISSANCE	COULEUR
1	S*Wildwood's Imer	M	05.02.92	NFO at 24
2	S*Wildwood's Iros	M	05.02.92	NFO nt 22
3	S*Taylor Hill's Concordia	F	04.02.93	NFO gt 09 23
4	S*Truelove's Himer	M	09.06.93	NFO at 09 24
5	S*Truelove's Hemingway	M	09.06.93	NFO nt 09 22
6	S*Taylor Hill's Dione	F	15.11.93	NFO ft 09
7	S*Truelove's Jeopardy	M	10.12.93	NFO at 09 23
8	S*Truelove's Jasmine	F	10.12.93	NFO at 23
9	S*Taylor Hill's Elektryon	M	09.03.94	NFO nt 09 23
10	S*Taylor Hill's Elektra	F	09.03.94	NFO nt 24
11	S*Taylor Hill's Eurydike	F	09.03.94	NFO ft 23
12	D*Bedellin av Takeskog	F	04.07.94	NFO nt 09 22
13	S*Chyrella's Aldur	M	17.04.95	NFO nt 09 24
14	S*Taylor Hill's Gaia	F	05.05.95	NFO ft 09 22
15	S*Porfyrgårdens Scarlett Surprise	F	24.03.96	NFO fts 23
16	S*Porfyrgårdens Tsar	M	20.07.96	NFO at 09 22
17	S*Kattbossens Ludmilla	F	30.07.96	NFO nt 24
18	S*Kattbossens Imelda	F	30.07.96	NFO ft
19	S*Truelove's Queentana	F	25.12.96	NFO nt 23
20	S*Kattbossens Amelia	F	29.05.97	NFO ft 24
21	S*Taylor Hill's Iole	F	24.08.97	NFO nts 09 24
22	D*Mister X av Takeskog	M	20.09.97	NFO at 09 22
23	S*Truelove's Raider	M	04.10.97	NFO nts 09 22
24	S*Royal Imp's Maurice	M	13.12.97	NFO nt 23
25	S*Royal Imp's Tinne	F	13.12.97	NFO nt 24
26	S*Porfyrgårdens Yeni	F	02.01.98	NFO gt 09 22
27	S*Wildwood's Peter Pan	M	18.03.98	NFO nts 24
28	S*Wildwood's Patina	F	18.03.98	NFO nt 24
29	Sir Henry av Ljusdal	M	20.04.98	NFO nt 09 22
30	S*Porfyrgårdens Ztarlet	F	28.04.98	NFO nt 22
31	S*Porfyrgårdens Angel	F	12.08.98	NFO nt 23
32	S*Taylor Hill's Kalliope	F	07.11.98	NFO nt 09 23
33	S*Taylor Hill's Kassandra	F	07.11.98	NFO nts 23
34	S*Taylor Hill's Kassiopeia	F	07.11.98	NFO nts 24
35	S*Taylor Hill's Kastor	M	07.11.98	NFO nt 09 22
36	S*Taylor Hill's Lucina	F	13.11.98	NFO nt 09

ANNEXE 4 : Séquence de l'allèle sauvage du *MC1R* et du *MC1-R* félins

Séquence complète du gène *MC1R* chez le chat

Code d'accès : AY237395

```
1 atgtccgtgc agggcccccaggaggagctg ctgggctccc tcaactccac ctccccagcc
61 gcccgcgcc tcgggctggc cgccaaccag acagggcccc ggtgcctgga gctgtccgtg
121 cccgacggac tctttctcgg cctggggctg gtgagcgtgg tggagaacgt gctgggtggg
181 gccgccattg ccaagaaccg caacctgcac tcgcccattg attacttcat ctgttgccgtg
241 gccgtgtccg acctgctggt gagcgtgagc agtgtgctgg agacggccgt catgctgctg
301 ctggaggcag gcgccctggc cggccggggc gccgtggtgc agcggctgga cgacatcatt
361 gacgtgctgg tctgtggcgc catggtgtcg agcctctgct tcctggggcg catcgccgtg
421 gaccgctaca tttccatctt ctacgcgtg cggtaccaca gcatcgtcac gctgccccgg
481 gcgtggcggg ctatctcagc tatctgggtg gctagcgtcc tctccagcac gctcttcac
541 gcctactacg atcacacggc cgtcctgctc tgtctcgta gcttctttgt agccatgctg
601 gtgctcatgg ccgtgctgta cgtccacatg ctgccccggg cgtgccagca cgcccggggc
661 atgccccggc tccataagcg gcagcgcccc gtccaccagg gcttgggcct caagggcgcg
721 gccacgtca ccatcctgct gggcattttc tttctctgct gggggccctt cttcctgcac
781 ctctcgctca tggtcctctg ccctcgacac cccatctgtg gctgctgctt caagaacttc
841 aacctcttcc tcacctcat catctgcaac tccatcgctg accccttcat ctacgccttc
901 cgcagccagg agctccggaa gacgtccaa gagggtgctg tgtgctcatg gtga
```

Séquence complète du melanocortin receptor de type 1 (*MC1-R*) chez le chat

Code d'accès : Q865E9

```
1 msvqgpqrrl lgslnstspa aprlglaanq tgprclelsv pdglflglgl vsvvenvlvv
61 aaiaknrnlh spmyyficcl avsdllvsvs svletavmll leagalagra avvqrlddii
121 dvlvcgamvs slcflgaiav dryisifyal ryhsivtlpr awraisaiwv asvlsstlfi
181 ayydhtavll clvsffvaml vlavlyvvhm laracqharg iarlhkrqrp vhgglglkga
241 atltillgif flcwgpfflh lslmvlcprh picgcvfknf nlfltliicn sivdpliyaf
301 rsqelrktlq evllcsw
```

Les acides aminés sont représentés par leur code à 1 lettre de la nomenclature internationale.

ANNEXE 5 : Article sous presse dans la revue *Animal Genetics*

Animal Genetics



Mutation in the Melanocortin 1 Receptor (MC1R) is associated with amber colour in the Norwegian Forest Cat

Journal:	<i>Animal Genetics</i>
Manuscript ID:	AnGen-08-07-0232.R1
Manuscript Type:	Short Communication
Date Submitted by the Author:	21-Nov-2008
Complete List of Authors:	PETERSCHMITT, Marc; Université de Lyon; Ecole Nationale Veterinaire de LYON, Unite Genetique et Biologie Moleculaire GRAIN, Françoise; Université de Lyon; Ecole Nationale Veterinaire de LYON, Unite Genetique et Biologie Moleculaire ARNAUD, Beatrice; Université de Lyon; Ecole Nationale Veterinaire de LYON, Unite Genetique et Biologie Moleculaire; Ecole Nationale Veterinaire de LYON, LVD69 DELEAGE, Gilbert; Université de Lyon; Institut de Biologie et Chimie des Protéines, UMR 5086, CNRS, Université Lyon1 LAMBERT, Veronique; Université de Lyon; Ecole Nationale Veterinaire de LYON, Unite Genetique et Biologie Moleculaire
Keywords:	Norwegian Forest Cat, MC1-R, amber, mutation, 3D model



Animal Genetics

Peterschmitt *et al.*

MC1R mutation in domestic cats

MC1R mutation in domestic cats

Abstract

Amber (previously called X-Colour) is a yellow recessive coat colour observed in the Norwegian Forest Cat population and apparently absent in other cat breeds. Until now there has never been any scientific evidence of yellow recessive mutation (*e*) reported in the *extension* gene in Felidae.

We sequenced the complete coding sequence region of the *melanocortin 1 receptor* in 12 amber, 3 carriers, 2 wild-type Norwegian Forest Cats (NFC), 1 wild-type European Shorthair and 2 "golden" Siberian cats and identified two single nucleotide polymorphisms: a non-synonymous mutation (FM180571: c.250G>A) and a synonymous (FM180571: c.840T>C). The c.250G>A SNP, further genotyped on 56 cats using PCR-RFLP, is associated with amber colour and only present in the amber cat lineages. It replaced an aspartic acid with a neutral polar asparagine in the second transmembrane helix (p.Asp84Asn), a position where *e* mutations have already been described. 3D models were built and showed electrostatic potential modification in the mutant receptor.

With these results and together with scientific literature, we can conclude that amber colour in Norwegian Forest Cats is caused by a single *MC1R* allele called *e* which has never been documented.

Keywords: Norwegian Forest Cat, MC1-R, amber, mutation, 3D model

Peterschmitt *et al.*

MC1R mutation in domestic cats

Mutation in the Melanocortin 1 Receptor (MC1-R) is associated with amber colour in the Norwegian Forest Cat

Running title : MC1R mutation in domestic cats

M. Peterschmitt*, F. Grain*, B. Arnaud*, G. Deléage* and V. Lambert*

* Université de Lyon, École Nationale Vétérinaire de Lyon, Unité Génétique & Biologie Moléculaire et LVD69, F-69280 Marcy l'Etoile, France ;

† Université de Lyon, Institut de Biologie et Chimie des Protéines UMR 5086, CNRS, Université Lyon1, F-69007 Lyon, France ;

correspondance to
Véronique Lambert
Unité Génétique et Biologie moléculaire
École Nationale Vétérinaire de Lyon
1 avenue Bourgelat
F-69280 Marcy l'Etoile
Tel : (+33) 478 87 26 60
Fax: (+33) 478 87 26 62
e-mail: v.lambert@vet-lyon.fr

Pruessmann *et al.**MC1R* mutation in domestic cats

iridochrome red pigment and is probably another sulphur-enriched pigment (yellow pheomelanin) which seems to replace most of the hair black eumelanin pigment.

Diversity in mammalian pigmentation is achieved by differential expression and regional distribution of two pigment types: black eumelanin and yellow pheomelanin. Switching between both syntheses is regulated by a paracrine signalling molecule, the agouti protein acting as an antagonist for the melanocortin 1 receptor (MC1-R). MC1-R is a seven transmembrane protein encoded by the *extension* gene, expressed on melanocytes and enabling eumelanin synthesis due to alpha-melanocyte stimulating hormone (α -MSH) (Robbins *et al.* 1993). In mammals *extension* mutations causing constitutively active receptors (E^D) are dominant over the wild-type allele (E^+) and produce black coat contrary to inactivating recessive mutations (e) resulting in yellow pigmentation (Klungland & Våge 2003). These inactivating e mutations enable a large colour variability from the "Kermode" black bear white-phased coat (Ritland *et al.* 2001) to the mouse tawny coat (Jackson 1994) and red coat possibly observed in dogs, humans (Rees 2003), pigs, chickens and horses (Andersson 2003). Such e mutation has never been described in Felidae whereas dominant E^D mutations are known in jaguar and jaguarundi (Eizirik *et al.* 2003) and are supposed to have existed in domestic cat (Vella *et al.* 1999).

As a yellow recessive coat colour we hypothesized that this new colour in NFC could be the first mutation in *extension* feline gene, coding for the MC1-R. Moreover yellow recessive mutation is only expressed in follicular melanocytes and has no consequence on epidermal melanocytes in dogs (Schmitz *et al.* 2002), as observed in amber cats (e.g. dark paw pads).

We worked with 3 wild-type cats (2 NFC and 1 European Shorthair), 33 amber NFC, 36 carrier NFC and 4 "golden" Siberian cats. Genomic DNA was extracted either with NucleoSpin Blood Quick Pure® kit (blood samples) or NucleoSpin XS Tissue® kit (hair samples) (Macherey Nagel). We sequenced the *MC1R* complete coding sequence region (954bp) in 12 amber, 3 carriers, 2 wild-type Norwegian Forest Cats, 1 wild-type European Shorthair and 2 "golden" Siberian cats after PCR amplification. The *MC1R* gene sequencing displayed in all sequences the same silent single nucleotide polymorphism (SNP) FM180571: c.840T>C in relation to *Felis catus* wild-type *MC1R* gene (AY237395). We also identified a non-synonymous FM180571: c.250G>A, only detected in cats from amber lineages. SNP c.250G>A was then genotyped on 56 additional cat samples (54 NFC and 2 "golden" Siberian cats) by RFLP-PCR using BsaXI (Permentias) and HpyI 881 (New England Biolabs) which respectively cleaves the c.250A and the c.250G

Pruessmann *et al.**MC1R* mutation in domestic cats

Main text

The amber colour, initially called X-Colour was officially reported in 1992 in the Norwegian Forest Cat (NFC) population and was never documented in other feline breeds. All amber cats descend from a single ancestor, Klafthagens Babuschka born in Norway in 1981, this dame transmitted the amber trait to three daughters (Figure 1A). Amber NFC genealogies, partially represented in figure 1, show that non-amber cats can father amber kittens and amber matings only give amber kittens. There isn't any correlation between amber inheritance and the sex supporting this colour as an autosomal recessive trait (Table 1 supplemental material).

Amber cats testing for the *brown* gene showed that they are genetically black (*B/B*) and confirmed the first testmatings results which excluded the *chocolate* (*b*) and *cinnamon* (*h*) alleles and a new mutation in the *brown* gene, but also excluded the *burnside* (*c^b*), *siamese* (*c^s*), *albino* (*c*) alleles and a new mutation in the *colour* gene (Uteschewy & Langewiesche 2004). The amber colouration has been introduced onto different NFC coat colour and coat pattern backgrounds enabling a large colour variability: amber tabby (Figures 2A & 2B) with the three patterns, ticked (*T⁺*), mackerel (*T^m*) and blotched (*T^l*) or amber non-agouti (solid) with ghost tabby pattern (Figures 2C & 2D). These patterns progressively brighten and almost totally disappear in amber solid AND tabby adults. Amber solid cats have dark paw pads and dark leather nose (Figure 2D) contrary to pink-nosed amber tabby cats (Figure 2E) with pink paw pads at birth which darken afterwards, when there are not any white marks in these body region. These observations were confirmed by testing amber NFC for the *agouti* allelic series. Amber colour also exists in dilute (*d*) (Figures 2A & 2E), silver (*A/A*, *h/h*) (Figure 2E) or smoke (*u/u*, *l/l*), eventually in tortoiseshell (*O/O*) (Figures 2F & 2G), possibly with white (*S*) (Figure 2B). Age-dependent colour maturation is clearly surprising: all kittens look like brown tabby or blue tabby for the dilute coat (Figures 2A & 2C), then their original colour brightens and adults show an apricot/cinnamon-like colour (Figures 2B & 2D) or pinkish beige/tawn-like colour, called amber light (Figure 2E) with a few dark hairs on the back and tail (Figure 2B) and dark eye rims. Amber tortoiseshell female kittens present distinct black and red regions (Figure 2F), then black hairs become apricot and red hairs remain unchanged in adults (Figure 2G). A mating between an amber tortoiseshell dame and an amber sire gave two amber females and two red males (see cats R1 and R2 in figure 1C). This result proves that the *orange* allele is epistatic to amber, because these six cats are all homozygous for the amber allele, including the two red males kittens. Therefore the amber pigment is different from the

Peterschmitt *et al.* *MC1R* mutation in domestic cats

using 2h1 as the template. The alignment (not shown) exhibited a 30% identity making the modelling reliable. The comparison between the electrostatic potentials on the surfaces of the wild-type (Figure 4A) and the mutant (Figure 4B) models shows an important change at the bottom of the pocket. The wild-type pocket exhibits a greater negative potential (red patches) than the mutant. In cats, this change in the receptor binding motif may explain the expected decrease in affinity for the binding of the positively charged α -MSH. On the contrary, the human p.Asp84Glu mutation preserves the electrostatic properties but adds a carbon on the sidechain that may cause steric hindrance.

Models representing the interactions between α -MSH and human MC1-R have already been built and emphasized the importance of the electrostatic potential for the binding. This field delimits an acidic pocket between the glutamate 94, the aspartates 117 and 121 which interact with the arginine 8 from the α -MSH (Yang *et al.* 1997). These three acidic residues (Glu94, Asp117 and Asp121) are well-conserved among the melanocortin receptors amino acid sequences from all species (Figure 3). Furthermore our 3D mutant model suggests that the acidic residue at position 84 also interacts in this binding but the p.Asp84Asn replaces a negatively charged residue with a neutral polar one, thus only partially affecting the α -MSH binding. This could explain why eumelanogenesis is incompletely inhibited in amber NFC, as compared to *e* mutations in adult mice (Robbins *et al.* 1993) and in other species where no black hair is observed.

Another hypothesis would be that the aspartic acid 84 is functionally less critical for ligand binding than the third previous residues (Glu94, Asp117 and Asp121). This MC1-R region is of great interest for understanding the receptor behaviour because each mutation can have opposite consequences according to its electrostatic modification. Indeed the p.Glu92Lys (murine Glu92 is equivalent to Glu94 in the human and feline MC1-R, Figure 3) was initially reported in mice to be a constitutive active mutation which codes for a dominant black coat (Robbins *et al.* 1993), contrary to the feline p.Asp84Asn substitution associated with a yellow colour. The murine p.Glu92Lys, hence, introduces a positive charge instead of the negative aspartic acid and inhibits the α -MSH binding but also causes constitutive activation by mimicking effects of the arginine ligand on the binding pocket conformation (Lu *et al.* 1998).

As observed in dogs (Rees 2003) and in horses (Andersson 2003), the feline *e* mutation enables a large range of yellow colour, from tawny (Figure 2G) to red-apricot (Figure 2D). In amber cats, this variability could be due to the *rufism* modifiers which have already been reported in the non-amber colours and which contribute to give wide range in the expression of yellow pigmentation (Vella *et al.* 1999).

Peterschmitt *et al.**MC1R* mutation in domestic cats

References

- Andersson L. (2003) Melanocortin receptor variants with phenotypic effects in horse, pig and chicken. *Annals of the New York Academy of Sciences* **994**, 313–18.
- Combet C., Jambon M., Deléage G. & Geourjon C. (2002) Geno3D: automatic comparative molecular modelling of protein. *Bioinformatics* **18**, 213–4.
- Eizirik E., Yuhki N., Johnson W.E., Menotti-Raymond M., Hamm S.S. & O'Brien S.J. (2003) Molecular genetics and evolution of melanism in the cat family. *Current Biology* **13**, 448–53.
- Jackson J.J. (1994) Molecular and developmental genetics of mouse coat colour. *Annual Review of Genetics* **28**, 189–217.
- Klungland H. & Våge D.I. (2003) Pigmentary switches in domestic animal species. *Annals of the New York Academy of Sciences* **994**, 331–8.
- Li J., Edwards P.C., Burghammer M., Villa C. & Schertler G.F. (2004) Structure of bovine rhodopsin in a trigonal crystal form. *Journal of Molecular Biology* **343**, 1409–38.
- Lu D., Inge Våge D. & Cone R.D. (1998) A ligand-mimetic model for constitutive activation of the Melanocortin-1 Receptor. *Molecular Endocrinology* **12**, 592–604.
- Marklund L., Møller M.J., Sundberg K. & Andersson L. (1996) A missense mutation in the gene for melanocyte-stimulating hormone receptor (*MC1R*) is associated with the chestnut coat color in horses. *Mammalian Genome* **7**, 895–9.
- Rees J.L. (2003) Genetics of hair and skin color. *Annual Review of Genetics* **37**, 67–90.
- Ringholm A., Klovins J., Rudzish R., Phillips S., Rees J.L. & Schiöth H.B. (2004) Pharmacological characterization of loss of function mutations of the human Melanocortin 1 Receptor that are associated with red hair. *Journal of Investigative Dermatology* **123**, 917–23.
- Ritland K., Newton C. & Marshall H.D. (2001) Inheritance and population structure of the white-phased "Kermode" black bear. *Current Biology* **11**, 1468–72.
- Robbins L.S., Nadeau J.H., Johnson K.R., Kelly M.A., Roselli-Rehliuss L., Baack E., Moutjoy K.G. & Cone R.D. (1993) Pigmentation phenotypes of variant *extension* locus alleles result from point mutations that alter MSH receptor function. *Cell* **72**, 827–34.
- Roochka W., Alexov E. & Honig B. (2001) Extending the applicability of the nonlinear Poisson-Boltzmann equation: multiple dielectric constants and multivalent ions. *The Journal of Physical Chemistry* **105**, 6507–14.
- Samer M.F., Spehner J.C. & Olson A.J. (1996) Reduced surface: An efficient way to compute molecular surfaces. *Biopolymers* **38**, 305–20.
- Schmutz S.M., Berryere T.G., Ellmwood N.M., Kerns J.A. & Barsh G.S. (2003) *MC1R* studies in dogs with melanistic mask or brindle patterns. *Journal of Heredity* **94**, 69–73.
- Schmutz S.M., Berryere T.G. & Goldfinch A.D. (2002) *TYRP1* and *MC1R* genotypes and their effects on coat color in dogs. *Mammalian Genome* **13**, 380–7.
- Uteschew C. & Langewiesche F.W. (2004) X-Colours: vote for me. Proposal and motivation No 1 for the FIFe-General Meeting 2004 in Portugal. 1.DEKZY e Y. (PFe, Germany), Asslar, Pforzheim.
- Våge D.I., Lu D., Klungland H., Lien S., Adalsteinsson S. & Cone R.D. (1997) A non-epistatic interaction of *agouti* and *extension* in the fox, *Vulpes vulpes*. *Nature Genetics* **15**, 311–15.

Animal Genetics

Peterschmitt *et al.**MC1R* mutation in domestic cats

Epistatic effects from inactivating recessive mutation *e* were firstly reported in mice (Robbins *et al.* 1993) but seem to be quite different than the *e* mutation in cats since this epistasis is not observed in amber kittens. Adult amber coats are apricot and the tabby pattern is very faint whatever the genotype for the *agouti* gene, showing an epistasis from the *e* mutation to the *agouti* allelic series only in adult cats. Incomplete epistasis of the fox *E⁴* mutation to the *agouti* alleles was reported by Våge *et al.* (1997) but partial epistasis of an *e* mutation has never been evidenced in the animal kingdom as far as we know. This difference may be explained by the feline specific *tabby* gene which determines agouti hair only in the areas between tabby stripes. In amber kittens agouti hairs are already apricot (Figure 2A) with a black tip whereas non-agouti hairs are initially black and become apricot afterwards (Figure 2D).

It has also been hypothesized that body parts had different thresholds for the switch between the *MC1R* and the *agouti* protein. The face has most likely got a low threshold for this switch (Schmutz *et al.* 2003) and that would explain why this region is the last region to brighten in amber solid cats, except for the nose in which epidermal melanocytes are not affected by the inactivating amber *e* mutation (Figure 2D).

Finally we also studied *MC1R* gene in 4 "golden" Siberian cats: their colour is close to amber and the first Siberian and Norwegian cats originated from the same part of the world probably share common ancestors. Siberian *MC1R* sequence has the same silent c.840T>C SNP but does not contain the c.250G>A. Thus "golden" colour from the Siberian cats is also genetically different from amber colour, even though further studies would be of great interest to elucidate if amber is really only specific to the NFC breed.

Acknowledgments

Many thanks to all NFC partner breeders and photographers, especially Christa Uteschew.

We acknowledge Jaqueline Viard – LYD69, France – for financial and logistical support, Karine Groud for technical assistance and Gillian Turner-Martin for English proof-reading.

We also thank the L.O.O.F. France for partial funding of this research.

Animal Genetics

Legends to figures

Figure 1: Pedigree analysis of amber NFC lineages

A - Swedish lineage; B - Dutch lineage; C - German lineage. Circles represent females, squares represent males. Isis, DeaDia and Froy Sparetta av Aescene are daughters from the first amber carrier, Klettertiagens Babuschka. These 3 daughters were very probably amber carriers. Numbers in symbols represent the same cats in each lineage. Half-coloured symbols represent amber carriers cats, coloured symbols represent homozygous amber cats. Wild-type non-amber carrier cats have not been represented for simplification. In figure C, R1 and R2 cats are phenotypically red. Their parents are amber homozygous c.250AA, the mother (N°16) is an amber tortoiseshell dam. * signs represent cats whose MCI/R was sequenced (15 animals). * signs represent certain cats whose MCI/R was genotyped by PCR-RFLP (13 animals), other tested cats are related to those ones.

Figure 2: Photographs and selected genotypes illustrating the variety of amber colours in the Norwegian Forest Cats

(A) A 4 weeks-old litter constituted of 3 amber blotched tabby (*), $A/-$, $D/-$, ii , o/o , s/s , l^p/l^p and 4 light amber blotched tabby kittens (#), $A/-$, d/d , ii , o/o , s/s , l^p/l^p . Areas between the black / blue tabby markings are brown to apricot-coloured (*) / grey to beige (#). (B) Amber blotched tabby and white female at 16 months old, $A/-$, $D/-$, ii , o/o , $S/-$, l^p/l^p . She has an apricot-coloured coat with a tabby pattern toning down and a few remaining black hairs on the tail (as pictures D & E). Her nose and paw pads are pink because of white marks. (C) Amber solid 8 weeks-old kitten with dark nose, dark paw pads and ghost tabby pattern, o/o , $D/-$, ii , o/o , s/s , l^p/l^p . (D) Same cat as picture C at 9 months old: note the tabby pattern toning down to an apricot-coloured coat with dark paw pads and nose. (E) Amber light silver mackerel tabby female with little white on the breast at 10 months old, $A/-$, d/d , l^p/l^p , o/o , $S/-$, $T^{m}/-$. She has a light pinkish-beige colour and her tabby pattern is already toned down. (F) Amber silver tortoiseshell mackerel tabby and white female at 8 weeks old, $A/-$, $D/-$, l^p/l^p , O/o , $S/-$, $T^{m}/-$. Differentiation between orange (e.g. left forelimb) and amber is still easy. (G) Same cat as picture F at 12 months old: dark stripes brightened and became tawny, mistakable for orange areas (e.g. right backlimb).

Figure 3: Alignment of the protein region encompassing the MCI-R second transmembrane segment for 22 Rhodopsin related G Protein-Coupled Receptors. The multiple alignment was performed with the complete sequence by using CLUSTALW with default parameters. TM2 corresponds to the second transmembrane field amino acid sequence (residues 75 to 100).

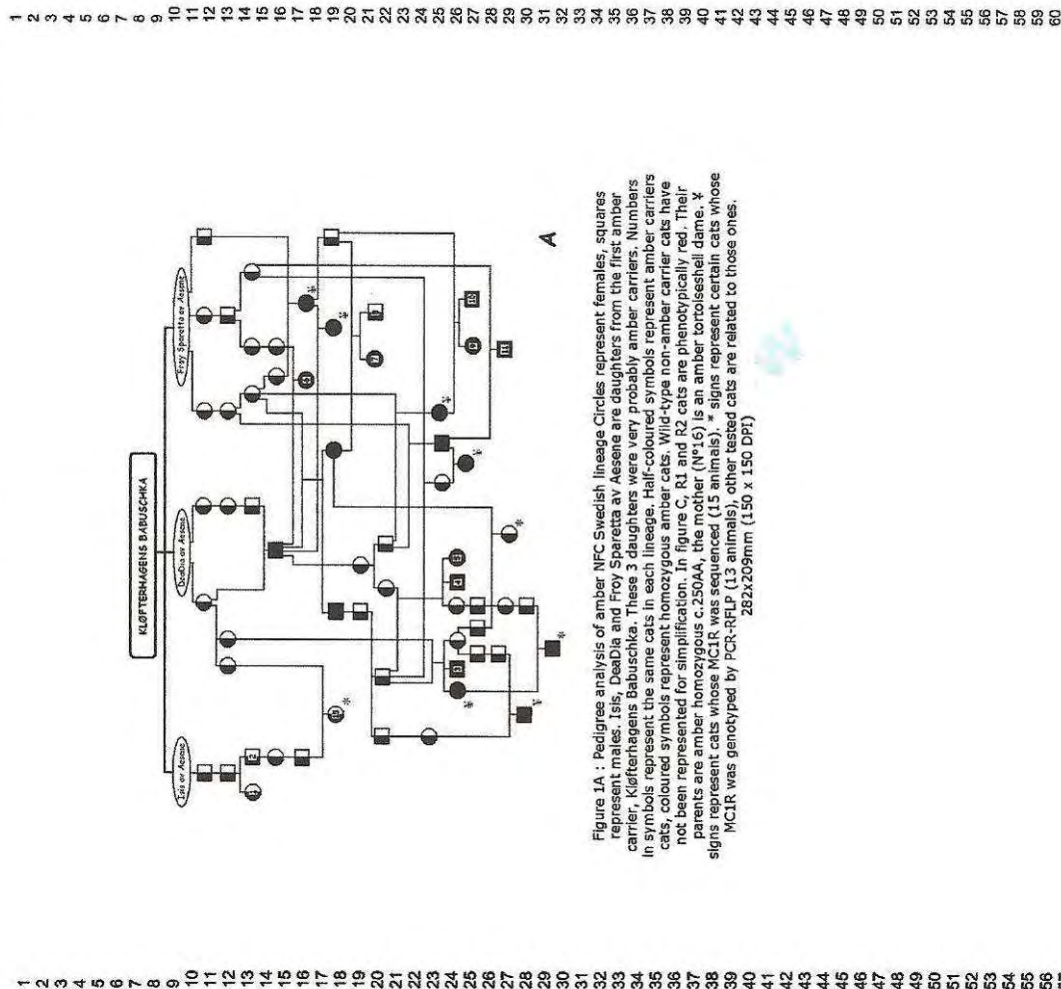


Figure 1A : Pedigree analysis of amber NRC Swedish lineage. Circles represent females, squares represent males. Isis, DeaDla and Froy Sparetta av Aesene are daughters from the first amber carrier, Kjellerhagens Babuschka. These 3 daughters were very probably amber carriers. Numbers in symbols represent the same cats in each lineage. Half-coloured symbols represent amber carriers cats, coloured symbols represent homozygous amber cats. Wild-type non-amber carrier cats have not been represented for simplification. In figure C, R1 and R2 cats are phenotypically red. Their parents are amber homozygous c.250AA, the mother (N°16) is an amber tortoiseshell dame. X signs represent cats whose MC1R was sequenced (15 animals). * signs represent certain cats whose MC1R was genotyped by PCR-RFLP (13 animals), other tested cats are related to those ones. 282x209mm (150 x 150 DPI)

TM3 corresponds to the third transmembrane field amino acid sequence (residues 114 to 144) (Ringholm *et al.*, 2004).

X, identity in most conserved residues in relation to the melanocortin 1 receptor sequences.

■ represents Asp84; ■ represents Glu94; ■ represents Asp117 & Asp121 according to the MC1-R feline sequence (Q863E9).

Accession numbers in the protein database: MC1-R from cat (Q863E9), human (Q01726), mouse (Q01727), horse (P79166), wild boar (Q9TU05), rabbit (CAJ57384), cattle (NP_776533), sheep (CAA74298), dog (AAC33737), red fox (CAA62349), chicken (BAD91484), legless lizard (AAT90151) and zebrafish (NP_851301); MC2-R from human (Q01718) and mouse (NP_032586); MC3-R from human (NP_063941) and mouse (NP_032587); MC4-R from human (P32245) and mouse (P56450); MC5-R from human (P33032) and mouse (P41149); Bovine Rhodopsin (NP_001014890).

Figure 4: 3D models of wild-type and mutant melanocortin 1 receptors

The 3D models of transmembrane motifs of wild-type (A) and p.Asp84Asn mutant MC1-R (B) were built with geno3D server by using the beta-2-adrenergic receptor (2rh1 PDB code) as a template. The electrostatic potential was calculated with Delphi (Roelchia *et al.* 2001). The molecular surface was generated by using the MSMS program (Sammer *et al.* 1996). The orientation is top-down regarding the ligand binding site pocket.

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60

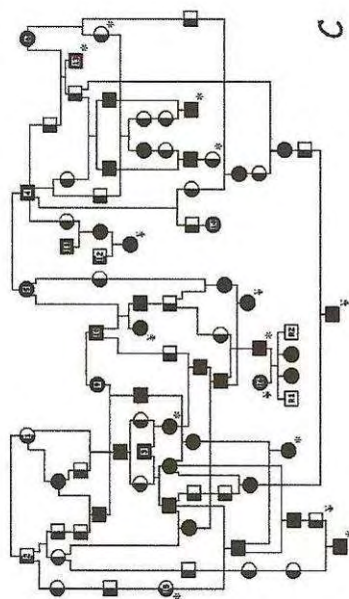


Figure 1C: Pedigree analysis of amber NFC German lineage
303x178mm (150 x 150 DPI)

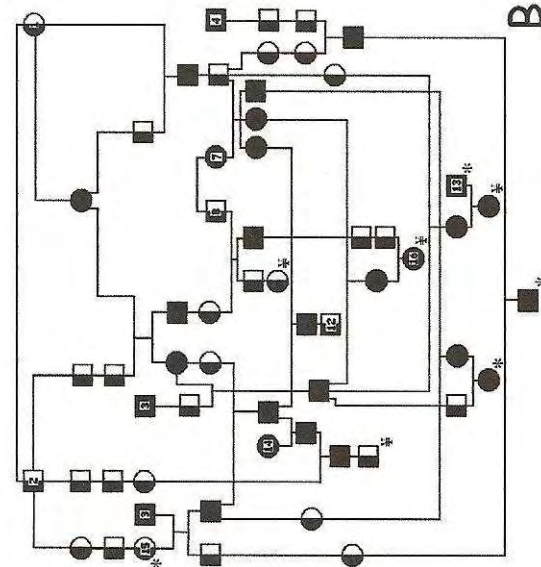


Figure 1B: Pedigree analysis of amber NFC Dutch lineage
211x194mm (150 x 150 DPI)



Figure 28 : Amber blotched tabby and white female at 15 months old, $A^+ / -$, $D^+ / -$, o / o , $S^+ / -$, tb / tb . She has an apricot-coloured coat with a tabby pattern toning down and a few remaining black hairs on the tail (as pictures D & E). Her nose and paw pads are pink because of white marks.

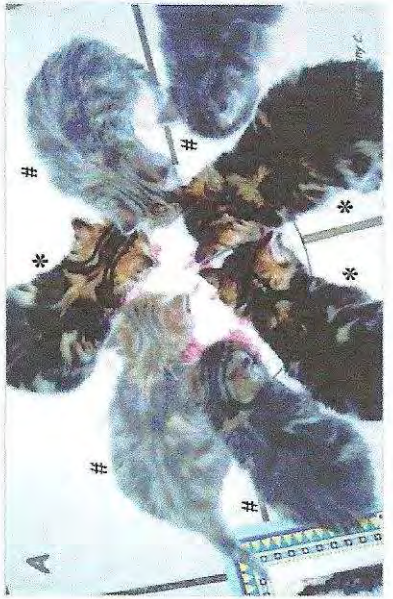


Figure 2A: A 4 weeks-old litter constituted of 3 amber blotched tabby ($*$), $A^+ / -$, $D^+ / -$, o / o , s / s , tb / tb and 4 light amber blotched tabby kittens ($\#$), $A^+ / -$, d / d , l / l , o / o , s / s , tb / tb . Areas between the black / blue tabby markings ($*$) / grey to beige ($\#$).



Figure 2D : Same cat as picture 2C at 9 months old; note the tabby pattern toning down to an apricot-coloured coat with dark paw pads and nose.
48x32mm (300 x 300 DPI)

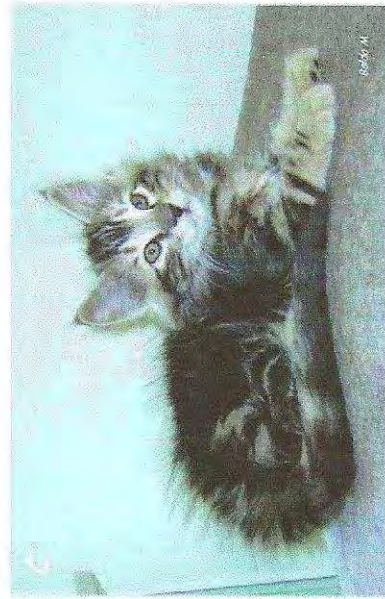


Figure 2C : Amber solid 8 weeks-old kitten with dark nose, dark paw pads and ghost tabby pattern. a/a, D/+ , ll, o/o, s/s, /+.
48x30mm (300 x 300 DPI)

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60



Figure 2F : Amber silver tortoiseshell mackerel tabby and white female at 8 weeks old, $A^+ / -$, $D^+ / -$, O / o , $S / -$, $Tm / -$. Differentiation between orange (e.g. left forelimb) and amber is still easy.

32x48mm (300 x 300 DPI)

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60

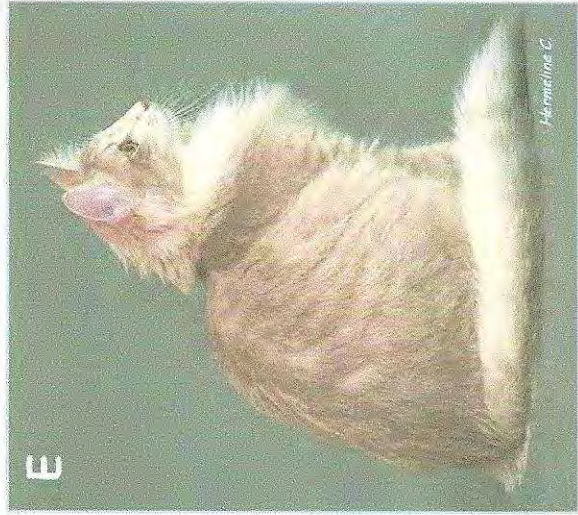


Figure 2E : Amber light silver mackerel tabby female with little white on the breast at 10 months old, $A^+ / -$, d / d , $I / -$, o / o , $S / -$, $Tm / -$. She has a light pinkish-beige colour and her tabby pattern is already toned down.

36x40mm (300 x 300 DPI)

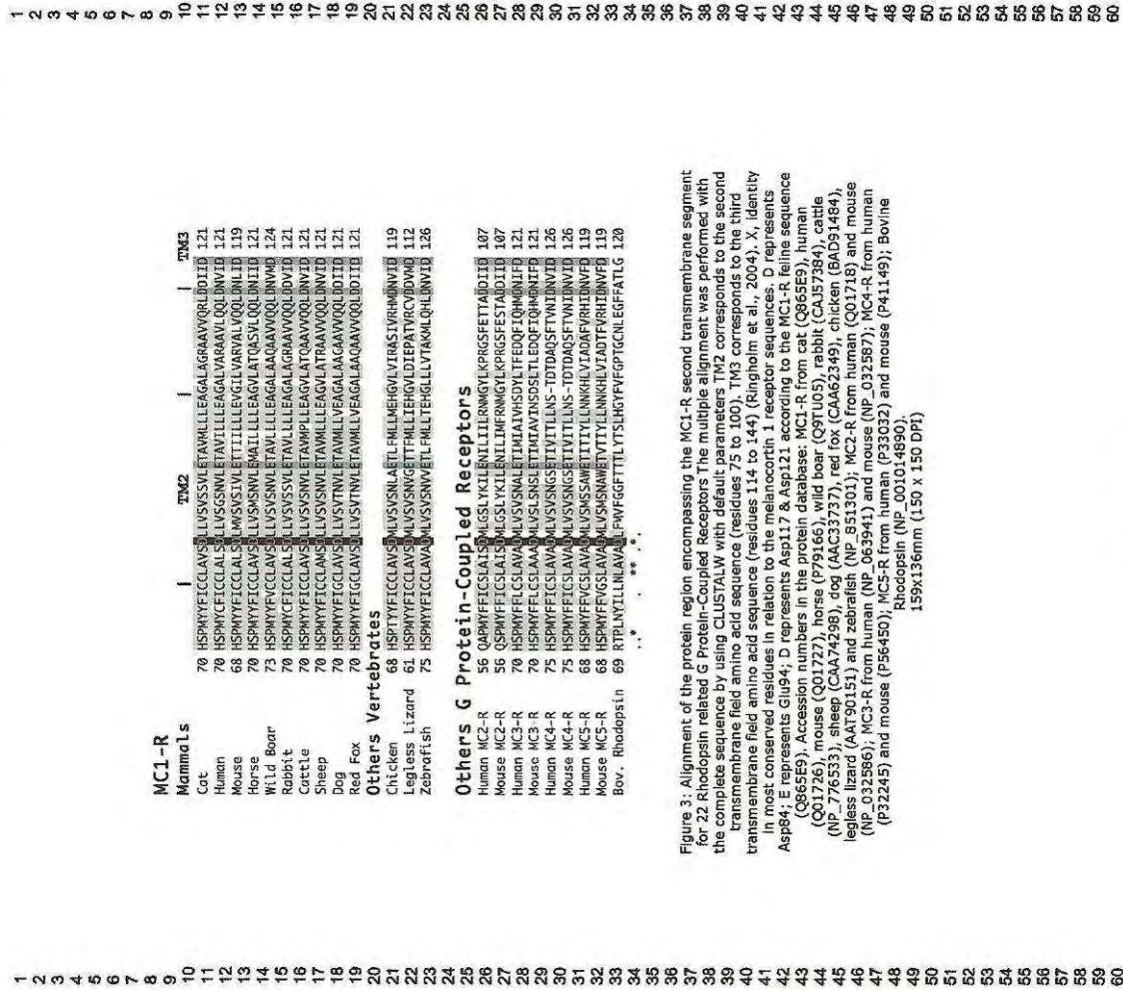


Figure 3: Alignment of the protein region encompassing the MC1-R second transmembrane segment for 22 Rhodopsin related G Protein-Coupled Receptors. The multiple alignment was performed with the complete sequence by using CLUSTALW with default parameters. TM2 corresponds to the second transmembrane field amino acid sequence (residues 75 to 100). TM3 corresponds to the third transmembrane field amino acid sequence (residues 114 to 144) (Ringholm et al., 2004). X, identity in most conserved residues in relation to the melanocortin 1 receptor sequences. D represents Asp84; E represents Glu94; D represents Asp117 & Asp121 according to the MC1-R feline sequence (Q865E9). Accession numbers in the protein database: MC1-R from cat (Q865E9), human (Q01726), mouse (Q01727), horse (P79166), wild boar (Q9TU05), rabbit (CAJ57384), cattle (NP_776533), sheep (CAA74298), dog (AAC33737), red fox (CAA62349), chicken (BAD91484), legless lizard (AAT90151) and zebrafish (NP_851301); MC2-R from human (Q01718) and mouse (NP_032586); MC3-R from human (NP_063941) and mouse (NP_032587); MC4-R from human (P32245) and mouse (P56450); MC5-R from human (P33032) and mouse (P41149); Bovine Rhodopsin (NP_001014890).

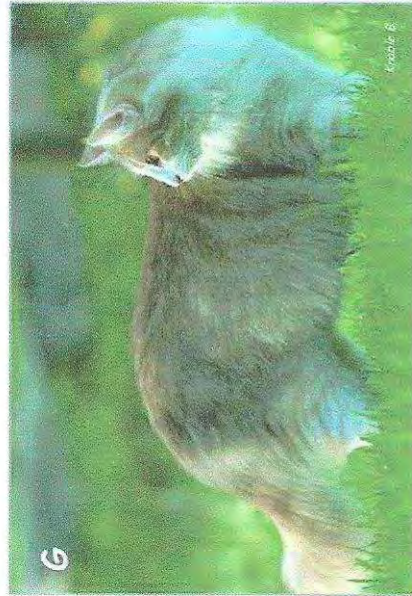


Figure 2G : Same cat as Figure 2F at 12 months old: dark stripes brightened and became tawny, mistakable for orange areas (e.g., right backlimb). 48x33mm (300 x 300 DPI)

Supplemental material

Table 1: Table of breeding types presenting the number of cats produced with and without the amber phenotype.

Mating (n)	Kittens Phenotypes	Female		Male	
		Amber	WT	Amber	WT
amber x amber (20)		44	0	45	0
WT non-carrier x amber (20)		0	54	0	48
WT carrier x amber (20)		25	20	23	23
WT carrier x WT carrier (14)		7	22	8	21
WT non-carrier x WT non-carrier (20)		0	42	0	45
WT, wild-type phenotype (non-amber colour)					

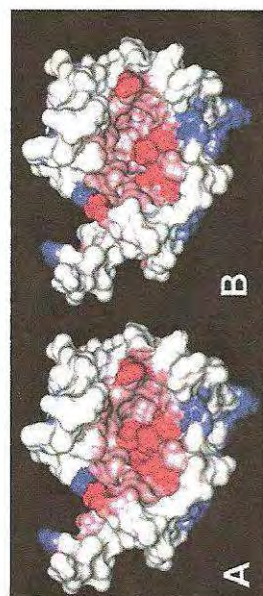


Figure 4: 3D models of wild-type and mutant melanocortin 1 receptors. The 3D models of transmembrane moieties of wild-type (A) and p.Asp84Asn mutant MCL-R (B) were built with geno3D server by using the beta-2-adrenergic receptor (2ht1 PDB code) as a template. The electrostatic potential was calculated with Delphi (Rocchia et al. 2001). The molecular surface was generated by using the MSMS program (Sanner et al. 1996). The orientation is top-down regarding the ligand binding site pocket.

153x66mm (150 x 150 DPI)

ANNEXE 6A : Les 20 échantillons analysés par PCR-SEQUENÇAGE (954bp)

NOMS	SEXE	GENOTYPE	PHENOTYPE	EXTRAIT N° , ECHANTILLON	LETTRE (généalogie)
Chats supposés non porteurs (2 Norvégiens, 1 Européen)					
Venise, Européen	F	Sauvage		07/16, sang	
F*Vouglan des Burgondes	M	Sauvage		07/18, sang	
B*Titrans Uranos	M	Sauvage		08/85, poil	
Chats Sibériens					
D*Passionata's Ashanti	F	Inconnu	Golden tabby	07/94, sang	
D*Siberis Heres	M	Inconnu	Golden tabby	08/83, poil	
Chats Norvégiens ambre ou porteurs					
S*Tailor Hill's Dione	F	Ambre	Ambre tortie	07/40, sang	A
S*Kattbossens Ludmilla	F	Ambre	Ambre tabby	07/41, sang	B
NL*Feline Ilex Baby Doll	F	Ambre	Ambre torbie	07/04, sang	C
D*Odessa av Ljusdal	F	Ambre	Ambre smoke	07/01, sang	D
S*Spin Engine Rob Red	M	Porteur		07/03, sang	E
D*Asja fra Drømmeskogen	F	Porteur		08/26, poil	F
S*Porfyrgårdens Deborah	F	Ambre	Ambre tabby	07/61, poil	G
D*Felidae av Solvfaks	F	Ambre	Ambre tabby	07/118, sang	H
D*Icecat's Frederike the Cat	F	Ambre	Ambre tabby	07/65, poil	I
S*Krusmons Golden Gate	M	Ambre	Ambre smoke	07/104, sang	J
S*Tailor Hill's Iole	F	Ambre	Ambre silver tabby	07/105, sang	K
D*Jamilia v. Trollberg	F	Ambre	Ambre clair tabby	08/24, poil	L
D*Oberon v. Arlesbrunnen	M	Ambre	Ambre clair	07/62, sang	M
S*Wildwood's Repris	F	Ambre	Ambre tabby	07/14, poil	N
D*Bascari Boticelli av Sira	M	Porteur		08/25, poil	O

Les lettres attribuées à certains chats sont les mêmes que celles utilisées dans les figures 48, 49 et 50.

**ANNEXE 6B : Echantillons analysés par PCR-RFLP associé
(Bst XI, couple s1/as4)**

NOMS	SEXE	GENOTYPE	PHENOTYPE	EXTRAIT N°, ECHANTILLON	LETTRE
<i>D*A Cappella v. Laanzauber</i>	F	Porteur		07/02, sang	P
<i>D*Benny Bo v. Laanzauber</i>	M	Ambre	Ambre uni	07/134, sang	Q
<i>D*Baltimoor's Blue Nita</i>	F	Porteur		08/43, poil	R
<i>D*Baltimoor's Cappuccino</i>	M	Ambre	Ambre tabby	07/117, sang	13
<i>S*Sannafjället's Guldus</i>	M	Ambre	Ambre tabby	07/96, poil	S
<i>D*Jaspis v. Arlesbrunnen</i>	F	Ambre	Ambre tabby	07/07, sang	T
<i>D*Kasimir Edle v. Rada</i>	M	Ambre	Ambre tabby	07/136, sang	U
<i>D*La-Luna v. Arlesbrunnen</i>	F	Ambre	Ambre clair tabby	08/82, poil	V
<i>D*Wencke v. Arlesbrunnen</i>	F	Porteur		07/99, poil	15
<i>S*Tailor Hill's Yana</i>	F	Porteur		07/106, sang	W
<i>D*Quando av Ljusdal</i>	M	Ambre	Ambre tabby	07/116, sang	X
<i>D*Yordis av Barnedroem</i>	F	Ambre	Ambre uni	07/100, poil	Y
<i>NL*Zambia van Moraja</i>	F	Ambre	Ambre silver tabby	07/97, poil	Z

Les lettres ou les nombres attribués à certains chats sont les mêmes que ceux utilisés dans les figures 48, 49 et 50.

NOMS	SEXE	GENOTYPE	PHENOTYPE	EXTRAIT N°, ECHANTILLONS
Chats Sibériens				
<i>D*Iney Onix Gloria</i>	M	Inconnu	Golden tabby	07/95, sang
<i>D*Siberis Vanavara</i>	F	Inconnu	Golden tabby	08/84, poil
Chats Norvégiens ambre ou porteurs				
<i>D*Mitidja v. Arlesbrunnen</i>	F	Ambre	Ambre tabby	08/136R, poil
<i>D*Honey aus Brötzingen</i>	F	Porteur		08/132R, poil
<i>D*Kokomo v. Arlesbrunnen</i>	M	Porteur		08/135R, poil
<i>D*Utopia v. Arlesbrunnen</i>	F	Porteur		08/139R, poil
<i>D*Khalif v. Arlesbrunnen</i>	M	Ambre	Ambre tabby	08/133R, poil
<i>D*Pialotta v. Arlesbrunnen</i>	F	Ambre	Ambre tabby	08/137R, poil
<i>D*Higher Thor Adrian</i>	M	Porteur		08/128R, poil
<i>D*Quo Vadis av Barnedroem</i>	F	Porteur		08/40, poil
<i>D*Baltimoor's Desirée</i>	F	Porteur		08/41, poil
<i>D*Evita av Barnedroem</i>	F	Porteur		08/42, poil
<i>S*Wildwood's Quinette</i>	F	Porteur		08/138R, poil
<i>S*Sannafjället's Dora</i>	F	Porteur		08/129R, poil

<i>S*Sannafjället's Eko</i>	M	Porteur		08/130R, poil
<i>S*Tailor Hill's Westa</i>	F	Ambre	Ambre silver tabby	08/72, sang
<i>S*Tailor Hill's Angel of Mercy</i>	F	Porteur		08/62, poil
<i>S*Tailor Hill's Nike</i>	F	Porteur		08/73, poil
<i>S*Tailor Hill's Minerva</i>	F	Porteur		08/63, poil
<i>S*Tailor Hill's Qithara</i>	F	Porteur		08/74, poil
<i>S*Tailor Hill's Qirke</i>	F	Porteur		08/75, poil
<i>S*Tailor Hill's Endless Love</i>	F	Porteur		08/76, poil
<i>S*Wildwood's Virus</i>	M	Porteur		08/77, sang
<i>S*Wildwood's Xena</i>	F	Porteur		08/78, sang
<i>S*Tailor Hill's Juno</i>	F	Porteur		08/61, sang
<i>S*Kattbossens Astor</i>	M	Porteur		08/67, poil
<i>S*On Tin Tio's Sweetest Thing</i>	M	Porteur		08/79, poil
<i>D*Jacira av Ljusdal</i>	F	Ambre	Ambre tabby	08/80, poil
<i>D*Fado av Trulla</i>	M	Ambre	Ambre smoke	08/64, poil
<i>D*Icecat's Grampus</i>	M	Porteur		08/60, poil
<i>D*Gold Bear av Ljusdal</i>	M	Porteur		08/81, poil
<i>D*Belos Bernsteinprinz v. Ambergarten</i>	M	Ambre	Ambre tabby	08/65, poil
<i>D*Annemieke Mai v. Ambergarten</i>	F	Ambre	Ambre uni	08/69, poil
<i>S*Sannafjället's Karma</i>	F	Porteur		08/68, poil
<i>D*Nerthus aus Brötzingen</i>	F	Ambre	Ambre clair tabby	08/66, poil
<i>D*Helga aus Brötzingen</i>	F	Porteur		08/131R, poil
<i>D*Aragon aus Brötzingen</i>	M	Ambre	Ambre smoke	08/70, poil
<i>D*Kiss me Kate aus Brötzingen</i>	F	Porteur		08/134R, poil
<i>D*Paolla Morra av Trulla</i>	F	Ambre	Ambre uni	07/63, poil
<i>D*Baltimoor's Black Cola</i>	M	Ambre	Ambre tabby	07/64, poil
<i>D*Anastacia v. Bergwald</i>	F	Porteur		07/05, sang
<i>D*Arielle v. Bergwald</i>	F	Porteur		07/06, sang
<i>D*Blue Angel av Trulla</i>	F	Porteur		07/135, sang

ANNEXE 7A : Extraction manuelle de l'ADN avec le kit NucleoSpin Blood® Quick Pure, Macherey Nagel (sang)

- Pas de prétraitement, sortir les échantillons sanguins quelques minutes avant
- Allumer le thermoblock à 70°C
- Préchauffer le tampon d'élution à 70°C

(1) Lyse

- ✓ pipeter 200 μL de sang total
- ✓ ajouter 200 μL de BQ1 et 25 μL de protéinase K
- ✓ vortexer et centrifuger
- ✓ incuber 10 minutes à 70°C et centrifuger

(2) Adsorption de l'ADN sur colonne

- ✓ ajouter 200 μL d'éthanol absolu, vortexer et centrifuger
- ✓ déposer la totalité sur la colonne
- ✓ centrifuger 1 minute à 13200 rpm
- ✓ jeter l'éluat
- ✓ *placer la colonne sur un tube collecteur neuf*

(3) Lavages

- ✓ ajouter 350 μL de BQ2
- ✓ centrifuger 3 minutes à 13200 rpm
- ✓ jeter l'éluat
- ✓ ajouter 200 μL de BQ2
- ✓ centrifuger 1 minute à 13200 rpm
- ✓ jeter l'éluat
- ✓ *placer la colonne sur un tube eppendorf de 1,5 mL*

(4) Elution

- ✓ ajouter 50 μL de tampon d'élution BE (préchauffé à 70°C)
- ✓ laisser 1 minute à température ambiante
- ✓ centrifuger 1 minute à 13200 rpm
- ✓ *jeter la colonne et conserver l'extrait à -20°C*

ANNEXE 7B : Extraction manuelle de l'ADN avec le kit NucleoSpin Tissue® XS, Macherey Nagel (poil)

(1) Prélyse

- ✓ repérer et prélever un maximum de bulbes pileux
- ✓ déposer l'échantillon dans un eppendorf de 1,5 mL
- ✓ ajouter 80 μ L de tampon T1 et 8 μ L de protéinase K (s'assurer que la solution de prélyse recouvre bien le prélèvement)
- ✓ vortexer 2 fois 5 secondes
- ✓ laisser incuber à 56°C pendant la nuit

(2) Lyse

- ✓ ajouter 80 μ L de tampon B3
- ✓ vortexer 2 fois 5 secondes
- ✓ laisser incuber 5 minutes à 70°C
- ✓ vortexer et laisser refroidir à température ambiante

(3) Adsorption de l'ADN sur colonne

- ✓ ajouter 80 μ L d'éthanol pur et vortexer 2 fois 5 secondes
- ✓ déposer la totalité sur la colonne
- ✓ centrifuger 1 minute à 13200 rpm
- ✓ jeter l'éluat
- ✓ *placer la colonne sur un tube collecteur neuf*

(4) Lavage

- ✓ ajouter 50 μ L de tampon B5
- ✓ centrifuger 1 minute à 13200 rpm
- ✓ ajouter 50 μ L de tampon B5
- ✓ centrifuger 2 minutes à 13200 rpm
- ✓ jeter l'éluat
- ✓ *placer la colonne sur un tube eppendorf de 1,5 mL*

(5) Elution

- ✓ ajouter 20 μ L de tampon d'élution BE
- ✓ centrifuger 1 minute à 13200 rpm
- ✓ *jeter la colonne et conserver l'extrait à -20°C*

ANNEXE 7C : Réactifs utilisés pour la PCR, la PCR-RFLP et l'électrophorèse de contrôle

1) ADN POLYMERASE : Red Taq, SIGMA, référence D2812

Conservation à -20°C, activité enzymatique à 1 unité/ μ L. Le kit contient un colorant et un tampon de charge. Cette enzyme est livrée dans une solution (pH = 8,0) dont la composition est la suivante : 20 mM Tris-HCl, 100 mM KCl, 0,1 mM EDTA, 1 mM DDT, 0,5% Tween® 20, 0,5% Igepal CA-630 et 50% glycérol.

Composition du tampon (10x concentré PCR) : 100 mM Tris-HCl, 500 mM KCl et 0,1% de gélatine, pH = 8,3

Solution de $MgCl_2$ fournie à 25 mM

2) dNTP : EUROMEDEX, référence RO 191

100 mM dATP, 100 mM dTTP, 100 mM dCTP, 100 mM dGTP, sodium salt solution, 100 mM TRIS, 1 mM EDTA, pH = 7,8

3) AGAROSE : DNA grade, type D-5, EUROMEDEX, référence D-5

4) TAMPON D'ELECTROPHORESE, TBE : EUROMEDEX, référence ET020-A

10x concentré : 0,89 M TRIS, 0,89 M acide borique, 20 mM EDTA

5) TAMPON DE CHARGE POUR ELECTROPHORESE : EUROMEDEX, référence EVA01401

6x concentré loading dye bromophenol blue solution

6) MARQUEURS DE POIDS MOLECULAIRE

Ladder 20 bp : EUROMEDEX, référence M-212

20bp DNA ladder, scale ready-to-load containing orange G, dépôt de 6 μ L/puits

Ladder 100 bp : PROMEGA, référence G 8291

Bench top 100bp DNA ladder, prêt à l'emploi, solution 1x concentrée (108 ng/ μ L), dépôt de 6 μ L/puits

7) ENZYMES DE RESTRICTION

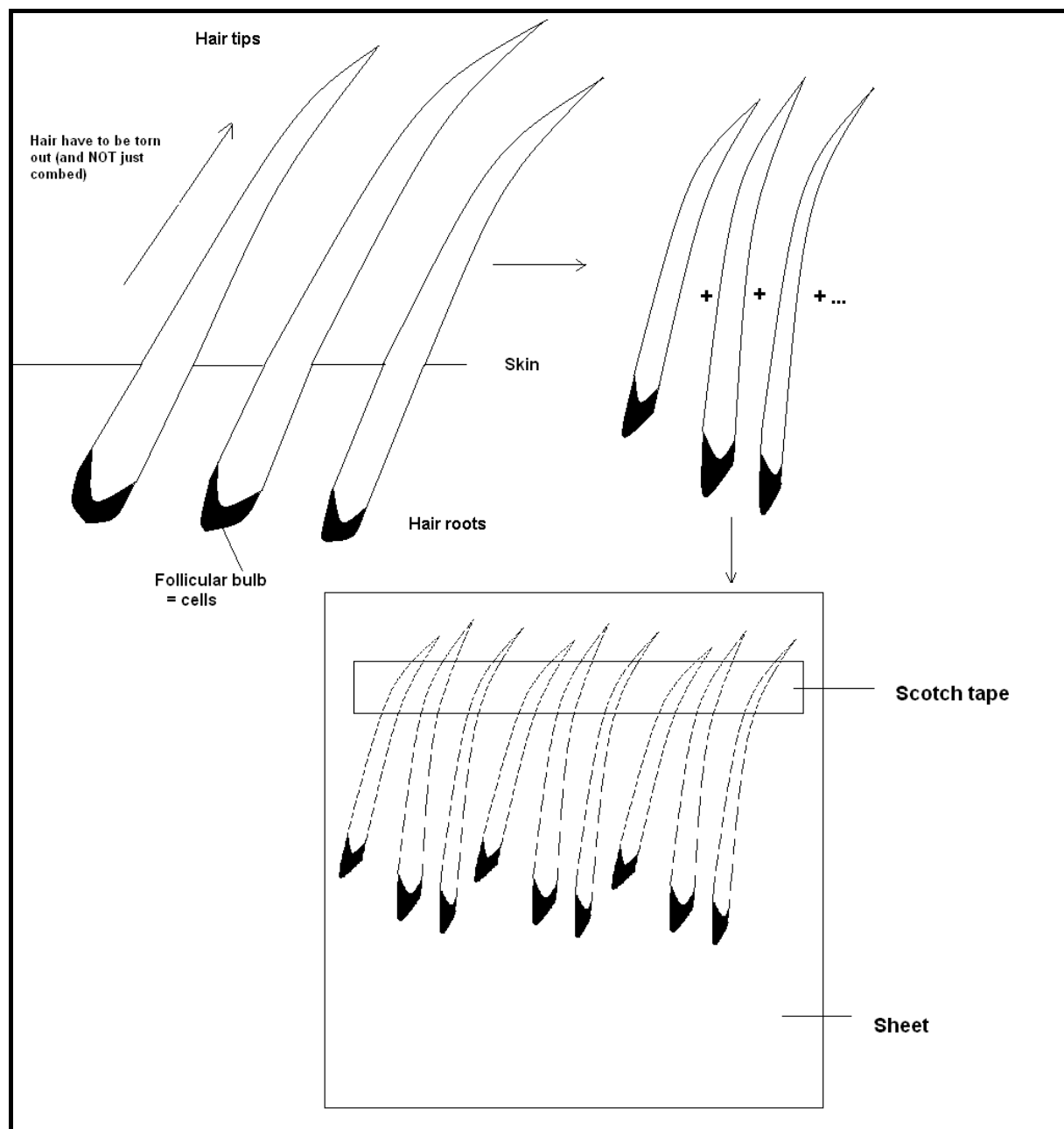
Hpy 188 I : NEW ENGLAND BIOLABS, référence R0617

10 U/ μ L, tampon NE Buffer 4, 10x concentrée (Solution 1x concentrée = 20 mM tris-acétate, 50 mM potassium acétate, 10 mM magnesium acétate, 1 mM dithiothreitol, pH = 7,9 à 25°C)

Fastdigest Bst XI : FERMENTAS, référence FD1024

1 FDU/ μ L, 10x concentrée Fastdigest Buffer

**ANNEXE 8 : Notice explicative envoyée aux éleveurs pour réaliser le
prélèvement de poils (version anglaise)**



ANNEXE 9 : Population des chats dont le *MC1R* a été séquencé par Eizirik *et al.* (2003)

COULEUR	ORIGINE / RACE	GENOTYPE <i>MC1R</i>
Inconnue	Gouttière, USA	<i>E⁺/E⁺</i>
Noir et blanc	Gouttière, USA	<i>E⁺/E⁺</i>
Black ticked	Abyssin	<i>E⁺/E⁺</i>
Brown tabby et blanc	Gouttière, USA	<i>E⁺/E⁺</i>
Cinnamon ticked	Somali	<i>E⁺/E⁺</i>
Black smoke	Maine Coon	<i>E⁺/E⁺</i>
Silver tabby	Maine Coon	<i>E⁺/E⁺</i>
Noir	Chat des Forêts Norvégiennes	<i>E⁺/E⁺</i>
Tabby et blanc	British Shorthair	<i>E⁺/E⁺</i>
Inconnue	Gouttière, USA	<i>E⁺/E⁺</i>
Noir	Gouttière, USA	<i>E⁺/E⁺</i>
Inconnue	Gouttière, USA	<i>E⁺/E⁺</i>
Noir et blanc	Chat des Forêts Norvégiennes	<i>E⁺/E⁺</i>
Noir	Chat des Forêts Norvégiennes	<i>E⁺/E⁺</i>
Black ticked	Abyssin	<i>E⁺/E⁺</i>
Silver mackerel tabby	Scottish Fold	<i>E⁺/E⁺</i>
Noir et blanc	Turc de Van	<i>E⁺/E⁺</i>
Noir et blanc	Gouttière, USA	<i>E⁺/E⁺</i>
Blue ticked	Abyssin	<i>E⁺/E⁺</i>
Noir	Bombay	<i>E⁺/E⁺</i>
Noir	Bombay	<i>E⁺/E⁺</i>
Noir	Gouttière, USA	<i>E⁺/E⁺</i>
Noir et blanc	Gouttière, USA	<i>E⁺/E⁺</i>
Noir	Gouttière, Israël	<i>E⁺/E⁺</i>
Noir	Gouttière, USA	<i>E⁺/E⁺</i>
Noir et blanc	Gouttière, USA	<i>E⁺/E⁺</i>
Noir	Gouttière, USA	<i>E⁺/E⁺</i>
Noir	Gouttière, Brésil	<i>E⁺/E⁺</i>
Noir et blanc	Gouttière, Brésil	<i>E⁺/E⁺</i>
Noir et blanc	Gouttière, Brésil	<i>E⁺/E⁺</i>
Noir	Bombay	<i>E⁺/E⁺</i>
Blotched tabby	Gouttière, USA	<i>E⁺/E⁺</i>
Black	Sphinx	<i>E⁺/E⁺</i>
Brown blotched tabby	British Shorthair	<i>E⁺/E⁺</i>
Noir	Gouttière, USA	<i>E⁺/E⁺</i>
Silver spotted	Mau Egyptien	<i>E⁺/E⁺</i>
Noir	Gouttière, Israël	<i>E⁺/E⁺</i>
Noir	Gouttière, Israël	<i>E⁺/E⁺</i>
Noir	Gouttière, Botswana	<i>E⁺/E⁺</i>
Noir	Bombay	<i>E⁺/E⁺</i>
Noir	Bombay	<i>E⁺/E⁺</i>
Noir	Gouttière, USA	<i>E⁺/E⁺</i>
Brown blotched tabby	Gouttière, USA	<i>E⁺/E⁺</i>

E⁺ correspond à l'allèle sauvage (Code d'accès : AY237395).

ANNEXE 10 : Alignement de séquences protéiques du MC1-R dans la région du 2^{ème} domaine transmembranaire

L'aspartate 84 (d) est surligné en gris et est conservé chez tous les Vertébrés dont le *MC1R* a été séquencé. Les acides aminés sont représentés par leur code à 1 lettre de la nomenclature internationale.

MAMMIFERES

Ailuropoda melanoleuca, AAX84208, PANDA
 yficclav **d**llvsvsnl ettvmlllea gamatraavv
Alces alces alces, P56442, ELAN
 venlvvaa aknrnlhspm yficclav **d**llvsvsnl etavmllea galaaraavv
Allenopithecus nigroviridis, Q864K5, SINGE
 venlvvtai aknrnlhspm yfcicclals **d**llvsgsnml etavtlllea galaaraavv
Alopex lagopus, Q6A155, RENARD POLAIRE
 venlvvaa aknrnlhspm yyfigclav **d**llvsvtnl etavmllea galaqaavv
Alouatta caraya, Q864G3, SINGE
 venlvvaa aknrnlhspm yfcicclals **d**llvsgsnml etavilllea galatrasvv
Alouatta palliata, Q864G2, SINGE
 venlvvaa aknrnlhspm yfcicclals **d**llvsgsnml etavilllea galatrasvv
Alouatta pigra, Q864G1, SINGE
 venlvvaa aknrnlhspm yfcicclals **d**llvsgsnml emavilllea galatrasvv
Alouatta sara, Q864G4, SINGE
 venlvvaa aknrnlhspm yfcicclals **d**llvsgsnml emavilllea galatrasvv
Alouatta seniculus, Q864G6, SINGE
 vqnlvvaa aknrnlhspm yfcicclals **d**llvsgsnml etavilmlea galatrasvv
Aotus sp, AAP31003, SINGE
 venlvvaa aknrklhapt yfcicclals **d**llvsgsnml etavilllea galatrasvv
Ateles geoffroyi, BAF48473, SINGE
 venlvvaa aknrnlhspm yfcicclals **d**llvsssnml etavilllea galatrasvv
Ateles paniscus, Q864G7, SINGE
 venlvvaa aknrnlhspm yfcicclals **d**llvsssnml etavilllea galatrasvv
Bos taurus, NP_776533, BOVIN
 venlvvaa aknrnlhspm yyficclav **d**llvsvsnl etavmpllea gylatqaavv
Callimico goeldii, Q864H6, SINGE
 venlvvaa aknrnlhssm yfcicclav **d**llvsgsnml etaiilllea galvtrasvv
Callithrix argentata, Q864H9, SINGE
 venlvvaa aknrnlhssm yfcicclals **d**llvsgsnml etaiilllea gtlatrasvv
Callithrix geoffroyi, Q864H8, SINGE
 venlvvaa aknrnlhssm yxficclals **d**llvsgsnml etaiilllea gtlatrasvv
Callithrix pygmaea, Q864I0, SINGE
 venlvvaa aknrnlhssm yfcicclals **d**llvsgsnml etaiilllea gtlatrasvv
Callithrix jacchus, Q864H7, SINGE
 venlvvaa aknrnlhssm yyficclals **d**llvsgsnml etaiilllea gtlatrasvv
Canis lupus familiaris, O77616, CHIEN
 venlvvaa aknrnlhspm yyfigclav **d**llvsvtnl etavmllea galaqaavv
Capra hircus, P56444, CAPRIN
 venlvvaa aknrnlhspm yyficclams **d**llvsvsnl etavmllea gylatraavv
Capreolus capreolus, P56443, CHEVREUIL
 venlvvaa aknrnlhspm yyficclav **d**llvsvsnl etavmllea galaaraavv
Cebus albifrons, Q864G9, SINGE
 venlvvaa aknrnlhspm yfcicclals **d**llvsgsnml etavvlllea galatrasvv
Cercopithecus diana, Q864K0, SINGE
 venlvvtai aknrnlhspm yfcicclals **d**llvsgsnml etavilllea galaaraavv
Cercopithecus mitis, Q864J9, SINGE
 venlvvtai aknrnlhspm yfcicclals **d**llvsgsnml etavilllea galaaraavv
Cercopithecus neglectus, Q864K1, SINGE
 venlvvtai aknrnlhspm yfcicclals **d**llvsgsnml etavilllea galaaraavv
Cervus elaphus, P56445, CERF
 venlvvaa aknrnlqspm yyficclams **d**llvsvsnl etavmllea galaaraavv
Chaetodipus baileyi, Q80SS9, SOURIS
 venlvvisi aknrnlhspm yyficclals **d**llvsvisl ettlilvlea galatrvtvv
Chaetodipus intermedius, AAP03556, SOURIS
 venlvvisi aknqnlhspm yyficclals **d**llvsvisl ettlilvlea galatwvtvv

Chaetodipus penicillatus, Q80SZ5, SOURIS
venlvvvisi aknqnlhspm yyficclals dllvsvsivl ettlilvlea galatrvtvv

Chlorocebus aethiops, Q864K2, SINGE
venlvvtai aknrlhspm ycficclals dllvsgsnml etavilllea galaaraavv

Colobus guereza, Q864J0, SINGE
venlvvaaai aknrlhspm ycficclals dllvsgsnml etavilllea galaaraavv

Colobus polykomos, BAF48461, SINGE
venlvvaaai aknrlhspm ycficclals dllvsgsnml etavilllea galaaraavv

Dama dama, P56446, DAIM
venlvvaaai aknrlhspm yyficclams dllvsvsnvl etavmllea galaqaavv

Elephas maximus, ABG37018, ELEPHANT
venmlvvaai aknrlhspm yyficclavs dllvsvsnvl etavmllea gvlaawagvv

Erythrocebus patas, Q864K3, SINGE
venlvvtai aknrlhspm ycficclals dllvsgsnml etavilllea galaaraavv

Equus asinus, AAD33875, ANE
..... lvvtai aknrlhspm yyficclavs dllvmsnvl emaillelea gylatrasvl

Equus caballus, P79166, CHEVAL
venlvvtai aknrlhspm yyficclavs dllvmsnvl emaillelea gylatqasvl

Equus grevyi, AAD33874, ZEBRE
..... lvvtai aknrlhspm yyficclavs dllvmsnvl emaillelea gylatrasvl

Equus hemionus, AAD33876, ONAGRE
..... lvvtai aknrlhspm yyficclavs dllvmsnvl emaillelea gylatrasvl

Equus kiang, AAD33877, ONAGRE
..... lvvtai aknrlhspm yyficclavs dllvmsnvl emaillelea gylatrasvl

Equus przewalskii, AAB96911, PRSEVALSKI
venlvvtai aknrlhspm yyficclavf dllvmsnvl emaillelea gylatqasvl

Equus zebra, AAC68702, ZEBRE
..... lvvta iaknrlhspm yyficclavs dllvmsnvl emaillelea gylatrasvl

Eulemur fulvus fulvus, Q864F6, SINGE
ventlvvaaai aknrlhspm ycficclals dllvsvsnll etavllllelev galaqaatvv

Felis catus, Q865E9, CHAT
venlvvaaai aknrlhspm yyficclavs dllvsvssvl etavmllea galagraavv

Galago senegalensis, Q864F9, SINGE
venmlvvaai aknrlhspm ycficclals dllvssnvl etavmllea galavgatvv

Gorilla gorilla gorilla, Q864K9, SINGE
venlvvati aknrlhspm ycficclals dllvsgsnvv dtlllleag alaaraavlq

Gulo gulo, BAE47165, GLOUTON
lenlvvaaai aknrlhspm yyficclavs dllvsvsnvl lleagalaa ratvvrlldd

Hapalemur griseus, Q864F5, SINGE
ventlvvaaai aknrlhspm ycfvccals dllvsvssvl etavllllga galaqaatvv

Herpailurus yaguarondi, Q865E5, FELIDE
venlvvaaai aknrlhspm yyficclavs dllvsvssvl etavmllea gtlagraavv

Homo sapiens, Q01726, HOMME
venalvvati aknrlhspm ycficclals dllvsgsnvl etavilllea galvaraavl

Hylobates lar, Q864K8, SINGE
venlvvati aknrlhspt ycficclals dllvsggnvl etvvilllea salaaraavv

Hylobates muelleri, Q864K7, SINGE
venlvvati aknrlhspt ycficclals dllvsggnvl etvvilllea salaaraavv

Lama pacos, ABW74045, LAMA
venlvvaaai tknrlhspm yyficclaas dllvmsnvl etavmllea galatwatvv

Lemur catta, Q864F4, SINGE
ventlvvaaai aknrlhspm ycficclals dllvsvssvl etavllllga galaqaatvv

Leontopithecus chrysomelas, Q864I1, SINGE
venlvvaaai aknrlhssm ycficclals dllvsgsnml eagvlatras vvqqlhntid

Leontopithecus chrysopygus, Q864I2, SINGE
venlvvaaai aknrlhssm ycficclals dllvsgsnml etavilllea gylatrasvv

Leontopithecus rosalia, Q864I3, SINGE
venlvvaaai aknrlhssm ycficclals dllvsgsnml etavilllea gylatrasvv

Loris tardigradus, Q864G0, SINGE
venmlvvaai aknrlhspm ycficclals dllvsvsnvl etavmllea galaqaatvv

Loxodonta africana, ABG37013, ELEPHANT
venmlvvaai aknrlhspm yyficclavs dllvsvsnvl etavmllea gvlaawagvv

Macaca arctoides, BAF48433, SINGE
venlvvtai aknrlhspm ycficclals dllvsgsnml etavtllea galaaraavv

Macaca assamensis, BAF48427, SINGE
venlvvtai aknrlhspm ycficclals dllvsgsnml etavtllea galaaraavv

Macaca brunnescens, BAF48453, SINGE
venlvvtai aknrlhspm ycficclals dllvsgsnml etavtllea galaaraavv

Macaca cyclopis, BAF48402, SINGE
venlvvtai aknrlhspm ycficclals dllvsgsnml etavtllea galaaraavv

Macaca fascicularis, BAF48416, SINGE
venlvvtai aknrlhspm ycficclals dllvsgsnml etavtllea galaaraavv

Macaca fuscata, BAF48408, SINGE
venlvvtai aknrlhspm ycficclals dllvsgsnml etavtllea galvaraavv

Macaca hecki, BAF48454, SINGE
venlvvtai aknrlhspm ycficclals dllvsgsnml etavtllea galaaraavv

Macaca maura, BAF48442, SINGE
 venvlvvtai aknrnlhspm ycficclals d llvsgsnml etavtlllea galaaraavv
Macaca mulatta, Q864J4, SINGE
 venvlvvtai aknrnlhspm ycficclals d llvsgsnml etavtlllea galvaraavv
Macaca nemestrina, Q864J8, SINGE
 venvlvvtai aknrnlhspm ycficclals d llvsgsnml etavtlllea galaaraavv
Macaca nigra, Q864J5, SINGE
 venvlvvtai aknrnlhspm ycficclals d llvsgsnml etavtlllea galaaraavv
Macaca ochreata, BAF48452, SINGE
 venvlvvtai aknrnlhspm ycficclals d llvsgsnml etavtlllea galaaraavv
Macaca radiata, BAF48424, SINGE
 venvlvvtai aknrnlhspm ycficclals d llvsgsnml etavtlllea galaaraavv
Macaca silenus, Q864J7, SINGE
 venvlvvtai aknrnlhspm ycficclals d llvsgsnml etavtlllea galaaraavv
Macaca sinica, BAF48431, SINGE
 venvlvvtai aknrnlhspm ycficclals d llvsgsnml etavtlllea galaaraavv
Macaca sylvanus, Q864J6, SINGE
 venvlvvtai aknrnlhspm ycficclals d llvsgsnml etavtlllea galaaraavv
Macaca tonkeana, BAF48449, SINGE
 venvlvvtai aknrnlhspm ycficclals d llvsgsnml etavtlllea salaaraavv
Mammuthus primigenius, Q0Q460, MAMMOUTH
 venmlvvaai aknrnlhspm yyficclavs d llvsvsnl etavmllea gylaawagvv
Mandrillus sphinx, Q864J1, SINGE
 venvlvvtai aknrnlhspm ycficclals d llvsgsnml etavtlllea galaaraavv
Martes americana, BAE47155, MUSTELIDE
 lenvlvvaai aknrnlhspm yyficclavs d llvsvsnl emavvqqldd aidvlvcgam
Martes flavigula, BAE47152, MUSTELIDE
 lenvlvvaai aknrnlhspm yyficclavs d llvsvsnl emavllllea galaaratvv
Martes foina, BAE47163, MUSTELIDE
 lenalvvaai aknrnlhspm yyficclavs d llvsvsnl emavllllea galaaraavv
Martes martes, BAE47180, MUSTELIDE
 lenvlvvaai aknrnlhspm yyficclavs d llvsvsnl emavvqqldd aidvlvrgam
Martes melampus, BAE47181, MUSTELIDE
 lenvlvvaai aknrnlhspm yyficclavs d llvsvsnl emavvqqldd aidvlvcgam
Martes pennanti, BAE47167, MUSTELIDE
 lenvlvvaai aknrnlhspm yyficclavs d llvsgsnvl emavllllea galaaraavv
Martes zibellina, BAE47182, MUSTELIDE
 lenvlvvaai aknrnlhspm yyficclavs d llvsvsnl emavvqqldd aidvlvcgam
Meles meles, BAE47148, MUSTELIDE
 lenvlvvaav aknrnlhspt yyficclavs d llvsvsnl etaallllea galaaratvv
Meriones unguiculatus, AAT11805, GERBILLE
 venvlvviai tknrnlhspm ycficclals d lmvsiniml ettiilllea galvtqaalv
Miopithecus talapoin, Q864K4, SINGE
 venvlvvtai aknrnlhspm ycficclals d llvsgsnml etavtlllea galaaraavv
Mus musculus, Q01727, SOURIS
 venvlvviai tknrnlhspm yyficclals d lmvsivslv ettiilllev gilvarvalv
Mustela altaica, BAE47164, MUSTELIDE
 lenvlvvati aknrnlhspm yyficclavs d llvsvsnl kmavllllea galaapatma
Mustela erminea, BAE47166, MUSTELIDE
 lenvlvvaai aknrnlhspm yyficclavs d llvsvsnl emavllllea galaapatvv
Mustela eversmanii, BAE47154, MUSTELIDE
 lenvlvvati aknrnlhspm yyficclavs d llvsvsnl kmavllllea galaapatma
Mustela lutreola, BAE47157, MUSTELIDE
 lenvlvvati aknrnlhspm yyficclavs d llvsvsnl kmavllllea galaapatma
Mustela nivalis, BAE47160, MUSTELIDE
 lenvlvvati aknrnlhspm yyficclavs d llvsisnml kmavllllea galaapatmv
Mustela putorius furo, BAE47147, MUSTELIDE
 lenvlvvati aknrnlhspm yyficclavs d llvsvsnl kmavllllea galaapatma
Mustela sibirica, BAE47156, MUSTELIDE
 lenvlvvati aknrnlhspm yyficclavs d llvsvsnl kmavllllea galaapatma
Mustela vison, BAE47153, MUSTELIDE
 lenvlvvaai aknrnlhspm yyfigclaas d llvsvsnl etavlpillea galaapaavv
Nomascus concolor, Q864K6, SINGE
 venvlvvaai aknrnlhspt ycficclals d llvsggnvl etvvilllea salaaraavv
Nomascus leucogenys, BAF48466, SINGE
 venvlvvaai aknrnlhspt ycficclals d llvsggnvl etvvilllea salaaraavv
Onychomys torridus, ABF21047, SOURIS
 venvlvviai tknrnlhspm ycficclals d lmvsislvlv ettiilllea galvtraalv
Oryctolagus cuniculus, CAJ57384, LAPIN
 venllvvvai aknrnlhspm ycficclals d llvsvssvl etavllllea galagraavv
Ovibos moschatus, CAA74293, BOVIDE
 venvlvvaai aksnlhspm yyficclavs d llvsvsnl etavmllea galaaraavv
Ovis aries, CAA74298, OVIN
 venvlvvaai aknrnlhspm yyficclams d llvsvsnl etavmllea gvlatraavv
Ovis Dalli, CAP04928, allèle A, OVIN
 venvlvvaai aknrnlhspm yyficclams d llvsvsnl etavmllea gvlatraavv

Panthera onca, Q865E8, FELIN
 venlvvaai aknrnlhspm yyficclavs dllvsvssvl etavmlleea gtlagraavv

Pan paniscus, BAF48469, SINGE
 venmlvvati aknrnlhspm ycficclals dllvsgsnvl emavillleea galvaraavv

Pan troglodytes, Q9TUK4, SINGE
 venmlvvati aknrnlhspm ycficclals dllvsgsnvl etavillleea galvaraavv

Papio anubis, Q864J3, SINGE
 venlvvtai aknrnlhspm ycficclals dllvsgsnml etavtllleea gylaaraavv

Papio hamadryas, Q864J2, SINGE
 venlvvtai aknrnlhspm ycficclals dllvsgsnml etavtllleea galaaraavv

Peromyscus sp., ABF21038, RONGEUR
 venlvviai tknrnlhspm ycficclals dlmvssislvl ettiillleea galvtraalv

Pongo pygmaeus, Q864L0, SINGE
 venlvvati aknrnlhspm ycficclals dllvsggnvl etavillleea galaaraavv

Presbytis comata, Q864I9, SINGE
 venlvvaai arnrnlhspm ycficclals dllvsgsnml etavillleea galaaraavv

Rangifer tarandus, P56448, RENNE
 venlvvaai aknsnlhspm yyficclavs dllvsvsnlv etavmlleea galaaraavv

Saguinus fuscicollis, Q864H4, SINGE
 venlvvaai aknrnlhssm ycficclals dllvsgsnml etavillleea galatrtsvv

Saguinus geoffroyi, Q864H3, SINGE
 venlvvaai aknrnlhssm ycficclals dllvsgsnml etavilllet galatrtsvv

Saguinus imperator, Q864H5, SINGE
 venlvvaai aknrnlhssm ycficclals dllvsgsnml etavillleea galatrtsav

Saguinus midas, Q864H1, SINGE
 venlvvaai aknrnlhssm ycficclals dllvsgsnml etavillleea galatrtsam

Saguinus oedipus, Q864H2, SINGE
 venlvvaav aknrnlhssm ycficclals dllvsgsnml etavilllet galatrtsvv

Saimiri sciureus, BAF48471, SINGE
 venlvvaai aknrnlhspm ycficclals dllvsgsnml emavvllleg galatrasvv

Saimiri oerstedii, Q864H0, SINGE
 venlvvaai aknrnlhspm ycficclals dllvsgsnml emavvllleg galatrasvv

Semnopithecus entellus, Q864I8, SINGE
 venlvvvai arnrnlhspm ycficclals dllvsgsnml etavillleea galaaraavv

Sus scrofa, Q9TU05, PORC
 venlvvaai aknrnlhspm yyfvccclavs dllvsvsnlv etavlllleea galaqaavv

Symphalangus syndactylus, BAF48465, SINGE
 venmlvvati aknrnlhspt ycficclals dllvsggnvl etlvillleea salvaraavv

Thomomys bottae, ABS19821, RONGEUR
 venlvvisi aknrnlhspm yyficclals dllvsvsivl ettvilvleea gylatrvtvv

Trachypithecus auratus, Q864I7, SINGE
 venlvvvai arnrnlhspm ycficclals dllvsgsnml etavillleea galaaraavv

Trachypithecus cristatus, Q864I6, SINGE
 venlvvvai arnrnlhspm ycficclals dllvsgsnml etavillleea galaaraavv

Trachypithecus francoisi, Q864I4, SINGE
 venlvvvai arnrnlhspm ycficclals dllvsgsnml dtavillleea galaaraavv

Trachypithecus obscurus, Q864I5, SINGE
 venlvvvai arnrnlhspm ycficclals dllvsgsnml etavflleea galaaraavv

Varecia variegata rubra, Q864F8, LEMUR
 ventlvvavi aknrnlhspm ycficclals dllvsvsnlv ktavlllleea galaqaatvv

Varecia variegata variegata, Q864F7, LEMUR
 ventlvvavi aknrnlhspm ycficclals dllvsvsnlv ktavlllleea galaqaatvv

Vulpes vulpes, CAA62349, RENARD
 venlvvaai aknrnlhspm yyfigclavs dllvsvtnvl etavmlleea galaqaavv

OISEAUX

Acryllium vulturinum, ABD49213
 venllvvaai lknrlhspm yyficclavs dmlvsvsnla etlflmlleh gylvirasiv

Aepyodius arfakianus, ABQ42745
 venllvvaai lknrlhspt yyficclavs dmlvrvsnla etlflmlleh gylvvhtsiv

Afropavo congensis, ABQ42744
 venllvvaai lknrlhspm yyficclavs dmlvsisnla emlflmlleh gylvirasii

Alectoris chukar, ABQ42741
 venllvvaai lknrlhspm yyficclavs dmlvsvsnla etlflmlleh gylvirasiv

Alectoris rufa, ABQ42732
 venllvvaai lknrlhspm yyficclavs dmlvsvsnla etlflmlleh gylvirasiv

Anser caerulescens, AAS49202
 venllvvaai lknrlhspm yyficclavs dmlvsvsnlv etlflmlleh gylvmhasii

Anser canagica, AAS49204
 venllvvaai lknrlhspm yyficclavs dmlvsvsnlv etlflmlleh gylvmhasii

Argusianus argus, ABQ42721
 venllvvaai lknrlhspm yyficclavs dmlvsvsnla emlflmlleh gylvihasiv

Branta bernicla, AAS49206
 venllvvaai lknrlhspm yyficclavs dmlsvsnlv etlflmlleh gylvmhasii
Catharacta skua, AAS49212
 venllvvaai lknrlhspt yyficclais dmlsvsnlv etlflmlleh gylvihasiv
Catreus wallichii, ABQ42718
 venllvvaai lknrlhspm yyficclavs dmlsvsnla etlflmlleh gylvihasiv
Coereba flaveola, AAK50812
 venllvvaai lknrlhspt yyficclavs dmlvsnslv kmlflmlleh gylvmrpsiv
Coturnix coturnix, ABD49212
 venllvvaai lknrlhspm yyficclavs dmlsvsnla etlflmlleh gylvirasiv
Coturnix japonica, ABD49210
 venllvvaai lknrlhspm yyficclavs dmlsvsnla etlflmlleh gylvirasiv
Crax alector, ABQ42733
 venllvvaav lknrlhspm yyficclavs dmlvsnslv ktlflmlleh svlvihasiv
Crossoptilon crossoptilon, ABQ42743
 venllvvaai lknrlhspm yyficclavs dmlsvsnla etlflmlleh gylvirasiv
Crossoptilon mantchuricum, ABQ42734
 venllvvaai lknrlhspm yyficclavs dmlsvsnla etlflmlleh gylvirasiv
Francolinus pondicerianus, ABQ42726
 venllvvaai lknrlhspm yyficclavs dmlsvsnla etlflmlleh gylvirasiv
Gallus gallus, P55167
 venllvvaai lknrlhspt yyficclavs dmlsvsnl aktlflmlle hgvlvirasiv
Gallus sonneratii, ABD49211
 venllvvaai lknrlhspm yyficclavs dmlsvsnla etlflmlleh gylvirasiv
Lagopus lagopus scotica, ABQ42727
 venllvvaai lknrlhspm yyficclavs dmlsvsnla etlflmlleh gylvirasiv
Lepidothrix coronata, ABD60572
 venllvvaai lknrlhspt yyficclavs dmlvsnslv emlflmlleh gylvmrpsiv
Lepidothrix serena, ABD60573
 venllvvaai lknrlhspt yyficclavs dmlvsnslv emlflmlleh gylvmrpsiv
Lophophorus impejanus, ABQ42736
 venllvvaai lknrlhspm yyficclavs dmlvsnslv etlflmlleh gylvirasii
Lophura diardi, ABQ42735
 venllvvaai lknrlhspm yyficclavs dmlsvsnla etlflmlleh gylvirasiv
Lophura edwardsi, ABQ42737
 venllvvaai lknrlhspm yyficclavs dmlsvsnla etlflmlleh gylvirasiv
Lophura nycthemera, ABQ42738
 venllvvaai lknrlhspm yyficclavs dmlsvsnla etlflmlleh gylvirasiv
Lophura swinhoii, ABQ42739
 venllvvaai lknrlhspm yyficclavs dmlsvsnla etlflmlleh gylvirasiv
Malurus leucopterus leuconotus, AAT66909
 venllvvaai lknrlhspt yyficclavs dmlvsnslv aemlflmlle hgvlvmhpsii
Meleagris gallopavo, ABQ42729
 venllvvaai lknrlhspm yyficclavs dmlsvsnla etlflmlleh gylvirasiv
Numida meleagris, ABQ28668
 venllvvaai lknrlhspm yyficclavs dmlsvsnla etlflmlleh gylvirasiv
Pavo cristatus, ABQ42742
 venllvvaai lknrlhspm yyficclavs dmlvsnslv emlflmlleh gylvirasii
Pavo muticus, ABQ42731
 venllvvaai lknrlhspm yyficclavs dmlvsnslv emlflmlleh gylvirasii
Perdix perdix, ABQ42716
 venllvvaai lknrlhspm yyficclavs dmlvsnslv etlflmlleh gylvirasiv
Perisoreus infaustus, ABG29316
 rnlhspt yyficclavs dmlvsnslv emlflmlleh gylvmrpsiv
Phasianus colchicus, ABQ42746
 venllvvaai lknrlhspm yyficclavs dmlsvsnla etlflmlleh gylvirasiv
Phylloscopus fuscatus, AAP74350
 venllvvaax lknrlhspt yyficclavs dmlvsign laemlflmlleh gylvmrpsiv
Polyplectron inopinatum, ABQ42723
 venllvvaai lknrlhspm yyficclais dmlsvsnla ktlflmlleh gylvirasiv
Polyplectron malacense, ABQ42722
 venllvvaai lknrlhspm yyficclais dmlsvsnla ktlflmlleh gylvirasiv
Polyplectron napoleonis, ABQ42717
 venllvvaai lknrlhspm yyficclais dmlsvsnla ktlflmlleh gylvirasiv
Rollulus rouloul, ABQ42730
 venllvvaai lknrlhspm yyficclavs dmlsvsnla etlflmlleh gylvirasiv
Scleroptila levallantii, ABQ42720
 venllvvaai lknrlhspm yyficclavs dmlsvsnla etlflmlleh gylvirasiv
Seicercus burkii, AAP74353
 venllvvaai lknrlhspt yyficclavs dmlvsnslv emlflmlleh gylvmrpsiv
Seicercus xanthoschistus, AAP74352
 venllvvaai lknrlhspt yyficclavs dmlvsnslv emlflmlleh gylvmrpsiv
Stercorarius longicaudus, AAS49211
 venllvvaai lknrlhspt yyficclavs dmlsvsnlv etlflmlleh gylvihasiv
Stercorarius parasiticus, AAS49207
 venllvvaai lknrlhspt yyficclavs dmlsvsnlv etlflmlleh gylvihasiv

Syrmaticus reevesii, ABQ42725
 venllvvaai lknrnlhspm yyficclavs dmlsvsnla etlfmllmeh gylvihasiv
Tangara cucullata, AAK50813
 venllvvaai lknrnlhspt yyficclavs dmlvsnla aemlfmllle hgvlvmrpsiv
Tetrao tetrax, ABQ42740
 venllvvaai lknrnlhspm yyficclavs dmlsvsnla etlfmllmeh gylvirasiv
Tetrao urogallus, ABQ42728
 venllvvaai lknrnlhspm yyficclavs dmlsvsnla etlfmllmeh gylvirasiv
Tragopan satyra, ABQ42719
 venllvvaai lknrnlhspm yyficclavs dmlsvsnla etlfmllmeh gylvirasiv
Tragopan temminckii, ABQ42724
 venllvvaai lknrnlhspm yyficclavs dmlsvsnla etlfmllmeh gylvirasiv
Vermivora peregrina, AAP74351
 venllvvaai lknrnlhspt yyficclavs dmlvsnla emlfmllle hgvlvmrpsiv

REPTILES

Anniella pulchra, AAT90151, LEZARD
 venllvvaai vknrnlhspm yyficclavs dmlsvsnvg ettfmllieh gylvdiapatv
Aspidoscelis inornata, AAT90190, LEZARD
 venllvvaai iknrlhspm yyficclavs dmlsvsnlv etlfmlllen gylvvegstl
Holbrookia maculata, AAT90228, LEZARD
 lenllvvaai vknrnlhspm yyficclavs dmlvsnv ettfmllidh gylvvrsttm
Phrynosoma platyrhinos, AAT90232, LEZARD
 lenllvvaai vknrnlhspm yyficclavs dmlvsnv ettfmllidh gylvvrsttm
Sceloporus undulatus, AAT90269, LEZARD
 lenllvvaai vknrnlhspm yyficclavs dmlvsnv ettfmllidh gylvvrsttm
Thamnophis sirtalis, AAT90273, SERPENT
 venllvvaai vknrnlhspm yyficclavs dmlsvsnlv etlfillieh gmlleipslv
Uta stansburiana, AAT90277, LEZARD
 lenllvvaai vknrnlhspm yyficclavs dmlvsnv ettfmllidh gylvvrsttm

POISSONS

Danio rerio, NP_851301
 venilvvvai iknrlhspm yyficclava dmlsvsnv etlfmllteh glllvtakml
Oreochromis mossambicus, CAI38756
 venilvimai iknrlhspm yyficclavs dmlsvsnv etlfmllndh glldvhpuml
Takifugu rubripes, NP_001027732
 lenilvvaai vknrlhspm yfficslava dmlsvsnas etivialins gtltipatli
Tetraodon nigroviridis, AAQ55176
 venilvilai irnrlhspm yyficclavs dmlsvsnv etlfmllndh glmdmypyuml
Xiphophorus maculatus, ABI34468
 venilvilai irnrlhspm yyficclavs dmlsvsnv etlfmllndh glldvhpuml

ANNEXE 11 : Quelques opinions d'éleveurs francophones de Norvégiens face au phénomène X-Color

BULLETIN DU CCFN (Dossier réalisé par Martine HOVSEPIAN, 2004)

Les couleurs X : pour ou contre ?

Des réponses de Normands bien dignes des Vikings

À l'annonce de la présentation à l'exposition de Wiesbaden, en Allemagne, des nouvelles couleurs chez le norvégien, en vue de leur éventuelle reconnaissance par la FIFe, Sylvie Fritsch, au nom du comité d'élevage, nous avait demandé notre avis sur la question : « *pour, contre, et si possible vos arguments* ». Après la démission des membres du comité d'élevage, le CCFN a tenu à rendre compte de cette enquête (en conservant l'anonymat) à laquelle un certain nombre d'adhérents ont bien voulu répondre.

Une petite vingtaine d'adhérents ont eu l'amabilité de donner leur avis sur la question des couleurs X. Un sentiment général émane de leurs réponses : en gros, c'est une réponse de Normand (ni oui ni non) même si les « contre », bien tranchés ou plus modérés, constituent la majorité. Nous trouvons ainsi les « farouchement contre » :

PAS D'ACCORD

- Je suis contre toutes les manipulations génétiques quelles qu'elles soient et les phénomènes de mode, je suis pour les couleurs originelles et je trouve qu'il y en a déjà suffisamment dont certaines prêtent à confusion.

- Bien que cela puisse être joli, je ne souhaite en aucun cas mettre en danger la race de nos norvégiens ! Je m'oppose vivement à participer à la possibilité de fragiliser nos sujets ! Côté chien, nous avons du recul pour voir que des couleurs comme l'abricot chez le caniche rendent plus fragiles.

- Je me positionne actuellement contre cette reconnaissance parce que qu'on ne connaît toujours pas l'origine de ces couleurs et que dans le cas d'apport par d'autres races, le risque est beaucoup trop grand ; parce que j'aime le norvégien par son aspect rustique et naturel et ces nouvelles couleurs ne me conviennent pas ; parce qu'il y a encore du travail sur le type et que le coloriage risque de passer devant le type ; parce que ces nouvelles couleurs ne sont pas toujours identifiées clairement.

- Je suis contre car le norvégien n'a pas été créé artificiellement, il faut respecter sa nature et ses couleurs, sa garde robe actuelle comprenant une variété bien suffisante et originelle.

- Je suis anti. Ceci depuis le début et je ne compte pas changer d'avis en tout cas pour un certain temps. Ces couleurs n'existent pas dans la palette naturelle des NFO. C'est certain que ce sera un apport extérieur avec ses qualités et ses défauts. Parmi ses défauts, chacun d'entre nous qui aura vu un NFO « new look » aura remarqué sa finesse et je dirais plus sa « fragilité d'apparence ». Nous qui recherchons des sujets robustes, massifs tout en étant élégants, sommes loin du compte et tous les progrès atteints depuis quelques années seront effacés d'un

seul coup. Inversement je ne suis pas naïve et il ne faut pas se voiler la face : beaucoup de nos lignées ont ces nouvelles couleurs sous-jacentes et je suis persuadée qu'on y arrivera un jour.

- La reconnaissance des X-Color dévalorisera le travail des éleveurs et sélectionneurs de la première heure et des plus jeunes. Je pense que ces couleurs n'ont pas été introduites de manière naturelle. Va-t-on avoir demain autant de variétés qu'en persan ? Ces nouvelles couleurs ne sont pour moi qu'un argumentaire commercial de seconde zone, destiné à augmenter les ventes d'éleveurs ou tricheurs sans scrupule.

- Ça ne me plaît pas du tout !

- Je pense qu'il est encore trop tôt pour reconnaître ces couleurs, principalement parce qu'il reste encore beaucoup de travail à faire sur le standard actuel. De plus, comme dans toutes les races, le norvégien n'est pas exempt de maladies héréditaires. Introduire les couleurs X apporterait certainement de nouveaux problèmes.

ON VEUT EN SAVOIR PLUS

Nous trouvons ensuite les réponses mitigées, « plutôt contre », « plutôt pour », d'éleveurs qui sont dans l'attente d'un complément d'informations avant de donner un avis définitif et dont les arguments apportent des ouvertures intéressantes, notamment au niveau de la traçabilité :

- Je trouve ces couleurs très belles, je n'ai pas vraiment d'opinion quant à l'opportunité ou non de les reconnaître chez le norvégien. Gardera-t-il son look sauvage ?

- Je suis mal placée pour être contre car il y a une probabilité que mes femelles « av Trulla » soient des supposées porteuses. À ce jour, je n'ai jamais eu de chatons X nés à la maison, et, dans la mesure du possible, je vais éviter de marier mes femelles à un porteur. Personnellement, ce sont des couleurs qui ne me plaisent pas mais ce n'est pas une raison valable pour s'y opposer. La reconnaissance permettrait d'éviter d'avoir des chats mal annoncés au niveau des couleurs et surtout nous indiquerait quel mariage à faire pour produire et/ou les éviter.

- Au début, j'étais contre à cause des maladies éventuelles que ça pourrait introduire dans la race du fait qu'on ne connaît pas l'origine de ces couleurs. Par ailleurs je trouve que ces couleurs sont plutôt belles ce qui ne veut pas dire que j'aurais envie d'en élever. Donc je ne serai, non pas farouchement contre mais plutôt contre « par précaution » et en attente de plus d'informations.

- J'ai déjà longuement discuté sur le sujet avec d'autres éleveurs et je suis moins opposée qu'avant à l'introduction des nouvelles couleurs. Certains norvégiens semblent présenter déjà des couleurs inconnues chez nous, dans le pedigree d'une de mes minettes, il y a Wildwood's Imer (magnifique sujet). Donc, s'il faut trancher, je serais plutôt pour.

Puis viennent les « pour sans hésitation » qui ne sont pas forcément parmi les éleveurs les plus jeunes (au sens de l'expérience bien sûr !) :

- Malgré que ces couleurs soient contre nature, puisqu'elles existent, elles m'attirent beaucoup. Je reste très tentée par le chocolat et par-dessus tout le cinnamon.

- C'est une bonne chose que de les reconnaître. Car c'est de l'hypocrisie de les ignorer. En effet, maintenant les fawn sont appelés golden (voir Wildwood's Imer aujourd'hui castré) et on élève avec du X dans le pedigree (dont Imer) et cela ne pose aucun problème. Que les conservateurs se rassurent, on ne sort pas cette couleur « comme cela » et les chatons sont très norvégiens. Je

*vous en parle en connaissance de cause puisqu'en 1997, j'ai importé de Norvège Njord av Moltemyr dont le père est S*Tassajara Santiago, fils de Tigris, elle-même fille d'Imer. Mes chats ont toujours été plutôt brown très black. Et puis personne n'est obligé d'acheter ces couleurs.*

- Je pense qu'il faut reconnaître ces couleurs afin qu'elles soient identifiables sur les pedigrees. Que cela plaise ou non, elles existent bien, donc on ne peut à mon avis inscrire en bleu un chat lilas ou en brown un chat cinnamon !

- Plutôt pourquoi pas. Pour moi, le norvégien n'est pas une race fabriquée mais une race naturelle. Pourquoi donc certaines couleurs et pas d'autres.

COMME UNE EPEE DE DAMOCLES

J'ai gardé pour la fin (et même la fin) deux morceaux de choix piochés du côté du fatalisme, de la désillusion, de la rage et de l'humour, même noir, que je livre à votre méditation :

« Ma position est simple :

- en faisant abstraction du côté émotionnel que suggère le chat des forêts norvégiennes de par sa supposée relative pureté (race naturelle !) qui fait référence à la pureté et à la beauté des paysages nordiques ;

- en faisant référence à l'évolution mitigée du NFO ces dernières années (pedigree générés par les ex-clubs français indépendants et complètement assimilés par le LOOF) ;

- en pensant aux illustres origines des novices scandinaves (Felix, Truls, etc.) ;

- en partant du principe que le marché a toujours raison (et marché il y a !) ;

- que les clubs de race sont des associations d'amateurs sympa « sans pouvoir reconnu » sur les évolutions des races ;

de ce fait, je ne suis ni pour ni contre mais fatalement réaliste faisant donc confiance au marché qui assimilera ces couleurs en très peu de temps comme il sait si bien le faire ! »

« Je ne donnerai pas mon opinion sur cette nouvelle attaque de notre race mais poserai encore les mêmes questions : qu'avons-nous fait quand, en deux saisons, notre chat a pris 2 kg et que la Roberval est devenue, pour certains juges, le principal critère jugement ? Qu'avons-nous fait quand on lui a fait une gueule de six pieds et que ces chats monopolisaient les podiums ? Qu'avons-nous fait à part acheter le même pour partager les honneurs ? Combien d'entre nous sont prêts à acheter un chat porteur du gène X et demain un Y ou un Z et même un rose pour monter sur un podium ? Je me souviens avoir participé à une spéciale « races turques » à Dormont, deux ans après que le standard de l'angora turc ait admis qu'il puisse être d'une autre couleur que blanc : 80 % des chats étaient de couleur ! Combien de faux pedigree ? »

ANNEXE 12A : Analyse du pedigree de D*Jasmin vom Waldfrieden

Ci-dessous, vous retrouvez une analyse généalogique du schéma de transmission possible de la GSD IV dans le pedigree de Jasmin, en complément du tableau 34. Elle a été réalisée grâce aux bases de données *Pawpeds* et *Shaggytail*.

GPP = grand-père paternel, GMP = grand-mère paternelle, GPM = grand-père maternel, GMM = grand-mère maternelle. « D*Cachet vom Arlesbrunnen → D*Mister X av Takeskog → D*Onedin av Takeskog → ... » signifie que Cachet est fille de Mister X, qui est lui-même fils de Onedin, et ainsi de suite en remontant la lignée.

Les noms en gras et soulignés correspondent au schéma de transmission de la GSD IV le plus probable. Par exemple, pour D*Khalif vom Arlesbrunnen, trois schémas sont possibles : sa mère Cachet a pu l'hériter de deux façons différentes via D*Jinni av Takeskog qui est une descendante de N*Alex av Tofteberg (1 & 2) ; ou alors Khalif a pu l'hériter de son père Peter Pan vraisemblablement porteur (non testé), car sa demi-sœur Tinne et sa sœur Repris sont porteuses (très probablement via le parent commun, S*Svarte Petters Bernard).

Lignée paternelle : D*Icecat's Nicolò **(D*Icecat's Fritz the Cat x D*Icecat's Kenya-Kanel)**

GPP : S*Taylor Hill's Kastor : HOMOZYGOTE SAIN

GMP : S*Royal Imp's Tinne : HETEROZYGOTE

GPM : D*Khalif vom Arlesbrunnen : HETEROZYGOTE

- ✓ (1) D*Cachet vom Arlesbrunnen → D*Mister X av Takeskog → D*Onedin av Takeskog → D*Bedellin av Takeskog → D*Jinni av Takeskog → S*Morky's Mathilda → N*Garderåsen's Catarina → N*Marekatten's Miriam → N*Fanny af Gjernes → S*Bimus Apollon → N*Alex av Tofteberg
- (2) D*Cachet vom Arlesbrunnen → D*Mister X av Takeskog → D*Jinni av Takeskog → S*Morky's Mathilda → N*Garderåsen's Catarina → N*Marekatten's Miriam → N*Fanny af Gjernes → S*Bimus Apollon → N*Alex av Tofteberg
- ✓ S*Wildwood's Peter Pan, demi-frère de Royal Imp's Tinne

GMM : D*Icecat's Frederike the Cat: HOMOZYGOTE SAINE

Lignée maternelle : D*Candis fra Drømmeskogen **(D*Flips von Ursus Magnus x D*Ingris fra Drømmeskogen)**

GPP : D*Vincent av Trulla : NON TESTE

- ✓ D*Dina av Takeskog (HETEROZYGOTE) → D*Jankothan av Takeskog → S*Morky's Mathilda → N*Garderåsen's Catarina → N*Marekatten's Miriam → N*Fanny af Gjernes → S*Bimus Apollon → N*Alex av Tofteberg

GMP : D*Ylva Oskardatter av Trulla : NON TESTEE

- ✓ D*Oskar Augustson av Trulla → D*Maertha av Trulla → D*Jankothan av Takeskog → S*Morky's Mathilda → N*Garderåsen's Catarina → N*Marekatten's Miriam → N*Fanny af Gjernes → S*Bimus Apollon → N*Alex av Tofteberg
- ✓ D*Miss B vom Isar-strand → D*Jankothan av Takeskog → S*Morky's Mathilda → N*Garderåsen's Catarina → N*Marekatten's Miriam → N*Fanny af Gjernes → S*Bimus Apollon → N*Alex av Tofteberg

GPM : D*Attila vom Tierberg : NON TESTE

- ✓ D*Jankothan av Takeskog → S*Morky's Mathilda → N*Garderåsen's Catarina → N*Marekatten's Miriam → N*Fanny af Gjernes → S*Bimus Apollon → N*Alex av Tofteberg

GMM : D*Auris fra Drømmeskogen : NON TESTEE

- ✓ D*Pink Panther av Trollsfjord, descendante d'Asta av Tofteberg

ANNEXE 12B : Analyse du pedigree de D*Olympia Edle von Rada

Ci-dessous, vous retrouvez une analyse généalogique du schéma de transmission possible de la GSD IV dans le pedigree d'Olympia, en complément du tableau 34. Elle a été réalisée grâce aux bases de données *Pawpeds* et *Shaggytail*.

GPP = grand-père paternel, GMP = grand-mère paternelle, GPM = grand-père maternel, GMM = grand-mère maternelle. « D*Caro vom Arlesbrunnen → D*Mister X av Takeskog → D*Onedin av Takeskog → ... » signifie que Caro est fils de Mister X, qui est lui-même fils de Onedin, et ainsi de suite en remontant la lignée.

Les noms en gras et soulignés correspondent au schéma de transmission de la GSD IV le plus probable. Par exemple, pour NL*Zoe Zahra van Moraja, deux schémas sont possibles (1 & 2) : son père Caro (frère de Cachet, mentionnée dans l'annexe 12A) a pu l'hériter de deux façons différentes via D*Jinni av Takeskog qui est une descendante de N*Alex av Tofteberg.

Lignée paternelle : D*Magic Forest Cat Twingo (D*Magic-Forestcat's Quincy x D*Magic-Forestcat's Piri-Piri)

GPP : D*Baltimoor's Einar-Mar : NON TESTE

- ✓ N*Libet's Olivia, descendante d'Alex av Tofteberg (2x)
- ✓ S*Royal Imp's Maurice, frère de Royal Imp's Tinne

GMP : S*Taropaves Mercedes : NON TESTEE

GPM : D*Magic-Forestcat's Newton : NON TESTE

- ✓ D*Magic-Forestcat's Ike, descendante d'Asta av Tofteberg

GMM : NL*Zoe Zahra van Moraja : NON TESTEE

- ✓ (1) D*Caro vom Arlesbrunnen → D*Mister X av Takeskog → D*Onedin av Takeskog → D*Bedellin av Takeskog → D*Jinni av Takeskog → S*Morky's Mathilda → N*Garderåsen's Catarina → N*Marekatten's Miriam → N*Fanny af Gjernes → S*Bimus Apollon → N*Alex av Tofteberg
- (2) D*Caro vom Arlesbrunnen → D*Mister X av Takeskog → D*Jinni av Takeskog → S*Morky's Mathilda → N*Garderåsen's Catarina → N*Marekatten's Miriam → N*Fanny af Gjernes → S*Bimus Apollon → N*Alex av Tofteberg

Lignée maternelle : D*Dalton's Mrs Elljot (D*Gustav vom Arlesbrunnen x D*Lee-Anne av Solnedgang)

GPP : S*Wildwood's Peter Pan : NON TESTE (demi frère de Royal Imp's Tinne)

GMP : D*Wencke vom Arlesbrunnen : HETEROZYGOTE

- ✓ (1) D*Noel-Alfasson av Trulla (HETEROZYGOTE) → D*Dina av Takeskog (HETEROZYGOTE) → D*Jankothan av Takeskog → S*Morky's Mathilda → N*Garderåsen's Catarina → N*Marekatten's Miriam → N*Fanny af Gjernes → S*Bimus Apollon → N*Alex av Tofteberg
- (2) D*Noel-Alfasson av Trulla (HETEROZYGOTE) → FIN*Tähtyiön Alfa (NON TESTE)

GPM : DK*Dansbjerg's Eijnar : NON TESTE

GMM : D*Afjord's Celine : NON TESTEE

PETERSCHMITT Marc

L'AMBRE CHEZ LE CHAT DES FORETS NORVEGIENNES, UN MYSTERE RESOLU

Thèse Vétérinaire, Lyon, janvier 2009

RESUME

L'ambre, autrefois appelé X-Color est une **nouvelle couleur de robe** apparue en 1992 dans une portée suédoise et n'a été décrit depuis que dans la race du **Norvégien**. Le phénomène X-Color s'est ensuite étendu à l'Allemagne qui a obtenu la reconnaissance de l'ambre par la **Fédération Internationale Féline**, après avoir montré par des mariages-tests que cette couleur n'était codée par aucun des allèles de couleurs connus chez le chat.

De déterminisme **récessif**, l'ambre se caractérise surtout par son évolution, du noir au fauve et par la persistance de coussinets sombres. Ceci nous a conduits à supposer l'intervention du **gène *extension*** codant pour le **MC1-R**, **récepteur de l' α -MSH** et dont des mutations sont responsables de robes fauves récessives dans de nombreuses espèces de Vertébrés.

Dans un premier temps par séquençage, puis ensuite par PCR-RFLP, nous avons analysé le **MC1R** de 69 Norvégiens ambre ou porteurs. Cette étude a montré une **corrélation parfaite** entre le génotype supposé de ces chats et l'existence d'une substitution faux-sens **p.Asp84Asn**, située dans le 2^{ème} domaine transmembranaire, à proximité d'autres substitutions responsables de phaeomélanisme chez l'homme et le cheval.

Ce travail met fin aux années de polémiques qui ont pesé sur l'origine de l'ambre en décrivant la **première mutation** du gène *extension* chez le chat et la première mutation de type **e**, responsable de phaeomélanisme chez les Félinés. Ce travail a aussi permis de mettre au point un **test de génotypage** de la mutation *ambre* par PCR-RFLP associé dans le cadre du LVD 69 et facilitera un plan d'élevage raisonné des chats porteurs de cet allèle après avoir obtenu la reconnaissance de cette couleur dans le standard LOOF du Norvégien voire dans le standard d'autres fédérations félines.

MOTS CLES

AMBRE
CHAT DES FORETS NORVEGIENNES
PIGMENTATION
SEQUENCAGE
PCR-RFLP

JURY

Président :	Monsieur le Professeur LINA
1er Assesseur :	Madame le Docteur LAMBERT
2ème Assesseur :	Madame le Professeur GRAIN

DATE DE SOUTENANCE

30 janvier 2009

ADRESSE DE L'AUTEUR

3A Rheinfelderhof
68740 RUSTENHART